

ホンシメジ6菌株の菌糸生長と子実体形成

誌名	愛媛県林業試験場研究報告
ISSN	03892875
著者名	西原,寿明 仲田,幸樹
発行元	愛媛県林業試験場
巻/号	19号
巻号補足	
掲載ページ	p. 36-40
発行年月	1998年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ホンシメジ 6 菌株の菌糸生長と子実体形成

西 原 寿 明・仲 田 幸 樹

Mycelial growth and fruiting body formation of 6 stocks of *Lyophyllum shimeji*

Yoshiaki NISHIHARA and Yukitatsu NAKATA

ホンシメジ 6 菌株について温度特性を寒天培地で、子実体形成能を大麦培地で調べた。6 菌株の菌糸伸長と菌糸体量増加の最適温度の平均はそれぞれ 24.2℃、25.0℃であった。子実体は 6 菌株のうち 1 菌株が発生しやすく、発生率、正形率も高く、培地容積 500ml あたり平均 65.6g の発生量を得た。この菌株は菌糸伸長速度、菌糸体量ともに高い値を示した。2 菌株は子実体を全く発生しなかった。また、培地空隙を多くするため日向石の添加を試みたが、1 菌株を除いて菌糸生長は低下し、子実体の発生も減少した。

1. 緒 言

菌根性きのこの栽培化はきわめて困難とされてきたが、近年ホンシメジ (*Lyophyllum shimeji* (Kawamura) Hongo) が純粋培養下で子実体を形成することが確認され、人工栽培の可能性が示された (Ohta, 1994a; Watanabe et al., 1994)。奇主植物なしで子実体を形成することは、本種は絶対的な寄主依存性を持ってはいないと考えられ (Ohta, 1994b)、吉田・藤本 (1994)、河合 (1996) は多くの菌株が純粋培養で子実体を形成することを報告している。しかし、子実体の発生量や完全な子実体の形成能は菌株によってかなり差があり、実用栽培には子実体を作り易く収量の多い菌株の選抜が必要である。当场保存のホンシメジ 6 菌株について温度特性と純粋培養下での子実体形成能を調べたので報告する。

2. 材料と方法

2.1 供試菌株

愛媛県内で採集された子実体より組織分離した 5 菌株及び山口県林業指導センターより分譲された 1 菌株の併せて 6 菌株を実験に用いた (表-1)。

2.2 温度特性

2.2.1 菌糸の培養

菌糸の培養は寒天平板培地 (外径 90mm のシャーレに培地 20ml を分注) でおこなった。培地組成は Ohta (1990) の菌根菌用培地に従い、pH は 5.0、寒天濃度は 1.5% とした。あらかじめ同じ平板培地で 23℃ で 25 日間培養したコロニーの周辺部を内径 6mm のコルクボーラーで打ち抜き、培地中央に接種して恒温下で 20 日間培養した。培養温度は 17、20、23、26、29℃ の 5 段階とし、各菌株、培養温度毎に平板培地を 5 枚用いた。

2.2.2 菌糸伸長と菌糸体量の測定

培養開始後 5 日目よりコロニー半径を直交する 4 方向についてデジタルノギスで 3 日ごとに 20 日目まで測定し、その直線生長域から菌糸伸長速度を求めた。菌糸体量は西村ら (1995) の方法に準じて測定した。培養終了後、コロニーを寒天ごと剥ぎ取って純水 200ml 中で電子レンジを用いて加熱融解させ、ワットマンガラス繊維濾紙 GF/F で濾過し、80℃ 以上の温水中で洗浄した。得られた菌糸体は 110℃ で 12 時間以上乾燥し、恒量を測定した。また、これらの測定値より菌糸伸長と菌糸体量増加の最

表-1 供試菌株と寒天培地での菌糸生長

菌 株	採 集 地	分離日	菌糸伸長		菌糸体量	
			最適温度 (℃)	伸長速度 (mm/day)	最適温度 (℃)	乾燥重量 (mg/dish)
150302-1	山 口 市	25-Oct.'84	21.2	1.63	22.1	57.93
150302-2	愛媛県重信町西岡	2-Nov.'85	25.6	1.91	26.1	30.92
150302-3	愛媛県重信町樋ノ口	30-Oct.'90	21.5	1.80	21.6	52.26
150302-4	愛媛県肱川町宇和川	4-Nov.'95	25.9	1.55	26.1	35.81
150302-5	愛媛県肱川町宇和川	29-Nov.'95	24.0	1.84	25.2	69.68
150302-6	愛媛県肱川町宇和川	29-Nov.'95	27.0	1.51	29.0	25.88

