食塩を用いてトリコデルマ防除は可能か

-シイタケ菌床の害菌防除の試み-

富樫　巌

はじめに

シイタケ栽培は，原木の確保が困難になりつつあることや栽培者が高齢化しつつあるなどの問題から，菌床を用いる方法が注目されてきています[1]。平成4年における北海道の生シイタケ生産量は920トンです。そして，この生産量の27%が菌床栽培で作られています[2]。

しかし，この菌床栽培がシイタケの栽培法として定着するためには，解決しなければならないいくつかの問題があります。

その一つが，子実体発生中のシイタケ菌床に発生するカビ汚染です。シイタケ菌床に生じるカビは主にトリコデルマ（**イラスト1**：ツチアオカビとも呼ばれる）とペニシリウム（**イラスト2**：アオカビとも呼ばれる）です3）。特に，トリコデルマの発生による子実体収量の減少が重要な問題です（**写真1**）。

トリコデルマは，胞子発芽や菌糸発育が高湿度でおう盛です4）。トリコデルマはジメジメしていてベトベトした環境が大好きなのです。そこで，シイタケ菌床の水分活性を下げて乾いた状態にすれば，トリコデルマは菌床に発生できなくなるのではないのかと考え，水分活性を変えた試験をして，その効果を観察してみました。水分活性調節剤としては，人体に対する影響やコストを考慮して，食塩（**イラスト3**）を用いました[5]。

写真１トリコデルマが発生したシイタケ菌床

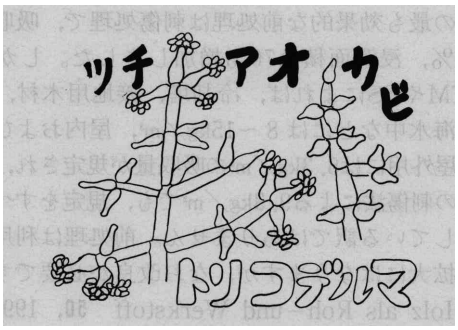

イラスト１

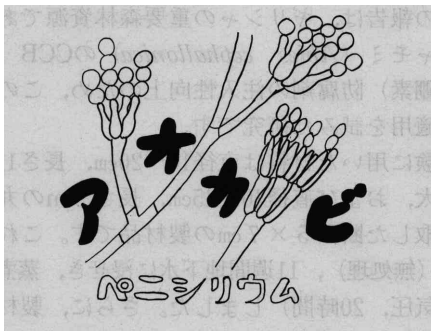

イラスト２

林産試だより1994年4月号

イラスト3　食塩はトリコデルマ防除の切り札になるか

次に，得られた試験結果を説明します。

水分活性とは

水分活性という言葉を，はじめて聞く人も多いと思います。一口でいうと，自由な状態の水がどれくらいあるかを示すものです。この水分活性の程度は，0から1の範囲の数値で示されます。自由な水分が全くない場合が『0』，自由な水分だけが存在する場合が『1』です。

例えば，コップに水道水を入れて測定すると，値は『1』になります。この水道水が入ったコップに食塩か砂糖を少しずつ加えて測定すると，それらの添加量が増えるにしたがって，水分活性の値が下がっていきます。この理由は，水道水に溶けた食塩または砂糖が水道水の水分子と手をつなぐために，その分コップの中の自由な水が減るからです（**イラスト4**）。

昔から世界各地で行われてきた食品の保存方法に塩漬や砂糖漬があります。これは，食塩や砂糖を食品の中に入れることで，その水分活性を下げる効果と浸透圧を上げる効果が働き，食品の腐敗を引き起こす雑菌の活動が押さえられることを経験的に利用しているのです。

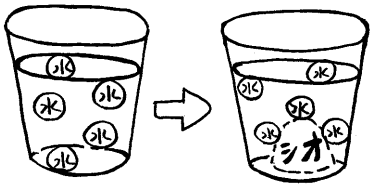

イラスト4　食塩の分子に水の分子がつかまえられる

食塩を添加した寒天平板培地でトリコデルマとシイタケを培養すると・・・

まずは，トリコデルマとシイタケの菌株を食塩の入った寒天平板培地で培養してみました。

(1) 試験方法

ポテト・デキストロース寒天培地（以下PDAと略す）に，食塩をそれぞれ，2，4，6，8%および10%（w／v）を添加し，121℃で20分間高圧滅菌しました。そして，9㎝径プラスチックシャーレに約18mlずつ流して平板培地を作りました。

