

〈資 料〉

土壌を基材にしたマツタケ接種源の改良

長谷川美奈・河合昌孝

Revises of Soil-based Media for *Tricholoma matsutake* (S.Ito et Imai) Sing.

Mina HASEGAWA and Masataka KAWAI

林地接種に用いるホンシメジ用培地を改良して、土壌を基材にしたマツタケ接種源の開発を試みた。その結果、当初10ヶ月経過してもまん延しなかったマツタケ菌糸が3ヶ月程度で培地全体にまん延するようになった。

1. はじめに

奈良県森林技術センターでは、すでに土壌を基材にした接種源を用いてホンシメジを発生させることに成功しており¹⁾、同様の技術を用いたマツタケの栽培に期待が高まっている。ホンシメジの場合、土壌培地を植物培養用容器に詰め、菌糸をまん延させて取り木苗への接種に用いるが、この方法ではマツタケの場合、培地上部には菌糸が廻るものの、6~10ヶ月間培養しても底の部分には菌糸がまん延しない。また長期間培養するため、培養期間中に雑菌汚染やバクテリア汚染が多発し、接種源の歩留まりも極めて悪い。さらに、取り木苗に接種しても、苗木に感染する前に接種源が死滅するなど問題が多く、接種源の改良が必要となっている。そこで、ホンシメジ用培地に様々な工夫を加え、改良を試みた。以下にその経過を報告する。

2. 材料と方法

マツタケの菌株は、奈良県森林技術センター保存菌株 NTM-1、NF2904、NF2919、NF2921、NF2922の5菌株(表1)を用いた。これらの菌株を表2に示す液体培地で数ヶ月培養し、得られた菌体をブレンダーを用いて無菌条件

表1 マツタケの菌株

菌株名	子実体採集場所	採集年月日
NF2904	野迫川村北股	1993/10/ 6
NF2919	天川村広瀬	1998/10/22
NF2921	天川村広瀬	1998/10/22
NF2922	生駒郡斑鳩町	1998/11/18
NTM-1	不 明	不 明

表2 液体培地の組成(単位: g)

グルコース	10
イーストエキス	2
ハイポネックス(粉末)	0.5
水	1000

表3 ホンシメジ接種源の組成(単位: g)

日向土	400
赤玉土	500
米ぬか	150
大麦	150
水	1150

下で粉砕して土壌培地(121℃、30分殺菌)に接種した。土壌培地はホンシメジ用土壌培地(表3)を基本として以下に示す改良を行い、培養期間の短縮と、野外接種源としての質の向上を図った。

2.1 培地添加物の改良

2.1.1 グルコースおよびハイポネックスの添加

浜田培地にハイポネックスを入れるとマツタケの成長が劇的に良くなる³⁾ことから、ホンシメジ用培地(表3)の水に換えて、ハイポネックスを少量加え、さらにデンプンのスターターとして少量のグルコースも添加した液体培地を用いた(表4)。

表4 マツタケ用土壌培地(単位: g)

成分	量	A液の組成	
日向土	400	グルコース	5
赤玉土	500	ハイポネックス(粉末)	0.5
米ぬか	150	水	1000
大麦	150		
A液	1150		

2.1.2 可溶性デンプンの添加

培地に可溶性デンプンを添加するとマツタケの成長が促進されるという報告があり²⁾、ホンシメジ用培地に可溶性デンプンを加えた。

まず本試験に用いるマツタケの成長が最も良くなるデンプン添加量を知るため、デンプン量を変えた寒天培地で成長調査を行った。報告²⁾の中で最も良いとされた可溶性デンプンとグルコースの比率（デンプン300g：グルコース20g：水1リットル）を基準にして5段階の培地（表5）を作り、マツタケを植菌して伸長成長と重量成長を比較した。

この結果最適と考えられた濃度でデンプンを添加した土壌培地を作成した。

表5 可溶性デンプン添加培地（単位：g）

培地	①	②	③	④	⑤
可溶性デンプン	300	250	200	150	100
グルコース	20	16.8	13.2	10.0	6.8
イーストエキス	2	2	2	2	2
寒天	15	15	15	15	15
水	1000	1000	1000	1000	1000

