

菌根苗作出のためのマツタケ菌の効率的な接種法の開発

1. はじめに

マツタケは、栽培が困難なきのこで、かつ非常に人気が高いため、その栽培化は、中山間地域における収入源の確保に大きく貢献するものと期待されます。日本においては、アカマツなど主としてマツ科植物の根に菌根を作る菌根性きのこなので、林業技術センターでは、これまで①容器内でマツタケ菌を共生させたアカマツ苗（菌根苗）を作出し、②これをアカマツ林内に植え付けて、マツタケ菌を林地に定着させ、③マツタケを発生させる、というアプローチで、マツタケ栽培化を目指した研究を行っています。

現在、容器内での菌根苗の作出に成功し、現地に植栽する試験に取り組んでいますが、この試験には、多くの菌根苗を必要とするため、効率的な菌根苗の作出技術を開発することが重要です。

菌根苗作出工程において、マツタケ菌を容器内の土壌に接種する作業は、特に、専門的な技術と大変な手間を必要とします。この作業は、まず液体培地で培養したマツタケ菌を、滅菌シャーレ内で切り分け、次に、滅菌ピンセットを用いて土壌上に菌を置きます。最後に滅菌葉さじで土壌中深くに菌を押し込みます。1つの容器でこの一連の作業を行うのに、10分近くかかるため、一度に大量の菌を接種することは困難です。

そこで、林業技術センターでは、平成21～23年度試験研究課題として、菌根苗を効率よく作出できる新しい接種法の開発に取り組みました。

2. 所要時間の比較検討

①材料と方法

まず、ステンレスネット、日向土、軽石砂、ポリプロピレン製ペッスル、ガーゼを材料として、全部で6種類の試作品を考案しました（表-1、写真-1）。

それぞれの試作品を15本ずつ作成し、MNC液体培地を30ml入れた50ml耐熱容器に3本ずつ入れました。121℃で20分間高圧蒸気滅菌した後、マツタケ菌糸体を接種し、20℃暗黒条件下で4ヵ月間培養して、接種源を作りました。

次に、花崗岩質山砂土壌と頁岩質土壌を1:1（容積比）で混合し、水分含量を10%（重量パーセント）に調整し、菌根苗作出用容器に1Lずつ詰め、121℃60分間高圧蒸気滅菌後、接種源を無菌的に接種しました。接種は各容器5箇所とし（図-1）、所要時間を測定しました。対照として、従来用いていたMNC液体培地のみで培養したマツタケ菌を、同様に5箇所接種し、その所要時間を測定しました（以下、対照と言います）。

なお、所要時間は、試作品やMNC液体培地を入れた容器を開けてから、ピンセットや葉さじを用いて菌を接種し、土壌を入れた容器のふたを閉めるまでに要し

た時間としました。

②結果と考察

接種作業は、対照ではピンセットと葉さじを用いる必要があったのに比べて、6種類の試作品ではいずれもピンセットのみで接種が可能となりました。また、所要時間は、対照では平均9分15秒要したのに対し、試作品では平均値でいずれも3分強の時間に短縮できました（表-2）。試作品は、いずれも鋭利に尖らせたことにより、土壌中に入りやすくなり、時間が短縮できたものと考えられました。

また、ポリプロピレン製ペッスルの根元や先端を残すことで、ピンセットでの持ちやすさなど、操作性に違いがあるかどうかを調べるため、同じ材料で2種類の試作品を考案しましたが（試作品CとE、DとF）、それらの間で所要時間は変わりませんでした。

3. 菌根苗の成長量

①材料と方法

次に、これら試作品を用いて作出した菌根苗各3本の成長量を評価しました。

2.の試験で接種した菌を20℃暗黒条件下で3ヵ月間培養後、無菌アカマツ実生苗を1本植え付けました。植え付け後の苗は温度20℃、湿度70%、照度20,000Lxの連続照射条件下で、10ヵ月間育苗し、菌根苗として作出しました。その後、容器より菌根苗を取り出し、水道水で土壌を洗い流して、苗高(cm)、根元径(mm)、地上部乾重(mg)、地下部乾重(mg)を測定しました。

②結果と考察

各試作品を用いて作出した菌根苗の成長量を比較した結果、試作品DおよびFを用いて作出した菌根苗の苗高、根元径、地上部乾重は、液体培地で作出した菌根苗より統計的に有意に大きいことが明らかになりました（表-3）。また、これらの成長量が大きい菌根苗が生育する容器の側面では、菌根が大量に観察できました（写真-2）。試作品DおよびFの素材は、いずれもポリプロピレン製ペッスルにステンレスネットを巻き付けたものでした（表-1）。

菌は栄養が多く含まれた領域から、貧栄養状態の領域には広がらないことがあります。ステンレスネットはその内部に過度の栄養源を含まなかったため、貧栄養状態となり、接種された菌は外の貧栄養状態の土壌に広がりやすく、広範に広がるマツの根と共生でき、菌根苗の成長が良好になったものと考えられます。

一方、吸水性のある日向土、軽石砂、ガーゼを用いた試作品A、B、C、Eは、MNC培地からの栄養源を多く含んでおり、菌はその周辺部でのみ生育し、他に存在する多くのマツの根と共生せず、菌根苗の成長が良好にならなかったものと推察されます。

以上のことから、ポリプロピレン製ペッスルにステンレスネットの組み合わせが接種源の素材として有用であることが明らかになりました。

4. おわりに

今回の研究により、ポリプロピレン製ペッスルとステンレスネットを素材とした接種源を用いることで、

マツタケ菌の効率的な接種が可能となり、菌根苗の成長も良くなることがわかりました。今後は、この接種法を用いて、菌根苗を効率よく大量に作出し様々な条件の現地等への植栽試験を行い、菌の現地定着に適した条件を探索するための技術開発を進めていきたいと考えています。

