

クロマツ苗移植によるショウロ発生地の拡大と 子実体の遺伝的類縁関係

富川 康之・松本 晃幸*

Effects of Transplantation with Seedlings of *Pinus thunbergii* on Reproduction of *Rhizopogon roseolus*
(= *R. rubescens*) and Genetic Relationships Based on from AFLP Markers

Yasuyuki TOMIKAWA, Teruyuki MATSUMOTO*

要 旨

ショウロの自然発生苗床から2年生クロマツ苗を床替えした場合、床替え床での子実体発生を認め、5年生秋季までに140 g/m²が発生した。また、2年生床替え床から苗を掘り取った後のクロマツ播種床、その播種床からの2年生および3年生床替え床のいずれからも子実体発生を認め、それぞれ4年生秋季までに302 g/m²、191 g/m²および246 g/m²が発生した。自然発生苗床でのショウロ子実体と海岸クロマツ林の自生ショウロ子実体は、AFPL (制限酵素断片長多型) に基づく遺伝的類縁関係の解析により異なるグループに分けられた。また、2箇所のショウロ自然発生苗床のクロマツ苗を供試した場合、発生した子実体はそれぞれの苗床に由来する2グループに分けられた。

I はじめに

ショウロはマツ科の樹木と共生し、主に海岸砂丘地に造成された防風クロマツ林で発生するきのこである。子実体には特有の芳香と歯ごたえがあり優秀な食用菌とされているが、近年では松くい虫被害などによる発生地減少のため希少価値が高まっている。

栽培試験では宿主の1つであるクロマツとの関係が調査され、特に苗木を使用した試験が多く実施されている¹⁻³⁾。このうち、平佐⁴⁾によるクロマツ苗床でのショウロ自然発生事例およびショウロ菌感染苗移植による子実体形成の継続に関する報告は、本県でショウロ栽培技術を指導する際の基礎となっている。

本試験では、予備的に県内2箇所のクロマツ苗畑を調査してショウロ子実体の自然発生を確認し、その苗木を

移植した苗床で子実体発生の有無および発生量を調査した。また、本試験および他の試験⁵⁾で採取したショウロ子実体の遺伝的類縁関係を調査し、クロマツ苗移植によるショウロ発生地造成の効果を検討した。

なお、本報告の一部は日本きのこ学会第12回大会で口頭発表した。試験を実施するにあたりクロマツ苗の調達にご配慮頂き、また苗畑の管理方法についてご指導頂いた島根県立緑化センターの佐藤仁氏に深くお礼を申し上げます。

II 試験方法

1. クロマツ苗床でのショウロ発生量調査

2004年春季、簸川郡斐川町および松江市宍道町 (試験開始当時は八束郡宍道町) のクロマツ育苗床 (以下「斐

*鳥取大学農学部, Fac.of Agri.,Tottori Univ.

川苗床」および「宍道苗床」と略記)で、ショウロ子実体の自然発生を確認した。各苗床のクロマツ苗を使用して、以下に記した2通りの管理の下で子実体発生量および発生位置を調査した(図1, 写真4~6)。

なお、苗床は花崗岩風化土壌(真砂土)を客土し、元肥に牛糞堆肥2kg/m²、硫酸、過リン酸石灰、熔リンを各50g/m²、塩化カリ20g/m²を施し、追肥は行わなかった。また、定期的に手作業で草本類、蘚苔類およびクロマツ落葉を除去した。

1) 床替えおよび間引試験

2005年5月中旬、斐川苗床の2年生苗を掘り取り、ショウロ菌による菌根が形成していると判断した苗木195本を当センターの苗床へ床替えした(5列, 25本/m², 写真1)。2007年6月上旬, 4年生苗の40%を間引きし(5列のうち両端と中央の3列を残して2列を間引き), 間引き苗は別の苗床へ床替えした(3列, 9本/m²)。

