緒　　言

１．研究の背景

(1) 我が国におけるわら類の賦存量

高い水準にある今日の乳肉生産を維持・発展させるためには、良質な粗飼料をいかに低コストで安定的に供給できるかにかかっている。しかし、我が国では国内産の粗飼料生産量では不足として、乾草、ヘイキューブ、稲わらの３品だけでも 286 万 t[45]が輸入されている。

粗飼料になりうる資源としてわら類がある。作物生産量に関する統計[19,27]をみると、水稲と小麦で約 969 万 t の穀実が生産されている。圃場副産物すなわち稲わら、小麦稈および豆がらなどわら類の産出量は穀実とほぼ同じといわれている。同年の牧草と飼料用トウモロコシの生産量は 3346 万 t であり、わら類の産出量はその 25%以上もあったことになる。

わら類は植物繊維そのものであり、かつては牛馬の飼料として利用されていた。しかし現在では家畜の敷料として利用された後は堆肥となるか、地域によっては焼却されている量も少なくない。この貴重な繊維質資源が飼料化されれば我が国の粗飼料自給率は大きく向上すると考えられる。

(2) わら類の飼料特性

わら類はそのほとんどが炭水化物であるセルロース、ヘミセルロースとポリフェノール化合物の重合体であるリグニンから成っている（図 1)。このうち草食家畜に利用できる炭水化物は 59 ～ 75%とされる[29,46]。しかし、乾物中の TDN（可消化養分総量）含有率は、稲わら、小麦稈、大豆がらとも 44%前後であり、牧草や飼料用トウモロコシに比べると著しく低い[43]。わら類が炭水化物源としての潜在的価値を発揮し得ていないのは主にリグニンの存在のためである。リグニンは消化酵素反応がきわめて低い物質であり、さらに、これがモノマーやダイマーに分解されると消化阻害物質にもなりうる。したがって、わら類の飼料としての利用性を高めるためにはリグニンの分解・除去がきわめて重要となる。

(3) わら類の栄養価改善法

Fahey ら[13]や伊藤[25]はわら類のような低質粗飼料の利用性改善に関する総説を書いているが、そこには栄養価の改善法として物理、化学および生物的処理が紹介されている。

1) 物理的処理法

古くは細断あるいは水への浸漬が行われていた。この処理法はリグニンの分解や除去は不可能であるが、細断することで消化酵素を分泌する微生物が付着可能な面積を増大させ、その結果として消化性を改善する効果はある。粉砕処理すると、消化管内滞留時間が大幅に短縮されて摂取量は増加するものの、未消化のまま下部消化管に送り込まれ、消化性改善にはつながらない。

近年、加圧過熱水蒸気を用いてわら類に炭化には至らない程度の処理を施す「蒸煮処理」が開発され、摂取量や消化率は改善できるとされる[16,46]。しかし、この処理には高温高圧に耐える設備が必要であり、処理に必要なエネルギーなどのコストがかさむことから一般的な処理法とはなっていない。

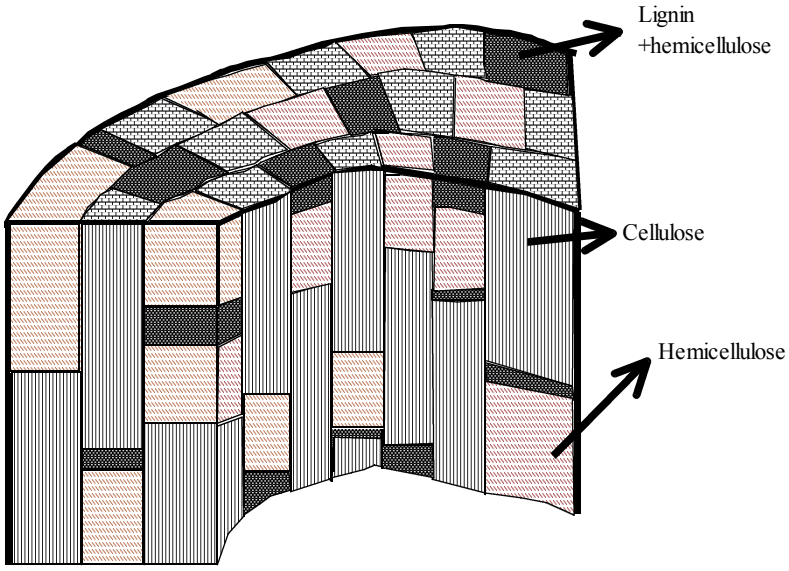


Fig.1　The model of plant cell wall (modified Ruel et al.1978)

モミ殻を高温高圧釜で処理したあと、一気に減圧してその組織を膨軟化する「爆砕処理」[62,63]や、シラカバの繊維をリファイナーと称する装置ですりつぶし、シラカバを綿状にほぐす「解繊処理」が開発され、シラカバを飼料に変換する処理が考案されたが[61]、いずれも装置の初期投資やランニングコストがかさむことから普及していない。

2) 化学的処理

岩田[27,28]や篠田ら[56]は小麦稈や稲わらを水酸化カ

ルシウムや水酸化ナトリウムで処理することで消化率を改善する手法を報告している。また、過酸化酢酸処理で小麦稈の *in vitro* 消化率を改善する方法[30]も報告されているが、前者は処理廃液の処理に、後者は基質 1g を脱リグニンするために 40 ～ 70g もの危険な薬剤を使用するため実用化には至っていない。

アンモニア処理は前述の処理に比べると実用化された技術[2,3,4,46,76]、といえる。本法はリグニンに損傷を与えたり、組織にアンモニアを吸着させて結果的に窒素含有率を高めたり、細胞壁成分の一部を可溶化するなどして消化率や摂取量を改善するものである。処理にあたって、わら類に加水した後密封してアンモニアガスを反応させるものであるが、液化アンモニアガスの取り扱いに関する法規制のため普及はごく一部にとどまった。

このほかアルカリ性過酸化水素処理の効果も報告されている[31]が、我が国では実用化されていない。

3) 生物的処理

物理的処理ほどにコストを要せず、化学的処理よりも安全で環境汚染の心配がない生物、特に微生物処理が 1980 年代のヨーロッパ[79]に続いて日本でも研究が進められた[55]。リグニン分解力をもつ微生物は細菌、放線菌、子のう菌などがあげられるが、木材など植物の細胞壁に含まれるリグニンを分解できるのは担子菌のうちでも白色腐朽菌と呼ばれる菌群である。白色腐朽菌の名称は、それらが生育したあとの木材がリグニンを除去されたために白色を呈していたことからつけられた。この白色腐朽菌は担子菌に属するヒダナシタケ目に多い。このうちマイタケ（*Grifora frondosa*）、ヤマブシタケ(*Hericium erinaceum*)、アンズタケ(*Cantharellus cibarius*)などが食用となっているが、コフキサルノコシカケ(*Ganoderma applanatum*)、マンネンタケ(*Ganoderma lucidum*)、カワラタケ(*Coriolus versicolor =Polyporus versicolor*)など食用には向かない菌も多い。同じ担子菌のうちハラタケ目に属する白色腐朽菌はヒダナシタケ目より少ないが、ヒラタケ(*Pleurtus ostreatus*)、タモギタケ(*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*)、シイタケ(*Lentinus edodes*)、ナメコ(*Pholiota nameko*)などの著名な食用きのこが含まれている。

4)その他の処理

生物的処理ともいえる酵素処理がある。McQueen と Van Soest[38]はセルラーゼとペプシンの処理で牧草の *in vitro* 乾物消化率（IVDMD） を改善させた。また、Han[15]はカワラタケなどから抽出した粗酵素でライグラス(*Lolium multiforum*)処理したところ IVDMD が低下しリグニンが増加したなどと報告している。 Ho Quang Do ら[22]は稲わらを牛尿で浸漬処理すると自由乾物摂取量と消化率が改善できたという。セルラーゼとペプシンの混合酵素で IVDMD が改善したとしても、酵素自体が高価であることから、実用的とはいえないが、牛尿浸漬処理は低コストであることから利用される地域があるかもしれない。

２．既往の研究と本研究の位置づけ

前述のように、わら類の栄養価を改善するための物理的および化学的処理には設備やその運転のために多大なコストを要し、化学処理については処理に用いた薬品や廃液の処理、揮散した有毒ガスによる環境汚染の懸念がある。また、蒸煮処理やアンモニア処理を行う者は労働安全に関わる諸法規規制のため、幾種類もの資格・免許が必要であるが、微生物処理にはそのような資格・免許は必要ない。このような理由から、本研究では微生物処理のうち白色腐朽菌による処理を取り上げた。

(1)白色腐朽菌の培養によるわら類の栄養価改善

1)白色腐朽菌の培養によるわら類の *in vitro* 消化性の改善

白色腐朽菌を用いたわら類の *in vitro* 消化性改善に関する報告は、ヒラタケ(*P.ostreatus*)を小麦稈に培養して調べたものが多く[11,14,36,47,50,51,67,77,78,79]、ヒラタケと細菌の *Erwinia carotovora* を小麦稈に混合培養した報告があり[57]、いずれも改善に成功したという。小麦稈にはこのほか *P.sajor caju*[10,11,40,50,53,67]、トキイロヒラタケ (*P. salmoneosramineus*)[39,58,70,80]、日本産のタモギタケ(*P. cornucopiae var. citrinopileatus*)[75]、ヨーロッパ産のタモギタケ(*P. corunucopiae*)[79]、ウスヒラタケ (*P. pulmonarius*)[40]、オオヒラタケ (*P. cystidiosus*)[65,78]、エリンギ(*P. eryngii*)[80]、*P. sapidus*[67]、*P.* sp 'Fulorida'[80]、*P.* sp.（ヒラタケと *P.sajor caju* の雑種）、*P.* sp.[14]などの培養で *in vitro* 消化性が改善できたと報告している。また、シイタケ(*Lentinis edodes*)[40,80]、ハタケチャダイゴケ(*Cyrathus stercoreus*)[5,6]、サケツバタケ (*Stropharia rugosoannulata*)[79,80,83]、シュタケ (*Pycnoporus cinnabarinus*)[5]、センボンイチメガサ (*Kuehneromyces mutabilis*)[80]、カワラタケ[9]、ニクウチワタケ (*Abortuporus biennis*)[81]、*Phanerochaete chrysosporium*[6]、*Sporotricum pulventum*[5]、コフキサルノコシカケ [73,80]などの培養によっても *in vitro* 消化性が改善できたと報告されている。一方、褐色腐朽菌とされるエノキタケ(*Flammlina veltipes*)[80]、フクロタケ(*Volvariella volvacea*)[65]では、*in vitro* 消化性が改善できなかったと報告されている。

2)白色腐朽菌の培養によるわら類の *in vivo* 消化性の改善

白色腐朽菌を用いたわら類の *in vivo* 消化性改善に関する報告は、*in vitro* 消化性に関する報告に比べてきわめて少ない[69]。Basten と Schoener[8]は、ヒラタケを培養した小麦稈について摂取量やエネルギー価は化学処理には匹敵していなかったと報告している。Rai ら[49]は *Coprinus fimetarius* 386 を培養した稲わらについて、子実体を取った場合と取らなかった場合のヤギにおける消化率と摂取量を測定している。それによると、子実体をとった場合は消化率、摂取量ともに菌の培養による改善効果は明らかではないが、とらなかった場合は消化率、摂取量ともに有意に高くなっていた。Yamakawa ら[71]はヒラタケを培養した稲わらのめん羊による消化率と自由摂取量について、消化率では大きな改善は認められないこと、培養期間を延長することで自由摂取量が顕著に増大したと報告している。ヒラタケを培養した稲わらについては吉田ら[77,78]は、消化性は低下したが、摂取量は増大したといい、一方、石原ら[24]は消化率も摂取量も有意に改善されたと報告している。

これらの報告で菌の培養による改善効果は、摂取量が増加していることでほぼ一致している。消化率については改善効果あるとの報告と大差がないとの報告があって、一致した結果を得ることができていない。供試したワラ類と菌種はいずれも稲わらとヒラタケあるいは *C.fimetarius* 386 であったが、このほかの方法による研究報告はまだみない。

(2)本研究の位置付け

前項に示したように、白色腐朽菌を培養したわら類の栄養価の評価は *in vitro* 法によるものが圧倒的に多い。真に栄養価や飼料価値が改善されたのかは、Rouzbehan らの指摘[51]のように、実際に家畜に給与して評価することが必要である。そこで、本研究で栄養価は *in vivo* 試験で評価することにした。

供試した食用きのこについて、既往の研究はヒラタケが多かった。北海道ではタモギタケは特産品として栽培・市販されている。タモギタケもヒラタケと同様、強いリグニン分解力を持つ食用きのこであるが[79]、わら類に対するタモギタケの培養効果に関する報告はみていない。これらのことから、本研究では主にタモギタケの培養による栄養価改善効果を評価することにした。

タモギタケを培養したわら類の飼料価値を、世界で初めて子羊を用いた長期給与試験で評価することにした。

培養に用いる菌の選択は研究の成否につながるので、菌種・菌株の選抜に関する報告は多いが、新たに交配・育種した菌株を用いた報告はわずかであった[51,54]。我が国では、青島の報告[7]以降、リグニン分解力を高めるための遺伝・育種に関する報告はみない。そもそも、食用きのこの育種・改良目標は多収性や栽培適性であり、リグニン分解力を目標とした遺伝・育種研究は行われてこなかったと考えられる。そこで本研究ではヒラタケを用いたダイアレル交雑により、リグニン分解力に優れ、わら類の消化性を改善できる有用菌株の開発を試みた。

３．研究の構成

第 I 章では、食用きのこ（タモギタケ;写真 1）の培養による小麦稈の消化性に及ぼす要因の解明を目指した。第 1 に、培養温度の違いが培地の消化性に影響を及ぼすことが知られていること[79]と、季節の変化に伴う外気温の変化に左右されず、なるべく広い温度帯で求める効果が得られるような菌株を選抜するため、至適培養温度の菌株間差を明らかにし、有用菌株を選抜した。第 2 に、培養期間と化学成分並びに *in vitro* 消化性の関係を調べ、消化性の改善と可消化成分の残存量を指標にして、最適な培養期間を決めた。第 3 に、滅菌条件を検討した。一般に食用きのこ栽培では培地を高温高圧で滅菌処理している。本研究は飼料調製が目的であることから、できるだけ低コストな方法の開発を目指している。そこで温度条件と時間を組み合わせた試験から、どこまで滅菌条件を緩和できるか、稲わらとあわせて検討した。

前述のように、タモギタケあるいはヒラタケを培養した小麦稈の栄養価を *in vivo* 試験で評価した報告はみられない。そこで、第Ⅱ章では、第 1 に、食用きのこ（タモギタケ、ヒラタケ；写真 2）の培養による小麦稈の栄養価をめん羊を用いた *in vivo* 試験で評価した。第 2 に、世界的にも食用きのこを培養した小麦稈の長期給与試験成績はないことから、本研究では、タモギタケを培養した小麦稈を唯一の粗飼料とした実証的試験として、13 週間にわたる子羊の肥育試験を行い、その飼料価値を評価した。

前述のように、本研究の目的を達成するためにはリグニン分解力が高く、かつ、セルロースやヘミセルロースの分解力が低い菌株の入手が大きなポイントとなる。しかし、リグニン分解力を高めるための遺伝・育種に関する報告はみない。ヒラタケなどの担子菌は、一般に、胞子が発芽した核が 1 個(n)の菌糸（一核菌糸）同士の交配(mon-mon 交配)のほか、きのこ（子実体）を発生させる 2 核(n+n)の菌糸（二核菌糸）と一核菌糸を交配(di-mon 交配)しても新たな菌株ができる[23,33,42,66,84,85]。そ

こで、第Ⅲ章では、本研究ではいずれの交配法も実施し、算出した一般組み合わせ能力から交配法による有用菌株開発の可能性を検討した。

第Ⅳ章では本研究の総合考察として、食用きのこ培養による小麦稈の飼料価値改善法を紹介するとともに、本研究成果の実用化に際して想定される問題点について考察した。

第Ⅰ章　食用きのこ培養による小麦稈の消化性改善に及ぼす要因の解明

１．タモギタケ菌株の違いが小麦稈の消化性改善に及ぼす影響

序文

本研究に求められる菌の特性は、消化を阻害しているリグニンを分解する力が強いことが重要であるが、白色腐朽菌でもリグニンの分解には菌の基本的な栄養源としてセルロースやヘミセルロースが存在しなければならない[18]。しかし、本研究の目的からはセルロースやヘミセルロースの分解力は限りなく低い方が良い。また、培養温度の条件によって各成分の分解力が変化することも考えられる。さらに、各地で採取された菌はそれぞれの地域環境に対応した至適温度を持っているとも考えられる。そこで本試験では、各地の研究機関から収集した菌株を用いて、本研究の目的にかなう菌株の選抜を目指した。

材料と方法

供試菌は表Ⅰ-1 に示した 10 菌株である。小麦稈培地には北海道の小麦稈を用い、これを約 3cm の長さに切断し、水分含量を約 65 %に調整した。培地は乾物で 50g 相当量を市販の 850ml 容のポリプロピレン製きのこ栽培瓶（以下栽培瓶）に詰め、121 ℃で 30 分滅菌した後室温まで冷却し、あらかじめ供試菌を全粒大麦に約 3 週間培養しておき、菌糸が十分に成長した全粒大麦 5g を各栽培瓶に接種し、25 ℃、相対湿度 75 %で、60 日間培養した。1 処理につき 3 本培養した。また、培養器容量の都合から、試験は 2 回に分割して実施した。培養後、培地は 65 ℃、48 時間通風乾燥して乾物率を測定した後、0.5mm のふるいを通るように超遠心粉砕機で粉砕した。分析には 1 処理 3 本の培地を混合し、それから必要量を分取したものを用いた。分析法は阿部の方法[1]により中性デタージェント繊維、酸性デタージェント繊維および酸性デタージェントリグニン（以下、ADL と略記する）を求め、酸性デタージェント繊維と酸性デタージェントリグニンとの差をセルロースとし、中性デタージェント繊維と酸性デタージェント繊維の差をヘミセルロースとして算出した。消化性の指標はセルラーゼによる乾物分解率（Ce-DMD）を用いた。それは以下の手順によった。

1)酵素（商品名：セルラーゼ"ONOZUKA"FA）は pH4.0 の酢酸緩衝液で 0.5%溶液とし、試料約 0.5g にその 40mL を加え、振盪培養機（40 ℃、120rpm）で 4 時間培養した。

2)あらかじめ恒量を求めたろ紙（アドバンテック No.5A）でろ別し、その培養残渣重量から試料の Ce-DMD を算出した。また、試料にどれだけの可消化成分が残っているかの指標として、セルラーゼ可分解乾物重（Ce-DDM；残存乾物重と Ce-DMD の積）を用いた。

結果と考察

稲わらにヒラタケを培養した場合、リグニンの含有率は一旦高まるもののやがて分解利用される[72]と推察されることから、生長の早い菌を培養すると菌糸は早期に蔓延し、まもなくリグニン分解を始めると期待

Table Ⅰ-1　Strain and its origin

Strain	The possessor	Origin
Pc82-1	Hokkaido Forest Products Reseach Institute	Wild strain of Mikasa, Hokkaido
TMIC30150	Tottori Mycological Institute	Wild strain of Tokoro, Hokkaido
TMIC30152	Tottori Mycological Institute	Hokkaido Forest Products Reseach Institute
TMIC30240	Tottori Mycological Institute	Hokkaido Forest Products Reseach Institute
TMIC30241	Tottori Mycological Institute	Breading by Tottori Mycological Institute
Chikuma	Chikumakasei Co., LTD	Cultivating in Nagano
9-152	Meiji Seika Kaisya,LTD.	Strain on the market
9-154	Meiji Seika Kaisya,LTD.	Strain on the market
9-155	Meiji Seika Kaisya,LTD.	Wildness strain of Hokkaido
KRCM506	Forestry and Forest Products Research Institute, Kyusyu Branch	Wildness strain of Kumamoto

される。また、生育の早い菌は雑菌との競合にも強いものと考えられる。

表Ⅰ-2 に小麦稈培地にタモギタケの菌糸が蔓延する（菌回り）に要した日数を示した。培養温度が 15 ℃ではいずれの菌株も 25 日以上を要した。20 ℃培養で 15 ℃培養よりも約 7 日早くなり、25 ℃から 30 ℃に培養温度を上げるとさらに少ない日数で菌回りした菌株もあった。菌株の起源との関係は明確ではなかった。

供試菌株の培養温度と乾物減少率の関係を図Ⅰ-1 に示したが、いずれの菌株も培養温度が上がるにつれて、乾物減少率は高くなった。しかし、その上昇程度には菌株間差がうかがえた。培養温度と ADL 減少率の関係を図Ⅰ-2 に示した。バラツキはあるものの、おおむね 25 ℃で最高値を示す菌株が多かった。菌株別に ADL 減少率をみると、Pc82-1 が最も高い傾向が認められた。培養温度とヘミセルロース減少率の関係を図Ⅰ-3 に示した。白色腐朽菌もヘミセルロースやセルロースなどがなければリグニン分解ができない[18、59]。しかし、本研究の目的からは、ヘミセルロース消費量の少ない菌株が望ましい。培養温度とセルロース減少率の関係を図Ⅰ-4 に示した。それによると、30 ℃ではセルロース減少率が高くなる菌があったことから、25 ℃が適当と考えられた。

Table Ⅰ-2 The days when spawn spread in wheat straw substrate(days)

Strain	Temperature(℃)			
	15	20	25	30
Pc82-1	26	20	16	20
TMIC30150	26	19	16	17
TMIC30152	26	20	16	18
TMIC30240	25	20	14	18
TMIC30241	25	21	16	17
Chikuma	32	21	17	13
9-152	26	17	14	13
9-154	26	18	14	12
9-155	26	17	12	12
KRCM506	47	24	17	13

消化性の指標とした Ce-DMD と培養温度の関係を図Ⅰ-5 に示したが、培養温度が上がってもほとんど差がない 9-154 株を除けば、どの菌株も 20 ～ 25 ℃で最高値を示した。可消化成分の残存量を示す Ce-DDM と培養温度との関係を図Ⅰ-6 に示した。それによると培養温度 20 ℃で Pc82-1 株が最高値を示した。Pc82-1 株はどの化学成分減少率もほかの菌株に比べて特に高い傾向ではないが、可消化成分を多く残したことに特長があった。

本研究の目的すなわち培養後の Ce-DDM が高いことからみて、培養温度は 20 ～ 25 ℃が適当と考えられた。これ以下の温度では表Ⅰ-2 に示したように菌の成長が遅く、Ce-DDM の改善効果もほかの温度に比べてとくに大きくはない。また 30 ℃では可消化成分が 25 ℃よりも低かったが、これは菌の呼吸量が急激に増したためかもしれない。夏季は冷房、冬季は暖房のコストを

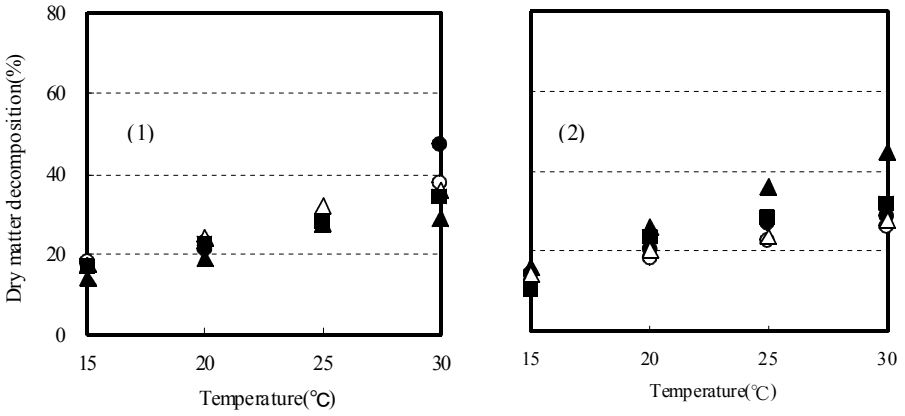


Fig. Ⅰ-1 Dry matter decomposition(% in dry weight) of wheat straw substrates incubated with 10 different strains of *P.cornucopiae* var. *citrinopileatus*.
(1) ●;Pc82-1, ○;TMIC30150, ▲;TMIC30152, △;TMIC30240, ■;TMIC30241.
(2) ●;Chikuma, ○; 9-152, ▲; 9-154, △; 9-155, ■;KMRC506.

