

ナメコ栽培に関する研究

— ナメコ菌床栽培における子実体の発生不良現象(2) —

(県単課題 平成6年～平成10年度)

主任研究員 熊田 淳

主任研究員 竹原 太賀司

目 次

I はじめに	28
II 実験方法	28
1. 菌株の収集	28
2. 収集菌株の栽培方法	29
3. 収集菌株の菌糸伸長速度および菌叢と核相の確認方法	29
III 結果と考察	29
1. 収集菌株の栽培特性	29
2. 菌糸伸長速度および菌叢と核相	30
IV 総合考察	32
1. 種菌の性質の変化に起因する発生不良の進行過程	32
2. ナメコ子実体の発生不良対策	32
V 引用文献	34

要 旨

1996年福島県下の同一種菌を用いた空調ナメコ栽培において、子実体収穫量の低下がみられた。培養培地または子実体から分離した3菌株について、栽培特性および菌叢と核相を調べ収量低下の原因を検討した。分離した1菌株は、対照株に比べ初回子実体収穫時期が10日遅延し、総収量が29%低下した。また、各培養ビンの子実体発生時期と発生量の同調性が喪失した。この菌株を6枚のPDA平面培地に植え継いだところ、4枚の平面培地で脱二核化し、気中菌糸が極めて少ない扁平な菌叢に変化した。他の2菌株については、子実体収穫時期の遅延と収量の低下は認められず、各培養ビンの子実体発生時期と発生量が同調した。しかし、これらの菌株をPDA平面培地に植え継いだところ、扁平な菌叢が部分的に出現した。以上のことから、今回の子実体収量の低下は、扁平な菌叢の出現と脱二核化に起因すると考えられた。以上の結果、および前回の中間報告の結果を基に、栽培者と種菌製造者による総合被害回避システムモデルを構築した。

1999年2月23日 受理

I はじめに

ナメコ (*Pholiota nameko* (T. Ito) S. Ito and Imai) 空調栽培において、子実体収量が低下する原因は、培地や殺菌むら等の個々の栽培者における環境的問題と、大規模な被害を与える種菌の問題に大別される。近年の種菌メーカー等の技術向上により、後者の要因の中で、種菌の微生物学的純粋性と熟度^{1,4,5)}や不注意な継代による一核化³⁾は、大きな被害を与える可能性が低下した。しかし、これまで劣化・退化¹⁴⁾と称されてきた菌株の性質の変化については、被害が大規模化するまで、個々の環境要因と区別できない。したがって、発生不良の被害を低下させるためには、収量低下が菌株の性質の変化と個々の環境要因のいずれに起因するか、素早く判断する必要がある。

このため、これまでにナメコ発生不良株を収集し、その栽培的・生理学的・生化学的特性を検討し、明らかになった以下の点を前回に中間報告した¹²⁾。複数の栽培者で収量の低下がみられた時期にその培養培地から分離した菌株⁶⁾は、害菌類が検出されず二核菌糸であることが確認された。しかし、収集菌株の大部分は、同一条件下で子実体収穫時期の遅れと収量の低下がみられ、菌糸伸長速度やラッカーゼ活性にも変化が認められた⁷⁾。これらの発生不良株は、子実体発生の遅延と収量の低下が、種菌を作成する毎に進行する。進行過程の初期には、供試培地間の子実体発生時期および収量の同調性の喪失が認められる。これらの発生不良菌株は、部分的に生じた扁平な菌叢が植え継ぎの繰り返しにより増加するが、この現象と発生不良の進行はよく一致する⁸⁾。脱二核化した扁平な菌叢の菌糸は、供与核にはなるが受容核になれず、菌糸が生育する過程で菌叢周辺部に現れる一核菌糸とは異なる性質を持つ。この扁平な菌叢から植え継いで作成した種菌を用いて栽培を行うと、子実体を形成しない。脱二核化した菌糸は、正常な一核菌糸や二核菌糸より菌糸伸長速度が速い。

本報では、これらの結果を基に、平成8年7月、同一市販ナメコ種菌を使用した福島県内の一部の空調施設栽培者で子実体収量が低下した原因を検討した。この事例¹³⁾では、8月下旬までに、県内外からナメコの収量に関してさらに多くの情報が寄せられたが、全く異常のみられない栽培者も存在した。今回は、これらの検討結果および前回の中間報告の結果を総括し、栽培者と種菌製造者による総合被害回避システムモデルを構築した。

