

論文 (Original article)

日本における2種のトリュフ (アジアクロセイヨウショウロ
およびホンセイヨウショウロ) の生息地の土壌特性古澤 仁美^{1)*}、山中 高史²⁾、木下 晃彦³⁾、
仲野 翔太⁴⁾、野口 享太郎⁵⁾、小長谷 啓介⁴⁾

要旨

2種のトリュフ、アジアクロセイヨウショウロ (*Tuber himalayense*) とホンセイヨウショウロ (*T. japonicum*) の人工栽培技術の確立に資する情報を得るために、両種の生息地土壌の特徴を明らかにすることを目的とした。アジアクロセイヨウショウロの発生地 (5 サイト) とホンセイヨウショウロの発生地 (4 サイト) において子実体発生地と隣接する非発生地で 0~5cm および 0~15cm 深さの土壌を採取し、土壌化学性、土性、微生物バイオマス測定した。両種ともに 0~5cm 土壌の土壌化学性と微生物バイオマスに発生地と非発生地で違いが認められなかった。両種の発生地土壌の土性 (0-15cm 深) は極端なものではなく多様であり、他のトリュフ種の傾向と同様であった。アジアクロセイヨウショウロでは 0~15cm 深さの土壌の土壌化学性にも発生地と非発生地の違いは認められなかった。一方、ホンセイヨウショウロでは 0~15cm 深さの交換性カルシウム量、交換性陽イオン量は発生地で非発生地より有意に低かった。ホンセイヨウショウロは弱酸性 (pH が 5~6) で、養分に乏しい土壌のほうが好適である可能性が考えられた。一方、アジアクロセイヨウショウロの生息地土壌は pH が 6~8 で塩基飽和度が比較的高いという特徴があった。

キーワード：土壌化学性、土壌微生物バイオマス、土壌 pH、土性、セイヨウショウロ属

1. はじめに

セイヨウショウロ属 (*Tuber*) は外生菌根性の子実体菌類であり、世界で少なくとも 86 種が記載されている (Kirk et al. 2008, Bonito and Smith 2016)。なかには、黒トリュフの Perigord black truffle (*T. melanosporum* Vittad.)、白トリュフの Piedmont white truffle (*T. magnatum* Pico) など、極めて高い商用価値をもつ種もある。分子生物学的手法による分類学的研究によると、日本において最低 20 の系統的に異なるセイヨウショウロ属菌が確認されている (Kinoshita et al. 2011)。そのうち黒トリュフであるアジアクロセイヨウショウロ (*T. himalayense* Zhang and Minter, Kinoshita et al. 2018、以下「クロトリュフ」と白トリュフであるホンセイヨウショウロ (*T. japonicum* H. Sasaki, A. Kinosh. and Nara, Kinoshita et al. 2016、以下「シロトリュフ」) は国内各地で生息が確認されている (Kinoshita et al. 2011)。クロトリュフは、商品価値の極めて高い *T. melanosporum* と似た芳香を持ち、近縁である中国産の *T. indicum* は世界市場で取引実績があり (Rubini et al. 1998)、中国産のクロトリュフは日本にも輸入され消費されている (Kinoshita

et al. 2018)。また、シロトリュフにも独特の香りが確認されている (下川ら 2018)。これらのことから、クロトリュフとシロトリュフは食用として有望であり、人工栽培を目指す試みがなされている (木下・山中 2017)。

セイヨウショウロ属のいくつかの種については、生息地、その中でも子実体発生地において土壌特性が調査されたり、栽培圃場で子実体生産に適した土壌特性が調査されたりしてきた。*T. melanosporum* はヨーロッパやアメリカ合衆国で人工栽培もされていて、天然の子実体発生地および栽培圃場の土壌の特徴はよく調べられている (Hall et al. 2007)。*T. melanosporum* について、天然の発生地の土壌はアルカリ性で、活性炭酸塩の濃度は高く、有機炭素は 0.06-9.17g/kg であり、C:N 比は 10 に近く、良好な湿潤状態を示す (García-Montero et al. 2007)。そして交換性カルシウム量、交換性マグネシウム量が豊富であるものの交換性カリウム量も均一に多く、塩基飽和している (García-Montero et al. 2007)。栽培圃場では、アルカリ性で、カルシウムに富んでいる土壌が適していると言われ、C:N 比を

原稿受付：令和元年 6 月 5 日 原稿受理：令和元年 12 月 3 日

1) 森林総合研究所 立地環境研究領域

2) 森林総合研究所 研究ディレクター

3) 森林総合研究所 九州支所

4) 森林総合研究所 きのこ・森林微生物研究領域

5) 森林総合研究所 東北支所

* 森林総合研究所 立地環境研究領域 〒305-8687 茨城県つくば市松の里 1

10 にすることが推奨されており、他のセイヨウショウロ属菌が入るのを防ぐために有機物を取り除いた方がよいとされている (Chevalier and Poitou 1990)。土壌物理性については、栽培圃場では細土の割合と、その中のシルトの割合が低く、容積重と粘土含量と最大含水量が大きいと子実体生産が促進されるという報告がある (Alonso Ponce et al. 2014)。一方、イタリアやスペインに生息する *T. magnatum* については、人工栽培技術は確立されておらず、天然の子実体発生地の調査では生息に適しているのは炭酸カルシウムに富み、pH7.5 以上で、多孔質で通気性の高い土壌であるといわれる (Hall et al. 2007)。

アジアに生息するセイヨウショウロ属菌については、生息地の土壌条件の研究例は少数である。*T. indicum* については、中国の四川省、雲南省にある生息地の土壌条件が調べられている (Le Tacon et al. 2016)。その結果、母材は火成岩や変成岩、土層が深く、土性は壤土や殖壤土で、保水力と塩基飽和度が高く、表層 0～10cm 土壌の pH は 4.5 から 8 の範囲 (平均で 6.68) にあったと報告されている (Le Tacon et al. 2016)。台湾では、*T. formosanum* (Kinoshita et al. 2018 で *T. formosanum* はクロトリュフと同種とされている) は石灰質の土壌でのみ発見されるが、酸性の珪質土壌に石灰を施用して pH を変えた圃場で *T. formosanum* が栽培可能であることが報告された (Hu et al. 2005)。この圃場では、土壌の pH 値、全窒素含有量、全炭素含有量、およびイオウ量、および利用可能な栄養分は非常にばらついており、クロトリュフは広範な土壌条件に適応していることが示唆された (Hu et al. 2005)。しかし、クロトリュフについて生息地の土壌条件を調べた事例はわずかであり、シロトリュフは日本で見つかった新種であり生息地の土壌条件を調べた事例は全くない。クロトリュフ、シロトリュフの生育する土壌環境への理解を深めることは、人工栽培技術の確立に貢献する可能性がある。そこで、本研究では生息地の土壌特性を測定し、(1) トリュフ子実体が発生した土壌と近傍の非発生土壌との違いを明らかにするとともに、(2) クロトリュフ、シロトリュフの子実体発生地と、海外に生息する種の生息地 (自然の子実体発生地や栽培圃場) の土壌特性を合わせて比較することで、2 種の生息地土壌の特徴を明らかにすることを目的とした。

2. 調査地および方法

2.1 調査地の概要

トリュフの子実体の発生が確認されている 9 サイトを生息地として調査した。クロトリュフについては山梨、京都、岡山 1、岡山 2、兵庫の合計 5 サイト、そしてシロトリュフについては岡山 3、栃木、三重、大阪の合計 4 サイトで土壌特性の調査を行った。以下、クロトリュフが生息するサイトをクロトリュフサイト、

シロトリュフが生息するサイトをシロトリュフサイトと呼ぶ。産業技術総合研究所 地質調査総合センター (2019) の地質図 (シームレス地質図 v2) によると、クロトリュフサイトの岡山 1、岡山 2 は花崗閃緑岩となっていたが、ここで採取した土壌サンプルに含まれていた礫に石灰岩が混じっていることを確認した。そのほかの 7 サイトについては、山梨は火山岩の火山麓扇状地堆積物で、京都、兵庫、栃木、三重、大阪は堆積岩 (ただし京都は人工的に客土されていた)、岡山 3 は花崗岩であった。年平均気温と年降水量について、気象庁 (2018) より、各サイトの最寄りの観測地点における 1981～2010 年の平年値を引用して Table 1 に記載した。私有地への無用な土地侵入および破壊や乱獲を防ぐため、調査地の詳細な情報は控える。

2.2 土壌の採取方法

2015 年～2017 年の秋から冬にかけて上記の生息地 9 サイトで土壌採取を行うプロットを設定した。各サイトで子実体発生を調査し、子実体の発生が 5 地点以上まとまって認められた範囲を子実体発生地 (以下、発生地という) として記録した。また、その発生地に近接していても立地条件が同様と考えられるが子実体が観察されなかった範囲を非発生地とした。それぞれの範囲の大きさはサイトにより異なっており、およそ 10 数 m から数 10m 四方であった。

