

きのこ栽培に関する資源学的研究

—シイタケ害菌の呈色反応—

九州大学農学部 大賀祥治

1. はじめに

シイタケ栽培において、ほだ木の状態、特に、菌糸蔓延度（ほだ付き率）を的確に把握することは重要な点の一つにあげられる。なかでも、種駒接種後、1年間はほだ木一代の形質を左右するといつてよいほど大切であり、シイタケ菌糸の蔓延度を知りながら、最適な環境を作り出すことが必要となってくる。

実際には、剥皮による辺材部変色域、重量減等を測定し、ほだ付き率を判定している。しかし、現在行なわれている方法が必ずしも十分とはいえない。すなわち、辺材の変色部分を測定する方法は往々にして変色境界部分が不鮮明で精度に疑問の生じる場合があり、重量減少率による方法は含水率調整に難点があり、また、他の木材腐朽性害菌の腐朽量を除去できない。

このほだ木の熟度をより正確迅速に測定する方法として、筆者はシイタケ菌糸の蔓延ともなう辺材部のpH低下に着目し、各種pH指示薬での呈色反応が有効であることを明らかにした¹⁾。

そこで、次の問題として、ここでは、シイタケ害菌のうちから数種をとり上げ、pH指示薬含有寒天培地における各菌糸蔓延過程での培地の色の変化、さらに、小径木における各菌糸蔓延後の試薬噴霧による呈色を測定した。

これらの試験よりシイタケ菌と他の木材腐朽性害菌による腐朽との呈色反応による区別の可能性について検討した。

2. 試験方法

(1) 供試菌 シイタケ *Lentinus edodes*, スエヒロタケ *Schizophyllum commune*, カワラタケ *Coliolum versicolor*, ダイダイタケ *Cryptoderma citrinum*, キウロコタケ *Stereum hirsutum*, ヒイロタケ *Trametes coccinea*

(2) 供試試薬 (pH指示薬) Bromophenol blue (BPB, pH 3.0~4.6), Bromocresol green (BCG, pH 3.6~5.2), Methyl orange + Indigocarmine (MO+IC, pH 4.1)

(3) 接種, 培養および呈色

寒天培地: pH指示薬を単独あるいは混合試薬とし

て、1%PGA培地にそれぞれ一定濃度添加しておき、供試菌の蔓延ともなう培地の色の変化を検討した。なお、BPB, BCGはあらかじめ99%EtOHに溶解しておき、培地濃度が0.01%となるよう添加した。MO+ICは直接培地に加え、MO 0.01%, IC 0.025%とした。試薬添加後、常法どおり滅菌処理を行なった。培地固化後、中央部に各供試菌のdisc (4mm)を接種し、25℃で培養した。指示薬含有寒天培地のpHは5.7であった。8日後、菌そうを掻きとり各供試菌の菌糸蔓延部の培地の色を肉眼観察すると同時に、測色色差計(日本電色工業製 CP6-303D型)を用い、三刺激値X, Y, Zを測り、 x, y を算出した。さらに、CIE色度図にプロットし、各色の主波長、刺激純度を求め、各培地の色の変化を数量的に知った。測色に際しては、寒天培地をシャーレよりとり出し、白紙(刺激純度2%)の上に置いて行なった。

小径木: 直径3cm, 長さ7cmのミズナラ小枝(以下小径木)を用いた。中央部に直径8mmの穴を開け、よく水洗し、さらに約3時間水に浸漬した。小径木を水よりとり出し、120℃, 1.2kg/cm²で15分間滅菌処理を施し、十分放冷した。そして、あらかじめ14日間純粋培養しておいた各供試菌の網屑菌を接種した。培養は図1に示すように、乾熱滅菌済みの250ml容広口瓶に入れ、瓶内を相対湿度100%前後に保つため、底部に滅菌水を入れ、小径木が直接水に漬らないようにして25℃恒温器中で培養した。16日後小径木の縦断面、横断面にpH指示薬(BPB, BCG 0.02%), (MO 0.02%+IC 0.05%)を噴霧し、呈色を測定した。

