

マツタケなど菌根性きのこ類の人工栽培に向けた研究

山中高史

国立研究開発法人森林総合研究所 〒305-8687 茨城県つくば市松の里1

Researches for cultivation of ectomycorrhizal mushrooms

Takashi Yamanaka

Forestry and Forest Products Research Institute, 1 Matsunosato, Tsukuba, Ibaraki 305-8687, Japan

1. はじめに

きのこは、我が国の山の幸として日本人の食生活を彩ってきた。これら食用となるきのこのうち、シイタケ、ナメコ、マイタケ、エノキタケ、ブナシメジなど腐生性のものは、原木栽培や菌床栽培によって人工栽培が可能となっている。一方、マツタケ、シヨウロ、アマタケ、チチタケなど菌根性のものは、その生育に、生きた樹木の根が必要なため、人工栽培は困難である。従って、これら菌根性のキノコは高価なものになっている。海外においても、菌根性食用きのこには、トリュフ、アンズタケ、ヤマドリタケなどがあり、高級な食材となっている。従って、菌根性キノコの人工栽培技術が開発されれば、安定的な新たな市場を生むことが期待されるため、これまで多くの試みがなされてきている。

これら菌根性きのこの人工栽培形態としては、野外の森林や圃場などにおいて樹木との共生関係を成立させてきのこを発生させる林地栽培のほか、腐生性きのこの場合と同様に栄養分などを与えて育てる菌床栽培の2つが考えられる。

これら2つの人工栽培技術の開発に向けては、以下のような研究や技術開発のステップが必要である。実験室レベルでは、まず①菌株の分離と保存である。菌根菌は多くのものが、腐生菌の菌株に比べて成長が遅く、また種によっては分離が困難なものがある。得られた菌株は、栄養要求性や、成長への温度条件や水素イオン濃度(pH値)の影響などの生理的特性解明に用いられる。次に、②無菌条件下で、無菌苗に分離菌株を接種して菌根を合成させて樹木との共生関係を明らかにすることである。それらの成果に基づいて、実用的な技術開発に取り組むこととなり、それらには、

まず③有菌条件下でのポット苗への菌根合成や、④苗畑で生育する樹木に対して菌根を合成させる手法がある。この場合、接種源としては、培養菌糸のほかに、子実体から得た胞子を用いる場合もあり、また野外で、目的とする菌根菌が増殖する土壌へ樹木苗を植えて、自然感染させることもある。これらの苗木を用いて林地や圃場において菌根菌を定着させて、きのこの人工栽培技術の開発を目指している。一方、腐生性きのこと同じように、菌床栽培によってきのこを栽培する場合には、栄養菌糸成長や子実体形成に適した培地条件や環境条件の解明が必要である。

表1に、食用菌として有望な菌根菌のいくつかの種類について、このような研究がどの程度進捗してきたかをまとめた。以下に、この中で特にマツタケ、ホンシメジ、トリュフについて、それぞれの人工栽培に向けた取り組みについて紹介していく。なお、菌根菌には、共生相手である植物への感染様式などに基づいて、多くの種類が知られているが、今回、紹介するマツタケやトリュフなどは、細根の表面を覆い、根の組織内の細胞間に侵入する外生の菌根菌であり、今回、菌根菌や菌根という用語は、このような外生の菌根菌および菌根を指すものとする。

2. マツタケ

マツタケ (*Tricholoma matsutake*) は、担子菌類のハラタケ目キシメジ科キシメジ属の菌である(図1)。主にアカマツの林に発生するが、クロマツ、ハイマツ、ツガ、コメツガ、エゾマツおよびトドマツの林にも発生する。各地より数多くのマツタケ菌株が分離され、遺伝情報に基づいた類縁関係の解明(Murata *et al.*, 2008; Ota *et al.*, 2012)や、栄養生理的特性、さらに樹木への菌根形成能などが調べられている。

