

## 速報

## きのこ菌床栽培における害菌の病原性の判別\*1

新田 剛\*2 · 宮崎和弘\*3

新田 剛・宮崎和弘：きのこ菌床栽培における害菌の病原性の判別 九州森林研究 60：155—158, 2007 栽培きのこに対する害菌の病原性を把握できれば、被害の深刻度や害菌対策の緊急度についての確かな判断が可能となり、施設の清掃管理や害菌被害防除に有効な手法となる。そこで、両口試験管を用いた対峙培養試験による害菌の侵害力を基準に、病原性の判別を試みた。その結果、4種のきのこ（エノキタケ、エリンギ、ブナシメジ、シイタケ）と害菌（トリコデルマ属8菌株、スピセラム属1菌株、クラドボトリウム属1菌株、ペシロマイセス属2菌株）の組み合わせにおいて、病原性の判別が可能であった。しかし、きのこ害菌及び菌株によっては侵害力が異なる場合もあり、今後、より多くの組み合わせによるデータの蓄積が必要であることがわかった。

キーワード：きのこ菌床栽培、害菌、病原性、判別、対峙培養試験

## I. はじめに

きのこの菌床栽培施設では、栽培目的以外の菌が培地へ混入し被害を与える、いわゆる害菌問題が発生することがある。これまで、被害回避のための手法として、害菌の生息場所や密度の推定ができる落下菌調査の事例(2, 6, 7)や、調査に用いる培地組成について検討がされてきた(4)。また、害菌の病原性については、両口試験管を用いた対峙培養試験による検定手法が検討されてきた(3)。この対峙培養試験による検定手法は、実際の菌床栽培で使用される培地を用いて検定が可能で、直線上の値で評価し数値化できる点で優れている。この手法を用い、きのこ菌床栽培施設で被害を与える主な害菌について、その病原性を把握できれば、被害の深刻度や対策の緊急度についての確かな判断が可能となり、施設の清掃管理や害菌被害防除に有効であると考えられた。そこで、今回、数種の栽培きのこ害菌の組み合わせで対峙培養試験を行い、病原性の判別について検討を行ったので、その結果を報告する。

## II. 材料及び方法

## 1. 供試菌株

きのこ類に、エノキタケ (*Flammulina velutipes*): 大木 F01, エリンギ (*Pleurotus eryngii*): EG079, ブナシメジ (*Hypsizygus marmoreus*): KRCF646, シイタケ (*Lentinula edodes*): 北研 600号を使用した。また、害菌類には、トリコデルマ属8菌株 (*Trichoderma harzianum*: KRCF131, KRCF175, KRCF348, *T. atroviride*: KRCF222, *T. citrinoviride*: KRCF305, *T. longibrachiatum*: KRCF306, *T. virens*: KRCF307, *T. sp.*: KRCF541), スピセラム

属1菌株 (*Spicellum roseum*: KRCF655), クラドボトリウム属1菌株 (*Cladobotryum varium*: KRCF668), ペシロマイセス属2菌株 (*Paecilomyces sp.1*: MFC-N080, *P. sp.2*: MFC-N048)を使用した。

## 2. 対峙培養試験

長さ25cm, 内径2.2cmの両口試験管に、ブナ木粉と米スカを容積比4:1で混合し含水率を約65%に調整した培地を、試験管中央にはほぼ9cmの長さに詰め、シリコ栓をしオートクレーブ滅菌(121℃・60分)したものを使用した。接種源として、きのこ類はPDA(日本製ペテトデキストロース寒天)平板培地に十分菌糸が蔓延した菌叢を培地毎コルクボーラーで打ち抜いたものを用いた。害菌類は2MA(モルトエキス2%, 寒天1.5%)平板培地に菌糸が蔓延し分生胞子を十分形成した菌叢を培地毎コルクボーラーで打ち抜いたものを使用した。接種は、予めきのこ及び害菌を単独接種して両口試験管中央部までの到達日数を測定しておき、試験管中央部で両菌が接触するよう接種日を設定した。培養はエノキタケと害菌の組み合わせにおいては19℃, それ以外の組み合わせにおいては23℃の恒温器中で行った。両菌が接触した時の接触部を原点として、帯線もしくはきのこの菌糸先端部の動向を調査し、原点から害菌側へ移行した場合は+, きのこ側へ移行した場合は-とし数値化した。測定は、1本の両口試験管につき表と裏の2箇所を行い、原点から菌糸先端までの距離をデジタルノギスを用い0.1mm単位で測定した。結果は5本の両口試験管を用いたときの平均値で示した。

