

3種の有機物濃度が菌根性きのこの菌糸伸長に及ぼす影響

小林久泰¹・倉持眞寿美¹

1 茨城県林業技術センター

要旨：ホンシメジ、シモフリシメジ、アカハツ、アマタケの4種13系統の菌根性きのこを用いて菌糸培養試験を行った。MNC培地を基本として、グルコース、酵母抽出物、カザミノ酸を3段階の濃度に変えた寒天培地を作り、菌糸伸長速度を比較した結果、全般的な傾向として、栄養源の濃度が高いと菌糸伸長が良い傾向があったが、ホンシメジの3系統では、グルコース濃度が低い方が良く伸長する場合があるなど、菌種間だけでなく、系統によっても菌糸伸長に適した有機物の濃度が異なっている可能性が伺えた。

キーワード：ホンシメジ、シモフリシメジ、アカハツ、アマタケ、MNC培地

Effects of three organic compounds on mycelial growth of ectomycorrhizal mushrooms.

Hisayasu KOBAYASHI¹, Masumi KURAMOCHI¹

1 Ibaraki Pref. For. Res Inst., Naka, Ibaraki 311-0122, JAPAN

Abstract: A mycelial growth experiment was conducted with 13 strains of 4 ectomycorrhizal fungal species, *Lyophyllum shimeji*, *Tricholoma portentosum*, *Lactarius akahatsu* and *Suillus bovinus*. Mycelial growth rates were compared among MNC agar media with three different concentrations of organic compounds such as glucose, yeast extract and casamino acid. As a result, while growth rates in media rich in nutrient were generally higher than those in media poor in nutrient, opposite results were obtained in some cases. For example, mycelial growth rates of 3 *Lyophyllum shimeji* strains in glucose-poor media were higher those in glucose-rich media. They suggested that different species may have different optimal concentrations for nutritional sources.

Keywords: *Lyophyllum shimeji*, *Tricholoma portentosum*, *Lactarius akahatsu*, *Suillus bovinus*, MNC agar medium

I はじめに

菌根性きのこは一般的に栽培が困難なため、直売所などにおいて高値で取引されており、その栽培化に成功すれば、林家の副収入源として大いに期待される。菌根性きのこは植物と共生して生活していることから、密閉容器の中で菌根合成させ、それを順化させることで子実体を発生させることが可能である。Yamadaらはこの方法で13種類の菌根性きのこの栽培試験を行い、このうちで4種類の菌根性きのこで子実体発生に、残りの4種類の菌根性きのこで子実体原基形成に成功した(2)。しかし、発生する子実体は小さく、実用化のためには、菌根合成の段階でより多くの菌根を作らせる必要があると考えられる。

多くの菌根を作らせるためには、菌糸を大量に準備する必要があるが、菌根性きのこの菌糸伸長速度は一般的に腐生性きのこに比べて遅く、菌糸増殖を効率的に行う必要がある。そこで、今回は菌糸を効率よく培養するた

め、現在使用している培地の3種類の有機物濃度について、比較検討を行った。

II 材料と方法

1. 供試菌株 茨城県林業技術センターに保存されている4種13系統の菌根性きのこ培養菌糸を供試した(表-1)。

2. 菌糸伸長調査方法 基本培地として使用した培地はMNC寒天培地である(1)(表-2)。有機物である、グルコース、酵母抽出物、カザミノ酸について、表-2に示すように、標準濃度(中央の値)、1/2濃度、2倍濃度の3つの異なる濃度の処理区を設けた。酵母抽出物はThermo Fisher Scientific社製Oxioid yeast extractを、カザミノ酸はBecton, Dickinson, and Company社製BD Bacto casamino acidを用いた。それぞれの処理区において、濃度を変える有機物は1種類のみとし、他の有機物は標準濃度とした。それゆえ、グルコースのみ

変えたもの2種類、酵母抽出物のみを変えたもの2種類、カザミノ酸のみを変えたもの2種類及び標準濃度の合計7種類の培地を作成した。培地のpHは測定せず、未調整のまま使用した。

それらの寒天培地を120°Cで20分間オートクレーブ滅菌した後、直径90mm、深さ15mmの滅菌プラスチックシャーレに各15ml分注して、平板培地を作成し、前述の各系統を培養した。各処理区4枚のシャーレを供試した。各シャーレには直径5.5mmのコルクボーラーで撃ち抜いた菌糸片を2つずつ4cm離して接種後、乾燥防止のため幅5cmのラップで縁をシールした。その後、暗黒20°Cの培養器に入れ、培養した。培養期間は各菌種の成長量が2cm弱になる期間を目安に設定し、ホンシメジは14日間、シモフリシメジとアマタケは35日間、アカハツは42日間とした。14日後～42日後に接種した菌糸片から外

表-1. 使用した系統

Table.1 Strains used in this study.

