

# シイタケ菌床栽培における真菌汚染について

富 樫 巖 瀧 澤 南海雄

## Fungal Contamination in the Bed Culture of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.

Iwao TOGASHI Namio TAKIZAWA

A strain of *Lentinus edodes* was cultivated on beds in a mushroom house where temperature and relative humidity were automatically controlled at 20°C and at 85%, respectively, and examinations were made of airborne fungal flora in the house and on the beds. It was found that most of the airborne fungi were *Penicillium* spp. and *Cladosporium* spp., and *Trichoderma* spp. were detected on all the beds.

温度20°C、相対湿度85%の空調施設内でシイタケ菌床栽培を行い、施設内の落下真菌と菌床に発生する真菌を調査した。その結果、落下真菌としては、ペニシリウム属とクラドスポリウム属が優勢であった。一方、全ての菌床からトリコデルマ属が検出された。

### 1. 緒 言

シイタケ栽培は、原木不足や栽培者の高齢化の問題から、菌床栽培が注目を浴びている。さらに北海道においては、平成3年3月から北海道きのこ農業協同組合のシイタケ菌床工場（三笠市）が稼働し始めたこともあり、菌床シイタケへの期待が高まっている。

シイタケ菌床栽培の実用化には、二つの大きな問題がある。ひとつは生産性の良い菌株・培地組成の開発であり、もう一点は菌床展開後の害菌と雑菌対策である。シイタケ菌床に出現する雑菌などとしては、トリコデルマ属やペニシリウム属のカビ類が多いといわれているが<sup>1)</sup>、詳細な研究報告は見当たらない。そこで、林産試験場の生育室（空調施設）でシイタケの菌床栽培試験を行い、菌床に出現するカビ類や生育室の落下菌の観察を行った。なお、本報告の概要は、平成3年度北海道林務部林業技術研究発表大会（平成4年2月、

札幌市）で発表した。

### 2. 実験方法

#### 2.1 供試菌床

北海道きのこ農協で培養した以下のような2.5kg詰め  
の角型菌床2種類を各10個供試した。

サンプル1；カンバオガコ7：カンバチップ3の混合物に、1菌床当たりの栄養分として脱脂糠93g、バイデル41gおよびホミニーフード93gを加え、計227gとしたもの。培地水分は66%に調整、22°Cで30日間培養、25°Cで57日間熟成。

サンプル2；カンバオガコ3：カンバチップ1の混合物に、1菌床当たりの栄養分としてフスマ170g、タイロン170gを加え、計340gとしたもの。培地水分は64%に調整。22°Cで30日間培養、25°Cで60日間熟成。

なお、供試した菌株は林産試験場保存菌株Le 77-20

である。

## 2.2 栽培試験

2.1の菌床を、温度20°C、相対湿度85%に設定した生育室で平成3年7月17日から9月5日までの51日間展開した。発生回数は5回とした。子実体は、ヒダを覆う被膜が切れたものについて、ステンレスの鉋を用いて柄の根本から切断して採取し、その生重量を測定して収量を求めた。なお、菌床には子実体の採取跡として、柄の一部が露出して残ることになる。

菌床への水分補給と子実体の発生を刺激するために、1回の発生が終了するたびに、水道水を用いて16時間流水による浸水処理（計4回）を行った。

## 2.3 落下菌の観察

落下菌のサンプリングは、クロラムフェニコールを100  $\mu$ g/ml添加したポテトデキストロース寒天培地（日水製）平板（90mm  $\phi$ 、以下Cp-PDAと略す）を床土上約1mで上向きに5分間開放して行った。また、一部の測定日においてはCp-PDAの開放時間を10~20分間とした。この平板を25°Cで5~7日間培養して、平板1枚当たりの平均カビ数（酵母も含む）を計測し、さらにカビをBarron<sup>2)</sup>、宇田川ら<sup>3)</sup>の分類に従って属レベルで同定した。

なお、サンプリングは5枚のCp-PDAを用い部屋の4隅と中央で行った。また、一部は3枚のCp-PDAを用い隅2か所と中央で行った。

## 2.4 菌床表面のカビ類の観察

以下の二つの方法を用いて菌床表面のカビ類の観察を行った。

方法1；展開中に菌床表面に生じたカビ類については、70%アルコールで消毒した白金耳を用いてコロニーの一部をかき取り、ポテトデキストロース寒天培地（以下PDAと略す）に接種後25°Cで培養し、2.3と同様に同定を行った。

