

## 論文

小型菌床によるシイタケ菌株の発生温度特性簡易評価法の検討\*<sup>1</sup>石井秀之\*<sup>2</sup>・宮本亮平\*<sup>3</sup>・山内隆弘\*<sup>4</sup>・宮崎和弘\*<sup>5</sup>

石井秀之・宮本亮平・山内隆弘・宮崎和弘：小型菌床によるシイタケ菌株の発生温度特性簡易評価法の検討 九州森林研究 68：99－103，2015 地球温暖化に対応した効率的なシイタケの育種のため，小型菌床を用いた発生温度特性簡易判定法の検討を行った。直径44mm×高さ35mmの円柱状に成型した小型菌床を18℃28日（一次）および22℃28日（二次）の培養を行い，4段階の温度別（22℃，18℃，14℃および10℃）に3回の発生操作を行った結果，供試した全発生型において，子実体が同一試験区で半数以上発生した。22℃で発生した品種を高温性，18℃を中温性，14℃および10℃を低温性と基準を設定し，市販シイタケ品種の温度特性の判定を行ったところ，温度特性の判定結果と種菌メーカーの提示している発生型がおおよそ一致したことにより，小型菌床を用いた温度特性簡易判定法の有効性を確認した。

キーワード：シイタケ，発生温度特性，小型菌床，菌床栽培

## I. はじめに

近年の気候変動に伴う温暖化現象は，シイタケ生産量の不安定化だけにとどまらず，生産資材の確保や光熱水費など収益構造にも大きな影響を与えている。最近では，市場価格の低迷も加わり将来的な不安から担い手の減少を招き，それが生産の減少を招いている。この対応策の一つとしては，気候変動に対応した品種や夏場にかかる空調コストの低減に寄与する高温域で安定的に発生する品種の開発があげられる。しかし，現在の厳しい経営環境では，品種開発に関する人材や資金の確保が困難である。このようなことから，今回，育種における選抜作業の効率化のために，発生温度特性の簡易判定方法を検討したので報告する。

## II. 材料および方法

## 1. 供試菌株

供試菌株は市販のシイタケ品種26品種を用いた（表-1）。また，種苗法により品種登録している品種はその番号を，各種菌メーカーから公表されている発生温度，発生型（温度特性：全国食用きのこ種菌協会2006，2013）をあわせて表示した。なお，公表されていない一部の品種の発生型は種菌メーカーに聞き取りを行った。

## 2. 培地調製

栽培試験用培地の組成および調製方法を表-2に示した。

## 3. 種菌調製

直径18mmの試験管に調製したPDA（日本製薬製）斜面培地上で伸長させた後，直径30mmの試験管に調製したおが粉培地（表-2の培地組成に同じ）に蔓延させたものを種菌とした。

表-1. 供試菌株一覧

品種番号	種菌メーカー名	品種名	登録番号 <sup>1)</sup>	発生温度 <sup>2)</sup>	発生型 <sup>2)</sup>
1	北研	北研73号	14657	13℃～30℃	高温性
2	北研	北研608号	11351	13℃～28℃	高温性 <sup>3)</sup>
3	森産業	JMS KV-92	9781	15℃～26℃	高温性
4	菌興椎茸	菌興702号			高中温性
5	菌興椎茸	菌興697号	9025	13℃～28℃	高中温性
6	菌興椎茸	菌興702号	12270	13℃～28℃	高中温性
7	森産業	もりの夏美	10049	15℃～25℃	中高温性
8	森産業	JMS 9K-4	2985	15℃～25℃	中高温性
9	森産業	森 XR1号	17039	12℃～25℃	中高温性
10	北研	北研607号	10748	10℃～23℃	中高温性
11	北研	北研600号	1791	10℃～22℃	中温性 <sup>3)</sup>
12	キノックス	東北 S32号		10℃～20℃	中低温性
13	森産業	ゆう次郎	6859	7℃～20℃	中低温性
14	菌興椎茸	菌興240号	19578	8℃～18℃	中低温性
15	菌興椎茸	菌興248号		8℃～18℃	中低温性
16	秋山種菌研究所	秋山 A-221号	1790	5℃～16℃	中低温性
17	キノックス	KX S035号	11226	6℃～18℃	低中温性
18	菌興椎茸	菌興101号		8℃～16℃	低中温性
19	菌興椎茸	菌興115号	188	8℃～16℃	低中温性
20	菌興椎茸	菌興141号	9024	8℃～16℃	低中温性
21	森産業	もりの春光	14768	7℃～20℃	低温性
22	森産業	もりのだい次郎	6382	7℃～18℃	低温性
23	加川椎茸	加川 KM-2		6℃～15℃	低温性
24	秋山種菌研究所	秋山 A-6号		5℃～12℃	低温性
25	北研	北研72号	11350		低温性
26	森産業	もりの富富		10℃～20℃	不明

