

ナラタケ属瓶栽培における種菌接種方法が 子実体生産に及ぼす影響

富樫 巖

Effects of Seeding Methods on Fruiting Body Production of the Bottle Cultivation of *Armillaria* species

Iwao TOGASHI

Seeding methods using sawdust spawn for *Armillaria* sp. (HFP-Am 82-14) in bottle cultivation were investigated. The sawdust spawn was seeded on carrots (*Daucus carota* L. var. *sativa* DC.), ground and autoclaved, placed on the surface and in the seeding hole of the sawdust medium. After incubation, the spawn and the carrots were removed for fruiting without destruction of the dark mycelial coat formed on the surface of the sawdust medium. Yields of fruiting bodies consequently were increased 14% for cultures in 200ml bottles and 18~34% in 850ml bottles compared with the control which did not use carrots.

Keywords: *Armillaria* species, bottle cultivation, seeding method, carrots.

ナラタケ属, 瓶栽培, 接種方法, ニンジン

林産試験場ナラタケ属 (*Armillaria* sp.) 保存株HFP-Am 82-14を供試して, 種菌の接種方法の検討を行った。培地の子実体発生面と接種穴に殺菌したニンジン磨砕物を載せ, その上に種菌を接種した。培養終了後に培地の子実体発生面に形成された黒色被膜を残し, 接種した種菌とニンジン除去して子実体の発生処理を行うと, ニンジンをうけない場合と比較して200ml培養瓶で子実体収量が14%, 850ml培養瓶で子実体収量が18~34%増加した。

1. はじめに

ナラタケ属 (*Armillaria* sp.) 担子菌の子実体は優良な食用菌¹⁻³⁾であり, 人工栽培技術が確立されれば, 市場性に富む食用キノコとして期待されている⁴⁾。そこで, 著者はナラタケ属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(第1図参照)。その結果, ニンジン (*Daucus carota* L. var. *sativa* DC.) がナラタケ属の根状菌糸束の形成を促進するとともに, 実用的な栽培工程においても扱いやすい材料であることや⁵⁾, 培養瓶に通気性の良いキャップをした状態で子実体原基の形成を行うと子実体の安定した生産が可能になることをみいだした⁶⁾。

一方, ナラタケ属は樹木病原菌であるため, 栽培にあたっては, その廃培地の適正な処理が求められている⁴⁾。そこで廃培地の処理方法を検討し, ナラタケ属の廃培地にフスマを添加してヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*(Jacq. : Fr.)Kummer) を栽培するとコントロールと比較して栽培期間の短縮や子実体の増収が期待できることを報告した⁷⁾。

以上の検討に引き続いて本研究では, 実際の食用菌キノコの栽培工程を考慮した種菌の接種方法とニンジンの利用方法の検討を行った。

なお, 本報告は第44回日本木材学会大会(1994年4月, 奈良)での口頭発表, および木材学会誌(第42



第1図 瓶栽培で発生したナラタケ属(HFP-Am 82-14)の子実体
Fig.1. Fruiting bodies of *Armillaria* sp.(HFP-Am 82-14) on the bottle cultivation.

巻第2号, 1996年)に掲載された論文の要旨である。

2. 実験方法

2.1 供試菌株と栽培用種菌

供試菌株は林産試験場のナラタケ属保存株HFP-Am 82-14を用いた。栽培試験に用いた種菌は、ダケカンバ (*Betula ermanii* Cham.) 鋸屑と米ぬか^{のこくず}を2.2 : 1の絶乾重量比で混合し、水道水を用いて全体の水分を65% (湿量基準, 以下同じ) に調整した後、スクリーキャップ付き200ml容ガラス製培養瓶 (以下, 200ml培養瓶と略す) 当たり^{じゅうてん}に130g充填して高圧殺菌 (121℃, 60分間) し、上記の供試菌株を接種して22±1℃, 相対湿度70±5%, 暗黒下で25日間培養して作成した。

