

マツタケの人工培養を目指して

6年A組 結崎 祈

指導教員 櫻井 昭

1. 要約

私は未だ安定した手法が確立されていないマツタケの人工培養法について研究している。昨年度に引き続きマツタケ菌糸の成長速度を向上させる研究を行い、今年度は培地の組成を変更する実験を行った。その結果、培地の組成を変更するとマツタケ菌糸の成長速度に変化がおきた。

キーワード マツタケ 糖 アセチル coA ピルビン酸 デンプン 成長速度

2. 研究の背景と目的

安定したマツタケの人工培養の成功例は未だ報告されていない。私は、なぜマツタケの人工培養が困難であるのかに興味をもち、マツタケの人工培養を目指して研究を始めた。

マツタケの人工培養が困難である理由の一つに、菌糸の成長速度の遅さがある。私はそれを解決するために、培地の組成のうち、グルコースを変更し、一連の実験を行った。

3. 実験内容

3.0 事前準備

実験を行う場をビニールカーテンで区切り、その中でプラズマクラスターを約24時間つけ放しにすることで、できるだけ菌の少ない状態を作る。また、マツタケ菌を扱うときは、クリーンベンチ内で行う。以下の全ての実験において、この無菌操作は共通で行う。

・マツタケ培地

IFO-7 培地を採用している(2014, 結崎祈)。

3.1 ピルビン酸培地 アセチル coA 培地

3.1.1 実験目的

寒天培地に植え継がれたマツタケ菌糸は培地内のグルコースを養分として吸収し、分解することでエネルギーを得ている。菌糸の成長速度が遅いのは、このグルコースの分解が遅いからではないかと考え、「グルコースの分解過程にある物質を培地にグルコースの代わりに入れれば、分解回路が短縮される」という仮説を立てて一連の実験を行った。

3.1.2 実験仮説

培地に含まれるグルコースをグルコースの分解過程の物質に変更すれば、分解回路が短縮されて菌糸の成長速度が向上する。

3.1.3 実験方法

IFO-7 培地の組成のうち、グルコースをピルビン酸及びアセチル coA に置き換えて培地を作成する。成長速度を比較する基準として、グルコース量をアセチル coA と同じモル数にした培地も作成する。アセチル coA は 1g しかないため、ピルビン酸とグルコースのモル数はアセチル coA にあわせる。また、ポジティブコントロールとして通常の IFO-7 培地、ネガティブコントロールと

して通常の IFO-7 培地の組成からグルコースを除いた培地を作成する。作成した各培地にマツタケ菌を植え継ぎ、28℃のインキュベーター内で 78 日間培養した。各培地の組成は以下に示す通りである。

