

ムキタケ菌床栽培のための培養  
条件と菌株選抜に関する研究

Studies on culture conditions and strain  
selections for the sawdust- based cultivation of  
*Panelus serotinus*

蒲原 邦行

2007



# ムキタケ菌床栽培のための培養条件と菌株選抜に関する研究\*

蒲原 邦行

Kuniyuki KAMOHARA : Studies on culture conditions and strain selections for the sawdust-based cultivation of *Panellus serotinus* \*

---

## 目 次

はじめに	4
第Ⅰ章 ムキタケの生活環と核行動	5
緒言	5
Ⅰ. 1 ムキタケの交配系	5
(1) 材料と試験方法	
(2) 結果と考察	
Ⅰ. 2 担子孢子形成と核行動	6
(1) 材料と試験方法	
(2) 結果と考察	
Ⅰ. 3 子実体の微細構造	8
(1) 材料と試験方法	
(2) 結果と考察	
第Ⅱ章 ムキタケの菌床栽培の実用化のための栽培条件の検討	13
緒言	13
Ⅱ. 1 材料	13
(1) 供試菌株	
Ⅱ. 2 培地の固相率・液相率・気相率調査	13
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
Ⅱ. 3 培地条件別O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> 濃度調査	15

(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
II. 4 培地条件別菌糸体成長速度比較	2 1
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
II. 5 子実体原基形成温度調査	2 4
(1) 材料と試験方法	
(2) 結果と考察	
II. 6 培地条件別子実体発生試験および培地絶乾重量減少率（腐朽度）比較	2 5
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
II. 7 培地条件別子実体含水率比較試験	2 9
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
II. 8 最適培地 pH 調査	3 1
(1) 材料と試験方法	
(2) 結果と考察	
II. 9 大容量袋による栽培	3 2
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
II. 10 広葉樹チップによる栽培試験	3 6
(1) 材料と試験方法	
(2) 結果と考察	
第三章 ムキタケにおけるトリコデルマ強耐性菌株の選抜	3 8
緒言	3 8
III. 1 材料	3 8
(1) 供試菌株	
(2) 培地組成	
III. 2 ムキタケ及びトリコデルマの菌糸伸長度の測定と培養条件	3 9
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
III. 3 おが粉培地によるトリコデルマ耐性（侵害長、耐性度）の検定	4 4

1) ムキタケのトリコデルマ耐性（侵害長）と培養条件	4 4
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
2) ムキタケ121菌株のトリコデルマ耐性（侵害長, 耐性度）比較	4 7
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
III. 4 ムキタケ野生株121菌株の菌糸伸長度および材腐朽度比較	5 1
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
III. 5 寒天培地上におけるトリコデルマ耐性（耐性度）の検定	5 4
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
III. 6 トリコデルマ3種のムキタケ侵害長比較	5 4
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
III. 7 選抜したトリコデルマ強耐性ムキタケ菌株の培養特性と子実体発成能力	5 5
(1) 試験方法	
(2) 結果と考察	
III. 8 子実体収量および食味に優れるムキタケ菌株の選抜	5 6
(1) 材料と試験方法	
(2) 結果と考察	
総合考察	6 1
摘要	6 3
Abstract	6 4
引用文献	6 6

---

## はじめに

ムキタケ「*Panellus serotinus* (Fr.) Kuhn.」は、英名「Late fall oyster」とも呼ばれ、北半球温帯以北に産するキシメジ科ワサビタケ属のきのこである。日本では九州から北海道まで広く分布している。九州・中国・四国では標高1000m以上のブナやミズナラなどの落葉広葉樹林帯に発生し、これより北では低い標高でも発生する<sup>1)</sup> (Fig. 1)。

熊本県ではコウムキ(甲剥)<sup>2)</sup>、広島県ではミズホウ、ミズホ<sup>3)</sup>、長野県ではカタハ、カワフキ<sup>4)</sup>、東北地方ではヌキウチ、ヌキモタス、シナボタシ<sup>5)</sup>など様々な名前で親しまれている。

野生のムキタケ子実体は美味で食物繊維に富み、1本の原木から多量に採集できることから食用きのことして好まれている。一方、人工栽培は東北地方の一部で試験的に行われているに過ぎない。これから本格的な栽培が期待されるきのこであり、ブナやコナラなどの原木を利用する原木栽培とブナやコナラなどのおが粉に米糠などを混合して行う菌床栽培が試みられている (Fig. 2)。ムキタケは種苗登録できる種であるが、まだ登録されている品種はなく、北海道<sup>6)</sup>、福島県<sup>7)</sup>、群馬県<sup>8-10)</sup>、佐賀県<sup>11-16)</sup> (筆者ら)などの公設試験研究機関が野生菌株からの優良菌株の選抜に取り組んでいる。しかし生産物の流通市場は確立されておらず、試験栽培の域を出ていない。

本研究では、ムキタケの袋栽培を実用化するため、本菌の培養条件を解明するとともに、病害菌トリコデルマ (*Trichoderma* spp.) に耐性を有する菌株および収量性や嗜好性に優れた菌株の選抜を行った。また、交配育種の基盤整備として、交配系や核の行動を調査した。

本研究の遂行と本論文のとりまとめに当たり、終始懇切なる御指導とご校閲を賜った主旨導教官の鳥取大学連合農学研究科時本景亮客員教授に対し心より謝意を表す。本研究の実験方法と論文作成については、同大学連合農学研究科の尾谷浩教授(鳥取大学、連合農学研究科長)、荒瀬栄教授(島根大学)、本田雄一教授(現島根大学長)に副指導教官として懇切なる指導を戴いた。ここに心から感謝を申し上げる。さらに、財団法人日本きのこセンター菌茸研究所村上重幸上席主任研究員には、電子顕微鏡の操作や核染色の方法などを指導戴いた。また、佐賀県林業試験場在職中には、場長をはじめとする職員の皆様方に多大のご助力を賜った。特に本実験の遂行に際しては、同場の永守直樹特別研究員並びに西寄萬主任業務技術員に多大な御協力を賜った。ここに記して深く謝意を表す。



Fig. 1 Wild fruiting bodies of *Panellus serotinus*.



Fig. 2 Mycelial block cultivation of *Panellus serotinus*

# 第1章 ムキタケの生活環と核行動

## 緒言

きのこの交配系には、ホモタリズムとヘテロタリズムの二つがある。前者は菌糸体のすべての核が同一の遺伝子型を持ちながら、他の系統の孢子や菌糸体の働きかけを受けることなく、独自で二核化をおこなう。したがって他系統細胞との間の細胞質融合は省略される<sup>17)</sup>。一方後者は、単相の担子孢子が発芽して生じた一核菌糸体が他系統の一核菌糸体と接触し、細胞質融合することによって始めて二核化を行う。この系には1対の不和合性因子によって支配される二極性と、2対の因子によって支配される四極性とがある<sup>17)</sup>。

きのこは通常1担子器あたり4個の担子孢子を形成し、減数分裂の結果生じた4個の核が、それぞれ1個ずつ孢子の中に入る。このきのこの代表がシイタケである。しかし、きのこによっては孢子を2個しかつくりず、2個の核が1つの孢子中に入るものもあり、その一つはツクリタケである<sup>18)</sup>。Whitehouseが1949年に交配系の確認された230種のきのこについて交配様式を集計した結果、約10%がホモタリズム、35%が二極性ヘテロタリズム、55%が四極性ヘテロタリズムであった<sup>17)</sup>。

