シイタケ菌床栽培の培地組成と糸状菌汚染

宜寿次盛生 原田 陽 富樫 巌*1

Fungal Contamination in Relation to Component of Substrate in Sawdust Cultivation of Shiitake (*Lentinula edodes*)

Seiki GISUSI Akira HARADA Iwao TOGASHI

Key words : Penicillium spp., Trichoderma spp., additive nutrients, wheat bran ペニシリウム,トリコデルマ,培地添加物,フスマ

1. はじめに

シイタケ〔Lentinula edodes(Berk.)Pegler〕の菌床 栽培における子実体の発生操作は,他の菌床栽培キノ コと異なり, 菌床の全面を露出した状態で数か月から 半年もの長期間を要する。さらに菌床の乾燥を防ぎ子 実体の発生を促す目的で,散水や浸水といった給水操 作も行われる12。これらの状況下で,シイタケ菌床は Penicillium spp. (以下,ペニシリウムとする)や Trichoderma spp. (以下,トリコデルマとする)をは じめとする糸状菌による汚染を受けやすい。発生操 作中に菌床が糸状菌汚染を受けると,子実体生産に悪 影響を及ぼすことが考えられるい。子実体発生時にお けるシイタケ菌床について、糸状菌汚染の観察例はい くつかみられる39が、汚染度を詳細に観察した例は少 ない68。さらに, 培地組成と子実体発生時におけるシ イタケ菌床の糸状菌汚染との関係を検討した例はある が , それも主にシイタケの品種と培地添加物の種類 について検討したものであり,同添加物の適正な使用 量については今後の検討課題としている。そこで今 回, 培地組成中の培地基材と培地添加物の混合割合に 着目し, 培地添加物の添加率を主要因子としてシイタ ケ菌床栽培試験を行い、ペニシリウムやトリコデルマ

などの菌床上に発現する糸状菌を観察し,子実体生産に与える影響を検討した。なお本研究の一部は第46回日本木材学会大会(1996年4月,熊本市)で発表した。

2. 実験方法

2.1 供試菌株と培養条件

シイタケ供試菌として北研600号を用いた。培地の調製は、ダケカンバ(Betula ermanii Cham.)おが粉に培地添加物としてフスマを混合後、水道水を加えて行い、フスマの添加率(絶乾重量比)を主要因子とし6水準を設けた(第1表)。培地水分は全試験区とも65%に調整した。調製した培地をポリプロピレン製培養袋に2.5kgずつ充填し、高圧滅菌後シイタケのおが粉種菌を接種した。温度22 、相対湿度70%の暗所で33日間、その後温度22 、相対湿度70%の暗所で33日間、その後温度22 、相対湿度70%、12時間間欠照明下(平均約350ルクス)で59日間、合計92日間培養した。

2.2 子実体発生操作

培養終了後,菌床の袋を除去し菌床表面を水道水で 洗浄して発生室に移した。温度16 ,相対湿度85%に

第1表 フスマの添加率とシイタケ子実体発生量

Table 1. Influence of wheat bran content in the substrate on the yield of Shiitake fruit-bodies.

		空調 Controlled room			ハウス Flushing house		
フスマ 添加率 Ratio of wheat bran (%)	試験区名 Symbol	子実体発生量 (g/菌床) Yield of fruit-bodies (g/culture)	子実体個数 (個 / 菌床) Number of fruit-bodies (-/culture)		試験区名 Symbol	子実体発生量 (g/菌床) Yield of fruit-bodies (g/culture)	子実体個数 (個/菌床) Number of fruit-bodies (-/culture)
0.0	Wc0	0 ± 0.0^{10} c	0 ± 0.0c		Wh0	0 ± 0.0d	$0 \pm 0.0c$
2.5	Wc25	$326 \pm 17.4b$	$25 \pm 2.8a$		Wh25	$260 \pm 36.2 bc$	$20 \pm 4.3ab$
5.0	Wc50	$592 \pm 13.4a$	$30 \pm 2.4a$		Wh50	$419 \pm 42.0ab$	$20 \pm 2.5ab$
7.5	Wc75	$668 \pm 37.9a$	$30 \pm 3.2a$		Wh75	$502 \pm 95.6a$	$25 \pm 4.9a$
10.0	Wc100	$565 \pm 90.0a$	$27 \pm 4.2a$		Wh100	$412 \pm 78.2ab$	$25 \pm 5.5a$
12.5	Wc125	$257 \pm 60.3b$	13 ± 3.4 b		Wh125	$180 \pm 37.9 \mathrm{cd}$	10 ± 2.2 bc
平均 Mean		401 ± 103.5	21 ± 4.9			295 ± 76.0	17 ± 4.1

