

## 総説 (Review article)

### マツタケ人工栽培技術開発に向けた研究

山中 高史<sup>1)\*</sup>

### Researches for development of the cultivation of 'matsutake', a prized mushroom produced by the ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma matsutake*

Takashi YAMANAKA<sup>1)\*</sup>

#### Abstract

'Matsutake' (*Tricholoma matsutake*) is one of the most economically important edible ectomycorrhizal mushrooms in the world. Fruit bodies of *T. matsutake* develop on shiros which are mycelial aggregations in association with mycorrhizal roots and soil particles in well-drained and nutrient-poor forest soil. In spite of many attempts to cultivate 'matsutake', none has succeeded. Therefore, commercial demand is met by harvesting fruit bodies that grow in ectomycorrhizal coniferous forests, mainly under *Pinus densiflora* trees. In the early 1940s about 12,000 tons of 'matsutake' were harvested in Japan, but production has since drastically decreased to less than 100 tons per year. Possible causes are pine wilt disease and modern forestry management practices, which might have damaged the symbiotic association between *T. matsutake* and pine trees. Recently, *T. matsutake* and its allied species were specified by the application of new techniques of molecular biology, which enabled to specify the origins of Asian 'matsukakes', and to clarify mosaic structures of shiro. Furthermore, researches on the mycorrhizal association between *T. matsutake* and pine trees have been advanced. In this paper I described researches on *T. matsutake*, to prepare the information necessary for improving the production of 'matsutake' in pine forests and establishing an artificial cultivation system.

**Key words :** *Tricholoma matsutake*, ectomycorrhiza, edible mushroom, cultivation

#### 要旨

マツタケ (*Tricholoma matsutake*) は、世界で最も高価な食用きのこの一種である。マツタケは、シロという、土壌や菌根に繋がる菌糸塊を土壌中に発達させて、そこからきのこを発生させる。これまで、人工栽培技術の確立に向けた取り組みが多くなされてきたが、成功例は一例もない。そのためマツタケの生産は、アカマツなどマツ科の針葉樹林において自然発生するものを収穫するのみである。マツタケは1940年代前半には、12,000トンの収穫量があったが、近年は、数十トンにまで激減している。その原因としてはマツ材線虫病の発生によるマツ林の減少や、マツ林が十分に管理されずにマツタケとマツとの菌根共生が損なわれてきたことが考えられる。近年、接種試験における菌根やシロ様構造物が作製されるようになり、また宿主範囲の研究や共生形態(樹木への影響)が解明されてきた。また、DNAを用いて菌株の識別が可能となり、原産国が容易に判別でき、シロの遺伝学的構造など解明されてきた。また、マツタケとマツの共生関係に関する知見も得られている。本総説においては、最初に、基礎的なマツタケ研究の成果を紹介して、その後、マツタケ人工栽培に関する様々な取り組みについて紹介する。

キーワード：マツタケ、菌根、子実体、食用菌、きのこ栽培

#### 1. はじめに

マツタケ (*Tricholoma matsutake* (S. Ito & Imai) Sing.) は、秋の味覚として、古くから我が国の食卓を賑わしてきている。マツタケは、アカマツ林などにおいて、シロという、土壌や菌根に繋がる菌糸塊を土壌中に発達させて、そこからきのこ(子実体)を発生させる。そのため、降水量や温度などの影響を受けて豊凶の差が著しいこともあり、安定的な人工栽培技術の確

立が求められている。しかし、これまでに成功例は一つもなく、マツタケは、自然発生するものを収穫するのみである。マツタケは1940年代前半には、12,000トンの収穫量があったが、近年は、数十トンにまで激減しており(Fig. 1)、それに伴って価格も大きく上昇している。その原因の一つとしては、マツ林が十分に管理されなくなり、マツタケとマツとの菌根共生が損なわれたことがあげられる。燃料に薪などを用いてい

原稿受付：平成22年7月29日 Received 29 July 2010 原稿受理：平成24年5月2日 Accepted 2 May 2012

1) 森林総合研究所森林微生物研究領域 Department of Forest Microbiology, Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI)

\* 森林総合研究所森林微生物研究領域 〒305-8687 茨城県つくば市松の里1 Department of Forest Microbiology, Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI), 1 Matsunosato, Tsukuba, Ibaraki 305-8687, Japan, e-mail: yamanaka@ffpri.affrc.go.jp

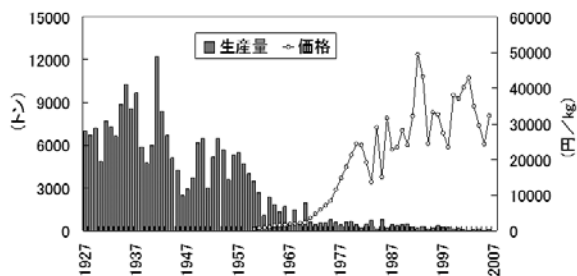


Fig. 1. マツタケ生産量と価格の推移 林野庁データをもとに作図。  
Annual production and price of *Tricholoma matsutake*.