種名	系統名	分離年月日	採集地
ホンシメジ	KM11	不明	不明
	MK8	2003. 10. 10	八郷町
	MK13	2002. 10. 10	常陸大宮市
	MK55	2006. 10. 20	不明
	MK56	2006. 10. 20	不明
	MK57	2006. 12. 28	常陸大宮市
	シモフリシメジ	AT615	1997. 10. 13
AT660		1998. 11. 3	常陸大宮市
MK10		2003. 11. 4	那珂市
アカハツ	AT561	1997. 7. 3	銚田市
	AT583	1997. 9. 24	那珂市
	MK11	2003. 11. 13	那珂市
アマタケ	AT606	1997. 9. 30	常陸大宮市

表-2. MNC 培地の組成 (下線部は処理区として条件を振った栄養源とその分量)

Table.2 Composition of MNC medium (Underlines show nutrients modified in this study)

名称	分量
蒸留水	1L
<u>ブドウ糖</u>	<u>5g, 10g, 20g</u>
<u>カザミノ酸</u>	<u>0.12g, 0.23g, 0.46g</u>
<u>酵母抽出物</u>	<u>0.25g, 0.5g, 1.0g</u>
リン酸2水素カリウム	1.0g
硫酸マグネシウム7水和物	0.5g
酒石酸アンモニウム	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 (0.01%保存液)	0.5ml
寒天	15.0g

側4方向への菌糸伸長量をノギスで計測し、1日あたりの伸長速度を算出した。得られた値から、菌種、系統、栄養源の種類と濃度ごとに平均値を求め、栄養源の濃度間の差に関して、Wilcoxon-Mann-Whitney 符号順位検定を行った。

III 結果と考察

ホンシメジ、シモフリシメジ、アカハツ、アマタケのコロニーの形態はいずれも同心円状で、2個の菌糸片からの菌糸伸長に対する相互の影響は認められなかった。

ホンシメジ6系統の1日毎の菌糸伸長速度について、表-3に示す。グルコースは3系統で5g/L区の菌糸伸長が最も良く、酵母抽出物はすべての系統で1g/L区の菌糸伸長が良く、カザミノ酸はすべての系統で0.46g/L区の菌糸伸長が良い傾向を示した。このように、純粋な炭水化物であるグルコースは低濃度の処理区で、菌糸伸長が良かったのに対し、有機態窒素を含む酵母抽出物やカザミノ酸では高濃度の処理区で菌糸伸長が良い傾向にあったことから、ホンシメジの菌糸伸長には有機態窒素の存在が有効である可能性が考えられた。ただし、統計的な有意差 ($p < 0.05$, 以下同じ) が認められたのは5処理区のみで、うち有意に高かったのは4処理区であった。

シモフリシメジ3系統の1日毎の菌糸伸長速度について、表-4に示す。AT-615以外の2系統でグルコースは20g/L区の菌糸伸長が最も良く、酵母抽出物は1g/L区の菌糸伸長が良く、カザミノ酸は0.46g/L区の菌糸伸長が良い傾向を示した。3種類の栄養源いずれも高濃度の処理区で菌糸伸長が良い傾向にあったことから、シモフリシメジの菌糸伸長には有機物が全般的に有効である可能性が考えられるが、系統によっては異なる傾向となった。ただし、上述した処理区のうち、統計的な有意差が認められたのは4処理区のみで、全てが有意に高かった。

アカハツ3系統の1日毎の菌糸伸長速度について、表-5に示す。グルコースは2系統で20g/L区の菌糸伸長が最も良く、酵母抽出物は2系統で0.5g/L区の菌糸伸長が良く、カザミノ酸は2系統で0.46g/L区の菌糸伸長が良い傾向を示した。有機態窒素源を含む酵母抽出物とカザミノ酸で異なる処理区で菌糸伸長が良い傾向にあったことから、アカハツの菌糸伸長に影響を及ぼすのは、限られた有機態窒素である可能性が考えられた。ただし上述した処理区のうち、統計的な有意差が認められ、有意に高かったのは2処理区であった。