ムキタケの実用的な人工栽培を行うにあたっては、子実体の収量や形態、病害菌耐性などの形質に関する品種改良を行うことが望ましい。ムキタケに関する生活環や交配系に関する研究はほとんどなく、永井らが交配系が2極性であると報告しているに過ぎない<sup>19)</sup>。本章では、ムキタケ子実体の形態形成を明らかにするとともに、交配系をはじめとする生活環の全貌を解明し、品種改良の基盤を整備した。

### 1.1 ムキタケの交配系

#### (1) 材料と試験方法：

佐賀県林業試験場で保存しているムキタケ野生菌株SPs-26を供試した。既報<sup>16)</sup>の方法で子実体を発生・成長させた。単孢子菌糸体の分離は以下の方法による。滅菌ペトリ皿を逆さまにして、外蓋の内側に新鮮な成熟子実体の菌褶を下にして置き、一晚20°Cのインキュベーターに静置し、内蓋の内側に孢子を落とす。

得られた孢子をPDA培地に滅菌水で希釈して播き、5日間20°Cのインキュベーターで静置培養した。発芽したそれぞれの単孢子菌糸体を顕微鏡下で細針を用いて切り取り、PDA培地に移植した。交配系の解析には無作為に選んだ単孢子菌糸体（一核菌糸体）を用いた。90mm径ペトリ皿内のPDA培地上に2つの単孢子菌糸体を約5mmの間隔で植え付け、経時的に両菌糸体の接触部および両側を中心にクランプ形成の有無を顕微鏡下で観察した。

#### (2) 結果と考察：

ムキタケの交配系については、永井らが2極性と報告しているが、再検証のため単孢子菌糸体（一核菌糸体）の交配を試みた。その結果をTable 1に示す。

ムキタケはシイタケなどと比べると交配速度が遅く、最終的な交配確認に12日を要したが、その結果は永井らの報告と同じ2極性であった。

Table 1. All possible pairings of 13 monosporous mycelia isolated from a single fruiting body of *Panellus serotinus*

		I						II						
		1	2	6	7	12	9	3	5	8	10	11	13	4
I	1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	7	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	12	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	9	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
II	3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	8	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	11	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	13	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

## 1. 2 担子胞子形成と核行動

### (1) 材料と試験方法：

前項と同様にムキタケ野生菌株SPs-26を供試した。ムキタケの減数分裂から担子胞子形成までの核行動を塩酸ギムザ染色法により、光学顕微鏡を用いて観察した。

### (2) 結果と考察：

担子胞子形成時の核の行動をFig. 3に示す。減数分裂の後、担子器で形成された四分子核は、各々小柄を通して胞子細胞内に移行する (Fig. 3a)。移行した四分子核はそれぞれ胞子の中で1回の体細胞分裂を行う (Fig. 3b)。この核分裂を特別に”後減数分裂, post-meiotic-division” とよび、結果的に胞子は二核を持つことになる (Fig. 3c)。その後、形成された二娘核のうち担子器に近い方の核は再び小柄を通して担子器に戻り、それぞれの胞子に一核、担子器に4個の核が観察される (Fig. 3d)。

胞子が完全に成熟すると、小柄と胞子は細胞壁で隔離され、胞子が離脱する。離脱直後の担子器には凝縮した4核が観察されるが (Fig. 3e)、これらはその後担子器の崩壊とともに消失する。

離脱した胞子には一個の核が観察される (Fig. 3f)。この一連の核行動は、Duncan and Galbraith<sup>21)</sup> の報告したパターンCに該当し、シイタケでも同様な核行動が報告されている<sup>22)</sup>。



Fig. 3a



Fig. 3b



Fig. 3c



Fig. 3d



Fig. 3e



Fig. 3f

Fig. 3. Light micrographs of basidiospore development in *Panellus serotinus*. HCl-Giemsa staining.

Fig. 3a. Young basidiospores having single nuclei.

Fig. 3b. Mitotic division.

Figs. 3c, d. The daughter nucleus distal to the basidium remains in the spore, while the other migrates through the sterigma back into the basidium.

Fig. 3e. The basidium containing four nuclei.

Fig. 3f. A discharged spore having one nucleus.

### 1.3 子実体の微細構造

#### (1) 材料と試験方法：

佐賀県林業試験場で保存しているムキタケ野生菌株SPs-26とSPs-62の2種類を供試した。

走査型電子顕微鏡を使用し、ムキタケ子実体の微細構造を観察した。試料は, Tsuneda et al.<sup>23)</sup> および Nakai and Ushiyama<sup>24)</sup> の方法によって作成した。

#### (2) 結果と考察：

##### 子実体の微細構造

Fig. 4に子実体の傘周縁部の断面図を示す。子実体は表皮と肉質部および子実層に大きく分けられる。表皮の断面を拡大すると (Fig. 5), 表皮に対しほぼ垂直に生じた絨毛 (じゅうもう) と呼ばれる微細な毛状の突起が見られる。

皮層下部には、まばらな細胞間隙を埋める不定形の物質が満たされており (Fig. 5, 6), この部位はゼラチン質を含む層を形成しているものと考えられる。本菌の和名が示すように、水分を含むと表皮がはがれやすくはがれた部位がぬるぬるするが、それはこの組織のためである。

肉質部には縦横に走る比較的太い菌糸体が観察され、菌糸体間はセメント状の物質で緩く結びつけられたスポンジ状を呈している (Fig. 7)。

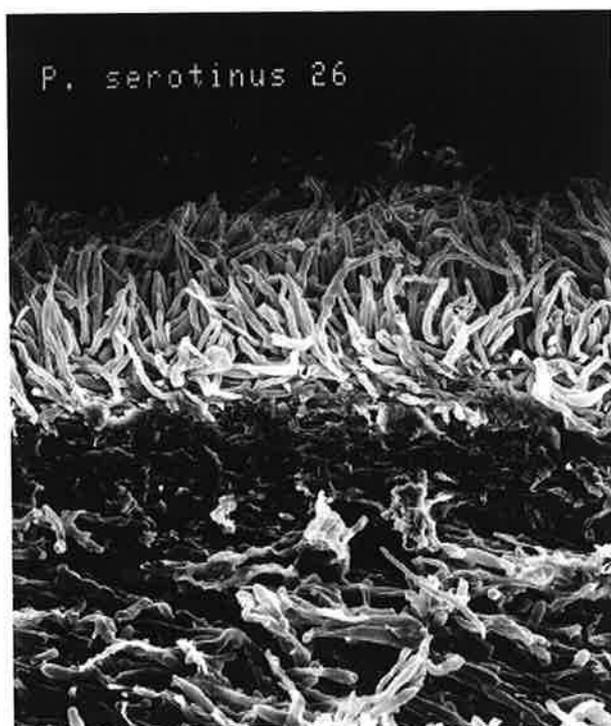


Fig. 4. Section of the cap of a fruiting body. Fig. 5. Pileus surface consisting of a villose trichodermal layer and pileus context of interwoven hyphae. Upper-most layer of the pileus context is gelatinized, where interhyphal spaces are filled with amorphous material.



