

アマタケの培養菌糸による菌根形成

能 勢 育 夫

要旨：麦芽エキス培地、合成培地、浜田培地の3種類の培地を用いて、アマタケの菌根形成実験を行った。

アマタケ菌は、麦芽エキス培地で最も良く伸長した。

各培地に1/10 MS培地を添加し、アマタケ菌とクロマツを共存培養した結果、各培地において菌根が形成された。なかでも、麦芽エキス培地では、クロマツの根の発育が最も良く、93%の高い率で菌根苗が得られた。このようなことから、アマタケの菌根形成には、麦芽エキス培地が最も適していると思われた。

菌根は、根の全長の40%余りにみられ、根の上部の分岐した側根に形成されていたが、根の先端部付近には、菌の着生も見られなかった。

菌根の形状は、茎直下の根に形成された菌根では、フォーク状に分岐したものがあつたが、多くは若い棒状をなしていた。また、根の周囲は、厚く菌糸でつままれ、皮層細胞間隙への菌糸の侵入も認められた。

I はじめに

アマタケ *Suillus bovinus* (Fr.) Kuntze はアカマツ *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. およびクロマツ *Pinus Thunbergii* Parl. の根に外生菌根を形成し、マツから栄養を得て生活している。したがって、菌の培養だけでは子実体の形成は難しく、栽培化を進めるに当たっては、菌根形成を図ることが必要と考えられる。

菌根形成を図る方法としては、マツタケ *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Singer で行われている方法で、シロ（菌糸層）周辺にマツ苗木を植え付け、感染苗を育成する方法がある（鶴来, 1977；小川ら, 1978；枯木, 1980）。しかし、アマタケはマツタケと異なり、完全なシロを形成しないため、この方法を応用するには難点がある。

そこで、本報では、3種類の培地を用いて、アマタケ菌とクロマツを共存培養することによって菌根形成が可能であることがわかったので、培地適性と菌根形成状況について報告する。

II 材料と方法

1 材 料

1) アマタケの菌株

使用した菌株は、1987年10月に、加賀市上木地内の海岸クロマツ林内に発生したアマタケを、マツタケの分離培養に用いられる浜田培地：20 g グルコース、5 g 乾燥酵母、1 g KH_2PO_4 、1 l H_2O （浜田, 1964）に15 gの寒天を加えた培地上で、分離培養したものである。

2) クロマツの種子

石川県林木育種場で採取されたものを譲り受けた。

3) 培 地

使用した培地は、麦芽エキス培地：20 g MERCK 製麦芽エキス、1 l H_2O 、合成培地：10 g グルコース、1 g 酒石酸アンモニウム、1 g KH_2PO_4 、0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.5 mg クエン酸鉄、4.4 mg ZnSO_4 、5 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、55.5 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、0.5 mg ニコチン酸、0.1 mg サイアミン、1 l H_2O （小川, 1975）および前述した浜田培地の3種類とした。また、菌根形成には、これらの培地に、植物組織培養用のムラシゲスクーグ（MS）培地を1/10 MS添加して使用した。

2 方 法

1) 培地別菌糸伸長量

アマタケ菌の培養における培地適性を検討する

ため、各培地での菌糸伸長量を調査した。培養は、平板培地上で、温度25℃において、14日間行った。平板培地は、各培地に15 g/lの寒天を加え、オートクレーブで15分間高圧滅菌（1.2kg/cm²、120℃）後、90mm×20mmのシャーレに20ml分注した。また、接種菌体は、分離培養した菌株を、平板培地（浜田培地）上で、温度25℃において20日間再培養し、5 mm径のコルクボーラーで一定量採取した。

菌糸伸長量は、シャーレの裏面から、伸長した菌体面をトレッシングペーパーでトレースし、それを切り抜いた重量と5 cm×5 cm四方のトレッシングペーパーの重量比で面積計算し、接種面積を差し引いて求めた。

処理数は、各培地シャーレ3枚あてとした。

2) 菌根形成

ア クロマツ種子の滅菌処理

クロマツ種子は、10%の過酸化水素水に1時間浸漬して滅菌した後、滅菌水で3回洗浄して使用した。

イ 培養基

500mlの培養瓶（マヨネーズ瓶）にパーミキュライトを25 g入れたものを培養基とした。この培養基に1/10 MSを含む各液体培地を50ml加え、オートクレーブで、15分間高圧滅菌（1.2kg/cm²、120℃）して使用した。

