

新しい野生きのこ栽培技術の開発

2003年度～2005年度（県単）

門屋 健

要 旨

県内きのこ栽培者の経営強化のために、野外で発生する野生きのこの中で、新たに栽培に導入できる可能性のある種を収集し、培養条件などの栽培化に向けての基礎データの収集と栽培技術の開発の検討を行った。また、併せて収集した菌株を効率的に長期保存する技術確立のための試験を実施した。

その結果、野生きのこを36種、63菌株収集することができた。得られた野生きのこの内、キサケツバタケ、ムラサキシメジ、ツブエノシメジ、ハナビラタケについて、菌糸伸長の最適温度等の培養条件を明らかにした。また、キサケツバタケについては、バーク堆肥を混合した培地での培養条件および培養菌床をプランターにバーク堆肥と一緒に埋め込む方法で、子実体の収穫が可能であることを明らかにした。

また、菌株の保存方法に関しては、培養菌糸片を -84°C のディープフリーザーに凍結保存する方法で、当センター保有のエリンギ菌株とヤナギマツタケ菌株の菌糸伸長能と子実体形成能が維持されることが明らかになった。

I はじめに

近年、きのこ栽培の主流は原木栽培から菌床栽培にそのウエイトが移行してきており、それに伴い、ニュータイプのきのこが続々と市場に登場している。本県でも地中海原産のヒラタケ属のきのこ、エリンギの新品種育成を行い、平成15年9月には「とっとき1号、2号」を品種登録し、推奨しているが、県内のきのこ栽培者の経営強化のためには、更に新しいきのこの栽培化、市場化が求められている。

そこで、新たなきのこ栽培品種を開発するために、野外で発生する野生きのこの中で、新たに栽培に導入できる可能性のある種を収集し、栽培化に向けての基礎データの収集と栽培技術の開発の検討を行ったので報告する。また、併せて収集し

た菌株を効率的に長期保存する技術を確立するための試験を実施したので報告する。

II 方法

1. 野生きのこ菌株の収集

県内外各地より野生きのこを収集し、それらきのこ子実体の組織を無菌下で切り取り、PDA試験管培地に植え付け分離した。

2. 収集菌株の培養条件の検索

1で得られた菌株の中で、木材腐朽菌または腐生菌でオガ粉等を培地基材として培養が可能であると思われるキサケツバタケ、ムラサキシメジ、ハナビラタケおよびツブエノシメジについて、菌糸の培養条件の検索を行った。

キサケツバタケは、モエギタケ科モエギタケ属

のきのこで、春と秋に路傍の草むら、林縁、畑地、ゴミ捨て場、木くずあるいは牧場のウシやウマの糞上などに単生～群生するサケツバタケの傘の黄色の品種とされている。東アジア、ヨーロッパ、北アメリカに分布し、優秀な食用菌と記載されており¹⁾、ヨーロッパにおいては栽培化されているという記述もある³⁾。

ツブエノシメジは、夏から秋に森林や路傍、庭園などの地上に群生するきのこである¹⁾。2004年に県内で採取された子実体は、傘径約15cm、柄の長さも約15cmと大型で肉質も充実していたため、菌床栽培化できないかと考え、その培養条件の探索を行った。

(1) キサケツバタケの培養条件

2003年に県内で採取したキサケツバタケ菌株については、採取した子実体もボリューム感があり、菌床栽培化の可能性があると考え、培養条件を探索するための試験を実施した。

試験は予めPDA試験管培地からPDA平板培地に移植した菌糸を、10mmのコルクボーラーで打ち抜きPDA平板培地に接種した。それらを一定温度で培養し、一定期間経過後に菌糸伸長量を測定し、菌糸の培養特性を調査した。また、菌床栽培における菌糸伸長特性を把握するため、オガ粉、広葉樹バーク堆肥等の培地基材とフスマ、ホミニーフード等の栄養体を組み合わせたオガ粉シャーレ培地上での、菌糸伸長量を測定した。