Fig. 6. Tissue of a gelatinized upper-most layer in the pileus context.



Fig. 7. Tissue of the pileus context proper, consisting of irregularly interwoven hyphae.

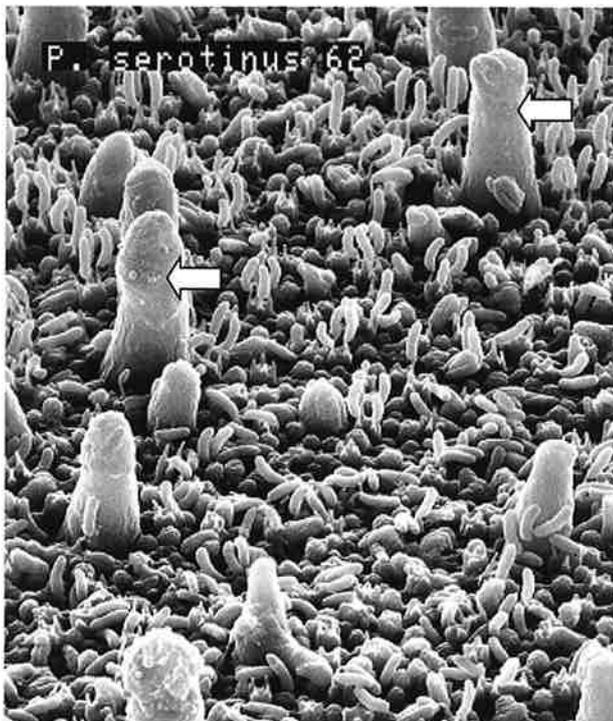


Fig. 8. Pleurocystidia (arrows) scattering in the hymenium.

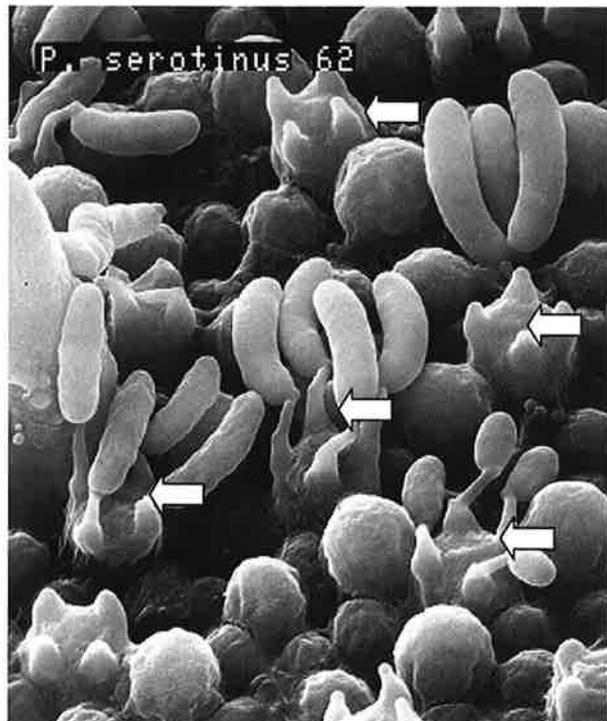


Fig. 9 Basidia and basidiospores of different developing stages (arrows).

### 担子器と胞子の成熟過程

担子胞子は核融合と減数分裂の結果、有性的に形成され、交配育種の基本材料である。担子胞子形成から減数分裂から胞子離脱までの核の移動様式については、Fig. 3a-3fで光学顕微鏡を用いた写真で示した。

ここでは担子器の形成→小柄の形成→担子胞子の形成→胞子の成熟→胞子の離脱と、経時的な変化を電子顕微鏡で観察した結果を写真で示した。

子実層は比較的大型で散在する側シスチジア (Fig. 8) と棚状にびっしりと並んだ発育段階を異にした担子器 (Fig. 9) 等で構成されている。

担子胞子の形成過程をFig. 10に示す。シイタケと同様に、担子器は形成初期は長楕円形の単細胞であるが (Fig. 10a)、成長するにつれて先端に4本の小柄が形成され (Fig. 10b, 10c)、小柄の先端が膨らみ幼胞子が形成される (Fig. 10d)。幼胞子は成長し (Fig. 10e)、成熟するとききれいなウインナー型を呈する (Fig. 10f)。中井はシイタケの担子胞子の離脱様式について詳しく報告している<sup>(25)</sup>。ムキタケにおいても、担子胞子は成熟して離脱前になると表面が浅い凹凸状を呈し、胞子下部に嘴状突起を生じる (Fig. 10g)。さらに成熟すると嘴状突起が破れ胞子を離脱する (Fig. 10h)。