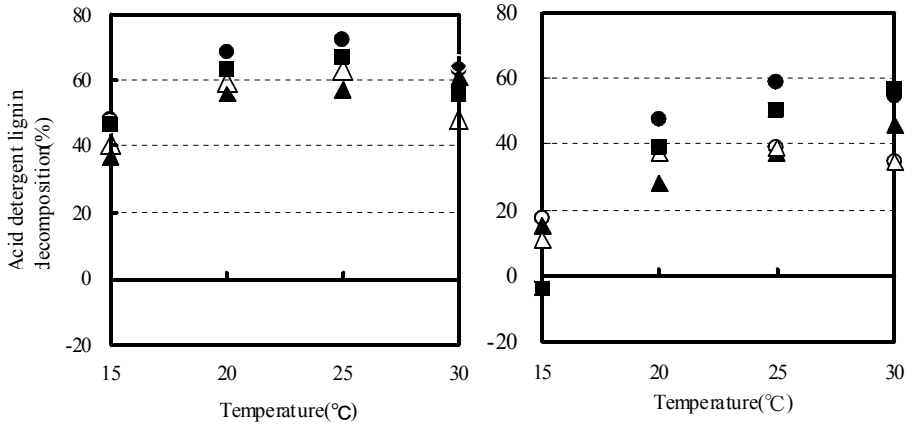


Fig. Ⅰ-2 Decomposition of acid detergent lignin of wheat straw substrates incubated with 10 different strains of *P.cornucopiae* var. citrinopileatus.
(1) ●;Pc82-1, ○;TMIC30150, ▲;TMIC30152, △;TMIC30240, ■;TMI30241.
(2) ●;Chikuma, ○;9-152, ▲;9-154, △;9-152, ■;KMRC506.

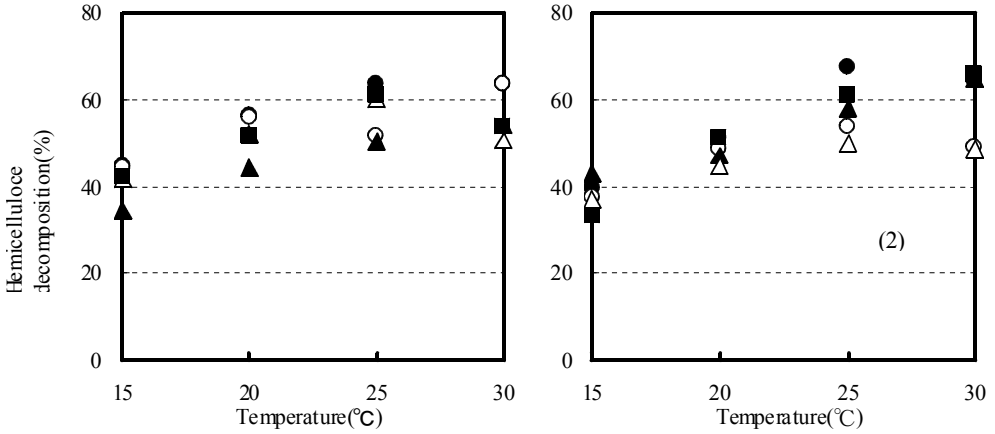


Fig. Ⅰ-3 Hemicellulose decomposition of wheat straw substrates incubated with 10 different strains of *P.cornucopiae* var. *citrinopileatus*.
(1) ●;Pc82-1, ○;TMIC30150, ▲;TMIC30152, △;TMIC30240、■;TMIC30241.
(2) ●;Chikuma, ○; 9-152, ▲; 9-154, △; 9-155, ■;KMRC506.

低減するために季節によって最適な菌株を選択する可能性を検討するため、培養温度を異にして菌株の選抜を試みた。20 ℃でとくに培養後の Ce-DDM が多い菌株はなかった。一方、30 ℃では、熊本県産の野生株 KRCM506 に注目したが、他の菌株と比べてとくに有用とは考えられなかった。リグニンを多く分解しても、ヘミセルロースやセルロースも多く分解・利用したのでは意味がない。Pc82-1 株は稲わら培地の消化性改善で富樫ら[64]が選抜した菌株である。本試験でも培養後の可消化各成分が多いことから、各化学成分の分解率のバランスが取れていたと考えられる。

以上の結果から本研究の *in vivo* 等の試験には主に Pc82-1 株を供試し、培養温度は 20 ～ 25 ℃とすることにした。

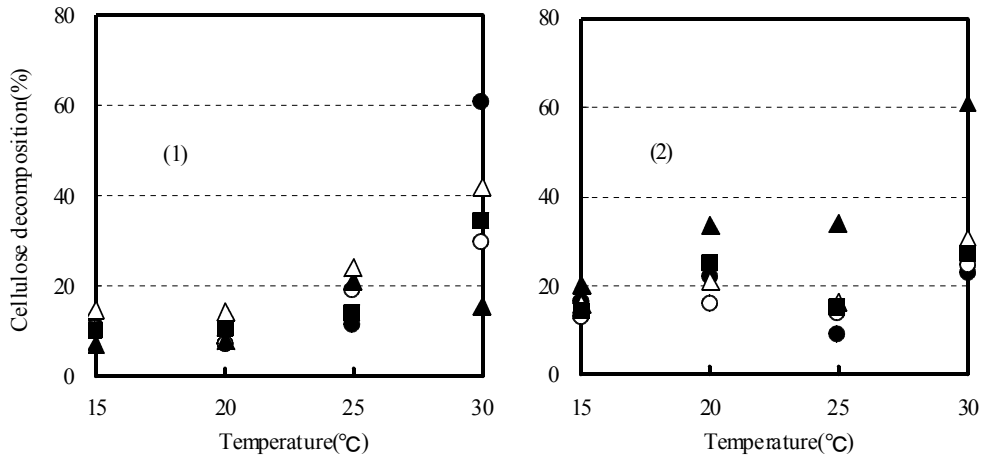


Fig. I -4 Cellulose decomposition of wheat straw substrates incubated with 10 different strains of *P.cornucopiae* var. *citrinopileatus.*
(1) ●;Pc82-1, ○;TMI30150, ▲;TMI30152, △;TMI30240, ■;TMI30241.
(2) ●;Chikuma, ○; 9-152, ▲; 9-154, △; 9-155, ■;KMRC506.

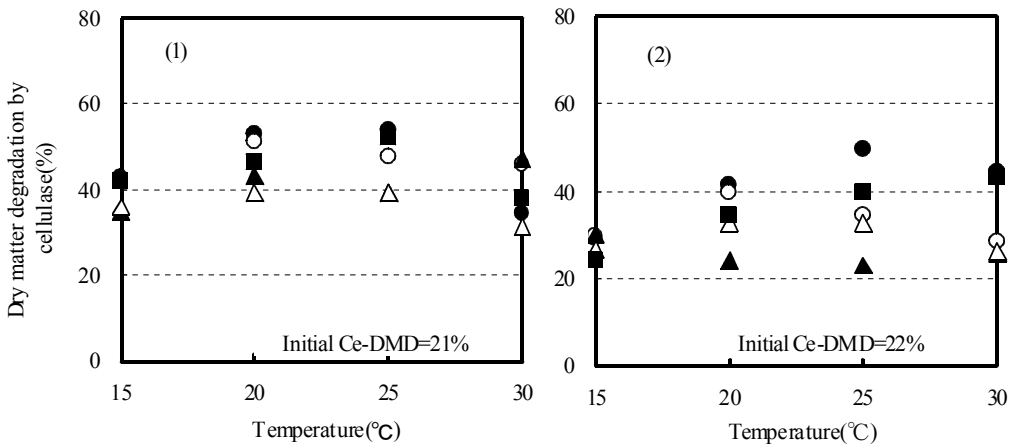


Fig. I -5 Dry matter degradation by cellulase(Ce-DMD) of wheat straw substrates incubated with 10 different strains of *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*.
(1) ●;Pc82-1, ○;TMIC30150, ▲;TMIC30152, △;TMIC30240, ■;TMIC30241.
(2) ●;Chikuma, ○; 9-152, ▲; 9-154, △; 9-155, ■;KMRC506.

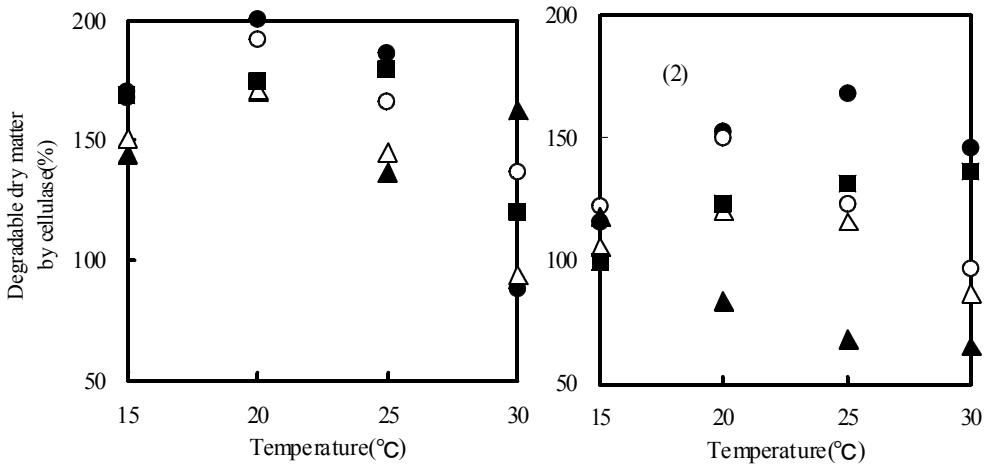


Fig.1-6 Degradable dry matter by cellulase(Ce-DDM) of wheat straw substrate incubated with 10 different strains of *P.cornucopiae* var. *citrinopileatus*
(1) ●;Pc82-1, ○;TMIC30150, ▲;TMIC30152, △;TMIC30240, ■;TMIC30241.
(2) ●;Chikum, ○; 9-152, ▲; 9-154, △; 9-155, ■;KMRC506.
Initial Ce-DDM=100

２．小麦稈に対するタモギタケPc82-1株の培養期間が *in vitro*消化性の改善に及ぼす影響

序文

著者らはすでに、稲わらや小麦稈にリグニン分解力を持つ担子菌、すなわち白色腐朽菌の一種であるヒラタケ（*P. ostreatus* ）を培養すると消化阻害成分である細胞壁中のリグニンが分解・減少し、飼料としての消化性の指標としたセルラーゼによる乾物分解率（以下、Ce-DMD と表す）が顕著に改善され、培養後に残存しているセルラーゼ可分解乾物（残存乾物重と Ce-DMD との積、Ce-DDM と表す）が増加することを示した[72,74]。一方、ヒラタケと同じ *Pleurotus* 属の白色腐朽菌であるタモギタケ（*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*）は我が国では有用な食用菌として栽培されており、多くの子実体を収穫するための栽培法が報告されている[60]。しかし、本菌を用いてわら類の消化性改善を目指した報告は Zadrazil[79]や富樫ら[64]以外にはほとんどない。そこで本研究では、前項で選抜したタモギタケ Pc82-1 株を小麦稈培地に接種・培養し、培地の成分および消化性に及ぼす影響を検討した。

材料と方法

供試菌は第Ｉ章で選抜したタモギタケ Pc82-1 株（道総研林産試験場保存株）である。小麦稈培地はヒラタケ TMIC30026 株を培養した山川ら[74]の既報と同じロットである北海道深川市産の小麦稈を用い、これを約 3cm の長さに切断し、水分含量を約 65 %に調整した。また、菌の生育促進剤としての米ぬかの添加[17,60]が培地の消化性に及ぼす影響を稲わらに米ぬかを添加した山川ら[72,74]の既報と比較するため、前記の小麦稈に乾物比で 10、30 および 50%の米ぬかを混合し、水分を約 65%に調整した培地を調製した。以下、小麦稈のみの培地は WS、米ぬか 10%添加培地を RB10、同 30%添加培地を RB30、同 50%添加培地を RB50 と表す。各培地はそれぞれ乾物で 50g 相当量を市販の 850ml 容栽培瓶に詰め、121 ℃で 30 分滅菌した後室温まで冷却し、あらかじめ MGY 液体培地（麦芽エキス 2 %、グルコース 2 %、酵母エキス 0.2 %）で約 3 週間振盪培養して得た菌塊を 10 秒間ホモゲナイズ処理したもの 4g を接種し、以下の条件で培養した。培養温度は 25 ℃、相対湿度は 75 %とした。培養期間は、15、30、45、60、75 および 90 日間とした。1 処理につき 3 本培養した。培養後、培地は 65 ℃ 48 時間通風乾燥して乾物率を測定した後、0.5mm のふるいを通るように超遠心粉砕機で粉砕した。分析には 1 処理 3 本の培地を混合し、それから必要量を分取したものを用いた。分析法は前項と同様にした。

結果と考察

図Ｉ-7 に Pc82-1 株の培養による培地の乾物減少率を示した。乾物重量は培養期間が長くなるにつれて減少し、培養 60 日後における WS、RB10、RB30 および RB50

の乾物減少率はそれぞれ 30、37、35 および 37 %、同 90 日後ではそれぞれ 40、47、45 および 51 %であり、WS の乾物減少率は米ぬかを添加した各培地よりも少ない傾向が認められた。

図Ⅰ-8 にヘミセルロース減少率の推移を示した。Pc82-1 株を培養した小麦稈培地中のヘミセルロースなど繊維成分の含有率の変化は図Ⅰ-11 にまとめて示した。培養当初、WS、RB10、RB30 および RB50 のヘミセルロース含有率はそれぞれ 31、31、30 および 29%であったが、培養 60 日後にはそれぞれ 12、11、16、17%となり（図Ⅰ-11）、減少率はそれぞれ 72、77、66 および 64 %であり、培養後 90 日の減少率はそれぞれ 85、86、77 および 75 %であった。このように、RB10 のヘミセルロースの減少傾向は WS とほぼ同じ傾向であったが、RB30 と RB50 はそれらより減少の程度が小さかった。

図Ⅰ-9 に ADL の減少率を示した。培養当初、WS、RB10、RB30 および RB50 の ADL 含有率はそれぞれ 9、8、7 および 6%であった（図Ⅰ-11）。培養開始時から培養 15 日目の ADL の変化をみると、RB50 が培養当初とはほぼ同じ量が残存していたが、RB、RB15 および RB30 は 4 ～ 6%増加していた。図Ⅰ-7 に示したように、

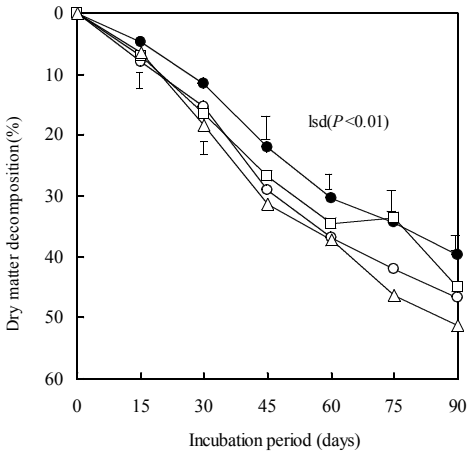


Fig. Ⅰ-7 . Changes in dry matter decomposition of substrate by incubation with *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1. Substrate are 100% wheat straw (●), 10(○), 30(□), 50(△)% mixture of rice bran with wheat straw.

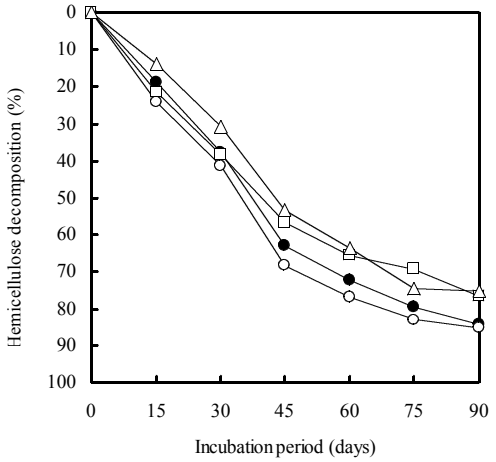


Fig. Ⅰ-8 Changes in hemicellulose decomposition of substrate by incubation with *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1. Substrate are 100% wheat straw (●), 10(○), 30(□), 50(△)% mixture of rice bran with wheat straw.

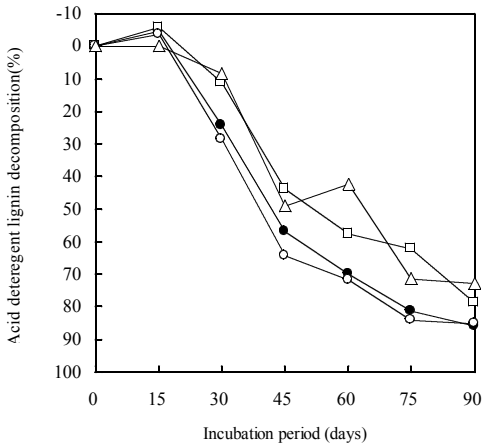


Fig. Ⅰ-9 Changes in acid detergent lignin decomposition of substrate by incubation with *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1. Substrate are 100% wheat straw (●), 10(○), 30(□), 50(△)% mixture of rice bran with wheat straw.

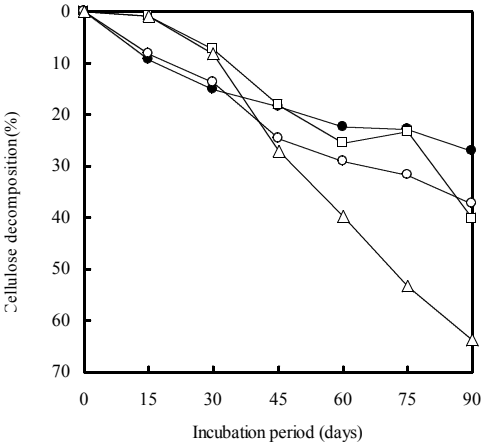


Fig. Ⅰ-10 Changes in cellulose decomposition of substrate by incubation with *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1. Substrate are 100% wheat straw (●), 10(○), 30(□), 50(△)% mixture of rice bran with wheat straw.

培養 15 日後における培地中乾物が 5 ～ 8%減少していたのに ADL 減少率が変化しないか若干増加したことは、この時点での Pc82-1 株による ADL の分解・利用量はきわめて少ないと考えられる。培養 60 日後における WS、RB10、RB30 および RB50 の ADL 減少率はそれぞれ 70、72、58 および 42 %と米ぬかの添加割合が高くなるにつれておおむね低下する傾向が認められた。RB50 の培養 75 日後に ADL 減少率が低下した理由は不明である。

図Ⅰ-10 にセルロースの減少率を示した。培養当初、WS、RB10、RB30 および RB50 におけるセルロース含有率はそれぞれ 41、39、33 および 26%であり、培養 60 日後はそれぞれ 46、44、37 および 25%（図Ⅰ-11）となった。このときの減少率はそれぞれ 22、30、46 および 39%であった。培養 90 日後におけるセルロース含有率は、50、46、35 および 19%であり（図Ⅰ-11）、このときの減少率はそれぞれ 28、38、40 および 64%であった。いずれも、米ぬかの添加割合が高いほど、セルロース減少率が高いことが分かった。本研究と同時に調製した培地にヒラタケ TMIC30026 株を培養した場合[74]と比べると、本研究に用いた Pc82-1 株のほうがセルロース減少率は高い傾向が認められた。本研究のねらい、すなわち可消化成分をできるだけ残すためにはセルロース分解・利用量ができるだけ少ない菌が望ましい。

図Ⅰ-12 に消化性の指標としての Ce-DMD の変化を示した。それによると、WS、RB10、RB30 および RB50 の Ce-DMD は、培養前はそれぞれ 23、26、32 および 39%であったが、培養 15 日ではそれぞれ 23、25、28 および 39%であり、ヒラタケ TMIC30026 株を培養した時と同様、変化が小さいかやや低くかった。その後は 45 日まで急激に高くなり、各培地の Ce-DMD は WS、RB10、RB30、RB50 においてそれぞれ 55、57、48、47%となり、培養前と比べるとそれぞれ 32、31、16、8 ポイント改善され、米ぬか添加割合が低い方が改善の程度は高いことが明らかとなった。本研究では、培養は既報のヒラタケ TMIC30026 株と同時に行った。ヒラタケ TMIC30026 株が WS の Ce-DMD を 30 ポイント改善したのは培養 60 日後であり、Pc82-1 株はそれより 15 日早い培養 45 日で達成しており、より短い培養期間で Ce-DMD を改善する能力を有することがわかった。培養期間が短縮できることはヒラタケ TMIC30026 株よりも培養コストを低減することができることを示す。

Pc82-1 株の培養 75 日後における WS、RB10、RB30、RB50 の Ce-DMD はそれぞれ 66、64、55、55%であった。これらの結果を培養前と比較すると、米ぬか添加割合が高い培地ほど Ce-DMD の改善程度はむしろ低くなる傾向が認められ、Ce-DMD に関しては米ぬかの添加効果が認められなかった。このように、Pc82-1 株の培養による Ce-DMD の改善効果は米ぬかを添加してい

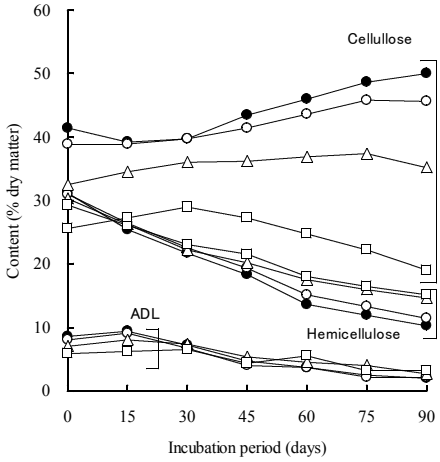


Fig. Ⅰ-11 Changes in cellulose, hemicellulose and acid detergent lignin (ADL) contents of substrate by incubation with P. cornucopiae var. citrinopileatus Pc82-1. Substrate are 100% wheat straw (●), 10(○), 30(□), 50(△)% mixture of rice bran with wheat straw.

