

## 速報

## ウスヒラタケ子実体の黄褐色変色症（仮称）について\*1

宮崎和弘\*2 · 石原 誠\*3

宮崎和弘・石原 誠：ウスヒラタケ子実体の黄褐色変色症（仮称）について 九州森林研究 56：255-256, 2003 平成13年11月, 鹿児島県阿久根市のウスヒラタケ栽培施設において, 子実体の一部が黄褐色に変色する被害についての報告を受けた。当初, 外観的な特徴から細菌類による病害と診断したが, その後の対策にも拘わらず被害はいつにおさまらなかつた。また, 被害現場から持ち帰った変色子実体からの分離細菌の接種試験を行っても, 病徴は再現されなかつた。次に, ウイルス様粒子 (VLP) の検出を試みたが, VLP 由来と考えられる核酸分子は検出されなかつた。最終的に, 空气中を漂うウスヒラタケ自身の胞子に着目し, これが被害の原因であると仮定し, 交配菌株を作成し栽培を行ったところ, いくつかの菌株において被害現場で発生している変色きのこに類似の子実体を得ることが出来た。最終的に, 今回の被害は胞子交配が引き起こす胞子被害の一種であると判断した。

キーワード：ウスヒラタケ, 黄褐色変色症（仮称）, 胞子被害

## I. はじめに

ウスヒラタケ *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel は, ヒラタケ *P. ostreatus* (Jacq. :Fr.) Kummer に近縁の食用きのこである。しかし, 日持ちの問題などからあまり大量に市場に出回ることはない。菌糸の伸長は速く, 30日程度で収穫まで至る。中国からの培養菌床による栽培も行われている。

調査施設は, 平成8年度から本格的な栽培を開始した。栽培当初は変色による被害はわずかだったが, 平成11年度から被害が拡大し, 現在に至る。被害のもっともひどい時期には収量が50%近く減少する。

平成13年11月に, 被害きのこが持ち込まれ, その後原因を特定するための現地調査, 細菌の分離および接種試験, ウイルス様粒子 (VLP) の検出, 胞子交配株の作出と栽培等を行い, 原因の特定を試みたので報告する。

## II. 被害の概要

症状は子実体の一部が黄褐色に変色する。変色は, ひだにまで達することがある。また, 茎の部分を横断すると内部にも変色が見られることがある。しかし, 腐敗することはない。被害が開始するのは, 毎年9月終わりから10月のはじめごろで, きのこの単価があがるために栽培規模を拡大する時期からである。しかし, 正月休み明けなどには, 一時被害がおさまる。被害は, 半数にも及ぶことがあり, 正常な部分と変色部分をより分ける作業にも多大の時間を要するため, 経済的な被害は極めて大きい。阿久根市の振興センターが行った試験によると, 菌かき・芽だしの時点で現場で暴露された栽培ビンでは, 子実体の変色が見られることが

あり, 何らかの生物学的要因が空气中から感染していることが示唆された。

## III. 材料及び方法

## 1. 細菌類の分離および接種試験

分離：普通寒天培地（日水製）およびキングB寒天培地を用いて, 変色子実体, 注水処理に使用されている水, 加湿器内の水等から細菌類を分離した。分離された細菌は, 純化した後, 接種試験に供試した。

接種試験：ウスヒラタケ栽培には, ブナ木粉と米ぬかを容量比4：1で混合し, 含水率約65%に調整した培地を用いた。850ml容のポリプロピレン製きのこ栽培用栽培ビン（培地重量；500g）で培養を行い, 菌かき・注水処理をした後, 17℃の恒温・恒湿庫内で発生させた。細菌は, 10<sup>6</sup>cfu/mlの濃度に調整した菌体懸濁液を用い, 幼子実体への吹き付け, もしくは筆による塗布により接種した。

## 2. ウイルス様粒子 (VLP) の検出

VLP由来の2本鎖RNA分子を抽出することにより検出を行った。抽出は, 馬替らの方法 (I) に従った。抽出に用いた菌株は, ウスヒラタケ菌株 KRCF519 (正常子実体からの分離菌株), KRCF525 (変色子実体からの分離菌株), KRCF526 (栽培に使用される継代培養菌株) および胞子分離菌株 Satsuma-SSI-19 (SSI; Single-Spore-Isolate), Satsuma-SSI-36, Satsuma-SSI-37, Satsuma-SSI-44であった。また, ポジティブコントロールとして VLP 保有のエノキタケ菌株 S6B を使用した。

## 3. 一核菌糸の分離と交配試験

現場から持ち帰った正常子実体および変色子実体から, 胞子を

\*1 Miyazaki, K. and Ishihara, M.: Yellow blotch of *Pleurotus pulmonarius*

\*2 森林総合研究所九州支所 Kyushu Res. Center, For. and Forest Prod. Res. Inst., Kumamoto 860-0862