注：1) 種苗法に登録している品種の場合はその登録番号

2) 発生温度，発生型はきのこ種菌一覧/2007年版あるいは2014年版より記載。

3) きのこ種菌一覧で未記載だが，種菌メーカーより聞き取りしたもの。

\*<sup>1</sup> Ishii H., Miyamoto R., Yamauchi T., Miyazaki K.: A study of simple method for evaluation of fruit-body formation temperature trait of *Lentinula edodes* using small scale block.

\*<sup>2</sup> 大分県農林水産研究指導センター林業研究部きのこグループ Mushroom Res. Inst. Oita Pref. Agri. For. and Fish Res. Center, Mie, Bungo-Ohno, Oita 879-7111, Japan.

\*<sup>3</sup> 大分県東部振興局農山漁村振興部 Toubu Office of Oita Pref., Kunisaki, Oita 873-0504, Japan.

\*<sup>4</sup> 株式会社北研食用菌類研究所 HOKKEN CO., LTD. Edible Mushrooms Institute, Mibu, Tochigi 321-0222, Japan.

\*<sup>5</sup> 森林総合研究所九州支所 Kyushu Res. Center, For. & Forest Prod. Res. Inst., Kumamoto 860-0862, Japan.

表－2. 培地条件

培地基材	おが粉：コットンハル＝1：1（容量比） おが粉樹種：シイ類、カシ類（含水率 12.6%）
栄養体	米ぬか：ふすま＝1：1 基材の15%（容量比）
含水率	65%（水道水）
殺菌	118℃、30分

## 4. 三角フラスコによる栽培試験

調製した培地 100mL（約 50g）を 100mL 容の三角フラスコ（以下、フラスコとする）内で押し固め（フラスコの表示で 60mL 程度まで）、綿栓をして殺菌を行い、培地温度が室温まで低下してから 1 フラスコ当たり 0.5mL の種菌を培地中央部に接種した。使用した品種は、表－1 の品種番号 2, 8, 11, 12, 15～20, 23～25 を使用した。培養は、温度 18℃、湿度 70%、暗黒下で 21 日間の一次培養、温度 22℃、湿度 70%、照度 350 LUX で 12 時間、暗黒下で 12 時間の光条件下で 28 日間の二次培養を行った。1 試験区には 4 個供試した。

培養後、浸漬処理を行い、各品種とも 4 段階（22℃、18℃、14℃および 10℃）の温度で子実体を発生させた。浸漬水は脱イオン水を使用し、その際の処理用水の温度による影響を避けるために、あらかじめそれぞれの試験区の処理温度に調節しておいたものを用いた。浸漬処理はフラスコ内の培地上面から 2cm の高さまで注水し、12 時間静置後排水した。初回以降の浸漬処理は、発生処理後 21 日後、同 42 日後に行い、計 3 回行った。発生処理期間中は、フラスコの上部を乾熱滅菌した新聞紙で覆い、培地の乾燥を防いだ。