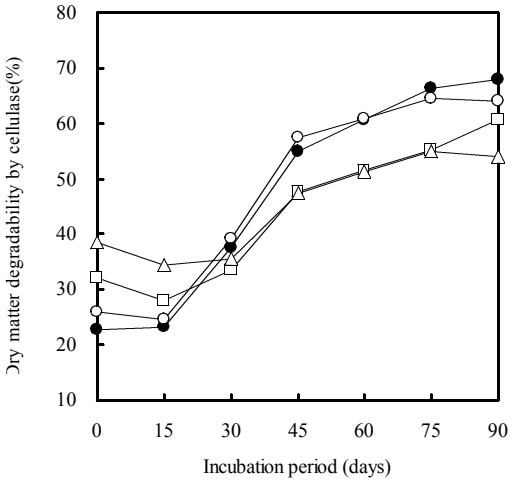


Fig. Ⅰ-12 Changes in dry matter degradability by cellulase of substrate by incubation with *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1. Substrate are 100% wheat straw (●), 10(○), 30(□), 50(△)% mixture of rice bran with wheat straw.

Table I-3 Changes in degradable dry matter by cellulase by incubation with *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1

substrate[a]	0	15	30	45	60	75	90
WS	100[b]	98	147	189	186	192	181
RB10	100	87	128	158	149	144	132
RB30	100	81	87	109	105	114	104
RB50	100	84	75	84	83	77	68

[a] Substrate: WS;wheat straw 100%, RB10 is WS 90%+rice bran(RB)10%,
[b] Relative value of the initial degradable dry matter by cellulase.

ない培地でより高い傾向が示された。

表Ⅰ-3 に可消化成分としての Ce-DDM の変化を培養前との百分比で示した。培養当初、培地乾物中の Ce-DDM は WS、RB10、RB30、RB50 それぞれ 23、26、32 および 39%であった。培養当初の Ce-DDM 重量を 100 とし、培地別に Ce-DDM と培養期間との関係をみると、培養 30 日後、WS では 146 と増加していたが、米ぬかの添加量が多い培地ほど、増加の程度は低い傾向が認められた。培養 45 日後、WS の Ce-DDM は 189 と顕著に増加し、RB10 も 158 と増加したが、米ぬか添加量が多いほど、増加の程度は低い傾向が認められた。これらのことから、米ぬかの添加が Ce-DDM の改善に及ぼす効果はヒラタケ TMIC30026 株[70]と同様、逆効果であり、その程度はヒラタケ TMIC30026 株よりも顕著であった。より多くの Ce-DDM を得るための培養期間については、45 日以上培養しても顕著な増加が認められないか低下する傾向にあること（表Ⅰ-3）、培養期間の増加とともに培地乾物重が低下する傾向にあること（図Ⅰ-7）などから 45 日が適当と考えられた。この日数は、おなじ条件で培養したヒラタケ TMIC30026 株よりもやや早く、Ce-DDM の改善効果も高いことがわかった。

なお、本菌株を培養した小麦稈を反芻家畜に給与した場合は様々な要因が加わるため、より正確に培養効果を知るためには in vivo 消化試験が必要である[51]。

以上により、本菌株の培養により小麦稈の消化性は顕著に改善できること、培養期間は消化性および可消化成分量から見てヒラタケ TMIC30026 株よりも早い 45 日が適当であること、菌の生育促進をねらった米ぬかの添加は逆効果であることなどが明らかとなった。

３．小麦稈に対する滅菌条件がタモギタケPc82-1株の生育および小麦稈の消化性改善に及ぼす影響

序文

おがくずを主体としたタモギタケ栽培においては、タモギタケ菌糸の生育を阻害する糸状菌あるいは細菌類を死滅させるために高温・高圧(120 ℃、30 ～ 40 分保持)または高温常圧(98 ～ 100 ℃、4 時間保持)処理を行っており[32,60]、この工程に多大なエネルギーを投入している。これを低減できる滅菌条件があれば低コスト培養が可能となる。しかし、おがくずを用いたタモギタケ栽培においても詳しい滅菌条件が示されておらず、小麦稈を培地としたときの至適滅菌条件も提示されていない。

そこで本研究では、雑菌を処理してタモギタケ Pc82-1 株の生育が順調に生育し、培養後培地の消化性が改善できる滅菌条件を明らかにする。

材料と方法

(1)培地の調製

試験に供した小麦稈（WS)と稲わら（RS)は北海道空知地方において産出されたもので、前項と同様にして培地を調製した。滅菌処理は、温度 80、100、120 ℃と時間 15、30、60 分を組み合わせた計 18 処理である。培地深部の到達温度はサーモラベル（日油技研工業株式会社製）によって確認した。

(2)タモギタケの培養

供試菌株は Pc82-1 株（道総研林産試験場保存菌株）で、あらかじめ全粒大麦粒に 3 週間培養して種菌を調製した。種菌は培地の 2%を接種した。タモギタケ培養は温度 25 ℃、相対湿度 75 %で 60 日間行った。培養終了後、培地を栽培瓶から取り出し、60 ℃で 48 時間通風乾燥させて乾物重量を測定した後、前項と同様にして繊維成分を分析したほか、培養後培地の pH および電気伝導度(EC)をガラス電極法により測定した。

なお、化学成分や Ce-DMD の分析は前項と同様にした。

結果と考察

表Ⅰ-4 に各培地の pH、EC、菌回りに要した日数および雑菌の発生程度を示した。各培地の pH をみると、WS では 5.4 ～ 6.8 であり、滅菌の温度および時間処理

の間には明確な差が認められなかった。RS では 6.6 ～ 8.1 であり、WS よりもやや高かった。EC は、WS では各処理で 2.3 ～ 3.6mS/cm の範囲にあった。WS 区ならびに RS 区の平均値をみると、pH は WS の 6.2 に対して RS は 7.4 と 1.2 の差があった。同様に WS の EC が 3.1 mS/cm であったのに対して RS は 8.3 mS/cm と高かった。

WS に接種したタモギタケ Pc82-1 株は速やかに生育し、いずれの滅菌条件で処理した培地においても約 15 日で菌回りが終了し、発生した雑菌（主に糸状菌、同定はしていない）も培養 24 日目にはすべて駆逐された。一方、RS に接種した Pc82-1 株の菌回りは 120 ℃、30 分区がもっとも早かったが、WS でもっとも遅かった 120 ℃、30 分および 60 分区よりも多くの日数を要し、RS100 ℃、15 分区では、発生した雑菌によってタモギタケ Pc82-1 株が駆逐された。

表Ⅰ-5 に培地の繊維成分分析値、Ce-DMD および Ce-DDM を示した。WS を培地とした場合、いずれの雑菌処理区においてもタモギタケ Pc82-1 株の培養によって ADL およびヘミセルロースが顕著に減少し、培養前は 17 ～ 22%であった Ce-DMD は培養後には 52 ～ 60%にまで大幅に改善された。また Ce-DDM も培養前との比で 175 ～ 217 とほぼ 2 倍に増加した。

一方 RS は、WS に比べて ADL やセルロース減少率が高い傾向にあった。RS の Ce-DMD は 60 日間培養で 28%から 38 %まで改善されたが、WS ほどの改善効果ではなかった。また、Ce-DDM は処理別では 53 ～ 124%であり、これも小麦稈ほどの改善効果は認められなかった。

以上の結果のように、WS ではいずれの滅菌処理でもタモギタケ Pc82-1 株は速やかに生育して 60 日間で高い ADL 分解率やヘミセルロース分解率を示し、その一方でセルロース分解率が低かった。その結果として Ce-DMD や CeDDM では大幅な改善効果が認められた。RS は WS ほどの改善効果が認められなかった。山川ら[72,74]のヒラタケを稲わらと小麦稈に培養して化学成分や消化性の変化を調べた成績をみると、培養条件に違いはあるが、小麦稈の方が早くそして高い培養効果が認められている。本研究では RS におけるタモギタケ Pc82-1 株の生長が不良であったことから培地の pH と EC のみを調査した。WS では発生した雑菌がタモギタケ Pc82-1 株に駆逐され、RS では処理によっては雑菌がタモギタケ Pc82-1 株を駆逐していた。pH の違いが菌の生育に影響を及ぼしたとは考えにくい。EC については差が認められたが、それでも、この差が菌の生育に大きな影響があるか否か疑問である。

以上により、WS にタモギタケ Pc82-1 株を培養する場合の滅菌処理は 80 ℃、15 分でも可能であるが、雑菌の発生を防ぐためには 100 ℃、30 分処理が必要と考えられた。

4　小括

本章では、小麦稈に対するタモギタケ Pc82-1 株の培養がその *in vitro* 消化性に及ぼす効果とその効果の向上を目指した培養の改善技術について検討した。

(1) タモギタケ菌株の違いが小麦稈の消化性改善に及ぼす影響

培養のための加温や冷却のエネルギーを節減するためには至適温度帯が広い菌株が望ましい。このような条件も勘案して、リグニン分解力が強い一方でセルロースやヘミセルロースの消費量が少ない菌株の選抜を目指した。本研究に供した 10 菌株についてみれば、至適温度帯は 20 ～ 25 ℃であった。起源（原産地）の違いによる至適温度の差を想定したが、明瞭な差異は得られなかった。これにはさらに広い地域から、そこに自生する菌株を集めて検討する必要があろう。

培養温度を 4 水準設けた本研究で、セルラーゼ可分解乾物を多く残したタモギタケ Pc82-1 株を選抜した。なお、本菌株は、稲わらに培養したときに消化性を大きく改善する菌株として富樫ら[64]が選抜したものであるが、小麦稈でも有効性が確認された。

(2) 小麦稈に対するタモギタケPc82-1株の培養期間が *in vitro* 消化性改善に及ぼす影響

タモギタケ Pc82-1 株の培養で小麦稈の消化性を改善するため、適当な培養期間並びに培地に対する菌の栄養材添加（米ぬか）の効果について調べた。

その結果、小麦稈培地の乾物、ADL およびセミセルロース含有率は培養期間の経過とともに顕著に低下したが、これらに比べてセルロース含有率は培地への米ぬか添加割合が低いほど増加した。小麦稈培地の本菌培養後における Ce-DMD は米ぬか無添加の培地で、45 日目で 32 ポイント改善された。このとき家畜がエネルギーとして利用可能な Ce-DDM は培養前に比べて 89%増加した。なお、米ぬかの添加は、タモギタケ Pc82-1

株が培養直後から米ぬかを主体に分解利用しており、その一方で小麦稈の ADL 分解が少なく、消化性の改善に対しては効果的ではなかった。

(3)小麦稈に対する滅菌条件がタモギタケPc82-1株の生育および小麦稈の消化性改善に及ぼす影響

食用きのこ栽培において、培地は高温・高圧滅菌することが一般的である。しかし、小麦稈の高栄養飼料化を目指すにはコストはなるべく縮減したい。そこで、どこまで滅菌条件が緩和できるか、稲わら培地と対比しながら検討した。

その結果、80 ℃、15 分でもタモギタケ Pc82-1 株の培養が可能であったが、雑菌の発生をみないようにするためには、100 ℃、30 分処理が適当と考えられた。稲わらについても同様に検討したが、小麦稈よりは強い滅菌条件が必要であること、消化性については 60 日間培養しても、小麦稈の場合のように高い改善効果は期待できないことがわかった。

Table Ⅰ-4 Hydrogen ion concentration(pH),Electric conductance(EC), the days when a spawn spread in wheat straw substrate (days) and weeds.

Substrate	Sterilization		pH of substrate after sterilization	EC of substrate after sterilization (mS/cm)	The days when a spawn spread in wheat straw substrate(days)	Weed[1)]
	Temperature (℃)	Time (Minutes)				
Wheat straw	80	15	6.6	2.6	16	++
		30	6.6	2.3	16	++
		60	6.5	2.8	16	++
	100	15	6.8	3.2	15	++
		30	6.3	3.2	13	-
		60	6.1	3.6	13	-
	120	15	5.8	3.3	14	-
		30	5.7	3.4	17	-
		60	5.4	3.4	17	-
Rice straw	80	15	7.8	6.6	49	+
		30	7.7	7.7	44	+
		60	7.6	7.1	57	++
	100	15	8.1	8.8	-[2)]	+++
		30	7.2	9.2	57	+
		60	7.2	8.6	49	-
	120	15	7.1	8.9	38	+
		30	6.9	8.3	35	-
		60	6.6	9.2	33	-
Wheat straw			6.2	3.1	15	+
Rice straw[3)]			7.4	8.3	45	+

1) Weed: spread in substrate, -;0%～+++;100%. The mushroom killed the weeds in the substrate.
2) The mushroom spawns were killed by weeds which occued in substrate.
3) Average of 8 treatments.

Table Ⅰ-5 Decomposition of chemical contents, dry matter degradability and degradable dry matter by cellulase (%).

Substrate	Sterilization		Decomposition[1)]			Ce-DMD[2)]		Ce-DDM[3)]
	Temperature (℃)	Time (Minutes)	ADL	Hemi	Cell	Befor incubation	After incubation	
Wheat straw	80	15	59.1	28.4	9.1	18.1	53.8	195
		30	60.9	27.0	3.3	17.2	55.0	213
		60	58.3	26.8	0.0	18.5	52.2	189
	100	15	58.7	18.7	0.0	17.9	54.8	217
		30	68.9	19.0	15.2	19.0	60.1	213
		60	66.0	69.9	15.4	19.6	57.7	201
	120	15	66.0	70.7	14.3	20.0	57.8	195
		30	64.4	18.3	15.0	21.4	57.1	181
		60	68.8	23.6	27.0	21.8	58.6	175
Rice straw	80	15	-11.8	35.1	44.7	24.4	32.4	96
		30	-2.9	38.3	46.3	26.0	35.1	101
		60	-13.9	36.4	48.8	26.4	31.2	88
	100	15[4)]	-	-	-	-	-	-
		30	-10.5	36.4	60.5	28.3	20.1	53
		60	18.4	39.3	40.5	28.1	38.0	102
	120	15	53.7	45.8	39.1	28.9	51.9	124
		30	50.0	42.4	37.8	29.4	50.2	121
		60	41.3	34.4	29.8	30.7	46.2	115
Wheat straw			63.5	33.6	11.0	19.3	56.3	198
Rice straw[5)]			15.5	38.5	43.4	27.8	38.1	100

1) ADL: acid detergent lignin, Hemi;hemicellulose, Cell;cellulose.
2) Ce-DMD: dry matter degradability by cellulase.
3) Ce-DDM: degradable dry matter by cellulase (Ce-DMD×dry matter residue), relative value to the initial degradable dry matter.
4) The mushroom spawns were killed by weeds which occured in substrate.
5) Average of 8 treatments.

第Ⅱ章　食用きのこを培養した小麦稈のめん羊による飼料価値の評価

１．小麦稈に対する食用きのこ（タモギタケPc82-1株、ヒラタケTMIC30026株）の培養期間がめん羊による自由摂取量および消化率に及ぼす影響

序文

著者らはこれまで、稲わらや小麦稈にリグニン分解力を持つ担子菌いわゆる白色腐朽菌の一種であるヒラタケ（*P. ostreatus*）やタモギタケ（*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*）を培養すると消化阻害成分である細胞壁中のリグニンが分解・減少し、飼料の消化性の指標としたセルラーゼによる乾物分解率が顕著に改善され、培養後に残存しているセルラーゼ可分解乾物が増加することを示した[72,74,75]。さらに、菌の栄養剤としての米ぬかも添加もしないほうが消化性をより改善できることを明らかにした[72,74,75]。しかし、飼料として評価するためには家畜に給与して栄養価を調べる必要があるが、その報告は少なく、タモギタケを培養した小麦稈に関する報告はない。

本研究では、タモギタケ Pc82-1 株ならびにこれまで稲わら[71]、小麦稈[77]、大麦稈[24]等で *in vivo* による栄養価の報告があるヒラタケ TMIC30026 株を小麦稈に培養し、その自由摂取量および消化率を明らかにする。

材料と方法

(1)供試菌株および種菌の調製

供試菌はタモギタケ（*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*）Pc-82-1 株（北海道立林産試験場保存菌株、以下、タモギタケ Pc82-1 株）とヒラタケ（*P. ostreatus* ）TMIC30026 株（日本きのこセンター菌蕈研究所保存株、以下、ヒラタケ TMIC30026 株）である。これらはいずれも小麦稈のセルラーゼによる乾物分解率や残存培地中のセルラーゼ可分解乾物量を改善するのに効果的であると認められたものである[74,75]。種菌には、それぞれの菌株をあらかじめ大麦粒培地で 3 週間培養したものを用いた。

(2)培地の調製

培地に用いた小麦稈は北海道空知地方において産出されたもので、これを約 3cm の長さに切断し、水分含量を約 65 %に調整し、その 1kg（乾物 350g 相当量）を 2,500ml 容ポリプロピレン製きのこ栽培袋に詰め、110 ℃、30 分滅菌して室温まで冷却した 1 処理につき 300 袋調製した。以下、小麦稈培地と記す。

(3)培養方法

種菌は培地重量の 2%を接種した。培養温度は 23 ℃、相対湿度は 75%とした。培養期間は、これまでの試験結果から消化性が培養前に比べてほぼ同じかやや下がっている時期として 30 日間とした。他の 1 処理を 50 日間としたのは、リグニン等が分解されて可消化成分が増加していると想定される期間であることと、第Ⅰ章 2.にしたがった予備試験で 60 日間培養したところ、タモギタケ Pc82-1 株において子実体原基が認められたため、子実体発生前の 50 日間と設定した。給与する時点で設定した培養期間となるように、300 袋を 6 回に分割して培養した。

(4)めん羊への給与試験

自由摂取量と消化率は 1 処理につきサフォーク種去勢雄めん羊 4 頭（体重 49 ～ 64kg）による消化試験で求めた。めん羊への給与にあたり、両菌株を培養した小麦稈培地は 2、3 日で食べつくす量の培養後培地を袋から出し、混合してから自由摂取させた。培養小麦稈培地のみでは粗蛋白質の摂取量が不足するため、給与飼料乾物中の粗蛋白質含有率が 12%以上になるように大豆粕を併給した。水と固形塩は自由摂取させた。給与試験は馴致、予備、本期それぞれ 7 日間とし、本期の全糞を採取した。対照区として、無処理小麦稈も同様にして自由摂取量と消化率を求めた。

(5)試料の化学分析

分析用の試料はすべて 65 ℃で乾燥後、超遠心ミルを用いて粉砕し、0.5mm のふるいを通過させた。給与した菌培養後の試料は本期中、毎日採取して混合したものである。粗蛋白質（CP）と粗脂肪（EE）の含有率は常法により求めた。炭水化物含有率（CC）は有機物含有率（OM）から CP と EE を差し引いて求めた。ADL などの繊維成分は前項と同様にして求めた。可消化養分総量（TDN）は、可消化有機物-EE+EE×2.25 を用いて算出した。

(6)遊星ボールミルによる試料の破砕抵抗性

遊星ボールミルによる試料の破砕抵抗性を大浦の方法[48]により求めた。以下、その方法を示す。

各試料の 8mm 粉砕物約 2.5g を 12 時間蒸留水に浸漬した後、直径 20mm、質量 35g のステンレススチール製ボール 12 個、蒸留水 150ml とともにステンレススチール製ポットに入れ、遊星型ボールミル(FRITSH P-5/2)により 260rpm で 10 分間破砕処理を行った。破砕処理後の試料をナイロンメッシュにより湿式で篩い分け、目開き 1.18mm 以上の粒子(LP10、%)を測定した。また、同様に破砕処理を行っていない試料の 1.18mm 以上の粒子(LP0 、 %)を測定し、式（RBM=LP10/LP0）により破砕処理に対する抵抗性を算出した。なお、この分析は大浦良三博士（鳥取大学）に依頼した。

結果と考察

(1)タモギタケ Pc82-1 株、ヒラタケ TMIC30026 株の培養による小麦稈培地成分の変化

タモギタケ Pc82-1 株、ヒラタケ TMIC30026 株とも、菌糸が小麦稈培地中に伸長するのに要した日数は 20 ～ 26 日で菌種間に大差は認められなかった。

表Ⅱ-1 に両菌株を培養した小麦稈培地の化学成分分析値、表Ⅱ-2 に培養による成分の減少率を示した。それによると、ADL は両菌株区とも、培養期間の経過とともに減少した。すなわち、培養前の小麦稈培地中 ADL 含有率は 9%であったが、培養 30 日後には両菌株区ともに 8%とわずかに低下したほか、同 50 日後ではタモギタケ Pc82-1 株が 6%に、ヒラタケ TMIC30026 株が 7%に、それぞれ低下した。ADL 減少率をみると、30 日間培養でタモギタケ Pc82-1 株は 18%、ヒラタケ TMIC30026 株は 12%であった。50 日間培養でタモギタケ Pc82-1 株は 46%であり、ヒラタケ TMIC30026 株は 35%であり、両菌株ともに培養期間の経過とともに ADL の分解率は高くなった。また、これらのことと既報の結果[74,75]などから、ADL 分解力はタモギタケ Pc82-1 株のほうが強いことが確認された。

ヘミセルロースは ADL と同様、両菌種区ともに培養期間の経過に伴って減少する傾向が認められた。減少率でみると、タモギタケ Pc82-1 株では 30 日、50 日の培養でそれぞれ 29、52%、ヒラタケ TMIC30026 株でそれぞれ 26、48%減少した。

EE 減少率は、50 日間培養でタモギタケ Pc82-1 株は 39%、ヒラタケ TMIC30026 株は 44%であり、両菌株は EE も分解・利用した。

セルロースは、前出 3 成分とは逆に、小麦稈培地中の含有率が両菌株の培養期間の経過とともに高くなった。すなわち、培養前は 33%であったセルロース含有率は、30 日後は大差がなかったが、50 日後ではタモギタケ Pc82-1 株が 38%、ヒラタケ TMIC30026 株が 39%といずれも高くなった。減少率でみると、タモギタケ Pc82-1 株によるセルロース減少率は 9 ～ 11%であったのに対して、ヒラタケ TMIC30026 株では培養期間を経過しても 1%前後しか低下しておらず、このことから、タモギタケ Pc82-1 株はヒラタケ TMIC30026 株よりも多くのセルロースを分解・利用したことが示された。

以上のように、両菌株ともに培養期間の経過とともにヘミセルロースや ADL の分解・利用量が顕著に多くなった。その一方で、セルロースの分解・利用量はヘミセルロースや ADL に比べてきわめて少なく、培地中に残存する割合は培養当初よりも高くなった。

本研究における各種成分の分解の進行は既報に比べて遅かった。ヒラタケ TMIC30026 株の場合、ADL 減

Table Ⅱ-1 Chemical components of wheat straw substrates incubated with *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* or *P. ostreatus.*

Strains		*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1		*P.ostreatus* TMIC30026	
Incubation(days)	0	30	50	30	50
Organic matter	91.9	90.6	88.9	90.2	89.1
Crude protein	2.9	3.6	4.6	3.6	3.9
Ether extracts	1.8	2.2	1.4	1.6	1.2
Carbohydrate	87.2	84.8	82.9	85.0	84.0
Cellulose	32.9	33.8	37.6	34.9	38.9
Hemicellulose	40.2	32.7	24.2	31.8	25.2
Acid detergent lignin	8.9	8.4	6.0	8.4	6.9

Table Ⅱ-2 The decomposition of chemical components of wheat straw substrate incubated with *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* or *P. ostreatus*.