表 1 菌根性食用きのこの人工栽培に向けた研究開発

	実験室			キノコ発生				
	分離培養	純粋培養でのキノコ発生	菌根合成	菌根苗植栽		林地への胞子散布	現地での菌糸接種	菌床栽培
				鉢(ポット)	林地			
国内								
マツタケ	○ ^{1,2}	△ ²	○ ⁸		△ ¹²			
ホンシメジ	○ ¹	○ ⁷	○ ⁹	○ ¹¹	○ ^{13,14}		○ ¹⁹	○ ²⁰
ショウロ	○ ¹		○ ⁹	○ ⁹	○ ¹⁵	△ ¹⁷	○ ¹⁵	
アマタケ	○ ¹		○ ⁹			△ ¹⁸		
ハナイグチ	○ ¹		○ ¹⁰			○ ¹⁹		
ヤマドリタケ	○ ⁵		○ ⁵					
タマゴタケ	○ ⁶		○ ⁶					
海外								
トリュフ	○ ^{1,3}				○ ¹⁵	○ ¹⁶		
アンズタケ	○ ⁴		○ ⁴	○ ⁴				

それぞれの種に対して取り組まれている項目は、○で示した。△は報告されているものの検証が必要な場合を示している。○△に続く数字は引用文献番号を示す。¹赤間ら(2008)；²川合・小川(1976)；³Totti *et al.* (2002)；⁴Danell & Camacho (1997)；⁵Endo *et al.* (2014)；⁶Endo *et al.* (2013)；⁷Ohta (1994a)；⁸Yamada *et al.* (1999b)；⁹Yamada *et al.* (2001b)；¹⁰Duddridge (1986)；¹¹Kawai (1997)；¹²枯木・川上(1985)；¹³藤田ら(1998)；¹⁴河合(1999)；¹⁵霜村・有吉(2012)；¹⁶Hall & Zambonelli (2012)；¹⁷富川(2006)；¹⁸大森(1994)；¹⁹柴田(1989)；²⁰太田(1998)



図 1 マツタケ

1) 栄養生理特性

マツタケ分離菌株は、白色からクリーム色をした菌叢を発達させる。また、褐色になる場合もある(浜田, 1964; 島菌, 1979)。顕微鏡下では、幅 0.5-4.5 μm の菌糸で、通常二次菌糸でもクランプコネクションを持たない。末端が球状に肥大し、厚膜化していることもある(浜田, 1964; 島菌, 1979; 山田・寺崎, 1998; Yamada *et al.*, 2001a)。

マツタケ菌の栄養生理については、川合らの論文(川合・阿部, 1976; 川合・寺田, 1976)や太田(Ohta, 1990)によってまとめられており、栄養生長に適した培地 pH 値や生育に適した温度、利用可能な炭素源や

窒素源などについては、通常の菌根菌とは大きく異なるものではないようである。一方、アカマツ根のアルカリ性エタノール抽出物、またはアカマツ根より分離された糸状菌の代謝産物に、マツタケ菌菌糸成長促進効果が認められ(小川・川合, 1976)、さらに、界面活性剤である Tween 80 やオリーブ油を土壤に添加すると最大で 15 倍の成長促進が認められている(Guerin-Laguette *et al.*, 2003)。以上のように、マツタケ菌糸成長に適した栄養条件は徐々に知られてきている。子実体形成には一定量の菌糸体が必要であることから、マツタケ菌の菌糸成長に適した条件の検討は必要である。

マツタケの担子胞子の発芽には、アカマツ針葉の抽出液において、比較的良好な発芽が見られている(広本, 1960; Ohta, 1986)。一方、0.005%の(n-)酪酸を含む培地での担子胞子発芽が良好であったが、(n-)酪酸は、針葉抽出物には含まれていなかった(Ohta, 1986)。これに基づいて、太田(2006)は、1個の胞子に由来する1核の菌株(単胞子分離菌株)の獲得を試みたが、多くのものが2核の菌糸であり、1核の菌糸をほとんど得ることができなかった。同様に、玉田・練(2004)は、単胞子分離を試みたが、全ての胞子分離株が2核であり、胞子が2核性である可能性を指摘している。

菌根性であるマツタケは、炭素源は共生関係にある樹木の光合成産物を獲得するため、リグニンやセル

ロースなどの高分子有機物を分解する能力は低いとされてきた。しかし、野外土壤中でシロを発達させるには、土壤中の有機物を分解して炭素栄養源を獲得している可能性もあり、マツタケの腐朽能力についての研究も行われている。糖類を含まない培地へマツの樹皮粉末を添加したところ、マツタケの成長量が増加したことが報告されている (Vaario *et al.*, 2002)。また、マツタケはセルロースを分解する能力は低いものの、その分解産物であるセロビオースやセロトリオースにある β -1,4グリコシド結合を分解する β -グリコシダーゼの能力が高いことが報告されている (Kusuda *et al.*, 2008; Vaario *et al.*, 2012)。さらに、マツタケが炭素源としてヘミセルロースを利用できるとともに、北欧に発生するマツタケのシロ中においては、キシロシダーゼ活性が高いことから、腐生的に栄養分を獲得することもできることを示唆している (Vaario *et al.*, 2012)。

