



Title	北海道産キノコ栽培技術の確立
Author(s)	富樫, 巖
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第5016号
Issue Date	1996-06-28
DOI	https://doi.org/10.11501/3113529
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/51385
Type	doctoral thesis
File Information	000000298720.pdf



北海道産キノコ栽培技術の確立

富 樫 巖

北海道産キノコ栽培技術の確立

緒 言	1
第 I 章 栽培技術	4
I. 1 はじめに	4
I. 2 ナラタケ属の菌床栽培技術	6
I. 2. 1 菌床栽培に適するナラタケ属の菌株選抜	6
I. 2. 2 子実体原基形成方法の検討	15
I. 2. 3 HFP-Am 82-10と同82-14の生物学的種の同定	18
I. 2. 4 ナラタケ属の根状菌糸束形成に対するニンジン熱水抽出液の効果	19
I. 2. 5 ツバナラタケの根状菌糸束形成に対する β -カロチンの効果	29
I. 2. 6 ニンジンの根状菌糸束形成性能	30
I. 2. 7 ニンジン熱水抽出液がツバナラタケの子実体生産に及ぼす影響	36
I. 2. 8 広葉樹オガコを用いたツバナラタケの栽培	39
I. 2. 9 針葉樹オガコを用いたツバナラタケの栽培	45
I. 2. 10 ツバナラタケの菌床栽培における培地添加物の検討	49
I. 2. 11 培養瓶のスケールアップの試み	57
I. 2. 12 培地水分と子実体収量の関係	67
I. 2. 13 ツバナラタケの瓶栽培における種菌接種方法の検討	70
I. 2. 14 ツバナラタケの廃培地の有効利用	79
I. 3 シイタケの菌床栽培技術	91
I. 3. 1 菌床シイタケ発生施設の真菌汚染状況	91
I. 3. 2 菌床シイタケ発生施設の <i>Trichoderma</i> spp.	101
I. 3. 3 <i>Trichoderma</i> spp. のベノミル剤耐性	108
I. 3. 4 シイタケのベノミル剤耐性	116
I. 3. 5 シイタケコロニー上の <i>Trichoderma</i> spp. の菌糸成長	117
I. 3. 6 食塩または食塩水を用いた <i>Trichoderma</i> spp. 防除の試み	126

I. 3. 7	培地添加物使用量とカビ汚染の関係	138
I. 3. 8	菌床シイタケ栽培における木炭粉の利用	143
I. 4	その他のキノコ菌床栽培技術	149
I. 4. 1	タモギタケ瓶栽培用新品種の開発	149
I. 4. 2	コーヒークスをを用いた野生型エノキタケ「えぞ雪の下」の栽培	165
I. 5	まとめ	175
第II章	培地基材の阻害成分	180
II. 1	はじめに	180
II. 2	阻害成分の検索	181
II. 2. 1	トドマツ材の抽出成分の阻害性	181
II. 2. 2	トドマツ材の精油成分の阻害性	186
II. 2. 3	精油およびヘキサン可溶部に含まれている化合物の分析	187
II. 2. 4	化合物Aの阻害性	192
II. 3	阻害成分の構造解析	195
II. 4	阻害成分の除去方法の検討	205
II. 5	まとめ	207
第III章	担子菌の生物的功能の利用	211
III. 1	はじめに	211
III. 2	担子菌を用いた稲わらの飼料化	212
III. 3	まとめ	225
結 言		229
謝 辞		233
文 献		234

緒 言

国内における農山村の振興をはかるために、食用キノコの栽培が農林複合経営の基幹作目として積極的に取り入れられてから35年が経過しようとしている。この間、シイタケ原木栽培を中心とした種菌の不活着や病害虫の大発生などの多くの困難な問題を乗り越えながらキノコ産業は発展を遂げてきた¹⁵⁾。1991年に、食用キノコの年間市場流通額は2,500億円を越えるに至った²⁸⁾。これは、リンゴやイモ類を越えて、ミカンと同程度の流通額である。食用キノコは、もはや山菜や嗜好品の域を出て、主要な常備野菜の地位を確保したといえよう¹³⁷⁾。

食用キノコの人工栽培は、コナラ (*Quercus serrata* Thunb.)、クヌギ (*Quercus acutissima* Carr.)、およびミズナラ (*Quercus mongolica* Fisch. var. *grosseserrata* Rehd. et Wils.) の原木を用いたシイタケ (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.) 栽培から始まった⁹⁷⁾。白造りのエノキタケ (*Flammulina velutipes* (Curt.:Fr.) Sing.) から盛んになったオガコを用いる菌床栽培 (本論文では、オガコ培地を耐熱性の瓶や袋に充填して行う栽培を意味する) は、ナメコ (*Pholiota nameko* (T.Ito) S.Ito et Imai in Imai)、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer)、マイタケ (*Grifola frondosa* (T.Ito) S.F.Gray)、さらにブナシメジ (*Hypsizygus marmoreus* (Peck) Begelow) 等へとその裾野を広げてきた。栽培施設は機械化が行われるとともに大型化し、キノコの栽培形態は工業的生産に変化してきている。そうした傾向は、北海道のキノコ産業においても同様である。また、近年においては原木資源の枯渇や後継者難などから、シイタケについても菌床栽培による生産がブームとなり、平成6年の全国における生シイタケ生産量の26%が菌床により生産された⁸⁸⁾。北海道における菌床シイタケの生産比率は全国平均より高く、43%にも上っている²⁸⁾。

また、生シイタケ、日本の輸出品であった乾シイタケまでもが輸入されるようになり、食用キノコの生産にも国際化が進んできている⁸⁸⁾。こうした激しい時代の流れの中で、国

内、および北海道のキノコ生産業界の繁栄をどのようにはかって行くかを真剣に考えなければならない。北海道のキノコ栽培の姿を数字でみると、生産量において全国の4%、生産額において3%を占める²⁸⁾に過ぎないが、生産量は年々増加しており、ブナシメジを除いた主要な栽培キノコの道内自給率は平成5年に90%を越えた²⁸⁾。今後は90%台の自給率の維持とともに、長野県の白造りのエノキタケやブナシメジ、大分県の乾シイタケのように、北海道特産のキノコをみいだすことが道内のキノコ業界の発展に不可欠である。

一方、キノコの菌床栽培が盛んになるに従って、培地基材であるオガコの安定的確保が難しくなっている。キノコ栽培に適する広葉樹オガコの需要が増しているが、道内における広葉樹資源量に限界がみえてきている。そうした状況を打破して、キノコ産業の更なる繁栄を確実なものとするには、積極的に針葉樹オガコをキノコ栽培へ活用していくことを考える必要がある。北海道の樹種別森林蓄積量をみると、トドマツ (*Abies sachalinensis* Mast.) が第1位で約22%、カラムツ (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carr.) が第2位で約13%であり、両方で全体の1/3強を占めている²⁹⁾。一般的に、広葉樹の代わりに針葉樹オガコを用いてキノコ栽培を行うと、菌糸成長の遅れや子実体収量の低下が生じる。栽培するキノコの種類によっては、針葉樹オガコを用いた栽培培地に適切な量の消石灰を添加したり^{30) 98)}、オガコを数カ月間散水しながら堆積してアク抜きして用いる¹²⁹⁾などの経験的前処理技術を活用して、針葉樹オガコを用いることで生じる問題を克服している。しかし、道内のキノコ栽培者により一層、針葉樹オガコの積極的利用を実践して貰うには、オガコに含まれている菌糸成長阻害・子実体形成阻害物質の同定、およびそれらを合理的に除去または不活性化する技術を開発することが望まれよう。

人工栽培されている食用キノコは、リグニンを代謝する能力をもっている白色腐朽菌である⁹⁶⁾。そこで、稲わらや麦稈などの農業副産物である未利用リグノセルロースのバイオマス変換に子実体生産のため蓄積されたキノコの栽培技術を活用する²⁷⁾ことも、北海道におけるキノコ産業の発展に貢献すると考えられる。稲や麦は平地で栽培されることから、それらのわらの集荷は比較的容易であり²⁷⁾、それらを用いて食用キノコを培養しリグニン

を代謝させることで、牛や羊などの反すう動物に対して消化性の良い粗飼料を供給することが理論的に可能である。北海道は畜産業が盛んであり、そうした技術が実現すれば、キノコ産業は農業と畜産業を有機的につなぐ架け橋にも活用されることになり、より多角的発展が開けることになる³⁵⁻³⁷⁾。

本論文は、以上に記述したような状況を踏まえ、今後の北海道におけるキノコ産業の発展に係わる研究をとりまとめたもので以下のような構成になっている。すなわち、第I章では道特産キノコとして期待されるナラタケ属 (*Armillaria mellea* complex)、タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* (Paulet) Polland var. *citrinopileatus* (Sing.) Ohira)、および野生型エノキタケの栽培技術を論じるとともに、北海道のキノコ生産額の約50%を占め²⁸⁾、かつ道内で大きなブームとなっているシイタケの菌床栽培について、その子実体生産の安定化をはかるために、シイタケ害菌 *Trichoderma* spp.を中心とした菌床のカビ汚染対策について論じた。第II章ではトドマツ材に含まれ、食用キノコの菌糸成長を阻害する主要物質の単離と構造解析、およびその除去方法の予備的検討について、第III章ではタモギタケを用いた稲わらの飼料化の可能性について論じた。

第 I 章 栽培技術

I. 1 はじめに

平成6年における、道内の人工栽培キノコの生産量は11,114トンで、全国生産量296,398トンの4%を占めている。その生産額は約81億円で、道内の主要特産林産物生産額の92%に達し²⁸⁾、道内におけるキノコ産業は地域振興に大きく貢献する一次産業としての地位を築いている。さらに、食生活の多用化や健康志向の高まりなどから、キノコの需要は増加傾向にある。

道内で人工栽培されている主要な食用キノコは、シイタケ、エノキタケ、ナメコ、ヒラタケ、マイタケ、タモギタケおよびブナシメジの7品目であり、シイタケを除いていずれのキノコもほぼ100%オガコを用いた菌床栽培で生産されている。また、それらのキノコの道内自給率は高くなく、本州からの移入に依存してきた。しかし、生産者や行政などの努力により、ブナシメジを除いて平成5年にようやく90%を超え²⁸⁾、今後は自給率の維持とともに、本州への道特産キノコの移出がキノコ業界にとっての新たな目標になろうとしている。そうしたキノコとしては、既存のものでタモギタケ、新規のもので野生型エノキタケ（商品名：えぞ雪の下）とナラタケモドキ（*Armillaria tabescens* (Scop.:Fr.) Sing.）を除くナラタケ属（写真1 瓶栽培で発生したツバナラタケ⁴¹⁾（*Armillaria ostoyae* (Romagnesi) Herink）参照）が注目されている⁹⁹⁾。野生型エノキタケについては、すでに品種の開発と菌床栽培技術の確立がなされている^{50, 143)}。一方、ナラタケ属は人工栽培技術が確立していないものの、優秀なキノコとして全国的に知名度が高く、今後栽培技術が確立すれば消費者が受け入れ易い新作目として期待されている^{8, 73, 95, 131)}。

さらに道内のキノコ業界の発展をはかるには、現在栽培されているキノコの栽培技術の時間的およびコスト的な効率化と、子実体生産の安定化技術を確立することも不可欠である。注目すべきものとしてはシイタケ栽培形態の変化がある。シイタケは道内の栽培キノ



写真1 瓶栽培で発生したツバナラタケ

(*Armillaria ostoyae* (Romagnesi) Herink) の子実体

注： 林産試験場保存株 HFP-Am 82-10 (上)，HFP-Am 82-14 (下)，
800 ml瓶使用

コの中で第1位の生産量を誇り、かつその生産額は道内のキノコ全体の約50%以上を占める²⁸⁾。また、シイタケの生産方法としては原木栽培が一般的であった。しかし、原木栽培に用いるミズナラ資源の枯渇や後継者難から、ここ数年でオガコを用いる菌床栽培がブームとなり、平成6年の生シイタケ生産量3,754トンのうち43.3%にあたる1,625トンが菌床により生産された²⁸⁾。こうした菌床シイタケブームが道内のシイタケ自給率の向上に寄与しているものの、菌床から安定して子実体を生産することが難しく生産者の経営状況は不安定である^{26, 48)}。シイタケの菌床栽培が原木栽培と大きく異なる点は、後者において原木樹皮が栽培環境における温湿度の変化や *Trichoderma* spp.などの害菌の攻撃からシイタケを守っているのに対して、前者にはそうしたバリエードが無いためにシイタケが栽培環境の変化や害菌の侵入を受け易く、その結果として子実体の発生不良が生じることである。したがって、シイタケの菌床栽培の安定的発展をはかるには早急な菌床シイタケの病理学の確立が求められる。

本章では、道特産キノコの本州への移出を目的として、ナラタケ属の瓶栽培を中心とした菌床栽培の確立、およびタモギタケと野生型エノキタケの新たな栽培技術の開発について検討するとともに、シイタケ菌床栽培の安定化技術を確立することを目的として、道内の菌床シイタケ発生施設の真菌汚染状況の調査・分析、およびそうした施設で分離した *Trichoderma* spp.の予備的な分類や防除方法についての検討を行った。

I. 2 ナラタケ属の菌床栽培技術

I. 2. 1 菌床栽培に適するナラタケ属の菌株選抜^{108, 113, 115)}

ナラタケ属は樹木に寄生する病原菌であるが木材腐朽能をも有する⁹⁾ため、原木やオガコを用いた人工栽培を行うことが理論的に可能である。そこで、林産試験場が保有するナラタケ属の保存株23菌株を供試して、菌床栽培に適す菌株の選抜試験を行った。

実験方法

供試菌株と種菌：表1（ナラタケ属の供試菌株）に示すナラタケ属の林産試験場保存株23菌株を供試した。いずれも道内で採取したナラタケ属菌の子実体から組織分離し，GMYA（以下に培地組成を示す）培地を高圧殺菌後に2%濃度になるようにエタノールを添加した高層培地を用いて継代培養保存していたものである。HFF-At 82-16は子実体の柄にツバを持たないナラタケモドキであるが，その他の菌株はいずれも子実体の柄にツバを有するナラタケ属である。

GMYA培地

glucose：	10 g
malt extract：	10 g
yeast extract：	3 g
agar：	15~20 g
tap water：	1000 ml
pH：	6.0

（GMYA培地を高圧殺菌後，20 mlの99.5%（v/v）ethanolを添加した）

種菌は次のようにして調製した。すなわち，十分に吸水させたソバ種子を200 ml培養瓶に詰めて高圧殺菌し，それに上記のGMYA高層培地から寒天ごと切りだした菌体を接種して25℃±1℃，暗黒下で最大で2か月間培養した。

栽培培地の調製：透明樹脂製スクリュウキャップ付き200 ml容ガラス培養瓶（以下，200 ml培養瓶と略す）1本当たり，ダケカンバ（*Betula ermanii* Cham.）のオガコ35gと

表1 ナラタケ属の供試菌株

No.	分離株 No.	採取地	採取年月日
1	HFP-Am 72-1	上川郡和寒町	'72. 9.14
2	HFP-Am 72-5	上川郡上川町	'72. 9.26
3	HFP-Am 79-1	上川郡和寒町	'79. 9.29
4	HFP-Am 79-2	上川郡和寒町	'79. 9.29
5	HFP-Am 82-4	河東郡上士幌町	'81.11.27
6	HFP-Am 82-5	上川郡新得町	'81.11. 9
7	HFP-Am 82-7	不 明	'82. 9.20
8	HFP-Am 82-9	上川郡当麻町	'82. 9.30
9	HFP-Am 82-10	河東郡鹿追町	'82.10. 3
10	HFP-Am 82-11	滝 川 市	'82.10.15
11	HFP-Am 82-12	旭 川 市	'82.10. 3
12	HFP-Am 82-13	上川郡当麻町	'82. 9.27
13	HFP-Am 82-14	旭 川 市	'82.10. 4
14	HFP-Am 82-15	不 明	'82. 9.24
15	HFP-At 82-16	不 明	'82. 9.24
16	HFP-Am 84-3	三 笠 市	'84. 6. 5
17	HFP-Am 84-7	旭 川 市	'84. 9. 7
18	HFP-Am 85-5	旭 川 市	'85.10. 3
19	HFP-Am 85-6	旭 川 市	'85.10. 3
20	HFP-Am 85-8	旭 川 市	'85.10.11
21	HFP-Am 85-9	旭 川 市	'85.10.16
22	HFP-Am 85-35	旭 川 市	'85.10.16
23	HFP-Am 88-16	不 明	'88.10. 3

符号：HFP-Am：ナラタケ属 (*Armillaria mellea* complex) ,

HFP-At：ナラタケモドキ (*Armillaria tabescens* (Scop.:Fr.) Sing.)

米ぬか16 g（水分はいずれも湿重量基準で9～11%）を混合し、104～120 mlの水道水を加えて水分を69～73%とした培地を作成した。培養瓶に充填した培地中央に直径15 mmの接種穴を開けた後、高圧殺菌（121℃，40～60分，以下同様）した。なお，1菌株当たりの培養瓶の供試数は5本とした。

種菌の接種方法： 図1にナラタケ属瓶栽培での種菌接種部位と接種方法を示した。図のように培地の肩2カ所と接種穴とに，高圧殺菌したニンジン（*Daucus carota* L. var. *sativa* DC.，ニンジンを用いる効果については後に記載する）磨碎物を培養瓶1本当たり約5 g載せ，その上に種菌を培養瓶1本当たり約0.6 g接種した。

栽培条件： 培養は温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ，相対湿度 $70 \pm 5\%$ の暗黒下（以下に述べるナラタケ属の栽培試験において，特に断らない限り同様の培養環境とした）で40～50日間行った。そして，接種した種菌から根状菌糸束が形成されるまでに要した平均日数（以下，根状菌糸束形成日数と略す），培地全体に菌体が蔓延するのに要した平均日数（以下，菌回り日数と略す）を測定した。培養後，培養瓶のキャップを除去し，水道水で2～3時間の注水を行い，温度 $16 \pm 1^\circ\text{C}$ ，相対湿度 $85 \pm 5\%$ ，照度350 lx（照射時間12 h/day）の環境下で子実体の原基形成と生育を行った（以下に述べるナラタケ属の栽培試験において，特に断らない限り同様の子実体形成環境とした）。子実体原基が形成されるまで菌床表面の乾燥を防ぐため，水道水で湿らせたウレタンシートで培養瓶口を覆った。子実体形成を促してから原基形成までに要した日数（以下，原基形成日数と略す）と子実体の採取までに要した日数（以下，採取日数と略す）を測定した。なお，子実体原基の発生を促す処理を施してから37日を経過しても原基形成が認められない菌株については菌床を廃棄した。

子実体の採取： 子実体の採取は培養瓶ごとに行った。採取時期は培養瓶当たりに発生した半数以上の子実体の傘の膜が切れた時点とし，その生重量を測定して子実体収量を求め

た（以下に示すナラタケ属の栽培試験においても同様）。また，必要に応じて子実体数を測定した。

結果と考察

表2にナラタケ属の選抜試験の結果を示した。培養中にHFP-Am 79-2，同82-4，同82-10，同85-6，同85-35の供試培地各1本にカビ汚染が生じたためそれらの培地を廃棄した。カビとしては *Penicillium* spp.が多く観察された。菌回り日数は，HFP-Am 72-1で最も早くて19.0日，HFP-Am 85-35が最も遅くて34.0日を要した。

子実体原基の形成が認められたものは，供試した23菌株中，HFP-Am 82-10，同82-14，同85-5，同85-9の4菌株であった。図2に子実体形成処理後のタイムスケジュールと子実体収量を示したが，子実体の発生処理開始から原基形成までの期間は，HFP-Am 85-9が25日，その他の3菌株は約20日であった。HFP-Am 85-9は子実体の成長が途中で停止し，その他の3菌株からは原基形成後9～13日で子実体が採取できた。

子実体収量としては，HFP-Am 82-14と同85-5について子実体の発生処理中に *Trichoderma* spp.汚染を受けた菌床各2本を廃棄しており，残り3本の平均値が13.9 gと7.9 gであった。HFP-Am 82-10については子実体の発生処理を施した4本の全菌床から子実体を得られ，その平均値は17.2 gであった。

本試験に供試した菌株は，全て天然で発生したナラタケ属の子実体から組織分離されたものである。したがって，いずれも子実体形成能を有していると考えられるが，3菌株のみから子実体を得られたにすぎなかった。こうした結果の原因としては，人工的な栽培環境下でナラタケ属の子実体形成が難しい²⁹⁾ことや，供試菌株に本栽培試験の環境条件が適さなかつたこと，さらには菌株によっては培養期間が十分でなかつたことなどが考えられる。

図3にナラタケ属の菌株選抜試験における供試培地のカビ汚染状況を示した。培養中にカビが発生した培地が4.3%あり，子実体の発生処理を施した菌床についても処理後20日を経過した時点で，*Trichoderma* spp.や *Penicillium* spp.などのカビが多く発生した。し

表2 ナラタケ属の選抜試験の結果

No.	分離株 No.	菌回り日数 (日)	子実体原基 形成の有無	子実体収量 (g/瓶)
1	HFP-Am 72-1	19.0	無	
2	HFP-Am 72-5	23.6	無	
3	HFP-Am 79-1	32.2	無	
4	HFP-Am 79-2	31.0	無	
5	HFP-Am 82-4	24.0	無	
6	HFP-Am 82-5	21.6	無	
7	HFP-Am 82-7	26.8	無	
8	HFP-Am 82-9	26.6	無	
9	HFP-Am 82-10	23.0	有	17.2
10	HFP-Am 82-11	19.4	無	
11	HFP-Am 82-12	23.0	無	
12	HFP-Am 82-13	21.8	無	
13	HFP-Am 82-14	21.0	有	13.9
14	HFP-Am 82-15	25.6	無	
15	HFP-Am 82-16	26.0	無	
16	HFP-Am 84-3	26.6	無	
17	HFP-Am 84-7	22.4	無	
18	HFP-Am 85-5	27.0	有	7.9
19	HFP-Am 85-6	22.5	無	
20	HFP-Am 85-8	31.2	無	
21	HFP-Am 85-9	19.8	有	0
22	HFP-Am 85-35	34.0	無	
23	HFP-Am 88-16	22.6	無	

注：培養瓶（200 ml）の供試本数は5本

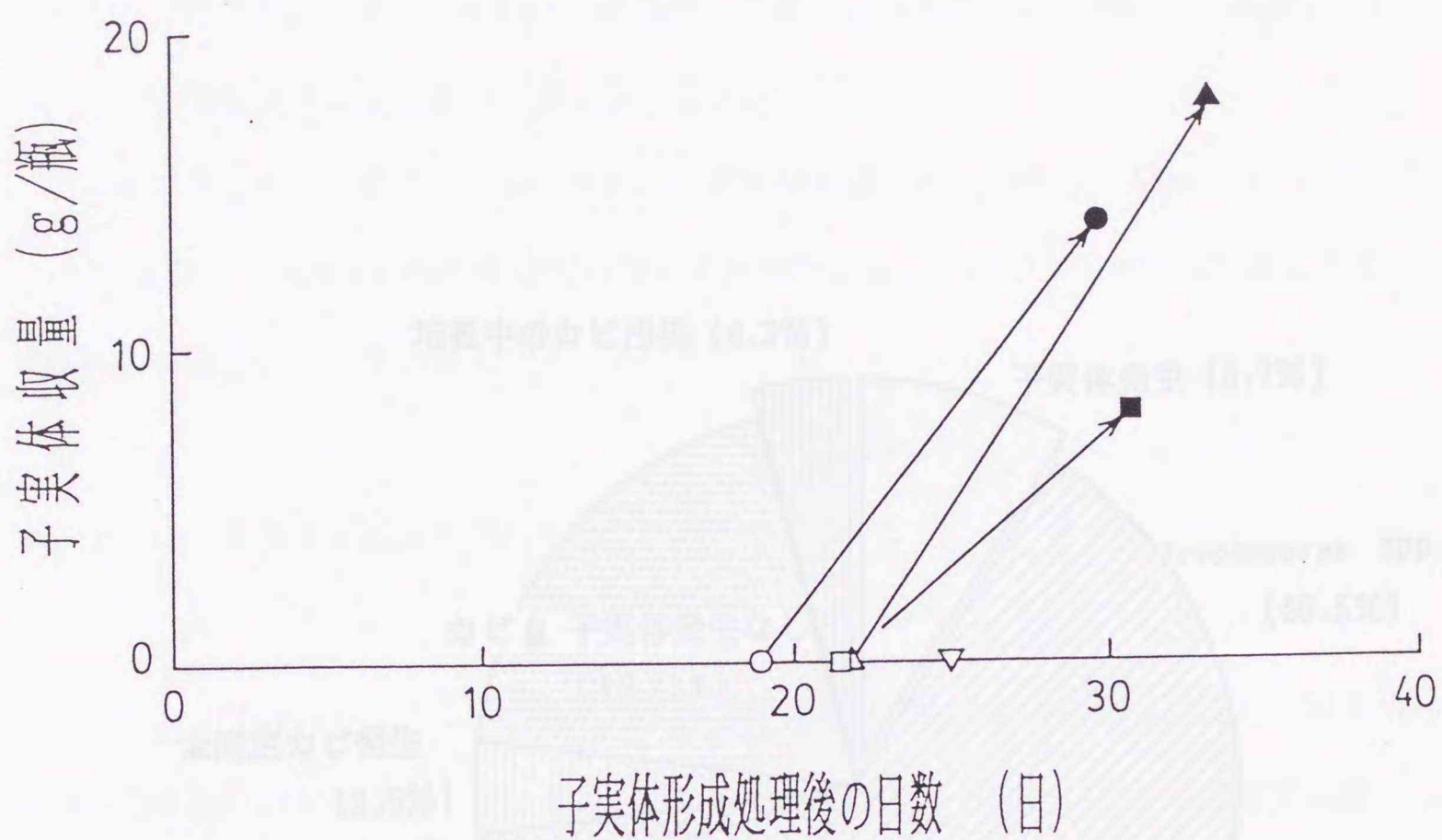


図2 子実体形成処理後のタイムスケジュールと子実体収量

符号：○：子実体原基形成(HFP-Am 82-14)，

□：子実体原基形成(HFP-Am 85-5)，

△：子実体原基形成(HFP-Am 82-10)，

▽：子実体原基形成(HFP-Am 85-9)，

●：子実体採取(HFP-Am 82-14)，

■：子実体採取(HFP-Am 85-5)，

▲：子実体採取(HFP-Am 82-10)

注：200 ml培養瓶使用

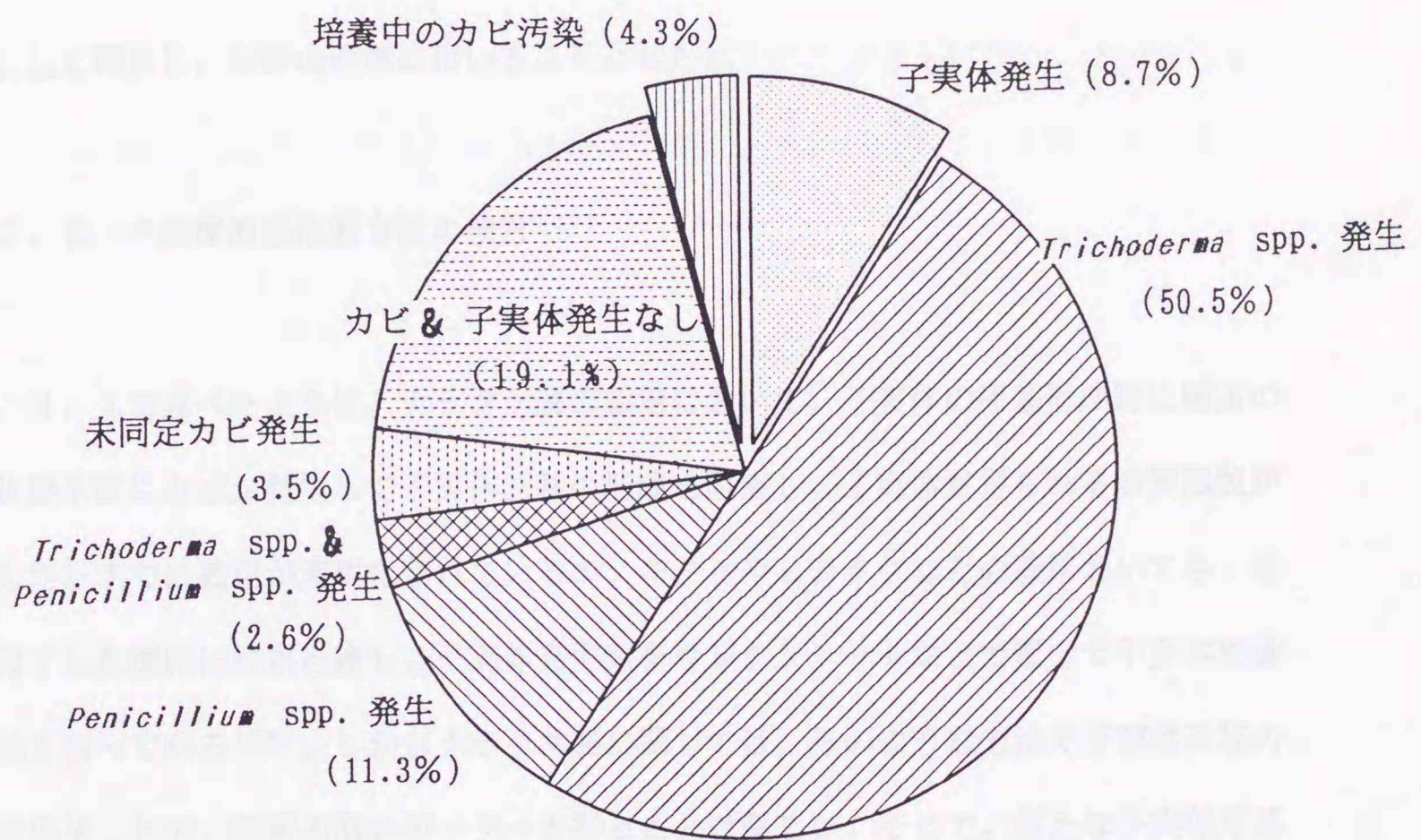


図3 ナラタケ属の菌株選抜試験における供試培地のカビ汚染状況

たがって、カビによって子実体原基の形成が阻害された可能性も考えられる。しかし、特殊な栽培環境を要する菌株や長期の栽培期間を必要とする菌株、さらには子実体の発生処理中にカビ汚染を受け易く子実体原基の形成が阻害される菌株は、効率的な子実体生産を目的とする菌床栽培に適さないとみなされよう。

子実体が得られた3株を供試して同様の栽培試験を繰り返した結果、HFP-Am 82-10と同82-14の2菌株に子実体発生の再現性が認められた。よって、この2株を菌床栽培に適する菌株として選抜し、以後の研究に用いることとした。

I. 2. 2 子実体原基形成方法の検討¹⁰⁹⁾

I. 2. 1で述べたように、ナラタケ属の栽培において、子実体の原基形成時に菌床の子実体発生面にカビが発生して子実体原基の形成を阻害し、子実体を得られる培養瓶数が減少した。すでに栽培が実用化されているエノキタケやヒラタケなどの栽培においても、培養が終了した菌床に注水を施し、子実体発生面をウレタンシートなどで覆って子実体原基の形成を行っている¹³⁶⁾。しかしナラタケ属に関しては、そのような方法で子実体原基の形成を促すことで、精度の高いデータを得ることは難しい。そこで、新たな子実体原基の形成方法を検討した。

実験方法

供試菌株と種菌： 以下に述べる栽培培地と同様の組成の培地に、GMYA高層培地から寒天ごと切りだした菌体を接種して、25日間培養して作成したHFP-Am 82-14のオガコ種菌を用いた。

栽培培地の調製： 200 ml培養瓶1本当たり、ダケカンバのオガコ35gと米ぬか16g（水分はいずれも湿重量基準で9～11%）を混合し、104 mlの水道水を加えて水分を69%に調整した培地を作成した。培養瓶に充填した培地中央に直径15 mmの接種穴を開けた後、高圧

殺菌した。なお、培養瓶の供試数は5本とした。

種菌の接種方法：図1（p.10）のように培地の肩2カ所と接種穴とに、培養瓶当たり約3 g接種した。ニンジン磨碎物は使用しなかった。

栽培条件：培養は25日間行い、菌回り日数を測定した。そして、注水することなく培養瓶にキャップをしたまま子実体原基の発生を促す環境中に培養瓶を移動し、子実体の原基形成と生育を行った。キャップは子実体原基が形成した後に除去して、原基形成日数と採取日数を測定した。

子実体の採取：I・2・1（p.6）と同様に行った。

結果と考察

主要な栽培キノコの栽培形態を総点検すると、タモギタケやマイタケなど培養温度（20～25℃）と子実体原基の形成温度が重なっている^{93, 100}ものは、培養途中に培養瓶または培養袋の中で子実体原基を形成する場合がみられる。そこで、そうした現象を応用して本試験で用いた子実体原基の形成方法を考案した。

表3に新しい子実体原基形成方法の栽培試験結果を示した。子実体の形成を促してから、約11日で子実体原基が形成され、約26日後に供試した全ての培養瓶から平均24.9 gの子実体を得られた。培養後にキャップを除去し、水道水で数時間の注水を行い、子実体原基が形成されるまで菌床表面の乾燥を防ぐため水道水で湿らせたウレタンシートで培養瓶口を覆ったI・2・1の方法と比較して、原基形成に要した時間は半分程度であった。しかし、子実体の形成を促してから子実体が採取できるまでの時間はほとんど差はみられなかった。

本試験で用いた方法では、子実体原基が形成するまで菌床の子実体発生面を露出しないことから、カビ汚染を生じ難かったものと考察された。したがって、ナラタケ属の栽培に

表3 新しい子実体原基形成方法の栽培試験結果

供試菌株	HFP-Am 82-14
根状菌糸束形成日数	8.2
菌回り日数	18.4
培養日数	25
原基形成日数	10.8
採取日数	26.4
栽培日数	51.4
子実体収量 (g/瓶)	24.9

注：栽培日数＝培養日数＋採取日数

培養瓶 (200 ml) の供試本数は5本

においては子実体原基の形成後に菌床の子実体発生面を露出する方法を用いることで、安定して子実体を得ることができる可能性が示された。

I. 2. 3 HFP-Am 82-10と同82-14の生物学的種の同定

瓶栽培で発生したHFP-Am 82-10と同82-14の子実体を写真1 (p.5) に示した。(財)日本きのこセンター菌蕈研究所の長沢栄史氏により、これら2菌株の子実体の乾燥標本を観察していただいた結果、傘の鱗片やツバの状態などの外観的特徴から、両菌株ともにKorhonenの生物学的種C^{61, 91)}、および長沢らのC集団⁷³⁾である *A. ostoyae* に類似することが判明した⁷⁴⁾。

この2菌株の子実体の特徴としては、やや暗褐色の傘に暗褐色で比較的永存性のささくれ状～とげ状の鱗片を有し、湿っている状態でも粘性を示さないこと、傘直径は10cmを越える大型を生じることがあり、つばは膜状で比較的厚く永存性で、暗褐色の鱗片で縁取られており、柄は上部に向かって細まるか円柱状である。

さらに、北海道立林業試験場の村田義一氏により、両菌株の子実体から採取した単孢子より得た一核菌糸と、*A. ostoyae* のテスターとを交配していただいた結果、いずれもテスターとの和合性が認められたことにより、HFP-Am 82-10と同82-14は *A. ostoyae* であることが明らかになった⁷⁰⁾。

北海道にはツバを有するナラタケ属として、*A. ostoyae* を含む6種の生物学的種の分布が報告^{10, 11, 41)}され、*A. ostoyae* はツバナラタケと命名⁴¹⁾されている。また、青森県においてはオニナラタケと呼ばれ²³⁾、ナラタケ属のなかでも美味なキノコと報告⁷⁶⁾されている。以上のように、HFP-Am 82-10と同82-14が *A. ostoyae* と判明したことで、本論文における以下の記述においては、両菌株をツバナラタケとし、両菌株のみを用いた試験研究等はツバナラタケに関するものであることを明示した。

I. 2. 4 ナラタケ属の根状菌糸束形成に対するニンジン熱水抽出液の効果^{106, 112,}

116, 119)

ナラタケ属の特徴は、菌糸の他に菌糸の集合体である根状菌糸束¹¹⁶⁾を形成することである。写真2に液体培地で成長するナラタケ属の根状菌糸束を示した。Rishbeth, J.⁸⁷⁾は、3%麦芽培地を用いてナラタケの菌糸と根状菌糸束の成長速度を測定し、25°Cにおいて菌糸0.75 mm/day, 根状菌糸束9.8 mm/dayで根状菌糸束の成長速度は菌糸の13倍も速いことを報告している。こうした特徴は菌床栽培においても同様に現れる。すなわち、オガコ培地を用いてナラタケ属を培養すると、根状菌糸束が優先的に培地中に伸長し菌糸が後を追って成長し培地の菌回りが進行していく。オガコ培地で成長するナラタケ属の根状菌糸束と菌糸を写真3に示した。しかし、オガコ培地に種菌を接種後、その種菌から根状菌糸束が形成されるまでに7~10日間もの誘導期間を要する。そのために根状菌糸束が形成される前に種菌が乾燥して弱り、種菌にカビが発生し以後の培養継続が不可能になる場合がある。

一方、ナラタケ属の根状菌糸束形成を促進する物質としては、エタノールやその他の低分子のアルコール¹³⁴⁾、有機酸、油脂、インドール-3-酢酸⁴⁰⁾、o-およびp-アミノ安息香酸¹⁸⁾、ビタミンA¹²⁾などが報告されている。さらに、*Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud⁸⁶⁾、*Macrophoma* sp.¹³²⁾の存在下においても同様の作用がみられる。しかし実際の栽培を考慮すると、農林産廃棄物などの安価な材料の中から根状菌糸束誘導性能を有するものを探し出すことが望ましい。文献調査を行ったところ、土中保存中のニンジンにナラタケ (*Armillaria mellea* (Vahl:Fr.) Kummer) が取り付き根状菌糸束が蔓延していたとの報告があった²⁴⁾ことから、ニンジンには根状菌糸束形成を促進する物質が含まれている可能性があると考え、その性能評価を試みた。

なお、1994年の北海道におけるニンジン作付け面積は6,160 haで、根菜類作付け面積の第一位であり、収穫量は178,900トンと報告³²⁾されているが、この他に大量の規格外ニンジンがあり、その有効利用が検討されている⁷⁸⁾。



写真2 液体培地中で成長するナラタケ属

(*Armillaria mellea* complex) の根状菌糸束

注： 林産試験場保存株 HFP-Am 84-7, 200 ml瓶使用



写真3 オガコ培地で成長するツバナラタケ
(*A. ostoyae*) の根状菌糸束

注： 林産試験場保存株 HFP-Am 82-14, 850 ml瓶使用

実験方法

供試菌株と種菌：表1 (p. 8) に示すナラタケ属の23菌株を供試し，I. 2. 1 (p. 6) と同様に調製したソバ種子種菌を用いた。

ニンジン熱水抽出液の調製：磨碎した生ニンジン200 gを水道水で2時間煮沸後，二重のガーゼで濾過し，その濾液を1000 mlにメスアップして調製した（固形分：0.014 g/ml）。なお，ニンジンは食品として市販されているものを購入して用いた。

ニンジン熱水抽出液の根状菌糸束形成性能の評価：コントロールのGMYA培地（ただし寒天濃度を1.5%とした，以下コントロール培地と略す），ニンジンの熱水抽出液を添加したGMYA培地（コントロール培地のtap waterの代わりにニンジンの熱水抽出液を使用，以下ニンジン培地と略す）およびエタノールを添加した培地（コントロール培地を高圧殺菌後，20 mlの99.5% (v/v) ethanolを添加，以下，エタノール培地と略す）の三種類の培地を用いた。これらの培地を高圧滅菌（121℃，20分間）後，直径9 cmのシャーレに約16 ml分注して平板培地を作成した。ついで，ナラタケ属の種菌をこの平板培地上に，1枚あたり5カ所，場所を変えて一接種場所にソバ種菌1個を接種した。1菌株当たりの平板培地の供試枚数は3～5枚とした。温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，暗黒下で14日間培養を行い，経時的に根状菌糸束の形成を目視により観察した。

pHの測定：寒天培地のpHは，pH電極を用いて測定した。

成長指数：14日間の培養を終了した平板は加熱溶解し，菌体を濾別，洗浄したのち，60℃で48時間乾燥して恒量化を行い，各培地について乾燥菌体重量（菌糸と根状菌糸束を含む）を測定した。以下の式により，ニンジン培地とエタノール培地における成長指数

長指数（以下G.I.と略す）を算出した。

$$\text{G.I.} = \frac{\text{（ニンジン培地または、エタノール培地における乾燥菌体重量）}}{\text{（コントロール培地における乾燥菌体重量）}}$$

結果と考察

ニンジン熱水抽出液の根状菌糸束形成性能の評価はコントロール培地における結果とニンジン培地における結果を比較することにより行った。さらに、根状菌糸束誘導物質であるエタノールの効果とも比較するために、エタノール培地も用いた。これらの培地の殺菌後のpHは、コントロール培地 6.0、ニンジン培地 5.3、エタノール培地 6.0であり、ニンジン培地が低い傾向がみられた。しかし、ナラタケの菌糸と菌糸束の成長最適pHは5～6と報告¹²⁷⁾されており、いずれの培地のpHもこの最適範囲内であったことから、培地pHの調整は行わなかった。

図4にはコントロール培地、ニンジン培地およびエタノール培地におけるツバナラタケ（HFP-Am 82-14）の根状菌糸束形成の経時変化を示した。エタノール培地における根状菌糸束形成が最も早く、培養開始3日後に始まり7日後に100%の形成率となった。ニンジン培地では、4日後に根状菌糸束形成が始まり9日後に形成率100%となった。一方、コントロール培地における菌糸束形成は遅く、培養開始7日後に始まった。エタノール培地とニンジン培地の根状菌糸束形成日数は、コントロール培地に対して、いずれも1%の危険率で有意差が認められた。エタノール培地とニンジン培地の根状菌糸束形成日数にも1%の危険率で有意差が認められた。コントロール培地、エタノール培地、およびニンジン培地におけるツバナラタケ（HFP-Am 82-14）の根状菌糸束の形成状況を写真4に示した。

図5には、供試菌23菌株についてのエタノール培地とニンジン培地におけるG.I.をプロットし、エタノール培地とニンジン培地の成長指数の関係をまとめた。エタノール培地のG.I.は1.01から3.12、ニンジン培地のG.I.は1.09から2.06の範囲にあり、いずれの菌株に

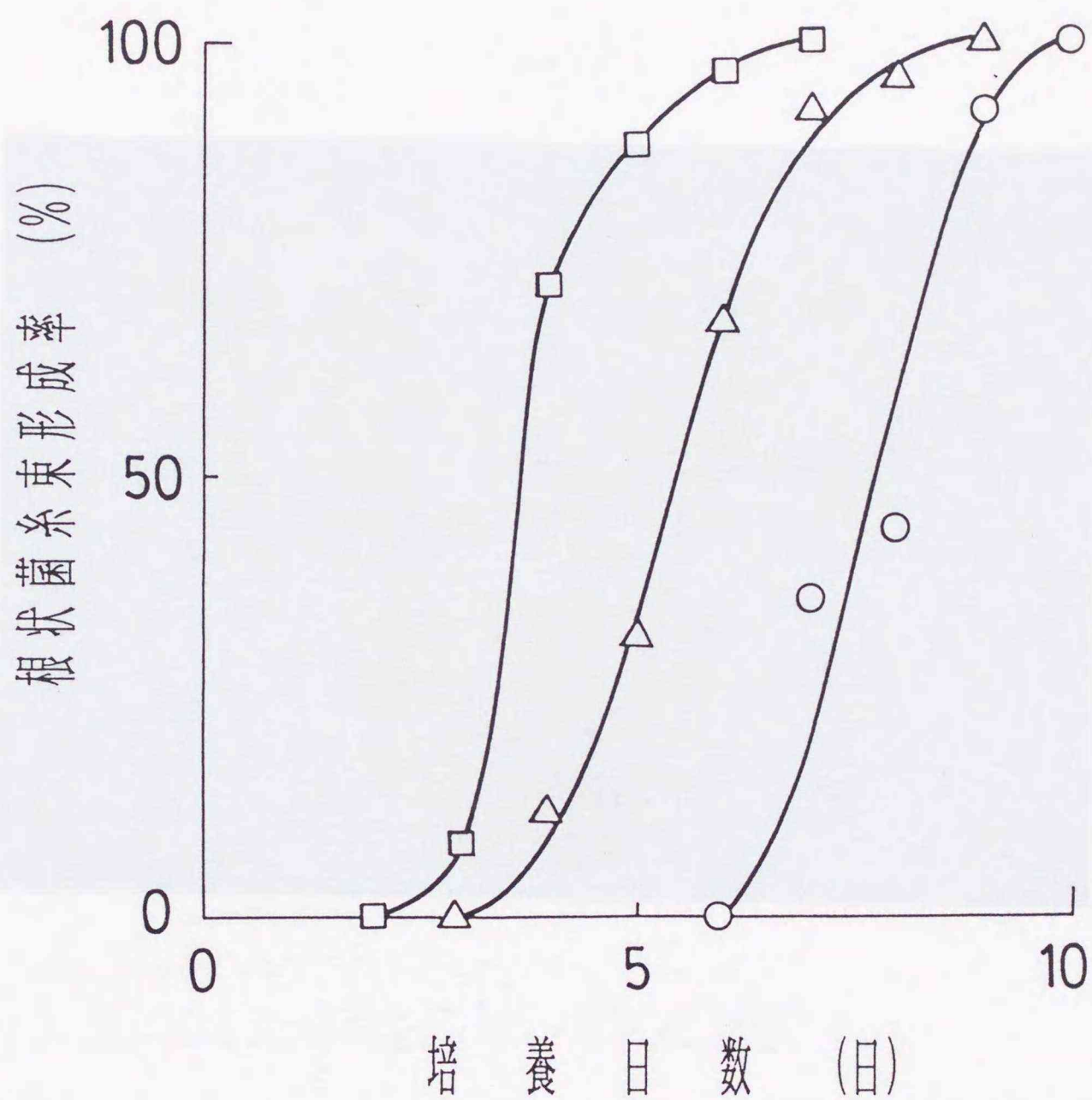


図4 ツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の根状菌糸束形成の経時変化

符号：○：コントロール培地，△：ニンジン培地，

□：エタノール培地

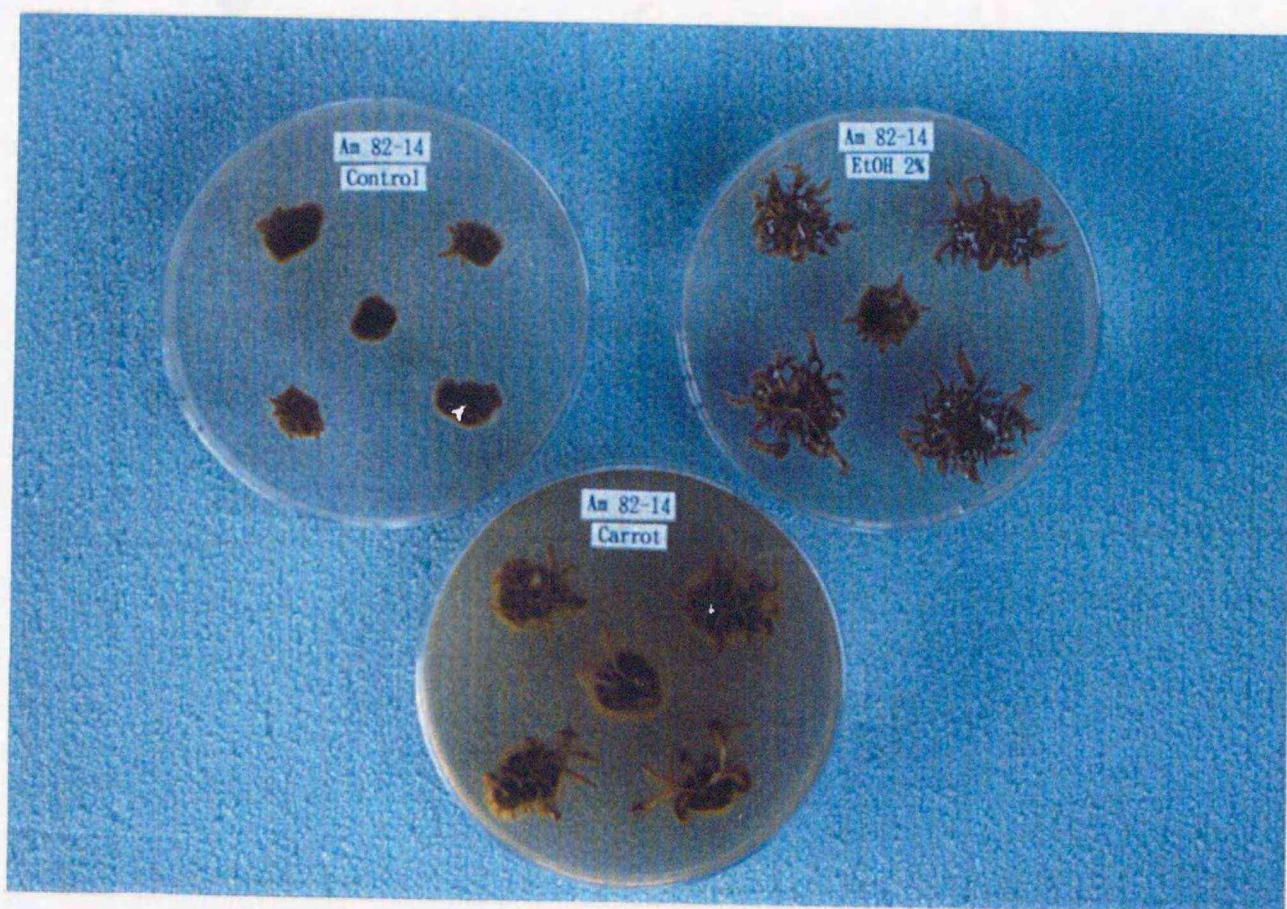


写真4 コントロール培地（左上），エタノール培地（右上），
およびニンジン培地（下）におけるツバナラタケ
（HFP-Am 82-14）の根状菌糸束の形成

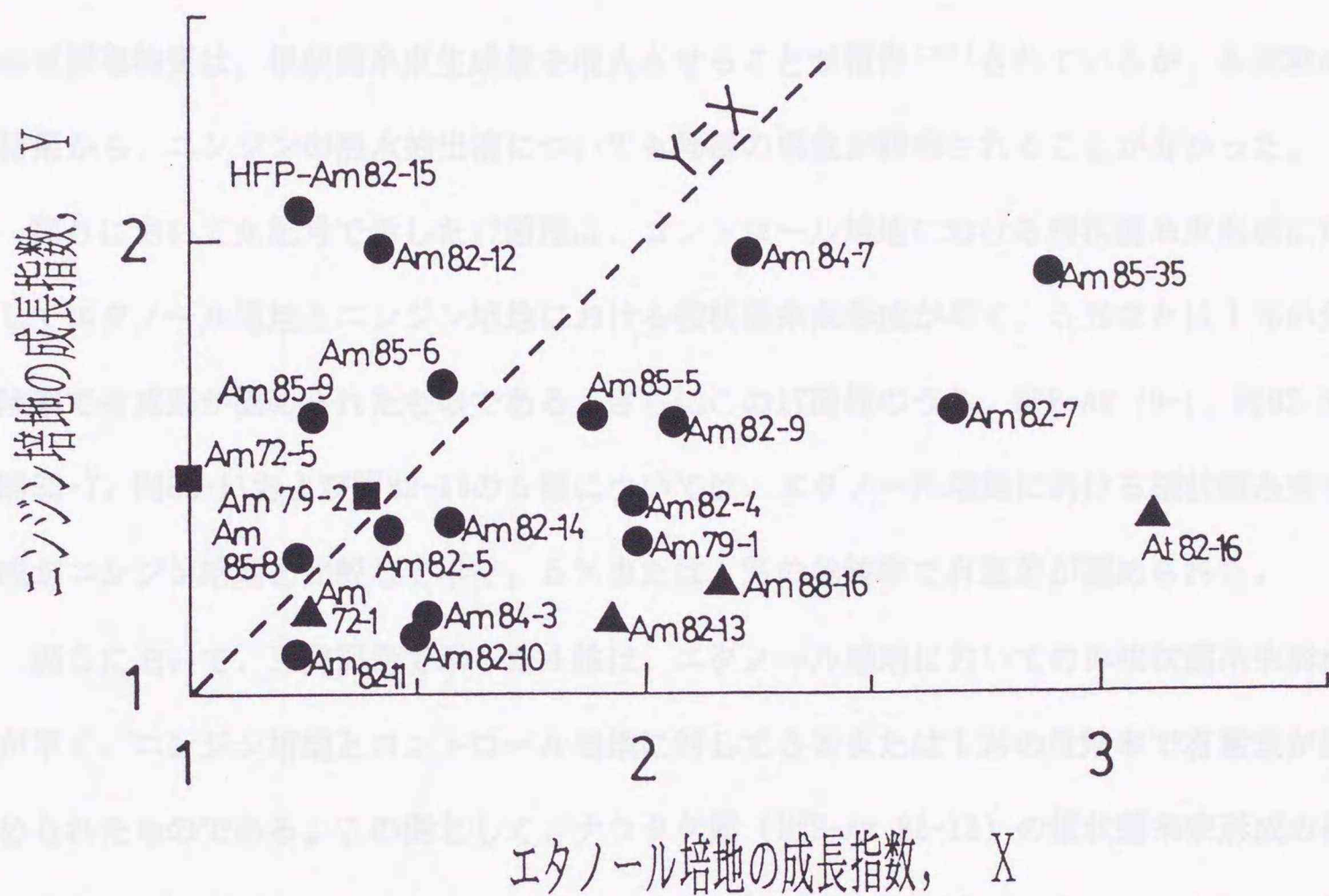


図5 エタノール培地とエンジン培地の成長指数

- 符号： ●：エンジン培地とエタノール培地での根状菌糸束の形成が
コントロール培地に対して1または5%の危険率で早い，
▲：エタノール培地のみでの根状菌糸束の形成がコントロー
ル培地に対して1または5%の危険率で早い，
■：根状菌糸束の形成がコントロール培地，エンジン培地，
エタノール培地で差がない

についても両培地におけるG.I.は1.00を超えた。HFP-Am 82-14のG.I.は、エタノール培地で1.88、ニンジン培地で1.39であった。図中の $Y = X$ で供試菌のG.I.を大別すると、エタノール培地におけるG.I.の大きい菌株が多いことが分かる。エタノールを始めとする根状菌糸束誘導物質は、根状菌糸束生成量を増大させることが報告¹³⁵⁾されているが、本実験の結果から、ニンジンの熱水抽出液についても同様の現象が観察されることが分かった。

図5において丸記号で示した17菌株は、コントロール培地における根状菌糸束形成に対してエタノール培地とニンジン培地における根状菌糸束形成が早く、5%または1%の危険率で有意差が認められたものである。さらにこの17菌株のうち、HFP-Am 79-1, 同82-5, 同82-7, 同82-11および同82-14の5株については、エタノール培地における根状菌糸束形成がニンジン培地と比較して早く、5%または1%の危険率で有意差が認められた。

図5において、三角記号で示した4株は、エタノール培地においてのみ根状菌糸束形成が早く、ニンジン培地とコントロール培地に対して5%または1%の危険率で有意差が認められたものである。この例として、ナラタケ属(HFP-Am 82-13)の根状菌糸束形成の経時変化を図6に示した。エタノール培地における根状菌糸束形成が早く、コントロール培地とニンジン培地に対して5%の危険率で有意差が認められた。ナラタケモドキ HFP-At 82-16はこのグループに含まれている。

また、図5において四角記号で示した2菌株は、コントロール培地、ニンジン培地およびエタノール培地における根状菌糸束形成の早さに有意差が認められなかった。

以上の結果からニンジンの熱水抽出液には、エタノールより劣るが、多くのナラタケ属の菌株に対して根状菌糸束の形成を促進する性能があることが確認された。ビタミンAにナラタケの根状菌糸束の形成促進性能があることが報告⁵²⁾されていることから、ニンジンの熱水抽出液が以上の様な性能を発現する原因物質として、プロビタミンAであるカロチンの関与が考えられた。カロチンはニンジンに多く含まれており、脂溶性であるがコロイド状で熱水抽出液中に溶出している可能性が考えられる。そこで、 β -カロチンを供試して同様の試験を行った。

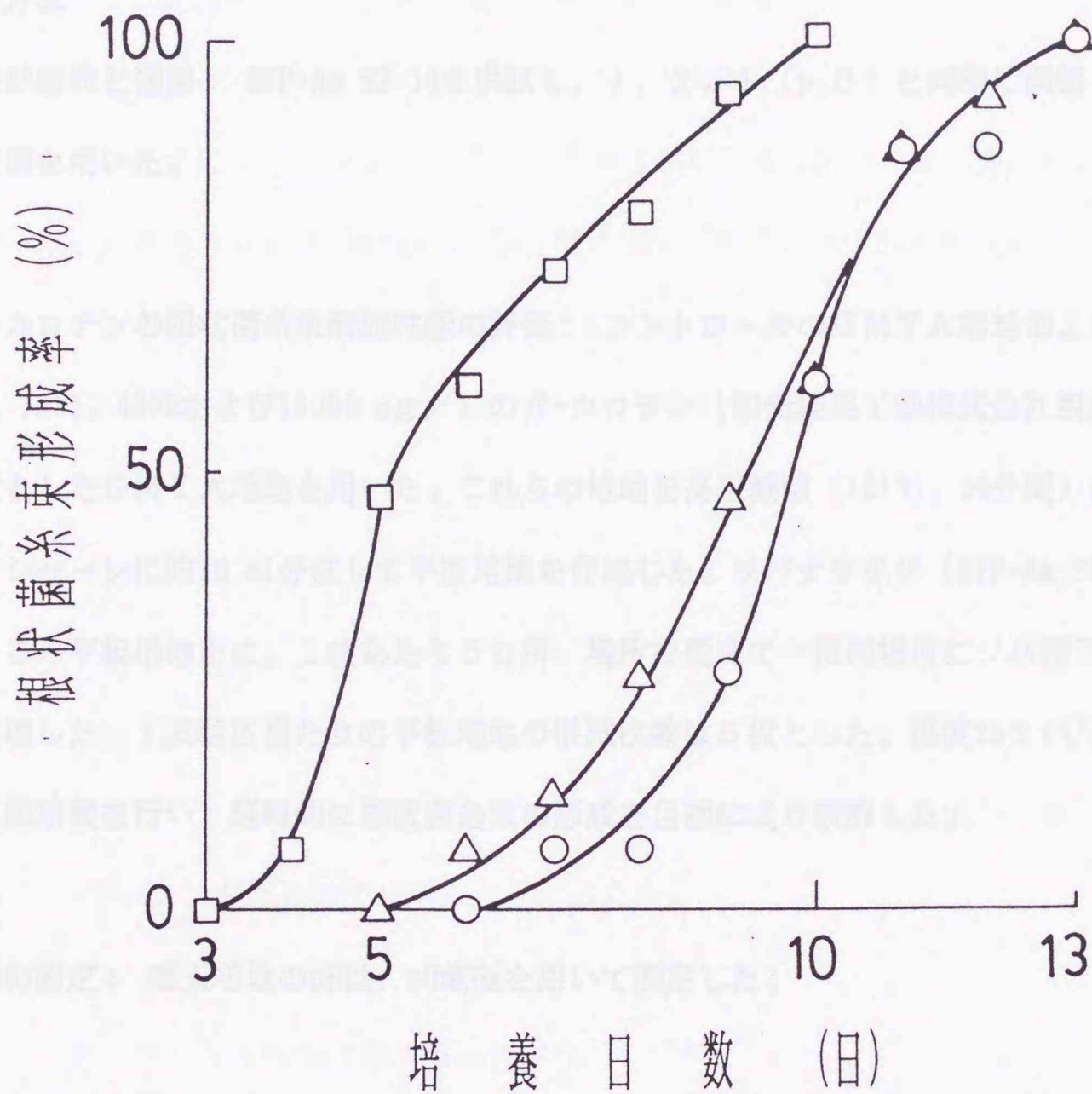


図6 ナラタケ属 (HFP-Am 82-13) の根状菌糸束形成の経時変化

符号：○：コントロール培地，△：ニンジン培地，

□：エタノール培地

I. 2. 5 ツバナラタケの根状菌糸束形成に対する β -カロチンの効果¹⁰⁶⁾

実験方法

供試菌株と種菌： HFP-Am 82-14を供試し、I. 2. 1 (p. 6)と同様に調製したソバ種子種菌を用いた。

β -カロチンの根状菌糸束形成性能の評価： コントロールのGMYA培地および48, 104, 218, 1015, 4999および10000 mg/lの β -カロチン（和光純薬工業株式会社製試薬特級）濃度としたGMYA培地を用いた。これらの培地を高圧滅菌（121℃, 20分間）後、直径9 cmのシャーレに約16 ml分注して平板培地を作成した。ツバナラタケ（HFP-Am 82-14）の種菌をこの平板培地上に、1枚あたり5カ所、場所を変えて一接種場所にソバ種子種菌1個を接種した。1試験区当たりの平板培地の供試枚数は5枚とした。温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、暗黒下で14日間培養を行い、経時的に根状菌糸束の形成を目視により観察した。

pHの測定： 寒天培地のpHは、pH電極を用いて測定した。

成長指数： I. 2. 4と同様の方法で求めた。ただし、 β -カロチン添加培地におけるG.I.は以下の式で算出した。

$$\text{G.I.} = (\beta\text{-カロチン添加培地における乾燥菌体重量})$$

$$/ (\text{コントロール培地における乾燥菌体重量})$$

結果と考察

用いた培地の殺菌後のpHは、コントロール培地と β -カロチン濃度48~4999 mg/lの培

地が6.0, 10000 mg/l の β -カロチン濃度の培地が5.8で大きな差異はみられなかった。

図7には β -カロチン添加培地でのツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の根状菌糸束形成の経時変化 (コントロール培地と1015 mg/l の β -カロチン添加培地) を示した。1015 mg/l の β -カロチン添加培地における根状菌糸束形成が最も早く, 培養開始4日後に始まり7日後に100%の形成率となり, I. 2. 4のニンジン培地とほぼ同様の結果であった。一方, コントロール培地における菌糸束形成は, 培養開始4日後に始まり11日後に100%の形成率となった。前者と後者の培地における根状菌糸束形成日数には1%の危険率で有意差が認められた。他の β -カロチン濃度の培地ではコントロールとの間に差がなかった。写真5には β -カロチン添加培地におけるツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の根状菌糸束の形成状況を示した。