適温度を求めた。

2.3 子実体形成能

2.3.1 接種源

100mlの三角フラスコに30mlずつ分注した Ohta (1990)の菌根菌用培地に、同組成の寒天平板培地で培養した菌糸体をコルクボーラーで打ち抜いて1個ずつ投入した後、23℃で57日間静置培養した。菌糸体は濾過集菌して滅菌水60ml中でペンシルミキサーを用いて破碎し、得られた菌糸体断片浮遊液を接種源とした。

2.3.2 培地組成と培養および発生条件

太田(1995)の示した組成に従った大麦培地(以下、標準区)、および培地の空隙率を高めるため多孔質土壌の日向石を加えたもの(以下、日向石添加区)の2種の大麦培地を800mlバイオポット(ポリカーボネイト製容器、通気フィルター付、渡辺泰(株)製)に作成した。表-2に示す培地材料を各ポットに所定量投入・混合し、大麦に約半日吸水させた。次に、接種孔をあけるため培地中央部に直径16.5mmの短試験管を立て、まず100℃で10分間、さらに121℃で30分間オートクレイブした。殺菌後の1ポットの培地容量は標準区で約500ml、日向石添加区で約650mlである。放冷後、2.3.1の菌糸断片浮遊液を1ポットに10mlずつ接種し、21℃、70%RH、暗黒下で75日間培養した。両培地とも1菌株につき5ポット供試した。

表-2 培地構成(1ポット当たり)

培地区分	培地材料と使用量	
標 準	大麦(押し麦)	160 g
	ブナ木粉 添加液 ¹	10 g 270ml
日向石添加	大麦(押し麦)	160 g
	日向石 ³ 添加液 ²	160ml 270ml

1. 太田(1995)の組成による。

2. 1000mlあたりクエン酸：1.0g、リン酸1カリウム：1.0g、
HEPES：0.7g。

3. 粒径4～7mm。

培養終了後、CaCO₃でpHを5.5に調整した滅菌ピートモス(ピートモス100gにつきCaCO₃を2.0gと純水250mlを添加、121℃で30分オートクレイブ)で培地上面を1～1.5cm被覆し、9～11日かけて21℃から徐々に温度を下げ、照明時16℃、暗黒時14℃(12時間ずつ交互、85%RH)の条件に移した。収穫調査は無菌環境下で約3カ月間行い、原則として1回目の発生のみ収穫して本数及び生重を測定した。子実体は傘と柄の区別が明瞭で高さが1cm以上のものを収穫し、ヒダの形成されたものを正形とした。

3. 結 果

3.1 温度特性

培養温度と菌糸伸長速度、菌糸体量増加の関係

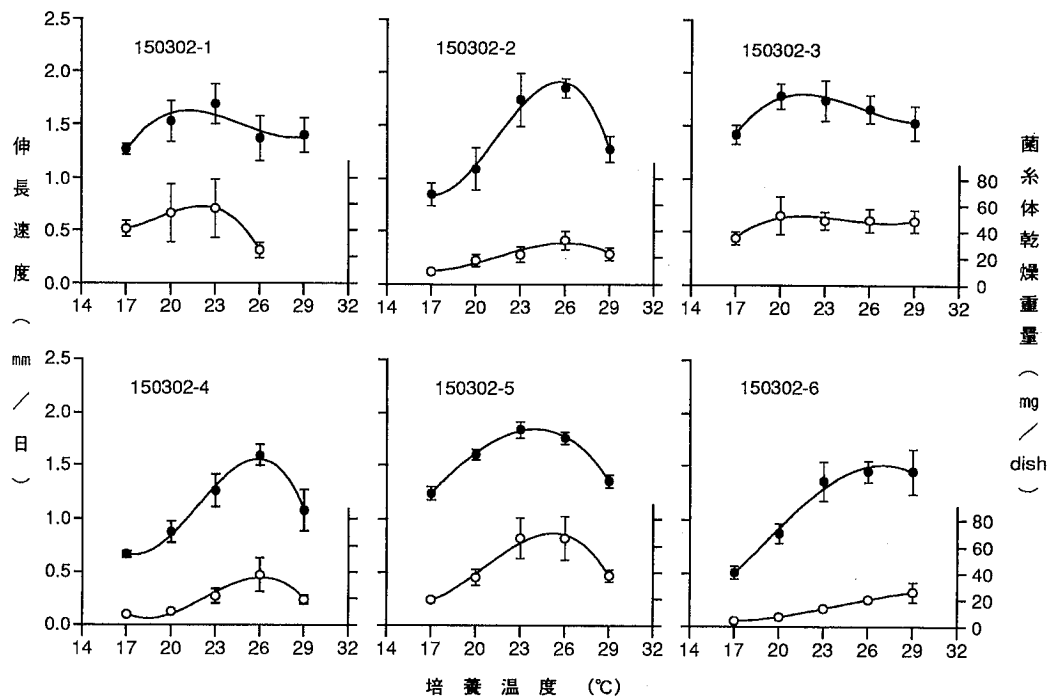


図-1 ホンシメジの菌糸生長と温度

シンボルは平均値を、垂直線は標準偏差を示す。 ●— 菌糸伸長速度 ○— 菌糸体乾燥重量
150302-1の29℃の菌糸体量については寒天残渣の影響があるため、測定値を示していない。

