

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658155

研究課題名(和文)新規培養法によるマツタケ人工栽培技術の開発

研究課題名(英文)The development of artificial cultivation of *Tricholoma matsutake*

## 研究代表者

近藤 隆一郎(Kondo, Ryuichiro)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・特任教授

研究者番号：80091370

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マツタケは、アカマツなどの根の細胞間隙に侵入し菌根を形成し、地中から水、ミネラルなどを吸収し、菌根を介して植物に供給する。植物は光合成により得られた糖類などをマツタケ菌糸体に供給する。マツタケは、植物の遺体を栄養源として生長することが出来ず、未だマツタケの人工栽培は成功していない。

菌類が子実体を形成するためには、栄養生長から繁殖生長への切り替えが必要であり、その結果、ダイナミックな形態変化を生じる。従って、初期の形態変化である菌糸体の肥厚、気中菌糸の形成は、子実体形成に至るために必要不可欠である。その形態変化に亜鉛イオンが重要な役割を演じていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)： *Tricholoma matsutake* is a basidiomycete with edible fruit bodies known as matsutake in Japanese. Matsutake is one of the highest grades of edible mushrooms in Japan. Colony morphology of *T. matsutake* is known to be influenced by the compositions of media used, while substances inducing the phenomena have yet to be found. We have found  $Zn^{2+}$  regulates colony morphology of *T. matsutake*. Colony thickening and aerial hyphae formation have been observed at more than  $1 \mu M$  of  $Zn^{2+}$ . No such morphological changes have been confirmed even when other nutritional ingredients provided sufficiently. These findings imply  $Zn^{2+}$  is a key factor initiating colony morphogenesis of *T. matsutake*.

研究分野：きのこ学

キーワード：マツタケ 菌根 人工栽培 亜鉛イオン 菌子体 気中菌糸 子実体

### 1. 研究開始当初の背景

現在、日常的に目にするキノコのほとんどは、菌床を用いて人工的に栽培されたものである。日本における最高級の食用キノコである『マツタケ』は、未だその人工栽培法により生産することができない。したがってマツタケの年間生産量は、林地から採集される量に左右されるが、その生産量は1941年の12,221 tをピークに年々減少の一途をたどり、近年では年間100 t前後、少ない時には数十 tにまで落ち込んでいる。

### 2. 研究の目的

本研究では、『マツタケの栄養菌糸体コロニーに形態変化を誘導する物質』探索の観点から、実験室レベルでマツタケ子実体形成を目指すものである。

### 3. 研究の方法

#### 3-1. コロニー形態変化誘導物質の探索

① Fe 源 これまで、我々は、 $Zn^{2+}$ がマツタケ菌糸体コロニーの肥厚および気中菌糸形成のイニシエーターであることを明らかにした。また、 $Zn^{2+}$ によるそれらの形態変化の効果を相乗的に高める物質としてビタミン類を見出した。さらに、相乗効果を有する物質の探索を試み、マツタケが林地において生育している土壤に多量に含まれている Fe に着目した。Fe 源としては $Fe^{2+}$  ( $FeCl_2$ )および $Fe^{3+}$  ( $FeCl_3$ )を用い、それらの濃度を100, 300, 500, 1000  $\mu M$  に調製した合成平板培地上でのマツタケ菌糸体コロニー形態の観察、コロニー直径の計測、ならびに乾燥重量の測定を行った。

② N 源 C 源に次いで菌が必要とする主な栄養素である N 源に関しても、形態変化への影響を調べた。N 源は無機態の酒石酸アンモニウム (AmT) と有機態のアミノ酸を用いた。アミノ酸に関しては、アルギニンとセリン、アルギニンのみ、および次の A1~A4 の組み合わせを調べた。A1: アルギニン, グルタミン, セリン, A2: アルギニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, グルタミン, セリン, A3: グリシン, アラニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, グルタミン, セリン, バリン, A4: グリシン, アラニン, アスパラギン酸, セリン, バリン。光学異性体があるアミノ酸はすべて L 体を用いた。以上の N 源を用いて、コロニー形態観察、コロニー直径および乾燥重量を測定した。