Strains	*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1		*P.ostreatus* TMIC30026	
Incubation(days)	30	50	30	50
Dry matter	12.9	20.6	6.7	16.4
Organic matter	14.1	23.2	8.5	18.9
Crude protein	-5.1	-27.6	-17.2	-13.8
Ether extracts	-5.6	38.9	16.7	44.4
Carbohydrate	15.3	24.5	9.1	19.5
Cellulose	10.9	9.1	0.9	1.2
Hemicellulose	29.1	52.2	26.1	47.5
Acid detergent lignin	18.0	46.1	12.4	34.8

Table Ⅱ-3 Resistance of wheat straw substrate by ball mill.

	Incubation (days)	RBM**
Befor pastulization		0.5501
After pastulization		0.4499
After incubation		
Pc82-1	30	0.2046
	50	0.2205
TMIC30026	30	0.3087
	50	0.2343

*Pc82-1;*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1, TMIC30026,*P. ostreatus* TMIC30026.
**RBM;Resistance of ball mill.

少率は培養 30 日で約 30%、同 50 日で約 55%[74]であり、また、タモギタケ Pc82-1 株では培養 30 日で 24%、同 45 日で約 61%であった（第Ⅰ章 2）。本研究の結果では、タモギタケ Pc82-1 株では培養 30 日で 18%、同 45 日で 46%であり、ヒラタケ TMIC30026 株の場合、培養 30 日で約 12%、同 50 日で 35%であり、本研究における ADL 分解量は想定よりも少なかった。この主な理由として次の 2 点が考えられた。1 点は、本研究で行った培養方式は固体培養であり、種菌は表面接種したが培養が均一になるような小麦稈培地の撹拌も、通気もしなかったこと。2 点目は培養単位を乾物 50g から同 350g へと大きくしたことである。これらの要因のために菌糸が種菌から成長して小麦稈培地中に生長し、リグニンを分解し始めるまでの時間が既報の 850ml 容栽培瓶よりも多く必要であったと考えられた。これらのことから、速やかにリグニンを分解させるためには、種菌接種法の改善、すなわち、種菌の接種を表面接種から培地と混合させることと、無菌で通気する方法の工夫などが必要と考えられた。

(2)遊星ボールミルによる試料の破砕抵抗性

大浦[48]は、遊星ボールミルによる破砕強度は粗飼料の自由採食量を現す物理的指標として有効であると報告している。本研究でめん羊に給与した 5 種類の飼料、すなわち両菌株をそれぞれ 30、50 日間培養した小麦稈および培養前（無処理）小麦稈の粉砕抵抗性(RBM)を表Ⅱ-3に示した。無処理小麦稈の RBM は 0.550 であった。これにタモギタケ Pc82-1 株を 30、50 日培養すると、それぞれ 0.205、0.221 に低下した。また ヒラタケ TMIC30026 株を 30、50 日培養すると、それぞれ 0.309、0.234 に低下した。

これらのことから、小麦稈の RBM は両菌株を培養することで低下することがわかった。しかし、いずれの菌株も、培養期間の差は明確ではなかった。この結果と自由摂取量や消化率との関係については次に検討する。

(3)食用きのこ（タモギタケ Pc82-1 株、ヒラタケ TMIC30026 株）を培養した小麦稈のめん羊における自由摂取量と消化率

食用きのこを培養した小麦稈の栄養価を我が国では初めての *in vivo* 試験により評価した。

表Ⅱ-4に乾物、有機物（乾物-粗灰分）、炭水化物（有機物-EE-CP)などの消化率を示した。それによると、培養前小麦稈培地の乾物消化率は 48%であった。それが、タモギタケ Pc82-1 株の場合は培養 30 日後で 38%と有意に低下した（$P<0.05$）が、50 日では 51%と培養前と同水準かわずかに上回るまで改善された。一方、ヒラタケ TMIC30026 株を培養すること 30 日後では 41%に低下したが、50 日まで培養を継続することで 47%とほぼ培養前の水準まで高くなった。この傾向は、有機物、炭水化物でもほぼ同様であった。

CP 消化率はタモギタケ Pc82-1 株 50 日培養区を除いて、培養前の小麦稈も含めて負の値を示した。試験方法に示したように、給与飼料中の CP 含有率が消化試験の障害にならないよう、消化試験の前提条件として、大豆粕を補給している。しかし、培養前小麦稈の CP 含有率は 3%ときわめて低く、さらに、CP の消化率が

Table Ⅱ-4 Apparent digestibility and total digestible nutrients of wheat straw substrates incubated with *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* or *P. ostreatus* (%).

Strains		*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1		*P.ostreatus* TMIC30026	
Incubation(days)	0	30	50	30	50
Dry matter	48.3ab	37.9 c	51.0a	40.8 bc	46.9ab
Organic matter	52.4ab	42.7 c	56.4a	45.4 bc	52.4ab
Crude protein	-27.9 b	-27.5 b	10.4a	-28.2 b	9.4ab
Ether extracts	36.9	48.7	37.3	39.4	47.4
Carbohydrate	55.3ab	45.4 c	59.2a	48.5 bc	58.1a
Total digestible nutrients	49.1ab	40.0 c	50.7a	41.7 bc	49.7ab

[a,b]Mean with different superscripts within each raw differ significantly at $P<0.05$.

Table Ⅱ-5 Intake of wheat straw substrate by sheep before and after incubation with *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* or *P. ostreatus* (g/kgBW).

Strains		*P. cornucopiae* var.		*P.ostreatus* TMIC30026	
Incubation(days)	0	30	50	30	50
Dry matter	15.1 b	14.6 b	19.5a	15.4 b	19.4a
Digestible dry matter	7.3abc	5.6 c	9.9a	6.3 bc	9.1ab
Digestible organic matter	7.3ab	5.7 b	9.8a	6.3 b	9.1a
Total digestible nutrients	7.4abc	5.9 c	9.9a	6.4 bc	9.6ab

[a,b,c]Mean with different superscripts within each raw differ significantly at $P<0.05$.

低い菌糸に変換されたため、みかけ上、負の値となったと考えられた。

培養前小麦稈培地の乾物中 TDN は 49%であった。ヒラタケ TMIC30026 株を 30 日培養すると 42%に低下したが、50 日間培養すると 50%とほぼ培養前の水準となった。タモギタケ Pc82-1 株もヒラタケ TMIC30026 株とほぼ同様に、30 日間の培養では 40%と有意（$P<0.05$）に低下したが、50 日間培養することで 51%と培養前をやや上回った。

培養 30 日で消化率や TDN 含有率が下がったのは、両菌株ともめん羊でもまず消化性が高いヘミセルロースを分解・利用されたが、消化性に大きな影響を及ぼすほどに ADL の分解が進んでいなかったためと考えられた。50 日まで培養を継続すると、ADL の分解が進み、培養小麦稈の消化率は培養前の水準まで高まったと考えられた。既報における栽培瓶試験ではいずれの菌株も培養 30 日後には培養前よりも消化性が高まったが、本研究では 50 日後で培養前の水準であった。これは成分含有率の変化から推察した理由から、培地全体としての ADL 分解が消化性を改善するまでには至っていなかったためと考えられた。したがって、培養単位を大きくした場合、速やかに培地の消化性を改善するためには、種菌の増量やなるべく培地全体に行きわたるように接種するなどの工夫が必要と考えられた。

表Ⅱ-5にめん羊による自由摂取量を示した。培養前小麦稈培地の乾物自由摂取量は 15.1g/kgBW/day であった。タモギタケ Pc82-1 株を培養した場合も培養 30 日では 14.6g/kgBW/day と培養前とほぼ同じであったが、50 日培養することで 19.5g/kgBW/day へと有意($P<0.05$)に増加した。また、ヒラタケ TMIC30026 株を培養すると、培養 30 日後では培養前とほぼ同じ 15.4g/kgBW/day であったが 50 日間培養すると 19.4g/kgBW/day へと有意に（$P<0.05$）増加した。

培養前の小麦稈の可消化乾物摂取量は 7.3g/kgBW/day であった。タモギタケ Pc82-1 株を培養した場合も、30 日後では 5.6g/kgBW/day と有意ではないものの、減少する傾向が認められたが、50 日まで培養を継続すると 9.9g/kgBW/day へと有意に増加した（$P<0.05$）。また、ヒラタケ TMIC30026 株を培養すると、30 日後では

6.4g/kgBW/day とやや減少したが、50 日間培養すると 19.4g/kgBW/day と有意に増加した（$P<0.05$）。可消化有機物および TDN の自由摂取量もこれらとほぼ同様の傾向が認められたが、菌株間に大差は認められなかった。これらのことから、めん羊による小麦稈の摂取量は両菌とも 50 日間培養することで顕著に増加し、両菌株ともに、その培養によって摂取量に大きな改善効果が認められた。

次に、乾物摂取量が培養期間の延長とともに顕著に増加した理由を考察する。稲わらにアンモニア処理や蒸煮処理を加えてめん羊に給与すると、無処理のものに比べて自由採食量が増加するといわれている。その理由として、これらの処理によって熱化学反応や化学反応が起こり、細胞壁にひび割れ（クラック）が入ったり、一部の易分解性物質が揮発したりして組織がもろくなると考えられている（伊藤[25]）。本研究では、タモギタケ Pc82-1 株やヒラタケ TMIC30026 株が小麦稈の細胞壁を分解して生長している。このときヘミセルロースやリグニンを分解・利用していることから小麦稈の組織は脆弱化していることは間違いない。遊星ボールミルによる培地の破砕抵抗性をみると、これらの菌の培養によって破砕抵抗性が低下していた(表Ⅱ-3)。したがって、摂取された小麦稈は速やかに下部消化管へ通過し、摂取量が改善されたと考えられた。しかし、本研究の結果では、破砕抵抗性と培養期間との関係において、無処理区と 30 日培養区に差があったのに、30 日培養区と 50 日培養区の関係が明確ではなく相関が認められなかった。本研究では、これらの菌の培養によって破砕抵抗性が低下したが、自由摂取量との関係ではまだ不明な点が多く、これは今後の課題として残された。

本研究では、食用きのこを培養した小麦稈の栄養価を調べる第一段階として、栄養価改善の手段としての食用きのこ培養の意義を明らかにすることを目的とした。

子実体が生長するときには、栄養菌糸の中に蓄えられている多糖類は分解され、低分子の糖となって子実体に運ばれ、生長に利用されるものと考えられている[23,35,37] 。したがって、子実体を収穫した後は、易分解性の栄養分の多くは消費されてしまっていると考えられる。とくにセルロースが減少することが知られている[26,64,76]。子実体を収穫した培地の栄養価を高めるためには、収穫後も何日か培養を継続する必要があると考えられる。培養が継続されると培地のセルロースやヘミセルロースはさらに菌に分解されて糖などに変換され、菌体に蓄積することが予想される。長期間培養を継続するとシイタケのほだ木のように組織が崩壊した培地となる可能性があるが、これが飼料となりうるかは不明である。飼料として利用が可能な培養期間があると思われる。この問題も今後に残された課題である。

以上のことから、食用きのこであるタモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈の乾物中 TDN は 30 日間培養では無処理小麦稈より有意($P<0.05$)に低くなったが、50 日間に延長することで改善される傾向が認められた。また、ヒラタケ TMIC30026 株を培養した小麦稈の乾物中 TDN は 30 日間培養では無処理小麦稈よりやや低くなったが、50 日間に延長することで改善される傾向が認められた。

めん羊による小麦稈の摂取量は両菌とも 50 日間培養することで顕著に増加し、両菌株ともに、その培養によって摂取量の大きな改善効果が認められた。

２．タモギタケPc82-1株を培養した小麦稈のめん羊による消化性と肥育効果の評価

序文

家畜の生産性は栄養価の高い飼料を多く摂取することでもたらされる。前項において、小麦稈はタモギタケ Pc82-1 株を培養することにより、その自由摂取量が顕著に増加することが明らかとなった。そこで、本研究では、子羊を用い、タモギタケ Pc82-1 株の培養でもたらされた小麦稈の自由摂取量の増加と子羊の増体量との関係を肥育試験により明らかにする。

材料と方法

(1)小麦稈培地の調製とタモギタケの培養

供試菌株はタモギタケ Pc82-1 株である。種菌は本菌を大麦粒に 3 週間培養したものを用いた。小麦稈培地の調製、培養条件等は前項と同じである。以下、本菌を培養した小麦稈培地を培養小麦稈と称する。本菌の接種・培養の方法は前項と同様にし、給与する時点で 50 日目になるように毎週 2 回、1 回につき 100kg（2,500ml 容きのこ培養用 PP 袋 100 袋)、全試験期間で 1,800kg（同 1,800 袋）を調製した。給与した飼料の

栄養価はめん羊４頭(体重 53.6 ～ 66.6kg)を供試し、前項と同様にして求めた。

用いた小麦稈は 3 ロットあったため、それぞれについて消化試験を実施し、栄養価を求めた。本菌を培養していない小麦稈を無処理小麦稈と称する。培養小麦稈、無処理小麦稈の栄養価測定は前項と同様にした。なお、肥育試験で市販のウシ育成用飼料を併給したが、その栄養価も別途測定した。

(2)子羊の肥育試験

肥育試験には 12 頭のサフォーク種雄子羊を用い、培養小麦稈区と無処理小麦稈区にそれぞれ 6 頭ずつ配置した（写真 3)。試験開始時の体重は、培養小麦稈区が 35.2 ～ 40.2kg、無処理小麦稈区が 36.6 ～ 38.4kg であった。肥育期間は 13 週間で、これに先だって、5 日間馴致給与を実施した。培養小麦稈、無処理小麦稈とも自由摂取させた。配合飼料は、過去の北海道立滝川畜産試験場におけるラム（子羊）肥育試験結果に基づく「体重維持に要する TDN 量」を給与した。この給与量は NRC 飼養標準めん羊(1985 年版)[44]における肥育子羊の要求量の約 67%に相当した。給与量は毎週測定した生体重により調節した。残飼は小麦稈のみで、これを毎日回収し、1 週間ごとに重量および乾物率を測定した後、小麦稈のロットごとに混合して分析試料とした。なお、試験 4 週目に全頭に駆虫薬を投与した。飲料水および固形塩は自由摂取させた。

結果と考察

緒言で述べたように、*in vivo* 試験による食用きのこを培養した小麦稈の栄養価を評価した成績は数が少なく、さらに長期間給与した報告はまだない。本研究は、タモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈を子羊に 13 週間給与して飼料価値を調べた、世界で初めての報告と思われる。

表Ⅱ-6 に給与した飼料の成分含有率および本菌の培養による小麦稈培地の ADL、セルロースおよびヘミセルロースの含有率および減少率を示した。本菌の培養による乾物減少率は平均で 25%であり、乾物回収率は 75%であった。本菌の培養により有機物(OM)、粗タンパク質(CP)、および粗脂肪（エーテル可溶物、EE）および炭水化物の含有率はやや低下したが、セルロースおよびヘミセルロース含有率は低下した。一方、ADL 含有率は大きな変化がなかった。ADL、セルロース、ヘミセルロースの減少率はそれぞれ 23、34、44%であった。

表Ⅱ-7 に給与飼料の栄養価を示したが、培養小麦稈の TDN 含有率は 42%であり、前項の培養小麦稈（56%）よりも低かった。

表Ⅱ-8 に子羊の乾物、DCP および TDN 摂取量を示した。それによると、培養小麦稈の摂取量は試験開始から 6 週までと 10 週以降で無処理小麦稈よりも有意(P<0.05)に多く摂取され、7 ～ 9 週目においても統計的に有意ではないがより多く摂取され、全期間(13 週)を通しても有意(P<0.05)に多く摂取された。前項で明らかとなった、本菌の培養により小麦稈の摂取量の改善効果は長期給与試験によっても明確に示された。培養小麦稈に由来する TDN 摂取量をみると、その摂取量が無処理小麦稈を上回ったことを反映し、7 ～ 9 週を除いたすべての期間で無処理小麦稈より有意に多く摂取された(P<0.05)。全期間を通した配合飼料も含めた TDN 摂取量は、培養小麦稈区が 21.1g/kgBW/day であり、これを NRC 飼養標準（1985 年版）[44]が示す要求量と比較すると、充足率は 79%であった。一方、無処理小麦稈区における TDN 摂取量は 19.5g/kgBW/day であり、充足率は 72%であった。CP 摂取量は培養小麦稈区が 4.3g/kgBW/day、無処理小麦稈区が 4.0g/kgBW/day であり、NRC 飼養標準における要求量に対して、充足率はそれぞれ 81、75%であった。

図Ⅱ-1 に子羊の生体重の推移、図Ⅱ-2 に３週間ごとの日増体重を示した。培養小麦稈区における子羊の生体重はほぼ直線的に増加し、日増体量は 179g であった。無処理小麦稈区の生体重は試験開始から 3 週目まで培養小麦稈区より少なかったが 4 週目からは培養小麦稈区とほぼ同程度に増体し、全期間を通じた日増体重は 151g であった。このように培養小麦稈区の日増体重は無処理小麦稈区に比べて 28g、18%多かった。3 週間ごとの日増体重をみると、1 ～ 3 週は、TDN 摂取量を反映して、培養小麦稈区は無処理小麦稈区よりも有意に多かった(P<0.05)。7 ～ 9 週目で増体の傾向が逆転した。この理由は、試験畜舎の構造上、培養小麦稈区のめん羊は強い直射日光を受けたが、めん羊の移動

Table Ⅱ-6 Chemical compsotion of wheat straw substrate.

	After Incubation	Decomposition by incubation	Before incubation	Formula feed
Organic matter(DM%)	86.7		89.0	93.7
Crude protein(DM%)	4.6		3.6	19.7
Ether extracrs(DM%)	1.1		1.8	4.3
Carbohydrate(DM%)	81.0		84.2	69.7
Acid detergent lignin(DM%)	9.4	23.3.	9.2	
Cellulose (DM%)	37.5	34.2	42.7	
Hemicellulose(DM%)	20.3	44.2	27.3	

Table Ⅱ-7 Nutrient composition(DM%) of wheat substrates and fomula feed.

	Wheat straw		Fomula feed
	After incubatiin	Before incubatiion	
Digestible crude protein	0.3	0.0	16.1
Total digestible nutrients	42.2	45.1	83.5

Table Ⅱ-8 Intake of dry matter, digestible crude protein and total digestible nutrients by lamb(g/kgBW/day)

	Weeks	After incubation wheat straw			Before incubation wheat straw		
		Wheat straw	Fomula feed	Total	Wheat straw	Fomula feed	Total
Dry matter	1-3	11.7^{a}	18.9	30.6^{x}	4.0^{b}	17.8	21.8^{y}
	4-6	12.6^{a}	18.5	31.1^{x}	7.5^{b}	18.9	26.4^{y}
	7-9	13.8	19.3	33.0	10.7	19.5	30.1
	10-13	13.1^{a}	18.8	32.0	10.7^{b}	19.0	29.7
	1-13	12.7^{a}	18.8	31.5^{x}	8.4^{b}	18.8	27.2^{y}
Digestible crude protein	1-3	0.0	3.1	3.1	0.0	2.9	2.9
	4-6	0.1	3.0	3.1	0.0	3.1	3.1
	7-9	0.1	3.1	3.2	0.0	3.1	3.1
	10-13	0.1	3.1	3.2	0.0	3.1	3.1
	1-13	3.1	3.1	3.2	0.0	3.0	3.0
Total digestible nutrients	1-3	4.7^{a}	15.8	20.5^{x}	1.6^{b}	14.9	16.5^{y}
	4-6	5.4	15.4	20.8	3.7	15.7	19.4
	7-9	6.0	16.1	22.1	5.2	16.2	21.4
	10-13	5.7^{a}	15.7	21.4	4.6^{b}	15.9	20.5
	1-13	5.4^{a}	15.7	21.1^{x}	3.8^{b}	15.7	19.5^{y}

^{a,b} and ^{x,y}Mean with different superscripts within each raw differ significantly at $P<0.05$.

