

マツタケの人工培養を目指して

3年B組 岡田 瀬礼奈 3年C組 熊谷 京香 3年C組 榊田 奈央
3年C組 米田 英里奈 2年A組 松井 絵莉子 1年B組 結崎 祈
指導教員 櫻井 昭

1. 要約

私たちの班は、マツタケの人工培養を目指し昨年度から研究を始めて2年になる。1年目は、キノコの子実体形成に関する基礎を学ぶため、自分たちでシイタケの人工培養を行う方法を確立した。2年目の今年度は、シイタケの人工培養の際、子実体形成を促進するために必要となる栄養分の検討を行い、子実体形成をスムーズに進めさせる方法の確立を目指した。また、マツタケ菌の純粋培養を試み、なぜマツタケ菌の人工培養が困難であるのか、培養するための培地条件の検討を行なった。

キーワード 子実体、菌糸、組織、培地、呼吸

2. 研究の背景と目的

マツタケの人工培養の成功例はいまだ報告されていない。私たちは、なぜマツタケは人工培養が困難なのか興味をもち、マツタケの人工培養の成功を目指して研究を昨年度から始めた。昨年度の研究では、マツタケを培養するための基礎固めとして、人工培養に成功しているシイタケの培養を試みた。そして、自分たちだけでシイタケの人工培養に成功した。そこで今年度は、子実体形成時に培地に入れる栄養素によって成長に違いは出るのか検討し、マツタケ菌を子実体誘導に導くための足掛かりにしようと考えた。また、シイタケの人工培養を自分たちで確立できたため、今度はマツタケ菌の培養にも取りかかることにした。

3. 研究内容

3-1 シイタケの子実体形成時の栄養の検討

3-1-1 実験仮説

シイタケの子実体形成時には、栄養としておがくず培地に米ぬかを加える方法が確立されており、私たちも米ぬかを使用した培地で子実体の形成に成功した。このとき、なぜ米ぬかが使用されるのか疑問に思い、米ぬか内に含まれる栄養素が菌の成長に有効なのではないかと仮説を立てた。

3-1-2 実験方法

シイタケの菌糸を培養するため、寒天培地におけるシイタケの組織培養を行った。寒天培地の組成は、酵母エキス、麦芽エキス、ブドウ糖で、それらを混合させた培養液を寒天で固めた。その培地にシイタケの子実体から採取した組織を植え、25℃で培養した。

菌糸が殖えていることを確かめた後、子実体を形成させるためにおがくず培地に菌糸を移し替えた。

私たちが参考にしているキノコ培養の実験書では、おがくず培地の栄養素として米ぬかが用いられていたのですが、その米ぬかのところを、それぞれ雑穀、二種類の野菜ジュース、スポーツドリンク(以下、スポドリ)に替えた培地を作成した。

実験に使用した培地の組成をまとめると以下ようになる。

・寒天培地(YMG 培地)

酵母エキス	3g
麦芽エキス	7.5g
ブドウ糖	3g
寒天	11.25g
蒸留水	750mL

・おがくず培地

※米ぬか、雑穀

<div style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">{</div>	おがくず	900g
	※	300mL
	水	2145g

* スポドリ、野菜ジュース

<div style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">{</div>	おがくず	1200mL
	*	715mL

