

ニュータイプきのこ資源の利用と生産技術の開発

1996年度～2003年度（国補・地域バイオテック）

吉田 和広 高橋 講治*

石田 朗** 加藤 龍一***

要 旨

山村農家の収入増大と消費者の食品に対するニーズに応えるために、ニュータイプきのこ（未栽培きのこや新たな特性を持つ既存品種）の栽培技術の開発に取り組んだ。まず、DNA 解析による遺伝資源の分類では、RFLP 分析によって種間の判別が可能となった。シイタケの系統判別もプローブを改良することによって可能となった。また、針葉樹オガ粉で栽培可能なシイタケを4菌株収集し、うち3菌株は針葉樹オガ粉用品種の育種母材として有望であった。さらに、当地域の自生樹種であるネムノキやカキでヤナギマツタケの、ツブラジイやアカメガシワ等でマイタケの原木栽培が可能であることが明らかになった。加えて、ヤナギマツタケ、マイタケ菌床栽培において、コナラオガ粉の代わりにイチジクやナシのせん定枝オガ粉を50%程度使用できることが明らかになった。

I はじめに

シイタケ、エノキタケ、ナメコ等主要な栽培きのこは、菌床栽培による大量生産のため生産現場が山地から平地に移行しつつある。一方、きのこ栽培は、山村農家の貴重な収入源であり、かつ、近年の消費者の健康食品や自然産物に対する高いニーズに対応する必要があることから、ニュータイプきのこ（未栽培きのこや新たな特性を持つ既存品種）の品種開発と栽培技術の開発が望まれている。

これらの要望をうけて、(1) DNA 解析による遺伝資源の分類、(2) ニュータイプきのこの栽培技術の開発、(3) ニュータイプきのこの効率的生産技術の開発、に取り組んだのでその結果を報告する。

Kazuhiro yoshida, Koji takahashi, Akira ishida and Ryuichi kato : Development of manufacturing techniques and utilization of new type mushrooms.

* 現新城設楽農林水産事務所、** 現農業総合試験場、*** 2000年3月退職

II 材料と方法

1. DNA 解析による遺伝資源の分類

きのこ新品種の開発に当たっては既存品種と新品種の明確な区別が必要であるが、対峙培養では時間がかかる上に、明確に判別ができない場合もある。また、新品種の遺伝的特性を明らかにしておく必要もある。これらのことから、きのこ子実体から得られた菌株を用いて、DNA 解析による分類法の開発に取り組んだ。

(1) 全 DNA の RFLP 分析による種間判別

シイタケ、マツタケ、マイタケ、ハタケシメジ、ウラベニホテイシメジ、クサウラベニタケの子実体から分離した菌株を用いた。液体培養で得られた菌糸体から CTAB 法で全 DNA を抽出し、RFLP 分析を行った。制限酵素は EcoR I を用いた。

(2) 全 DNA の RFLP 分析による系統判別

シイタケについて、市販品種および野生菌株を用いた。実験方法は、1. (1) と同様である。

(3) mt-DNA の RFLP 分析による系統判別

豊橋公園（豊橋市今橋町）内で採取された野生のヤナギマツタケから分離された 11 菌株を用いた。mt-DNA の抽出および RFLP 分析の手法は馬場崎ら(1)に依った。制限酵素は Bgl II を用いた。

(4) RAPD 分析による系統判別

当センター所有のエリンギ 41 菌株を用い、RAPD 分析を行った。プライマーは OPA-1 から OPA-20 を用いた。

2. ニュータイプきのこの栽培技術の開発

シイタケは、現在国内で最も多く生産されているきのこであり、菌床栽培の割合も高まっている。

シイタケ菌床栽培の培地基材には広葉樹のオガ粉を用いるが、広葉樹オガ粉は針葉樹オガ粉と比べて約 5 倍の価格であり、高価である。そこで、シイタケ菌床栽培のコスト削減を図るため、針葉樹オガ粉で栽培が可能なシイタケの探索と栽培法の開発に取り組んだ。

(1) 菌株の収集

県内各地での採取および一般県民から持ち込みによって、針葉樹から発生したシイタケ菌株を収集した。

(2) 栽培特性の解明

針葉樹シイタケ 4 菌株および市販種菌、市販シイタケからの分離株、野生個体からの分離株を用いて、栽培試験を行った。

栽培は、1.5kg 菌床を用い、コナラオガ粉を針葉樹オガ粉（スギ、ヒノキ混合）で代替できるかを検討した。代替率を 0、25、50、75、100 % とし、配合比はオガ粉：増産フスマ：コーンブラン = 10：1：0.5（容積比）とした。含水率は約 65 %、1 菌床あたり 8 g の消石灰を加えた。培養は、23 °C で 6 ヶ月間行い、5 月上旬に展開、10 月下

