

ツネノチャダイゴケ菌糸の培地栄養分比率と伸長速度の関係

元田 敦也 小川 露佳 堀江 花歩 巻下 克樹 松川 華音
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2 年

ハラタケ科のキノコ的一种であるツネノチャダイゴケ (*Crucibulum laeve*) はバイオミメティクスの対象とされているが、その培養方法は確立されていない。そこで本研究では、培養方法の確立の一助となることを目的として、培地の栄養分比率とツネノチャダイゴケ菌糸の伸長速度の関係を調べた。その結果、ツネノチャダイゴケ菌糸の培養において、従来の他のキノコを培養する際に使用されている菌床培地の栄養分比率より伸長速度が速くなる栄養分比率を見つけることに成功した。加えて、実験で発生した原基からの子実体形成も試みた。

1. はじめに

ツネノチャダイゴケとはハラタケ科のキノコチャダイゴケ (*Crucibulum laeve*) の一種である。木の枝、葉、古い家具などに群生し、日本全土・世界各地で発生する。図 1 のような高さ 8mm、口径 4-8mm の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、雨粒によって飛散し、粘着性と伸縮性のあるファニクルスによって周囲の植物に付着する。^[5]

キノコの子実体は光、温度変化、乾燥、菌かき、覆土などの刺激や栄養不足がきっかけとなって形成される。子実体形成の前段階として図 2 のような原基ができる。^[3]



(図 1) 子実体



(図 2) 原基

2. 研究の目的

2.1. 動機

ツネノチャダイゴケは雨粒により小粒が飛散するメカニズムに着目され、近年関心の高まっているバイオミメティクスの対象の生物として注目を集めている。しかし、その培養方法はいまだに確立されていない。そこでツネノチャダイゴケの培養方法確立の一助となるよう今回の研究をおこなうことにした。

2.2. 目的

以下の二点を本研究の目的とする。

- ・ ツネノチャダイゴケ菌糸を培養する菌床培地中のおがくずと栄養分の比率の違いが菌糸の伸長速

度に与える影響を調べる

- ・ 菌床培地中の栄養分の米ぬか、小麦ふすま (以下ふすま) が菌糸の伸長速度に与える影響を調べる

2.3. 本研究の特徴

- ・ キノコの人工栽培には原木栽培と、おがくずを主成分とする菌床培地を用いた菌床栽培があるが、今回は菌床栽培をおこなう。
- ・ 伸長速度の指標はシャーレ上に作成した菌床培地上の菌糸の広がった部分の表面積とする。
- ・ 本研究において比率とは重量比のことを指す。

3. 本実験

3.1. 方法

ブナおがくず、米ぬか、ふすまを用いて表 1 に示す比率の菌床培地を作製した。なお、②③⑥⑦⑧において先行研究^[1]のシイタケ菌床培地をもとに米ぬかとふすまの比率を 5 : 1 に設定した。

(表 1) 培地中の各物質の比率

	おがくず (%)	米ぬか (%)	ふすま (%)
①	100	0	0
②	95	4.2	0.8
③	90	8.3	1.7
④	90	10	0
⑤	90	0	10
⑥	85	12.5	2.5
⑦	80	16.7	3.3
⑧	45.4	45.4	9.2

なお、⑧の培地の比率は先行研究^[1]においてシイタケ菌床培地として使用されていた培地と同じ比率である。全ての培地に比率 30%の脱塩水を加えた。

各比率につき3個の菌床培地をガラスシャーレ上に薄く作製し、オートクレーブを用いて滅菌した。

その後、菌糸を蔓延させた50 mm²の麦芽寒天培地を菌床培地の中心に置き、人工気象器内(温度20℃±3℃湿度90%)で保管した。うえつぎ後一日おきに菌糸が蔓延した部分の表面積を画像解析ソフトウェア ImageJ を用いて測定した。表面積の単位はmm²である。

以上の計測を2度行った。計測1はガラスシャーレの直径は統一せず、計測2は全て直径の等しいガラスシャーレを使用した。

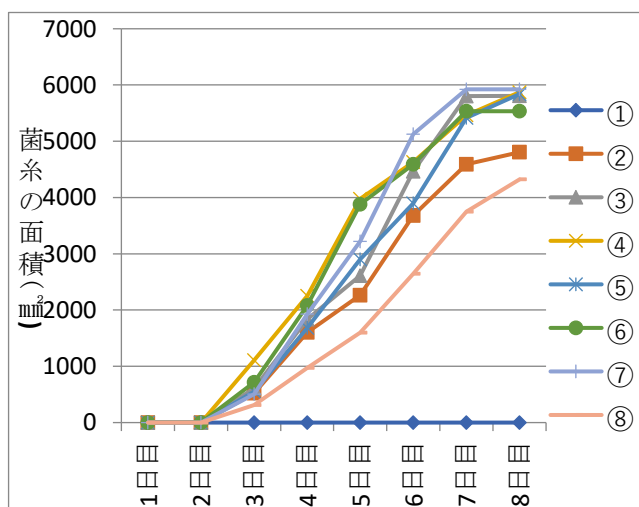
3.2. 仮説

菌糸の伸長には栄養分が必要であるため、栄養分と菌糸の伸長速度には正の相関があると考えられる。つまり、伸長面積は栄養分比率が最大の⑧が最も大きく、栄養分比率が最小の①が最も小さくなると予想される。また、栄養分は米ぬかとふすまの両者が必要であると考えられ、④⑤は③より伸長面積が小さくなると考えられる。

