

ツネノチャダイゴケの培養方法の確立

元田敦也 小川露佳 堀江花歩 巻下克樹 松川華音

動機

近年、バイオメテイクスへの関心が高まっており、その対象の生物としてツネノチャダイゴケ(以降チャダイゴケと称す)があげられていた。チャダイゴケの小粒の飛散のメカニズムを調べようとしたところ、チャダイゴケの培養方法が明らかになっていないことを知った。そこでまず、チャダイゴケの培養が確実に成功する方法を確立させ、将来の技術開発に貢献したいと考えた。

目的

長期的な目標としてはチャダイゴケの小粒の飛散メカニズムを解明することだが、本研究ではその足掛かりとして以下のことを目的とする。

- ・チャダイゴケを培養して、その菌糸が繁殖し、子実体ができる条件を調査する。
- ・子実体の形成が完了したらその構造を調べる。

本実験

菌糸の培養

鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝子研究センターから頂いたチャダイゴケの菌糸をシャーレのマルツ培地上で培養し人工気象器内(温度 $25^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ 湿度90%)で保管。

菌床培地での培養

○マツ培地(材料: マツおがくず、米ぬか、脱塩水)

①培地作り(ヒラタケの場合と同様の配合)

マツおがくずと米ぬかを体積比3:1で配合し、脱塩水を適量加えものを二つ作成した。

②菌糸の植えつき

マルツ培地で培養したものを使用。人工気象器内で保管。菌糸蔓延後インキュベーター内(温度 17°C)で保管。

③菌かき

参考文献をもとに3回に分けておこなった。

1回目:菌かき後、注水 2,3回目:菌かきのみ

2回目の菌かき以降青色LED照射下で保管。3週間後LED照射をやめて人工気象器で保管。

④覆土

専門家の助言をもとに鹿沼土を用い、覆土を行った。

【ツネノチャダイゴケ】

ハラタケ科のきのこチャダイゴケの一種で木の枝、葉、古い家具などに発生する。コップ型の子実体を形成する。子実体内部には円盤状の小粒が入っており、雨粒によって飛散する。

【クランプ】

キノコ菌糸の細胞壁の脇にはクランプと呼ばれるコブがみられる。光学顕微鏡で確認することができる。

【キノコの子実体形成】

光、温度変化、乾燥物理的刺激、菌かき、覆土などの刺激や栄養不足が子実体形成のきっかけとなる。

【菌かき】

菌床培地表面に菌糸が蔓延したところで表面の菌糸をかきとり、菌床がむき出しになる状況にすること。菌糸に物理的な刺激を与えることができる。キノコの栽培において一般的に行われる。

【覆土】

菌かき後、菌糸が再び蔓延したところに上から土をかぶせる。無菌的に培養されたキノコに異物、雑菌、栄養分枯渇など多くの刺激を与えることができる。腐食性キノコの栽培によく使われる発生操作。

菌糸の観察

①各菌床培地ごとに菌糸をプレパラートにとる

②コットンブルー水溶液で菌糸の細胞壁を染色し、光学顕微鏡で観察した。

○ブナ培地(材料: ブナおがくず、米ぬか、フスマ、脱塩水)

①培地作り(シイタケの場合と同様の配合)

ブナおがくず、米ぬか、フスマを重量比5:5:1で配合し、脱塩水を適量加えた。

②菌糸の植えつき(マツ培地と同様)

③菌床の菌糸が蔓延した部分をピーカーに移動。

④菌かき

参考文献をもとに③の培地の菌かきおよび注水を行った。以降青色LED照射下で保管。

⑤覆土(マツ培地と同様)

⑥ビン培地、ピーカー培地のうち各2つずつをインキュベーター内から出し、常温で保管。

⑦覆土を行わなかったピーカーのうち2つに滅菌処理をした小枝(ブナ科アラカシ)を入れた。

結果

これまでに菌糸の観察でクランプと思われるものが見られた。しかし、くっきりとしたものは見られなかった。

ブナ培地のうち2つは菌糸が蔓延しなかった。そのほかの培地では菌糸が十分に蔓延し、子実体形成の前の状態であるゴム状の菌糸も見られたが、現在のところ子実体形成には至っていない。(培養、観察を継続中)

小枝を入れたものは、小枝に菌糸が蔓延していたが、子実体形成には至っていない。

考察

○観察で明確なクランプがみられなかった理由

- ・染色の時間が短かった。
- ・細胞壁にピントが合っていなかった。

○子実体が形成されなかった理由

- ・菌床培地中の栄養分が多すぎたため、ストレスを与えられなかった。
- ・瓶やピーカーで培養したため、光が培地表面以外からも当たってしまい地上との環境の差が生まれたため、形成される条件を満たさなかった。
- ・子実体形成には木の硬さなど、おがくずにはない性質が必要だった。
- ・温度変化、湿度などの条件が子実体形成には不適切だった。
- ・今回は冷凍保存されていた菌糸を用いたため季節性はないと考えたが、季節は子実体形成に影響していたため、子実体形成の条件を満たさなかった。

今後の予定

- ・菌床培地をさらに増やして観察を続ける。
- ・滅菌した小枝を入れた菌床培地の経過観察を続ける。
- ・子実体が出てき始めたらその成長過程ごとの標本を作る。
- ・子実体形成が完了したらその構造を観察する。

参考文献

- ・阿部正範 飯田繁 大賀祥治(2002), シイタケ菌床培地におけるコンスティーブリカーの添加効果, 日本応用きのこ学会誌, 10巻1号, 29-34
- ・阿部正範 西沢元(2011), 青色発光ダイオードによる光照射がシイタケ子実体の発生に及ぼす影響(I), 徳島森研, 7号, 1-7
- ・三河の植物観察 きのこ図鑑
<https://mikawanoyasou.org/kinoko/tunenotvadaigoke.htm>
- ・武藤化学株式会社ホームページ
https://www.mutokagakaku.com/products_search/bacteriology_shinkin/item_1861
- ・吉見昭一(1979)「小さなコップのひみつ」大日本図書