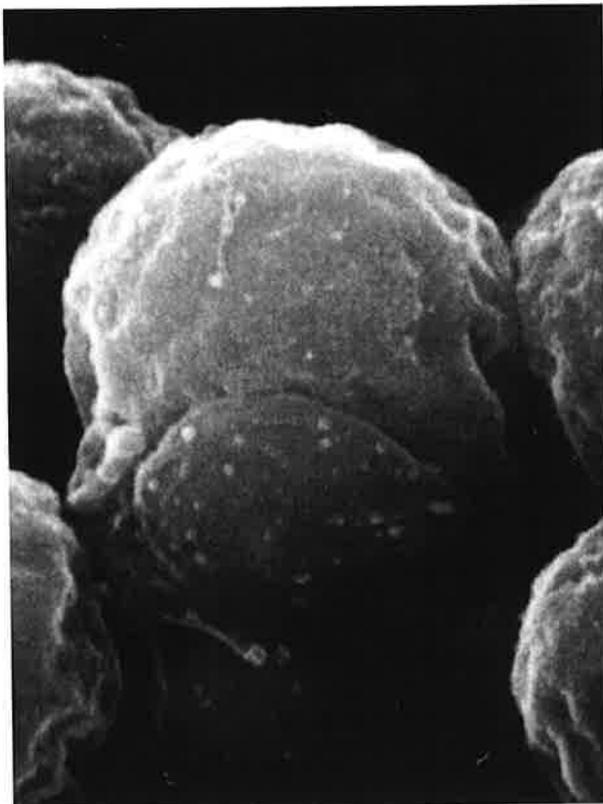


Fig. 10a

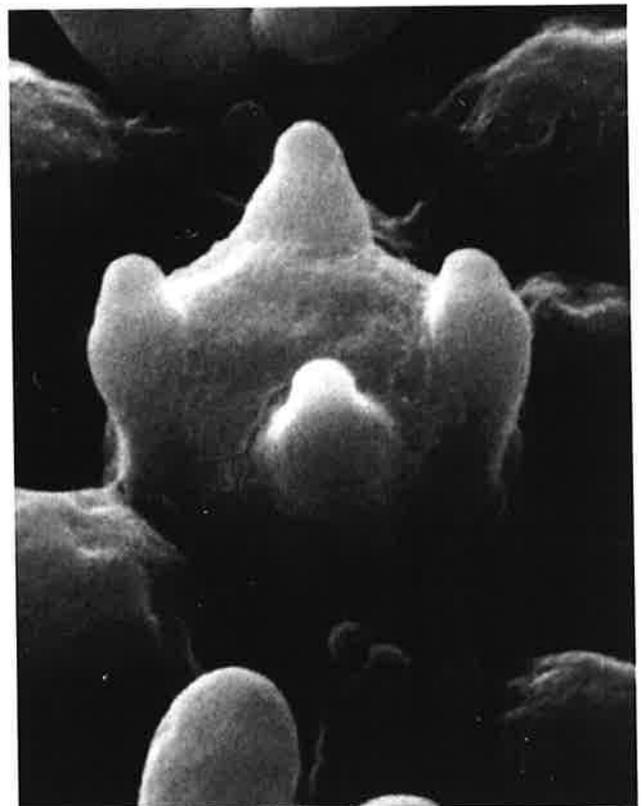


Fig. 10b

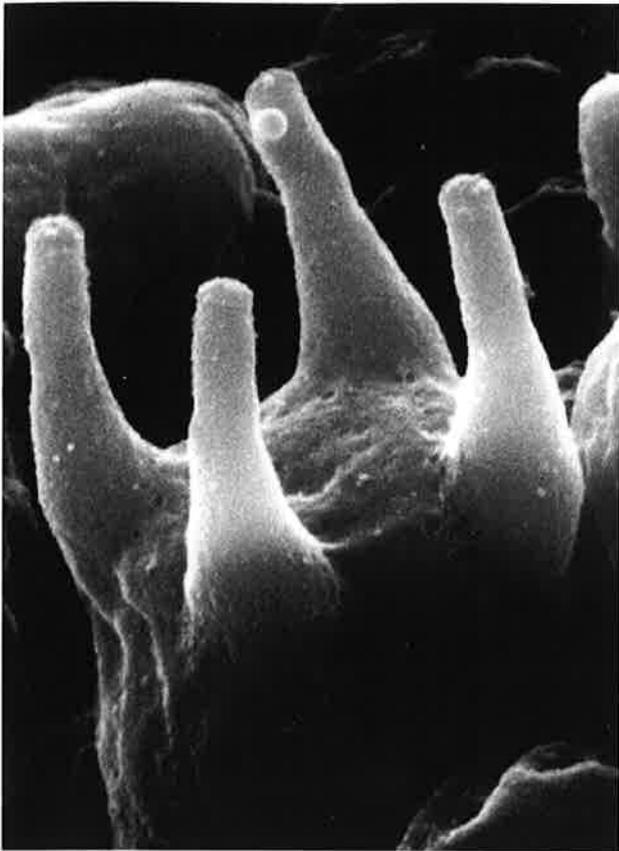


Fig. 10c

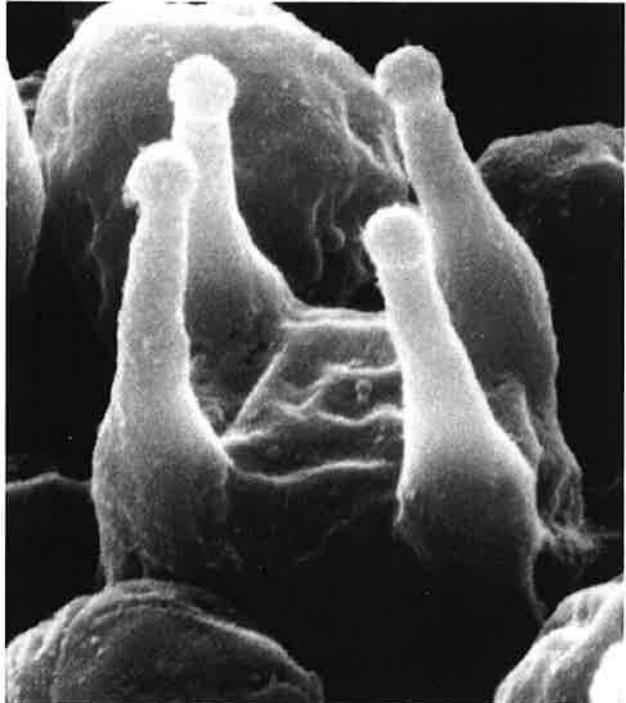


Fig. 10d



Fig. 10e

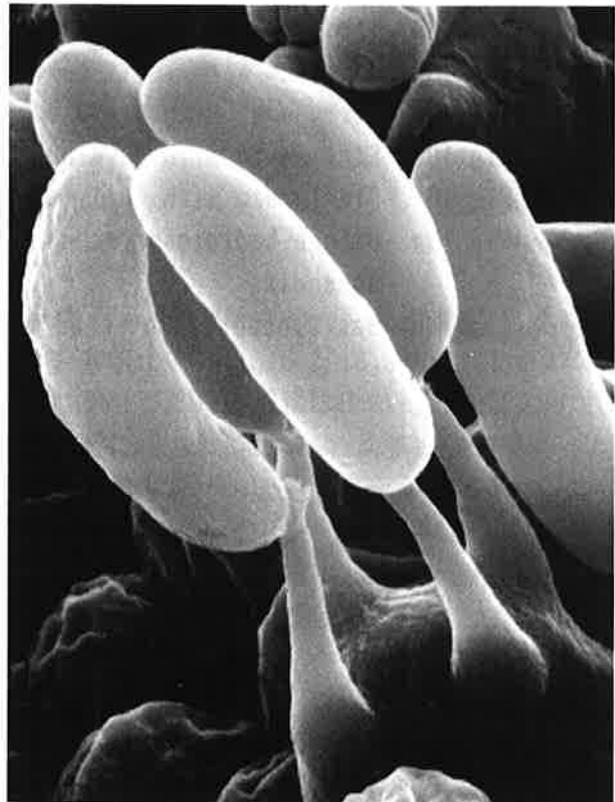


Fig. 10f

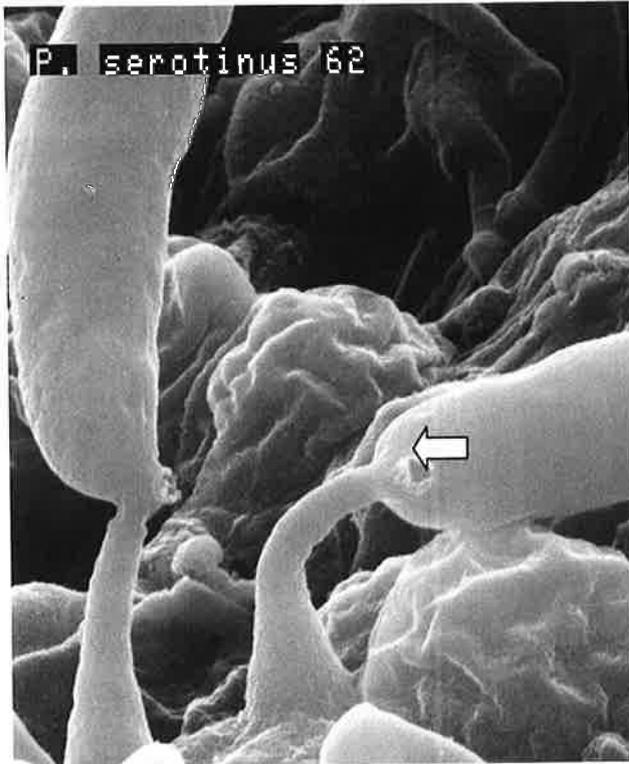


Fig. 10g

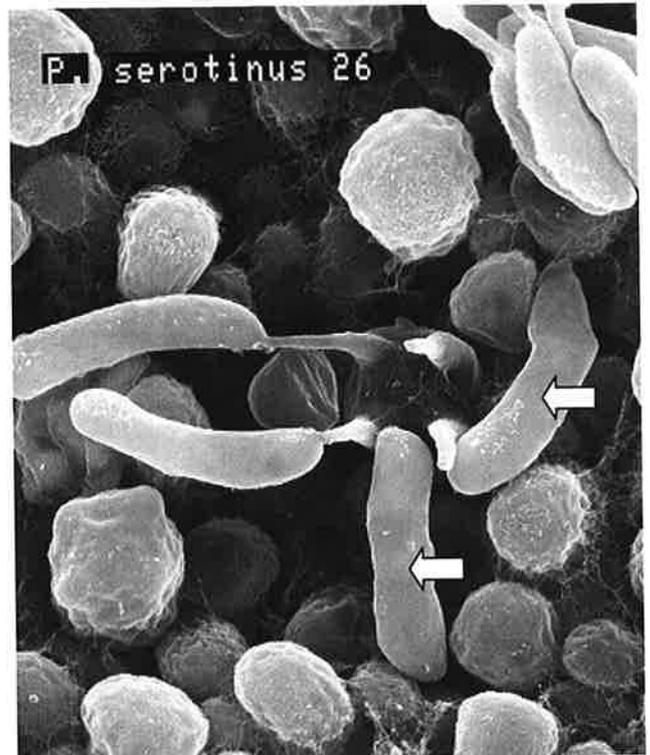


Fig. 10h

Fig. 10. Formation and development of basidiospores .

- Fig. 10a. Basidiolate (young basidium without sterigma).
- Fig. 10b. Basidium with sterigmata initials.
- Fig. 10c. Basidium with fully developed sterigmata.
- Fig. 10d. Sterigmat with basidiospore initials.
- Fig. 10e. Sterigmata with developing basidiospores.
- Fig. 10f. Sterigmata with fully developed, allantoid basidiospores.
- Fig. 10g. Mature basidiospores on the sterigmata. The arrow indicates the hilar appendix.
- Fig. 10h. Basidiospores detached from sterigmata .

## 第II章 ムキタケ菌床栽培の実用化のための栽培条件の検討

### 緒 言

ムキタケの栽培は、原木栽培と菌床栽培が試みられている。菌床栽培には、ポリプロピレン製の栽培瓶を使用する瓶栽培と、袋を使用する袋栽培の2種類があるが、栽培技術の検討は主に瓶栽培について行われ、培地の基材・栄養源の種類、培養の温度・期間、子実体発生に関わる温度・光条件等が検討されてきた<sup>6-10)</sup>。しかし、袋栽培に関する検討はほとんど行われていない。

筆者らは、本菌の袋栽培について試験を重ね<sup>11-16)</sup>、菌糸成長速度は菌株及び樹種間で有意差がみられること、好適成長温度域は23℃であること、栄養源として米ぬかが適していること、子実体発生処理までの菌糸体培養期間は90日が適していること等を確認している<sup>26)</sup>。

ムキタケは子実体の形状がヒラタケ型であり、瓶栽培では発生した子実体が瓶の口から一斉に成長することによって変形してしまい、商品価値が落ちる。したがって、より自然に近い形で発生させることができる袋栽培が有利であると考えられる。ここでは、研究開発がほとんど進んでいないムキタケの袋栽培を実用化するため、栽培条件の検討を行った。

調査・研究の手順は以下の通りである。まず、ブナを使用しておが粉の粒径、含水率、米糠添加量を変えた培地を調製した。培地の物理性を測定するとともに、同培地における培養時の $O_2$ と $CO_2$ 濃度及び菌糸成長度を調査して、最適培地の比較検討を行った。原基形成温度についても調査した。