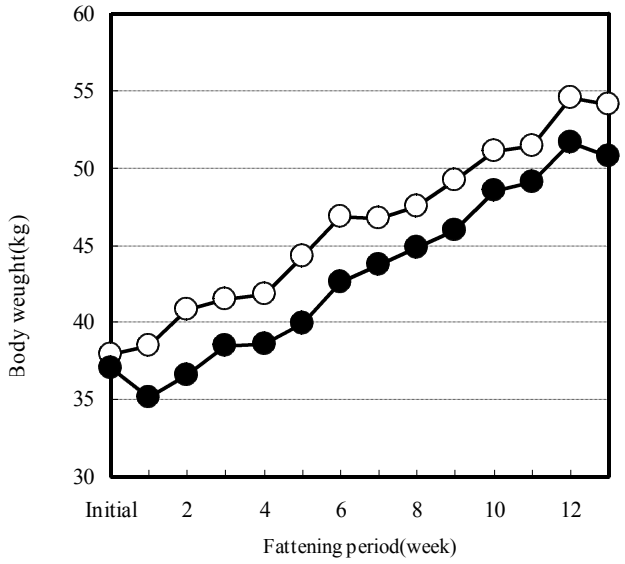


Fig. Ⅱ-1 Changes of body weight of lamb.
○;Incubated wheat straw,
●;Before incubation wheat straw.

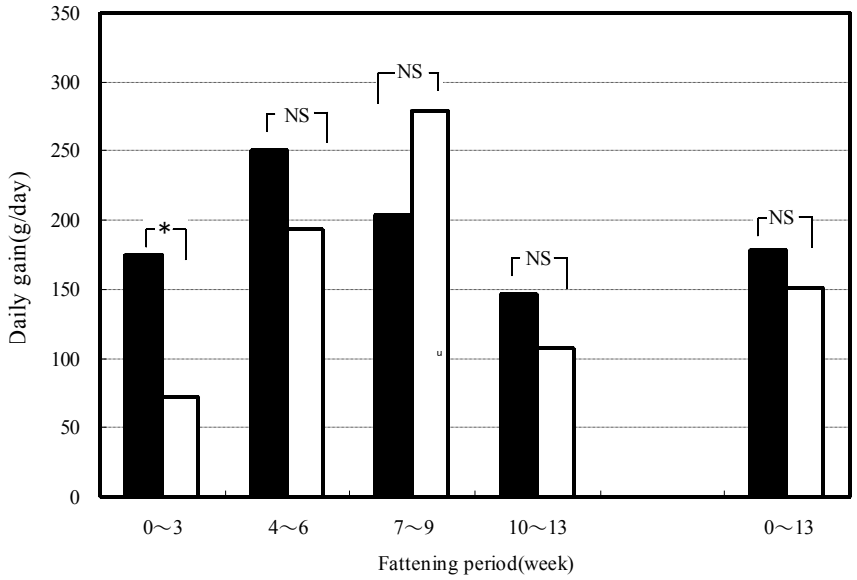


Fig. Ⅱ-2 Dairy gain of lamb
■ ; Incubated wheat straw + fomula feed, □ ; Non-incubation wheat straw+fomula. * ; P<0.05.

も遮光もできなかったため、暑熱の影響を受けたと考えられた。それ以降の 10 ～ 13 週は暑熱の影響が小さくなり、培養小麦稈区が無処理小麦稈区を上回って、最終的には前述のように培養小麦稈区が無処理小麦稈区を上回る傾向が認められた。このことは、全期間を通じて培養小麦稈区の TDN 摂取量が無処理小麦稈区のそれを 8%上回ったことが反映されたと考えられた。このように、世界で初めてタモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈を長期給与し肥育に及ぼす効果を検討したところ、本菌を培養することで小麦稈の飼料価値が改善され、子羊肥育用の粗飼料として十分利用できることが明らかとなった。

３．小括

(1) 食用きのこ（タモギタケ、ヒラタケ）の培養が小麦稈の栄養価改善におよぼす効果

我が国では初めての食用きのこ（タモギタケ Pc82-1 株、ヒラタケ TMIC30026 株）を培養した小麦稈の栄養価を in vivo 試験により評価した。その結果、両菌株ともに培養期間の経過とともに小麦稈培地の中のヘミセルロースや ADL の分解・利用量が顕著に多くなった。その一方で、セルロースの分解・利用量はヘミセルロースや ADL に比べてきわめて少なく、培地中に残存する割合は培養当初よりも高くなっていた。

めん羊による小麦稈の摂取量は両菌とも 50 日間培養することで顕著に増加し、これらの菌株の培養は大きな改善効果があることが明らかとなった。

タモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈の乾物中 TDN 含有率は 30 日間培養では無処理小麦稈より有意(P<0.05)に低くなったが、50 日間に延長することで改善される傾向が認められた。また、ヒラタケ TMIC30026 株を培養した場合の乾物中 TDN は 30 日間培養では無処理小麦稈よりやや低くなったが、50 日間に延長することで改善される傾向が認められた。このように、両菌株を小麦稈に 50 日間培養することで TDN 含有率は改善できることが明らかとなった。

小麦稈の遊星ボールミルによる粉砕抵抗（RBM）は両菌株を培養することで低下することがわかった。しかし、RBM と自由摂取量や消化率と培養期間との間の明確な相関が不明確であり、今後の課題として残された。

(2) タモギタケPc82-1株を培養した小麦稈のめん羊による消化性と肥育成績の評価

小麦稈に対するタモギタケ Pc82-1 株の培養が飼料価値の改善に及ぼす効果についてサフォーク種去勢雄子羊に長期間給与し、生体重の増加量から評価した。これは、世界でも初めての試験と思われる。

子羊に給与したタモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈の ADL 、セルロースおよびヘミセルロースは培養前（無処理）小麦稈に比べてそれぞれ 23、34 および 44%減少した。消化試験の結果、タモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈の TDN 含有率は乾物中 45%であり、無処理小麦稈の 42%と大差は認められなかった。

培養小麦稈区、無処理小麦稈区それぞれに 6 頭ずつの子羊を配置し、13 週間給与した。培養小麦稈の乾物摂取量は単独でも配合飼料を含めても無処理小麦稈区より有意(P<0.05)に多く摂取された。乾物摂取量の増加が TDN 摂取量の増加をもたらし、これが子羊の日増体量に反映された。培養小麦稈区の日増体量はで 179g であり、無処理小麦稈区の 151g に比べて 18%多かった。以上のことから、タモギタケ Pc82-1 株を培養することで小麦稈の飼料価値を改善できることが明らかとなった。これは世界初の成果である。

第Ⅲ章　小麦稈の栄養価を改善させるヒラタケ菌株の作出

１．交配による小麦稈の栄養価を改善できる新菌株の作出

序文

これまで食用きのこは子実体発生の早晩生、商品性（食味、外観）および栽培のしやすさなどを改良目標として育種してきたと考えられる。一方、本研究はきのこ培養によるわらの飼料価値改善を目的とするので、わら類に含まれる難消化性物質のリグニンを分解する力が強く、かつセルロースやヘミセルロースなどの飼料成分の分解力が弱い食用きのこの菌株を必要とする。

リグニン分解力の遺伝性について木材を用いて研究した青島[7]の報告がある。青島は、コフキサルノコシカケによる木材腐朽の実験から、ある複相（二核）菌糸の材質腐朽力の大小はそれからの単相（一核）菌糸には現れないで、この一核菌糸が和合して生ずる二核菌糸の材質腐朽力に遺伝するという。また、一核菌糸をリグニン分解力で選抜してもそれが二核菌糸に現れるとは限らないともいう。したがって、リグニン分解力が強い菌を作出するには、リグニン分解力で選抜した二核菌糸から分離した胞子を発芽させて得た一核菌糸を交配することにより目的の菌株は得られる可能性がある。しかし、このような菌株が作出されたとの報告はない。そこで本研究ではヒラタケを用いて、交配によってリグニンを分解する力が強く、かつセルロースやヘミセルロースなどの飼料成分の分解力が弱い菌株作出の可能性を検討した。ヒラタケは他の担子菌と同様ブラー現象[23,33,42,66,84,85]が認められるので、一核菌糸 × 一核菌糸の交配（mon-mon 交配）と二核菌糸 × 一核菌糸(di-mon 交配)とで新菌株の作出を試みた。

材料と方法

(1) 供試菌株とその選抜方法

供試菌株はヒラタケであり、菌株とその起源を表Ⅲ-1に示した。それらの選抜方法は以下のとおりである。まず、供試する二核菌糸は著者らのこれまでの試験結果をもとにして選抜した。すなわち、小麦稈や稲わらの Ce-DMD を改善する効果が高い菌株として選抜した TMIC30026、TMIC30027 および IPB　No.53 の 3 菌株、改善効果が低い菌株として　TMIC30034　株、およびこ

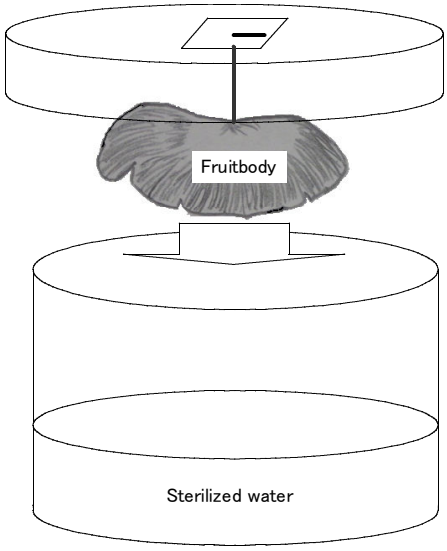
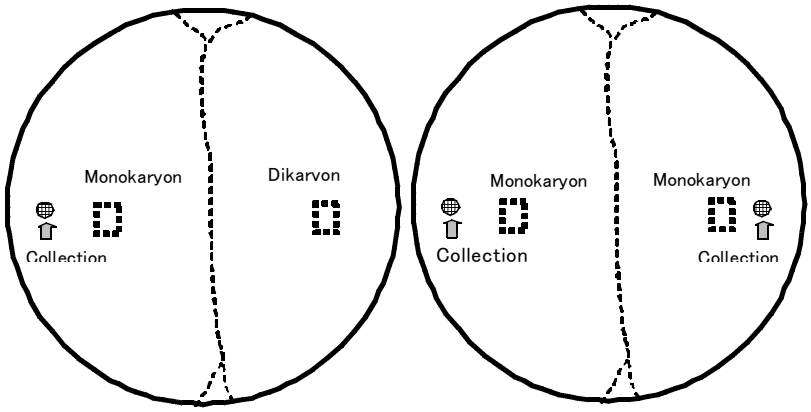


Fig.Ⅲ-1 Collection of basidiospore



Di-mon mating test　　Mon-mon mating test

Fig.Ⅲ-2 Di-mon and mon-mon mating test

れらの中間に位置する菌株として Po80-2 と Ka73-6 の 2 菌株を選抜した。次に一核菌糸は、前述６株の二核菌糸から子実体を発生させ、図Ⅲ-1 の方法で得た胞子を発芽させた菌糸のうちかすがい結合(clamp connection)がないことを確認したものである。１子実体から得られた一核菌糸から交配に用いる菌株は、菌糸伸長速度で選抜した群と小麦稈の Ce-DMD の改善効果で選抜した群のあわせて 2 群とした。

(2)交配組合せ

交配試験は、菌糸伸長速度で選抜した一核菌糸とそれらの親株を用いた試験（di-mon 交配(1)、組合せは表Ⅲ-2)、その一核菌糸を用いた試験（mon-mon 交配、組合せは表Ⅲ-6）および Ce-DMD の改善の改善効果で選抜した一核菌糸とそれらの親株を用いた交配（di-mon 交配(2)、組合せは表Ⅲ-10)の３試験を実施した。さらに、実施した２つの di-mon 交配試験から一核菌糸に対する選抜の効果を検討した。

(3)交配方法

交配の方法は図Ⅲ-2 に示したように、ペトリ皿に固めたポデトデキストロース寒天培地(PDA)の上で供試菌株を対峙培養した。両菌株が接触して約 10 日後に、接種した一核菌糸の背後から釣菌し、検鏡により clamp connection を確認してから以下に続く特性試験まで、PDA 斜面培地で保存した。

(4)作出菌株の特性試験

交配により得られた新菌株（F1）の特性は前章の方法と同様の 850ml 容栽培瓶に詰めた小麦稈培地を用いて調べた。 各 F1 の種菌はそれぞれ全粒大麦で 3 週間培養して得た。種菌の接種量は各栽培瓶あたり 5g とし、温度 25 ℃、相対湿度 75%、3 連で、60 日間培養した。培養後の小麦稈培地は乾物重量を測定した後、各々の栽培瓶ごとに分析用試料を調製し成分分析を行った。分析は化学成分のほか、消化性の指標とした Ce-DMD や各成分分析値を用いて一般組合せ能力(General combining ability;GCA)を求めた。なお、GCA の算出には宝寄山裕直氏（滝川畜産試験場；現道総研畜産試験場）のご協力を得た。

Table Ⅲ-1 Strains and its origin

Strain	The possessor	Origin
Dikaryon		
Po80-2	Hokkaido Forest Products Reseach Institute	Wild in Hokkaido Japan
IPB No.53	Forestry and Forest Products Research	USA
TMIC30026	Tottori Mycological Institute	Germany
TMIC30027	Tottori Mycological Institute	Germany
TMIC30034	Tottori Mycological Institute	Germany
Ka73-6	Hokkaido Forest Products Reseach Institute	Wild in Hokkaido Japan
Monokaryon		
TBU2- 1	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from Po80-2
TBU2- 3	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from Po80-2
TBU2- 7	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from IPB No.53
TBU2-10	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from IPB No.53
TBU2-40	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from TMIC30034
TBU2-42	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from TMIC30034
TBU2-48	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from TMIC30026
TBU2-50	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from TMIC30026
TBU2-68	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from Ka73-6
TBU2-70	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from Ka73-6
TBU2-89	Takikawa Animal Husbandry Expreiment	Single spore isolation from TMIC30027

Table Ⅲ-2 Di-mon mating combination(1) and new strain(F1)

	Donor				
Recipient	Po80-2	IPB No.53	TMIC30034	TMIC30026	Ka73-6
TBU2- 3	-	TBU1-110	TBU1-114	TBU1-118	TBU1-122
TBU2-10	TBU1-106	-	TBU1-115	TBU1-119	TBU1-123
TBU2-40	TBU1-107	TBU1-111	-	TBU1-120	TBU1-124
TBU2-48	TBU1-108	TBU1-112	TBU1-116	-	TBU1-125
TBU2-70	TBU1-109	TBU1-113	TBU1-117	TBU1-121	-

結果と考察

(1)菌糸伸長速度を指標として選抜した一核菌糸を用いた di-mon および mon-mon 交配試験

1)di-mon 交配試験(1)

一般に、担子菌の一核菌糸は di-mon 交配の場合、二核菌糸から 1 個の核を受け取るため recipient となるが、mon-mon 交配の場合は相手の一核菌糸から核を受け取る recipient になるとともに、自身の核も相手にわたすことから donor にもなる。

表Ⅲ-2 に交配組合せ、表Ⅲ-3 に交配で得られた F1 の培養による小麦稈培地の成分減少率と Ce-DMD、表Ⅲ-4 に交配に用いた一核および二核菌糸の培養による小麦稈培地の成分減少率と Ce-DMD、表Ⅲ-5 に GCA を示した。GCA はある菌株を片親に持つすべての F1 の平均値であり、すべての F1 の平均値からの偏差として示される。したがって、２つの親系統の GCA および平均値の和がそれらの間で作られる F1 群の期待値になるので、本研究では、ADL 減少率や Ce-DMD については正の値が大きくなるような、また乾物やセルロース減少率については負の値が大きくなるような交配組合せが求められる。

作出した菌株で乾物減少率がもっとも低くかった組合せは、TBU2-10 株 × Po80-2 株（以下、recipient を左に、donor を右に記す）であった。乾物減少率で GCA が低い菌株は、recipient の一核菌糸では TBU2-3 株 ($P<0.05$)、donor の二核菌糸では IPB No.53 株であった ($P<0.05$) 。

Table Ⅲ-3 Decomposition of Chemical component and dry matter degradability by celulase of wheat straw substrate(%)

Recipient X donor(F1)	Decomposition			Ce-DMD
	Dry matter	ADL	Celluloce	
TBU2-10 X Po80-2 (TBU1-106)	14.7	44.4	-1.3	39.9
TBU2-40 X Po80-2(TBU1-107)	24.3	18.5	47.4	16.7
TBU2-48 X Po80-2(TBU1-108)	18.0	46.3	-0.6	46.2
TBU2-70 X Po80-2(TBU1-109)	17.6	38.9	5.2	43.2
TBU2- 3 X IPB No.53(TBU(1-110)	21.9	51.9	2.6	46.2
TBU2-40 X IPB No.53(TBU1-111)	21.2	63.0	-7.1	53.6
TBU2-48 X IPB No.53(TBU(112)	22.0	55.6	-2.6	54.2
TBU2-70 X IPB No.53(TBU1-113)	19.9	55.6	-5.8	47.8
TBU2- 3 X TMIC30034(TBU1-114)	29.7	53.7	19.5	40.7
TBU2-10 X TMIC30034(TBU1-115)	42.1	57.4	56.5	34.3
TBU2-48 X YMIC30034(TBU1-116)	29.9	63.0	9.7	52.3
TBU2-70 X TMIC30034(TBU1-117)	38.0	66.7	35.7	40.6
TBU2- 3 X TMIC30026(TBU1-118)	20.2	50.0	8.4	40.3
TBU2-10 X TMIC30026(TBU1-119)	24.7	61.1	1.9	50.3
TBU2-40 X TMIC30026(TBU1-120)	45.1	68.5	53.2	37.5
TBU2-70 X TMIC30026(TBU1-121)	36.9	57.4	41.6	34.5
TBU2- 3 X Ka73-6(TBU1-122)	24.1	53.7	6.5	46.6
TBU2-10 X Ka73-6(TBU1-123)	19.5	57.4	-1.3	48.5
TBU2-40 X Ka73-6(TBU1-124)	43.8	68.5	51.9	39.4
TBU2-48 X Ka73-6(TBU1-125)	28.6	57.4	18.2	43.9
Mean value of F1 of which donor is Po80-2	18.7	37.0	12.7	36.5
Mean value of F1 of which donor is IPB No.53	21.2	56.5	-3.2	50.5
Mean value of F1 of which donor is TMIC30034	34.9	60.2	30.4	42.0
Mean value of F1 of which donor is TMIC30026	34.9	60.2	30.4	42.0
Mean value of F1 of which donor is Ka73-6	29.0	59.3	18.8	44.6
Mean value of F1 of which recipient is TBU2- 3	24.0	52.3	9.3	43.5
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-10	25.3	55.1	14.0	43.3
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-40	33.6	54.6	36.4	36.8
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-48	24.6	55.6	6.2	49.2
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-70	28.1	54.7	19.2	41.5

Table Ⅲ-4 Decomposition of chemical components and degradability by cellulaze on wfeat straw during the incubation with di- and monokaryons (%)

Strain	Decomposition			Ce-DMD
	Dry matter	ADL	Celluloce	
TBU2- 3	26.0	42.6	27.3	32.1
TBU2-10	35.6	44.4	56.5	29.4
TBU2-40	39.5	53.7	55.8	31.4
TBU2-48	32.4	50.0	37.7	35.2
TBU2-70	32.8	51.9	40.9	38.8
Po80-2	20.4	50.0	6.5	42.9
IPB No.53	24.3	50.0	6.5	47.3
TMIC30034	38.6	61.1	4.8	32.0
TMIC30026	26.2	57.4	1.3	49.0
Ka73-6	38.9	63.0	14.9	48.9
Monokaryon	33.3	48.5	43.6	33.4
Dikaryon	29.7	56.3	6.8	44.0

Table Ⅲ-5 General combining ability(GCA) of recipient and donor on mating test(1)

	Strain	Decompositin(%)			Ce-DMD[3)]
		DM[1)]	ADL[2)]	Celluloce	
Recipient	TBU2- 3	-5.59 d	-6.91	-9.39	1.03
	TBU2-10	-3.54 cd	1.22	-8.62	2.47
	TBU2-40	9.01a	1.72	24.33	6.67
	TBU2-48	-1.44 bc	2.48	-9.04	6.15
	TBU2-70	1.57 b	1.49	2.83	-0.93
Donor	Po80-2	-9.85 c	-19.15 c	-6.65	-6.59
	IPB No.53	-6.77 c	2.38 b	-2.36	8.23
	TMIC30034	10.07a	6.18a	19.43	-2.53
	TMIC30026	4.26 b	5.42ab	2.03	-0.65
	Ka73-6	2.29 b	5.17ab	2.55	1.53
	Ave.	27.11	54.45	16.98	42.84
	CV(%)	22.26	14.92	102.36	17.38
	R	0.871	0.842	0.801	0.746

1) DM:dry matter
2) ADL:acid detergent lignin
3) Ce-DMD；dry matter degradability by cellulase
abcd, GCA with different superscripts within each raw differ significantly at $P<0.05$

Table Ⅲ-6 Moni-mon mating combination and new strain(F1)

	Donor				
Recipient	TBU2- 3	TBU2-10	TBU2-40	TBU2-48	TBU2-70
TBU2- 3	-	TBU1-78	TBU1-82	TBU1- 98	TBU1-102
TBU2-10	TBU1-74	-	TBU1-83	TBU1- 99	TBU1-103
TBU2-40	TBU1-75	TBU1-79	-	TBU1-100	TBU1-104
TBU2-48	TBU1-76	TBU1-80	TBU1-84	-	TBU1-105
TBU2-70	TBU1-77	TBU1-81	TBU1-85	TBU1-101	-