β -カロチン濃度とツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の成長指数の関係を図8に示した。コントロール培地に対して有意の早さで根状菌糸束が形成した1015 mg/l 濃度の β -カロチン培地においてG.I.の値が高く1.47であり, この濃度以下や以上の培地のG.I.は低かった。本実験の結果から, ニンジンの熱水抽出液にみられた根状菌糸束の形成を促進性能の一因として β -カロチンが関与していることが示された。

I. 2. 6 ニンジンの根状菌糸束形成性能^{116, 118)}

実際のナラタケ属の菌床栽培において, 作業工程の簡略化を図るためには, ニンジンの熱水抽出液よりニンジンそのものを利用するほうが有利と考えられる。そこで, ツバナラタケのビン栽培試験を行い, 種菌と培地の間にニンジンの磨砕物を挟むことで根状菌糸束の形成が促進されるか否かを観察した。また, ニンジンがツバナラタケの栽培に利用可能な材料か否かを判断するには, ツバナラタケの生殖成長に与える影響を確かめることが不可欠である。

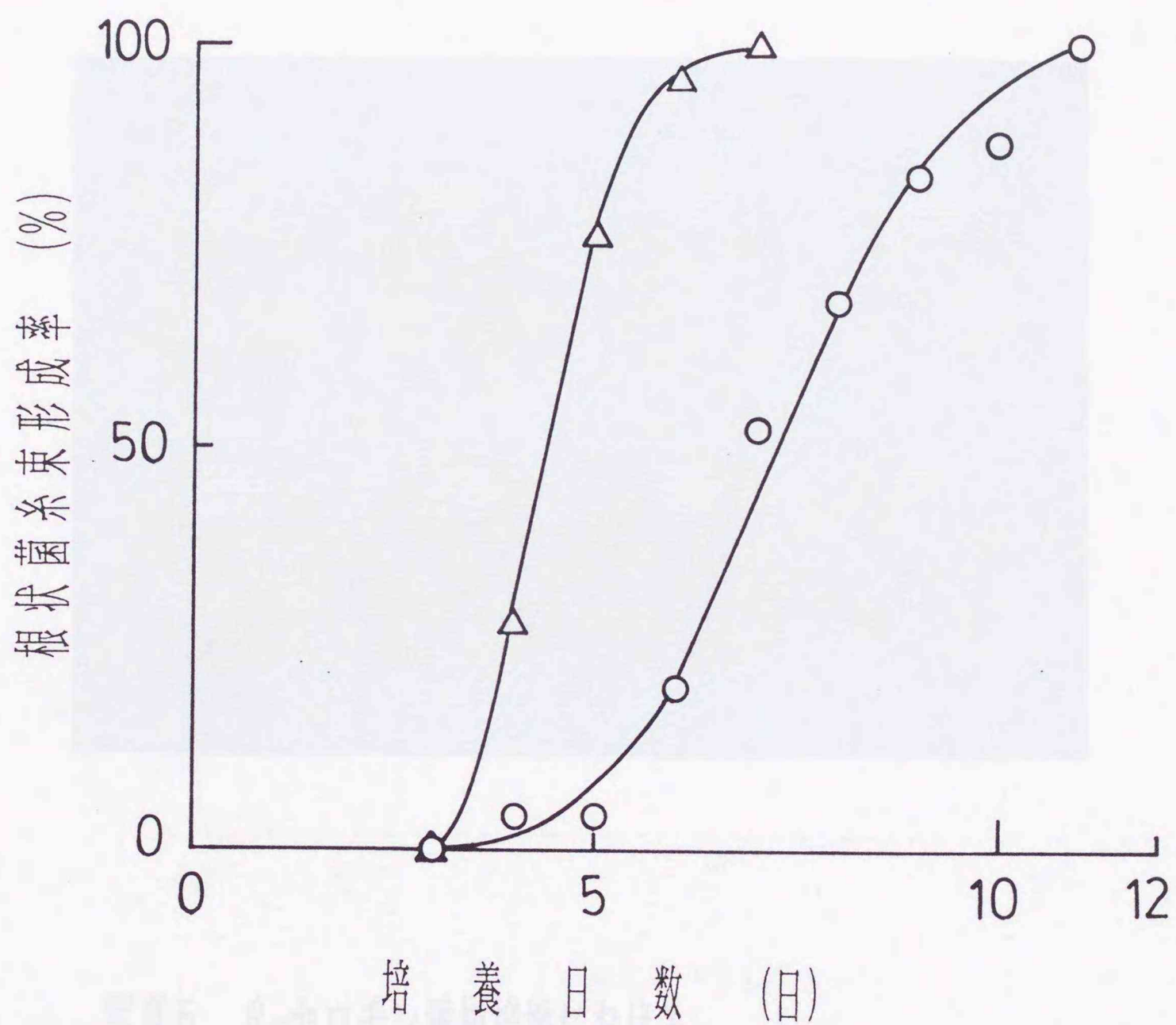


図7 β -カロチン添加培地での
ツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の根状菌糸束形成の経時変化

符号：○：コントロール培地，

△： β -カロチン添加培地 (β -カロチン濃度: 1015 mg/l)

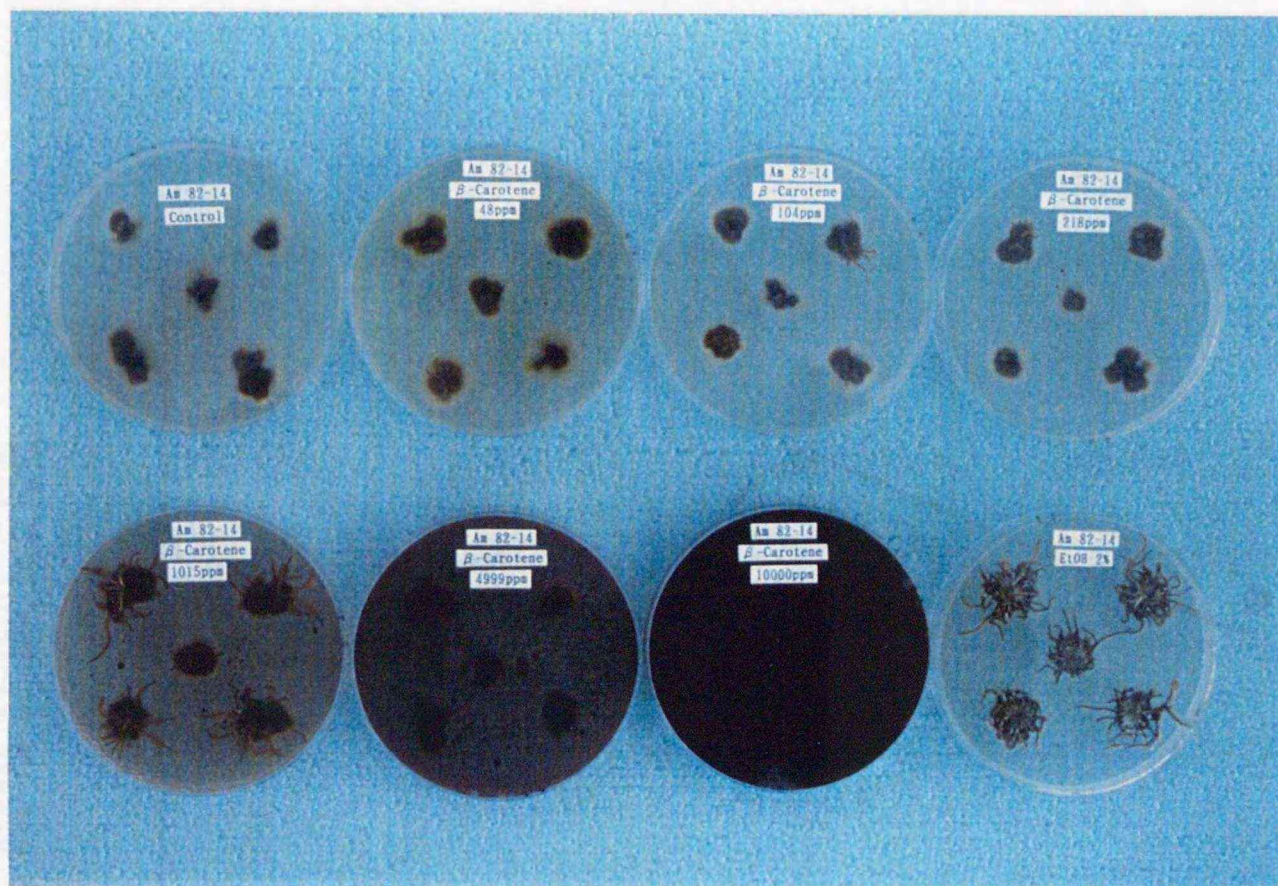


写真5 β -カロチン添加培地における

ツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の根状菌糸束の形成

注：上段左からコントロール培地，カロチン48 mg/l，同104 mg/l，
同218 mg/l，下段左からカロチン1015 mg/l，同4999 mg/l，
同10000 mg/l，およびエタノール培地，25℃暗黒下にて14日間
培養した

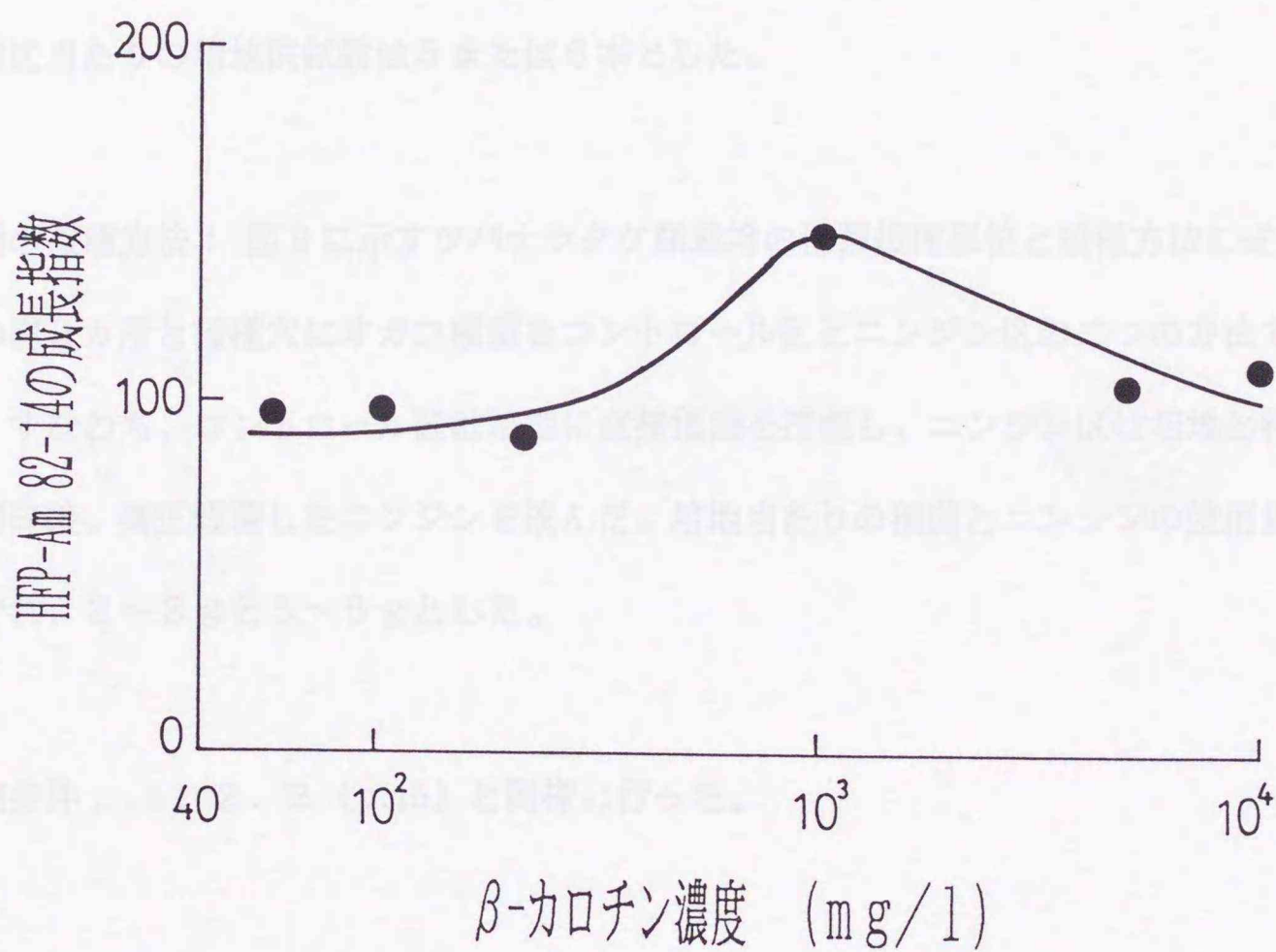


図8 β -カロチン濃度とツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の成長指数の関係

実験方法

供試菌と種菌：HFP-Am 82-10または同82-14のオガコ種菌（本試験の栽培培地と同組成のオガコ培地に供試菌を接種後25日間培養したもの）を用いた。

栽培培地の調製：ダケカンバのオガコと米ぬか（水分はいずれも湿重量基準で9%）を2.2:1の重量比で混合し、水分を68%に調整したオガコ培地を作成した。この培地を200 ml培養瓶に130 g 詰めて培地中央に直径15 mmの接種穴をあけた後、高圧殺菌した。なお、1試験区当たりの培地供試数は5または6本とした。

種菌の接種方法：図9に示すツバナラタケ瓶栽培の種菌接種部位と接種方法に従って、培地の肩2カ所と接種穴にオガコ種菌をコントロール区とニンジン区の二つの方法で接種した。すなわち、コントロール区は培地に直接種菌を接種し、ニンジン区は培地と種菌の間に磨砕後、高圧殺菌したニンジンを含んだ。培地当たりの種菌とニンジンの使用量は、それぞれ、2～3 gと5～6 gとした。

栽培条件：I. 2. 2 (p.15)と同様に行った。

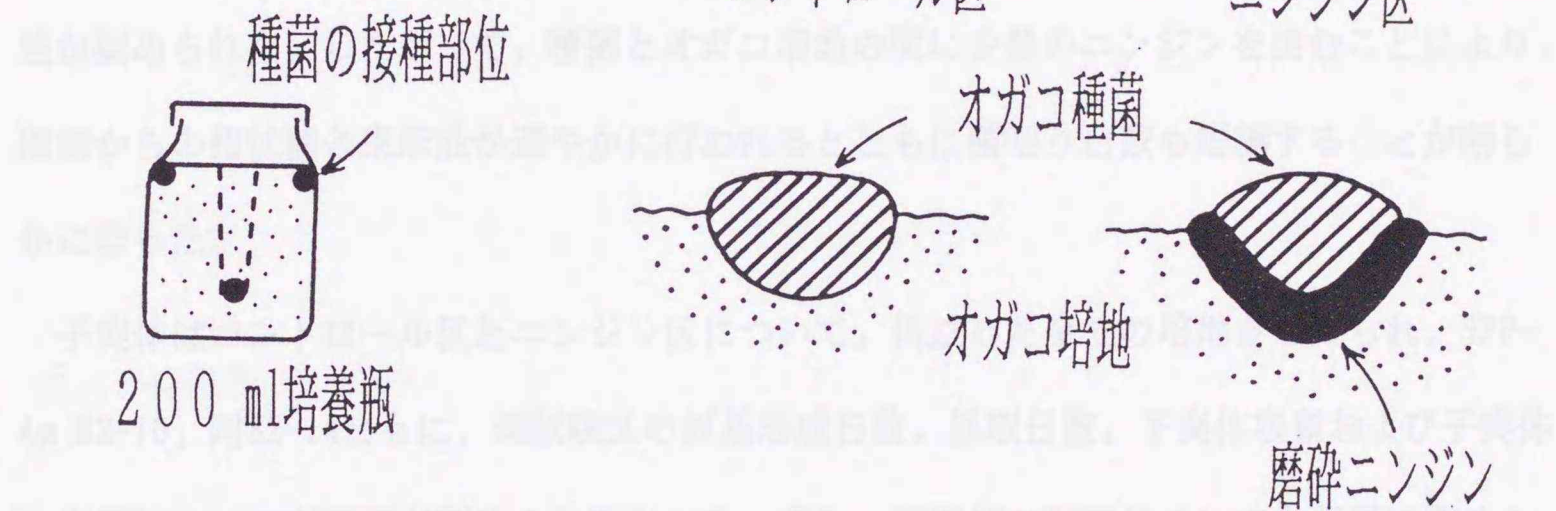
子実体の採取：I. 2. 1 (p.6)と同様に行った。

水分とpHの測定：培地材料、栽培培地および子実体等の水分は60℃の乾燥器で48時間乾燥して恒量化を行って算出した。pHはサンプルにその生重量の2.5倍量のイオン交換水を加えて1時間攪拌した後pH電極を用いて測定した。

結果と考察

高圧殺菌後のオガコ培地および磨砕ニンジンの水分とpHは、それぞれ、67.0%と5.8およ

7월 10 일 18일



び88.5%と5.4であった。いずれの場合においても、種菌は菌糸と根状菌糸束の成長最適 pH 5~6¹²⁷⁾ の環境中に接種されていた。

表4にニンジンを用いたツバナラタケの栽培試験結果を示した。コントロール区とニンジン区についての根状菌糸束形成日数を比較すると、コントロール区に対して、HFP-Am 82-10で1.9日、同82-14で3.5日ニンジン区における根状菌糸束の形成が早く、いずれも1%の危険率で有意差が認められた。ニンジンを用いることにより、培地に接種した種菌から根状菌糸束が形成されるまでに要す時間が30~40%短縮されたことになる。

菌回り日数についても、コントロール区と比較してニンジン区は、HFP-Am 82-10で3.1日、HFP-Am 82-14で1.1日短縮され、HFP-Am 82-10で1%、HFP-Am 82-14で5%の危険率で有意差が認められた。したがって、種菌とオガコ培地の間に少量のニンジンを挟むことにより、種菌からの根状菌糸束形成が速やかに行われるとともに菌回り日数も短縮することが明らかになった。

子実体はコントロール区とニンジン区について、供試した全ての培地から得られ、HFP-Am 82-10、同82-14ともに、両試験区の原基形成日数、採取日数、子実体収量および子実体の本数について有意差が認められなかった。また、子実体の形態についても差異は認められなかった。したがって、種菌とオガコ培地の間に5~6 g程度のニンジンを挟んだ場合において、ニンジンはナラタケの生殖成長にマイナスの影響を及ぼさないことが確かめられた。さらに、以上のニンジンの効果は高圧殺菌処理後のものであることから、加熱蒸気の利用による培地の殺菌工程が欠かせない菌床栽培において、ニンジンは実用的な材料と判断された。

I. 2. 7 ニンジン熱水抽出液がツバナラタケの子実体生産に及ぼす影響¹⁰⁹⁾

ニンジンの熱水抽出液を添加した栄養寒天培地で培養すると、ナラタケ属の菌体量がコントロールに対して増加したことから、オガコ培地にその抽出液を混合することで培地中

表4 ニンジンを用いたツバナラタケの栽培試験結果

供試菌株	HFP-Am 82-10		HFP-Am 82-14	
接種方法	コントロール区	ニンジン区	コントロール区	ニンジン区
根状菌糸束 形成日数	6.2±0.8 ^{a)}	4.3±0.5 ^{c)}	8.2±0.8	4.7±0.5 ^{c)}
菌回り日数	23.6±1.1	20.5±1.0 ^{c)}	18.4±0.5	17.3±0.8 ^{b)}
培養日数	25	25	25	25
原基形成日数	14.4±1.8	14.7±2.7	10.8±2.0	10.8±2.9
採取日数	29.0±1.8	29.2±1.7	26.4±0.9	26.8±1.2
子実体収量 (g/瓶)	24.7±3.6	24.0±2.8	24.9±0.9	25.1±0.7
子実体本数 (本/瓶)	2.6±1.3	2.5±1.6	6.6±3.1	6.3±2.7

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：コントロール区に対して5%の危険率で有意差が認められた，^{c)}：コントロール区に対して1%の危険率で有意差が認められた

注：各試験区の培養瓶（200 ml）の供試本数は5～6本

のツバナラタケの菌体が増加し、その結果としの子実体収量が増加する可能性が考えられる。そこで、培地の水分調整に用いる水道水の一部をニンジンの熱水抽出液で置き換えて栽培試験を行った。

実験方法

供試菌と種菌： I . 2 . 6と同様に作製したHFP-Am 82-14のオガコ種菌を用いた。

栽培培地の調製： 200 ml培養瓶1本当たり、ダケカンバのオガコ35 gと米ぬか16 g（水分はいずれも湿重量基準で9%）を混合し、104 mlの水道水を加えて水分を69%に調整したコントロール培地を作製した。さらに、コントロール培地の水道水をニンジン熱水抽出液12.5 mlまたは25.0 mlで置き換えた二種類の培地、AまたはB培地を作成した。培養瓶に充填した培地中央に直径15 mmの接種穴を開け高圧殺菌した。なお、1試験区当たりの培養瓶の供試数は9本とした。

種菌の接種方法： 図1（p.10）に従って、培地の肩2カ所と接種穴に高圧殺菌したニンジン磨碎物を培養瓶1本当たり5～6 g載せ、その上にオガコ種菌を培養瓶1本当たり2～3 g載せ接種した。

栽培条件： I . 2 . 2（p.15）と同様に行った。

子実体の採取： I . 2 . 1（p.6）と同様に行った。

水分とpHの測定： I . 2 . 6と同様に行った。

結果と考察

表5に子実体生産に対するニンジン熱水抽出液の効果を示した。根状菌糸束形成日数、菌回り日数、原基形成日数および採取日数についてはいずれの培地にも差が認められなかったが、子実体収量はコントロール培地が22.8g、AおよびB培地で25.5および25.1gとなり、コントロールに対してそれぞれ5%の危険率で有意差が認められた。AとB培地の間には有意差がなかった。

ニンジン熱水抽出液添加培地における培地水分と培地pHの経時変化を図10を示した。25日間の培養終了時において、ニンジンの熱水抽出液を添加したA培地とB培地の培地水分がコントロール培地と比較して高く推移していることが分かる。オガコ培地にある量のニンジン熱水抽出液を加えると、抽出液を加えないで培養した菌床よりツバナラタケの菌体量や菌体活性が増加し、培地成分の分解が進んだことで培地水分が増加したことが推察される。その結果として、子実体収量が増加したと考察された。また、子実体採取後の培地水分が低下しているのは培地水分が子実体に移動したことによる。なお、高圧殺菌後の各培地のpHはいずれも6.0であった。

I. 2. 8 広葉樹オガコを用いたツバナラタケの栽培¹¹⁸⁾

ツバナラタケの菌床栽培に利用可能な培地基材を明らかにするために、道内に蓄積の多い広葉樹について、そのオガコが入手しやすいもの7種類を供試して栽培試験を行った。

試験方法

供試菌株と種菌： I. 2. 6 (p.30)と同様に作製したHFP-Am 82-14のオガコ種菌を用いた。

栽培培地の調製： ダケカンバ、ミズナラ、シナノキ (*Tilia japonica* Simonkai), イタヤカエデ (*Acer mono* Maxim.), ブナ (*Fagus crenata* Blume), ヤチダモ (

表5 子実体生産に対するニンジン熱水抽出液の効果

供試菌株	HFP-Am 82-14		
栽培培地	コントロール培地	ニンジンA培地	ニンジンB培地
根状菌糸束 形成日数	3.9	3.7	3.9
菌回り日数	18.3	17.9	19.1
培養日数	25	25	25
原基形成日数	12.8	12.6	12.8
採取日数	25.0	25.4	25.5
子実体収量 (g/瓶)	22.8	^{a)} 25.5	^{a)} 25.1

符号：^{a)}：コントロール区に対して5%の危険率で有意差が認められた

注：各試験区の培養瓶（200 ml）の供試本数は9本

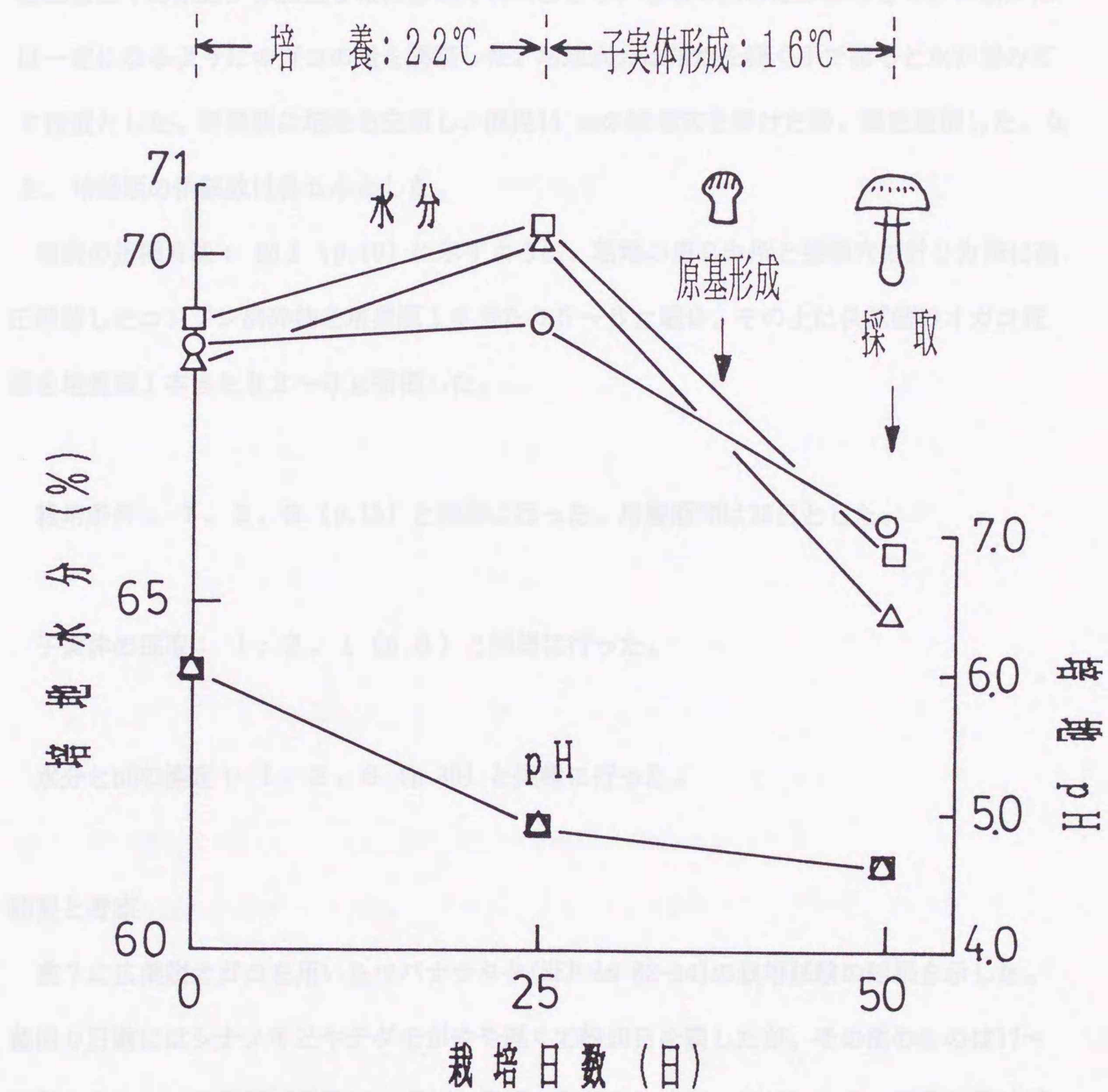


図10 ニンジン熱水抽出液添加培地における培地水分と培地pHの経時変化

符号：○：コントロール培地，△：ニンジンA培地，

□：ニンジンB培地

Fraxinus mandshurica Rupr. var. *japonica* Maxim.) , およびカツラ (*Cercidiphyllum japonicum* Sieb. et Zucc.) の7樹種のオガコを供試した。広葉樹オガコを用いた栽培試験における200 ml培養瓶当たりの培地組成を表6に示した。いずれの試験区においても培養瓶当たりの米ぬか添加量を絶乾重量で14.4 gとし、培地の詰め込み固さとその体積がほぼ一定になるようにオガコの量を調整した。培地水分は培地を軽く手で握ると水が滲みだす程度とした。培養瓶に培地を充填し、直径15 mmの接種穴を開けた後、高圧殺菌した。なお、培養瓶の供試数は各5本とした。

種菌の接種方法： 図1 (p.10) に示すように、培地の肩2カ所と接種穴の計3カ所に高圧殺菌したニンジン磨碎物を培養瓶1本当たり5～6 g載せ、その上に供試菌のオガコ種菌を培養瓶1本当たり2～3 g接種した。

栽培条件： I. 2. 2 (p.15) と同様に行った。培養期間は25日とした。

子実体の採取： I. 2. 1 (p.6) と同様に行った。

水分とpHの測定： I. 2. 6 (p.30) と同様に行った。

結果と考察

表7に広葉樹オガコを用いたツバナラタケ(HFP-Am 82-14)の栽培試験の結果を示した。菌回り日数にはシナノキとヤチダモがやや遅くて約20日を要したが、その他のものは17～18日であった。原基形成日数はいずれの樹種でも差がなく10～11日であり、採取日数は25～28日であった。

子実体収量はイタヤカエデとカツラが最も高く24.5 g, ミズナラが最も低く21.3 gであり、いずれも20 g以上の値が得られた。現在までの検討結果からツバナラタケについては、カンバ類のオガコと米ぬかを用いた栽培培地を用いると25～35日程度の比較的短期間の培

表6 広葉樹オガコを用いた栽培試験における200 ml培養瓶当たりの培地組成

オガコの樹種	オガコ量 (g) (絶乾換算)	米ぬか (g) (絶乾換算)	水 (g)	培地充填量 (g) (湿重量)
ダケカンバ	28.9	14.4	101	144
ミズナラ	27.4	14.4	93	135
シナノキ	23.5	14.4	97	135
イタヤカエデ	30.7	14.4	104	149
ブナ	25.5	14.4	92	132
ヤチダモ	25.0	14.4	92	131
カツラ	21.3	14.4	93	129

注： 供試菌株はHFP-Am 82-14, 各試験区の培養瓶の供試本数は5本

高圧殺菌後の培地水分とpH： ダケカンバ： 64.8%と5.8, ミズナラ： 66.8%と5.6,

シナノキ： 70.6%と5.8, イタヤカエデ： 68.0%と5.9,

ブナ： 68.0%と5.9, ヤチダモ： 68.2%と6.0,

カツラ： 71.1%と5.8

表7 広葉樹オガコを用いたツバナラタケ（HFP-Am 82-14）の栽培試験の結果

培地のオガコ 樹種	菌回り日数	原基 形成日数	採取日数	子実体収量 (g/瓶)	子実体本数 (本/瓶)
ダケカンバ	18.0	11.4	27.8	23.2	5.2
ミズナラ	17.8	10.0	26.6	21.3	7.8
シナノキ	19.6	10.4	25.4	21.5	7.4
イタヤカエデ	17.0	10.4	25.4	24.5	7.8
ブナ	18.0	10.6	25.4	21.9	5.4
ヤチダモ	20.2	10.4	26.0	22.8	7.6
カッラ	17.6	10.0	24.6	24.5	10.2

注：各試験区の培養瓶の供試本数は5本，培養日数は25日間とした

養で培地生重量の15~20%程度の子実体量が得られている。そこで、エノキタケ、ヒラタケおよびタモギタケの菌床栽培とほぼ同様に、ツバナラタケについてもオガコより主に培地添加物である米ぬかを代謝していると推察し、いずれの試験区においても培養瓶1本当りの米ぬか添加量を一定とした。そこで、各培地ごとに絶乾米ぬか1g当たりの子実体収量を算出すると、ダケカンバ 1.6, ミズナラ 1.5, シナノキ 1.5, イタヤカエデ 1.7, ブナ 1.5, ヤチダモ 1.6, およびカツラ 1.7となり、栽培培地のオガコ樹種や各培地の水分が異なっているにもかかわらず、絶乾米ぬか1g当たりの子実体収量が1.5から1.7の狭い範囲に集まった。なお、高圧殺菌後の培地pHはミズナラが5.6でやや低いものの、他のオガコ培地では5.8から6.0と大きな差異がなかった。

一方、子実体数はカツラが最も多くて10.2、最低値はダケカンバの5.2であった。子実体収量を子実体数で除した値はダケカンバ、ミズナラおよびブナが約4g、イタヤカエデ、シナノキおよびヤチダモが約3g、カツラが2.4gであり、オガコの樹種により子実体当たりの重量に差異が観察された。子実体の形態は、いずれの培地においても正常であった。

本試験の結果から、いずれの樹種においても正常な子実体が培地重量の15~19%の子実体収量が得られていること、および菌回り日数、原基形成日数や採取日数などに時間的差異がないことから、供試した7樹種のオガコはHFP-Am 82-14の菌床栽培に利用可能であると判断される。

I. 2. 9 針葉樹オガコを用いたツバナラタケの栽培^{125, 126)}

ツバナラタケの菌床栽培に利用可能な培地基材を明らかにするために、道内に蓄積の多い針葉樹で、入手しやすいもの3樹種のオガコを供試して栽培試験を行った。

実験方法

供試菌株と種菌： I. 2. 6 (p.30) と同様に作製したHFP-Am 82-10および同82-14の

オガコ種菌を用いた。

栽培培地の調製： カラマツ，エゾマツ (*Picea jezoensis* Carr.)，およびトドマツの3樹種のオガコを供試した。200 ml培養瓶1本あたりにいずれかのオガコ22.0 g (絶乾重量換算) と米ぬか15.0 g (絶乾重量換算) を混合し，水道水を加えて全体の水分を68%に調整した培地116 gを充填した。培地中央に直径15 mmの接種穴をあけた後，高圧殺菌した。1試験区当たりの培養瓶の供試数は12本とした。

種菌の接種方法： 図1 (p.10) に従って，培地の肩2カ所と接種穴の計3カ所に高圧殺菌したニンジン磨碎物を培養瓶1本あたり5～6 g載せ，その上に供試菌のオガコ種菌を培養瓶1本あたり2～3 g接種した。

栽培条件： I. 2. 2 (p.15) と同様に行った。培養期間は25日とした。

子実体の採取： I. 2. 1 (p.6) と同様に行った。

水分とpHの測定： I. 2. 6 (p.30) と同様に行った。

結果と考察

1) 供試菌株HFP-Am 82-14

表8に針葉樹オガコを用いたツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の栽培試験の結果を示した。表中の栽培日数は培養日数と採取日数を加算したものである。その結果，菌回り日数はトドマツを用いた培地で24.5日を要した。しかし，他の培地では18～20日とトドマツに比べて短く，いずれの培地もトドマツを用いた培地に対して1%の危険率で有意差が認められた。こうした現象が生じた原因としては，トドマツの材には(+)-Juvabioneが含まれており，そ

表8 針葉樹を用いたツバナラタケ（HFP-Am 82-14）の栽培試験の結果

オガコの樹種	ダケカンバ	カラマツ	エゾマツ	トドマツ
菌回り日数	18.6±0.7 ^{a)}	18.3±0.5	20.1±0.8 ^{b)}	24.5±0.7 ^{b)}
培養日数	25	25	25	25
原基形成日数	12.4±0.6	10.2±1.2	12.5±1.3 ^{b)}	21.0±2.2 ^{b)}
採取日数	26.5±0.7	25.6±0.7 ^{b)}	28.0±1.0 ^{b)}	35.8±1.5 ^{b)}
採取日数	51.5±0.7	50.6±0.7 ^{b)}	53.0±1.0 ^{b)}	60.8±1.5 ^{b)}
子実体収量 (g/瓶)	24.0±2.1	21.5±1.8 ^{b)}	17.5±4.5 ^{b)}	17.2±1.0 ^{b)}

符号： ^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：コントロール区（ダケカンバ）に対し1%の危険率
で有意差が認められた，

注： 培地添加物は米ぬかを使用，

各試験区の培養瓶（200 ml）の供試本数は12本，

栽培日数＝培養日数＋採取日数

れがエノキタケなどの食用菌の菌糸成長を阻害する^{103, 140-142)} (本論文第II章参照) ことから、ツバナラタケについても同様の理由で菌体の成長が阻害されたと推察された。なお、高圧殺菌後の各培地のpHは5.7~5.9であり、オガコの材種による差異は僅かであった。

原基形成日数はトドマツを用いた培地で21日を要した以外は、いずれも13日未満であった。採取日数はトドマツを用いた培地が35.8日と遅れた。エゾマツを用いた培地では28.0日、それ以外の培地では26日前後で子実体が採取できた。子実体の原基形成後にその原基が生育するのに要する時間はいずれの培地でも14~15日であった。

200 ml培養瓶当たりの子実体収量はダケカンバを用いたコントロールの培地で24.0 gと最も高く、以下カラマツ21.5 g, エゾマツ17.5 g, トドマツ17.2 gとなった。ダケカンバに対して、いずれの針葉樹についても1%の危険率で有意差が認められた。しかし、エゾマツやトドマツに対してカラマツを用いた培地の子実体収量は1%の危険率で有意に高く、ダケカンバを用いた培地の子実体収量の90%に達した。子実体の形態はオガコの材種の影響を受けなかった。

以上の結果から、カラマツ、エゾマツ、およびトドマツのオガコを用いてツバナラタケHFP-Am 82-14の栽培が可能であることが分かった。しかし、子実体生産の効率はオガコの樹種により異なり、コントロールのダケカンバが最も高く、以下、カラマツ、エゾマツ、トドマツの順となった。また、トドマツについてはダケカンバと比較して菌回り日数や原基形成日数の遅れ、子実体収量の低下が顕著であり、トドマツ木粉のみを用いて商業的な子実体生産を行うことは難しいと考察された。なお、ヒラタケ栽培で針葉樹のオガコを用いる場合に、培地重量の0.2%程度の消石灰を添加すると子実体収量が増加することから^{30, 98)}、トドマツを用いた培地で予備的な栽培試験を行ったが子実体収量の改善はみられず、消石灰を添加していない培地より子実体収量が減少し、5%の危険率で有意差が認められた。

供試した針葉樹木粉の中ではカラマツを用いた場合が最も子実体収量が高く、ダケカンバより僅かに劣る程度であった。北海道ではシイタケの菌床栽培が盛んで²⁸⁾、カンバ類を

中心とした広葉樹の木粉需要が高くなっている。そうした状況の中で、カラマツのオガコでツバナラタケの効率的な栽培の可能性が示された意義は大きいと思われる。道内にカラマツを製材する専門工場もあり⁴⁹⁾、そのオガコを安定的にかつ安価に入手することが可能である。写真6にカラマツ・米ぬか培地で発生したツバナラタケの子実体を示した。

2) 供試菌株HFP-Am 82-10

表9にダケカンバとカラマツのオガコを用いたツバナラタケ(HFP-Am 82-10)の栽培試験の結果を示した。両培地の菌回り日数、培養日数、原基形成日数、採取日数、栽培日数に大きな差異は観察されなかった。しかし、子実体収量はダケカンバオガコを用いた場合の24.0 gに対して、カラマツオガコでは31.3 gと30%以上高く、1%の危険率で有意差が認められた。

一方、小野により道内の針葉樹造林地でのならたけ病が報告されており、トドマツやエゾマツと比較してカラマツの被害の頻度が高いことが明らかにされている^{83, 84)}。本試験で得られた結果からカラマツとならたけ病に何らかの関係があるものと推察された。

I. 2. 10 ツバナラタケの菌床栽培における培地添加物の検討^{125, 126)}

食用キノコの菌床栽培では培地基材であるオガコに、培地添加物として米ぬかを添加している。最近では米ぬかの他にフスマやコーンブランなどの穀類の糠も活用されている¹⁶⁾。そこで、フスマやコーンブランを用いてツバナラタケの栽培を行い、それらがツバナラタケの子実体生産に及ぼすを影響を観察した。

試験方法

供試菌株と種菌： I. 2. 6 (p.30)と同様に作製したHFP-Am 82-10および同82-14のオガコ種菌を用いた。



写真6 カラマツ・米ぬか培地で発生したツバナラタケの子実体

注： 林産試験場保存株 HFP-Am 82-14, 200 ml瓶使用

表9 ダケカンバとカラマツのオガコを用いた

ツバナラタケ (HFP-Am 82-10) の栽培試験の結果

オガコの樹種	ダケカンバ	カラマツ
菌回り日数	20.5±1.0 ^{a)}	19.1±2.9
培養日数	25	25
原基形成日数	14.7±2.7	11.9±1.2 ^{b)}
採取日数	29.2±1.7	28.3±4.2
栽培日数	54.2±1.7	53.3±4.2
子実体収量 (g/瓶)	24.0±2.8	31.3±1.7 ^{c)}

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：コントロール区（ダケカンバ）に対して5%の危険率で有意差が認められた，^{c)}：コントロール区に対して1%の危険率で有意差が認められた

注：培地添加物は米ぬかを使用，
各試験区の培養瓶（200 ml）の供試本数は12本，
栽培日数＝培養日数＋採取日数

栽培培地の調製： 200 ml培養瓶1本当たりに培地基材としてダケカンバまたはカラマツのオガコ26.5 g（絶乾重量換算），培地添加物として米ぬか，フスマおよびコーンブラン15.0 g（絶乾重量換算）を混合し，水道水を加えて全体の水分を68％に調整した培地130 gを充填した。培地中央に直径15 mmの接種穴をあけた後，高圧殺菌した。1試験区当たりの培養瓶の供試数は12本とした。

種菌の接種方法： 図1（p.10）に従って，培地の肩2カ所と接種穴の計3カ所に高圧殺菌したニンジン磨碎物を培養瓶1本当たり5～6 g載せ，その上に供試菌のオガコ種菌を培養瓶1本当たり2～3 g接種した。

栽培条件： I．2．2（p.15）と同様に行った。培養期間は25日を原則としが，菌回りが25日以内に終了しない試験区については，その試験区の供試培地すべてが終了するまで培養を行った。

子実体の採取： I．2．1（p.6）と同様に行った。

水分とpHの測定： I．2．6（p.30）と同様に行った。

結果と考察

1) 供試菌株HFP-Am 82-14

表10にダケカンバオガコと3種類の培地添加物を用いたツバナラタケ（HFP-Am 82-14）の栽培試験結果を示した。菌回り日数は，ダケカンバ・コーンブランの組み合わせが最も短く15.2日，以下ダケカンバ・フスマ，ダケカンバ・米ぬかの順であり，いずれの間にも1％の危険率で有差が認められた。原基形成日数と採取日数もダケカンバ・コーンブランの組み合わせが最も短く9.1日と24.7日で，他の組み合わせの培地より有意に子実体の原基

表10 ダケカンバオガコと3種類の培地添加物を用いた

ツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の栽培試験結果

培地添加物	米ぬか	フスマ	コーンブラン
菌回り日数	20.0±0.9 ^{a)}	18.9±1.0	15.2±0.7 ^{c)}
培養日数	25	25	25
原基形成日数	11.9±1.2	11.8±1.0	9.1±0.9 ^{b)}
採取日数	26.7±0.9	26.6±0.7	24.7±0.8 ^{b)}
栽培日数	51.7±0.9	51.6±0.7	49.7±0.8 ^{b)}
子実体収量 (g/瓶)	24.0±1.8	20.7±3.2 ^{c)}	24.2±3.6
子実体本数 (本/瓶)	7.0±2.0	5.3±2.0 ^{b)}	8.9±1.9 ^{b)}

符号： ^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：コントロール区（米ぬか）に対して5%の危険率で有意差が認められた，^{c)}：コントロール区（米ぬか）に対して1%の危険率で有意差が認められた

注： 各試験区の培養瓶（200 ml）の供試本数は12本，

栽培日数＝培養日数＋採取日数

形成と採取が早かった。しかし、子実体の生育に要した期間はいずれの培地においてもほぼ等しく約15日であった。子実体収量はダケカンバ・フスマの組み合わせで低く20.7g、米ぬかおよびコーンブランの組み合わせで24.0gおよび24.2gで、両者ともにフスマとの組み合わせに対して1%の危険率で有意差が認められた。

写真7にダケカンバのオガコを用いた時の培地添加物のちがいによるツバナラタケ子実体の形態変化を示したが、米ぬかやコーンブラン用いた場合と比較してフスマを用いた場合の子実体の柄が太くなる現象が観察された。下記にカラマツのオガコと3種類の培地添加物の組み合わせの結果を述べるが、カラマツ・フスマの組み合わせにおいても同様の傾向がみられた。こうした現象は米ぬかとフスマの成分の違いが主要因と推察される。シイタケの菌床栽培において米ぬかとフスマによって子実体の収量と大きさが異なること¹³⁾、タモギタケの瓶栽培においてフスマを用いると子実体が奇形になる¹⁰⁾ことが指摘されている。ナラタケ属においても、培地添加物によって子実体の収量や形態が影響を受けることが明らかになった。

表11にカラマツオガコと3種類の培地添加物を用いたツバナラタケ(HFP-Am 82-14)の栽培試験結果を示した。菌回り日数はダケカンバの場合と反対に、コーンブランの組み合わせで最も時間を要し28.2日を要した。以下カラマツ・米ぬかの20.7日、カラマツ・フスマ22.3日の順であった。したがって、カラマツ・コーンブランの組み合わせの培養期間はすべての培地が菌回りを終了した29日とした。原基形成日数と採取日数もカラマツ・コーンブランの組み合わせが最も長く22.8日と42.7日で、他の組み合わせの培地より有意に子実体の原基形成と採取が遅かった。加えて子実体の原基形成が行われ難く、子実体を得られた培養瓶数は12本の供試数中僅か3本で、その子実体収量と子実体数は7.4gと1.0本であった。

コーンブランと異なり、米ぬかとフスマでは供試したすべての培地から子実体を得られ両者の子実体収量を比較すると、カラマツ・米ぬかの22.8gがカラマツ・フスマの15.9gに対して高く1%の危険率で有意差が認められた。

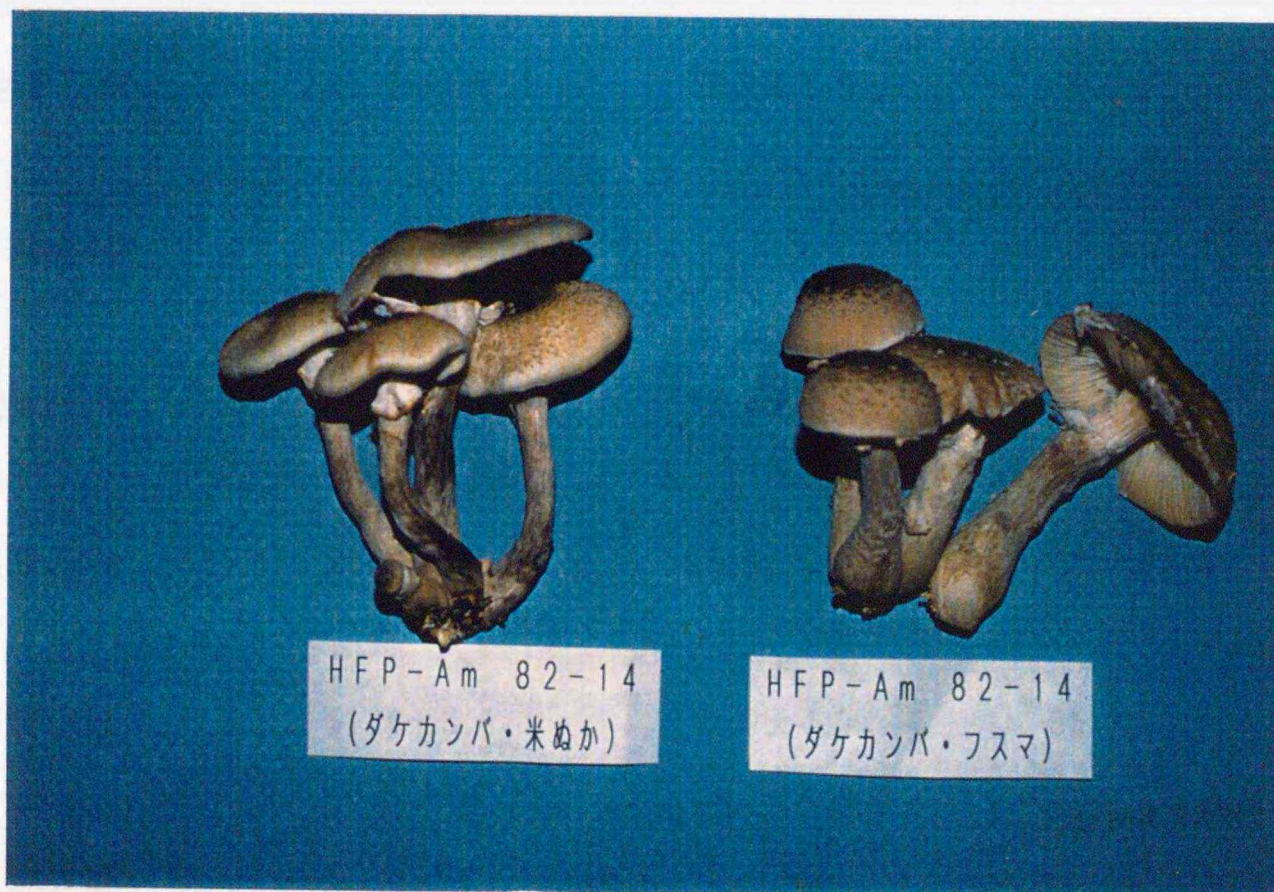


写真7 培地添加物のちがいによるツバナラタケ子実体の形態変化

注： 林産試験場保存株 HFP-Am 82-14, 200 ml瓶使用

表 1 1 カラマツオガコと 3 種類の培地添加物を用いた

ツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の栽培試験結果

培地添加物	米ぬか	フスマ	コーンブラン
菌回り日数	20.7±1.5 ^{a)}	22.3±2.5	28.2±0.8 ^{b)}
培養日数	25	25	29
原基形成日数	13.0±1.9	12.4±0.9	22.8±6.4 ^{b)}
採取日数	26.4±3.5	25.9±4.0	42.7±4.6 ^{b)}
栽培日数	51.4±3.5	50.9±4.7	61.7±4.6 ^{b)}
子実体収量 (g/瓶)	22.8±3.4	15.9±4.0 ^{b)}	7.4±3.6 ^{b)}
子実体本数 (本/瓶)	6.1±1.7	5.8±3.0	1.0±0.0 ^{b)}

符号: ^{a)}: 平均値±標準偏差, ^{b)}: コントロール区 (米ぬか) に対して 1% の危険率で有意差が認められた

注: 各試験区の培養瓶 (200 ml) の供試本数は 12 本,

栽培日数 = 培養日数 + 採取日数

2) 供試菌株HFP-Am 82-10

表12にカラマツオガコと3種類の培地添加物を用いたツバナラタケ (HFP-Am 82-10) の栽培試験結果を示した。菌回り日数はカラマツ・コーンブランの組み合わせが最も短く17.3日で、他の2種の培地に対して1%の危険率で有意差が認められた。一方、原基形成日数はカラマツ・コーンブランの組み合わせが最も遅く、かつ12本の培養瓶中2本について子実体形成を促してから30日を経過しても子実体原基の形成がみられなかった。その子実体収量は12.6gで、他の2種の培地に対して1%の危険率で有意差が認められた。カラマツ・フスマの組み合わせはカラマツ・米ぬかの組み合わせに対して採取日数が短かったが、子実体収量は少なく、菌床ごとのばらつきが大きかった。さらに、フスマでは子実体の本数が14.2本で、米ぬかの7.8本の約2倍と多く、子実体が小型化した。

以上の結果から、ツバナラタケの菌床栽培の培地添加物としては、米ぬかを用いることで安定した子実体生産が行えることが明らかになった。コーンブランは組み合わせるオガコの樹種や供試菌株によっては菌回りの効率化がみられたが、子実体の原基形成が不安定となる危険性があることが分かった。こうした原因は不明であり、今後の研究課題である。

I. 2. 11 培養瓶のスケールアップの試み^{120, 126)}

ここまでのツバナラタケの瓶栽培に関する基礎的データの収集は、200 ml培養瓶を用いて行ってきた。ツバナラタケの瓶栽培の実用化を目指した次の段階の試みとして、培養瓶のスケールアップの検討を行った。ここでは、キノコ栽培者が実際に使用している800 ml容のポリプロピレン製の培養瓶（以下、800 ml培養瓶と略す）を用い、ニンジンの根状菌糸束形成の効果、および子実体の原基形成時に使用する培養瓶のキャップ性能の影響等について検討した。

実験方法

表 1 2 カラマツオガコと 3 種類の培地添加物を用いた

ツバナラタケ (HFP-Am 82-10) の栽培試験結果

培地添加物	米ぬか	フスマ	コーンブラン
菌回り日数	19.1±2.9 ^{a)}	19.5±2.6	17.3±0.5 ^{b)}
培養日数	25	25	25
原基形成日数	11.9±1.2	10.6±0.7	15.3±4.8 ^{b)}
採取日数	28.3±4.2	24.0±1.6 ^{b)}	27.8±4.4
栽培日数	53.3±4.2	49.0±1.6 ^{b)}	52.8±4.4
子実体収量 (g/瓶)	31.3±1.7	27.0±7.9	12.6±6.0 ^{b)}
子実体本数 (本/瓶)	7.8±2.5	14.7±7.1 ^{b)}	3.3±2.3 ^{b)}

符号： ^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：コントロール区（米ぬか）に対して 1% の危険率で有意差が認められた

注： 各試験区の培養瓶（200 ml）の供試本数は 12 本，

栽培日数 = 培養日数 + 採取日数

供試菌株と種菌： I. 2. 6 (p.30) と同様に作製したHFP-Am 82-10および同82-14のオガコ種菌を用いた。

栽培培地の調製：

1) ニンジンを用いない栽培試験

800 mlの培養瓶1本当たり、水分16.5%のダケカンバオガコを148.5 g、水分11.3%の米ぬかを66.5 g、水道水を445.0 g混合し、水分を72%に調整した培地を作製した。

2) ニンジンを用いる栽培試験

800 ml培養瓶1本当たり、水分16.5%のダケカンバ木粉を148.5 g、水分9.8%の米ぬかを66.5 g、水道水を445.0および325.0 g混合し、水分を72（試験区1と2）および66%（試験区3から7）に調整した培地を作製した。

これらの培地は培養瓶に充填後、いずれも培地中央に直径15 mmの接種穴をあけ、紙栓（ハترون紙で直径8 mmの穴をあけたターポリン紙をサンドイッチ状に挟んだもの）をした後、高圧殺菌した。

なお培養瓶の供試数は、ニンジンを用いない栽培試験では64本、その他の栽培試験では1試験区当たり6～9本とした。

種菌の接種： ニンジンを用いない栽培試験においては、培養瓶1本当たりに種菌を培地上部と接種穴に約10 g接種した。ニンジンを用いる栽培試験においては、図1 (p.10) に従って、培地の肩2カ所と接種穴に高圧殺菌した磨碎ニンジンを載せ、その上に種菌を接種した。培地1本当たりの種菌とニンジンの使用量は、それぞれ6～7 gと8～9 gとした。

培養条件： I. 2. 2 (p.15) と同様に行った。なお培養日数は、ニンジンを用いない栽培試験においては63日、ニンジンを用いる栽培試験においては35日とした。

子実体の原基形成と生育：

1) ニンジンを用いない栽培試験

培養後、培養瓶の紙栓を除去するとともに、培地上部に接種した種菌を除去して、水道水で3時間の注水を行った。そして、I. 2. 2 (p.15)と同様の環境下で子実体の原基形成と生育を行った。なお、子実体原基が形成するまで、水で湿らせたウレタンシートで培養瓶の瓶口を覆った。

2) ニンジンを用いる栽培試験

培養後、試験区7を除いて培養瓶の紙栓を除去し、試験区1と3については水道水で3時間の注水を行った。接種した種菌の除去はいずれの試験区も行わず、上述の1)と同じ環境下で子実体の原基形成と生育を行った。なお、子実体原基が形成するまで、試験区1から4では水で湿らせたウレタンシートで培養瓶の瓶口を覆い、5区ではフィルターの無いプロピレン製のキャップ（以下、STキャップと略す）をし、6区では紙栓をかぶせたSTキャップをした。7区では子実体原基形成後に紙栓を除去した。写真8に子実体原基の形成時に用いた培養瓶のキャップを示した。

子実体の採取： I. 2. 1 (p.6)と同様に行った。

結果と考察

1) ニンジンを用いない栽培試験

供試した培養瓶64本の菌回り日数は47から63日で、平均値は52.5日であった。培養後に子実体原基の形成と生育を行った結果、64本中52本の培養瓶から子実体を得られた。子実体の採取日数は23から43日で、平均値は29.3日であった。残りの12本の培養瓶については、子実体原基の形成前に *Trichoderma* spp. の汚染が生じたために7本を廃棄し、さらに、カビ汚染が生じなかったにもかかわらず発生処理を行ってから50日を経過しても子実体原基

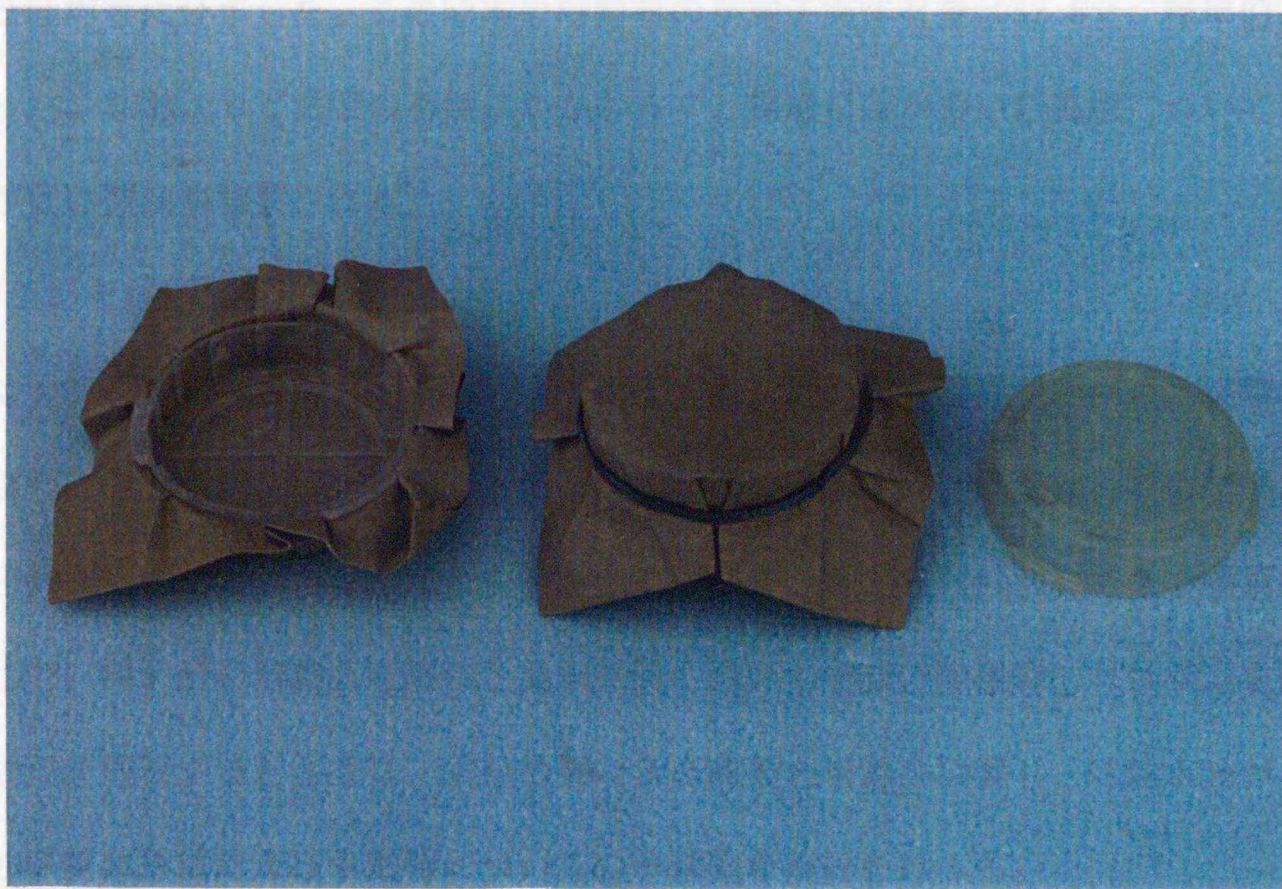


写真8 子実体原基の形成時に用いた培養瓶のキャップ

注：ST-キャップ（右），紙栓（中央），
紙栓をかぶせたST-キャップ（左）

の形成がみられなかったために5本を廃棄した。なお、子実体が得られた培養瓶において、一部 *Trichoderma* spp. や *Penicillium* spp. の汚染が観察された。

図11に培養瓶1本当たりの子実体収量 (HFP-Am 82-14) のヒストグラムを示した。子実体収量が0~10g未満の培養瓶が13本生じ、うち12本からは子実体が全く得られなかった。子実体を得られた52本の培養瓶の約87%に当たる45本の子実体収量は、20g以上~80g未満の範囲にほぼ均等に分布した。この52本の培養瓶の平均子実体収量は52.6g、標準偏差は22.5であった。なお、カビ汚染の有無にかかわらず、採取日数が遅い培養瓶については子実体収量が低い傾向が観察された。

2) ニンジンを用いる栽培試験

ニンジンはナラタケ属の根状菌糸束の形成を促進する。200 mlの培養瓶を用いた実験室規模の栽培試験においてニンジンを用いることで根状菌糸束の形成が早まり、その結果として菌回り日数を有意に短縮できることを明らかにし、I. 2. 6 (p.30) でその効果を述べた。そこで、800 mlの培養瓶を用いた栽培試験において種菌の接種時にニンジンを用いて、その効果を観察するとともに、水分の異なる2種類の培地を調製し、培地水分がツバナラタケの子実体形成に及ぼす影響についての予備的な検討を行った。

