

〈資 料〉

3種類の培地を用いた外生菌根菌の成長調査

山原美奈

Growth of Ectomycorrhizal Fungi on Three Kinds of Media

Mina YAMAHARA

現在奈良県森林技術センターで外生菌根菌用培地として用いている3種類の培地（浜田、OH、mMMN）について、7種類の菌根菌の成長速度の変化を調査した。その結果、mMMNでは、培養期間が長くなるにつれてオオキツネタケ、シャカシメジ、カクミノシメジの伸長成長が悪くなっていた。また浜田では、数系統のアミタケの成長が一時停止した。OHではこれらの問題は見られず、継代培養に適すと考えられた。

1. はじめに

外生菌根菌は、樹木の根に外生菌根と呼ばれる共生体を作って生活している植物共生菌である。外生菌根菌には、子のう菌、担子菌、接合菌が含まれるが、これらのうち担子菌の多くが大型の子実体（菌根性きのこ）を作る¹⁾。菌根性きのこは腐生性のきのこに比べて分離が難しく、分離された菌株も数回の植え継ぎで突然成長を停止するなど、維持するのが難しい²⁾。しかし、菌根菌の中には宿主植物に対し、リンなどのミネラルや水分を供給するなどして成長を助けたり^{3,4)}、病害耐性を高める働きをするものがある^{5,6)}ため、菌根菌の菌株を保有することは、今後の森林保全を考える上で有益である。現在、奈良県森林技術センターでは外生菌根菌の継代培養には主に3種類の培地を用いているが、それらが菌根菌の維持培養に相当であるかどうか検討したので、その結果について報告する。

2. 材料と方法

本試験には、当センター保存菌株である、オオキツネタケ (*Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton) (NLb-1、2) と、シャカシメジ (*Lyophyllum fumosum* (Pers.; Fr.) P.D. Orton) (NLf-6、7)、カクミノシメジ (*Lyophyllum sykosporum* Hongo et Cléménçon) (NLsy-991)、シロヌメリイグチ (*Suillus laricinus* (Berk. in Hook.) O. Kuntze) (Nsl-1)、チチアワタケ (*Suillus granulatus* (L.: Fr.) O. Kuntze) (NSg-3、4)、ヌメリイグチ (*Suillus luteus* (L.: Fr.) S. F. Gray)

(NSLu-1、4、5、6、7)、アミタケ (*Suillus bovinus* (L.: Fr.) O. Kuntze) (NSb-10、15、16、19、20、21) の計7種19系統を用いた（表1）。冷蔵庫でスラント保存されていたこれらの菌株を平板培地に数回植え継いで活性化し、実験前には全てを浜田培地（表2）に移植し、活発に成長してきたコロニーから4mm角のプラグを切り出して実験に用いた。切り出されたプラグを9cmシャーレに20mlずつ流し固めた浜田、OH、mMMNの3種類の培地（表2）の中心に置床し、シャーレの縁を約2cmに切ったポリメチルペンテンフィルムで巻いた。浜田は、外生菌根菌用培地として一般に知られている浜田培地のグルコースを半量に減らし、リン酸2水素カリウムを省いた培地であり、OHは、そこに植物用肥料であるハイポネックス®（株）ハイポネックス ジャパン）の粉末を添加したものである。また、mMMNは、外生菌根菌用培地であるMMN培地を基本に、添加物に変更を加えたものである。

プラグの置床後、コロニーの成長を記録するため、シャーレの裏にはプラグの中心を通る2本の直交線を引き、22±2℃の恒温室で培養した。発菌日から1週間ごとにコロニーの端を直交線上に記録し、シャーレの繰り返しは2とした。