2) 播種および床替え試験

2004年7月下旬, 宍道苗床の2年生苗を掘り取り, 上述のとおり菌根を認めた50本を当センターの苗床へ床替えした(5列, 25本/m²)。同年11月上旬にこの苗木を掘り, 2005年4月下旬にクロマツ種子1,000粒を播種した(500粒/m², 得苗率約90%, 写真2)。2006年, 2007年の6月上旬, 播種床から間引きした2年生苗215本および3年生苗75本を床替えした(それぞれ25本/m²および9本/m², 写真3)。なお, この間引きによって播種床の苗数は当初約450本/m², 2年生秋季からは約350本/m², 3年生秋季からは約300本/m²となった。

2. 各試験で発生したショウロの遺伝的類縁関係

1) 斐川および宍道苗床とその周辺試験地

以下に示す5調査地で, 採取したショウロ子実体から組織分離菌糸7株を得た(図1)。
 ①斐川苗床(自然発生, 2005.12.5)
 ②宍道苗床(自然発生, 2005.12.5),
 ③クロマツ苗植栽試験地(①の苗木を植栽した海岸砂丘地, 2005.12.4),
 ④海岸砂丘クロマツ林(自生, 2000.4.20, 2005.11.7に各1株)
 ⑤子実体懸濁液散布試験地(④の子実体を散布したクロマツ苗床, 2000.4.24に2株)。

各菌株のゲノムDNAについて, 3組の選択プライマーを用いて増幅断片長多型(AFLP)解析を行った。各菌株のAFLPパターンはジェネティックアナライザー

ABI310により波形データとして検出した。得られた波形パターンを比較して菌株間の類似度を算出し, クラスタ解析(UPGMA法)によって系統樹を作成して子実体間の遺伝的類縁関係を推定した。

2) 当センター苗床

以下の3試験区で採取したショウロ子実体から, 組織分離菌糸24株を得た。
 ①斐川苗床からの床替え床(2006.11.2~2007.4.13に12株),
 ②宍道苗床からの床替え・苗掘り取り後の播種床(2006.11.16~2007.4.24に11株),
 ③播種床からの2年生床替え床(2007.4.3に1株)。
 各菌株から, 上述と同じ方法で子実体間の遺伝的類縁関係を推定した。

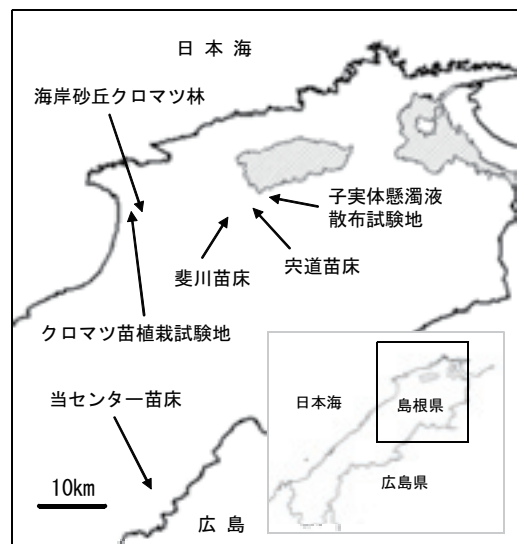


図1 調査地

III 試験結果

1. クロマツ苗畑でのショウロ発生量調査

1) 床替えおよび間引試験

床替え床および間引き苗の床替え床での, 苗床1m²当たり子実体発生重量の推移を図2に示した。床替え翌年の3年生秋季に最初の発生を認め, 発生量は41g/m²であった。4年生春季は19g/m²と減少したが, 間引き後も発生が継続し, 同年秋季は27g/m², 5年生春季は13g/m², 秋季は16g/m²であった。間引き前後(4年生春季・秋季)の子実体発生位置を比較すると, 間引き列では子実体発生数が減少し, 発生位置は苗床の外周部位に集中した(図3)。4年生間引き苗の床替え床では床替え当年の秋季に8g/m²が発生し, 5年生春季は11g/m²,

