

# マツタケの養分獲得に関する生物間相互作用の解明

－ ミニライゾトロン（根カメラ）によるシロ成長過程の観察－

増野和彦・竹内嘉江

CCDカメラを搭載した「ミニライゾトロン」（根カメラ）を用いて、アカマツ林土壌中の外生菌根及びマツタケのシロの動態を経時的に撮影し、菌根相の消長を観察した。土壌中の外生菌根等の菌糸構造物について、観察を開始した2005年から2007年の状況と比較すると、2008年及び2009年には部分的な消長は認められたが、全体的には観察頻度は減少した。2010年には一部であるが、土壌中における大量の子実体原基が確認された。

キーワード：ミニライゾトロン，根カメラ，外生菌根，アカマツ，

## 1 緒言

長野県においてマツタケは地域の重要な産物であり、人工栽培技術の確立に対する期待は大きい。しかしながら、菌根菌であるマツタケの生理・生態については未解明な点が多く、人工栽培技術の開発は十分に進んでいない。そこで、将来的には感染苗木による人工栽培技術の開発を目標とし、そこに至るための前段階として、マツタケのシロにおけるマツタケ外生菌根の消長を観察し、シロ形成メカニズムの解明を図った。そのうち、本研究では、非破壊的に土の中を観察するシステムであるミニライゾトロン法の導入と観察を試みた。

なお、(独)森林総合研究所交付金プロジェクトとして平成20年(2008年)度から平成22(2010年)度に、広島大学総合科学大学院及び信州大学農学部と協力して実施した。また、このミニライゾトロン法による調査は、科学研究費補助金「複合培養系を用いる里山きのこの増殖技術の開発」(平成16年(2004年)度から平成18年(2006年)度・代表機関 信州大学農学部)の一部として開始され<sup>1)2)3)</sup>、当課題で引き継ぎ実施したものであるが、このうち本報告は当課題の研究期間内の調査結果について記載したものである。

## 2 試験の目的

ミニライゾトロン法は、土壌中に埋設した透明の亚克力製又はガラス製の管の中に、光ファイバーや CCD カメラを挿入し、透明な管の外壁と土壌中の境界に現れる根を観察するシステムである

<sup>4)</sup>。このシステムは、樹木の細根の純生産の研究方法等に利用されている<sup>5)6)</sup>。したがって、土の中の菌根等の観察にも利用可能と考えられるが、研究例は見当たらない。そこで、外生菌根及びマツタケのシロ等の動態の視覚的観察とミニライゾトロン法の有効性を検討するため、長野県佐久市のアカマツ林の土壌内において観察を試みた。

## 3 試験の方法

### 3.1 ミニライゾトロンカメラ

ミニライゾトロンカメラ(Bartz Technology Corporation, USA; 写真-1)を用い、デジタルカメラレコーダー; DCR-TRV9 (SONY)により画像を記録した。

### 3.2 アクリル管の設置

カメラを土壌中に挿入するため、一方の端が閉じた、直径6 cm、長さ80 cmの透明な亚克力管を土壌内に設置した。設置は過去にマツタケ子実体が発生した位置をもとにシロ先端部付近を推測し、シロの外側に、先端に対して水平及び、林床土壌面に対して深さ20 cmでほぼ水平に埋設した。埋設の際は、土壌層位を保つように土壌を取り除き、もとの層位を保つよう被覆した。埋設後、各管の開いた口の部分をゴム栓で閉じ、ビニールテープ及びビニールシートで包み、針金で固定した。

### 3.3 調査地

アカマツ及びコナラが優占している緩やかな西向きの斜面で、ほぼ毎年マツタケ子実体の発生が確認されている長野県佐久市切原の林内(標高

760m)に、透明アクリル管2本(斜面に対して垂直方向に1本,以下:佐久No.1,斜面に平行方向に1本,以下:佐久No.2)を2005年5月31日に埋設した(写真-2)。

### 3.4 撮影及び画像の取得

2006年5月1日から、毎年2~4回アクリル管に沿ってミニライゾトロンにより1cmずつビデオ撮影した。撮影に当っては、アクリル管ごとに、土壌面を基準として90度計4列あるいは45度計8列の画像を取得し、さらに、外生菌根や菌糸束等について倍率を上げて撮影を行った。低倍率で取得したビデオ画像はコンピューターに取り込み、Photoshopを用いて合成した。アクリル管の設