発生地では 5 地点の子実体の直近で、非発生地については任意の 5 地点において土壌サンプルを採取した。それぞれの地点において、0～5cm 深さについて直径 50mm、長さ 5cm の試料円筒 (DIK-1801、大起理化工業)、0～15cm 深さについて直径 53mm、長さ 40cm のコアサンプラー (Split tube sampler 041701C、Eijkelkamp) を用いて土壌を採取した。9 サイトの発生地および非発生地において 2 種類の深度の土壌サンプルを繰り返し 5 で採取したので、合計 180 サンプルであった。採取後冷蔵で輸送し、研究室でも分析を行うまで冷蔵 (4℃) で保管した。なお、0～5cm 深さの土壌サンプルから全微生物ゲノム DNA を抽出してメタゲノム解析を行なった結果、子実体の発生地土壌では子実体と同一の遺伝子を検出できるが、非発生地土壌では検出されないことを確認している (木下ら 2017, 2018)。

2.3 土壌の分析方法

クロトリュフとシロトリュフの子実体は地表面直下で発見される場合が多いことから、これら 2 種の菌は少なくとも土壌最表層に生息していると考えられた。そこで、生息環境を調べるために 0～5cm 深さの土壌で土壌化学性と微生物バイオマスを測定することとした。そして、これら 2 種の菌がより深い土壌へも菌糸を伸長させて養分を吸収するなどしている可能性を考

Table 1. 調査地（サイト）の概要
Summary of study sites

Site name	Place	Truffle species	Altitude (m)	Annual mean temperature (°C)*	Annual precipitation (mm)*	Putative host species	Sampling date	Soil texture**
Yamanashi	Hokuto, Yamanashi	<i>Tuber himalayense</i>	900	10.9	1145.8	<i>Castanea crenata</i>	2015/11/12	SiC, LiC
Kyoto	Kyoto, Kyoto	<i>Tuber himalayense</i>	160	15.9	1491.3	<i>Quercus serrata</i>	2015/11/26	SL
Okayama1	Niimi, Okayama	<i>Tuber himalayense</i>	560	12.1	1354.3	<i>C. crenata</i> , <i>Carpinus tschonoskii</i>	2016/2/12	LiC
Okayama2	Niimi, Okayama	<i>Tuber himalayense</i>	560	12.1	1354.3	Broad-leaved trees	2016/2/12	LiC
Hyogo	Sanda, Hyogo	<i>Tuber himalayense</i>	190-210	13.8	1239.9	<i>Q. glauca</i>	2017/2/1	LiC, SCL
Okayama3	Wake, Okayama	<i>Tuber japonicum</i>	150	13.9	1174.4	<i>Castanopsis sieboldii</i> , <i>Q. myrsinifolia</i>	2016/2/11	SCL, SL
Tochigi	Nogi, Tochigi	<i>Tuber japonicum</i>	25	13.9	1271.9	<i>Q. serrata</i> , <i>Carpinus</i> spp.	2016/11/21	SiC
Mie	Inabe, Mie	<i>Tuber japonicum</i>	100	15.8	1574.9	<i>Q. serrata</i> , <i>Pinus densiflora</i> , <i>Castanopsis cuspidata</i> , <i>Q. glauca</i>	2016/11/29	LiC, CL
Osaka	Hirakata, Osaka	<i>Tuber japonicum</i>	30-60	15.6	1342.8	<i>Q. serrata</i>	2017/1/31	SCL, CL

* 年平均気温と年降水量については、各サイトに最も近い気象庁の観測地点の平年値（1981-2010）を引用した（気象庁 2018）

* Mean annual temperature and precipitation values for the period 1981–2010, measured at the observation point closest to each site, <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index>.

** SL 砂質壤土, SCL 砂質埴土, CL 埴土, LiC 軽埴土, SiC シルト質埴土

** SL Sandy Loam, SCL Sandy Clay Loam, CL Clay Loam, LiC Light Clay, SiC Silty Clay

えて、0～15cm 深さの土壌でも詳細な土壌化学性を測定するとともに、菌糸の成長に関与すると仮定して土性を調査することとした。

土壌の化学性として、0～5cm 深さのサンプルにおいては pH (H₂O)、土壌全炭素含有量、全窒素含有量を測定した。pH (H₂O) については乾土 10g 相当の生土をとり、50ml の水をくわえて 1 時間振とうし、懸濁液の状態で電極法によって測定した。土壌全炭素含有量、全窒素含有量については、採取土壌を 2mm の篩を通して風乾し、粉碎した試料を用いて乾式燃焼法で測定した（Sumigraph NC900, Sumika Chemical Analysis Co., Tokyo, Japan）。0～15cm 深さに関しては、風乾して 2mm のふるいを通した細土について、pH (H₂O)、全炭素含有量、全窒素含有量、陽イオン交換容量（CEC）、交換性カルシウム（Ca）量、交換性マグネシウム（Mg）量、交換性カリウム（K）量、交換性ナトリウム（Na）量を測定した。pH (H₂O) は電極法で土：水比は乾土相当で 1：2.5 とし、全炭素、全窒素含有量については 0～5cm 深さのサンプルと同じ方法で測定した。陽イオン交換容量は Schollenberger 法（土壌養分測定法委員会編 1970）、交換性陽イオンは ICP-AES で分析した。交換性ナトリウムは検出限界以下であったので、統計解析を行わず結果は表記しないこととする。交換性陽イオン量（Ex Cations）は交換性カルシウム（Ca）量、交換性マグネシウム（Mg）量、交換性カリウム（K）量の合計値とした。塩基飽和度は交換性陽イオン量を陽

イオン交換容量（CEC）で除して算出した。また、母材の超塩基性を判定する基準である交換性カルシウム量と交換性マグネシウム量の比（Ca:Mg 比）も計算した。

土性について 0～15cm 土壌サンプルで測定した。各サイトの発生地で繰り返し 5 サンプルの中から無作為抽出した 2 サンプルについて、土壌物理性測定法委員会編（1982）に準じて粒径組成を測定し、国際法によって土性区分を表記した。

0～5cm 深さのサンプルについて、微生物バイオマス炭素（C）、微生物バイオマス窒素（N）をクロロホルム燻蒸抽出法（Vance et al. 1987, Voroney et al. 2007）で測定した。生土サンプルを 2mm の篩を通して分析まで 4℃で冷蔵し、採取から 12 日以内に燻蒸抽出を行った。乾土 5g 相当のサブサンプルを 2 つ用意し、1 つは 25℃、24 時間クロロホルム燻蒸を行った後に 0.5M K₂SO₄ を 20ml 加えて 60 分振とう濾過した。もう一方は、非燻蒸として直ちに 0.5M K₂SO₄ 溶液を 20ml 加えて 60 分振とう濾過した。抽出液は分析まで冷凍保存した。抽出液中の炭素の定量は全有機体炭素計（TOC-5050A または TOC-L、島津製作所）で、窒素の定量はフローインジェクション（FI-N50、三菱化学アナリティック）または全有機体炭素計（TOC-L、島津製作所）で行なった。微生物バイオマス C および N は、燻蒸サンプルと非燻蒸サンプルから 0.5M の K₂SO₄ 溶液で抽出された C、N 量の差を変換係数で除して算出した。微

生物バイオマス C の変換係数は 0.45 (Wu et al. 1990)、バイオマス N の変換係数は 0.50 (Voroney et al. 2007) とした。得られた微生物バイオマス炭素 (C)、微生物バイオマス窒素 (N) から微生物バイオマス C:N 比を計算した。

土壌の化学性および微生物バイオマスについては、各サイトの発生地、非発生地を繰り返し 5 サンプルを測定した。しかし、兵庫の発生地 1 地点、非発生地 1 地点において微生物バイオマス C:N 比の計算値が極端な外れ値 (発生地 33.1、非発生地 197.9) を示したのでこの値は除外した。したがって、兵庫の発生地、非発生地の微生物バイオマス C:N 比については繰り返し 4 である。

2.4 統計解析

各サイトの発生地と非発生地の各土壌特性について、繰り返し 5 の測定値 (兵庫の微生物バイオマス C:N 比については繰り返し 4) を平均した値を統計解析に用いた。発生地と非発生地のデータ群の n (サイトの数) はクロトリュフで 5、シロトリュフで 4 である。発生地と非発生地のデータ群の正規性の検定のためにシャピロ・ウィルク検定 (Shapiro-Wilk test) を、等分散の検定のために F 検定 (F-test) を行った。正規性の検定、等分散の検定の結果、ほとんどの測定項目で正規性および等分散性が認められた。そこでクロトリュフと、シロトリュフのそれぞれで、対応のある一元配置分散分析を行って、サイトと子実体発生有無の影響を検討した。なお、正規性または等分散性が棄却された項目については対数変換を行ったのち同様に対応のある一元配置分散分析を行った。対数変換を行ったのは、0-5cm の測定項目ではクロトリュフの土壌全炭素、全窒素含有量、0-15cm の測定項目ではクロトリュフの全窒素含有量、陽イオン交換容量、シロトリュフの交換性カルシウム量、塩基飽和度であった。正規性の検定、等分散の検定、対応のある一元配置分散分析には R (version 3.5.3, Copyright (C) 2019 The R Foundation for Statistical Computing) を用いた。