更に、詳細な培養特性を把握するため、MYG (M : 麦芽エキス1.0%、Y : 酵母エキス0.4%、G : グルコース0.4%、寒天1.0%) 平板培地での菌糸伸長試験、MYG液体培地での菌糸体成長量試験を実施した。MYG平板培地での試験方法はPDA平板培地の方法に準じた。

MYG液体培地での試験では、培養に適したpHと培養中のpHの変化を調べるため、液体培地をpH

4～7に調整し、PDA平板培地で前培養した菌糸を10mmのコルクボーラーで打ち抜いたものを接種源として、培地40mlに1個接種した。28℃の恒温器で、2週間培養後、ナイロンメッシュで菌糸体と液体培地を分け、絶乾後(105℃、24時間)の菌糸体重量を成長量とした。また、濾別した培地のpHを測定した。

(2) ムラサキシメジの培養条件

2003、2004年度に収集した4菌株について、菌糸伸長試験を実施した。PDA試験管培地に保存した菌糸をPDA平板培地において前培養し、10mmのコルクボーラーで打ち抜いた菌糸片を再度PDA平板培地に移植した。25℃の恒温器で培養し、7日後と14日後に菌糸伸長量を測定した。

続いて、これらの内、菌糸伸長速度が比較的優れていた菌株N2と菌株Gについて、バーク堆肥とコナラオガ粉を1 : 1 (v/v) で混合し、フスマを培地基材の容積の20%添加した1kgの袋培地において培養を試みた。約23℃で培養後、90日後に菌糸の蔓延程度を目視で判定し、菌糸が蔓延した菌床について、プランターにバーク堆肥とともに埋め込み再培養した。

(3) ハナビラタケの培養条件

2003～2005年度に収集した3菌株と市販の1菌株について、2 (2) 同様に菌糸伸長試験を実施した。また、それら4菌株について、カラマツオガ粉を使用したオガ粉シャーレ菌糸伸長試験を実施した。カラマツオガ粉とフスマ、ホミニーフードを混合し含水率を約65%に調整後、ガラスシャーレ1枚につき約20g充填し、高圧滅菌後PDA平板培地で前培養しておいた菌糸を5mmのコルクボーラーで打ち抜いて接種した。シャーレは約25℃の恒温器で培養後、2週間後、4週間後に菌糸伸長量を測定した。

(4) ツブエノシメジの培養条件

収集した1菌株について、2(2)同様にPDA平板培地で菌糸伸長試験を実施した。また、バーク堆肥を混入したコナラオガ粉培地においてもシャーレ菌糸伸長試験を実施した。オガ粉培地を一定割合バーク堆肥に置換し、フスマを混合後含水率約65%に調整し、ガラスシャーレ1枚につき約20g充填し、高圧滅菌後、PDA平板培地で前培養しておいた菌糸を5mmのコルクボーラーで打ち抜いて接種した。培養は約25°Cの恒温器で行い、2週間後、4週間後に菌糸伸長量を測定した。

3. キサケツバタケの菌床栽培試験

(1) 培地組成の検索

ア. オガ粉による菌床栽培試験

菌床培地での菌糸伸長条件を調べるため、コナラオガ粉とフスマを10:1、10:2、10:3(v/v)の3条件で混合し(含水率を約65%に調整)、PP(ポリプロピレン)製の袋に1kgずつ詰め、前培養したオガ粉種菌を接種し、約23°Cで培養後、一定期間経過ごとに菌糸の蔓延程度を目視で計測した(5%刻み)。また、菌糸蔓延後は、菌カキを行い、温度15~17°C、湿度約90%の条件で子実体発生を促した。

イ. バーク堆肥を用いた菌床栽培試験

培地はバーク堆肥とコナラオガ粉を3:1、1:1、1:3(v/v)で混合したものに、フスマとホミニーフィードをそれぞれ培地基材の30%、5%(v/v)加え、含水率約65%に調製した。菌床にはポリプロピレン製の袋を用い、培地を1.0kgずつ詰め、オートクレーブで高圧滅菌し、前培養したオガ粉種菌を接種した。約23°Cで培養後、70日後と100日後に菌糸のまん延程度を目視で判定した。