置状況及び撮影方法を模式図に示した(図-1)。

### 3.5 調査日

2008年は、10月2日と11月22日の2回、2009年は、9月25日と11月6日の2回、2010年は、9月2日、9月30日、11月6日の3回、それぞれ観察を行った。

### 3.6 試験地の気温及び地温の測定

試験地のアカマツ林内に気温及び地表から10cmの深さにおける地温の推移を「おんどとり jr.」(株式会社ティアンドデイ製)により測定した。2008年及び2010年は9月から11月まで、2009年は4月から11月まで行った。

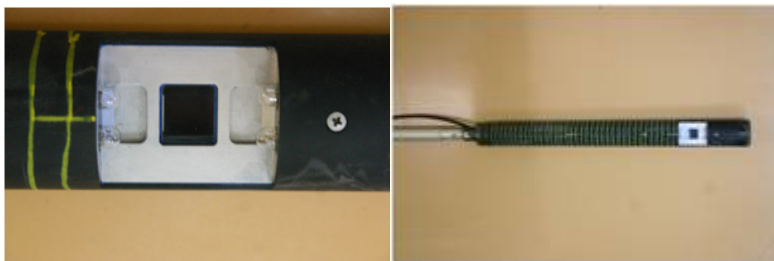


写真-1

ミニライゾトロン  
(根カメラ)



写真-2

ミニライゾトロン撮影用  
アクリル管設置状況

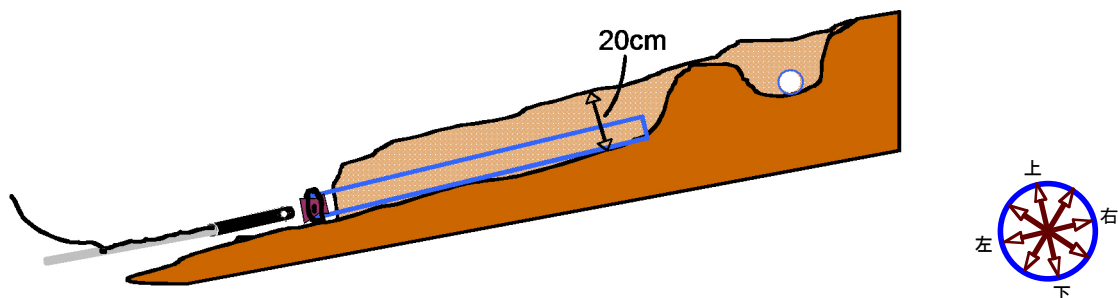


図-1 ミニライゾトロンによる撮影方法 右下はアクリル管の横断面から見た撮影方向の区分(8列)

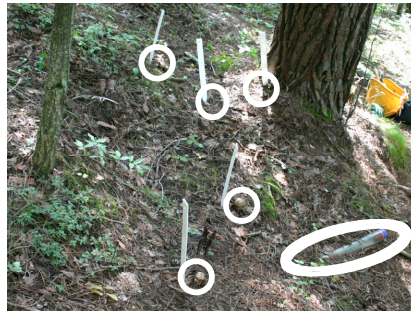


写真-3 佐久 No.1 とマツタケの発生位置(2007.10.11)

#### 4 試験の結果と考察

##### 4.1 2008 年

##### 4.1.1 佐久No.1

10月2日と11月22日に観察を行った。10月2日には、白色の菌糸及び菌糸束、白色の外生菌糸を伴う外生菌根が観察された(写真-4, 5, 6)が、前年の最終調査時である2007年12月10日より観察頻度が減少した。11月22日には、白色の菌糸、白色

の菌糸束は、さらに減少していたが、一部に子実体原基が確認された。

##### 4.1.2 佐久No.2

佐久 No.1 と同じく、10月2日と11月22日に観察を行った。佐久 No.1 に比べ、菌糸、菌糸の塊、菌糸束、外生菌根が多数観察されたが、2007年12月10日の佐久 No.2 の状況と比べると菌糸構造物は減少していた。