## 3. 病原性の判別

対峙培養試験のきのこ及び害菌の菌糸動向の観察結果を元にした害菌の侵害力の強さの違いにより、病原性の判別評価基準を、表-1のとおり5段階評価で設定し、きのこ毎に害菌の病原性に

\*1 Nitta, T. and Miyazaki, K.: The distinction of pathogenicity of contaminants in mycelial block cultivation of mushroom

\*2 宮崎県林業技術センター Miyazaki Pref. Forestry Tech. Ctr., Misato, 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

ついて判別を行った。なお、菌糸動向が+側で観察される場合の評価について、対峙させた時のきのこ菌糸の成長速度が、きのこを単独接種した時の成長速度と比較して、20%未満の時は評価3、20%以上～80%未満の時は評価2、80%以上の時は評価1とした。

表-1. 病原性の判別評価基準

判別評価	害菌の侵害力	きのこ類及び害菌類の菌糸動向
5	強	きのこ接種側に害菌が観察される(試験管の全部又は一部)。
4	やや強	原点よりきのこ側(-)で帯線形成又は菌糸動向が観察される。
3	普通	ほぼ原点(接触部位)において菌糸動向が拮抗状態で観察される。もしくは原点より害菌側(+)で菌糸動向が観察されるがきのこの菌糸の伸長速度はかなり遅い。
2	やや弱	原点より害菌側(+)で菌糸動向が観察される。もしくは害菌接種側にきのこの菌糸が伸長するものの伸長速度は抑制される。
1	弱	比較的速やかに害菌接種側にきのこの菌糸が伸長する。

### Ⅲ. 結果と考察

#### 1. 対峙培養試験

両口試験管にきのこ及び害菌を単独接種した時の試験管中央部までの到達日数を表-2に示す。この結果を踏まえ、対峙培養試験では試験管中央部で両菌が接触するよう接種日を設定した。今回使用した供試菌では、クラドボトリウム属を除き、全ての害菌はきのこより到達日数が短かった。

表-2. きのこ類及び害菌の試験管中央部までの到達日数

きのこ又は害菌	菌株No	到達日数(日)
ブナシメジ	KRCF646	34
エリンギ	EG079	24
シイタケ	北研600	24
エノキタケ	大木F01	18
<i>Cladobotryum varium</i>	KRCF668	18
<i>Paecilomyces</i> sp.2	MFC-N048	17
<i>P.</i> sp.1	MFC-N080	16
<i>Spicellum roseum</i>	KRCF655	11
<i>Trichoderma harzianum</i>	KRCF348	10
<i>T.</i> sp.	KRCF541	8
<i>T. virens</i>	KRCF307	8
<i>T. longibrachiatum</i>	KRCF306	7
<i>T. citrinoviride</i>	KRCF305	7
<i>T. harzianum</i>	KRCF131	6
<i>T. harzianum</i>	KRCF175	5
<i>T. atroviride</i>	KRCF222	5

測定結果(14日間分)を図-1～4に示す。きのこについては、それぞれ単独接種した時の成長速度を示す。エノキタケの場合(図-1)、KRCF541(*T.* sp.)及びKRCF131、KRCF175(*T. harzianum*)、KRCF222(*T. atroviride*)は、5～7日目にきのこ接種側で試験管全てに確認された。また、KRCF655(*S. roseum*)は、-側に移行しているのが観察された。KRCF305(*T. citrinoviride*)、KRCF306(*T. longibrachiatum*)、KRCF348(*T. harzianum*)、KRCF668(*C. varium*)は、ほぼ接触した原点で拮抗状態を示した。KRCF307(*T. virens*)、MFC-N080(*P.* sp.1)、MFC-N048(*P.* sp.2)に対して、エノキタケ菌糸は+側に移行

するものの、成長速度は単独接種時に比べ、約8～22%に抑制された。ただし、MFC-N080は28日目、MFC-N048は32日目に害菌接種側にエノキタケ菌糸が確認された。