3. 結果

3.1 セイヨウショウロ属 2 種の土壌特性の概況

2 種のトリュフそれぞれの発生地と非発生地における 0 ~ 5cm 土壌の化学性を Table 2 に示す。クロトリュフサイトでは土壌 pH (H₂O) は発生地で 6.4 ~ 8.0 (平均値 7.2)、非発生地で 5.9 ~ 7.9 の範囲にあった。特に石灰岩の影響を受けた岡山 1、岡山 2 の発生地で 8.0、7.9 と高い傾向にあった。一方、シロトリュフサイトの土壌 pH (H₂O) は発生地で 5.6 ~ 6.0 (平均値 5.8)、非発生地で 5.5 ~ 6.2 の範囲にあった。シロトリュフサイトとクロトリュフサイトを比較すると、pH (H₂O) はシロトリュフサイトで低い傾向があった。炭素含有率は

クロトリュフサイトの発生地で 20.1 ~ 129.4g/kg の範囲にあり (5 サイト平均で 53.6g/kg)、山梨サイトの値が他のサイトより高い傾向にあった。シロトリュフサイトでは発生地で 17.8 ~ 42.2g/kg の範囲 (平均値 30.9g/kg) にあった。全窒素含有量はクロトリュフサイトの発生地で 1.4 ~ 9.0g/kg の範囲 (平均値 3.4g/kg) にあり、山梨の値がそれ以外より高い傾向にあった。シロトリュフサイトの窒素含有量は発生地で 1.4 ~ 2.6g/kg の範囲 (平均値 2.1g/kg) にあった。土壌 C:N 比はクロトリュフサイトの発生地で 13.9 ~ 20.1、シロトリュフサイトの発生地で 12.2 ~ 18.8 であり、いずれも 12 以上であった。

2 種のトリュフそれぞれの発生地と非発生地における 0 ~ 15cm 土壌の化学性を Table 3 に示す。0 ~ 15cm 土壌の pH (H₂O) と全炭素、全窒素含有量は 0 ~ 5cm 土壌の結果と同様の傾向があった。発生地のみをみると、クロトリュフサイトでは pH (H₂O) は 6.1 ~ 8.1 (平均値 6.9)、シロトリュフサイトでは 5.0 ~ 5.8 (平均値 5.3) の範囲にあって、発生地土壌では pH (H₂O) はシロトリュフサイトでクロトリュフサイトより低い傾向にあった。クロトリュフについては 0 ~ 5cm 土壌の結果と同様に、山梨の全炭素含有量、全窒素含有量はそれ以外より高い傾向にあった。炭素含有率はクロトリュフサイトの発生地で 10.4 ~ 127.0g/kg の範囲にあり、シロトリュフサイトの発生地で 9.3 ~ 27.5g/kg の範囲にあった。土壌 C:N 比はクロトリュフサイトの発生地で 12 以上の値を示し、シロトリュフサイトの発生地で 10.5 ~ 14.5 であった。

発生地土壌の陽イオン交換容量 (CEC) はクロトリュフサイトで 6.9 ~ 47.3cmol/kg、シロトリュフサイトでは 7.8 ~ 21.5cmol/kg の範囲にあった。クロトリュフ、シロトリュフともに、交換性陽イオンのなかで交換性カルシウム量が多く、ついでマグネシウム、カリウムの順であった。交換性カルシウム量についてはクロトリュフのサイトでは発生地で 9.6 ~ 48.7cmol/kg (平均値 28.9cmol/kg) で、岡山 1、岡山 2 で高い傾向にあった。一方、シロトリュフサイトでは発生地で 3.4 ~ 3.7cmol/kg (平均値 3.6cmol/kg) であり、発生地土壌の交換性カルシウム量はシロトリュフサイトでクロトリュフサイトより低い傾向であった。発生地の交換性陽イオン量 (Ex Cations) もクロトリュフのサイトでは 10.7 ~ 49.5cmol/kg (平均値 30.5cmol/kg) であるのに対して、シロトリュフサイトでは 4.0 ~ 6.0cmol/kg (平均値 4.8cmol/kg) であり、シロトリュフサイトでクロトリュフサイトより低い傾向であった。塩基飽和度はクロトリュフのサイトでは発生地で 66 ~ 732% の範囲にあった。石灰岩の影響を受けた岡山 1、岡山 2 で 100% を超えており、非石灰岩地域の京都、兵庫、山梨サイトの発生地でもそれぞれ 116%、82%、66% であった。一方、シロトリュフサイトでは発生地で 27 ~ 60% の範囲にあった。交換性カルシウム量と交換性マ

Table 2. トリュフ子実体発生地と非発生地の土壌化学性 (0~5cm深)
Soil chemical properties in plots (0~5 cm) with and without truffle ascocarps.

Site	Truffles	pH (H ₂ O)	Soil total C content (g/kg)	Soil total N content (g/kg)	Soil C:N ratio
クロトリュフ (<i>Tuber himalayense</i>)					
Yamanashi	P	6.4 (0.2)	129.4 (9.0)	9.0 (0.6)	14.3 (0.3)
	N	5.9 (0.2)	124.2 (20.9)	8.3 (1.0)	15.0 (0.9)
Kyoto	P	7.0 (0.3)	31.4 (11.8)	2.1 (0.7)	15.1 (1.3)
	N	6.6 (0.3)	36.9 (7.4)	2.4 (0.5)	15.3 (1.3)
Okayama1	P	8.0 (0.1)	41.3 (9.5)	2.1 (0.5)	20.1 (4.4)
	N	7.4 (0.6)	36.0 (19.6)	2.2 (1.0)	16.0 (1.2)
Okayama2	P	7.9 (0.1)	45.7 (4.7)	2.4 (0.3)	18.8 (1.1)
	N	7.9 (0.1)	42.6 (5.7)	2.3 (0.5)	18.7 (1.2)
Hyogo	P	6.7 (0.9)	20.1 (15.7)	1.4 (1.0)	13.9 (1.3)
	N	7.0 (0.9)	9.1 (5.1)	0.5 (0.3)	17.0 (2.0)
Mean of sites	P	7.2 (0.7)	53.6 (43.5)	3.4 (3.2)	16.4 (2.8)
	N	6.9 (0.8)	49.8 (43.6)	3.1 (3.0)	16.4 (1.5)
シロトリュフ (<i>Tuber japonicum</i>)					
Okayama3	P	5.6 (0.2)	17.8 (5.3)	1.4 (0.4)	12.2 (0.8)
	N	5.5 (0.4)	29.1 (14.5)	2.2 (0.8)	12.8 (1.5)
Tochigi	P	6.0 (0.1)	34.5 (14.9)	2.6 (1.0)	13.2 (0.5)
	N	6.1 (0.5)	52.4 (18.3)	3.7 (1.0)	13.9 (1.1)
Mie	P	5.9 (0.3)	29.1 (9.6)	1.6 (0.5)	18.8 (1.6)
	N	5.6 (0.3)	39.1 (10.4)	2.4 (0.7)	15.7 (0.7)
Osaka	P	5.8 (0.3)	42.2 (12.9)	2.6 (0.6)	16.1 (1.7)
	N	6.2 (0.2)	23.2 (4.9)	1.7 (0.4)	13.3 (0.3)
Mean of sites	P	5.8 (0.2)	30.9 (10.3)	2.1 (0.6)	15.1 (3.0)
	N	5.8 (0.3)	36.0 (12.8)	2.5 (0.8)	13.9 (1.2)

クロトリュフ：アジアクロセイヨウショウロ、シロトリュフ：ホンセイヨウショウロ
 各サイトのトリュフ子実体発生地 (P) と非発生地 (N) の繰り返し5点の平均値 (標準偏差) を示す

Values are presented as mean (SD). N = 5 for each plot. P: plots with truffle ascocarps, N: plots without truffle ascocarps.

