

マツタケの人工栽培

5年A組 大東柚衣

指導教員 櫻井 昭

1. 概要

マツタケの菌糸を育てる環境について比較実験したり、バーミキュライトに植継いだ菌糸が偶然増殖したため、菌糸のDNAを調べマツタケであることを確認したりして、マツタケの人工栽培を成功に近づけることを目標に色々な角度から実験を行った。

キーワード マツタケ(*Tricholoma matsutake*)

2. 実験の背景と目的

シイタケやシメジなど他のキノコ類の人工栽培は成功しているが、マツタケだけ成功していないことに疑問を抱き、このテーマで実験していくことに決めた。

未だ明らかにされていない、マツタケの子実体への誘導方法を見つけることを主な目的としているが、昨年行った実験の疑問点を解消することも目的とした。

バーミキュライト培地の組成は以下の通りである。

エビオス	2.0g
グルコース	8.0g
蒸留水	400ml
バーミキュライト	約 21.4g

3. 実験内容

3.1.1 実験目的

シャーレで菌糸を培養していると横方向にしか成長しないため、子実体への誘導がしにくいと考え、ビーカーに移し替えて菌糸がどのように成長するかを観察する。

3.1.2 実験仮説

菌糸は縦方向に成長することができる。

3.1.3 実験方法

バーミキュライトを入れたビーカーにシャーレで培養していた菌糸を植え継ぎ、28°Cのインキュベーターで保管した。

3.1.4 実験結果

植え継いだ直後のビーカー



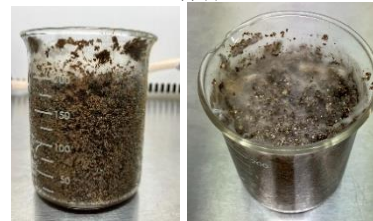
(2025.02.05 撮影)

2024.04.26 に作成した 300ml ビーカー



(2025.02.05 撮影)

2024.11.25 に作成した 200ml ビーカー



(2025.02.05 撮影)

3.1.4 実験考察

2024.11.25に作成したビーカーの方が2024.04.26に作成したビーカーよりも縦方向に大きく成長していた。どちらも周りの環境は何も変えていないため、ビーカーのサイズが小さいほうが菌糸同士が刺激を与えあってたくさん増えるのかもしれない。

3.2.1 実験目的

菌糸の子実体にするためには菌糸に何らかの刺激を与える必要があり、昨年は「つつく」刺激を与えたが、あまり参考になる結果が出なかった。

そこで、日本の自然界でのマツタケ生産量が多い地域の特徴に近づければ子実体になりやすいかもしれないと考え、生産量の多い長野県、岩手県の過去約80年の気温の平均をとった11°Cで培養することにした。

3.2.2 実験仮説

温度を下げると、菌糸の成長率が上がり、子実体になるための刺激が見つかる。

3.2.3 実験方法

シャーレで培養している菌糸と新しく植え継いだ菌糸をそれぞれ4つずつ用意して、28°Cインキュベーターと11°Cインキュベーターに入れて培養し、時々成長具合を確認する。

3.2.4 実験結果

11°Cで培養していた菌糸の方は菌糸の成長が遅く、新しく植え継いだ菌糸は広がってもしなかった。

3.2.5 実験考察

菌糸が成長しないまま11°C下で培養してしまっただけのため、ただ成長を遅らせるだけ

になってしまった。

3.3.1 実験目的

昨年バーミキュライトに含ませる薬品の実験を行った際に白い菌糸のようなものが大量に増えたので、それがマツタケの菌糸であることを確かめるために、PCR法と電気泳動法を用いた。

3.3.2 実験仮説

増えた白い菌糸のようなものはマツタケの菌糸である。

3.3.3 実験方法

材料

本物のマツタケ(冷凍)

寒天で培養していた菌糸

バーミキュライトに増えた菌糸(?)

DNA抽出キット(ISOSPIN Plant DNAキット)

方法

DNA抽出キットを使ってDNAを抽出し、分光高度計を使ってDNAが抽出できているかを確認した。以下の表が分光高度計で測定した結果である。

サンプル名	抽出量($\mu\text{g}/\text{mL}$)
冷凍マツタケ①	8.7
冷凍マツタケ②	4.8
寒天培地①	3.7
寒天培地②	3.5
バーミキュライト培地①	8.0
バーミキュライト培地②	3.5

どのサンプルからもDNAが抽出できたことがわかったため、PCR法を用いてDNAを増幅させた。その際に使った薬品の量は以下の通りである。

冷凍マツタケ①

薬品名(濃度)	量($\mu\ell$)
H ₂ O	15.356
10×PCR バッファー	2
dNTP ミックス(0.2mM)	2
プライマー1(0.5 μ M)	0.1
プライマー2(0.5 μ M)	0.1
Tag ポリメラーゼ(5U/ $\mu\ell$)	0.1
鋳型 DNA 溶液	0.344
total	20