た頃は、燃料を得るための落ち葉掻きや雑木伐採などマツ林が利用されていたが、化石燃料への転換によって、マツ林は利用されなくなり、マツの生育に適した環境が維持されなくなった。また、マツ材線虫病の問題も大きい (Iwase 1997)。広島、岡山、兵庫、京都などのマツタケ産地では、マツ材線虫病によりマツ林は壊滅的な被害を受けており、これら地域での生産量は激減している。これら国内の収穫量の減少に伴い、海外からのマツタケの輸入が増加しており、最近では、国内消費量の94 - 99%が海外からの輸入による。主な輸入元は、2011年度の輸入量(1,215Mg)の多い順に、中国(72%)、カナダ(12%)、アメリカ合衆国(8.2%)、トルコ(5.3%)、メキシコ(1.4%)、韓国(0.9%)、ブータン(0.06%)、モロッコ(0.01%)となっている(財務省貿易統計)。

近年、マツタケの分類や生態は分子生物学の新しい手法の導入により進展してきている。一方で、従来の研究により、マツタケの諸特性が明らかにされている。そこで本総説においては、これまでのマツタケ研究の成果について紹介する。

## 2. 分類・地理

マツタケ (*T. matsutake*) は、ハラタケ目キシメジ科キシメジ属の菌類である。主にアカマツ林内の地上に発生するが、ほかにクロマツ、ハイマツ、ツガ、コメツガ、アカエゾマツ及びエゾマツ林において秋に発生する(今関・本郷 1987)。ときには梅雨の時期に発生する場合もある。また我が国では、マツタケの近縁種としては、マツタケモドキ (*T. robustum* (Alb & Schw.: Fr.) Ricken s. Imazeki)、ニセマツタケ (*T. fulvocastaneum* Hongo) およびバカマツタケ (*T. bakamatsutake* Hongo) がある (Photo 1)。

国外でもマツタケおよびその近縁種が知られている。これらの種は、形態的特徴、発生地の植生、および遺伝情報に基づいて徐々に整理されつつある。中国や韓国に発生するものは、日本と同種とされているが、中国のコナラ属樹下には *T. zangii* Z. M Cao, Y. J. Yao & Pegler が発生する (Cao et al. 2003)。ヨーロ



Photo 1. A: マツタケ B: バカマツタケ  
A: *T. matsutake* B: *T. bakamatsutake*

ッパ、主に地中海沿岸に発生するマツタケ類としては、*T. caligatum* (Viv.) Ricken や *T. anatolicum* H. H. Doğan & Intini が報告されている (Kytövuori 1989, Intini et al. 2003)。北欧やヨーロッパ中部の山岳地帯のヨーロッパアカマツ (*Pinus sylvestris* L.) 林では *T. nauseosum* (Blytt) Kytöv. が、またドイツトウヒ (*Picea abies* (L.) Karst.) 林には *T. dulciolens* Kytöv. が発生する (Kytövuori 1989)。このうち *T. nauseosum* は日本のマツタケと形態的に酷似しており同一種であると報告され (Kytövuori 1989)、また rDNA の ITS 領域の塩基配列の比較によっても同一種であることが報告されている (Bergius and Danell 2000, Matsushita et al. 2005)。北米では、日本のマツタケよりも白みを帯びた *T. magnivelare* (Peck) Redhead がマツタケの近縁種として知られている (Hosford et al. 1997)。

## 3. 発生環境

マツタケが発生する樹種としては、前述したような主にマツ属の針葉樹である。樹齢としては、30年生頃から発生しはじめて、50 - 60年生頃に最盛期を迎えると一般に言われている (吉村 2004)。マツタケ発生

に適した土壌については、発生量の多い地域である、広島、岡山、兵庫、京都、長野の土壌をみると、母岩として、花崗岩、粘板岩、砂岩、チャート、礫岩などの酸性土壌が適していると言える。また、岩手では、黒ボク土壌や石灰岩土壌での発生みられる。このほか、発生に関わる気象要因としては、日長、降水、温度（地温）があげられる。日長および降水については、特別マツタケの発生に対して明瞭な影響は報告されていないが（衣川 1964）、土壌中でのシロの発達には、一定の湿度が必要であるため、一定量の降水は必要である。しかし、実験的な灌水によるマツタケ原基形成への影響は認められていない（衣川 1964）。地温との関係は、京都においては、秋に地温が 19℃に下がるとマツタケ原基形成が開始する（衣川 1964）。地域により、その値は異なると思われる（吉村 2004）。

#### 4. 栄養生理

マツタケの菌株は、きのこの傘の組織または開ききっていないひだ片から分離するか、ヒダに形成された孢子（担子孢子）を落下させてそれを培地上で発芽させて得る方法による（Murata et al. 2005）。一方、シロの菌根から菌を分離することも可能である（Yamada et al. 2001a）。これら分離された菌の肉眼的特徴としては、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 $\mu\text{m}$  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）。

##### (1) 孢子発芽

マツタケの担子孢子的発芽には、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孢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 個の孢子に由来する 1 核の菌株（単孢子分離菌株）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、単孢子分離を試みたが、全ての孢子分離株が 2 核であり、孢子が 2 核性である可能性を指摘している。きのこの品種改良には、単孢子分離によって 1 核の菌糸を得て、それを交配して、様々な 2 核菌糸を得て、栽培に適した菌株を選抜することが必要である。マツタケにおいても、単孢子分離技術の確立は、優良な菌株を得るための技術として重要である。

##### (2) 菌糸成長

マツタケの栄養生理については、川合らの論文や太

田（Ohta 1990）によってまとめられている。マツタケの栄養生長に適した培地 pH は 5 前後であった（浜田 1964, Ohta 1990）。また、菌糸生長に適した温度は、20 ~ 25℃にある（山田・寺崎 1998）。炭素源としては、単糖類の、ブドウ糖、果糖およびマンノース、また二糖類の麦芽糖が有効であり、通常の菌根菌と大きく異なるものではない（川合・阿部 1976）。また、ブドウ糖と果糖を併用すると効果は大きい。窒素源としては、コーンステーパーリカー、乾燥酵母、カザミノ酸やポリペプトンが良い。アミノ酸については単独では 9 種のアミノ酸が良好であった。無機態窒素ではアンモニウム態は有効であったが、硝酸態は利用できない。ビタミン類は、チアミンとニコチン酸の効果が大きく、また併用することでの相乗効果が認められた（川合・寺田 1976）。金属イオンは、鉄 ( $\text{Fe}^{+3}$ ) とマグネシウムイオン ( $\text{Mg}^{+2}$ ) の効果が大きい。また、天然物の中では、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、非添加に比べて、最大で約 2.5 倍のマツタケ菌菌糸成長促進効果が認められた（小川・川合 1976）。界面活性剤である Tween 80 やオリーブ油を、土壌または土壌とバーミキュライトとアカマツ樹皮粉末を混合したところに添加した場合、非添加に比べて最大で 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。