一方，食塩を添加していないPDA平板培地を用いてトリコデルマ2株とシイタケ2株をあらかじめ培養しておきました。ここで用いたトリコデルマの菌株は，シイタケ菌床から分離した91002Tr株とナメコ菌床から分離したS613株です。また，シイタケの菌株は，北研600号（株式会社北研製）と林産試験場保存株Le77－20（菌床2号菌）です。

次に，トリコデルマとシイタケを培養していたこのPDA平板培地から，コルクボーラーを用いて，各菌体を寒天ごと打ち抜いて直径5㎜のディスク（円盤）を取り出し，それを食塩を添加した寒天平板培地に接種しました。

トリコデルマを接種したものは，温度25℃，照度約350ルクス（24時間連続照明）の培養器で培養しました。また，シイタケを接種したものは，温度25℃，暗黒の培養器で培養しました。培養期間は21日間とし，経時的にトリコデルマとシイタケのコロニー（円形に生長した菌糸体）の半径の伸びを測定して，それぞれの菌株の菌糸生長速度を求めました。得られた結果を**図**に示しました。

なお，対照区として，食塩を添加していないPDA平板培地での菌糸生長速度も求めました。

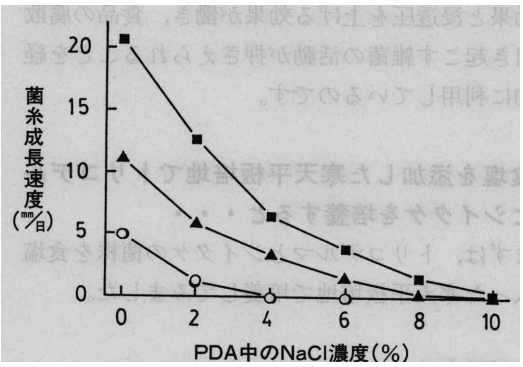

図　トリコデルマ，シイタケの菌糸生長速度と培地中の食塩濃度の関係
記号：▲：トリコデルマ91002Tr，■：トリコデルマS613
●：シイタケ北研600号，○：シイタケLe77－20
注：トリコデルマは25°C，約3501Xで21日間培養した。
シイタケは25°Cの暗所で21日間培養した。

(2) トリコデルマは，食塩濃度4%で菌糸生長速度が半減

さて，トリコデルマの菌糸生長速度をみてみますと，91002Trも，S613もともに，食塩濃度が高くなるに従い菌糸生長速度が低下しています。食塩濃度4%では，いずれのトリコデルマの菌糸生長速度もコントロール培地の半分以下に低下しています。また，91002Trを食塩濃度10%の培地で培養した場合には，接種源である直径5㎜のディスクから菌糸生長が観察されるまでに16日間もの誘導期間を要しました。さらに．トリコデルマのコロニーを顔微鏡を用いて観察したところ，食塩濃度が高くなるに従いトリコデルマの分生子柄〈胞子を形成する器官）の形成が妨害される傾向がみられました（**写真2，3**）。

次に，培地のpHを測定してみました。その結果，コントロール培地が5．6，食塩2%添加培地が5．5，同4%添加培地が5．4，同6から10%添加培地が5．3と，食塩の添加による培地pHの変化はわずかでした。したがって，食塩を添加した培地でのトリコデルマの菌糸生長速度の低下は，培地pHの影響によるものでないことが分かりました。

すなわち，この菌糸生長速度の低下は食塩による直接の作用と培地の水分活性の低下によって生じたものと推測されます6）。

(3) シイタケは，食塩濃度が4%以上では菌糸生長が停止

次に，シイタケの菌糸生長速度をみてみます。2株の菌糸生長速度は良く一致していました。培地中の食塩濃度が高くなるに従い菌糸生長速度が遅くなり，食塩濃度4%以上の培地では菌糸の生長が全く観察されませんでした。

シイタケの食塩耐性について調べた報告7）によると，寒天培地の食塩濃度が1．5～2%でも菌糸生長が観察される生理型Ｉと，それ以下の濃度でのみ菌糸生長が観察される生理型II（**イラスト5**）に分けられるとのことです。そうすると，今回供