II 実験方法

1. 菌株の収集

平成8年8月30日、福島県内の2箇所の空調栽培施設において、T品種を同時期に使用した培養培地を各1個収集し、T-1とT-2菌株を分離した。また、T-2菌株を分離した培地に形成された子実体からT-3菌株を分離した。分離には、寒天斜面培地（蒸溜水1ℓ agar 20g、glucose 20g、peptone 4g、malt extract 8g、yeast extract 4g）を用いた。対照菌株は、品種Tを福島県きのこ振興センターにおいて、木粉培地で継代保存している菌株(T-C)とした。また、平成9年2月3日に品種Tの木粉種菌を新規に購入し、同様の斜面培地に分離しT-N菌株とした。

2. 収集菌株の栽培方法

平成8年12月20日、200mlガラスビンに含水率を64%に調整した約120gの培地(風乾重量比が木粉10に対しフスマ1)にT-C、T-1、T-2、T-3菌株を接種した。30日間 22 ± 2 ℃で培養後、これを種菌として試験を行った。接種までの約2ヶ月間、T-C、T-1、T-2、T-3菌株は、4℃暗黒下で保存した。栽培は、800mlのポリプロピレン製ビンを用い、広葉樹木粉：フスマ：米糠=10：1：1(風乾重量比)の培地組成で含水率を 65 ± 1 %に調整し、1ビン500gの培地重量で行った。培地の殺菌は120℃で60分間行った。 22 ± 2 ℃で60日間培養後、 14 ± 1 ℃、相対湿度85%以上で60日間子実体の形成を促した。栽培ビン数は、各供試株とも8本とした。

3. 収集菌株の菌糸伸長速度および菌叢と核相の確認方法

平成9年5月6日、T-C、T-1、T-2、T-3、T-N菌株をペトリシャーレ(内径9cm)内の20mlPDA(極東製薬 potato-dextrose-agar)平面培地に接種した。接種1週間後、径5mmのコルクボーラーで培地を打ち抜き、1供試菌株当たり6枚の平面培地に接種した。接種後3日目と8日目に菌糸先端部をマークし、この間の菌糸伸長量を1日当たりの菌糸伸長速度とした。菌糸伸長速度を測定した培地を用い、接種21日目に菌叢と核相を調べた。核相は、最も菌糸が密な部分、またはこれを欠く場合は接種部付近の菌糸のクランプ結合の有無を検鏡した部分で判断した。

III 結果と考察

1. 収集菌株の栽培特性

核菌株の栽培特性を図-1に示す。1ビン当たりの平均収量(±標準偏差)は、T-C菌株が $168.3(\pm 27.9)$ 、T-1菌株が $182.6(\pm 21.5)$ 、T-2菌株が $120.0(\pm 78.4)$ 、T-3菌株が $179.0(\pm 5.6)$ gであった。子実体収穫日数(発生操作後1回目の子実体発生に要した平均日数)は、T-C菌株が $21.0(\pm 0)$ 、T-1菌株が $19.5(\pm 0.5)$ 、T-2菌株が $29.9(\pm 16.6)$ 、T-3菌株が $18.8(\pm 0.5)$ 日であった。総子実体発生個数は、T-C菌株が $111.3(\pm 24.6)$ 、T-1菌株が $137.1(\pm 27.4)$ 、T-2菌株が $83.7(\pm 53.6)$ 、T-3菌株が $131.8(\pm 12.1)$ 個であった。T-2菌株は、子実体収量と個数が低く収穫時期が遅延する傾向がみられたが、標準偏差が大きいためT-C菌株との間に有意差は認められなかった。