子実体の発生調査は、1 フラスコごとに目視で確認し、各温度処理区別に子実体の発生したフラスコの個数を記録した。発生した子実体などは次回の浸漬処理のため、その都度、ピンセットで培地から除去した。なお、成熟子実体以外の幼子実体や菌糸塊については、上部に菌さんと同様の着色が見られ幼子実体と判定できるものを子実体として計数した。

## 5. 小型菌床による栽培試験

調製した 80mL（約 40g）の培地を内径 44mm の塩化ビニール製パイプに詰め、押し固めて、高さ 35mm 程度の円柱状に成型し、培地 1.3kg 用でタイベスト製のフィルターが 1 箇所の P.P. 栽培袋（エフテック ST 45-20）に入れて殺菌した。培地温度が室温まで下がった後、1 培地当たり 0.5mL の種菌を接種し、袋の上部を溶着した。使用した品種は、表－1 の品種番号 1～3, 5～7, 9～11, 13～15, 18～22, 26 を使用した。培養は、温度 18℃、湿度 70%、暗黒下で 28 日間の一次培養、温度 22℃、湿度 70%、照度 350 LUX で 12 時間、暗黒下で 12 時間の光条件下で 28 日間の二次培養（試験 1）を行った。また、品種番号 11 を用いて、暗黒下での培養を行わずに、温度 22℃、湿度 70%、照度 350 LUX で 12 時間、暗黒下で 12 時間の光条件下で培養日数を 40 日間とする同様の試験（試験 2）も行った。子実体は、各品種ともに 4 段階（22℃、18℃、14℃および 10℃）の温度で発生させた。1 回目の発生処理は袋を開封せず、袋内での菌床の反転処理とし、2 回目は 21 日後に開封して、100ml の滅菌水（水道水、118℃、10 分）で 12 時間の浸漬処理、3 回目は 42 日後に同様の浸漬処理を行った。浸漬水は、前述のとおり、あらかじめ水温を

発生処理温度と同一に調節した。

## Ⅲ. 結果および考察

## 1. 三角フラスコによる栽培試験

栽培試験の結果は、3 回の発生操作のいずれかで子実体が発生したフラスコの実数と供試数を品種別および温度別に表－3 に示した。すべての処理温度でも子実体発生のみられない品種が 1 品種（KX S035 号）あったが、残りの品種については、発生数に差はみられるもののいずれかの温度で発生がみられ、全発生型で子実体が発生した。この結果により、本試験はある程度温度特性を判定できる試験方法であることが明らかとなった。しかし、フラスコによる栽培試験では、側面や底面からの子実体発生がみられる場合には子実体の切除が不可能、あるいは無理な切除作業に

表－3. フラスコ栽培試験による品種別温度別の子実体発生状況

発生型 <sup>1)</sup>	品種名	温度別発生状況			
		22℃	18℃	14℃	10℃
高温性	北研608号	3/3	3/3	2/2	–
中高温性	JMS 9K-4	0/4	2/4	4/4	3/3
中温性	北研600号	0/4	3/4	4/4	4/4
	東北 S32号	0/4	0/4	2/4	0/3
中低温性	菌興248号	0/4	0/4	3/4	3/3
	秋山 A-221号	0/4	0/4	1/4	1/3
低中温性	KX S035号	0/4	0/4	0/4	0/3
	菌興101号	0/4	1/4	3/4	2/3
	菌興115号	0/2	0/3	2/3	1/3
	菌興141号	0/4	0/4	4/4	3/3
低温性	加川 KM-2	0/4	0/4	2/4	0/3
	秋山 A-6号	0/4	0/4	1/4	0/3
	北研72号	0/3	2/3	0/3	1/3

