

〈資 料〉

マツタケ用簡易培地の検討

長谷川美奈

Mycelial Growth of *Toricholoma matsutake* (S.Ito et Imai) Sing. on Some Simple Media

Mina HASEGAWA

浜田培地へのデンプン、またはナガイモの添加が、奈良県森林技術センターで保存しているマツタケ菌株に対して成長促進効果を示すかどうか調べたところ、デンプンは有効であったが、ナガイモには効果が認められなかった。

1. はじめに

マツタケはアカマツ、ツガなどと共生している菌根性きのこであり、未だ安定した人工栽培に成功した例は無いが、市場価値が極めて高いため、過去長期間に渡ってマツタケの成長に適した培地の検討が行われてきた。その結果、様々な培地が開発されてきたが、その多くは多種類の試薬を微量ずつ混合する煩雑なものであり、あまり使用されていない。ところが、1999年度日本菌学会大会において、浜田培地にデンプン、またはナガイモを加えるという極めて簡易な培地が、マツタケの成長促進に劇的な効果を示したという報告があり<sup>1)</sup>、この培地が当センターで保存しているマツタケ菌株に対しても有効かどうかを検討した。

また、宿主であるアカマツの針葉の煎汁を加えた培地についても調べた。

2. 材料と方法

マツタケは、奈良県森林技術センター保存菌株NF2921を用いた。

培地は、成分を1/2に希釈した浜田培地に寒天を1.5%加えたもの（以下1/2浜田培地）を基本培地（対照区）

とし、そこに菌学会で効果があると発表された菅原らの培地<sup>2)</sup>とほぼ同じになるように可溶性デンプンを300g/l加えたものをデンプン区とした。また、発表では浜田培地に生のナガイモをすり下ろして加えた培地が紹介されていたが、本試験ではナガイモ凍結乾燥粉末を用い、基本培地1リットルに対してナガイモ凍結乾燥粉末を58.3gと蒸留水1083mlを加えた培地を作成してナガイモ区とした(表1)。

また針葉の煎汁を加えた培地については、当年葉煎汁区と1年葉煎汁区を設け、以下のように調整した。まずアカマツの当年生針葉、および1年生針葉をそれぞれ50gずつ流水で洗浄して細かく刻み、200mlの蒸留水に浸してそのまま一晩室温で置いた。その後湯煎で20分間煮沸し、ろ過して針葉を除いた後、全体を蒸留水で1000mlに希釈し、寒天を加えた。当年葉煎汁区および1年葉煎汁区は針葉煎汁のみを成分としているが、煎汁+デンプン区はそれらに可溶性デンプンを培地1リットルあたり300g加えた培地である(表1)。

全ての培地を殺菌済み90mmシャーレ（ポリエチレン製）に15mlずつ流し固め、その中心に1/2浜田培地で培養したマツタケのプラグ（4mm×4mm角）を一つずつ置床した。菌根菌は多くの場合、植え継ぎから発菌までの期間が数日～数ヶ月と長く、発菌後も初期は成長が極め

表1 培地の組成

	対照区 (1/2浜田培地)	デンプン区	ナガイモ区 <sup>(注)</sup>	当年葉煎汁区	当年葉煎汁+ デンプン区	1年葉煎汁区	1年葉煎汁+ デンプン区
グルコース	10.0g	10.0g	10.0g				
イーストエキストラクト	2.0g	2.0g	2.0g				
リン酸2水素カリウム	1.0g	1.0g	1.0g				
可溶性デンプン		300.0g			300.0g		300.0g
ナガイモ凍結乾燥粉末			58.3g				
針葉煎汁				1000ml	1000ml	1000ml	1000ml
寒天	15.0g	15.0g	31.2g	15.0g	15.0g	15.0g	15.0g
蒸留水	1000ml	1000ml	2083ml				