##### (3) 腐朽能力

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根を介して獲得するため、リグニンやセルロースなどの植物由来の難溶性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、野外土壌中でシロを発達させるには、樹木の光合成産物だけでなく、土壌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、マツタケが樹皮を栄養源として利用していることが示されている（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  $\beta$ -1, 4 グリコシド結合を分解する  $\beta$ -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. in press）。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、フィンランドのヨーロッパアカマツ、ドイツウヒおよびオウシュウシラカンバ混交林内に形成されたシロ中においては、キシロシダーゼ活性が高いことか

ら、マツタケは共生的に養分を獲得して増殖するものの、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.)。このような腐生能力は、共生相手からの養分供給を受けずに増殖する能力を有することを示すものであり、腐生菌における手法による人工栽培の成否にかかるものとして、今後の研究の進展が期待される。

## 5. シロ

マツタケは土壤中に菌糸と樹木根の混合体である「シロ」を拡がらせ、そこからキノコを発生させる。小川 (1975) によるとシロとは、マツタケの発生する場所を指すものとして使われてきた言葉であり、多くの場合「白」という言葉が当てられる。それは、そこが土壤中を拡がる菌糸によって白くなっていることによる。このほか、「代」や「城」という言葉が当てられている。シロの位置は、発生するキノコの位置から特定され、それに基づいて、シロの成長速度が通常1年で10～15 cm であると推定されている (小川 1975)。キノコの発生はシロの先端から内側に数10 cm のところに生え、さらにその内側はキノコが発生することはほとんど無く「イヤ地」と呼ばれる。シロは、元々、キノコから落下した担子胞子の発芽による単核菌糸が融合し、複核化した菌糸体が伸長して形成される。そのことから一つのシロは、遺伝的に均一のジェネットであると考えられてきた。しかし、マツタケ菌の個体を識別可能な様々な遺伝子マーカーが用いられ、シロの発達に関わる様々な新知見を得ることが出来ている。シロに発生するマツタケ子実体およびそこから分離した菌糸の遺伝子型を、レトロトランスポゾン遺伝子やマイクロサテライトの多型を調べたところ、多くのシロが2つ以上のジェネットから成立していることがわかった (Murata et al. 2005, Lian et al. 2006)。さらに、シロ内部のマツタケ菌根から得た遺伝子について一遺伝子多型の解析を進めたところ、シロの発達に伴ってマツタケ菌のジェネットの多様度は高まって行くことがわかった (Amend et al. 2009)。このことにより、シロとして成長を開始した複核化の菌糸体においては、担子胞子の発芽による単核菌糸との交配 (ダイモン交配) による遺伝子組換えが繰り返されていることや (Murata et al. 2005) や、複数のシロの融合により1つのシロを形成することが示唆された (小川 1975, Lian et al. 2006)。

国産マツタケの収穫量の減少とともに、諸外国より、多くのマツタケが輸入されているが、中国からは、全輸入量の72%が中国産である。そのため中国産マツタケを安定的に生産し続けるためのマツタケシロの発生様式に関する研究が、中国産マツタケの記載 (Cao et al. 2003) や地域間変異 (Matsushita et al. 2005, Bao et al. 2007, Murata et al. 2008, Xu et al. 2010, Wan et

al. 2012) などに関する研究とともに進められてきている。一遺伝子多型の解析によってマツタケ個体群を比較したところ、個体群間の相違の程度は、個体群間の距離だけでなく、地形による影響も受けていることが明らかになっており、マツタケ個体群の形成には胞子の飛散と定着が重要であることが示された (Amend et al. 2010)。さらに、地マツタケ個体群の変異は地域内でも地域間でも大きいことが報告されている。地域内の変異の大きさは、胞子由来でシロが形成されているとともに、その発達とともに遺伝子組換えを繰り返していることを示唆している。また、地域間の差異の大きさは、担子胞子はそれほど広範囲には飛散していないことを示している。以上のことから、地域のマツタケ個体群を維持するためには、マツタケ子実体を採取する際、全ての子実体を若いうちに採取するのではなく、一部そのままの状態にして担子胞子を飛散させることが、マツタケの子実体発生を維持するのに重要であるを述べている (Xu et al. 2008)。

マツタケが発生する土壤は貧栄養であり、根、菌根、さらにシロには、そこに特異的に存在する物質に応じて様々な微生物が存在しており、マツタケとの関係が注目される。Ohara and Hamada (1967) は、希釈平板法によって、シロ各部の微生物数を調査したところ、マツタケシロのキノコが発生する部位においては、微生物数が他の部位よりも低いことから、マツタケ菌根による抗菌作用があることを明らかにした。この活性の高い菌根 (活性菌根) による抗菌作用は、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 $\alpha$ -ピネンであることが特定され、抗細菌作用が明らかになっている。しかし、抗真菌作用を有する物質は特定されていない。

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、シロ及びその上層土壤には、*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)。これら微生物のシロ環境への適応様式や、マツタケ菌成長への影響については、野外のマツタケシロの発達機構を把握する上でも重要な情報である。