表13に800 ml培養瓶とニンジンを用いたツバナラタケ (HFP-Am 82-14) 栽培試験の結果を示した。培地水分72%の試験区1と2の菌回り日数は33から35日で、平均値は34.0日であった。同66%の試験区3と4の菌回りは日数は29から35日で、平均値は32.1日であった。培地水分72%と66%の菌回り日数の間には1%の危険率で有意差が認められた。また、試験区1と2の菌回り日数は、培地水分が等しい1) のニンジンを用いない栽培試験の52.5日に対して、18.5日間短縮された。

原基形成日数と採取日数は試験区1が18.8と31.8日、同2が26.8と38.0日、同3が12.4と24.7日、および同4が12.8と25.4日であり、水分72%の試験区では子実体の原基形成が遅れ、それに伴って採取も遅れた。特に、注水を行わなかった2区では原基形成日数と採取日数が遅れ、多くの培養瓶に *Penicillium* spp. の汚染が観察された。また、子実体原基

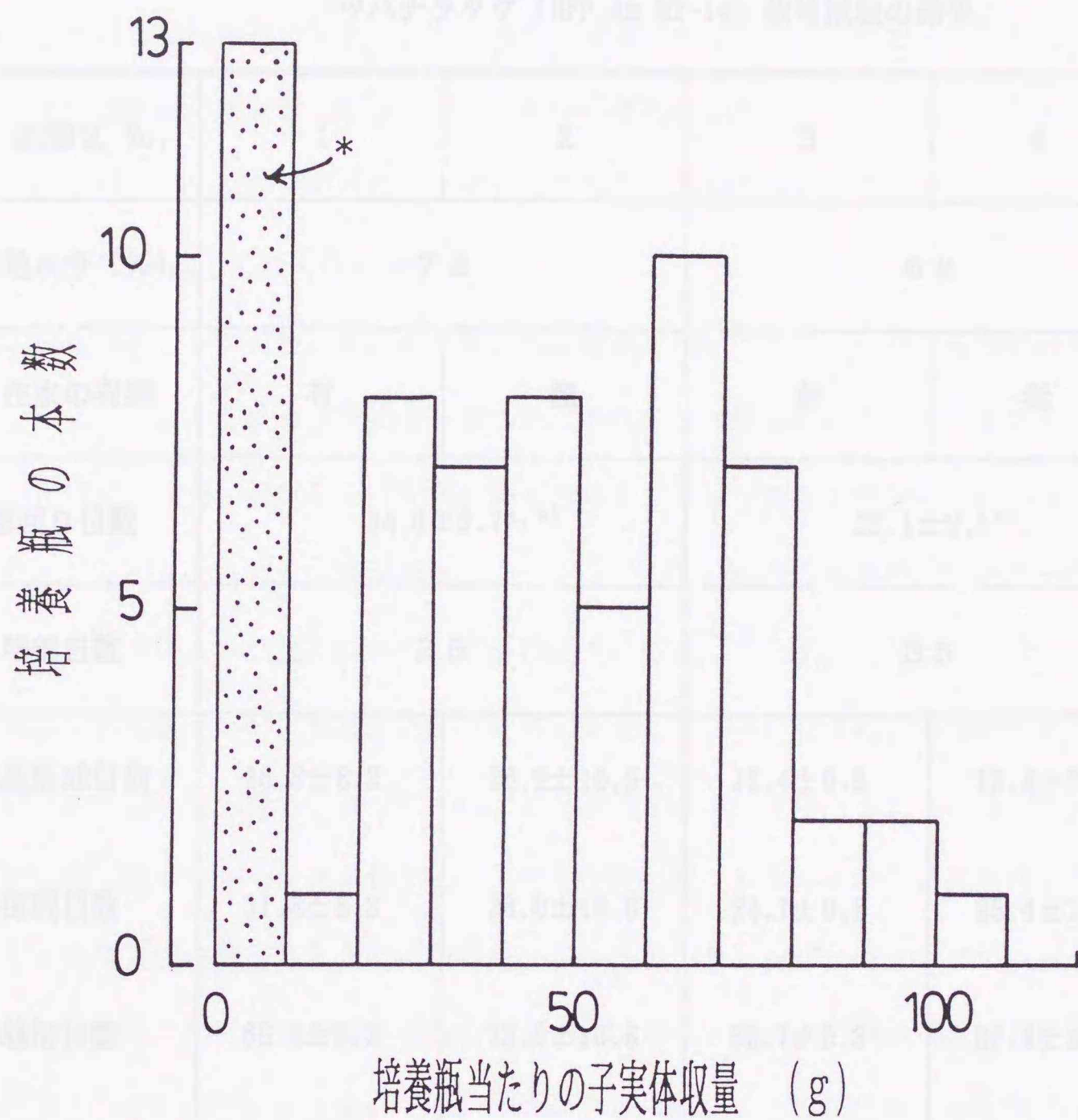


図11 子実体収量 (HFP-Am 82-14) のヒストグラム

符号： *：級間 0～10 の度数13のうち12本の
培養瓶について子実体収量が0であった

注： 800 ml培養瓶使用

表 1 3 800 ml培養瓶とニンジンを用いた
ツバナラタケ (HFP-Am 82-14) 栽培試験の結果

試験区 No.	1	2	3	4
培地水分 (%)	7 2		6 6	
注水の有無	有	無	有	無
菌回り日数	34.0±0.7 ^{a, b)}		32.1±2.1 ^{b)}	
培養日数	3 5		3 5	
原基形成日数	18.8±6.2	26.8±10.5	12.4±0.5	12.8±1.0
採取日数	31.8±6.3	38.0±10.6	24.7±0.8	25.4±1.1
栽培日数	66.8±6.3	73.0±10.6	59.7±0.8	60.4±1.1
子実体収量 (g/瓶)	53.4±22.7	39.4±12.6	95.0±10.6	81.7±12.4

符号: ^{a)}: 平均値±標準偏差, ^{b)}: ニンジン磨碎物を使用しない試験区 1 に対して
1%の危険率で有意差が認められた

注: ダケカンバオガコと米ぬかの組み合わせの培地を使用,
各試験区の培養瓶 (800 ml) の供試本数は 8~9 本,
栽培日数=培養日数+採取日数,
子実体原基の形成時はウレタンシートで培養瓶口を覆った

が形成されたが、原基が成長せず子実体を得られない培養瓶も1本生じた。子実体収量は、試験区1が53.4g，同2が39.4g，同3が95.0g，および同4が81.7gであり，水分66%の試験区が72%の試験区より高く，同一水分の培地の比較では注水を行った試験区の値が高かった。培養瓶の供試数は異なるが，子実体原基の形成方法が同じである，1)のニンジンを用いない栽培試験と試験区1の子実体収量とその標準偏差はよく一致した。

3) 子実体原基の形成方法の検討

透明な樹脂キャップ付きの200 mlガラス製培養瓶を用いてナラタケ属の栽培試験を行った際に，キャップをしたまま子実体原基の形成を促し原基形成後にキャップを除去して子実体の生育を行うと，供試した培養瓶の原基形成と子実体の生育が確実に行われることをみだし，I. 2. 2でその効果を述べた。そこで，800 mlの培養瓶を用いた実用的な栽培において，どのような性能のキャップを使用すればよいかを検討した。

キャップの性能としては通気性と光透過性に注目した。本試験では，培養瓶との隙間が大きいために通気性に優れ，かつ約80%の光透過性のあるSTキャップと，STキャップより通気性が悪く，かつ光透過性が約1%である紙栓と，STキャップの通気性をそのままにして光透過性を押さえるために紙栓をかぶせたSTキャップとをそれぞれ供試した。

表14に試験区5から7における子実体原基形成時のキャップが子実体生産に及ぼす影響を示した。いずれの試験区においても，子実体の原基形成および生育中にカビ汚染を受けることなく，供試したすべての培養瓶から子実体を得られた。

原基形成日数と採取日数は，子実体の原基形成が確認されるまで紙栓を用いた試験区7が13.2日と31.2日で最も長く，そして紙栓をかぶせたSTキャップを用いて原基形成を行った試験区5が11.3日と26.3日，STキャップを用いて原基形成を行った試験区5が10.8日と25.5日で最も短かった。いずれの日数も試験区7に対して試験区5と6に，1または5%の危険率で有意差が認められたが，試験区5と6の間には有意差が認められなかった。子実体収量は，試験区7，6，5の順に増加し，試験区7に対して試験区5と6に1%の危険率で有意差が認められた。しかし，試験区5と6の間には有意差が認められなかった。

表 1 4 子実体原基形成時のキャップが子実体生産に及ぼす影響

試験区 No.	5	6	7
キャップの種類	ST-キャップ	紙栓で覆った ST-キャップ	紙栓
培地水分 (%)	6 6		
菌回り日数	34.0±0.7 ^{a)}		
培養日数	3 5		
原基形成日数	10.8±1.3 ^{c)}	11.3±1.5 ^{b)}	13.2±0.4
採取日数	25.5±0.8 ^{c)}	26.3±0.5 ^{c)}	31.2±1.8
栽培日数	60.5±0.8 ^{c)}	61.3±0.5 ^{c)}	65.2±1.8
子実体収量 (g/瓶)	88.9±12.6 ^{c)}	86.4±9.5 ^{c)}	52.7±12.7

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：試験区 7 に対して 5 % の危険率で有意差が認められた，^{c)}：試験区 7 に対して 1 % の危険率で有意差が認められた

注：ダケカンバオガコと米ぬかの組み合わせの培地を使用，

各試験区の培養瓶 (800 ml) の供試本数は 6 本，

栽培日数 = 培養日数 + 採取日数，

供試菌株は HFP-Am 82-14

また、試験区 7 においては子実体の傘に波打ちが観察された。

以上の結果から、培養を終了したツバナラタケの菌床について子実体の形成を効果的に行うには、子実体原基の形成時に通気性に優れたキャップを使用することが望ましいことが分かった。

I. 2. 12 培地水分と子実体収量の関係¹²⁰⁾

800 ml 培養瓶と S T キャップを用いた子実体原基の形成方法とを用いて、栽培培地の水分と子実体収量との関係を検討した。

実験方法

供試菌株と種菌： I. 2. 6 (p.30) と同様に作製した HFP-Am 82-10 および同 82-14 のオガコ種菌を用いた。

栽培培地の調製： 800 ml 培養瓶 1 本当たり、水分 18.5% のダケカンバのオガコ 137.4 ~ 143.6 g、水分 10.5% の米ぬか 64.8 g、および水道水 311.6 ~ 467.8 g を混合し、水分を 66 ~ 75% に調整した培地を作製した。培地を培養瓶に充填後、培地中央に直径 15 mm の接種穴をあけ、紙栓をした後に高圧殺菌した。なお培養瓶の供試数は、1 試験区当たり 9 本とした。

種菌の接種： 図 1 (p.10) に従って、培地の肩 2 カ所と接種穴の計 3 カ所に殺菌したニンジン磨碎物を載せ、その上に種菌を接種した。培地 1 本当たりのニンジンと種菌の使用量は、それぞれ 8 ~ 9 g と 5 ~ 6 g とした。

培養条件： I. 2. 2 (p.15) と同様に行った。なお、培養日数は 35 日とした。

子実体の原基形成と生育： 培養後，培養瓶の紙栓を除去し，接種した種菌の除去を省略してSTキャップをかぶせ，I. 2. 2と同様の環境下で子実体の原基形成と生育を行った。子実体原基形成後にSTキャップを除去した。

子実体の採取： I. 2. 1 (p.6)と同様に行った。

水分とpHの測定： I. 2. 6 (p.30)と同様に行った。

結果と考察

I. 2. 11で示したように，72%の水分に調整した培地を用いた場合，水で湿らせたウレタンシートで培養瓶の瓶口を覆う子実体の原基形成法では，一部の培養瓶から子実体を得られなかった。そこで，培養後の培養瓶にSTキャップをかぶせて子実体原基の形成を行う方法を用い，66～75%の水分に調整した培地での子実体形成を観察した。

図12にツバナラタケの子実体生産に及ぼす培地水分の影響を示した。いずれの菌株においてもすべての供試培養瓶から子実体を得られた。なお，図中にプロットした培地水分は殺菌後の値である。HFP-Am 82-10では，水分71.6%の培地での子実体収量が高く，同69.0%の子実体収量に対して5%の危険率で有意差が認められた。HFP-Am 82-14では水分74.6%の培地での子実体収量が低く，同70.7%以下の場合と比較して1%の危険率で有意差が認められ，さらに，子実体収量の標準偏差が培地水分とともに増加する傾向がみられた。また，いずれの菌株においても，子実体収量が低い培地における採取日数が遅くなる傾向が観察された。子実体の原基形成日数は9～12日で，採取日数と同様に子実体収量が低い培地において遅くなる傾向が観察された。

以上の結果から，STキャップをかぶせて子実体原基の形成を行う方法を用いることにより，水で湿らせたウレタンシートを用いる方法では安定した子実体収量を得られ難い70%を超える水分の培地からも安定した子実体収量が得られるとともに，71%前後の水分で

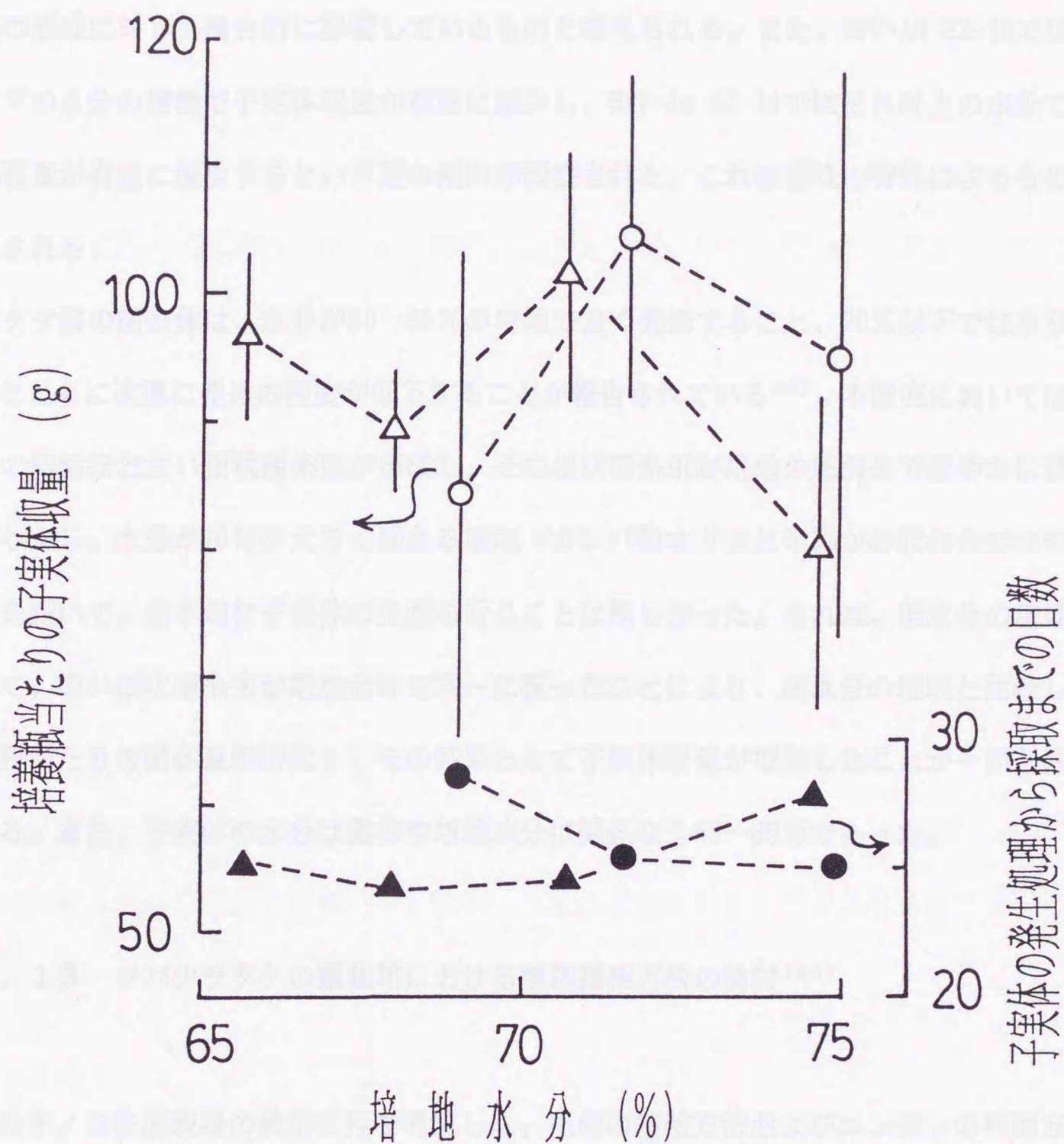


図12 ツバナラタケの子実体生産に及ぼす培地水分の影響

符号：○：HFP-Am 82-10の子実体収量，

△：HFP-Am 82-14の子実体収量，

●：HFP-Am 82-10の子実体の発生処理から採取までの日数，

▲：HFP-Am 82-14の子実体の発生処理から採取までの日数

注：800 ml培養瓶使用

子実体収量が最大 (HFP-Am 82-10 : 104.5 g, HFP-Am 82-14 : 101.3 g) になった。こうした現象の原因としては、炭酸ガス濃度、湿度、および培地水分といった環境要因⁹⁴⁾が子実体原基の形成に対して複合的に影響しているものと考えられる。また、HFP-Am 82-10では71%以下の水分の培地で子実体収量が有意に減少し、HFP-Am 82-14ではそれ以上の水分で子実体収量が有意に減少するという逆の傾向が観察された。これは菌株の特性によるものと考察される。

ナラタケ属の菌糸体は、水分が80~85%の培地で良く発達すること、70%以下では水分の低下とともに次第に発達の程度が低下することが報告されている⁵⁶⁾。本研究においては、高水分の培地ほど太い根状菌糸束が形成し、その根状菌糸束が培地の底部まで速やかに達した。しかし、水分が70%を大きく超える培地 (カンバ類オガコと米ぬかの組み合わせの場合) を用いて、効率的に子実体の生産を行うことは難しかった。これは、低水分の培地において、細い根状菌糸束が培地全体を均一に覆ったことにより、高水分の培地と比較して培養瓶当たりの菌体量が増大し、その結果として子実体収量が増加したことが一因と考察される。また、子実体の水分は菌株や培地水分に関係なく88~89%であった。

I. 2. 13 ツバナラタケの瓶栽培における種菌接種方法の検討¹²⁶⁾

実際のキノコ生産現場の栽培工程を考慮した、種菌の接種方法およびニンジンの利用方法について検討した。

実験方法

供試菌株と種菌 : I. 2. 6 (p.30) と同様に作製したHFP-Am 82-14のオガコ種菌を用いた。

栽培培地の調製 : ダケカンバのオガコと米ぬか (いずれも絶乾重量換算) と水道水をそ

れぞれ 2.2 : 1 : 5.5 の重量比で混合して全体の水分を 63% に設定した培地を作成し、200 ml 培養瓶および 850 ml 容ポリプロピレン製培養瓶（以下、850 ml 培養瓶と略す）1 本あたりに 130 および 635 g 充填した。850 ml 培養瓶には不織布フィルター付きポリプロピレン製キャップ（エノキタケ、ヒラタケ用）を用いた。

培養瓶に充填した培地中央に直径 15 mm の接種穴をあけた後、高圧殺菌した。なお、試験区当たりの培養瓶の供試数は、200 ml 培養瓶の場合が 6 本、850 ml 培養瓶の場合が 8 本とした。

種菌の接種方法：試験区 1 として、図 13 に示すツバナラタケ瓶栽培の種菌の接種方法 (1) を用い、培地の子実体発生面と接種穴に種菌を接種した。培養瓶 1 本当たりの種菌の接種量は 200 ml 培養瓶で 4 ~ 5 g、850 ml 培養瓶で 8 ~ 9 g とした。また、試験区 2 として、(2) に示すように培地の子実体発生面と接種穴に高圧殺菌したニンジン磨砕物を培養瓶当たり 9 ~ 10 g 載せ、その上に種菌を接種する方法を用いた。種菌の接種量は試験区 1 と同様とした。試験区 3 としては、(3) の培地の肩 2 カ所と接種穴の計 3 カ所に高圧殺菌したニンジン磨砕物を培養瓶 1 本当たり 5 ~ 6 g 載せ、その上に種菌を 2 ~ 3 g 接種する方法を用いた。

栽培条件：I. 2. 2 (p.15) と同様に行った。培養日数については、原則として、200 ml 培養瓶を用いた場合には 25 日間、850 ml 培養瓶を用いた場合には 35 日間とした。しかし、こうした期間内に培地全体に菌体が蔓延しない場合においては、試験区ごとに供試した全ての培養瓶の菌回りが終了するまでとした。子実体原基が形成した後に培養瓶のキャップを除去した。

子実体の採取：I. 2. 1 (p.6) と同様に行った。

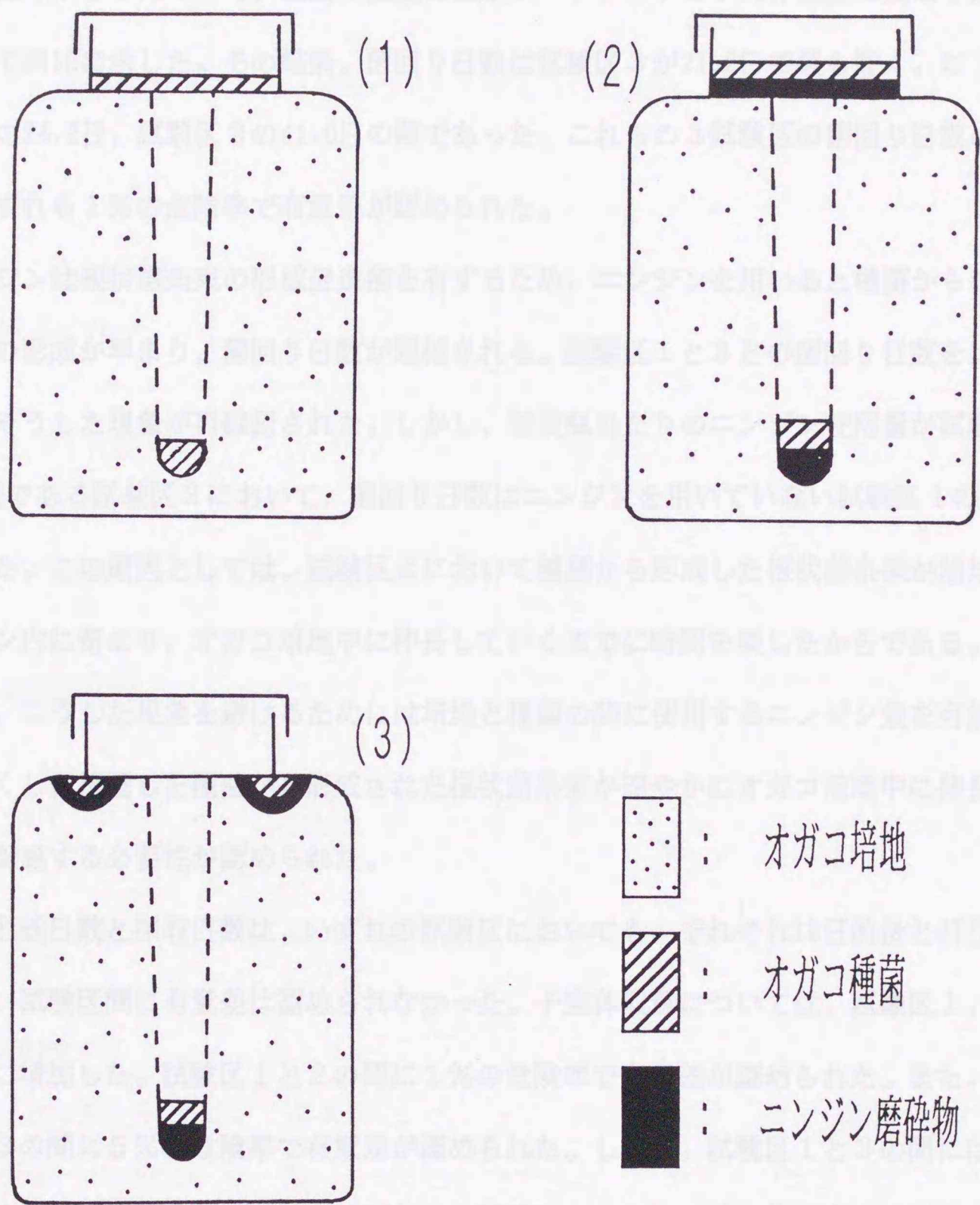


図13 ナラタケ属瓶栽培の種菌の接種方法

結果と考察

1) 200 ml培養瓶を用いた栽培試験

試験区1から3について、種菌の接種方法がツバナラタケの子実体生産に及ぼす影響をまとめて表15に示した。その結果、菌回り日数は試験区3が21.2日で最も短く、以下、試験区1の24.2日、試験区2の41.0日の順であった。これらの3試験区の菌回り日数の間には、いずれも1%の危険率で有意差が認められた。

ニンジン根は根状菌糸束の形成促進能を有するため、ニンジンを用いると種菌からの根状菌糸束の形成が早まり、菌回り日数が短縮される。試験区1と3との菌回り日数を比較すると、そうした現象が再確認された。しかし、培養瓶当たりのニンジン使用量が試験区3の1.6倍である試験区2において、菌回り日数はニンジンを用いていない試験区1の1.7倍となった。この原因としては、試験区2において種菌から形成した根状菌糸束が培地上のニンジン内に留まり、オガコ培地中に伸長していくまでに時間を要したからである。したがって、こうした現象を避けるためには培地と種菌の間に使用するニンジン量を可能な限り少なくし、接種した種菌から形成された根状菌糸束が速やかにオガコ培地中に伸長するように配慮する必要性が認められた。

原基形成日数と採取日数は、いずれの試験区においても、それぞれ12日前後と27日前後となり、試験区間に有意差は認められなかった。子実体収量については、試験区1、3、2の順に増加した。試験区1と2の間に1%の危険率で有意差が認められた。また、試験区2と3の間に5%の危険率で有意差が認められた。しかし、試験区1と3の間には有意差が認められなかった。こうした結果から、試験区2のように子実体発生面に磨砕したニンジン根を載せ、その上に種菌を接種することで子実体収量が有意に増加することが分かった。また、いずれの試験区の子実体についても形態に差異は認められなかった。

これまでのツバナラタケの栽培試験では図13(3) (p.72) の種菌接種方法 (試験区3) を用いてきた。しかし、この接種方法は実験的な小規模の栽培試験において問題はないが、機械化が難しいことや培地上部全面に種菌が載っていないことにより培養時の雑菌汚染が

表 1 5 種菌の接種方法がツバナラタケの子実体生産に及ぼす影響

試験区 No.	1	2	3
種菌の接種部位	培地の子実体発生面と接種穴		培地の肩 2 箇所と接種穴
ニンジン磨碎物の利用の有無	無	有	
菌回り日数	24.2±1.0 ^{a)}	41.0±0.6 ^{b)}	21.2±0.8 ^{b)}
培養日数	2 5	4 2	2 5
原基形成日数	12.7±1.5	13.3±1.4	11.8±0.8
採取日数	27.2±1.5	27.0±1.5	26.7±1.2
栽培日数	52.2±1.5	69.0±1.5 ^{b)}	51.7±1.2
子実体収量 (g/瓶)	23.9±2.3	27.3±1.2 ^{b)}	24.9±1.6

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：試験区 1 に対して 1 % の危険率で有意差が認められた

注：培地はダケカンバオガコと米ぬかの組み合わせ，
各試験区の培養瓶 (200 ml) の供試本数は 6 本，
供試菌株は HFP-Am 82-14，
栽培日数 = 培養日数 + 採取日数

生じ易いなどの問題が危惧されるため、培養瓶の供試本数が多い実際の栽培工程においてはなじまない。一方、図13(2) (p.72) の接種方法 (試験区2) は殺菌を終えた培地に種菌を接種する直前に、殺菌した磨碎ニンジンを機械的に載せるものであり、実際の栽培工程に受け入れ易いものと思われる。なお、同図(1)の接種方法 (試験区1) は実際に食用キノコの瓶栽培で用いられているものである。

2) 850 ml培養瓶を用いた栽培試験

上記のように、実用的でない図13(3) (p.72) の接種方法は用いずに、(1)と(2)の接種方法 (それぞれ試験区1と同2) を用いた。培養瓶の容量をスケールアップしたことにより培養瓶当たりの種菌使用量を増やしたが、1) の 200 ml培養瓶を用いた栽培試験の試験区2において子実体発生面にニンジンを載せることで菌回り日数が遅れたことを考慮して、培養瓶1本当当たりのニンジン使用量は増やさず200 ml培養瓶の場合と同量とした。

表16に磨碎ニンジンがツバナラタケの子実体生産に及ぼす影響について得られた結果を示した。850 ml培養瓶を用いた栽培試験は2回実施した (試験番号1と2)。菌回り日数は1) の200 ml培養瓶を用いた栽培試験の場合と同じくコントロールの試験区1より子実体発生面にニンジンを載せた試験区2が遅れ、1%の危険率で有意差が認められた。しかし、培養瓶1本当当たりの種菌接種量に対するニンジン使用量の比率を少なくしたことで試験区2の菌回り日数は1) の 200 ml培養瓶を用いた栽培試験の場合より短縮した。原基形成日数と採取日数は試験区2が早くなる傾向がみられ、2回目の試験において原基形成日数において1%の危険率で有意差が認められた。

図14にツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の子実体収量に及ぼすニンジンの効果を示した。培養瓶1本瓶当たりの子実体収量は、試験区1が83.8gと73.4g、試験区2が99.2gと98.4gで、いずれも試験区2の値が高く、1回目18.4%の増収、2回目34.1%の増収で、後者の場合に1%の危険率で有意差が認められた。また、2回の試験ともに試験区2の子実体収量の標準偏差が試験区1より小さく、瓶当たりの子実体収量がニンジンを用いることで安定した。図15にツバナラタケ (HFP-Am 82-14) の子実体本数に及ぼすニンジン

表 1 6 磨碎ニンジンがツバナラタケの子実体生産に及ぼす影響

試験番号	1		2	
試験区 No.	1	2	1	2
ニンジン磨碎物の利用の有無	無	有	無	有
種菌の接種部位	培地の子実体発生面と接種穴			
菌回り日数	27.5±0.8 ^{a)}	30.9±1.6 ^{b)}	28.2±0.6	31.4±2.4 ^{b)}
培養日数	3 5	3 5	3 5	3 5
原基形成日数	12.8±1.2	11.8±0.9	14.3±1.5	11.9±0.9 ^{b)}
採取日数	26.6±1.2	25.6±0.5	26.9±1.6	25.8±0.7
栽培日数	61.6±1.2	60.6±0.5 ^{b)}	61.9±1.6	60.8±0.7

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：ニンジン磨碎物を使用しない試験区 1 に対して
1 % の危険率で有意差が認められた

注：培地はダケカンバオガコと米ぬかの組み合わせ，
各試験区の培養瓶（200 ml）の供試本数は 6 本，
供試菌株は HFP-Am 82-14，
栽培日数＝培養日数＋採取日数

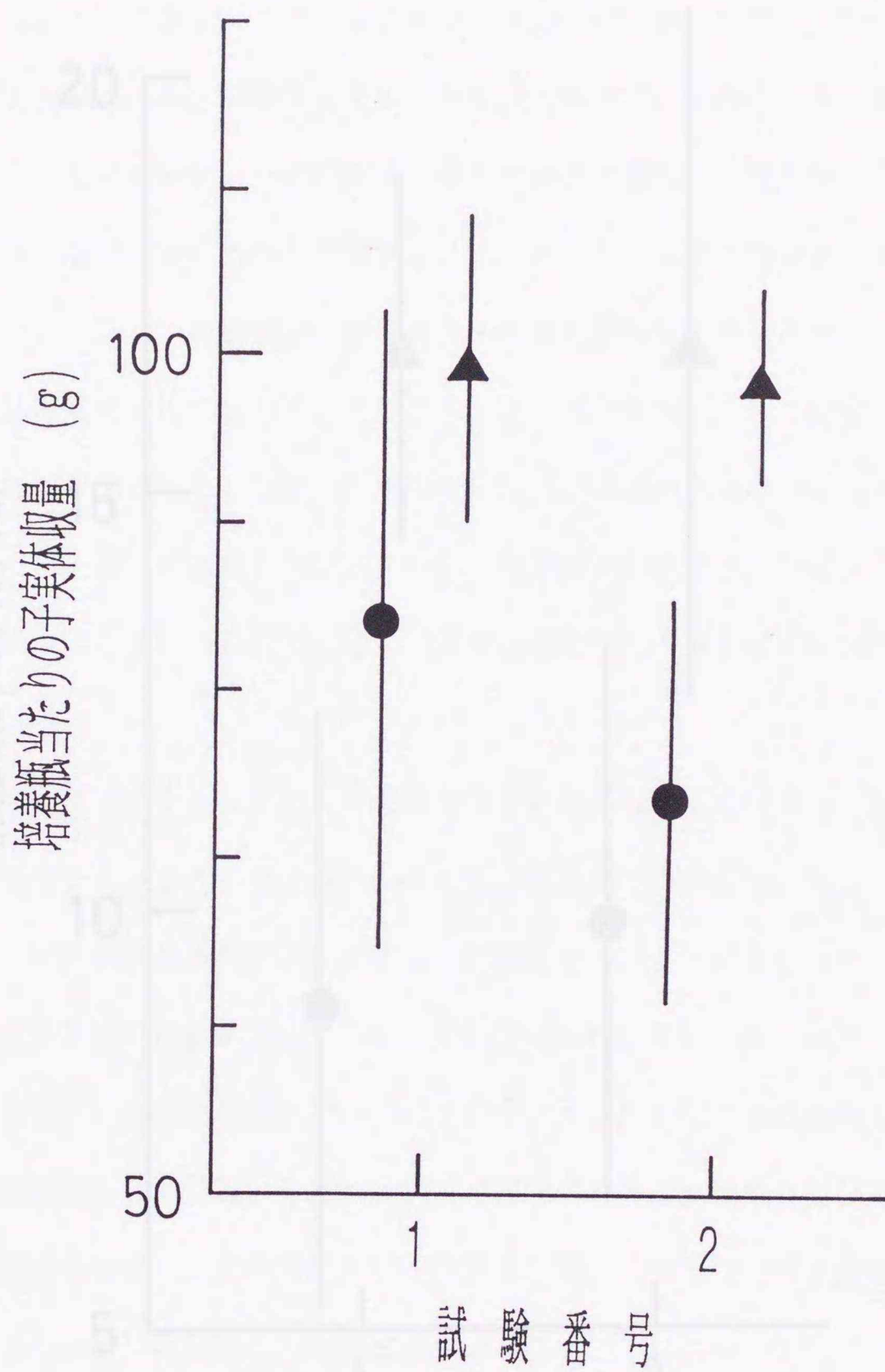


図14 ナラタケ属 (HFP-Am 82-14) の子実体収量に及ぼすニンジンの効果

符号： ●：コントロールの子実体収量，

▲：ニンジンを用いた場合の子実体収量

注： 図中の縦線は標準偏差を示す，

850 ml培養瓶使用

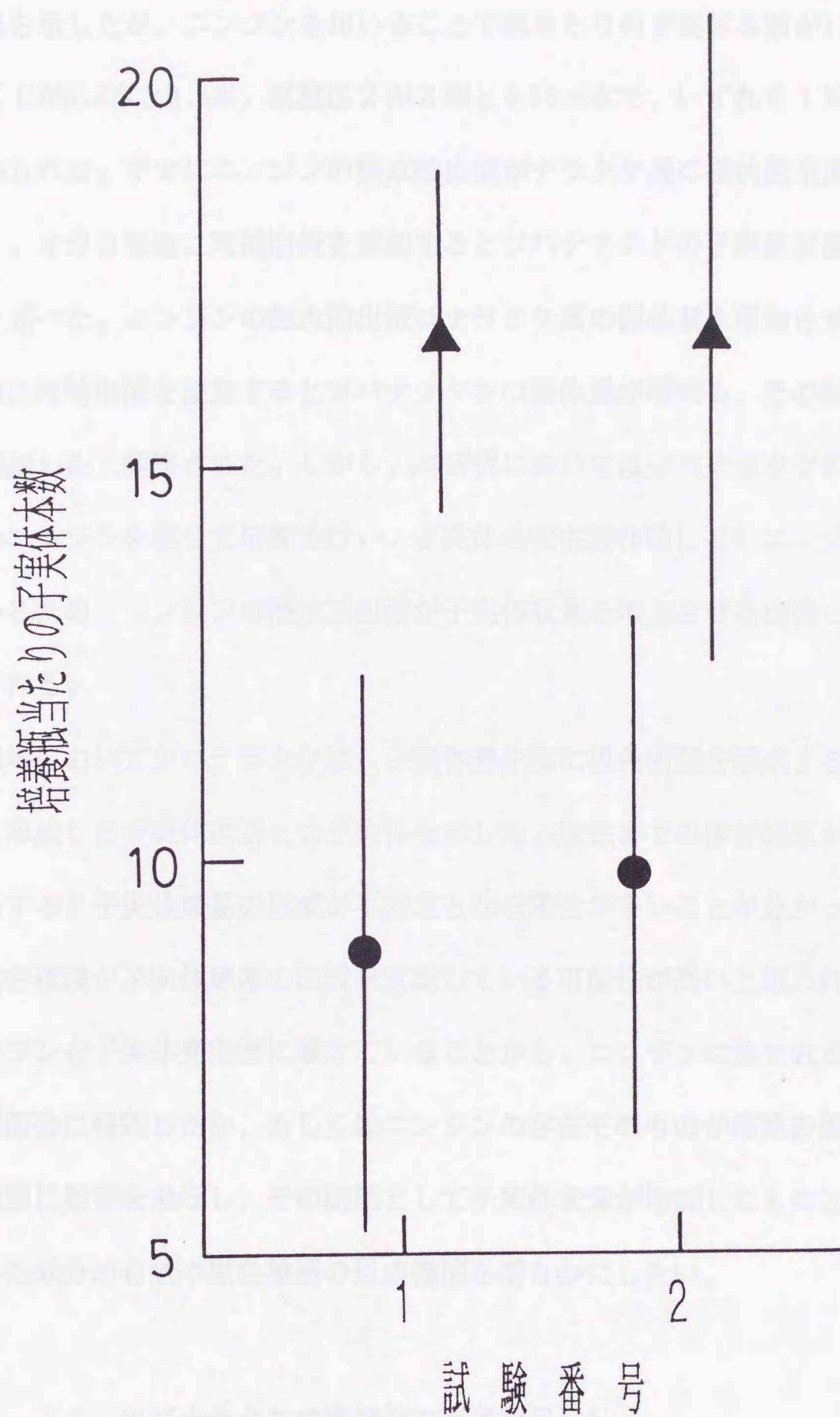


図15 ナラタケ属 (HFP-Am 82-14) の子実体本数に及ぼすエンジンの効果

符号：●：コントロールの子実体本数，

▲：エンジンを用いた場合の子実体本数

注：図中の縦線は標準偏差を示す，

850 ml培養瓶使用

の効果を示したが、ニンジンを用いることで瓶当たりの子実体本数が1.7~1.9倍に増加し、試験区1が8.8本と9.8本、試験区2が2回とも16.6本で、いずれも1%の危険率で有意差が認められた。すでにニンジンの熱水抽出液がナラタケ属の根状菌糸束の形成を促進することと、オガコ培地に同抽出液を添加するとツバナラタケの子実体収量が有意に増加することを述べた。ニンジンの熱水抽出液はナラタケ属の菌体量を増加させることから、オガコ培地に同抽出液を添加するとツバナラタケの菌体量が増大し、その結果として子実体収量が増加したと推察された。しかし、本研究においてはツバナラタケの子実体発生面に磨砕したニンジン載せて培養を行い、子実体の発生操作時にそのニンジンをはほぼ100%除去しているため、ニンジンの熱水抽出液が子実体収量を増加させる機構とは異なっていると考察される。

瓶栽培においてツバナラタケは、子実体発生面に黒色被膜を形成する。写真9に黒色被膜上に形成した子実体原基と幼子実体を示した。現在までの検討結果から、この黒色被膜を除去すると子実体原基の形成が不安定となる場合が多いことが分かっている。したがって、黒色被膜が子実体原基の形成を支配している可能性が高いと思われる。本研究では磨砕ニンジンの子実体発生面に載せていることから、ニンジンに含まれる何らかの成分が培地表面部分に移動したか、もしくはニンジンの存在そのものが培地表面部分に形成される黒色被膜に影響を及ぼし、その結果として子実体収量が増加したものと推察された。今後、そうした成分の有無や黒色被膜の形成機構を明らかにしたい。

I. 2. 14 ツバナラタケの廃培地の有効利用¹²⁴⁾

道特産キノコとしてナラタケ属に注目し、ツバナラタケの瓶栽培技術の確立を目指して種々の検討を行ってきた。一方、ナラタケ属は樹木にならたけ病を引き起こす樹木病原菌であり、わが国ではヒノキ (*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc), カラマツなどの針葉樹のほか、サクラ (*Prunus* spp.), ナラ類 (*Quercus* spp.) など多くの広葉樹に寄生



写真9 黒色被膜上に形成した子実体原基と幼子実体

注： HFP-Am 82-10（右），HFP-Am 82-14（左），
800 ml瓶使用

することが報告されている^{44, 81)}。また、ツバナラタケ属の樹木に対する寄生性としては、主に針葉樹に寄生し病原性には幅があることが報告²⁵⁾されている。したがって、ツバナラタケをはじめとするナラタケ属の人工栽培が行われ、その廃培地が無造作に山林地などに投棄された場合には、ならたけ病の蔓延が危惧されることになる。よって、その人工栽培の実用化を推進するに当たっては、廃培地の処理方法をも併せて検討しなければならない。

廃培地の処理方法の一つとして、ツバナラタケ以外の食用キノコの培地材料としての再利用が考えられる。そうした食用キノコとしては、ツバナラタケの栽培者が同じ施設で栽培すると仮定すれば、ツバナラタケと同一の栽培環境で扱えるものが望ましい。さらに、ツバナラタケの栽培期間（約2か月）よりも栽培期間の短いものであれば、ツバナラタケの廃培地の効率的利用にも有利となる。そこで、ツバナラタケの瓶栽培で産出した廃培地を用いて、ヒラタケの瓶栽培を行い、栽培に要する日数、子実体の形成や収量に与える影響を観察し、廃培地の再利用の可能性を検討した。

実験方法

供試菌株と種菌： ヒラタケの供試菌株として、(有)大貫菌草H101号と林産試験場保存株HFP-P0 89-1を用いた。これらの菌株の保存は、ポテトデキストロース寒天（以下、PDAと略す）斜面培地を用いた継代培養法により行っている。栽培試験に用いた種菌は、これらの菌株のオガコ種菌で、以下のように作製した。すなわち、850 mlの培養瓶1本当たり、水分17.8%（湿重量基準、以下同じ）のダケカンバのオガコ139.9 gと水分17.0%のフスマ72.3 gを混合し、水道水287.8 gを加えて全体の水分を65%にした培地を調製し、それを高圧殺菌後、寒天培地から切り出した菌体を接種し、 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $70 \pm 5\%$ 、暗黒下で25日間培養した。

栽培培地の調製：

1) 広葉樹オガコとの比較

850 mlの培養瓶 1 本当たり，コントロールである試験区 1 として水分12.4%のダケカンバのオガコ129.1 g，水分15.0%のフスマ100.0 gを混合し，水道水336.0 gを加えて全体の水分を65%にした培地を作製した。試験区 2 として水分 60.6%のツバナラタケの廃培地 286.8 g，水分15.0%のフスマ100.0 gを混合し，水道水178.2 gを加えて全体の水分を65%にした培地を作製した。試験区 3 として水分60.6%のツバナラタケの廃培地502.5 gに水道水62.5 gを加えて全体の水分を65%にした培地を作製した。

2) 針葉樹オガコとの比較

850 mlの培養瓶 1 本当たり，コントロールである試験区 4 として水分12.0%のエゾマツオガコ80.7 g，水分15.0%のフスマ100.0 g，消石灰0.9 gを混合し，水道水264.3 gを加えて全体の水分を65%にした培地を作製した。試験区 5 として水分62.6%のツバナラタケの廃培地267.4 g，水分15.0%のフスマ100.0 gを混合し，水道水を162.6 gを加えて全体の水分を65%にした培地を作製した。試験区 6 として水分62.6%のツバナラタケの廃培地 133.7 g，水分12.0%のエゾマツのオガコ40.3 g，水分15.0%のフスマ100.0 g，消石灰 0.45 gを混合し，水道水を212.0 gを加えて全体の水分を65%にした培地を作製した。

これらの培地は培養瓶に充填し，いずれも培地中央に直径15 mmの接種穴をあけた後，高圧殺菌した。培養瓶の供試数は，広葉樹オガコとの比較試験では試験区 1 と 2 が16本で試験区 3 が11本，針葉樹オガコとの比較試験ではいずれの試験区も18本とした。なお，ツバナラタケの廃培地は，カンバオガコと米ぬかを用いてHFP-Am 82-10および同82-14を栽培した際に産出したものを等量で混合したものである。

種菌の接種方法： 培養瓶 1 本当たり種菌を培地上部と接種穴に 9 ～10 g接種した。

培養条件： ツバナラタケと同じ環境下，温度 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70 \pm 5\%$ ，暗黒下で培養し，菌回り日数を測定した。培養日数は，試験区ごとに供試した全ての培養瓶の菌回りが完了するまでとした。

子実体の原基形成と生育： 培養後，菌掻き（培地上部に接種した種菌を除去するとともに，菌床の表面を掻き取る）を行い，水道水を用いて3時間の注水を行った。ツバナラタケと同じく，温度 $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $85\pm 5\%$ ，照度 350 lx （照射時間 12 h/day ）の環境下で子実体の原基形成と生育を行った。なお，子実体原基が形成されるまで，直径 1 mm の孔を有するポリエチレン製の有孔シートで培養瓶の瓶口を覆った。そして，原基形成日数と採取日数を測定した。

子実体の採取： 子実体の採取は瓶ごとに行った。採取時期は子実体の傘の巻き込みが無くなった時点とし，その生重量を測定して子実体収量を求めた。

水分とpHの測定： 1. 2. 6 (p.30)と同様に行った。

結果と考察

1) 広葉樹オガコとの比較

表17にヒラタケ（H101号）栽培における広葉樹オガコとツバナラタケ廃培地の比較（試験区1～3）結果を示した。菌回り日数はコントロールの試験区1が14.6日で最も短く，廃培地にフスマを加えた試験区2が17.5日，廃培地を水分調整しただけの試験区3では20.4日を要した。統計処理を行ったところ，試験区1に対して試験区2と3のいずれも1%の危険率で有意差が認められた。この原因の一つとしては，各試験区の培地pHの影響があると思われる。すなわち，高圧殺菌後の培地pHの値は試験区1が5.6，同2が5.0，同3が4.0であった。ヒラタケの栄養成長の最適pHは，5～6の範囲にあり²⁾，その値を外れるとその成長速度が低下する。ナラタケはジテルペノイド酸などいくつかの有機酸を代謝する³⁾ことが報告されている。ツバナラタケの廃培地を用いて調製した栽培培地のpHが低いのは，そうした代謝産物の影響によるものと推察される。

表17 ヒラタケ (H101) 栽培における

広葉樹オガコとツバナラタケ廃培地の比較

試験区 No.	1	2	3
培地基材	ダケカンバ のオガコ	ツバナラタケ の廃培地	ツバナラタケ の廃培地
培地添加物	フスマ		無
菌回り日数	$14.6 \pm 0.8^a)$	$17.5 \pm 1.2^c)$	$20.4 \pm 1.2^c)$
培養日数	16	20	22
原基形成日数	17.7 ± 4.9	$8.8 \pm 3.0^c)$	17.0 ± 1.2
採取日数	22.5 ± 4.8	$12.7 \pm 2.8^c)$	22.9 ± 1.2
栽培日数	38.5 ± 4.8	$32.7 \pm 2.8^c)$	$45.0 \pm 1.5^c)$
子実体収量 (g/瓶)	85.4 ± 16.5	$96.9 \pm 11.2^b)$	$35.4 \pm 13.7^c)$

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：試験区1に対して5%の危険率で有意差が認められた，^{c)}：試験区1に対して1%の危険率で有意差が認められた

注：各試験区の培養瓶 (850 ml) の供試本数は，試験区1と同2が16本，同3が11本，
栽培日数=培養日数+採取日数

原基形成日数は試験区1と3では約17日を要したが、同2では8.8日と短かった。そのために、試験区2の採取日数は12.7日となり、試験区1および3（22.5および22.9日）と比較して約10日早まった。これにより、試験区2の栽培日数は試験区1の38.5日より約6日短縮され32.7日となった。試験区2における原基形成日数、採取日数、および栽培日数については、試験区1と3における各日数に対して1%の危険率で有意差が認められた。

子実体収量については、試験区2が96.9gと最も大きく、85.4gの試験区1に対して5%の危険率で有意差が認められた。しかし、試験区3は34.5gで、試験区1の約40%しかなく、ツバナラタケの廃培地を水分調整するのみでヒラタケの培地として再利用することは難しいことが分かった。試験区2においてヒラタケの子実体原基の形成が効率的に行われ、かつ子実体収量がコントロールの試験区1より増加した原因は不明であるが、ツバナラタケの廃培地をヒラタケの培地基材として再利用するに当たっては望ましい結果となった。

表18にはヒラタケ（HFP-Po 89-1）栽培における広葉樹オガコとツバナラタケ廃培地の比較（試験区1と2）結果を示した。H101号の結果と同様に、コントロールの試験区1に対して試験区2の菌回り日数が長く、原基形成日数と採取日数および栽培日数が短かった。両試験区におけるこれらの日数の間には1%の危険率で有意差が認められた。子実体収量については、試験区1が102.1gで試験区2の90.9gより大きく1%の危険率で有意差が認められた。ツバナラタケの廃培地を培地基材として用いた場合、コントロールより子実体収量の増加が期待できる菌株とできない菌株があることが分かった。

写真10には試験区2のツバナラタケの廃培地にフスマを添加した培地から発生したヒラタケの子実体（H101号とHFP-Po 89-1）を示した。いずれの菌株にも形態の乱れは観察されなかった。

2) 針葉樹オガコとの比較

実際のヒラタケ栽培で用いられている木粉の樹種としては、安価で大量に入手可能な針葉樹が一般的である^{55, 98)}。そこで、エゾマツのオガコとツバナラタケの廃培地をそれぞ

表 1 8 ヒラタケ (HFP-Po 98-1) 栽培における

広葉樹オガコとツバナラタケ廃培地の比較

試験区 No.	1	2
培地基材	ダケカンバのオガコ	ツバナラタケの廃培地
培地添加物	フスマ	
菌回り日数	$14.1 \pm 0.7^{a)}$	$18.1 \pm 1.3^{b)}$
培養日数	16	20
原基形成日数	9.4 ± 1.9	$1.9 \pm 1.1^{b)}$
採取日数	14.3 ± 2.1	$6.1 \pm 1.1^{b)}$
栽培日数	30.2 ± 2.1	$26.1 \pm 1.1^{b)}$
子実体収量 (g/瓶)	102.1 ± 11.2	$90.9 \pm 8.9^{b)}$

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：試験区 1 に対して 1 % の危険率で有意差が認められた

注：各試験区の培養瓶 (850 ml) の供試本数は 16 本，
栽培日数 = 培養日数 + 採取日数



写真10 ツバナラタケの廃培地にフスマを添加した培地から
発生したヒラタケの子実体

注： 大貫菌草H101号（上），HFP-Po 89-1（下），
850 ml瓶使用

れ単独、および混合してH101号の栽培試験を行った。

1) の広葉樹オガコとの比較で廃培地にフスマを加えた試験区2でコントロールの試験区1より菌回りが遅れたことから、そうした欠点を改善する試みの一つとして、栽培培地中の廃培地の比率を下げるために、試験区5では培養瓶当たりの廃培地の充填量を試験区2と比較して1割程度減少させた。また、試験区4と試験区5の培養瓶当たりのエゾマツのオガコと廃培地の充填量が異なっているのは、両者の密度が異なることと、いずれの試験区についても、培養瓶当たりのフスマの添加量を一定にしながら、培地の詰め込み固さをほぼ等しくなるように設定したためである。ヒラタケの栽培に針葉樹を用いる場合には培地重量の0.2%程度の消石灰を添加すると子実体収量が増加する^{30, 98)}ことが報告されていることから、試験区4において所定量の消石灰を添加した。試験区6では同4と比較して培養瓶当たりのエゾマツのオガコ量がほぼ半分であるため、培養瓶当たりの消石灰添加量を試験区4の半量とした。高圧殺菌後の培地pHの値は、試験区4が6.2、同5が5.1、同6が5.6であった。

表19にヒラタケ(H101)栽培における針葉樹オガコとツバナラタケ廃培地の比較(試験区4~6)結果を示した。菌回り日数はコントロールの試験区4が14.3日で最も短く、以下試験区6が15.2日、同5が15.7日でコントロールに対して1または5%の危険率で有意差が認められた。この試験区5の菌回り日数は1)の広葉樹オガコとの比較における試験区2の値17.5と比較して約2日短かった。原基形成日数と採取日数については、1)と同様に廃培地にフスマを加えた試験区5が8.7と12.9日で最も短く、以下、廃培地とエゾマツのオガコおよびフスマを混合した試験区6が14.4と17.7日、エゾマツのオガコにフスマを加えた試験区4が15.8と19.9日であった。

子実体収量については、試験区5の91.9gが最も大きく、以下、試験区6の75.3g、試験区4の61.3gで、試験区5の子実体収量は試験区4と6に対して1%の危険率で有意差が認められた。

いずれの試験区の培養瓶当たりのフスマ添加量は等しいが、培地充填量は異なっている。

表19 ヒラタケ (H101) 栽培における

針葉樹オガコとツバナラタケ廃培地の比較

試験区 No.	4	5	6
培地基材	エゾマツ のオガコ	ツバナラタケ の廃培地	エゾマツのオガコ + ツバナラタケ の廃培地
菌回り日数	14.3±0.8 ^{a)}	15.7±1.0 ^{c)}	15.2±1.2 ^{b)}
培養日数	17	17	17
原基形成日数	15.8±3.6	8.7±1.8 ^{c)}	14.4±1.5
採取日数	19.9±4.9	12.9±1.7 ^{c)}	17.7±1.5
栽培日数	36.9±4.9	29.9±1.7 ^{c)}	34.7±1.5
子実体収量 (g/瓶)	61.3±29.0	91.9±10.1 ^{c)}	75.3±21.7

符号：^{a)}：平均値±標準偏差，^{b)}：試験区4に対して5%の危険率で有意差が認められた，^{c)}：試験区4に対して1%の危険率で有意差が認められた

注：培地添加物はフスマを使用，試験区4と6には消石灰を添加した，
各試験区の培養瓶 (850 ml) の供試本数は18本，
栽培日数＝培養日数＋採取日数

そこで、培地500 g当たりの子実体収量を算出すると、試験区4が68.7 g、試験区5が86.7 g、試験区6が77.4 gで試験区5の値が最も高く、試験区4が最も低かった。試験区6は試験区4と5の平均値とほぼ等しい値となった。

Ohgaらはエノキタケの廃培地を野外での散水等によるエイジング処理を行えば、シイタケ菌床栽培の培地材料に利用可能であること、廃培地には微生物が利用し易い成分が含まれていることを報告⁸⁰⁾している。したがって、エイジングまたは貯蔵時に種々の微生物が繁殖しやすく、廃培地の管理方法によってはキノコ栽培施設の雑菌汚染を招く危険性が生じる。一方、ならたけ病の蔓延が危惧されるため何らかの廃培地処理が必須となるツバナラタケの菌床栽培において、そうしたエイジングなどの前処理を施すことなく、廃培地がヒラタケの培地材料として利用可能であることは、ツバナラタケの栽培を実用化の推進に当たって非常に有益である。

I. 3 シイタケの菌床栽培技術

I. 3. 1 菌床シイタケ発生施設の真菌汚染状況¹²¹⁾

Trichoderma spp.をはじめとするシイタケ菌床のカビ汚染対策を確立するための第一歩として、道内の菌床シイタケ発生施設の真菌汚染状況の把握を試みた。平成5年(1993年)4月から同6年12月の期間に道内8支庁にわたる24施設(林産試験場の発生施設も含む)の落下真菌数と落下真菌相を調査した。

実験方法

落下真菌の採取：ポテトデキストロース寒天(以下、PDAと略す)培地を直径9cmのシャーレに16~18 ml分注して作製した平板を発生施設1カ所当たり5枚供試し、床から約1mの高さの位置⁵⁸⁾で5分間開放⁶⁰⁾して行った。

落下真菌数の測定と同定：落下真菌を採取したPDA平板培地を25℃で5~7日間培養し、生菌数を計測するとともに、目視によるコロニーの特徴と、顕微鏡による分生子柄や分生孢子の観察結果から属レベルの同定を試みた^{4, 62, 130, 133)}。

結果と考察

図16に落下真菌調査を行った菌床シイタケ発生施設の地域分布を示した。道内14支庁のうち8支庁に亘る24施設について調査を行った。図に示した各支庁区域内の数値は調査した施設数を示している。また、写真11に北海道における代表的な菌床シイタケ発生施設の例を示した。道内の一般的な菌床発生施設は、50坪程度の簡易ハウスで、2.5kg詰め菌床で3,000~5,000個程度が入っており、周年栽培方式が主流である。一部エアコンを装備しているハウスもあるが、ほとんどは暖房設備のみである。

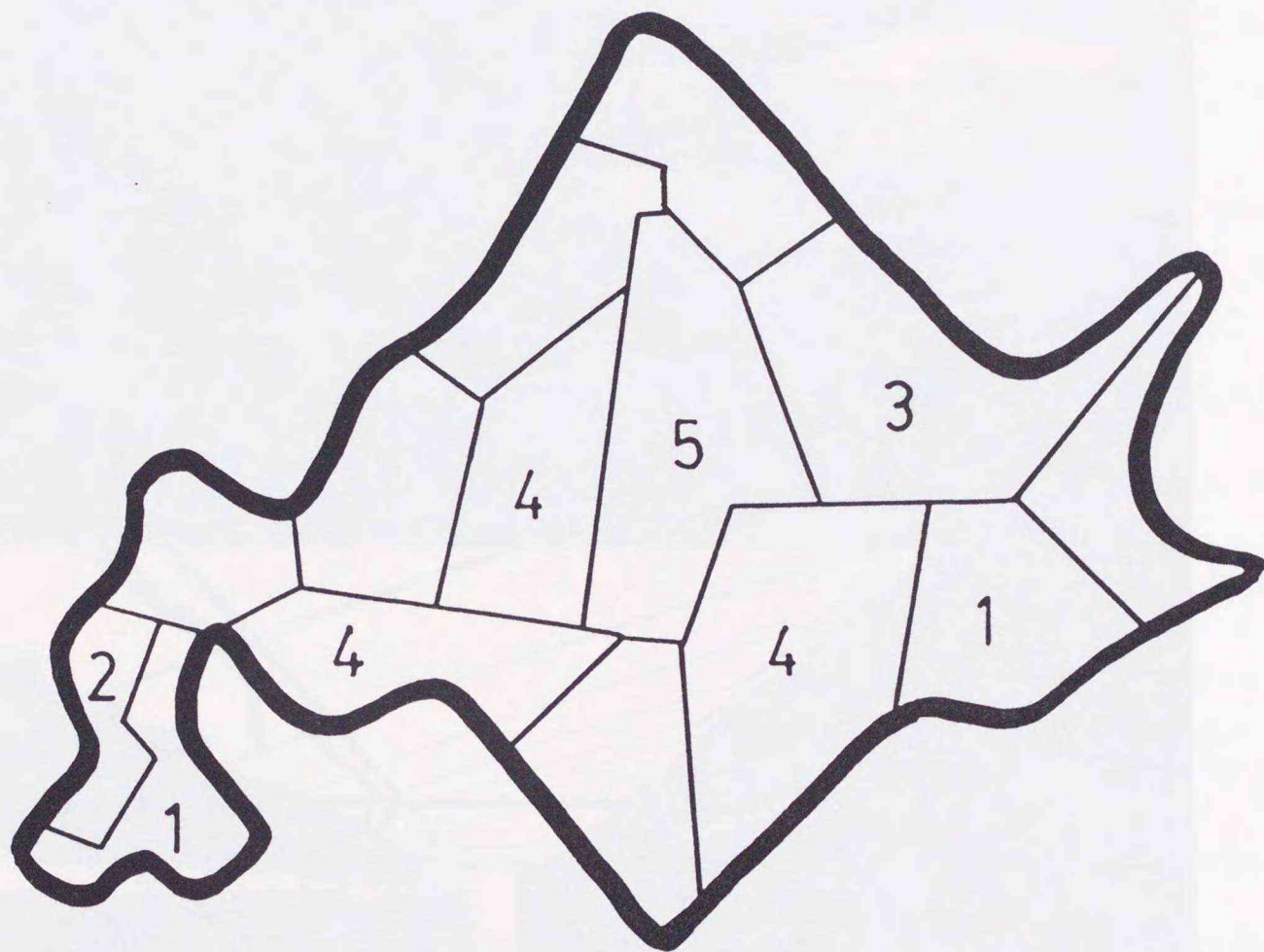


図 1 6 落下真菌調査を行った菌床シイタケ発生施設の分布図

注： 8 支庁管内にわたって 2 4 施設を調査した，
図中の数値は発生調査した施設数を示す



写真11 北海道における代表的な菌床シイタケ発生施設の例

注：暖房設備のみを有すビニールハウスの外見（上）と
ハウス内部（下），富良野市の施設

表20に落下真菌調査施設のシイタケ菌株と給水方法を示した。24施設中70%余りの17施設で、(株)北研製の北研600号が用いられていた。北研600号の菌床については水風呂の中に菌床を漬ける、浸水による給水が採用されていた。

図17に平板培地1枚当たりの落下真菌数とシイタケ発生施設数のヒストグラムを示した。約80%の施設の落下真菌数は30個以内であったが、一部には100個を超える施設もみられた。24全施設の平均落下真菌数は平板培地当たり29.4個(範囲:6.0~142.4個)であった。