エリンギの場合(図-2)、KRCF541(*T.* sp.)は試験管5本中2本(以下、2/5本等と表記)で10日目に、KRCF131(*T. harzianum*)は1/5本で50日目に、KRCF175(*T. harzianum*)は2/5本がそれぞれ13、34日目にきのこ接種側で確認された。KRCF222(*T. atroviride*)、KRCF305(*T. citrinoviride*)は、-側で拮抗状態を示した。KRCF655(*S. roseum*)は、ほぼ接触した原点で拮抗状態を示した。KRCF306(*T. longibrachiatum*)、KRCF348(*T. harzianum*)、KRCF668(*C. varium*)、KRCF307(*T. virens*)に対しては、エリンギ菌糸が+側に移行するものの、成長速度は約8～26%に抑制された。MFC-N080(*P.* sp.1)、MFC-N048(*P.* sp.2)に対しても、+側に移行しているのが観察され、成長速度は単独接種時に比べて影響はあまり見られず、いずれも14～17日目に害菌接種側にエリンギ菌糸が確認された。

ブナシメジの場合(図-3)、KRCF222(*T. atroviride*)は、23日目後にきのこ接種側で試験管全てに確認された。KRCF131、KRCF175(*T. harzianum*)、KRCF305(*T. citrinoviride*)、KRCF307(*T. virens*)、KRCF541(*T.* sp.)は、-側で拮抗状態を示した。KRCF306(*T. longibrachiatum*)、KRCF655(*S. roseum*)、KRCF668(*C. varium*)は、ほぼ接触した原点で拮抗状態を示した。KRCF348(*T. harzianum*)、MFC-N080(*P.* sp.1)、MFC-N048(*P.* sp.2)に対して、ブナシメジ菌糸は+側に移行するものの成長速度は約15～59%に抑制された。ただし、KRCF348は90～96日目に、MFC-N080は27日目前後、MFC-N048は38日目後に害菌接種側にブナシメジ菌糸が確認された。

シイタケの場合(図-4)、*T. harzianum*について、KRCF175は試験管全てで49日目後に、KRCF348は4/5本で43日目後にきのこ接種側で確認された。一方、KRCF131については-側で帯線を形成した後+側に移行し、*T. harzianum*は、シイタケとの組み合わせでは、他のきのこ類との組み合わせと異なる傾向を示した。KRCF222(*T. atroviride*)、KRCF305(*T. citrinoviride*)、KRCF307(*T. virens*)、KRCF541(*T.* sp.)は、-側で拮抗状態を示した。KRCF306(*T. longibrachiatum*)、KRCF655(*S. roseum*)、KRCF668(*C. varium*)に対しては、シイタケ菌糸が+側に移行するものの、成長速度は約8～22%に抑制された。MFC-N080(*P.* sp.1)、MFC-N048(*P.* sp.2)に対しては、+側に移行しているのが観察され、成長速度は単独接種時に比べ抑制された。ただし、23～30日目前後には害菌接種側にシイタケ菌糸が確認された。

#### 2. 病原性の判別

これらの対峙培養試験の結果を表-1の病原性の判別評価基準に照らし合わせ、きのこ毎に害菌の病原性の判別を行った結果を表-3に示す。*T. harzianum*については、菌株毎に差がみられるものの、いずれのきのこに対しても侵害力が強い可能性が高く、きのこ栽培上注意すべき害菌であると考えられるため、きのこ4種すべてに対して評価5とした。また、*T. atroviride*については、特にエノキタケ、ブナシメジに対し侵害力が高く評価5とした。他のトリコデルマ属菌についても、きのこの組み合わせによって侵害力が異なりそれに合わせた評価を行った。*S. roseum*はエノキタケ桃色かび立枯病の原因菌である(5)。一部観察調査中