2) 菌根形成能力

一般的な菌根の特徴としては、菌糸が細根の表面を覆い (菌套または菌鞘という)、かつ根組織の細胞間隙に菌糸が侵入して細胞を取り囲んで、ハルティッヒ・ネットという構造を形成することが挙げられる (図2)。

野外シロの調査における典型的な外生菌根は、Yamada *et al.* (1999a) によって初めて報告されている。野外のシロでは、マツタケ以外の菌を観察した可能性もあるため、詳細な菌根の観察には、無菌条件下での、無菌苗へのマツタケ菌の接種試験が必要である。衛藤 (1990) は、アカマツ無菌苗へマツタケ菌を接種したところ、マツタケ菌糸が根の表面を覆い、根の細胞間隙へ侵入したことを報告した。さらに、マツタケ培養菌糸を林地へそのまま、または殺菌剤も併せて施与した場合に、菌根化と一部にシロ様菌体の形成を認めている (衛藤, 2001)。これらにおける菌根化は、野外のシロにおいて観察される黒色菌根の形成も指標としている (衛藤, 1999, 2001)。Yamada *et al.* (1999b) は、無菌アカマツ実生を植え、同時にマツタケ菌を接種したところ、その後3箇月目までに、ハルティッヒ・ネットと菌套が形成されていたことを報告している。この論文が初めて、マツタケが典型的な外菌根を形成することを実験的に証明したものである。また、Vaario *et al.* (2000) は寒天培地上にろ紙を敷いた上に無菌のアカマツ実生苗を置き、そこへマツタケ菌を接種すると、その2週間後にハルティッヒ・ネットが

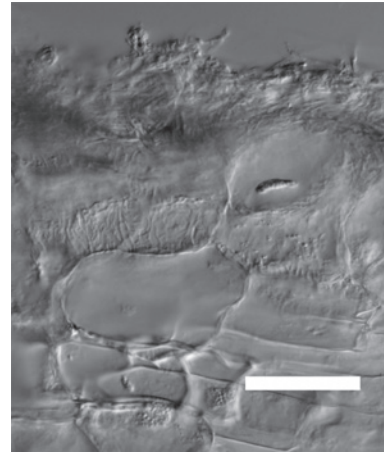


図2 アカマツの根に形成されたマツタケ菌根。根の表面を菌糸が覆い (菌鞘)、根の組織の細胞間に菌糸が侵入し、ハルティッヒ・ネットを形成する。マツタケ菌の場合、菌鞘の菌糸の形態はあまり分化していない。スケールは0.05 mm。

形成されたが、接種後4週間目であっても菌套の形成は認められなかった。その後、滅菌土壌を用いた、マツタケ菌接種による菌根合成試験において、シロ様の菌糸体が形成された (Yamada *et al.*, 2006; 小林ら, 2007; 松下, 2008)。以上の菌根合成実験では、種子を表面殺菌させた後、発芽させて得た実生苗を用いた菌根合成であるが、成木を用いたマツタケ菌接種により、根を菌根化させることも可能になっている (Guerin-Laguet *et al.*, 2005)。マツタケのシロ成長を維持するために十分な量の養分が供給するためには、一定サイズ以上の樹体が必要であると考えられ、成木を菌根化させる技術は有効である。

国外のマツタケおよびその近縁種について、その菌根形成能の違いが評価されてきている。Vaario *et al.* (2009) は、日本産マツタケ菌株とフィンランド産マツタケ菌株を、欧州アカマツおよびドイツトウヒに接種した。フィンランド産マツタケは、両樹種に対して、典型的な菌根を形成した。一方、日本産マツタケは欧州アカマツにのみ菌根を形成した。この結果は、菌株によって共生能力が異なることを示しているが、日本産およびフィンランド産もそれぞれ一菌株であるため、地域間の差異であると確定はできない。また Yamada *et al.* (2009) は、世界各地のから得たマツタケおよびその近縁種 11 菌株をアカマツ苗に接種して、菌根形成や成長への影響を解析した。その結果、