図18には全落下真菌数について各真菌の占有率を示した。落下真菌数の71.4%を *Penicillium* spp. が占め、以下、菌糸型不完全菌類 12.4%, *Cladosporium* spp. 6.7%, 酵母 2.5%, *Trichoderma* spp. 1.9%, その他5.1%であった。また、図19には調査した施設単位での真菌の検出率を示した。その結果、*Penicillium* spp. が最も高く95.8%の施設で検出され、以下、*Cladosporium* spp. および菌糸型不完全菌類 83.3%, *Trichoderma* spp. 70.8%, 酵母 62.5%, 接合菌類 37.5%, *Acremonium* spp. 20.8%であった。

写真12にシイタケ菌床の発生した真菌汚染、*Trichoderma* spp. と *Penicillium* spp. を示す。以上の結果から、シイタケ菌床上に頻発し菌床にダメージを与える *Trichoderma* spp. は落下菌としての数は少ないものの、多くの施設に分布していることが明らかになった。落下真菌として数が少ないにもかかわらず多くのシイタケ菌床に *Trichoderma* spp. の被害がみられる^{114, 117)}のは、菌床への水の補給として行われる散水や浸水操作時に水を媒介にして *Trichoderma* spp. の孢子等が菌床間を移動する⁹⁷⁾ことによると考察される。さらに、シイタケ菌床に *Penicillium* spp. が発生しやすい^{114, 117)}のは、落下真菌数の占有率や施設単位における検出率が高いことが大きく影響しているためと考察される。一方、*Cladosporium* spp. は、*Trichoderma* spp. より占有率や検出率が高いにもかかわらず、菌床における汚染度が低いことから、シイタケ菌床への影響は少ないものと考えられる。

図20には調査した各施設の *Penicillium* spp. 数と落下真菌数の関係を示した。その結果、落下真菌が30個を超える施設では *Penicillium* spp. が落下菌数を支配していることが示された。両者の相関係数(γ)は高く、その値は0.997であった。したがって、菌床シイタケ

表 2 0 落下真菌調査施設のシイタケ菌株と給水方法

菌 株	施 設 数	給 水 方 法
北 研 6 0 0 号	1 7	浸 水
明 治 9 K - 4	2	散 水
台 湾 方 式	2	散 水
自 社 開 発 株	2	散 水
松 原 食 茸 株	1	散 水
合 計	2 4	

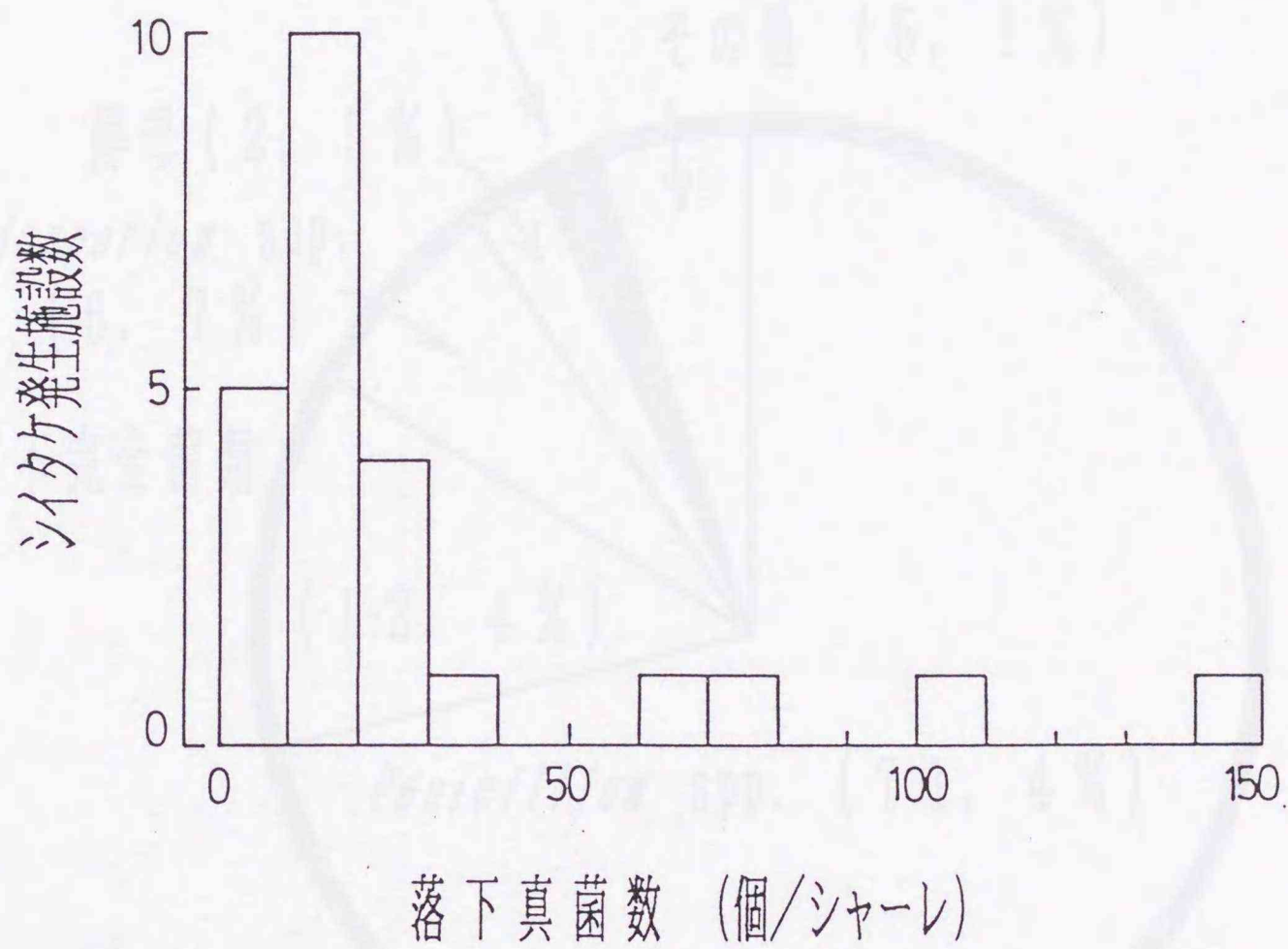


図 1 7 落下真菌数とシイタケ発生施設数のヒストグラム

注： 24施設 の 平均 落下 真菌 数は 29.4 (個 / シャール) ,

24施設 の 落下 真菌 数の 範囲 は

6.0 ~ 142.4 (個 / シャール)

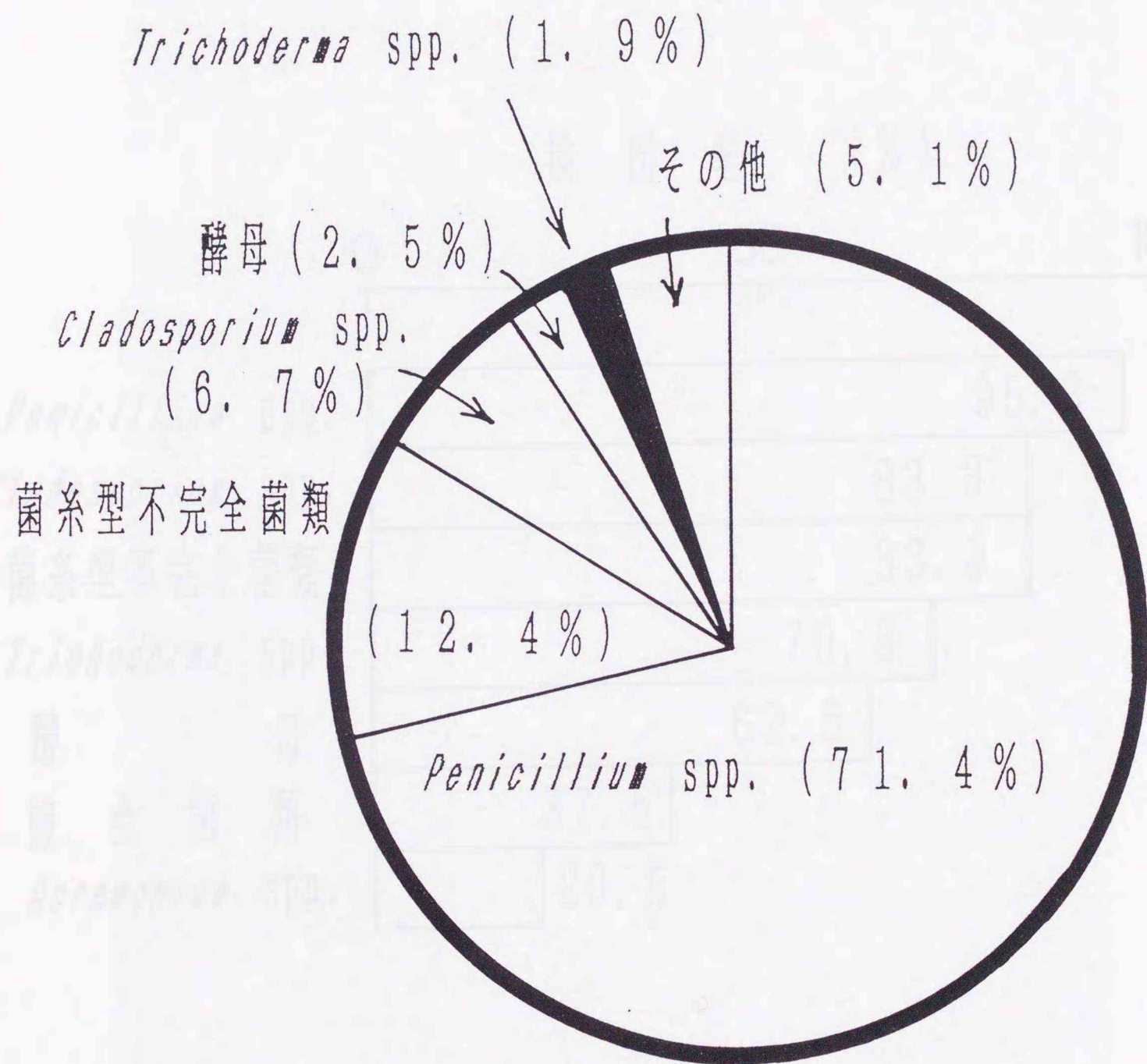


図18 各真菌数の占有率

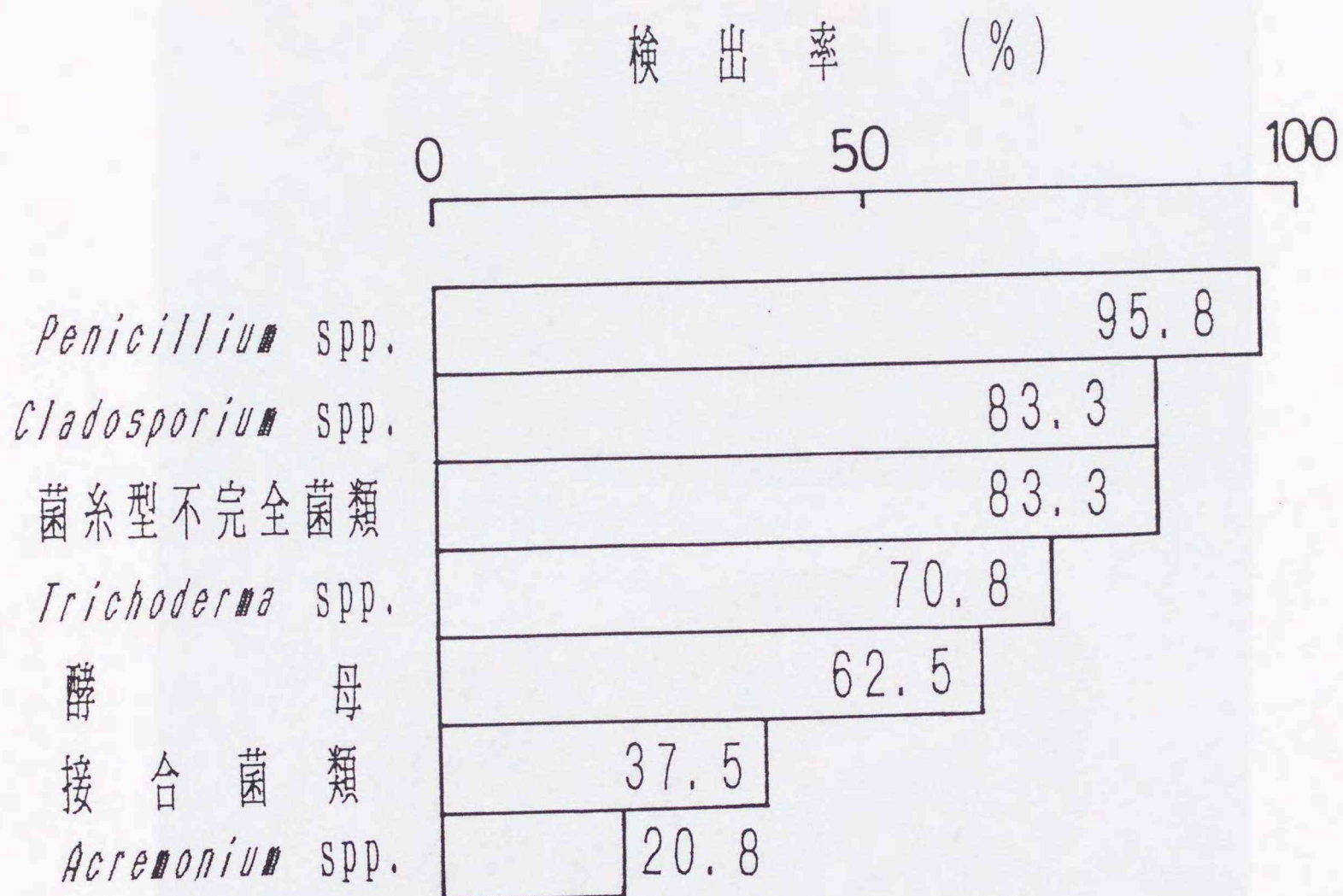


図19 施設単位での真菌の検出率

写真2 タイタケ菌座に発生した菌類の検出

Trichoderma spp. (上) と *Penicillium* spp. (下)

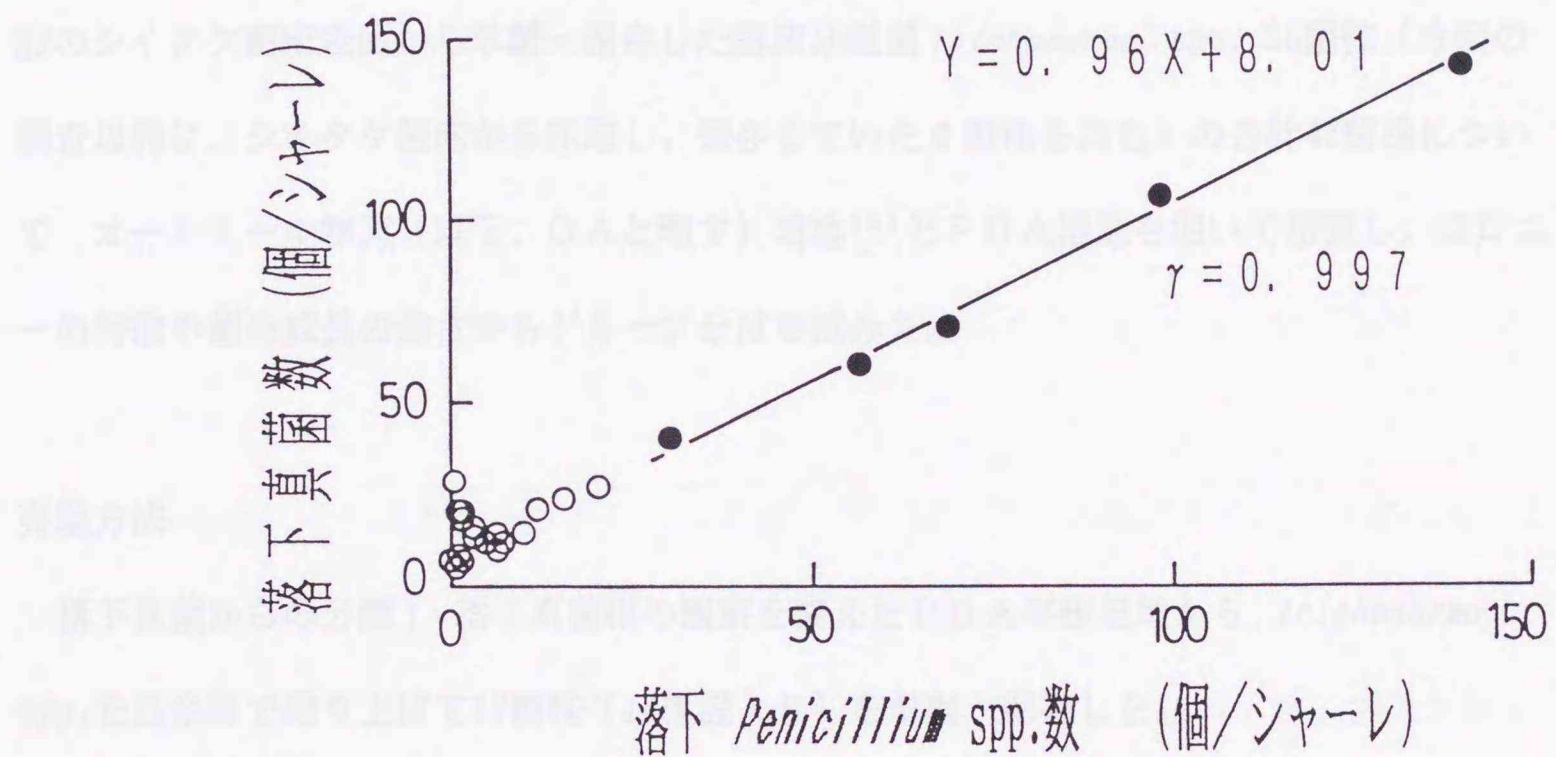


写真12 シイタケ菌床に発生した真菌汚染,
Trichoderma spp. (上)と *Penicillium* spp. (下)

落菌数の増加傾向の指標として、 $Penicillium$ spp. 数を、施設内の落下真菌数を定量的に調査し、 $Penicillium$ spp. が増加傾向を示した施設での調査を行うなど等の調査管理マニュアルの基幹として活用することをお考えられたらう。

2. 3. 2. 落下 $Penicillium$ spp. 数と落下真菌数の関係

7 施設の調査での落下真菌数から算出・算出した落下 $Penicillium$ spp. 数と落下真菌数の関係



発生施設内の真菌汚染の指標として *Penicillium* spp. に注目し、施設内の落下真菌を定期的に測定し、*Penicillium* spp. が増加傾向を示したら施設内の消毒を行うなど等の施設管理マニュアルの基準として活用することも考えられよう。

I. 3. 2 菌床シイタケ発生施設の *Trichoderma* spp.¹²¹⁾

今回の調査での落下真菌から単離・保存した落下菌 *Trichoderma* spp. 17菌株と各発生施設のシイタケ菌床表面から単離・保存した菌床分離菌 *Trichoderma* spp. 25菌株（今回の調査以前に、シイタケ菌床から採取し、保存していた4菌株を含む）の合計42菌株について、オートミール寒天（以下、OAと略す）培地⁹⁵⁾とPDA培地を用いて培養し、コロニーの特徴や菌糸成長の速さからグループ分けを試みた。

実験方法

落下真菌からの分離：落下真菌相の観察を終えたPDA平板培地から *Trichoderma* spp. を白金耳で釣り上げて17菌株（14施設より）を単離・保存した。

シイタケ菌床表面からの分離：シイタケ発生施設のシイタケ菌床から無作為に *Trichoderma* spp. の集落と思われる部分を消毒用エタノールで処理した白金耳で掻き取り、PDA平板培地に接種・培養した。*Trichoderma* spp. と確認できたものについて25菌株（20施設より）を単離・保存した。

Trichoderma spp. のグループ分：分離した *Trichoderma* spp. 42菌株についてOAおよびPDA平板培地各6枚に接種し、25℃、照度200～350 lxの環境下で培養した。菌糸成長の速さやコロニーの特徴からグループ分けを行った。接種の方法としては、平板培地の中央への1点植えと、正三角形の3点植え⁸²⁾の二種類を用い、それぞれ3枚の平板培地を

供試した。接種源としては、OA平板培地で7日程度培養したコロに一の外周部分から菌糸を含む胞子を一白金耳釣り上げたものを用いた。

結果と考察

落下真菌からの17菌株と菌床からの25菌株の合計42菌株の *Trichoderma* spp. についてグループ分け試みた結果、それらは少なくとも4グループ（1～4型）に分けられた。表21に *Trichoderma* spp. の4グループの特徴をまとめて示した。また、写真13には *Trichoderma* spp. の4グループのOA平板培地でのコロニーを示した。表21中の菌糸成長の「遅い」とは直径9 cmの平板培地の中央にそれらの胞子を一白金耳接種して25℃で培養した場合に、その平板いっぱいにコロニーが成長するのに少なくとも5日間を要することを示し、「速い」とは同様の操作で平板いっぱいにコロニーが成長するのに3日間で十分であることを示している。

Trichoderma spp. をグループ分けした結果、落下菌、菌床分離菌に限らず1型の検出率が50%以上と高かった。*Trichoderma* spp. 1型のPDA平板培地でのコロニーを写真14に示したが、1型は4グループ内で唯一PDA平板培地で同心円状に成長しない特徴を有していた。

表22には *Trichoderma* spp. 落下菌のグループ分けと給水方法をまとめて示した。菌床の給水方法に関係なく1型の検出率が高く50%以上を占めた。サンプル数が少なかったためか、散水方式では3と4型が検出されなかった。また、表23には *Trichoderma* spp. 菌床分離菌のグループ分けと給水方法をまとめて示した。落下菌の *Trichoderma* spp. の場合とほぼ同様の結果となっているが、4型が検出されなかった点が異なっていた。しかし、その後の調査で林産試験場のシイタケ菌床から4型を検出している。

以上から、道内の菌床シイタケ発生施設の *Trichoderma* spp. としては1型が優占的に存在している可能性が示唆された。さらに、落下菌としても菌床分離菌としても1型の *Trichoderma* spp. が高い確率で検出されたことは、最初に落下菌としての *Trichoderma* spp.

表 2 1 *Trichoderma* spp. の 4 グループ の 特 徴

	○ A 平 板 培 地 で の 菌 糸 成 長	P D A 平 板 培 地 で の 菌 糸 成 長	○ A 平 板 培 地 で の コ ロ ニ ー 特 徴
1 型	遅 い ^{a)}		綿 状
2 型	速 い ^{b)}		フ ェ ル ト 状
3 型			毛 玉
4 型			綿 状

符 号 : ^{a)} : 温 度 25℃ で 培 養 し た 場 合 に , 直 径 9 cm の 平 板 培 地 全
面 に コ ロ ニ ー が 成 長 す る の に 少 な く と も 5 日 を 要 す る ,

^{b)} : 温 度 25℃ で 培 養 し た 場 合 に , 3 日 で 直 径 9 cm の 平 板
培 地 全 面 に コ ロ ニ ー が 成 長 す る

注 : 1 型 は P D A 培 地 で 同 心 状 に 成 長 し な い 特 徴 を 有 す

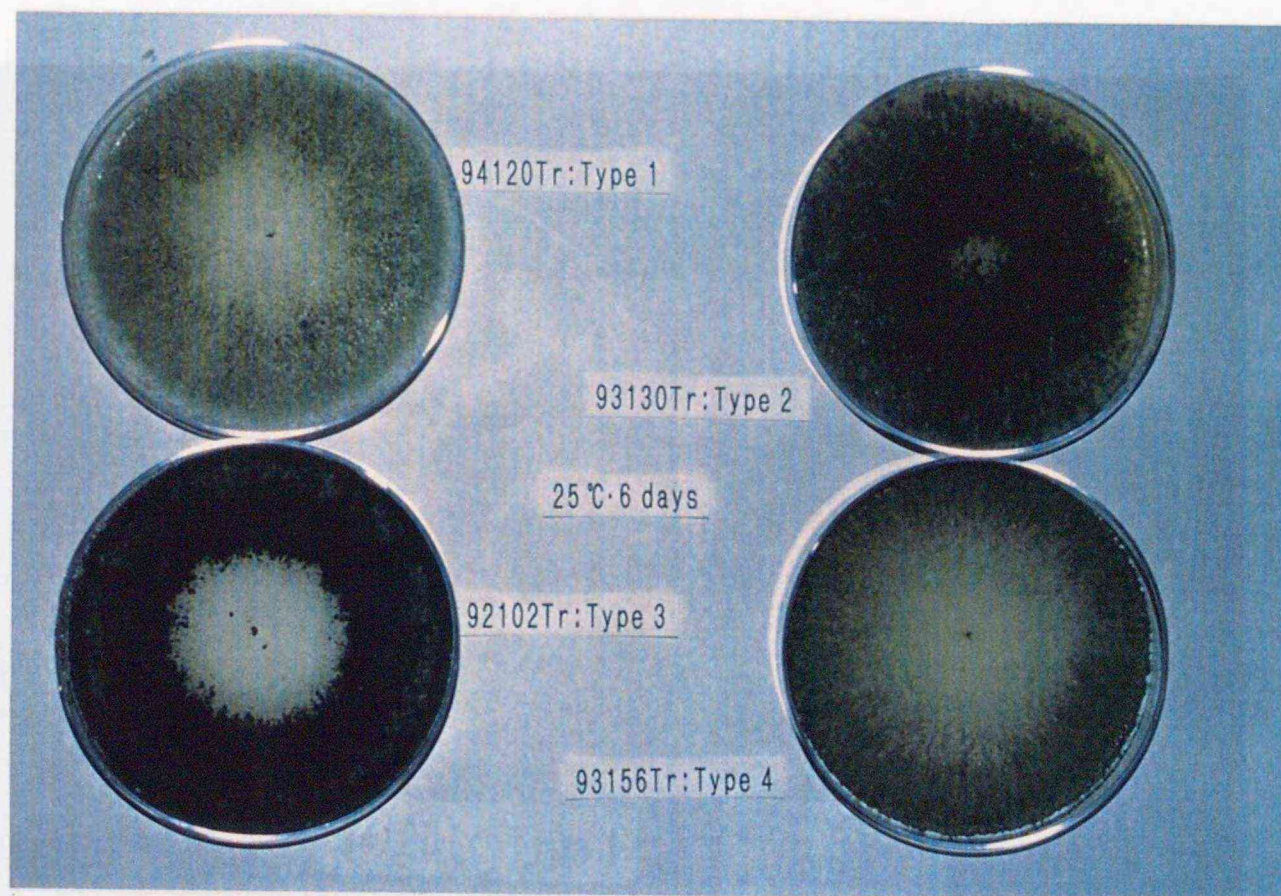


写真13 *Trichoderma* spp. 4グループのOA平板培地でのコロニー

注： 1型（上左：94120Tr），2型（上右：93130Tr），
3型（下左：92102Tr），4型（上右：93156Tr），
温度25℃，照度200～350 lx，6日間培養

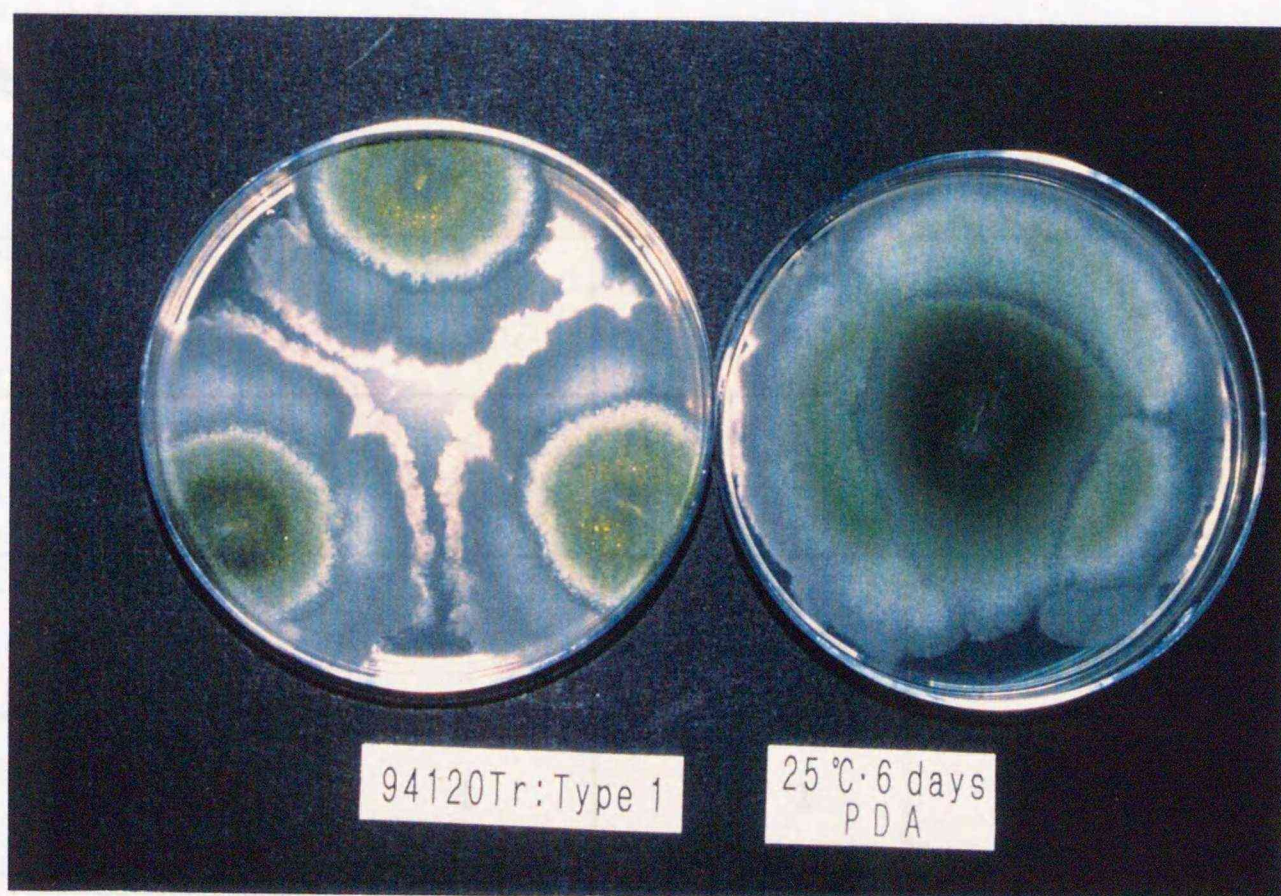


写真14 *Trichoderma* spp. 1型のPDA平板培地でのコロニー

注： 温度25℃，照度200～350 lx，6日間培養

表 2 2 *Trichoderma* spp. 落下菌の
グループ分けと給水方法

	株 数	浸水方式	散水方式
1 型	1 0	7	3
2 型	3	2	1
3 型	1	1	0
4 型	3	3	0
合 計	1 7	1 3	4

* : 1 4 施設の落下菌からトリコデルマを分離した

の菌床が菌床に落ち、タイプに被害を及ぼすことが観察され、これとして得られたものと推定される。また、菌床で菌床が被害を受け、タイプ菌床上を *Trichoderma* spp. のコブが形成し、そのコブの菌床が菌床に落ち、被害を及ぼすことが観察された。

なお、これらのグループについて、コブの形成や菌床の被害を予備的に試みた。その結果、1型は *Trichoderma* spp. のコブが形成され、菌床に被害を及ぼすことが観察された。

表 2 3 *Trichoderma* spp. 菌床分離菌の
グループ分けと給水方法

	株 数	浸水方式	散水方式
1 型	1 4	9	5
2 型	7	6	1
3 型	4	4	0
4 型	0	0	0
合 計	2 5	1 9	6

* : 2 0 施設の菌床からトリコデルマを分離した

の孢子等が菌床に落ち、シイタケに被害を及ぼすことが状況証拠として得られたものと考察される。条件次第で孢子が発芽後、シイタケ菌床上を *Trichoderma* spp. のコロニーが成長し、そのコロニーの孢子が給水時に水の移動とともに健全な菌床に移動する⁹⁶⁾と推察される。

また、これら4グループについて、コロニーの特徴等から種レベルの同定を予備的に試みた。その結果、1型は *T. koningi* Oud.^{128, 133)}、2型は *T. harzianum* Rifai^{128, 133)}、3型は *T. viride* Press.: Gray¹⁴⁶⁾ または *Hypocrea meroi* 型¹²⁸⁾ に類似した。4型はOA平板培地上のコロニーの形態的特徴は1型に似ているものの、PDA平板培地での挙動や、菌糸成長速度が異なり予備的判定ができなかった。

シイタケの原木栽培における *Trichoderma* spp. に関する小松の報告⁵⁹⁾ によれば、シイタケのホダ木から分離されるものとしては *T. harzianum* や *T. viride* の検出率が高く、*T. koningi* は低い。こうした点は、本研究結果と異なる。また、小松はホダ場土壌からは *T. koningi* の検出率が高いことも述べている。土ほこりとともに *Trichoderma* spp. の孢子が空中を移動するならば³⁹⁾、落下菌として *T. koningi* の検出率が高くなる可能性が考えられる。一方、原木栽培と異なり、バリケードともいえる樹皮で覆われていない菌床上では褐色被膜が菌床全体を覆っているものの、病原性や侵入力の強弱といったふりいが十分に機能せずに、まず数の多いものが優先して活動を始める可能性が考えられる。写真15にはシイタケ菌床（北研600号）に発生した *Trichoderma* spp. 1型のコロニーを示した。

I. 3. 3 *Trichoderma* spp. のベノミル剤耐性

I. 3. 2 で分離した *Trichoderma* spp. の薬剤耐性を把握するために、防黴処理の薬剤として、食用キノコの栽培施設内の散布や栽培培地への添加が認められているベノミル水和剤⁵³⁾（商品名：ベンレート、ベノミル有効成分50%、デュポン・ジャパン・リミテッド製）に対する耐性を検定した。

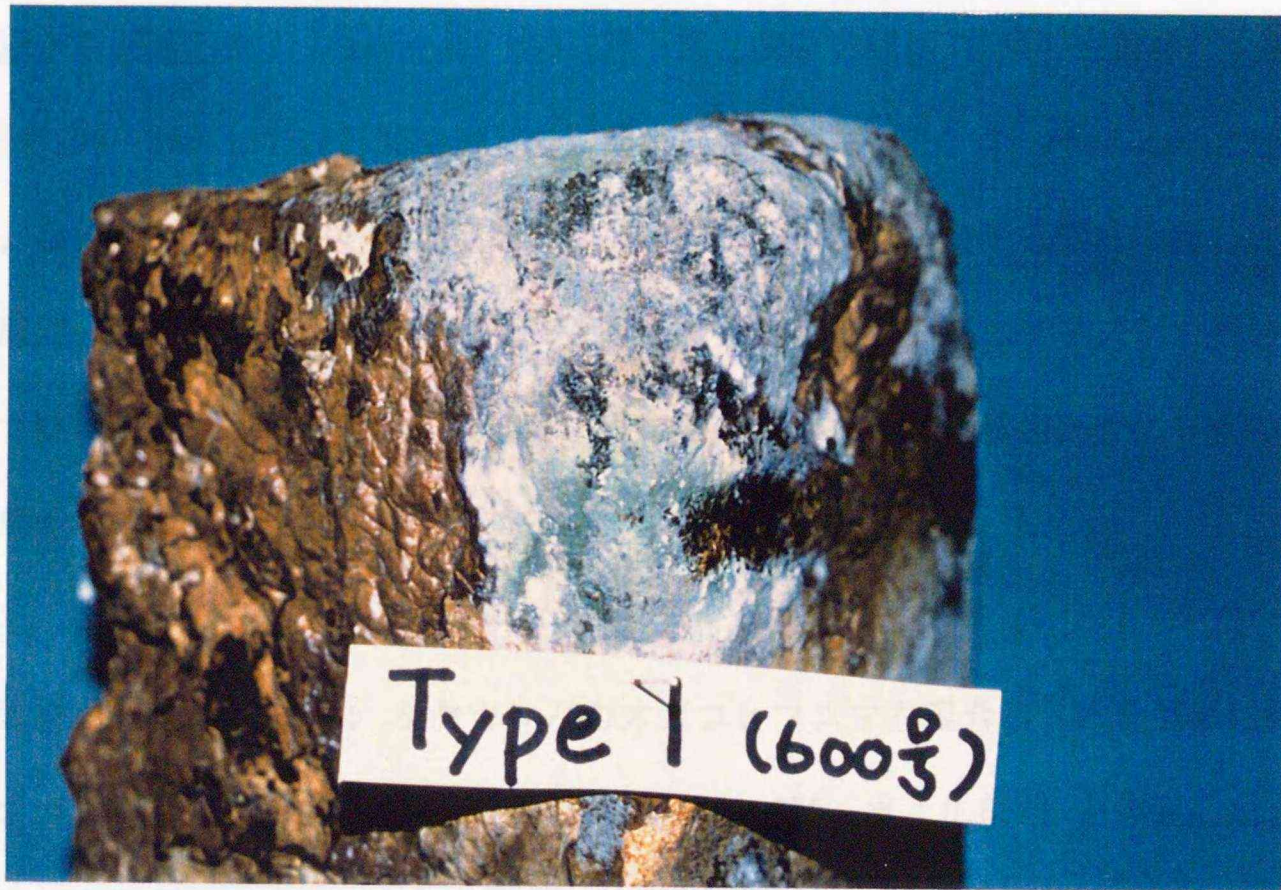


写真15 シイタケ菌床に発生した *Trichoderma* spp. 1型のコロニー

注： 北研600号のシイタケ菌床に発生

実験方法

PDA培地を用いた耐性試験：PDAにベノミル水和剤を10 ppmおよび200 ppm添加後、高圧殺菌した。直径9 cmのシャーレに殺菌した培地を16~18 ml分注して平板培地を作製した。その平板培地の中央にI. 3. 2で分離した *Trichoderma* spp. 42菌株（表24 シイタケ発生施設から分離した *Trichoderma* spp. (落下菌と菌床分離菌) 参照）を接種し、温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照度200~350 lxで14日間培養して、菌糸成長を観察した。*Trichoderma* spp.の接種源には、OA平板培地を用いて温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照度200~350 lxで7日間前培養し、コロニーの外周部分からコルクボーラで寒天ごと打ち抜いた直径6.5 mmのディスクを用いた。接種に際しては、菌糸面が平板培地に接するようにした。なお、1菌株あたりに3枚のPDA平板培地を供試した。

オガコ培地を用いた耐性試験：ダケカンバのオガコとフスマを混合し、水分65%に調整した培地（オガコ絶乾比率：0.275，フスマ絶乾比率：0.075，水：0.650）を作製した。それらにベノミル水和剤を10 ppm，200 ppm，および2000 ppm添加後、内径18 mm，長さ180 mmの試験管に12 gを12 cmの長さに詰め込んで高圧殺菌した。そのオガコ培地の上部にI. 3. 2で分離した *Trichoderma* spp. の8菌株（1型：91002Trと94120Tr，2型：93130Trと93136Tr，3型：92102Trと93135Tr，4型：93156Trと94110Tr）を接種し、温度 22°C の暗黒下で9日間培養して、それらの菌糸成長を観察した。*Trichoderma* spp.の接種源は、PDA培地を用いた耐性試験と同様に作製した。接種に際しては菌糸面が平板培地に接するようにした。なお、1菌株あたりに5本の試験管を供試した。

結果と考察

1) PDA培地を用いた耐性試験

14日間培養して求めた *Trichoderma* spp.のベノミル水和剤耐性を表25に示した。シイタ

表 2 4 シイタケ発生施設から分離した

Trichoderma spp. (落下菌と菌床分離菌)

No.	<i>Trichoderma</i> spp. No.	型	採取地域	分離源
1	93155 Tr	2	函館市	落下菌
2	93156 Tr	4	函館市	落下菌
3	93157 Tr	4	上勇別町	落下菌
4	93158 Tr	1	上勇別町	落下菌
5	93162 Tr	3	三笠市	落下菌
6	93163 Tr	1	室蘭市	落下菌
7	93165 Tr	1	赤平市	落下菌
8	93170 Tr	1	阿寒町	落下菌
9	93175 Tr	2	愛別町	落下菌
10	94102 Tr	1	室蘭市	落下菌
11	94106 Tr	1	旭川市	落下菌
12	94107 Tr	2	旭川市	落下菌
13	94108 Tr	1	帯広市	落下菌
14	94110 Tr	4	帯広市	落下菌
15	94113 Tr	1	旭川市	落下菌
16	94117 Tr	1	栗沢町	落下菌
17	94119 Tr	1	歌志内市	落下菌
18	91002 Tr	1	旭川市	菌床分離菌
19	91007 Tr	2	旭川市	菌床分離菌
20	92102 Tr	3	美幌町	菌床分離菌
21	92104 Tr	3	美幌町	菌床分離菌
22	93130 Tr	2	幕別町	菌床分離菌
23	93135 Tr	3	芽室町	菌床分離菌
24	93136 Tr	2	芽室町	菌床分離菌
25	93139 Tr	1	美幌町	菌床分離菌
26	93140 Tr	3	三笠市	菌床分離菌
27	93141 Tr	2	赤平市	菌床分離菌
28	93142 Tr	1	室蘭市	菌床分離菌
29	93144 Tr	2	白老町	菌床分離菌
30	93145 Tr	1	上勇別町	菌床分離菌
31	93146 Tr	1	生田原町	菌床分離菌
32	93147 Tr	1	旭川市	菌床分離菌
33	93153 Tr	2	函館市	菌床分離菌
34	93154 Tr	1	函館市	菌床分離菌
35	93159 Tr	1	上勇別町	菌床分離菌
36	93171 Tr	1	阿寒町	菌床分離菌
37	93174 Tr	1	愛別町	菌床分離菌
38	94101 Tr	1	室蘭市	菌床分離菌
39	94103 Tr	1	富良野市	菌床分離菌
40	94111 Tr	2	帯広市	菌床分離菌
41	94118 Tr	1	栗沢町	菌床分離菌
42	94120 Tr	1	歌志内市	菌床分離菌

表 2 5 *Trichoderma* spp. の
ベノミル水和剤耐性 (P D A 培地 使用)

	P D A 平板培地のベンレート濃度	
	1 0 p p m	2 0 0 p p m
成長せず	2 8 (18)	3 5 (22)
活着	5 (3)	6 (2)
成長	9 (3)	1 (0)
合計株数	4 2 (24)	4 2 (24)

* : 2 5 °C ・ 1 4 日間培養, 括弧内の数字は 1 型の株数

ケをはじめとするキノコ類は健康食品としてのイメージが売り物であり、その栽培に農薬等の薬剤を用いることは望ましいことではないが、ベノミル水和剤はシイタケ栽培培地の調製時にその重量の0.02% (200 ppm) を添加することが許されている⁵³⁾。10 ppmはそうした許容濃度の1/20であり、この濃度でも、*Trichoderma* spp. 42菌株の2/3に当たる28菌株が成長できなかった。しかし、接種源から平板培地に対して菌糸の活着がみられたものが5菌株、平板培地において菌糸成長がみられたものが9菌株あった(写真16 PDA培地を用いた *Trichoderma* spp. のベノミル水和剤耐性試験参照)。

一方、200 ppmでは供試菌株数の83%に当たる35菌株について全く菌糸成長がみられなかった。検出率の高かった1型では92%に当たる22菌株について菌糸成長がみられなかった。しかし、菌糸の活着がみられたものが6菌株、平板培地の100%を覆ったものが1菌株あった。この菌株は十勝支庁管内の施設の落下菌として分離された 94110Tr で4型に属し、培養開始後3日で平板培地の約80%を覆った。ベノミル水和剤無添加の対照培地では3日で培地全面にコロニー広がる(写真16の *Trichoderma* spp. のベノミル水和剤耐性試験参照)。

2) オガコ培地を用いた耐性試験

表26にベノミル水和剤を添加したオガコ培地での *Trichoderma* spp. の菌糸成長速度を示した。なお、本試験で用いたオガコ培地の組成は、I. 3. 7培地添加物使用量とカビ汚染の関係 (p.138) において述べるが、シイタケの子実体収量が最も高い結果が得られたものである。ベノミル水和剤を添加していないコントロール培地において、1型は他の3タイプより菌糸成長速度が低く、OAやPDA培地でグループ分けを行った特徴と一致している。また、全供試菌株でベノミル水和剤10 ppmではコントロールと比較して菌糸成長速度の低下はみられず、反対に菌糸成長速度が大きくなっているものも観察された。これは、PDA培地を用いた耐性試験で多くの菌株がベノミル水和剤10 ppmで菌糸成長を阻害された結果と異なった。94120Tr, 93130Tr, 93136Trおよび94110Trの4菌株はPDA培地による耐性試験でベノミル水和剤200 ppmでも菌糸の活着または成長がみられたものである。この4菌株はオガコ培地の規定濃度200 ppmでも菌糸の成長が観察され、両培地における耐性

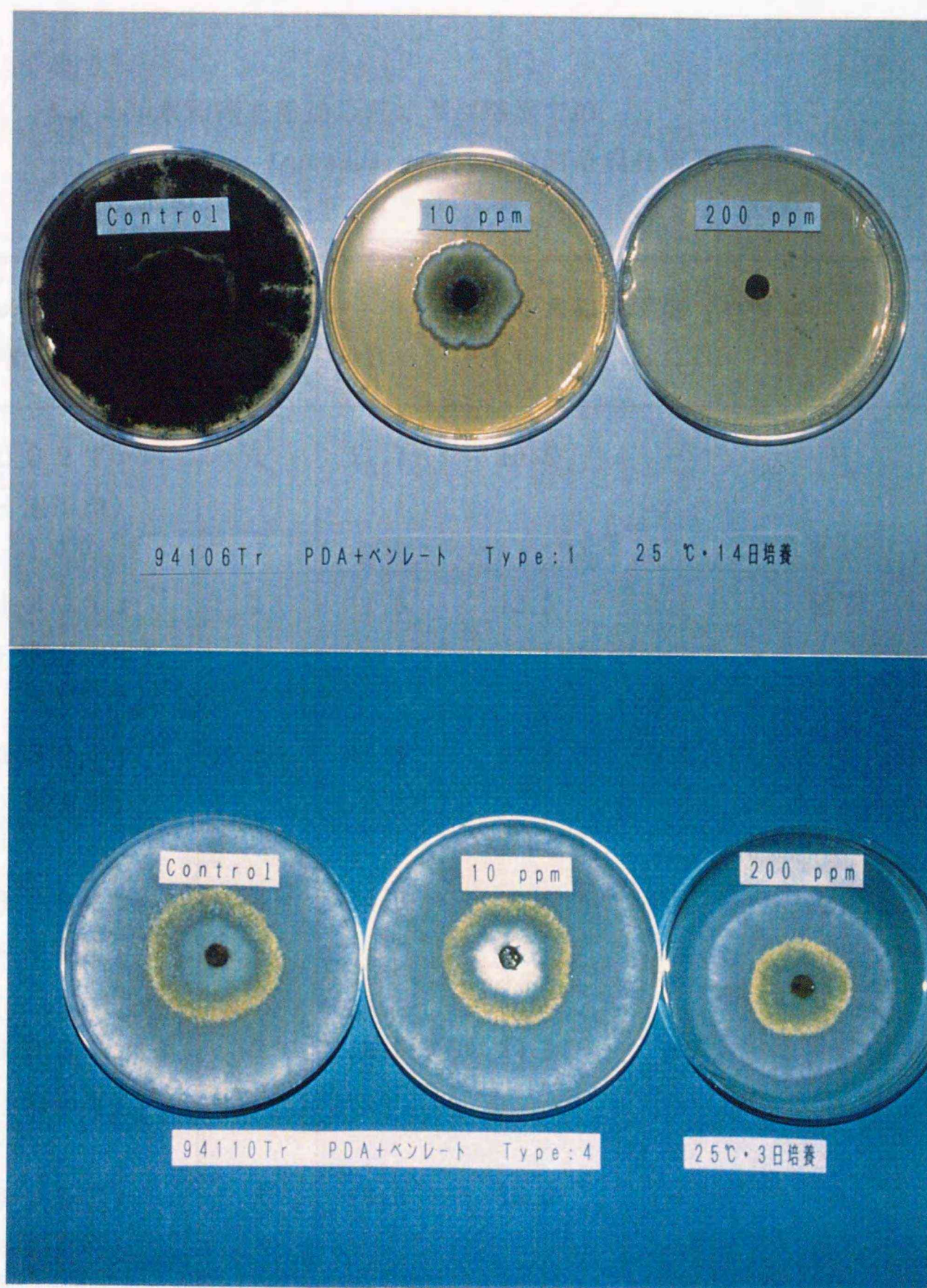


写真16 PDA平板培地を用いた *Trichoderma* spp. の
ベノミル水和剤耐性試験

注： 上図：規定濃度 200 ppmでは成長できない *Trichoderma* spp.,
温度25℃，照度200～350 lx，14日間培養

下図：規定濃度 200 ppmでも成長する *Trichoderma* spp.,
温度25℃，照度200～350 lx，3日間培養

表26 ベノミル水和剤を添加したオガコ培地での

Trichoderma spp.の菌糸成長速度

(単位: mm/day)

<i>Trichoderma</i> spp. No. (分離源)	型	ベノミル水和剤濃度 (ppm)			
		0	10	200	2000
91002Tr (菌床・旭川市)	1	11.7	10.5	—	—
94120Tr (菌床・歌志内市)	1	11.8	12.3	4.3	活着
93130Tr (菌床・幕別町)	2	18.3	18.1	5.3	—
93136Tr (菌床・芽室町)	2	14.9	17.6	4.3	活着
92102Tr (菌床・美幌町)	3	18.9	20.1	—	—
93135Tr (菌床・芽室町)	3	19.3	19.0	—	—
93156Tr (落下菌・函館市)	4	18.5	17.5	活着	—
94110Tr (落下菌・帯広市)	4	17.1	17.2	15.9	14.8

符号: —: 成長なし (温度 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, 相対湿度 $70\pm 5\%$, 暗黒下, 9日間培養)

試験結果が一致した。

また、94110Trはオガコ培地でもベノミル水和剤に対する強い耐性を示し、規定濃度の10倍に当たる2000 ppmでも14.8 mm/dayもの菌糸成長速度であり、コントロール培地における1型の成長速度12 mm/dayよりもその成長が速かった。また、94120Trと93136Trは2000 ppmで接種源の活着が観察された。

PDA培地とオガコ培地によるベノミル水和剤の耐性試験の結果から、菌床シイタケの栽培培地に200 ppmのベノミル水和剤を添加することの効果としては、シイタケ菌糸が十分に蔓延する以前に *Trichoderma* spp.が栽培培地に侵入した場合に、*Trichoderma* spp.の活動を押さえる可能性が高いことが分かった⁷⁹⁾。しかし、規定濃度の200 ppmでも成長が可能な *Trichoderma* spp.が存在することを考えると、菌床シイタケの栽培の防黴技術として、栽培培地に添加する薬剤のみに頼ることはできないことも明らかである。さらに、現在までに報告のない、規定濃度の10倍ものベノミル水和剤耐性を有する *Trichoderma* spp.の存在が確認されたことは、菌床栽培における防黴剤の使用方法に警鐘を鳴らすものである。

I. 3. 4 シイタケのベノミル剤耐性

今回調査対象とした24施設中70%余りの17施設で用いられていたシイタケ菌株北研600号供試して、オガコ培地中に添加したベノミル水和剤に対する耐性を観察した。

実験方法

オガコ培地を用いた耐性試験： I. 3. 3と同様に作製した培地を同様に試験管に充填し高圧殺菌処理した。そのオガコ培地の上部に北研600号を接種し、温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗黒下で18日間培養して、その菌糸成長を観察した。接種源はPDA平板培地を用いて温度 $25 \pm$

1°C, 照度200~350 lxで14日間前培養した後, コルクボーラで寒天ごと打ち抜いた直径6.5 mmのディスクを用いた。接種に際しては菌糸面が平板培地に接するようにした。なお, 1条件あたりに5本の試験管を供試した。

結果と考察

表27にベノミル水和剤を添加したオガコ培地でのシイタケの菌糸成長速度の結果を示した。ベノミル水和剤の規定濃度である200 ppmまで, 北研600号は5 mm/day以上の菌糸成長速度を示しており, 規定濃度以下ではその菌糸成長に対してベノミル水和剤が阻害性を示さないことが分かった。I. 3. 3の結果と比較すると, コントロール培地または10 ppm培地でのシイタケの菌糸成長は菌糸成長速度が遅い1型の *Trichoderma* spp.の約1/2程度であることから, シイタケ菌糸がまだ蔓延する以前に *Trichoderma* spp.が栽培培地に侵入すると, *Trichoderma* spp.が優先的に菌糸を伸ばしてしまうことが分かる。

I. 3. 5 シイタケコロニー上の *Trichoderma* spp.の菌糸成長¹¹¹⁾

シイタケ菌床の子実体採取跡に *Trichoderma* spp.が発生し易い傾向があることから, その原因を調べた。子実体採取跡 (pH: 5.5, 水分: 76%) は, 菌床表面の褐色被膜 (pH: 3.5~3.6, 水分: 28~42%, 5回子実体を採取した菌床) と比較してpHと水分が高かった。一般的に, *Trichoderma* spp.の孢子発芽および菌糸生育は高湿度, 高水分の条件下で良いことが知られている⁵⁹⁾。そこで, 本試験ではpHと *Trichoderma* spp.の菌糸成長の関係を実験的に確認した。

実験方法

供試菌株: シイタケとしては, 林産試験場保存株Le 58-3, Le 77-20, Le 86-3の3菌株を用いた。これらは, シイタケ菌床栽培に適するものとして選抜されたものである。Tri-

表 2 7 ベノミル水和剤を添加したオガコ培地での
シイタケ（北研 6 0 0 号）の菌糸成長速度

ベノミル水和剤濃度 (p p m)	菌糸成長速度 (mm/day)
0	5 . 1
1 0	5 . 3
1 0 0	5 . 1
2 0 0	5 . 4
2 0 0 0	4 . 7

* : 温度 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70 \pm 5\%$ ，暗黒下，25日間培養

choderma spp.としては、林産試験場保存株91001Tr, 91002Tr, 91006Trの3菌株を用いた。これらは、林産試験場で行ったLe 77-20の菌床栽培試験において、菌床表面に生じたコロニーから分離したもので、I. 3. 2の1型に属する。

シイタケと *Trichoderma* spp.の対峙培養：図21にPDA平板培地でのシイタケと *Trichoderma* spp.菌糸成長速度の測定法を示した。高圧殺菌したPDA培地に1N HClを添加することにより、pHを3.0~5.7に調製した培地を直径9 cmのシャーレに16~18 ml分注して平板培地を作製した。その平板培地の中央にシイタケ種菌を接種し、温度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、暗黒下で7~8日間、平板培地表面を菌糸が8~9割程度覆うまで培養した。同時にコロニーの半径を経時的に測定し、シイタケの菌糸成長速度を求めた。なお、平板培地の繰返し数は3枚とし、1枚につき4点のコロニー半径を測定した。シイタケの接種源には、PDA平板培地で、温度 25°C 、暗黒下で5~7日間で前培養した後、コルクボーラーで寒天ごと打ち抜いた直径6.5 mmのディスクを用いた。接種に際しては菌糸面が平板培地に接するようにした。

以上のように培養したシイタケのコロニーの先端に、*Trichoderma* spp.の接種源を平板培地1枚当たりに2カ所に接種し、温度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、照度200~350 lxで培養を行なった。経時的に、シイタケのコロニー上を成長する *Trichoderma* spp.のコロニー半径を測定し、*Trichoderma* spp.の菌糸成長速度を求めた。なお、平板培地の繰返し数は2~3枚とし、1枚につき2点のコロニー半径を測定した。*Trichoderma* spp.の接種源には、ニンジン平板培地（磨碎した生ニンジン200gを水道水で2時間煮沸後、ガーゼで濾過し1000mlにメスアップしたニンジン抽出液に15gの寒天を加えて高圧殺菌したもの）で、温度 25°C 、照度200~350 lxで7日間前培養した後、コルクボーラーで寒天ごと打ち抜いた直径6.5 mmのディスクを用いた。接種に際しては菌糸面が平板培地に接するようにした。

結果と考察

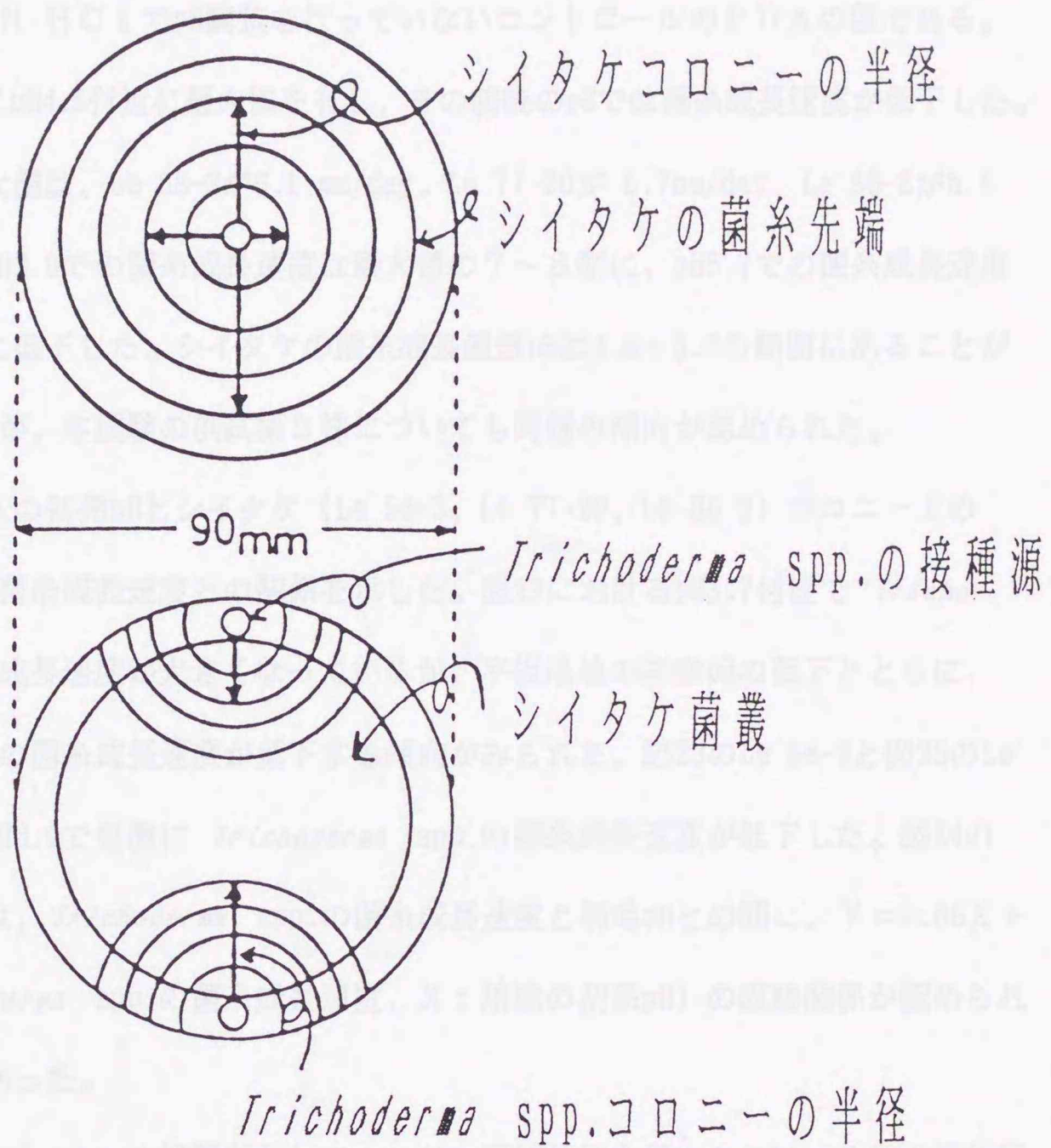


図 2 1 P D A 平板培地でのシイタケと
Trichoderma spp. 菌糸成長速度の測定方法

注 : 25℃ で 培 養

初発pHを3.0～5.7に調整したPDAの初発pHとシイタケの菌糸成長速度の関係を図22に示した。pH5.7は1N HClでpH調整を行っていないコントロールのPDAの値である。供試した3株ともにpH4.5付近に最大値を有し、その前後のpHでは菌糸成長速度が低下した。菌糸成長速度の最大値は、Le 58-3が6.1 mm/day, Le 77-20が5.7mm/day, Le 86-2が5.6 mm/dayであった。pH3.0での菌糸成長速度は最大値の7～8割に、pH5.7での菌糸成長速度は最大値の約9割に低下した。シイタケの菌糸成長最適pHは4.0～5.0の範囲にあることが報告⁵⁴⁾されているが、本試験の供試菌3株についても同様の傾向が認められた。

図23～25にPDAの初発pHとシイタケ (Le 58-3, Le 77-20, Le 86-3) コロニー上の *Trichoderma* spp.菌糸成長速度との関係を示した。図23におけるpH3.7付近で *Trichoderma* spp.の菌糸成長速度が大きくなっているが、平板培地の初発pHの低下とともに、*Trichoderma* spp.の菌糸成長速度が低下する傾向がみられた。図23のLe 58-3と図25のLe 86-2の結果では、pH3.0で急激に *Trichoderma* spp.の菌糸成長速度が低下した。図24のLe 77-20の結果では、*Trichoderma* spp.の菌糸成長速度と培地pHとの間に、 $Y = 0.66X + 2.15$ (Y: *Trichoderma* spp.の菌糸成長速度, X: 培地の初発pH) の直線関係が認められ相関係数は0.86であった。

なお、*Trichoderma* spp.の接種源としてニンジン平板培地を用いたのは、PDA平板培地を用いた場合と比較して、*Trichoderma* spp.のコロニーがスムーズな同心円状を形成することと、コロニー全面に均一に胞子を形成することによる。

子実体の発生を5回終了した菌床表面の褐色被膜のpHを測定したところ、その値は3.5～3.7であった。これに対して、菌床上の子実体採取跡のpHは5.5であり、褐色被膜のpHより約2高かった。そして、シイタケ菌床における *Trichoderma* spp.のコロニーは、子実体採取跡を中心とした部位に生じやすかった¹⁰⁷⁾。こうした点と本報告の結果を合わせて考察すると、シイタケ菌床の表面部分のpHが低ければ *Trichoderma* spp.の菌糸成長が抑制されることが分かった。