ADL 減少率がもっとも高かった組合せは TBU2-40 株 × TMIC30026 株および TBU2-40 株 × Ka73-6 株であった。TBU2-40 株による ADL 減少率は供試した一核菌糸の中でもっとも高く、Ka-73-6 株と TMIC30026 株は供試した二核菌糸中 1 番と 3 番に位置していた。ADL 減少率における GCA が高い菌株は、recipient では TBU2-48 株、donor は TMIC30034 株であった (P<0.05)。これにより、ADL 分解力が強い菌と交配することでさらに ADL 分解力が強い菌株を作出できる可能性が示唆された。 IPB No.53 株を donor とした F1 はセルロース減少率が低い傾向が認められ、逆に、TBU2-40 株を recipient に、TMIC30034 株を donor とした場合の F1 はセルロース分解率が高い傾向にあった。乾物減少率や ADL 減少率における一核菌糸の GCA には有意差が認められたが、セルロース減少率では認められなかった。TBU2-40 株は TMIC30034 より単胞子分離して得た一核菌糸であることから、セルロース分解率の低い菌株はセルロース分解率が低い菌株同士の交配により得られる可能性が示された。

Ce-DMD がもっとも高かった組合せは TBU2-48 株 × IPB No.53 株であった。TBU2-48 株は TMIC30026 株から単胞子分離して得た一核菌糸である。Ce-DMD における GCA が高かった菌株は recipient が TBU2-48 株、donor は IPB No.53 株であった。donor とした二核菌糸

の間には有意差が認められた(P<0.05)が、一核菌糸の間では認められなかった。これらのことから、Ce-DMD を高くする菌株を得るためには Ce-DMD を高める親株を用いることが有効であることが示唆された。

本研究で得られた ADL 減少率が高く、セルロース減少率が低く、かつ Ce-DMD の改善能力が高い組合せは TBU2-48 株× IPB No.53 株であった。白色腐朽菌のひとつであるコフキサルノコシカケを用いた青島[7]の報告によると、ある複相（二核）菌糸の材質腐朽力の大小はそれからの単相（一核）菌糸には現れないで、この一核菌糸が和合して生ずる二核菌糸の材質腐朽力に遺伝するという。本研究においても、リグニン分解力が強い菌株を交配することで両親よりも強い分解力を有し、セルロース分解力が低くかつ Ce-DMD を改善できる菌株を作出できる可能性が示された。

2)mon-mon 交配試験

表Ⅲ-6 に交配組合せ、表Ⅲ-7 に交配で得られた F1 の培養による小麦稈培地の成分減少率と Ce-DMD、表Ⅲ-8 に、交配に用いた一核および二核菌糸の培養による小麦稈培地の成分減少率と Ce-DMD、表Ⅲ-9 に GCA を示した。

乾物減少率がもっとも低かった組合せは TBU2-48 株 × TBU2-3 株であった。乾物減少率における GCA が低かった一核菌糸は TBU2-3 株と TBU2-10 株であった。一方、Donor としての一核菌糸の GCA には有意差が認められた
(P<0.05)。一核菌糸の recipient としての GCA は donor とした場合とほぼ同じ傾向であったものの、統計的に有意な菌株間差は認められなかった。

Table Ⅲ-7 Decomposition of chemical component and dry matter degradability by celulase of wheat straw substrate during tha incubation of mon-mon mating new strain(%)

Recipient X donor(F1)	Decomposition			Ce-DMD
	Dry matter	ADL	Celluloce	
TBU2-10 X TBU2- 3 (TBU1-74)	23.2	59.3	5.2	45.8
TBU2-40 X TBU2- 3(TBU1-75	28.2	53.2	14.9	35.0
TBU2-48 X TBU2- 3(TBU1-76)	15.0	48.1	-1.9	42.5
TBU2-70 X TBU2- 3(TBU1-77)	22.6	51.9	5.2	43.0
TBU2- 3 X TBU2-10(TBU1-78)	21.1	53.7	0.0	44.5
TBU2-40 X TBU2-10 (TBU1-79)	24.5	27.8	43.5	21.5
TBU2-48 X TBU2-10(TBU(1-80)	25.2	59.3	0.6	48.9
TBU2-70 X TBU2-10(TBU1-81)	19.8	51.9	0.0	38.6
TBU2- 3 X TBU2-40(TBU1-82)	29.2	55.6	21.4	34.8
TBU2-10 X TBU2-40(TBU1-83)	29.2	48.1	32.5	27.7
TBU2-48 X TBU2-40(TBU1-84)	34.7	64.8	31.8	34.9
TBU2-70 X TBU2-40(TBU1-85)	45.8	68.5	33.1	35.9
TBU2- 3 X TBU2-48(TBU1-98)	17.2	50.5	-0.6	42.0
TBU2-10 X TBU2-48(TBU1-99)	23.4	61.1	-1.9	49.4
TBU2-40 X TBU2-48(TBU1-100)	36.8	63.0	29.9	37.7
TBU2-70 X TBU2-48(TBU1-101)	32.1	63.0	25.3	35.0
TBU2- 3 X TBU2-70(TBU1-102)	21.3	51.9	6.5	43.8
TBU2-10 X TBU2-70(TBU1-103)	24.5	55.1	39.0	42.6
TBU2-40 X TBU2-70(TBU1-104)	45.8	68.5	54.5	34.8
TBU2-48 X TBU2-70(TBU1-105)	35.1	59.3	34.3	34.0
Mean value of F1 of which donor is TBU2- 3	22.3	53.1	5.9	41.6
Mean value of F1 of which donor is TBU2-10	22.7	48.2	11.0	38.4
Mean value of F1 of which donor is TBU2-40	34.7	59.3	29.7	33.3
Mean value of F1 of which donor is TBU2-48	34.7	59.3	29.7	33.3
Mean value of F1 of which donor is TBU2-70	31.7	58.7	33.6	38.8
Mean value of F1 of which recipient is TBU2- 3	22.2	52.9	6.8	41.3
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-10	25.1	55.9	18.7	41.4
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-40	33.8	53.1	35.7	32.3
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-48	27.5	57.9	16.2	40.1
Mean value of F1 of which recipient is TBU2-70	30.1	58.8	15.9	38.1

Table Ⅲ-8 Decomposition of chemical components and degradability by cellulaze on wfeat straw during the incubation with monokaryons and its parents (%)

Strain	Decomposition			Ce-DMD
	Dry matter	ADL	Celluloce	
TBU2- 3	22.8	24.1	35.1	42.9
TBU2-10	31.4	35.2	50.6	47.3
TBU2-40	42.4	61.1	48.7	32.0
TBU2-48	36.4	46.3	24.0	49.0
TBU2-70	33.8	48.1	45.5	48.9
Po80-2	18.9	48.1	-1.9	43.2
IPB No.53	23.0	61.1	-2.6	48.7
TMIC30034	39.3	66.7	38.3	30.2
TMIC30026	23.7	61.1	-1.9	45.6
Ka73-6	33.3	58.8	26.0	45.0

Table Ⅲ-9 GCA of recipient and donor on mon-monn mating test

	Strain	Decompositin(%)			Ce-DMD[3)]
		DM[1)]	ADL[2)]	Celluloce	
Recipient	TBU2- 3	-7.54	-3.57	-16.05d	3.60
	TBU2-10	-4.37	-2.44	-2.01bc	2.87
	TBU2-40	8.36	-1.59	21.11a	-8.23
	TBU2-48	0.19	3.48	-4.07c	2.17
	TBU2-70	3.37	4.13	1.03b	-0.42
Donor	TBU2- 3	-7.51 d	-3.31	-16.83c	3.84
	TBU2-10	-6.31 d	-7.98	-8.15b	0.53
	TBU2-40	9.62a	3.31	16.31a	-7.37
	TBU2-48	-0.45 c	4.60	-6.51b	2.93
	TBU2-70	4.65 b	3.39	15.19a	0.06
	Average	27.87	55.55	18.67	38.64
	CV(%)	19.03	17.31	50.26	15.32
	R	0.884	.597	0.917	0.759

1) DM:dry matter

2) ADL:acid detergent lignin

3)Ce-DMD；dry matter degradability buy cellulace

abcd, GCA with different supersucripts within each raw differ significantly at P<0.05

ADL 減少率がもっとも高かった組合せは TBU2-48 株 × TBU2-70 株であり、これらの親株よりもとくに高かった。ADL 減少率の GCA においては供試菌株間に有意差が認められなかった。

Ce-DMD を改善させた組合せは TBU2-10 株 × TBU2-48 株であり、mon-mon 交配によっても本研究の目的に沿う菌株を作出できることが示唆された。

本研究では、6 株の二核菌糸から発生させた子実体が放出した胞子を発芽させて得た一核菌糸について、２つの特性で選抜した 2 群を作成した。これらを mon-mon 交配することで、細胞質が別で同じ核を持つ二核菌糸を得た。つまり、TBU2-3 株 × TBU2-40 株と TBU2-40 株 × TBU2-3 株のように recipient と donor を交換した菌株を得たが、F1 の特性に大差が認められなかった。このことから、F1 を採取するには、正逆どちらか一方からでも良い可能性が示唆された。

mon-mon 交配により得られた F1 のある形質が組合せの正逆において差が検出されたとすると、核が同一であることから、その形質は細胞質遺伝と推定されるが、正逆で差が認められなければ核質遺伝であると推定される。本研究で取り上げた形質は resipient と donor を交換しても大差が認められなかったことから、これら各形質は核質遺伝するものと推定された。

(2)Ce-DMD の改善で選抜した一核菌糸を用いた di-mon 交配試験（di-mon 交配試験(2)）

表Ⅲ-10 に交配組合せ、表Ⅲ-11 に交配で得られた F1 の培養による小麦稈培地の成分減少率と Ce-DMD、表Ⅲ-12 に交配に用いた一核および二核菌糸の培養による小麦稈培地の成分減少率と Ce-DMD、表Ⅲ-13 に GCA を示した。

乾物減少率がもっとも低かった組合せは TBU2-68 株 × Po80-2 株であった。乾物減少率を低くさせる recipient は TBU2-42 株、donor は IPB No.53 株であり、これらの GCA は一核菌糸間、二核菌糸間で有意差が認められた(P<0.05)。

ADL 減少率が最も高かった組合せは TBU2-42 株 × TMIC30026 株と TBU2-42 株 × TMIC30027 株であった。ここで、GCA が高い菌株は、donor が TMIC30034 株、recipient が TMIC30034 株の胞子から分離・採取した TBU2-42 株であった。しかし、TBU2-42 株は GCA

Table Ⅲ-10 Doni-mon mating combination(2) and new strain(F1)

	Donor					
Recipient	Po80-2	IPB.No.53	TMIC30034	TMIC30026	Ka73-6	TMIC30027
TBU2- 1	-	TBU1-144	TBU1-149	TBU1- 154	TBU1-159	TBU1-164
TBU2- 7	TBU1-139	-	TBU1-150	TBU1- 155	TBU1-160	TBU1-165
TBU2-42	TBU1-140	TBU1-145	-	TBU1- 156	TBU1-161	TBU1-166
TBU2-50	TBU1-141	TBU1-146	TBU1-151	-	TBU1-162	TBU1-167
TBU2-68	TBU1-142	TBU1-147	TBU1-152	TBU1-157	-	TBU1-168
TBU2-89	TBU1-143	TBU1-148	TBU1-153	TBU1-158	TBU1-163	-

からみて乾物やセルロースの分解率を顕著に高める特性を持つと推察されたことから、本研究の目的に沿う有用菌株とはいえず、ここでは TBU2-50 株を有用菌株とした。

Ce-DMD がもっとも高かった組合せは TBU2-50 株 × IPB No.53 株であった。TBU2-50 株の GCA は recipient とした一核菌糸のなかでもっとも高く、IPB No.53 株も二核菌糸の中では 2 番目に高かった。したがって、これら 2 株が有用菌株と考えられた。

本研究では(1)と(2)の試験結果から交配に用いる菌株をあらかじめ選抜することの意義を見出そうとしたが、２群の一核菌糸の間に大差は認められなかった。これは先に紹介した青島[7]がいうように、一核菌糸をリグニン分解力で選抜してもそれが二核菌糸に現れるとは限らないことを裏付けたと考えられる。ADL 減少率が高く、セルロース分解率が低く、Ce-DMD の改善効果がより高い菌株を作出するためには、まず、選抜された二核菌糸を用い、それから得られた一核菌糸と交配することになるだろう。

リグニンやセルロースの分解力の遺伝について参考となる報告は数少ないがある。しかし、培地（基質）をわら類にしてその栄養価を改善させることを目的とした報告は、おそらく、本報告が初めてであろう。用いた菌株は 6 株と遺伝性を検討するには数が少ないことから、本研究の成果で交配により有用菌株が得られると断定することは早計である。今後、多くの追試験が必要である。

なお、本研究で得られた F1 の中から、TBU2-50 株 × IPB No.53 株（TBU1-146 株）を選抜し、大量培養して栄養価の改善効果を調べることにした。

以上のことから、リグニン分解力や Ce-DMD 改善効果で選抜した菌株の交配によりさらに有用な菌株が得られる可能性が示唆された。

Table Ⅲ-11 Decomposition of chemical component and dry matter degradability by celulase of wheat straw substrate during tha incubation of di-mon mating (2) new strain(%)

Recipient X donor(F1)	Decomposition			Ce-DMD
	Dry matter	ADL	Celluloce	
TBU2- 7 X Po80-1 (TBU1-139)	20.8	37.9	14.9	44.0
TBU2-42 X Po80-2(TBU1-140)	40.3	57.8	39.8	40.8
TBU2-50 X Po80-2(TBU1-141)	22.6	52.5	15.7	52.0
TBU2-68 X Po80-2(TBU1-142)	14.1	19.4	4.5	35.1
TBU2-89 X Po80-2(TBU1-143))	20.4	49.1	11.1	49.8
TBU2- 1 X IPB No.53(TBU1-144)	31.2	52.5	28.6	44.9
TBU2-42 X IPB no.53(TBU(1-145)	24.4	43.8	33.7	37.4
TBU2-50 X IPB No.53(TBU1-146)	22.2	49.4	7.5	54.4
TBU2-68 X IPB No.53(TBU1-147)	26.3	47.9	21.9	48.4
TBU2-89 X IBP No.53(TBU1-148)	24.7	51.7	17.1	50.2
TBU2- 1 X TMIC30034(TBU1-149)	30.9	52.4	31.1	43.9
TBU2- 7 X TMIC30034(TBU1-150)	36.3	51.3	42.8	37.7
TBU2-50 X TMIC30034(TBU1-151)	39.5	56.1	43.3	40.0
TBU2-68 X TMIC30034(TBU1-152)	38.7	58.4	43.6	39.6
TBU2-89 X TMIC30034(TBU1-153)	37.4	56.2	41.2	35.8
TBU2- 1 X TMIC30026(TBU1-154)	22.5	48.2	13.4	46.9
TBU2- 7 X TMIC30026(TBU1-155)	20.4	43.9	18.9	50.5
TBU2-42 X TMIC30026(TBU1-156)	39.6	60.7	43.0	42.1
TBU2-68 X TMIC30026(TBU1-157)	34.8	55.0	37.6	43.9
TBU2-89 X TMIC30026(TBU1-158)	17.1	45.9	10.6	50.5
TBU2- 1 X Ka73-6(TBU1-159)	28.9	47.8	27.7	45.0
TBU2- 7 X Ka73-6(TBU1-160)	25.2	49.0	20.9	47.3
TBU2-42 X Ka73-6(TBU1-161)	38.4	56.1	45.9	37.9
TBU2-50 X Ka73-6(TBU1-162)	29.1	54.9	27.1	46.4
TBU2-89 X Ka73-6(TBU1-163)	33.8	58.2	36.2	47.5
TBU2- 1 X TMIC30027(TBU1-164)	22.0	34.6	19.9	42.4
TBU2- 7 X TMIC30027(TBU1-165)	21.9	50.3	22.5	51.3
TBU2-42 X TMIC30027(TBU1-166)	42.2	60.7	49.3	38.5
TBU2-50 X TMIC30027(TBU1-167)	21.6	48.2	15.2	51.3
TBU2-68 X TMIC30027(TBU1-168)	27.6	52.5	23.5	49.1
Mean value of F1 of which donor is Po80-2	23.6	43.3	17.2	44.3
Mean value of F1 of which donor is IPB No.53	25.8	49.1	21.8	47.1
Mean value of F1 of which donor is TMIC30034	36.6	54.9	40.4	39.4
Mean value of F1 of which donor is TMIC30026	26.9	50.7	24.7	46.8
Mean value of F1 of which donor is Ka73-6	31.1	53.2	31.6	44.8
Mean value of F1 of which donor is TMIC30027	27.1	49.3	26.1	46.5
Mean value of F1 of which donor is TBU2- 1	27.1	47.1	24.1	44.6
Mean value of F1 of which donor is TBU2- 7	24.9	46.5	24.0	46.2
Mean value of F1 of which donor is TBU2-42	37.0	55.8	42.3	39.3
Mean value of F1 of which donor is TBU2-50	27.0	52.2	21.8	48.8
Mean value of F1 of which donor is TBU2-68	28.3	46.6	26.2	43.2
Mean value of F1 of which donor is TBU2-89	26.7	52.2	23.2	46.8

Table Ⅲ-12 Decomposition of chemical components and degradability by cellulaze on wfeat straw during the incubation with di- and monokaryons (%)

Strain	Decomposition			Ce-DMD
	Dry matter	ADL	Celluloce	
TBU2- 1	18.8	47.1	19.3	17.8
TBU2- 7	25.0	46.5	29.7	45.2
TBU2-42	26.1	55.8	25.9	43.3
TBU2-50	24.7	52.2	20.1	48.3
TBU2-68	23.5	46.6	19.0	44.9
TBU2-89	25.0	52.2	22.2	49.9
Po80-2	19.8	43.6	15.1	47.5
IPB No.53	22.0	44.8	13.1	46.7
TMIC30034	38.8	55.0	38.5	37.7
TMIC30026	26.3	50.6	26.7	48.4
Ka73-6	23.5	44.7	19.8	47.8
TMIC30027	22.6	42.6	8.6	45.9
Monokaryon	23.9	50.1	22.7	41.6
Dikaryon	25.5	46.9	20.3	45.7

Table Ⅲ-13 General combining ability(GCA) of recipient and donor on di-mon mating test(2)

	Strain	Decompositin(%)			Ce-DMD[3)]
		DM[1)]	ADL[2)]	Celluloce	
Recipient	TBU2- 1	-2.51 bc	-4.59	-6.37	-0.28 bc
	TBU2- 7	-4.12 cd	-3.61	-13.28	1.78ab
	TBU2-42	10.47a	6.88	54.82	-6.83 d
	TBU2-50	-1.90 bc	2.35	14.06	4.60a
	TBU2-68	0.30 b	-3.02	-8.65	-1.67 c
	TBU2-89	-2.24 bc	1.98	-12.45	2.41ab
Donor	Po80-2	-5.38 d	-7.72 d	23.95	-0.53 b
	IPB.No.53	-3.60 cd	-1.79 c	-14.21	2.64a
	TMIC30034	10.12a	6.11a	18.05	-6.78 c
	TMIC30026	-1.82 c	1.45 bc	-12.63	2.78a
	Ka73-6	2.60 b	2.44 b	-3.44	-0.31 b
	TMIC30027	-1.93 c	-0.49 bc	-11.72	2.21a
	Average	28.54	50.13	33.28	44.79
	CV(%)	21.41	18.39	170.71	11.95
	R	0.755	0.549	0.467	0.677

1) DM:dry matter
2) ADL:acid detergent lignin
3) Ce-DMD ; dry matter degradability by cellulase
abcd, GCA with different superscripts within each raw differ significantly at $P<0.05$

２．新ヒラタケTBU1-146株を培養した小麦稈を給与しためん羊の自由摂取量および消化率の改善効果

序文

Sharma[54]はヒラタケ hybrid 株(*P. ostreatus* × *P. floridanus*)は他のヒラタケよりもよく亜麻残渣を分解したと報告している。しかし、この菌株がリグニン分解力の改善を目的に作出された菌株か否かについては記述がない。本研究では、わら類の栄養価を改善するためにリグニン分解力が強く、かつセルロースなど有用成分をなるべく分解しない菌株の作出をめざした。前項ではいくつかの交配試験によって本研究の目的にかなう菌株を作出・選抜した。それがヒラタケ TBU1-146 株である。TBU1-146 株は *in vitro* 手法で栄養価の改善が見込まれるとして選抜したが、*in vivo* でも小麦稈の栄養価や摂取量が改善できるか検討した。

材料と方法

供試菌株は前項で作出したヒラタケ TBU1-146 株で、参考菌株として、前項で Ce-DMD の改善効果が小さかった TBU1-169 株を用いた。種菌は前項までの試験と同様、それぞれ全粒大麦に 3 週間培養したものである。なおヒラタケ TBU1-146 株を培養した小麦稈を 146WS、TBU1-169 株を培養した小麦稈を 169WS とする。小麦稈培地の調製や培養条件は前章と同様にした。培養後の小麦稈培地の成分分析法についても前章と同様にした。消化率および自由摂取量の測定にはめん羊４頭（体重 53.6 ～ 66.6kg）を供試し、本菌を培養した小麦稈培地を自由摂取させた。摂取乾物中の粗タンパク質含有率が 12%以上になるように大豆粕を併給した。固形塩、水は自由摂取させた。試験期間は、馴致、予備、本期とも 7 日間とし、糞は本期中の全量を採取した。無処理の小麦稈（以下、WS)についても同様にして栄養価を測定した。

結果と考察

表Ⅲ-14 に 146WS、169WS および WS の化学成分含有率および減少率を示した。146WS、169WS の乾物回収率はそれぞれ 12、 11%であった。146WS における培地成分の減少傾向を 169WS と比較すると、ADL 減少率がやや高く、その一方でセルロース減少率が顕著に低く、ヘミセルロース減少率はほぼ同等であったことから、TBU1-146 株はリグニンを多く分解する菌株であることが確認された。

146WS、169WS および WS のめん羊による消化率を表Ⅲ-15 に示した。それによると、146WS の乾物、有機物および主成分である炭水化物の消化率のいずれもが WS よりも有意に高かった($P<0.05$)。一方 169WS の乾物、有機物および炭水化物の消化率は WS よりも有意に低かった($P<0.05$)。同じ表にめん羊による各培地の自由摂取量を示した。TBU1-146 株の培養により、めん羊による可消化乾物および可消化有機物の自由摂取量は WS に比べて有意に増加した($P<0.05$)。算出された 146WS、169WS および WS の TDN 含有率はそれぞれ 51、42、40%で 146WS が有意に高く($P<0.05$)、したがって TDN 摂取量も 146WS が 169WS や WS より有意に多かった($P<0.05$)。

Table Ⅲ-14 Chemical composition and its decomposition of wheat straw substrates incubated with *Pleurotus ostreatus* new strain TBU1-146.