ブナ科広葉樹林で発生するバカマツタケおよびニセマツタケ以外の種は、全てアカマツ苗に明瞭な菌根を形成した。一方、日本産マツタケ菌株を、これまでマツタケが発生する樹種とされているマツ属3種およびトウヒ属2種の樹木に接種したところ、いずれの場合にも菌根が形成された (Yamada & Murata, 2001)。また、テータマツでも、接種試験によってマツタケ菌根の形成が認められている (Yamanaka *et al.*, 2012)。以上のように、マツ属やトウヒ属などのマツ科の樹種であれば菌根の形成が可能であることがわかった。

3) 共存微生物群集

自然条件下においては多種多様な微生物が共存することから、マツタケのシロにおける共存微生物の研究が取り組まれてきた。しかし、他の菌根菌で報告されてきたような、共存微生物による菌根菌の生長促進効果は認められず、逆にシロの活性菌根帯 (きのこが発生する部位であるシロの周縁部) においては、細菌数などが減少しており、マツタケ菌根による抗菌作用があることを明らかになっている (Ohara & Hamada, 1967)。この抗菌作用は、揮発性物質の効果によるとされ、その成分の特定が進められた (鶴田・川合, 1979)。その結果、抽出成分の1つが α -ピネンであることが特定された。しかし、近年、西野ら (2015) は、抗菌性物質として、マツタケ活性菌根帯で生産されるシュウ酸が土壤中のAlと結合してできるシュウ酸アルミニウムが抗菌性を示すことを報告した。

一方、土壤中から直接に遺伝子を抽出して、そこから微生物の種を特定する手法によって、シロ部位の微生物群集が調べると、希釈平板法によっては細菌が現れなかったシロ部位であっても *Sphingomonas* 属および *Acidobacterium* 属などの細菌が検出された (Kataoka *et al.*, 2012)。また同様の手法により、シロおよびその上層土壌には、*Piloderma* 属や *Tomentellopsis* 属などの担子菌、*Thermomonosporaceae* 属や *Nocardia* 属の細菌および *Streptomyces* 属の放線菌が特異的に存在していた (Vaario *et al.*, 2011)。

4) 人工栽培に向けた取り組み

これらマツタケの菌の栄養生理特性や菌根形成能の解明が進んで、人工栽培技術の取り組みもされている。林地での人工栽培技術の開発に向けては、胞子を林地に散布する手法や、栄養菌糸を埋設する方法、さらにはマツタケ感染苗木を植栽する方法などが試みられて

きている。感染苗木の植栽によるマツタケ発生の報告は国内外で数例あるものの (枯木・川上, 1985)、それは植栽苗木に感染させた菌によるものか、そこに自然に増殖した菌によるものか検証されておらず、人工栽培に成功したとはいえないのが現状である。また、菌床での人工栽培技術の開発に向けては、純粋培養において子実体原基が形成されたという報告もあるものの (川合・小川, 1976)、それがその後、子実体には成長していない。以上のように、現在までに、マツタケの人工栽培技術は確立していない。しかし、実験室レベルでマツタケを接種したアカマツ実生苗でのシロの形成に成功しており (Yamada *et al.*, 2006; 小林ら, 2007)、このシロ形成苗の野外への馴化により、人工栽培技術の確立が期待される。

3. ホンシメジ

ホンシメジ (*Lyophyllum shimeji*) は、キシメジ科ホンシメジ属のきのこである (図3)。ホンシメジは、アカマツとコナラの混交林下などに発生する。ホンシメジは、菌根性とされているが、デンプン分解能を有することが明らかになり (Ohta, 1994a)、大麦や米ぬかなどを含んだ培地にて良好に成長し、子実体を発生させ (Ohta, 1994b)、菌根性であるにも関わらず菌床栽培によるきのこ栽培が可能になった (太田, 1998)。一方、野外林地での、共生関係を再現したきのこ発生技術の開発が取り組まれてきている。ここでは、野外林地で、ホンシメジ菌糸を増殖させた菌床を土壌中に埋め込む手法 (河合, 1999; 藤田ら, 1998) や、素焼き鉢においてアカマツ取り木苗にホンシメジ菌を感染させて感染苗木を植栽する方法 (Kawai, 1997) などである。この場合、菌根化する根系部位である細根を多く作り出すため根系を切断するような処理を行うこともある。これによって、林地などにおいて、ホンシメジの子実体を発生させることができていく (図3)。