グネシウム量の比 (Ca:Mg 比) も、シロトリュフサイトでクロトリュフサイトより低い傾向であった。

クロトリュフのサイトにおいて発生地の土性は砂質壤土 (SL)、砂質埴壤土 (SCL)、軽埴土 (LiC)、シルト質埴土 (SiC) と幅広かった (Table 1)。シロトリュフサイトについても、発生地で砂質壤土 (SL)、砂質埴壤土 (SCL)、埴壤土 (CL)、軽埴土 (LiC)、シルト質埴土 (SiC) などと幅広い土性を示した。砂土 (S)、重埴土 (HC) といった極端な土性は認められなかった。

2種のトリュフそれぞれの発生地と非発生地における0~5cm土壌の土壌微生物バイオマスC、土壌微生物バイオマスN、土壌微生物バイオマスC:N比をTable 4に示す。発生地において、土壌微生物バイオマスCはクロトリュフサイトとシロトリュフサイトでそれぞれ418~1069mg/kg、315~879mg/kgの範囲にあり、土壌微生物バイオマスNはクロトリュフサイトとシロトリュフサイトでそれぞれ49~157mg/kg、39~113mg/kgの範囲にあった。土壌微生物バイオマスC、Nはクロトリュフサイトよりシロトリュフサイトの方が低い傾向にあった。発生地の土壌微生物バイオマスC:N比はクロトリュフサイトとシロトリュフサイトで

それぞれ5.9~8.7 (平均値6.7)、7.5~8.5 (平均値7.9) の範囲にあり、平均値はシロトリュフサイトで高い傾向にあった。

3.2 発生地と非発生地の違い

土壌化学性について、クロトリュフとシロトリュフのそれぞれで、対応のある一元配置分散分析を行った結果をTable 5、6に示す。クロトリュフサイトでは、0~5cm土壌のC:N比と0~15cm土壌の交換性マグネシウム量、交換性カリウム量を除く測定項目において、サイト間で有意に異なることが認められた (Table 5)。発生地と非発生地ではいずれの測定項目も有意な違いは認められなかった。

シロトリュフサイトでは、0~5cm土壌ではいずれの測定項目でもサイト間で有意差は認められなかった。0~15cm土壌では全窒素含有量、陽イオン交換容量、交換性カリウム量、Ca:Mg比がサイトにより有意に異なった (Table 6)。トリュフの発生地と非発生地で有意な違いがあったのは、0~15cmの土壌の交換性カルシウム量、交換性陽イオン量、Ca:Mg比であり、いずれも発生地で非発生地より低かった (Table 3, 6)。

Table 3. トリュフ子実体発生地と非発生地の土壌化学性 (0~15cm深)
Soil chemical properties in plots (0-15 cm) with and without truffle ascocarps.

Site	Truffles	pH (H ₂ O)	Soil total C content (g/kg)	Soil total N content (g/kg)	Soil C:N ratio	CEC (cmol/kgsoil)	Exchangeable Ca (cmol/kgsoil)	Exchangeable Mg (cmol/kgsoil)	Exchangeable K (cmol/kgsoil)	Ex Cations (cmol/kgsoil)	Base saturation ratio (%)	Ca:Mg ratio
クロトリュフ (<i>Tuber himalayense</i>)												
Yamanashi	P	6.1 (0.1)	127.0 (5.6)	8.5 (0.4)	15.0 (0.3)	47.3 (1.2)	27.5 (3.4)	2.9 (0.4)	0.6 (0.1)	31.1 (3.5)	66 (7)	9.6 (1.5)
	N	5.4 (0.2)	107.5 (14.3)	7.1 (0.6)	15.0 (0.7)	36.4 (1.3)	7.1 (3.1)	0.6 (0.4)	0.3 (0.0)	8.0 (3.5)	22 (10)	12.9 (2.4)
Kyoto	P	6.5 (0.4)	16.5 (5.7)	1.1 (0.4)	15.0 (1.3)	9.2 (2.1)	9.6 (2.5)	0.7 (0.2)	0.4 (0.1)	10.7 (2.8)	116 (9)	14.2 (0.9)
	N	5.7 (0.4)	12.3 (4.1)	0.9 (0.3)	13.2 (0.5)	8.2 (1.7)	6.4 (2.8)	0.8 (0.2)	0.3 (0.0)	7.5 (2.9)	89 (22)	8.2 (2.3)
Okayama1	P	7.9 (0.4)	36.5 (25.1)	1.2 (0.3)	32.0 (25.8)	9.2 (2.9)	43.2 (21.0)	0.5 (0.1)	0.3 (0.2)	44.0 (21.0)	595 (481)	86.7 (34.9)
	N	7.6 (0.5)	31.3 (20.7)	1.5 (0.6)	19.8 (8.2)	12.1 (2.4)	43.2 (27.7)	0.7 (0.1)	0.3 (0.0)	44.2 (27.8)	370 (243)	59.6 (33.6)
Okayama2	P	8.1 (0.1)	43.8 (17.1)	1.0 (0.2)	41.1 (12.1)	6.9 (0.9)	48.7 (3.3)	0.5 (0.3)	0.3 (0.1)	49.5 (3.1)	732 (154)	110.4 (43.9)
	N	8.2 (0.1)	43.4 (11.2)	1.0 (0.2)	42.0 (9.4)	6.5 (0.6)	52.9 (2.2)	0.4 (0.1)	0.2 (0.1)	53.5 (2.2)	830 (70)	121.7 (16.0)
Hyogo	P	6.1 (0.8)	10.4 (4.7)	0.8 (0.3)	12.7 (1.5)	20.4 (6.5)	15.3 (7.8)	1.3 (0.6)	0.4 (0.1)	17.0 (8.1)	82 (16)	12.1 (4.9)
	N	6.5 (0.7)	8.9 (1.7)	0.6 (0.1)	16.0 (1.8)	19.1 (3.3)	17.1 (5.0)	1.6 (0.4)	0.3 (0.1)	19.1 (5.2)	100 (18)	10.6 (2.4)
Mean of sites	P	6.9 (1.0)	46.9 (46.9)	2.5 (3.3)	23.2 (12.7)	18.6 (16.9)	28.9 (17.0)	1.2 (1.0)	0.4 (0.1)	30.5 (16.7)	318 (319)	46.6 (48.2)
	N	6.7 (1.2)	40.7 (39.9)	2.2 (2.8)	21.2 (11.9)	16.5 (12.2)	25.3 (21.4)	0.8 (0.5)	0.3 (0.1)	26.4 (21.2)	282 (334)	42.6 (49.1)
シロトリュフ (<i>Tuber japonicum</i>)												
Okayama3	P	5.0 (0.3)	9.3 (3.6)	0.9 (0.3)	10.5 (1.3)	7.8 (0.6)	3.4 (2.2)	0.8 (0.1)	0.4 (0.1)	4.6 (2.2)	60 (32)	4.1 (2.4)
	N	5.1 (0.4)	14.5 (2.3)	1.3 (0.1)	11.3 (1.0)	8.9 (0.7)	4.4 (1.6)	1.0 (0.4)	0.2 (0.1)	5.7 (2.0)	63 (21)	5.0 (2.0)
Tochigi	P	5.8 (0.1)	27.5 (11.0)	2.2 (0.8)	12.6 (0.6)	21.5 (2.0)	3.7 (1.7)	1.7 (0.3)	0.5 (0.2)	6.0 (2.1)	27 (7)	2.1 (0.5)
	N	5.9 (0.3)	33.6 (11.3)	2.5 (0.7)	13.2 (1.0)	24.7 (3.8)	6.7 (3.2)	1.5 (0.5)	0.6 (0.2)	8.7 (3.8)	34 (11)	4.4 (1.0)
Mie	P	5.4 (0.2)	13.8 (2.0)	1.0 (0.2)	14.5 (1.6)	10.4 (1.3)	3.7 (1.2)	0.5 (0.2)	0.4 (0.2)	4.7 (1.2)	46 (14)	7.0 (2.3)
	N	5.7 (0.8)	20.2 (3.6)	1.4 (0.3)	14.4 (1.2)	13.6 (2.2)	7.7 (7.3)	1.1 (0.6)	0.4 (0.1)	9.2 (7.1)	66 (49)	9.3 (9.6)
Osaka	P	5.0 (0.2)	16.2 (4.2)	1.1 (0.2)	14.5 (1.3)	10.3 (0.6)	3.4 (0.8)	0.5 (0.1)	0.1 (0.1)	4.0 (0.8)	39 (9)	7.5 (1.6)
	N	5.5 (0.2)	9.6 (1.5)	0.8 (0.1)	12.1 (0.5)	8.9 (0.8)	5.4 (1.4)	0.5 (0.1)	0.1 (0.0)	6.0 (1.5)	67 (13)	10.0 (1.8)
Mean of sites	P	5.3 (0.4)	16.7 (7.7)	1.3 (0.6)	13.0 (1.9)	12.5 (6.1)	3.6 (0.2)	0.9 (0.6)	0.4 (0.2)	4.8 (0.8)	43 (14)	5.2 (2.5)
	N	5.6 (0.3)	19.5 (10.4)	1.5 (0.7)	12.7 (1.4)	14.0 (7.5)	6.1 (1.4)	1.0 (0.4)	0.3 (0.2)	7.4 (1.8)	58 (16)	7.2 (2.9)

クロトリュフ：アジアクロセイヨウシヨウロ、シロトリュフ：ホンセイヨウシヨウロ

各サイトのトリュフ子実体発生地 (P) と非発生地 (N) の繰り返し5点の平均値 (標準偏差) を示す

CEC: 陽イオン交換容量、Ex Cations: 交換性Ca、Mg、Kの合計

Values are presented as mean (SD). N = 5 for each plot. P: plots with truffle ascocarps, N: plots without truffle ascocarps.