	TBU1-146		TBU1-169		Composition of before incubation wheat straw(DM%)
	Composition (DM%)	Decomposition (%)	Composition (DM%)	Decomposition	
Dry matter		87.9		79.9	
Organic matter	89.0	12.2	87.0	22.0	89.1
Crude protain	4.6	-11.1	4.6	-2.8	3.6
Ether extracts	1.1	0.0	1.3	0.0	1.0
Carbohydrate	84.3	12.3	81.1	23.3	84.5
Cellulose	44.6	9.3	38.6	28.7	43.2
Hemicellulose	19.9	35.2	20.7	38.9	27.0
Acid detergent lignin	7.5	33.3	8.8	29.3	9.9

Table Ⅲ-15 Apparent digestibility and voluntary intake of wheat straw substrates by sheep before and after incubatio with *Pleurotus ostreatus* new strain TBU1-146

Strains	TBU1-146	TBU1-169	Befor incubation wheat straw
Apparent digestibility(%)			
Dry matter	46.4a	36.6c	41.9b
Organic matter	51.0a	41.1c	45.5b
Crude protain	18.6	6.9	1.6
Ether extracts	8.0	14.6	3.9
Carbohydrate	58.9a	48.4c	53.8b
Voluntary intake(g/kgBW)			
Dry matter	19.8a	15.9ab	14.5b
Digestible dry matter	9.1a	5.8c	6.7b
Digestible organic matter	9.0a	5.7b	5.9b
Total digestible nutrients	10.1a	6.6b	5.9b

[a,b,c] Values in the same line with different superscript letters differ (P<0.05)

以上のことから、本研究で作出した TBU1-146 株はその培養により小麦稈の栄養価を顕著に改善する有用菌株であることが確認された。

本研究で菌株の選抜は栽培瓶を用いた小規模培養の小麦稈培地についてセルロース、ヘミセルロース、ADL の減少率およびセルラーゼによる乾物分解率を指標としたが、それで選抜した菌株の培養効果がめん羊を用いた *in vivo* 試験においても確認され、本研究の手法で選抜した有用な菌株の培養によって小麦稈の栄養価や自由摂取量を改善できることが明らかとなった。

これまでも hybrid の菌株でリグニンを分解できたとの報告はあるが[54]、その菌株の由来に関する記載はない。緒言に記したように、そもそも、食用きのこを培養した小麦稈の栄養価を *in vivo* で検討した報告が極めて少ない。本研究は交配によってリグニン分解力が強くかつセルロースの分解が少ない画期的な菌株を作出し、それを小麦稈に培養することで栄養価や自由摂取量を改善したことに新規性があるといえる。

３．小括

(1) 交配による小麦稈の栄養価を改善できる新菌株の作出

わら類に含まれる難消化性物質であるリグニンを効率よく分解してその消化性を改善できる菌株を得るため、２つの di-mon 交配試験と１つの mon-mon 交配試験による新菌株の作出を試みた。その結果、リグニン分解力や Ce-DMD 改善効果で選抜した二核菌糸の交配によりさらに有用な菌株が得られる可能性が示唆された。mon-mon 交配試験において、正逆の組合せ間に大差が認められないことから、リグニン分解力や Ce-DMD 改善効果は核質遺伝することが示唆された。

本研究で得られた新菌株から TBU1-146 株を選抜し、それを小麦稈に培養して消化試験による栄養価を査定することにした。

(2) 小麦稈に対する新ヒラタケTBU1-146の培養がめん羊における自由摂取量および消化率の改善に及ぼす影響

前項で作出したヒラタケ新菌株 TBU1-146 株の小麦稈に対する栄養価改善効果が *in vivo* で確認するため 4 頭のめん羊を用いた消化試験を行った。その結果、本菌株の培養により消化性が有意に改善され($P<0.05$)、自由摂取量も有意に増加した($P<0.05$)。

本菌株の選抜はセルラーゼを用いた *in vitro* 試験で行ったが、選抜された菌株の培養によって *in vivo* 試験においても小麦稈の栄養価改善効果が認められ、有用菌株作出の意義は、食用きのこ（ヒラタケ）の培養で小麦稈を栄養価の高い飼料に変換するうえできわめて重要であることが明らかとなった。

第Ⅳ章　総合考察

本研究の成果をもとに、北海道十勝において小麦稈に食用きのこを培養するシステムと、それを子羊に給与することによる乾草の節減量について説明する。食用きのことしてはタモギタケを用いることとする。

Eder[12]の報告を参考にしつつ、以下に小麦稈に対するタモギタケの培養法ついて考察する。

1.小麦稈培地に対する前処理

Eder[12]はヒラタケ栽培会社を運営するうえで、培養の前処理についての実際的な課題を工程にそって 4 点あげている。

1)培地材料の購入と貯蔵

2)輸送と取り扱い

3)細断と水漬

4)加熱処理または発酵

この会社では小麦稈を 1 日に 15t、年間で数千 t を使ってヒラタケを栽培している。この工程に沿って、北海道十勝（以下、十勝）で展開が可能な食用きのこ培養による小麦稈の飼料価値改善システムについて述べる。飼料調製だけでは経営が成り立たないと考えられることから、タモギタケ子実体を収穫した場合についても考察する。

(1)培地材料の購入と貯蔵

十勝の小麦栽培面積は約 46,000ha であり、そこから 16,500t の小麦を生産している[19]。小麦稈の収量は穀実とほぼ同量であることから、小麦稈の産出量も 16,500t と推定される。小麦稈の培養拠点（以下、培養拠点）は、小麦の主産地が十勝中部の数町村であることから、小麦稈を買い付け、輸送する距離も少なくてすむ十勝中部が適当であろう。次に貯蔵場所とその方法が課題となる。十勝で小麦は通常 7 ～ 8 月の間のほぼ 2 週間で収穫を終了し、小麦稈は農家あるは販売業者によって直ちにロールベールにして圃場から搬出される。小麦稈の収穫はこの限られた期間に集中するが、培養拠点ではそれを徐々に調製するため、巨大な貯蔵場所が必要となる。貯蔵中の小麦稈が水に濡れるとそこからヒトヨタケ(*Coprinus* sp.)のような繊維分解性のきのこや *Mucor* sp. などのカビによって損耗する場合が多い[12]。少なくとも簡易な防水手段が必要である。

(2)輸送と取り扱い

Eder[12]は輸送と取り扱いの容易さからロールベールがもっとも適当として専用の機械を開発・供用しているが、十勝では小麦稈をロールベールにして取り扱っていることから、必要な機械や技術に問題はない。

(3)細切と水漬

本研究では、小麦稈を 3cm に細切し、きのこ栽培袋に詰めた。しかし、この方法では乾物重量にして 350g 程度しか詰めることができないため、限られた容器や場所で乾物密度を高めた培養をするならば小麦稈を数 mm 程度に粉砕する必要がある。

タモギタケも他の食用きのこと同様、培地の水分を 65%[32,34]に調節する必要がある。瀧澤[60]は握った手から水がにじむ程度としている。本研究では必要な水分を加えた後よく撹拌・混合した後 1 昼夜堆積してなじませてからきのこ栽培袋に詰めた。Eder[12]も 1 日堆積している。

(4)加熱処理

Eder[12]は種菌接種の前に、培地自体を発酵させ、発酵熱を利用して雑菌を処理し、その後、培養用の袋（寸法は記載されていない）に詰めている。本研究できのこ栽培袋の滅菌は装置の仕様から 110 ℃、1 時間としたが、試験の結果から常圧の 100 ℃、1 時間で可能である。なお、稲わらを培地とする場合は 100 ℃では難しいであろう（第Ⅰ章３.）。

2.小麦稈培地に対するタモギタケの培養

前項では、タモギタケを念頭においた小麦稈培地の前処理について述べた。次に、調製された小麦稈培地に対するタモギタケ培養について述べる。

(1)種菌の接種

本研究では全粒大麦に供試菌を拡大培養したものを種菌とした。現行のタモギタケ栽培では菌を培養したおが屑を自動接種機で接種しているので、自動接種機を使うなら種菌はおが屑培地で拡大培養すべきであろう。なお、本研究に用いたきのこ栽培袋を用いる場合には、培地の自動充填機があるのでそれを利用するのが効率的であり、種菌の自動接種機と組み合わせるとさらに効率的な接種作業が可能であろう。

(2)菌床の調製

丸太を使ったきのこ栽培をほだ木栽培と称するのに対して、細断、粉砕したわら類やおが屑を専用の袋や箱などに詰めてきのこを栽培する方法を「菌床栽培」という[41]。本研究の培養法は菌床栽培にあたる。ツクリタケ(*Agaricus bisporus*)やフクロタケでは平らで大きな培地の床（平床）で栽培するのが一般的である。平床栽培（写真 4）はきのこ栽培用の袋や瓶を使わないので菌床の造成や廃棄も効率化が可能であり、それを収める培養施設内が微生物学的な清潔性を保つことができるなら、有望な方法である。また、ドイツでは小麦稈培地を壁のように造成してビニールで囲ってヒラタケを栽培（写真 5）しているところがあり[20,68]、吉田ら[77]は大型のコンテナを利用しているが（写真 6）、これらの方法も利用が可能であろう。平床栽培法における種菌の接種は平床を造成する直前に混合するか、造成後であれば平床の表面に散布することになるだろう。

(3)培養

培養温度は 20 ～ 25 ℃を至適温度としたが（第Ⅰ章 1.）、タモギタケ Pc82-1 株の場合 25 ℃で培養した予備試験の結果、子実体の発生を観察したので（第Ⅱ章 1.）、培地の栄養価を改善するためには子実体の発生を抑える必要から、23 ℃が適当であろう（第Ⅰ章 1.）。培養期間は、第Ⅰ章 2. と第Ⅱ章 1.の結果から、45 ～ 60 日が適当であろう。

(4)子実体の収穫

子実体を収穫するならば、菌床に菌糸が蔓延したら培養温度を 23 ～ 25 ℃、相対湿度を 85 ～ 95%にあげて子実体原基を発生させ、瀧澤の方法[60]にしたがって子実体の生長を進める。予備試験において米ぬかなどを添加していない小麦稈培地の乾物 1kg あたり生の子実体を 715g 収穫しており、それは市価でおおむね 500 円程度と試算されている。米ぬかなどを添加すると子実体収量が増加するかもしれないが、収穫後培地の栄養価は改善されていないか低下していると考えられる[8,49,78]。そこで、子実体を収穫したあとの培地は再度培養施設等で一定期間培養を継続することにより栄養価は改善できると考えられるが、培養期間やそのほかの培養条件については未検討である。

(5)家畜への給与量からみた培養小麦稈の必要量

本研究の長期給与試験においてタモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈は 6 頭のサフォーク種雄の子羊に給与した。子羊による 1 頭あたり乾物摂取量は 13 週間の総量で 54.2kg、1 日平均で 85g であった(表Ⅱ-8 から計算)。給与時における培養小麦稈の水分は約 30%であった。これらの数値から、本研究における子羊の摂取量は、培養期間中の損出を 2%として 245kg の培地重量に相当した。このことから体重 37kg の子羊に 91 日給与するためには培養当初の培地重量で 245kg、乾物で 86kg が必要と算出された。

3.十勝における乾草節約量

本研究で子羊に給与したタモギタケ Pc82-1 株培養小麦稈の TDN は 42%であり、無処理小麦稈の 45%よりわずかに低かった。しかし、摂取量が顕著に改善されたことから、小麦稈由来の TDN 摂取量は 3.8g/kgBW/日から 5.4g/kgBW/日へと有意($P<0.05$)に改善された。一般に羊に給与する粗飼料は乾草である。チモシー 1 番草の乾草の TDN 含有量を 59%[43]とし、本研究の培養小麦稈区における培養小麦稈に由来する TDN 摂取量を乾草に置き換えたとすると、乾物で 3.8g/kgBW/日となり、91 日の給与期間で 34.2kg となり、この分の乾草が節約できたことになる。

十勝で産出される小麦稈の 1%である 165t にタモギタケ Pc82-1 株を培養し、日増体量を本研究と同じとすると、これで約 1,700 頭の子羊を育成することができる上、約 120t の乾草がほかの用途に仕向けられる、と試算された。

ただし、以上の試算は子実体を収穫しない場合であって、タモギタケを収穫してもう一度培養したものの栄養価は検討していないため、この点については今後の検討課題である。

緒言で示したように、我が国の粗飼料輸入量は 286 万 t[45]とされている。一方、我が国における稲わらと小麦稈の産出量は子実生産量からの推定で約 847 万 t と推定される。小麦稈は飼料としての利用ばかりでなく、家畜の敷料や藁加工品への仕向け量も多く、すべてを飼料に利用できるわけではない。847 万 t の 10 %である 85 万 t にヒラタケやタモギタケを培養して飼料化する場合、25%の乾物減少を見込むと約 64 万 t となり、この量に見合う分、輸入粗飼料を減らすことも不可能ではない。一方、食用きのこ栽培は輸入されたバ

ガスやコーンコブを培地の主原料としているところも多い。わら類がそこに仕向けられればその輸入量も減じることが可能である。
本研究を基礎として、わら類を培地として食用きのこを栽培したあとで、残された廃培地を家畜に給与する、高度な繊維資源の利用技術体系が確立されれば、国産飼料自給率の向上、粗飼料輸入量の削減、食用きのこ培地の自給率向上などいくつもの効果が期待できる。

第Ⅴ章　摘要

本研究では、食用きのこ（タモギタケ、ヒラタケ）培養による小麦稈の栄養価および飼料価値の向上を目指し、有用菌株の選抜、至適培養温度、培地の滅菌条件、培養期間、子羊における飼料価値の検討および有用菌株の交雑育種による作出を実施した。得られた成果は以下のように要約される。

1.タモギタケ菌株の違いが小麦稈の消化性改善に及ぼす影響

培養の至適温度帯が広く、リグニン分解力が強い一方でセルロースやヘミセルロースの消費量が少ない菌株としてタモギタケ Pc82-1 株を選抜した。培養の至適温度帯は 20 ～ 25 ℃であった。原産地の違いによる至適温度の差は不明確であった。

2.小麦稈に対するタモギタケ Pc82-1 株の培養期間が *in vitro* 消化性改善に及ぼす影響

タモギタケ Pc82-1 株の培養で小麦稈の消化性を改善するため、適当な培養期間並びに培地に対する菌の栄養材添加（米ぬか）の効果について調べた。その結果、小麦稈培地の本菌培養後における Ce-DMD は米ぬか無添加の培地で、45 日目で 32 ポイント改善された。このとき家畜がエネルギー源として利用可能な Ce-DDM は培養前に比べて 89%も増加した。なお、米ぬかの添加は、消化性の改善に対しては効果的ではなかった。

3.小麦稈に対する滅菌条件がタモギタケ Pc82-1 株の生育および小麦稈の消化性改善に及ぼす影響

食用きのこ栽培においては一般的である高温高圧な滅菌条件の緩和の可能性について検討した。その結果、80 ℃、15 分でもタモギタケ Pc82-1 株の培養は可能であったが、完全に雑菌の発生を抑えるためには、100 ℃、30 分処理が適当と考えられた。稲わらについても同様にして検討したが、小麦稈よりは強い滅菌条件が必要であること、消化性については 60 日間培養しても、小麦稈ほどに高い改善効果は期待できないことがわかった。

4.食用きのこ（タモギタケ、ヒラタケ）の培養が小麦稈の栄養価改善におよぼす効果

我が国では初めての食用きのこ（タモギタケ Pc82-1 株、ヒラタケ TMIC30026 株）を培養した小麦稈の栄養価を *in vivo* 試験により評価した。その結果、タモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈の乾物中 TDN 含有率は 30 日間培養では無処理小麦稈より有意(P<0.05)に低くなったが、50 日間に延長することで改善されることが分かった。また、ヒラタケ TMIC30026 株を培養した場合の乾物中 TDN は 30 日間培養では無処理小麦稈よりやや低くなったが、50 日間に延長することで改善される傾向が認められた。このように、両菌株を小麦稈に 50 日間培養することで TDN 含有率は改善できることが明らかとなった。

5.小麦稈に対するタモギタケ Pc82-1 株の培養が飼料価値の改善に及ぼす効果

世界で初めて、小麦稈に対するタモギタケ Pc82-1 株の培養が飼料価値の改善に及ぼす効果について子羊に長期間給与し、生体重の増加量から評価した。培養小麦稈ならびに無処理小麦稈を唯一の粗飼料としてそれぞれに 6 頭ずつの子羊を配置し、13 週間給与した。無処理小麦稈の TDN 含有率は 42 %であったのに対し、タモギタケ Pc82-1 株を培養した小麦稈の TDN 含有率は乾物中 45%であった。培養小麦稈の乾物摂取量は単独でも併給した配合飼料を含めても無処理小麦稈区より有意(P<0.05)に多く摂取された。乾物摂取量の増加は TDN 摂取量の増加に反映された。このことは日増体量に反映され、培養小麦稈区の日増体量は 179g であり、無処理小麦稈区の 151g に比べて 18%多かった。

以上のことから、タモギタケ Pc82-1 株を培養することで小麦稈の飼料価値を改善できることが明らかとなった。

6.交配による小麦稈の栄養価を改善できる新菌株の作出

わら類に含まれる難消化性物質であるリグニンを効率よく分解してその消化性を改善できる菌株を得るため、２つの di-mon 交配試験と１つの mon-mon 交配試験による新菌株の作出を試みた。その結果、リグニン分解力や Ce-DMD 改善効果で選抜した二核菌糸の交配によりさらに有用な菌株が得られる可能性が示唆された。mon-mon 交配試験において、正逆の組合せ間に大差が認められないことから、リグニン分解力や Ce-DMD 改善効果は核質遺伝することが示唆された。本研究で得られた新菌株から TBU1-146 株を選抜した。

7.小麦稈に対する新ヒラタケ TBU1-146 の培養がめん羊における自由摂取量および消化率の改善に及ぼす影響

6.で作出したヒラタケ新菌株 TBU1-146 株の小麦稈に対する栄養価改善効果を 4 頭のめん羊を用いた消化試験で検討した。その結果、本菌株の培養により消化性が有意に改善され(P<0.05)、自由摂取量も有意に増加した(*P*<0.05)。本菌株の選抜はセルラーゼを用いた *in vitro* で行ったが、選抜された菌株の培養によって *in vivo* 試験においても小麦稈の栄養価改善効果が認められ、有用菌株作出の意義は、食用きのこ（ヒラタケ）の培養により小麦稈を栄養価の高い飼料に変換するうえで極めて重要であることが明らかとなった。

Empirical studies on improving nutritive value of wheat straw by incubation with edible mushrooms, *Pleurotus cornucopiae* and *P.ostreatus*

Summary

The objective of the present study is developing useful technology to improve nutritive value of wheat straw by incubation of edible mushrooms, *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* or *P. osteratus*. A series of experiments was conducted on the selection of superior strains of these mushrooms, the optimum incubation temperature and incubation period, suitable sterilization condition, evaluation of nutritive value of incubated wheat straw by *in vivo* digestion and fattening trials with lambs and an attempt to develop useful new strains by hybridization breeding.

1. Influence of incubation with different strain of *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* on improvement of digestibility of wheat straw.

Pleurotus cornucopiae var. *citrinopileatus* Pc82-1 (Pc82-1) was selected as a suitable strain because the strain had wide optimum temperature, higher degradability of lignin and lower consumption of cellulose and hemicellulose. The optimum temperature of culture was 20-25℃. The optimum temperature might not affected by the origin of strains.

2. Effect of incubation periods of wheat straw with Pc82-1 on *in vitro* dry matter degradability.

To improve the digestibility of the wheat straw by incubation with Pc82-1, the combination effects of incubation period and addition of rice bran to the culture were studied. Incubation with *P. cornucopiae* Pc82-1 for 45 days improved 32 points dry matter degradability by cellulase (Ce-DMD) and increased amount of degradable dry matter (Ce-DDM) of the wheat straw substrate 89% more than its initial amount. However, addition of rice bran did not improve the substrate degradability.

3. Effect of sterilization condition of wheat straw on growth of Pc82-1 and Ce-DMD of the culture.

Substrate is sterilized in high temperature and high pressure condition in edible mushroom production industry. It was studied on moderation possibility of sterilization for lower cost. The results indicated that sterilization condition of 80℃-15 min was suitable for incubation of Pc82-1. However, higher condition of 100℃-30 min was required for perfect sterilization.

Comparing with wheat straw, rice straw required stronger sterilization condition, and had poor Ce-DMD even after 60 days incubation.

4. *In vivo* evaluation of nutritive value of wheat straw incubated with edible mushroom, *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* or *P. osteratus*

The nutritive value of incubated wheat straw with Pc82-1 or *P. ostreatus* TMIC30026 (TMIC30026) was evaluated *in vivo* examination with sheep. The TDN content of the wheat straw incubated Pc82-1 for 30 days decreased significantly ($P<0.05$) than original straw. However, longer incubation for 50 days improved TDN content significantly ($P<0.05$). The incubation of TMIC30026 resulted in similar effect with Pc-82-1.

Thus, it was shown in vivo experiment that TDN content of the wheat straw was able to be improved by the incubation with Pc82-1 or TMIC30026 for 50 days.

5. Evaluation of nutritive value of incubated wheat straw with *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1 by long term fattening trial with lamb.

The nutritive value of wheat straw incubated with Pc82-1 was evaluated by long term fattening trial with lamb first in the world. The TDN content of the incubated wheat straw with Pc82-1 was 45%. The original TDN content was 42%.

The 12 lamb were divided into 2 group. Each group were fed incubated wheat straw or original wheat straw as the only roughage for 13 weeks. The intake of the incubated wheat straw with Pc82-1 for 50 days was significantly more than the original wheat straw ($P<0.05$). Total intake including concentarate was similar tendency as the intake of

straw. Increased DM intake resulted in increased TDN intake and increased daily gain of lamb. Daily gain of lamb fed incubated straw was 179 g and 18% more than the daily gain of lamb fed untreated straw.