4. トリュフ

トリュフ (*Tuber* spp) は、子囊菌類の地下生きのこであり (図4)、多くの場合球形のきのこを発生させる。トリュフは、主に、イタリア、フランス、スペインなどの地中海沿岸地域にて発生し、これらの料理にとっては欠かせない食材である。トリュフは、ブナ科樹木やハシバミ、シナノキなどの樹下に発生し、中性からアルカリ性を呈した石灰岩由来の土壌にて多く発生する。

トリュフには様々な種類があり、それらは、白トリュ



図3 林地への菌糸接種により発生したホンシメジ



図4 イボセイヨウショウロ (*Tuber indicum*)

フ (*Tu. magnatum*), 黒トリュフ (*Tu. melanosporum*), 夏トリュフ (*Tu. aestivum*), 冬トリュフ (*Tu. brumale*) などと呼ばれ、発生地やその時期が異なっている。これらのうち、白トリュフは人工栽培ができず、最も高価である。黒トリュフについては、古くから人工栽培技術は開発されている。19世紀初頭に、ブナ科樹木の発生地地表に自然落下した種子の発芽した実生苗を移植することで、そこでトリュフが発生したことが報告されている (Hall & Zambonelli, 2012)。この手法は開発者の名にちなんで、Talon法と呼ばれ、その手法は18年のパリ万博で紹介されており、長くこの自然感染苗の移植によるトリュフの人工栽培が行われてきた。しかし、その後、他の共存する菌根菌が感染したり、土壌病原菌が感染したりしたことなどによって、移植後のトリュフ発生が減少したため、確実に感染苗を作出する方法が検討された。その結果、採取した子実体から孢子懸濁液を作り、植栽したこれら樹木に散

布することで感染苗を作成させ、それを林地に植栽して人工的にトリュフを発生させることができている。

このように、孢子散布や発生地土壌への植栽によってトリュフ菌を感染させることが容易である。しかし、トリュフ菌の品質を維持するには、トリュフ菌を分離して、それを接種源として感染させる必要がある。しかし、トリュフ菌の培養菌糸を用いた研究はほとんどない (Iotti *et al.*, 2002)。これは、トリュフ菌の分離が困難であることが考えられる。トリュフ菌は子囊菌類であり、生活史における核相の変化については、担子菌類である他の食用菌とは異なることが考えられる。黒トリュフがヘテロタリックであるということが最近報告された (Rubini *et al.*, 2014)。これら生活史における核相の変化について明らかにすることは、安定的なトリュフ生産技術の開発や、トリュフ菌の交配手法を確立する上でも重要である。

我が国においても、今関・本郷 (1989) は、セイヨウショウロタケ属 (*Tuber*) 菌3種について言及した。また、山中ら (2000) は、日本産トリュフ属として、イボセイヨウイボショウロ (*Tu. indicum*) の形態を中国産の *Tu. indicum* やフランス産黒トリュフ (*Tu. melanosporum*) と比較している。また、最近になって、Kinoshita *et al.* (2011) は、日本産トリュフとして、20種が存在することを指摘した。これら日本産トリュフについても、人工栽培技術の開発に向けては、共生する樹種や発生地の土壌などの生態的特性を明らかにし、感染苗木の作成と植栽が必要である。

5. おわりに

以上のように、国内外での菌根性食用菌の人工栽培技術開発に向けては、菌の生態生理特性の解明と、それに基づいて取り組んでいくことになる。しかし、その技術開発の進捗状況は種によって様々である。これら経済的価値の高い菌根性きのこの人工栽培技術の開発は山村地域を中心にした新たな市場を生むことが期待される。近年、分子生物学的手法の導入や各種技術の精度の向上に伴って、これら菌根菌の生態についての新たな知見が得られており、その目標の達成に向けて進んでいるものと考えられる。

謝辞

本原稿は、平成27年9月に開催された日本微生物資源学会大会でのシンポジウムにて発表した内容に基づいて作成したものです。シンポジウムにてお話をさせて頂く機会を頂いた、大会委員長の鳥取大学・中桐