注：1）発生型はきのご種菌一覧／2007年版あるいは2014年版より記載。

表－4. 小型菌床栽培試験による品種別温度別の子実体発生状況

発生型 <sup>1)</sup>	品種名	試験番号 <sup>2)</sup>	温度別発生状況			
			22℃	18℃	14℃	10℃
高温性	北研73号	1	4/4	4/4	3/4	0/4
	JMS KV-92	1	3/4	4/4	4/4	4/4
	北研608号	1	4/4	4/4	4/4	3/4
高中温性	菌興697号	1	0/4	0/4	1/4	0/4
	菌興702号	1	1/3	1/3	2/3	2/3
中高温性	もりの夏美	1	1/4	0/4	2/4	1/4
	森 XR1号	1	3/4	4/4	4/4	4/4
	北研607号	1	3/4	4/4	4/4	0/4
中温性	北研600号	1	1/4	1/4	2/4	0/4
		2	0/4	3/4	2/4	2/4
中低温性	ゆう次郎	1	0/4	0/4	0/4	0/4
	菌興240号	1	0/3	0/3	2/3	1/3
	菌興248号	1	0/4	2/4	3/4	4/4
低中温性	菌興101号	1	0/4	3/4	4/4	4/4
	菌興115号	1	0/4	0/4	2/4	0/4
	菌興141号	1	0/4	4/4	4/4	4/4
低温性	森の春光	1	0/4	4/4	4/4	4/4
	もりのだい次郎	1	0/4	0/4	0/4	0/4
–	もりの富富	1	0/4	1/4	4/4	2/4

注：1）発生型はきのご種菌一覧／2007年版あるいは2014年版より記載。

2）試験番号の1は試験1、2は試験2。

表-5. 小型菌床試験による試験での各品種の温度特性の判定手順と判定結果

品種名	試験番号 <sup>1)</sup>	発生回数	温度別発生状況																温度特性判定結果
			22℃				18℃				14℃				10℃				
			①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④	
北研73号	1	1回目		○	○	○	○	○	○	○	○	○					高中温性		
		2回目	○				○	○	○	○	○	○							
		3回目		○	○	○	○	○	○	○	○	○							
北研608号	1	1回目					○	○	○	○	○	○	○	○			高中温性		
		2回目	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
		3回目		○	○	○	○	○	○	○	○	○							
JMS KV-92	1	1回目		○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	高中温性		
		2回目	○	○	○		○	○	○						○				
		3回目													○				
菌興702号	1	1回目				/			/	○		○	/		○		/	低温性	
		2回目		○		/			/			/	○		/	/			
		3回目				/	○		/			/			/	/			
菌興697号	1	1回目								○							保留		
		2回目																	
		3回目																	
もりの夏美	1	1回目								○		○					低温性		
		2回目		○										○					
		3回目								○									
森 XR1号	1	1回目				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	高中温性		
		2回目					○	○	○										
		3回目	○			○							○	○	○				
北研607号	1	1回目								○	○						中低温性		
		2回目					○		○	○	○								
		3回目		○	○	○	○		○			○	○						
北研600号	1	1回目										○					保留		
		2回目																	
		3回目			○				○						○				
北研600号	2	1回目															中温性		
		2回目					○		○	○	○		○	○					
		3回目					○	○		○			○						
ゆう次郎	1	1回目															保留		
		2回目																	
		3回目	○																
菌興240号	1	1回目				/			/			/		○		/	低温性		
		2回目				/			/			/			/	/			
		3回目				/			/			/			/	/			
菌興248号	1	1回目					○			○		○	○	○	○		中低温性		
		2回目					○	○					○	○	○				
		3回目								○					○				
菌興101号	1	1回目							○	○	○	○	○	○	○		中低温性		
		2回目							○	○	○	○	○	○	○				
		3回目					○			○	○				○				
菌興115号	1	1回目															低温性		
		2回目																	
		3回目								○	○								
菌興141号	1	1回目					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	中温性		
		2回目					○	○	○		○								
		3回目								○		○	○	○					
森の春光	1	1回目								○		○	○		○		中低温性		
		2回目					○	○	○	○	○	○	○	○		○			
		3回目								○	○	○							
もりのだい次郎	1	1回目															保留		
		2回目																	
		3回目																	
もりの富富	1	1回目														○	低温性		
		2回目					○			○	○	○			○				
		3回目								○	○	○		○					