(2) プランターを用いた子実体発生試験

ア. コナラオガ粉菌床による子実体発生試験

菌糸が蔓延した培地の袋を取り除き、3個ずつ市販のプランターに詰め、周囲と表面にバーク堆肥を入れた。これらを室温条件で再培養し、表面

に菌糸が発生した後、再び前記条件で発生操作を行った。なお、再培養中は培地表面が乾燥しないように新聞紙で覆い、適宜水分を与えて管理した。

イ. 培地基材の検討

キサケツバタケ栽培の効率化を検討するために、数種の培地基材を組み合わせて栽培試験を実施し、その有効性を検討した。使用した培地基材と混合割合は表-1のとおりである。

表-1 培地基材の混合割合

培地No.	培地基材 (混合割合 (v/v))
1	コナラ : バーク = 5 : 5
2	コナラ : バーク : ドリル屑 = 3 : 5 : 2
3	コナラ : バーク : コーヒー滓 = 3 : 5 : 2
4	コナラ : バーク : コーンコブ = 3 : 5 : 2
5	コナラ : コーンコブ = 5 : 5

これらを用いて3.(1)ア同様に培地を作成し、菌糸が蔓延した培地を前記同様の方法でプランターに埋め込み、培養、発生操作を行った。

4. 原菌長期保存手法の検討

当センターでは、収集した菌株の保存はPDA斜面培地により冷蔵保存しているが、半年から1年毎に菌糸を移植する作業には多大な労力が必要であることから、簡便な菌株の保存方法を検討した。

菌株を保存する方法には幾つか考えられるが、なるべく省力化が可能で、かつ、ランニングコストの問題を考慮し、ディープフリーザーを用いた-84°Cでの低温凍結保存を試みた。

試験に供したきのこは、エリンギとヤナギマツタケで、エリンギについては「とっとき1号」、「とっとき2号」の2菌株、ヤナギマツタケについては「しゃきっこ1号」、「しゃきっこ2号」の2菌株の当センターで育成を行った品種について、冷凍保存手法の検討を行った。

エリンギおよびヤナギマツタケの菌株は、予めPDA平板培地で培養し、冷凍保存処理に当たり、

伸長した菌糸をコルクボーラーで直径2mmに打ち抜き、滅菌した10% (v/v) グリセリン液を入れた滅菌済みのバイアルに菌糸片を3個ずつ入れ、-84℃で冷凍保存した。なお、凍結処理の際には、NALGENE Cryo 1℃ Freezing Containerを用いた。

次に冷凍による菌糸への影響を調査するため菌糸の解凍処理を行った。-84℃で3か月から6か月冷凍保存した菌糸片の入ったバイアルを取り出し、38℃の温浴上で瞬時に解凍し、クリーンベンチ内で開栓後、滅菌水で菌糸片を洗浄しPDA平板培地に移植した。それらは、一定期間培養後、菌糸伸長量の測定および菌叢の観察を行った。

続いて、それら菌糸を栽培試験用のオガ粉種菌培地に移植し、約2か月間培養後、通常のスギオガ粉を使用した栽培試験に供した。栽培試験においては、PDA試験管培地で継代培養していたものからの種菌を対照区として用いた。栽培条件は、約23℃で40~50日培養後、菌かきを行い、温度約15℃、湿度約90%の発生室で子実体発生を促した。子実体は1ビン当たりの重量、本数を測定した。

Ⅲ 結果と考察

1. 野生きのこ菌株の収集

県内外各地より収集した菌株の内訳は、木材腐朽菌および腐生菌が29種、51菌系、菌根菌が7種、12菌系であった(表-2)。これら分離された菌株は、20℃の恒温室内においてPDA試験管斜面培地で保存している。

