

様式 6－3

平成 26 年度 交付金プロジェクト研究課題 毎年度評価結果

課題名：マツタケの人工栽培のためのシロ形成技術の開発

主査氏名（所属）：根田仁（きのこ・微生物研究領域）

担当部署：きのこ・微生物研究領域、森林微生物研究領域

参画機関：茨城県林業技術センター、奈良県森林技術センター、信州大学

研究期間：平成 24～26 年度

1. 目的

マツタケは重要な食材であるが、その発生量は数十トンに激減したため、栽培化が期待されている。マツタケは、アカマツの根と共生し、菌根と呼ばれる共生器官を形成し、マツから栄養分を吸収している。マツの無菌苗にマツタケを感染させることは可能だが、感染苗は子実体（きのこ）を発生させる能力はない。マツタケの感染苗を林地に定着させ、「シロ」と呼ばれるアカマツとマツタケの根圏集落を土壤中に形成させることで、子実体を発生させることが可能になる。本研究は、マツタケのシロ形成技術を開発するとともに、DNA 解析技術によりシロ形成に適した林地を判別する方法を開発し、マツタケ生産に向けた技術に発展させることを目的とする。

2. 全期間における研究成果の概要

マツタケ人工シロの作製技術を開発するため、大型培養容器（5L, 10L）にブドウ糖、乾燥酵母、塩化第二鉄を含む培養液を入れた粗粒の日向土にマツタケ培養菌糸を接種し、約一か月後に表面殺菌したアカマツ実生を植えて、照明付きの培養器に入れることで、人工シロの作成技術を開発した。短期間で確実にマツタケシロを形成するために、菌根形成が特に良好な 2 菌株を選抜し、これら感染苗を合わせて人工シロを作製する技術を開発した。また土壌へのエビオス添加により菌根形成量の改善傾向が認められた菌株も見られ、成長の優良なマツタケ感染苗作成技術を開発した。

シロ形成に適した林地の判別技術を開発するため、土壌中のマツタケを特異的に検出できる定量 PCR 用のプライマーを開発した。既知菌体量と DNA 定量値との間に高い相関関係が得られ、開発した手法を用いて、マツタケ発生地のシロ近傍、マツタケアカマツ共生菌根苗の内部、移植後の菌根苗近傍で、土壌内部のマツタケ菌糸の定量に成功した。茨城県、奈良県の試験地で、本手法がマツタケシロ作成のための適地判別に適していることを検証した。

3. 全年度の発表業績

(1) Endo N, Dokmai P, Suwannasai N, Phosri C, Horimai Y, Hirai N, Fukuda M, Yamada A. Ectomycorrhization of *Tricholoma matsutake* with *Abies veitchii* and *Tsuga diversifolia* in the subalpine forests of Japan. *Mycoscience* DOI 0.1016/j.myc.2014.12.004 2014 年 12 月（査読あり）

(2) Murata H, Ota Y, Yamaguchi M, Yamada A, Katahata S, Otsuka Y, Babasaki K, Neda H. Mobile DNA distributions refine the phylogeny of "matsutake" mushrooms, *Tricholoma* sect. *Caligata*. *Mycorrhiza* 23:447-461 DOI 10.1007/s00572-013-0487-x 2013 年 8 月（査読あり）

(3) Murata H, Ota Y, Yamada A, Ohta A, Yamanaka T, Neda H. Phylogenetic position of

the ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma dulciolens* in relation to species of *Tricholoma* that produce ‘matsutake’ mushrooms. Mycoscience, 54, 6, 438-443, 2013 年 11 月 (査読あり)

(4) Murata H, Yamada A, Maruyama T, Neda H. Ectomycorrhizas in vitro between *Tricholoma matsutake*, a basidiomycete that associates with Pinaceae, and *Betula platyphylla* var. *japonica*, an early-successional birch species, in cool-temperate forests. Mycorrhiza DOI 10.1007/s00572-014-0606-3 2014 年 9 月 (査読あり)

(5) Murata H, Yamada A, Maruyama T, Yamamoto K, Endo N, Ohira T, Shimokawa T. Root endophytic interaction between ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma matsutake* and arbuscular mycorrhizal tree *Cedrela odorata*, allowing in vitro synthesis of rhizospheric “shiro”. Mycorrhiza 23:235-242 DOI: 10.1007/s00572-012-0466-7. 2012 年 10 月 (査読あり)

(7) Ota Y, Yamanaka T, Murata H, Neda H, Ohta A, Kawai M, Yamada A, Konno M, Tanaka C. Phylogenetic relationship and species delimitation of matsutake and allied species based on multilocus phylogeny and haplotype analyses. Mycologia 104(6):1369-1380 DOI:10.3852/12-068 2012 年 6 月 (査読あり)

(8) Yamada A, Endo N, Murata H, Ohta A, Fukuda M. *Tricholoma matsutake* Y1 strain associated with *Pinus densiflora* shows a gradient of in vitro ectomycorrhizal specificity with Pinaceae and oak hosts. Mycoscience, 55, 1, 27-34, 2014 年 1 月 (査読あり)

(9) Yamanaka T, Ota Y, Konno M, Kawai M, Ohta A, Neda H, Terashima Y, Yamada A. The host ranges of conifer-associated *Tricholoma matsutake*, Fagaceae-associated *T. bakamatsutake* and *T. fulvocastaneum* are wider in vitro than in nature. Mycologia 106(3):397-406 DOI:10.3852/13-197, 2014 年 5 月 (査読あり)

(10) 山口宗義「マツタケ菌の検出および定量プライマーセット、およびマツタケ菌の検出方法ならびにマツタケ菌の定量方法」特許第 5227600 号 (登録年月日平成 25 年 3 月 22 日)

4. 評価委員氏名 (所属)

松下範久 (東京大学大学院生命農学研究科准教授)

5. 評価結果の概要

当初の計画を達成され、さらに、当初には予想していなかったアカマツ以外の樹種を用いたシロの形成に成功するなど、多くの成果が得られており、今後の研究への発展が期待されます。また、マツタケ菌体量の測定技術を開発し、感染苗の作成や野外への感染苗の導入試験の結果を定量的に評価できるようになったことが、大きな成果だと思います。さらに、感染苗作出の効率化や菌根苗から大型取り木苗への再感染の成功など、マツタケの人工栽培に近づく成果も得られていると思います。全体として、当初の研究計画を達成し、十分な成果が得られたと思います。多くの研究成果を公表されており、当初の目標を十分に達成したと評価します。

6. 評価において指摘された事項への対応

マツタケ人工栽培のための技術開発をさらに進めるとともにプロジェクト化に取り組む。

達成した成果は、論文、普及誌やマニュアル等の形で積極的に公表する。