2.2 栽培培地の調製

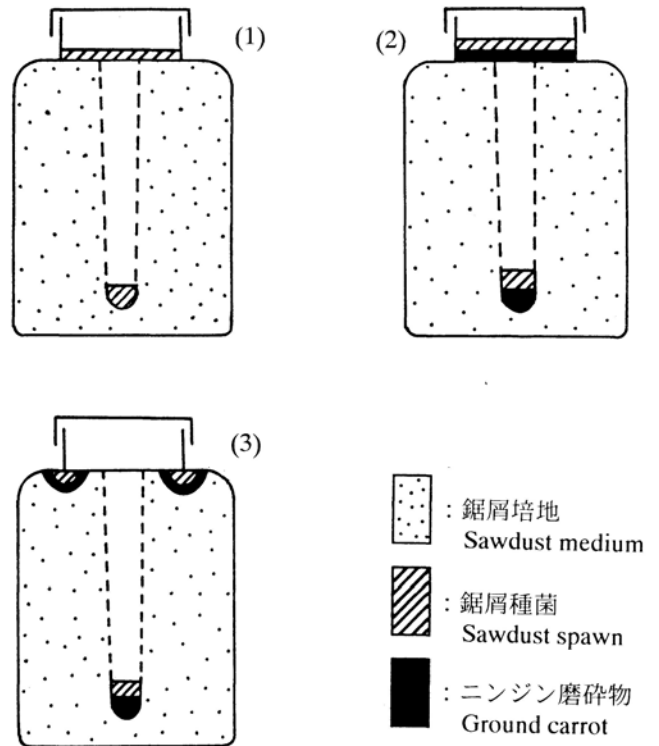
ダケカンバ鋸屑と米ぬか (いずれも絶乾重量換算) と水をそれぞれ2.2 : 1 : 5.5の重量比で混合して全体の水分を63%に設定した培地を作成し、200ml培養瓶および850ml容ポリプロピレン製培養瓶 (以下, 850ml培養瓶と略す) 当たり^{じゅうてん}に130および635g充填した。850ml培養瓶には不織布フィルター付きポリプロピレン製キャップ (エノキタケ, ヒラタケ用) を用いた。

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

2.3 種菌の接種と培養

第2図に、本研究で用いた種菌の3種類の接種方法を示した。試験区1として、第2図の(1)に示すように培地上部と接種穴に種菌を接種する方法を用いた。種菌の接種量は200ml培養瓶では約4.5g, 850ml培養瓶では約9.0gとした。また、試験区2として、(2)に示すように培地上部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約9.5g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、(3)に示すように培地の肩2か所と接種穴の計3か所に高圧殺菌したニンジン磨砕物を培養瓶当たり約6.0g載せ、その上に種菌を約3.0g接種する方法を用いた。

なお、ニンジンは食用として市販されているものを購入し、それらを家庭用のおろし金ですりおろし



第2図 ナラタケ属(HFP-Am 82-14)の瓶栽培で用いた鋸屑種菌の接種方法

注: (1): 培地上部と接種穴に鋸屑種菌を接種, (2): 培地上部と接種穴に載せたニンジン磨砕物の上に鋸屑種菌を接種, (3): 培地の肩2か所と接種穴に載せたニンジン磨砕物の上に鋸屑種菌を接種

Fig.2. There seeding method of sawdust spawn used in bottle cultivation of *Armillaria* sp.(HFP-Am 82-14).

Notes: (1): The spawn was seeded on surface and in seeding hole of sawdust medium.
(2): The spawn was seeded on carrot, ground and autolaved which was placed on surface and in seeding hole of sawdust megium.
(3): The spawn was seeded on the carrot which was placed on three points per culture. The two points of that were on sholder, and the rest point was in seeding hole.

てニンジン磨砕物を調製した。

2.4 培養，子実体の原基形成，生育，採取，収量

培養は，温度 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $70\pm 5\%$ ，暗黒下で25～42日間培養した。そして，培地全体に菌体が蔓延するのに要した日数（以下，菌回り日数と略す）を測定した。培養日数については，原則として，200ml培養瓶を用いた場合には25日間，850ml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すべての培養瓶の菌回りが終了するまでとした。

培養後，第2図の(1)と(2)の接種方法を用いた場合には，培地上部に形成された黒色皮膜を傷つけないように，接種した種菌やニンジン磨砕物を除去した後，再びキャップをして，培養瓶を温度 $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度 $85\pm 5\%$ ，照度 350lx （照射時間 12h/day ）

の環境下で子実体の原基形成と生育を行った。キャップについては子実体原基が形成した後に除去した。(3)の接種方法を用いた場合には，接種した種菌やニンジン磨砕物を除去せずに同様の子実体の発生処理を行った。そして，発生処理を行っ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。

