

資 料

ホンシメジの胞子発芽に対するグルコースの影響*

水谷和人

キーワード：ホンシメジ，菌根性きのこ，胞子発芽，グルコース

I はじめに

ホンシメジは古来から「香りマツタケ，味シメジ」と言われているとおり，我が国に広く分布する代表的な食用菌である。本菌はアカマツやコナラと共生する菌根性きのこであり（Masui, 1927；伊藤，1941），人工栽培は困難と考えられてきた。しかし，1994年に寄主植物を使わずに純粋培養下において子実体が発生することが示された（Ohta, 1994；吉田ら，1994；Watanabe et al, 1994）。その後，実用的な栽培方法について種々検討が進められ，現在では人工栽培されたホンシメジが，高級食材として主に高級料亭向きに出荷されるまでになっている。しかし，ホンシメジの人工栽培では，培地基材に穀類などが必要なことから資材費が高価になること，栽培期間が長いこと，雑菌に汚染されやすいことなどが問題となっている（太田，2004）。このため，子実体形成の容易な品種の作出，さらには既存のきのこ栽培で通常使用されるおが粉を主体とした安価な材料で栽培可能な品種の作出が必要である。これらの手法の1つとして一核菌糸の交配があるが，その効率化を図るためには胞子発芽率を高めることが必要不可欠である。

胞子発芽に使用する培地は，高い発芽率が得られ，かつ発芽後の菌糸伸長も良好なものが利便性の面から適している。木材腐朽菌の胞子は，一般に十分な水分の供給のみで発芽可能で（鈴木，1990），菌糸の培養に使用するPDA培地などで容易に発芽する場合が多い。しかし，菌根性きのこの胞子発芽率は一般に極めて低く（岩瀬，1994），ホンシメジの胞子発芽は，通常の菌根性きのこの菌糸培養に使用される培地では不良である（伊藤，1940）。衣川（1982）は，ホンシメジの発生量が激減した理由として，発生地である山林の土壌が過度に富栄養化した結果としている。発生地

の起源は胞子である可能性が高いことを考えると，菌糸培養に用いられる高栄養培地が胞子発芽を阻害している可能性もある。そこで，本研究では，培地中の炭素源に着目し，ホンシメジ胞子の高い発芽率を得る培地を把握することを目的として，菌根性きのこの菌糸培養に使用される培地のグルコース量が胞子発芽率に与える影響について検討した。なお，比較としてシモフリシメジ，カキシメジ，ヌメリイグチ，ショウゲンジについても同様の検討を併せて行った。

II 材料および方法

使用した培地は，菌根性きのこの菌糸培養にも使用される改変Malt Extract培地（蒸留水 1Lに対してグルコース 10g，麦芽エキス 10g，ペプトン 1g，寒天15g）で，グルコース量の違いと胞子発芽率の関係を検討するため，この培地のグルコース量を0g，1g，5g，10g，15gの5段階に変更した。これにストレプトマイシン塩酸塩 0.03g，Tween80 1ml，n-酪酸 0.03mlを添加した。培地pHは，KOHあるいはHClで5.2～5.4に調整し，直径9cmの滅菌シャーレに20ml分注した。別途添加したストレプトマイシン塩酸塩は他の菌の混入による影響を防ぐため，界面活性剤Tween80は水分や栄養分の胞子への浸透性の向上を期待して，n-酪酸は胞子発芽率を高める（Ohta, 1988）ことを目的としている。

試験に使用したきのこはホンシメジ，シモフリシメジ，カキシメジ，ヌメリイグチ，ショウゲンジで，岐阜県北部の高山市内のアカマツとコナラの混交林で各1個体採取した。採取したきのこは傘をその日のうちにビーカーの底にワセリンで張り付け，滅菌シャーレの上にふせて胞子を落下させた。その後16時間以内に落下した胞子を胞子接種用培地から寒天を除いた溶液