The feeding value of the wheat straw was clearly improved by the incubation with Pc82-1.

6. Development of useful new strains by hybridization breeding for improving nutritive value of wheat straw

To obtain new strain with higher degradation ability of lignin in the cell wall of the straw, 2 di-mon and one mon-mon hybridization breeding trials were executed. Some new strains were bred by hybridizing parents (dikaryon) with excellent lignin degradation ability and Ce-DMD, and the best new strain was selected and named as TBU1-146.

7. Evaluation of wheat straw incubated with *P. ostreatus* hybrid, TBU1-146 by *in vivo* digestion and intake trial with sheep

The digestibility and voluntary intake of wheat straw incubated with new *P. ostreatus* hybrid, TBU1-146 was compared with non-treated wheat straw in a digestion and intake trial by sheep. The digestibility and voluntary intake of the wheat straw was significantly improved by incubation with TBU1-146 ($P<0.05$). The *in vivo* study clearly confirmed the usefulness of *in vitro* strain selection. The development of excellent strains is extremely important to convert wheat straw with poor nutritive value into useful feed by incubation with edible mushroom.

8. In integrated discussion, it is proposed the possible and potential incubation system of edible mushroom based on the present study to convert wheat straw with poor quality into wheat straw with higher nutritive value.

謝辞

本研究をとりまとめるにあたり、旧北海道立滝川畜産試験場在勤以来、終始懇切なるご指導を賜り、かつご校閲の労をお執りいただいた酪農学園大学酪農学部酪農学科教授岡本全弘博士には衷心から感謝の意を表する。また、酪農学園大学酪農学部酪農学科教授宮川栄一博士ならびに同教授小阪進一博士にはご校閲の労をお執りいただき、有益なご助言を賜った。同教授干場信司博士、同高橋圭二博士には有益なご助言を賜った。

本研究は旧北海道立滝川畜産試験場において実施したものであり、同研究部畜産資源開発科阿部英則氏には共同研究者としてご指導とご支援をいただいた。同宮崎　元氏からは、飼養試験においてご指導をいただいた。同岡部昭裕氏、高橋光司氏にはきのこの培地調製や飼養試験で多大なるご支援をいただいた。また、臨時職員の皆さんには膨大な試料の分析を分担していただいた。同研究部家きん科宝寄山裕直氏には統計処理を支援していただいた。鳥取大学農学部故大浦良二博士には遊星ボールミルを用いた試料の粉砕抵抗を測定していただいた。旧北海道立林産試験場微生物利用科の故瀧澤南海雄氏、富樫　巌博士、米山彰造氏からは食用きのこの栽培法についてご指導をいただいた。

本研究は地域新技術開発事業「担子菌処理による地域資源の高栄養飼料化技術の確立」試験の成果をとりまとめたものである。この研究成果は共同研究者である埼玉県畜産試験場（現山形大学フィールド科学附属やまがたフィールド科学センター）の吉田宣夫博士と熊本県農業研究センター畜産研究所（現熊本県農林水産部）石原　健氏との緊密なる連携により得られたものである。

著者が微生物を利用した本研究を遂行できたのは、微生物学の面白さをご教授いただいた酪農学園大学酪農学部松井幸夫名誉教授と同教授菊地政則博士によるところが大きい。

ここに諸氏に対して心より深く感謝の意を表します。

最後に、著者を終始応援してくれた家族に感謝の気持ちを捧げる

引用文献

1)阿部　亮.1988.炭水化物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.　畜試研資,2:16-33.

2)阿部英則,藤田 保.1985.アンモニア処理による稲わら、小麦稈スイートバーナルグラスの細胞壁物質の変化について.滝川畜試研報,22:1-8.

3)阿部英則,山川政明,岡本全弘.1992.豆がらの栄養価改善に対するアンモニア処理の有効性.滝川畜試研報, 27:19-24.

4)阿部英則,山川政明,岡本全弘.1999.蒸煮、アンモニア処理およびこれらを複合した稲わらの自由摂取量と消化率.日草誌,44:378-380

5) Agosin, E., Monties,B. and Odier,E. 1985. Structural changes in wheat straw components during decay by lignin-degrading white-rot fungi in relation to improvement of digestibility for ruminants. J. Sci. Food Agric.36:925-935.

6) Agosin, E., Toiller, M.T., Brilloue, J.M., Thivend, P. and Odier,E. 1986. Fungal pretreatment of wheat straw:effects on the biodegradabiliyt of cell walls, Structural polysaccharides, lignin and phenolic acids by rumen microorganisms. J. Sci.Food.Agric., 37:97-106.

7)青島清雄. 1954. コフキタケの単相菌糸と複相菌糸によるブナ材の腐朽. 林試研報,68:181-200.

8) Basten,R. and Schoener,F.J. 1984. Energy value of straw incubated by fungi (Zum energetischen Futterwert von Mykostroh). Wirtschftseigene futter, 30:71-75.

9) Bhuvnesh,S., Shilpi,T., Yogender,P.K., Akshaya,G. Anil, K.P. and Kuhad,R.C. 2010. White-rot fungal conversion of wheat straw to energy rich cattle feed, Biodegradation.25 Aug. 2010.

10) Calzada,J.F., Leon,R.de., Arriola,M.C.de. and Rolz,C. 1987. Growth of masurooms on wheat straw and coffee pulp: strain selection. Biological wastes, 20:217-226.

11) Calzada,J.and Rolz,C. 1990. Estimation of the growth rate of Pleurotus on stocked straw. J.Ferment. Bioeng.,69:70-71.

12) Eder,J. 1988. Practical problems in the pretreatment of straw-based lignocellulosic substrate for Pleurotus production. In: Treatment of Lignocellulosics with White Rot Fungi(Zadrazil,F. and Reiniger,P. eds),14-20. Elsevier Applied Science. New York.

13) Fahey,G.C., Bourquin,L.D., Titgemeyer,E.C. and Atwell, D.G.1993. Postharvest treatment of fibrous feedstuffs improve their nutritive value. In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility (Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield,R.D. and Ralph,J. eds). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America,Inc. Madison.

14) Fazaeli,H., Azizi,A., Jelan Z.A.M. and Mirhadi,S.A. 2003. Effect of fungal treatment on the chemical composition, in vitro digestibility and in sacco degradability ot wheat straw. Proceeding of the British Society of Animal Science 2003. 166.

15) Han,Y.W., Lee,J.S. and Anderson,A.W. 1975. Chemical composition and digestibility of ryegrass straw. J.Agric. Food Chem.,23:928-931.

16)原 悟志, 渡部 敢, 出口健三郎, 杉本昌仁. 2007. 高圧水蒸気処理条件が小麦稈の飼料特性に及ぼす影響. 日畜学会報,別：16（講演要旨）.

17)原田武典,貝塚隆義,藤田浩三.1989.蒸煮木質飼料利用によるきのこ栽培培地の栄養価.広島畜試研報,7:13-17.

18) Hiroi,T. and Karl-Erik Eriksson. 1976. Microbiological degradation of lignin.part 2. Influence of cellulose upon the degradation of calcium lignosulfonate of various molecular sizes by the white-rot fungus Pleurotus ostreatus. Svensk Papperstidning 79:162-166.

19)北海道. 2010. 平成 21 年度北海道農業・農村統計表.北海道. 1-98.

20)北海道企画振興部.　ヨーロッパ諸国における食用菌生産と微生物処理による繊維資源の飼料化研究の現状.　平成 2 年度海外技術導入促進事業調

査報告書. 245-271.

21)北海道農林統計協会. 2010. 北海道農林水産統計年報（総合編）平成 19 ～ 20 年（農林水産省北海道農政事務所統計部編),18-70. 北海道農林統計協会.札幌.

22)Ho Quang Do, 西岡崇政, 岡本全弘. 2007. 牛尿浸漬処理による稲わらの栄養価向上.北畜会報, 49:29-33.

23)堀越孝雄. 子実体の発育. 1990. きのこの一生（堀越孝雄、鈴木 彰著）. 99-114. 築地書館.東京.

24)石原 健, 波多江 弘, 中畠吉直, 吉村征彌. 1993. 大麦ワラの担子菌による処理効果. 西日本畜産学会報,36:24-29.

25)伊藤 宏. 1983. 低質粗飼料の利用性向上に関する最近の研究. 日畜会報,54:487-496

26)岩原博樹, 善本知孝, 福住俊郎. 1981. 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.

27)岩田久敬. 1929. 稿稈類ノ解化ニ就イテ. 日畜会報, 4:28-44.

28)岩田久敬. 1929. 稲藁ノ簡易解化法. 日畜会報, 4:189-199.

29) Jackson,M.G. 1977. Review article:The alkali treatment of straws. Anim. Feed Sci. Technol, 2:105-130.

30) Kamstra,L.D., Ronning,D., Walker,H.G.,Kohler,G.O. and Wayman,O. 1980. Delignification of fibrous wastes by peroxyacetic acid treatments. J.Anim. Sci., 50(1):153-159.

31) Kerley, M.S., Fahey,G.C. Jr.,Berger,L.L., Merchen,N.R. and Gould,J.M. 1986. Effects of Alkaline hydrogen peroxide treatment of wheat straw on site and extent of digestion in sheep. J. Anim. Sci., 63:868-878.

32)衣川堅二郎, 荒井 滋. 1982. ヒラタケ. きのこの事典（中村克哉編）,363-385.朝倉書店.東京.

33)衣川堅二郎. 1990. 育種. きのこの遺伝と育種. 129-156. 築地書館.東京.

34)衣田雅人. 1992. ヒラタケ. きのこの増殖と育種（最新バイオテクノロジー全書編集委員会編）. 195-205.農業図書.東京.

35)北本 豊, 鈴木 彰. 1992. 生理.きのこ学（古川久彦編）.79-115. 共立出版. 東京.

36) Lindenfelser, L.A., Detroy, R.W., Ramstack, J.M. and Worden, K.A. 1979. Biological modification of the lignin and cellulose components of wheat straw by Pleurotus ostreatus. Dev. Ind. Microbiol. 20:541-551.

37) Madelin,M.F. 1956. The influence of light and temperature on fruiting of Coprinus lagopus Fr. in pure culture.Ann. Bot. N.S. 20:467-480.

38) McQueen, R. and Van Soest P.J. 1975. Fungal cellulose and hemicellulose prediction of forage digestibility. J.Daily Sci., 58:1482-1491.

39)三木聡子,岡野寛二. 2005. トキイロヒラタケを無殺菌で培養したイナワラおよびコムギワラの in vitro 消化性. 日畜会報, 76:407-414.

40) Moyson,E. and Verachatert,H. 1991. Growth of higher fungi on wheat straw and their impact on the digestibility of the substrate. Appl. Microbiol. Biotechnol., 36:421-424.

41)武藤治彦. 1992. シイタケ（生シイタケ. きのこの増殖と育種（最 新バイオテクノロジー全書編集委員会編）. 173-187. 農業図書. 東京.

42)中村克哉. 1982. シイタケ. きのこの事典（中村克哉編）. 205-307. 朝倉書店. 東京.

43)日本標準飼料成分表(2001 年版). 2001. 農業技術研究機構編, 64-65. 中央畜産会.東京.

44)日本緬羊研究会. 1991. NRC 飼養標準めん羊第 6 次改訂版. 日本緬羊研究会（吉本正監修）. 1-76. 日本緬羊研究会.東京.

45)農林水産省生産局畜産部畜産振興課. 流通飼料便覧 2004. 2005. 農林水産省生産局 畜産部畜産振興課監修, 1-35. 農林統計協会. 東京.

46)岡本全弘,阿部英則. 1989. 稲藁のｱﾝﾓﾆｱ処理、蒸煮およびこれらの複合処理がめん羊の自由摂取量と消化率に及ぼす影響. 日畜会報,60:1117-1121.

47) Okamoto,M., Yamakawa,M. and Abe,H. 1991. Improvement of nutritive value of cereal straw by solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*. Tropical Agriculture Reseach Series No.25, 24-25.

48)大浦良三. 1994. 反芻家畜における粗飼料の物理的特性と消化動態. 北海道大学学位審査論文,56-63.

49) Rai,S.N., Walli,T.K. and Gupta,B.N. 1989. The

chemical composition and nutritive value of rice straw after treatment with urea or *Coprinus fimetarius* in a solid state fermentation system. Anim. Feed Sci. Technol.,26:81-92.

50) Rouzbehan, Y., Fazaeli,H. and Kiani,A. 2000. The influence of urea and white rot fungi on the nutritional value of wheat straw. Proceeding of the British Society of Animal Science 2000. p59.

51) Rouzbehan,Y., Fazaeli,H. and Kiani,A. 2001. The chemical composition and digestibility of wheat straw treated with urea and white rot fungi. Proceeding of the British Society of Animal Science 2001. p123.

52) Ruel,K., Barnoud,F. and Goring,D.A.I. 1978. Lamellation in the S2 layer of softwood tracheids as demonstrated by scanning transmission electron microscopy. Wood Sci. Technol.12: 287 -291.

53) Schuchardt,F. and Zadrazil,F. 1988. A 352 L fermenter for solid state fermentation of straw by white-rot fungi. In: Treatment of Lignocellulosics with White Rot Fungi (Zadrazil,F. and Reiniger,P. eds), 77-89. Elsevier Applied Science. New York.

54) Sharma,H.H.S. 1987. Comparative study of the degradation of frax shive by strains of Pleurotus. Appl. Microbiol. Biotechnol., 25: 542-546.

55)志水一允. 1987. 我が国のバイオマス変換計画(11) 木質系資源の生物的脱リグニン. 農業及び園芸, 62:495-501

56)篠田 満,堀井 聡,阿部 亮. 1984. アルカリ処理の観点からみた稲わら各部位の栄養的性質の比較. 畜試研報, 42:21-27.

57) Streeter,C.L., Conway,K.E., Horn,G.W. and Mader, T.L. 1982. Nutritional evaluation of wheat straw incubated with the edible mushroom, Pleurotus ostreatus. J. Anim. Sci., 54:183-188.

58)鈴木雄一. 1992. 無殺菌小麦わらにおけるトキイロヒラタケ (*Pleurotus salmoneostramineus*)の培養. 日本菌学会報, 33:249-253.

59)高橋旨象. 1989. きのこと木材. 7-52. 築地書館.東京.

60)瀧澤南海雄. タモギタケ. 1982. きのこの事典（中村克哉編）, 392-397. 朝倉書店.東京.

61)寺田文典,堀井 聡,滝川明宏,針生程吉,田野良衛,岩崎和雄,亀岡暄一,長沢定男,須藤賢一,松田敏誉,志水一允,棚橋光彦,樋口隆昌. 1986. 蒸煮解繊あるいは爆砕処理したシラカンバの山羊による消化率と栄養価. 畜試研報告,44:55-59.

62)栂村恭子,宮崎 昭,川島良治,樋口隆昌,棚橋光彦,清藤幸一. 1983. 稲わらおよびもみ殻の爆砕処理が飼料成分および in vitro 消化率に及ぼす影響. 日畜会報,54:206-208.

63) Togamura,Y., Miyazaki,A. and Kawashima,R. 1987. Nutritive value of exploded rice straw for sheep. Jpn. J. Zootech. Sci.,58:505-510.

64)富樫 巌,米山彰造,瀧澤南海雄. 1990. 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, 22:74-79.

65)富樫 巌,米山彰造,瀧澤南海雄. 1992. オオヒラタケ、フクロタケによる稲わらの飼料化. 林産試場報, 6:4-9.

66)時本景亮. 1992. きのこの生活と遺伝. きのこの増殖と育種（最新バイオテクノロジー全書編集委員会編,107-119. 農業図書東京.

67) Tsang, L.J., Reid, I.D. and Coxworth,E.C. 1987. Delignification of wheat straw by *Pleurotus* spp. under mushroom-growing conditions. Appl. Environ. Microbiol., 53:1304-1306.

68)都留信也. 1976. シメジの新しい栽培法. 化学の領域, 30:111.

69) Wood,D.A. and Harrtley,R.D. 1988. Conclusions and Recommendations. Treatment of Lignocellulosivs with Whiite Rot Fungi.(Zadrazil,F. and Reiniger,P.eds),115-117. Elsevier Applied Science. New York.

70)山田 豊,後藤正和,苅田修一,高部圭司,藤田 稔,鈴木雄一, 万木 豊. 2000. トキイロヒラタケ (*P.salmoneostramineus*)、オオヒラタケ (*P.cystidiosus*),アラゲキクラゲ (*Auricularia polytricha*)培養によるバガス消化性の改善効果. 日草誌,46:158-166.

71) Yamakawa,M., Abe,H. and Okamoto,M. 1992. Effect of incubation with edible mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on voluntary intake and digestibility of rice straw by sheep. Anim. Sci. Technol., 63: 129

-133.

72)山川政明,阿部英則,岡本全弘. 1992. 稲わらに対するヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) の培養が *in vitro* 消化性に及ぼす影響.日畜会報,63:180-185.

73)山川政明,阿部英則,岡本全弘. 1997. 稲わらおよび小麦稈に対する *Ganoderma appalanatum* IFO6489 の培養が *in vitro* 消化性に及ぼす影響. 滝川畜試研報, 29:21-27.

74)山川政明,阿部英則,岡本全弘. 2007. ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus* TMIC30026 株)の培養が小麦稈の *in vitro* 消化性におよぼす影響. 日草誌, 51:23-27.

75)山川政明,阿部英則,岡本全弘. 2010. タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* Pc82-1 株)の培養が小麦稈の *in vitro* 消化性におよぼす影響(短報）. 日草誌,56:52-55.

76)吉田宣夫. 1994. 水稲及び繊維性圃場副産物のアルカリ処理及び生物的処理による飼料価値の向上に関する研究. 埼畜試特研報, 1:1-76.

77)吉田宣夫,岡部富雄,武政安一,高橋哲二. 1993. 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関する試験 3.高リグニン分解能を有する白色腐朽菌の選抜. 埼玉県畜試研報,31:45-49.

78)吉田宣夫,高橋哲二,永尾哲男, 陳 継富. 1993. ヒラタケ(*Pleurotus ostreatus*)栽培時の麦稈およびオガクズ培地の *in vitro* 消化性. 日草誌,39:177-182.

79) Zadrazil,F. 1979. The conversion of straw into feed by basidiomycetes. European J. Appl. Microbiol., 4:273-281.

80) Zadrazil,F. and Brunnert,H. 1980. The influence of ammonium nitrate supplementation on degradation and in vitro digestibility of straw colonized by higher fungi. European J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 9:37-44.

81) Zadrazil,F. and Brunnert,H. 1981. Investigation of physical parameters important for the solid state fermentation of straw by white rot fungi. European J. Microbiol. Biothechnol., 11: 183-188.

82) Zadrazil,F. 1987. White rot fungi and mushrooms grown on cereal straw: aim of the process, final products scope for the future. In: Degradation of Lignocellulosics in Ruminants and Industrial Processes (Van Der Meer,J.M., Rijkens,B.A. and Ferranti, M.P. eds), 55-62. Elsevier Applied science. New York.

83) Zadrazil,F., Galletti,G.C., Piccaglia,R., Chavari,G. and Francioso, O. 1991. Influence of oxygen and carbon dioxide on cell wall degradation by white-rot fungi. Anim.feed Sci.Technol., 32:137-142.

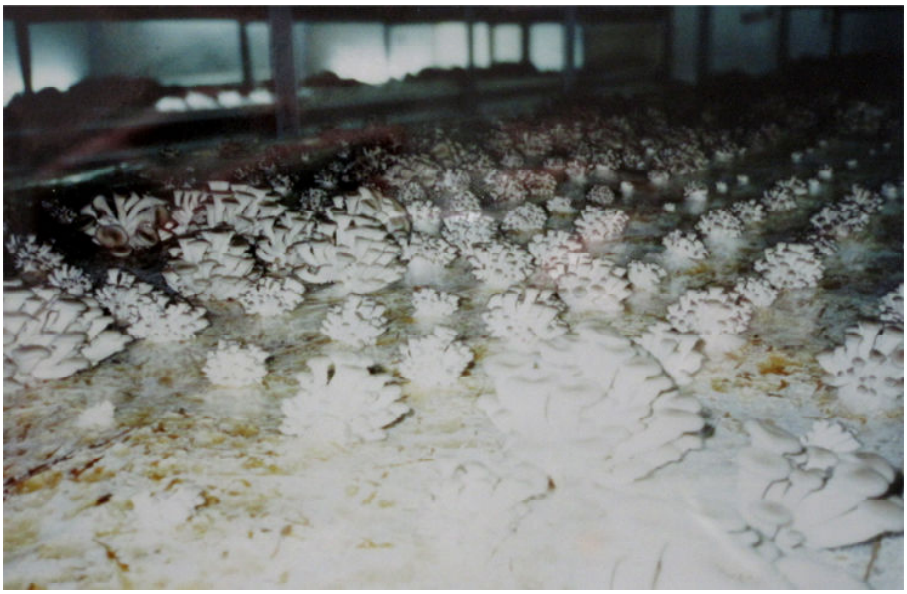
84)善如寺 厚,渡辺直明. 1987. きのこ実験実験マニュアル,30-141. 講談社サイエンティフィク.東京.

85)善如寺 厚. 1992. 交雑育種. きのこの増殖と育種（最新バイオテクノロジー全書編集委員会編）, 132-148. 農業図書.東京.

Pic. 1. Pleurotus cornucopiae var. *citrinopileatus* on wheat straw substrate.

Pic.2. *Pleurotus ostreatus* on rice straw substrate.

Pic. 3. Feeding test by sheep（lamb）.



Pic.4. Development of fruit body, *Pleurotus ostreatus*, bed type.

Pic.5. Development of fruit body, *Pleurotus ostreatus*, wall type.

Pic. 6. Development of fruit body, *Pleurotus cystidious*, container type. (Courtesy N.Yoshida)

ISSN　2186-1064
北海道立総合研究機構農業試験場報告　第 136 号

食用きのこ（タモギタケ、ヒラタケ）培養による小麦稈の飼料価値向上に関する実証的研究

著者　山　川　政　明

平成 25 年 3 月 25 日　発行

発行者　　北海道立総合研究機構畜産試験場
081-0038 北海道上川郡新得町字新得西 5 線 39 番地

印刷所　　ソーゴー印刷株式会社