秋季は 3 g/m²であった。

2) 播種および床替え試験

播種床, 2年生および3年生苗床替え床での, 苗床 1 m²当たり子実体発生重量の推移を図 4 に示した。播種床

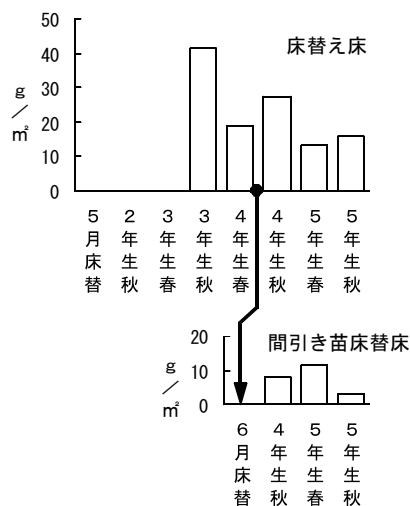


図 2 床替え床および間引き苗の床替え床での子実体発生重量の推移

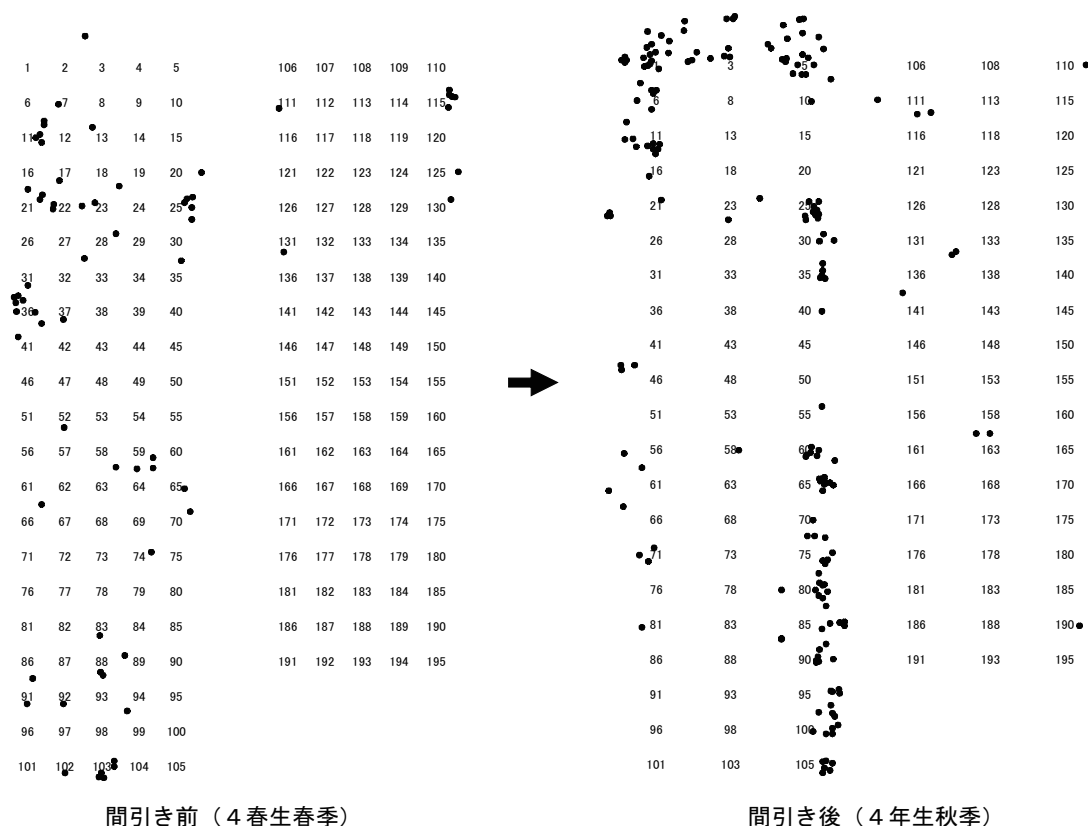
では 2 年生秋季に最初の発生を認め, 発生量は 87 g/m²であった。3 年生春季以降はしだいに発生量が減少し, 4 年生春季は 37 g/m²となったが, 秋季は 87 g/m²と増加した。3 年生春季は大半の子実体が播種床内で発生したが, 4 年生秋季はすべての子実体が播種床の外側で発生した (図 5)。

2 年生苗の床替え床では床替え当年の秋季に最初の発生を認め, 発生量は 7 g/m²であった。3 年生春季は 1 g/m²以下と僅かであったが, 秋季は 131 g/m²と増加し, 4 年生春季は 49 g/m², 秋季は 4 g/m²であった。3 年生秋季は各試験区の中で最も季節別発生量が多く, 苗床全面から偏りなく子実体発生を認めた (図 6)。