<ピルビン酸培地>

エビオス	0.75g
ピルビン酸	0.12g
寒天	2.70g
蒸留水	Σ 150ml

<アセチル coA 培地>

エビオス	0.75g
アセチル coA	0.10g
寒天	2.70g
蒸留水	Σ 150ml

<基準培地>

エビオス	0.75g
グルコース	0.12g
寒天	2.70g
蒸留水	Σ 150ml

<IFO-7 培地(ポジティブコントロール)>

エビオス	0.75g
グルコース	3.00g
寒天	2.70g
蒸留水	Σ 150ml

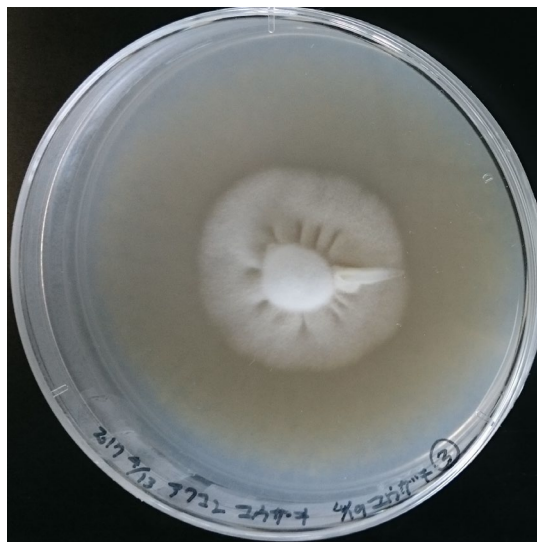
<ネガティブコントロール>

エビオス	0.75g
寒天	2.70g
蒸留水	Σ 150ml

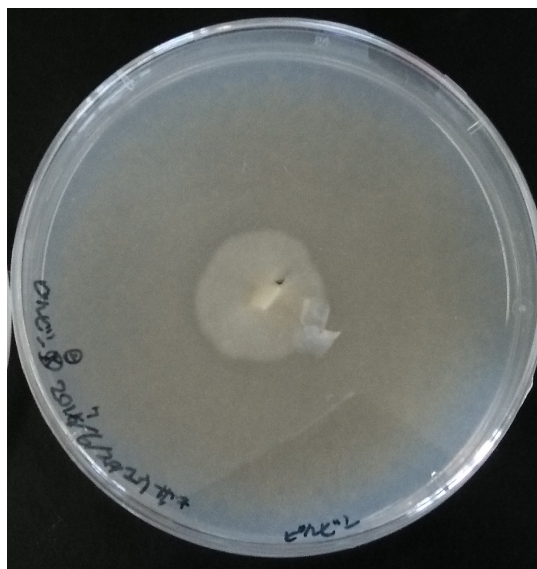
3.1.4 実験結果

全種の培地において菌糸の成長が見られた。成長の度合いはポジティブコントロー

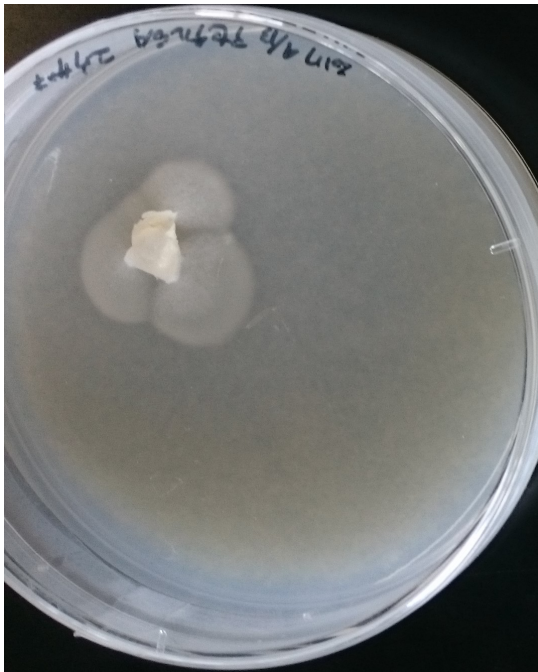
ルの IFO-7 培地が最も高くなっており、ピルビン酸培地、アセチル coA 培地、ネガティブコントロールでは菌糸の成長の度合いに差はほぼ見られなかった。基準培地では菌糸の成長が見られなかった。



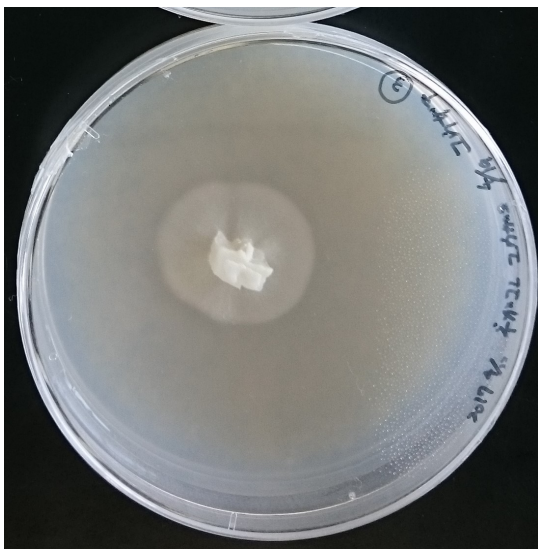
↑ ポジティブコントロール



↑ ピルビン酸培地



↑アセチル coA 培地



↑ネガティブコントロール

3.1.5 考察

ピルビン酸培地、アセチル coA 培地の両方で成長量は向上しなかったため、仮説は否定される。基準培地は一度培地の作成に失敗し、作り直したため、植え継ぎの日が異なっている。基準培地に植え継いだ菌糸が枯れていたため、これのみ成長が見られなかったと考えられる。グルコースを含ま

ないネガティブコントロールの培地で菌糸の成長が見られたことについて、培地の組成にあるエビオスに少量添加されている乳糖が炭素源になり、成長したのではないかと考えている。

3.2 デンプン培地

3.2.1 実験目的

実験 3.1 でグルコースの分解回路を短縮することで成長速度の向上を試みたが、成長速度は逆に低下した。では逆にグルコースを分解前の物質に置き換えたらどうなるか。マツタケの人工培養法について調べる中で、いくつかの論文にデンプン培地での培養が可能であることが記されていた。

