

## 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

(冷凍保存した子実体胞子の散布と感染苗ポットへの播種によるトリュフ感染苗の作出)

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。

昨年度は、冷凍保存をしていたトリュフの胞子をコナラ、ウラジログシ、シデ類の苗へ散布してトリュフ感染苗の作出をすることができた。本年度は、異なる温度で保存していたトリュフを利用したコナラ苗へ胞子散布によるトリュフ感染苗の作出、およびトリュフが感染したコナラ苗のポットへの播種による感染苗の作出を試みた結果を報告する。

### ■ 内 容

#### 1) 胞子懸濁液の作成

2023年10月に採取して4℃、-18℃、-30℃、-80℃で保存しておいたトリュフを使用した。トリュフを常温に戻した後、外皮（外側の皮）を削り取った子実体を細かく切って、乳鉢の中で滅菌水とともに乳棒ですりつぶした。これを滅菌水に入れ胞子懸濁液を作成した。

#### 2) ポット苗への胞子懸濁液散布

2023年12月に、あらかじめ無菌状態で育成していたコナラ苗木36本（トリュフの保存温度別に各9本）に胞子懸濁液を散布し、無菌室で育成した。胞子の散布量は苗木1本あたり170万個程度とした。

#### 3) トリュフ感染苗のポットへのコナラ播種

2023年7月に冷凍トリュフの胞子を散布して作出された感染苗6ポットに、コナラ種子3個ずつ合計18個を2024年6月に播種し、発芽した16個体を育成した。播種と育成は無菌室内で行った。

#### 4) 菌根の確認

胞子を散布した苗は散布の2024年5月に、感染苗ポットに播種したコナラと感染元のコナラ苗は2025年3月に、各苗木の根を2ヵ所から採取し、実体顕微鏡と光学顕微鏡で観察して菌根の形成を確認した。

## ■ 成 果

胞子を散布した苗は、 $-30^{\circ}\text{C}$ で保存したトリュフの胞子懸濁液を散布した苗木1本を除いて菌根の形成を確認した(図1~4)。感染苗ポットに播種したコナラと感染元のコナラ苗全てで菌根の形成を確認した(図5~6)。図中の赤丸内が菌根。図1~6の菌根のDNAを調べた結果、図1と図6はトリュフの菌根と確認できた。

## ■今後の計画

図2~5のDNAを再度調べると共に今回確認した全ての菌根のDNAを調べて、トリュフのものと確認した後に植栽して子実体の発生試験を行う。冷凍保存をした子実体を用いたトリュフ感染苗の作出およびトリュフ感染苗のポットにコナラ等を播種することによるトリュフ感染苗の作出を継続して行って感染苗を量産し、発生試験の充実を図っていく。



図1  $4^{\circ}\text{C}$ で保存したトリュフの菌根



図2 胞子を散布して出来た菌根  
( $-18^{\circ}\text{C}$ で保存したトリュフ)



図3  $-30^{\circ}\text{C}$ で保存したトリュフの胞子を  
散布したコナラに出来た菌根



図4  $-80^{\circ}\text{C}$ で保存したトリュフの胞子を  
散布したコナラに出来た菌根



図5 トリュフ感染苗のポットに播種した  
コナラにできた菌根



図6 感染元のコナラ苗にできた  
トリュフの菌根