* 本研究の一部は，日本菌学会第44回大会(2000年5月)において発表した。

でけん濁して各培地へ接種した。接種したシャーレ数は1試験区10枚で、接種した後、21℃の暗黒下で培養した。孢子発芽率は、孢子接種後49日間にわたって適宜3～22日間隔で各1枚のシャーレを取り出して調査し、ホンシメジのみ接種後3および6日目に孢子直径も測定した。孢子発芽率の調査は発芽管の伸長に伴い、観察が困難になった時点で終了した。発芽率は顕微鏡観察により1シャーレ内の孢子1,000個を、孢子直径は顕微鏡写真により165～549個を調査して求めた。孢子発芽率は観察した1,000個が発芽していない場合のみ、シャーレ内の他の孢子を観察して発芽が1個でも確認できれば、0.1%以下とした。

Ⅲ 結 果

1. ホンシメジの孢子発芽に対するグルコースの影響

孢子の発芽率および直径は、グルコース量によって違いが認められた(表-1, 図-1)。ホンシメジの接種3日目の孢子発芽率は0～5g区の6.8～7.6%に比較して、10および15g区では0.1～0.2%と低かった。また、孢子の直径は0～5g添加区が10および15g添加区に比較して大きかった。この傾向は接種6日目において

表-1 グルコース量の違いと孢子発芽率および孢子直径

試験区	接種後3日目		接種後6日目		接種20日目 菌糸伸長(cm)
	発芽率(%)	直径(μ m)	発芽率(%)	直径(μ m)	
0g区	7.6	6.0 $\pm$ 1.0	7.9	7.0 $\pm$ 1.3	2.0
1g区	7.0	6.2 $\pm$ 1.0	8.6	7.2 $\pm$ 1.1	1.8
5g区	6.8	6.1 $\pm$ 1.0	6.7	6.9 $\pm$ 1.1	1.8
10g区	0.2	4.6 $\pm$ 0.7	0.3	4.7 $\pm$ 0.8	1.1
15g区	0.1	4.5 $\pm$ 0.6	0.1	4.4 $\pm$ 0.4	0.7

注) 1: 平均値 $\pm$ 標準偏差, 採取直後の孢子は5.3 $\pm$ 0.7 μ m

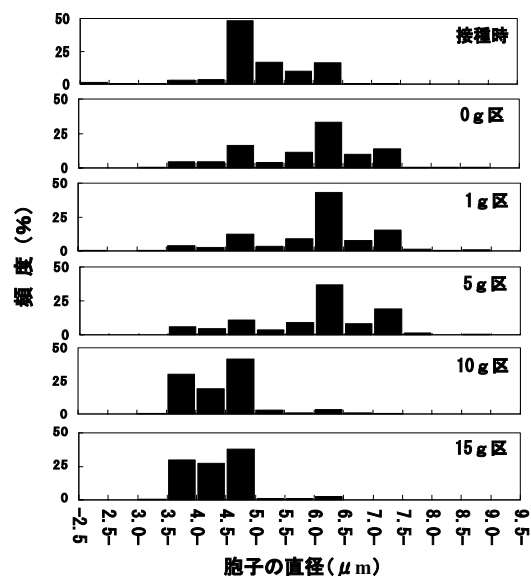


図-2 グルコース量とホンシメジ孢子の直径
(接種時および接種3日目)

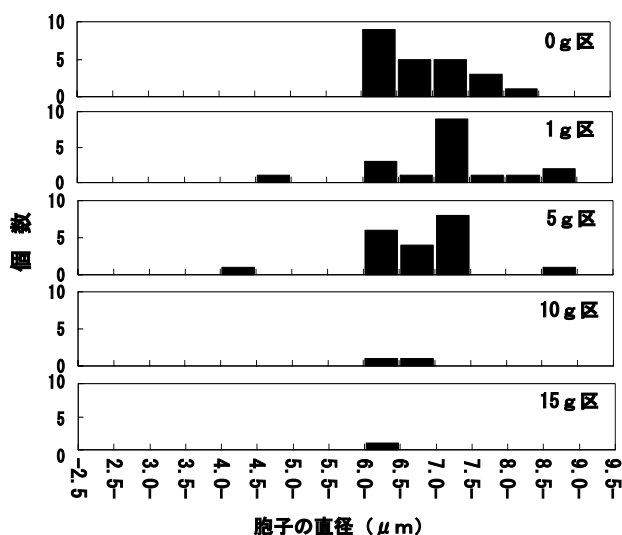


図-3 発芽したホンシメジ孢子の直径 (接種3日目)