注:培地基材としてカンバおが粉を用いた。水分は65%に調整した。子実体の発生は5次発生まで105日間行った。

記号: 1): 平均 ± 標準誤差, 各試験区とも供試菌床数は6個

a-d: 同じ列の同じ記号は有意差のないグループを示す(最小有意差法:p < 0.01)

Notes: The substrata were made by dakekamba sawdust, and their moisture contents were abjusted to 65%.

Fruit-bodies were harvested 5 times during the flushing period of 105 days.

Legends: 1): Mean with Standard error by six replicates.

a-d: In each column, values followed by the same letter do not differ significantly ($p \le 0.01$) according to LSD.

第2表 ペニシリウム汚染度の評価

Table 2. Degree of the contamination caused by Penicillium spp..

汚染度 Degree of contamination	内容 Explanation
0	ペニシリウムの分生胞子を持つコロニーは認められない。 No colony of <i>Penicillium</i> spp. was observed.
1	各コロニーの多きさが直径3cm以下でかつ、 コロニー数が3個以内である。 Number of the fungal colony, of which diameter smaller than 3cm, was less than 3.
2	直径3cm以上のコロニーがある。 または,4個以上のコロニーがある。 Either colony diameter larger than 3cm, or more than 4 colonies were observed.
3	コロニーが菌床の1辺の長さ(12cm)以上に広がる。 または,コロニーが菌床の1面の広さ(12×15cm)以上に広がる。 Either colony diameter larger than 12cm, or area of total colonies larger than 12×15cm was observed.

設定した施設(以下,空調とする)または暖房設備と加湿器を備えたシイタケ発生舎(以下,ハウスとする)の環境下で子実体を発生させた。発生操作期間中におけるハウスの温度および相対湿度は,6.5~25.0 および81.5~97.0%であった(1995年8月20日~11月28日)。各試験区の菌床数は6とし(第1表),発生室内での菌床の配置は,床面からの高さや加湿器からの距離等を考慮して,すべての試験区に偏りがな

いようにした。1回目の子実体を収穫した後(1次発生,以下,同様に2~5次発生),子実体発生操作開始から21日目に子実体の再発生を促すために浸水処理を行った。浸水処理は,水道水の入った貯水槽に菌床を約16時間浸漬した。以後約21日(約3週間)間隔を目安に浸水処理をし,5次発生まで105日間発生操作を行った。発生した子実体をすべて採取し,生重量を測定して発生量し,またその発生個数を計数した。

2.3 糸状菌汚染調査

子実体発生操作開始後,1週間ごとに菌床表面に認められる糸状菌の調査を行った。ペニシリウムの調査は,1次発生期間(1~3週目)中のみ行い,目視により分生胞子を形成した部分をコロニーとして判断し,第2表に示したように4段階に分けて記録した。

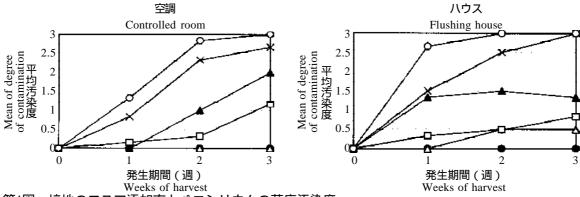
ペニシリウムを除くトリコデルマや他の糸状菌は,目視により分生胞子を形成したコロニーを確認し,その発生面と大きさを記録した。コロニーの大きさは半径0.5,1,2,3,4cmの円,または長方形の面積として近似的に決定し,菌床表面積に対するコロニーの占有率を求めた。

3. 結果

3.1 菌床における糸状菌の発生状況

フスマの添加率を主要因子とした各試験区の,ペニシリウムやトリコデルマおよび他の糸状菌の発生状況を観察した結果を第1図,第2図に示した。

空調での観察結果については,発生操作初期(1次発生;1~3週目)において,フスマ添加率が10%以上の試験区(Wc100およびWc125)で,菌床上面や菌床底面の縁にペニシリウムが広範囲に発生した。1次発生後浸水処理を行うと,ペニシリウムのコロニー部分にトリコデルマやMucorspp.およびRhizopus spp. 等の発生が認められた。空調での,ペニシリウムを除く他の糸状菌占有率の変化を第2図に示した。Wc100とWc125では発生操作初期に発生棚の枠と接触している部分から,黒褐色の液体が溢出している菌床が認められ,同部分にトリコデルマの発生がみられた。発生操作期間を通して,Wc125における糸状菌