旬まで発生操作を行い、発生した子実体の重量を測定した。

3. ニュータイプきのこの効率的生産技術の開発

(1) 山間地域に適する（自然利用型）栽培技術の開発

自生樹種を原木として用いることによって、クスギ・コナラ原木の購入コストを削減するとともに、菌床で栽培されているきのこの原木栽培について検討した。

ヤナギマツタケ、マイタケについて短木栽培を試みた。ヤナギマツタケについては、24 樹種、マイタケについては 10 樹種用いた。長さ 20 ~ 30cm に玉切りした原木を PP 袋に入れ、木口面にはオガ粉培地を接するように詰めた。高圧殺菌を行い、冷却後、種菌を接種した。培養は約 23 °C で 120 日間行った。培養後、スギ・マツ林内に埋設し、遮光ネットを掛けた。埋設後、発生した子実体を採取し、その重量を測定した。

(2) 省資源型栽培技術の開発

菌床きのこ栽培における生産コスト削減のため、現在まで利用されていない材料について利用の可能性を検討した。具体的には、現在廃棄物として処理されているが、大量に発生し、その処理に苦慮している果樹せん定枝を材料とした。

果樹せん定枝オガ粉を培地基材として利用できないかを検討した。ヤナギマツタケビン栽培において、コナラオガ粉の代わりにナシせん定枝オガ粉を利用し、栽培を行った。培地はオガ粉：フスマ = 10：3（容積比）で、オガ粉の半量はスギで残りにコナラとナシせん定枝を用いた（表 1）。接種後、23 °C で 39 日間培養を行い、菌掻き後は 16 °C、90 % R.H. で管理し、発生した子実体の重量を測定した。また、マイタケ菌床栽培において、コナラオガ粉の代わりにイチジクせん定枝オガ粉を利用し、栽培を行った。培地はオガ粉：フスマ = 10：2（容積比）とし、試験区は表

ー2のとおりである。接種後、23℃で培養し、47日後に菌糸が十分まん延しているものについては発生室に移動した。61日後には全ての菌床を発生室に移動した。発生室の環境は16℃、90% R.H.である。発生した子実体の重量を測定した。

表-1 ナシせん定枝オガ粉を用いたヤナギマツタケ栽培試験区

試験区	材料		オガ粉 10		フスマ 3
	せん定枝	コナラ	スギ		
0%区	0.00	5.00	5	3	
25%区	1.25	3.75	5	3	
50%区	2.50	2.50	5	3	
75%区	3.75	1.25	5	3	
100%区	5.00	0.00	5	3	

* 数値は容積割合。800ccPPビンで培地量は460g、含水率は約65%。

表-2 イチジクせん定枝オガ粉を用いたマイタケ栽培試験区

試験区	材料		オガ粉 10		フスマ 2
	せん定枝	コナラ			
0%区	0	10	2	2	
20%区	2	8	2	2	
40%区	4	6	2	2	
60%区	6	4	2	2	
80%区	8	2	2	2	
100%区	10	0	2	2	

* 数値は容積割合。PP袋を用い、培地量は1kg、含水率は約70%。

III 結果と考察

1. DNA解析による遺伝資源の分類

(1) 全DNAのRFLP分析による種間判別

図-1のように、種によって明瞭なバンドパターンの違いが認められた。このことから、本法は、きのこの種間判別に有効であると考えられた。

(2) 全DNAのRFLP分析による系統判別

イネ由来のプロンプを用いた場合、明瞭なバンドパターンの違いは見られなかったが、ウシグソヒトヨタケ由来のプロンプを用いた場合、菌株により、明瞭なバンドパターンの違いが認められた