昭教授をはじめとして、大会の運営に携われた皆様に心からお礼を申し上げます。

文 献

- 赤間慶子, 岡部宏秋, 山中高史 2008. 様々な培地上における外生菌根菌の成長様式. 森林総合研究所研究報告 **7**: 165-181.
- Danell, E. & Camacho, F.J. 1997. Successful cultivation of the golden chanterelle. *Nature* **385**: 303.
- Duddridge, J.A. 1986. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. III. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and 11 species of ectomycorrhizal hosts in vitro in the absence of exogenous carbohydrate. *New Phytol.* **103**: 457-464.
- Endo, N., Gisusi, S., Fukuda, M. & Yamada, A. 2013. *In vitro* mycorrhization and acclimatization of *Amanita caesareoides* and its relatives on *Pinus densiflora*. *Mycorrhiza* **23**: 303-315.
- Endo, N., Kawamura, F., Kitahara, R., Sakuma, D., Fukuda, M. & Yamada, A. 2014. Synthesis of Japanese *Boletus edulis* ectomycorrhizae with Japanese red pine. *Mycoscience* **55**: 405-416.
- 衛藤慎也 1990. 菌根合成によるマツタケ菌感染苗の育成. 広島県林試研報 **24**: 1-6.
- 衛藤慎也 1999. 容器内混合培養法によるマツタケ菌根合成苗の育成. 広島県林試研報 **31**: 21-25.
- 衛藤慎也 2001. マツタケ種菌の開発と林地接種について. 広島県林試研報 **33**: 37-39.
- 藤田 徹, 中村善剛, 上家 祐 1998. ホンシメジ林地栽培試験 (I) —子実体形成試験—. 森林応用研究 **7**: 101-104.
- Guerin-Laguette, A., Vaario, L.M., Matsushita, N., Shindo, K., Suzuki, K. & Lapeyrie, F. 2003. Growth stimulation of a Shiro-like, mycorrhiza forming, mycelium of *Tricholoma matsutake* on solid substrates by non-ionic surfactants or vegetable oil. *Mycol. Prog.* **2**: 37-44.
- Guerin-Laguette, A., Matsushita, N., Lapeyrie, F., Shindo, K. & Suzuki, K. 2005. Successful inoculation of mature pine with *Tricholoma matsutake*. *Mycorrhiza* **15**: 301-305.
- Hall, I.R. & Zambonelli, A. 2012. Laying the foundations, *In* Zambonelli, A. & Bonito, G.M. (eds.), *Edible Ectomycorrhizal Mushrooms*, p. 3-16, Springer, Berlin.
- 浜田 稔 1964. マツタケおよび類縁菌の菌糸純粋培養法, マツタケ研究懇話会 (編), マツタケ—研究と増産—, p. 97-100, 中西印刷, 京都.
- 広本一由 1960. マツタケ菌の純粋分離と培養. 植物学雑誌 **73**: 326-333.
- 今関六也, 本郷次雄 1989. 原色日本新菌類図鑑 (II), 保育社, 大阪.
- Iotti, M., Amicucci, A., Stocchi, V. & Zambonelli, A. 2002. Morphological and molecular characterization of mycelia of some *Tuber* species in pure culture. *New Phytol.* **155**: 499-505.
- 枯木熊人, 川上嘉章 1985. マツタケ菌感染苗によるシロの人工形成. 広島県林試研報 **20**: 13-23.
- Kataoka, R., Siddiqui, Z.A., Kikuchi, J., Ando, M., Sriwati, R., Nozaki, A. & Futai, K. 2012. Detecting nonculturable bacteria in the active mycorrhizal zone of the pine mushroom *Tricholoma matsutake*. *J. Microbiol.* **50**: 199-206.
- 川合正允, 阿部重雄 1976. まつたけの培養に関する研究. 第1報 まつたけの栄養生長におよぼすC源およびN源の影響. 日菌報 **17**: 159-167.
- 川合正允, 小川 眞 1976. まつたけの培養に関する研究. 第4報 種菌培養の検討と菌床栽培の試み. 日菌報 **17**: 499-505.
- 川合正允, 寺田 治 1976. まつたけの培養に関する研究. 第2報 まつたけの栄養生長におよぼすビタミン類, 核酸関連物質, 植物ホルモン類および金属イオンの影響. 日菌報 **17**: 168-174.
- Kawai, M. 1997. Artificial ectomycorrhizal formation on roots of air-layered *Pinus densiflora* saplings by inoculation with *Lyophyllum shimeji*. *Mycologia* **89**: 228-232.
- 河合昌孝 1999. ホンシメジ培養菌糸体の林地埋設による人工感染と子実体の発生. 奈良県林試研報 **29**: 1-7.
- Kinoshita, A., Sasaki, H. & Nara, K. 2011. Phylogeny and diversity of Japanese truffles (*Tuber* spp.) inferred from sequences of four nuclear loci. *Mycologia* **103**: 779-794.
- 小林久泰, 綿引健夫, 倉持眞寿美, 小野瀬究明, 山田明義 2007. 大型培養容器によるマツタケのシロ様構造を有するマツ菌根苗の生産. 日本きのこ学会誌