(注)：ナガイモは凍結乾燥粉末を用いたため、蒸留水で戻してから浜田培地に加えた。

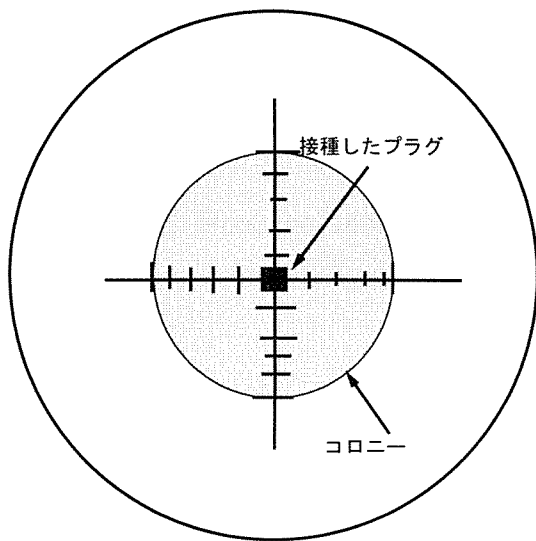


図1 伸長成長の測定

て遅いため、伸長成長の測定は、菌糸の成長速度がほぼ安定する発菌の12日後から始め、一週間ごとに、計7回測定を行った。伸長成長の測定については、1つのコロニーにつき4ヶ所ずつ半径を計測し(図1)、各処理区6回繰り返した。また、伸長成長測定終了後に、コロニーを寒天とともに切り出し、湯煎して寒天を溶かし、蒸留水で洗って60℃で一晩風乾し、105℃で6時間熱風乾燥して絶乾重量の測定を行った。

### 3. 結果

マツタケ菌糸の伸長成長速度(一日あたりの伸長量±標準偏差)は、対照区である1/2浜田培地が $0.34 \pm 0.01$ mm/day、デンブン区が $0.48 \pm 0.03$ mm/day、ナガイモ区が $0.16 \pm 0.02$ mm/day、1年葉煎汁区が $0.39 \pm 0.01$ mm/day、1年葉煎汁+デンブン区が $0.33 \pm 0.01$ mm/dayであった(図2)。当年葉煎汁区は酸性が強く(pH3.75)、寒天が固まらず実験ができなかった。

対照区と他の処理区をそれぞれ検定(5%水準)で比較した結果、デンブン区と1年葉煎汁区で、伸長成長速度が有意に大きくなっていった。反対に、ナガイモ区では、伸長成長速度が有意に小さくなっていった。その他の区は、対照区と差は見られなかった。

寒天培地上での伸長成長については上のような結果が得られたが、菌体重量(絶乾重)を測定した結果、対照区が $47.65 \pm 4.14$ mg、デンブン区が $135.77 \pm 27.35$ mg、ナガイモ区が $43.87 \pm 2.98$ mg、1年葉煎汁区が $2.73 \pm 0.18$ mg、1年葉煎汁+デンブン区が $14.38 \pm 5.71$ mgであり、重量成長が対照区を上回ったのはデンブン区のみで、

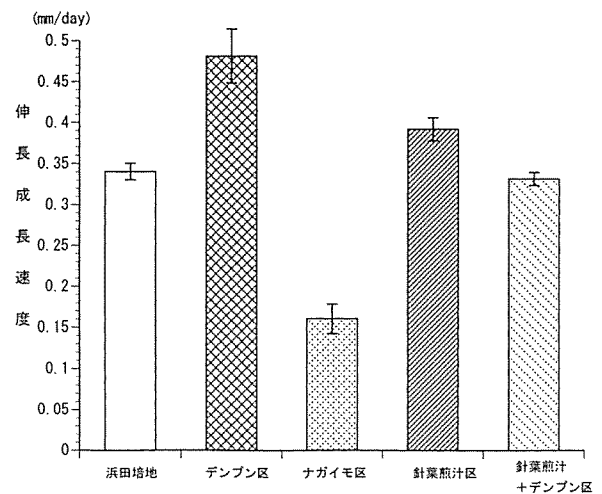


図2 マツタケの伸長成長速度 (バーは標準偏差)

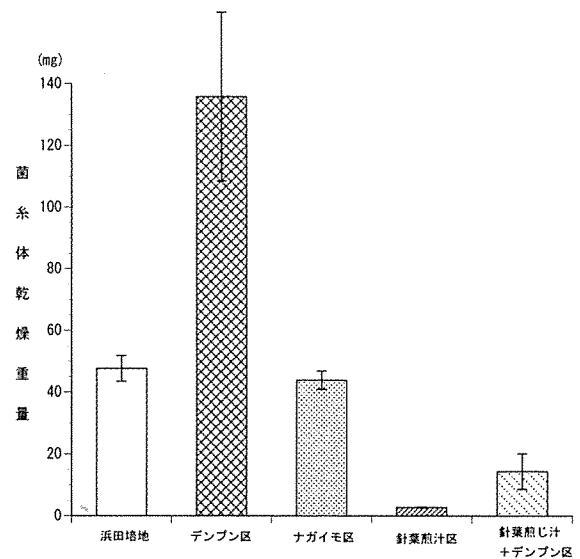


図3 マツタケコロニーの乾燥重量 (バーは標準偏差)