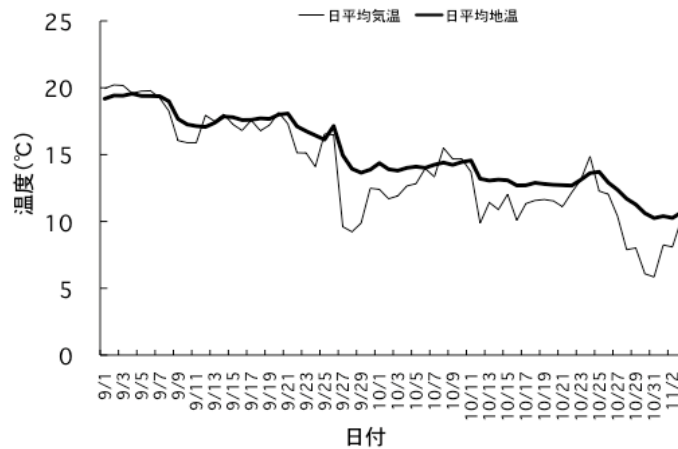


図-2 試験地の気温・地温の推移(2008年)

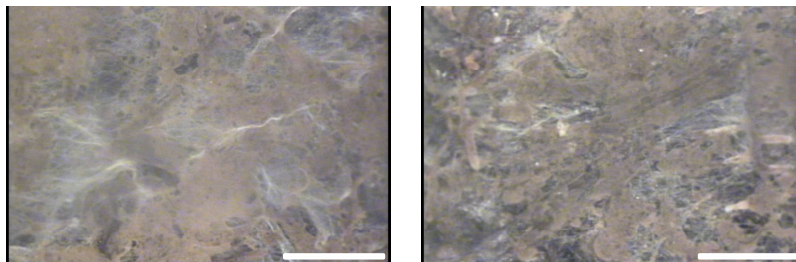


写真-4 2008年10月2日佐久 No.1において観察された菌糸 Bar:5mm  
左:白色の菌糸体 右:白色の外生菌糸を伴う外生菌根

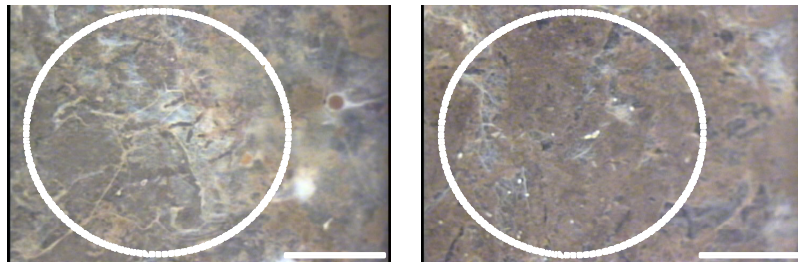


写真-5 外生菌根の消長 (同一箇所, No. 1 左下 #14) Bar: 5mm  
左: 2007年12月10日 右: 2008年10月2日  
左円内には菌根が多数見られるが, 右円内の菌根は僅かになっている。