2.1.3 イーストエキス、フスマ、野菜ジュースの添加

2.1.1の培地からグルコースを減らしてイーストエキスを加え、米ぬかの代わりに油分の少ないフスマを用い、さらにビタミン源としてトマトミックスジュースタイプの野菜ジュース（カゴメ株式会社）のろ液も添加した（表6）。

表6 マツタケ用土壌培地（2）（単位：g）

日向土	400
赤玉土	400
バーミキュライト	100
ピートモス	50
フスマ	130
大麦	130
グルコース	4
イーストエキス	1
ハイボネックス	0.5
ジュース（注1）	10
水	1100

（注1）カゴメ野菜ジュース（トマトミックスジュース）のろ液

2.1.4 大麦の削減

ホンシメジに比べ雑菌に弱いマツタケの接種源は、野

外で取り木への接種を行った場合、短期間に雑菌に犯されて死滅してしまうという問題がある。接種源に栄養物が多ければ多いほど雑菌が繁殖しやすいと考えられることから、培地中の栄養源の減量を試みた。表6に示した培地中で最も多い有機物は大麦であったため、これを除いた培地（表7）に菌を接種して成長を観察した。

表7 マツタケ用土壌培地（3）（単位：g）

日向土	400
赤玉土	400
バーミキュライト	100
ピートモス	50
フスマ	130
グルコース	4
イーストエキス	1
ハイボネックス	0.5
ジュース（注1）	10
水（注2）	800

（注1）カゴメ野菜ジュース（トマトミックスジュース）のろ液

（注2）大麦を除いた分、必要な水の量が減った

2.1.5 フスマの削減

表6の培地で大麦の次に多い有機物はフスマであったため、大麦を抜いた上でフスマも半量まで減らした培地（表8）を作成した。さらに、大麦もフスマも全く入っていない培地（表9）も作成した。

表8 マツタケ用土壌培地（4）（単位：g）

日向土	400
赤玉土	400
バーミキュライト	100
フスマ	60
グルコース	4
イーストエキス	1
ハイボネックス	0.5
ジュース（注1）	10
水	800

（注1）カゴメ野菜ジュース（トマトミックスジュース）のろ液

2.2 培地基材の改良

2.2.1 バーミキュライトとピートモスの利用

ホンシメジ用の赤玉土と日向土を基材とする培地は隙間が多く、マツタケの菌糸はその空隙には伸びずに土壌粒子の表面に貼り付くように成長する様子が観察されたので、より空隙を狭くして基材の表面積が大きくなるよ

表9 マツタケ用土壌培地 (5) (単位: g)

日向土	400
赤玉土	400
パーミキュライト	100
ピートモス	50
グルコース	4
イーストエキス	1
ハイポネックス	0.5
ジュース (注1)	10
水	800

(注1)カゴメ野菜ジュース(トマトミックスジュース)のろ液

うに、基本の赤玉土と日向土にパーミキュライトを混合した。また、マツタケは酸性よりの培地を好むため、ピートモスも加えた (表6~9)。

2.3 培養容器の改良

2.3.1 ポリカップの上げ底

ホンシメジに用いる植物培養用ポリカーボネイト製容器 (直径6cm、キリンビール株式会社、ポリカップと称す) (図1) で培養した場合、マツタケの菌糸は培地表面には比較的よく伸長するが、培地の底の方にはなかなかまん延せず、1年近く培養しても底部分は未まん延という場合もある。この原因を、酸素不足と考え、ろ紙でポリカップに上げ底を作り、培地の中央にも縦穴を開け、全体に空気が行き渡るようにした。

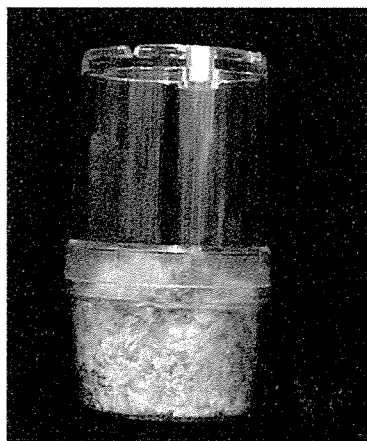


図1 ポリカップ

2.3.2 二重容器

側面と底に多数の穴を開け、培地基材が漏れ出ないように底に脱脂綿を敷いたポリプロピレン製カップに培地を詰め、それをポリカップの中に入れて殺菌し、ここにマツタケを植菌した (図2)。

