

# 実生苗と培養菌糸からマツタケ菌根苗をつくる

利用部 微生物グループ 東 智則

## ■はじめに

マツタケは食味や香りに優れていることや、施設などでの大量生産技術が確立されていないことから、商品価値が極めて高いのです。北海道では、トドマツ、アカエゾマツなどの根に感染して「菌根」を形成し、そこから「シロ」とよばれる菌糸の塊を土壤中で発達させてきのこを発生させます。人工的にマツタケ感染苗（＝マツタケ菌根苗、以下「菌根苗」）を作出し、シロを発生させることが出来れば、将来林地を利用したマツタケの人工栽培につながることを期待できます。菌根苗を作出する方法の一つに、天然のシロの周縁部にマツタケの宿主（共生相手）の苗を植栽し、菌根を形成させる方法があります。これは1970年代から西日本を中心に試みられ、アカマツの菌根苗の作出が報告されています<sup>1)</sup>。私たちのグループでも北海道のトドマツ林に形成されたシロにトドマツ苗を植栽し、菌根苗が作出できることを確認しています<sup>2)</sup>。しかしこの方法は、シロのある山の中まで苗を運ばなければならない、植栽できる苗の数が限られる、また、苗の植栽、あるいは移植の際にシロを傷めてしまう可能性がある、等の課題があります。

天然のシロを利用する以外の方法として、無菌環境下でアカマツの菌根苗を作出した報告があり<sup>3)</sup>、トドマツでも同様の方法で菌根苗の作出を試みましたが上手くいきませんでした。そこで、無菌環境のような完全に閉鎖された環境ではなく、半開放（半無菌）環境下における菌根苗作出の報告<sup>4)</sup>を参考に、

トドマツ、アカエゾマツの菌根苗の作出に取り組みました。

## ■宿主苗の育成

滅菌水で洗浄したトドマツ、アカエゾマツの種子を一晩滅菌水に浸漬し、滅菌済みのパーミキュライトに播種しました。発芽した実生を順次、育苗用の培養基（滅菌済みのパーミキュライトとパーライトを等量混合、以下PV）に移植し、約5ヶ月間、育成しました。

## ■マツタケ菌糸の液体培養

マツタケの菌株として、西興部村管内で採取されたマツタケから分離したTm09-03、マツタケシロの菌根から分離したTm10-02の2株を用いました。改変MMN寒天培地で約1か月培養した菌叢の先端部から菌糸片を切り取り、改変MMN培地に接種し、22℃で約1か月間培養しました。培養中は3～4日ごとに攪拌を行いました。

## ■マツタケ菌糸の接種

実生苗へのマツタケ菌糸の接種は、液体培養したマツタケ菌糸に、実生苗の根を浸す方法で行いました。

まず、根を傷めないように実生を引き抜き、菌根が形成されていないことを確認しました。次に、実生の根部を過酸化水素水で表面殺菌し、滅菌水ですすぎました。そして、マツタケ菌を懸濁したアルギン酸ナトリウム溶液に実生の根部を浸して接種し、塩化カルシウム溶液に浸して、マツタケ菌を根部に固定しました。育苗の培養基にはPVと、西興部村のマツタケ発生地で採取した土を使用しました。これらの培養基を滅菌後、角シャーレ（高さ14cm、幅10.0cm、厚さ1.5cm）に詰め、角シャーレ上端部を切り抜き、滅菌水を添加した後、マツタケ菌糸を接種した実生苗を植栽しました（写真1）。実生苗の育成は25℃、日長16時間の光照射下で行いました。

## ■菌根形成

菌の接種から1ヶ月経過後に実体顕微鏡下で根の観



写真1 マツタケ菌糸を接種した実生苗の培養の様子

察を行いました。根が菌根化すると、アカエゾマツの場合根毛は消失し、菌糸が細根の表面を覆い（菌鞘）、特徴的な形態を示します。観察の結果、写真2に示すように菌根の形成が確認されました。試験に供した苗の80%に菌根の形成が認められ、実験室的な環境下でも、トドマツとアカエゾマツの菌根苗の作出が可能であることが確認されました。また、各試験条件から5個体について、根の全根端数（根の先端部）と菌根数を計数し、菌根形成率（菌根数／全根端数 × 100）を求めました（表1）。条件間の比較では、トドマツはアカエゾマツより、また菌株Tm09-03はTm10-02より高い菌根形成率を示しました。2種類の培養基の間には明瞭な差は認められませんでした。

1年経過後に、各試験条件から3個体について再度菌根形成の状況を観察しました。その結果、全ての宿主苗に菌根の形成が認められました。また、菌根形成率は、トドマツでは100%、アカエゾマツでは非菌根がわずかに認められたもののほぼ100%でした。しかし1年経過しても苗の伸長はほとんど認められませんでした。接種から1年経過したトドマツの菌根苗を写真3、アカエゾマツの菌根苗を写真4に示します。



写真3 トドマツの菌根苗



写真4 アカエゾマツの菌根苗



写真2 未感染の根端(右矢印)と菌根化した根端(左矢印)

表1 接種から1か月、1年経過後の菌根形成率

樹種	培養基*	菌株	菌根形成率 (%)	
			1ヶ月	1年
アカエゾマツ	PV	Tm10-02	7.5	97.8
		Tm09-03	18.1	99.2
	土	Tm10-02	1.4	100.0
		Tm09-03	7.8	99.9
トドマツ	PV	Tm10-02	9.7	100.0
		Tm09-03	29.0	100.0
	土	Tm10-02	15.6	100.0
		Tm09-03	18.0	100.0

\*PV：パーミキュライトとパーライトを等量混合  
土：西興部村のマツタケ発生地で採取した土

#### ■おわりに

トドマツやアカエゾマツの実生苗に液体培養したマツタケ菌糸を接種することにより、実験室でもマツタケ菌根苗を作出できることが確認できました。しかし、菌根形成後、「苗がほとんど伸長しない」といった課題も残されました。今後、マツタケ菌根苗を野外に移植し、シロを形成、拡大させていくためには大型の菌根苗を育成していくことが必要であると考えられます。そこで現在私たちのグループでは、マツタケの人工栽培に向けた次のステップとして、大型の菌根苗の作出に取り組んでいます。

#### ■参考資料

- 1) 小川真, 梅原武夫, 紺谷修治, 山路木曾男: 日林試 60, 119-128 (1978).
- 2) 宜寿次盛生, 東智則, 原田陽, 米山彰造: 林産試験場報 545, 27-36 (2017).
- 3) Yamada, A., Maeda, K., Kobayashi, H., Murata, H.: Mycorrhiza 16, 111-116 (2006).
- 4) Tamai, Y., Yamashita, Y., Jung, N.C., Gisusi, S.: Asian Mycological Congress 2011, August 7-11, Incheon Korea, p382, (2011).