Trichoderma spp.の被害を可能な限り押さえるためにはシイタケ菌床に子実体の採取跡

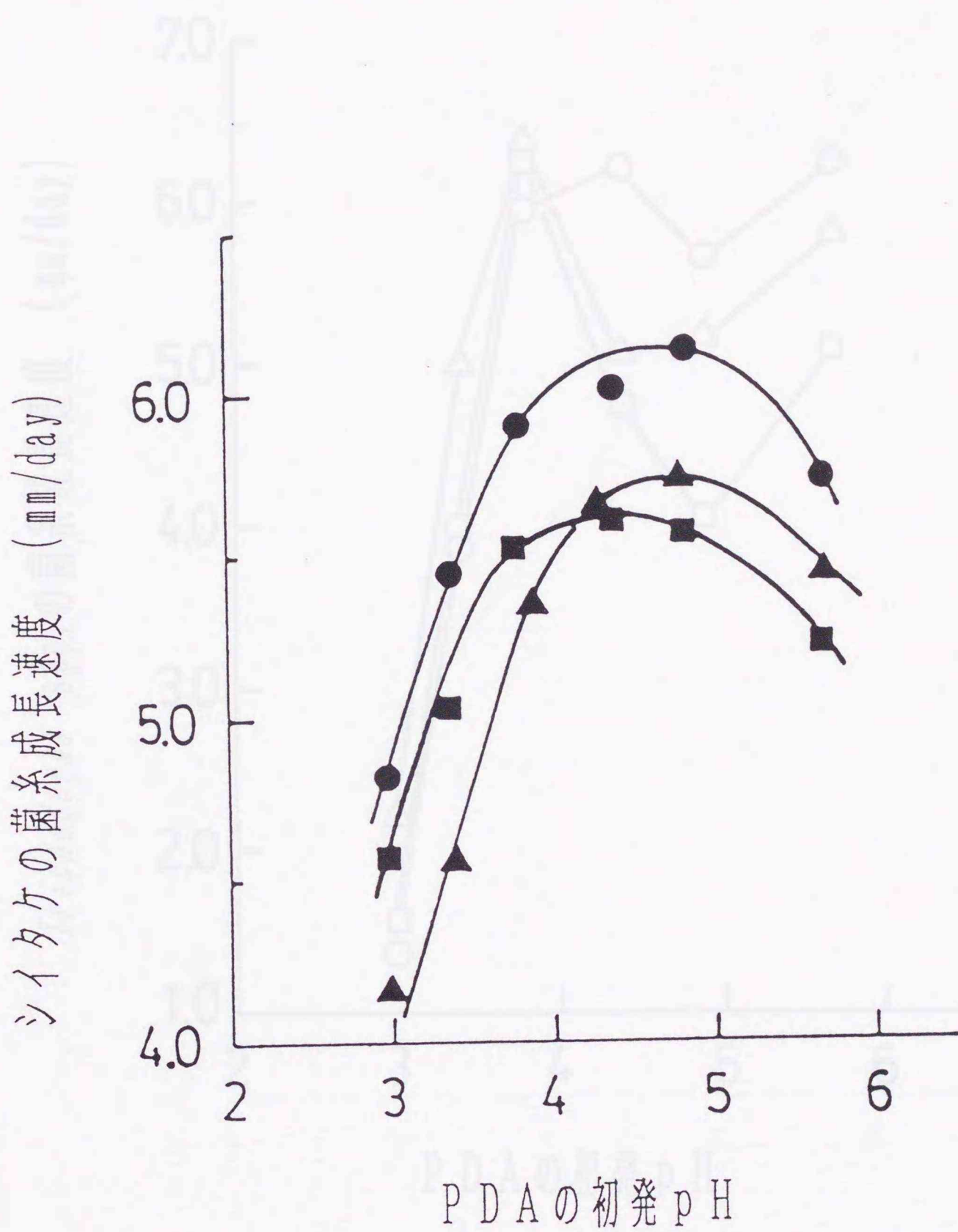


図22 PDAの初発pHとシイタケ
(Le 58-3, Le 77-20, Le 86-2)の菌糸成長速度の関係

符号： ● : Le 58-3, ▲ : Le 77-20, ■ : 86-2

注： 25℃で培養

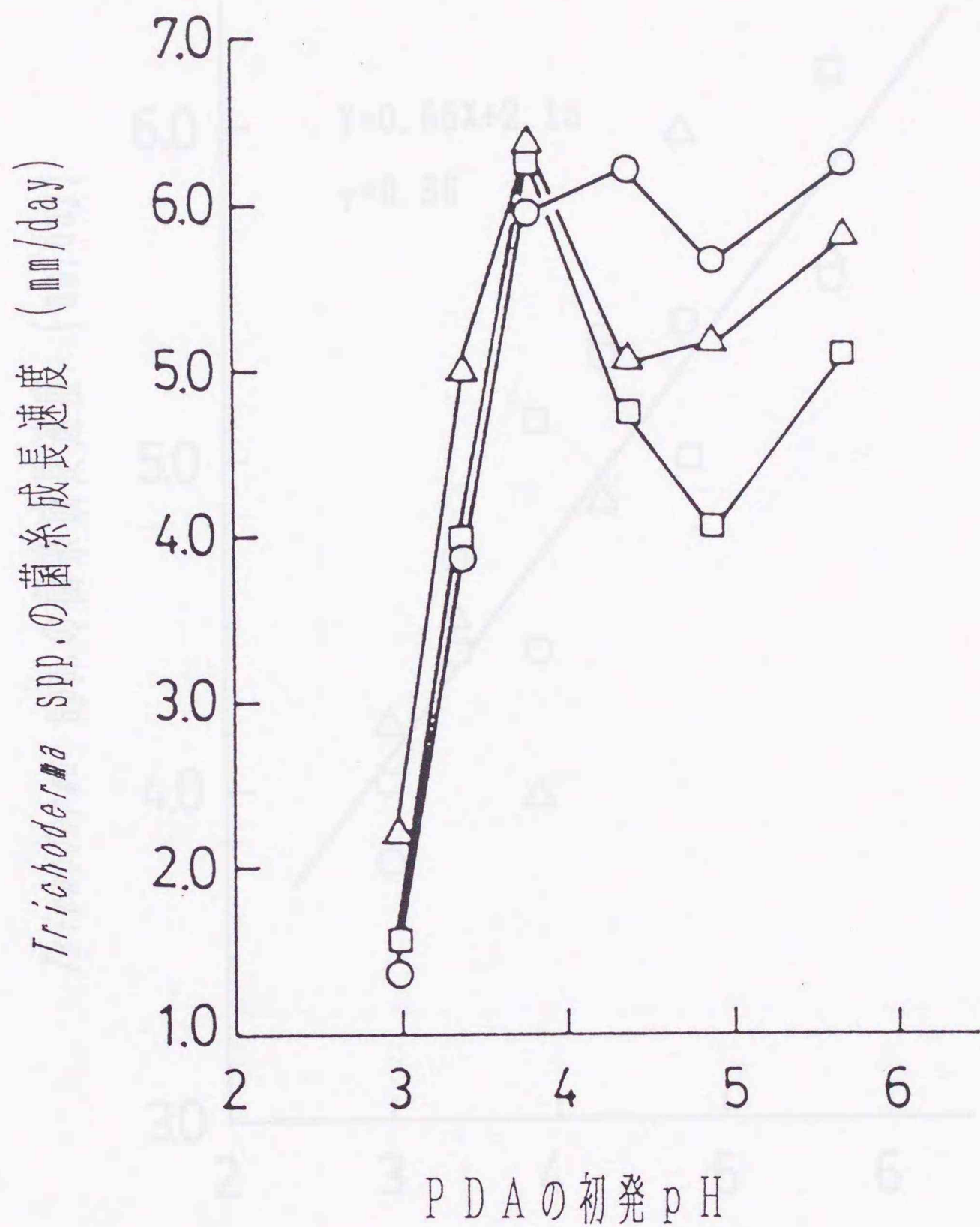


図 2 3 PDA の初発 pH とシイタケ (Le 58-3) コロニーの
Trichoderma spp. 菌糸成長速度の関係

符号 : ○ : *Trichoderma* spp. 91001Tr,
 △ : *Trichoderma* spp. 91002Tr,
 □ : *Trichoderma* spp. 91006Tr

注 : 25℃ で培養

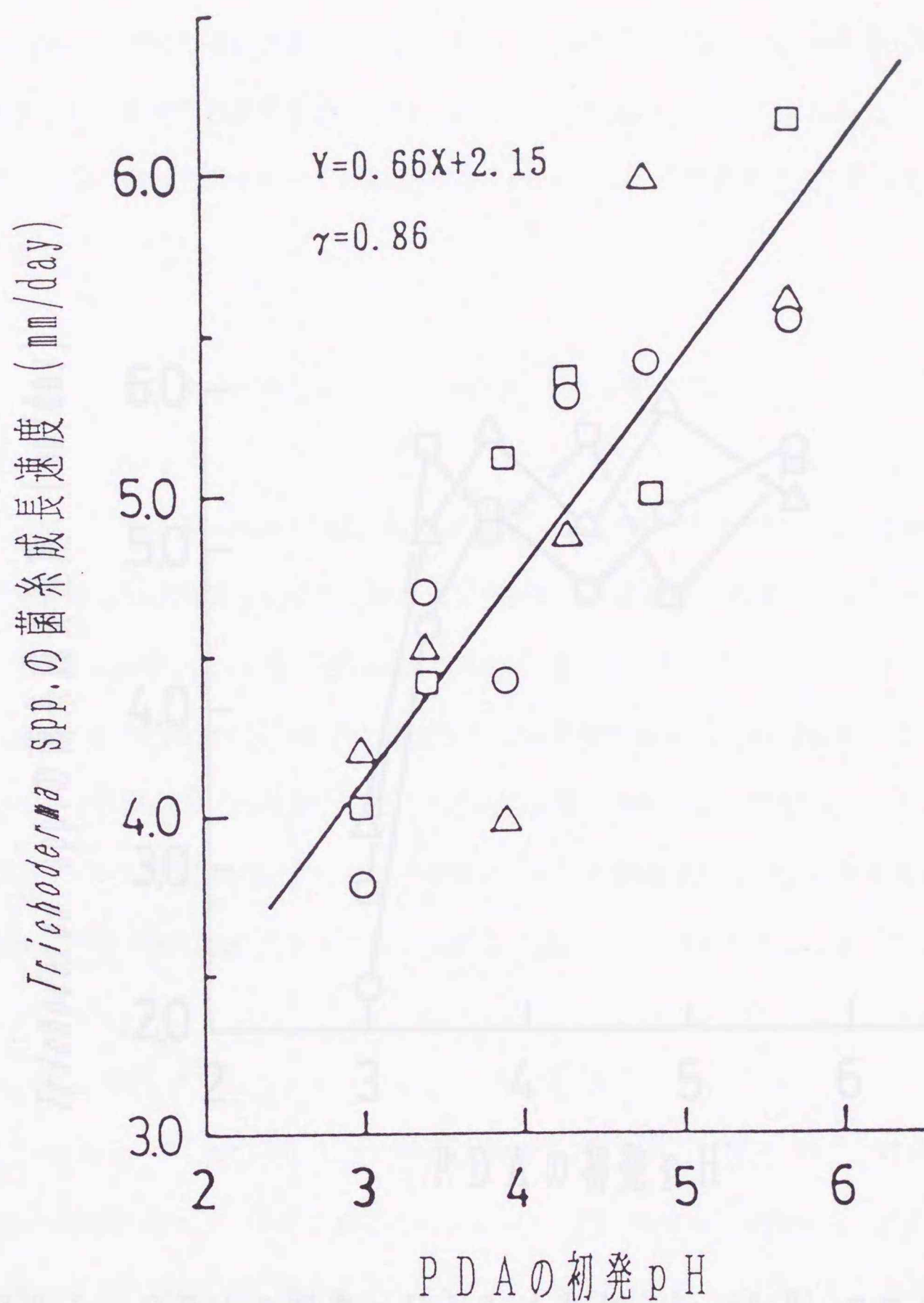


図 24 PDA の初発 pH とシイタケ (Le 77-20) コロニーの
Trichoderma spp. 菌糸成長速度の関係

符号 : ○ : *Trichoderma* spp. 91001Tr,
 △ : *Trichoderma* spp. 91002Tr,
 □ : *Trichoderma* spp. 91006Tr

注 : 25℃ で培養

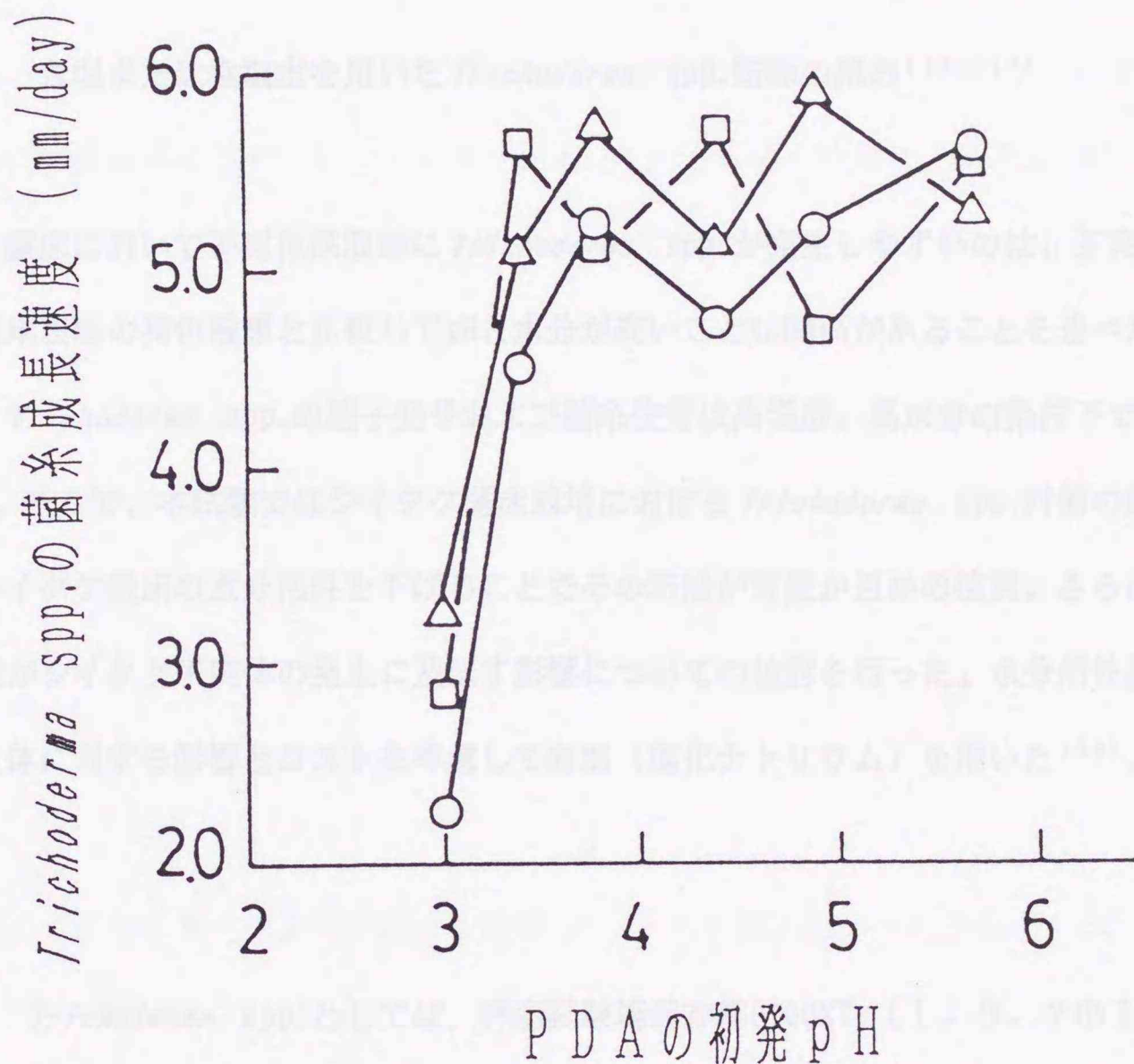


図 25 PDA の初発 pH とシイタケ (Le 86-2) コロニーの
Trichoderma spp. 菌糸成長速度の関係

符号 : ○ : *Trichoderma* spp. 91001Tr,
 △ : *Trichoderma* spp. 91002Tr,
 □ : *Trichoderma* spp. 91006Tr

注 : 25℃ で培養

を残さないことと、菌床の褐色被膜のpHを低くすることであろう。シイタケの培養・熟成中に、シイタケが有機酸を代謝することで¹⁰⁴⁾、菌床のpHは低下していく。しかし、何らかの酸処理¹⁰⁵⁾で、菌床全体のpHを下げれば *Trichoderma* spp.の成長を阻止できる可能性も考えられる。

I. 3. 6 食塩または食塩水を用いた *Trichoderma* spp.防除の試み^{114, 117)}

シイタケ菌床において子実体採取跡に *Trichoderma* spp.が発生しやすいのは、子実体採取跡が、菌床表面の褐色被膜と比較してpHと水分が高いことに関係があることを述べた。一般的に、*Trichoderma* spp.の孢子発芽および菌糸生育は高湿度、高水分の条件下で良好である⁵⁹⁾。そこで、本試験ではシイタケ菌床栽培における *Trichoderma* spp.対策の試みとして、シイタケ菌床の水分活性を下げることでその防除が可能か否かの検討、さらにそうした処理がシイタケ子実体の発生に及ぼす影響についての検討を行った。水分活性調整剤には、人体に対する影響とコストを考慮して食塩（塩化ナトリウム）を用いた¹³⁸⁾。

実験方法

供試菌：*Trichoderma* spp.としては、林産試験場保存株91002Tr（I. 3. 2の1型，*T. koningi* に類似のもの），S613（3型，*T. viride* に類似のもの）を用いた。シイタケとしては、北研600号（株式会社北研製）と林産試験場保存株Le 77-20（菌床用）を用いた。

供試シイタケ菌床：シイタケ菌床としては、以下に示す2種類を用いた。一つは、北海道きのこ農業協同組合三笠工場で作成した2.5kg詰め菌床（種菌；北研600号，初期培地水分；65.1%，培地基材：カンバ類のオガコとチップを混合したもの，培地添加物と添加量；脱脂コメヌカ，バイデル（（株）北研製），ホミニーフード（（株）サニーメイズ製）などを菌床1個あたりに風乾で211g混合，培養条件；22℃で95日間培養）であり，もう一

つは林産試験場で作成した1.1kg詰め菌床（種菌；Le 77-20，初期培地水分；66.4%，培地
基材：ダケカンバのオガコ，培地添加物と添加物量；タイロン（メルシャン（株）製）を
菌床1個あたりに風乾で122 g混合，培養条件；22℃で29日間，25℃で35日間の合計64日間
培養）である。

Trichoderma spp.とシイタケの菌糸成長に対する食塩の影響：PDA培地を基本培地
とし，これに所定量の塩化ナトリウムを添加した。それらを高圧殺菌後，直径9 cmのシャ
ーレに16～18 ml分注して平板培地を作製した。塩化ナトリウムの添加量は，規定の水量
の2，4，6，8，および10%（w/v）とした。PDA平板培地を用いて *Trichoderma*
spp.とシイタケを前培養し，コルクボーラーで菌体を寒天ごと打ち抜いた直径6.5 mmのデ
ィスクを上記の寒天平板培地に接種後， $25 \pm 1^\circ\text{C}$ （*Trichoderma* spp.では200～350 lx，シ
イタケでは暗黒）で21日間培養し，経時的にコロニー半径を測定して菌糸成長速度を求め
た。なお，寒天平板培地については，各菌株ごとの平板培地の繰返し数は3枚とし，1
枚の培地当たり4カ所の半径を測定した。

食塩水がシイタケ子実体の発生に及ぼす影響：シイタケ菌床について温度 $16 \pm 1^\circ\text{C}$ ，相
対湿度 $85 \pm 5\%$ ，照度約350 lxに設定した環境下で子実体発生を行った。1回目の発生は，
培養袋を除去して菌床表面を水道水で洗い流して行った。子実体発生終了後，水道水を用
いて，16時間の流水による浸水処理を行った。北研600号の菌床については，3，10，およ
び20%（w/v）の食塩水に60秒間浸せき処理後，2回目の子実体発生を行った。浸せき処理
した菌床は，それぞれ，3%食塩水区，10%食塩水区，および20%食塩水区とし，コント
ロール区の菌床については水道水による浸水のみとした。子実体発生終了後，同様の浸水
と浸せき処理を各試験区の菌床に施し，3回目の子実体発生を行った。Le 77-20の菌床に
ついては，1.5，3，および6%の食塩水に30秒間浸せき処理後，北研600号と同様に2回
目および3回目の子実体発生を行った。浸せき処理した菌床は，それぞれ1.5%食塩水区，

3%食塩水区，6%食塩水区とした。なお，各試験区の供試菌床数は5個とした。

シイタケ子実体の採取：子実体のヒダを覆う皮膜が切れたものをステンレスのはさみを用いて柄の根元から切断し，その生重量を測定して子実体収量を求めた。

食塩水浸せき処理のカビ汚染の判定：各菌床表面に生じるカビについて目視による観察を行った。菌床のカビ汚染度の評価方法は，カビが観察されないものを「-」，わずかでも *Trichoderma* spp. または *Penicillium* spp. が観察されれば「T」または「P」，それらのコロニーが成長しつつあるがシイタケ菌床を廃棄するほどのカビ汚染度でない場合は「T'」または「P'」，さらに汚染が進行し，それ以上菌床を使用するのが困難なほどの汚染度に達した場合は「T''」または「P''」とした。

結果と考察

1) *Trichoderma* spp. とシイタケの菌糸成長に対する食塩の影響

図26にPDA培地中のNaCl（塩化ナトリウム）濃度と *Trichoderma* spp. とシイタケの菌糸成長速度を示した。*Trichoderma* spp. 91002TrとS613は，ともに塩化ナトリウム濃度が高くなるに従い菌糸成長速度が低下した。4%では，両菌株の菌糸成長速度も基本培地の半分以下に低下した。91002Trでは，10%において接種源からの菌糸成長が観察されるまでに16日間の誘導期間を要した。さらに，顕微鏡で観察したところ，塩化ナトリウム濃度が高くなるに従い *Trichoderma* spp. の分生子の形成が徐々に阻害され，91002Trについて，6%以上の濃度では21日間の培養を行ったが分生子胞子の形成は全く観察されなかった。写真17に *Trichoderma* spp. 91002Trの分生子柄の位相差顕微鏡写真を示した。S613でも同様の傾向が観察されたが，10%においてのみ分生子胞子の形成が観察されなかった。なお，培地のpHは基本培地が5.6，塩化ナトリウム2%添加培地が5.5，同4%添加が5.4，同6から10%添加が5.3であった。したがって，*Trichoderma* spp. の菌糸成長の阻害は培地pHの変

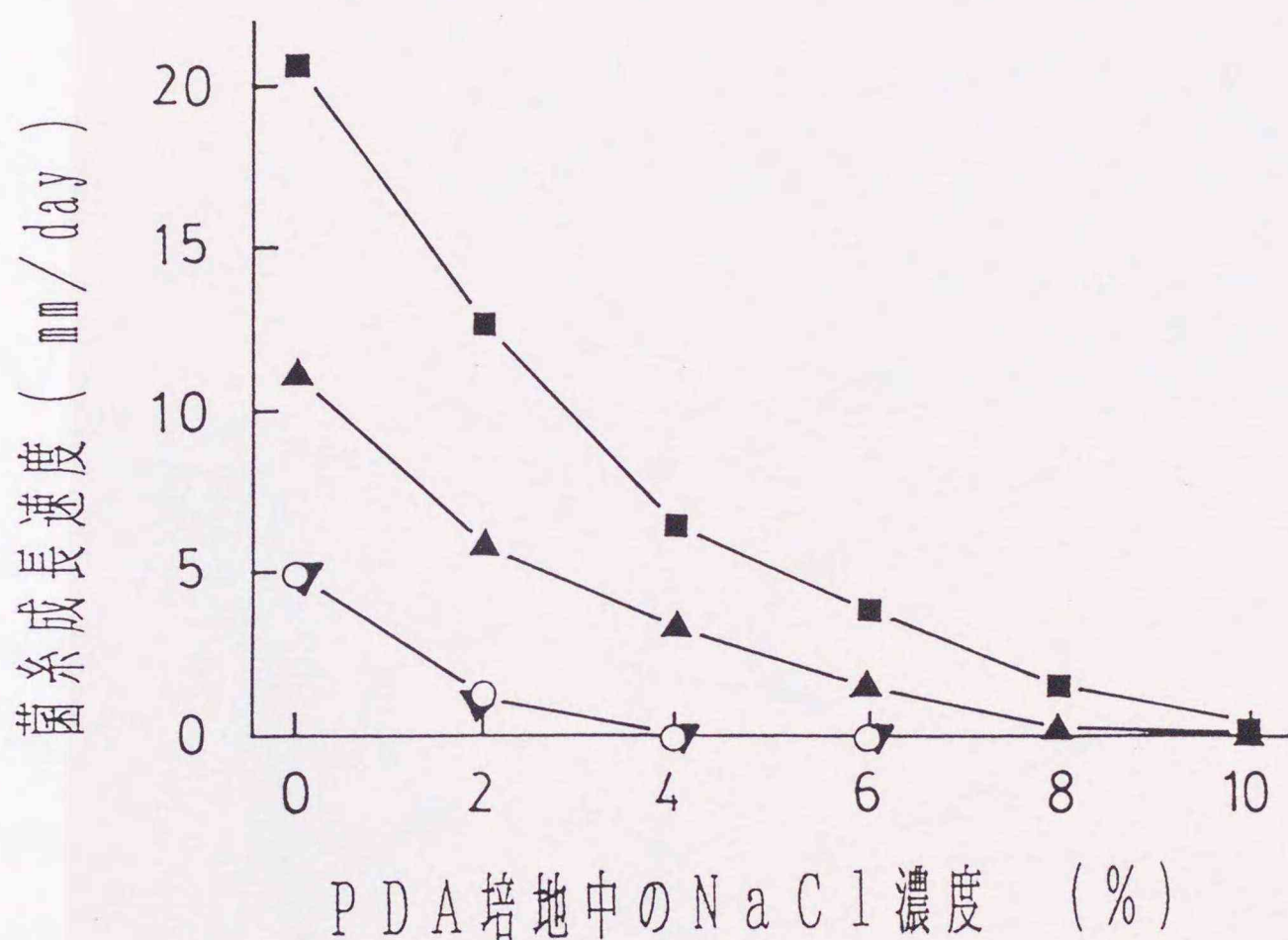


図 2 6 P D A 培地中の N a C l 濃度と
Trichoderma spp. とシイタケの菌糸成長速度

符号 : ▲ : *Trichoderma* spp. 91002Tr,
 ■ : *Trichoderma* spp. S613,
 ▼ : シイタケ 北研 600 号,
 ○ : シイタケ Le 77-20

注 : 25℃ で 培 養

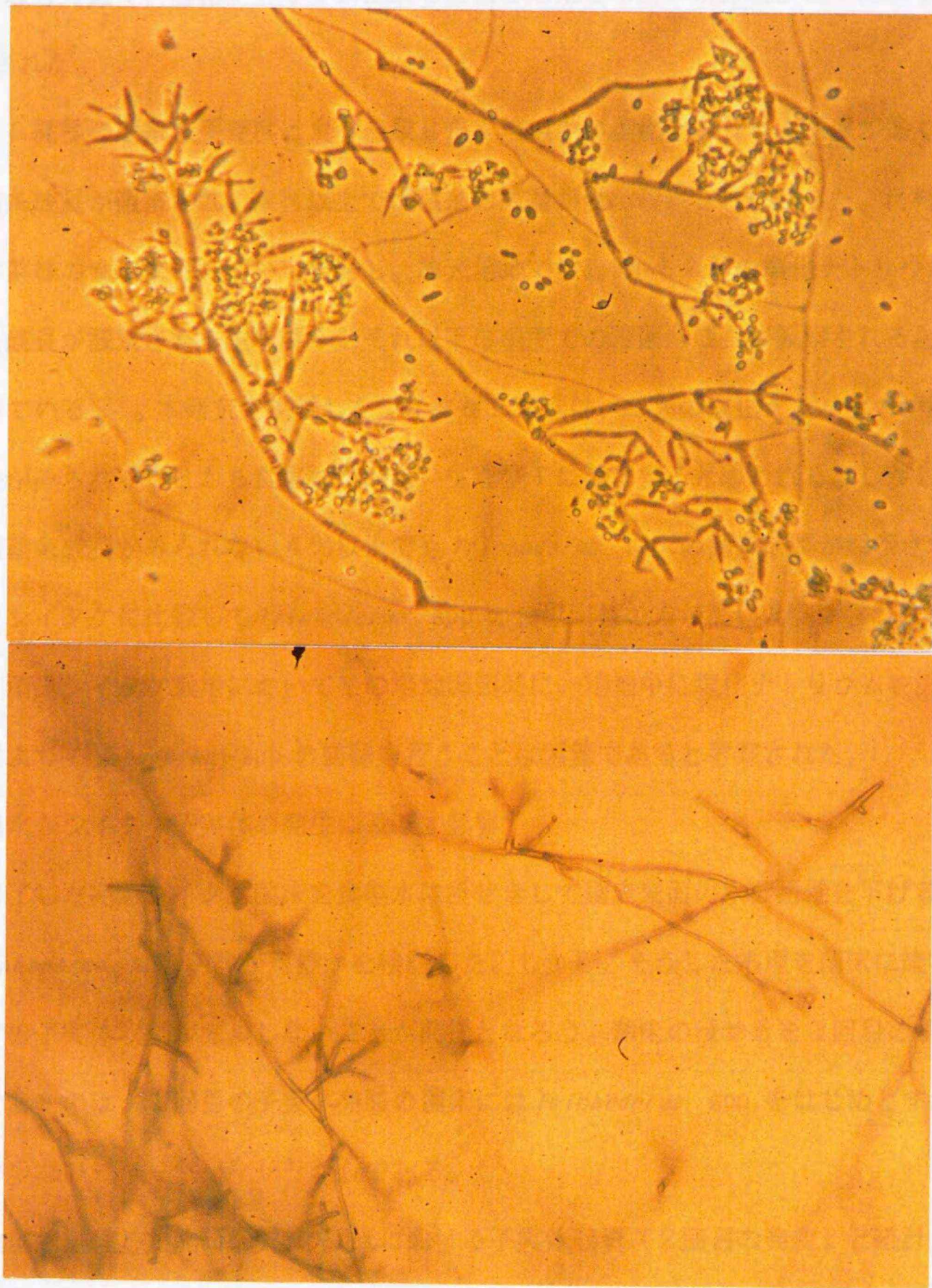


写真17 *Trichoderma* spp. 91002Trの分生子柄の位相差顕微鏡写真

注：上図：PDA平板培地の *Trichoderma* spp., 300倍,
温度25℃, 照度200~350 lx, 7日間培養

下図：NaClを2%含むPDA平板培地の *Trichoderma* spp.,
温度25℃, 照度200~350 lx, 7日間培養

化によるとは考え難く、塩化ナトリウムによる直接の効果と培地の水分活性低下による¹⁴⁾と考察された。

シイタケ2菌株の菌糸成長速度は良く一致した。培地中の塩化ナトリウム濃度が高くなるに従い菌糸成長が阻害され、4%以上では菌糸の成長が全く観察されなかった。河村らはシイタケ菌株の食塩耐性について検討し、寒天培地では1.5から2%の塩化ナトリウム濃度でも菌糸成長が観察される生理型Iとそれ以下の濃度でのみ菌糸成長が観察される生理型IIに分けている⁵²⁾。本研究で供試したシイタケ2菌株は、2%の塩化ナトリウム濃度でも菌糸成長がみられることから食塩耐性が高い生理型Iに該当すると思われる。しかし、シイタケの菌糸成長がみられない4%以上でも *Trichoderma* spp.の菌糸成長が観察されたことから、シイタケに比較して *Trichoderma* spp.の食塩耐性の方が高いと判断された。したがって、菌床シイタケ栽培においてその培地調製時に、培地中に塩化ナトリウムを添加する方法により *Trichoderma* spp.の防除を行うことは困難であると考察された。

2) 食塩水がシイタケ子実体の発生に及ぼす影響

培養を終了した完熟シイタケ菌床を食塩水に浸せきして菌床表面の水分活性を下げることで、*Trichoderma* spp.防除が可能かを検討した。しかし、そうした処理を菌床に施してもシイタケの子実体収量が減少しないことが前提となろう。菌床の浸せきを1回目の子実体発生後としたのは、1回目の子実体発時の菌床には *Trichoderma* spp.をはじめとするカビの発生が少ない^{107, 114, 117, 123)}からである。

表28に食塩水処理した北研600号の菌床における子実体収量(2回目の発生)と統計処理結果を示した。コントロール区が150.7g、3%食塩水区が170.1g、10%食塩水区が140.7g、20%食塩水区が97.7gであった。コントロール区と比較して、20%食塩水区の子実体収量のみが5%の危険率で有意に低かった。以下に詳細を記載しているが、20%食塩水区の菌床についてはカビ汚染度が大きかったために3回目の子実体発生は行えなかった。その他の試験区の3回目の菌床当たりの子実体収量は、コントロール区が77.3g、3%食塩水区が64.6g、10%食塩水区が58.6gとなり、コントロール区に対する有意差は認めら

れなかった。

食塩水処理した北研600号の菌床における子実体収量(2回目の発生)と統計処理結果

以上の結果から、10%以下程度の濃度の食塩水への処理は、マイタケ菌床の下等作を感に有害な影響を与えないものと認識された。

表 2 8 食塩水処理した北研 6 0 0 号の菌床における
子実体収量 (2 回目の発生) と統計処理結果

	収量 (g/菌床)	コント ロール区	3%区	10%区	20%区
コントロール区	150.7		—	—	*
3%食塩水区	170.1			—	**
10%食塩水区	140.7				—
20%食塩水区	97.7				

符号： —：有意差なし，*：5%の危険率で有意差あり，
**：1%の危険率で有意差あり

注： 供試菌床数：5個(2.5kg)

れなかった。

表29に食塩水処理したLe 77-20の菌床における子実体収量（2～3回目の発生）と統計処理結果を示した。コントロール区が144.1g，1.5%食塩水区が120.2g，3%食塩水区が106.2g，6%食塩水区が107.3gとなり，コントロール区に対する有意差は認められなかった。

以上の結果から，10%以下程度の濃度の食塩水への浸せきは，シイタケ菌床の子実体収量に有意な影響を与えないものと考察された。

3) 食塩水浸せき処理の防カビ効果

表30に北研600号シイタケ菌床のカビ汚染状況を示した。1目の子実体発生終了時に供試した菌床について半数程度のものに *Penicillium* spp.が発生した。2回目の子実体発生終了時には，10%と20%食塩水区の *Penicillium* spp.汚染が進行しており，20%食塩水区の菌床はそれ以後の使用が困難であった。写真18に20%食塩水に浸せき処理したシイタケ菌床に発生した *Penicillium* spp.を示した。この原因は，高濃度の食塩水への浸せきで菌床表面の水分活性が低下したため，好乾性の *Penicillium* spp.の汚染が促進されたものと考察される。また，10%食塩水区には *Trichoderma* spp.の発生がみられなかった。3%食塩水区の *Trichoderma* spp.汚染度はコントロール区より少なかった。3回目の子実体発生終了時には，供試した全ての菌床に *Trichoderma* spp.と *Penicillium* spp.が発生したが，3%食塩水区の *Trichoderma* spp.汚染度がわずかに低い傾向が観察された。

表31にLe 77-20シイタケ菌床のカビ汚染状況を示した。1回目の子実体発生終了時にはいずれの菌床にもカビが発生していなかった。2回目の子実体発生終了時には，ほとんどの菌床に *Trichoderma* spp.や *Penicillium* spp.が発生したが，その汚染度は低かった。3回目の子実体発生終了時には，6%食塩水区の *Trichoderma* spp.の汚染度が高く，コントロール区の *Trichoderma* spp.汚染度が低い傾向が観察された。

以上の結果から，シイタケ菌床を低濃度の食塩水へ浸せき処理することによって *Trichoderma* spp.の発生がある程度阻害される可能性が示されたと同時に，そうした浸せき

表 2 9 食塩水処理した Le 77-20 の菌床における
子実体収量（2 ～ 3 回目の発生）と統計処理結果

	収量 (g/菌床)	コント ロール区	1.5%区	3%区	6%区
コントロール区	141.1		—	—	—
1.5%食塩水区	120.2			—	—
3%食塩水区	106.2				—
6%食塩水区	107.3				

符号： —：有意差なし

注： 供試菌床数：5 個（1.1 kg）

のカビ汚染状況

符号：－：カビなし，P： *Penicillium* spp. 発生，
T： *Trichoderma* spp. 発生，'：カビ菌叢拡大，
"：カビ菌叢拡大しシイタケ菌床の使用不可能

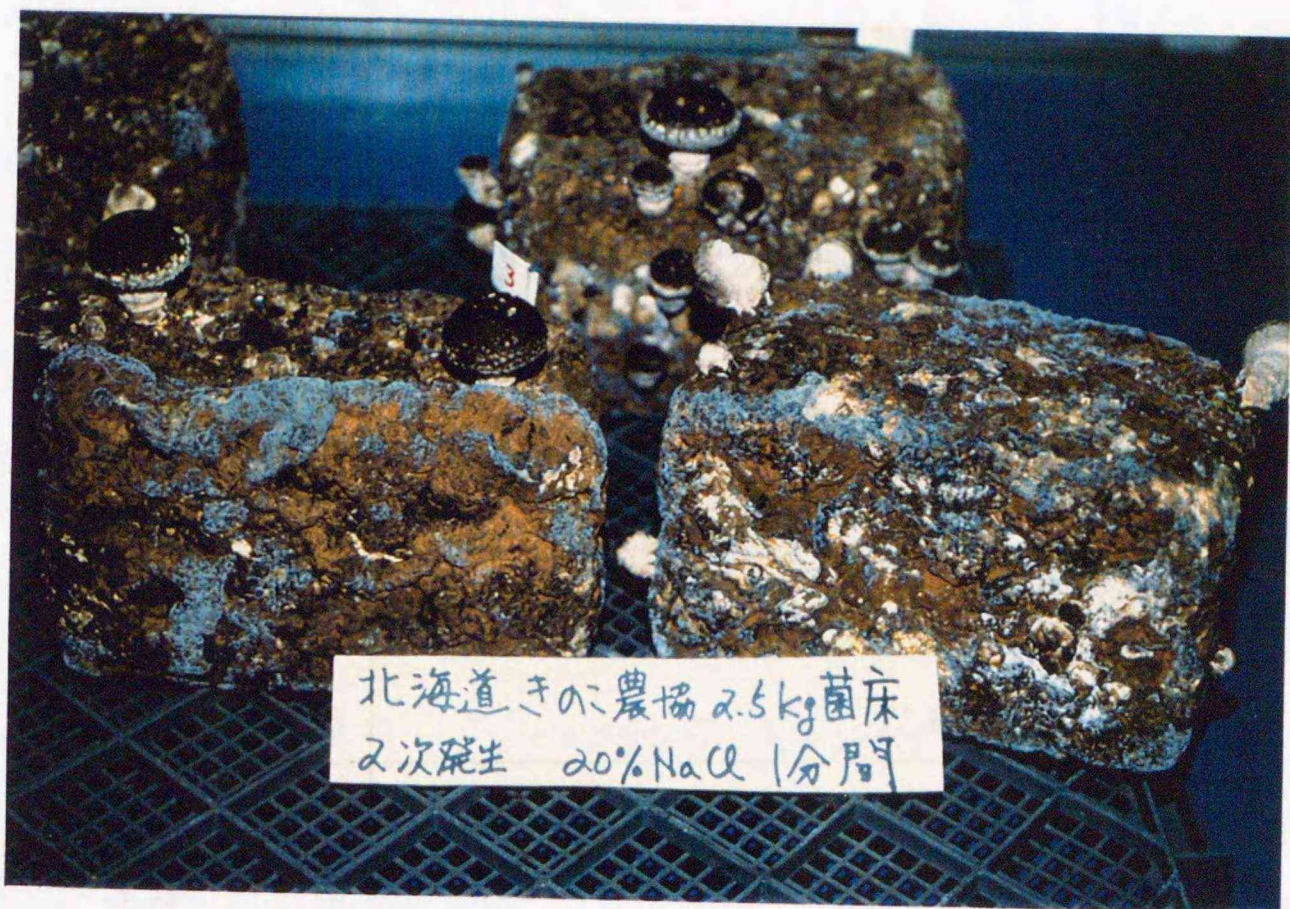


写真18 20%食塩水に浸せき処理した

シイタケ菌床に発生した *Penicillium* spp.

注：北研600号のシイタケ菌床に発生

表 3 1 Le 77-20 シイタケ菌床

のカビ汚染状況

		1 回目	2 回目	3 回目
		発生終了	発生終了	発生終了
コント ロール区	1	-	P&T	P' & T'
	2	-	-	P
	3	-	P&T	P&T
	4	-	P	T
	5	-	P&T	P&T
1.5 % 食塩水区	1	-	T	T'
	2	-	-	T
	3	-	P	P&T'
	4	-	P&T	T
	5	-	-	P' & T'
3 % 食塩水区	1	-	P	T'
	2	-	P	T'
	3	-	P&T	T
	4	-	P	T
	5	-	P&T	T'
6 % 食塩水区	1	-	P	P' & T' '
	2	-	P&T	T' '
	3	-	P&T	P&T
	4	-	T	T' '
	5	-	P&T	T

注： 符号は表 30 (p.135) と同じ

処理を繰り返すことで逆に *Trichoderma* spp.の発生を促進したり、その汚染度を大きくする危険性もあることが観察された。菌床シイタケの *Trichoderma* spp.の防除方法としては、シイタケ菌床にダメージもしくはストレスを与えないことが重要であり、菌床の活力低下が *Trichoderma* spp.の被害の拡大を助長すると考察された。

I. 3. 7 培地添加物使用量とカビ汚染の関係^{19, 122)}

シイタケの原木栽培と菌床栽培を比較した場合の両者間の大きな差異のひとつに、前者が貧栄養栽培、後者が富栄養栽培の形態をとっていることが挙げられ、後者では木材より窒素リッチな培地添加物を培地に混合している。しかし、シイタケが原木による栽培で生産されてきたことを考えると、シイタケは貧栄養栽培を好むキノコである可能性がある。すると、シイタケの菌床栽培において最も注意することは、過剰な培地添加物の使用を避けることであろう。I. 3. 6で述べたように過剰な培地添加物はシイタケにダメージやストレスを与える可能性がある。そこで菌床中の培地添加物量が菌床のカビ汚染や子実体収量にどのような影響を与えるかについての検討を行った。

実験方法

供試菌株と種菌： 北研600号のオガコ種菌（ダケカンバのオガコとフスマを使用）を用いた。

栽培培地： 培地基材にダケカンバのオガコ、培地添加物にフスマを用い、水分65%の培地を作製した。各試験区のフスマ添加率と培地の重量および供試数を表32に示す。表のように、培地総重量の7.5, 8.0, 10.0および12.0%のフスマ（絶乾重量換算）を添加した培地を作製し、その培地を培養袋に1.0または2.5 kg 充填した。高圧殺菌した後に種菌を接種し、培養を行った。

培養条件：培養液は、17℃、pH7.4のDMEMに、血清を10%、抗生物質（ペニシリン、ストレプトマイシン、カナマイシン）を各100 U/ml、100 µg/ml、100 µg/mlに調製した。細胞は、100 cm²の培養瓶に、1.5×10⁶個の細胞を接種した。

表 3 2 各試験区のフスマ添加率と
培地の重量および供試数

試験区	フスマ添加率 (%)	培地重量 (kg)	培地供試数 (個)
7.5-空調	7.5	2.5	6
7.5-ハウス	7.5	2.5	6
8.0-空調	8.0	1.0	12
8.0-ハウス	8.0	1.0	12
10.0-空調	10.0	2.5	6
10.0-ハウス	10.0	2.5	6
12.0-空調	12.0	1.0	12
12.0-ハウス	12.0	1.0	12

試験区は、空調とハウスとに分け、各試験区に、フスマ添加率をそれぞれ7.5%、8.0%、10.0%、12.0%に設定した。培地重量は、空調とハウスとで異なるが、各試験区に、培地重量をそれぞれ2.5kg、1.0kgに設定した。供試数は、空調とハウスとで異なるが、各試験区に、供試数をそれぞれ6個、12個に設定した。

培養条件： 温度 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70 \pm 5\%$ の暗黒下で30日間，温度 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70 \pm 5\%$ ，照度350 lx（12時間の間欠照明）下で60日間の熟成を行った。培地の供試数は，1条件6または12個とした。

子実体の発生条件： 子実体の発生は温度 $16 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $85 \pm 5\%$ ，照度350 lx（12時間の間欠照明）の空調施設と暖房設備のみを有す簡易ハウス（温度 $7.0 \sim 29.5^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度約85%，1994.7.13～11.24）でそれぞれ120日間，6回の発生を行った。1回目の発生は，培養袋を除去して菌床表面を水道水で洗い流した後に行った。子実体発生終了後，水道水を用いて16時間の流水による浸水処理を行った。

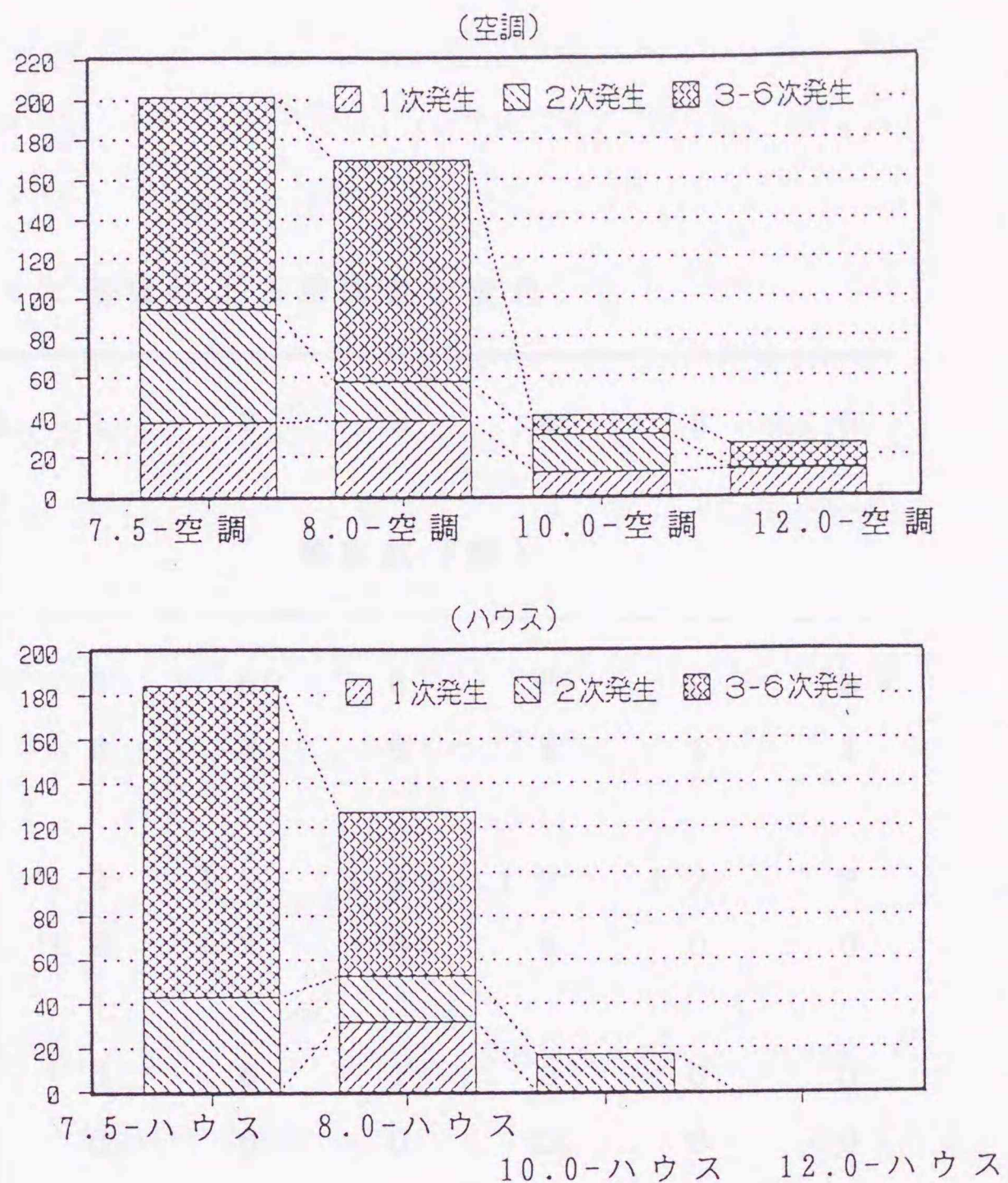
シイタケ子実体の採取： 1．3．6と同様に行った。その生重量を測定して子実体収量を求めた。

カビ汚染の判定： 各菌床表面に生じるカビ汚染の度合いは，菌床を浸水する直前に目視によるカビのコロニーの大きさの観察を行い，菌床が以後の子実体の発生に使用可能か否かの2段階で判定し，使用が難しいと判断した菌床は廃棄した。

結果と考察

図27にシイタケ栽培培地のフスマ添加率と子実体収量の関係を示した。なお，子実体収量は，培地重量が異なる2種類の菌床を用いていることから培地重量1kgあたりに換算した。表33にはカビ汚染による菌床数の変化を示した。6回までの全子実体収量は空調および簡易ハウスともにフスマの添加率が最も少ない7.5%で最大の値が得られ，フスマ添加率が増加するに従って子実体収量が減少した。簡易ハウスの12%フスマ添加培地では全く子実体を得られず，*Trichoderma* spp.汚染が激しいために展開後2週間余りで廃棄した。10%濃

培地 1 kg 当たりの子実体収量 (g/kg)



試験区

図 27 シイタケ栽培培地のフスマ添加率と子実体収量の関係

注： 上図：空調は温度 16℃， 相対湿度 85%， 照度 350 lx，
 下図：ハウスは温度 7.0～29.5℃， 相対湿度 85%，
 発生期間：4 カ月間（6 回の子実体発生）

表 3 3 カビ汚染による菌床数の変化

子実体発生回数	1	2	3	4	5	6
試験区	菌床数 (個)					
7.5-空調	6	6	6	6	2	2
7.5-ハウス	6	6	6	4	1	1
8.0-空調	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2
8.0-ハウス	1 2	1 2	6	4	0	0
10.0-空調	6	6	1	0	0	0
10.0-ハウス	6	6	0	0	0	0
12.0-空調	1 2	1 2	1 2	8	0	0
12.0-ハウス	1 2	0	0	0	0	0

スマ添加培地についても *Trichoderma* spp. 汚染が激しいために2回目の発生終了後に廃棄した。また、空調は簡易ハウスより菌床のカビ汚染の度合いが低く、8%フスマ添加培地では *Trichoderma* spp. や *Penicillium* spp. のカビ汚染を受けながらも、供試した全菌床が6回目までの発生に使用できた。こうした原因としては、子実体の発生が、夏に行われたために簡易ハウス内の温度が高かったことと、キノコバエの発生が関与したためと思われる。

以上の結果から、菌床に外部からなんらかのダメージまたはストレス（この場合は高温）がかかった場合に、培地添加物量が多いことが菌床の *Trichoderma* spp. 汚染を引き起こし易く、最終的に菌床寿命を短くして子実体収量が減少したと考察された。シイタケの菌床栽培において、培地添加物量を単純に増やすことは、カビ汚染を招きやすく、直接または間接的に子実体収量の増加に結びつかないことが明らかになった。

I. 3. 8 菌床シイタケ栽培における木炭粉の利用¹²³⁾

シイタケの菌床栽培においては、I. 3. 7で論議した培地添加物の他に、培地に混合する菌糸活性剤や菌糸成長促進剤⁵³⁾の使用の是非、使用する場合にはそれらの適切な添加量とその添加効果の明確化が求められている。そこで本試験では、菌糸活性剤や菌糸成長促進剂的な働きが期待される木炭粉^{46, 57, 66)}を培地に添加することで、子実体収量や菌床のカビ汚染の度合いにどのような影響が発現するかを観察した。すでに、木材腐朽性キノコの実用的な栽培培地に木炭粉を添加することで、その子実体収量が増加したものとして、ヒラタケについての例⁴⁶⁾が報告されている。

実験方法

供試菌株と種菌：北研600号のオガコ種菌（ダケカンバのオガコとフスマを使用）を用いた。

栽培培地： 培地基材にダケカンバのオガコ，培地添加物にフスマを用い，水分65%の培地を作製した。フスマの添加量は培地総重量の8.0%（絶乾重量換算）とした。試験区1として，この培地を培養袋に1kg充填した。試験区2として，木炭粉を培地総重量の2%添加した栽培培地を培養袋に1kg充填した。木炭粉としてはミズナラのオガコを回転炉を用いて600℃で1時間焼いて作製した。これらの培地は，高圧殺菌した後に種菌を接種・培養した。なお，供試培地数はいずれも8個とした。

培養条件： 培養は温度 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70\pm 5\%$ ，暗黒下で31日間行った。さらに，熟成を温度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70\pm 5\%$ ，照度350 lx（12時間の間欠照明）で61日間行った。

子実体の発生： 温度 $16^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $85\pm 5\%$ ，照度350 lx（12時間の間欠照明）の空調環境下で41日間，3回の発生を行った。1回目の発生は，培養袋を除去して菌床表面を水道水で洗い流してから行った。子実体発生終了後，水道水による16時間の流水による浸水処理を行った。2回目の子実体発生終了後，同様の浸水を各試験区の菌床に施し3回目の子実体発生を行った。

シイタケ子実体の採取： I. 3. 6（p.126）と同様に行った。その生重量を測定して子実体収量を求めた。さらに，採取した子実体を札幌市中央卸売市場札幌青果株式会社の規格（L，M，S，LS）によって分別した。

カビ汚染の判定： I. 3. 6（p.126）と同様に，カビが観察されないものを「-」，わずかでも *Trichoderma* spp. または *Penicillium* spp. が観察されれば「T」または「P」，それらの菌そうが成長しつつあるが菌床を廃棄するほどの汚染度でない場合は「T'」または「P'」，さらに汚染が進行し，それ以上菌床を使用するのが困難なほどの汚染度に達し

た場合は「T'」または「P'」とした。

pHの測定： 培地等のpHは、サンプルにその生重量の2.5倍の純水を加えて1時間攪拌した後pH電極を用いて測定した。

結果と考察

1) 子実体収量

表34に3回発生までの子実体収量と規格別収量を示した。コントロールの試験区1と木炭粉を添加した試験区2の結果をみると、子実体収量は202と209 g、うち高値で取引されるLとMの合計収量は71.6と76.5 gで、両者に明らかな差異は認められなかった。また、子実体の発生パターンは培地による違いは無く、いずれの発生回数においても1回の発生に要した期間は10から13日であった。本試験に設定条件下では、木炭粉は子実体収量に影響を及していないと考察される。なお、高圧殺菌後の各培地のpHは、試験区1が5.4、試験区2が5.5で木炭粉の添加による培地pHの変化はほとんど生じなかった。なお、木炭粉のpHは8.5であった。

2) シイタケ菌床のカビ汚染

表35にシイタケ菌床のカビ汚染状況を示した。1回目の発生終了時には、ほとんどの菌床に *Penicillium* spp. の汚染のみが観察されたが、試験区2の菌床で *Penicillium* spp. が観察されたのは1個のみで、他の培地と比較してカビ汚染の度合いが低かった。しかし、3回目の発生終了時には試験区2の全菌床に *Penicillium* spp. が発生していた。木炭粉を添加した試験区2の菌床について *Trichoderma* spp. の発生が少ない傾向がみられた。

道内のシイタケ菌床栽培において、子実体の発生はビニールハウスなどの簡易施設で行うのが一般的である。したがって、本試験で用いたような空調施設での栽培試験の結果のみから、木炭粉の添加により *Trichoderma* spp. の発生が抑えられるか否かを最終判断することは難しい。今後、そうした点の解明を目指して慎重に検討を重ねていきたい。また、

表 3 4 3 回発生までの子実体収量と規格別収量

(単位 : g / 菌床)

試験区 No.	試験区 1	試験区 2
木炭粉添加	なし	あり (2 %)
子実体収量	2 0 2 . 2	2 0 9 . 1
L 収量	1 3 . 9	4 . 1
M 収量	5 7 . 7	7 2 . 4
S 収量	6 5 . 8	6 3 . 8
L S 収量	6 4 . 8	6 8 . 8

注 : 供試菌床は 1.0k g, 供試数は 8 個

L : 傘の直径 6 ~ 8 cm, M : 同 4 . 5 ~ 6 cm, S : 同
3 ~ 4 . 5 cm, L S : それ以外のものおよび奇形のもの

表 3 5 シイタケ菌床のカビ汚染状況

		1 回目	2 回目	3 回目
		発生終了	発生終了	発生終了
試験区 1 (コントロール)	1	P	P	P, T'
	2	P	P'	P', T
	3	-	P	P
	4	-	T	T
	5	-	P, T'	P, T'
	6	P	P	P
	7	P	P	P
	8	P	P'	P'
試験区 2 (木炭 粉添加)	1	-	P'	P
	2	-	P	P
	3	-	P	P
	4	P	P'	P'
	5	-	-	P
	6	-	P	P
	7	-	P	P'
	8	-	P	P

注： 符号は表 30 (p.135) と同じ

すでにいくつかの菌糸活性剤が販売されており、そうしたものの機能の検定や食品であるシイタケの生産における安全性などの検討も行いたい。

I. 4 その他のキノコ菌床栽培技術

I. 4. 1 タモギタケ瓶栽培用新品種の開発²¹⁾

タモギタケは、夏にハルニレ (*Ulmus davidiana* Planch. var. *japonica* (Rehd.) Nakai) などの広葉樹の伐根や倒木に発生し、味が良く独特の香りを持つ食用キノコである¹⁰⁰⁾。写真19に野生のタモギタケの子実体を示した。すでに、オガコと米ぬかを用いた瓶栽培による通年栽培が実用化されている。図28に最近のタモギタケの道内生産量と国内生産量に対する比率を示す。平成6年における道内のタモギタケ生産量は282トンで、全国生産量の77%を占めている²⁸⁾。

現在、道内のタモギタケ栽培者は、道立林産試験場で開発した2品種 Pc 71-1 および Pc 76-5を使用している。これらの品種は培養途中で子実体原基を形成をしやすい性質を有しているために、常に安定した子実体収量を得ることが難しい。また、培地添加物としてフスマを用いると、米ぬかと比較して培地に菌糸が蔓延する時間が短縮され、子実体原基が形成される時にはほとんど菌回りが終了することで子実体収量が高くなるものの、子実体の傘が反り返りやすく¹⁰¹⁾生鮮食料品としての商品価値が下がる欠点があった。写真20に、フスマを用いたために傘が反り返ったタモギタケの子実体を示した。

さらに、この2品種は開発されて20年前後経過していることもあり、タモギタケの栽培者から上記のような欠点を改良した新品種の開発を求める声が高まっていた。そこでタモギタケの品種改良に着手した。親株として、道内での栽培実績があり、かつ栽培期間が20日程度と短い Pc 76-5、および培養途中で子実体原基の形成が行われにくいために子実体収量が高い特徴を持つ林産試験場保存株 Pc 77-4を用いた。両親株の子実体より単離した単孢子より得た一核菌糸の交配(系統間)により400菌株を作出した¹⁰²⁾。エゾマツやドドマツの針葉樹オガコと米ぬかを組み合わせた培地で、栽培期間が短く、形態的に優れ、かつ子実体収量の高いものを繰り返し選抜した。その結果、以下の選抜目標を満たす3菌株