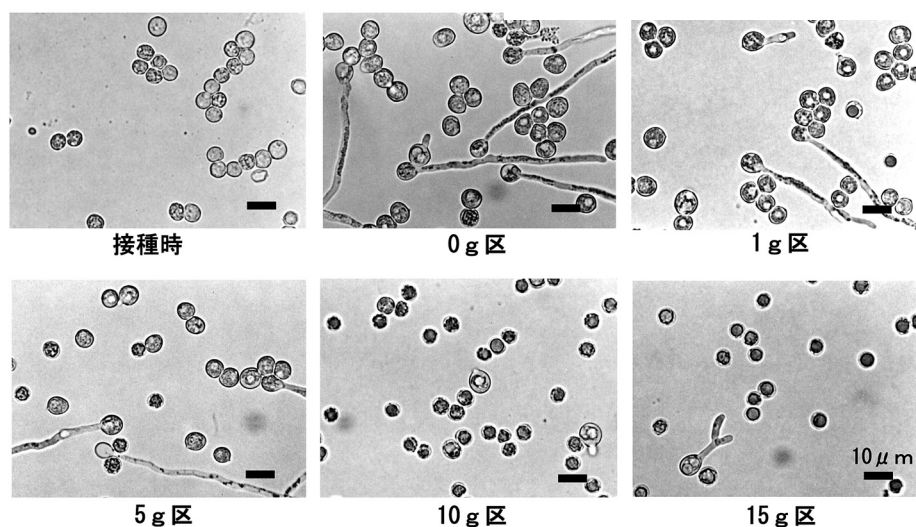


図-1 接種時および接種3日目のホンシメジ孢子の状況

ても同様であった。接種20日目の菌糸伸長も、0～5 g区が良好であった。なお、胞子は早いもので接種1日目から発芽し、接種3日目には菌糸の分岐も見られた。ホンシメジは各試験区とも1本の発芽管が伸長する場合が多く、膨張や萎縮した胞子の形態も試験区による違いが見られなかった（図－1）。

接種時および接種3日目におけるホンシメジの胞子直径分布を図－2、発芽した胞子の直径分布を図－3に

表－2 グルコース量と胞子発芽率

きのこ名	試験区	接種後の経過日数別胞子発芽率(%)						
		3日	6日	9日	13日	20日	27日	49日
シモフリシメジ	0 g区	—	2.1	4.3	—	4.8	—	—
	1 g区	—	0.2	0.5	—	0.6	—	—
	5 g区	—	0.5	0.9	—	1.0	—	—
	10 g区	—	0.2	0.5	—	1.0	—	—
	15 g区	—	0.0	0.3	—	0.4	—	—
カキシメジ	0 g区	18.0	—	—	—	—	—	—
	1 g区	10.4	—	—	—	—	—	—
	5 g区	10.4	—	—	—	—	—	—
	10 g区	6.6	—	—	—	—	—	—
	15 g区	8.6	—	—	—	—	—	—
ヌメリイグチ	0 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	+	+
	1 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	+	0.0
	5 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	0.0	+
	10 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	+	0.0
	15 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	0.0	0.0
ショウゲンジ	0 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	0.0	0.0
	1 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	0.0	0.0
	5 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	0.0	0.0
	10 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	0.0	0.0
	15 g区	0.0	0.0	—	0.0	—	0.0	0.0