3. 結果と考察

成長調査の結果は図1のとおりである。浜田とOHの成分はハイポネックス以外同じであり、どちらも栄養源はグルコースとイーストエキストラクトのみである。本

表1 供試菌株

種名	菌株名	採集場所	採集日
オオキツネタケ	NLb-1	鹿児島県高千穂	2000/10/27
	NLb-2	奈良県吉野郡西吉野村西野	2000/10/18
シャカシメジ	NLf-6	奈良県吉野郡十津川村	2000/10/13
	NLf-7	奈良県吉野郡十津川村小山手	2000/10/13
カクミノシメジ	NLsy-991	奈良県吉野郡大塔村殿野	1999/10/13
シロヌメリイグチ	Nsl-1	群馬県利根郡片品村	1999/9/17
チチアワタケ	NSg-3	奈良県高市郡高取町吉備	1999/10/4
	NSg-4	奈良県高市郡高取町吉備	2000/9/25
ヌメリイグチ	NSLu-1	鹿児島県高千穂	2000/10/27
	NSLu-4	奈良県吉野郡野迫川村北今西	2000/10/15
	NSLu-5	奈良県吉野郡野迫川村北今西	2000/10/15
	NSLu-6	奈良県吉野郡野迫川村北今西	2000/10/15
	NSLu-7	奈良県吉野郡野迫川村北今西	2000/10/15
アマタケ	NSb-10	奈良県吉野郡十津川村桑畑	1999/10/15
	NSb-15	奈良県吉野郡十津川村玉置	1999/10/15
	NSb-16	奈良県吉野郡野迫川村北今西	1999/10/17
	NSb-19	奈良県吉野郡天川村洞川	2000/10/19
	NSb-20	奈良県吉野郡天川村洞川	2000/10/19
	NSb-21	奈良県吉野郡天川村洞川	2000/10/19

表2 培地の組成 (1リットルあたり/寒天15g)

組成/培地	浜田	OH	mMMN
グルコース	10g	10g	10g
イーストエキストラクト	2g	2g	
ハイポネックス® (粉末)	0.5g		
モルトエキストラクト	3g		
リン酸水素カリウム			500mg
酒石酸アンモニウム			500mg
硫酸マグネシウム水和物			150mg
クエン酸鉄アンモニウム			8mg
塩化カルシウム水和物			70mg
塩酸チアミン			0.1mg
野菜ジュース (注)			10ml

(注) カゴメ野菜ジュース (トマトミックスジュース)
(食塩無添加) のろ液

試験で用いた菌株のうち、オオキツネタケ、シャカシメジ、カクミノシメジは、成長速度もその推移も浜田とOHでほとんど変わらなかった。ただし、同じ面積のコロニーであっても、OHのコロニーは菌相が濃かった。一方、これらの系統はmMMNでの成長が悪く、初めは他の2種類の培地と変わらない成長速度を示すにもかかわらず、2週目以降、だんだんと成長が鈍り、特に5週目には、シャカシメジとカクミノシメジでは1週間に1mmも伸びなくなった。エネルギー源となる糖分の量は、他の2種類の培地とほぼ同じであるため、成分のいずれかが、菌の成長に悪影響を与えているものと思われる。ただし、OHに野菜ジュースを添加しても、成長は鈍らないことが分かっているため、その他の成分が原因ではないかと考えられる。

キシメジ科のオオキツネタケ、シャカシメジ、カクミノシメジでは成長が悪かったmMMNだが、イグチ科のシロヌメリイグチ、チチアワタケ、ヌメリイグチ、アマタケに対する悪影響は見られず、培養初期にはむしろ、他の2種類の培地よりも成長がよい系統もあった。逆に、キシメジ科のきのこに対しては良好な成績を示した浜田では、6系統のアマタケのうち、3系統が途中で成長を