2. 収集菌株の培養条件の検索

(1) キサケツバタケの培養条件

キサケツバタケ菌糸はPDA、MYG平板培地、どちらにおいても良好に伸長した。また、菌糸伸長に適した温度は28~30℃と比較的高かった(図-1)。

pH 4~7の4試験区での液体培地での菌糸体成長量試験においては、成長が特に阻害される

ことはなかった。また、4試験区の中では、比較的高いpH(6~7)の方が成長は早い結果となったが、有意差は認められなかった(図-2)。培養後の培地のpHは4試験区ともpH3.6前後となり、培養液を酸性側に低下させる性質が認められた。

次に、バーク堆肥を培地基材に使用した培地での菌糸伸長量試験においては、対照区のコナラ培地と比較して、バーク堆肥を加えた培地は混入割合に関係なくどの区においてもその添加効果が認められた(図-3)。

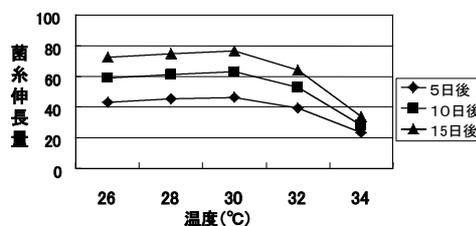


図-1 キサケツバタケの菌糸伸長試験

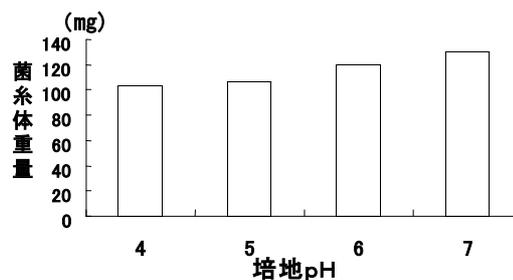


図-2 培地pHの違いによる菌糸体成長量

(2) ムラサキシメジの培養条件

試験に使用した4菌系の菌糸伸長速度を比較したのが図-4である。これらの内、菌株N2と菌株Gは菌糸伸長速度が比較的優れていたため、バーク堆肥とコナラオガ粉の混合培地で培養を試み

た結果、菌株N 2については、約90日で菌糸が蔓延したが、菌株Gについては十分に菌が廻る前に雑菌に侵された。

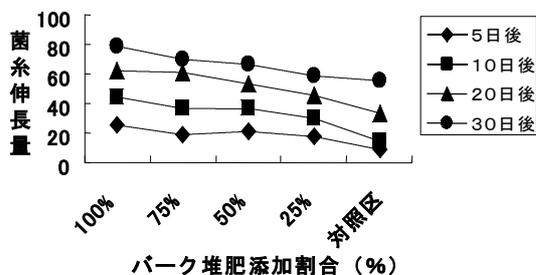


図-3 バーク堆肥混合割合別の菌糸伸長量

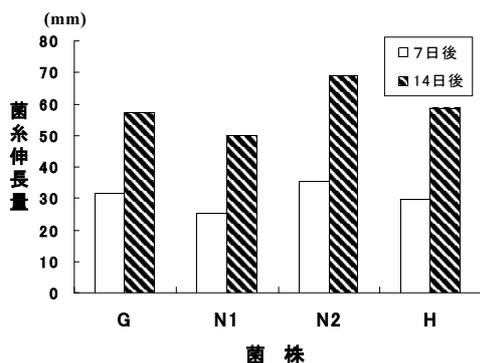


図-4 菌株による菌糸伸長量の違い

菌廻りが完了した菌株N 2については、キサケツバタケ同様にプランターにバーク堆肥と一緒に埋め込み培養したところ、培地表面にムラサキシメジ特有の紫色の菌糸が発生してきたが、子実体の発生には至らなかった。今後更に、培地・添加物の種類、培養・発生条件を検討することが必要である。

(3) ハナビラタケの培養条件

ハナビラタケ野生株3菌株の菌糸伸長速度を市販品種の菌株Yと比較したのが図-5である。菌

株SとIは菌株Yと比較してPDA培地上では菌糸伸長が遅い傾向が見られたが、平成17年に採取した菌株Nは、菌株Yと比較しても遜色ない菌糸伸長速度を有していた。また、それら4菌株におけるカラマツオガ粉シャーレ菌糸伸長試験の結果は、菌株S、Iも菌株Yと比較して良好の菌糸伸長を示した(図-6)。また、菌株Nは両培地において、最も菌糸伸長速度が早く、今後の栽培試験に使用する菌株として特に有望であると考えられた。

