

地域に産する黒トリュフの感染苗作出技術に関する研究

森林経営課：渡辺直史・和食敦子

■ 目的

2017年に馬路村内で黒トリュフ2種（イボセイヨウショウロ、アジアクロセイヨウショウロ）が確認された。トリュフ（写真1）は高級食材として扱われる食用きのこの一つで、国内で消費されているトリュフの多くは海外産である。トリュフの仲間（セイヨウショウロ属）は日本各地で発見されており、国産トリュフの栽培化に向けて森林総合研究所を中心に研究が行われている。栽培化に向けた試験を行うためには菌株を保有する必要があるが、トリュフは樹木の根を菌糸で覆い共生して生活する菌根菌の一種であるため、菌糸など菌体のみでの保存は難しいとされている。このため、トリュフが根に感染している苗（以下、トリュフ感染苗）の状態での保存および増殖が不可欠である。本研究では、黒トリュフ栽培化に関する研究に供するため、トリュフ感染苗を作出することおよびその技術を確立することを目的とする（図1）。

今回は、トリュフ感染苗のポットへのウラジロガシの播種とアカシデ、クマシデ実生の移植を行ってトリュフ感染苗の作出を試みた結果を報告する。

■ 内容

1) 感染元苗

2021年9月に、トリュフが感染しているコナラ苗を水道水で土を洗い落した後に滅菌水で洗い流し、あらかじめ次亜塩素酸ナトリウムで殺菌したポットに移植した。培土は鹿沼土と草灰を主成分とする市販の培養土を1:1で混合し、オートクレーブで121℃、60分間殺菌した。感染元苗は6ポット用意し、当センター内の無菌室、研究室および育苗ハウス内に2ポットずつ置き、無菌室と研究室では滅菌水の灌水、育苗ハウスでは水道水の灌水により育苗を行った。

2) 播種と実生の移植

ウラジロガシの種子を30%過酸化水素水に30分間浸して表面殺菌し、感染元苗のポットに10粒ずつ播種した。無菌室に置いたポットではウラジロガシがほとんど発芽しなかったため、2022年4月にアカシデまたはクマシデの実生を5本ずつ追加で移植した。移植した実生は、種子を30%過酸化水素水に30分間浸して表面殺菌した後、殺菌した培土に播種して無菌室に置き、発芽したものを使用した。

3) 菌根の識別

Kinoshita(2018)*で解析された高知県産のイボセイヨウショウロとアジアクロセイヨウショウロ、当センターで解析した黒トリュフ子実体、イボタケの一種、カビの一種の塩基配列を比較して黒トリュフ2種に特異的な塩基配列を決定した。この配列をもとに22~23量体のフォワードプライマーおよびリバースプライマーを設計した。この作成したプライマーとITSプライマーを組み合わせて菌根の識別に用いた。

* Akihiko Kinoshita(Kazuhide Nara, Hiromi Sasaki, Bang Feng, Keisuke Obase, Zhu L. Yang, Takashi Yamanaka),2018, Using mating-type loci to improve taxonomy of the *Tuber indicum* complex, and discovery of a new species, *T. longispinosum*, PLOS ONE, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193745>

■ 成 果

2022年12月にウラジロガシ、アカシデ、クマシデ実生の根を実体顕微鏡で観察した結果(表1)、無菌室の実生では9本中9本、研究室の実生では8本中5本で濃い茶色の菌根(写真2)が形成されていた。育苗ハウスの実生では4本中4本で白い菌根(写真3)が形成されていた。実体顕微鏡で観察した菌根からDNAを抽出し電気泳動を行った結果、すべての菌根がトリュフのものではないと判定された。トリュフの菌根が形成されなかった原因は、感染元苗の移植作業を無菌条件下で行わなかったことや使用した培土がトリュフ菌に適さなかったこと等が考えられる。

■今後の計画

発生試験を行うためのトリュフ感染苗を増やすため、前年度の結果を踏まえて、孢子散布による感染苗作出、トリュフ感染苗を接種源とした感染苗作出を継続して行う。

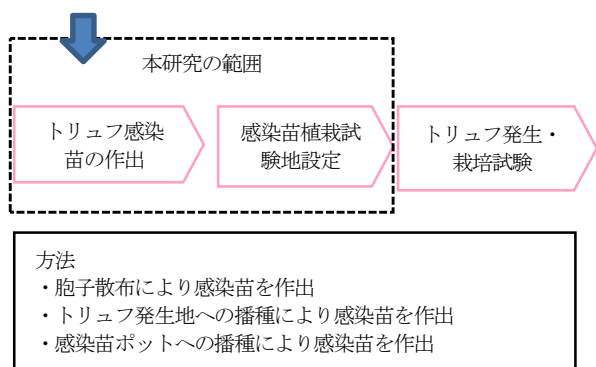


図1 研究フロー

写真1 トリュフ子実体



写真2 濃い茶色の菌根

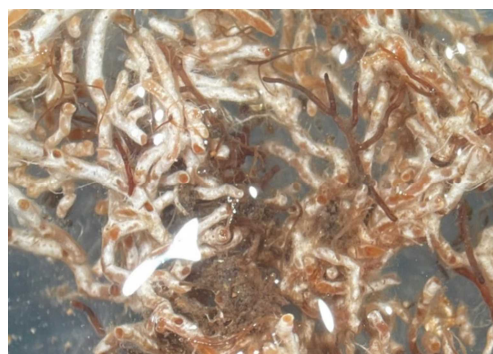


写真3 白い菌根

表1 菌根の形成状況

鉢設置場所	無菌室		研究室		育苗ハウス	
	鉢番号	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5
菌根有り実生本数	6	3	3	2	—	4
菌根無し実生本数	0	0	3	0	—	0
備考		濃い茶色の菌根			枯死	白い菌根