さらに、好適培地を用いた栽培試験によって子実体収量を比較するとともに、培地の絶乾重量減少率（腐朽度）と収量の関係を検証した。また、子実体の貯蔵性を左右する水分率と培地条件の関係についても検証した。最後に実用栽培レベルの大容量袋を使用して試験栽培を行った。

### II. 1 材料

#### (1) 供試菌株：

佐賀県林業試験場で菌糸伸長度、子実体の収量と形質を基に選抜したムキタケ「*Panellus serotinus* (Pers.:Fr.) Kuhn.」野生菌株SPs-11を用いた。予めブナおが粉と米ぬかの培地で温度23℃で60日間培養して種菌とした。

### II. 2 培地の固相率・液相率・気相率調査

#### (1) 試験方法：

ブナ (*Fagus crenata* Blume) おが粉（粒径大1.0~2.0mm, 小0.25~1.0mm）を使用し、含水率を55%から70%まで5%刻みに4段階、米ぬか添加割合を容積比で10:1, 10:2, 10:3に調整した24種類の培地を用いた。なお、使用したおが粉と米ぬかの100ml当たりの重量はそれぞれ粒径大は19.7g, 粒径小18.0g, 米ぬかは22.8g, 含水率はそれぞれ12.2%, 11.8%および11.4%であった。

これらをキャップ式の400g栽培用PP袋に400g（直径8cm, 高さ10cm）詰め、高圧蒸気滅菌（120℃, 60分）した後、供試菌株の種菌を、1袋当たり約15g接種した。

ついで、暗黒下23℃で90日間培養し、培地の物理性として固相率、液相率、および気相率を土壤三相計（DIK-1130型）を用いて測定した。測定時期は、接種時、培養30日目、60日目、および90日目とした。

なお、菌床は1処理区に10個供試し、これを3回繰り返した。

## (2) 結果と考察：

培地調製時および90日間培養時（子実体発生処理時）における培地別の固相率・液相率・気相率の調査結果をTable 2に示す。

固相率は含水率が少ないものほど、また米ぬかの添加量が多いものほど高くなるが、おが粉の粒径の大小による差異は明確でなかった。

液相率は含水率が高いものほど高いことその他、米ぬかの添加量が多いほど、また粒径が大きいものほど高い傾向を示した。気相率は、水分や米ぬかの添加量が少ないほど高い値を示すが、粒径については、小さいものの方が高かった。

90日間の培養によって液相率は下がり、気相率は上昇する傾向があったが、固相率の変動には一定の法則性を見いだせなかった。

渡辺<sup>27)</sup>はシイタケの菌床栽培の過程において培地の重量減少率や気相率（空隙率）を調査し、培養終了時の気相率（範囲約50-62%）は子実体発生量と正の相関を示すとした。また、Tokimotoら<sup>28)</sup>はシイタケほだ木において、子実体の多発生には30%以上の気相率と自由水率がそれぞれ必要と報告している。ほだ木は方向性のある組織を有するので均質なおが粉培地とは同一視できないが、気相率が子実体発生を左右することを示している。ところが、本試験では気相率と子実体発生量とには負の相関（ $r = 0.79$ ,  $n=24$ ,  $P < 0.01$ ）が認められた。この不一致の理由として、本試験の気相率は子実体発生処理時には最大で約70%にまで達しており、気相率の不足による子実体形成の抑制が無いレベルにあるためと推察される。

