

マツタケの省力的栽培技術の開発

藤原 直哉

Development of simple cultivation technology for *Tricholoma matsutake*

Naoya FUJIWARA

要 旨

藤原直哉：マツタケの省力栽培技術の開発 岡山県農林水産総合センター森林研究所研報35：1-16 (2020) マツタケの生産は、アカマツ林の環境整備施業によって維持されてきたが、近年では、森林所有者や生産者の高齢化によって、施業の維持が困難になっている。また、アカマツ林も高樹齢化し、マツタケ生産林としては、壮齢期に入りつつある。そこで、効率的なアカマツ林の更新と、環境整備施業を省力化したマツタケ栽培基礎技術の開発に取り組んだ。最初に、宿主へ接種するための種菌について、マツタケ菌糸の活性化を試みた。その結果、アカマツのデンプンを添加した培地では、マツタケ菌糸は菌糸束を形成し、空中に伸長した。また、デンプンとグリコーゲンを添加した培地では、菌糸の伸長促進効果と、糖化酵素であるグルコアミラーゼの活性化を確認した。さらに、酵素の無効吸着を抑制するフィチン酸の培地添加試験では、菌糸の伸長促進効果を示した。これらの試験により、マツタケ菌糸の活性化を図ることが可能になった。効率的なアカマツ林の更新については、軽量なフレコンバッグに現地の土壌を詰めることにより、簡易に凸型地形を成型することが可能であった。このフレコンバッグ上に播種することにより、獣害を予防し、マツタケの感染部位である細根を損傷することなく、アカマツとツガの幼苗を育成することができた。しかし、苗木根系への接種試験では、種菌が、高温や乾燥など気象被害を受けることや、虫害を受けて死滅することが判った。そのため今後は、感染苗による接種方法の検討も不可欠と考えられた。

キーワード：アカマツデンプン、フレコンバッグ、フィチン酸、グリコーゲン、マツタケ

I はじめに

岡山県のマツタケの生産量は、長野県、岩手県に次いで全国3位であり(岡山県 2018)、重要な特用林産物の一つとなっている。しかしながら近年では、マツタケ生産者の高齢化が進行し、下草や腐植層の除去など、重労働である従来の環境整備施業の実施が困難になってきている。そのため、マツタケ生産の現場に於いても、より高効率で省力的な生産方法が望まれるようになった。特に環境整備の機械導入は、次世代へマツタケ山を引き継ぐために不可欠な事柄と考えられる。そこで、大規模な環境整備を必要としない、コンパクトなアカマツ林を育成し、そこにマツタケ種菌を接種する簡易栽培技術を目的とした省力栽培の開発に取り組んだので、その内容を中心に記述する。なお、岡山県を含む関西育種地域では、第1世代の抵抗性アカマツを交配させることにより、従来に比べ、松くい虫への抵抗性を向上させた第2世代の抵抗性アカマツを開発しており(岩泉 2017)、今後はこれらを植栽することで、より、松くい虫被害に強いマツタケ山の育成が可能になると考えられる。また、ほ場で育成した苗木の

利用は、根系切断による細根量の減少や、害菌の感染によるマツタケ菌感染の阻害が懸念される。そのため、種子から育成することで、雑菌感染の少ない細根を確保したアカマツ林にマツタケ菌の感染試験を行った。

これまで感染試験では、種菌の材料となるマツタケ菌糸の成長が遅いことが課題となっており、菌糸の成長を早めることが求められている。そこで、本試験の実施にあたり、菌糸の成長を促進するために、糖化酵素の活性を向上させることを目標とした。現在のところ、マツタケが利用する直接の栄養は解明されていないが、グルコースなどの糖の取り込みが重要とされている。前課題では、アカマツ特有のデンプンを根から分離し、培地へ添加することにより、空中に向けて縦方向に伸長する特徴を持つコロニーを形成したことを報告したが(藤原 2016)、菌糸の成長は遅く、原基の形成には至らなかった。特にマツタケは、光や温度の変化、降水などの発生刺激を受けると原基を形成し、子実体を数日~10日間程度で形成させる特徴がある(伊藤・岩瀬 1997)。この速やかな変化には、比較的反応性の

高い解糖系が関与していると思われ、あらかじめ菌糸体に蓄積された炭素源が消費されている可能性がある。例えばグリコーゲンは、別名「動物デンプン」とも呼ばれるグルコースの重合体で、光合成によって生合成される植物デンプンと同様に、きのこの炭素源として着目されており、実際にヒラタケやタモギタケの菌糸には、グリコーゲンが蓄積されていることが判明している（三崎ら 1991）。そこで、培地にグリコーゲンを添加してマツタケ菌を培養し、菌糸伸長を測定した。同時に、培養後の培地における糖化酵素の活性を測定し、それらの活性が、どのように変化しているのか調査した。また、その他の添加物を試験した。

なおこの研究は、2016～2018年度に実施した単県課題「マツタケの省力栽培技術の開発」で実施した。

II 材料と方法

1. 活性種菌の培養

(1) アカマツデンプン添加培養試験

従来、培地へ固化剤として添加する寒天には、微生物に対する成長阻害作用を示す場合があることが知られる（藤原 2017）、これがマツタケ菌の生育を阻害する可能性が考えられる。そこでアカマツデンプン粗精製物（Pine starch, 以下、Ps）をOH培地に添加し、さらに固化材としてゲランガムと、4種類の増粘剤（グアーガム、キサンタンガム、カラギナン、タマリンドガム）をそれぞれ添加した改変OHゲランガム培地（表-1）を作成し、120℃、10分間滅菌後、前培養後、コルクボーラーで打ち抜いたマツタケ菌（菌株：NBRC 507, 直径5mm）を接種、培養した。