アマタケ1系統の1日毎の菌糸伸長速度について、表-6に示す。グルコースは5g/L区の菌糸伸長が最も良

く、酵母抽出物は0.5g/L区の菌糸伸長が良く、カザミノ酸は0.23g/L区の菌糸伸長が良い傾向を示した。酵母抽出物を高濃度で含む処理区で菌糸伸長が良い傾向にあったことから、アマタケの菌糸伸長に影響を及ぼすのは、酵母抽出物に含まれる有機態窒素である可能性が考えられた。ただし、統計的な有意差が認められたのは上述した処理区のうち、1処理区のみで、有意に高い処理区はなかった。

以上のことから、今回試験した4菌種については、一般的な傾向として、栄養源の濃度が濃いと菌糸伸長が良いように見えるが、ホンシメジの3系統のように、養分によっては低濃度の方が良く伸長するなど、系統によって菌糸伸長に適した有機物の濃度が異なっている可能性が伺えた。また、同じ菌種であっても系統が異なる場合、伸長速度が最大になる濃度の傾向が異なっているものも認められた(例えば、ホンシメジ3系統、シモフリシメジのAT-615とそれ以外)。暫定的に表-3~6の塗りつぶした部分が多いところを組み合わせた分量に培地組成を改変することは有用であると考えられるが、それらの組

み合わせた状態での菌糸伸長速度の評価など、さらなる検討が必要である。

謝辞：本研究は、特別電源所在県科学技術振興事業「菌根性きのこの感染・育成技術の開発に関する試験研究事業」により実施した。

引用文献

- (1) Yamada A, Katsuya K (1995) Mycorrhizal association of isolates from sporocarps and ectomycorrhizas with *Pinus densiflora* seedlings. *Mycoscience* 36: 315-323
- (2) Yamada A, Ogura T, Ohmasa M (2001) Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by in vitro mycorrhizal synthesis I. Primordium and basidiocarp formations in open-pot culture. *Mycorrhiza* 11: 59-66

表-3. ホンシメジの菌糸伸長速度 (単位 mm/日, 以下同じ)

Table 3. Growth rates of *Lyophyllum shimeji* strains

栄養源 系統\濃度	グルコース			酵母抽出物			カザミノ酸		
	5	10	20	0.25	0.5	1	0.12	0.23	0.46
KM-11	1.20	1.23	1.03*	1.12	1.23	1.27	1.05*	1.23	1.24
MK-8	0.86	0.94	0.93	0.84	0.94	1.16*	0.91	0.94	1.02
MK-13	1.07	1.20	1.20	1.08	1.20	1.29	0.99*	1.20	1.28
MK-55	1.29	1.27	1.27	1.10*	1.27	1.45*	1.23	1.27	1.34*
MK-56	1.37	1.28	1.29	1.10*	1.28	1.35*	1.23	1.28	1.31
MK-57	1.37	1.32	1.17	1.08*	1.32	1.42	1.23	1.32	1.36

・*は中央の濃度と比較して、高低にかかわらず有意差があることを示す (Wilcoxon-Mann-Whitney 符号順位検定, p<0.05, 以下同じ)。

・塗りつぶした処理区は3処理区のうち平均値が最大であることを示す (以下, 同じ)。

表-4. シモフリシメジの菌糸伸長速度

Table 4. Growth rates of *Tricholoma portentosum* strains

栄養源 系統\濃度	グルコース			酵母抽出物			カザミノ酸		
	5	10	20	0.25	0.5	1	0.12	0.23	0.46
AT-615	0.28*	0.34	0.29	0.28	0.34	0.31	0.31	0.34	0.32
AT-660	0.32	0.30	0.36*	0.30	0.30	0.40*	0.31	0.30	0.38*
MK-10	0.25*	0.21	0.28*	0.2	0.21	0.24	0.21	0.21	0.28

表-5. アカハツの菌糸伸長速度

Table 5. Growth rates of *Lactarius akahatsu* strains

栄養源 系統\濃度	グルコース			酵母抽出物			カザミノ酸		
	5	10	20	0.25	0.5	1	0.12	0.23	0.46
AT-561	0.32	0.29	0.39*	0.42*	0.29	0.20	0.33	0.29	0.31
AT-583	0.29	0.41	0.45	0.39	0.41	0.41	0.35*	0.41	0.43
MK-11	0.26	0.30	0.24	0.08*	0.30	0.23*	0.22*	0.30	0.14*

表-6. アミタケの菌糸伸長速度

Table 6. Growth rates of a *Suillus bovinus* strain

栄養源	グルコース			酵母抽出物			カザミノ酸		
	5	10	20	0.25	0.5	1	0.12	0.23	0.46
AT-606	0.49	0.46	0.39*	0.42	0.46	0.41	0.45	0.46	0.43