子実体の採取は培養瓶ごとに行った。採取時期は各培養瓶の半数以上の子実体の傘の膜が切れた時点とし，生重量を測定して子実体収量を求めた。

3. 結果と考察

3.1 200ml培養瓶を用いた栽培試験

各試験区の菌回り日数，培養日数，原基形成日数，採取日数，栽培日数および子実体収量を第1表に示

第1表 ナラタケ属瓶栽培における種菌の接種方法別栽培試験の結果(200ml培養瓶使用)
Table 1. Effects of inoculation methods on the bottle cultivation of *Armillaria* sp.(HFP-Am 82-14) using 3 methods and 200 ml bottle.

試験区 Test number	1	2	3
種菌の接種部位 Inoculation sites of sawdust spawn	培地上部と接種穴 Medium surface and inoculation hole		培地の肩2か所と接種穴 Two points on medium surface and inoculation hole
ニンジン磨砕物 Ground carrot	使用せず Not using		使用 Using
菌回り日数 Days for complete colonization of rhizomorph and mycelia after inoculations	24.2±0.98#	41.0±0.63**	21.2±0.75**
培養日数 Days for incubation	25	42	25
原基形成日数 Days to primordium formations after treatments for fruiting	12.7±1.63	13.3±1.37	11.8±0.75
採取日数 Days to croppings after treatments for fruiting	27.2±1.47	27.0±1.55	26.7±1.21
栽培日数 Days for cultivation	52.2±1.47	69.0±1.55**	51.7±1.21
子実体収量(g/瓶) Yields of fruiting bodies per bottle (g)	23.9±2.33	27.3±1.21**	24.9±1.56

記号：#：平均±標準偏差，**：試験区1に対して1%の危険率で有意差が認められた。

注：200mlの培養瓶使用，培養瓶当たりの培地充填量は130g（ダケカンバ鋸屑33g，米ぬか15g，水82g，培地水分63%），試験区当たり6本の培養瓶を供試した。

Legend：#：mean±s.d.，**：mean differs significantly at 1% level of probability from test number 1.

Note：The fungus was incubated in a 200ml cultivation bottle containing 130g media (dakekamba wood sawdust 33g；rice bran 15g；water 82g，moisture content 63%) with 6 replications.

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⁵⁾。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、鋸屑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鋸屑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、子実体発生面にニンジン磨砕物を載せ、その上に種菌を接種することにより子実体収量が有意に増加することが分

第2表 ナラタケ属瓶栽培における種菌の接種方法別栽培試験の結果(850m^l 培養瓶使用)
Table 2. Effects of inoculation methods on the bottle cultivation of *Armillaria* sp.(HFP-Am 82-14) using 2 methods and 850m^l bottle.

試験回数 Run number	1		2	
試験区 Test number	1	2	1	2
種菌の接種部位 Inoculation sites of sawdust spawn	培地上部と接種穴 Medium surface and inoculation hole			
ニンジン磨砕物 Ground carrot	使用せず Not using	使用 Using	使用せず Not using	使用 Using
菌回り日数 Days for complete colonization of rhizomorph and mycelia after inoculations	27.5±0.76 [#]	30.9±1.55**	28.1±0.64	31.4±2.45**
培養日数 Days for incubation	35			
原基形成日数 Days to primordium formations after treatments for fruiting	12.8±1.16	11.8±0.89	14.3±1.49	11.9±0.64**
採取日数 Days to croppings after treatments for fruiting	26.6±1.19	25.6±0.52	26.9±1.55	25.8±0.71
栽培日数 Days for cultivation	61.6±1.19	60.6±0.52	61.9±1.55	60.8±0.71
子実体収量(g/瓶) Yields of fruiting bodies per bottle(g)	83.8±19.29	99.2±9.38	73.4±12.06	98.4±6.00**

記号：#：平均±標準偏差，**：試験区1に対して1%の危険率で有意差が認められた。

注：850m^lの培養瓶使用，培養瓶当たりの培地充填量は635g(ダケカンバ鋸屑159g, 米ぬか73g, 水403g, 培地水分63%)，試験区当たり8本の培養瓶を供試した。栽培試験は2回繰り返した。

Legend：#：mean±s.d., **：mean differs significantly at 1% level of probability from test number 1.