3.2.2 実験仮説

グルコースをデンプンに置き換えた培地を使用すると、菌糸が成長する。

3.2.3 実験方法

IFO-7 培地の組成のうち、グルコースのみをデンプンに置き換えて培地を作成した。デンプンには決まった化学式が無いため、とりあえずグルコースと同量に設定した。また、成長量の比較対象として通常の培地も用意し、デンプン培地と同様に植え継ぎを行ない、28℃のインキュベーター内で195日間培養した。培地の組成は以下に示す通りである。

<IFO-7 培地(通常培地)>

エビオス	0.75g
グルコース	3.00g
寒天	2.70g
蒸留水	Σ 150ml

<デンプン培地 >

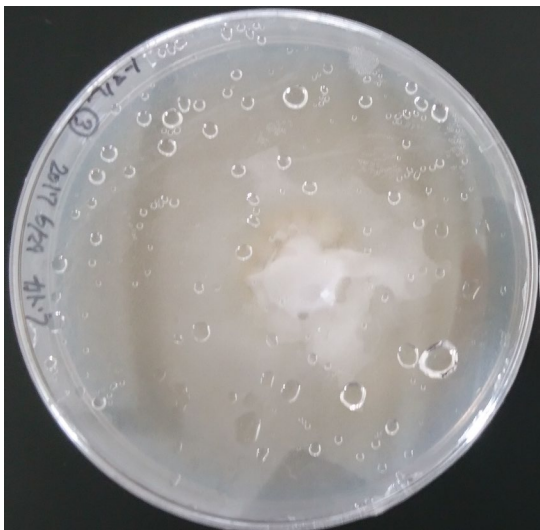
エビオス	0.75g
水溶性デンプン	3.00g
寒天	2.70g

蒸留水

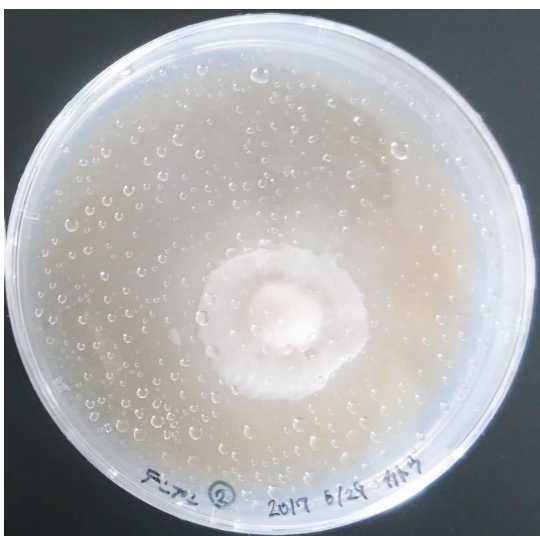
Σ 150ml

3.2.3 実験結果

デンプン培地でも菌糸の成長が観察された。菌糸の成長量に、通常培地との差は見られなかった。



↑通常培地



デンプン培地

3.2.4 実験考察

培地の糖を分解前のデンプンに変更しても成長速度の変化が見られなかったことから、マツタケ菌糸の成長速度が遅いことに、糖の分解過程は関係しない可能性が考えられる。

4. 考察

実験 1 の仮説は、培地のグルコースを分解過程の物質に変更すると成長速度が向上するというものであった。これと同様の仮説を実験 2 に適用した場合、「培地のグルコース分解前の物質に変更したら成長速度が低下する」となる。しかし実験 2 の結果から、この仮説は否定される。実際はグルコースを分解後の物質に変更すると成長速度が低下し、分解前の物質に変更すると、成長速度に差が生まれなかった。このことから、マツタケ菌における炭素源の分解速度は分解経路の長さに関係しないと考えられる。

5. 今後の課題

実験 3.1 において、ピルビン酸培地の作成に失敗し、作り直しを行ったため、植え継ぎの時期がピルビン酸培地とそれ以外の培地で違ってしまっている。植え継ぐ菌糸と観察日数は同じであるが、時期が異なっていることにより、実験が正確性を欠いてしまっている。今後はより精密に実験を進める必要がある。

6. 謝辞

本研究活動において、六年間にわたり、顧問の櫻井先生に、多大なご指導を受け賜りました。この場をかりて、深く感謝申し上げます。