表-1 改変OHゲランガム培地の組成

Ps	10 g/l
マルトエキス	5 g/l
HYPONEX(粉末)	0.5 g/l
イーストエキス	0.5 g/l
グアーガム、キサンタンガム、カラギナン、または、タマリンドガム	10 g/l
ゲランガム	5 g/l

次に、マツタケのコロニーに覆土処理を行った。マッシュルームの栽培では、きのこ菌糸の栄養生長を生殖成長へ転換させる手段として、覆土処理が用いられる。またこの処理は、栄養を含む培地から、栄養の少ない覆土へ菌糸を伸長させることによって、培地の栄養に差をもたらすことが可能である。また、子実体の支持や、乾燥や病害虫からの保護といった役割を担っている（橋本 1992）。そこで、前述の接種した種菌を中心に、滅菌した5種類の材料（表-2、セラミック

ボール、バーミキュライト、マツタケ発生地 of 土壌、パーライト、ピートモス）で培地全体を、厚さ5mmで覆土し（図-1）、気温22℃、暗黒条件下で3か月間培養した。

表-2 覆土の種類

種類	厚さ (mm)	pH
バーミキュライト (小粒)	5	6.5
パーライト	5	8.0
セラミックボール (中粒)	5	7.0
ピートモス	5	4.0
土壌 (マツタケ発生地)	5	4.0

覆土層
(厚さ5mm)



培地層
(容量 30ml)

図-1 覆土の施用状況とコロニーの状態

(2) カキグリコーゲン添加培養試験A

OH寒天培地を一部改変し、グルコースに変えてカキグリコーゲン（ナカライ製、以下、OG）を、0, 1, 5, 10, 20 g/l の5段階で添加したOG添加培地（表-3）を作成した。培地の滅菌処理や種菌の接種方法は、(1)に準じた（菌株：哲多79）。その後、気温22℃、暗黒条件下で50日間培養し、観察した。

表-3 改変OH培地A

カキグリコーゲン	0, 1, 5, 10, 20 g/l
イーストエキス	0.5 g/l
HYPONEX (粉末)	0.5 g/l
寒天	5 g/l
ゲランガム	5 g/l

(3) カキグリコーゲン添加培養試験B

一部改変したOH寒天培地（グルコースを含む。）に、OGを5g/l添加したものと、コントロール（添加していないもの）の2種類を作成し（表-4）、マツタケ菌（菌株：哲多79）を接種後、菌糸伸長量を比較した。

表-4 改変OH培地B

グルコース	5 g/l
カキグリコーゲン	0, または 5 g/l
イーストエキス	0.5 g/l
HYPONEX (粉末)	0.5 g/l
寒天	5 g/l
ゲランガム	5 g/l

(4) バイオグリコーゲン添加培養試験

OH寒天培地を一部改変し、グルコースに変えてコムギデンプン 10g/l を添加後、バイオグリコーゲン（グリコ製、以下、BG）を、0, 1, 5, 10, 20 g/l 添加したBG添加培地（表-5）に、(1)に準じて種菌（菌株：哲多79）を接種した。その後、菌糸の成長量と、培地中の糖化酵素の活性を測定した。なお、糖化酵素の活性測定には、培養後の培地（マツタケ菌糸体を含む。）10g に、蒸留水15ml (V/W) を添加後、室温条件下で3時間、往復振とう（100往復/分間）した。このろ液を糖化力分別定量キット、 α -アミラーゼ測定キットを用いて測定した。酵素の反応温度は45℃、反応時間は2時間とした。

表-5 バイオグリコーゲン添加改変OH培地

バイオグリコーゲン	0, 1, 5, 10, 20 g/l
コムギデンプン	10 g/l
イーストエキス	1 g/l
HYPONEX (粉末)	0.5 g/l
寒天	5 g/l
ゲランガム	5 g/l

(5) フィチン酸添加培養試験

フィチン酸は、多くの植物体、特に穀類や種子に蓄積されていることが知られ（木村 1967）、 α -アミラーゼと蒸米タンパク質との無効吸着を解消し、その活性を高めることによって蒸米の溶解を促進することが知られている（清水ら 1996）。そこで糖化酵素の働きを高め、菌糸伸長量を向上させる目的で、フィチン酸をマツタケの培地に微量添加後、マツタケ菌（菌株：哲多79）を接種し、培養試験を行った。基本培地は、改変OH培地（表-6）とし、フィチン酸（ナカライ）を、0, 0.1, 0.5, 1.0 mM の濃度でそれぞれ添加後、KOHで、pH 5.1 に調整した。培地の滅菌条件は、120℃、10分間とした。

表-6 フィチン酸添加改変OH培地

コムギデンプン	10 g/l
イーストエキス	1 g/l
HYPONEX (粉末)	0.5 g/l
寒天	5 g/l
ゲランガム	5 g/l

この培地に、OH培地で前培養したマツタケ菌（菌株：哲多79）を、直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き接種後、パラフィルムで被覆し、気温24℃に設定したインキュベーター（SANYO製）で培養した。次に、

