

速報

シイタケ菌床の褐変化遅延症状について*1

新田 剛*2 · 宮崎和弘*3

新田 剛・宮崎和弘：シイタケ菌床の褐変化遅延症状について 九州森林研究 57：286-288, 2004 宮崎県内のあるシイタケ菌床製造施設において、培養後期になっても部分的に褐変が進まない症状が多数発生した。被害菌床を調査した結果、菌床内部から *Scopulariopsis* 属菌が分離された。分離菌の病原性試験の結果、シイタケ菌床の褐変化を遅延させる症状の原因が、この菌の混入に由来することが明かとなった。また、同菌は薬剤感受性試験の結果から、ペノミル水和剤に対する感受性が高いことが示唆された。

キーワード：シイタケ菌床、褐変化遅延症状、害菌、*Scopulariopsis* 属菌

I. はじめに

菌床によるキノコ生産現場では、培地が無菌状態で栄養条件に富んでいるがゆえに、さまざまな害菌が発生し被害を与えることがある。今回、宮崎県内のシイタケ菌床製造施設において発生したシイタケ菌床の褐変化遅延症状を起こす害菌について、その生理的特性に関する試験を行い、いくつかの知見を得たので報告する。

II. 材料及び方法

1. 現地調査

県内のシイタケ菌床製造施設において、平成14年11月に、同年8月製造分の菌床約7千個を調査した。一部について、菌床を割って内部の肉眼観察を行った。

また、同年11月に落下菌調査を行った。調査は、放冷室、接種室において、落下菌調査用培地（ペプトン6g、デキストロース10g、KH₂PO₄ 0.5g、MgSO₄・7H₂O 0.5g、ローズベンガル0.05g、寒天16g、ストレプトマイシン0.04g、蒸留水1,000ml）を直径9cmのシャーレに15~20ml分注して調整した平板培地を、5分間開放して行った。

2. 被害菌床の菌分離と同定

滅菌した乳鉢に菌床内部のオガコを少量と滅菌水を入れ、乳棒でよくすり潰した懸濁液を、ループ状の柄付き針でPDA（ポテトデキストロース）（日水製）平板培地に画線し、数日間培養後、再生したコロニーを新しいPDA平板培地に分離した。なお、この単コロニー分離した菌株（MFC-N080）をPDA平板培地で培養したものを以下の試験に供試した。

同定は、菌株をPDA平板培地を用い、温度20℃下でコロニー色が褐色を呈するまで充分培養した菌叢の先端を光学顕微鏡で観察した。

3. 分離菌の病原性

再現試験は、培地基材と栄養体の割合を容積比で9：1（含水率；約63%）とし、培地基材はシイ・カシのチップとオガコを容積比で8：2、栄養体はフスマと米ヌカを容積比で3：2とし調整したものを用いた。培地を2.5kgずつポリプロピレン製の栽培袋に詰め込み、滅菌後、1の菌株を柄付き針で少量掻き取り、シイタケ菌（北研600号）と同時に接種した。培養は、温度20℃、湿度60%の暗黒下で98日間行った。

また、長さ20cm、内径2.2cmの両口試験管にシイ・カシのオガコとフスマを、容積比5：1、含水率約63%で調整し、ほぼ10cmの長さに詰め、滅菌したものを使用した。接種源として、1の菌株およびシイタケ菌（北研600号）を、それぞれ直径4mmのコルクボーラーで打ち抜いて2個ずつ両端から接種した。一部は、両口試験管の片側からシイタケ菌のみを接種した。培養は、22℃の恒温器中で行った。測定は、1本の両口試験管につき表と裏の2箇所行い、害菌株とシイタケ菌が接触した時点を基準に、菌糸先端までの距離を0.1mm単位で測定し平均値を求め、さらに全試験管（5本）の平均値を求めた。