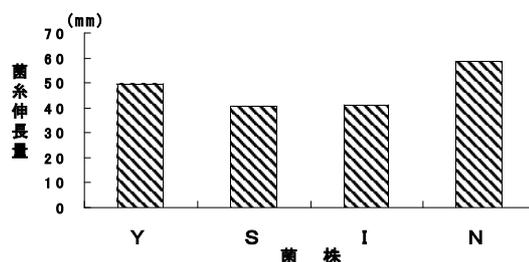


図-5 菌株による菌糸伸長量の違い(PDA培地)

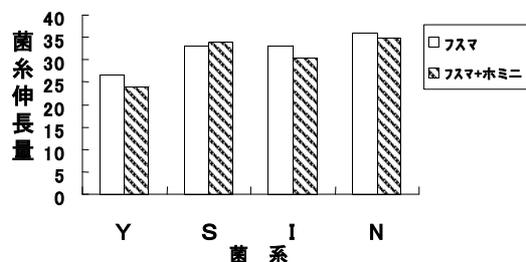


図-6 菌株による菌糸伸長量の違い

(4) ツブエノシメジの培養条件

PDA平板培地での菌糸伸長は、10℃～30℃の間では25℃が最も良く、一般的なきのこ菌糸と同様の傾向を示した(図-7)。また、バーク堆肥を混入したオガ粉培地における菌糸伸長においては、50～100%混入区でオガ粉のみの対照区より

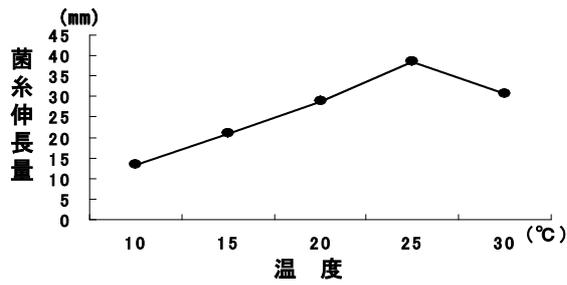


図-7 ツブエノシメジの菌糸伸長試験

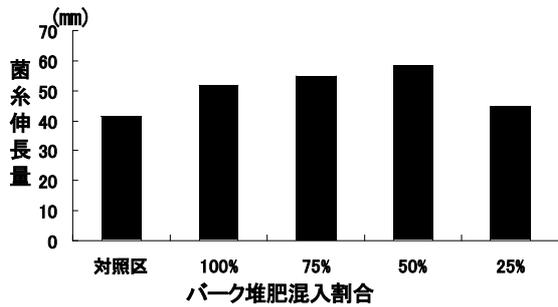


図-8 バーク堆肥混入割合の違いによる菌糸伸長試験

良好な菌糸伸長を示し、バーク堆肥を利用した菌床栽培の可能性が示唆された (図-8)。

3. キサケツバタケの菌床栽培試験

(1) 培地組成の検索

ア. オガ粉による菌床栽培試験

キサケツバタケの菌糸の蔓延については、培養期間の中間の50日後では、フスマの添加量が一番少ない10：1区で、平均蔓延率が50%を越えていたのに対して、10：2区、10：3区では、蔓延率が35～40%の菌床が多く、フスマの添加量が少ない方が好結果であった。培地全体に菌糸が蔓延するのに要した日数は、10：1、10：2区で110～120日、10：3区では約120日であった。

イ. バーク堆肥を用いた菌床栽培試験

バークを混入した菌床培地は、対照区のコナラのみとの培地と比較して、どの区 (混入割合100%、75%、50%、25%) においても、菌糸伸長

を促進させる効果が認められた (図-9)。この結果から、キサケツバタケ菌床栽培において菌糸蔓延までの期間を短縮させるには、バーク堆肥を混入することが必要であることが明らかになった。