培養開始から60日間経過後、成長したコロニーの直径を、直交方向に測定し、その値を比較した。試験は、3反復で行った。

2. ミニアカマツ林の育成試験

予備試験として、2015年4月下旬に、久米郡久米南町塩之内地内（標高380m）に、フレコンバッグAを設置した。フレコンバッグAは、ポリプロピレン製フレコンバッグ（萩原工業製Jバッグ301、縦110cm×横110cm×高さ110cm）の底部に、消石灰を厚さ10cmで敷き均した後、その上に現地の土壌を、バックホウで縁部まで充填した。その後、土壌の表面に、アカマツ種子を適宜播種後、転圧固定した（図-2）。同様に、ツガ種子を播種した。これらを、縦に5基ずつ、各2列交互に設置した。ツガ試験区には、庇陰処理として、寒冷紗（遮光率51%）を設置した。



図-2 ミニアカマツ林の設置状況

また2016年5月中旬に、所内11年生アカマツ林に設置したフレコンバッグBは、市販のポリプロピレン製自立式フレコンバッグ（SEISHO製Lサイズ、縦75cm×横75cm×高さ53cm）の底部に、周辺環境の害菌の侵入を防ぐ目的で、消石灰を厚さ10cmで敷き均し、その上に、クラッシャーランと真砂土を、1:1の割合で混合し、厚さ30cmで敷き均した。さらにその上に、クラッシャーランを、厚さ20cmで敷き均した。その後、真砂土で発芽させたツガの幼苗30本を移植した。また別に、ミニアカマツ林として4基を設置した。

アカマツの細根付近の温度を測定するため、それぞれのフレコンバッグには、地表から3cmの深さに温度計（CRECER製）を設置し、夏季の最高気温を測定した。

これらをミニアカマツ林として育成し、草刈り機によって除草を行った。次に接種試験として、2017年4月中旬に、前培養した活性種菌（菌株：美星77, 哲多79, H507）各10個/基を、シャーレから培地ごと外し、フレコンバッグに生育したアカマツ、ツガの細根に接触させることにより、直接接種した（図-3, 4）。

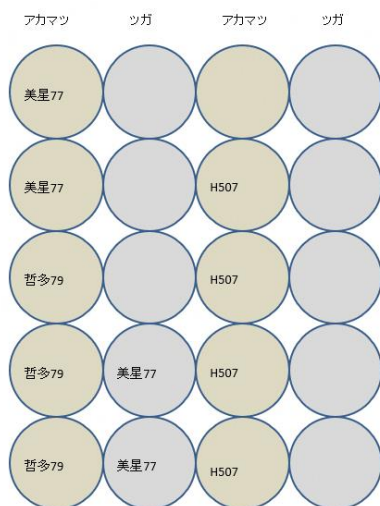


図-3 菌株別接種位置図



図-4 活性種菌の接種状況

3. グルタチオン添加試験

グルタチオンは、農作物の成長促進剤であり、肥料として市販されている。また農作物だけでなく、カラマツ等樹木の種苗についても、成長を促進する効果が認められている（岡山県 2017）。そこで、マツタケの培地添加物の材料であるアカマツについて、成長促進効果の検証を行った。特に、アカマツデンプンが蓄積される根の成長量について注目した。

2018年3月23日に、所内のほ場に、巾 1.2m、高さ 15cmの畝を造成し、1年間育成した抵抗性アカマツの苗木を、それぞれ15本を2列に植栽後、9か月間、除草管理を行った（図-5）。



図-5 グルタチオン添加試験（ほ場）

グルタチオンの添加は、同年6月初旬と8月初旬の2回、苗木の根元から10cm上側に、グルタチオンを含む市販肥料を、100mg/本施用後、300ml/本かん水した。コントロールは無施肥とした。同年12月21日、ほ場から苗木を掘り取り、水道水で洗浄後、剪定鋏で地上部と地下部に分離し、それぞれの生重量を測定した。

III 結果と考察

1. 活性種菌の培養

(1) アカマツデンプン添加培養試験

従来の当所の培養試験では、マツタケの菌糸は水平方向に伸長するものの、垂直方向には伸長しなかった（図-6）。一方、アカマツ細根のデンプンを添加した培地に接種したマツタケは、覆土を行わない場合、接種1か月後、空中に、長さ1cm前後の菌糸束を伸長するコロニーを形成した（図-7）。この菌糸束は、先端部分が開裂し、液体を分泌した（図-8）。この液体は培地から吸収された水分と考えられ、これが菌糸束によってシャーレの上蓋まで運搬された可能性があり、形成された菌糸束は、水分や栄養分の通導器官と推測された。

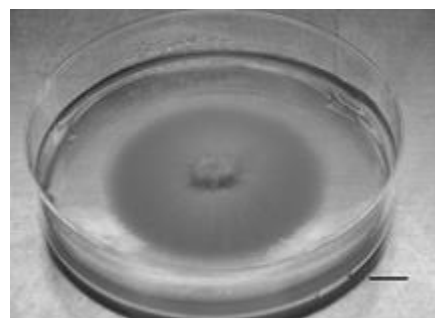


図-6 従来のOH培地に形成されたコロニー

Scale bar (Sb) : 1 cm

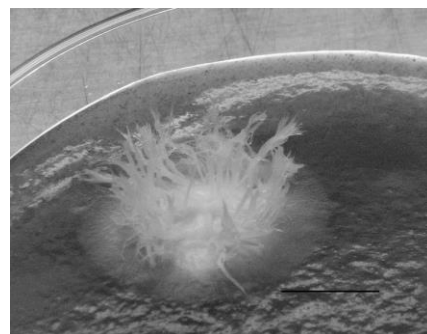


図-7 形成された菌糸束 Sb: 1 cm

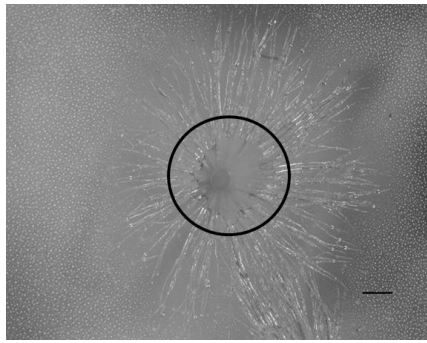


図-8 菌糸束先端部の開裂

Sb:500 μ m

また覆土試験では、覆土を行ったセラミックボール試験区(図-9)とピートモス試験区(図-10)では、覆土中に菌糸束が侵入し、接種2か月後、菌糸と菌糸束が混在する特徴を持つコロニーを形成した。