注：1) 試験番号の1は試験1, 2は試験2。

2) は温度特性判定基準に従って判定した試験区。

より菌床が損傷する場合がみられた。また、培地とフラスコの隙間が小さく浸漬処理の水分の排出が不十分になりやすいなどの原因により、培地の汚染や腐敗がみられた。これらが原因で、表-3に見られるように1試験区4ではなく、2あるいは3フラスコの状態が生じた。また、フラスコ本体のガラスとの接触による子実体発生も考えられたことから、小型菌床を用いた栽培試験を行うこととした。

## 2. 小型菌床による栽培試験

小型菌床による試験1での栽培試験結果を、発生処理回数別に子実体発生状況を個別の菌床ごとに表-4に示した。いずれの処理温度でも子実体発生のみられない品種（もりのだい次郎）、1試験区で1菌床しか発生しない品種（菌興697号、ゆう次郎）が存在したが、残りの品種については、ある試験区の半数以上で子実体が発生した。また、全発生型において、ある試験区の半数以上で子実体が発生した。この結果より、本試験はある程度温度特性を判定できる試験方法であることが明らかとなった。しかし、ある試験区で1菌床以下しか子実体発生しない場合が存在したことにより、追加試験とし試験2での栽培試験を北研600号により行うこととした。その結果、1試験区の半数以上で子実体が発生し、追加試験の有効性を確認した（表-5）。

## 3. 小型菌床を用いた発生温度特性判定基準の作成と基準の有効性の確認

小型菌床を用いた発生温度特性判定法を検討した。シイタケの菌床栽培では培養期間が長くなると集中発生する（大森 1993）こと、木粉培地のシイタケは12~24時間の冠水処理で子実体の形成が誘起される（松本・北本 1987）ことなどから、浸水処理によらない発生や早い発生回数での子実体発生を優先的に評価することが必要と考えられた。

これらのことと先に示した栽培試験の結果から、温度特性の判定基準を次のとおりとした。

温度特性の判定は、高温性：22℃、中温性：18℃、低温性：14℃および10℃、を基準としつつ、高温性と中温性および中温性と低温性の中間的な判定を加え、高い方から、高>高中>中>中低>低の5段階とし、判定方法は次のとおりとした。

- ① 18℃、28日で一次培養、22℃、28日で二次培養した小型菌床（試験1）を使用して、発生操作を行う。
- ② 同一の温度、発生回数で供試数の半数以上から発生がみられた試験区で判定を行う。
- ③ 早い発生回数での発生を優先する。
- ④ 発生回数と同じでいくつかの温度で発生した場合、温度が高い方での発生を優先する。その結果、高温性、中温性、低温性のいずれかの判定となる場合が生じる。
- ⑤ 早い発生回数で判定した温度より後の発生回数で発生した温度が高い場合は、ワンランク上の判定とする。その結果、高中温性、中低温性の判定となる場合が生じる。
- ⑥ 以上から判定できない場合、22℃で40日間培養した菌床（試験2）を使用して発生操作を行い、②~⑤の判定を行う。

小型菌床による栽培試験を行い、この判定基準を用いて、温度特性の判定を行った結果を表-5に示した。次に、この温度特性の判定結果と種菌メーカー表示の発生型の比較を行った結果を表-6に示した。

判定と発生型が同じものが29%、1ランク違いのものが50%、2ランク違うものが7%、3ランク違うものが14%であり、同じものと1ランク違いを合わせると約8割となったことにより、小型菌床を用いた簡易温度特性判定法の有効性を確認できた。