図-2に、各供試菌株の子実体発生経過を示す。T-C、T-1、T-3菌株は、各ビン20日前後の1回目発生から約12日間隔で4回発生がみられた。発生回

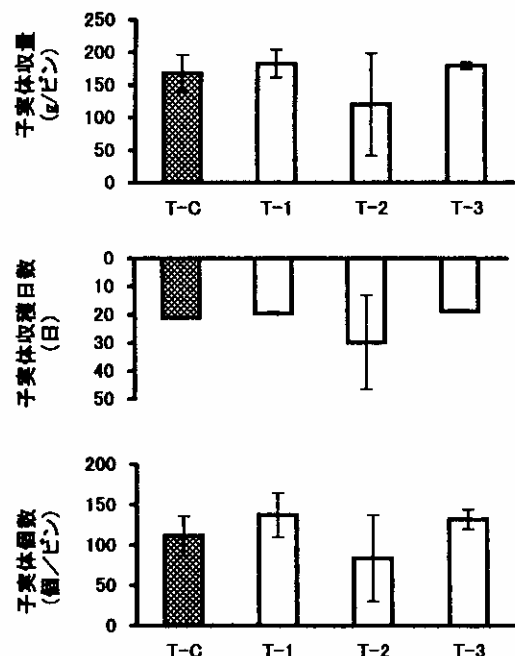


図-1 ナメコ収集菌株の子実体収量と収穫日数

凡例：I；標準偏差

脚注：T-1、T-2は、栽培者の培養培地から分離、T-3は、T-2の培地に形成した子実体から分離。子実体収穫日数は、培養終了後、1回目の子実体収穫に要した日数。

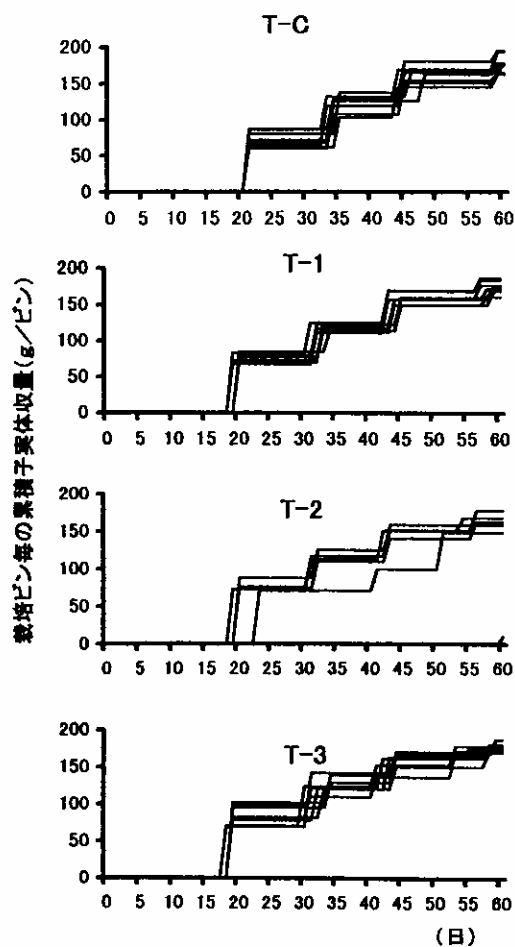


図-2 収集菌株の栽培ビン毎の子実体発生経過
脚註：栽培ビン数は、各菌株8本。
T-2株は、3ピンが収量11g以下で、子実体が形成されないピンが1ピン出現。

間、あるいは、T-2菌株の培養ビン間にもみられた。このことから、品種Tを構成する菌糸の一部に異常が生じていると推定される。このため、植え継いだ菌糸中に占める異常菌糸の割合または植え継ぎ後に生じた異常により、培養培地毎あるいは製造種菌毎の異常程度に差が生じると考えられる。

2. 菌糸伸長速度および菌叢と核相

図-4に各供試菌株の菌糸伸長速度を示す。T-1、T-2、T-3、T-N菌株の菌糸伸長速度は、T-C菌株と有意差が認められた。野性ナメコ100系統の平均菌糸伸長速度は 3.54 ± 0.56 mm/dであること¹⁵⁾から、今回のT-C菌株の値 4.41 ± 0.17 mm/dは、異常に高いと判断される。

図-5に菌糸伸長速度測定に使用した接種源の菌叢を示す。測定用のシャーレには、図-5のように気中菌糸の密な部分から移植したにもかかわらず、植え継ぎ後に扁平な菌叢部が生じた(図-6)。寒天斜面培地に分離した時および