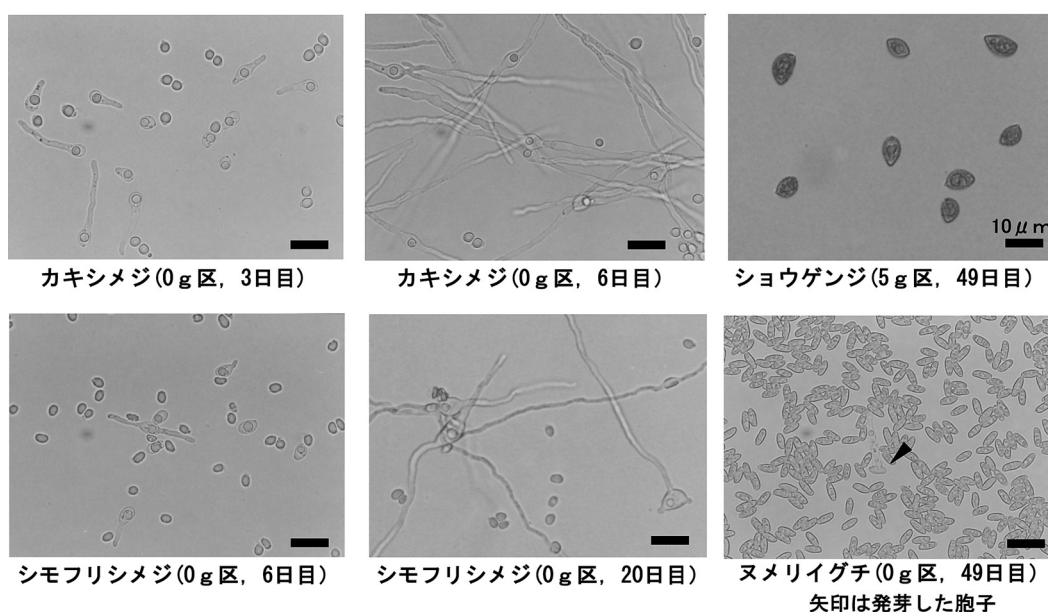
注) +：発芽率0.1%以下，—：未測

示した。接種時の胞子直径は平均 $5.3\mu\text{m}$ で、 $4.5\sim 5.0\mu\text{m}$ の頻度が最も高かった。接種3日目の胞子は0～5 g区で接種時に比べてその多くが膨張しており、 $6.0\mu\text{m}$ 以上の胞子の割合は59～68%であった。一方、10および15 g区では多くの胞子が収縮し、 $6.0\mu\text{m}$ 以上の胞子の割合は数%に過ぎなかった。発芽した胞子のほとんどは、直径 $6.0\mu\text{m}$ 以上で、接種時の胞子直径に比較すると大きかった。しかし、直径 $6.0\mu\text{m}$ 以上に膨張した胞子でも発芽するのは9.3%で、膨張しても発芽しない場合が多かった。

2. カキシメジ、シモフリシメジ、ヌメリイグチ、ショウゲンジの胞子発芽に対するグルコースの影響

胞子発芽率を表－2に示した。カキシメジの胞子は接種後3日以内に、シモフリシメジは4～5日目に発芽し始めた。胞子発芽率はホンシメジと同様に、グルコース量によって違いが認められた。最も高い発芽率を示したグルコース量はシモフリシメジおよびカキシメジとも0 g区で、発芽率はシモフリシメジが4.8%、カキシメジ18.0%であった。10～15 g区の発芽率は非常に低かった。一方、ヌメリイグチの胞子は接種27日目以降に若干の発芽が見られた程度で、ショウゲンジは全く発芽しなかった。

図－4に発芽した胞子を示した。シモフリシメジおよびカキシメジは膨張がホンシメジに比較して大きく、発芽管が胞子の両端から伸長した。発芽した胞子は必ず膨張していた。ヌメリイグチおよびショウゲンジはほとんど膨張せず、ヌメリイグチは極めて太い発芽管が長軸方向の胞子壁から伸長した。