- 15 : 151-155.
- Kusuda, M., Ueda, M., Miyatake, K. & Terashita, T. 2008 Characterization of the carbohydrase productions of an ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma matsutake*. *Mycoscience* **49**: 291-297.
- 松下範久 2008. マツタケの人工シロ形成方法. *森林科学* **53** : 37-38.
- Murata, H., Babasaki, K., Saegusa, T., Takemoto, K., Yamada, A. & Ohta, A. 2008. Traceability of Asian *matsutake*, specialty mushrooms produced by the ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma matsutake*, on the basis of retroelement-based DNA markers. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**: 2023-2031.
- 西野勝俊, 城美沙緒, 大泉一也, 大倉龍起, 藤田 徹, 山口宗義, 山田明義, 田中千尋, 笹森貴裕, 時任宣博, 平井伸博 2015. マツタケシロの真の抗菌物質とその生理的役割. 日本きのこ学会第 19 回大会 : 33.
- 小川 眞, 川合正允 1976. まつたけの培養に関する研究. 第 3 報 まつたけの栄養生長におよぼす天然生育促進因子の影響. *日菌報* **17** : 492-498.
- Ohara, H. & Hamada, M. 1967. Disappearance of bacteria from the zone of active mycorrhizas in *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Singer. *Nature* **213**: 528-529.
- 大森久夫 1994. 林地を立体的に活用した「アマタケの栽培試験」. *岩手の林業* **440** : 6-7.
- Ohta, A. 1986. Basidiospore germination of *Tricholoma matsutake* (I). Effects of organic acids on swelling and germination of the basidiospores. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **27**: 167-173.
- Ohta, A. 1990. A new medium for mycelial growth of mycorrhizal fungi. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **31**: 323-334.
- Ohta, A. 1994a. Production of fruit-bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. *Mycoscience* **35**: 147-151.
- Ohta, A. 1994b. Some cultural characteristics of mycelia of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*. *Mycoscience* **35**: 83-87.
- 太田 明 1998. ホンシメジの実用栽培のための栽培条件. *日菌報* **39** : 13-20.
- 太田 明 2006. マツタケ胞子を播種した寒天培地から分離される菌糸の核数. 滋賀県森林センター業務報告 **38** : 29-31.
- Ota, Y., Yamanaka, T., Murata, H., Neda, H., Ohta, A., Kawai, M., Yamada, A., Konno, M. & Tanaka, C. 2012. Phylogenetic relationship and species delimitation of *matsutake* and allied species based on multilocus phylogeny and haplotype analyses. *Mycologia* **104**: 1369-1380.
- Rubini, A., Riccioni, C., Belfiori, B. & Paolocci, F. 2014. Impact of the competition between mating types on the cultivation of *Tuber melanosporum*: Romeo and Juliet and the matter of space and time. *Mycorrhiza* **24**: S19-S27.
- 柴田 尚 1989. カラマツ林内でのハナイグチの増殖. *山梨県林技セ報告* **17** : 16-23.
- 島菌平雄 1979. マツタケ, ニセマツタケおよびバカマツタケの寒天培地地上におけるコロニー形態の比較. *日菌報* **20** : 176-184.
- 霜村典宏, 有吉邦夫 2012. ショウロ培養菌体接種による子実体生産技術. 特開 2012-080811.
- 玉田克志, 練 春蘭 2004. マツタケ胞子分離により得られた菌糸体の特性. *東北森林科学会誌* **9** : 90-93.
- 富川康之 2006. 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. *島根中山間セ研報* **2** : 43-49.
- 鶴田輝之, 川合正允 1979. まつたけの培養に関する研究, 第 7 報 マツタケのシロから抽出された揮発性成分の抗菌作用. *日菌報* **20** : 211-219.
- Vaario, L.M., Guerin-Laguette, A., Gill, W.M., Lapeyrie, F. & Suzuki, K. 2000. Only two weeks are required for *Tricholoma matsutake* to differentiate ectomycorrhizal Hartig net structures in roots of *Pinus densiflora* seedlings cultivated on artificial substrate. *J. For. Res.* **5**: 293-297.
- Vaario, L.M., Guerin-Laguette, A., Matsushita, N., Suzuki, K. & Lapeyrie, F. 2002. Saprobic potential of *Tricholoma matsutake*: growth over pine bark treated with surfactants. *Mycorrhiza* **12**: 1-5.
- Vaario, L.M., Pennanen, T., Sarjala, T., Savonen, E.M. & Heinonsalo, J. 2009. Ectomycorrhization of *Tricholoma matsutake* and two major conifers in Finland — an assessment of *in vitro* mycorrhiza formation. *Mycorrhiza* **20**: 511-518.
- Vaario, L.M., Fritze, H., Spetz, P., Heinonsalo, J., Hanajík, P. & Pennanen, T. 2011. *Tricholoma matsutake* dominates diverse microbial