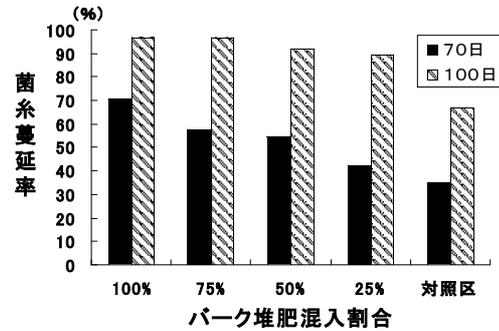


図-9 バーク堆肥混入割合別の菌糸蔓延率

(2) プランターを用いた子実体発生試験

ア. コナラオガ粉菌床による栽培試験

プランターに埋め込んだ菌床は、室温条件下で10日から2週間で培地表面に発菌した (写真-1)。最初の子実体は、オガ粉：フスマ=10：3の配合条件で、プランターに埋め込んでから53日後に得られた (写真-2)。得られた子実体は野生の子実体と同じキサケツバタケの特徴であるツバを有していた (写真-3)。また、子実体の発生位置は、埋め込まれた菌床の周囲に限られていた。子実体の発生は、その後断続的に見られ、10：3区では105日後まで、10：2区では



写真-1 プランターでの発菌の様子

328日後まで、10：1区では323日後までみられた。子実体発生量は、フスマの配合割合が高い区ほど多くなった（図-10）。個重が一番大きい子実体は10：2区で得られ、1本165gであった（写真-4）。なお、発生した子実体の1本当たりの平均生重量は34.0gであった。また、プランターに入れる培養済み菌床の数を3個から2個にすると、どの試験区においても、子実体の発生量は1菌床当たり100g以下に低下した。

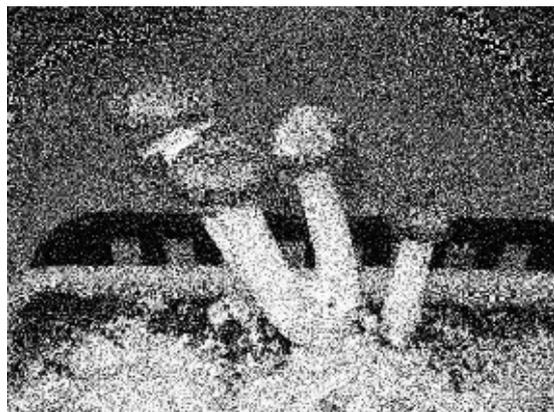


写真-2 プランターから発生した子実体の様子

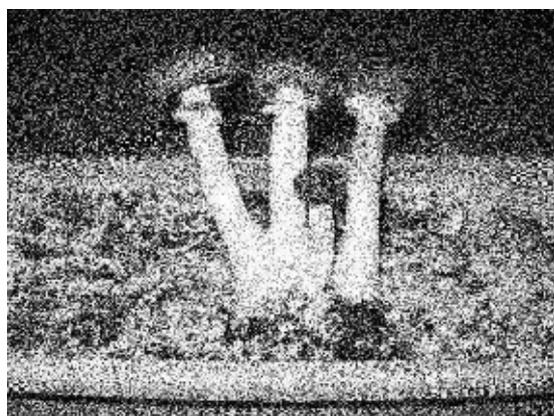


写真-3 子実体のつばの状況

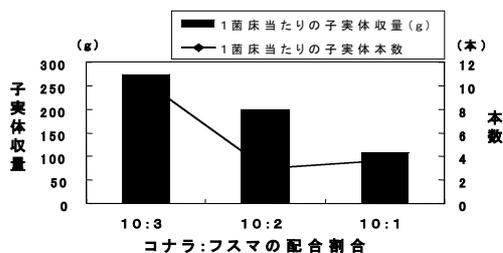


図-10 子実体発生量と発生本数



写真-4 収穫された子実体

イ. 各種培地基材の検討

各培地での接種後30日後の平均菌糸蔓延率を図-11に示す。No. 3の培地の蔓延率が他と比較して低かったが、その他の培地間には差がなかった。各培地は90日で菌糸が培地全体に蔓延したので、プランターにバーク堆肥と一緒に埋め込んで培養、発生操作を行った。子実体はプランターに埋設後109日目から収穫が始まり（培地No. 3とNo. 4）、短いもので92日間、長いもので182日間に数回発生があった。各培地における子実体の収量は図-12に示すとおりで、コナラとバークを1：1（v/v）で混合した培地No. 1と比較して、同等の収量があったものはコナラとコーンコブを1：1（v/v）で混合した培地No. 5だけであった。