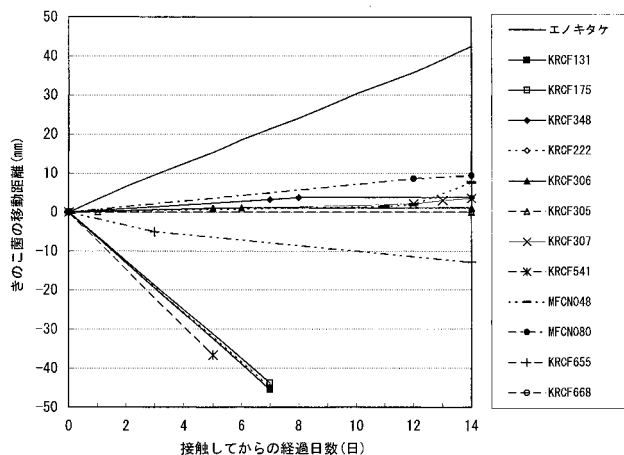


図-1. 対峙培養試験結果 (エノキタケ)

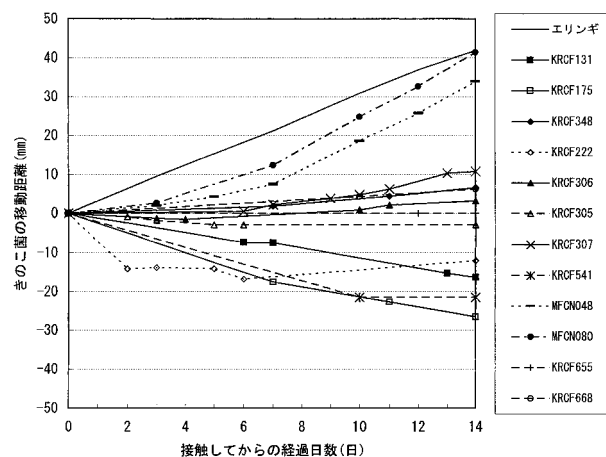


図-2. 対峙培養試験結果 (エリンギ)

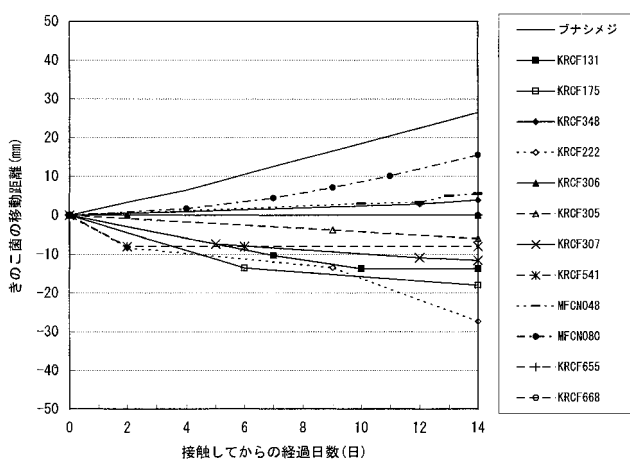


図-3. 対峙培養試験結果 (ブナシメジ)

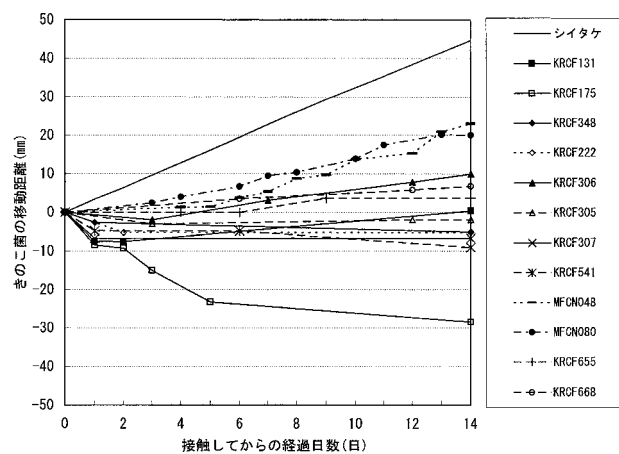


図-4. 対峙培養試験結果 (シイタケ)

のものもあるが、エリンギ、シイタケで評価3に対し、エノキタケでは評価4～5になる可能性が示唆され、特にエノキタケの栽培上注意を要することがわかった。また、*C. varium* はエノキタケ、ブナシメジ及びエリンギのわたかび病の原因菌である(1)。一部観察調査中のものもあるが、いずれのきのこの組み合わせも評価3となる可能性があり、芽出しや発生段階での感染で発病が疑われる害菌については、今後検討する必要があることがわかった。