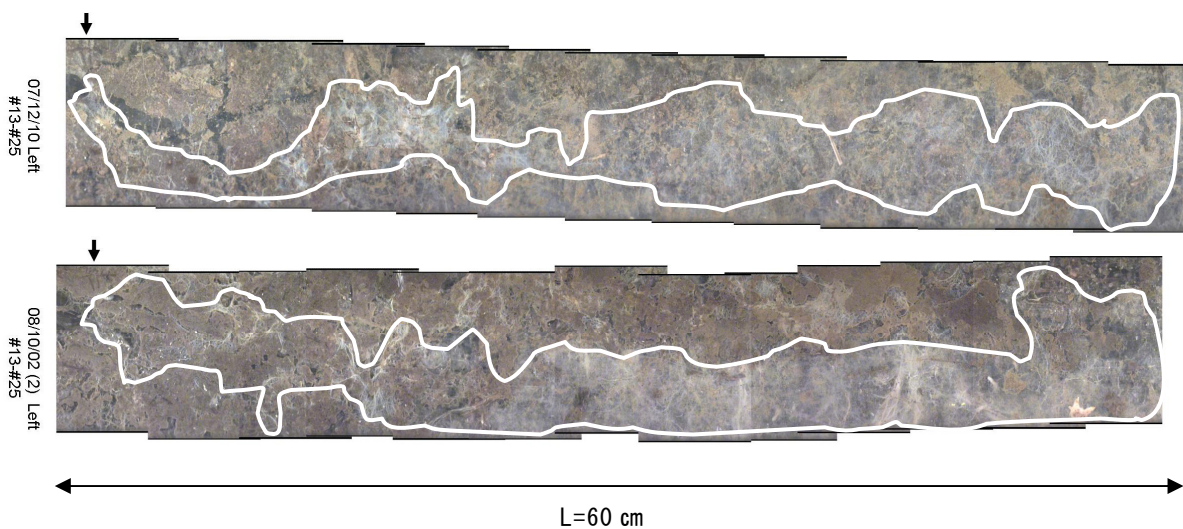


写真-6 外生菌根の消長 (No. 1 左)  
上: 2007年12月10日, 下: 2008年10月2日  
枠で囲った範囲の菌糸の束の濃さに, 上下で差が見られた

## 4.2 2009年

### 4.2.1 佐久No.1

9月25日と11月6日に観察を行った。9月25日には, 外生菌根, 子実体原基, 菌糸体が確認された (写真-7) が, 前年最終の観察日である2008年11月22日に比べ, 極めて減少していた。11月6日になると, 9月25日に比べれば, 菌糸体, 子実体原基が増加していた (写真-8) が, 全体

としては2008年よりさらに頻度が減少した。

### 4.2.2 佐久No.2

佐久No.1と同じく, 9月25日と11月6日に観察を行った。写真-9に示したように, 全体的に菌糸体等の観察頻度は減少していた。ただし, 部分的には写真-10の一部のように, 菌根の生長箇所が確認された。

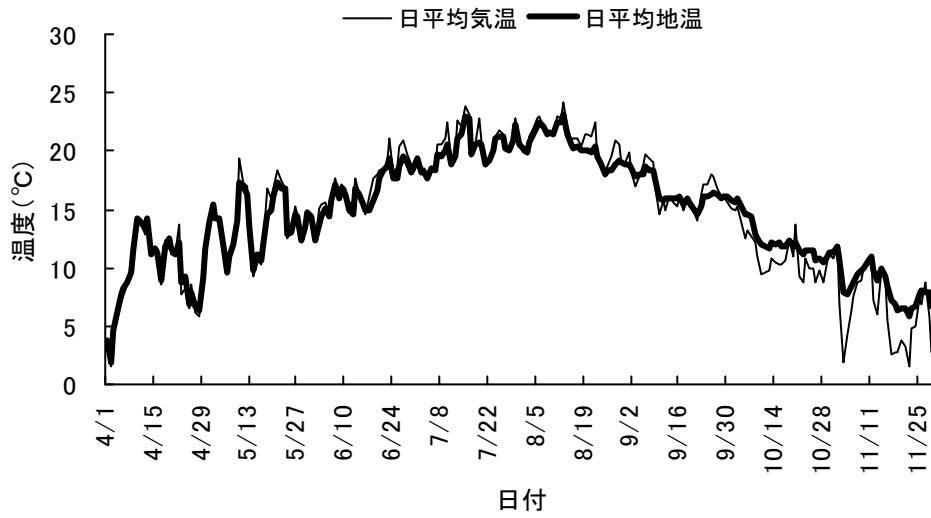


図-3 試験地の気温・地温の推移(2009年)