一方、子実体発生処理時の液相率は23~58%である。液相率から結合水を差し引いた自由水率はさらに2-3%少ないと推察されることから、培地含水率55%および60%の培地では子実体形成のための水分量が不十分であった可能性が高い。このことは、含水率が65%以下の培地では子実体発生量が少ないこと、液相率と子実体発生量とが正の相関を示していること（ $r = 0.74$ ,  $n=24$ ,  $P < 0.01$ ）からうかがえる。

Table 2. Physical properties of sawdust media

Composition of medium			Physical properties of medium ( ratio in volume , % )					
Size of sawdust particle(mm)	Sawdust-to-rice bran ratio	Moisture content	Solid ratio		Liquid ratio		Air ratio	
			Day 0 <sup>1)</sup>	Day 90 <sup>2)</sup>	Day 0	Day 90	Day 0	Day 90
1.0-2.0	10:1	55%	5.0	6.9	26.9	23.1	68.1	70.1
		60%	7.0	6.2	33.2	31.1	59.9	62.7
		65%	7.1	6.1	40.3	38.6	52.6	55.3
		70%	6.0	5.3	50.0	48.8	44.0	45.9
	10:2	55%	7.0	8.7	29.3	25.5	63.7	65.8
		60%	7.5	8.5	37.2	33.3	55.3	58.2
		65%	9.8	7.5	44.4	44.2	45.8	48.3
		70%	6.6	6.2	55.3	53.5	38.1	40.4
	10:3	55%	8.0	9.7	32.8	28.6	59.2	61.7
		60%	9.7	9.7	39.6	36.9	50.7	53.4
		65%	11.3	7.9	48.9	47.8	39.8	44.3
		70%	9.3	7.8	57.7	58.3	33.0	33.9
0.25-1.0	10:1	55%	6.3	6.9	28.6	23.5	65.2	69.6
		60%	5.9	6.6	31.7	29.9	62.5	63.5
		65%	7.4	7.3	38.3	36.5	54.3	56.2
		70%	10.2	7.1	47.1	47.4	42.7	45.6
	10:2	55%	7.6	8.5	31.3	26.3	61.1	65.1
		60%	6.6	7.7	34.6	33.4	58.8	59.0
		65%	7.1	9.0	41.4	38.2	51.5	52.7
		70%	10.2	7.7	52.3	50.3	37.6	42.0
	10:3	55%	9.1	9.0	33.2	29.6	57.7	61.4
		60%	9.0	9.6	39.6	36.6	51.4	53.8
		65%	8.1	10.1	47.3	43.8	44.6	46.0
		70%	10.8	9.3	55.3	55.6	33.9	35.1

1) Just after inoculation.

2) After 90 days' incubation of *Panellus. serotinus* (Strain SPs-11) at 23 °C, just before fruiting induction.

## II. 3 培地条件別O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>濃度調査

### (1) 試験方法 :

II. 2. (1) の培地での培養開始時から30日目, 60日目, 90日目, 及び子実体発生開始時 (袋カット処理直前) において, 培養袋内の空隙部のO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>濃度をPB-Dansensor社製のCheck Mate O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>で測定した. なお, 菌床は1処理区に3個供試し, これを3回繰り返した.

### (2) 結果と考察 :

培養過程における培地のCO<sub>2</sub>濃度の測定値はFig. 11の通りである. 23℃培養の初期に呼吸による大幅なCO<sub>2</sub>濃度の上昇がみられるが, その後の変動は小さかった. しかし, 10℃下での子実体発生時 (袋カット処理直前) にはCO<sub>2</sub>濃度は減少した. なお, 培地の含水率が高いほど概して呼吸は活発であった.

培養90日目 (子実体原基形成処理時) の培地毎のO<sub>2</sub>およびCO<sub>2</sub>濃度の調査結果をTable3に示す. おが粉の粒経, 米ぬか添加率および培地含水率を要因とする三元配置分散分析を行った. また, 分散分析で得た誤差分散を用いて, スチューデント化した範囲の表から5%水準の最小有意差

(L. S. D) を求めた。

その結果, CO<sub>2</sub>濃度は培地含水率が高くなるほど有意に高かった. 米ぬかの添加量では, 割合10:1と10:2では差がみられなかったが, 10:1と10:3, 10:2と10:3は差がみられ, 添加量の多い方が有意に CO<sub>2</sub>濃度が高くなった. これらの結果は, 水分や養分の多量添加がムキタケ菌糸体の呼吸を促進したことを示す. なお, おが粉の粒径の違いによる差はみられなかった. O<sub>2</sub>濃度はCO<sub>2</sub>濃度とおおむね逆の傾向であった.

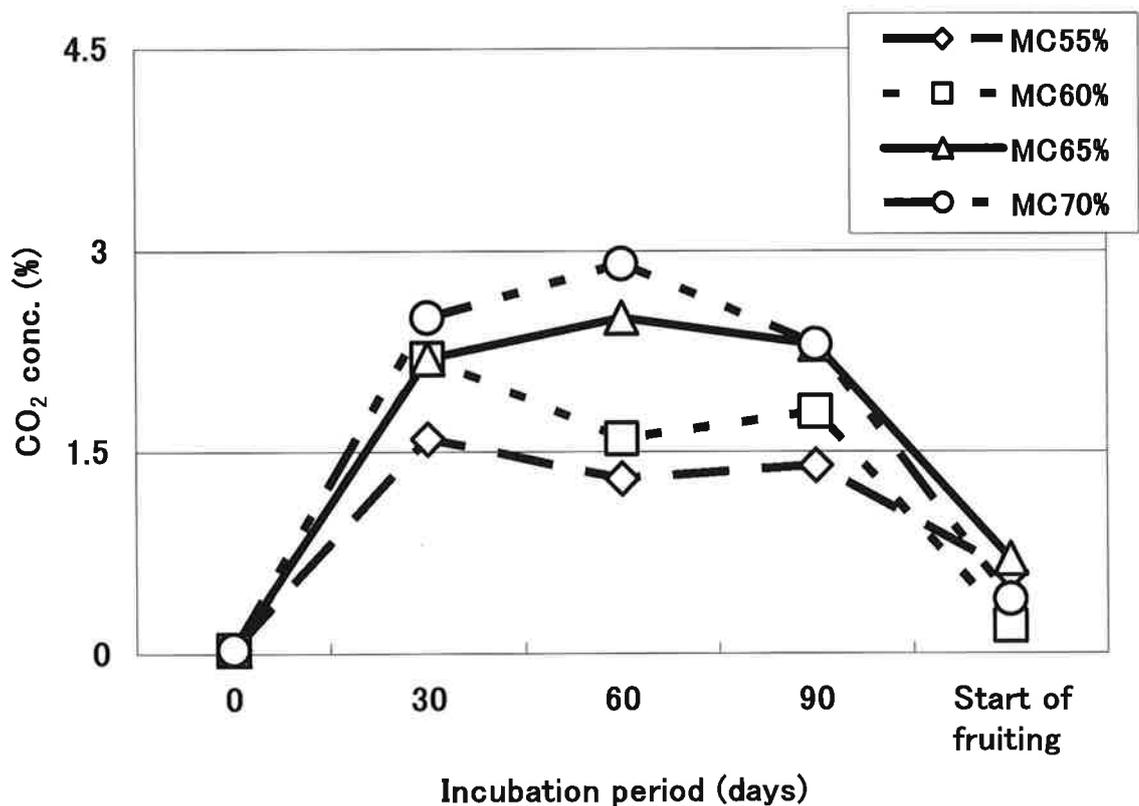


Fig. 11a Sawdust particle, 0.25–1.0mm; Sawdust-to-rice bran ratio, 10:1

Start of fruiting: MC55%, 115days; MC60%, 113days; MC65%, 118days; MC70%, 122days.