菌糸を植えた、これらの培地を 17°C で培養した。

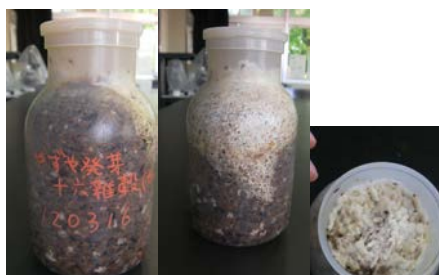
3-1-3 実験結果

約2ヶ月後に、すべての培地において、菌糸が殖えているのが確認された。以下の写真は3ヶ月後のものである。

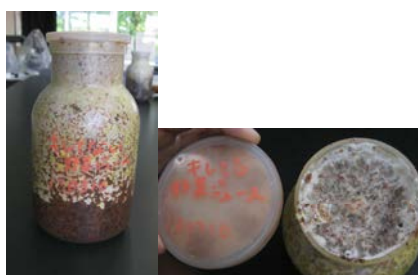
・米ぬか



・雑穀



・野菜ジュース①



・野菜ジュース②



・スポーツドリンク



さらに培養を続け、植え付けから6ヶ月後、各ポットに子実体ができているのが確認できた。



米ぬか 雑穀 野菜ジュース 野菜ジュース スポーツ
① ② ドリンク

スポーツドリンクのポット以外のどのサンプルも子実体ができしたが、菌糸の伸びるスピードや子実体の数は、米ぬかが最もよかった。

3-2 マツタケ菌の純粋培養

3-2-1 実験仮説

通常、マツタケ菌は IFO-7 培地という培地で培養されるが、私たちがこの培地を使ってマツタケ菌の培養を試みたところ、マツタケ菌が殖えず、すぐに他の菌に浸食されてしまった。

・ IFO-7 培地

エビオス	5g,	グルコース	20g
寒天	18g,	蒸留水	1L

そこで、「なぜマツタケ菌が他の菌に負けてしまうのか。」「成長速度(分裂速度)の違いは何から生じてしまうのか。」その要因を突き止めたいと考えた。マツタケ菌は真核生物(単細胞生物)であるため、図1のような代謝経路を用いた成長(分裂)をするためのエネルギーを細胞内で作っている。マツタケは、グルコースを少しずつ分解してエネルギーを得ているが、グルコースをピルビン酸に分解する解糖系の回路の反応効率が悪いといわれている。そこで、グルコースの代わりにクエン酸回路でつくられる有機酸を、培地に直接加えればマツタケ菌の成長

速度が上がるのではないかと仮説を立て、実験を試みることにした。

3-2-2 実験方法

IFO-7 培地のグルコースの代わりとしてそれぞれクエン酸、酢酸を加えた培地を 250mL ずつ作成し、それらの培地にマツタケ菌糸を植え付けた。250mL の IFO-7 培地に含まれているグルコース 5g の分子量と同じ分子量になるようにクエン酸あるいは酢酸を加えた。

3-2-3 実験結果

クエン酸培地は IFO-7 培地同様凝固し培地を作成できたが、植え付けたマツタケ菌は殖えなかった。酢酸培地は固まらなかったため、菌糸を植え付けることができなかった。

4. 考察

4-1 シイタケの子実体形成時の栄養の検討

スポーツドリンクのポットにあまり菌糸が広がらなかったのは、栄養分が糖とナトリウムのみのもを使用したためだと考えられる。反対に、一番栄養価の高い米ぬかのポットの菌糸が一番よく成長したので、シイタケは栄養があればあるほど成長が速くなると考えられる。(図1参照)

4-2 マツタケ菌の純粋培養について

今回、培地にクエン酸を加えた際、培地が強い酸性になってしまったことにより酢酸培地が固まらず、またマツタケ菌が殖えなかったと考えられる。

5. 今後の課題

5-1 シイタケの子実体形成時の栄養の検討

今回の実験で、米ぬかが最適であるとわかったので、米ぬか内のどの栄養素が子実体形成に有効なのか検討をしたい(表)。また、本来はポットの口の部分に子実体を形成させたいのだが、今回はポットの側面に形成されてしまった。子実体形成の向きを制御する方法も検討したい。

5-2 マツタケ菌の純粋培養について

有機酸を加えても培地が中性になるように pH 計を用いて調整し、再度マツタケ菌の培養に挑戦したい。また、クエン酸回路のどの有機酸を加えたときに最もマツタケ菌の成長が速くなるか検討したい。シイタケのように、マツタケも栄養分があればあ