写真19 野生のタモギタケの子実体

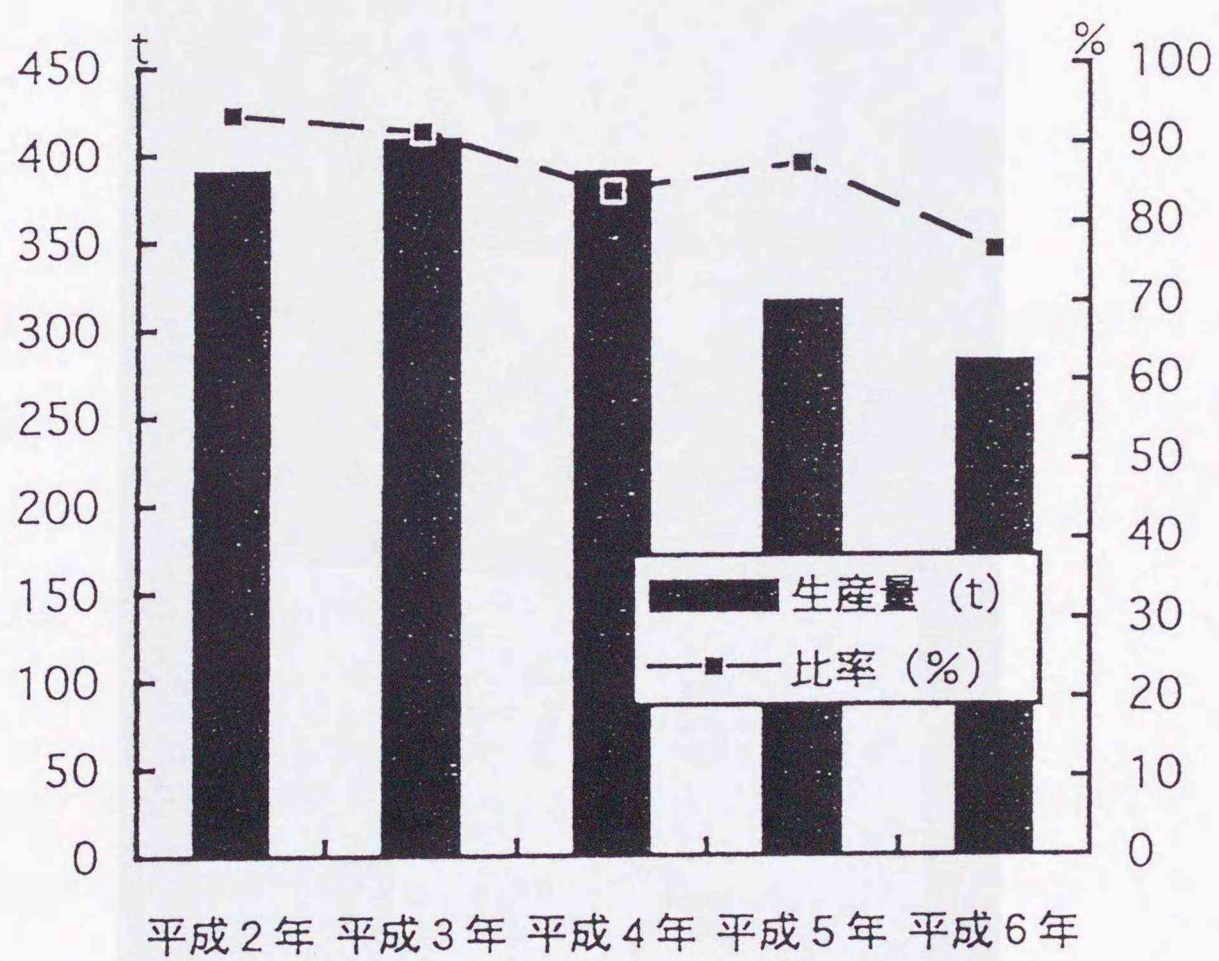


図28 タモギタケの道内生産量と国内生産量に対する比率

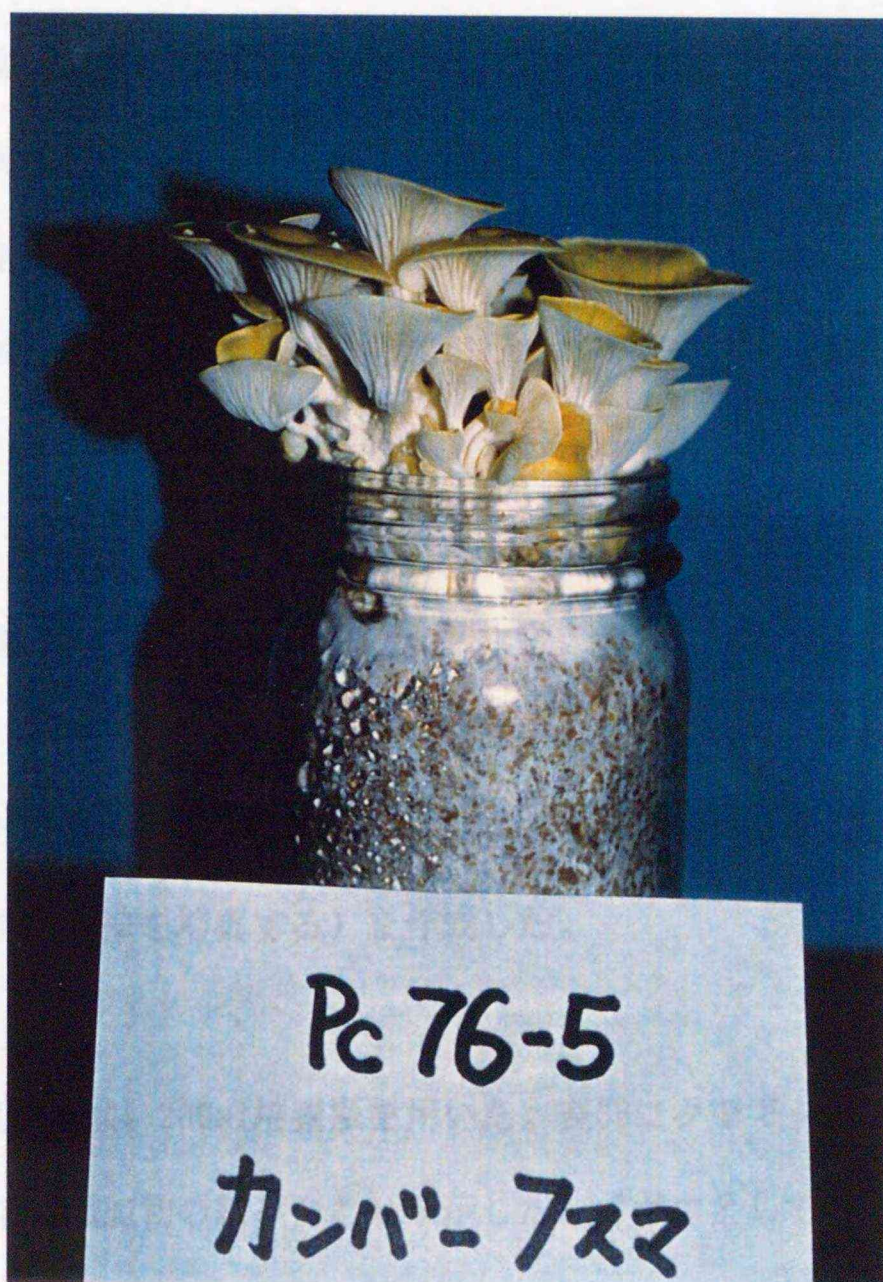


写真20 傘が反り返ったタモギタケの子実体

注： Pc 76-5の子実体

を選びエルム・マッシュ 北菌1号, 同2号, 同3号と命名し, 法的保護を行った²²⁾。ここでは, それらの新菌株の栽培特性を既存のものと比較し, その有利性を述べる。

選抜目標

1. 子実体の形態が優れている。
2. 子実体収量が優れている（1回目の子実体収量が良い）。
3. 栽培期間が可能な限り短い。
4. 培養途中で子実体原基の形成が行われにくい。

試験方法

供試菌株と種菌： エルム・マッシュ 北菌1号, 2号, 3号および親株である林産試験場保存菌株 Pc 76-5と Pc 77-4を用い, 常法に従って, これら5菌株のオガコ種菌（ダケカンバのオガコとフスマの組み合わせ, 4:1の体積比で両者を混合し水分を62~65%に調製した培地で供試菌株を培養する）を作成した。

栽培培地： 栽培には, 200ml培養瓶を用いた。表36にタモギタケ栽培における各試験区のオガコ樹種と培地添加物の組み合わせを示した。オガコとしてはイタヤカエデ, ダケカンバ, およびトドマツを用いた。培地添加物としてはフスマと米ぬかを用いた。培地組成はオガコ17.5%（乾燥重量換算）, 培地添加物17.5%（同）とし, 水道水を用いて培地水分を65%に調整した。トドマツのオガコを用いる場合には, 培地総重量の0.2%濃度となるように消石灰を添加した。培養瓶1本当たりの培地充填量を115gとし, 培地を培養瓶に充填後に高圧殺菌した。なお, 培養瓶の供試本数は各試験区6本とした。

種菌の接種： オガコ種菌を培地上部（子実体発生面）と接種穴に接種した。培養瓶1本当たりの接種量は, 4~6gとした。

表36 タモギタケ栽培における

各試験区のオガコ樹種と培地添加物の組み合わせ

試 験 区	オガコの樹種	培地添加物	その他
Ac-W	イタヤカエデ	フスマ	
Ac-R	イタヤカエデ	米ぬか	
Be-W	ダケカンバ	フスマ	
Be-R	ダケカンバ	米ぬか	
Ab-W	トドマツ	フスマ	消石灰
Ab-R	トドマツ	米ぬか	消石灰

注： 培地組成：オガコ（絶乾重量換算）17.5%，培地添加物（同）17.5%，

水分65%，消石灰はトドマツを用いた場合に培地総重量の

0.2%濃度となるように添加した

栽培条件： 培養は温度 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70\pm 5\%$ の暗黒下で，原則として培地全体に菌糸が蔓延するまで行った。子実体の原基形成と生育は，それぞれ温度 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ と $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $85\pm 5\%$ ，照度 350 lx （12時間の間欠照明）で行い，子実体原基の形成が行われるまで瓶口に有孔ポリシートをかけた。なお，培養途中で子実体原基の形成が認められた場合には，その時点で子実体の生育環境に培養瓶を移した。温度 22°C の培養環境中に培養瓶が置かれた期間を培養日数として測定した。

子実体の採取： 子実体の採取は培養瓶ごとに行った。採取時期は子実体の傘の巻き込みが無くなった時点とし，子実体の形態を観察するとともに生重量を測定して子実体収量を求めた。子実体の原基形成または生育環境に培養瓶を移してから採取までに要した日数（以下，生育日数と略す）と種菌の接種から子実体の採取までに要した全日数（栽培日数）を測定した。

結果と考察

1) 培養，生育および栽培日数

表37に各試験区の栽培日数と培養日数の結果を示した。エルム・マッシュ 北菌2号を除く菌株で，イタヤカエデとフスマの組み合わせの試験区（Ac-W区）における栽培日数が最も短く，全ての菌株でトドマツのオガコを用いた試験区（Ab-W，Ab-R）における栽培日数が長かった。また，イタヤカエデやダケカンバのオガコを用いた試験区では，米ぬかを添加した場合（Ac-R区とBe-R区）に比べフスマを添加した場合（Ac-W区とBe-W区）の栽培日数が短かった。これはフスマを用いると，培地全体に菌糸が蔓延するまでの日数あるいは原基を形成するまでの培養日数が短かったことに起因するものである。生育日数は，ほとんどの試験区において6日前後であった。

表38に各試験区の菌糸蔓延率を示した。タモギタケは培養途中に子実体原基を形成しや

表 3 7 各試験区の栽培日数と培養日数

(単位：日)

供試菌株	試 験 区					
	A c - W	A c - R	B e - W	B e - R	A b - W	A b - R
Pc 76-5	15.7	17.5	16.0	17.5	18.5	20.8
	9.7	12.2	10.0	12.0	12.2	15.0
Pc 77-4	18.8	21.1	20.3	23.3	28.3	24.5
	11.5	14.8	12.0	17.3	22.0	16.5
エルム・マッシュ	15.7	16.8	16.5	17.5	21.9	21.5
北菌 1 号	10.2	10.8	10.0	13.5	16.2	15.5
同	16.7	18.0	16.5	18.7	20.7	20.2
北菌 2 号	10.7	12.7	10.0	13.7	15.0	15.0
同	16.9	18.1	17.2	18.0	21.7	22.4
北菌 3 号	11.2	12.3	11.2	12.2	15.7	15.7

注： 試験区は表36 (p.154) の符号と対応する，上段：栽培日数，下段：培養日数

表 3 8 各試験区の菌糸蔓延率

(単位：%)

供試菌株	試 験 区					
	Ac-W	Ac-R	Be-W	Be-R	Ab-W	Ab-R
Pc 76-5	66.7	0	83.3	0	16.7	33.3
Pc 77-4	83.3	100.0	100.0	16.7	66.7	100.0
エルム・マッシュ 北菌 1 号	66.7	100.0	100.0	50.0	16.7	33.3
同 北菌 2 号	83.3	83.3	83.3	0	16.7	100.0
同 北菌 3 号	66.7	33.3	60.0	0	16.7	100.0

注：試験区は表36 (p.154) の符号と対応する，200 ml 培養瓶使用，

菌糸蔓延率 = $100 \times$

(子実体原基形成時に培地全体に菌糸が蔓延していた瓶数) / (供試瓶数)

すい。そこで、培養中に子実体原基の形成が生じた時点で、培地全体の菌糸蔓延が終了していた培養瓶数を供試培養瓶で除して、菌糸蔓延率を算出した。値の低さが示すように、親株である Pc 76-5は培地に菌糸が完全に蔓延しないうちに原基を形成することが多かった。特に、イタヤカエデやダケカンバのオガコを用いた試験区で、米ぬかを添加した場合（Ac-R区とBe-R区）には全ての培養瓶で培養途中に原基を形成した。もう一つの親株である Pc 77-4は6試験区中5試験区の菌糸蔓延瓶率が60%以上であり、Pc 76-5に比べPc 77-4は培養途中で原基を形成しにくい性質を持っていることが分かる。新品種3菌株については、エルム・マッシュ 北菌1号および3号は6試験区中3試験区で、同北菌2号は6試験区中4試験区で菌糸蔓延瓶率が60%を超えた。これは、培養途中で原基を形成しにくい Pc 77-4の性質を強く受け継いだものと考えられる。

2) 子実体収量および子実体の形態的特徴

表39に各試験区の子実体収量を示した。全ての供試菌株において、イタヤカエデやダケカンバの広葉樹オガコを用いフスマを添加した試験区（Ac-W区とBe-W区）は、米ぬかを添加した場合（Ac-R区とBe-R区）に比べ子実体収量が多かった（1%の危険率で有意差が認められた）。図29と図30には、それぞれイタヤカエデのオガコとダケカンバのオガコを用いた栽培培地の栽培日数と子実体収量の関係を示した。これらの広葉樹オガコでは栽培日数が短いほうが子実体収量が高い傾向が観察された。一方、トドマツのオガコを用いた試験区（Ab-W, Ab-R）では、フスマと比較して米ぬかを添加した場合に子実体収量が多かった。

タモギタケは子実体の傘が反り返ってラッパ形の子実体が発生する場合があることから、ラッパ形の子実体が発生した培養瓶数を供試した培養瓶数で除してラッパ率を算出し、結果を表40に示した。Pc 76-5とPc 77-4では広葉樹のオガコとフスマを組み合わせの培地でラッパ率の数値が高く、ラッパ形となり商品価値の低い子実体が発生する確率が高かった。しかし、エルム・マッシュ 北菌1～3号は、ラッパ率の値の低さが示すようにフスマを用いても子実体の傘が反り返り難い性質を示した。トドマツのオガコを用いた場合には、培

表39 各試験区の子実体収量

(単位：g/瓶)

供試菌株	試 験 区					
	Ac-W	Ac-R	Be-W	Be-R	Ab-W	Ab-R
Pc 76-5	23.6	18.1	25.5	13.8	14.9	17.8
Pc 77-4	26.7	17.7	22.8	17.0	15.4	15.5
エルム・マッシュ 北菌1号	25.1	20.6	25.6	16.4	21.5	22.9
同 北菌2号	26.7	21.3	25.7	16.2	20.4	21.4
同 北菌3号	24.7	20.9	26.1	14.7	15.7	17.4

注：試験区は表36 (p.154) の符号と対応する，200 ml 培養瓶使用

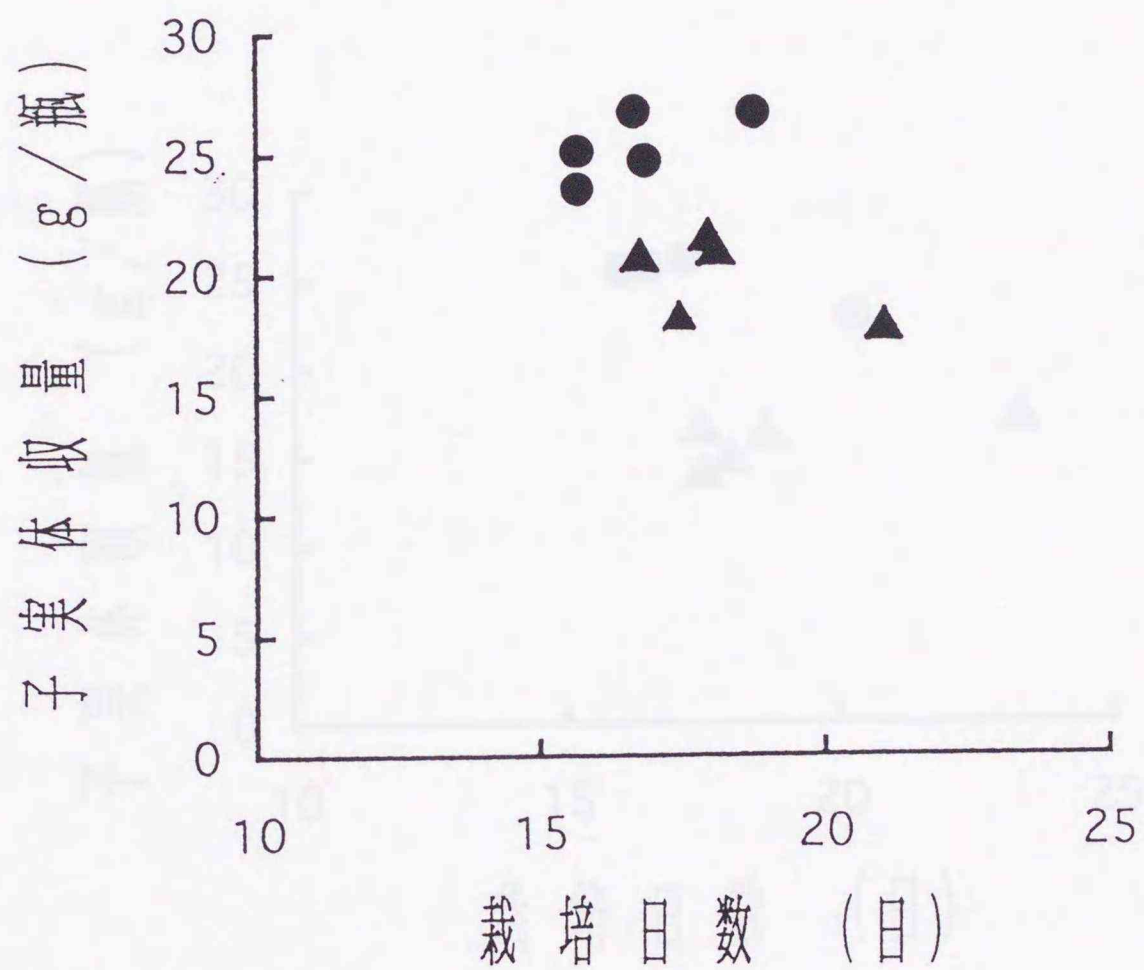


図 29 イタヤカエデのオガコを用いた栽培培地の
栽培日数と子実体収量の関係

符号： ●：培地添加物にフスマを使用（Ac-W），

▲：培地添加物に米ぬかを使用（Ac-R）

注： 200 ml培養瓶使用

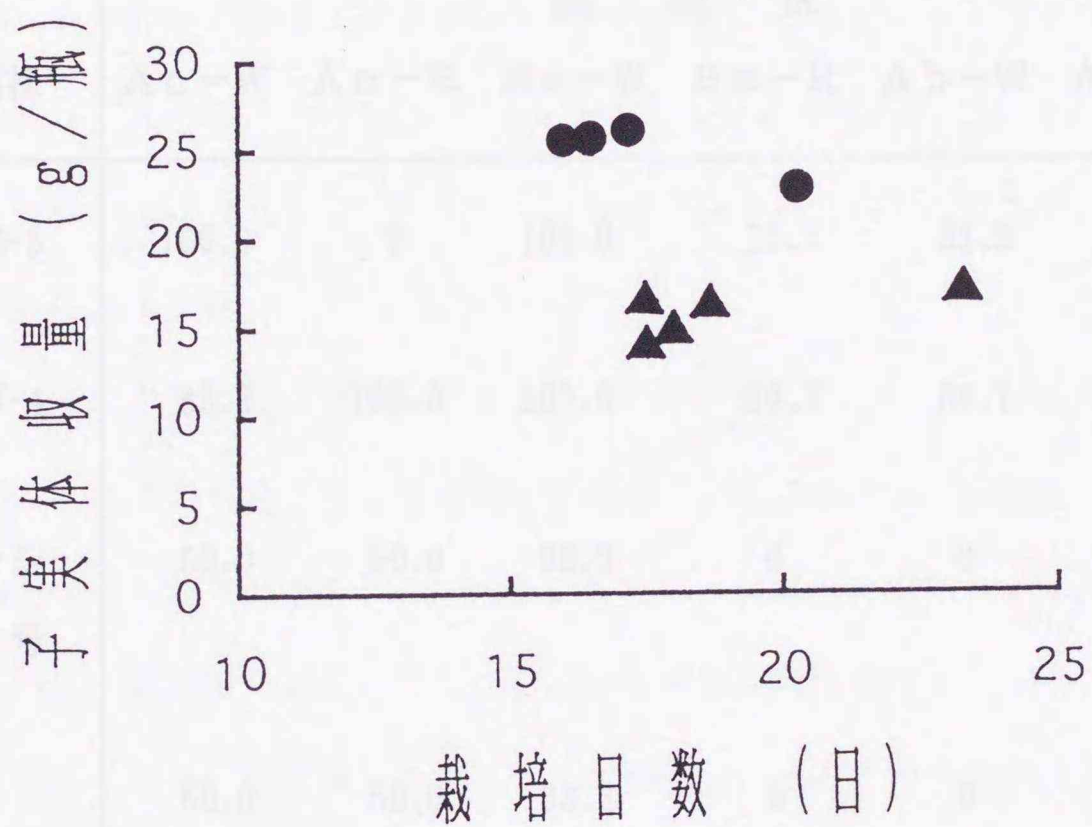


図30 ダケカンバのオガコを用いた栽培培地の
栽培日数と子実体収量の関係

符号：●：培地添加物にフスマを使用 (Be-W)，

▲：培地添加物に米ぬかを使用 (Be-R)

注：200 ml培養瓶使用

表40 各試験区のラッパ率

(単位：%)

供試菌株	試 験 区					
	Ac-W	Ac-R	Be-W	Be-R	Ab-W	Ab-R
Pc 76-5	100.0	0	100.0	16.7	33.3	33.3
Pc 77-4	83.3	100.0	100.0	16.7	66.7	100.0
エルム・マッシュ 北菌1号	50.0	50.0	33.3	0	0	0
同 北菌2号	50.0	50.0	33.3	0	0	0
同 北菌3号	0	0	0	0	0	0

注：試験区は表36 (p.154) の符号と対応する，200 ml 培養瓶使用，

ラッパ率 = $100 \times (\text{ラッパ形の子実体が発生した瓶数}) / (\text{供試瓶数})$

地添加物の種類に関係なくラップ率が0であった。また、エルム・マッシュ 北菌3号は全ての試験区で子実体の傘の反り返りが観察されなかった。エルム・マッシュ 北菌1～3号のこうした特徴は親株にはみられなかったものであり、その発現のメカニズムは不明である。

タモギタケ栽培者は、子実体の傘が反り返りを防ぐために子実体収量を犠牲にしても培地添加物に米ぬかを用いている。しかし、エルム・マッシュを栽培する場合はフスマでも質的にも量的にも十分な子実体が得られると考えられる。さらに、トドマツのオガコを用いた場合に注目しても、Pc 76-5や Pc 77-4より子実体の収量や形態において有利な結果となっている。写真21にはトドマツのオガコとフスマ (Ab-W) で栽培したエルム・マッシュ 北菌1号の子実体を示した。

道内の主なタモギタケ生産者はイタヤカエデのオガコを用いているが、将来的にその安定確保が保証されているものとはいえない。すでに、一部の栽培者は広葉樹のオガコに針葉樹のオガコを混合してタモギタケの生産を行っている。道内の樹種別蓄積量をみるとトドマツの値が高く、道内の全樹木の5本に1本がトドマツである²⁹⁾。こうした栽培者を取りまく環境を考えても、今回選抜したタモギタケ新品種が今後果たす役割は大きいものと期待される。なお、エルム・マッシュによるタモギタケの生産は平成8年(1996年)4月には行われる見込みである。

新品種を広く利用して貰うために、その法的保護に当たっては、ネーミングに配慮した。すなわち北海道のイメージをもち、タモギタケの個性を示しながら、かつ消費者にも受け入れ易いものであることを念頭に置いた。天然のタモギタケが生えるハルニレ(アカダモ)やオヒョウ(*Ulmus laciniata* Mayr) などニレ類(*Ulmus*)の木を英語でエルム(elm)と呼ぶことをヒント⁷⁵⁾にして、エルムのキノコをイメージする意味で、エルム・マッシュと命名することにした。本研究で選抜したこのエルム・マッシュが、道内におけるタモギタケの生産量と消費量の増大とともに、本州の消費者にも受け入れられることを期待する。



写真21 トドマツのオガコとフスマ (Ac-W) で栽培した
エルム・マッシュ 北菌1号の子実体

I. 4. 2 コーヒーカスを用いた野生型エノキタケ「えぞ雪の下」の栽培²⁰⁾

現在のエノキタケはいわゆる白造りのエノキタケが主流であり（写真22に白造りのエノキタケの子実体を示した），その姿は野生のエノキタケからはほど遠い。野生のエノキタケは，適度なぬめりと歯ごたえや味などが白造りのエノキタケとは異なり³¹⁾，むしろ優っているという評価もある⁹⁹⁾。林産試験場でその栽培技術を確立したことで，北海道において昭和61年から野生型エノキタケの生産が開始され^{31, 50, 69)}，平成6年の生産量は約3.9トンと報告²⁸⁾されている。写真23に野生型エノキタケ「えぞ雪の下」の子実体を示した（登録商標：えぞ雪の下⁹⁹⁾，以下えぞ雪の下と記す）。現在北海道としては，ナラタケ属に先駆けて，北海道産のキノコとして道内外への需要拡大を模索，検討している³³⁾。

一方，飲料メーカーの工場において，缶コーヒーを製造した際に大量のコーヒーカスが産出し，廃棄処分されている^{68, 77)}。コーヒーカスには細菌類に対する抗菌物質が含まれていることが報告されている⁷⁷⁾。また，えぞ雪の下を含むエノキタケの栽培では黒腐れ病状（根腐れ病状とも呼ぶ）が発生して，子実体の生産にダメージを与えることが少なくない。この黒腐れ病状は，細菌の一種である *Pseudomonas tolaasii* Paine により引き起こされることが報告⁷¹⁾されている。そこで，えぞ雪の下の瓶栽培において，オガコの代わりにコーヒーカスを用いることができれば，キノコの病気予防と生産のコスト削減および産業廃棄物の活用につながることを期待される。そこで本試験では，そうした目論見の前段として，コーヒーカスを用いてえぞ雪の下が栽培できるか否かを検討した。

実験方法

供試菌株と種菌： 林産試験場えぞ雪の下保存菌株 No.9を供試し，ダケカンバのオガコとフスマ培地で作製したオガコ種菌を用いた。

栽培培地： 表41にえぞ雪の下の培地組成と高圧殺菌後の培地pHを示した。試験区65CWと



写真22 白造りのエノキタケの子実体



写真23 野生型エノキタケ「えぞ雪の下」の子実体

注： ダケカンバとフスマを用いた瓶栽培，800 ml瓶使用

表4 1 えぞ雪の下の培地組成と高圧殺菌後の培地 pH

試験区	培 地 組 成 (200 ml培養瓶1本当たり)	p H
6 5 C W	コヒカス: 26 g フスマ: 20 g 水: 85 g	5.7
7 0 C W	コヒカス: 20 g フスマ: 20 g 水: 91 g	5.8
B e - W	ダリカハ: 26 g フスマ: 20 g 水: 85 g	5.9

注： 培地水分はいずれも65%に設定

200 ml培養瓶1本当たりの培地充填量は131 g

70CWはコーヒークラスとフスマを混合後、水道水を加えて水分を65%と70%に設定したものである。さらに、えぞ雪の下で栽培で最も収量の良いとされるカンバのオガコとフスマを組み合わせた培地（培地水分65%）^{31, 69)}を、コントロール区（表41：Be-W）として用いた。200 mlガラス瓶にこれらの培地を131gずつ詰め込み、培地中央部に直径15 mmの接種穴をあけ、高圧殺菌した。なお、各試験区の培養瓶の供試本数は12本とした。

栽培条件： 1本の培地に、オガコ種菌を4～5 g接種し、温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $70 \pm 5\%$ の暗黒下で培養し、菌回り日数を測定した。各培養瓶について菌糸が蔓延した時点で菌掻きし、水道水を用いた3時間の注水を行った。その後温度 $12 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $85 \pm 5\%$ 、照度350 lx（12時間の間欠照明）の環境下で子実体の原基形成と生育を行い、原基形成日数と採取日数を測定した。子実体原基の形成が認められるまで有孔ポリシートで瓶口を覆った。

子実体の採取： 子実体の採取は培養瓶ごとに行い、採取時期は培養瓶の約8割の子実体の傘の巻き込みがなくなった時点とした。子実体の生重量を測定して子実体収量とした。

結果と考察

表42にコーヒークラスを用いたえぞ雪の下で栽培試験結果を示した。各試験区とも菌回り日数、原基形成日数、採取日数、および栽培日数に大きな差異は認められなかった。一方、子実体収量については、培地水分に関係なくコーヒークラスを用いた試験区の子実体収量が多く、コントロール区に対して1%の危険率で有意差が認められた。また、各試験区とも子実体の形態に乱れは生じなかった。写真24にコーヒークラスとフスマで栽培したえぞ雪の下（試験区：65CW）の子実体を示した。各試験区の高圧殺菌後の培地pHは、5.7～5.9で大きな違いは認められなかった。

道内のえぞ雪の下で栽培では、主に針葉樹（トドマツ等）のオガコが用いられ、培地添

表42 コーヒークスを用いたえぞ雪の下の栽培試験結果

試験区	菌回り日数	原基形成日数	採取日数	栽培日数	子実体収量 (g/瓶)
	(日)				
65CW	15.1	12.3	10.8	38.2	43.6±6.2
70CW	13.2	12.8	11.7	37.7	42.6±5.0
Be-W	14.0	13.3	11.5	38.8	27.7±4.3

注：試験区は表41 (p.168) の符号と対応する，

200 ml培養使用

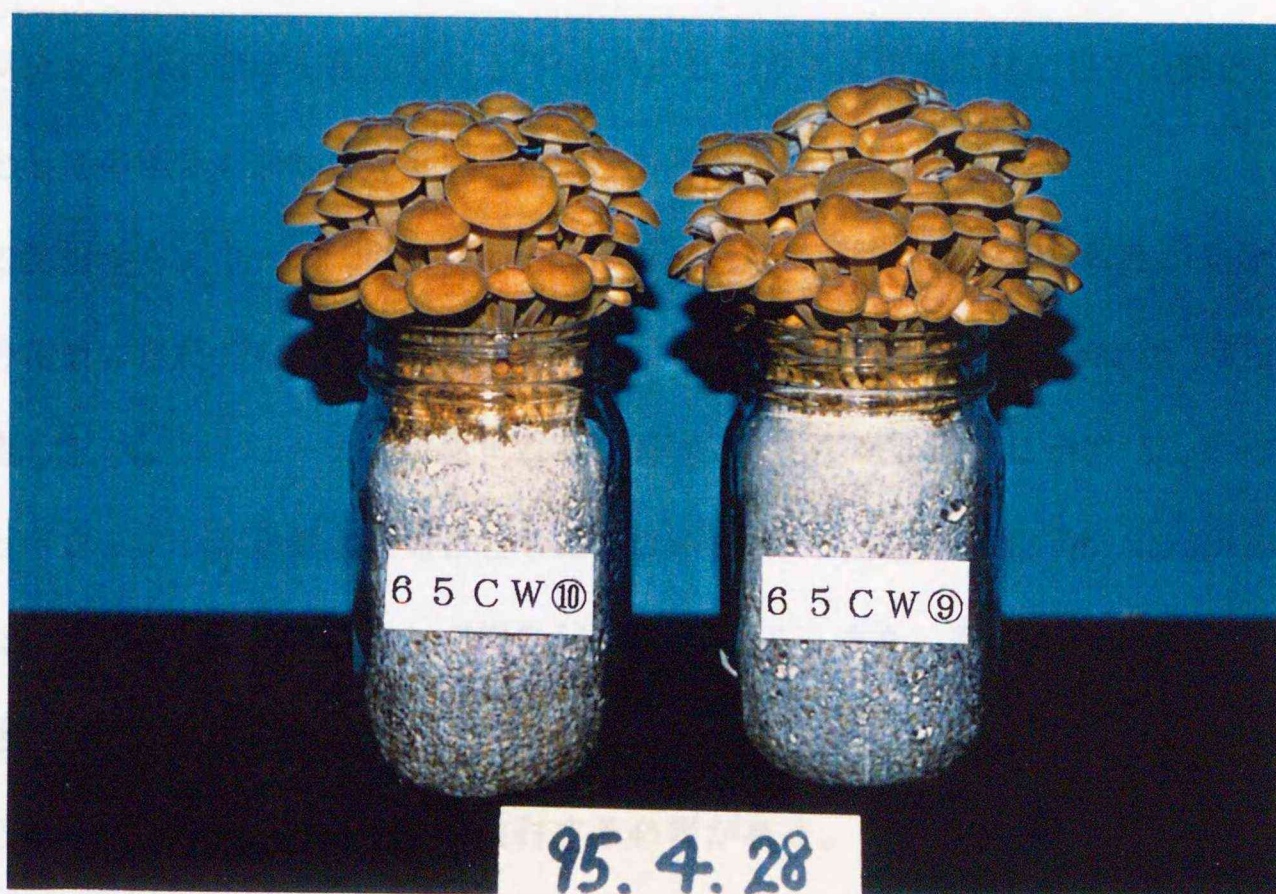


写真24 コーヒーカスとフスマで栽培したえぞ雪の下

注：65CW試験区（培地水分65%），200 ml瓶使用

加物には米ぬかが用いられている。針葉樹のオガコとフスマを組み合わせると子実体収量が低下し、カンバ類のオガコの場合にはフスマを組み合わせても子実体収量の低下は生じない^{31, 69)}傾向がみられる。そうした点を考慮するとえぞ雪の下での栽培において、コーヒーカスは広葉樹的な性質を示すと考察された。

山形県では、コーヒーカスを用いたナメコ栽培の可能性を報告しており⁶⁸⁾、コーヒーカスを、これから入手が困難となると予想される広葉樹のオガコの代替培地基材として位置づけており、本試験の結果と一致している。また、長野県では、コーヒーカスを培地添加物としてブナシメジの栽培を試みている⁷²⁾。コーヒーカスは培地基材としての働きと、培地添加物としての働きを兼ね備えている可能性も考えられる。

本試験の結果から、コーヒーカスがえぞ雪の下での栽培に利用可能であることが分かったことで、今後は、最終的な目標である黒腐れ病状を引き起こす *P. tolaasii* の予防効果を詳細に調査したい。コーヒーカスに含まれる抗菌物質としては、図31に示す 3',4'-ジヒドロキシアセトフェノンが単離されるとともに、コーヒーカスの抽出物は *P. aeruginosa* IF0-3080などの発育を阻害することが報告⁷⁷⁾されている。また、栽培培地におけるコーヒーカスと米ぬかの組合わせや、実用サイズの栽培を考慮するとともに、培養瓶のスケールアップが栽培結果に与える影響なども検討する必要がある。

参考として、表43に道内の缶コーヒーメーカーであるC社（道内に2工場を有す）のコーヒーカス産出量の推移を示した。年を追うごとにその産出量が増加している。これらの処分方法としては、堆肥材料やゴルフ場の芝への散布などであるが、産出量の増大とともに同メーカーでは新たな活用方法の開拓を模索している。ちなみに、1 m³のオガコで850 ml培養瓶で約1,000本の培地を詰め込むことができる。本試験の結果から考えて、コーヒーカスでも同程度の培地量を作製可能であることから、1995年の8,400 m³のコーヒーカスがあれば、1日当たり23,000本分の培地を作製できることになる。コーヒーカスを堆肥化するのであれば、こうしたキノコ栽培後の廃培地を利用することも可能であり、窒素補給面からも有利と考えられる。

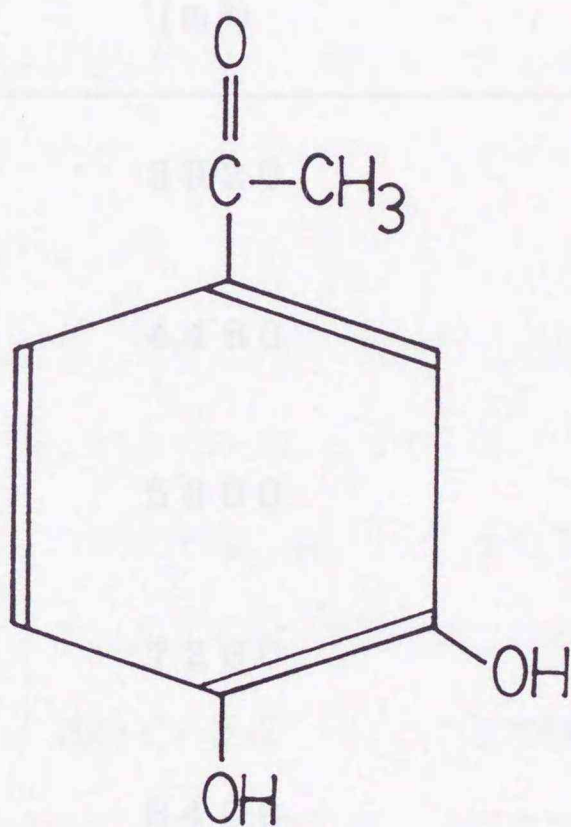


図31 3',4'-ジヒドロキシアセトフェノンの構造式

表43 C社のコーヒーカス産出量の推移

年	コーヒーカス産出量（水分約70％）	
	（m ³ ）	（トン）
平成3年（1991）	3920	2800
平成4年（1992）	4480	3200
平成5年（1993）	5600	4000
平成6年（1994）	7280	5200
平成7年（1995）	8400	6000

注：C社は道内に2工場を有す

缶コーヒ1本当たり1.5～7.8gのコーヒーカスが生じる

I. 5 まとめ

北海道のキノコ産業は、本州の技術を模倣したミズナラ原木を用いたシイタケ栽培に始った。本州の気候と比較して寒冷地であることの困難を抱えながら、先人の創意工夫で種々の問題点を克服して生産量を増やしてきた。現在では、上川郡愛別町にみるようにキノコ産業で町おこしをはかって「きのこの里・愛別」を定着させ⁶⁷⁾、卸売市場で愛別ブランドが確立されるまでになった成功例もみられる。また、キノコの栽培形態は、白造りのエノキタケからオガコを用いる菌床栽培が主流となり、唯一原木栽培が維持されてきたシイタケにおいても、そうした流れが押し寄せ、平成7年の生シイタケ生産量に占める菌床生産の割合は50%を超える可能性が高い。

さらなる道内キノコ産業の発展をはかっていくには、現在の栽培作目に係わる生産技術の向上と生産コストの低減を強力に推し進めていくことに加えて、独自の作目を生産してそれらを本州に移出することで、「キノコの北海道」のイメージを全国的に定着させることが不可欠であろう。本章では、そうした北海道ブランドのキノコの新作目の提案を、3節に分けて述べてきた。特に、ナラタケ属のキノコについては、その知名度の高さにおいては商品となりうることに問題はないものの、栽培技術が確立されていなかった。しかし、本研究により、必要な時に必要な量のキノコを安定して生産できる技術を他の試験研究機関に先駆けて確立することができた。そうした研究成果を達成できたのは、好運にも、人工栽培施設で子実体を形成しやすいツバナラタケの菌株(HFP-Am 82-10と同82-14)を選抜できたことと、キノコ栽培において扱い易い根状菌糸束形成促進物としてニンジンのみいだすことができたこと、さらには安定して子実体原基を形成する方法として、子実体原基が形成された後に培養瓶のキャップを取り去ることをみいだしたことが大きなポイントであった。この研究で得られた技術をキノコ生産者に技術移転し、即その成果を生産現場で現実のものとするには難しい点も若干残っている。しかし、あと僅かの時間でそれらの問

題点を解決できる見通しがついている。

これから、ツバナラタケの栽培を実用化するに当たって大きな障害となることとしては、廃培地の処理であろう。本研究では廃培地の有効利用を試み、ヒラタケ栽培における培地基材としてのメリットが提案できた。実際に、ツバナラタケの栽培を担当するキノコ農家にヒラタケの栽培をも強制できるかの疑問は残る。ヒラタケはブナシメジの生産が伸びるに従って、生産量が減少してきているキノコであり、キノコ栽培者に限らず消費者にとっても過去のキノコになりつつある。ヒラタケは「シメジ」として販売することを運命づけられ、傘を小さくして茎を太くみせるシメジ型ヒラタケで生産されてきた。しかし、ヒラタケの本来の形態は、種々のキノコの図鑑⁴²⁾に示されているように、傘は大きく茎は小さくである。つまり、傘を食べるキノコである。本研究では、写真10 (p.87) に示したようにヒラタケ型ヒラタケを提案した。廃培地の有効利用とともに、ヒラタケ本来の姿と味を一般消費者に理解してもらうチャンスも求めた。

タモギタケは品種を選べば、20日程度で栽培を終えることができることから、他に類をみない非常に栽培期間の短いキノコである。鮮やかな黄色が本州の消費者には毒々しく感じられるといわれる。おそらく、タモギタケの分布が東北地域と北海道に片寄っている⁷⁵⁾ために、知名度が上がらないことが災いしていると思われる。また、道内においても生産量が伸びないため、タモギタケの消費が伸び悩んでいるようなイメージが定着している。タモギタケは他の菌床栽培キノコと異なり、本州メーカーの種菌ではなく、林産試験場が開発した2品種を使って、その種菌を北海道きのこ農協（三笠市）が生産し、道内の栽培者にほぼ100%供給している³⁴⁾。この2品種は、現在のナメコの栽培形態と同じく2番発生まで行うことが主流であった時代の栽培形態に合わせて選抜されたものである。

しかし、現在のタモギタケ栽培は一度の発生のみとする形態が主流となっているため、この2品種では子実体収量が一回目に集中せず、十分な量のキノコを生産することが難しく、スムーズな生産拡大がはかりにくい面があった。そこで、栽培者の立場に立って一回目の発生でより多くの子実体を得られる品種を選抜することを目標にして、単孢子交配で

作出後保存されていた100株を用いて選抜試験を繰り返し行った。その結果、形態的にも優れている3品種を選び出しその法的保護の申請を1995年9月に行った。現在、道内の生産者に普及するための準備を進めている。

また、タモギタケをフスマで栽培すると傘がラッパ状に変形したことから、培地添加物として米ぬかの使用が推奨されてきた。しかし、この3品種はそうした性質もつ親株同士の交配株であるにも拘らず、フスマで栽培しても傘の変形は生じにくい性質を有していた。栽培者にとっては、メリットの多い3品種であり、今後のタモギタケ生産量の増大に大きく寄与することが期待できる。また、ネーミングについても、北海道の爽やかなイメージを本州の消費者に訴え掛けることができるように熟慮した。すなわち、天然のタモギタケが生えるハルニレ（アカダモ）やオヒョウなどニレ類の木を英語でエルムと呼ぶことをヒント⁷⁵⁾にして、エルムのキノコをイメージする意味で、エルム・マッシュと命名した。このエルム・マッシュが、道内におけるタモギタケの生産量と消費量の増大とともに、本州の消費者にも広く受け入れられることを期待する。

えぞ雪の下は、10年ほど前に林産試験場で開発された野生型のエノキタケであり、キノコ先進県の長野県で「とらまきたけ」として生産されたエノキタケと類似のものである。同県ではその技術が褐色エノキタケである「シナノブラウン」に受け継がれているが、消費者にとってエノキタケは白いものとのイメージができ上がっているために、えぞ雪の下と同様に生産量が伸び悩んでいる。味覚的には、白造りのエノキタケを凌ぐ面があるものの、野生エノキタケの個性である黒い茎が消費者には受け入れにくいようである。野生エノキタケは、その茎の特徴からベルベットフーズとも呼ばれるキノコである。こうした優良作目を、北海道特産のキノコとして生産量を増すと同時に、販路の拡大をはかりたいものである。

また、エノキタケの栽培においては、細菌が原因となる黒腐れ病や糸状菌が引き起こすコウジカビ病⁷¹⁾といった障害が常に問題となる。一方、缶コーヒーの消費が伸び、それとともに産出量が増大しているコーヒーカスには、そうした細菌の仲間の成長を阻害する物

質が含まれているとの報告⁷⁷⁾をみいだした。そこで、コーヒークスがオガコに替わる培地基材とし活用できるか否かを検討した。その結果、えぞ雪の下での栽培において、コーヒークスはオガコ以上に優れた培地基材になりうる可能性がえられた。今後は、栽培のスケールアップの検討を行うとともに、コーヒークスの利用が *P. tolaasii* などの細菌による黒腐れ病の防止に効果がみられるかを明らかにするとともに、食品工場の副産物の有効利用が可能なことを利用してえぞ雪の下での知名度アップをはかりたい。また、えぞ雪の下での栽培結果からコーヒークスは広葉樹のオガコに近い性質を有していることが示された。したがって、広葉樹でしか栽培難しいとされるシイタケやマイタケの栽培にもコーヒークスが有効活用できる可能性が得られたことになる。

シイタケの菌床栽培は急速に道内に普及しているが、その栽培技術が発展途上にあり、安定した経営が難しい。そうした、原因の一つにキノコの発生中にシイタケ菌床を汚染する *Trichoderma* spp. や *Penicillium* spp. などのカビの問題がある。シイタケ栽培においては原木栽培および菌床栽培に限らず、シイタケの活物寄生菌である *Trichoderma* spp. の発現を100%避けることはできない。しかし、原木栽培栽培においては、その作目の経済的重要性から *Trichoderma* spp. 対策が研究され、多くの報告⁵⁹⁾が出されている。しかし、菌床シイタケでは、その栽培形態を考えれば原木栽培以上に菌床の病気予防策が必要であるにもかかわらず、研究報告は少ない。そこで、道内の菌床シイタケ発生施設のカビ汚染状況を広い地域に渡って調査するとともに、そうした施設やシイタケ菌床における *Trichoderma* spp. のキャラクターゼーションについて検討した。

その結果、24全施設の平均落下真菌数は直径9 cmの平板培地当たり29.4個（範囲：6.0～142.4個）であった。落下真菌数の71.4%を *Penicillium* spp. が占め、以下、菌糸型不完全菌類 12.4%、*Cladosporium* spp. 6.7%、酵母 2.5%、*Trichoderma* spp. 1.9%、その他5.1%であった。調査した施設単位ごとの各真菌の検出率は、*Penicillium* spp. が最も高く95.8%の施設で検出され、以下、*Cladosporium* spp. および菌糸型不完全菌類 83.3%、*Trichoderma* spp. 70.8%、酵母 62.5%、接合菌類 37.5%、*Acremonium* spp.

20.8%であった。*Trichoderma* spp.は落下菌として数は少ないものの、多くの施設で検出されること、落下菌および菌床から分離された *Trichoderma* spp.ともに、*T. koningi* に類似のものの検出率が50%以上と高いことを明らかにした。さらに、規定濃度以上の防黴剤を用いても成長する *Trichoderma* spp. の菌株が検出され、薬剤のみに頼る防黴対策に警鐘を鳴らさざるをえない状況も明らかになった。シイタケ栽培施設における *Trichoderma* spp.の挙動がほぼ掴めたことから、シイタケ菌床栽培の *Trichoderma* spp.対策の検討を試み、シイタケ菌床そのものに *Trichoderma* spp.汚染を押さえさせることが有効な手段となることを、I. 3. 7 (p.138) で述べた。すなわち、培地添加物使用量の適性化がシイタケ菌床の *Trichoderma* spp.汚染の拡大を押さえることを示した。現在、この実用化に向けて詳細な検討を行っている。

菌床シイタケについては、その栽培形態を考えれば原木栽培以上に菌床の病気予防策が必要であるにもかかわらず、研究報告は少ない。この調査で得られた成果は、衰えが見えない道内の菌床シイタケブームを堅実な流れに変えていくことにおいて意義の大きいものと思慮される。また、北海道に限らず本州の菌床シイタケ栽培地域においても基礎的データとして活用される可能性も考えられる。

II. 1 はじめに

菌床栽培による食用キノコの生産が増大するとともに、培地基材であるオガコの需要も拡大してきている。そうした状況により、豊富な広葉樹資源に恵まれている北海道においても、キノコ栽培に適する広葉樹オガコの確保が難しくなりつつある。一方、北海道の森林資源²⁹⁾は、トドマツ、カラマツ、エゾマツなどの針葉樹の森林蓄積が多い。特にトドマツは蓄積が多く、道内の平成6年4月1日現在における樹種別蓄積量の21.7%を占めている。ちなみに、広葉樹で最も蓄積が多いカンバ類は11.4%で、第2位のカラマツ13.2%に次ぐ、第3位である。したがって、今後の北海道におけるキノコ産業は、針葉樹のオガコを積極的に活用していく必要に迫られているといえる。

一般的に、針葉樹のオガコをそのまま広葉樹のオガコと置き換えてキノコの菌床栽培を行うと、広葉樹の場合と比較して、菌糸成長の遅延や子実体収量の低下が観察される^{30, 98)}。I. 2. 9の針葉樹を用いたナラタケ属の栽培における表8 (p.47) に示したように、トドマツやエゾマツなどの針葉樹オガコを用いたナラタケ属の栽培においてもそうした現象が観察されている。現在、人工栽培されている食用キノコのほとんどは白色腐朽菌であり⁹⁶⁾、そうした菌による木材の生分解過程を考えると、木材主成分であるセルロース、ヘミセルロース、およびリグニンの代謝の難易性に加えて、抽出成分の関与にも注目する必要があると思慮される。

そこで本章では、将来のキノコ栽培が積極的に針葉樹を活用できるような状況を作り上げるための第一歩として、道内の樹種別森林蓄積の1位を占めるトドマツを取り上げ、その材の抽出成分に注目して、シイタケ、エノキタケ、ナメコ、ヒラタケ、マイタケ、およびタモギタケなど主要な食用キノコに対する菌糸成長阻害成分の検索と構造解析を試みた。

II. 2 阻害成分の検索

II. 2. 1 トドマツ材の抽出成分の阻害性^{139, 140)}

実験方法

抽出物の調製： 上川郡当麻町の道有林で伐採した40年生のトドマツ材から得たオガコ（16～60メッシュ）を95%エタノールで約1カ月間常温抽出してエタノール抽出物を得た。さらに、図32に示すトドマツオガコの抽出物の分画に従って、エタノール抽出物のヘキサン可溶部，酢酸エチル可溶部，残さを分画した。

供試菌： シイタケ（（株）川村食用菌研究所・S54号），エノキタケ（日本農林種菌（株）・A），ヒラタケ（日本農林種菌（株）・ひらたけ中性），ナメコ（森産業（株）・14号），マイタケ（（株）北研・M-1），およびタモギタケ（林産試験場保存株 Pc 76-5）をPDA平板培地を用いて $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗黒下で前培養して生物検定の接種源を作製した。

生物検定： 寒天培地混釈法を用いた。下記に示す組成の検定用半合成寒天培地に，種々の濃度の各抽出成分をエタノール溶液として添加した。エタノール溶液の添加量は，いずれの場合にも培地に対して0.5%濃度となるようにした。コントロール培地にはエタノールのみを添加した。これらの培地を直径9 cmのシャーレに16～18 ml分注して平板培地を作製し，その中央にコルクボーラーで寒天培地ごと打ち抜いた直径5.0 mmのディスクを接種した。コントロール培地の菌糸先端がシャーレの縁から1 cm程度に達するまで $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗黒下で6～14日間培養した。ついで，菌糸体を寒天培地ごと熱水を加えて煮沸し，寒天を溶解してろ過した。得られた菌糸体を熱水で洗浄後， 105°C で16時間以上乾燥して恒量化した。コントロールの菌糸体重量を100として，各抽出成分を含む培地の菌糸成長率を算出

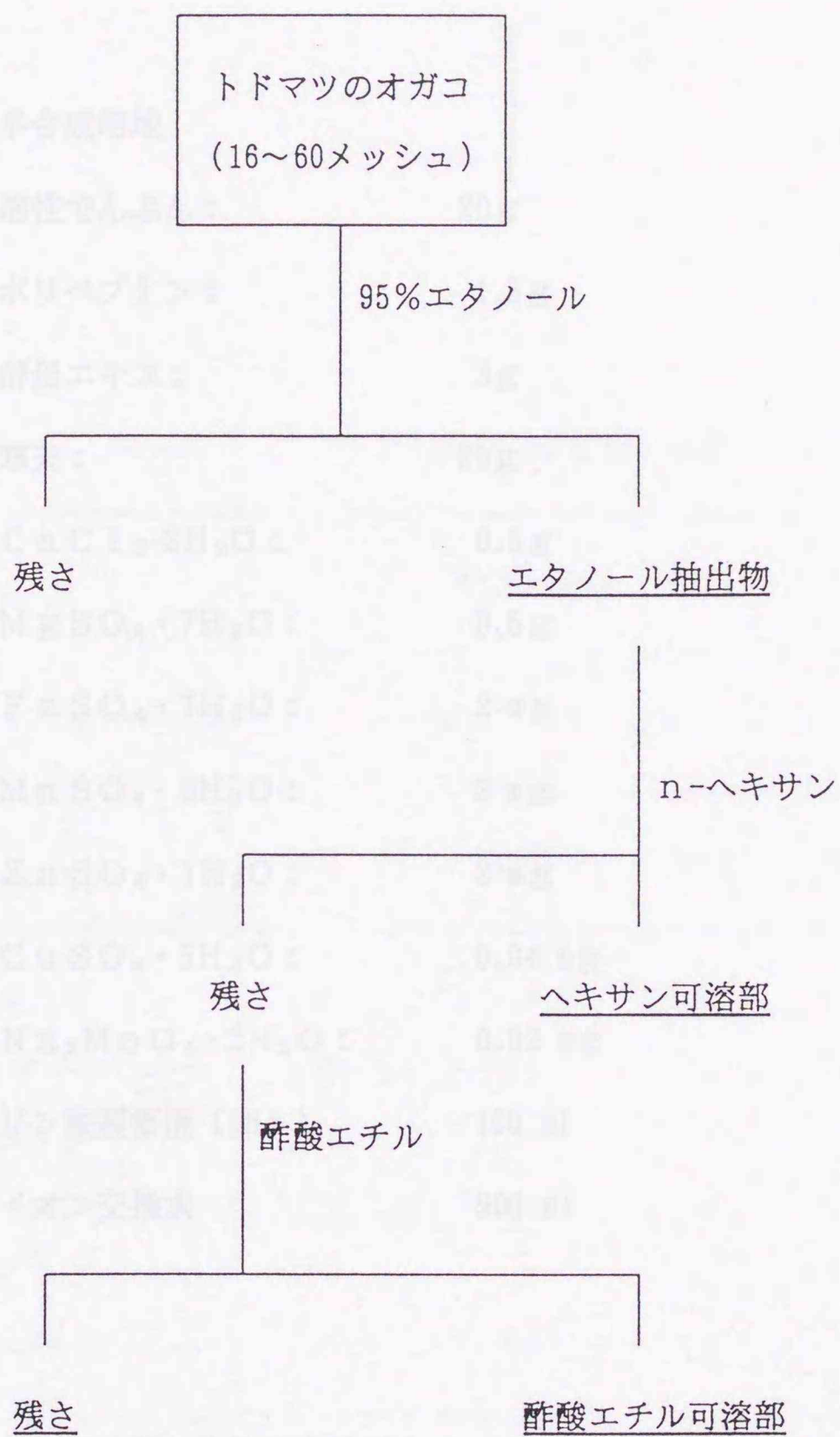


図32 トドマツオガコの抽出物の分画

注：アンダーラインの物質について食用キノコの菌糸成長阻害性を検定した

した。なお，1試験区に10枚の平板培地を供試した。

検定用半合成培地

溶性でんぷん：	20 g
ポリペプトン：	1.5 g
酵母エキス：	3 g
寒天：	20 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ：	0.5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ：	0.5 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ：	2 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ：	2 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ：	2 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ：	0.04 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ：	0.02 mg
リン酸緩衝液 (pH5)	100 ml
イオン交換水	900 ml

結果と考察

表44にエタノール抽出物の生物検定結果を示した。エタノール抽出物の収率が1.38%であることから，4500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ がオガコの抽出成分濃度に当たる。オガコ中の濃度の1/15に当たる300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で全供試菌の菌糸成長率がコントロールの2/3以下に減少した。ナメコに対する阻害が最も低く，タモギタケ，エノキタケおよびヒラタケに対する阻害が高い傾向がみられた。したがって，エタノール抽出物にキノコの菌糸成長を阻害する要因が含まれていることが明らかになった。

表45にエタノール抽出物の各分画の菌糸成長率を示した。ヘキサン可溶部の1800 $\mu\text{g}/$

表 4 4 エタノール抽出物の生物検定結果

菌 種	菌糸成長率 (%)			
	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
	100	300	500	1000
シイタケ	83	48	45	44
エノキタケ	59	32	31	31
ヒラタケ	66	37	29	31
ナメコ	70	63	54	54
マイタケ	70	43	40	37
タモギタケ	46	28	27	29

注：菌糸成長率はコントロールを100とした値である

表45 エタノール抽出物の各分画の菌糸成長率

分 画	ヘキサン可溶部			酢酸エチル可溶部		抽出残さ	
濃度(μ g/ml)	450	900	1800	390	1560	275	1100
菌 種							
シイタケ	22	12	1	95	94	111	121
エノキタケ	44	30	19	88	82	109	121
ヒラタケ	53	38	33	123	113	107	116
ナメコ	34	23	16	70	77	89	83
マイタケ	16	6	4	82	115	109	134
タモギタケ	22	19	12	110	158	107	106

注：菌糸成長率はコントロールを100とした値である

ml, 酢酸エチル可溶部の1560 $\mu\text{g/ml}$, 残さの1100 $\mu\text{g/ml}$ はそれぞれの成分がオガコに含まれる濃度に相当する。ヘキサン可溶部の1800 $\mu\text{g/ml}$ では, シイタケとマイタケはほとんど成長できなかった。その他のキノコについても菌糸成長率が非常に低かった。オガコ中の1/4濃度に当たる450 $\mu\text{g/ml}$ において, ヒラタケを除いて菌糸成長率が50%以下になっている。酢酸エチル可溶部においてはナメコとエノキタケの菌糸成長が, 残さにおいてナメコの菌糸成長がやや阻害されているが, ヘキサン可溶部ほどの顕著な阻害効果は観察されなかった。

したがって, エタノール抽出物に含まれる阻害成分はヘキサン可溶部に移動したものと判断された。阻害成分は, 非極性溶媒であるヘキサンに抽出されたことから, パラフィン類, 高級脂肪酸とそのエステル類, テルペノイド等と推定された。スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don), ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc.), ヒバ (*Thujopsis dolabrata* Sieb. et Zucc. var. *hondai* Makino) などの針葉樹材からテルペノイド系のキノコの菌糸成長阻害物質が単離されていることから, テルペノイド系の化合物を主成分とする精油に注目した。

II. 2. 2 トドマツ材の精油の阻害性^{103, 140)}

実験方法

精油の調製: トドマツ生材を0.2×0.5×3 cm程度の大きさの小片にし, イオン交換水を用いた10時間の水蒸気蒸留を行い0.17%の収率で精油を得た。

供試菌: II. 2. 1と同じ供試菌を同様に前培養して生物検定の接種源を作製した。

生物検定: II. 2. 1と同様に寒天培地混釈法を用いて行った。

結果と考察

図33に食用キノコの菌糸成長に及ぼすトドマツ精油の影響を示した。560 $\mu\text{g}/\text{ml}$ が材中の精油濃度に相当する。供試菌により差があるが、材中の1/4濃度に当たる140 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でいずれの菌の菌糸成長率がコントロールの半分以下となった。したがって、エタノール抽出物のヘキサン可溶部と同じく、トドマツ材部の精油中にも食用キノコに対する菌糸成長阻害成分が含まれていることが明らかになった。

II. 2. 3 精油およびヘキサン可溶部に含まれている化合物の分析^{103, 141)}

実験方法

ガスクロマトグラフィー分析（以下、GLCと略す）：下記の条件でトドマツ精油のガスクロマトグラフィー分析を行った。

ガスクロマトグラフ：SHIMAZU GC-14A

キャピラリーカラム：PEG20M, $\phi 0.35\text{ mm} \times 50\text{ m}$

カラム温度：60°Cから190°Cまで5°C/minで昇温

キャリアガスと流量：He, 3 ml/min

注入および検出温度：250°C

検出器：FID

分析用薄層クロマトグラフィー（以下、TLCと略す）：下記の条件でトドマツの精油とヘキサン可溶部について薄層クロマトグラフィー分析を行った。

吸着剤：シリカゲル（MERCK TLC アルミニウムシート シリカゲル60）

展開溶媒：ヘキサン-酢酸エチル（85：15 v/v）

培養菌：1.5株菌オンザン酸カリウム

一分取菌菌クワマトダマツ（以下、分取菌）として、72時間の培養で分取菌の菌糸成長の抑制を行った。

培養菌：1.5株菌オンザン酸カリウム

分取菌：分取菌（以下、分取菌）として、72時間の培養で分取菌の菌糸成長の抑制を行った。

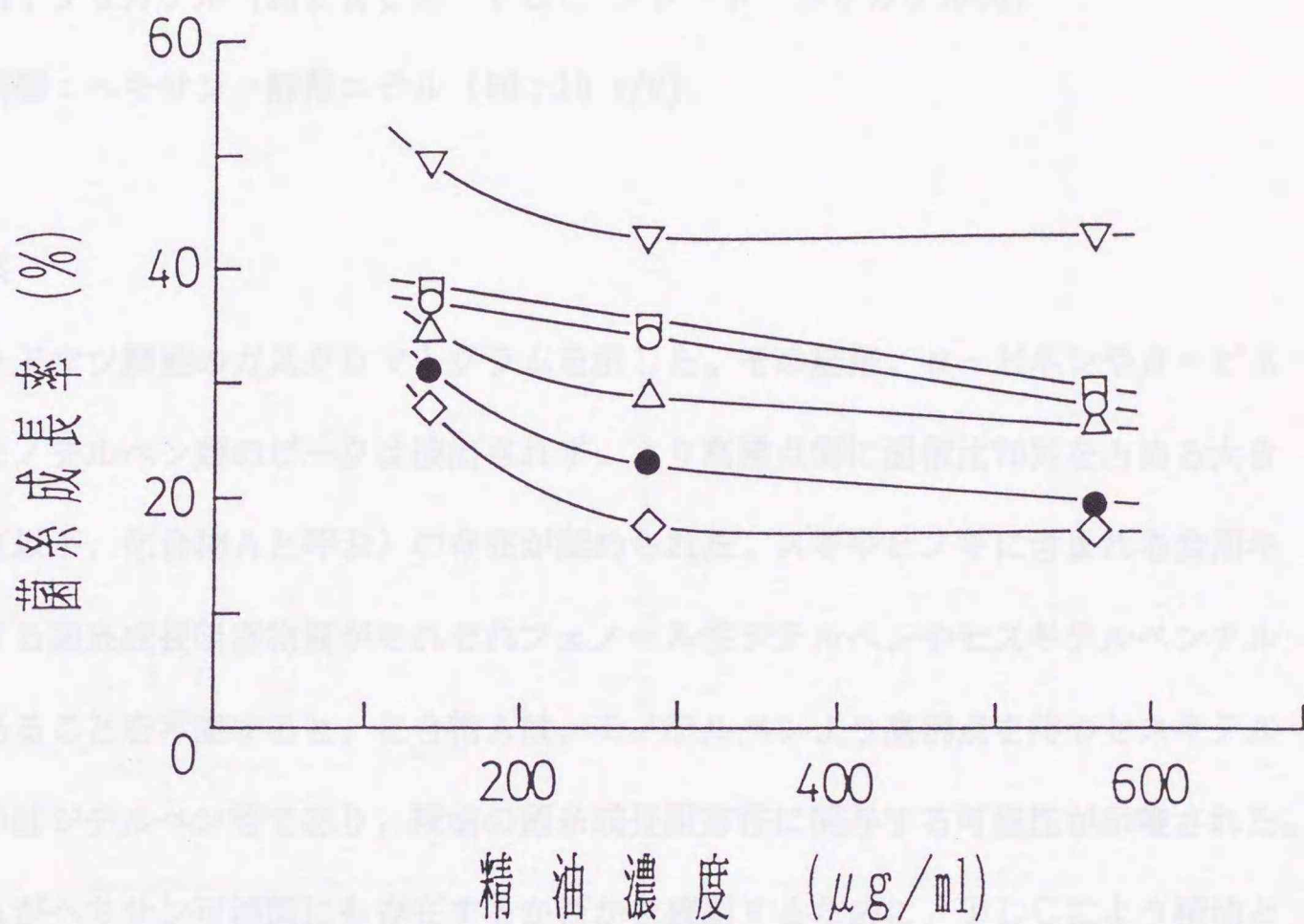


図33 食用キノコの菌糸成長に及ぼすトドマツ精油の影響

符号：▽：ナメコ，□：シイタケ，○：エノキタケ，
△：ヒラタケ，●：タモギタケ，◇：マイタケ

発色剤：0.5%過マンガン酸カリウム

分取用薄層クロマトグラフィー（以下，分取用TLCと略す）：下記の条件でトドマツの精油成分の分取を行った。

吸着剤：シリカゲル（MERCK PLC プレート シリカゲル60）

展開溶媒：ヘキサン-酢酸エチル（90：10 v/v）

結果と考察

図34にトドマツ精油のガスクロマトグラムを示した。その結果， α -ピネンや β -ピネンなどのモノテルペン類のピークは検出されず，より高沸点側に面積比70%を占める大きなピーク（以下，化合物Aと呼ぶ）の存在が認められた。スギやヒノキに含まれる食用キノコに対する菌糸成長阻害物質がそれぞれフェノール性ジテルペンやセスキテルペンアルコールであることを考慮すると，化合物Aは，モノテルペンより高沸点を持つセスキテルペンあるいはジテルペン等であり，精油の菌糸成長阻害性に関与する可能性が示唆された。