その他の培地ではすべて、対照区の1/2浜田培地を下回った(図3)。

また、各区のコロニー形態は著しく異なり(図4)、その特徴は表2のとおりであった。

### 4. 考察

1999年日本菌学会大会で、マツタケの成長促進にはナガイモが極めて有効という発表があったため<sup>1)</sup>その検証を行ったが、本試験では有効性は示されず、むしろ成長は抑制された。この違いの原因としては、先の発表では液体培養を行っているのに対し、本試験では寒天培地を用いたため、マツタケ菌糸が培地と接する面積が小さかったことが考えられる。学会発表で示された液体培養

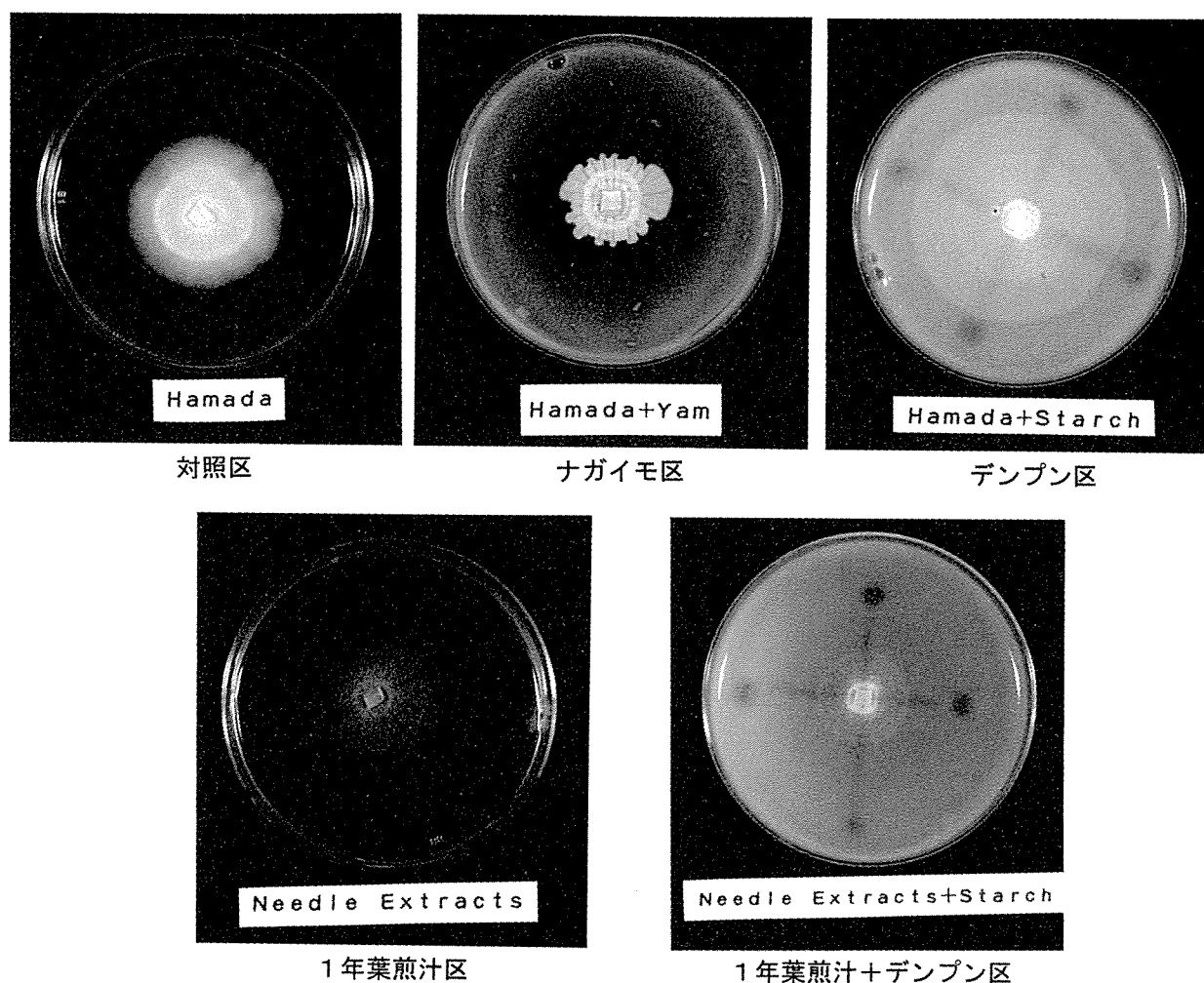


図4 コロニーの様子

表2 コロニーの特徴

培地の種類	コロニーの特長
对照区	正円に近く、菌体は比較的密。
デンプン区	正円に近く、菌体は密。
ナガイモ区	不規則な形で、波状に培地に食い込み、菌体は極めて密。
1年葉煎汁区	正円に近いが菌体は極めて疎。気中菌糸が培地表面を薄く覆う。
1年葉煎汁+デンプン区	正円に近いが菌体は疎。気中菌糸が培地表面を薄く覆う。