CEC: Cation exchangeable capacity, Ex Cations: the sum of exchangeable Ca, Mg and K

Table 4. トリュフ子実体発生地と非発生地の土壌微生物バイオマス (0~5cm深)
Soil microbial biomass in plots (0–5 cm) with and without truffle ascocarps.

Site	Truffles	Microbial biomass C (mg/kgsoil)	Microbial biomass N (mg/kgsoil)	Microbial biomass C:N ratio
クロトリュフ (<i>Tuber himalayense</i>)				
Yamanashi	P	1069 (248)	155 (34)	6.9 (0.4)
	N	1176 (417)	145 (53)	8.3 (0.9)
Kyoto	P	556 (231)	94 (35)	5.9 (0.5)
	N	673 (101)	102 (18)	6.6 (0.6)
Okayama1	P	663 (160)	109 (32)	6.1 (0.6)
	N	530 (242)	90 (50)	6.2 (0.7)
Okayama2	P	942 (99)	157 (18)	6.0 (0.4)
	N	970 (320)	163 (63)	6.1 (0.5)
Hyogo	P	418 (339)	49 (41)	8.7 (1.7)
	N	163 (100)	16 (12)	9.7 (0.7)
Mean of sites	P	730 (270)	113 (45)	6.7 (1.2)
	N	702 (393)	103 (57)	7.4 (1.5)
シロトリュフ (<i>Tuber japonicum</i>)				
Okayama3	P	585 (149)	76 (23)	7.8 (0.6)
	N	737 (296)	115 (50)	6.5 (0.6)
Tochigi	P	315 (211)	39 (31)	8.5 (1.3)
	N	501 (222)	75 (41)	7.0 (1.2)
Mie	P	564 (202)	74 (26)	7.5 (0.5)
	N	848 (423)	109 (45)	7.6 (0.7)
Osaka	P	879 (166)	113 (26)	7.8 (0.6)
	N	619 (140)	80 (27)	8.0 (1.1)
Mean of sites	P	586 (231)	76 (31)	7.9 (0.4)
	N	676 (150)	95 (20)	7.3 (0.7)

クロトリュフ：アジアクロセイヨウショウロ、シロトリュフ：ホンセイヨウショウロ

各サイトのトリュフ子実体発生地(P)と非発生地(N)の繰り返し5点（兵庫の微生物バイオマスCN比については繰り返し4点）の平均値（標準偏差）を示す

Values are presented as mean (SD). *N* = 4 for each plot for microbial biomass C:N ratio in Hyogo, *N* = 5 for each plot for the other observed values. P: plots with truffle ascocarps, N: plots without truffle ascocarps.

土壌微生物バイオマスについて対応のある一元配置分散分析を行った結果を Table 7 に示す。クロトリュフサイトでは土壌微生物バイオマス C、N、C:N 比の全てについてサイト間で有意差が認められたが、発生地と非発生地では有意な違いは認められなかった。シロトリュフサイトではサイト、子実体発生の有無のいずれも有意な違いは認められなかった。

4. 考察

4.1 子実体発生有無による違い

本研究では、多くの測定項目でサイトによる違いが有意だったことから、クロトリュフ、シロトリュフともに調査したサイト全体をまとめると様々な土壌に生息していると言える。一方で、同じサイトで発生地と隣接する非発生地で比べると、土壌化学性、土壌微生物バイオマスともに有意な違いが認められた測定項目はわずかだった。特に、クロトリュフでは全ての測定項目で発生地と非発生地で有意な違いは認められな

かった。クロトリュフではシロトリュフよりサイトの効果が有意になる測定項目が多かったことから、サイトによる大きなばらつきがある中で発生地と非発生地の土壌特性を明らかにするためには、今後より多くの生息地で調査をする必要があると考えられる。

一方、シロトリュフでは 0～15cm の土壌では交換性カルシウム量、交換性陽イオン量が発生地で非発生地より有意に低かった。発生地と非発生地の違いが生じるのには、(1) シロトリュフが関与することで発生地の土壌が変化した、(2) シロトリュフが成長や子実体形成に好適な場所を選択した、の 2 つの理由が考えられる。例えばマツタケではシロと呼ばれる環状の菌糸帯ができるが、シロの土壌でリン酸やカリウム濃度がシロの外側より高く、マツタケ菌糸の影響が示唆されている（原ら 1986）。このように密集した菌糸帯が生じる場合には (1) の可能性が高いと考えられる。一方、本研究における発生地の観察ではシロトリュフのものと考えられる菌糸はわずかに認められる程度で、

Table 5. クロトリュフサイトの 0～5cm および 0～15cm 深の土壌の化学的性質に及ぼすサイト（山梨、京都、岡山1、岡山2、兵庫）とトリュフ（子実体発生地および非発生地）の影響について対応のある一元配置分散分析結果

Paired one-way ANOVA of the effects of site (Yamanashi, Kyoto, Okayama1, Okayama2, and Hyogo) and truffles (presence or absence of ascocarps) on soil chemical properties at 0–5 and 0–15 cm depths at *Tuber himalayense* sites.

	Site		Truffle	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
0-5cm soil				
pH (H ₂ O)	15.06	0.011	2.13	0.218
Soil total C	19.41	0.007	1.18	0.338
Soil total N	12.46	0.016	0.82	0.416
Soil C:N ratio	2.08	0.248	0.00	0.990
0-15cm soil				
pH (H ₂ O)	15.53	0.011	1.42	0.299
Soil total C	127.07	0.000	3.23	0.147
Soil total N	73.64	0.001	0.98	0.378
Soil C:N ratio	15.73	0.010	0.54	0.504
CEC	54.61	0.001	0.26	0.634
Exchangeable Ca	14.46	0.012	0.64	0.468
Exchangeable Mg	1.09	0.468	0.56	0.498
Exchangeable K	1.56	0.338	5.84	0.073
Ex Cations	11.09	0.019	0.67	0.459
Base saturation ratio	29.11	0.003	0.46	0.536
Ca:Mg ratio	44.57	0.001	0.39	0.564

クロトリュフ：アジアクロセイヨウショウロ、CEC：陽イオン交換容量、Ex Cations：交換性Ca、Mg、Kの合計

CEC: Cation exchangeable capacity, Ex Cations: the sum of exchangeable Ca, Mg and K

菌糸帯は認められなかった。したがって、(2) シロトリュフが好適な場所を選択した可能性の方が大きいと考えられる。シロトリュフは養分の乏しい、条件の厳しい場所を選択することで他の菌との競合を避けている可能性も考えられる。

4.2 日本のセイヨウショウロ属 2 種と海外種との土壌特性の比較

この項では、本研究で得られたクロトリュフ、シロトリュフの発生地の土壌特性と、海外に生息する種の生息地（天然の子実体発生地や栽培圃場）の土壌特性を比較することで、2 種の生息地土壌の特徴を明らかにする。

4.2.1 pH

本研究におけるクロトリュフ発生地の 0～5cm 土壌の pH は 6.4～8.0（平均値 7.2）、0～15cm 土壌の pH は 6.1～8.0（平均値 6.9）の範囲にあり、幅広い pH の範囲に生息していた。中国の四川省、雲南省、チベットにおける *T. indicum* の生息地の土壌では、表層 0～

Table 6. シロトリュフサイトの 0～5cm および 0～15cm 深の土壌の化学的性質に及ぼすサイト（岡山3、栃木、三重、大阪）とトリュフ（子実体発生地および非発生地）の影響について対応のある一元配置分散分析結果

Paired one-way ANOVA of the effects of site (Okayama3, Tochigi, Mie and Osaka) and truffles (presence or absence of ascocarps) on soil chemical properties at 0–5 and 0–15 cm depths at *Tuber japonicum* sites

	Site		Truffle	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
0-5cm soil				
pH(H ₂ O)	2.53	0.233	0.02	0.904
Soil total C	1.00	0.500	0.38	0.581
Soil total N	1.81	0.319	1.10	0.372
Soil C:N ratio	3.77	0.152	1.21	0.351
0-15cm soil				
pH(H ₂ O)	8.82	0.054	5.06	0.110
Soil total C	7.55	0.066	0.80	0.438
Soil total N	12.38	0.034	1.58	0.298
Soil C:N ratio	3.83	0.150	0.16	0.719
CEC	36.98	0.007	1.91	0.261
Exchangeable Ca	2.06	0.284	25.81	0.015
Exchangeable Mg	8.78	0.054	0.75	0.451
Exchangeable K	15.90	0.024	0.57	0.504
Ex Cations	2.81	0.209	12.78	0.037
Base saturation ratio	8.20	0.059	7.21	0.075
Ca:Mg ratio	14.60	0.005	27.37	0.014

シロトリュフ：ホンセイヨウショウロ、CEC：陽イオン交換容量、Ex Cations：交換性Ca、Mg、Kの合計

CEC: Cation exchangeable capacity, Ex Cations: the sum of exchangeable Ca, Mg and K

Table 7. クロトリュフサイトおよびシロトリュフサイトの土壌微生物バイオマスに及ぼすサイトとトリュフの影響について対応のある一元配置分散分析結果

Paired one-way ANOVA of the effects of site and truffle (presence or absence of ascocarps) on soil microbial properties in *T. himalayense* sites and *T. japonicum* sites