前述のとおり、当所のマツタケの培養菌糸は、培地上を水平方向に伸長する特徴を示すが、菌糸が垂直方向に伸長した後に、覆土層にコロニーを形成した例は少ないと思われた。例えばマッシュルームの培養過程では、菌糸から菌糸束が形成された後、その菌糸束上に原基が形成される。このため、菌糸束の形成は、重要な形態変異と考えられている。今回、マツタケの培養で、覆土中に菌糸束が多数形成されたことは、従来の培養結果と比較し、大きな変化を生じた可能性がある。

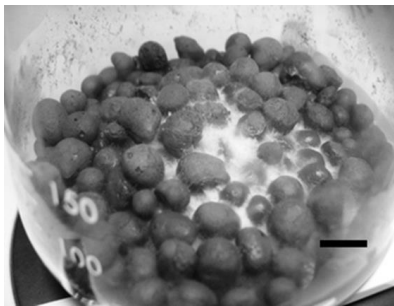


図-9 覆土(セラミックボール)中に伸長

したマツタケ菌糸 Sb: 1 cm

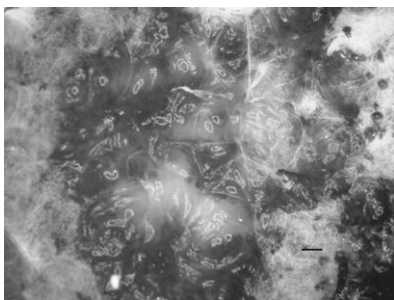


図-10 覆土(ピートモス)中に伸長した

マツタケ菌糸 Sb: 1 mm

(2) カキグリコーゲン添加培養試験A

マツタケ菌の菌糸は、OGを添加しない試験区も含め、いずれの試験区でも伸長せず、コロニーの形成に至らなかった。このことから、マツタケは、OGを資化することができなかったと考えられた。グリコーゲンはグルコースの重合体であるが、比較的low molecular weightの糖か、単糖を炭素源とするマツタケ菌には分解できなかったものと考えられた。従って、グルコースの代替物としてOGを単体で使用することは、マツタケ菌の培養に不適であると思われた。

(3) カキグリコーゲン添加培養試験B

マツタケ菌を、50日間培養した時の、1日当たりの菌糸伸長量を、図-11に示す。

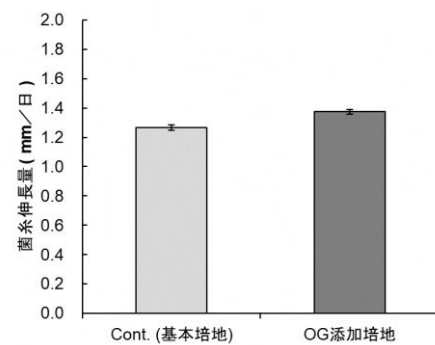


図-11 OG添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量

今回の試験では、OG添加区(OG添加培地)の菌糸伸長量が無添加区をやや上回った。この時の菌糸伸長量の差は、108%程度であり、マツタケ菌糸の成長を若干促進する程度であった。この試験では、炭素源としてOGの他に、コントロール(基本培地)と同様にグルコースが添加された培地を使用した。菌糸伸長の差が小さいことから、OGの分解によるグルコース供給の影響は非常に小さく、主に、基本培地に添加されたグルコースによるものと考えられた。また、今回使用したグリコーゲンは、カキ特有のグリコーゲンであることから、マツタケ菌の糖化酵素が作用しにくい可能性も考えられた。

(4) バイオグリコーゲン添加培養試験C

BGを培地に添加した時のマツタケ菌糸の伸長量を経時的に示す(図-12)。

その結果、培養開始から20日経過後から、BGを添加していない試験区の菌糸伸長を、添加した他の試験区がやや上回り、40日経過後では、1 g/l 添加区が最も良好な成長を示した。また、一日当たりの菌糸伸長量の比較結果でも、BGを1 g/l 添加した試験区が最も伸長量が高い傾向を示した(図-13)。この時の菌糸伸長量は、コントロールと比較し、117%程度であり、前述のOG添加培地より、若干上回るものであった。