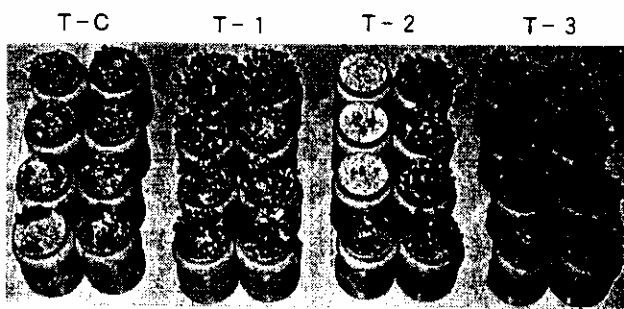


図-3 発生操作18日目における各菌株の子実体発生

数が増えるに従い、1回の収量が徐々に低下し、8本の供試ピンは、ほぼ同調していた。これに対しT-2菌株は、4回発生のピンが4本、3回発生のピンが1本、1回発生のピンが2本、子実体を形成しないピンが1本で、8本の供試ピンの子実体の発生時期、回数、収量は、同調しなかった。図-3に、発生操作18日目における各供試株の子実体発生状況を示した。T-2菌株では、供試ビン間における子実体発生時期の同調性の喪失が、容易に観察された。なお、T-2菌株は、1回発生のみのピンは収量11g以下、子実体収穫日数57日以上であり、子実体を形成しないピンも出現し、標準偏差が他の供試株と比較して極端に大きかった。

以上の結果から、T-C、T-1、T-3菌株はほぼ正常、T-2菌株は発生不良菌株と判断され、菌株

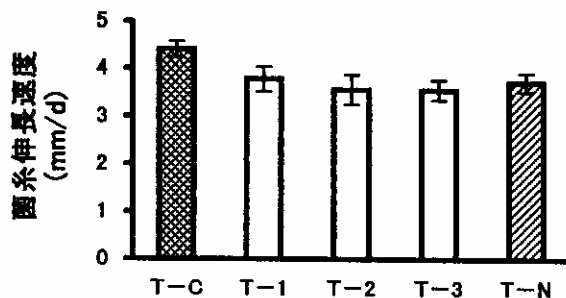


図-4 各菌株の菌糸伸長速度

菌糸伸長測定用の接種源では、各菌株ともに二核菌糸であった。しかし、菌糸伸長測定時には、T-2菌株のシャーレ6枚中4枚にクランプ結合が認められず、シャーレ全体の菌叢が扁平であった。このような扁平な菌叢は、T-1、T-3菌株およびT-N菌株にも生じた。すでに報告^{8),9)}したように、扁平な菌叢部の占有面積が30%を越えた菌株は、その後の植え継ぎにより脱二核化する可能性が高い。また、50%を越えた菌株では、気中菌糸の密な部分から植え継いでも脱二核化する。脱二核化した菌糸では子実体は形成されない。したがっ