	Site		Truffle	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
クロトリュフ (<i>Tuber himalayense</i>)				
Microbial biomass C	16.35	0.010	0.14	0.727
Microbial biomass N	33.37	0.002	1.54	0.283
Microbial biomass C:N ratio	23.29	0.005	6.16	0.068
シロトリュフ (<i>Tuber japonicum</i>)				
Microbial biomass C	1.62	0.351	0.56	0.507
Microbial biomass N	1.14	0.459	1.18	0.357
Microbial biomass C:N ratio	0.54	0.690	1.92	0.260

クロトリュフ：アジアクロセイヨウショウロ、シロトリュフ：ホンセイヨウショウロ

10cm 土壌の pH は平均で 6.7 であり、4.5 から 7.5 の範囲にあったと報告されている (Le Tacon et al. 2016)。台湾の *T. formosanum* は石灰岩地域に自生するが、人工栽培を目指した圃場では平均値で pH 6.5 であった (Hu et al. 2005)。本研究のクロトリュフにおける土壌 pH の範囲は、これらの報告とほぼ同様かやや高かった。一方、ヨーロッパに産出する *T. melanosporum* の発生地は pH 7 以上のアルカリ性の土壌であり (García-Montero et al. 2007)、*T. melanosporum* の栽培には土壌 pH 8.0 ~ 8.5 が一般的に推奨されている (Hall et al. 2007)。*T. magnatum* についても、天然の子実体発生地の調査によると炭酸カルシウムに富み、pH 7.5 以上で、多孔質で通気性の高い土壌が生息に適すると言われている (Hall et al. 2007)。これらヨーロッパの種に比べるとクロトリュフは幅広い pH 環境で生息して子実体を形成できると考えられる。

一方、シロトリュフサイトでは 0 ~ 5cm 土壌の pH は 5.6 ~ 6.0 (平均値 5.8)、0 ~ 15cm 土壌の pH は 5.0 ~ 5.8 (平均値 5.3) の範囲にあった。既存研究で、他の 2、3 のセイヨウショウロ属菌について酸性条件下で生息例が報告されている。アメリカ、オレゴン州の *T. oregonense* と *T. gibbosum* の子実体が発生するダグラスファー (*Pseudotsuga menziesii*) 林で、pH は最小値で 4.5、最大値で 5.4 であったと報告された (Benucci et al. 2016)。また、タイで見つかった新種 *T. thailandicum* の生息地の土壌 pH は 4.5 だったと報告されている (Suwannarach et al. 2015)。シロトリュフは *T. oregonense* (Kinoshita et al. 2016)、および *T. thailandicum* とは遺伝的に遠縁である。シロトリュフは日本の *Tuber flavidosporum* (ウスキセイヨウショウロ、Kinoshita et al. 2016) や、中国の *Tuber turmericum* (Fan et al. 2015)、*Tuber xanthomonosporum* (Qing et al. 2015) と遺伝的には近いが、*T. xanthomonosporum* は pH 6.8 ~ 7.6 の石灰質土壌に分布すると報告されている (Qing et al. 2015)。したがって、遺伝的に近いグループが必ずしも酸性土壌に適応しているとは言えない。日本の森林土壌は一般に酸性を示す場合が多く、褐色森林土や黒色土では pH 4.5 ~ 5.5 の範囲に入る場合が多い (森林土壌研究会編 1982)。シロトリュフはこのような日本の酸性土壌に適応してきた可能性があると考えられる。

4.2.2 炭素、窒素、C:N 比

本研究のクロトリュフの 5 サイト、およびシロトリュフの 4 サイトにおいて幅広い炭素含有量、窒素含有量を示した。クロトリュフサイト、およびシロトリュフサイトの発生地における全炭素含有量の平均値は 0 ~ 5cm 土壌で 53.6g/kg、30.9g/kg であったが、これは日本における森林土壌 (0 ~ 5cm) の全炭素含有量平均値 (113.2 g/kg、Nanko et al. 2014) に比べて低く、ク

ロトリュフとシロトリュフは比較的有機物の乏しい土壌に生息している可能性が示唆された。またこれらの値は、中国の四川省および雲南省の *T. indicum* 生息地土壌の有機態炭素含有量は 50 g/kg 以下が多いという報告と同程度だった (Le Tacon et al. 2016)。台湾の *T. formosanum* の人工栽培を目指した圃場では、土壌の全炭素含有率と全窒素含有率の平均値はそれぞれ 70.6 g/kg、5.9 g/kg であり (Hu et al. 2005)、本研究の山梨以外のクロトリュフサイトはこの報告の値より低かった。一方、ヨーロッパのセイヨウショウロ属については、(1) *T. uncinatum* では土壌有機物含有量は幅広く 200g/kg 以上のこともある (Chevalier and Frochot 1990)、(2) *T. melanosporum* 発生地 14 箇所において、土壌の全有機態炭素量は 0.10 ~ 7.52g/kg、全窒素含有量は 0.00 ~ 0.56g/kg であった (García-Montero et al. 2007)、(3) 中央イタリアの *T. magnatum* 生息地 (Truffle grounds) で行われた 3 つの調査で、通常子実体が見つかる A 層の土壌有機物含有量の平均値がそれぞれ 1.96g/kg、1.51g/kg、2.12g/kg である (Bragato and Marjanovic 2016)、などと報告されている。これらのことから、本研究のクロトリュフ、シロトリュフの発生地土壌の全炭素含有率は、他のセイヨウショウロ属と同様に幅広いと考えられる。

本研究のクロトリュフサイトにおいて、発生地の土壌 C:N 比が 0 ~ 5cm 土壌で 13.9 ~ 20.1、0 ~ 15cm 土壌で 12.7 ~ 41.1 の範囲にあり、ともに 12 以上であった。シロトリュフサイトについては、0 ~ 5cm 土壌で 12.2 ~ 18.8、0 ~ 15cm 土壌で 10.5 ~ 14.5 であった。中国の四川省および雲南省の *T. indicum* 生息地土壌の C:N 比は 12.7 ~ 23.3 の範囲にあったが 20 以上は稀だったという報告がある (Le Tacon et al. 2016)。一方、*T. melanosporum* の発生地 14 箇所の土壌については C:N 比は 10 に近い (6.44 ~ 15.70 の範囲) (García-Montero et al. 2007)。また、*T. melanosporum* の栽培圃場を作る際には土壌有機物含有量は 1.5 ~ 8.0%、土壌 C:N 比を 10 にするのが推奨されており、*T. melanosporum* 以外のセイヨウショウロ属菌が入るのを防ぐために有機物を取り除いて土壌 C:N 比を低くした方が良いとされている (Chevalier and Poitou 1990)。これらのことから、セイヨウショウロ属の種類により好適な土壌 C:N 比は異なると考えられ、本研究のクロトリュフとシロトリュフの発生地土壌は *T. indicum* と同様の C:N 比を示し、ヨーロッパの既往の報告に比べると高い傾向にあると考えられる。

4.2.3 交換性塩基と塩基飽和度

本研究のクロトリュフサイトにおいて、測定した交換性塩基のうち交換性カルシウム量が多い傾向であった。発生地土壌の交換性カルシウム量は 9.6 ~ 48.7cmol/kg であり、特に石灰岩の影響を受けた岡山 1、岡山 2 では

高かった。一方、ヨーロッパの種では *T. melanosporum* の発生地 14 箇所は石灰岩土壌であり、高い濃度の交換性カルシウム (5.16 ~ 46.16 cmol/kg)、交換性マグネシウム 0.41 ~ 7.92 cmol/kg)、大きな均一な濃度の交換性カリウム (0.07 ~ 1.47 cmol/kg)、わずかな交換性ナトリウムを有していると報告されている (Garcia-Montero et al. 2007)。また、中央イタリアの *T. magnatum* 生息地 (truffle grounds) における土壌の研究では、交換性カルシウム量は 16.24 cmol/kg、交換性マグネシウム量は 3.14 cmol/kg、交換性カリウム量は 0.42 cmol/kg という値が示されている (Bragato and Marjanovic 2016)。分析方法が異なることから直接の比較は難しいが、本研究のクロトリュフの発生地の交換性カルシウム量、交換性マグネシウム量、交換性カリウム量は、これらの既報とほぼ同様の範囲にあった。*T. melanosporum* や *T. indicum* の発生地では塩基飽和度が高く、塩基飽和している場合があることも報告されている (Garcia-Montero et al. 2007, Le Tacon et al. 2016)。クロトリュフサイトでは高い交換性カルシウム量を反映して塩基飽和度も高い傾向があり、岡山 1,2 では塩基飽和していた。クロトリュフは *T. melanosporum* や *T. indicum* と同様に塩基飽和度の高い土壌が適している可能性がある。