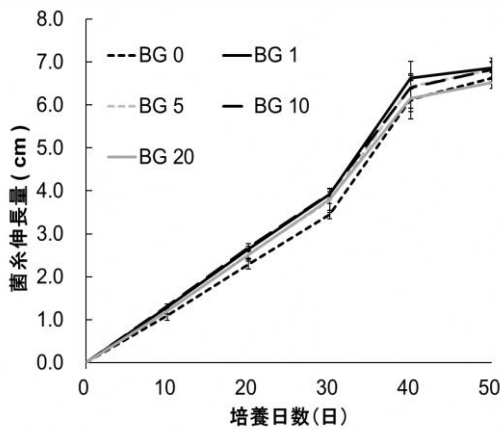


図-12 BG添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量

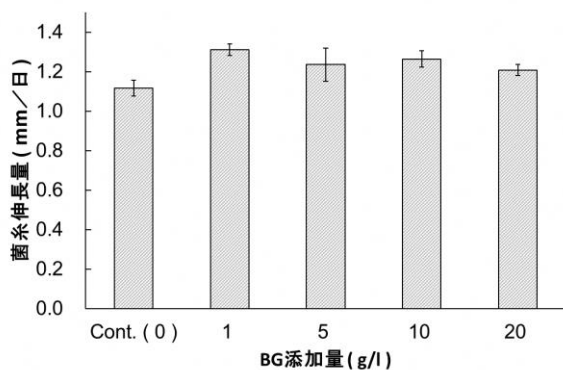


図-13 BG添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量

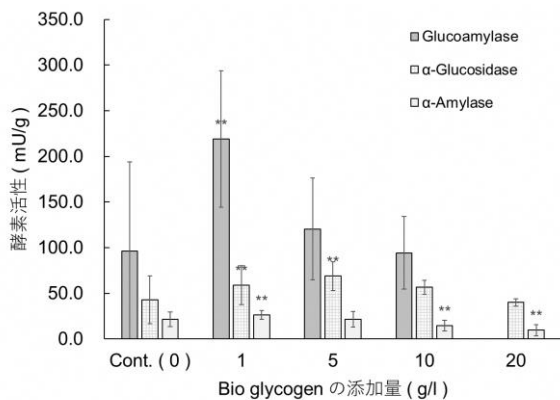


図-14 BG添加培地における糖化酵素の活性

一方、マツタケ糖化酵素の活性を比較した結果、一般的にグルコアミラーゼの活性が最も高く、次に、 α -グルコシダーゼ、 α -アミラーゼの順に低い値を示した(図-14)。特にグルコアミラーゼは、BGを添加していないコントロールの96.5mU/gと比較し、1g/l添加区の活性は、218.9mU/gを超え、有意に2倍以上の活性を示した(t検定、 $P<0.01$)。一方、5g/l、10g/l添加区では、コントロールと比較し、やや活性が

高い傾向を示したが、有意差は認められなかった。グルコアミラーゼの活性は、1g/l添加区をピークとして、5g/l、10g/l添加区では、BGの添加量が増加するに従って低下した。また、20g/l添加区では、グルコアミラーゼの活性を確認することができなかった。この理由としては、基質が過剰に存在すると、酵素の活性が失活するというフィードバック阻害現象と考えられた。グルコアミラーゼは、デンプンなどの多糖類から、グルコースを1分子ずつ切り離す酵素であることから、培地に添加されたBGが徐々に分解され、グルコースとしてマツタケ菌の成長に消費されたと考えられた。

α -グルコシダーゼでは、BG 5g/l添加区では68.9mU/gと、コントロールと比較し、有意差が示されたが(t検定、 $P<0.01$)、一般的に活性は低かった。他の試験区では、不足でも過剰でも、活性の低下が確認された。 α -グルコシダーゼは、マルトースなどの二糖をグルコース(単糖)に分解する酵素であるが、後述の α -アミラーゼの活性が低かったため、培地中に二糖が生成されず、活性が抑制されたと考えられた。

α -アミラーゼは、今回の培養試験で、3種類の糖化酵素中、9.7~26.1mU/gと最も低い活性を示した酵素で、デンプンやグリコーゲンを、単糖やオリゴ糖などに分解する酵素である(酒類総合研究所 2003)。この酵素の活性が低かったことは、培地中のグリコーゲンの大まかな分解が進まなかったことを示しており、前述の α -グルコシダーゼの低い活性と併せて考察すると、グリコーゲンの分解が効率的に進んでいない可能性が高いことを示している。このことは、マツタケ菌糸の成長が、非常に遅いことの原因とも考えることができる。酵素と基質との間には、消化性に多大な影響を与え、鍵と鍵穴に例えられる基質特異性があるが、マツタケ菌の酵素活性が非常に低いことの原因として、培地に添加したBGの分子構造に適合していない可能性がある。

グリコーゲンは、動物、微生物独特の多糖類であり(高田ら 2006)、それぞれ分子構造が異なる特異性を持つと考えられることから、マツタケにはマツタケ特有のグリコーゲンが蓄積されており、急速にエネルギー源を必要とする場合、例えば、子実体の形成時などに、消費されている可能性がある。

(5) フィチン酸添加試験

マツタケ菌糸伸長量の測定結果を、図-15に示す。フィチン酸を添加していないコントロールに比較し、0.5mM、1.0mM添加区で、菌糸伸長量が1cm程度上回り、60日間の培養期間においても、菌糸の成長促進効果が認められた。このことは、マツタケ菌の培養系においても、培地添加物とマツタケの α -アミラーゼとの間で、無効吸着が起こっている可能性を示している。

今回フィチン酸の添加により、無効吸着によるマツタケ菌の糖化反応が阻害や、菌糸の成長の低下が改善されたと考えられた。フィチン酸の添加量については、0.5～1.0 mM で効果を示したが、菌株によって効果を示す濃度が異なる可能性もあり、さらなる検証が必要である。