を図-1に、菌糸伸長及び菌糸体量増加の最適温度と最適温度での伸長速度及び菌糸体量(乾燥重量)を表-1に示した。150302-1を除く5菌株は23℃または26℃でよく生長し、29℃では生長が低下したり不安定になった。150302-1はやや低い温度域での生長がよく、26℃、29℃では生長が遅くなり、気中菌糸が顕著になった(図-2)。

6菌株の菌糸伸長の適温は21.2~27.0℃でその平均は24.2℃であった。菌糸体量増加の適温は22.1~29.0℃でその平均は25.0℃であり、菌糸伸長の最適温度よりやや高くなった。最適温度での菌糸伸長速度は1.51~1.91mm/日で菌株間の差はあまり大きくなかったが、菌糸体量は25.88~69.68mg/dishで菌株による差が大きく、菌糸伸長の速い株が必ずしも菌糸体量増加が大きくなかった。

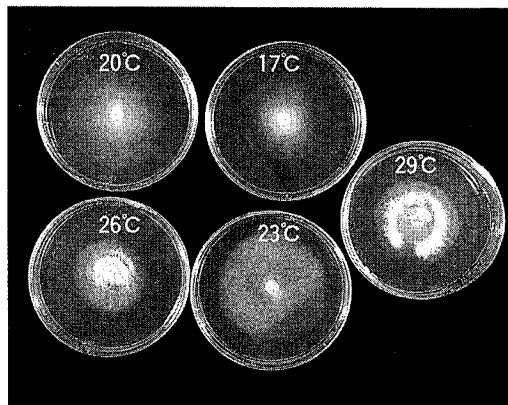


図-2 平板培地での菌糸生長

150302-1株。培養日数20日。

3.2 子実体形成能

6菌株の発生本数と発生量を表-4に示した。標準区では150302-1, -2, -5が子実体を形成し、特に150302-5は良好な子実体形成能を示した。150302-5は供試した5ポットすべてから発生があ

表-3 各菌株の子実体発生量

培地区分	菌 株	発生率	総発生本数(本)	総発生量(生重, g)	経過日数
標 準	150302-1	1 / 5	4 (3)	39.2 (33.7)	48 / 71
	150302-2	3 / 5	16 (14)	233.8 (219.6)	71 / 84
	150302-3	0 / 5	0	0.0	
	150302-4	0 / 5	0	0.0	
	150302-5	5 / 5	32 (27)	328.1 (320.4)	35 / 50
	150302-6	0 / 5	0	0.0	
日向石添加	150302-1	3 / 5	31 (0)	257.4 (0.0)	84 / 84
	150302-2	2 / 5	6 (4)	92.3 (47.4)	55 / 71
	150302-3	1 / 5	1 (0)	23.3 (0.0)	48 / 48
	150302-4	0 / 5	0	0.0	
	150302-5	3 / 5	12 (9)	181.3 (145.6)	30 / 48
	150302-6	0 / 5	0	0.0	

- ・発生率：子実体の発生があったポット数／供試ポット数。
- ・総発生本数及び総発生量の()内の数値は正形子実体の数値。
- ・培地容量は標準区で約500ml、日向石添加区で約650ml。
- ・経過日数：培養終了時より子実体収穫開始／収穫終了までの経過日数。

り、子実体は奇形のもの殆どなく、正形で完全なヒダを形成し、1ポット(培地容積約500ml)あたり

の平均発生量は65.6gであった(図-3)。この菌株の子実体は培養終了後24日目頃から発生し始め、35~50日目めにかけてまとまった収穫を得ることができた。150302-2は3ポットで子実体を形成したが、子実体を収穫できたのは遅く、培養終了後71日以降であった。150302-3、-4、-6は子実体を全く発生しなかった。150302-1は、4ポットで培養60日目頃から球状の菌糸塊を形成し(図-4)、それらのポットは子実体を発生しなかった。