一方、シロトリュフサイトではクロトリュフやこれまで報告のある他のセイヨウショウロ属の種と比べて交換性カルシウム量が低い傾向にあった。4.1 の項で述べたように、シロトリュフサイトでは交換性カルシウム量および母材の超塩基性を判定する基準である Ca:Mg 比が発生地で非発生地よりも低いことが認められている。これらの結果から、シロトリュフは交換性カルシウムの豊富な場所を避ける可能性も考えられる。

4.2.4 土性

本研究のクロトリュフ、シロトリュフサイトの発生地では、土性は幅広く、砂土 (S)、重埴土 (HC) などの極端な土性ではなかった (Table 1)。この結果は、中国の *T. indicum* 生息地土壌において土性は幅広く、粘土 (C)、砂土 (S) などの極端な土性はないと報告されているのと同様であった (Le Tacon et al. 2016)。*T. melanosporum* 栽培圃場の土壌の物理性については細土含有率が低く、その中でシルトの含有率が低く、容積重と粘土含量と WHC が大きい土壌が子実体生産に適していると示唆されている (Alonso Ponce et al. 2014)。なお、Chevalier and Frochot (1990) は *T. uncinatum* の子実体が発生する土壌条件は、排水がよく、粒状構造であることを示した。本研究では土壌構造や透水性は調べておらず、今後検討していく必要がある。

4.2.5 微生物バイオマス

日本の森林における土壌微生物バイオマス C の最小

値は 7mg/kg、最大値は 4000mg/kg 以上、微生物バイオマス N の最小値は 12mg/kg、最大値は 600mg/kg 以上と幅広い変動を示していた (Watanabe et al. 2010)。本研究の土壌微生物バイオマス C、N をこれと比較すると、本研究の値は既存研究の値の範囲内であるが低い方であった。一般的に土壌微生物バイオマス C は土壌全炭素含有率と正の相関があり (Watanabe et al. 2010)、本研究のクロトリュフ、シロトリュフサイトの全炭素含有量は日本における森林土壌 (0 ~ 5cm) の平均値に比べて低く、このことが土壌微生物バイオマス C も低くする要因になっていると考えられる。さらに Watanabe et al. (2010) は、バイオマス C:N 比は 4.8 ~ 14.0 の範囲 (平均で 6.6 ± 1.8) にあると示しており、本研究の発生地土壌のバイオマス C:N 比はこれと比較して同様の値であった。セイヨウショウロ属の生息地土壌で微生物バイオマスを測定した例はなく、本研究の微生物バイオマスの測定値がどのような意味を持つのか検討するために、今後も様々なセイヨウショウロ属の生息地でデータを蓄積することが必要である。

発生地土壌については、シロトリュフサイトにおいてクロトリュフサイトより土壌微生物バイオマス N が低く、土壌微生物バイオマス C:N 比は高い傾向にあった。これは微生物の組成が異なる可能性を示唆する。一般に酸性で真菌類が優占し、中性からアルカリ性で細菌類が優占すると言われている (Zelles et al. 1990, Lavelle and Spain 2001)。そして真菌類は細菌類よりも微生物バイオマス C:N 比が高い (Anderson and Domsch 1980)。シロトリュフサイトの方が微生物バイオマス C:N 比が高いことは、真菌類の優占度が相対的に高いことを示唆する。既往の文献では微生物の組成についての研究も行われている。Fu et al. (2016) は *T. pseudoexcavatum*、*T. sinoaestivum*、および *T. indicum* の発生地と子実体が見つからない対照地の土壌をメタゲノム解析し、細菌相および真菌相で優占する門や綱が発生地と対照地では異なることを認め、また非真菌類 (Cercozoa と Ochrophyta) が発生地の土壌で対照地より優占することを示した。また、*T. indicum* の存在下で、原核生物群集の多様性と豊かさの増加が観察された (Li et al. 2018)。今後、菌類と細菌のそれぞれの量や組成など、詳細な微生物特性を検討する必要がある。

5. まとめ

クロトリュフは広範な特性を持つ土壌に生息していたものの、pH が弱酸性～アルカリ性 (6 ~ 8) で細菌の優占度が高い傾向があり、生息に好適な pH は中国の *T. indicum* や台湾の同種とは同様であるがヨーロッパ産の *T. melanosporum* や *T. magnatum* とは異なると考えられる。土壌全炭素は乏しく、C:N 比は 12 以上であった。塩基飽和度は比較的高く、この結果はヨーロッ

パヤアジアのセイヨウショウロ属生息地の土壌特性と類似していた。一方、シロトリュフは pH が 5～6（酸性～弱酸性）でクロトリュフより真菌類の優占度が高い土壌に適応している可能性が示唆された。また、カルシウムなどの養分がより乏しい土壌を好む可能性が示された。

現段階では、これらの発生地地の土壌特性がセイヨウショウロ属菌の生活史のどの段階で影響するのか明らかではない。少なくとも、室内培養実験では、クロトリュフおよびシロトリュフの菌糸の成長に pH が影響することが認められている（Nakano et al. 印刷中）。土壌特性がセイヨウショウロ属菌の胞子発芽、他の菌との競合に影響するのか、あるいは子実体形成に関与するのかなどを検討する必要がある。

また、近年アジアでセイヨウショウロ属の新種が相次いで記載されているが（例えば Deng et al. 2013, Suwannarach et al. 2015, Kinoshita et al. 2016）、これらの種では土壌を含めた生息地環境条件の知見はほとんどない。本研究でも示したように、セイヨウショウロ属の種によって生息土壌条件は異なると考えられる。日本と他のアジア地域に共通して生息するセイヨウショウロ属の種があったり、日本の種の近縁種が他のアジア地域に生息したりしていることから、アジアに生息する様々なセイヨウショウロ属の種で生息地の土壌特性についての研究を進めることで、アジアおよび日本に生息するセイヨウショウロ属菌に好適な土壌条件がより明らかにできると考えられる。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、（国研）森林機構・森林総合研究所の根本美千代氏、勝井祥江氏、吉田佳氏には試料調整、実験補助などにおいて多大なご協力をいただいた。また、原英郎氏、難波靖司氏、地職恵氏、名部光男氏、名部みち代氏、斎木達也氏、斎木治子氏、谷口雅仁氏、三輪秀子氏、服部力氏、筑波大学生命環境系の阿部淳一ピーター助教、山梨県森林総合研究所の柴田尚氏および岐阜県森林研究所水谷和人氏には野外調査においてご助力を賜った。全ての調査地において地権者および管理者の方々に調査を許可していただいた。ここに心から御礼申し上げる。なお、この研究は農林水産省委託プロジェクト研究「森林資源を最適利用するための技術開発」研究課題「高級菌根性きのこ栽培技術の開発」により実施した。

引用文献

- Alonso Ponce, R., Agreda, T., Agueda, B., Aldea, J., Martinez-Pena, F. and Pilar Modrego, M. (2014) Soil physical properties influence “black truffle” fructification in plantations. *Mycorrhiza*, 24, S55-S64.
- Anderson, J. P. E. and Domsch, K. H. (1980) Quantities of plant

- nutrients in the microbial biomass of selected soils. *Soil Sci.*, 130, 211-216.
- Benucci, G. M. N., Lefevre, C. and Bonito, G. (2016) Characterizing root-associated fungal communities and soils of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) stands that naturally produce Oregon white truffles (*Tuber oregonense* and *Tuber gibbosum*). *Mycorrhiza*, 26, 367-376.
- Bonito, G. M. and Smith, M. E. (2016) General systematic position of the truffles: evolutionary theory. In Zambonelli, A., Iotti, M., and Murat, C. (eds) “*True Truffle (Tuber spp.) in the world. Soil ecology, systematics and biochemistry*”. Springer, 3-19.
- Bragato, G. and Marjanovic, Z. (2016) Soil Characteristics for *Tuber magnatum*. In Zambonelli, A., Iotti, M., and Murat, C. (eds) “*True Truffle (Tuber spp.) in the world. Soil ecology, systematics and biochemistry*”. Springer, 191-209.
- Chevalier, G. and Frochot, H. (1990) Ecology and possibility of culture in Europe of the burgundy truffle (*Tuber uncinatum* Chatin). *Agr. Ecosyst. Environ.*, 28, 71-73.
- Chevalier, G. and Poitou, N. (1990) Study of important factors affecting the mycorrhizal development of the truffle fungus in the field using plants inoculated in nurseries. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 28, 75-77.
- Deng, X. J., Liu, P. G., Liu, C. Y. and Wang, Y. (2013) A new white truffle species, *Tuber panzhihuanense* from China. *Mycol. Prog.*, 12, 557-561.
- 土壌物理性測定法委員会編（1982）“土壌物理性測定法”. 養賢堂, 65-71.
- 土壌養分測定法委員会編（1970）“土壌物養分分析法”. 養賢堂, 34-38.
- Fan, L., Liu, X. and Cao, J. (2015) *Tuber turmericum* sp. nov., a Chinese truffle species based on morphological and molecular data. *Mycol Prog.*, 14, 111.
- Fu, Y., Li, X. L., Li, Q., Wu, H. W., Xiong, C., Geng, Q., Sun, H. H. and Sun, Q. (2016) Soil microbial communities of three major Chinese truffles in Southwest China. *Can. J. Microbiol.*, 62, 970-979.
- García-Montero, L. G., Manjon, J. L., Pascual, C. and García-Abril, A. (2007) Ecological patterns of *Tuber melanosporum* and different *Quercus* mediterranean forest: quantitative production of truffles, burn sizes and soil studies. *Forest Ecol. Manag.*, 242, 288-296.
- Hall, I. R., Brown, G. T. and Zambonelli, A. (2007) The habitats of some commercial truffles. In “*Taming the truffle. The history, lore, and science of the ultimate mushroom*”. Timber Press, 110-115.
- 原 弘・児玉 重信・藤田 博美・藤田 徹（1986）マツタケのシロに関する研究Ⅱ -シロ土壌の理化学的性質-. 日本林学会関西支部大会講演集, 37, 328-331.