2.3.3 シャーレの利用



図2 二重容器で培養したマツタケ

培地表層部には比較的菌糸がまん延しやすいことから、培地重量あたりの植菌面積を増やし、マツタケがまん延できる深さの容器で培養すればよいと考え、厚さ約1.5cm、直径9cmのポリプロピレン製シャーレに培地を詰め、ここにマツタケを植菌した (図3)。

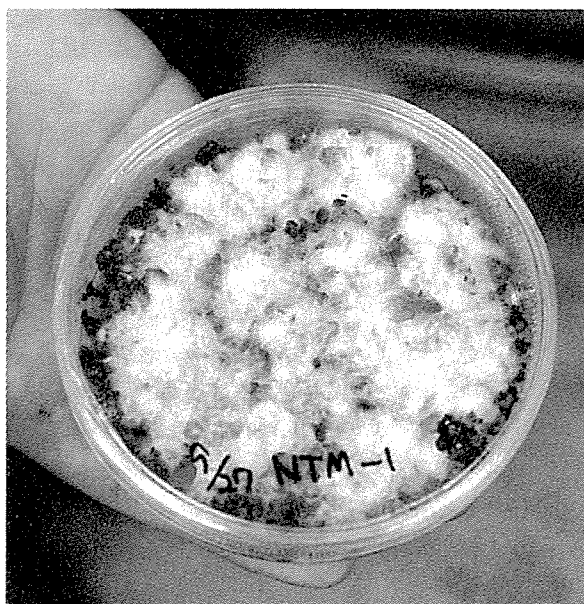


図3 9cmシャーレを用いたマツタケ接種源

3. 結果

3.1 培地添加物

3.1.1 グルコースおよびハイポネックスの添加

従来の培地に比べ初期の菌糸成長が早くなったが、ポリカップでは培地下部まで菌糸がまん延しなかった。

3.1.2 可溶性デンプンの添加

寒天培地を用いた試験の結果、伸長成長はデンプン

100g：グルコース6.7g：水1リットルの比率で、また重量成長はデンプン150g：グルコース10g：水1リットルという培地で最も成長が良かった。そこで、接種源としては菌体量が多い方が良くと考え、デンプン150g：グルコース10g：水1リットルの比率で液体培地を作り、土壤培地に添加した。

この培地は殺菌の際にデンプンが糊化し、土壤基材に貼り付いて空隙を塞ぎ、菌糸がまん延しなかった。

3.1.3 イーストエキス、フスマ、野菜ジュースの添加

フスマの使用により従来に比べさっくりした培地になり、殺菌後の培地の上部と下部の水分量の差が小さくなった。その結果、培地下部にまで菌糸が廻りやすくなった。

3.1.4 大麦の削減

大麦を全く入れない培地でも菌糸は良好に成長した。

3.1.5 フスマの削減

大麦を抜き、フスマを半量まで減らした培地でも、成長は悪くならなかった。しかし、フスマも大麦も全く入っていない培地では、菌糸の成長が極めて悪くなった。

3.2 培地基材

3.2.1 バーミキュライトとピートモス

バーミキュライトの使用によってホンシメジ用培地に比べて基材の表面積が多くなり、菌糸密度が増え、その菌糸が赤玉土や日向土といった大粒の土壤粒子をつなぎ止めたため、接種源を容器から外しやすく、シャーレでの培養によりパンケーキ状の接種源ができあがった。またバーミキュライトやピートモスが水分を保持して全体の水分量が均一になったため、下部に液体培地がたまることなく、全体に菌糸が廻りやすかった。