3 年生苗の床替え床では床替え当年の秋季に 56 g/m²が発生し, 4 年生春季は 31 g/m², 秋季は 21 g/m²であった。

3) 苗畑の管理方法別子実体発生量

斐川苗床から床替えした苗木は 4 年生春季発生終了後 2 箇所の苗床に分けて管理したが, これらを合計した 5 年生秋季までの発生量は 140 g/m²であった (図 2)。播



黒丸は子実体発生位置, 数字は苗木No

図 3 間引き前後 (4 年生春季・秋季) の子実体発生位置

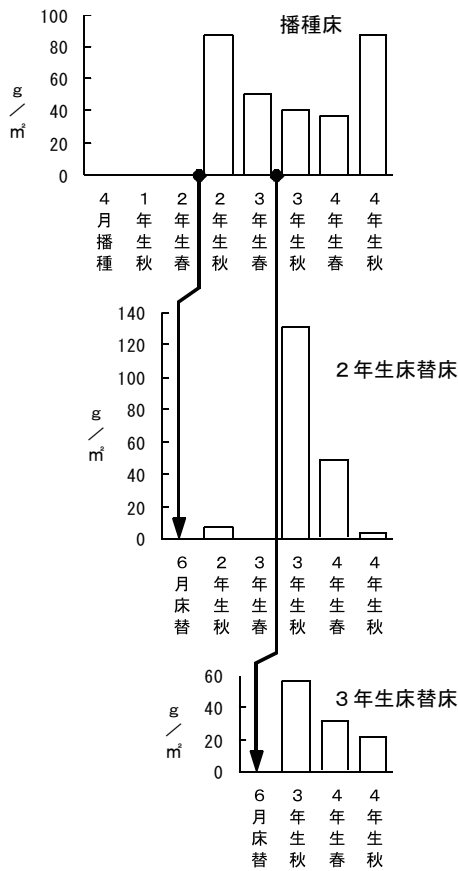
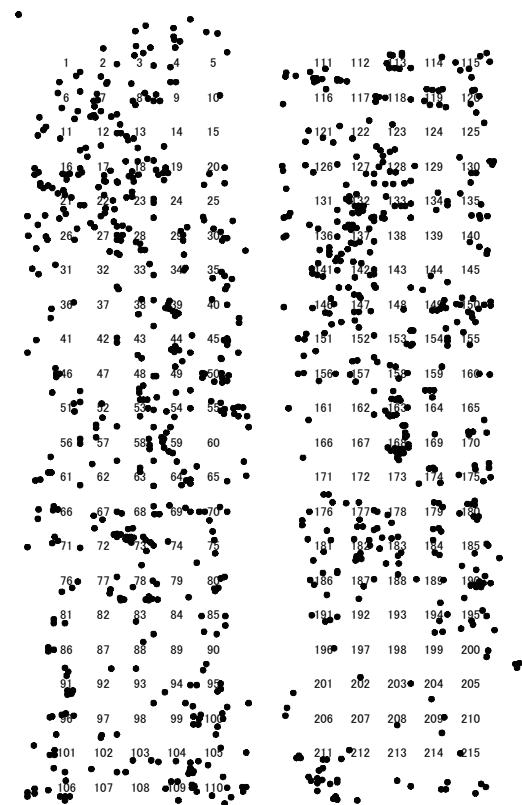