- Hu, H. T., Wang, Y. and Hu, B. Y. (2005) Cultivation of *Tuber formosanum* on limed soil in Taiwan. *New Zeal J Crop Hort*, 33, 363-366.
- Kinoshita, A., Nara, K., Sasaki, H., Feng, B., Obase, K., Yang, Z. L. and Yamanaka, T. (2018) Using mating-type loci to improve taxonomy of the *Tuber indicum* complex, and discovery of a new species, *T. longispinosum*. *PLOS ONE*, 13:e0193745".
- Kinoshita, A., Sasaki, H. and Nara, K. (2011) Phylogeny and diversity of Japanese truffles (*Tuber* spp.) inferred from sequences of four nuclear loci. *Mycologia*, 103, 779-794.
- Kinoshita, A., Sasaki, H. and Nara, K. (2016) Two new truffle species, *Tuber japonicum* and *Tuber flavidosporum* spp. nov. found from Japan. *Mycoscience*, 57, 366-373.
- 木下 晃彦・山中 高史 (2017) 国産トリュフの人工栽培を目指す-新たな森林資源の利用-. 季刊森林総研, 39, 16-17.
- 木下 晃彦・山中 高史・小長谷 啓介・野口 享太郎・古澤 仁美 (2017) イボセイヨウショウロの子実体発生環境の解明にむけて. 日本森林学会大会発表データベース, 128, 170.
- 木下 晃彦・山中 高史・小長谷 啓介・仲野 翔太・野口 享太郎・古澤 仁美 (2018) 日本産白トリュフの発生・非発生地における土壤微生物群集の比較メタゲノム. 日本森林学会大会発表データベース, 129, 684.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W. and Stalpers, J. A. (2008) "*Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. (10th ed.)". Oxon: CAB International, 771pp.
- 気象庁 (2018) "過去の気象データ検索", <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>, (参照 2018-10-5).
- Lavelle, P. and Spain, A. V. (2001) Soil organisms. In Lavelle, P., Spain, A. V. "*Soil ecology*". Kluwer, Dordrecht, 210-211.
- Le Tacon, F., Wang, Y. and Goutal-Pousse, N. (2016) Soil and vegetation in natural habitats of *Tuber indicum* in China. In Zambonelli, A., Iotti, M. and Murat, C. (eds) "*True Truffle (Tuber spp.) in the world. Soil ecology, systematics and biochemistry*". Springer, 233-245.
- Li, Q., Yan, L., Ye, L., Zhou, J., Zhang, B., Peng, W., Zhang, X. and Li, X. (2018) Chinese Black Truffle (*Tuber indicum*) alters the ectomycorrhizosphere and endoectomycosphere microbiome and metabolic profiles of the host tree *Quercus aliena*. *Front Microbiol*, 9, 2202, DOI: 10.3389/fmicb.2018.02202.
- Nakano, S., Kinoshita, A., Obasa, K., Nakamura, N., Furusawa, H., Noguchi, K. and Yamanaka, T. (2020) Influence of pH on in vitro mycelial growth in three Japanese truffle species: *Tuber japonicum*, *T. himalayense*, and *T. longispinosum*. *Micoscience*, in press. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2019.12.001>
- Nanko, K., Ugawa, S., Hashimoto, S., Imaya, A., Kobayashi, M., Sakai, H., Ishizuka, S., Miura, S., Tanaka, N., Takahashi, M. and Kaneko, S. (2014) A pedotransfer function for estimating bulk density of forest soil in Japan affected by volcanic ash. *Geoderma*, 213, 36-45.
- Qing, Y., Li, S-H., Liu, C-Y., Li, L., Yang, M. Zhang, X-L., Li, X-L., Zheng, L-Y. and Wang, Y (2015) *Tuber xanthomonosporum*, a new *Paradoxa*-like species from China. *Mycotaxon*, 130, 61-68.
- Rubini, A., Paolocci, F., Granetti, B. and Arcioni, S. (1998) Single step molecular characterization of morphologically similar black truffle species. *FEMS Microbiol. Lett.* 164, 7-12.
- 下川 知子・木下 晃彦・仲野 翔太・山中 高史 (2018) 国内に自生するホンセイヨウショウロ (*Tuber japonicum*) の成分特徴について. 日本きのこ学会大会講演要旨集, 22, 85.
- 森林土壌研究会編 (1982). "森林土壌の調べ方とその性質". 林野弘済会, 251-252.
- 産業技術総合研究所地質調査総合センター (2019) "シーMLS地質図 v2", <https://gbank.gsj.jp/geonavi/geonavi.php>, (参照 2019-5-17).
- Suwannarach, N., Kumla, J. and Lumyong, S. (2015) A new whitish truffle, *Tuber thailandicum* from northern Thailand and its ectomycorrhizal association. *Mycol. Progress.*, 14, 83.
- Vance, E. D., Brookes, P. C. and Jenkinson, D. S. (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 19, 703-707.
- Voroney, R. P., Brookes, P. C. and Beyaert, R. P. (2007) Soil microbial biomass C:N, P, and S. In: Carter MR and Gregorich EG (eds) "*Soil sampling and methods of analysis, Second edition*". CRC Press, 637-651.
- Watanabe, M., Yamamura, S., Takamatsu, T., Koshikawa, M. K., Hayashi, S., Murata, T., Saito, S. S., Inubushi, K. and Sakamoto, K. (2010) Microbial biomass and nitrogen transformations in surface soils strongly acidified by volcanic hydrogen sulfide deposition in Osorezan, Japan. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 56, 123-132.
- Wu, J., Joergensen, R. G., Pommerening, B., Chaussod, R. and Brookes, P. C. (1990) Measurement of Soil Microbial Biomass C by Fumigation Extraction - an Automated Procedure. *Soil Biol. Biochem.*, 22, 1167-1169.
- Zelles, L., Stepper, K. and Zsolnay, A. (1990) The effect of lime on microbial activity in spruce (*Picea Abies* L.) forests. *Biol. Fertil. Soils*, 9, 78-82.

Soil properties in *Tuber himalayense* and *Tuber japonicum* habitats in Japan

Hitomi FURUSAWA^{1)*}, Takashi YAMANAKA²⁾, Akihiko KINOSHITA³⁾,
Shota NAKANO⁴⁾, Kyotaro NOGUCHI⁵⁾ and Keisuke OBASE⁴⁾

Abstract

We characterized the soil properties of black truffle (*Tuber himalayense*) and white truffle (*T. japonicum*) growth sites in Japan, necessary for establishing artificial cultivation techniques. At five *T. himalayense* and four *T. japonicum* sites, we collected surface soils (0–5 and 0–15 cm depths) at five points from adjacent plots with or without ascocarps. We evaluated soil chemical properties, soil texture, and soil microbial biomass carbon and nitrogen. Soil chemical properties and microbial biomass carbon and nitrogen at 0–5 cm did not differ between plots with and without ascocarps. Soil textures were diverse among sites for each *Tuber* species, and similar to those reported for other Asian and European *Tuber* species. In *T. himalayense* sites, there were no significant differences between plots with and without ascocarps in soil chemical properties at 0–15 cm. However, in *T. japonicum* sites, exchangeable calcium and the sum of exchangeable cations at 0–15 cm were significantly lower in plots with ascocarps than in plots without ascocarps. *T. japonicum* may be adapted to more acidic soil (pH 5–6) with poor nutrient concentrations. *T. himalayense* habitats are characterized by weakly acidic to alkaline soils (pH 6–8) with a relatively high base saturation ratio.

Key words: soil chemical properties, soil microbial biomass, soil pH, soil texture, Truffle

Received 5 June 2019, Accepted 3 December 2019

1) Department of Forest Soil, Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI)

2) Principal Research Director, FFPRI

3) Kyushu Research Center, FFPRI

4) Department of Mushroom Science and Forest Microbiology, FFPRI

5) Tohoku Research Center, FFPRI

* Department of Forest Soil, FFPRI, Matsunosato 1, Tsukuba, Ibaraki, 305-8687 JAPAN; E-mail: fu1103@affrc.go.jp