3-2.  $Zn^{2+}$ によるコロニー形態変化と網羅的代謝物分析  $Zn^{2+}$ の添加有無により明瞭に異なる形態を有する菌糸体を液体窒素で凍結磨砕後、すぐに凍結乾燥に供した。その菌体粉末から $-29^{\circ}C$ の冷メタノールで代謝物を抽出し、BSTFA を用いた誘導体化後、ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC/MS) を用いて網羅的に分析した。

### 4. 研究成果

#### 4-1. コロニー形態変化誘導物質の探索

① Fe 源 図 1、2 にそれぞれ、 $Fe^{2+}$ および $Fe^{3+}$ の各濃度におけるコロニー形態の写真を示

す。 $Fe^{2+}$ はいずれの濃度においても肥厚や気中菌糸形成を誘導しない。一方、 $Fe^{3+}$ は300  $\mu M$ 以上の濃度で、濃度依存的にそれらの形態変化を誘導した。コロニー直径および乾燥重量の結果を図 3 に示す。形態変化に対する影響は顕著であった  $Fe^{2+}$ および  $Fe^{3+}$ の両者およびいずれの濃度においても統計的有意差がほとんど認められなかった。これは Fe 源が生長以外に、形態変化に対して重要な影響を持っていることを示す。

② N 源 各 N 源における直径および乾燥重量の結果を図 4 に示す。アルギニン単独では良好な生長が得られなかったが、数種類のアミノ酸を組み合わせることで良好な生長を示した。形態変化に関しては、各 N 源によって変化はあるが、Fe 源のような明確な違いは認められなかった。

4-2.  $Zn^{2+}$ によるコロニー形態変化と網羅的代謝物分析  $Zn^{2+}$ 無添加で培養したコロニーにおいて、顕著に高いレベルでオルニチンおよびトレハロースが蓄積していた。オルニチンは尿素回路に属するアミノ酸で、その回路からグルタミンやプロリンを合成する経路を橋渡しする酵素、オルニチンアミノトランスフェラーゼと子実体形成との関連が、Matthijs らにより報告された (2007)。またトレハロースは菌類が生産する貯蔵糖の一種であるが、この生合成が  $Zn^{2+}$ によって影響を受ける点は興味深い。

#### 【引用文献】

・Matthijs J. M. Wagemaker, Daniel C. Eastwood, Jelle Welagen, Chris Van Der Drift, Mike S. M. Jetten, Kerry Burton, Leo J. L. D. Van Griensven, Huub J. M. Op Den Camp. Mycological Research III (2007) 909-918