(図-2)。このことから、きのこ由来のプロンプは系統間や近縁種の判別に有効であると考えられた。

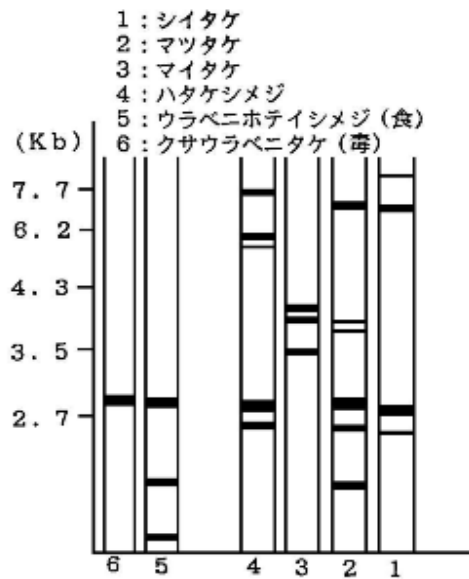


図-1 キノコ種間の判別結果

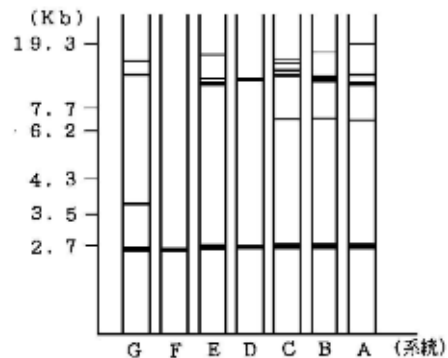


図-2 シイタケ系統間の判別結果
(系統: A~G)

(3) mt-DNAのRFLP分析による系統判別

全ての菌株間で、異なるバンドパターンが観察された。このことから、ヤナギマツタケは、今回のようにごく狭い地域から採取された菌株でも、遺伝的な変異が多様であると考えられた。

(4) RAPD分析による系統判別

今回観察されたバンドパターンはかなり似通っ

ており、判別に有効な多型は見つけられなかった。これは、エリンギが日本には自生がなく、全て海外から導入されたものであるため、国内のエリンギの遺伝的多様性が低いためであると考えられた。

2. ニュータイプきのこの栽培技術の開発

(1) 菌株の収集

針葉樹から発生したシイタケ4菌株を収集した。内訳はアカマツ由来1菌株、スギ由来1菌株、ヒノキ由来2菌株である。

(2) 栽培特性の解明

結果は表-3のとおりである。収集した4菌株は全て針葉樹オガ粉のみの菌床で子実体が発生した。うち1菌株は発生量が200g以上(1.5kg菌床)あり、2菌株は平均子実体個重が20g以上あった。これら3菌株は育種素材として有望であると考えられた。

3. ニュータイプきのこの効率的生産技術の開発

(1) 山間地域に適する(自然利用型)栽培技術の開発

ヤナギマツタケについては、図-3のとおりである。ネムノキの発生量が最も多く、平均個重も約50gと利用の可能性が示された。次いで、カキ、クヌギの発生量が多かったが、原木あたりにするとわずかであった。また、9樹種で発生が全く見られなかった。この栽培法は、林床に原木を埋設するため、発生した子実体の表面が汚れ、商品価値が低下することが問題である。今後は、新たな栽培法を検討する必要がある。

マイタケについては、図-4のとおりである。

ヒメシャラ以外の9樹種で埋設1年目から発生があった。発生量はツブラジイ(コジイ)が最も多く、ヤマザクラ、アカメガシワ、コナラも多くの発生があった。発生量については、今後、継続的に調査する必要があるが、マイタケは培養管理がしっかりできていれば、樹種はあまり問わないの