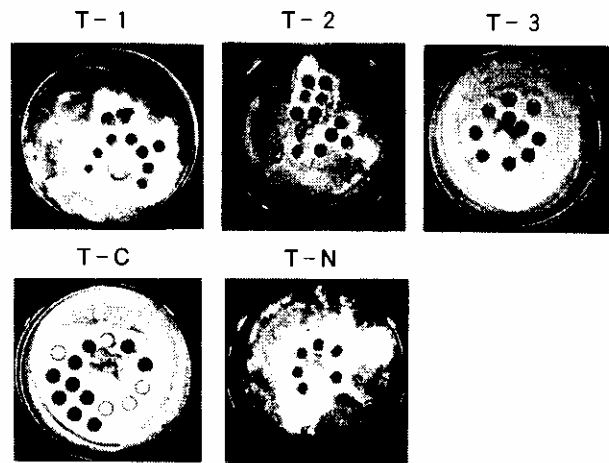


図-5 菌糸伸長速度測定接種源のPDA平面培地における菌叢

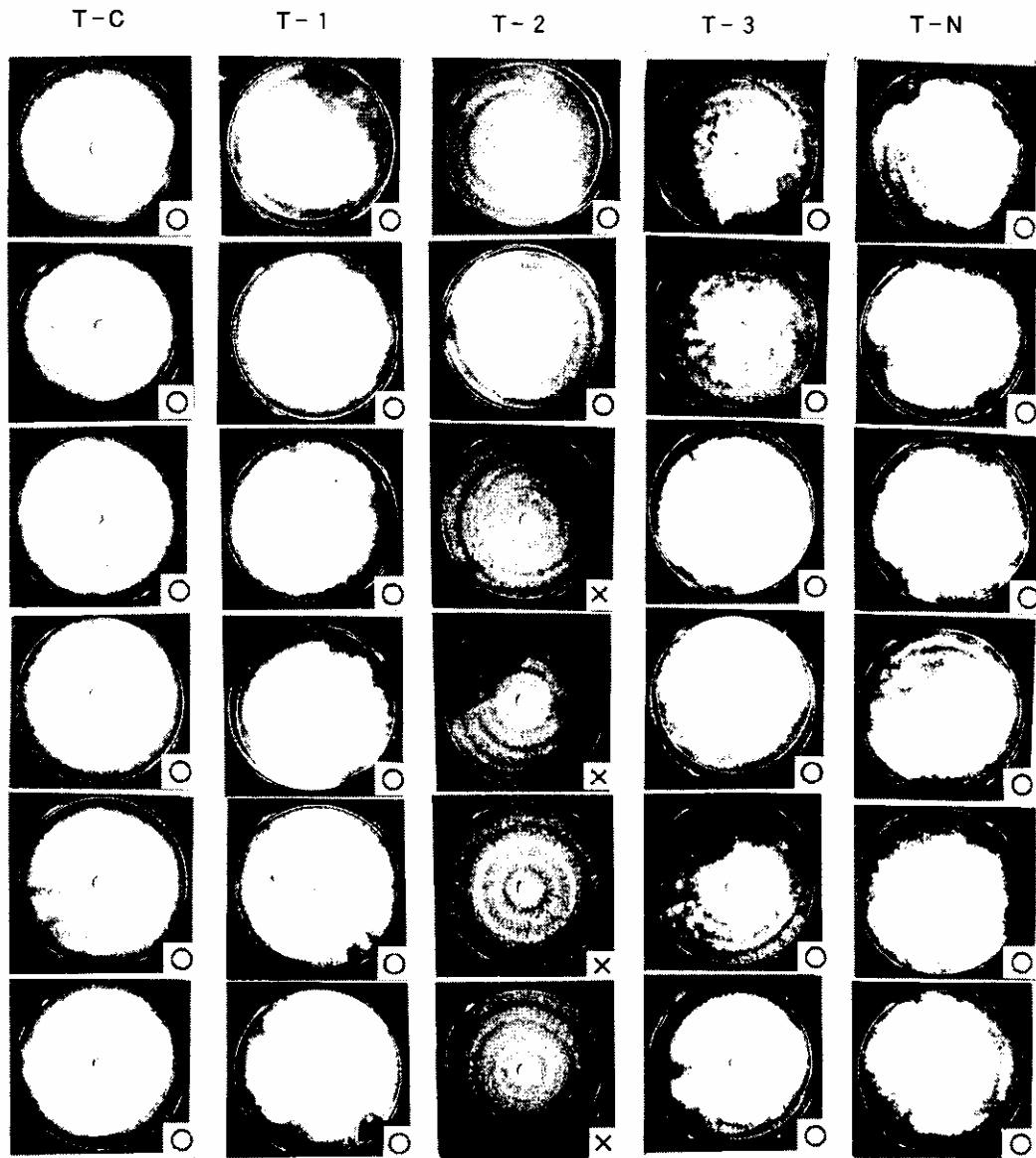


図-6 菌糸伸長速度測定時における菌叢と核相
凡例：D：クランプ結合有り、X：クランプ結合無し

で、今回分離した菌株は、いずれも植え継ぎにより子実体が形成されなくなる可能性がある。

以上のことから、今回の子実体収量低下は、平成2年の事例⁶⁾と同様に、脱二核化を伴う種菌の性質の変化に起因すると考えられる。このため、今後品種Tと同系列の種菌を使用する場合は、菌叢の変化と子実体収穫時期の遅延に特に注意を払う必要がある。

IV 総合考察

1. 種菌の性質の変化に起因する発生不良の進行過程

種菌の性質の変化に起因する平成2年の発生不良事例⁶⁾では、始め一部の栽培者のみに、子実体の発生時期が遅れたり収量が極端に低下する培地が点在する現象がみられ、接種回数の増加に伴いこのような培地の集団数が増加した。この現象は、殺菌むらと酷似したこと、および正常な収量が得られた栽培者も多かったことから、個々の栽培者の環境に起因すると判断された。その後、多くの栽培者でも同様の現象がみられ、さらに収穫時期が遅延したため、収穫回数の減少に伴う総収量の低下と1ピン当たりの発生量の低下が付随し、深刻な生産量の低下が認められた。この時点になって、やっと種菌が問題視された。

表-1に、種菌の変化に起因する発生不良の進行過程を示す。発生不良の被害を拡大させないためには、ステップ3の段階までに品種を切り換えることが必要である。ステップ3までは、培養期間を10~20日延長することにより、正常な収量が得られる⁶⁾。培養期間を延長しても効果が認められないステップ4の段階になると、木粉培地上でも扁平な菌叢が容易に確認できる。ステップ3の段階までは、木粉培地における菌叢から異常を検出することは難しいが、培地間の子実体発生時期および収量の同調性の喪失により異常が検出される。しかし、この段階で異常が検出される栽培者は一部であり、