3.3 培養容器

3.3.1 ポリカップの上げ底

全体に菌糸がまん延するようになったものの、従来の方法に比べて劇的に雑菌汚染が増えた。

3.3.2 二重容器

フィルムケースに詰めた培地全体に菌糸がまん延した。ただし、この手法でも雑菌汚染が激しく、得られる菌糸体の歩留まりが非常に悪かった。

3.3.3 シャーレ

比較的速やかに培地全体に菌糸がまん延した。

4. 考察

ホンシメジ用の土壤培地を改変してマツタケに適した土壤培地を考案し、野外で用いることのできるマツタケ接種源として使えるものを作ることを目標として試行錯

誤を繰り返してきたが、上に述べた培地添加物の改良、培地基材の改良、培養容器の改良は平行して行っており、全ての組み合わせで試験を行ったわけではない。しかし、工夫により、培地全体に菌糸がまん延して接種源として使えるようになるまでの培養期間は当初の10ヶ月以上から3ヶ月にまで短縮できた。3ヶ月培養で接種源が完成する組み合わせは、表8の培地をシャーレに詰めたものである。

培地添加物については、グルコースとハイポネックスの添加により、植菌後の再発菌や初期成長が良くなった。このメカニズムは不明だが、ハイポネックスがミネラル源として働いたことが予想される。またグルコースは、自身が栄養源として使われるという以外にも、フスマを分解するためのスターターとして働いたと考えられる。フスマは、半量まで減らしても影響はなかったが、全く入れない培地では、マツタケの成長が劇的に悪くなったことから、マツタケは多少フスマを利用できるものと考えられた。しかし、大麦は完全に除いても、菌糸成長に目に見えるほどの影響が無かったことから、ほとんど利用していなかったものと思われる。イーストエキスと野菜ジュースの影響ははっきりしなかったが、主にビタミン源として働くことを期待して現在も添加している。

培地基材については、バーミキュライトとピートモスの添加によって、それまでは培養容器の底にわずかながら液体培地が溜まっていたが、水分が培地全体に分散するようになり、底まで菌糸が廻りやすくなったことが重要である。日向土と赤玉土の培地では、底にたまらない程度の水分含有量にすると培養中に上部が乾き、わずかでもたまっていると底に菌糸が廻らないという問題があったが、特にバーミキュライトは保水性が良く、乾かず、溜まらずの水分量を実現できた。ただ、バーミキュライトとピートモスだけでは接種源が柔らかくなりすぎて、容器から外すときに形が崩れてしまうため、温室実験程度の接種であれば問題は無いが、山中で用いるには作業性が悪く不相当と考えられた。

培養容器については、上げ底や二重容器にした場合、1容器あたりの培地量が減って相対的に植菌面積が増えたことに加え、余分の水分は培地からポリカップに流れ出て、培地自体には水分の溜まった場所が無く、容器全体としては十分に湿度を維持できたために培地全体に菌糸がまん延したと考えられた。しかし、雑菌汚染が激増して、歩留まりが大変悪かった上、接種源そのものの体積が小さい割に場所をとるなどの問題があった。雑菌汚染激増の原因としては、ポリカップ上部の通気口に取り付けてあるフィルターの性能が悪かったこと、容器内に

空間が多く、十分に殺菌できていなかったことなどが考えられた。

シャーレを用いた培養では、シャーレの縁をポリメチルペンテンフィルムで巻いたため、通気は極めて悪かったと考えられるが、赤玉土と日向土、バーミキュライト、ピートモスを混合した培地を用いたので、水分が底部に溜まることは全く無かった。この容器で培養した場合、培地が薄いため菌回りが速く、菌糸まん延後はヘラや葉さじを使えばシャーレの形のままパンケーキ状の接種源を取り出すことができ、非常に実用的であると考えられた。また、薄型で重ねておくこともできるため、培養中も場所をとらず、通気口がないので雑菌汚染も極めて少なかった。この結果から、マツタケの培養では、あまり通気に気を配る必要はなく、むしろ雑菌の侵入をできるだけ防ぐ方が重要であると考えられた。

以上の改良により、土壌培地への植菌から接種源の完成までは3ヶ月に短縮されたが、植菌用の菌体の前培養から計算すると、菌糸の状態にもよるが、さらに半年ほどの時間を要し、液体培養に用いる三角フラスコも非常に場所をとるため、現在、植菌前の前培養についても改良を検討中である。

引用文献

- 1) 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)
- 2) 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.
- 3) 太田明：私信.

(2002年12月13日受理)