化合物Aがヘキサン可溶部にも存在するか否かを確認するために，TLCにより精油とヘキサン可溶部を比較した。その結果を図35に，トドマツ抽出物の薄層クロマトグラムとして示した。後者は前者のパターンと比較して，原点付近にとどまっているものがやや多いものの，全体的には類似したものとなっている。

また，精油とヘキサン可溶部のスポットの中で，Rf値が0.40のスポットの発色強度が最も強かった。そこで，分取用TLCとGLCで化合物Aを淡黄色油状物質として単離し，そのRf値を測定したところ0.40であった。したがって，精油の主成分である化合物Aがヘキサン可溶部にも多量に含まれ，それが食用キノコに対する菌糸成長阻害性の一因となっていることが考えられる。

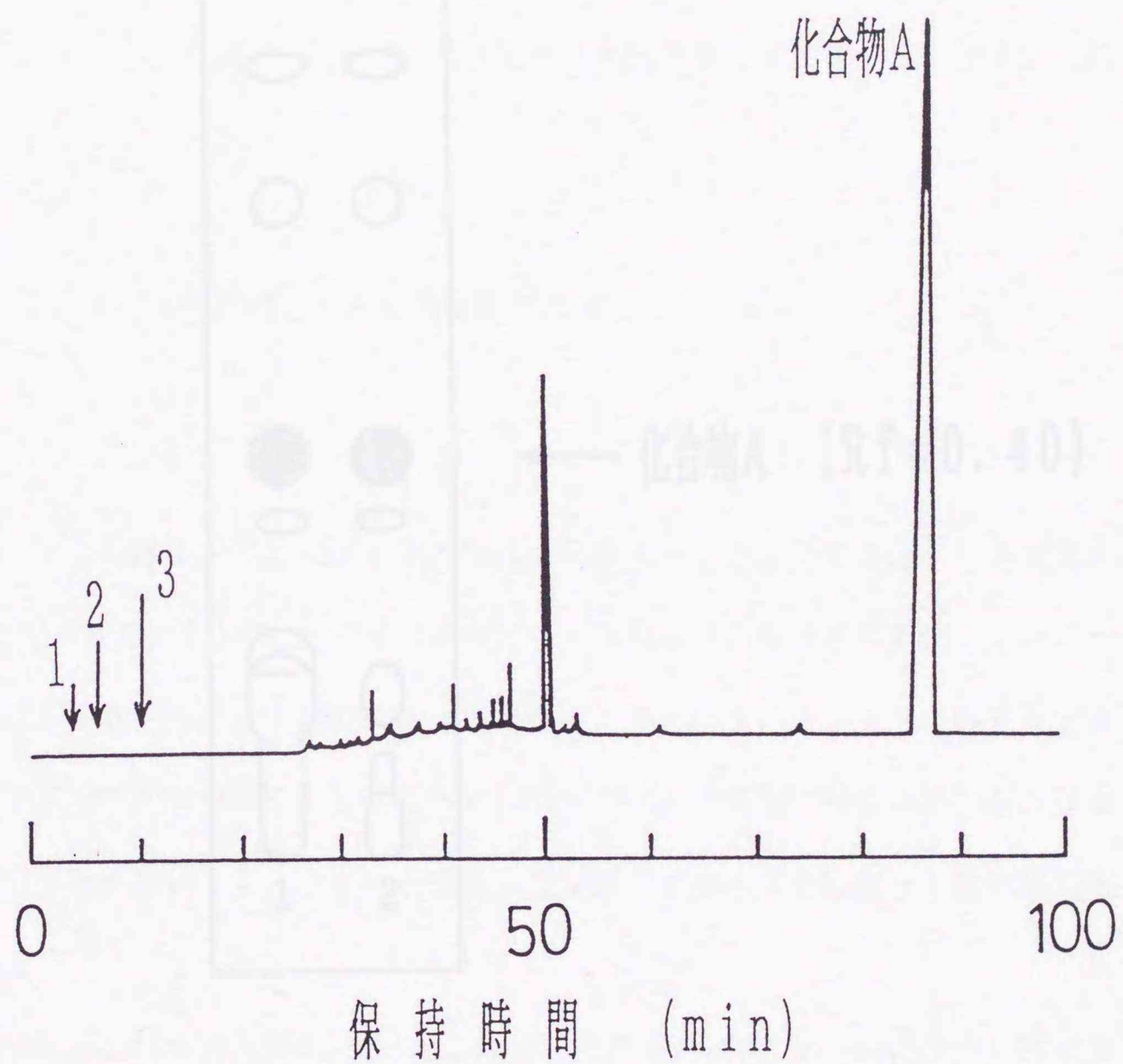


図34 トドマツ精油のガスクロマトグラム

符号： 1： α -ピネン， 2： β -ピネン， 3： β -フェラドレン

II. 4. 3 化合物Aの同定性について

実験方法

化合物Aの単離：トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。

試液：II. 4. 1の試液を用いて、薄層クロマトグラムの展開を行った。

結果

生物活性：トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。

結果と考察

トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。

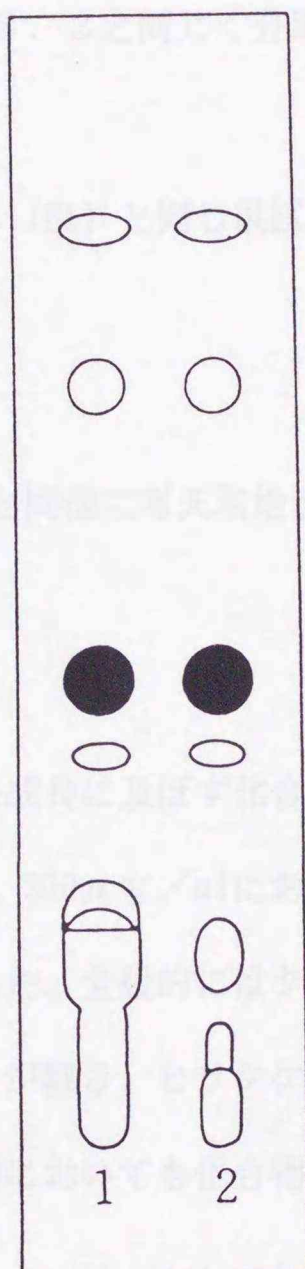
トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。

トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。

トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。

トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。

トドマツの葉を乾燥し、粉末とし、エタノールで抽出し、化合物Aを得た。



← 化合物A ($R_f = 0.40$)

図35 トドマツ抽出物の薄層クロマトグラム (TLC)

符号： 1：ヘキサン可溶部， 2：精油

II. 2. 4 化合物Aの阻害性^{103, 140, 141)}

実験方法

化合物Aの単離： II. 2. 3と同じく分取用TLCにより化合物Aを得た。

供試菌： II. 2. 1 (p.181) と同じ供試菌を同様に前培養して生物検定の接種源を作製した。

生物検定： II. 2. 1と同様に寒天培地混釈法を用いて行った。

結果と考察

図36に食用キノコの菌糸成長に及ぼす化合物Aの影響を示した。材中の化合物A濃度は $390\mu\text{g/ml}$ に相当するが、 $300\mu\text{g/ml}$ において全ての供試菌の菌糸成長率がコントロールのほぼ半分以下に低下した。全般的にはタモギタケ、マイタケ、シイタケに対する阻害性が大きく、以下にナメコが続く、ヒラタケとエノキタケの阻害性が幾分小さい傾向がある。しかし、いずれの菌種においても化合物Aの添加濃度が増加するに従って菌糸成長率が減少している。

つぎに、化合物Aの材中濃度 $390\mu\text{g/ml}$ と精油の材中濃度 $560\mu\text{g/ml}$ における菌糸成長率を求め結果を図37に、食用キノコの菌糸成長に及ぼす化合物Aと精油の影響として示した。タモギタケは同程度の菌糸成長率であり、シイタケとナメコでは化合物Aの成長率が精油よりも低かった。これに対して、マイタケ、ヒラタケおよびエノキタケでは精油の菌糸成長率が低かった。これは、トドマツ材の精油に化合物A以外の菌糸成長阻害物質か、または化合物Aの働きを助長するような物質が含まれている可能性があると考えられる。

以上の検討結果から、トドマツのオガコを用いてキノコの菌床栽培を行った際にみられる菌糸成長の遅延は、材中の精油やエタノール抽出物に含まれている化合物Aが大きく関

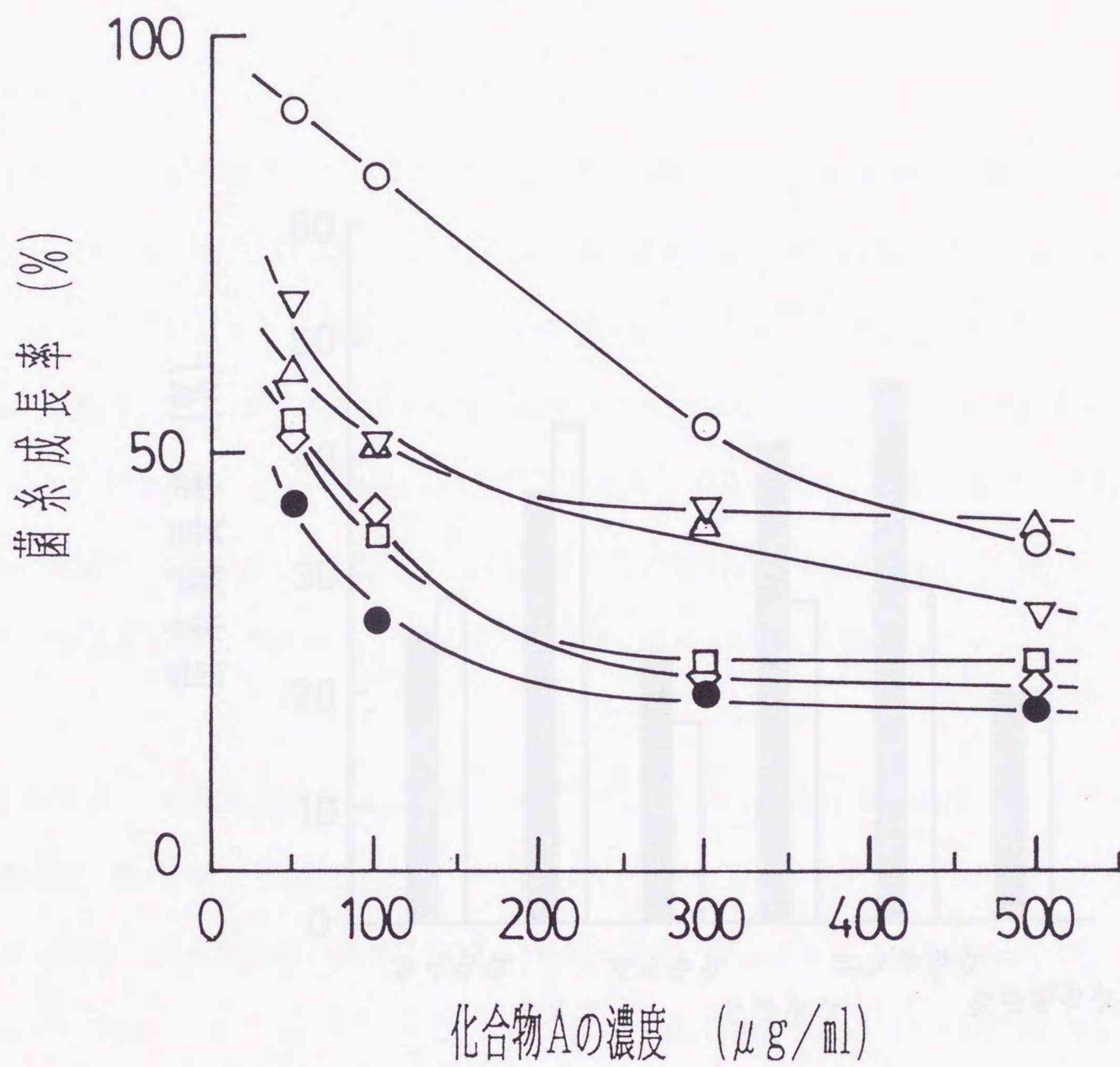


図36 食用キノコの菌糸成長に及ぼす化合物Aの影響

符号：▽：ナメコ，□：シイタケ，○：エノキタケ，
△：ヒラタケ，●：タモギタケ，◇：マイタケ

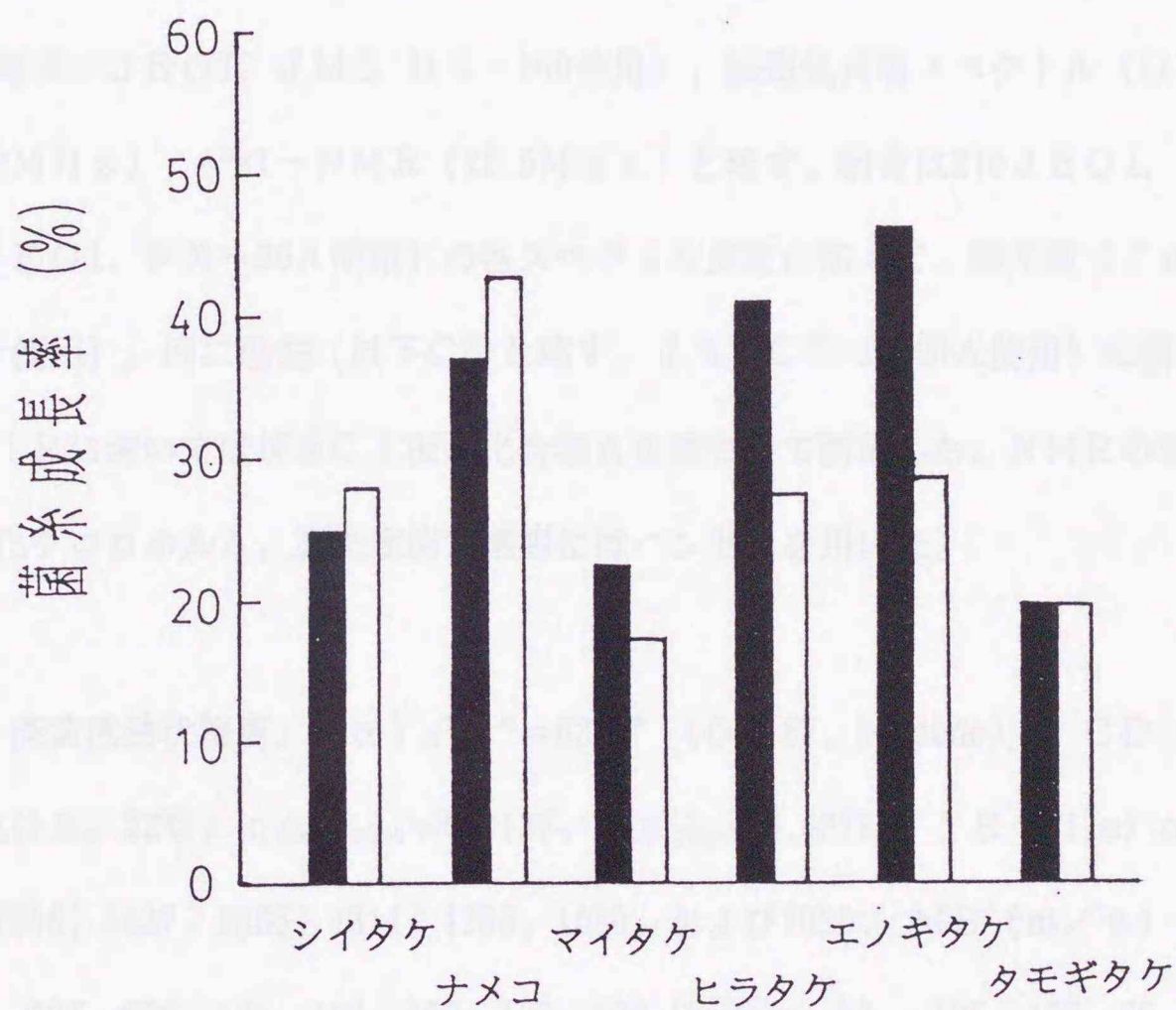


図37 食用キノコの菌糸成長に及ぼす化合物Aと精油の影響

符号：□：精油，■：化合物A

注：精油の濃度： $560 \mu\text{g}/\text{ml}$ ，化合物Aの濃度： $390 \mu\text{g}/\text{ml}$

与していることが明らかになった。

II. 3 阻害成分の構造解析^{103, 141)}

実験方法

機器分析：赤外線吸光スペクトル（以下IRと略す，日立285使用），質量スペクトル（以下MSと略す，JEOL JMS DX-300使用），核磁気共鳴スペクトル（以下 ^1H -NMR（270MHz）， ^{13}C -NMR（22.5MHz）と略す，前者は270JEOL GX-270，後者はJEOL FX-90A使用）の各スペクトル測定に加えて，旋光度（JASCO DIP-4使用），円二色性（以下CDと略す，JASCO J-500A使用）の測定を行った。なお，IRにおいてはNaCl板に化合物Aを塗布して測定した。NMRの測定溶媒には重水素化クロロホルム，旋光度測定溶媒にはベンゼンを用いた。

化合物A：淡黄色油状物質， $[\alpha]_{\text{D}}^{22.5} = 63.8^\circ$ （ $C=0.87$ ，benzene）。CD（0.0955M，EtOH，22°C）： $\Delta\epsilon_{234} + 0.0137$ ， $\Delta\epsilon_{283} - 0.0278$ 。IR（film） cm^{-1} ：1724，1711，1656，1437，1365，1311，1255，1080，および1030。MS（ m/z ）：266（ M^+ ），234，207，206，177，167，166，139，134（base peak），127，107，85，79，59，57，および43。HRMS（ m/z ）：266.1893（Calcd. $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_3$ ：266.1882）。 ^1H -NMR（ CDCl_3 ）： δ 0.88（3H，d， $J=6.6\text{Hz}$ ， CH_3 on C-1'），0.91₁（3H，d， $J=6.6\text{Hz}$ ， CH_3 on C-5'），0.91₇（3H，d， $J=6.6\text{Hz}$ ， CH_3 on C-5'），1.12-2.54（13H，m），3.72（3H，s， COOCH_3 ），6.95（1H，m，H-2）。 ^{13}C -NMR（ CDCl_3 ）： δ 16.1（ CH_3 on C-1'），22.2（ CH_3 on C-5'），24.1（C-5'），24.4（C-5，6），29.4（C-3），32.3（C-1'），37.4（C-4），47.3（C-2'），51.0（ COOCH_3 ），52.0（C-4'），129.8（C-1），138.8（C-2），167.2（ COOCH_3 ），および209.8（C-3'）。

結果と考察

上記の機器分析により構造解析した化合物Aの構造式を図38に示した。この化合物Aを (+)-Juvabione と同定した。(+) -Juvabione は1966年にBowersらがバルサムモミ (*Abies balsamea* (L.) Mill.) の材部から単離し、ホシカメムシ (*Pyrrethocoris apterus* L.) の幼若ホルモン活性を有すると報告⁶⁾されている物質である。しかし、(+)-Juvabioneが担子菌類をはじめと糸状菌の菌糸成長を阻害することについての報告は皆無である。以下に機器分析の結果を示す。

1) I R

図39に (+)-Juvabione の I R スペクトルを示した。1656カイザーに二重結合炭素の伸縮振動に吸収, 1711と1724カイザーに二種類のカルボニルの伸縮振動の吸収が観察される点が特徴的である。Bowersらの報告によると, 1712カイザーに孤立カルボニル (図38, C-3') , 1722カイザーにエステルカルボニル (同, C-7) の吸収が生じることになる。

2) M S

HRMS (ハイマス) により, 分子イオン M^+ ($C_{16}H_{26}O_3$) の分子量266.1893が得られた。計算による分子量は266.1882であり, 両者の値は良く一致している。図40に (+)-Juvabione の M S スペクトルを示した。266に分子ピーク, 234は分子からメタノールが外れたフラグメント, 206は分子からギ酸メチルが外れたフラグメントと考察される。166⁷⁾, 127および139のピークは図中に示したフラグメントに相当すると考えられる。また, 134はベースピークであり166のフラグメントからメタノールが脱離したもの, 85, 57および43は側鎖のフラグメントで, それぞれC-3' 以下の部分のイソブチルとイソプロピルに相当するものと考察される。

3) ^1H-NMR (270MHz)

図41に (+)-Juvabione の ^1H-NMR のスペクトルを示した。0.90 ppm付近に9個のメチル水素が存在する。この部分を詳細に観察した結果, 0.88ppmにC-1' のメチル水素3個がダブルットに, 0.911 ppmと0.917 ppmにC-5' の2つのメチル水素がダブルダブル

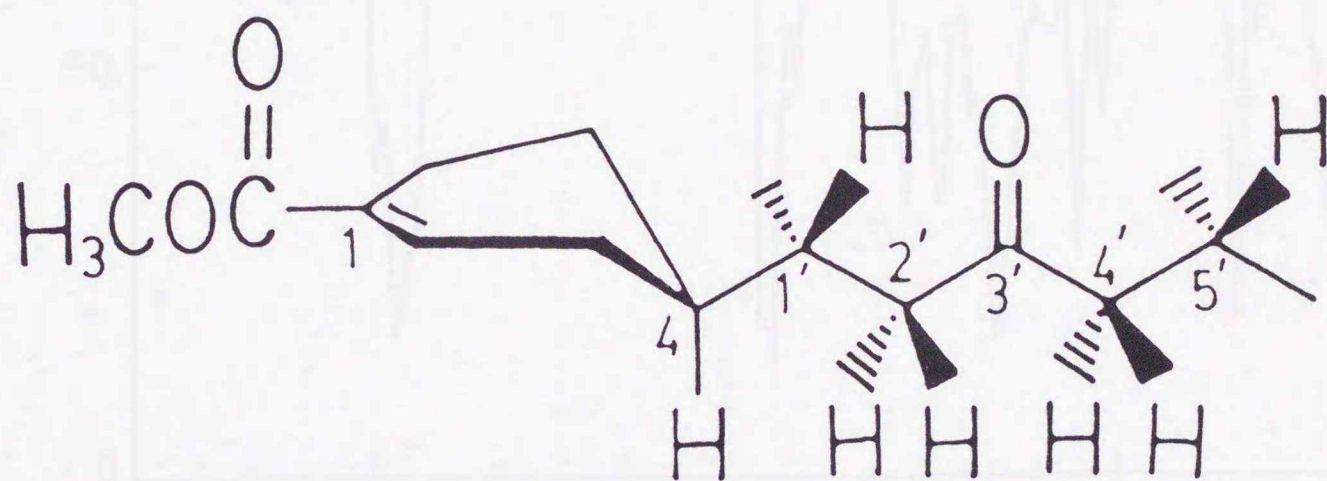


図38 化合物 A ((+)-Juvabione) の構造式

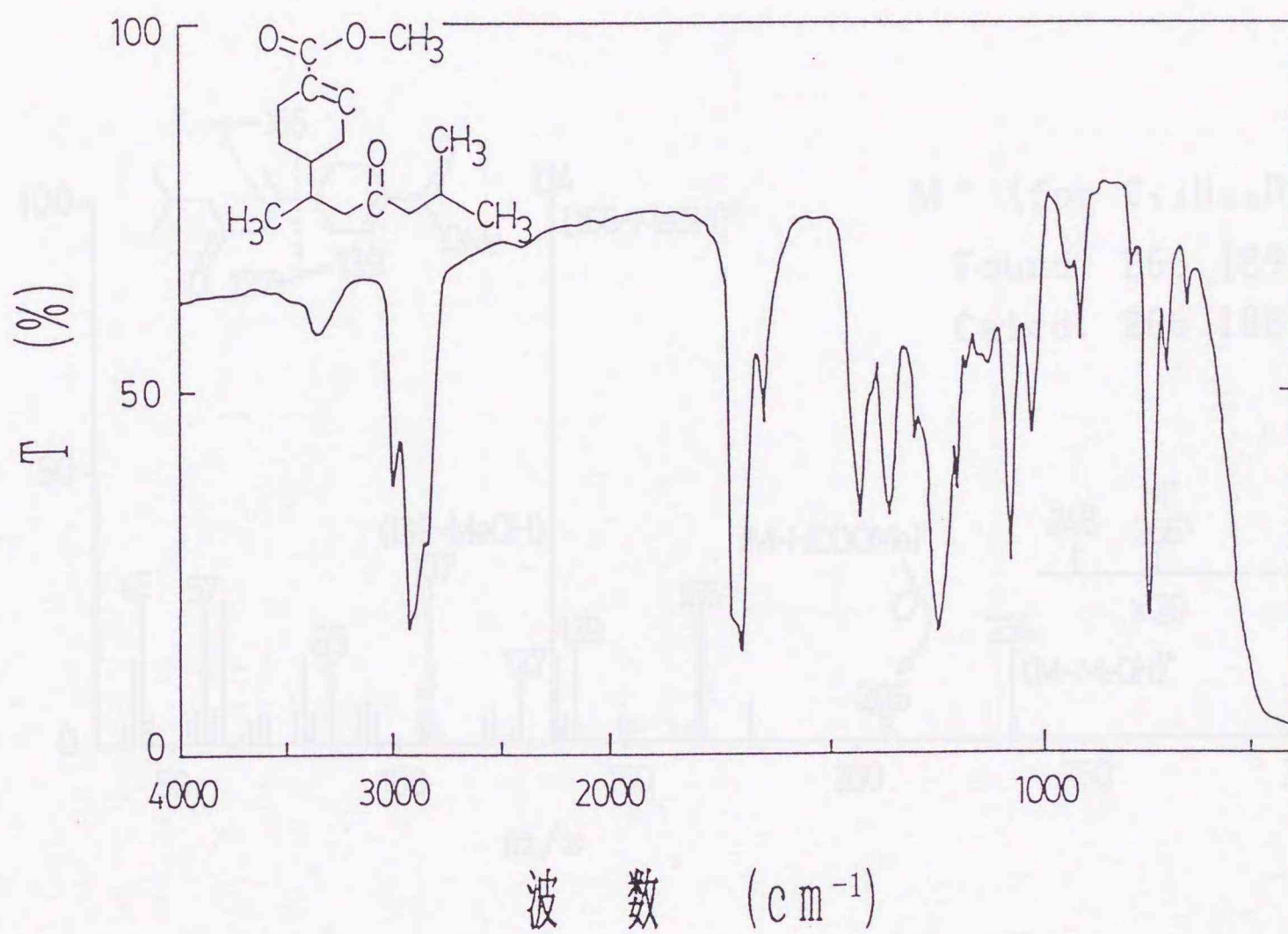


図39 (+)-Juvabione (NaCl) のIRスペクトル

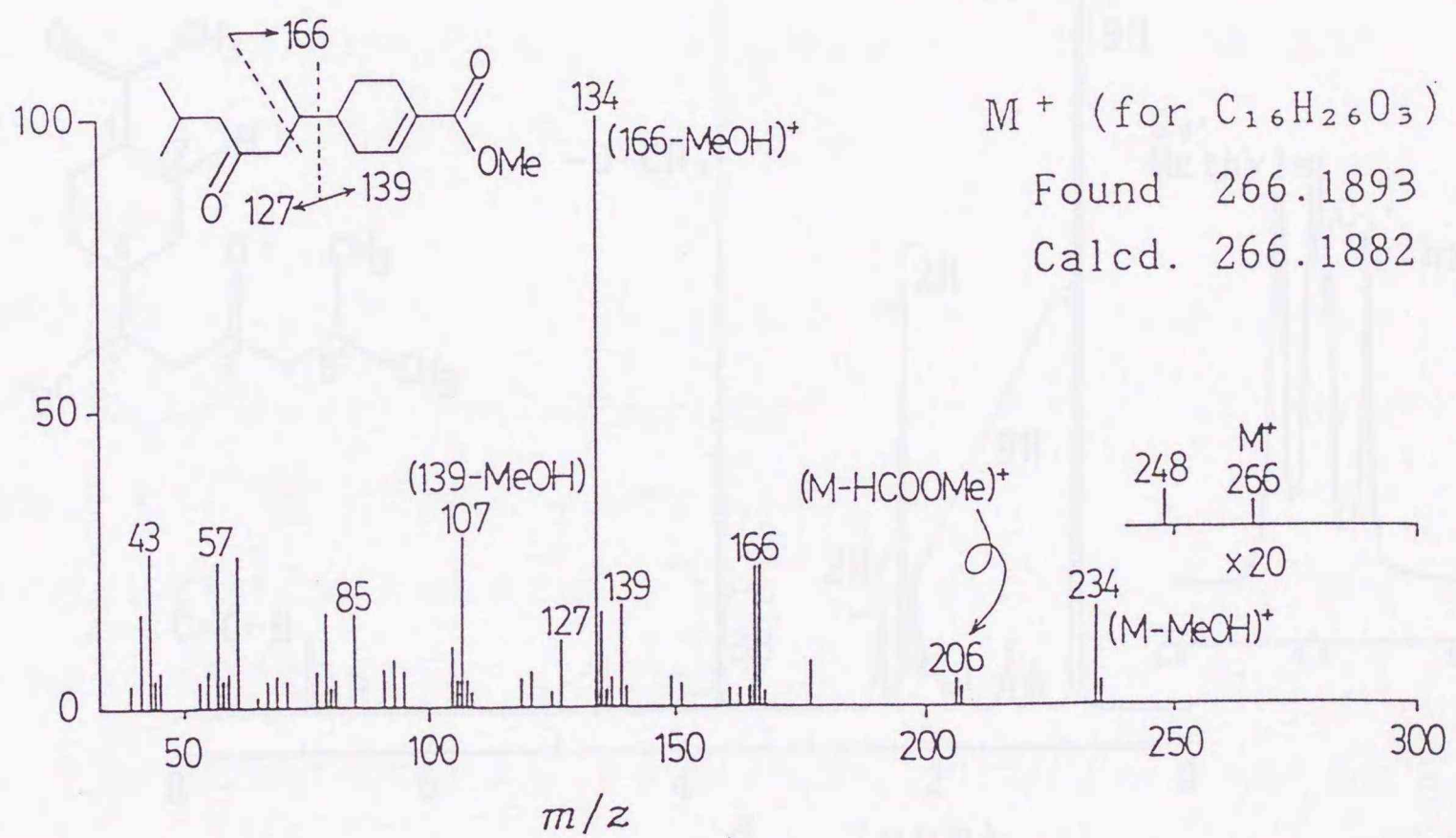


図40 (+)-Juvabione の MSスペクトル

プロトンに分類していることが分かった。少す明確から、 δ 1.57 ppm に見え、 δ 1.57 ppm のメチル基が環内の δ 1.57 ppm を示して分岐する構造と仮定は、(+)-Juvabione 2 分子間に存在すると C-3' を含むイソプロピル基が不斉炭素 C-1' の位置に存在することになり、よってこれらのメチル基は磁気的に不等価になると考えられる¹⁾。また、 δ 1.57 ppm と δ 1.57 ppm のメチル基の値と一致は、 δ 1.57 ppm であった。

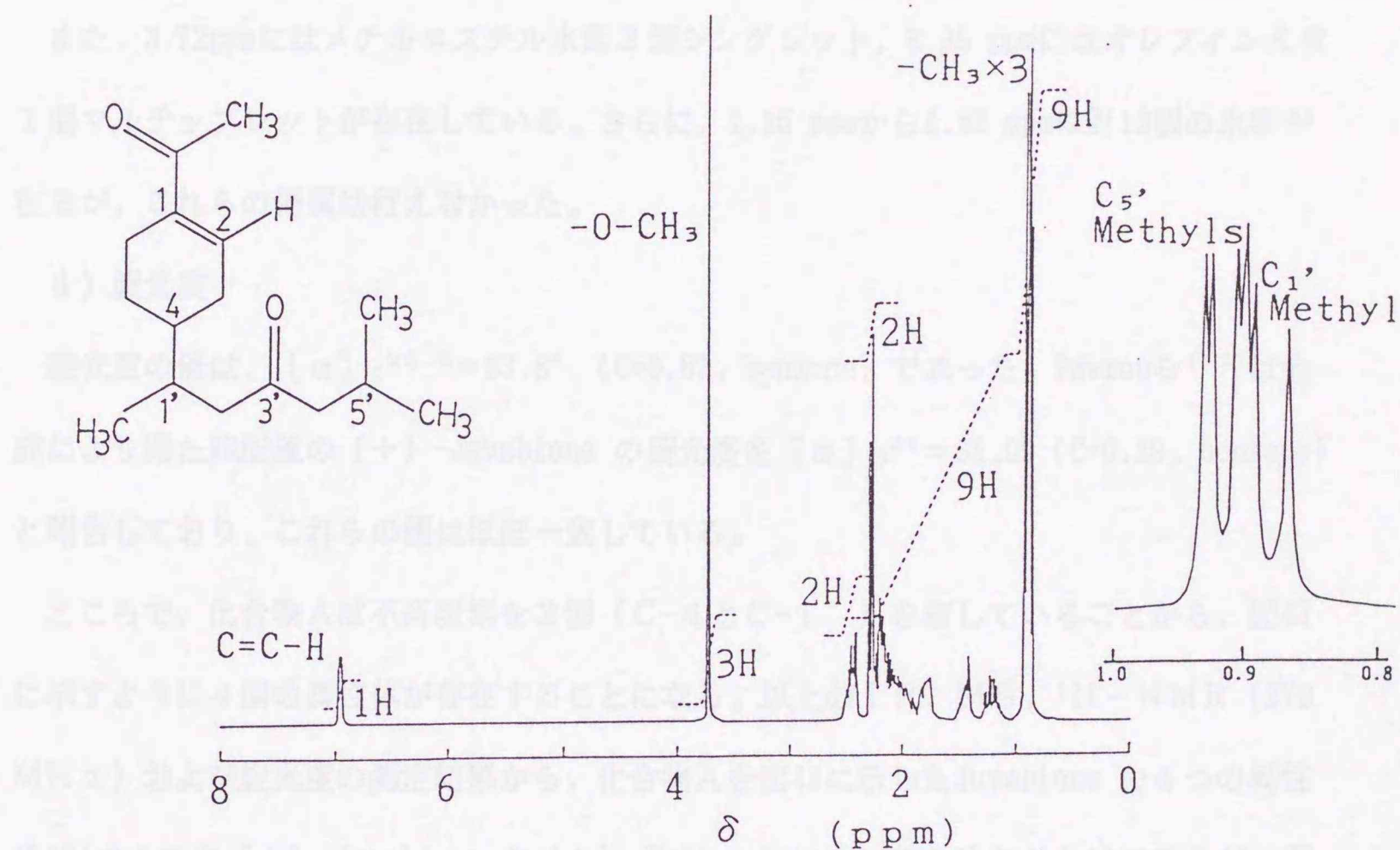


図41 (+)-Juvabione (CDCl_3) の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

Figure 41 shows the $^1\text{H-NMR}$ spectrum of (+)-Juvabione in CDCl_3 . The chemical structure of (+)-Juvabione is shown on the left, with protons labeled 1 through 5 and 1' through 5'. The NMR spectrum is plotted from 0 to 8 ppm. Key peaks are labeled: $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ (1H, $\delta \approx 6.8$), $-\text{O}-\text{CH}_3$ (3H, $\delta \approx 3.8$), $-\text{CH}_3 \times 3$ (9H, $\delta \approx 1.57$), C_5' Methyls (2H, $\delta \approx 0.9$), and C_1' Methyl (1H, $\delta \approx 0.8$). An inset shows a zoomed-in view of the 0.8 to 1.0 ppm region.

ットに分裂していることが分かった。分子構造から考えて磁氣的に等価に見える2個のメチル基が異なるケミカルシフトを有して分裂する原因としては、(+)-Juvabione を立体的に考察するとC-5'を含むイソプロピル基が不斉炭素C 1'の近傍に位置することになり、よってこれらのメチル基は磁氣的に不等価になってしまうと考えられる^{89, 90)}。なお、C-1'とC-5'のメチル基水素の結合定数はいずれも6.6 Hzであった。

また、3.72 ppmにはメチルエステル水素3個シングレット、6.95 ppmにはオレフィン水素1個マルチプレットが存在している。さらに、1.15 ppmから2.52 ppmに計13個の水素が存在するが、これらの帰属は行えなかった。

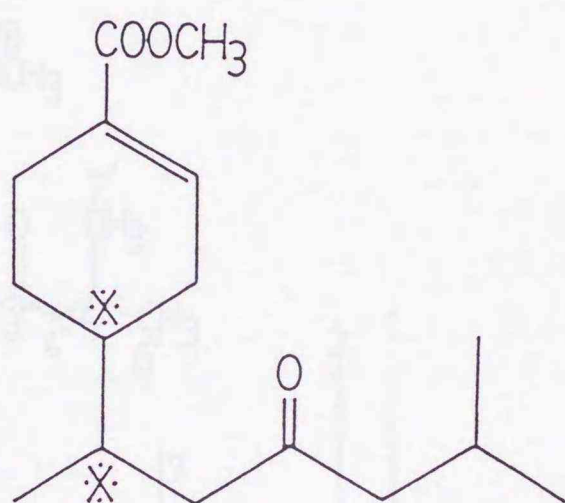
4) 旋光度

旋光度の値は、 $[\alpha]_D^{22.5} = 63.8^\circ$ (C=0.87, benzene)であった。Pawsonら¹³⁹⁾は合成により得たRR配置の(+)-Juvabioneの旋光度を $[\alpha]_D^{25} = 65.09$ (C=0.89, benzene)と報告しており、これらの値はほぼ一致している。

ところで、化合物Aは不斉炭素を2個(C-4とC-1')を有していることから、図42に示すように4個の異性体が存在することになる。以上のIR, MS, $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz) および旋光度の測定結果から、化合物Aを図42に示したJuvabioneの4つの異性体⁸⁵⁾のうちの(+)-Juvabioneか(+)-Epijuvabioneに絞り込むことはできるが、両者のいずれであるかを区別することはできない。なお、現在までに(+)-Epijuvabioneについての旋光度は報告されていない。

5) $^{13}\text{C-NMR}$ (22.5 MHz), CD

Manvilleらの報告⁶³⁾によれば、(±)-Juvabioneと(±)-Epijuvabioneの識別は $^{13}\text{C-NMR}$ (22.5 MHz) スペクトルから行うことが可能で、両グループの違いはC-3とC-5のケミカルシフトに現れることになる。そこで化合物Aの $^{13}\text{C-NMR}$ (22.5 MHz) を測定し図43に得られた結果を示した。表46にC-3とC-5の $^{13}\text{C-NMR}$ (22.5 MHz) のケミカルシフトの測定値と文献値を示した。このこのケミカルシフトの結果と旋光度の測定値から化合物Aは(+)-Juvabioneであることが示唆される。



R, R (+)-Juvabione
 S, S (-)-Juvabione
 R, S (+)-Epijuvabione
 S, R (-)-Epijuvabione

※ Asymmetric carbon

図42 Juvabione の4つの異性体

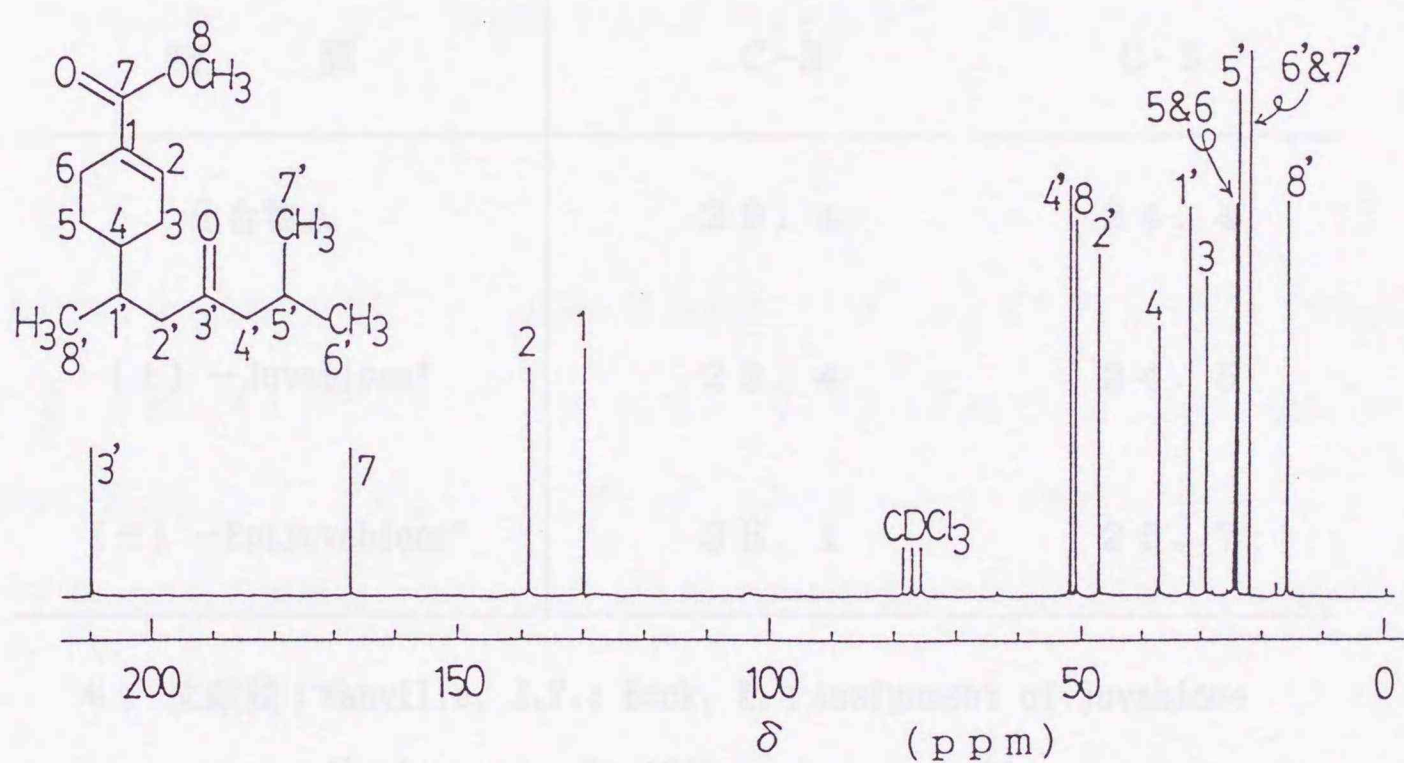


図43 (+)-Juvabione (CDCl_3) の ^{13}C -NMRスペクトル

表46 ^{13}C -NMR (22.5 MHz) のケミカルシフト

物 質	C-3	C-5
化合物A	29.4	24.4
(±)-Juvabione*	29.4	24.5
(±)-Epijuvabione*	28.1	25.7

* : 文献値 : Manville, J.F.; Bock, K. : Assignment of juvabione diastereomers by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Org. Magn. Reson*, 9, 596-597, (1977).

さらに、C Dを測定したところ、第一コットン効果が負、第二コットン効果が正であった。これは、Pawsonらが報告⁸⁵⁾しているR R配置の(+)-Juvabioneの結果と一致した。

II. 4 阻害成分の除去方法の検討¹⁴²⁻¹⁴⁴⁾

以上のようにトドマツ材の精油が、食用キノコの菌糸成長を阻害する(+)-Juvabioneを含んでいることを明らかにした。トドマツのオガコを食用キノコの菌床栽培に利用していくためには、そうした精油を除去する必要がある。そこで、トドマツオガコの貯蔵時における精油の挙動、および散水堆積法による精油の除去効果を観察した。

実験方法

室温貯蔵による精油量の変化： 林産試験場の製材工場から入手したトドマツ（空知郡奈井江町産，樹齢不明，胸高直径約20 cm）のオガコを約40 l容量の麻袋に詰め，林産試験場の倉庫内で貯蔵した（5月から9月）。そして，124日にわたって経時的にサンプリングし，オガコに含まれる精油量を，イオン交換水を用いた10時間の水蒸気蒸留を行って測定した。

流水処理による精油の除去： ガーゼを二重にした約6 l容の袋にトドマツオガコを充填し（絶乾換算630 g），1日当たり約200 lの流水（1.8 l/min, 120 min/day）で30日間洗浄した後，オガコに含まれる精油量を測定した。

結果と考察

表47に室温貯蔵したトドマツオガコ精油量の経時変化を示した。II. 2. 2 (p.179)で述べたトドマツ材の精油量0.17%に比べて精油量が多かった原因としては，トドマツの産地や樹齢の違い，およびサンプルの形態の違い（本実験では平均径が1 mm程度のオガコ使用）と考察される。15日から124日にいたる5回の測定を通して，精油量が減少する傾向は

表47 室温貯蔵したトドマツオガコ精油量の経時変化

貯蔵日数	精油量 (%)
15	0.48
30	0.42
61	0.39
92	0.54
124	0.46

注：精油量はオガコ¹の絶乾重量に対する含有率で示した

みられなかった。これは、精油の主成分が (+) -Juvabioneであり、それが図34に示したトドマツ精油のガスクロマトグラム (p.190) に示されるように高沸点側にピークを有するセスキテルペンであることと関係があると思われる。したがって、積極的な除去方法を用いなければトドマツオガコの精油の除去は難しいことが明らかになった。

トドマツオガコを流水により処理した結果、当初0.59%含まれていた精油量が30日後には0.01%となり、98%の精油が除去されていた。トドマツに含まれている精油は、風乾状態では揮散しないが、大量の水により僅かずつ溶出されたものと考察された。長野県を中心として、キノコ栽培者はオガコを屋外に堆積し、数カ月間スプリンクラーを用いてオガコを散水処理している。こうした方法により、種々の樹種が混合したオガコからキノコの菌糸成長や子実体生産を阻害する成分を除去できることを経験的に理解しているからである。本試験結果から、そうした経験による技術の理論的裏付けを明確することができた。

II. 5 まとめ

表48に平成6年4月1日現在の北海道の樹種別森林蓄積量²⁹⁾を示した。森林の蓄積量の数値がオガコの入手しやすさにストレートに結びつくものとは必ずしもいえないが、正の相関関係があると考えられる。北海道には豊富な天然広葉樹資源があり、それらを伐採し加工することによって種々の道産木製品が制作・販売されてきた。そうした工程の中から副産物として産出する広葉樹のオガコが食用キノコの栽培に用いられてきた。しかし、道内のキノコ産業が発展するに従って、広葉樹オガコの消費量が増大し、その安定確保が難しくなっている。加えて、広葉樹資源の減少、および行政的指導によって人工的に植樹されるものがカラマツやトドマツといった針葉樹である状況を考えると、広葉樹オガコの供給が減少するとともに針葉樹オガコの供給が増加することになる。

道内で栽培される主要な食用キノコは、シイタケ、エノキタケ、ナメコ、ヒラタケ、マイタケ、およびタモギタケであったが、最近になってブナシメジの生産が盛んになってき

表48 北海道の樹種別森林蓄積量（平成6年4月1日現在）

順位	樹種	広／針	蓄積量（千 m^3 ）	蓄積量の割合（％）
1	トドマツ	針	125,875	21.68
2	カラマツ	針	76,875	13.24
3	カンバ類	広	66,332	11.42
4	エゾマツ	針	46,918	8.08
5	ナラ類	広	45,570	7.85
6	シナノキ	広	35,625	6.14
7	イタヤカエデ	広	24,710	4.26
8	ブナ	広	15,804	2.72
9	ニレ	広	6,777	1.17
10	アカゾマツ	針	6,706	1.15

注：平成5年度北海道林業統計（平成6年12月北海道発行）参照

た²⁸⁾。これら7種類のキノコには、針葉樹のオガコを用いても実用的な栽培が可能なものもあり、エノキタケ、ヒラタケ、タモギタケ、およびブナシメジの栽培に活用している企業もある。しかし、製材工場から入手したばかりの新しい針葉樹オガコをそのまま利用すると、菌回りの遅れや子実体収量の減収がおこることが多い^{30, 98)}。この対策としては、オガコを数カ月間散水しながら堆積して阻害成分を洗い流した後に使用する¹²⁹⁾、また一部の地域では僅かの量の消石灰をオガコとともに混合して栽培培地を調製するなどの方法^{30, 98)}を用いている。

しかし、そうした散水堆積や消石灰の添加は、栽培者の経験と勘が生みだした技術であり、物質レベルで検討された成果はほとんど見当たらない。本章では、北海道に大量に存在するトドマツが、基本的に食用キノコの栽培に適さないことを物質的に証明することができた。この研究によって、トドマツのオガコが栽培に適するようになった訳ではないが、針葉樹のオガコをキノコ栽培の培地基材として用いる際の前処理である散水堆積について、その理論的裏付けを明らかにできた成果は大きいものと思慮される。

食用キノコ栽培の先進地域である長野県では、散水堆積したオガコをキノコ栽培者に販売する業者が出現している。北海道においては「きのこの里」を看板に掲げる愛別町で、同町内のキノコ生産者に散水堆積し、品質的に保証できるオガコを反強制的に頒布する計画を検討している。しかし、生産者にとってはオガコの購入代金が高くなるため、子実体収量の安定化により最終的にもとが取れる試算が示されても反対意見が一部にあると聞く。一方、鐘紡グループ・カネボウアグリテック（株）の菌床シイタケ生産事業などにみるように、大資本の企業体が食用キノコの生産に進出して、全国的な事業を展開している。もはや小規模な農業的感覚でキノコ生産を行うことに限界がみえてきている。

北海道のキノコ産業の将来を考え、大規模な生産戦略を検討している道内のキノコ生産者や生産者を統括している組織に、本研究により得られた成果が多少でも活用されれば幸いである。また、針葉樹オガコでの栽培が困難とされるシイタケにおいて、本州企業が熱処理したスギを用いることを提案⁴⁷⁾している。北海道のキノコ産業のさらなる発展のため

Ⅲ. 1 はじめに

一般的にキノコとは、目で見える大型の生殖器官（子実体）または、それを作る菌類の俗称である。同時にカビまたは菌糸と呼ばれる状態をも有する。キノコを作るものは主に、担子菌の大部分と子囊菌の一部である⁹⁶⁾。この担子菌や子囊菌はリグノセルロース、すなわちリグニンとセルロースが結びついた物質を代謝する能力を有している。例えば、木材の腐朽はリグノセルロースの一つである木材に担子菌や子囊菌が取り付き、その木材が担子菌の生分解を受けた結果の現れである。住宅・土木産業において、木材の腐朽はトラブルとなるが、本論文の第Ⅰ章と第Ⅱ章で述べてきたように、食用キノコの栽培においては、キノコにオガコを積極的に代謝させて、担子菌の菌体増殖をはかり、最終的に子実体を生産させるもので、いわば木材腐朽の利用といえよう。

木材の腐朽を大きく二つに分けると¹⁷⁾、主にセルロースやヘミセルロースが分解されるものとリグニンが同時に分解されるものがある。それぞれ褐色腐朽、白色腐朽と呼ばれる。この他に、いずれの成分も同じような割合で分解される第3のタイプである軟腐朽と呼ばれるものもある⁹⁶⁾。どのケースの腐朽が起こるかは、木材に取り付くキノコやカビの種類によって決まる。人工栽培されている食用キノコは、ほとんど白色腐朽菌に属しており、リグニンを生分解するものである¹⁷⁾。

木材の生分解反応は、木材腐朽菌が生産する酵素がそれを助ける低分子化合物等とともに触媒として働き進行する。そこで、そうした酵素反応を利用し、未利用バイオマス資源の有効利用技術の開拓や効率的なバイオマス変換技術の確立²⁷⁾も21世紀に向けた重要課題である。本章では、リグノセルロースの一つである稲わらに注目し、稲わらに白色腐朽菌である食用キノコを植え付けることでリグニンを分解させ、反すう動物にとってより消化性の良い粗飼料に変換することを可能か否かを検討した^{35-37, 104, 105, 110)}。用いる食

用キノコとしては北海道のイメージがあり、かつ稲わらを嫌わないことをポイントにおいてタモギタケに着目した¹⁰⁵⁾。菌床栽培されている食用キノコ中で、最も栽培期間が短いものはタモギタケ（栽培期間は約20日間）である。いずれもリグノセルロースであるが、オガコと稲わらではタモギタケの挙動が異なる可能性もある。しかし、バイオマス変換におけるコストダウンを考慮すると可能な限り反応速度の速いことが望ましく、そうした点からもタモギタケは有利と思われた。

また、稲わらは水田に放置処理されているのが現状であり、バイオマス資源としての有効活用ははかられていない³⁵⁻³⁷⁾。稲わらの担子菌処理が実用化されれば、農家が米を収穫後の稲わらからキノコの子実体とともに飼料価値の高い処理稲わらが得られることになる。本研究では、そうしたバイオマス変換技術の基礎的データを得ることを目的とした。さらに、本研究においては、稲わらを高圧殺菌処理した後にタモギタケを接種・培養しているが、この飼料化技術を実用化する場合には、稲わらを蒸気消毒程度の処理後に担子菌を接種・培養できるような、より簡略化した培養技術の開発を押し進める必要がある。

III. 2 担子菌を用いた稲わらの飼料化

稲わらは、セルロース、ヘミセルロースなどの高分子多糖類を多く含有していることから潜在価値の高い飼料資源である。しかし、木材と同様に稲わらの細胞壁成分のリグニンがセルロースやヘミセルロースの消化を妨げているため、無処理のままでは飼料価値が低い。上記のように、白色腐朽菌はリグニンを分解する能力を持っている。本研究では稲わらの飼料化に望ましいタモギタケの菌株選抜、稲わらの成分変化、タモギタケの子実体形成と飼料価値の関係等について検討した¹⁰⁵⁾。

実験方法

供試菌株と種菌：表49にタモギタケの供試菌株（17菌株）を示した。いずれも，林産試験場保存株である。これらはPDA斜面培地で継代培養保存していたものである。種菌としては，菌株選抜試験においては，直径9 cmのシャーレを用いたPDA平板培地で供試菌を前培養し，コルクボーラーで寒天ごと打ち抜いた直径14 mmのディスクを用いた。それを，培養瓶中の稲わら上部に接種した。子実体発生試験では下記の組成の液体培地に供試菌を接種し， $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ の暗黒下で7日間振盪培養したものを種菌とし，稲わらの入った培養袋1袋あたりに30 ml接種した。

タモギタケ用液体培地

溶性でんぷん：	10 g
グルコース：	10 g
ポリペプトン：	1.5 g
酵母エキス：	3 g
寒天：	20 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ：	0.5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ：	0.5 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ：	2 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ：	2 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ：	2 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ：	0.04 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ：	0.02 mg
リン酸緩衝液 (pH5)	100 ml
イオン交換水	900 ml

供試稲わら：菌株選抜試験においては深川市1988年産（品種不明）を，子実体発生試験

表49 タモギタケの供試菌株

No.	分離株 No.	採取地	採取年月日
1	Pc 71-1	旭川市	'71. 7. 12
2	Pc 72-5	上川郡和寒町	'72. 9. 16
3	Pc 74-1	上川郡和寒町	'74. 9. 29
4	Pc 75-3	旭川市	'75. 8. 12
5	Pc 76-2	日本農林種菌市販菌株	'76. 3. 16
6	Pc 76-4	三笠市	'76. 6. 24
7	Pc 76-5	旭川市	'76. 6. 28
8	Pc 77-1	空知郡南幌町	'77. 8. 5
9	Pc 77-4	上川郡和寒町	'77. 9. 28
10	Pc 81-1	常呂郡佐呂間町	'81. 7. 24
11	Pc 82-1	三笠市	'82. 8. 10
12	Pc 82-2	三笠市	'82. 8. 10
13	Pc 82-3	不 明	'82. 8. 2
14	Pc 82-4	旭川市	'82. 9. 20
15	Pc 84-1	芦別市	'84. 9. 24
16	Pc 87-2	旭川市	'87. 8. 20
17	Pc 87-3	河村種菌市販菌株	'87. 10. 31

においては北竜町1989年産のゆきひかりを用いた。なお、これらの供試稲わらは9月末から10月初めに採取されたものである。

稲わら培地の調製と殺菌： 菌株選抜試験では200 ml培養瓶に、3 cm程度に切断した後水道水で水分を約75%に調整した稲わらを約70 g充填し、120℃40分間の高圧滅菌を行った。子実体発生試験では、5000 ml容ポリプロピレン培養袋（日昌株式会社製、商品名キノバッグ NT-25）に、同様に処理した稲わらを約900 g充填し、121℃90分間の高圧滅菌を行った。なお、各試験区の培地供試数はいずれも5個とした。

培養： 菌株培養試験では、温度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $70\pm 5\%$ 、暗黒下で培養した。培養期間は、40～60日間とした。子実体発生試験では、同様の環境下で、50～60日間培養を行った。子実体発生区については菌回り直後に培養袋を取り去り、温度 $18\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $90\pm 5\%$ 、照度350 lx（12時間の間欠照明）の環境下で子実体の形成を行った。

稲わら重量減少率： 70℃で7日間乾燥して恒量化して、稲わら菌床の重量減少率を求めた。

酵素糖化率： 重量減少率を測定した稲わら菌床をウィレーミルと遠心微粉碎機により2 mmパスまで粉碎した。つづいて、これを蓋付きのサンプル瓶（ $\phi 35\text{mm}\times 65\text{mm}$ ）に約0.5 g秤り取り、セルラーゼ（オノズカFA、酵素濃度：0.5%）を溶解した0.2M酢酸緩衝液（pH：4.0）40 mlを加えて40℃で24時間振盪した。試料を濾過、水洗した後、105℃で一晩乾燥して残渣の乾燥重量を測定し、出発試料の乾燥重量との差を出発試料の乾燥重量で除して「見掛けの糖化率」を求めた。また、セルラーゼを入れずに緩衝液のみを加えた試料についても同様の測定を行って重量減少率を算出し、これと見掛けの糖化率との差を「正味の糖化率」とした。無処理稲わらについても同様な粉碎と酵素糖化処理を行った。なお、

いずれの場合にも繰返し回数は2回とした。

セルロース，ヘミセルロース，リグニン含有率：常法^{1)・92)}に従って，酸性デタージェント分析と中性デタージェント分析を行い，絶乾試料（無処理稲わら，稲わら菌床）中のセルロース含有率，ヘミセルロース含有率，AD-リグニン含有率（以下，リグニン含有率と略す）を算出した。

結果と考察

1) 菌株の選抜

表50に稲わら培地の培養日数と重量減少率をはじめとする試験結果を示した。Pc 72-5，Pc 77-1，およびPc 82-2は菌糸成長が遅く培養40日を経過しても培養瓶中の培地全体に菌糸が蔓延しなかったことから，以後の培養を中止した。菌回りが35日以下で終了した11菌株について，稲わら菌床の酵素糖化率測定を行った。図44に菌回り日数と稲わら菌床（培養60日）の見掛け糖化率との関係を示した。なお，見掛け糖化率はいずれの菌株においても培養日数とともに増加した。

実際の稲わらの飼料化を考えると，害菌や雑菌の混入防止のために担子菌の菌回りが可能なかぎり早いこと，消化性の向上のために稲わら菌床の酵素糖化率が大きいことが望まれる。そこで稲わらの飼料に適する菌株として，菌回り日数が32日と短くて見掛け糖化率が41.7%と高いPc 82-1株と菌回りは遅いものの最大の見掛け酵素糖化率45.0%を示したPc 71-1株を選抜し，子実体発生試験に両菌株を供試した。