この異常は、殺菌むら、培地の混合むら、培養室の温度むら等によっても生じる。このため、この異常が個々の栽培者の環境因子と種菌の異常のいずれに起因するかを迅速に判断することが発生不良対策の決め手となる。

表-1 栽培現場における種菌の変化に起因する発生不良の進行過程

ステップ	症 状
1	子実体収穫時期が遅延し収量が低下した培地の集団が点在
2	発生不良培地の集団が増加し全体的に収穫時期が遅延
3	収穫時期がさらに遅延し全体的に収量低下
4	さらに収穫時期が遅延し子実体を形成しない培地が出現
5	子実体形成能の喪失

脚注：発生不良の進行過程で害菌に対する抵抗性が低下する。また子実体の色が薄くなったり、茎が細くなることもある。

2. ナメコ子実体の発生不良対策

(1) 栽培者と種菌製造者による総合被害回避システムモデル

栽培者と種菌製造者による総合被害回避システムモデルを図-7に示す。このモデルでは、栽培者と種菌製造者の間に、第三者的組織を介在させたが、情報公開による信頼関係が相互に構築される場合は、必ずしもこの組織を必要としない。

現在まで得られている知見では、発生不良を完全に防止する方法は未だない。しかし、発生不良は

被害が甚大になる前に必ず兆候があるため、初期の段階で被害を回避することが可能である。そのためには、初期の兆候を環境と種菌のいずれに起因する現象かを迅速に判断する。例示したようなシステムを組織的に構築する必要がある。

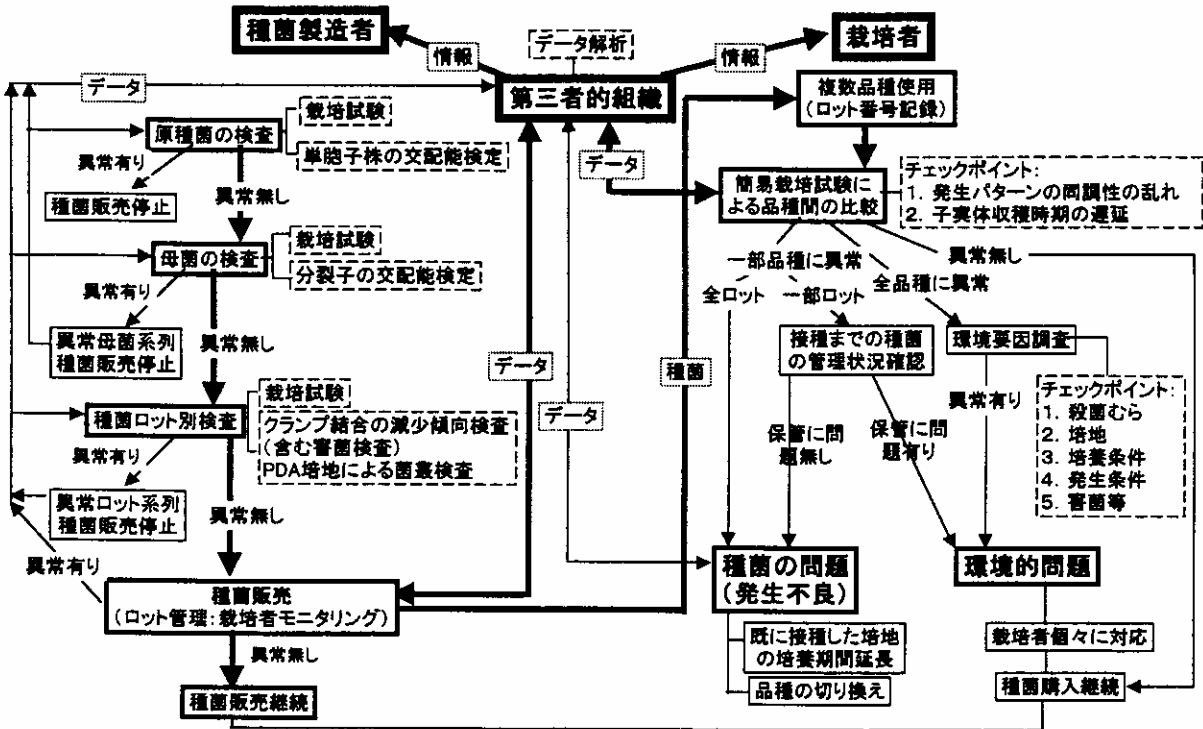


図-7 ナメコ子実体の発生不良に対する被害回避システム例

(2) 総合被害回避システムモデルにおける栽培者の発生不良対策

従来から、発生不良の危険を分散させる目的で、複数の品種を用いることが提唱されてきたが、さらにこの複数の品種間の子実体発生パターンを比較することにより、子実体収量の低下原因が個々の栽培者の環境と種菌のいずれに起因するか判断できる。その具体的方法は、以下の通りである。