るほど成長が速くなるのか確かめたい。

6. 参考文献

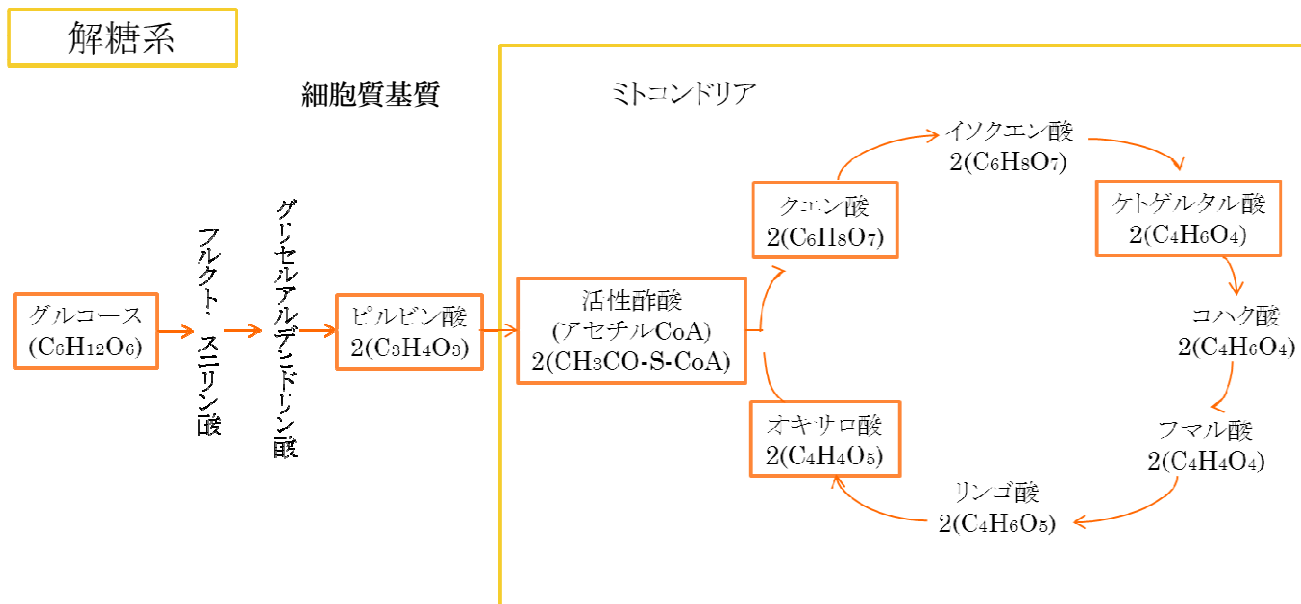
- [1]「きのこ実験マニュアル」,善如寺厚,渡辺直明,講談社,1987
- [2]「きのこの実験法」,衣川堅二郎,築地書館,1988

7. 謝辞

サイエンス研究会生物班の活動において、櫻井先生と奈良女子大学の植野洋志先生、片桐美香さんに、多大なご指導を賜りました。この場で、深く感謝申し上げます。

8. 図表

(図 1)



(表 1) 栄養分析

	野菜ジュース①	野菜ジュース②	雑穀	米ぬか	スポーツドリンク
エネルギー kcal	291.72	246.28	1062	858	114.4
タンパク質 g	6.864	0.795~4.77	26.7	39.6	0
脂質 g	0.572	0	10.5	54.9	0
糖質 g	62.92	54.817	195		
食物繊維 g	2.86	7.15	19.5	23.4	
ナトリウム mg	137.28	11.917~385.306	48	15	357.5
カルシウム mg	120.12		4101	138	
カリウム mg	2860	1016.9		5400	
鉄 mg	1.3156			18	
マグネシウム mg	74.36				
βカロテン μg		7070.6~38252.5			
葉酸 μg		4~31.8			
ビタミン A μg	2230.8				
ビタミン B1mg		0~194.6		7.5	
ビタミン B2mg		15.9		1.5	
ビタミン C mg	29.172	2.4~27.4			
ビタミン K μg	21.736				
シヨ糖 g			21		
水分 g				40.5	
炭水化物 g				114.9	28.028
ナイアシン mg				75	
リン mg				4500	