2) 稲わらの成分変化

菌回りが35日以下で終了したタモギタケ11菌株の中で，稲わら菌床の見掛け酵素糖化率の高い5菌株Pc 71-1，Pc 76-5，Pc 82-1，Pc 82-3，およびPc 87-2について稲わらの成分変化を経時的に分析し，無処理稲わらの各成分の含有率を1とした場合のセルロース，ヘミセルロースおよびリグニンの含有比率を求めた。その結果を表51に稲わら培地の培養日

表 5 0 稲わら培地の培養日数と重量減少率

No.	菌株No.	菌回り 日数 (日)	原基形成 日数 (日)	培養日数と稲わらの重量減少率 (%)		
				40日	50日	60日
1	Pc 71-1	36	47	21.1	29.9	38.1
2	Pc 72-5	— a)				
3	Pc 74-1	31	40	18.5	20.4	26.4
4	Pc 75-3	39	— b)	22.4	32.1	41.8
5	Pc 76-2	34	37	8.8	12.6	16.1
6	Pc 76-4	37	— b)	16.6	21.4	25.2
7	Pc 76-5	32	30	16.7	23.0	29.3
8	Pc 77-1	— a)				
9	Pc 77-4	35	— b)	20.0	25.0	32.2
10	Pc 81-1	27	32	17.0	22.3	28.2
11	Pc 82-1	31	43	15.5	20.1	26.7
12	Pc 82-2	— a)				
13	Pc 82-3	31	43	15.5	20.1	26.7
14	Pc 82-4	34	47	14.9	19.6	26.4
15	Pc 84-1	31	26	14.2	19.2	25.8
16	Pc 87-2	33	33	13.7	20.3	28.4
17	Pc 87-3	40	43	8.0	15.2	18.2

符号： a) : 40日間の培養で培地中に菌糸蔓延せず、以後の培養を中止した、

b) : 原基形成なし

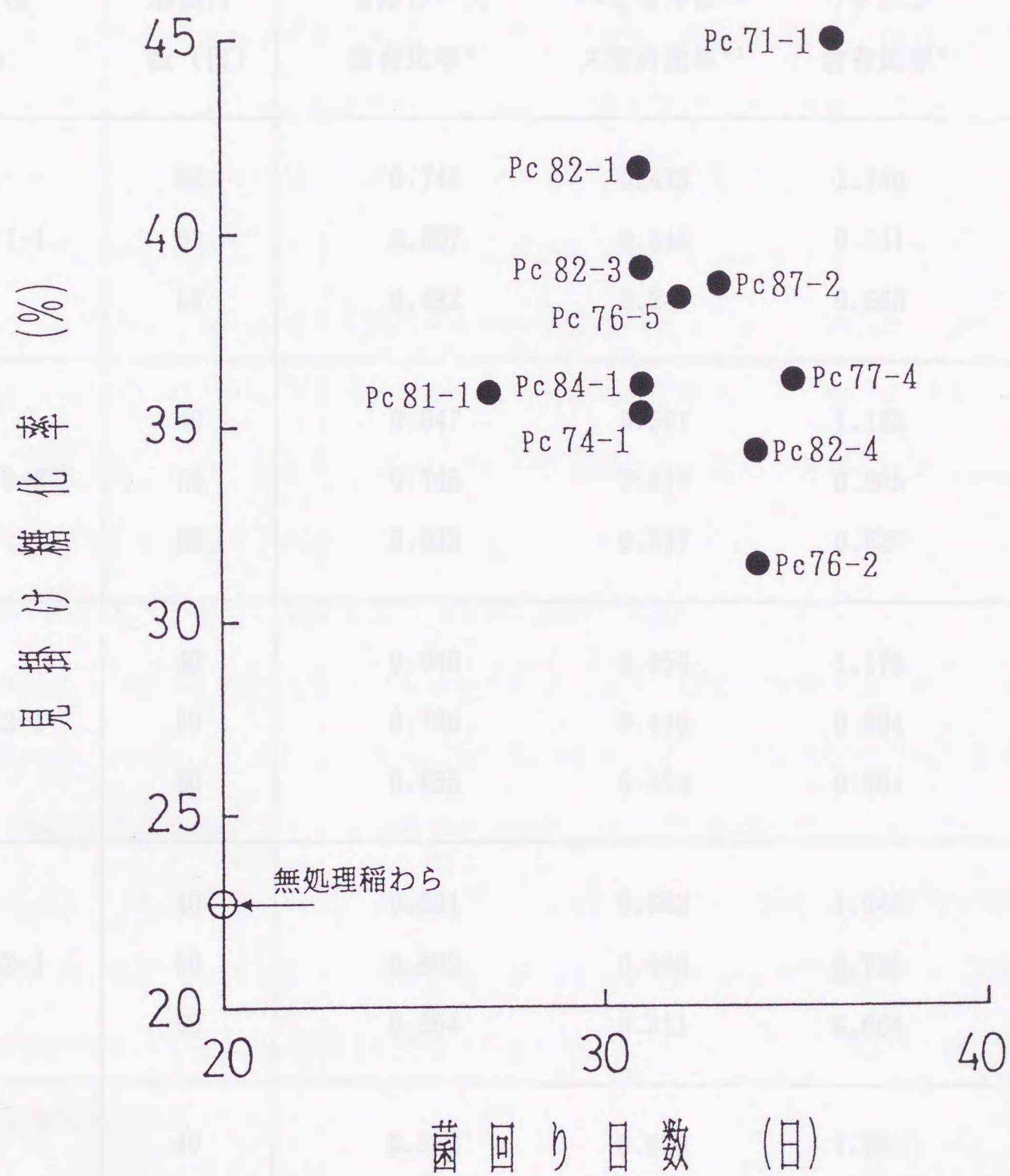


図44 菌回り日数と稲わら菌床（培養60日）の見掛け糖化率との関係

注： 培養条件：温度 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 $70 \pm 5\%$ ，暗黒下

表5 1 稲わら培地の培養日数と成分変化

菌 株 No.	培養日 数 (日)	セルロース 含有比率 ^{a)}	ヘミセルロー ス含有比率 ^{a)}	リグニン 含有比率 ^{a)}
Pc 71-1	40	0.745	0.475	1.148
	50	0.607	0.348	0.741
	60	0.482	0.240	0.568
Pc 76-5	40	0.847	0.501	1.123
	50	0.745	0.412	0.805
	60	0.633	0.327	0.627
Pc 82-1	40	0.840	0.454	1.175
	50	0.756	0.436	0.884
	60	0.656	0.304	0.691
Pc 82-3	40	0.891	0.603	1.048
	50	0.803	0.490	0.736
	60	0.664	0.311	0.664
Pc 87-2	40	0.884	0.600	1.234
	50	0.772	0.507	0.968
	60	0.646	0.341	0.736

符号：^{a)}：無処理の稲わらの各成分の含有率を1とした比率を示した，無処理稲わら（絶乾物）のセルロース含有率は36.6%，ヘミセルロース含有率は24.6%，リグニン含有率は4.4%，見掛け糖化率は22.8%，正味の糖化率は9.4%

数と成分変化として示した。全ての供試菌において、セルロースとヘミセルロースの含有比率は1未満となり、無処理稲わらと比較してセルロースとヘミセルロース含有率が減少していた。リグニンについては、全ての菌株において40日培養時の含有比率が1を超えたが、50と60日培養時の含有比率は1未満となった。本試験の分析方法では、菌体の蛋白質の一部がリグニンに加算されて処理稲わらのリグニン含有率が大きく評価されるが⁹²⁾、タモギタケの50～60日培養では稲わらのリグニンが分解されていることが分かる。

また、図45に稲わら菌床のリグニン含有率と見掛け糖化率の関係を示した。図に示されるように、リグニン含有率と見掛け糖化率の関係が負の相関 ($Y = -3.99X + 55.78$, Y : 見掛け糖化率, X : リグニン含有率) で表わされ、その相関係数 (γ) は -0.7770 であった。この結果からも、タモギタケによりリグニンが分解され、稲わら菌床の見掛け糖化率の値が高くなることが推定された。

3) 子実体の発生が稲わら菌床の酵素糖化率に及ぼす影響

子実体の発生が担子菌処理した稲わらの飼料価値に与える影響を観察するために、タモギタケを培養した稲わら菌床に子実体形成を行なわせたものと、子実体形成処理を施さない菌床の酵素糖化率を測定した。子実体発生試験には菌株選抜試験で選びだしたPc 71-1とPc 82-1を用いて行った。表52と表53には、Pc 71-1とPc 82-1の子実体発生が稲わら菌床の成分変化に与える影響を示した。子実体の発生を行わない試験区は培養期間を50および60日間、子実体発生試験区は培養期間を含めてPc 71-1において55日間、Pc 82-1において54日間の栽培期間である。

重量減少率は、Pc 71-1において子実体発生を行った試験区の値が最も大きかったが、Pc 82-1では菌床の培養または栽培期間の長さの順に大きくなった。見掛け糖化率と正味の糖化率は、両菌株ともに子実体の発生を行った試験区が低くなる傾向がみられた。そこで、本試験で得られた見掛け糖化率を、上記2)の関係式で計算した値と比較し、その誤差と得られた結果を表54に、子実体発生試験における見掛け糖化率の実測値と計算値として示した。その結果、両供試菌とも子実体発生区において計算式から予想される見掛け糖化率

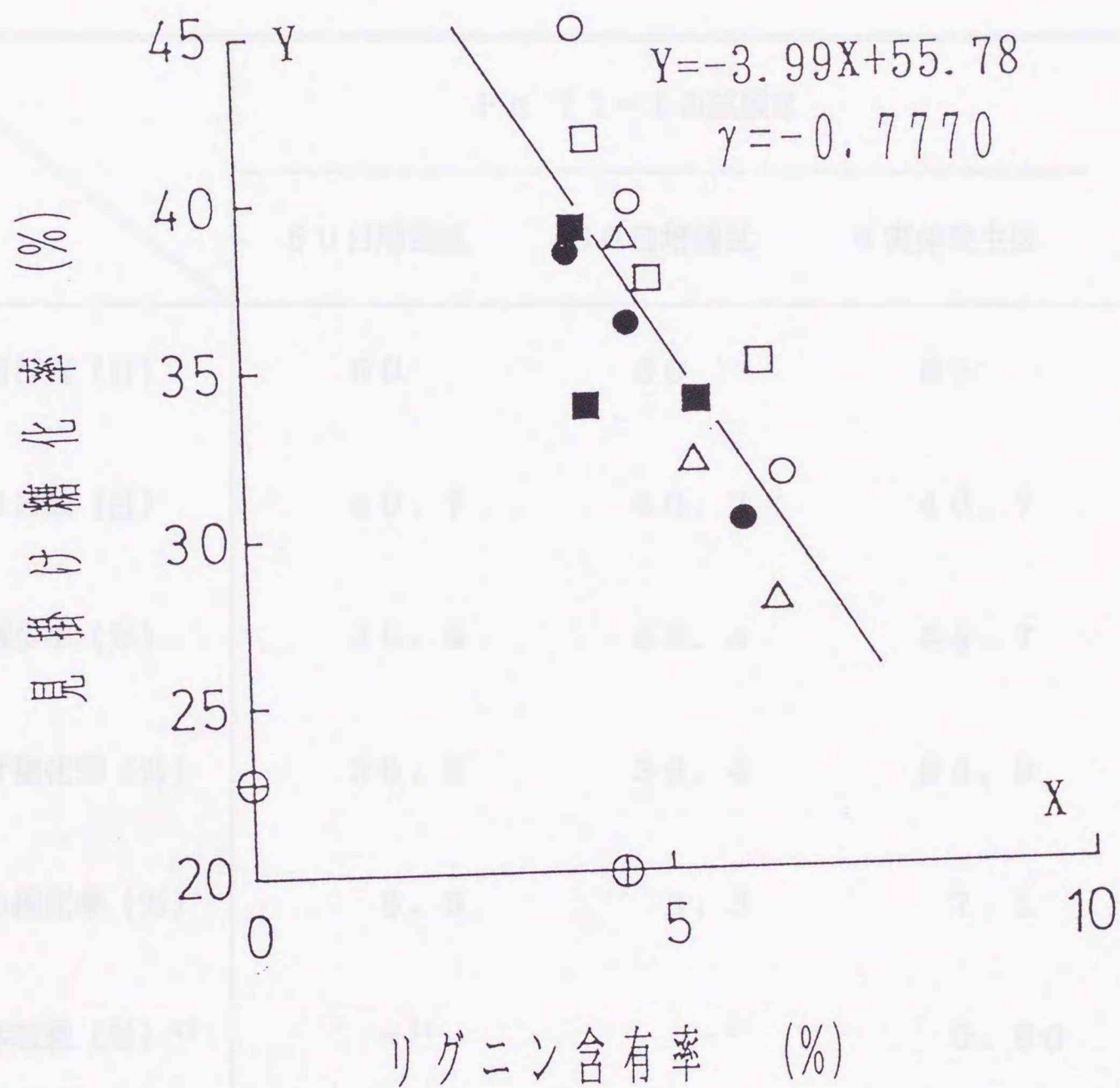


図45 稲わら菌床のリグニン含有量と見掛け糖化率との関係

符号：○：Pc 71-1, ●：Pc 76-5, □：Pc 82-1, ■：Pc 82-3,

△：Pc 87-2, ⊕：無処理稲わら

注：リグニン含有率は絶乾試料中の値を示す

表 5 2 子実体発生が稲わら菌床の成分変化に与える影響 (P c 7 1 - 1)

	P c 7 1 - 1 の試験区		
	5 0 日培養区	6 0 日培養区	子実体発生区
全栽培行程 (日)	5 0	6 0	5 5
菌回り日数 (日)	4 0 . 7	4 0 . 7	4 0 . 7
重量減少率 (%)	3 5 . 4	4 3 . 4	4 4 . 7
見掛け糖化率 (%)	3 6 . 8	3 9 . 4	2 6 . 9
正味の糖化率 (%)	8 . 9	8 . 3	7 . 1
子実体収量 (%) ^{a)}	— ^{b)}	— ^{b)}	0 . 8 0

符号: ^{a)}: $100 \times \text{子実体絶乾量 (g)} / \text{仕込時の稲わら培地の絶乾重量 (g)}$,

^{b)}: 子実体の発生なし

注: 無処理稲わら (絶乾物) のセルロース含有率は39.7%, ヘミセルロース含有率は22.7%, リグニン含有率は5.8%, 見掛け糖化率は21.4%, 正味の糖化率は8.1%

表53 子実体発生が稲わら菌床の成分変化に与える影響 (Pc 82-1)

	Pc 82-1の試験区		
	50日培養区	60日培養区	子実体発生区
全栽培行程(日)	50	60	54
菌回り日数(日)	35.6	35.6	35.6
重量減少率(%)	23.0	31.8	29.1
見掛け糖化率(%)	32.0	36.0	34.0
正味の糖化率(%)	10.5	11.3	7.7
子実体収量(%) ^{a)}	— ^{b)}	— ^{b)}	2.73

符号: ^{a)}: $100 \times \text{子実体絶乾量 (g)} / \text{仕込時の稲わら培地の絶乾重量 (g)}$,

^{b)}: 子実体の発生なし

注: 無処理稲わら(絶乾物)のセルロース含有率は39.7%, ヘミセルロース含有率は22.7%, リグニン含有率は5.8%, 見掛け糖化率は21.4%, 正味の糖化率は8.1%

表 5 4 子実体発生発生試験における見掛け糖化率の実測値と計算値

試験区	糖化率	見掛け糖化率		
		実測値 (%)	計算値 (%)	誤 差 (%) ^{a)}
P c 7 1 - 1				
	5 0 日培養区	3 6 . 8	3 5 . 0	- 4 . 9
	6 0 日培養区	3 9 . 4	4 0 . 6	+ 3 . 1
	子実体発生区	2 6 . 9	3 2 . 3	+ 2 0 . 1
P c 8 2 - 1				
	5 0 日培養区	3 2 . 0	3 4 . 6	+ 8 . 1
	6 0 日培養区	3 6 . 0	3 8 . 6	+ 7 . 2
	子実体発生区	3 4 . 0	4 1 . 0	+ 2 0 . 6

符号： ^{a)} : $100 \times (\text{計算値} - \text{実測値}) / \text{実測値}$

に比べ実測値が低い傾向が観察された。正味の糖化率についても子実体発生区の値のみが無処の理稻わらの値より低かった。この理由としては、タモギタケの子実体形成時に菌体外酵素のセルラーゼ活性が高まり、菌床のセルロースが分解、消費されて酵素糖化率が減少したことが考えられた。事実、シイタケ^{43, 64)}やヒラタケ^{45, 51)}の子実体形成時にこのような現象の発現が報告されている。なお、子実体収量については、Pc 71-1と比較してPc 82-1の値が高く、後者は前者の3.4倍量の子実体を得られた。写真25に稲わら菌床に発生したPc 82-1の子実体を示した。

以上の結果から、子実体の発生を避けた方が飼料価値が高い稲わら菌床が得られることが示唆される。しかし、Pc 82-1における子実体発生区の見掛け糖化率は無処の理稻わらの値の約 1.6倍となっており、飼料化に用いる菌株を考慮すれば多少の子実体発生は稲わらの飼料化の大きな障害にならない可能性も得られている。

III. 3 まとめ

本研究で、稲わらの飼料化に適する菌株として選抜したタモギタケPc 82-1を用いて、稲わらを60日間培養して実際に飼料を作製した。これを、道立滝川畜産試験場においてめん羊に自由摂取させて、その栄養価を測定した結果、稲わらの消化率の改善ははかられていないことが判明³⁷⁾した。

しかし、平成3～5年の3年間におこなわれた、道立滝川畜産試験場、埼玉県畜産試験場、および熊本県農業研究センター畜産研究所の共同研究「担子菌処理による地域資源の高栄養飼料化技術の確立」において³⁸⁾、小麦稈の担子菌処理にタモギタケPc 82-1が標準株として活用された。稲わらと同様に、小麦稈も無畜産農家では放棄されることが多く、利用される場合においても家畜の敷料が主な用途である。

そこで、タモギタケで50日間処理した小麦稈を用いてラム（子羊）肥育試験を行った結果、無処理小麦稈と比較して処理小麦稈の消化性が改善されて飼料価値が高まり、ラムの



写真25 稲わら菌床に発生したPc 82-1の子実体

体重の増加に結びつくことが明らかにされた。その研究成果報告書の中で、図46に示すような「担子菌による小麦稈の処理システム」が、コスト試算とともに提案されている。このコスト試算の中では、担子菌による小麦稈の飼料化はキノコの子実体を得ることが不可欠であり、その副収入を飼料処理コストの低減に活用している。Ⅲ．2の3)でタモギタケ Pc 82-1は子実体を形成させても飼料価値の低下が少ない可能性を示唆したが、そうした特徴が小麦稈の担子菌処理においても生かされたものと思慮される。

さらに、この報告書³⁸⁾によると小麦稈培地の完全殺菌は不要であり、温度80℃の15分間処理でもタモギタケが雑菌を駆逐して成長することが述べられている。一方、稲わら培地では120℃の30分間の処理が必要であることが報告されている。そうした小麦稈とタモギタケ関係についてのメカニズムは不明である。しかし、低コストが要求される飼料生産において、完全殺菌が不要であれば生産設備やランニングコストの面において非常に有利となる。

北海道におけるキノコ栽培は、キノコ生産の先進地である長野県を目標にして、寒冷地である障害とも戦いながら、効率的な子実体生産に励んできた歴史を持っている。道立林産試験場の仕事としても、そうした業界をバックアップすべくキノコの原木栽培の試験研究やオガコを用いる菌床栽培の試験研究を行ってきた。しかし、担子菌の生産は、担子菌が有する能力の一面の利用にすぎない。本章で示したように、食用担子菌のリグニン生分解能力の利用は、北海道の未利用資源の有効活用に新たな1ページを開くものであり、今後の北海道におけるキノコ栽培の研究における守備範囲を広げることが期待できる。

担子菌による小麦稈の処理システム (2.5反畝500バック/日)

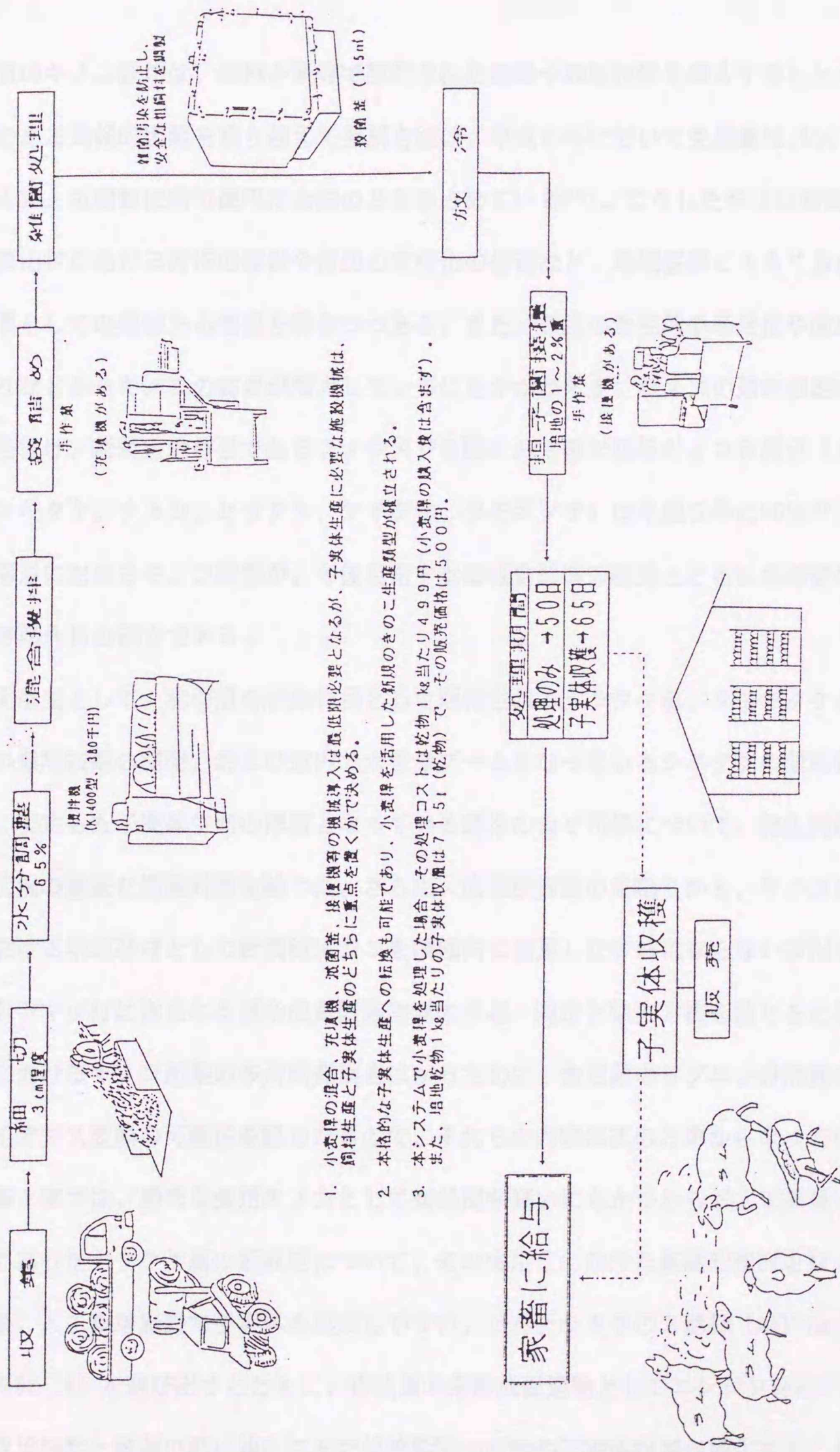


図46 担子菌による小麦稈の処理システム

注：「担子菌処理による地域資源の高栄養飼料化技術の確立」より引用

結 言

北海道のキノコ栽培は、本州企業等で開発された種菌や栽培技術を導入するとともに、寒冷地である気候的困難を乗り越えて発展を続け、平成6年において生産量11,114トンで全国の4%、生産額は約81億円で全国の3%を占めている²⁸⁾。こうしたキノコ産業は、北海道の農山村における所得の確保や住民の定住化の促進など、地域振興に大きく貢献する一次産業としての確固たる地位を築きつつある。また、道民の食生活の多用化や健康指向の高まりなどからキノコの需要が増大しているにもかかわらず、キノコの道内自給率は年々向上を続け、新規定着作目であるブナシメジを除いた主要な栽培キノコ6品目（シイタケ、エノキタケ、ナメコ、ヒラタケ、マイタケ、タモギタケ）は平成5年に90%²⁸⁾を越えた。北海道におけるキノコ産業が、今後目指すものは自給率の維持とともに北海道外へ誇れる道特産作目の確立である。

本論文は主として、北海道の特産作目として期待されるナラタケ属、タモギタケとえぞ雪の下の栽培技術の開発、および道内で大きなブームとなっているシイタケの菌床栽培において、安定した子実体生産の障害となっている菌床のカビ汚染について、発生施設のカビ汚染状況の調査と汚染対策を論じた。さらに、広葉樹資源の先細りから、キノコの菌床栽培における培地基材として針葉樹オガコを積極的に活用しなければならない状況を考慮して、トドマツ材に含まれる菌糸成長阻害物質の分離・同定と除去方法を論じるとともに、北海道におけるキノコ産業の多角的発展をはかるために、食用菌のリグニン分解能を活用したバイオマス変換の可能性を論じたもので、それらの内容は次の3章からなっている。

まず第I章では、優秀な食用キノコとして知名度が高いにもかかわらず人工栽培方法が未確立であったナラタケ属の瓶栽培について、その実用化に向けた基礎的検討を行った。その結果、人工栽培施設で子実体を形成しやすい、ツバナラタケの2菌株（HFP-Am 82-10および同82-14）を選び出すとともに、根状菌糸束形成促進物としてニンジンのみいだし、それを栽培培地と種菌の間に挟むことで培養期間の短縮や子実体収量が増化すること、子

実体原基形成後に培養瓶のキャップを除去することにより安定かつ効率的な子実体原基の形成が行えることを明らかにした。その結果、2カ月の栽培期間で800~850 mlの培養瓶1本当たり約100 gの子実体を安定的に生産するまでに至った。また、ナラタケ属は樹木病原菌でもあるため、その栽培を実用化するに当たって大きな障害となる廃培地の処理についても検討を加え、ヒラタケ栽培における培地基材として培養期間の短縮や子実体収量の増収のメリットがあることを明らかにした。

タモギタケについては栽培期間が20日程度と短く、子実体の形態と収量に優れたタモギタケ新品種3株を作出し、その栽培特性を交配に用いた親株と比較して示した。タモギタケはフスマで栽培すると傘がラッパ状に変形するために米ぬかで栽培するのが一般的であった。親株もそうした特性を有していたが、新品種はフスマで栽培しても傘の変形が生じにくい性質を有していた。栽培者にとっては、扱い易い3品種であり、今後のタモギタケ生産量の増大に大きく寄与することが期待できる。また、ネーミングについても、北海道の爽やかなイメージを本州の消費者に訴え掛けることができるように熟慮した。すなわち、天然のタモギタケが生えるハルニレ（アカダモ）やオヒョウなどニレ類の木を英語でエルムと呼ぶことをヒントにして、エルムのキノコをイメージする意味⁷⁵⁾で、エルム・マッシュと命名することにした。このエルム・マッシュが、道内におけるタモギタケの生産量と消費量の増大とともに、本州に消費者にも受け入れられることを期待したい。

えぞ雪の下は、味覚的には白造りのエノキタケを凌ぐ面があるものの、野生エノキタケの個性である黒い茎が消費者には受け入れにくいようである。しかし、今後はイメージアップを検討し、北海道特産のキノコとして生産量を増すと同時に販路の拡大をはかりたい。そうしたえぞ雪の下栽培の培地基材として、産業廃棄物として大量に産出されるコーヒークラスの利用を検討した。その結果、コーヒークラスは広葉樹のオガコに近い性質を有しており、かつオガコ以上に優れた培地基材になりうる可能性があることを明らかにした。また、エノキタケの栽培においては、細菌 *P. tolaasii* 等が引き起こす黒腐れ病が発生する⁷¹⁾が、コーヒークラスには、細菌の成長を阻害する物質が含まれていることが報告⁷⁷⁾され

ている。コーヒークスの利用がえそ雪の下の黒腐れ病の防止に効果がある可能性もあり、今後詳細に検討を行いたい。食品工場の廃棄物の有効利用が可能なことを活用すれば、えそ雪の下のイメージおよび知名度のアップがはかれるものと期待したい。

シイタケの菌床栽培は急速に道内に普及し、主要な栽培キノコの中で最も低かったシイタケの自給率の向上に貢献している。しかし、種々の原因によって子実体の発生不良が生じるため原木栽培と比較して安定した経営が難しい。そうした、原因の一つに、子実体発生中にシイタケ菌床を汚染する *Trichoderma* spp.や *Penicillium* spp.などのカビの問題がある。その問題の対策を検討するための第一歩として、道内の菌床シイタケ発生施設のカビ汚染状況と、そうした施設やシイタケ菌床上の *Trichoderma* spp.の挙動および防黴剤耐性について調査した。その結果、24全施設の平均落下真菌数は直径9 cmの平板培地当たり29.4個（範囲：6.0～142.4個）であった。落下真菌数の71.4%を *Penicillium* spp.が占め、以下、菌糸型不完全菌類 12.4%、*Cladosporium* spp. 6.7%、酵母 2.5%、*Trichoderma* spp. 1.9%、その他5.1%であった。調査した施設単位ごとの各真菌の検出率は、*Penicillium* spp.が最も高く95.8%の施設で検出され、以下、*Cladosporium* spp. および菌糸型不完全菌類 83.3%、*Trichoderma* spp. 70.8%、酵母 62.5%、接合菌類 37.5%、*Acremonium* spp. 20.8%であった。

Trichoderma spp.は落下菌として数は少ないものの、多くの施設で検出されること、落下菌および菌床から分離された *Trichoderma* spp.ともに、*T. koningi* に類似のものの検出率が50%以上と高いことを明らかにした。さらに、規定濃度以上の防黴剤を用いても成長する *Trichoderma* spp. の菌株が検出され、薬剤のみに頼る防黴対策に警鐘を鳴らさざるをえない状況も明らかになった。そこで、シイタケ菌床栽培の *Trichoderma* spp.対策の検討を試み、培地添加物の使用量の適性化が *Trichoderma* spp.汚染の拡大を押さえることを示した。現在、この実用化に向けて詳細な検討を行っている。菌床シイタケについては、その栽培形態を考えれば原木栽培以上に菌床の病気予防策が必要であるにもかかわらず、研究報告は少ない。この研究で得られた成果は、衰えが見えない道内の菌床シイタ

ケブームを堅実な流れに変えていくことにおいて確実な第一歩を示したことになる。

第II章では、トドマツ材の精油が食用キノコの菌糸成長を阻害することを明らかにし、その精油に含まれる主要物質として (+) -Juvabione を単離・同定した。この物質は、1966年に Bowers らがバルサムモミ材部から単離し、ホシカメムシの幼若ホルモン活性を持つことが報告⁶⁾されていたが、糸状菌の菌糸成長を阻害することについての報告は皆無であった。さらにトドマツ材の精油の除去方法について検討を行い、トドマツオガコを散水堆積する経験的なオガコの前処理方法が効果的であることを明らかにした。今後は、広葉樹オガコしか用いることができないシイタケやマイタケ栽培等にも、豊富に存在する道産針葉樹のオガコを積極的に活用するために、針葉樹オガコを用いた時に生じる子実体収量低下の原因の解明とその対策を講じる必要がある。

第III章では、タモギタケを稲わらに接種・培養することで、稲わら中のリグニンを代謝させ、処理稲わらを反すう動物にとって消化性の良い粗飼料に変換可能か否かの検討を行った。また、そうした処理で子実体の形成をも併せて行う場合の影響を検討した。その結果、セルラーゼを用いた試験管レベルの測定法により、タモギタケの培養によって稲わらの消化性が改善されることを明らかにした。同時に、そうした処理に適するタモギタケ2菌株（野生株、Pc 71-1とPc 82-1）を選抜した。さらに、Pc 82-1では、子実体形成が処理稲わらの消化性を低下させにくいことが分かった。また、このPc 82-1は道立滝川畜産試験場に分譲され、稲わらと同じく未利用資源である麦稈の消化性の改善に活用され、実用的な成果³⁸⁾を生みだすことができた。

謝 辞

本研究の遂行ならびに本論文の作成にあたり、終始懇切な御指導を賜った北海道大学農学部森林科学科教授、寺澤 實博士に衷心より感謝の意を表します。また、本論文の取りまとめに際し、多くの御教示と御指導を賜った北海道大学農学部森林科学科教授、五十嵐恒夫博士、北海道大学農学部森林科学科助教授、三浦 清博士に深謝いたします。さらに、北海道立林産試験場の青山政和博士、峯村伸哉博士、および大久保 勲氏、秋田県立農業短期大学木材高度加工研究所教授、土居修一博士には本論文の取りまとめに際し、詳細にわたる御指導を賜ったことを深謝いたします。

本研究の遂行にあたり、暖かい御配慮と御援助をいただいた北海道立林産試験場のこの部長、川西正則氏、同主任林業専門技術員、伊藤 清氏、同主任研究員、瀧澤南海雄氏、同主任研究員、伊東英武氏、および同研究職員、米山彰造氏をはじめとする林産試験場の関係各位に感謝いたします。なお、ナラタケ属の生物学的種の同定に関しては、(財)日本きのこセンター・菌茸研究所基礎研究部第一研究室長、長沢栄史氏、および北海道立林業試験場森林微生物部長、村田義一氏、また、(+)-Juvabioneの構造解析に関しては、北海道大学農学部森林科学科助手、小澤修二博士に多々御指導いただきましたことを感謝いたします。

文 献

- 1) 阿部 亮：“炭水化物成分を中心とした飼料分析法とその飼料栄養価評価法への応用”，農林水産省畜産試験場畜産試験場研究資料・第2号，1988，p.75.
p.482-500.
- 2) 荒井 滋：“キノコの事典”，中村克哉編，朝倉書店（東京），1982，p.370-371.
- 3) Ayer, W.A.; Macaulay, J.B.: Metabolites the honey mushroom, *Armillaria mellea*, *Can. J. Chem.*, 65, 7-14 (1987).
- 4) Barnett, H.L.; Hunter, B.B.: “Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Third edition”, Burgess Publishing Company (Minneapolis), 1972, p.241.
- 5) Barron, G.L.: “The Genera of Hyphomycetes from soil”, The Williams and Wilkins Co.(Baltimore), 1968, p.364.
- 6) Bowers, W.S. *et al.*: Juvenile Hormone: Identification of an active compound from Balsam fir, *Science*, 154, 1020-1021 (1966).
- 7) Cerny, V. *et al.*: Dehydorjuvabione. A new compound with juvenile hormone activity from Balsam fir, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 32, 3926-3933 (1967).
- 8) 車 柱榮, Kasuya, M.C.M., 五十嵐恒夫：ナラタケ属菌とオニノヤガラとの共生関係について，日本林学会北海道支部論文集，No.41，57-60（1993）.
- 9) 車 柱榮, 玉井 裕, 五十嵐恒夫：ナラタケ類の生物学的種5種の木材腐朽能力について，日本林学会北海道支部論文集，No.42，146-148（1994）.
- 10) Cha, J.Y.; Sung, J.M.; Igarashi, I.: Biological species and morphological characteristics of *Armillaria mellea* complex in Hokkaido: *A. sinapina* and two new species, *A. jezoensis* and *A. singula*, *Mycoscience*, 35, 39-47 (1994).
- 11) Cha, J.Y.; Sung, J.M.; Igarashi, I.: *Armillaria mellea* (Vahl: Fr.) Kummer s.

- s. from Hokkaido, *J. Jpn. For. Soc.*, 77(5), 395-398 (1995).
- 12) Choi, M.J.; Lee, J.Y.: Physiological and ecological studies on mycelia of *Armillaria mellea*, *Kor. J. Mycol.*, 11, 79-84 (1983)
- 13) 枝 克昌: 栄養体(バイデル)の使用方法について, “菌輪, 第16号”, サンマッシュ生産協議会, 1994, p.8-13.
- 14) Edmond, R.B.: Influence of water potential on growth of shiitake mycelium, *Mycologia*, 8(3), 464-468 (1989).
- 15) 古川久彦: きのこと研究の現状と問題点, “山林, 10月号”, 大日本山林会, 1982, p.20-27.
- 16) 古川久彦: “きのこ学”, 古川久彦編, 共立出版(東京), 1992, p.204-229.
- 17) 古川久彦: 同上, p.1-6.
- 18) Garraway, M.O.: Rhizomorph initiation and growth in *Armillaria mellea* promoted by *o*-amino-benzoic and *p*-aminobenzoic acids, *Phytopath.*, 60, 861-865 (1970)
- 19) 宜寿次盛生, 原田 陽, 富樫 巖: シイタケ菌床栽培における培地添加物使用量の検討, 平成6年度林業技術研究発表大会論文集, 1997, p.208-209.
- 20) 宜寿次盛生, 原田 陽, 富樫 巖: コーヒーかすを用いた野生型エノキタケ「えぞ雪の下」の栽培, 日本木材学会北海道支部講演集, No.27, 57-58 (1995).
- 21) 原田 陽, 宜寿次盛生, 富樫 巖: タモギタケ新品種の培養および栽培特性, 日本木材学会北海道支部講演集, No.27, 59-61 (1995).
- 22) 原田 陽ほか4名: “瓶栽培に適するタモギタケの新菌株”, 特許申請中.
- 23) 原田幸雄: “キノコとカビの生物学”, 中公新書(東京), 1993, p.28-32.
- 24) 原田幸雄: ナラタケ菌による貯蔵ニンジンの被害, 日本菌学会会報, 21, 518 (1980).
- 25) 長谷川絵里, 福田健二, 鈴木和夫: ナラタケの生物学的種, 日本林学会誌, 73(4),

- 315-320 (1991).
- 26) 林 公彦：“’92版きのこ年鑑”，農村分化社（東京），1991，p.331-340.
 - 27) 広居忠量：“きのこ学”，古川久彦編，共立出版（東京），1992，p.280-288.
 - 28) 北海道：平成7年度第1回北海道特用林産振興推進協議会資料，1995，p.8-12.
 - 29) 北海道：平成5年度北海道林業統計，1994，p.10-11.
 - 30) 北海道きのこ農業協同組合：“菌床きのこの作り方”，北海道きのこ農業協同組合（札幌），1992，p.3-6.
 - 31) 北海道きのこ農業協同組合：同上，1992，p.71-78.
 - 32) 北海道農政部：平成6年度北海道農業統計表，1995，p.43-68.
 - 33) 北海道林務部林業振興課：道外に向けたきのこの需要拡大について，“林，8月号”，北海道造林振興協会，1995，p.52.
 - 34) 北海道林務部林業振興課：内部資料.
 - 35) 北海道立滝川畜産試験場，北海道立林産試験場：“微生物処理による繊維質資源の飼料化に関する研究”，昭和63年度共同研究報告書，1988，p.14.
 - 36) 北海道立滝川畜産試験場，北海道立林産試験場：“微生物処理による繊維質資源の飼料化に関する研究”，平成元年度共同研究報告書，1989，p.19.
 - 37) 北海道立滝川畜産試験場，北海道立林産試験場：“微生物処理による繊維質資源の飼料化に関する研究”，平成2年度共同研究報告書，1990，p.13.
 - 38) 北海道立滝川畜産試験場，埼玉県畜産試験場，熊本県農業研究センター畜産研究所：“担子菌処理による地域資源の高栄養飼料化技術の確立”，1994，p.118.
 - 39) 堀江義一：“微生物の分離法”，R & Dプランニング（東京），1986，P.377-381.
 - 40) 堀越孝雄，鈴木彰：“きのこの一生”，築地書店（東京），1990，p.84.
 - 41) 五十嵐恒夫：“続北海道のキノコ”，北海道新聞社（札幌），1993，p.294-296.
 - 42) 例えば，今関六也，大谷吉雄，本郷次雄：“山溪カラー名鑑・日本のきのこ”，山と溪谷社（東京），1988，p.24-25.

- 43) 石川久雄, 沖 妙, 仙波裕子: シイタケの子実体形成にともなう菌体外酵素活性の変化について, 木材学会誌, 29, 280-287 (1983).
- 44) 伊藤一雄: “樹病学大系Ⅲ”, 農林出版(東京), 1974, p.159-164.
- 45) 岩原博樹, 善本知孝, 福住俊郎: ヒラタケ生育時の菌体外酵素活性の変化, 木材学会誌, 27, 331-336 (1981).
- 46) 岩村良男: ヒラタケ栽培における木炭粉及び醸造用大豆煮汁添加試験, 昭和60年度青森県林業試験場報告, 1986, p.20-25.
- 47) 例えば, 岩瀬剛二, 小川 真, 伊藤 武: スギ間伐材によるシイタケ菌床栽培(1) 培地の製造と培養, 日本菌学会第37回大会講演要旨集, 大阪, 1993, p.75.
- 48) 泉 征三郎: 最近の生しいたけ生産事情—とくに菌床栽培の経営をめぐって—, “普及情報, 第95号”, 北海道林務部, 1994, p.1-2.
- 49) 鎌田昭吉: 北海道におけるカラマツ製材の生産内容どのように変化, “林産試だより, 8月号”, 北海道立林産試験場, 1992, p.1-8.
- 50) 勝矢晃敏, 瀧澤南海雄: えぞ雪の下(野生型エノキタケ)の培地特性—遺伝的に近い3菌株について—, 平成4年度林業技術研究発表大会論文集, 1992, p.266-267.
- 51) 川上日出国, 藤井正人: 子実体形成に伴うヒラタケほだ木酵素活性の変動, 第36回日本木材学会中部支部大会論文集, 109-112 (1988).
- 52) 河村のり子, 後藤正夫: シイタケ菌株における食塩耐性とグルタミン酸利用性との関係, 日本菌学会会報, 19, 161-168 (1975).
- 53) きのことガイドブック編集部: “'95きのこガイドブック”, 農村分化社(東京), 1994, p.84-88.
- 54) 衣川堅二郎: “キノコの事典”, 中村克哉編, 朝倉書店(東京), 1982, p.60.
- 55) 衣田雅人: “きのこの増殖と育種”, 大政正武編, 農業図書(東京), 1992, p.195-205.
- 56) 小林 正ほか3名: ナラタケ菌の発育・腐朽と培養基水分との関係, 第93回日本林

- 学会発表論文集, 375-376 (1982).
- 57) 木暮光男, 国友幸夫: マイタケ栽培への木炭粉添加効果, 昭和60年度群馬県林業試験場報告, 1986, p.145-147.
- 58) 河野又四, 寺下隆夫: ヒラタケ栽培場における汚染微生物について, 日本菌学会会報, 23, 517-522 (1982).
- 59) 小松光雄: シイタケに抗菌性のHypocrea, Trichoderma および類縁菌群の研究, 菌蕈研究所研究報告, 13, 1-113 (1976).
- 60) 米虫節夫ほか4名: ナメコ栽培場における空中落下糸状菌分布, 防菌防黴誌, 16, 3-8 (1988).
- 61) Korhonen, K.: Interfertility and colonial size in *Armillaria mellea* complex, *Karstenia*, 18, 31-42 (1978).
- 62) Malloch, D. (宇田川俊一, 室井哲夫訳): “カビの分離・同定”, 医歯薬出版(東京), 1983, p.100.
- 63) Manville, J.F.; Bock, K.: Assignmet of juvabione diastereomers by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Org. Magn. Reson.*, 9, 596-597 (1977).
- 64) Matsumoto, T.: Changes in activities of carbohydrases, phosphorylase, proteinases and phenol oxidases during fruiting of *Lentinus edodes* in sawdust cultures, *Rept. Tottori Mycol. Inst.*, 26, 46-54 (1988).
- 65) 目黒貞利, 河内進策, 田中貴司: 酢酸および木酢液によるシイタケ害菌の防除, 木材学会誌, 38(11), 1057-1062 (1992).
- 66) 三浦 清, 小塚 治: シイタケの菌床栽培に関する研究, 日本木材学会北海道支部講演集, No.22, 84-89 (1990).
- 67) 三浦 徹: きのこの里・愛別町のこれまでと課題, 日本木材学会北海道支部第26回研究会資料, 1995, p.2-9.

- 68) 森川東太：コーヒーかす培地によるナメコの発生量と品質，日本林学会東北支部会誌，No.46，237-238 (1994).
- 69) 森三千雄，瀧澤南海雄，中村米松：えぞ雪の下の培地特性について，昭和63年度林業技術研究発表大会論文集，1989，p.220-221.
- 70) 村田義一：私信.
- 71) 長野県経済連農業協同組合連合会：“菌床きのこ栽培障害事例集”，1995，p.21-46.
- 72) 長野県野菜花き試験場：“平成5年度試験成績書（菌茸）”，1994，p.55-56.
- 73) 長沢栄史，小松光雄，前川二太郎：日本産ナラタケ属 (*Armillaria mellea*) の分類学的再検討，平成2年度科学研究費補助金研究成果報告書，1991，p.30.
- 74) 長沢栄史：私信.
- 75) 長沢栄史：エルムのきのこ，北海道キノコの会10周年記念誌，1993，p.9-15.
- 76) 成田傳蔵：ナラタケに関する知見4種，日本菌学会ニュース1993-3，No.22，111-114 (1994).
- 77) 仁科淳良，松長正見：コーヒー残渣抽出物の抗菌効果，食品流通技術，23(8)，21-26 (1994).
- 78) 農林水産省北海道統計情報事務所：規格外にんじんを活用，農林漁業現地情報・平成3年6月号，1991，p.2.
- 79) 小川輝美ほか7名：食用キノコ栽培上の害菌防除薬剤に関する研究II－食用キノコ栽培上におけるトリコデルマ菌類に対するベンレート水和剤の防除効果－，日本菌学会会報，16，311-323 (1975).
- 80) Ohga, S.; Yano, S.; Kira, K.: Availability of enokitake mushroom, *Flammulina velutipes* cultural waste for use as a substrate in the sawdust-based cultivation of shiitake, *Lentinus edodes*, *Mokuzai Gakkaishi*, 39, 1443-1448 (1993).

- 81) 大木 理: “植物と病気”, 東京化学同人 (東京), 1994, p.155-157.
- 82) 奥田 徹: 真菌の分離と分類 *Trichoderma* 属, 防菌防黴誌, 20, 157-166 (1992).
- 83) 小野 馨: 北海道におけるカラマツ造林地のナラタケ病—地形および土壌環境と発病—, 林業試験場研究報告, No.179, 1-62 (1965).
- 84) 小野 馨: カラマツならたけ病に関する研究—とくに土壌条件と発病—, 同上, No. 229, 123-219 (1970).
- 85) Pawson, *et al.*: Syntheses of natural (+)-juvabione, its enantiomer (-)-juvabione, and Their diastereoisomers (+)- and (-)-epijuvabione, *J. Am. Chem. Soc.*, 92, 336-343 (1970).
- 86) Pentland, G.D.: Stimulation of rhizomorph development of *Armillaria mellea* by *Aureobasidium pullulans* in artificial culture, *Can. J. Microbiol.*, 11, 345-350 (1965).
- 87) Rishbeth, J.: The growth rate of *Armillaria mellea*, *Trans. Bri. Mycolog. Soc.*, 51, 575-586 (1968).
- 88) 林野庁徳用林産対策室: 特用林産物の生産動向と振興対策, “林野時報, 11月号”, 林野弘済会, 1995, p.2-9.
- 89) Rogers, I.H.; Manville, J.F.: Juvenile hormone mimics in conifers. I. Isolation of (-)-cis-4-[1'(R)-5'-dimethyl-3'-oxohexyl]-cyclohexane-1-carboxylic acid from douglas-fir wood, *Can. J. Chem.*, 50, 2380-2382 (1972).
- 90) Rogers, I.H.; Manville, J.F.; Sahota, T.: Juvenile hormone analogs in conifers. II. Isolation, Identification, and biological activity of cis-4-[1'(R)-5'-dimethyl-3'-oxohexyl]-cyclohexane-1-carboxylic acid and (+)-4(R)-[1'(R)-5'-dimethyl-3'-oxohexyl]-1-cyclohexane-1-carboxylic acid from douglas-fir wood, *ibid.*, 52, 1192-1199 (1974).
- 91) Roll-Hansen, F.: The *Armillaria* species in Europe. A literature review,

European journal of forest pathology, 15, 22-31 (1985).

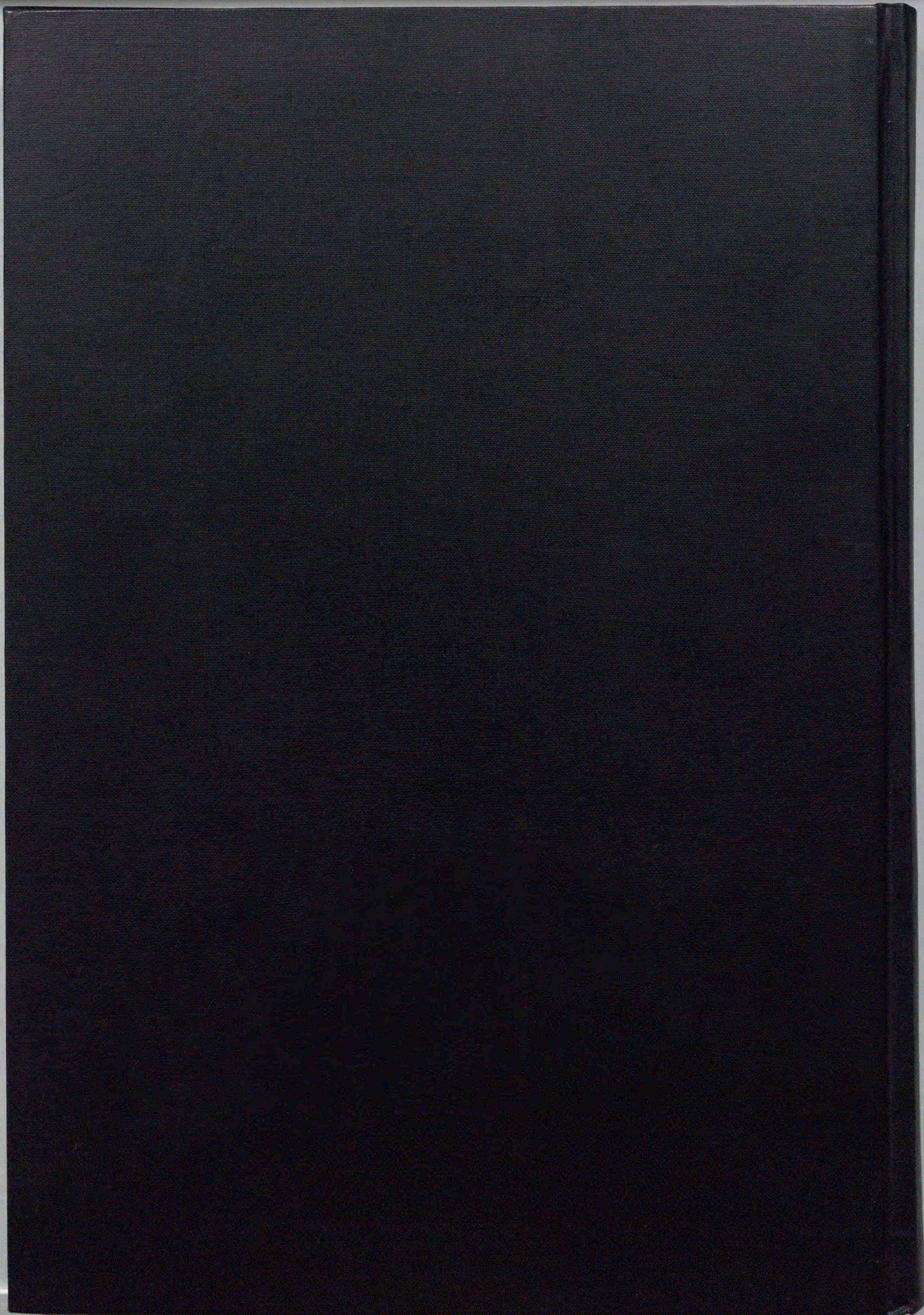
- 92) 生物分析委員会：“栄養診断のための栽培植物分析測定法”，養賢堂（東京），
1976, p.482-500.
- 93) 庄司 当：“キノコの事典”，中村克哉編，朝倉書店（東京），1987, p.441-449.
- 94) 鈴木 彰：同担子菌類の子実体原基形成に關与する環境要因，日本菌学会会報，20，
253-265 (1979).
- 95) 高橋郁雄：“北海道きのこ図鑑”，亜璃西社（札幌），1991, p.254-256. (1993).
- 96) 例えば，高橋旨象：“木のひみつ”，京都大学木質科学研究所編，東京書籍（東京），
1994, p.199-209.
- 97) 高尾彰一ほか6名：“寒冷地におけるしいたけ栽培”，北海道林務部（札幌），
1984, p.11-35.
- 98) 瀧澤南海雄，小田 清，信太 寿：ヒラタケ・タモギタケ瓶栽培における消石灰の
効果，日本林学会北海道支部講演集，No.25, 64-66 (1976).
- 99) 瀧澤南海雄：最近の菌床栽培キノコ，北方林業，39, 16-18 (1987).
- 100) 瀧澤南海雄：“キノコの事典”，中村克哉編，朝倉書店（東京），1987, p.392-
397.
- 101) 瀧澤南海雄：“キノコ栽培の新技术”，農耕と園芸編集部編，誠文堂新光社（東京），
1988, p.119-130.
- 102) 瀧澤南海雄：未発表.
- 103) 富樫 巖，米山彰造，青山政和，及川英秋，坂村貞雄：ドドマツ (*Abies sachali-*
nensis Mast.) から単離したJuvabioneの抗菌性，日本農芸化学会講演要旨集，新潟，
1989, p.437.
- 104) 富樫 巖，米山彰造，瀧澤南海雄：担子菌処理による稲わらの飼料化，日本木材学
会北海道支部講演集，No.22, 74-79 (1990).
- 105) 富樫 巖，米山彰造，瀧澤南海雄：タモギタケによる稲わらの飼料化，林産試験場

- 報, 5(3), 1-6 (1991).
- 106) 富樫 巖, 伊東英武, 瀧澤南海雄: ナラタケ属の人工栽培に関する研究ー根状菌糸束誘導物質の検討ー, 第42回日本木材学会大会要旨集, 名古屋, 1992, p.493.
- 107) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: シイタケ菌床栽培における真菌汚染について, 林産試験場報, 6(3), 1-5 (1992).
- 108) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: 菌床栽培を目的としたナラタケ属菌の菌株選抜試験, 日本木材学会北海道支部講演集, No.24, 40-42 (1992).
- 109) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: ニンジンを用いたナラタケ属菌の瓶栽培, 同上, No.24, 43-46 (1992).
- 110) 富樫 巖, 米山彰造, 瀧澤南海雄: オオヒラタケ, フクロタケによる稲わらの飼料化, 林産試験場報, 6(5), 4-9 (1992).
- 111) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: シイタケ菌床栽培における真菌汚染 (第2報)ーシイタケ菌そう上でのトリコデルマ属の菌糸成長速度ー, 同上, 7(1), 1-4 (1993).
- 112) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: ナラタケ属菌の菌床栽培についてー根状菌糸束誘導物質の検討ー, 平成4年度林業技術研究発表大会論文集, 1993, p.256-257.
- 113) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: ナラタケ属菌の選抜試験ー菌床栽培に適す菌株の選抜ー, 同上, 1993, p.258-259.
- 114) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: 食塩水によるシイタケ菌床の害菌防除ートリコデルマ防除の予備的検討ー, 日本木材学会北海道支部講演集, No.25, 62-65 (1993).
- 115) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: 菌床栽培のためのナラタケ属の菌株選抜試験, 林産試験場報, 7(5), 18-20 (1993).
- 116) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: ナラタケ属の根状菌糸束形成に対するニンジンの効果, 木材学会誌, 40(2), 213-219 (1994).
- 117) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: 食塩水によるシイタケ菌床の害菌防除ートリコデルマ防除の予備的検討ー林産試験場報, 8(3), 15-19 (1994).

- 118) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: ナラタケ属の人工栽培に関する研究—樹種別栽培試験—, 平成5年度林業技術研究発表大会論文集, 1994, p.232-233.
- 119) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: ナラタケ属の根状菌糸束形成に対するニンジンの効果, 林産試験場報, 8(5), 16-20 (1994).
- 120) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: ナラタケ属の子実体生産に及ぼす子実体原基の形成方法と培地水分の影響, 木材学会誌, 41(2), 211-217 (1995).
- 121) 富樫 巖, 伊藤 清: 北海道における菌床シイタケ発生施設の真菌汚染状況, 日本木材学会40周年記念大会要旨集, 東京, 1995, p.470.
- 122) 富樫 巖: シイタケの菌床栽培について—林産試験場きのこセンターの取り組み—, きのこ技術集談会第11回技術研修会講演資料, 1995, p.9-13.
- 123) 富樫 巖ほか3名: 木炭粉を用いたシイタケの菌床栽培林産試験場報, 9(5), 23-26 (1995).
- 124) 富樫 巖: ナラタケ属の廃培地を用いたヒラタケの瓶栽培, 木材学会誌, 41(10), 956-962 (1995).
- 125) 富樫 巖, 宜寿次盛生, 原田 陽: 針葉樹を用いたナラタケ属瓶栽培の可能性, 日本木材学会北海道支部講演集, No.27, 55-56 (1995).
- 126) 富樫 巖: ナラタケ属キノコ瓶栽培における培地材料と種菌接種方法の子実体生産に及ぼす影響, 木材学会誌, 42(2), (1996)印刷中.
- 127) Townsend, B.B.: Morphology and development of fungal rhizomorphs, *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 37, 222-233 (1954)
- 128) 角田光利: “きのこ菌床栽培の病原菌と害虫”, 農林水産省農林水産技術会議事務局・林野庁森林総合研究所編, 1995, p.3-12.
- 129) 内山虎歳男: “白いエノキタケ栽培法”, 長野県農業改良協会(長野), 1977, p.116-123.
- 130) 宇田川俊一ほか7名: “菌類図鑑(上, 下)”, 講談社(東京), 1978, p.1321.

- 131) 上田俊穂 ほか3名：“夢自然きのこ1”，香川長生編，山と溪谷社（東京），
1992, p.35-41.
- 132) Watanabe, T.: Rhizomorph production in *Armillaria mellea* in vitro stimulated by *Macrophoma* sp. and several other fungi, *Trans. Mycol. Soc. Japan*,
27, 235-245 (1986).
- 133) 渡辺恒雄：“写真と図解・土壌糸状菌－培養株の検索と形態－”，ソフトサイエンス社（東京），1993, p.392.
- 134) Weinhold, A.R.: Rhizomorph production by *Armillaria mellea* induced by ethanol and related compounds, *Science*, 142, 1065-1066 (1963).
- 135) Weinhold, A.R.; Garraway, M. O.: Nitrogen and carbon nutrition of *Armillaria mellea* in relation to growth-promoting effects of ethanol, *Phytopath.*, 56, 108-112 (1966).
- 136) 山中勝次，柿本陽一：“きのこ生育診断”，農村分化社（東京），1991, p.41.
- 137) 柳 園江：担子菌（きのこ）の培養細胞と利用，遺伝，44(2)，20-25 (1990).
- 138) 横関源延：微生物の発育と水分活性，防菌防黴誌，3，131-135 (1975).
- 139) 米山彰造，富樫 巖，本間千晶，青山政和：食用菌菌糸の生育に及ぼすトドマツ抽出物の影響日本菌学会第32回大会講演要旨集，沖縄，1988, p.6.
- 140) 米山彰造，富樫 巖，本間千晶，青山政和：食用菌菌糸の生育に及ぼすトドマツ抽出物の影響林産試験場報，3(3)，16-22 (1989).
- 141) Yoneyama, S. *et al.*: An Antifungal Substance in the Volatile Wood-Oil of Todomatsu, *Abies sachalinensis* Mast., *Mokuzai Gakkaishi*, 36, 777-780 (1990).
- 142) 米山彰造，富樫 巖，瀧澤南海雄：トドマツ木粉の食用菌栽培への利用－阻害成分の除去法と除去効果について－，第41回日本木材学会大会研究発表要旨集，松江，1991, p.218.

- 143) 米山彰造, 富樫 巖, 青山政和, 瀧澤南海雄: トドマツ木粉が含有する食用菌菌糸生長阻害物質について, 平成3年度林業技術研究発表大会論文集, 1992, p.188-189.
- 144) 米山彰造, 富樫 巖, 瀧澤南海雄: トドマツ木粉中の食用菌菌糸生長阻害物質—阻害物質の除去法とその効果—, 林産試験場報, 6(2), 6-14 (1992).
- 145) 吉田 博, 菅原龍幸, 林 淳贈三: シイタケの菌糸体ならびに子実体の発育過程における炭水化物および有機酸の変化, 日本食品工業学会誌, 34, 274-281 (1987).
- 146) 吉田 忠, 高尾彰一: 北海道内ナメコ人工栽培における糸状菌の分布, 北海道大学農学部邦文紀要, 13(2), 81-100 (1982).

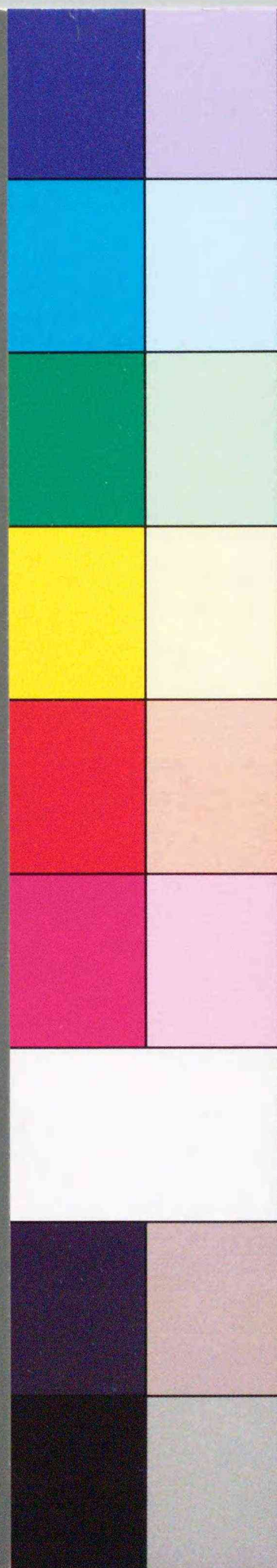


Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