寒天培地②

薬品名	量($\mu\ell$)
H ₂ O	14.843
10×PCR バッファー	2
dNTP ミックス(0.2mM)	2
プライマー1(0.5 μ M)	0.1
プライマー2(0.5 μ M)	0.1
Tag ポリメラーゼ(5U/ $\mu\ell$)	0.1
鋳型 DNA 溶液	0.857
total	20

冷凍マツタケ②

薬品名	量($\mu\ell$)
H ₂ O	15.075
10×PCR バッファー	2
dNTP ミックス(0.2mM)	2
プライマー1(0.5 μ M)	0.1
プライマー2(0.5 μ M)	0.1
Tag ポリメラーゼ(5U/ $\mu\ell$)	0.1
鋳型 DNA 溶液	0.625
total	20

バーミキュライト培地①

薬品名	量($\mu\ell$)
H ₂ O	15.325
10×PCR バッファー	2
dNTP ミックス(0.2mM)	2
プライマー1(0.5 μ M)	0.1
プライマー2(0.5 μ M)	0.1
Tag ポリメラーゼ(5U/ $\mu\ell$)	0.1
鋳型 DNA 溶液	0.375
total	20

寒天培地①

薬品名	量($\mu\ell$)
H ₂ O	14.89
10×PCR バッファー	2
dNTP ミックス(0.2mM)	2
プライマー1(0.5 μ M)	0.1
プライマー2(0.5 μ M)	0.1
Tag ポリメラーゼ(5U/ $\mu\ell$)	0.1
鋳型 DNA 溶液	0.810
total	20

バーミキュライト培地②

薬品名	量($\mu\ell$)
H ₂ O	14.843
10×PCR バッファー	2
dNTP ミックス(0.2mM)	2
プライマー1(0.5 μ M)	0.1
プライマー2(0.5 μ M)	0.1
Tag ポリメラーゼ(5U/ $\mu\ell$)	0.1
鋳型 DNA 溶液	0.857
total	20

プライマー1と2の塩基配列は以下のとおりである。

プライマー名	塩基配列
primer Forward	GAGACACAACGGCGAGATT
Primer Reverse	ACCCTTACCCGAGCTCAGT

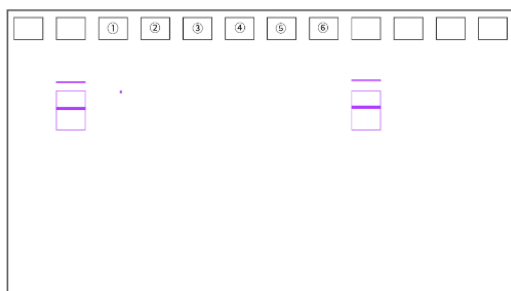
PCRプログラムは以下のとおりである。

PCR Program

30 cycles	94°C	1 min	
	94°C	30 sec	変性
	57°C	2 min	アニーリング
	72°C	1 min	伸長
	72°C	10 min	
	4°C	∞	

次に電気泳動法を用いて増幅させたDNAの確認を行った。

3.3.4 実験結果



冷凍マツタケ①のみ若干バンドが見えたが、それ以外は何も見えなかった。

3.3.5 実験考察

バーミキュライト培地に増えた白い菌糸のようなものが本当にマツタケの菌糸であ

ることはわからなかったが、冷凍マツタケ①のバンドが見えたことから、実験方法や実験器具に不備がなかったことは確認できた。

4. 今後の展望

人工栽培でも縦方向に広げることはできたので、培地に混ぜる薬品や保管環境などをもう一度考え直して、より早く成長させる方法を探りたい。また、昨年偶然増えた菌糸が何だったのか特定できなかったの

で、最初に採取するDNAの純度を上げて結果が出るようにもっていきたい。

5. 参考文献

茨城県林業技術センター(2019年3月8

日)。「マツタケの栽培化に向けた取り組み」。

<https://www.pref.ibaraki.jp/nourinsuisan/ringyose/seiktopix/matsutake-bun.html>

出井利長, 吉沢信夫, 多胡正洋(1988)。

「電気等の刺激によるシイタケ子実体の発生」. 『宇都宮大学農学部演習林報告』(24), 29-38

食品微生物光学研究室(2019)。「きのこの生態を解き明かし、世界初のマツタケ人工栽培をめざす。」

<https://www.nara.kindai.ac.jp/labo/research/007.php>

藤原直哉「マツタケの省力的栽培技術の開発」

<https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/319625.pdf>

気象庁。「諏訪(長野県)日平均気温の月平均値(°C)」

https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s3.php?prec_no=48&block_no=47620&year=&month=&day=&elm=monthly&view=a1

気象庁 . 「 盛岡 (岩手県) 日平均気温の月
平均値 (°C)」

https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s3.php?prec_no=33&block_no=47584&year=&month=&day=&elm=monthly&view=a1