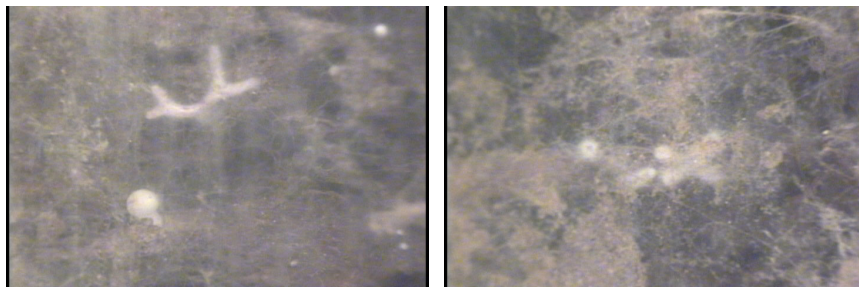


写真-7 2009年9月25日佐久 No.1において観察された菌糸  
左: 外生菌根と子実体原基 右: 白色の外生菌糸を伴う外生菌根

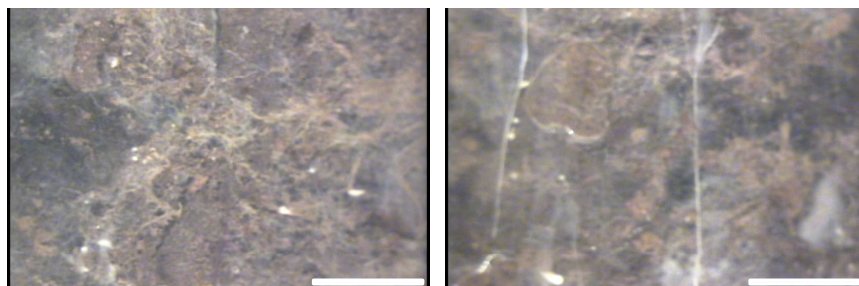


写真-8 2009年11月6日佐久 No.1において観察された菌糸 Bar:5mm  
左: 白色の菌糸体 右: 子実体原基



2009.9.25佐久No.2右上

2009.9.25佐久No.2右

2009.11.6佐久No.2右

2009.11.6佐久No.2右上

写真-9 合成画像による比較(佐久 No.2 右上及び右)

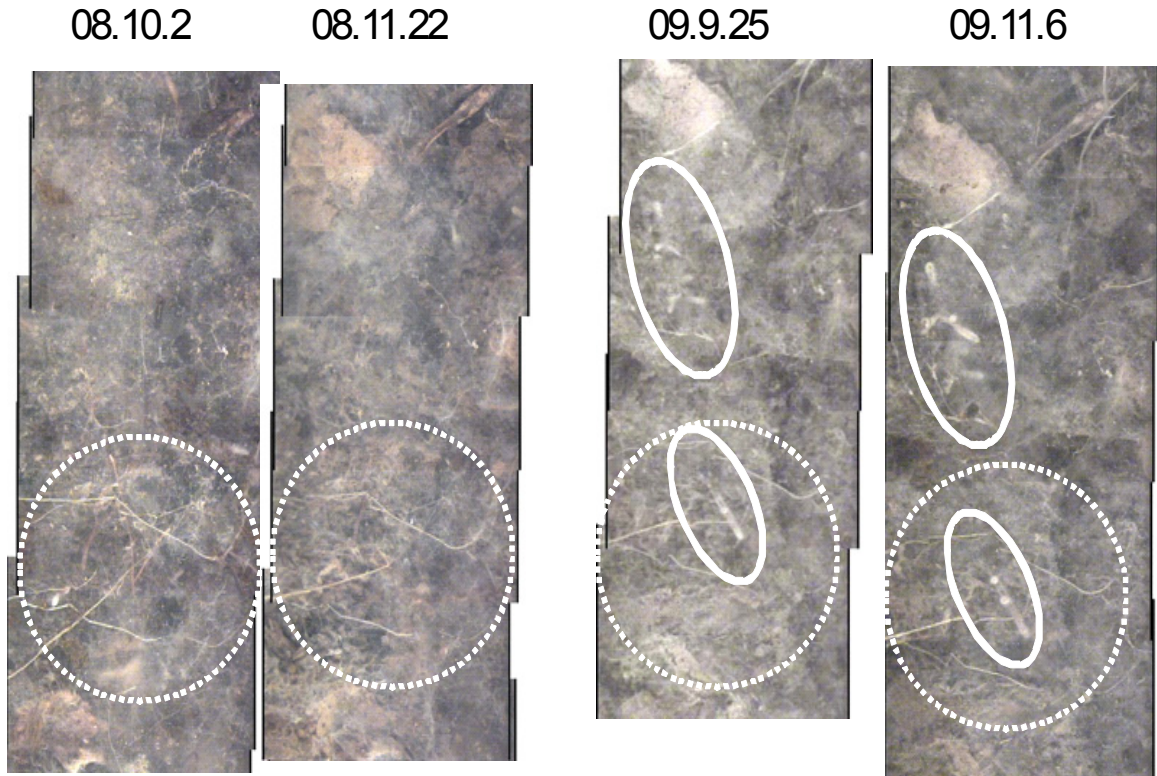


写真-10 外生菌根の定点観察 (No. 2 右より)  
 実線枠で囲った範囲; 同一菌根の成長  
 点線枠で囲った範囲 (実線内を除く); 菌根が次第に衰退