第1図 培地のフスマ添加率とペニシリウムの菌床汚染度

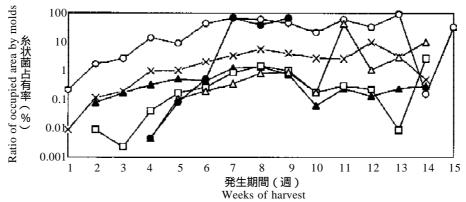
注:汚染度は第2表参照

記号:フスマ添加率: :0.0%, :2.5%, :5.0%, :7.5%, ×:10.0%, :12.5%

Fig. 1. Relationship between wheat bran content in the substrate and contamination caused by Penicillium spp..

Note: See Table 2 for degree of contamination.

 $Legends: \ Ratio\ of\ wheat\ bran\ is, \quad :0.0\%, \quad :2.5\%, \quad :5.0\%, \quad :7.5\%, \ \varkappa:10.0\%, \quad :12.5\%$



第2図 フスマ添加率と空調での糸状菌(ペニシリウムを除く)占有率注:記号は第1図参照。Wc0は9週目まで測定した。

Fig. 2. Relationship between medium component and fungal contamination in the controlled room (except Penicillium spp.).

Note:See Fig.1. for symbols, measured till 9 weeks for Wc0.

汚染は甚大であった。一方,Wc0では3次発生時(7~9週目)に菌床底面にトリコデルマの増大が認められ,3次発生終了後の浸水処理で菌床が脆くなり破損したためすべて廃棄した。すべての試験区で,3次発生時(7~9週目)に糸状菌汚染の増大がみられた。Wc25やWc50,Wc75では3次発生終了後,菌床表面の乾燥に伴ってトリコデルマの分生子の発生は減少したが,乳白色の顆粒状物質が薄く菌床表面に広がった。

ハウスの試験区でもほぼ同様の状態が観察されたが,空調に比べやや汚染度が高く(第1図),一部菌床上にキノコバエ類(1)の成虫やその幼虫,蛹の存在が認められた。

3.2 培地添加物の添加率と子実体生産

第1表に各試験区における子実体の総発生量および総発生個数を示した。発生環境による子実体の総発生量および総発生個数を比較した結果,空調はハウスよりも総発生量および総発生個数ともに高くなった。各発生環境内で比較したところ,総発生量では添加率2.5%以下や12.5%の試験区で低下が認められ,総発生個数では0%および12.5%の試験区で低下が認められた。

4. 考 察

培地添加物としてのフスマ添加率が高い程,シイタ ケ菌床上の糸状菌汚染度は高くなる傾向が認められ た。おが粉・米ぬか培地で米ぬかの混合割合が増加す るとシイタケの菌糸生長度は低下する12。シイタケと トリコデルマの菌糸間相互作用では, 培地中の窒素含 量を増加させると、トリコデルマ菌糸の生長度やトリ コデルマの生産する抗菌性物質の量が増大し,シイタ ケがトリコデルマの侵入を阻止できなくなる13。ま た,シイタケもトリコデルマとの接触によって抗菌性 物質を生産するが、トリコデルマ菌糸の侵入速度がシ イタケの抗菌性物質生産速度を上回っていれば、トリ コデルマはシイタケを侵害しつづけると考えられてい る13。ペニシリウムに関しては,シイタケとの相互作 用に与える影響についてあまり精査されていないが、 今回の結果から,シイタケのペニシリウムに対する抵 抗性も培地組成に大きく影響されることが示唆され た。

子実体発生初期にはペニシリウムが多かったのは、 菌床シイタケ生産施設での空中落下菌中、ペニシリウムが最も多い¹⁴⁾ことが大きな要因であると思われる。 その後、トリコデルマが優勢となったのは、浸水処理等で菌床表面がトリコデルマの生育に適する環境となり、そのコロニーを拡大した結果と推察される。またトリコデルマはシイタケに対して菌寄生性を有する¹⁵⁾ことから、ペニシリウムに対してもそのコロニーへ徐々に侵入したものと考えられる。