## 6. 菌根共生

マツタケが菌根性であることは、野外のシロにおいてマツなどの樹木細根での菌根形成を観察すること、または分離したマツタケ菌を樹木に接種して菌根形成

を観察することにより確認する。

菌根形成は、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を指標とすることが一般的である (Photo 2)。

野外シロにおけるマツタケ菌根の記載については、これまでいくつかの報告がある。Masui (1927) は、アカマツに形成された菌根について、根の外側を覆う菌糸層はあまり発達せず、タンニン顆粒が根の皮層と菌糸層との間に分布すること、菌糸が細胞間隙に侵入していることを報告しているが、ハルティッヒ・ネットの形成には言及していない。さらに、一部の菌糸が細胞壁内部にまで侵入していることを述べている。子実体から菌根へとつながる菌糸は、腐植につながるものがないことから絶対依存的な菌根菌であるとしている。接種試験においても同様な菌糸の侵入様式が観察され、またアカマツ実生の葉も非接種の対照区が緑色であるのに対して、黄化し成長しなくなった。これらの結果から、マツタケは寄生性の強い菌であると指摘した。同様に、小川 (1975) は、アカマツの根に形成される菌根は、根の表面を覆わず、また、ハルティッヒ・ネットを形成せず、菌糸が細胞間隙だけでなく、細胞内にも侵入していたことから、寄生性の強い特徴を有していると述べている。一方、Yamada et al. (1999a) は、マツタケ子実体からつながる菌糸から形成された菌根を記載したところ、根の周囲を覆う菌糸とハルティッヒ・ネットの形成から、マツタケは典型的な

外菌根を形成することを報告している。Yamada et al. (1999a) が指摘しているように、Masui (1927) が接種試験に用いた菌株がマツタケ菌であったのか、また、小川 (1975) においては、菌根の記載は、通常の菌根形成部位である側根だけでなく、主根をも含めており、観察部位が異なっていること、また寄生性を示す根拠である細胞内侵入菌糸がマツタケ菌であるのか他の菌であるのかが確認できないことなどから、詳細な結果の比較は困難である。

マツタケの菌根を形成させる手法は、室内実験で、フラスコや培養瓶などの密閉容器内で育成した無菌の苗にマツタケ菌を接種する方法の他、野外の苗に菌を接種する方法やシロの先端に苗を植える方法がある。衛藤 (1990) は、密閉容器で3箇月または1年育てた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。その後、これらを鉢に移植して育てたところ、菌根の消失した苗数が、3箇月育成苗の方が、1年間育成苗よりも多いことから、植物体サイズが菌根の維持に重要であると報告した。また、培地への鉄（クエン酸鉄）の添加により菌糸成長と菌根合成が向上した（衛藤 1999）。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）。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



Photo 2. アカマツ実生へマツタケ菌株を接種して形成された外生菌根  
右：細根部が白色の菌糸（矢印）に覆われている。左：細胞間隙に菌糸が侵入してハルティッヒ・ネット (HN) を形成している。  
Ectomycorrhizae formed by *T. matsutake* on roots of *Pinus densiflora*.

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ことを報告している。Yamada et al. (1999b) は、滅菌したパーミキュライトに、発芽1週間目の無菌アカマツ実生を植え、同時にマツタケ菌を接種して育てたところ、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。このとき、菌の感染により、実生の成長は、菌を接種しなかった場合と比べてほぼ同じが、わずかに向上したと述べており、成長が抑制されるなど、マツタケが寄生性を示す結果にはなっていない。マツタケの接種により、アカマツ実生の成長が明瞭に向上したことは、Guerin-Laguette et al. (2004) によって報告されているが、このときもハルティッヒ・ネットの形成は認められたが、明瞭な菌套の形成は記述されていない。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のち発芽させて得た、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-Laguette 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。また、シロ様の菌糸体が形成された報告 (Yamada et al. 2006, 小林ら 2007) においては、培養にはマツタケの発生地を滅菌して用いていることから、接種による菌根形成には、基物の選択も重要である。

国外からマツタケおよびその近縁種が報告されるにつれて、それらの類縁関係が解明されてきた。それと共に、人工栽培技術に適した種の選抜のために各地から集めた菌株を用いた菌根形成試験が実施されている。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、ハルティッヒ・ネットを形成した。一方、日本産マツタケは欧州アカマツにのみハルティッヒ・ネットを形成した。このときのマツタケ感染による植物体成長への影響は、日本産マツタケは、多くの場合、両樹種の地上高、乾燥重量、窒素および炭素含量に対して抑制的に作用したが、フィンランド産マツタケ菌は、両樹種の窒素含量を低下させ、ドイツトウヒの乾燥重量を低下させたのみである。両菌株は樹木の成長に対しての促進効果は認められなかった。菌株によって共生能力が異なることが明らかになったが、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断言できない。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、全てアカマツ実生に明瞭な菌根を形成したが、実生への成長には、マツタケおよびその近縁種間では、明瞭な差は認められなかった。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 and Murata 2001)。また、テーダマツでも、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 (Photo 3)。以上のように、各地から集めたマツタケ菌については、接種試験においては、マツ属やトウヒ属などのマツ科の樹種であれば菌根形成可能であるが、必ずしも菌根形成によって樹木の生長が促進されるのではないことが示されている。これは、菌と樹木