Note：The fungus was incubated in a 850m^l cultivation bottle containing 635g media (dakekamba wood sawdust 159g ; rice bran 73g ; water 403g, moisture content 63%) with 8 replications. The cultivation was repeated 2 times.

かった。また、いずれの試験区の子実体の形態にも差異は認められなかった。

これまでのナラタケ属の栽培試験では第2図の(3)の種菌接種方法(試験区3)を用いてきた^{5,6)}。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生じやす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ではなじまない。一方、第2図の(2)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、殺菌したニンジン磨砕物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やすいものと思われる。なお、(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。

3.2 850ml 培養瓶を用いた栽培試験

上記のように、実用的でない第2図の(3)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、3.1の試験区2においてニンジンを用いることで菌回り日数が遅れたことを考慮して、培養瓶当たりのニンジン使用量は増やさず、200ml 培養瓶の場合と同量とした。

850ml 培養瓶を用いた栽培試験は2回実施し、第2表に菌回り日数、培養日数、原基形成日数、採取日数、栽培日数および子実体収量を示した。

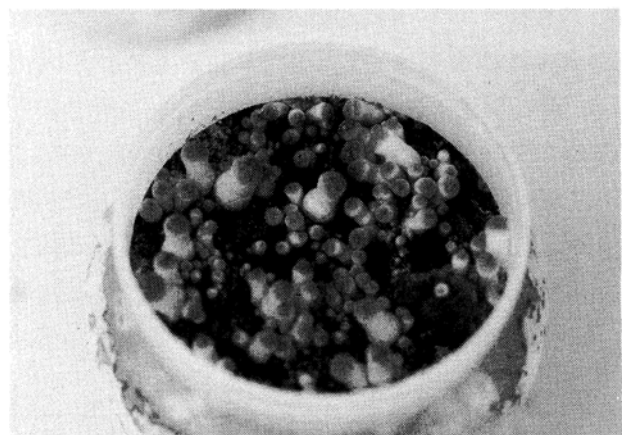
その結果、菌回り日数は3.1の場合と同じくコントロールの試験区1よりニンジンを用いた試験区2が遅れ、1%の危険率で有意差が認められた。しかし、瓶当たりの種菌接種量に対するニンジン使用量の比率を少なくしたことで試験区2の菌回り日数は3.1の場合より短縮した。原基形成日数と採取日数は試験区2が早くなる傾向がみられ、2回目の試験において原基形成日数において1%の危険率で有意差が認められた。

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回目が18.4%の増収、2回目が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。

そして、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。

著者らは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⁵⁾こと、鋸屑培地に同抽出液を添加するとナラタケ属の子実体収量が有意に増加すること⁷⁾を報告した。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⁵⁾ことから、鋸屑培地に同抽出液を添加するとナラタケ属の菌体量が増大し、その結果として子実体収量が増加したと考察される。しかし、本研究においては子実体発生面となる培地上部にニンジン磨砕物を載せて培養を行い、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。

瓶栽培においてナラタケ属は、培地上部に黒色被膜を形成する。第3図に黒色被膜上に子実体原基が形成している写真を示した。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。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。本研究ではニンジン磨砕物を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上部に移動したか、もしくはニンジンの存在そのものが黒色被膜に影響を及ぼし、その結



第3図 ナラタケ属(HFP-Am 82-14)の瓶栽培において黒色皮膜に発生した子実体原基
Fig. 3. Primordia of *Armillaria* sp.(HFP-Am 82-14) on dark mycelial coat formed on surface of culture in bottle cultivation.

果として子実体収量が増加したものと推察された。

文 献

- 1) 長沢栄史, 小松光雄, 前川二太郎: 平成2年度科学研究費補助金研究成果報告書, 1991, p.30.
- 2) 成田傳蔵: 日本菌学会ニュース1993-3, No.22, 111-114(1993).
- 3) 車 柱榮, Kasuya, M.C.M., 五十嵐恒夫: 日本林学会北海道支部論文集, No.41, 57-60(1993).
- 4) 古川久彦: “きのこ学”, 古川久彦編, 共立出版, 1992, p.204-229.
- 5) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: 木材学会誌, 40, 213-219 (1994).
- 6) 富樫 巖, 瀧澤南海雄: 同上, 41, 211-217(1995).
- 7) 富樫 巖: 同上, 41, 956-962(1995).

-きのこ部 生産技術科-
(原稿受理: 1996.9.11)