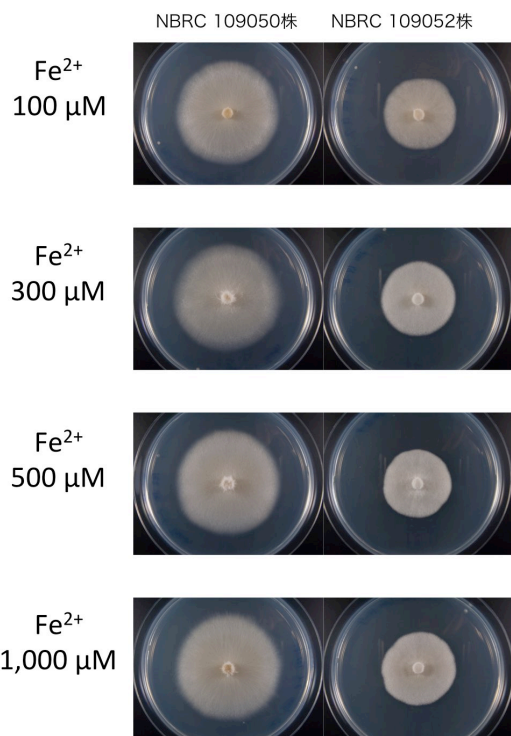


図1 Fe<sup>2+</sup>濃度とコロニー形態

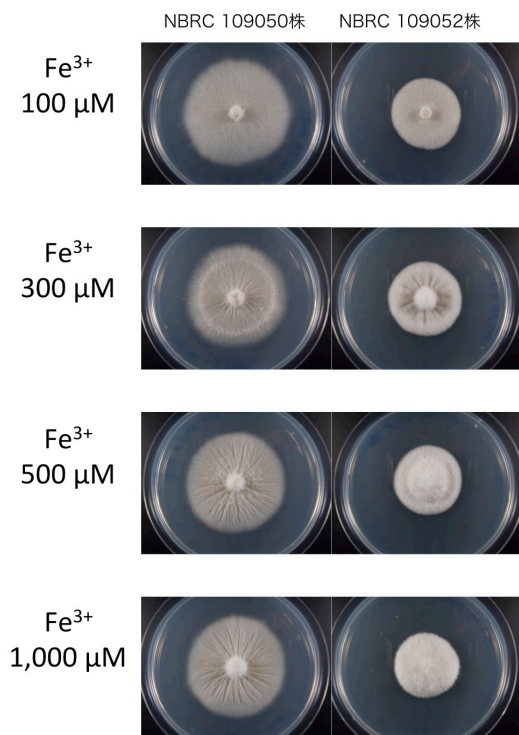


図2 Fe<sup>3+</sup>濃度とコロニー形態

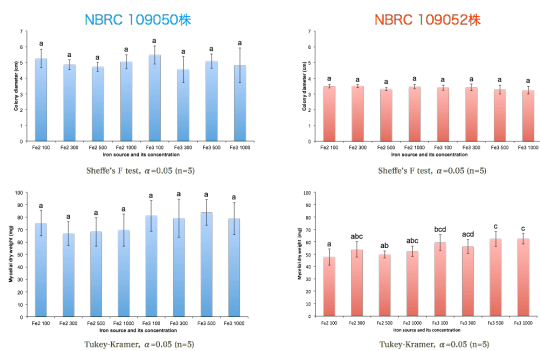


図3 Fe源濃度とコロニー直径および乾燥重量(平均値±SD)

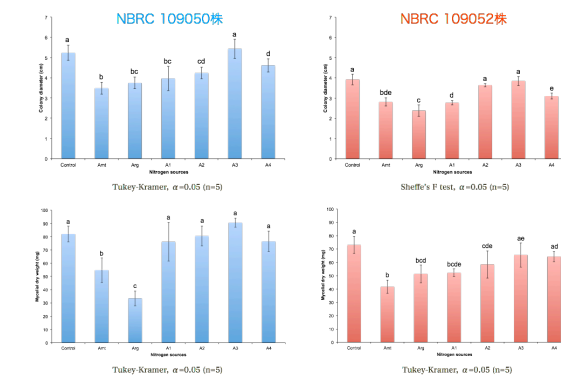


図4 N源とコロニー直径および乾燥重量(平均値±SD)

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 6件)

- ① 田崎徳也, 森智夫, 近藤隆一郎. 新規培養法「菌体懸濁ゲル培養」によるマツタケ球状菌糸塊の形成. 日本きのこ学会第15回大会(長野, 伊那). 2011年9月1日-2日
- ② 田崎徳也, 森智夫, 近藤隆一郎. マツタケ菌糸体の形態変化を誘導する培地成分. 日本菌学会第55回大会(札幌). 2011年9月8日-11日
- ③ 田崎徳也, 近藤隆一郎. Znの有無により生じたマツタケ菌糸体二形態間の代謝物プロファイルの違い. 日本菌学会第56回大会(岐阜). 2012年5月25日-27日
- ④ 田崎徳也, 近藤隆一郎. N源およびFe源がマツタケ菌糸体生長および形態に与える影響. 日本菌学会第57回大会(東京). 2013年6月7日-9日
- ⑤ 田崎徳也, 近藤隆一郎. Zn<sup>2+</sup>がマツタケ菌叢形態および代謝物プロファイルに与える影響. 日本菌学会第58回大会(北陸). 2014年6月13日-15日
- ⑥ Tokuya Tasaki, Ryuichiro Kondo, Kuniyoshi Shimizu. Influence of Zn<sup>2+</sup> on the Metabolic Profile of *Tricholoma matsutake* Mycelia. Asian Conference on

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

近藤 隆一郎 (KONDO, Ryuichiro)  
九州大学・農学研究院・特任教授  
研究者番号：80091370

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：