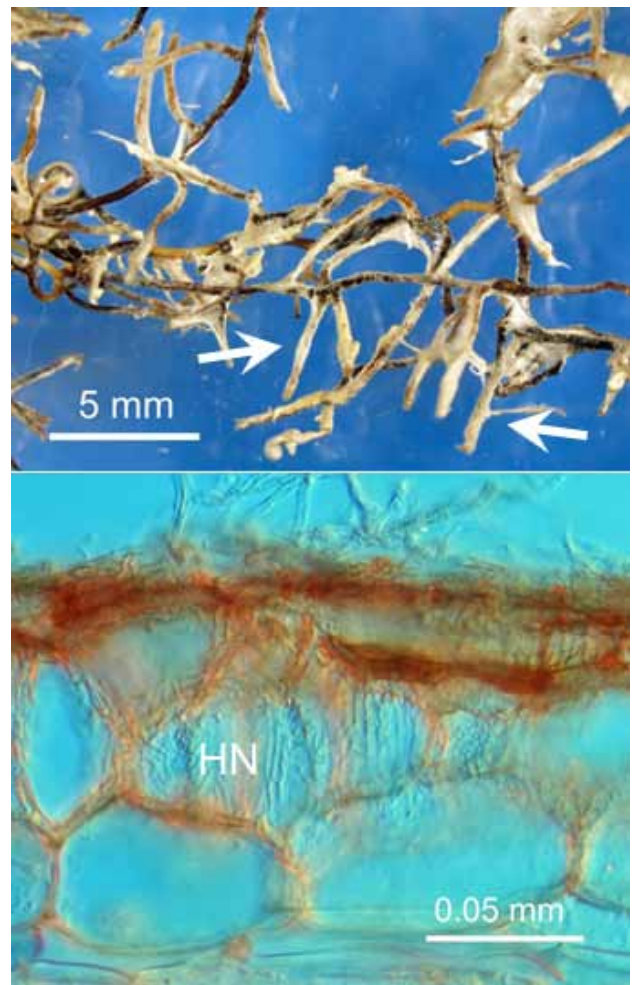


Photo 3. テーダマツ実生へマツタケ菌を接種して形成された外生菌根  
上：細根部が白色の菌糸に覆われている (矢印)。  
下：細胞間隙に菌糸が侵入してハルティッヒ・ネット (HN) を形成している。  
Ectomycorrhizae on *P. taeda* inoculated with *T. matsutake*.

との間の組み合わせによる影響のほか、菌根合成試験で用いた土壌や養水分条件や、接種に用いた菌や実生の生育ステージの影響も考えられる。

### 7. 人工栽培にむけた取り組み

これまで、マツタケの人工栽培技術として確立されたものはない。菌根菌であるマツタケの人工栽培の想定される形態としては、①野外林地においてマツタケを発生させる方法、②腐生菌であるヒラタケやエノキタケのような菌床栽培において、発生させる方法がある。これらの2点について記述する。

①野外におけるマツタケの人工栽培については、一つには、落ち葉掻きや、小灌木の伐採などの施業によってマツタケの発生しやすい森林環境をつくるものがある。これはマツタケ増産技術となるが、古くは金行幾太郎によって提唱されたもの（徳本孝彦 1964）であり、その効果が現われた事例が紹介されている（マツタケ研究懇話会 1983, 川上・枯木 1989, 吉村 2004, まつたけ増産のてびき（改訂Ⅲ版）編集委員会 2005）。また、岡山県では、シロ先端から外側の土壌表層のA層とA<sub>0</sub>層を除去して、そこへ地下30cm以下の土壌を客土したところ、シロの活性が高まったことが報告されている（下川 1980）。

一方、野外において、菌を人工的に接種するか感染木を植栽して、マツタケを発生させる技術については、孢子、菌糸、野外シロを接種源として試みられている。孢子の場合は、成熟したマツタケを林床に設置して、孢子を直接落下させるものや、孢子懸濁液を散布する方法などがある。この場合、孢子発芽促進効果のある酪酸や、孢子発芽阻害物質を除去するために活性炭処理したものなどが試みられている（京都府林業試験場 2004）。菌の接種は、液体培養によって増殖させた菌糸体（成松 2006）を直接に、または滅菌土壌において増殖させた後、接種する。その場合、潜在する土壌微生物を除去するために殺菌剤と併用する方法や（衛藤・谷口 2000）、拮抗する微生物と混ぜて接種する方法が試みられている。また、シロの移植によって、シロの再形成も広島県や京都府において試みられている（京都府林業試験場 2001）。しかしながら、以上の方法においては、肉眼的観察による菌根の形成が認められた事例もあるが、シロの形成には至っていない。

マツタケの感染木を用いた試みについては、苗木を野外シロの外側に植栽して、自然感染させた苗木や、無菌的に発芽させた実生苗に菌を接種して菌根化させた苗を用いる方法が試みられた。広島県においては、マツタケシロの外側に網状ポットに入れたアカマツ苗木を植栽して、その後広がるシロによって感染させた苗木をポットごと、マツタケ未発生林へ植栽したところ、その6年後に、その苗木近くにマツタケの子実体が1個体発生したことを報告している（枯木・川

上 1985）。これが今まで、マツタケが人工的に発生した国内での唯一の事例として知られている。このとき、シロの発達は植栽苗木を起点として、植栽箇所の周囲に生育するアカマツから伸長する根系にも感染していた。しかし、植栽苗木の根系は、ポット外部へはほとんど発達していなかった。また発生した子実体が感染させたマツタケ菌と遺伝的に同一であるかどうかは確認できていない。同様の手法を用いて、感染苗を作成してそれを移植した後子実体芽発生したことが韓国においても報告された（Ka et al. 2010, 2011）。ここでも、発生した子実体が、感染苗に定着していたマツタケ菌由来であるかの検証が必要である。石川県においても、野外シロに感染させたアカマツ苗木を移植した試験が実施された。このとき、移植した苗木の鉢土から外には、シロが広がることは無かった（能勢 1983）。一方、無菌のアカマツ実生苗にマツタケ菌を接種してシロ様構造を有する菌根形成苗（小林ら 2007）が作出され、これを野外林地に植栽したところ、植栽後2年目で、シロ様菌糸の残存は肉眼で確認できたが、シロの拡大は確認できていない（山田・小林 2008）。このように、野外のシロで感染させた場合、また無菌苗にマツタケ菌を接種した場合であっても、野外に植栽したあとシロの発達が確実に認められた事例はない。シロの定着と発達には、共生相手からの養分獲得機構や、土壌中で生息する様々な微生物との関係の解明が必要であり、これら基礎研究の取り組みが必要である。