かもしれない。

表-3 針葉樹オガ粉利用シイタケ栽培試験結果

分離源	混合割合	1菌床あたり平均		平均子実体個重(g)
		子実体数	発生量(g)	
輸入シイタケ1	4:0	18.2	439.7	24.2
	3:1	11.5	369.7	32.1
	2:2	18.5	386.7	20.9
	1:3	21.8	376.2	17.2
	0:4	18.7	162.7	8.7
輸入シイタケ2	4:0	18.5	441.5	23.9
	3:1	23.2	397.0	17.1
	2:2	8.5	256.2	30.1
	1:3	23.8	206.2	8.7
	0:4	32.7	195.0	6.0
市販種菌	4:0	20.0	442.8	22.1
	3:1	26.5	520.2	19.6
	2:2	28.0	542.8	19.4
	1:3	20.0	447.0	22.4
	0:4	0.0	0.0	0.0
野生広葉樹1	4:0	2.5	73.0	29.2
	3:1	0.0	0.0	0.0
	2:2	0.2	11.7	70.0
	1:3	0.5	10.3	20.7
	0:4	0.2	2.3	14.0
野生広葉樹2	4:0	10.5	187.7	17.9
	3:1	0.0	0.0	0.0
	2:2	3.5	55.3	15.8
	1:3	0.8	24.7	29.6
	0:4	0.0	0.0	0.0
野生広葉樹3	4:0	45.8	268.8	5.9
	3:1	4.0	101.0	25.3
	2:2	33.7	173.7	5.2
	1:3	0.0	0.0	0.0
	0:4	0.0	0.0	0.0
ヒノキ1	4:0	7.0	243.3	34.8
	3:1	7.8	266.8	34.1
	2:2	7.0	218.8	31.3
	1:3	7.7	237.2	30.9
	0:4	5.2	57.0	11.0
ヒノキ2	4:0	9.8	278.3	28.3
	3:1	10.8	299.5	27.6
	2:2	10.7	342.0	32.1
	1:3	11.7	280.5	24.0
	0:4	6.0	153.5	25.6
アカマツ	4:0	12.2	320.0	26.3
	3:1	10.3	298.8	28.9
	2:2	8.5	243.5	28.6
	1:3	4.7	151.8	32.5
	0:4	6.5	163.8	25.2
スギ	4:0	12.2	324.5	26.7
	3:1	11.7	314.0	26.9
	2:2	8.0	256.0	32.0
	1:3	7.7	237.7	31.0
	0:4	11.0	219.2	19.9

*混合割合はコナラオガ粉:針葉樹オガ粉(容積比)である。4:0は代替率0%、以下、代替率25、50、75%となり、0:4は針葉樹オガ粉のみである。

(2) 省資源型栽培技術の開発

ヤナギマツタケについての結果は表-4のとおりである。ナシせん定枝オガ粉を 25、50 %用いた場合、収穫までの日数が短縮され、発生量も増加した。このことから、ナシせん定枝オガ粉は 50 %程度までなら、コナラオガ粉の代替材料として利用できると考えられる。マイタケについての結果は表-5のとおりである。マイタケについても、イチジクせん定枝オガ粉を 40、60 %用いた場合、収穫までの日数が短縮され、発生量も増加した。このことから、イチジクせん定枝オガ粉は 50 %程度なら、コナラオガ粉の代替材料として利用できると考えられる。しかしながら、果樹せん定枝には使用された農薬が残留している可能性があり、子実体への農薬の移行が懸念されるため、食品としての安全性を確認する必要がある。