### 4.3 2010 年

#### 4.3.1 佐久No.1

9月2日, 9月30日, 11月6日に観察を行った。2008年, 2009年ともそれ以前に対して, 全体的にシロが衰退したが, 2010年も9月2日, 9月30日は, ほぼ同様の状況であった。しかし, 11月6日には子実体原基が無数に認められた (写真-11, 12)。さらに生長中の外生菌根も見られた

(写真-13)。

#### 4.3.2 佐久No.2

佐久No.1と同じく, 9月2日, 9月30日, 11月6日に観察を行った。2008年, 2009年と同様に全体的に衰退したシロの状態のままであった。佐久No.1のように11月6日になって, 子実体原基が多数形成される状況は認められなかった。

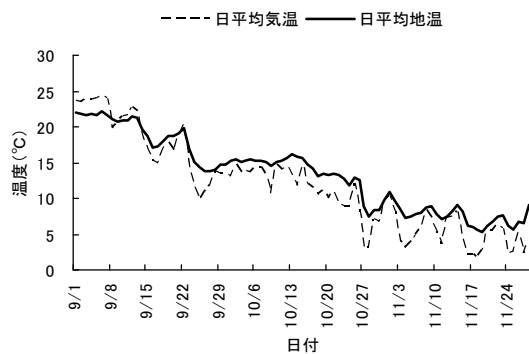


図-4 試験地の気温・地温の推移 (2010 年)

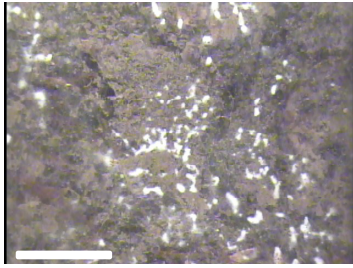


写真-11 無数に発生した地中の子実体原基  
Bar:5mm (2010年11月6日 No.1)

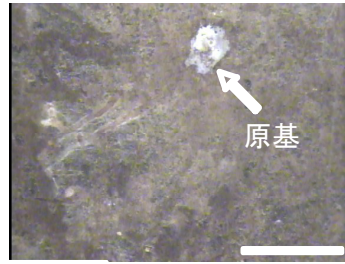


写真-12 原基と近接している菌根 Bar:5mm  
(2010年11月6日 No.1)

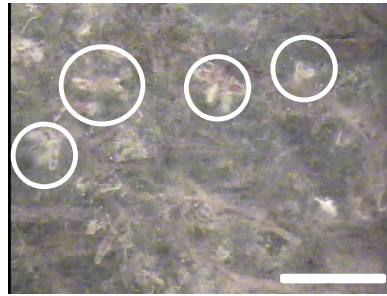


写真-13 生長中の菌根 Bar:5mm (2010年11月6日 No.1) ○印内は菌根チップ

#### 4.4 総合考察

佐久 No.1 においては、埋設の1年経過後に、白色の菌糸の束、菌糸隕、外生菌糸を伴う外生菌根、外生菌糸体に形成された子実体原基が観察されていたが<sup>1)2)</sup>、2008年以降には、これらの部分的な消長は認められるものの、全体的には観察頻度が減少した。2010年11月6日の観察では、地中に発生した大量の子実体原基を確認した。

佐久 No.2 においては、埋設経過1年経過後には、菌根数の増加、菌根の生長及び菌根性糸状菌の子実体原基の形成が観察されていたが<sup>1)2)</sup>、2008年以降にはこれらの観察頻度は全体的に減少傾向を示した。ただし、佐久 No.2 においても部分的な菌根の消長が見られた。

写真-3 に示したように、埋設したアクリル管の周辺においてマツタケの発生があったが、アクリル管に接する箇所から直接的にマツタケが発生しなかったため、撮影により観察された菌糸体、外生菌根等がマツタケと断定することは出来なかった。また、土の中で観察された無数の子実体原基が生長して地上に生育することもなく、観察した子実体原基の種を特定できなかつ