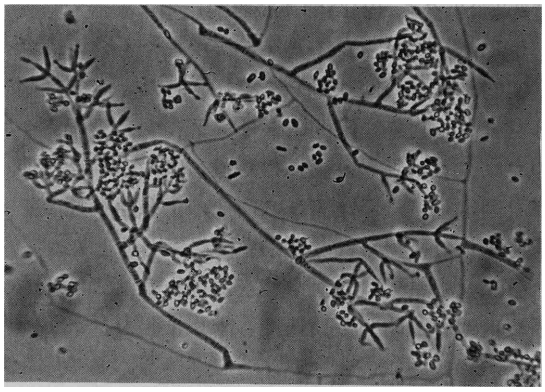

写真2　PDA平板培地で堵養したトリコデルマの分生子柄（300倍）

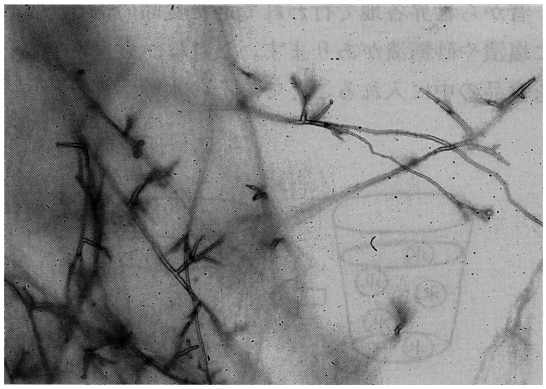

写真3　2%の食塩を含むPDA平板培地で培養したトリコデルマの分生子柄（300倍）

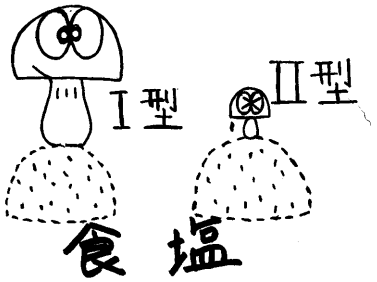

イラスト5　シイタケには，食塩に強いものと弱いものがある

試したシイタケ2株は，2%の食塩濃度でも菌糸生長がみられることから，食塩耐性が高い生理型Ⅰに該当すると思われます。

以上の結果をみると，シイタケの菌糸生長がみられない食塩濃度4%以上の培地でもトリコデルマの菌糸生長が観察されるので，トリコデルマはシイタケよりも食塩耐性が高いと判断されます。

したがって，シイタケの培地調整時に食塩を添加して培地の水分活性を下げ，トリコデルマの防除を行うことは，困難であることが分かりました。

完熟菌床を食塩水に浸せきすると・・・

シイタケの菌糸生長は，食塩を添加した培地で培養すると，トリコデルマよりも押さえられることが分かりました。

そこで，培養を終了した完熟のシイタケ菌床を食塩水に浸せきして菌床表面の水分活性を下げることにより，トリコデルマ防除が可能か否か検討しました。

この浸せきは，1回目の子実体収穫後としました。その訳は，1回目の子実体発生時の菌床にはトリコデルマをはじめとするカビはあまり発生しないからです。

試験には，以下に示す2種類のシイタケ菌床を用いました。一つは，北海道きのこ農業協同組合三笠工場で作製した2．5kg詰め菌床で，もう一つは，林産試験場で作製した1．1kg詰め菌床です。それぞれの概略は，以下のようになっています。

＜北海道きのこ農協三笠工場作製＞
　種　菌：北研600号
　水　分：65．1%
　培地基材：カンバ類のオガコとチップグストの混合物
　培地添加物と
　添加量：脱脂コメヌカ，パイデル，ホミニーフィードなどを，菌床1個当たりに風乾で211g混合
　培養条件：22°Cで95日間培養

＜林産試験場作製＞
　種　菌：Le77－20
　水　分：66．4%
　培地基材：カンバ類のオガコ
　培地添加物と
　添加量：菌床1個当たりにタイロンを風乾で122g混合
　培養条件：22°Cの暗所で29日間，25°Cの明所で35日間，合計64日間培養

(1) 試験方法

菌床の培養終了後，培養袋を除去して菌床表面を水道水で洗い流してから，それらを温度16°C，相対湿度85%，照度約350ルクス（12時間／日の間欠照明）の条件に設定したキノコ生育室に展開して，1回目の子実体発生を行い，収穫後，水道水を用いて16時間の流水による浸水処理を行いました。

北研600号の菌床については，3・10・20%（w／v）の食塩水に60秒間浸せき処理した後，2回目の子実体発生を行いました。浸せき処理した菌床は，それぞれ3%食塩水区，10%食塩水区，20%食塩水区とし，コントロール区の菌床については，水道水による浸水のみとしました。2回目の子実体収穫後，同様の浸水と浸せき処理を各試験区の菌床について行い，3回目の子実体を発生させました（**イラスト6**）。