3. 結果および考察

表1に寒天培地における結果を示す。供試菌接種時の培地の色はBPB添加区で紫、MO+IC添加区で青である。BPBを用いることにより、菌糸蔓延部の培地色の変化で6種の供試菌を大きく2群に分けることができた。すなわち、シイタケ、カワラタケ、ヒイロタケは培地が黄色に変わるのに比べ、スエヒロタケ、ダイダイタケ、キウロコタケはほとんど変化が見られない。BCGについても同傾向であった。前者は菌糸蔓延ともなうBPB, BCGの変色域であるpH3.0~4.3前後に培地pHが低下したのに対し、後者はpH

4.6～5.2以上であることを裏づけているものと思われる。ここまでの段階でBPB, BCGを用いることにより、寒天培地での菌糸蔓延部における色の变化でシイタケとスエヒロタケ, ダイダイタケ, キウロコタケとを区別し得ることが明らかになった。

さらに, BPBでは不可能であったシイタケ, カワラタケ, ヒイロタケを見分ける手段として, BPB等の単独指示薬に比べ, 変色域がより鋭敏な混合指示薬をとりあげた。ここでは, MO+ICを用い, 変色点は4.1である。菌糸蔓延による培地pHの変化においてpH 4.1以上であれば植菌時の培地の色である青のまま, 4.1前後あるいは以下であれば, 青色が消え, PGA培地本来の色に近い灰色となった。表1から明らかのように混合指示薬を用いることにより, シイタケとカワラタケ, ヒイロタケを区別し得ることが分かった。

寒天培地での結果からBPB, BCGおよびMO+ICを併用することにより, シイタケと他の害菌を培地の色の变化により明確に判定し得ることが明らかになった。

次に, 小径木を用いて実際の原木により近い状態で呈色試験を行なった。結果を表2に示す。寒天培地では

は供試菌接種時に培地に指示薬を添加しておき, 菌糸蔓延後の培地色の变化をみたのに比べ, 小径木では菌糸蔓延後に指示薬を噴霧したわけであるが, 両者ともほぼ同傾向である。ただ, 寒天培地における呈色に比べ, 呈色がやや, 不鮮明であった。材そのものの色により干渉されているものと思われ, pH指示薬を噴霧する際, 濃度を検討する必要性が高いと考える。

以上, シイタケ菌と他の木材腐朽性害菌による腐朽を区別するためにpH指示薬であるBromophenol blue, Methyl orange + Indigocarmine がきわめて有効であることを明らかにした。

今後は, 原木樹種, シイタケ菌の銘柄等を因子として検討を続けるとともに, シイタケ害菌と呼ばれるものをさらに数種とり上げ試験を行ないたい。

最後に, 供試菌株を分譲された林業試験場九州支場安藤正武氏に深く感謝いたします。

引用文献

- (1) 大賀祥治：日本木材学会大会研究発表要旨集211, 1982

表1 寒天培地における呈色(8日培養)

培養開始時の培地色	Bromophenol blue *1			Methyl orange+Indigocarmine *2		
	主波長	刺激純度	色	主波長	刺激純度	色
シイタケ	593	41	黄	553 C	-51	青
スエヒロタケ	526 C *3	-72	紫	542 C	-40	青
カワラタケ	579	34	黄	588	24	灰
ダイダイタケ	507 C	-60	赤紫	514 C	-52	青
キウロコタケ	509 C	-66	紫	539	28	灰
ヒイロタケ	582	40	黄	600	20	灰

*1 0.01% *2 0.025%
*3 補色 Complementary color

表2 小径木における呈色(16日培養)

	無噴霧			Bromophenol blue *1			Methyl orange+Indigocarmine *2		
	主波長	刺激純度	色	主波長	刺激純度	色	主波長	刺激純度	色
シイタケ	587 ^{nm}	23%	白黄	499 ^{nm} C	-24%	黄青	505 ^{nm} C	-34%	緑
スエヒロタケ	586	29	白黄	506 C	-45	青	498 C	-33	緑
カワラタケ	594	23	白黄	504 C	-29	黄青	493 C	-18	黄緑
ダイダイタケ	584	24	白黄	503 C	-33	青	498 C	-30	緑
キウロコタケ	582	33	白黄	506 C	-41	青	493 C	-15	黄緑
ヒイロタケ	588	40	白黄	496 C	-21	黄青	610	16	黄緑

*1 0.02% *2 0.05%



図-1 小径木培養法