方法2；カビ類のコロニーが観察されない菌床表面部分のカビについては、5回目の展開が終了した菌床表面から約1gの菌層膜（最大厚さ7mm）を採取し、これを9mlの無菌水に分散して試験原液とし、さらに原液を対数希釈した。これらの試料をPDA平板1枚当

たり1ml塗布した後、25°Cで培養し、分離・同定を行った。

## 2.5 水分の測定

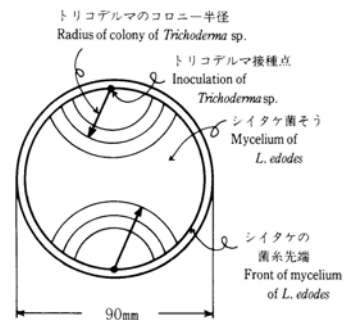
子実体、菌床などの水分については、60°Cで一昼夜乾燥して算出した。

## 2.6 菌床pHの測定

5回目の展開終了後、カビなどのコロニーが観察されない菌床表面部分（最大厚さ7mm）と菌床内部から、約10gの試料を正確に秤量し、これに2.5倍量のイオン交換水を加えて60分間攪拌した後、ガラス電極を用いてpHを測定した。

## 2.7 シイタケとトリコデルマ属の対峙培養

Le 77-20をPDA平板（90mm  $\phi$ ）に接種し、培地面を菌糸がほぼ覆うまで25°Cで11日間培養した。そして、菌糸先端に2.3で分離したトリコデルマ属（3株、No. 1~No. 3）の胞子を1白金耳接種した後、25°Cで培養しながら、シイタケ菌そう上で生長するトリコデルマ属コロニーの最大半径を経時的に測定した（第1図）。なお、供試したトリコデルマ属1株当たり3枚のPDA平板（シイタケを培養したもの）を使用した。



第1図 PDA平板でのシイタケとトリコデルマ属の対峙培養

Fig. 1. Dual culture for observing the interaction between *L. edodes* and *Trichoderma* sp. on PDA plate

## 3. 結果と考察

### 3.1 菌床からの子実体収量

菌床1個当たりの平均子実体収量を第1表に示した。サンプル1とサンプル2は、菌床1個に含まれる栄養

分の種類と量が異なっているが、合計収量と栄養分量の比は、サンプル1が2.20、サンプル2が2.31とほぼ等しい結果となった。使用する品種の特性にもよるが、菌床中における栄養分の量が子実体収量に与える影響

はかなり大きいものと思われる。

全収量に対する各発生回数別の収量比は、両サンプルともに1次発生で0.5以上となり、菌床1個の合計収量の半分以上が1次発生で得られたことが分かる。

第1表 菌床1個当たりの子実体収量

Table 1. Average yields of fruit-bodies per bed

Sample No	1回目の収量	2回目の収量	3回目の収量	4回目の収量	5回目の収量	合計収量
	First harvesting	Second harvesting	Third harvesting	Fourth harvesting	Fifth harvesting	
	(g-生重量/菌床) (g-wet/bed)					
Sample-1 (Ratio)	289.2 (0.58)	39.8 (0.08)	52.8 (0.11)	73.3 (0.15)	44.0 (0.09)	499.1 (1.00)
Sample-2 (Ratio)	400.2 (0.51)	126.3 (0.16)	86.6 (0.11)	106.3 (0.14)	64.6 (0.08)	784.0 (1.00)

### 3.2 生育室の落下菌

落下菌の測定は7月25日、同月31日（以上2回目の発生期間）、8月16日（4回目の発生期間）、同月30日（5回目の発生期間）の合計4回行い、結果を第2表に示した。7月31日の測定についてのみサンプリング時間を10分および20分とし、Cp-PDAを各3枚使用した。

5分間開放した平板1枚当たりのカビ数は3.0~5.8個であった。この値は、米虫ら<sup>4)</sup>がナメコの発生室の落下真菌について報告した値（平板1枚当たり0~13個）に近い。一方、同一の測定日の同一時刻に、10分間開放した平板と20分間開放した場合のカビ数は、それぞれ