4. 分離菌の培養温度特性

PDA平板培地を使用し、界面活性剤（0.5% tween80）で懸濁した胞子液を柄付き針につけた後、柄付き針の先端を培地中央に接触させ接種した。培養温度は、12、17、22、25、27、35および50℃に設定し、5日間培養を行った。測定は、1枚の平板培地につき縦と横の2方向行い、接種部分から菌糸先端までの距離を0.1mm単位で測定し平均値を求め、さらに全平板培地（3枚）の平均値を求めた。

耐性温度を測定するために、シイ・カシのオガコとフスマを容積比で5：1、含水率約63%に調整しガラスシャーレ（径90mm）に詰め、滅菌した培地を用い試験を行った。1の菌株の菌叢を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜き、培地中央に接種し、コロニーが約30mmになるまで25℃の恒温器中で培養した。培養後、60、65および70℃の恒温器中で1時間静置し、再び25℃の恒温器

*1 Nitta, T. and Miyazaki, K.: The delay symptom of browning on sawdust medium of shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler).

*2 宮崎県林業技術センター Miyazaki Pref. Forestry Tech. Ctr., Saigou, Miyazaki 883-1101

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

で培養して菌糸伸長の観察を行った。

5. 分離菌の薬剤感受性

薬剤は、ペノミル水和剤（ベンレート水和剤）とチアベンダゾール水和剤（パンマッシュ）およびミクロトール D を用いた。それぞれ薬剤濃度が 0.00, 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 および 5.00ppm になるように、MA 平板培地（2% 麦芽エキス, 1.5% 寒天, 径 90mm, 20ml/枚）を作成した。培地の滅菌条件は、121℃・15 分間とした。1 の菌株の菌叢を直径 4mm のコルクボーラーで打ち抜き培地中央に接種し、培養は 25℃ の恒温器中で 5 日間行った。測定は、1 枚の平板培地につき縦と横の 2 方向について行い、接種源から菌糸先端までの距離を 0.1mm 単位で測定し平均値を求め、さらに全平板培地（5 枚）の平均値を求めた。

Ⅲ. 結果と考察

1. 現地調査

図-1 に被害状況を示した。現地調査の結果、種菌接種後 70~93 日の培養後期になっても褐変が進まず部分的に未褐変部分があるものが、約 50% 数えられた。多い時には 1 回の製造菌床約 1 千個のほとんどが同様の症状を呈するというものであった。肉眼観察の結果、菌床表面の褐変具合に合わせて培地内部の色も変化しており、シイタケ菌のみが伸長したものと異なった灰褐色を呈していた。しかし、帯線形成は認められなかった。

また、落下菌調査の結果、放冷室、接種室いずれからも *Penicillium* 属菌、*Cladosporium* 属菌等は検出されたが、被害の原因菌は検出されなかった。

2. 被害菌床の菌分離と同定

図-2 に顕微鏡での観察状況を示した。形態的には分生子頭が箒状で分生子が連鎖しており、特に分生子形成細胞の長さが不揃いであることなどから、菌株は *Scopulariopsis* 属菌と同定した。この菌は、*Penicillium* 属菌に似ており近縁であるが、分生子は決して緑色を呈することはない。今回分離した菌株も褐色のコロニーを形成した。また、分生子形成細胞に環紋（annellation）があり、分生子基端のまわりには切り口の痕跡が付いていることも特徴的な点である（4, 5）。これまでも菌床から検出された害菌として例がある（1）。

3. 分離菌の病原性

再現試験の結果、被害菌床同様、種菌接種後約 70 日以降になっても褐変が進まない症状が観察され、この菌が原因菌であることが明らかとなった。また、子実体の発生については接種区についても認められたが、対象区との収量等の比較について、今回明らかにすることはできなかった。