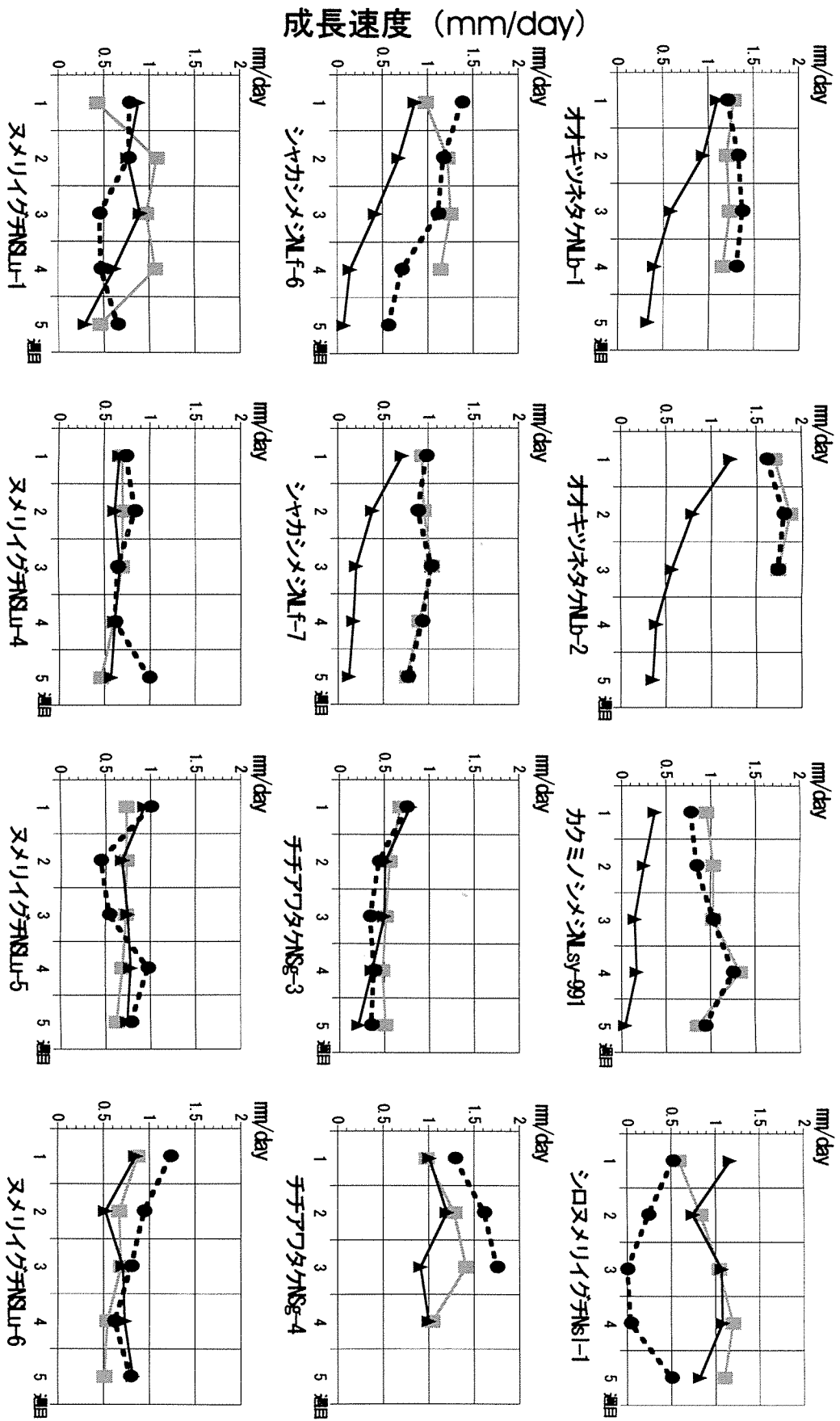


図1 培地ごとの成長速度

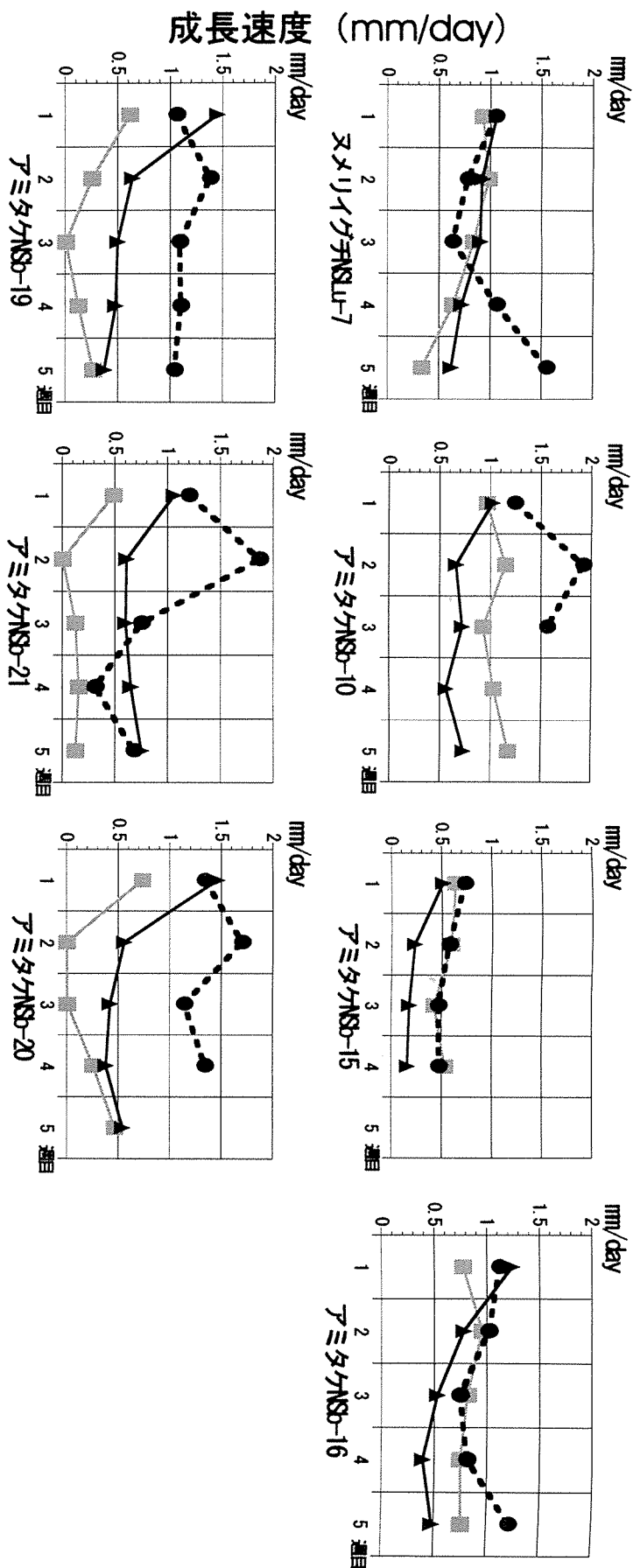


図1 続

停止してしまっただ。アマタケはおおむね、OHでの成長が良かった。ヌメリイグチも、4週間以内の培養であれば、どの培地でも大差無いと思われるが、長期培養であればOHを用いると成長速度が落ちにくいものと考えられた。

以上の結果から、3種類の培地のうち、どれが最適であるかは菌種にも系統にもよるが、OHが最も成長停止などのトラブルが少なく、多くの菌株で成長も良好であるため、菌根菌の継代培養に適すると考えられた。

引用文献

- 1) 岡部宏秋：“Ⅱ外生菌根菌”。森づくりと菌根菌。東京，(財)林業科学技術振興所，1997，11-13.
- 2) 長谷川美奈，河合昌孝：菌根性と考えられるきのこの菌株収集（第1報）。奈良県森林七研報。32，47-53（2003）
- 3) Burgess, T.I.; Malajczuk, N.: The ability of 16 ectomycorrhizal fungi to increase growth and phosphorus uptake of *Eucalyptus globules* Labil l. And *E. diversicolor* F. Muell. Plat and Soil. 153, 155-164 (1993)
- 4) Garbaye, J.{a}; Churin, J.L.: Growth stimulation of young oak plantations inoculated with the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* with special reference to summer drought. Forest Ecology and Management. 98(3), 221-228 (1997)
- 5) Sinclair, W.A.; Sylvia, D.M.; Larsen, A.O.: Disease suppression and growth promotion in Douglas-fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. Forest Science. 28, 191-201 (1982)
- 6) Sylvia, D.M. ; Sinclair, W.A. : Suppressive influence of *Laccaria laccata* on *Fuzarium oxysporum* and on Douglas-fir seedlings. Phytopathology. 73, 384-389 (1983)

(2003年12月3日受理)