7.0個と9.3個であり、サンプリング時間を2倍にしても平板上に発現するカビ数は2倍にならなかった。

カビの種類としては、ペニシリウム属とクラドスポリウム属が常に検出され、比率も高かった。こうした傾向はナメコ栽培施設の落下菌についての米虫らの報告<sup>4)</sup>と一致する。

### 3.3 菌床表面のカビ類

菌床表面のカビ類を観察したところ、2回目の発生の展開後4日目に全ての菌床にトリコデルマ属が子実体採取跡を中心として発生していた。サンプル1の2菌床にはペニシリウム属も発生していた。5回目の発生終了時には、全ての菌床において、子実体採取跡に

第2表 生育室における落下菌数と種類

Table 2. Average number and genera of airborne fungi in the mushroom house

No	測定日 Date	コロニー数 (個/平板) Number of fungi (cfu/plate)*1	落下菌の種類 (検出率) Fungal flora (Detected)
1	July 25, '91	5.4*2	<i>Penicillium</i> spp.(22.2%), <i>Cladosporium</i> spp.(11.1%), <i>Graphium</i> sp.(3.7%), <i>Helminthosporium</i> sp.(3.7%), Yeasts(7.4%), <i>Mycelia Sterilia</i> (48.1%), Unknown(3.7%)
2	July 31, '91	7.0*3	<i>Penicillium</i> spp.(71.4%), <i>Cladosporium</i> spp.(14.3%), <i>Paceilomyces</i> sp.(4.8%), <i>Mycelia Sterilia</i> (9.5%),
3	July 31, '91	9.3*4	<i>Penicillium</i> spp.(53.6%), <i>Cladosporium</i> spp.(14.3%), <i>Acremonium</i> sp.(3.6%), Yeasts(7.1%), <i>Mycelia Sterilia</i> (21.4%)
4	Aug. 16, '91	3.0*2	<i>Cladosporium</i> spp.(60.0%), <i>Aspergillus</i> sp.(13.3%), <i>Penicillium</i> sp.(6.7%), Yeasts(13.3%), <i>Mycelia Sterilia</i> (6.7%)
5	Aug. 30, '91	5.8*2	<i>Cladosporium</i> spp.(55.2%), <i>Penicillium</i> spp.(13.8%), <i>Alternaria</i> spp.(6.9%), <i>Fusarium</i> spp.(6.9%), <i>Aspergillus</i> sp.(3.4%) Yeasts(6.9%), <i>Mycelia Sterilia</i> (6.9%)

\*1 Cp-PDA plate : 90mmφ

\*2 Sampling time was 5 minutes. Five plates of Petri dish containing Cp-PDA medium were used.

\*3 Sampling time was 10 minutes. Three plates of Petri dish containing Cp-PDA medium were used.

\*4 Sampling time was 20 minutes. Three plates of Petri dish containing Cp-PDA medium were used.

トリコデルマ属が観察されたが、ペニンリウム属は全く観察されなかった。

カビ類のコロニーが観察されない菌床表面部分を分離観察した結果、サンプル1からトリコデルマ属2種類、クラドスポリウム属1種類、および分生子の無い糸状菌1種類、サンプル2からトリコデルマ属2種類と分生子の無い糸状菌3種類が分類された。さらに、

バクテリアのコロニーがPDAに多数発生した。

以上のように、菌床表面に出現したカビとしてはトリコデルマ属が多かった。しかし、落下菌測定においてはトリコデルマ属は検出されなかった。こうした点はナメコ栽培施設について調査した米虫ら<sup>4)</sup>の報告とほぼ一致する。

第3表 5回目の発生終了後の菌床水分と菌床pH  
Table 3. Moisture and pH of the bed of *L. edodes* after fifth harvesting

Sample No.	菌床表面水分 Moisture of bed surface (%)	菌床内部水分 Moisture of bed inside (%)	菌床表面pH pH of bed surface	菌床内部pH pH of bed inside
Sample-1	41.9	59.6	3.5	3.3
Sample-2	28.0	59.1	3.7	3.4