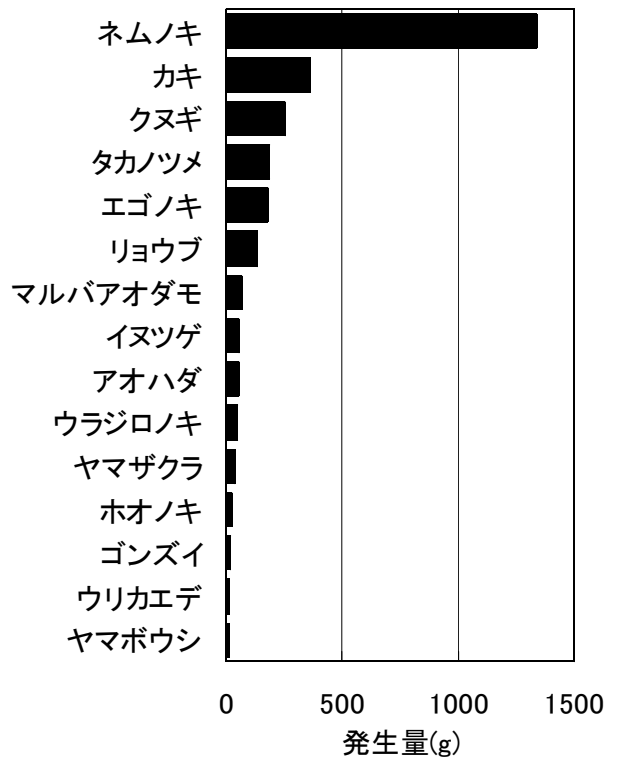


図-3 ヤナギマツタケ原木栽培試験結果

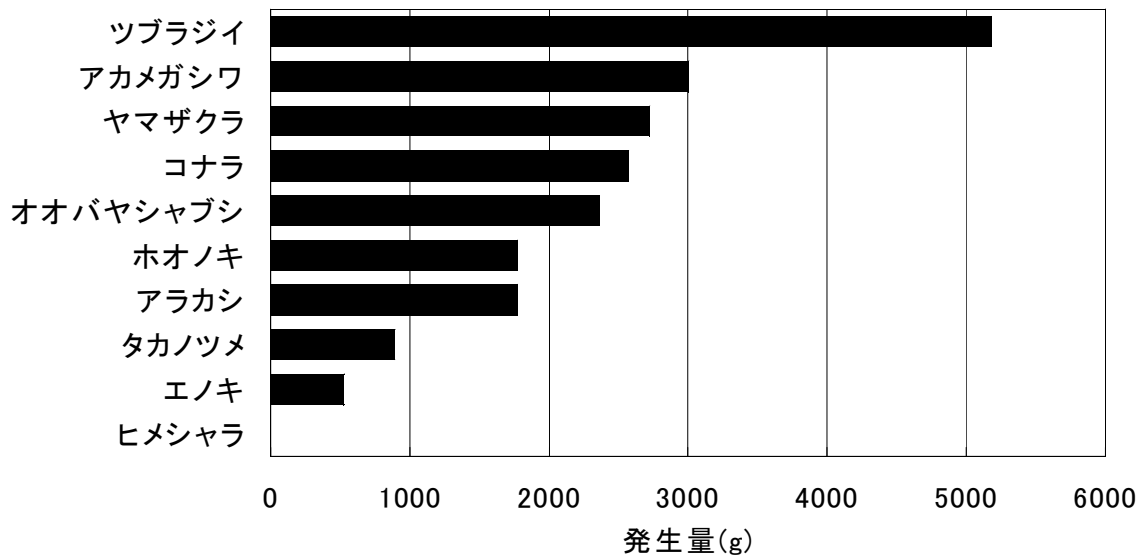


図-4 マイタケ原木栽培試験結果

表-4 ナシせん定枝オガ粉を用いたヤナギマツタケ栽培試験結果

試験区	供試ビン数 (本)	子実体発生 ビン数(本)	ビン1本あたり の発生量(g)	収穫まで の日数(日)
0%区	20	19	106.9	61.2
25%区	20	20	116.5	60.6
50%区	20	20	119.0	59.7
75%区	20	18	82.4	63.6
100%区	20	9	72.7	63.4

表-5 イチジクせん定枝オガ粉を用いたマイタケ栽培試験結果

試験区	供試菌床数 (個)	子実体発生 菌床数(個)	菌床1個あた りの発生量(g)	収穫までの 日数(日)
0%区	11	7	156.9	84.5
20%区	11	11	176.0	80.2
40%区	10	10	209.4	71.1
60%区	10	10	220.9	70.5
80%区	10	10	192.1	82.0
100%区	10	10	198.5	81.0

IV まとめ

DNA による判別方法は、種間およびシイタケやヤナギマツタケの系統間ではほぼ確立できたが、エリンギにおいては明瞭な系統間差を検出する方法の確立には至らなかった。エリンギは近年、生産量が増加しており(2)、また、品種登録の対象となったことから、新たな品種の開発において系統の違いを判別できる手法の開発が必要である。

針葉樹オガ粉で栽培可能なシイタケの菌株を確保できたことで、新たなシイタケ菌床栽培用品種の作出に資することができた。現在、低価格の外国産シイタケが輸入されることで、国内のシイタケ生産者は厳しい競争を強いられているが、針葉樹オガ粉を用いることでコストダウンが期待される。また、人工林の間伐遅れが問題となっているなかで、スギ間伐材の新たな用途が生まれることで、シイタケ生産によって中山間地域の活性化に資することができるものと考えられる。

自生樹種による原木きのこ栽培では、ヤナギマツタケの結果はあまり芳しくなかったが、マイタ

ケでは今回用いた樹種のほとんどで子実体が発生した。このように自生樹種を原木として用いることで、原木購入のコストを低減するとともに、広葉樹の適度な伐採によって里山の環境が維持されることが期待される。

現在、廃棄物として処理されている果樹せん定枝オガ粉を用いたヤナギマツタケ、マイタケ菌床栽培が可能になったことで、きのこの生産コストが低減されるとともに、循環型社会の1つのモデルとしての役割も期待される。

V 引用文献

(1) 馬場崎勝彦・熊田淳(1999) 栽培きのこ菌株のDNA判別法. 微生物遺伝資源利用マニュアル(5) -栽培きのこの直接凍結維持法及びDNA判別法-. 農業生物資源研究所. 21-41.

(2) 2003年度版きのこガイドブック編集部(2003) きのこの生産流通と輸入動向. 2003年度版きのこガイドブック. プランツワールド. 16-21.