種菌を購入してから使用するまでの保管状況、木粉や栄養材の購入時期等を全て記録する。培地調整ロット番号、殺菌条件、接種種菌のロット番号、接種日、培養条件、発生操作条件をナンバリングした培養ケース毎に記録する。なお、培養ケースのナンバリングは、殺菌釜に入れるときに行い、殺菌釜内の培養ケース位置が後で特定できるようにしておく。また、培養室内の位置もコード化し、培養位置も後で特定できるようにする。これらの記録作業は、殺菌から培養室に接種培地を運搬するまでの作業順序を一定化にすることにより、容易になる。子実体発生時に、肉眼で子実体の発生時期が遅れたり収量が極端に低下する培地の有無を確認し、異常が生じた培地数を培養ケース番号別に記録する。環境や種菌に問題がなくとも、異常培地は出現する。しかし、その出現頻度が増加傾向を示した場合または以下に述べる簡易栽培試験により全品種に異常が生じた場合は、培養ケースの記録を元に要因解析を行う。予め全ての記録を数値化しておく、解析が容易になる。

簡易栽培試験は、1回の仕込みにつき各品種任意の培地6本(最低数)にナンバリングを行い、培地毎に発生期間内の子実体収穫日と子実体収量を測定することにより行う。この結果を基に培地間の子実体発生パターンの同調性の乱れ、および収穫時期の遅延を検出する。一部の品種のみに異常が検出

された場合は、さらにその品種のロット毎の比較を行う。全ロットに問題がある場合および一部のロットの異常であっても種菌の保管状況を確認し問題がなければ、種菌の異常と判断する。種菌製造者等により異常の生じている母菌系列が特定される場合は、他の母菌系列の種菌を使用し、既に接種した培養培地の培養期間を状況に応じ10~20日程度延長するとともに、培養温度を低めに設定する。異常母菌系列が特定できない場合は、速やかに品種を切り換える。

以上の対策を実行するためには、自家培養した種菌を使用しないこと、および培養期間を延長できるような余裕のある栽培計画を行うことが必須条件となる。

(3) 総合被害回避システムモデルにおける種菌製造者の発生不良対策

異常の判別は、種菌販売の前の検査と、販売後の検査に大別される。後者は、異常系列の特定と培養期間の指示を目的とし、各拡大培養時毎に行う栽培試験である。接種は種菌販売前に行うが、結果を得るには3ヶ月以上を要するため、解析は販売後になる。この方法は、前述の栽培者における栽培試験方法に準ずる。異常系列を特定するためには、この結果と栽培者の結果をリンクする必要がある。このため、製造者は、種菌ロット番号別販売先リストを作成する。また、販売種菌のロット番号からその拡大培養過程における各検査結果と製造記録(栽培者における培養ケースの記録に準ずる)を検索できるようなロット管理システムを構築する。異常系列が特定された場合は、その系列に属する種菌は、未販売分は販売停止、販売した分については販売先に培養期間の指示を行う。

販売前の検査は、製品検査を目的とする種菌ロット別検査、母菌の検査、原菌の検査に分けられる。ロット別検査は、PDA 平面培地による菌叢検査とクランプ結合検査が簡易で有効と考えられる。菌叢検査については、IV、V型が出現するロットは販売を停止する。クランプ結合検査は、試料採取位置等一定の基準を設け、クランプ結合数の減少傾向を検出するが、一核化していない限りこの検査から販売停止は判断せず、前述の異常系列特定のデータとして利用する。原種菌と母菌の検査方法には、単孢子株または分裂子の相手核を受け入れる能力を検討する方法が有効である。単孢子株による検定は、子実体を形成させる必要があるため、種菌販売まで時間的余裕がある場合に用いる。単孢子株による検定は、群内交配による交配能の検定により行う。ナメコ市販菌の群内交配は、単孢子分離直後の株を用いても正常な二極性²⁾の結果が得られない場合もあるが、受容核になれない菌糸が多発する場合は、数回の植え継ぎで栽培特性に異常が生じる可能性が高い。分裂子による検定は、再生菌糸に占める二核菌糸の割合、および分裂子を分離源二核菌糸と対峙培養を行い、受容核を受け入れる能力を検定する。二核の再生菌糸の割合が極端な減少傾向を示し、多数の分裂子に受容核を受け入れる能力の喪失が認められる場合は、検査時点の栽培特性が正常であっても、数回の植え継ぎで異常が生じる可能性が高い。一方、種菌の販売前に栽培特性を検定する方法として、種菌ピンを直接発生操作する方法がある。この方法では、子実体収穫時期の遅延を検出することに重点を置く。