図4 播種床および床替え床での子実体発生重量の推移



黒丸は子実体発生位置，数字は苗木No

図6 2年生苗床替え床での3年生秋季の子実体発生位置

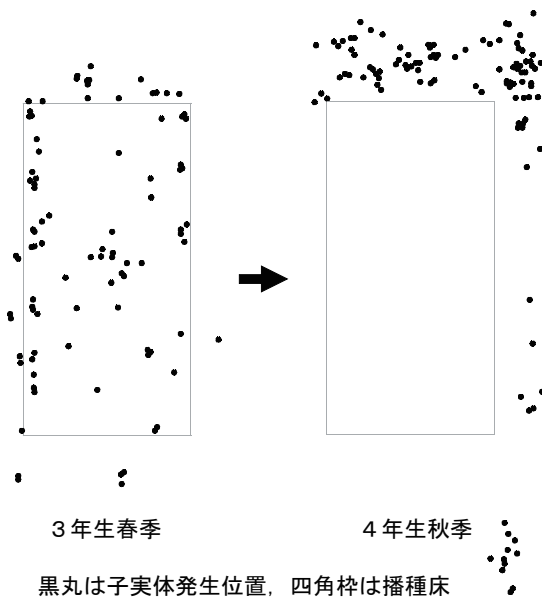


図5 播種床での子実体発生位置

種床では2回の間引きを実施したものの、大半の苗木を4年生秋季まで残した場合の発生量は302 g/m²で、試験区の中で最も多かった。播種床の2年生苗を床替えした場合、4年生秋季までの総発生量は191 g/m²であった。3年生苗を床替えした場合、播種床での間引き前の発生量および床替え床での発生量を合計した4年生秋季までの発生量は246 g/m²であった（図4）。

2. 各試験地で発生したショウロの遺伝的類縁関係

1) 斐川および宍道苗床とその周辺試験地

AFLPプロファイルに基づくクラスター解析の結果を図7に示した。斐川苗床、宍道苗床およびクロマツ苗植栽試験地で発生した子実体と、海岸砂丘クロマツ林および子実体懸濁液散布試験地で発生した子実体の大きく2つの遺伝的類縁グループに区分された。また、斐川苗床およびクロマツ苗植栽試験地で発生した子実体のAFLP

プロファイルは比較的類似した。

2) 当センター苗床

AFLPプロファイルに基づくクラスター解析の結果を図8に示した。斐川苗床に由来する試験区（Ⅰ）で発生した子実体と、宍道苗床に由来する試験区（Ⅱ）で発生した子実体の大きく2グループに区分された。また、各グループの子実体は少なくとも4タイプ（i～iv）に細区分された。なお、播種床からの2年生床替え床で発生した子実体はⅡ－iiiであった。

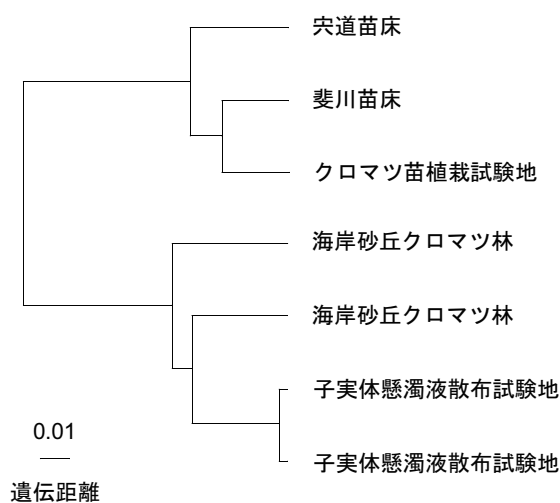


図7 各調査地で発生した子実体の遺伝的類縁関係

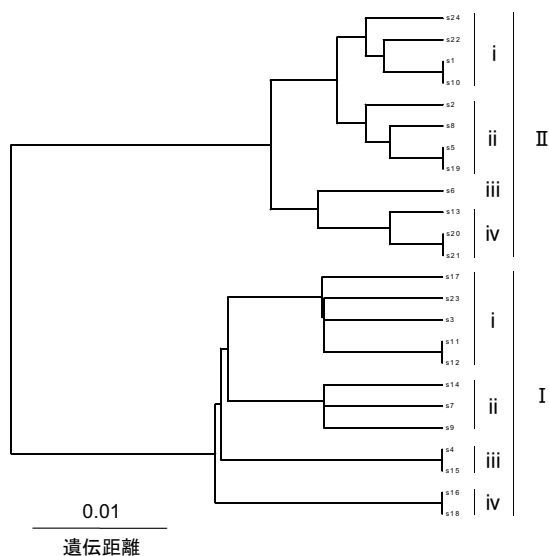


図8 2箇所のショウロ自然発生苗床に由来するショウロ子実体の遺伝的類縁関係

IV 考 察

本試験ではショウロ自然発生苗床からクロマツ苗を移植し、移植先の苗床で子実体発生が継続する事例を観察した。その中で、宍道苗床からの床替え床では約100日後にその苗木を掘り取ったにもかかわらず、土壤中で生息を続けたショウロ菌が翌年播種の1年生苗に感染したと推察した。また、苗畑の管理方法ごとにショウロ発生量を調査した結果、播種床を継続して使用した場合の発生量が最も多かった。ただし、これらは試験苗畑1箇所での繰り返しのない調査結果であるため、今後いくつかの調査地を設けて再現試験を行いたい。