ウ 培養

アマタケ菌は、分離培養した菌株を、浜田培地上で、温度23℃において1か月間再培養し、この培養菌から、約1 cm×1 cm四方の菌体を切り取り、培養瓶上部に接種した。また、同時に、滅菌したクロマツ種子を培養瓶1本当たり3粒植え付けた。

培養は、人工気象器内において、自然光のもとで、温度23℃で100日間行った。

処理数は、各培地とも培養瓶10本（クロマツ種子30粒）とした。

Ⅲ 結果および考察

1 培地別菌糸伸長量

アマタケ菌の培養における培地適性を検討するため、寒天培地上で菌糸の伸長状況を調査した。その結果は、表-1に示すとおりである。

今回用いた3種類の培地で、最も菌糸の伸長がよかったのは、麦芽エキス培地であり、合成培地

と浜田培地では、ほとんどかわらなかった。また、菌糸の状態は、麦芽エキス培地では、気中菌糸の発育が旺盛で、菌糸密度も高かったのに比べ、合成培地では、菌糸密度は薄く、浜田培地では、培地の褐色化が顕著で、わずか14日間の培養期間でも菌糸の一部が褐色化し、早く老熟する傾向がみられた。

このようなことから、アマタケ菌の培養には麦芽エキス培地が最も適していると思われる。

表-1 培地別菌糸伸長量

培地	麦芽エキス培地	合成培地	浜田培地
伸長量 (cm ²)	7.88	4.81	4.21

※ 温度：25℃、培地期間：14日間

2 菌根形成

1) クロマツ種子の発芽と滅菌処理

クロマツ種子の発芽は、合成培地で、2粒発芽しなかったものがあつたが、他はすべて培養7～12日後に発芽し、滅菌処理による発芽障害はなかった。また、雑菌の混入もまったく見られなかった。したがって、クロマツ種子の滅菌処理としては、10%の過酸化水素水に1時間浸漬する方法で、充分効果があるものといえる。

2) クロマツ苗の生育状況

各培地内で生育したクロマツ苗の生育状況を比較検討するため、培養100日後に、根を切断しないよう丁寧に掘り取り、苗高と根の伸長量を測定した。その結果は、表-2に示すとおりである。

自然光のもとで培養を行ったが、各培地内の苗とも生育途中で枯死したものは全く見られず、見かけ上、健全な生育をしめした（図-1）。

クロマツ苗の苗高は、麦芽エキス培地と合成培地の苗では、ほとんどかわらなかったが、浜田培地の苗はやや低かった。また、根の伸長は、各培地の苗ともバラツキが大きかったものの、最も根の伸長がよかったのは、麦芽エキス培地で、次いで合成培地であった。浜田培地の苗では、麦芽エキス培地の苗の約1/3と悪かった。

一般に、外生菌根菌は、その宿主と共生関係にあることを考えると、菌根形成を図る上で、宿主が健全に生育し、根の発育が良好であることが好

適である。したがって、今回用いた3種類の培地では、麦芽エキス培地は、前述したアマタケ菌の培養においても、また、クロマツの根の発育においても最も良く、菌根形成に用いる培地としては、最も適していると思われる。逆に、根の伸長が最も悪かった浜田培地では、マツの生育は、乾燥酵

母を含まない培地で良く、その濃度が高くなると生育状態が悪化することが報告されており（横山・山田，1987）、浜田培地の使用に当たっては、アマタケ菌の培養の検討とあわせて、クロマツ苗の生育に対する乾燥酵母の濃度を検討する必要があると考えられる。

表-2 各培地に生育したクロマツ苗の形状

	播種数 (粒)	本数 (本)	苗 高		根の伸長量	
			最小-最大 平均 (cm)	標準偏差	最小-最大 平均 (cm)	標準偏差
麦芽エキス培地	30	30	4.7~10.8 6.99	1.374	6.9~41.8 23.06	8.239
合成培地	30	28	4.9~10.5 7.10	1.548	5.6~31.3 16.88	8.590
浜田培地	30	30	2.8~7.6 5.37	1.108	3.3~12.6 7.14	2.372