V 引 用 文 献

- 1) 荒生 孝：“92年度版きのこ年鑑”、農村文化社、p.188-195(1991)
- 2) 有田郁夫、武丸恒雄：ナメコの交配型、菌叢研報2、1-10、(1962)

- 3) 有田郁夫：ナメコ二核菌糸の一核化、菌蕈研報4、44-51、(1964)
- 4) 古川久彦：“92年度版きのこ年鑑”、農村文化社、p.100-114(1991)
- 5) 小出博志：ナメコ種菌の培養日数と子実体生産能力との関係について、日林中支論40、171-174(1992)
- 6) 熊田 淳、竹原太賀司、青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)菌床栽培における子実体の発生不良現象、木材誌41、114-119(1995)
- 7) 熊田 淳、竹原太賀司、青野 茂：ナメコ発生不良菌株の栽培過程における菌体外酵素活性の変化、日林東北支論47、161-163(1995)
- 8) 熊田 淳、竹原太賀司、青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)発生不良菌株に生じたセクターの消長と不発芽の関係について、木材誌41、1158-1164(1995)
- 9) 熊田 淳、竹原太賀司、青野 茂：PDA平面培地によるナメコ(*Pholiota nameko*)菌株の連続的植え継ぎ過程における栽培特性と菌叢の変化について、木材誌42、101-104(1996)
- 10) 熊田 淳、竹原太賀司、青野 茂：ナメコ発生不良株の flat な菌叢の出現に及ぼす継代間隔の影響、東北森林科学会第1回講演要旨集、35(1996)
- 11) 熊田 淳、竹原太賀司、青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)二核菌糸の培養時に生じた分裂子の再二核化菌株の培養特性、木材誌43、370-374(1997)
- 12) 熊田 淳、竹原太賀司：ナメコ栽培に関する研究-ナメコ(*Pholiota nameko*)菌床栽培における子実体の発生不良現象(1)-、福島林試研報29、29-54(1997)
- 13) 熊田 淳、青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)子実体の発生不良原因-1996年空調栽培現場より収集した菌株について-、東北森林科学会誌3(1)、19-23(1998)
- 14) 庄司 当：“ナメコ栽培の実際”、農村文化協会、p.40-41(1981)
- 15) 竹原太賀司・熊田 淳：食用きのこ害菌抵抗性株の選抜、福島県林業試験場研究報告27：107-119(1995)

Abstracts

Studies on cultivation of *Pholiota nameko* .

— Phenomina of Undesirable changes in Yields of Fruiting Bodies
in the Commercial Cultivation of *Pholiota nameko* .(2) —

Atsushi Kumata, Takashi Takehara :

In 1996 the declining harvests of *Pholiota nameko* (T. Ito) S. Ito and Imai were observed on the commercial cultivations using the same spawn as in Fukushima prefecture. To examine the cause of declining harvests, the cultural properties, colony types and nuclear phases were investigated on three mycelia isolated from their incubating media and a fruiting body. On one isolated stock it was observed that the first harvest period of fruiting bodies was 10 days late and the total harvest decreased by 29% compared with the control stock. The alignment of harvest period and total harvest in each cultured bottle was lost on this stock. After the stock was subcultured on 6 PDA (potato - dextrose - agar) plate media, the dikaryotization was observed and the flat colonies with little aerial hyphae replaced normal colonies on 4 plate media. For the other 2 stocks, above abnormalities were not observed. However, the flat colonies appeared sectionally on subcultured abnormalities were not observed. However, the flat colonies appeared sectionally on subcultured PDA plate media of these 2 stocks. These facts indicate that the appearance of the flat colonies and the dikaryotization were the cause of the declining harvests at the commercial cultivation in 1996. The synthetic model system by cultivators and makers of spawn to avoid detriment was invented using all results of this report and last one.