### 3.4 菌床の水分とpH

5回目の展開が終了した菌床について、水分、pHをサンプル別に菌床表面と内部に分けて測定した。得られた結果を第3表にまとめて示した。両サンプルともに菌床内部の水分が表面より20~30%高かった。pHについては、両サンプルともに菌床内部、菌床表面の値がほぼ等しく、3.5前後の値であった。

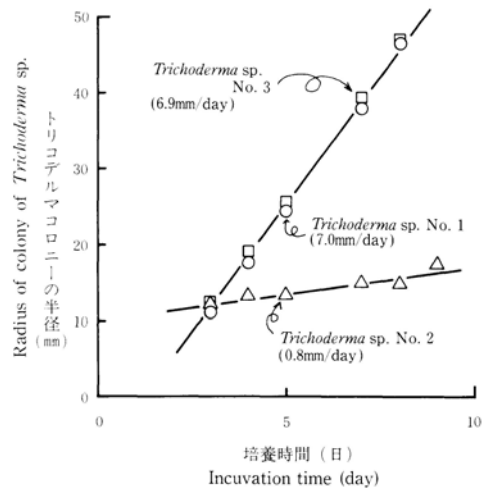
3.3でトリコデルマ属が菌床の子実体採取跡を中心に発生していたことを述べた。そこで、5回目の発生の最終日に両サンプルから採取した子実体各1個の柄と傘の水分を測定したところ、平均値で76%と88%であった。子実体採取跡には、柄の一部が残っていることから、子実体の柄の水分は子実体採取跡の水分と等しいと考えられる。したがって、子実体採取跡は、菌床表面の水分と比べて高いことになる。また、柄の一部が露出しているため栄養的な環境も良く、子実体採取跡では、カビの胞子が発芽し易いと考えられる。

さらに、子実体の柄のpHをメルク特殊pH試験紙で測定した結果、5.5であった。この値は菌層膜の値と比べて2以上高い。菌床のpHが低いのは、シイタケが代謝する有機酸が原因である<sup>5)</sup>。トリコデルマ属が子実体採取跡を中心に発生するのは、上記の水分と共に、菌床と子実体採取跡のpHが異なることも起因していると

思われる。

### 3.5 シイタケとトリコデルマ属の対峙培養

シイタケのトリコデルマ属に対する抵抗性を観察するために、3.3で分離したトリコデルマ属を3菌株 (No. 1~3) 供試して、シイタケ菌糸上を広がる速度を測定し、結果を第2図に示した。No. 1とNo. 3の株は生長速度 (7.0と6.9mm/日) が速く、接種後8日でシイタケ菌



第2図 シイタケ菌糸上のトリコデルマ生長速度  
Fig. 2. Growth of *Trichoderma* sp. on *L. edodes* mycelium

糸の全面を覆った。これに対して、No. 2の生長速度 (0.8 mm/日) は遅かった。

以上の結果から、シイタケのトリコデルマ属に対する抵抗性は、トリコデルマの菌株によって異なることが分かった。しかし、シイタケのトリコデルマ属に対する抵抗性については、用いる培地の種類により異なることがある<sup>6)</sup>こと、PDAのpHが5.7であり、実際の菌床のpHと異なっているため、現在検討中である。

## 文 献

- 1) 小出博志：信州のそ菜, No. 5, 42-44 (1989)
- 2) Barron, G. L. : The Genera of Hyphomycetes from Soil, Williams and Wilkins Co., Baltimore (1965)
- 3) 宇田川俊一, 椿 啓介, 堀江義一, 三浦宏一郎, 浦久兵衛, 山崎幹夫, 横山竜夫, 渡辺昌平：菌類図鑑 (上, 下), 講談社サイエンティフィック, p.1321 (1987)
- 4) 米虫節夫, 村尾 勝, 伊藤 薫, 藤田藤樹夫, 山縣 敬：防菌防黴, 16, 3-8 (1988)
- 5) 吉田 博, 菅原龍幸, 林 淳三：日本食品工業学会誌, 34, 274-281 (1987)
- 6) 阿部 実：日本林学会東北支部会誌, No. 34, 223-224 (1982)

—利用部 微生物利用科—  
(原稿受理 平4. 2. 26)