表-6. 小型菌床試験による試験での各品種の温度特性の判定結果と発生型の比較

番号	品種名	温度特性 判定結果	発生型 <sup>1)</sup>	判定結果と発生型の差異の程度 <sup>2)</sup>				
				同じ	1ランク	2ランク	3ランク	合計
1	北研73号	高中温性	高温性		○			
2	北研608号	高中温性	高温性		○			
3	JMS KV-92	高中温性	高温性		○			
4	菌興702号	低温性	高中温性				○	
5	もりの夏美	低温性	中高温性				○	
6	森 XR1号	高中温性	中高温性	○				
7	北研607号	中温性	中高温性			○		
8	北研600号	中温性	中温性	○				
9	菌興240号	低温性	中低温性		○			
10	菌興248号	中低温性	中低温性	○				
11	菌興101号	中低温性	低中温性	○				
12	菌興115号	低温性	低中温性		○			
13	菌興141号	中温性	低中温性		○			
14	森の春光	中低温性	低温性		○			
				4 29%	7 50%	1 7%	2 14%	14 100%

注：1) 発生型はきのご種菌一覧/2007年版あるいは2014年版より記載。

2) 判定結果と発生型の差異の程度とは、高温>高中温（中高温）>中温>中低温（低中温）>低温における、各ランク間の差異の程度を示す。例えば、判定が低温で発生型が高中温は3ランク違い。

なお、高中温と中高温、中低温と低中温は同一とした。

3) 「菌興697」「ゆう次郎」「もりのだい次郎」の3品種は今回判定できなかったため、また「もりの富富」はメーカーの発生型が不明のため、表から除外した。

#### IV. おわりに

小型菌床を用いた実験系におけるシイタケ品種の温度特性の評価について検討を行ったところ、本報告で記述した方法、ならびに判定基準により行った温度特性判定結果が、種菌メーカーが判定した発生型（温度特性）とほぼ一致した。しかし、一致しない場合もあり、さらに試験方法を改善して、より精度の高い温度特性判定法を検討していきたい。小型菌床を利用した簡易判定法は、多サンプルの処理に有利であり、今後想定される温度特性の遺伝解析等を行う際の判定方法として応用できると考えられる。

また、今回は温度特性に絞って検討を行ったが、子実体の発生状況をみると、小型の菌床でありながら、同一の菌床で3回の発生処理すべてで発生がみられたものや、どの温度でもよく発生した系統が観察され、温度特性以外に子実体形成能力の差異を検出できる可能性が示唆された。従って、子実体の形質的特徴などについても小型菌床を用いた場合と商業規模の培地での相関関係を調査し、明確な相関関係のみられる形質については、簡易判定法として小型菌床による評価が可能となり、育種の効率化に寄与できることが考えられる。

#### 謝辞

本報告を作成するに当たり、貴重なご意見・ご提案をいただいた共同研究コンソーシアムの森林総合研究所・宮崎安将博士、岩手生物工学研究センター・坂本裕一博士、東京工業大学・金子真也博士、九州大学農学研究院教授・白石進博士の各氏に深謝の意を表す。また、栽培試験の実施や調査に協力いただいた大分県農林水産研究指導センターきのこグループの羽田野友絵、矢野ひとみ、甲斐富貴子の各氏にお礼を申し上げます。

なお、本研究は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「シイタケの高温発生品種を効率的に作出するための技術開発（課題番号：23051）」の一部として実施した。

#### 引用文献

- 松本晃幸・北本豊（1987）日本菌学会会報，28：437-443.  
 大森清寿編（北研食用菌類研究所著）（1993）菌床シイタケのつくり方，53-66，農山漁村文化協会，東京.  
 全国食用きのこ種菌協会編（2006）きのこ種菌一覧 2007年版，2-25.  
 全国食用きのこ種菌協会編（2013）きのこ種菌一覧 2014年版，2-25.

（2014年10月27日受付；2015年1月26日受理）