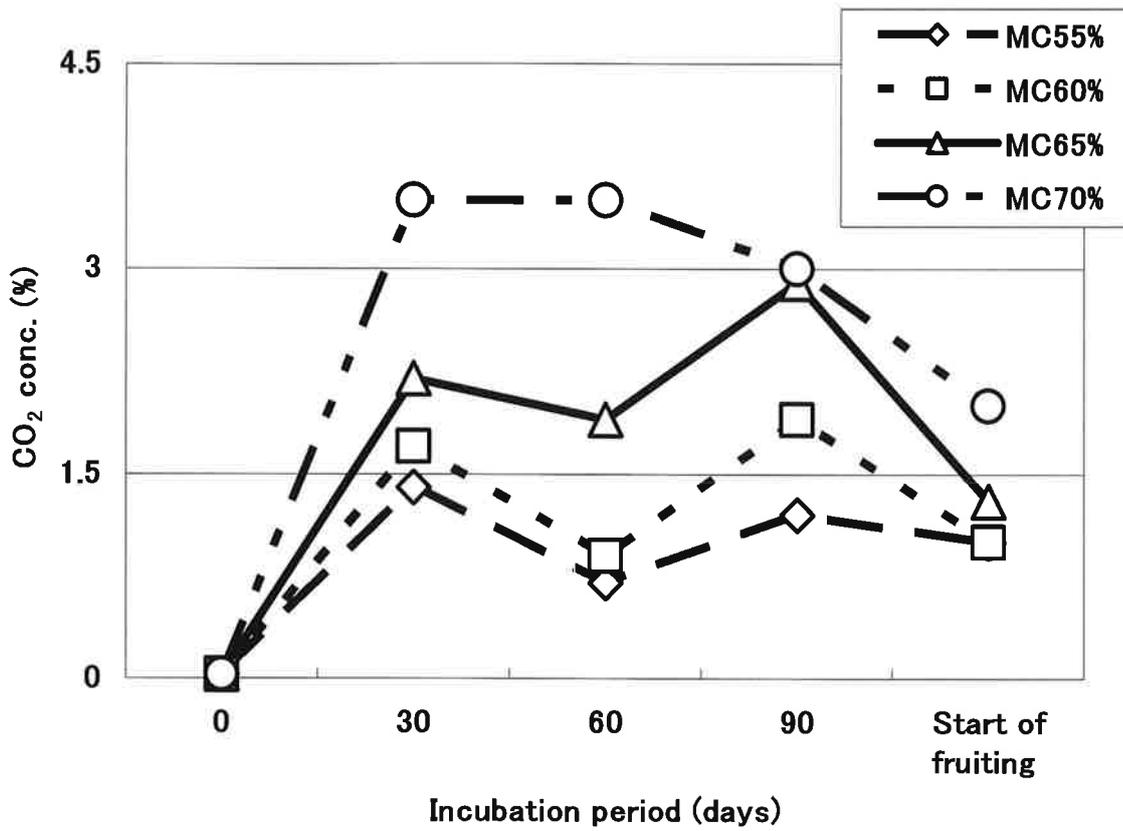


Fig. 11b Sawdust particle, 0.25–1.0mm; Sawdust-to-rice bran ratio, 10:2

Start of fruiting: MC55%, 115days; MC60%, 113days; MC65%, 113days; MC70%, 115days.

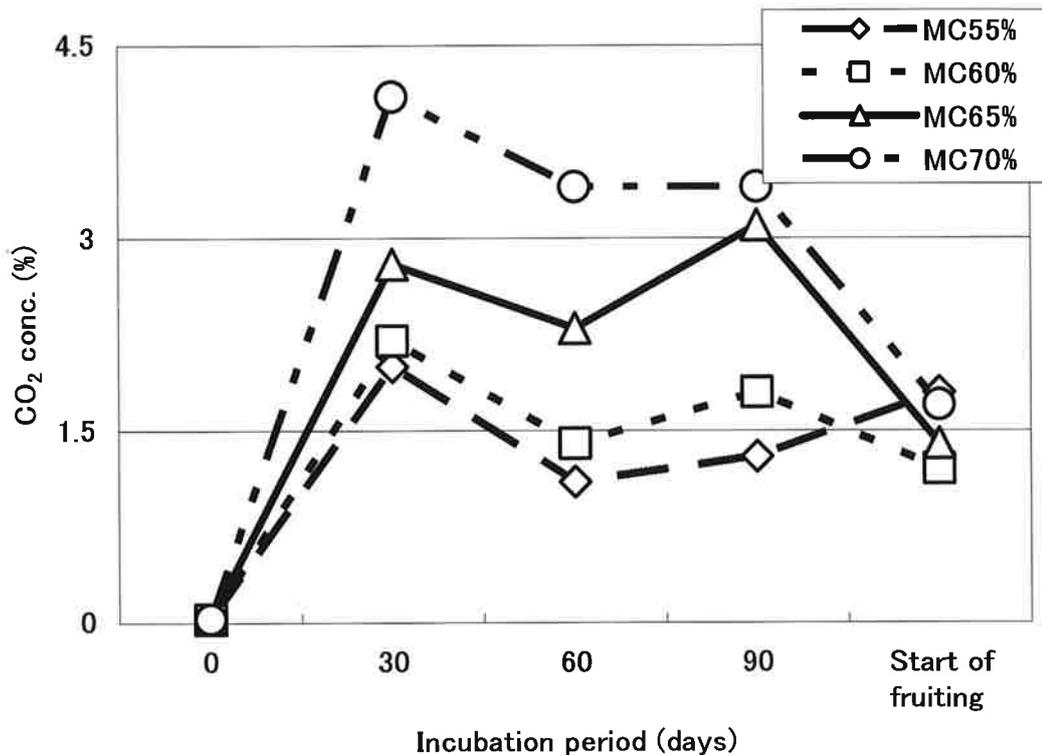


Fig. 11c Sawdust particle, 0.25–1.0mm; Sawdust-to-rice bran ratio, 10:3

Start of fruiting: MC55%, 115days; MC60%, 111days; MC65%, 111days; MC70%, 111days.

Fig.11. Time course changes of CO<sub>2</sub> concentration in the cultivation bags of *Panellus serotinus* using various sawdust media .

Each bar shows the data of the medium having distinct moisture content, from 55 to 70%.

After inoculation, culture bags are incubated at 23 °C for 90 days, then the temperature shifted down to 10 °C for fruiting induction. Fruiting occurred ca. 35–47 days later.

Similar results were observed in the media which had the sawdust particle, 1.0–2.0mm (data not shown).