マツタケ以外の菌根性食用菌についても野外林地での人工栽培技術の実用化に向けた研究が取り組まれてきており、菌根菌感染苗の植栽後、または菌（孢子、菌糸）の施用後に、子実体が発生したことが、シロウロおよびホンシメジで報告されている。シロウロについては、孢子懸濁液の散布（平佐 1991）や、菌根感染苗を海砂に植栽（玉田 2008）した場合に子実体が発生した。また、ホンシメジについては、培養菌糸体を埋設した後に、子実体が発生した（河合 1999, 水谷 2006）。イタリアやフランスでは、黒トリフ（*Tuber melanosporum*）の発生地に苗木を植えて、自然感染させた苗木を用いた黒トリフの生産が行われている（Wang and Hall 2004）。また、林地に孢子を散布して感染させた苗木を用いたトリフ生産も行われている。

このように野外林地など現場レベルでの発生は成功していないが、実験的に実生苗に菌を接種して菌根化させて育てた場合に子実体が発生したという報告が、国内では、マツタケと同じキシメジ属のキシメジ、ミネシメジおよびシモフリシメジ、またアカハツにおいて報告されている（Yamada et al. 2001b, 2007）。同様に海外では、アンズタケやチチタケ属の一種（*Lactarius deliciosus*）、オオキツネタケおよびワカフサタケ属の一種（*Hebeloma cylindrosporum*）において報告されている（Danell and Camacho 1997, Guerin-

Laguette et al. 2000, Debaud and Gay 1987, Godbout and Fortin 1990)。

一方、②菌床栽培において、腐生的に子実体を形成させることは、生きた樹木根との共生関係が生育に不可欠とされる菌根性のマツタケの場合は非常に困難である。これまで、栄養分を添加した滅菌土壌に、マツタケ菌を培養したとき、子実体原基が形成されたことが報告されているが、その後、通常の子実体に発達していない(小川・浜田 1975, 川合・小川 1976)。しかし、マツタケの他で、菌根性の菌が腐生的に子実体を形成した事例は、ホンシメジ(Ohta 1994)、ワカフサタケ属菌(Ohta 1998)、オニイグチモドキ(太田 2008)で知られており、そのうちホンシメジにおいては実用化されている。これら菌類の発生生態や栄養生理を比較研究することによって、マツタケの菌床栽培を成功させる道を拓く可能性がある。

### 8. 最後に

分子生物学的手法の進展、および研究機器の性能の向上に伴い、マツタケ研究はとりわけ、個体や種の判別において研究が進んでいる。それにより世界各地から我が国へ輸入されるマツタケの産地の判別が可能になっている(森林総合研究所 2008)。また、シロは遺伝的にモザイク状をしており、それには担子孢子由来の単核の菌糸の重要性が示唆された(例えば、Murata et al. 2005, Amend et al. 2010)。そのため、人工栽培技術の開発に向けては、感染苗木や培養菌糸を用いるとしても、モザイク現象の再現を考慮して進めることが重要である。そのためには、担子孢子に由来する単核菌糸の獲得と維持が重要である。単核菌糸の獲得と維持は、野外におけるモザイク現象の再現に必要と言うだけでなく、交配に優良菌株の作出に重要である。一方、野外でのシロ誘導試験に際しては、土壌中のマツタケ菌糸を、他種と識別して定量する方法(山口 2009)を用いることで、様々な取り組みの効果を子実体の出現ではなく、より早い段階で知ることが可能になった。今後の人工栽培化に向けては、シロ発達機構や樹木との菌根共生機構の解明を目的に、菌学だけでなく、植物生理学や土壌学など分野横断的な研究の推進が必要である。

### 謝辞

信州大学准教授・山田明義博士および森林総合研究所企画部研究評価科長・窪野高徳博士、また担当編集員ならびに査読者の方々からは、本稿に対して数多くの有益なご意見を頂き、深く感謝いたします。今回の成果の一部は、森林総合研究所交付金プロジェクト(課題番号:200813)において得たものである。