#### IV. おわりに

両口試験管を用いた対峙培養試験は、菌床栽培における培養段階の害菌類の病原性を判別する方法として有効であり、今回、数種のきのこ類と害菌類の組み合わせにおいて評価することが可能であった。ただし、組み合わせによっては、種間、種内で病原性に違いがあることもわかったので、今後は、更にきのこ類及び害菌類の種類や菌株数を増やし、試験を行う必要があると考えられた。また、芽出しや発生段階に至る害菌類の病原性の判別評価については、実際の菌床を用いた接種再現試験等を実施するか既報等を評価しデータに加える必要があると考えられた。

なお、本試験は農林水産省予算の先端技術を活用した農林水産研究高度化事業（課題番号：1742）の一部として行われた。

#### 謝辞

本試験を行うにあたり、害菌株の同定及び適切なご助言、ご指導をいただいた独立行政法人森林総合研究所升屋勇人氏および環境衛生検査センター常盤俊之氏に深謝の意を表す。

#### 引用文献

- (1) 有馬忍・陶山一雄 (2000) 日本応用きのこ学会誌 8 : 13-29.
- (2) 金子周平・川端良夫 (1995) 日林九支研論 48 : 235-236.
- (3) 宮崎和弘ほか (1995) 日林九支研論 48 : 233-234.
- (4) 宮崎和弘ほか (2006) 九州森林研究 59 : 275-276.
- (5) 中村公義ほか (1996) 長野県野菜花き試験場報告 9 : 55-62.
- (6) 新田剛・宮崎和弘 (2003) 九州森林研究 56 : 257-258.
- (7) 富樫巖ほか (1997) 北海道林産試験場報 11 (2) : 1-4.  
(2006年11月17日受付; 2007年1月11日受理)

表-3. 病原性の判別

きのこ	害菌	菌株 No.	評価結果
エノキタケ	<i>T. harzianum</i>	KRCF131, KRCF175, KRCF348	5
	<i>T. atroviride</i>	KRCF222	5
	<i>T. longibrachiatum</i>	KRCF306	3
	<i>T. citrinoviride</i>	KRCF305	3
	<i>T. virens</i>	KRCF307	3
	<i>T. sp.</i>	KRCF541	5
	<i>P. spp.</i>	MFC-N080, MFC-N048	2
	<i>S. roseum</i>	KRCF655	4~5※
	<i>C. varium</i>	KRCF668	3※
エリンギ	<i>T. harzianum</i>	KRCF131, KRCF175, KRCF348	5
	<i>T. atroviride</i>	KRCF222	4
	<i>T. longibrachiatum</i>	KRCF306	3
	<i>T. citrinoviride</i>	KRCF305	4
	<i>T. virens</i>	KRCF307	2
	<i>T. sp.</i>	KRCF541	5
	<i>P. spp.</i>	MFC-N080, MFC-N048	1
	<i>S. roseum</i>	KRCF655	3※
	<i>C. varium</i>	KRCF668	3※
ブナシメジ	<i>T. harzianum</i>	KRCF131, KRCF175, KRCF348	5
	<i>T. atroviride</i>	KRCF222	5
	<i>T. longibrachiatum</i>	KRCF306	3
	<i>T. citrinoviride</i>	KRCF305	4
	<i>T. virens</i>	KRCF307	4
	<i>T. sp.</i>	KRCF541	4※
	<i>P. spp.</i>	MFC-N080, MFC-N048	2
	<i>S. roseum</i>	KRCF655	3※
	<i>C. varium</i>	KRCF668	3※
シイタケ	<i>T. harzianum</i>	KRCF131, KRCF175, KRCF348	5
	<i>T. atroviride</i>	KRCF222	4
	<i>T. longibrachiatum</i>	KRCF306	2
	<i>T. citrinoviride</i>	KRCF305	4
	<i>T. virens</i>	KRCF307	4
	<i>T. sp.</i>	KRCF541	4※
	<i>P. spp.</i>	MFC-N080, MFC-N048	2
	<i>S. roseum</i>	KRCF655	3※
	<i>C. varium</i>	KRCF668	3※

※…観察調査中のため暫定的な評価とした。