今回実施したプランターを用いた栽培試験の結果から、キサケツバタケ栽培には、コナラとバーク堆肥を1：1（v/v）で混合した培地、または、バーク堆肥の代わりにコーンコブを混合したものが適していると考えられた。また、一つのプラン

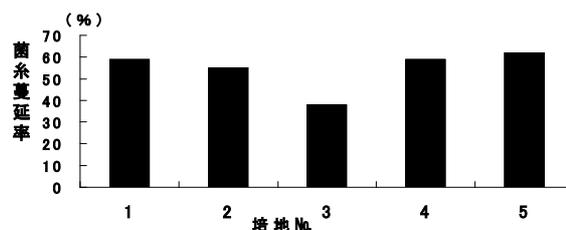


図-11 各培地における菌糸蔓延率

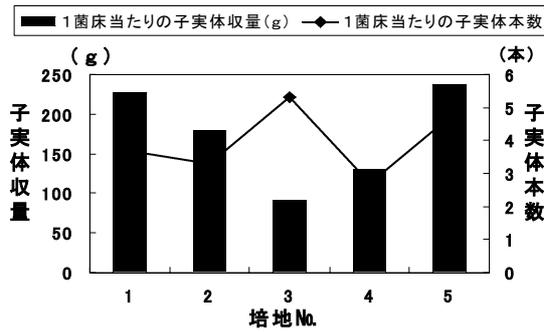


図-12 子実体発生量と発生本数

ターに埋め込む菌床の数を2個にした場合やプランターを小型にして2個の菌床を埋め込んだ場合には子実体の発生は見られたが1菌床当たりの子実体収量は100g以下で、3個入りのプランターと比較して収量が低下する結果となり、栽培工程における作業効率を考慮するとプランターに菌床を3個埋設するのがよいと考えられた。

現時点で実際に現場でキサケツバタケ栽培を実施する場合は、シイタケのように培養期間、発生期間がキサケツバタケ同様に長いきのここと一緒に施設で行うのが適していると考えられた。今後は、プランターに埋め込んでから子実体発生までに要する日数を短縮させる手法および発生期間を集中させる技術の究明が必要である。

4. 原菌長期保存手法の検討

II-4の方法で5か月から10か月凍結保存処理をした菌糸を解凍処理を行ってPDA平板培地に移植した。それら菌糸の菌糸伸長速度を、PDA試験管培地で継代培養した菌糸のそれと比較した結果、エリンギのとっとき1号、2号、ヤナギマツタケのしゃきっこ1号、2号とも凍結処理により菌糸伸長能が損なわれることがないと判断された(図-13)。また、培地上に伸長する菌叢の状態も、対照と比較して差異は認められなかった(写真-5)。