3.3. 結果

計測1の結果を図3に示す。菌糸の伸長面積は5日目までは④⑥が最も大きかったが、6日目に⑦が最も大きくなった。①は菌糸の伸長がほとんどなかったことに加えて、菌糸が薄く、計測ができなかった。①を除けば、⑧が最も伸長面積が小さくなっていた。グラフの傾きは④⑥が5日目まで最も大きくなっている。5日目から6日目にかけては③⑦が最も大きくなっている。

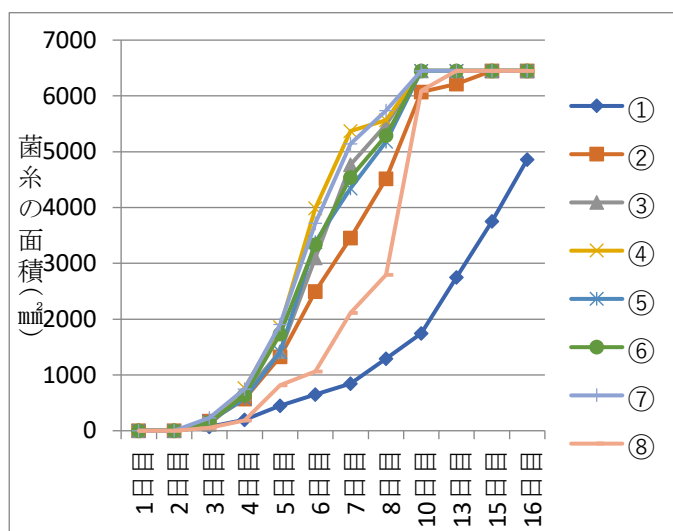
しかし、計測1ではそれぞれの菌糸を培養したガラスシャーレの大きさが違っていたため、菌糸の伸長できる面積の大きさの限界に違いが出てしまった。



(図3) 計測1における日ごとの菌糸の伸長面積

計測2の結果を図4に示す。計測1と同じように菌糸の伸長面積が最も大きかったのは④⑦で、最も

小さかったのは①、8日目まで二番目に小さかったのは⑧であった。①②⑧を除き、計測10日目には菌糸の伸長面積がシャーレの大きさの限界に達し、②⑧もそれぞれ15日目、13日目に菌糸の伸長面積がシャーレの大きさの限界に達した。グラフの傾きを見ると、①②⑧を除き、すべての培地で5日目から6日目にかけて最も大きくなっており、②⑧は8日目から10日目にかけて最も大きくなっている。①はほかの菌糸がシャーレの大きさの限界に達した10日目以降も菌糸の伸長を続けている。加えて、③⑥⑦⑧に図5のように原基形成が見られた。原基形成がみられた培地の各3つのシャーレ(i~iii)において培養開始日から原基形成日までの日数を表2、菌糸の伸長面積の限界到達日から原基形成日までの日数を表3に示す。



(図4) 計測2における日ごとの菌糸の伸長面積



(図5) ③で確認された原基

(表2) 原基形成がみられた各培地における培養開始日から原基形成日までの日数

培地の種類	培養開始日から原基形成日までの日数		
	i	ii	iii
③	15日後	15日後	16日後
⑥	15日後		
⑦	8日後	8日後	20日後
⑧	16日後	16日後	20日後

(表 3)原基形成がみられた各培地における伸長面積の限界到達日から原基形成日までの日数

培地の種類	菌糸の伸長面積の限界到達日から 原基形成日までの日数		
	i	ii	iii
③	5 日後	5 日後	9 日後
⑥	5 日後		
⑦	0 日後	0 日後	14 日後
⑧	3 日後	3 日後	10 日後

4. 追加実験

4.1. 追加実験の目的

本実験中のシャーレにおいてツネノチャダイゴケの原基形成が確認された。そこで追加実験Ⅰとして、確認された原基が子実体を形成するまでの様子を観察する。

また、追加実験Ⅱとしてビーカーに作成した菌床培地において原基が形成される光の条件を調べる。

4.2. 実験Ⅰ

原基形成が確認されたシャーレを恒温器(温度 24℃)で蓋を開けた状態で保存し成長の様子を観察した。その際、恒温器内の湿度を高く保つため、水を入れたビーカーを置き、菌床の表面の乾燥を防ぐため、乾燥が見られる培地は霧吹きで加湿した。

4.3. 実験Ⅱ

本実験と同様の比率の培地を作り、各比率につき 2 個の菌床培地をビーカーに作製し、オートクレーブを用いて滅菌した。その後培地表面に菌糸をうえつぎ、培地全体に菌糸が広がったところで菌かき・おがくずによる覆土を行い、各比率 2 つの菌床培地のうち 1 つに 1 日 6 時間青色 LED を照射した。