試験中、クロマツ苗が大きく生長したため苗木の間引きを行ったが、間引き部位では子実体の発生数が減少した。これは間引き作業によって土壌が攪乱され、ショウロ菌糸層および菌根への傷害となったことが原因の1つと考える。同苗床では子実体発生位置の観察を継続するとともに、間引き方法を検討する必要がある。

播種床では最初の子実体発生以降、発生量が少しずつ減少したが、4年生秋季には初回発生とほぼ同量が発生し、その子実体はすべて播種床の外側で発生した。当初の発生量減少は、苗木の生長・過密に伴い降雨による土壌への水分供給量が少なくなり、また苗木の地際幹径が大きくなり子実体形成および採取に必要な地表面積が減少したためと考える。しかし、発生位置が苗床の外周へと変化した4年生秋季には、十分な水分供給および子実体形成スペースがあったことから発生量が増加したと推察した。

クロマツ苗床でのショウロ自然発生は平佐⁴⁾と本報告の他にも県内数箇所を観察されており、決して希な事例ではない。このことから、苗床でのショウロ発生がどの程度苗木移植に起因しているかについては、いくらかの検証が必要である。本試験では苗木移植の効果を究明するには到らなかったが、調査結果から以下のとおり推察した。

本県東部地域の限られた範囲（島根半島内の直線距離約20km）で採取したショウロが、遺伝的類縁関係の違いにより区分されたことに注目した。このうち、斐川苗床とそのクロマツ苗の植栽試験地で採取した子実体は遺伝的に類似した。また、当センターの苗床で採取した子実体は、床替え前の2箇所の苗床に由来して遺伝的に離れ

た関係にある結果が認められた。これらのことから、ショウロ菌はクロマツ苗と共に移動し、移植先の土壤に感染・定着したと考えられる。なお、斐川苗床と宍道苗床では過去にクロマツ苗が受け渡しされた記録があり、そのため採取した子実体の遺伝的關係が類似したと考える。

一方、当センターの同じ苗床における子実体間の遺伝的關係は一様でなく、また遺伝的に類似するいくつかのグループを形成した。これは苗木移植によるショウロ発生地造成の効果を検討する上で無視できない結果であり、今後の試験で苗床全体を対象とした遺伝的特性の評価手法を検討したい。これにより、クロマツ苗移植あるいは子実体懸濁液散布によるショウロ栽培と、クロマツ苗床での自然発生あるいは自生採集される子実体の区別が可能になると考える。

引用文献

- 1) 明間民央, 根田 仁, 宮崎和弘: 菌根性食用きのこショウロの共生栽培に向けた感染苗作成技術の開発, 森林総研研究成果選集, 34-35 (2000)
- 2) 玉田克志, 更級彰史: ショウロ子実体形成試験及びその菌根合成によるマツ材線虫病発病抑制効果, 東北森林科学12(2), 81-84 (2007)
- 3) 霜村典宏: ショウロ菌のクロマツ実生根への人工感染技術の開発, 鳥大農菌類きのこ研成果報告, 23-45 (2008)
- 4) 平佐隆文: 注目した野外でのショウロ生産事例, 島根林技研報42, 37-44 (1991)
- 5) 富川康之: 子実体懸濁液散布によるクロマツ苗畑でのショウロ栽培, 島根中山間研報2, 43-49 (2006)



写真1 斐川苗床から床替えした2年生クロマツ



写真4 苗床地表で発生したショウロ子実体 (←)



写真2 クロマツ播種床 (2年生秋季)



写真5 密集して発生したショウロ子実体



写真3 播種床 (3年生) から床替えしたクロマツ苗



写真6 採取したショウロ子実体