対峙培養試験の結果、シイタケ菌が *Scopulariopsis* 属菌側に侵入していることが観察され、シイタケ菌のみ接種したものと比べると明らかにシイタケ菌の菌糸伸長速度を遅延させることが判明した。両口試験管を用いた対峙培養法は害菌類の病原性判断に有効である（3）とされているが、この菌株については、強い菌寄生性はないことがわかった。

4. 分離菌の培養温度特性

図-3 に培養温度 12℃ から 50℃ までの 7 段階の菌糸生長量を示した。30℃ 前後が最適菌糸生長温度になることがわかったが、シ

イタケ菌の培養温度である 20℃ 前後では約 4.2mm/日、至適温度域の約 47% 程度に生長が劣った。50℃ 区では菌糸生長は認められなかったものの、7 日間の培養後 22℃ 環境下に置くと再び菌糸生長を始めた。また、60 および 65℃ 1 時間処理後でも、25℃ 環境下に置くと再び菌糸生長していることが確認された。70℃ 試験区では菌糸生長は認められなかったため、生産現場において滅菌釜および培地内部の温度が、70℃ 1 時間の条件を下回らなければ、滅菌不足による害菌発生要因は考えにくいことが示唆された。

5. 分離菌の薬剤感受性

薬剤を添加しない場合の菌糸生長速度を 100 としたときの、薬剤添加培地での菌糸生長率を図-4 に示した。ペノミル水和剤とチアベンダゾール水和剤は *Trichoderma* (*Hypocrea*) 等の子のう菌類、不完全菌類に対して高い抗菌作用を示すといわれている（2）。今回供試した菌株においては、ペノミル水和剤に対する感受性が高いことがわかった。

Ⅳ. おわりに

被害報告を受けた後、落下菌調査を実施したものの、落下菌からは原因菌である *Scopulariopsis* 属菌は検出されなかった。これは、調査時点では被害が収束に向かっていたためだと考えられる。対峙培養時にむしろシイタケの菌糸に抑えられる病原性の低さ、20℃ 付近での菌糸生長の遅さ、および分生子の生産性の高さ、といった点から考えると、今回の被害は大量の飛散性の高い分生子が、滅菌後の戻り空気もしくは接種時に混入したことにより発生したと推測された。さらに、今回発生した菌株は、目立った色のコロニーを形成しないために、培養初期での害菌発生を見落とし、約 1 月分の製造菌床に被害が拡大したのであろう。また、被害発生が 8 月に起きていること、至適温度が 30℃ とやや高く 65℃ まで生存が可能といった点から、この菌の被害回避のためには夏場の施設管理や定期的なモニタリング調査が重要だと考えられる。今後、この害菌混入による収量への影響等について検討する必要がある。

謝 辞

本試験を行うにあたり、害菌の同定及び適切なご助言・ご指導をいただいた筑波大学生物科学系菅平高原実験センター教授徳増征二先生に深謝の意を表す。

引用文献

- (1) 有田郁夫（1985）きのこ栽培における害菌問題、（'86年版きのこの年鑑，古川久彦ほか，429pp，農村文化社，東京），100-101.
- (2) 福井陸夫（1991）きのこ栽培における病害の化学防除、（きのこの基礎科学と最新技術，きのこ技術集談会編集委員会編，286pp，農村文化社，東京），177-189.
- (3) 宮崎和弘ほか（1995）日林九支研論 48：233-234.
- (4) 小笠原和夫（1981）カビの科学，116pp，地人書館，東京，83-84.

(5) 椿啓介ほか (1998) 不完全菌類図説-その採集から同定まで-, 173pp, アイピーシー, 東京, 105-106.