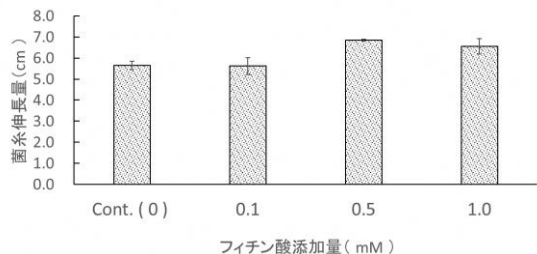


図-15 フィチン酸添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量

※ エラーバーは、標準偏差を示す

以上のことからフィチン酸は、マツタケの培養試験に於いても、一定の効果を示すと考えられた。マツタケの糖化酵素は非常に弱いことが知られており、このことが菌糸伸長の低下や、原基形成の主原因とも考えられている。そのため可能な限り、マツタケの糖化酵素の活性を高める工夫が必要である。今回一つの試みとして、酵素の無効吸着を抑制する効果を持つフィチン酸を、培地に添加することでマツタケの菌糸伸長を向上させることが可能となったが、今後、他の物質についても、検索することが望ましい。

2 ミニアカマツ林の育成試験

アカマツの育成については、いずれのフレコンバッグでも可能であった(図-16)。アカマツの活着状況は、平均的に、26.6本/個、ツガは、3.7本/個であった。現地には水源が無いので、自然の降水のみで育成したが、播種したアカマツは活着し、樹高30cm以上に成長した。しかし接種したマツタケ種菌は、接種1か月後には収縮し、乾燥しやすい傾向にあった。また、アリ類の食害を受け、損傷している種菌も確認されるなど、自然環境下では、培養種菌に対する様々な障害が起こりうるため、これらに耐えることが要求された。そのため、菌糸を細根などの器官内に内包可能な感染苗についても、検討する必要がある。今回、アカマツやツガの育成に成功したが、まだこれらの個体は小さく、直射日光が土壤表面に当たるため、庇陰が無い場合の最高地温は、36.2℃とやや高い(表-7)。マツタケ菌は、30℃を超えると死滅すると考えられているため、最高地温を、30℃以下に抑制する必要がある。地上部のみ庇陰するか、アカマツ自身の成長によって日影が形成されるまで育成しなければならない。

なおツガは、播種後3年間を経過しても、樹高5cmに満たないものが大半を占めたが、一部では樹高10cmを超えたものもあり(図-17)、人工的な庇陰や、林間など半日影の条件下では、同様の手法によりツガを育成することは可能であった。

表-7 各試験区の最高地温

試験区	樹種	最高地温 (℃)
庇陰無し	アカマツ	36.2
人工ほだ場	アカマツ	30.3
アカマツ林	ツガ	27.6



図-16 ミニアカマツ林の育成状況



図-17 ツガの育成状況(2年生)

3. グルタチオン添加試験

アカマツ苗木は育成中に、グルタチオン添加区が1本、コントロールが3本枯死したため、生存した苗木を比較した。

生重量は、図-18のとおりとなり、地上部、地下部の生重量の平均に対する有意差は、確認できなかった(t検定, $p < 0.05$)。

グルタチオンを含む市販肥料には、グルタチオンの他に、チッ素、リン酸、カリなどの肥料成分が添加されている。しかし、地上部と地下部の平均値の比較では、僅差であった。また、樹形の指標となるT/R比についても、グルタチオン添加区で、2.96、コントロール

ルで3.03と、平均値は僅差であり、かつ、標準偏差もほぼ同値であり、有意差は確認できなかった（図-19）。これらのことから、今回の試験では、グルタチオン自体の成長促進効果を確認することができなかったが、他の育成条件であれば差が得られる可能性がある。

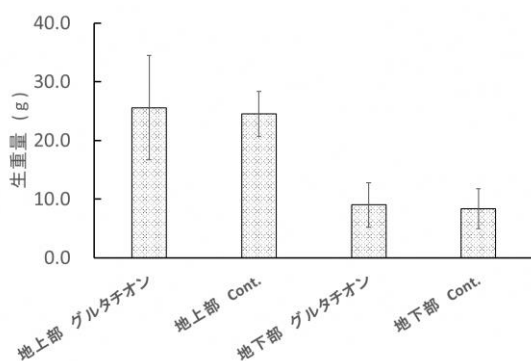


図-18 グルタチオンの添加効果

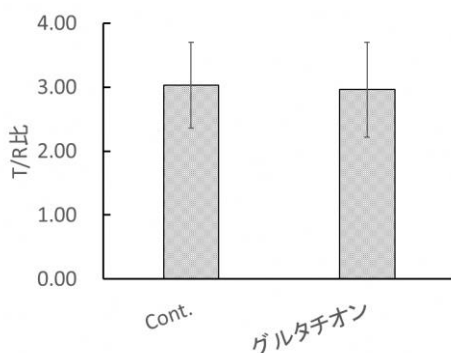


図-19 アカマツ苗木のT/R比

IV おわりに

今回実施試験では、既存のアカマツ林について、環境整備施業の省力化を目的として、人工的に凸型地形を形成し、そこに、播種することによって、アカマツ天然林と類似する小規模なアカマツ林の育成を試みた。最初に、宿主へ接種する種菌の活性を高めるため、宿主であるアカマツのデンプンを培地に添加した培養試験では、長さ1cmを超える菌糸束を形成させることができた。菌糸束の形成は、原基形成の前段階である菌糸集合現象と類似点があり、今後、さらに検討が必要と考えられた。また、培養物の覆土試験を行ったところ、覆土部分に菌糸束と菌糸が混合したコロニーを形成させることが可能になった。