空調とハウスの両発生環境間ではハウスでの汚染度が高く、さらにキノコバエ類の発生もみられた。これは、室内に設置された空調施設に対して、ハウスは屋外に設置されており、さらに気密性が低いために温度や湿度の変動が大きく、キノコバエ類が侵入しやすい状況にあったと考えられる10。温湿度の環境条件に加え、キノコバエ類が糸状菌汚染拡大を促進した可能性が高い。しかし両発生環境での、フスマ添加率に対する糸状菌汚染の傾向および子実体の発生パターンは一致しており、培地組成の影響を強く受けていることが示唆された。

フスマ添加率と子実体生産の関係では,フスマ添加率が7.5%を越えると発生個数・発生量とも少なくなった。これは発生初期からの糸状菌汚染が,子実体生産を阻害したと考えられる一方,培地組成が直接子実体の発生を抑制した17.18可能性もあり,今後の検討が必要である。

今回の研究から,菌床シイタケ栽培において,培地 組成が子実体発生操作時における菌床の糸状菌汚染に 大きな影響を与えることが明らかになった。

文 献

- 1) 大森清寿:1.自家培養型の栽培,"'98年版きのこ年鑑", 農村文化社, 1997 p.144 149.
- 2) 山内政明:2.菌床購入型の栽培,"'98年版きのこ年鑑",農村文化社,1997 p.149 155.
- 3) 富樫 巌,瀧澤南海雄:シイタケ菌床栽培における真菌汚染について,林産試験場報,**6**(3),1-5(1992).
- 4) 米山彰造,瀧澤南海雄:シイタケ菌の害菌抵抗性 について,日本木材学会北海道支部講演集,No.

- 24 47 50(1992).
- 5) 富樫 巌,瀧澤南海雄:食塩水によるシイタケ菌 床の害菌防除,日本木材学会北海道支部講演集, No. 25, 62 - 65 (1993).
- 6) 中里康和,岩村良男:シイタケ菌床栽培技術の確立・品種と栄養剤の比較・,青森県林業試験場報告平成4年度,39-83(1993).
- 7) 桃澤邦夫:シイタケ栽培試験,平成6年度東京都林 業試験場年報,107-110(1994).
- 8) 桃澤邦夫:シイタケ栽培試験,平成7年度東京都林 業試験場年報,109-114(1995).
- 9) 長野県経済事業農業協同組合連合会:収穫中の菌 床汚染,"菌床きのこ栽培障害事例集",長野県経 済事業農業協同組合連合会,1995 p.139-141.
- 10) 角田光利: きのこの病害と耐病性育種,林業技術, No. 634,16 - 18(1995).
- 11) 野淵 輝: 栽培きのこの害虫, 増補・改訂版 栽培 きのこ害菌・害虫ハンドブック",(社)全国林業改 良普及協会, 1996 p.183 - 210.
- 12) 時本景亮: シイタケ菌とトリコデルマ菌との競合に関する生理学的研究,菌蕈研究所研究報告, 23,1-54(1985).

- 13) 時本景亮, ほか3名: トリコデルマ菌侵害に耐性を 有するシイタケ菌株の選抜,木材学会誌, **44**, 351 - 359(1998).
- 14) 富樫 巌 ほか3名: 北海道における菌床シイタケ 発生施設の糸状菌汚染状況と*Trichoderma* spp.分離 菌株に対するベノミル水和剤の影響,木材学会 誌,**42**,1258-1263(1996).
- 15) 小 松 光 雄 : シ イ タ ケ に 抗 菌 性 の *Hypocrea*, *Trichoderma* および類縁菌群の研究,菌 蕈研究所研究報告, **13**, 1-113(1976).
- 16) 渡辺和夫 ほか6名: 菌床栽培におけるキノコバエ 防除に関する一方法, 奈良県林業試験場林業資料, No. 9, 27 29 (1994).
- 17) 安藤正武: シイタケ子実体の発生条件(1) 日本林 学会誌, **54**, 311 - 314 (1972).
- 18) 北本 豊:キノコの栄養生理2〕, 菌蕈, 24(9), 29-35(1978).

- きのこ部 生産技術科 -- *1:企画指導部 普及課 -

(原稿受理:00.9.10)

〔林産試験場報 第14巻 第6号〕