

マツタケ菌培養用土壌培地の選抜とそのグルコース濃度

小林久泰・寺崎正孝 (茨城県林技セ)

要旨: マツタケ菌根苗作出法の改良を目指し、マツタケ菌培養用の土壌培地の選抜を試みた。8種類の土壌にMNC液体培地を含ませ、マツタケ菌を接種し、成長量を比較した結果、日向土、軽石砂に接種したものが最も速く伸長しており、これらの土壌が培地基材として有用であることが示唆された。次に、グルコース濃度を変えた液体培地を両土壌に含ませ、マツタケ菌を接種し、成長量を比較した結果、いずれの土壌においても、既存の培地に含まれるグルコース濃度 10g/L より、濃度を下げると、有意に成長量が下がり、既存の培地のグルコース濃度が適当であることが示唆された。

キーワード: マツタケ, 日向土, 軽石砂, 土壌培地

I はじめに

マツタケ *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. は栽培が困難であるため、市場価値が高い重要な特用林産物である。マツタケがアカマツと共生する菌根性きのこであることから、我々はマツタケ菌をアカマツの根に無菌的に接種し、菌根を形成させた苗(菌根苗)を作出し、これを野外に植えつけて、菌を野外に定着・増殖させ、そこから子実体の発生を目指す研究を進めている(1)。これまでに、ポリカーボネート製の専用容器を開発し、無菌的な条件下でアカマツと共生させて、野外の子実体直下に観察されるシロに類似した構造を有する菌根苗を作出することに成功し(1)、その菌根苗を野外に植え付けたところ、最大で2年間生存していたことを確認した(2)。

このアプローチでマツタケ栽培化の研究を進めるためには大量の菌根苗が必要となるが、作出に膨大な手間がかかり、改善の余地が大いにある。特に、菌の接種に液体培地で培養した菌糸体を用いているが(1)、菌糸体が脆弱なため、扱いが煩雑になり、多大な接種時間が必要になっている。この問題を解決するためには、土壌のような固形物を培養基材として用いることが適当であると考えられる。また、培地成分のうち糖類(グルコース)は、雑菌の汚染源となる恐れがあるため、野外に植栽する菌根苗作出を目的とするときには、より低濃度であることが好ましい。

そこで今回は、マツタケ菌の生育に適した土壌培地の選抜と、含ませる培地成分のうちグルコース濃度について、試験を行った結果を報告する。

II 材料と方法

1. マツタケ菌培養用土壌培地の選抜試験

予め 105°C で 24 時間乾燥させた 8 種類の土壌 [花崗岩質山砂(茨城県常陸太田市アカマツ林より採集、以下山砂)のみ、日向土(小粒、以下日向土)のみ、軽石砂(小粒、以下軽石砂)のみ、赤玉土(小粒)

表-1. MNC 培地の組成 (蒸留水 1L につき)

試薬	含有量
リン酸 2 水素カリウム	1.0g
硫酸マグネシウム	0.5g
酒石酸アンモニウム	0.5g
グルコース	10.0g
カゼイン(カザミノ酸)	0.23g
酵母抽出物	0.5g
硫酸亜鉛(0.2%保存液)	0.5mL
クエン酸鉄(1%保存液)	0.5mL
チアミン(0.1%保存液)	0.5mL

のみ、山砂:赤玉土(細粒)=2:1、日向土:赤玉土(細粒)=2:1、軽石砂:赤玉土(細粒)=2:1、赤玉土(小粒):赤玉土(細粒)=2:1]に液体MNC培地(3)(表-1)を、握ったときに少しにじみ出る程度に含ませ、容量50mLファルコンチューブに45mLずつ入れて、オートクレーブで滅菌した。供試菌株はマツタケ AT638 を用い、MNC 液体培地で培養した菌糸体を1cm角に裂き、1本のチューブに2片を土壌表面に接種し、20°C暗黒条件下で静置培養した。1カ月間隔で5カ月間、上から土壌への菌糸伸長量を1チューブ当たり1点ずつ測定した。各処理区は10反復とした。得られた数値はStatview J 4.5 for Macintosh を用いて一元配置分散分析を行い、同ソフトのFisher's post hoc test によって、2者間の検定を行った。

2. グルコース濃度比較試験

土壌は日向土と軽石砂のみを用い、105°Cで24時間乾燥させた後に、グルコース濃度を10g/L、3.3g/L、1g/L、0.33g/Lに変えた液体MNC培地を、握ったときに少しにじみ出る程度に含ませ、ファルコンチューブに45mLずつ入れて、オートクレーブで滅菌した。

供試菌株、接種方法、培養条件、反復数、データ解析は1.の試験と同様に行った。ただし、前培養で用いた培地成分の影響を減らすため、菌の接種前に、滅菌した

Hisayasu Kobayashi and Masataka Terasaki (Ibaraki Pref. Forestry Res. Inst.)