次に、OG添加培養試験では、グルコースを含む培地へOGを添加すると、低濃度で菌糸の伸長が促進される

傾向があることを確認したが、OG単体の添加では、効果を示さないことが判った。なお、人工物であるBGの添加試験では、1g/lの添加量で、菌糸の伸長促進効果を示すことが確認された。さらに糖化酵素の測定試験では、マツタケの糖質源として、従来は利用されなかったグリコーゲンを、デンプンと併用することで、マツタケ菌の糖化酵素が活性化することが判った。特に、子実体形成と関連性の高いグルコアミラーゼの活性が、最も高まることが明らかとなった。グリコーゲンは、マツタケ菌の菌糸体内での一時的なグルコース蓄積物として利用されている可能性があり、今回、マツタケ菌糸の成長促進と糖化酵素の活性化に、有効性が認められた。

さらに、植物由来成分とマツタケとの関連性について、フィチン酸を培地に添加したところ、一定の濃度域で、菌糸の成長促進効果を認めた。このことは、既存培地の組成について、宿主植物に由来する成分を考慮する必要があることを示唆している。

なお、アカマツ苗木の成長促進を目的としたグルタチオンの施用については、今回の試験では、効果を確認することができなかった。

そして、ミニアカマツ林の育成試験では、簡易に運搬可能なフレコンバッグを利用することにより、容易に凸型地形を再現することが可能になった。これまでのマツタケの感染試験では、地形や傾斜、土壌等、試験の基礎条件が異なったが、ミニアカマツ林を育成することにより、条件を一致させることが可能になった。このミニアカマツ林を、必要に応じて配置することにより、自然の地形に左右されることなく、腐植の除去作業を省略、あるいは、機械によって簡易に実施することが可能になった。またこのアカマツは、移植による根系の損傷が無いため、将来的に、フレコンバッグ内に細根が充満した状態で成長後、周囲の地山に活着することが予想され、マツタケ菌の接種試験を行う基盤が整ったことになる。

最後に、バイオグリコーゲンの試供品をご提供いただいたグリコ(株)社には、感謝の意を表す。

また、アカマツの根から分離したデンプンについては、マツタケの培地用添加剤として、特許を取得した(2017年10月13日)。

引用文献

- 藤原直哉(2016)生理活性物質を用いたマツタケの人工培養方法の研究—アカマツデンプンの性状とマツタケの培養特性—。岡山県森研研報 32: 19-23.
- 藤原直哉(2017)培地支持材がマツタケのデンプン分解酵素に与える影響。日本きのこ学会誌 24:188-189
- 橋本一哉(1992)マッシュルーム。きのこの増殖と育種。

281-282, 農業図書, 東京.

伊藤武・岩瀬剛二 (1997) 生態を知り, 適地を選ぶ, 新
特産シリーズ マツタケ, 農山漁村文化協会, 74pp

岩泉正和 (2017) 第2世代抵抗性アカマツの開発, 林木
育種情報 No.25, 2pp

木村午朗 (1967) フィチン酸について, 有機合成化学
25, 167-168.

三崎旭・松井元子・浜田澄子 (1991) キシメジ科食用
茸 (ヒラタケ, タモギタケ) の多糖の化学的性質およ
び抗腫瘍作用. 大阪市立大学生活科学部紀要 第39
巻: 1-7.

岡山県 (2017) 植物を活用した生物生産プラットフォ
ームの構築, 生物科学研究所平成28年度研究年報, 15
-16

岡山県 (2018) 都道府県別生産量のベストテン, 平成
29年度岡山県特用林産物生産流通統計, 18pp

清水弘人・中谷俊多美・岡部正人・三上重明・岩野君夫
(1996) : 清酒醪の並行複発酵に及ぼすフィチン酸及
びその関連化合物の影響醸協, 91: 362-366.

酒類総合研究所 (2003) 酵素あれこれ, エヌリブ, 7pp

高田洋樹・小島岩男・田治襄・鈴木裕治・山本幹男
(2006) : ブランチングエンザイムの実用化と高度
分岐環状デキストリン(クラスターデキストリン™)
の開発, 生物工学誌 84, 63pp

附表

表-8 OG添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量 (図-11 元データ)

	菌糸伸長量 (cm/日)	平均値 (cm)	標準偏差 (cm)
Cont. (基本培地)	1.24		
	1.28		
	1.28	1.27	0.02
OG添加培地	1.36		
	1.38		
	1.39	1.38	0.02

表-9 BG添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量 (図-12 元データ)

菌糸伸長量 (cm) 平均値 (cm) 標準偏差 (cm)			
BG0 10	0.97		
	1.17		
	1.17	1.10	0.12
20	2.18		
	2.27		
	2.41	2.29	0.11
30	3.35		
	3.45		
	3.55	3.45	0.1
40	5.97		
	6.02		
	6.40	6.13	0.45
50	6.55		
	6.55		
	6.80	6.63	0.14
BG1 10	1.27		
	1.30		
	1.30	1.29	0.02
20	2.59		
	2.68		
	2.68	2.65	0.05
30	3.85		
	3.95		
	3.95	3.92	0.06
40	6.15		
	6.15		
	6.20	6.63	0.06
50	6.80		
	6.80		
	7.00	6.87	0.06
BG5 10	1.13		
	1.20		
	1.27	1.20	0.07
20	2.41		
	2.45		
	2.73	2.53	0.17
30	3.60		
	3.65		
	4.10	3.78	0.28
40	6.18		
	6.34		
	6.77	6.43	0.59
50	6.55		
	6.80		
	7.10	6.82	0.28
BG10 10	1.27		
	1.33		
	1.37	1.37	0.05
20	2.59		
	2.68		
	2.77	2.68	0.09
30	3.80		
	4.00		
	4.00	3.93	0.2
40	6.24		
	6.45		
	6.56	6.41	0.32
50	6.55		
	6.60		
	6.90	6.68	0.19
BG20 10	1.13		
	1.20		
	1.27	1.20	0.07
20	2.41		
	2.55		
	2.59	2.52	0.09
30	3.70		
	3.85		
	3.85	3.80	0.09
40	6.02		
	6.18		
	6.24	6.15	0.22
50	6.40		
	6.50		
	6.65	6.52	0.13