あらかじめ乾熱滅菌したアルミホイルの上にとり、懸濁液をつくり、PDA 平板培地にまいた。室温（約24℃）で培養後再生したコロニーを拾い、新しいスラントに移し、培養・保存を行った。クランプの有無を顕微鏡下で確認し、クランプの無い菌株は一核菌糸であると判断した。

得られた一核菌糸同士を PDA 培地上で対峙培養させることで生じた二次菌糸を分離し、クランプの有無を確認した。クランプが確認された菌株は、二核菌糸であると判断し、栽培試験に供試した。

#### IV. 結果と考察

##### 1. 細菌

持ち込みおよび調査時に回収した変色子実体試料、施設から採取した水等から、計35菌株の細菌を分離した。そのうち、分離頻度の高い8菌株選抜し、接種試験を行った。しかし、すべての細菌において症状は再現されなかった（表-1）。同時に行った正常きのおよび変色きのこの磨砕汁の接種区では、症状が再現された。しかし、変色きのこの磨砕汁を煮沸した試験区では、症状は再現されなかった。これらの結果から、細菌病である可能性は低いが、なんらかの生物的な要因が症状の発現に関与しているであろうことが分かった。

##### 2. VLP の検出

供試したすべてのウスヒラタケ菌株において、VLP 由来と考えられる2本鎖 RNA 分子は確認されなかった。また、正常きこのからの胞子分離菌株 (Satsuma-SSI-19)、変色きこのからの胞子分離菌株 (Satsuma-SSI-36、-37 および -44) とともに、VLP 由来と考えられる2本鎖 RNA 分子は確認されなかった。これらのことから、被害は2本鎖 RNA を遺伝物質とする VLP によって引き起こされる症状ではないと判断した。

##### 3. 交配試験

対峙培養により作出した交配菌株 MCR201 (Satsuma-SSI-19x-44)、MCR202 (Satsuma-SSI-36 x-37)、MCR207 (Satsuma-SSI-19 x-22) および MCR208 (Satsuma-SSI-36 x-48) を栽培したところ、外観的にみて正常であったのは MCR201のみで、他の交配株は何らかの異常がみられた。特に、MCR202は傘が開かず、子実体に変色が見られ、もっとも外観的変異が大きかった。MCR207は子実体全体が白っぽくなった。MCR208は傘がうすく発生後しばらく放置しておく、黄褐色の変色が観察された。これらの観察結果の写真を現場の人に見てもらったところ、すべての形態が現場で観察されるとの報告が得られた。

#### V. まとめ

細菌の分離・接種試験、および VLP の検出からは、黄褐色の変色症状を引き起こす原因は見つからなかった。一方、胞子菌株同士の交配株を栽培したときの子実体の形態は、現場で観察される症状に類似していた。また、落下菌の調査時にはほとんど胞子由来と思われる菌糸でシャーレ全面が覆われること、栽培現場で菌掻き処理前後に暴露した栽培ビンで症状が観察されることなどを総合すると、今回の被害はウスヒラタケ子実体そのものが生産した胞子の発生処理面での交配（ダイ・モン交配を含む）が原因で起こる現象と考えられた。おそらく発生処理面で近親交配した遺伝組成の新しい菌糸が、子実体原基から子実体まで生長したときに見られる、変色障害であろう。現場においては、発生処理初期時に出来るだけ胞子と接触させないように取り扱うことが重要になると考えられる。今後さらに、交配菌株の遺伝組成の解析や、より再現的に症状が再現される菌株の作出を行い、より詳細に発生機構を解明していく必要がある。

#### 謝 辞

阿久根市農林業振興センターの牧内氏、ならびに森林総合研究所のこ・微生物研究領域の馬替氏には多大なる調査協力をいただき大変お世話になりました。心より深謝の意を表します。

#### 引用文献

- (I) Magae, Y. and Hayashi, N. (1999) FEMS Microbiology Letters 180 : 331-335.

表-1. 細菌接種試験結果

No.	接種区	変色傾向
1	無処理区	無
2	滅菌生理食塩水	無
3	正常きこの液	有
4	変色きこの液	有
5	変色きこの液（煮沸区）	無
6	KRCB50	無
7	KRCB57	無
8	KRCB64	無
9	KRCB66	無
10	KRCB68	無
11	KRCB65	無
12	KRCB58	無
13	KRCB48	無
14	KRCB64, 65, 66, 68混合液	無

注 KRCB ; 九州支所保存細菌菌株

(2002年12月24日 受理)