図－4 接種後の胞子の状況

IV 考 察

本試験はホンシメジの胞子の高い発芽率が得られる培地組成を把握する目的で、菌根性きのこの菌糸培養にも使用される改変Malt Extract培地を基本にして、そのグルコース量と胞子発芽率の関係を検討した結果である。

ホンシメジの発芽率はグルコース量が少ない培地で高く、高い発芽率を得るためには、グルコース量を0~5 g/Lにして、胞子を6.0 μ m以上に膨張させることが必要であると考えられた。しかし、膨張しても発芽しない胞子が多く、これらの胞子をいかに発芽させるかが今後の課題である。

また、カキシメジ、シモフリシメジもホンシメジと同様に、グルコース量が少ない培地で発芽率が高くなる傾向にあった。一方、ヌメリイグチ、ショウゲンジはグルコース量に関係なくほとんど発芽しなかった。

担子胞子はその色で無色型と有色型に類別され、無色型は薄くて1~2層の単純な細胞壁構造で、有色型は細胞壁が厚くかつ3~6層から成る複雑な細胞壁構造を呈する(中井, 1992)。接種後4~5日以内に発芽し、グルコース量が少ない培地で発芽率が高くなる傾向にあったホンシメジ、カキシメジ、シモフリシメジは無色型胞子である。また、ほとんど発芽しなかったヌメリイグチ、ショウゲンジは有色型胞子である。グルコース量と胞子発芽率の関係は胞子の色によって良く似た傾向を示し、この原因の一つとして胞子の細胞壁構造による影響が考えられる。

菌根性きのこの菌糸培養に使用される培地は多種あるが、それらのグルコース量は、1L当たり5~20 gである(岡部, 1997)。低分子のグルコースの添加は培地の浸透圧が上昇するため、浸透圧によってその添加量に限界がある。ホンシメジを始め無色胞子は発芽に適したグルコース量が、菌糸培養に使用される量より少ない0~5 gであり、無色胞子の浸透圧耐性が菌糸に比較して低い可能性が考えられた。

引用文献

- 伊藤一雄 (1940) シメジに関する研究第1報—形態・担子胞子の発芽並に培養上の性質—。日林誌22: 319—335.
- 伊藤一雄 (1941) シメジに関する研究第1報—本菌と木本性植物との菌根関係(1)—。日林誌23: 124—132.
- 岩瀬剛二 (1994) 外生菌根菌マツタケモドキの生活環境に関する研究。日菌報35: 130—133.

- 衣川堅二郎 (1982) ホンシメジ。(キノコの事典。中村克哉編, 492pp, 朝倉書店, 東京)。200—204.
- Masui, K (1927) A study of the ectorophic mycorrhizas of woody plant. Memo. coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Series B. VolⅢ. No2: 149—279.
- 中井幸隆 (1992) 形態。(きのこ学。古川久彦編, 450 pp, 共立出版, 東京)。55—78.
- Ohta, A. (1994) Some cultural characteristics of mycelia of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*. Mycoscience35: 83—87.
- Ohta, A. (1988) Effects of butyric acid and related compounds on basidiospore germination of some mycorrhizal fungi. Trans.mycol.Soc.Japan29: 375—381.
- 太田明 (2004) ホンシメジ。(2004年度版きのこ年鑑。407pp, プラントワールド, 東京)。202—203.
- 岡部宏秋 (1997) 森づくりと菌根菌。21pp, 林業科学技術振興所, 東京。
- 鈴木彰 (1990) 胞子の休眠と発芽。(きのこの一生。堀越孝雄・鈴木彰著, 163pp, 築地書館, 東京)。25—43.
- Watanabe, K., Kawai, M. and Obatake, Y (1994) Fruiting Body Formation of *Lyophyllum shimeji* in pure culture. Mokuzai Gakkaishi 40: 879—882.
- 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: 192—195.