表-10 BG添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量 (図-13 元データ)

BG添加量 (g/l)	菌糸伸長量 (cm/日)	平均値 (cm)	標準偏差 (cm)
0	1.07	1.12	0.04
	1.14		
	1.14		
1	1.28	1.31	0.03
	1.32		
	1.33		
5	1.18	1.24	0.08
	1.19		
	1.33		
10	1.22	1.26	0.04
	1.26		
	1.31		
20	1.18	1.21	0.03
	1.21		
	1.24		

表-11 BG添加培地における糖化酵素の活性 (図-14 グルコアミラーゼ 元データ)

BGの添加量 (g/l)	グルコアミラーゼ活性 (mU/g)	平均値 (mU/g)	標準偏差 (mU/g)
0	0	96.54	97.22
	0		
	0		
	0		
	102.13		
	170.86		
	178.74		
	186.88		
	230.21		
1	105.18	218.88	74.80
	129.20		
	146.79		
	227.71		
	237.64		
	253.65		
	260.89		
	287.86		
	321.04		
5	3.62	120.38	55.74
	83.19		
	94.27		
	110.22		
	126.85		
	153.00		
	161.41		
	165.29		
	185.57		
10	38.01	94.31	39.83
	66.09		
	74.44		
	80.59		
	84.28		
	89.94		
	102.70		
	145.34		
	167.44		
20	0	0.00	0.00
	0		
	0		
	0		
	0		
	0		
	0		
	0		
	0		

表-12 BG添加培地における糖化酵素の活性 (図-14 α -アミラーゼ 元データ)

BGの添加量 (g/l)	α -アミラーゼ活性 (mU/g)	平均値 (mU/g)	標準偏差 (mU/g)
0	12.08	21.56	8.08
	14.37		
	15.98		
	17.59		
	19.06		
	21.75		
	27.25		
	28.73		
	37.19		
1	20.00	26.15	4.79
	20.41		
	22.82		
	24.84		
	26.05		
	26.45		
	28.86		
	32.76		
	33.16		
5	11.14	21.54	8.75
	13.02		
	13.29		
	14.10		
	23.49		
	25.11		
	28.86		
	31.82		
	33.03		
10	5.10	14.51	6.01
	7.92		
	7.92		
	13.96		
	17.32		
	18.80		
	19.33		
	19.60		
	20.68		
20	3.76	9.71	6.02
	3.89		
	5.91		
	8.06		
	9.00		
	10.07		
	10.47		
	12.62		
	23.63		

表-13 BG添加培地における糖化酵素の活性 (図-14 α -グルコシダーゼ 元データ)

BGの添加量 (g/l)	α -グルコシダーゼ活性 (mU/g)	平均値 (mU/g)	標準偏差 (mU/g)
0	8.59	43.03	26.26
	12.95		
	15.39		
	29.11		
	54.38		
	59.51		
	65.15		
	70.79		
	71.44		
	71.44		
1	24.11	58.99	21.23
	31.68		
	48.35		
	51.43		
	67.84		
	71.18		
	74.77		
	75.92		
	85.67		
	85.67		
5	47.45	68.91	15.91
	54.76		
	56.69		
	64.64		
	65.54		
	68.36		
	78.10		
	91.31		
	93.37		
	93.37		
10	47.07	56.65	7.78
	47.32		
	47.80		
	54.25		
	58.61		
	61.18		
	62.20		
	65.15		
	66.31		
	66.31		
20	34.88	40.06	4.15
	35.27		
	36.68		
	39.76		
	40.53		
	40.66		
	40.91		
	44.12		
	47.71		
	47.71		

表-14 フィチン酸添加培地におけるマツタケ菌糸の伸長量 (図-15 元データ)

フィチン酸の 濃度 (mM)	菌糸伸長量 (cm)	平均値 (cm)	標準偏差 (cm)
0	5.45	5.65	0.20
	5.65		
	5.85		
0.1	5.25	5.62	0.40
	5.55		
	6.05		
0.5	6.80	6.85	0.05
	6.85		
	6.90		
1.0	6.25	6.55	0.36
	6.45		
	6.95		

表-15 グルタチンの添加効果およびアカマツ苗木のT/R比 (図-18, 19 元データ)

No.	グルタチオン			Control		
	地上部 (g)	地下部 (g)	T/R比	地上部 (g)	地下部 (g)	T/R比
1	4	2	2.00	6	2	3.00
2	16	4	4.00	16	4	4.00
3	18	6	3.00	16	8	2.00
4	20	6	3.33	20	6	3.33
5	24	8	3.00	20	6	3.33
6	24	10	2.40	24	10	2.40
7	28	6	4.67	24	8	3.00
8	28	10	2.80	26	14	1.86
9	30	16	1.88	30	10	3.00
10	30	12	2.50	32	10	3.20
11	30	12	2.50	32	10	3.20
12	32	10	3.20	48	12	4.00
13	36	12	3.00			
14	38	12	3.17			
15						
合計	358	126	—	294	100	—
平均値	25.57	9.00	2.96	24.50	8.33	3.03
標準偏差	8.88	3.82	0.74	10.55	3.39	0.67