- communities in different forest soils. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**: 8523-8531.
- Vaario, L.M., Heinonsalo, J., Spetz, P., Pennanen, T., Heinonen, J., Tervahauta, A. & Fritze, H. 2012. The ectomycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* is a facultative saprotroph *in vitro*. *Mycorrhiza* **22**: 409-418.
- 山田明義, 寺崎正孝 1998. 茨城県産マツタケ培養菌株の性状. *日林論* **109**: 483-484.
- Yamada, A., Kanekawa, S. & Ohmasa, M. 1999a. Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* on *Pinus densiflora*. *Mycoscience* **40**: 193-198.
- Yamada, A., Maeda, K. & Ohmasa, M. 1999b. Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* isolates on seedlings of *Pinus densiflora in vitro*. *Mycoscience* **40**: 455-463.
- Yamada, A. & Murata, H. 2001. *In vitro* mycorrhizal synthesis of *Tricholoma matsutake* with *Pinus* and *Picea*. Abstracts of 3rd international conference on mycorrhizas, Adelaide, Australia.
- Yamada, A., Ogura, T., Degawa, Y. & Ohmasa, M. 2001a. Isolation of *Tricholoma matsutake* and *Tricholoma bakamatsutake* cultures from field-collected ectomycorrhizas. *Mycoscience* **42**: 43-50.
- Yamada, A., Ogura, T. & Ohmasa, M. 2001b. Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by *in vitro* mycorrhizal synthesis. I. Primordium and basidiocarp formation in open-pot culture. *Mycorrhiza* **11**: 59-66.
- Yamada, A., Maeda, K., Kobayashi, H. & Murata, H. 2006. Ectomycorrhizal symbiosis *in vitro* between *Tricholoma matsutake* and *Pinus densiflora* seedlings that resembles naturally occurring 'shiro'. *Mycorrhiza* **16**: 111-116.
- Yamada, A., Kobayashi, H., Murata, H., Kalmış, E., Kalyoncu, F. & Fukuda, M. 2009. *In vitro* ectomycorrhizal specificity between the Asian red pine *Pinus densiflora* and *Tricholoma matsutake* and allied species from worldwide Pinaceae and Fagaceae forests. *Mycorrhiza* **20**: 333-339.
- 山中勝次, 難波謙二, 中西純一 2000. 中国雲南省産黒トリュフの形態的特徴. *日本菌学会会報* **41**: 79-84.
- Yamanaka, T., Maruyama, T., Yamada, A., Miyazaki, Y. & Kikuchi, T. 2012. Ectomycorrhizal formation on regenerated somatic plants of pines after inoculation with *Tricholoma matsutake*. *Mushroom Sci. Biotech.* **20**: 93-97.