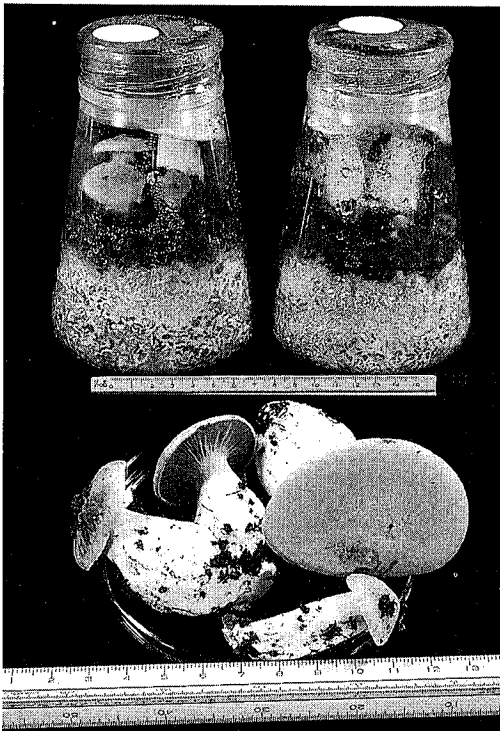


図-3 子実体の発生

150302-5株。正形子実体27本の傘径と高さの平均値はそれぞれ3.09±1.77cm、4.79±1.56cmであった(平均±標準偏差)。



図-4 培養後期に形成された球状の菌糸塊

日向石添加区では菌回りが悪く菌叢が褐色に着色し、菌糸密度が薄くなった。標準区で比較的多くの子実体が発生した150302-2、-5は発生が減少した。150302-3は1本のみ発生し、150302-4、-6は全く発生しなかった。150302-1は培養終了後12週目に多くの子実体を発生したが、いずれもヒダの形成が不完全でほとんど無いものが多かった。

4. 考 察

6菌株の菌糸伸長の最適温度は菌体量増加の最適温度よりも少し低くなり、一致しなかった。平板培地での菌糸伸長は、培養温度が高いところでは培養の経過に伴って伸長速度が鈍り、直線生長から外れる傾向が認められ、このことが菌糸伸長の最適温度の方が低くなった原因と思われる。よって正確に温度特性を調べるには菌糸体量の測定が必要である。菌糸体量増加の最適温度の平均、25.0℃はOhta(1994a)の示したライ麦培地での菌糸伸長の適温(24.9℃)とほぼ一致した。

3.1で述べたように、菌糸伸長の速い株が必ずしも菌糸体量増加が大きいわけではなく、それらの値の高低と子実体形成能の良否に明瞭な関係は見いだせなかった。しかし、より短期間で培地に高密度に菌糸が蔓延する菌株の方が子実体を形成しやすいと考えられ、150302-5のような菌糸伸長、菌体量増加ともに高い値を示す菌株を選抜することは妥当性があると思われる。また、この菌株は大麦培地での菌糸蔓延は速やかで、発生率が高く子実体収穫までの日数も短かった。そのような特性は実用品種に必要であり、150302-5は実験結果からみて育種素材として有望と思われる。

なお、大麦培地はしばしば糊状になり菌回りが不均一になりやすく、ホンシメジの菌糸伸長が遅いこともあってポットの底に近い部分は未蔓延部分が多かった。培地中の空隙は菌糸蔓延や菌糸密度の増加に大きく影響すると思われ、菌糸生長に影響を及ぼさずに空隙を増やすことのできる添加

物について検索できれば、さらに発生量を高めたり、今回子実体を形成しなかった菌株についても子実体を得られる可能性がある。

参考文献

- 河合昌孝(1996) ホンシメジ(*Lyophyllum shimeji* Hongo)保存菌株の子実体形成能. 奈良県林試資料11: 1-4.
- 西村隆雄・太田 勉・末崎たづ子・原 弘・柴田 勝(1995) ハタケシメジ(*Lyophyllum decastes*)の生長速度について. 日林中支論 43: 161-164.
- Ohta, A. (1990) A new medium for mycelial growth of mycorrhizal fungi. Trans. Mycol. Soc. Japan 31: 323-334.
- Ohta, A. (1994a) Some cultural characteristics of mycelia of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*. Mycoscience 35 (1): 83-87.
- Ohta, A. (1994b) Production of fruit-bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. Mycoscience 35 (2): 147-151.
- 太田 明(1995) 菌根菌の人工接種技術の開発. 滋賀県林業報 28: 33.
- 吉田 博・藤本水石(1994) ホンシメジの菌床栽培の試み. 日菌報35 (3): 192-195.
- Watanabe, K., Kawai, M. and Obatake, Y. (1994) Fruiting body formation of *Lyophyllum shimeji* in pure cultures. Mokuzai Gakkaishi 40(8): 879-882.