### 引用文献

- Amend, A., Keeley, S. and Garbelotto, M. (2009) Forest age correlates with fine-scale spatial structure of Matsutake mycorrhizas. *Mycol. Res.*, 113, 541-551.
- Amend, A., Garbelotto, M., Fang, Z. and Keeley, S. (2010) Isolation by landscape in populations of a prized edible mushroom *Tricholoma matsutake*. *Conserv. Genet.*, 11, 795-802.
- Bao, D., Koike, A., Yao, F., Yamanaka, K., Aimi, T. and Kitamoto, Y. (2007) Analyses of the genetic diversity of matsutake isolates collected from different ecological environments in Asia. *J Wood Sci.*, 53, 344-350.
- Bergius, N. and Danell, E. (2000) The Swedish matsutake (*Tricholoma nouseosum* syn. *T. matsutake*): distribution, abundance and ecology. *Scand. J. For. Res.*, 15, 318-325.
- Cao, Z. -M., Yao, Y. -J. and Pegler, D. N. (2003) *Tricholoma zangii*, a new name for *T. quercicola* M. Zang (Basidiomycetes: Tricholomataceae). *Mycotaxon*, 85, 159-164.
- Danell, E. and Camacho, F. J. (1997) Successful cultivation of the golden chanterelle. *Nature (Lond)*, 385, 303.
- Debaud, J. C. and Gay, G. (1987) *In vitro* fruiting under controlled conditions of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* associated with *Pinus pinaster*. *New Phytol.*, 105, 429-435.
- 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. 広島県林技セ研報, 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. 広島県林技セ研報, 33, 37-39.
- 衛藤慎也・谷口 實 (2000) 殺菌剤を利用したマツタケの林地接種源の開発. 日本応用きのこ学会誌, 8, 197-202.
- Godbout, C. and Fortin, J. A. (1990) Cultural control of basidiome formation in *Laccaria bicolor* with container-grown white pine seedlings. *Mycol. Res.*, 94, 1051-1058.
- Guerin-Laguette, A., Matsushita, N., Lapeyrie, F., Shindo, K. and Suzuki, K. (2005) Successful inoculation of mature pine with *Tricholoma matsutake*. *Mycorrhiza*, 15, 301-305.
- Guerin-Laguette, A., Plassard, C. and Mousain, D. (2000) Effects of experimental conditions on mycorrhizal relationships between *Pinus sylvestris* and *Lactarius deliciosus* and unprecedented fruit-



- body formation of the Saffron milk cap under controlled soilless conditions. *Can. J. Microbiol.*, 46, 790-799.
- Guerin-Laguette, A., Shindo, K., Matsushita, N., Suzuki, K. and Lapeyrie, F. (2004) The mycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* stimulates *Pinus densiflora* seedling growth in vitro. *Mycorrhiza*, 14, 397-400.
- Guerin-Laguette, A., Vaario, L. M., Matsushita, N., Shindo, K., Suzuki, K. and 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. *Micol. Prog.*, 2, 37-44.
- 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—”, 中西印刷, 97-100.
- 平佐隆文 (1991) 注目した野外でのショウロ子実体生産事例. 島根林技研報, 42, 37-44.
- 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.
- Hosford, D., Pilz, D., Molina, R. and Amaranthus, M. (1997) Ecology and management of the commercially harvested American matsutake mushroom. *Gen. Tech. Rep. PNW-GTR-412*, USDA Forest Service, Portland, U.S.A., 68 pp.
- 今関六也・本郷次雄 (1987) “原色日本新菌類図鑑 (I)”, 保育社, 77.
- Intini, M., Dogan, H. H. and Riva, A. (2003) *Tricholoma anatolicum* spec. nov.: a new member of the matsutake group. *Micol. e Veget. Medit.*, 18, 135-142.
- Iwase, K. (1997) Cultivation of mycorrhizal mushrooms. *Food Rev. Int.* 13, 431-442.
- Ka, K. -H., Hur, T. -C., Park, H., Kim, H. -S. and Bak, W. -C. (2010) Mycelial growth and fairy-ring formation of *Tricholoma matsutake* from matsutake-infected pine trees. *Kor. J. Mycol.*, 38, 16-20.
- Ka, K. -H., Park, H., Hur, T. -C., Kim, H. -S. and Bak, W.-C. (2011) Researches on the artificial cultivation of *Tricholoma matsutake* in Korea. *Proc. Asian Mycological Congress 2011*. Incheon, Korea.
- 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. and Futai, K. (2012) Detecting nonculturable bacteria in the active mycorrhizal zone of the pine mushroom *Tricholoma matsutake*. *J. Microbiol.*, 50, 199-206.
- 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.
- 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 真 (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.
- 川上嘉章・枯木熊人 (1989) マツタケ林環境整備施業の効果—壮齡林における施業効果—. 広島県林試研報, 23, 1-16.
- 衣川堅二郎 (1964) マツタケ発生の要因, マツタケ研究懇話会編 “マツタケ—研究と増産—”, 中西印刷, 127-132.
- 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. and Terashita, T. (2008) Characterization of the carbohydrase productions of an ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma matsutake*. *Mycoscience* 49, 291-297.
- 京都府林業試験場 (2001) 平成12年度業務年報.
- 京都府林業試験場 (2004) 平成15年度業務年報.
- Kytövuori, I. (1989) The *Tricholoma caligatum* group in Europe and North Africa. *Karstenia*, 28, 65-77.
- Lian, C., Narimatsu, M., Nara, K. and Hogetsu, T. (2006) *Tricholoma matsutake* in a natural *Pinus densiflora* forest: correspondence between above- and below-ground genets, association with multiple host trees and alteration of existing ectomycorrhizal communities. *New Phytol.*, 171, 825-836.
- Masui, K. (1927) A study of the ectotrophic mycorrhizas of woody plants. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ.*, Ser. B 3, 149-279.
- 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.
- Matsushita, N., Kikuchi, K., Sasaki, Y., Guerin-Laguette, A., Lapeyrie, F., Vaario, L. -M., Intini, M. and Suzuki, K. (2005) Genetic relationship of *Tricholoma matsutake* and *T. nauseosum* from the Northern Hemisphere based on analyses of ribosomal DNA spacer regions. *Mycoscience*, 46,