(きのこ特産部 主任研究員 小林久泰)

表-1. 考案した試作品

品名	形状
A	日向土をステンレスネットでくるみ、先端に先を尖らせたアクリル棒を接着させたもの。長さは4cm、直径は1cm。
B	軽石砂をステンレスネットでくるみ、先端に先を尖らせたアクリル棒を接着させたもの。長さは4cm、直径は1cm。
C	ポリプロピレン製ペッスルの先端をとがらせ、ガーゼを巻き付けたもの。長さは4cm、直径は0.7cm。
D	ポリプロピレン製ペッスルの先端をとがらせ、ステンレスネットを巻き付けたもの。長さは4cm、直径は0.7cm。
E	ポリプロピレン製ペッスルの根元をとがらせ、ガーゼを巻き付けたもの。長さは4cm、直径は0.7cm。
F	ポリプロピレン製ペッスルの根元をとがらせ、ステンレスネットを巻き付けたもの。長さは4cm、直径は0.7cm。

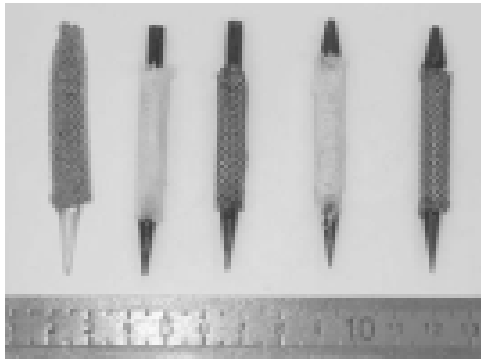


写真-1. 試作品

左より試作品 A, C, D, E, F。試作品 B は試作品 A の中が軽石砂に変わったものである。

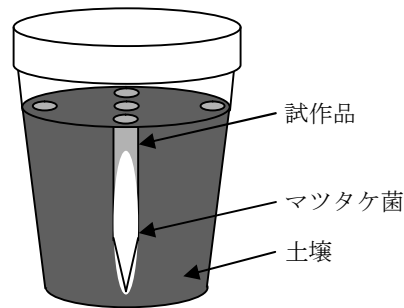


図-1. 試作品を用いたマツタケ菌の植え付け（模式図）

表-2. 試作品ごとの所要時間

品名	時間	標準偏差	有意差*
A	3分25秒	11秒	a
B	3分15秒	28秒	a
C	3分	27秒	a
D	3分9秒	32秒	a
E	3分43秒	30秒	a
F	3分20秒	17秒	a
対照	9分15秒	9秒	b

*異なるアルファベット小文字は有意差があることを示す（有意差検定は1元配置分散分析のFisher's PLSD post hoc テストによる）。

表-3. 試作品ごとの成長量

品名	苗高(cm)	根元径(mm)	地上部乾重(mg)	地下部乾重(mg)
A	2.7±0.1	1.1±0.1	0.2±0.0	0.1±0.0
B	3.4±0.3	1.0±0.2	0.2±0.1	0.3±0.1
C	3.4±0.5	1.5±0.4	0.5±0.2	0.4±0.1
D	5.0±1.4*	2.1±0.2*	0.9±0.1*	1.1±1.1
E	3.2±0.8	1.1±0.3	0.2±0.1	0.2±0.1
F	4.5±1.6*	1.8±0.2*	0.9±0.2*	0.7±0.4
対照	2.1±0.9	1.2±0.2	0.3±0.1	0.6±0.3

値はすべて平均±標準偏差。*は対照と有意差があることを示す（有意差検定は1元配置分散分析のFisher's PLSD post hoc テストによる）。

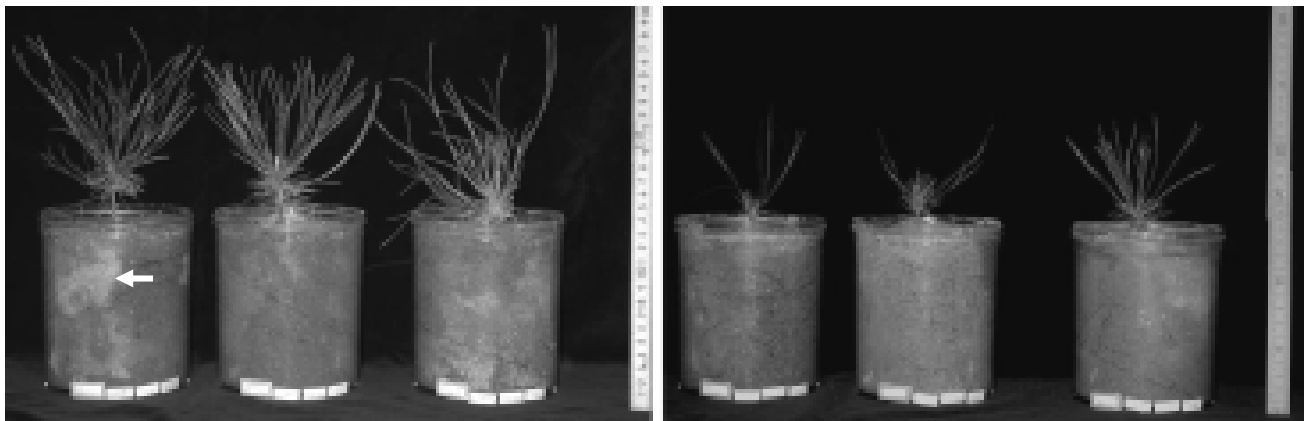


写真-2. 試作品Dを用いて作出した菌根苗（左）と既存の接種法で作出した菌根苗（右）
矢印は大きく広がったマツタケの菌根を示す。