た。

ミニライゾトロン法は非破壊的に土壤中を観察するシステムではあるが、アクリル管を土壤中に埋設するため、細心の注意を払って設置したとしても、当初に環境を攪乱した可能性がある。そのため、当初の攪乱の影響がなくなったアクリル管埋設の1～2年経過後からが、自然状態の観察可能な時期と考えられる。埋設後の1～3年間に観察された外生菌根等の菌糸構造物の発達状況に比較して、本調査期間(2008年から2010年)については、部分的な消長はあるものの全体的には衰退傾向であった。このことにより、少なくとも、今回調査したアカマツ林の土壤中の菌糸構造物の発達や変化は、経常的には緩やかに起こっているものと推察され、明確な傾向を把握するためには、長期間の観察が重要であることが示唆された。したがって、埋設後1～2年で活発に形成された菌糸体、外生菌根等の菌糸構造物は、アクリル管の設置に伴う攪乱の影響があるものと考えられる。

本研究では管を土壤に水平に埋設したが、この場合のミニライゾトロン法の問題点として、管外側への土壤や水滴の付着による観察面の遮



断があった。土壌の付着は管上側、水滴の付着は管下側に見られることが多かった。そのため、管の上側及び下側を除いた全6方向の画像におけるデータを集積することが長期的な観察を行う場合に重要であると考えられた。さらに、本方法は同一箇所における非破壊的な観察が可能である反面で、土壌ごと試料を採集する方法と比べてデータの量が少ないため、データ数の増加には設置する管の数を増やし、観察範囲を広げる必要がある。

ミニライゾトロン法の最大の長所は、土壌中の非破壊的な定点観察が可能なことであり、土の中について、菌糸体の構造、菌根の状況、子実体原基の形成状況、子実体の発生状況等を画像として捉えることができた。一方、短所としては、画像の取得、静止画像の取得と合成等の作業が煩雑で決して楽な作業ではないこと、画像情報からの定量的分析には限界があること、いったんアクリル管を設置すると後は受動的な観察になること等が上げられる。

外生菌根等の年変動とそれに影響を与える要因として気象条件等を考慮するため、試験地内の気温及び地温の測定を行った(図-2, 3, 4)。観察回数が年2~3回のため、気温及び地温の低下や上昇が、直接的に、土の中の子実体原基、外生菌糸及び外生菌根等の生長や消長にどう影響したか、確認が困難であったが、観察頻度を増加すれば、今後、直接的な影響の観察と考察が可能と考えられた。また、ミニライゾトロン法は、観察された外生菌根及びその他の菌糸構造について地上部から大まかな位置の推測が可能であり、特定の菌糸体を採取することができる。このことを利用して、観察された子実体原基及び各種菌糸構造物を採取し、分子生物学的手法を用いた分類群の推定に供することも可能である。

以上、今回のミニライゾトロン法によるアカマツ林の外生菌根観察の試みの結果、土の中の各種菌糸構造物の生長及び消長を画像として捉えることができた。また、手法の長所及び短所を把握することができ、今後の継続的観察することの有効性が確認された。

## 5 謝辞

ミニライゾトロン法による観察及び解析方法については、里村多香美博士(現香川大学)からご指導いただいた。ここに記して、心より謝意を表す。

## 6 文献

- 1) 宮本悠一, 増野和彦, 小林久泰, 小倉健夫, 山田明義, 久我ゆかり(2006), ミニライゾトロンによるアカマツ林の外生菌根の動態観察, 2006年度菌根研究大会(JCOM2006)講演要旨集, 10
- 2) 宮本悠一, 増野和彦, 小林久泰, 小倉健夫, 山田明義, 久我ゆかり(2007), アカマツ林における外生菌根の動態: ミニライゾトロン法による継時観察, 日本菌学会第51回大会講演要旨集, 89
- 3) 久我ゆかり, 小倉健夫, 小林久泰, 増野和彦(2008), ミニライゾトロンによるアカマツ林の外生菌根の動態観察, 平成16~18年度科学研究費補助金(基礎研究(A))研究成果報告書「複合培養系を用いる里山きのこの増殖技術の開発」, 125-126
- 4) 里村多香美, 中根周歩, 堀越孝雄(2001), ミニライゾトロンによる樹木細根の純生産の解析, 根の研究(Root Research)10(1), 3-12
- 5) Takami Satomura, Takayuki Nakatsubo, Takao Horikoshi(2003), Estimation of the biomass of fine roots and mycorrhizal fungi: a case study in a Japanese red pine(*Pinus densiflora*) stand, J For Res(2003)8, 221-225
- 6) 溝口岳男(2009), 樹木の細い根を調べる(1)根の画像を撮って調べる- ミニライゾトロン法-, 森林総合研究所関西支所研究情報 No. 92, 4