3) 菌根形成状況

アマタケ菌は、培地別菌糸伸長量の項で述べたと同様に、麦芽エキス培地で、やや早く伸長するものが多かったが、各培地とも培養30~40日で培養瓶全体に蔓延した。また、クロマツの根の伸長が最も良好であった麦芽エキス培地では、培養50日目には、培養瓶の底部に伸長した根の周囲に、菌糸の着生が観察された（図-2）。

各培地における菌根形成が認められたクロマツ苗の形状と菌根が形成されていた根の長さの測定結果は、表-3に示すとおりである。

生育したクロマツ苗のうち、菌根形成が認められた苗は、麦芽エキス培地では93%、合成培地では61%、浜田培地では53%であり、各培地とも比較的高い率で菌根苗が得られ、麦芽エキス培地では、ほとんどの苗に菌根が形成されていた。

菌根が形成されていた根の全長に対する比率は、麦芽エキス培地の苗では44%、合成培地の苗では48%、浜田培地の苗では42%で、各培地の苗とも40%余りであり、根の上部の分岐した側根に形成されていた。しかし、根の先端部付近では、菌の着生も全く見られなかった（図-3）。

表-3 菌根が認められたクロマツ苗の形状と菌根形成状況

	本数 (本)	苗 高		根の伸長量		菌根が形成された根の長さ	
		最小-最大 平均 (cm)	標準偏差	最小-最大 平均 (cm)	標準偏差	最小-最大 平均 (cm)	標準偏差
麦芽エキス培地	28	4.7~10.8 7.11	1.336	6.9~41.8 23.12	8.440	1.3~19.4 10.27	5.119
合成培地	17	4.6~10.5 7.72	1.492	9.5~31.3 21.56	6.624	0.8~18.2 10.34	5.673
浜田培地	16	2.8~7.6 5.38	0.946	6.7~12.6 8.53	1.984	1.8~8.3 3.58	1.728

4) 菌根の形状と横断切片の観察

アマタケの菌根は、フォーク上に分岐する（マツタケ研究懇話会編，1983）が、今回の実験で形成された菌根の形状は、茎直下の最も初期に形成されたと思われる菌根では、フォーク状に分岐しているものがみられたが、その多くは、若い棒状の菌根であった（図-4）。

菌根の一部を採取し、ハンドセクションにより、その横断切片を作成し、検鏡した結果、根の周囲は、厚い菌糸でつまれ、また、皮層細胞間隙への菌糸の侵入が認められた（図-5）。

IV おわりに

アマタケは、本県では、“シバタケ”の名で知られ、食用に供されている。また、近年市場へも出荷され、市場性の高いきこである。

今回の実験で、培養菌によって菌根苗の多量生産が可能であることが明らかとなった。しかし、この菌根苗を利用するに当たっては、さらに成熟苗に生育し、菌根の増殖を図る必要がある。そこで、現在、培養菌で得られた菌根苗を無菌根苗を

育成した培地内へ移植して、菌根の増殖と無菌根苗への感染について検討を行っている。

引用文献

- 鶴来外茂樹. 1977. マツタケ菌付樹，苗の育成. 25回日林中部支講：6～12
- 小川真・梅原武夫・紺谷修治・山路木曾男. 1978. マツタケ菌の増殖法 マツタケ感染苗の育成法. 日林誌60：119～128.
- 枯木熊人. 1980. ボットを利用したマツタケ菌感染苗の育成（I）. 広島県林業試験場研究報告第15号：49～64.
- 浜田稔. 1964. マツタケおよび類縁菌の菌糸純粋培養法，マツタケ—研究と増産—：97～100
- 小川真. 1975. 純粋培養によるマツタケ子実体原基の形成. 日菌報16：406～415
- 横山了爾・山田卓三. 1987. マツタケ菌とマツの器内培養. 日菌報28：331～338
- マツタケ研究懇話会編. 1983. マツタケ山のつくり方.：105～110