物は団子のように凝り固まっているように見えたが、本試験のナガイモ区のコロニーも菌相が著しく密で、波打って寒天培地に食い込むような立体的な形態であった。このため、本試験では菌体と培地との接触面積が小さかったが、液体培養では、密に固まったコロニーであっても表面全体が培地と接し、養分の吸収が容易であった可能性がある。

このコロニーを倒立顕微鏡で観察したところ、培養菌糸は太さが一定せず、瓢箪のように膨らんだり狭まったりしてかなり変形しており、栄養物が多い培地で高頻度に現れると言われている<sup>2)</sup>菌糸の形状に類似していた。さらに伸長成長が極めて遅いことから、土中を伸びて菌根を形成する能力が低いことが予想され、この培地で作られた接種源を用いてアカマツなどに菌根を形成させることは難しいと思われる。だが、極めて密な培養菌糸体を作れることから、それを用いてマツタケ加工品を作るなど、新たな商品開発は可能と思われた。

また今回は、同時に発表された可溶性デンプンのマツタケに対する成長促進効果<sup>1)</sup>も検証したが、これについては、本試験でも成長促進に対する有効性が示された。对照区とデンプン区の比較では、伸長成長も重量成長も促進されており、またコロニー形態にも菌糸の性状にも異常は見られなかった。さらに糖質を加えていない針葉煎汁を用いた培地でもデンプンの添加により重量成長が促進されており、マツタケ菌糸がデンプンを利用して

たと考えられる。

奈良県森林技術センターでは、河合(1999)の手法により、すでに宿主を用いたホンシメジの栽培に成功しているため<sup>3)</sup>、同じ手法を用いてマツタケを栽培できる可能性があるが、マツタケは成長が遅いために接種源を長期間培養しなければならず、その間の汚染や乾燥などのトラブルが問題となっている。そこで、この栽培法で用いる土壌培地に可溶性デンプンを添加し、培養期間の短縮を図ったが、結果としては糊化したデンプンが菌糸の伸びるべき空間を塞ぎ、あまり有用ではなかった。

今回用いた針葉煎汁培地のうち1年葉煎汁区は菌糸体密度が極めて低く、菌体の大量培養や接種源の短期培養には向かないと考えられるが、極めて貧栄養であるにもかかわらず、伸長速度に関しては対照区を上回っており、宿主植物へ接種する前の飢餓培養に用いることができると思われた。

マツタケは宿主であるアカマツの根に菌根を作る際、寄生的な侵入の仕方をすると言われていることや<sup>4)</sup>、野外で接種を行う場合、富栄養な培地はカビ汚染などに弱いという理由などから、マツタケを宿主へ接種する前には、病原菌の接種法にならい、貧栄養な培地で前培養(飢餓培養)が行われることがある<sup>5)</sup>。しかし貧栄養では成長速度が遅くなるため、実際にはあらかじめ富栄養な培地で伸ばしておいた物を貧栄養に移すことになる。この場合、用いる培地によっては、菌糸の形状は富栄養状態のまま、飢餓培養中にはほとんど新たな伸長は起こらず、結局宿主に感染しやすい菌糸はできない可能性があるが、今回用いた1年葉煎汁区の培地であれば、極めて貧栄養な状態で新たに伸長成長させることができ、接種前処理用の培地として検討の余地があると考えられた。

## 5. 引用文献

- 1) 菅原冬樹, 田中修: マツタケ菌糸の大量増殖. 日本菌学会第43回大会講演要旨集. 日本菌学会編. 青森, 1999-5, 日本菌学会. 1999, 55.
- 2) 小川真: 菌糸の形態. 「マツタケ」の生物学. 補訂版. 東京, 築地書館, 1991, 187-190.
- 3) 河合昌孝: ホンシメジの培養菌糸体埋設による人工感染と子実体の発生. 奈良県林試研報告. 29, 1-7 (1999)
- 4) 小川真: マツタケが作る菌根. 「マツタケ」の生物学. 補訂版. 東京, 築地書館, 1991, 57-63.

- 5) 成松真樹: シート状マツタケ接種源の開発. 岩手県林業技術センター速報. 116, 1 (2002)

(2002年11月29日受理)