また，Le77－20の菌床については，食塩水の濃度を1．5・3・6%とし，浸せき時間を30秒とした

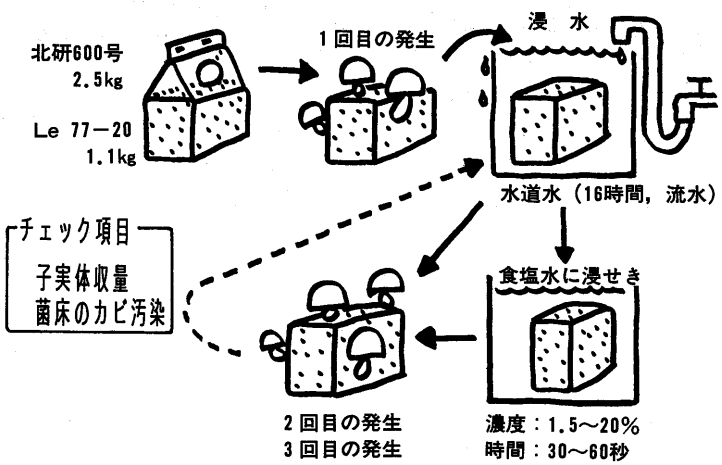

イラスト6 食塩水を用いた菌床シイタケ栽培試験の方法

ほかは，北研600号と同様に2回目および3回目の子実体を発生させました。浸せき処理した菌床は，それぞれ1．5%食塩水区，3%食塩水区，6%食塩水区としました。

子実体の採取は，ヒダを覆う皮膜が切れたときとしました。ステンレスのはさみを用いて柄の根元から切断し，その生重量を測定して収量を求めました。

なお，各試験区の供試菌床数は，いずれも5個としました。

(2) 結果：食塩濃度10%以下ならば，子実体収量に有意な影響なし

① 北研600号

北研600号の菌床について2回目の子実体収穫後に算出した菌床当たりの平均子実体収量は表1のようになってます。コントロール区が150．7g，3%食塩水区が170・1g，10%食塩水区が140．7g，20%食塩水区が97．7gでした。コントロール区と比較して，20%食塩水区の子実体収量のみが5%の危険率で低くなりました。20%食塩水区の菌床はカビ汚染度が大きかったため，20%食塩水区を除いて3回目の子実体発生を行いました。その場合の菌床当たりの平均子実体収量は，コントロール区が77．3g，3%食塩水区が64．6g，10%食塩水区が58．6gであり，コントロール区に対する有意差は認められませんでした。

② Le 77－20

Le77－20の菌床における2回目と3目の子実体発生を合わせた菌床当たりの平均子実体収量は，コントロール区が144．1g，1．5%食塩水区が120．2g，3%食塩水区が106．2g，6%食塩水区が107．3gでした。コントロール区に対する有意差は認められませんでした。

表1 北研600号の菌床における子実体収量（2回目）と統計処理結果

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

注）供試菌床数：各試験区5個（2．5kg）
記号）＊：5%危険率で有意差あり
＊＊：1%危険率で有意差あり

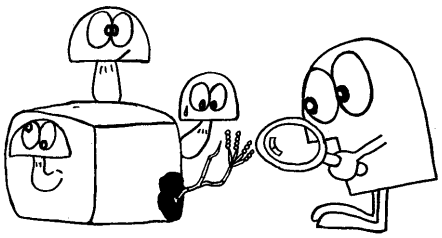

イラスト7　害菌の発生状況を目視で観察

こうした結果から，10%以下の濃度の食塩水への浸せきは，シイタケ菌床の子実体収量に有意な影響を与えないことが分かりました。

食塩水に浸せきした菌床のカビ発生状況は・・・

最後に，完熟菌床の子実体発生試験において，各菌床表面に生じたカビについての目視による観察結果を示します（イラスト7）。

まず，菌床のカビ汚染度の評価方法について説明します。菌床にカビが観察されないものを「—」，わずかでもトリコデルマまたはペニシリウムが観察されればそれぞれ「T」または「P」，それらの菌そうが生長しつつあるが菌床を廃棄するほどの汚染度でない場合は「T ’」または「P ’」，さらに汚染が進行し，それ以上菌床を使用するのが困難なほどの汚染度に達した場合は「T"」または「P "」としました（**イラスト8**）。