- 90-96.
- マツタケ研究懇話会 (1983) マツタケ山のつくり方, 創文, 163 pp.
- まつたけ増産のてびき (改訂Ⅲ版) 編集委員会 (2005) つくるマツタケへーまつたけ増産のてびき 改訂Ⅲ版ー, 西沢印刷, 92 pp.
- 水谷和人 (2006) ホンシメジ培地の林地埋設後 5 年間の子実体発生状況. 公立林業試験研究機関研究成果選集, 3, 37-38.
- Murata, H., Ohta, A., Yamada, A., Narimatsu, M. and Futamura, N. (2005) Genetic mosaics in the massive persisting rhizosphere colony "shiro" of the ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma matsutake*. *Mycorrhiza*, 15, 505-512.
- Murata, H., Babasaki, K., Saegusa, T., Takemoto, K., Yamada, A. and Ohta, A. (2008) Traceability of Asian *Matsutake*, specially mushrooms produced by the ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma matsutake*, on the basis of retroelement-based DNA markers. *Appl. Environment Microbiol.* 74, 2023-2031.
- 成松眞樹 (2006) 菌糸担体を用いた液体培養における培養条件がマツタケ菌糸の増殖に与える影響. 岩手林技セ研報, 14, 31-36.
- 能勢育夫 (1983) マツタケの菌付樹育成と移植後のシロの変化について. 石川林試研報, 13, 11-17.
- 小川 真 (1975) アカマツ林における菌根菌, マツタケの微生物生態学的研究. I. マツタケのシロ. 林試研報, 272, 79-121.
- 小川 眞・浜田 稔 (1975) 純粋培養によるマツタケ子実体原基の形成. 日菌報, 16, 406-415.
- 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. and Hamada, M. (1967) Disappearance of bacteria from the zone of active mycorrhizas in *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Singer. *Nature*, 213, 528-529.
- 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. (1994) Production of fruit-bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. *Mycoscience*, 35, 147-151.
- Ohta, A. (1998) Fruit-body production of two ectomycorrhizal fungi in the genus *Hebeloma* in pure culture. *Mycoscience*, 39, 15-19.
- 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.
- 太田 明 (2008) マツタケの胞子の発芽と菌糸の特性. 森林科学, 53, 35-36.
- Ota, Y., Yamanaka, T., Murata, H., Neda, H., Ohta, A., Kawai, M., Konno, M. and Tanaka, C. (2012) Phylogeny of the mycorrhizal gourmet mushrooms "matsutake" based on nucleotide sequences of multiple genes and genetic elements. *Mycologia* 2012 12-068; Preliminary version published online: June 8, 2012, doi:10.3852/12-068
- 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におけるコロニー形態の比較. 日菌報, 20, 176-184.
- 下川利之 (1980) マツタケ増殖技術開発に関する研究 (1 報) 客土による活性菌根帯の増殖. 岡山県林試研報, 4, 1-11.
- 森林総合研究所 (2008) "マツタケの DNA 原産国判別法", <http://www.ffpri.affrc.go.jp/labs/matsutake/index.html>
- 玉田克志 (2008) 菌根合成苗によるショウロ栽培試験. 公立林業試験研究機関研究成果選集, 5, 47-48.
- 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.
- 徳本孝彦 (1964) マツタケ山の改善を語る, マツタケ研究懇話会編 "マツタケー研究と増産ー", 中西印刷, 7-40.
- 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. and 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. and 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. and 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., Hanaják, P. and 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. and Fritze, H. (2012) The ectomycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* is a facultative saprotroph in vitro. *Mycorrhiza*, 22, 409-418.
- Wan, J., Koike, A., Yamanaka, K., Sotome, K., Morinaga, T., Tanaka, C., Terashima, Y. and Aimi, T. (2012) Genetic diversity of *Tricholoma matsutake* and close allies associated with broad-leaved trees in Asia. *Mushroom Sci. Biotech.*, 19, 167-174.
- Wang, Y. and Hall, I. R. (2004) Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Can. J. Bot.*, 82, 1063-1073.
- Xu, J., Sha, T., Li, Y. -C., Zhao, Z. -W. and Yang, Z. L. (2008) Recombination and genetic differentiation among natural populations of the ectomycorrhizal mushroom *Tricholoma matsutake* from southwestern China. *Mol. Ecol.*, 17, 1238-1247.
- Xu, J., Cadorin, M., Liang, Y. J. and Yang Z. L. (2010) DNA-based geographic typing of the gourmet mushroom *Tricholoma matsutake* traded in China. *Mycoscience*, 51, 248-251.
- Yamada, A., Kanekawa, S. and Ohmasa, M. (1999a) Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* on *Pinus densiflora*. *Mycoscience*, 40, 193-198.
- Yamada, A., Maeda, K. and Ohmasa, M. (1999b) Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* isolates on seedlings of *Pinus densiflora* in vitro. *Mycoscience* 40, 455-463.
- 山田明義・小林久泰 (2008) マツタケ人工栽培の展望. *森林科学*, 53, 41-42.
- Yamada, A., Kobayashi, H., Murata, H., Kalmış, E., Kalyoncu, F. and 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.
- Yamada, A., Kobayashi, H., Ogura, T. and Fukuda, M. (2007) Sustainable fruit-body formation of edible mycorrhizal *Tricholoma* species for 3 years in open pot culture with pine seedling hosts. *Mycoscience*, 48, 104-108.
- Yamada, A., Maeda, K., Kobayashi, H. and 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. and 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. and Ohmasa, M. (2001a) Isolation of *Tricholoma matsutake* and *T. bakamatsutake* cultures from field-collected ectomycorrhizas. *Mycoscience*, 42, 43-50.
- Yamada, A., Ogura, T. and 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.
- 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.
- 山口宗義 (2009) マツタケ菌の検出および定量プライマーセット、およびマツタケ菌の検出方法ならびにマツタケ菌の定量方法, 特開 2009-183202 号, 日本国特許庁.
- Yamanaka, T., Maruyama, T., Yamada, A., Miyazaki, Y. and Kikuchi, T. (2012) Ectomycorrhizal formation on regenerated somatic plants of pines after inoculation with *Tricholoma matsutake*. *Mushroom Sci. Biotech.*, 20, 93-97.
- 吉村文彦 (2004) ここまで来た! まつたけ栽培, トロント, 109 pp