続いて、凍結処理由来のエリンギによる栽培試

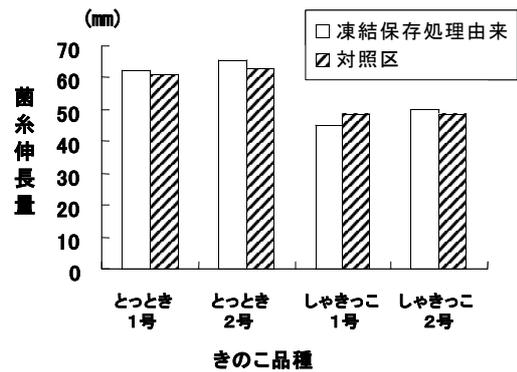


図-13 各きのこ品種の菌糸伸長量の比較



上左: ヤナギマツタケ対照区 上右: ヤナギマツタケ凍結保存区

下左: エリンギ対照区 下右: エリンギ凍結保存区

写真-5 凍結保存菌株の菌糸伸長状況

験の結果を示す。とっとき1号、2号とも子実体の収量に関しては、対照区の継代培養菌糸からの種菌を用いたものと有意差は認められることなく、凍結保存におけるエリンギの子実体形成能は問題なく維持されていると判断された(図-14)。一方、子実体の本数に関しては、とっとき2号については有意差が認められなかったが、とっとき1号については、凍結保存菌糸由来が平均4.4本であったのに対して、対照区は平均3.2本で有意差が認められたため、今後、更に調査する必要性

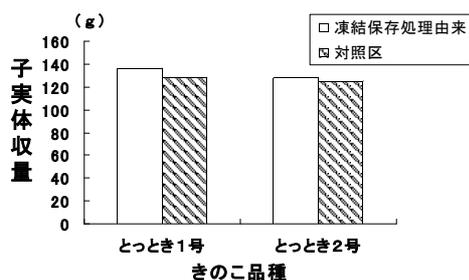


図-14 凍結保存菌株の子実体発生量(エリンギ)

がある。

次に、同様にヤナギマツタケ(しゃきっこ2号)の栽培試験の結果を示す(図-15)。ヤナギマツタケについては、液体窒素による凍結保存において、子実体形成能は維持されることが報告されているが²⁾、今回のしゃきっこ2号による栽培試験の結果も、既報の結果を支持し、子実体収量、子実体本数とも凍結保存由来菌糸と対照区で有意差は認められなかった。ただ、今回は保存期間が1年以内と短期間であったため、今回、ストックした菌株を今後、数年毎に調査し、低温凍結保存による菌糸特性への影響の有無を継続して調査することが必要である。

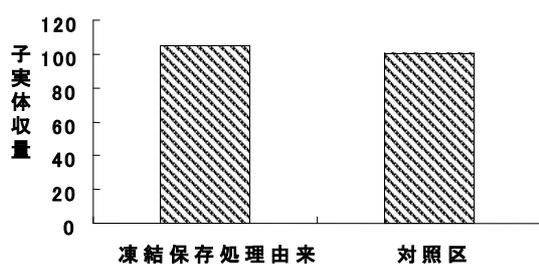


図-15 凍結保存菌株の子実体発生量(ヤナギマツタケ)

IV まとめ

今回、新たなきのこ栽培品種を開発するために、野外で発生する野生きのこの中で、新たに栽培に

導入できる可能性のある種を収集し、栽培化に向けての基礎データの収集と栽培技術の開発の検討を行った。その結果、菌株のストックに63菌株の野生株を加えることができた。これらは、今後、当センターできのこ関係の試験研究を進めていく上で貴重な資源となった。また、今回収集した菌株の内、幾つかのきのこの培養特性を明らかにした。これらは、今後の栽培化に向けての基礎データとして利用されることが期待される。その中で、キサケツバタケについては、パーク堆肥を使用した培養方法を開発し、また、プランターに埋め込むことで、施設栽培での栽培化が可能になった。今後、更に培地基材や栄養体、栽培条件を検討し、より効率的な栽培工程を確立することが求められる。

菌株の保存手法に関しては、ディープフリーザーを利用した菌糸凍結保存法で、エリンギ、ヤナギマツタケの菌糸伸長能、子実体形成能が維持されることが明らかになった。今後は、さらに長期間の凍結保存の影響を明らかにし、より効率的な菌株の保存管理を進めていきたい。

VI 引用文献

- 1) 今関六也, 本郷次雄 (1987) 原色日本新菌類図鑑 (I). 325pp, 保育社, 大阪. 193.
- 2) 前川二郎 (1999) きのこの菌糸を凍らせて保存する. 菌草'99.5: 38-43.
- 3) McKNIGHT, K., McKNIGHT, V. B. (1987) A Field Guide to Mushrooms of North America. 429pp, Houghton Mifflin Co., New York. 265-266.