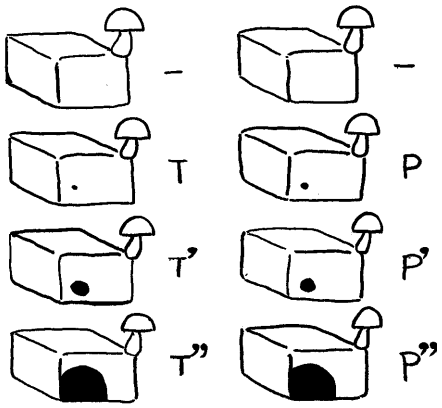

イラスト8　害菌の汚染度合を表す記号

(1) 北研600号

表2には，北研600号の菌床のカビ汚染状況を示しました。1回目の子実体収穫後に半数程度の菌床にペニシリウムが発生していました。

2回目の子実体収穫後には，10%と20%食塩水区のペニシリウム汚染が進行しており，20%食塩水区の菌床についてはそれ以後の使用が困難な状態でした。

この原因は，高濃度の食塩水への浸せきで菌床表面の水分活性が低下したため，乾燥した環境を好むペニシリウムの汚染が促進されたものと推測されます（ペニシリウムには，低い水分活性の環境を好む者がいるのです）。

また，10%食塩水区にはトリコデルマの発生がみられていないことに注目してください。3%食塩水区のトリコデルマ汚染度はコントロール区より少ない傾向がみられました。

3回目の子実体収穫後には，供試した全ての菌床にトリコデルマとペニシリウムが発生しました。

表2　北研600号シイタケ菌床（2．5kg）のカビ汚染状況

		1回目 発生終了	2回目 発生終了	3回目 発生終了
コントロール区	1	P	P＆T	P’＆T’
	2	—	P	P＆T
	3	P	P＆T’	P＆T’
	4	—	P＆T	P＆T
	5	—	P＆T	P＆T’
3％食塩水区	1	P	P	P’＆T’
	2	—	P＆T	P＆T
	3	P	P	P＆T
	4	—	P	P＆T’
	5	—	P＆T	P＆T
10％食塩水区	1	—	P’	P”＆T
	2	—	P’	P”＆T
	3	—	P’	P”＆T”
	4	—	P’	P”＆T”
	5	P	P’	P’＆T’
20％食塩水区	1	P	P”＆T’	
	2	P	P”＆T’	
	3	P	P”＆T	
	4	—	P”＆T	
	5	P	P”＆T	

記号）—：カビなし，P：ペニシリウム発生，
T：トリコデルマ発生，’：カビ菌そう拡大，
"：カビ菌そう拡大し菌床の使用不可

表3　Le77−20シイタケ菌床（1．1kg）のカビ汚染状況

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

注：記号は表2と同じ。

そして，10%試験区と比較して，コントロール区と3%食塩水区のトリコデルマ汚染度が低い傾向が観察されました。

（2）Le　77−20

表3には，Le77−20の菌床のカビ汚染状況を示しました。1回目の子実体収穫後にはいずれの菌床にもカビが発生していませんでした。2回目の子実体収穫後には，ほとんどの菌床にトリコデルマやペニシリウムが発生していましたが，その汚染度は高くありませんでした。3回目の子実体収穫後には，6%食塩水区のトリコデルマの汚染度が高く，コントロール区のトリコデルマ汚染度が低い傾向が観察されました。

今回の結果から，シイタケ菌床を低濃度の食塩水へ浸せきすることによって，トリコデルマの発生がある程度阻害される可能性が示されました。しかし，同時に，そうした浸せき処理を繰り返すことで逆にトリコデルマの発生を促進したり，その汚染を大きくする危険性のあることも観察されました。こうした現象を生ずる原因は，完熟菌床といえども食塩によるストレスを受けるためと思われます。

おわりに

以上のように，食塩を添加したＰＤＡ平板培地でのトリコデルマやシイタケの菌糸生長を観察するとともに，完熟菌床を食塩水に浸せきすることでトリコデルマの防除が可能か否かをみてみました。

今後は，シイタケ菌床を食塩水に浸せきする方法が，トリコデルマの防除法として実用化の可能性があるか否かを精査するとともに，ペニシリウムの防除方法についての検討を行いたいと考えています。さらに，食塩以外の水分活性調製剤についても検討を行いたいと考えています。

謝　　辞

北研600号のシイタケ菌床を提供して頂いた北海道きのこ農業協同組合に感謝いたします。

参考資料

1）きのこ技術集談会編集委員会編：“きのこの基礎科学と最新技術”，農村文化社，1991，P．212−221
2）特産情報，農村文化社、1月号，1994，p．22−24
3）富樫　巌，瀧澤南海雄：林産試験場報，6（3），1−5（1992）
4）小松光雄：菌蕈，21（2），2−13（1975）
5）横関源延：防菌防黴誌，3（3），131−135（1975）
6）Edmond R．B．：Mycologia，8（3），464−468（1989）
7）河村のり子，後藤正夫：日本菌学会会報，19（2），161−168（1978）

（林産試験場　生産技術科）