Selection of soil media for incubation of *Tricholoma matsutake* mycelia and their glucose contents.

蒸留水で菌糸を洗浄してから、1cm角に切断した。また、培養期間は2ヵ月間とした。

III 結果

1. マツタケ菌培養用土壌培地の選抜試験

表-2に各処理区の最下部に達した数を示す。最も成長の早い処理区は軽石砂区となり、接種3ヵ月後に土壌の最下部に達したため、接種2ヵ月後の菌糸伸長量を各処理区間で比較した。各処理区の2ヵ月後の伸長量の平均値と標準偏差を表-3に示す。平均値が最も高いのは日向土区で、次いで軽石砂区、山砂：赤玉土（細粒）=2:1区の順となった。日向土と他の処理区間の有意差の有無を調べた結果、軽石砂区は有意差が認められなかったのに対し、他の区はいずれも日向土区と有意差が認められた。したがって、マツタケ菌の生育に適した土壌は日向土と軽石砂であることが示唆された。

2. グルコース濃度比較試験

各処理区の2ヵ月後の伸長量の平均値と標準偏差を表-4に示す。平均値が最も高いのは日向土10g/L区で、次いで軽石砂10g/L区となった。3.3g/L以下の区の値は、いずれも10g/Lの区より有意に低いこ

とが明らかとなった。

IV おわりに

以上の結果から、接種源として活用するために適当な土壌は日向土と軽石砂で、グルコース濃度は10g/Lが適当であると考えられた。

今後は様々な形状の接種源を試作し、菌根苗作成時において、接種効率や作出率などを検討する必要がある。

V 引用文献

- (1) 小林久泰・倉持眞寿美・小倉健夫・小野瀬究明・山田明義 (2007) 大型培養容器によるマツタケのシロ様構造を有するマツ菌根苗の生産. 日本きのこ学会誌 15(3):151-155.
- (2) 小林久泰・寺崎正孝・山田明義 (2009) 植え付け後2年を経過したマツ苗でのマツタケ菌根の生残事例. 第120回日本森林学会学術講演集(CD-ROM).
- (3) YAMADA A, and KATSUYA K. (1995) Mycorrhizal association of isolates from sporocarps and ectomycorrhizas with *Pinus densiflora* seedlings. Mycoscience 36:315-32.

表-2. 各処理区の最下部に達した数 (n=10)

処理区	山砂	日向土	軽石砂	赤玉(小)	山砂+ 赤玉(細)*	日向土+ 赤玉(細)	軽石砂+ 赤玉(細)	赤玉(小)+ 赤玉(細)
1ヵ月	0	0	0	0	0	0	0	0
2ヵ月	0	0	0	0	0	0	0	0
3ヵ月	0	0	1	0	0	0	0	0
4ヵ月	0	0	4	0	0	0	0	0
5ヵ月	0	0	4	0	0	0	0	0

*赤玉土(細)の他の土壌に対する配合割合は2:1(V/V)である。

表-3. 接種2ヵ月後の各処理区の菌糸の伸長量

処理区	山砂	日向土	軽石砂	赤玉(小)	山砂+ 赤玉(細) ¹⁾	日向土+ 赤玉(細)	軽石砂+ 赤玉(細)	赤玉(小)+ 赤玉(細)
伸長量 ²⁾	6.5± 3.0	23.7± 7.8 ³⁾	20.5± 14.0 ⁴⁾	6.5± 7.5	14.8±5.2	8.6±2.2	11.0±3.9	12.4±5.1

¹⁾赤玉土(細)の他の土壌に対する配合割合は2:1(V/V)である。

²⁾伸長量の値は平均±標準偏差, 単位 mm, n=10。

³⁾最大伸長量

⁴⁾最大伸長量と有意差のない区

表-4. 接種2ヵ月後の各処理区の菌糸の伸長量

土壌	日向土				軽石砂			
	グルコース 濃度(g/L)	10	3.3	1	0.33	10	3.3	1
伸長量 ¹⁾	17.4± 3.7 ²⁾	14.5± 3.4	3.9± 6.5	0.6± 0.7	16.8± 3.0 ³⁾	4.4± 1.4	3.3± 1.7	0.7± 0.5

¹⁾伸長量の値は平均±標準偏差, 単位 mm, n=10。

²⁾最大伸長量

³⁾最大伸長量と有意差のない区