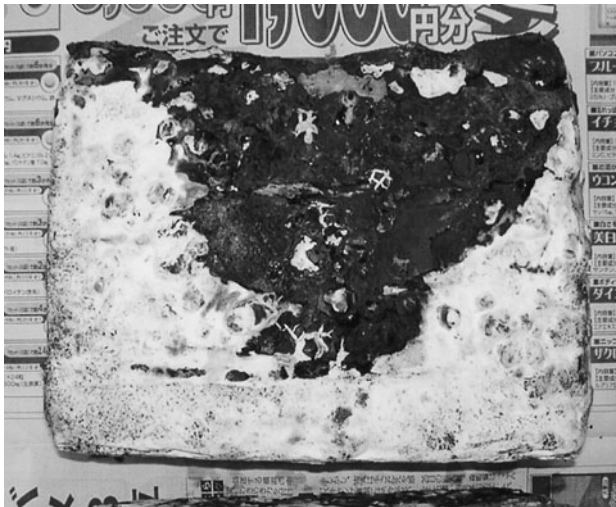


図-1. 被害状況の様子

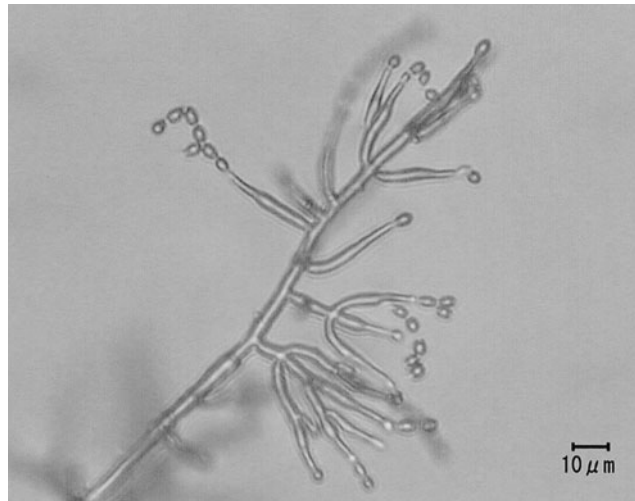


図-2. 顕微鏡での観察状況 (× 600)

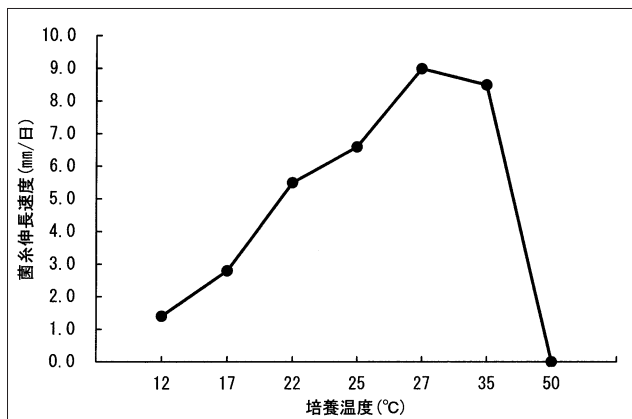


図-3. 培養温度別菌糸生長

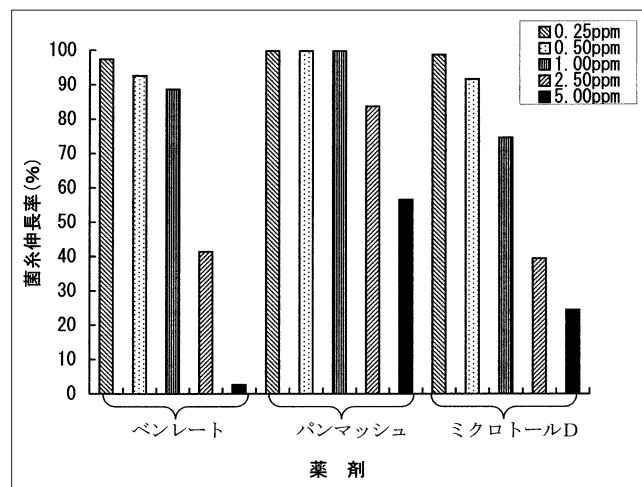


図-4. 薬剤濃度別菌糸生長

(2003年10月30日 受付; 2004年1月9日 受理)