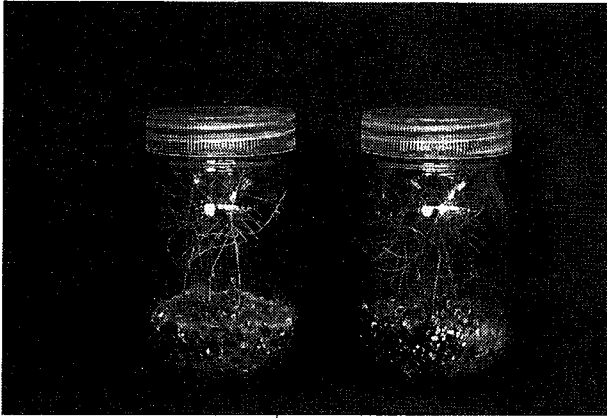


図-1 培養100日目のクロマツ苗の生育状況(麦芽エキス培地)

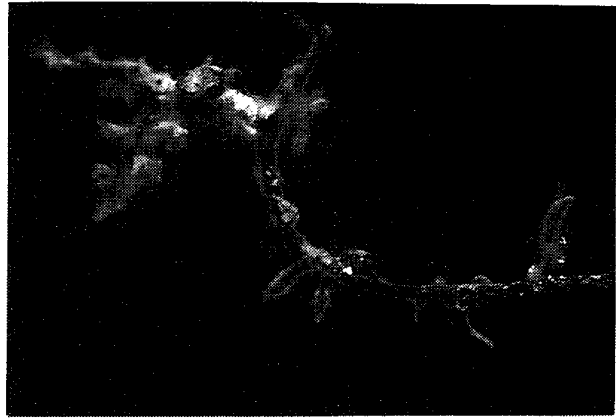


図-4 菌根の形状

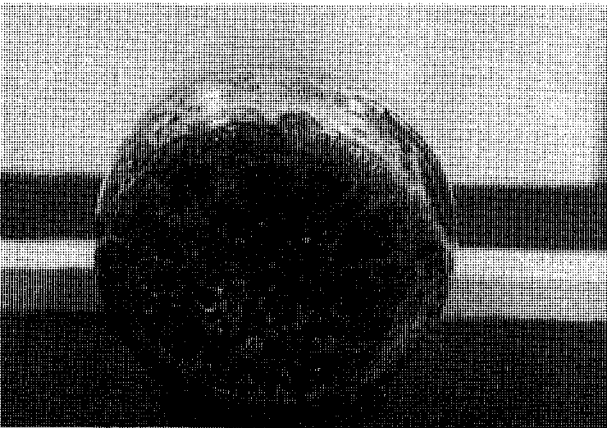


図-2 培養50日目の根の状況(麦芽エキス培地)

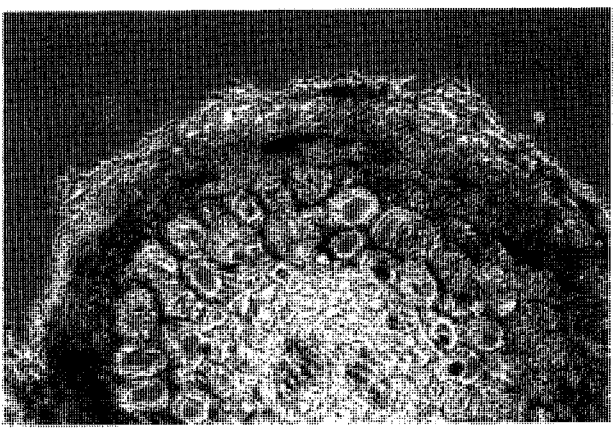


図-5 菌根の横断切片

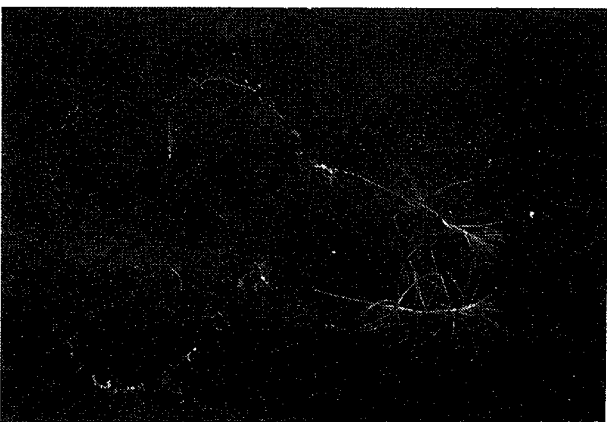


図-3 菌根形成状況