4.4. 結果Ⅰ

培養開始 42 日後現在、子実体形成は見られていない。また、一部の培地では表面が茶色く変色してしまった。

4.5. 結果Ⅱ

培養開始 64 日後現在、原基形成及び子実体形成は見られていない。また、青色 LED 照射をおこなったものとおこなわなかったものの間に顕著な差は見られなかった。

また、①では図 8 のように菌糸が蔓延しなかった。それに対し、⑥⑦⑧の 3 種類のみ図 9 のように覆土したおがくずの上に菌糸が蔓延した。



(図 8)①の様子



(図 9)⑦の様子

5. 考察

本実験より、ツネノチャダイゴケの栽培における最適な培地は⑦であると考えられる。その根拠は以下の 3 点である。

- ・図 3, 4 に示すように伸長速度が最も大きかった
- ・同条件のすべてのシャーレにおいて原基形成が見られた
- ・表 2 に示すように計測開始日から原基形成日までの日数が最も少なかった

仮説の段階では菌糸の伸長は培地における栄養分の比率に対して正の相関関係があると考えていた。しかし図 3, 4 に示すように、①を除いたすべての培地で培地中の栄養分の比率が最も大きい⑧よりも菌糸の伸長が速かった。その理由として⑧は栄養分が豊富にあるため、菌糸を伸ばさなくても生存が可能であり、菌糸の伸長面積が大きくならなかったということが考えられる。②～⑦は栄養分が少なかったため、生存するために菌糸の伸長が必要となり、菌糸の伸長面積が大きくなったと考えられる。

さらに、①が他の培地に比べて伸長面積が小さかった理由として以下の 2 点が考えられる。

- ・計測 1 において、菌糸の生存が困難であった
- ・計測 2 において、菌糸が生存したとしても培地への定着が困難なため、菌糸の伸長の開始が遅くなった

また、①において、計測 1 では菌糸が広がらず、計測 2 では菌糸が広がった理由は麦芽寒天培地からうえついだ菌糸の生存力の差であると考えられる。

表 3 に示すように、原基形成が見られたすべてのガラスシャーレで原基は菌糸の伸長面積の限界に達した後に形成されたことや、追加実験Ⅱにおいて原基形成が見られなかったことから、菌糸の伸長が困難になり、生育範囲の拡大ができなくなったときに原基は形成されることが考えられる。

しかし、②④⑤は菌糸の伸長面積がシャーレの限界に達した後しばらくたっても、原基形成がみられなかった。このことから、原基形成には一定量以上の栄養分が必要であり、栄養分中には米ぬかとふすまの両方が必要だと考えられる。

追加実験Ⅰにおける原基からの子実体形成と、追加実験Ⅱにおける原基形成がみられなかった理由は、太陽光や適度な湿度、温度変化など他の刺激が必要だったためと考えられる。

加えて、栄養分の比率が高い培地では栄養分のない覆土したおがくずの上に菌糸が蔓延したが、おがくずのみの培地では菌糸は蔓延しなかったことから、菌糸は栄養分がないところでも他の部分の栄養分を利用することで伸長すると考えられる。

6. 今後の展望

本研究では、シャーレ上に広がった菌糸の表面積を測ったが、その菌糸の単位面積あたりの厚さや密度は考慮せずに測定をおこなった。今後の研究ではそれらを考慮する必要がある。また、今回は培地をガラスシャーレ上に薄く広げて水平方向の菌糸の伸長について調べたが、本来の菌床培地は菌床瓶に作成されるため、実際の菌床培地に応用するには鉛直方向に関する評価も必要である。

加えて、今回は原基形成はみられたが、子実体形成はみられなかった。今後の研究では子実体形成に必要な条件、また培地の栄養分比率による子実体の成長への影響も調べる。

7. 謝辞

本研究では、鳥取大学農学部附属菌類キノコ遺伝資源研究センターからツネノチャダイゴケの菌糸を分譲していただきました。さらに、大阪市立自然史博物館主任学芸員の佐久間大輔様、株式会社岩出菌学研究所の多田有人様、鳥取大学農学部所属菌類きのこ遺伝資源センター遺伝資源多様性部門助教の遠藤直樹様にご助言をいただきました。また、サイエンスアドバイザーの皆様や兵庫県立神戸高校の先生方には多くご指導いただきました。本研究にご協力いただいた皆様にこの場を借りて心より御礼申し上げます。

<参考文献>

- [1] 阿部正範 飯田繁 大賀祥治, シイタケ菌床培地におけるコーンステーパーリカーの添加効果, 日本応用きのこ学会誌, 10 巻 1 号, 29-34, 2002
- [2] 阿部正範 西沢元, 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ー(Ⅰ), 徳島森研, 7 号, 1-7, 2007
- [3] 三河の植物観察, きのこ図鑑,
<https://mikawanoyasou.org/kinoko/tunenotya-daigoke.htm>
- [4] 吉見昭一, 小さなコップのひみつ, 大日本図書,

1979, 35p

- [5] 今関六也 本郷次雄, 原色真菌類図鑑(Ⅱ), 保育社, 1989, 402p