Table 3 . O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> concentrations in the bags of sawdust culture of *Panellus serotinus*, strain SPs-11, on day 90, just before fruiting induction

Table 3a. O<sub>2</sub> concentration

C: Moisture content of medium	O <sub>2</sub> concentration(%)					
	A: Size of sawdust particle (mm)					
	1.0-2.0			0.25-1.0		
	B: Sawdust-to-rice bran ratio					
	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	16.64 ±0.75	17.28 ±0.40	17.82 ±0.16	16.98 ±0.18	17.04 ±0.17	17.62 ±0.12
65%	16.98 ±0.45	18.36 ±0.62	18.02 ±0.51	17.46 ±0.35	17.64 ±0.21	18.00 ±0.14
60%	18.26 ±0.21	18.66 ±0.15	18.72 ±0.27	18.70 ±0.18	18.54 ±0.23	18.50 ±0.15
55%	19.08 ±0.10	19.24 ±0.10	19.16 ±0.17	19.10 ±0.06	19.26 ±0.14	19.08 ±0.12

Least Significant Difference at 5%  
 Size of sawdust particle, 0.21  
 Sawdust-to-rice bran ratio, 0.30  
 Moisture content of medium, 0.38

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	0.02	1	0.02	0.12	0.7311	
B	4.71	2	2.35	14.90	0.0000	**
C	65.62	3	21.87	138.44	0.0000	**
Error	17.85	113	0.16			
Total	88.20	119				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 ≐ 1.0-2.0

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 ≐ 10:2

10:1 > 10:3 \*\*

10:2 > 10:3 \*\*

Moisture content of substrate

55% > 60% \*\*

55% > 65% \*\*

55% > 70% \*\*

60% > 65% \*\*

60% > 70% \*\*

65% > 70% \*\*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 3b. CO<sub>2</sub> concentration

C: Moisture content of medium	CO <sub>2</sub> concentration(%)					
	A: Size of sawdust particle (mm)					
	1.0-2.0			0.25-1.0		
	B: Sawdust-to-rice bran ratio					
	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	3.94 ±0.64	2.98 ±1.09	2.68 ±0.21	3.42 ±0.19	3.00 ±0.64	2.32 ±0.60
65%	3.54 ±0.47	2.10 ±0.68	2.40 ±0.70	3.14 ±0.35	2.86 ±0.27	2.28 ±0.46
60%	2.06 ±0.23	1.72 ±0.13	1.68 ±0.30	1.80 ±0.26	1.86 ±0.24	1.84 ±0.22
55%	1.42 ±0.10	1.08 ±.10	1.04 ±0.16	1.30 ±0.09	1.16 ±0.12	1.36 ±0.12

Least Significant Difference at 5%

Size of sawdust particle, 0.27

Sawdust-to-rice bran ratio, 0.39

Moisture content of medium, 0.50

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	0.02	1	0.02	0.07	0.7925	
B	8.63	2	4.32	16.01	0.0000	**
C	62.72	3	20.91	77.55	0.0000	**
Error	30.47	113	0.27			
Total	101.84	119				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0  $\doteq$  1.0-2.0

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1  $\doteq$  10:2

10:1 < 10:3 \*\*

10:2 < 10:3 \*\*

Moisture content  
of substrate

55% < 60% \*\*

55% < 65% \*\*

55% < 70% \*\*

60% < 65% \*\*

60% < 70% \*\*

65% < 70% \*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

## II. 4 培地条件別菌糸体成長速度比較

### (1) 試験方法:

II. 2. (1) で用いた24種類の培地を調製した. それぞれの培地を両口試験管 (内径18mm, 長さ200mm) に約14g詰め, 高圧蒸気滅菌 (120° C, 60分) した. ついで, 予め培養した供試菌株の種菌を, 1本当たり約3g接種した. 培養は23° C暗黒下で15日間行い, 全ての菌株の成長が安定する接種後7日目から14日目までの7日間のコロニー拡大幅を菌糸成長速度とした. なお, 各菌株につき10本を3反復実施した.

### (2) 結果と考察:

菌糸体成長調査の結果をTable 4に示す. II. 3と同様の分散分析を行い, 最小有意差を求めたところ, 菌糸成長速度はおが粉の粒径大 (1.0-2.0) より粒径小 (0.25-1.0) が有意に良好であった. 含水率は70%がその他の区よりも有意に高く, 55%と65%では差は認められなかった. 米ぬかの添加量では, 容積比10:1が最も高く, 添加量が多くなるほど有意に低くなった. しかし, 菌糸体成長の最小値は最大値の90%以上あり, 差は僅かであった.

Table 4 . Effect of medium conditions on mycelial growth and weight-loss of media in *Panellus serotinus* (Strain SPs-11) incubation at 23°C

Table 4a. Mycelial growth speed

C: Moisture content of medium	Mycelial growth speed (mm) for seven days					
	A: Size of sawdust particle (mm)					
	1.0-2.0			0.25-1.0		
	B: Sawdust-to-rice bran ratio					
	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	33.24 ±0.93	38.33 ±1.47	54.39 ±3.47	36.24 ±0.84	39.78 ±1.17	58.38 ±1.54
65%	30.42 ±0.48	35.41 ±0.87	52.36 ±2.58	32.92 ±1.23	38.49 ±1.56	57.44 ±1.01
60%	34.57 ±2.10	37.13 ±0.70	48.54 ±1.07	32.67 ±1.31	38.38 ±2.34	50.19 ±2.43
55%	36.43 ±1.08	40.00 ±2.74	46.91 ±1.53	34.16 ±2.22	40.17 ±1.32	50.38 ±2.81

Least Significant Difference at 5%

Size of sawdust particle, 1.07

Sawdust-to-rice bran ratio, 1.58

Moisture content of medium, 2.03

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	172.45	1	172.45	21.02	0.0000	**
B	13,332.96	2	6,666.48	812.59	0.0000	**
C	285.46	3	95.15	11.6	0.0000	**
Error	1,714.63	209	8.20			
Total	15,505.49	215				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 > 1.0-2.0 \*\*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 > 10:2 \*\*

10:1 > 10:3 \*\*

10:2 > 10:3 \*\*

Moisture content of substrate

55% > 60% \*

55% ≐ 65%

55% < 70% \*\*

60% ≐ 65%

60% < 70% \*\*

65% < 70% \*\*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 4b. Weight-loss of medium

Weight-loss of medium for 90 days						
A: Size of sawdust particle (mm)						
1.0-2.0			0.25-1.0			
B: Sawdust-to-rice bran ratio						
C: Moisture content of medium	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	18.51 ±1.69	21.16 ±1.92	21.76 ±3.22	6.32 ±2.53	11.86 ±1.84	8.65 ±2.21
65%	21.73 ±1.33	20.44 ±1.18	19.25 ±2.14	6.77 ±2.40	4.44 ±1.36	8.70 ±1.15
60%	14.71 ±2.24	17.05 ±1.91	23.15 ±2.37	10.45 ±1.90	11.73 ±0.86	10.13 ±0.63
55%	17.56 ±0.52	16.40 ±1.39	19.21 ±5.52	14.17 ±1.27	14.79 ±1.70	18.40 ±2.00

Least Significant Difference at 5%  
 Size of sawdust particle, 2.29  
 Sawdust-to-rice bran ratio, 3.39  
 Moisture content of medium, 4.31

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value
A	1,365.38	1	1,365.38	114.16	0.0000
B	68.67	2	34.34	2.87	0.0520
C	97.32	3	32.44	2.71	0.0640
Error	777.41	65	11.96		
Total	2,308.78	71			

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of saw

0.25-1.0 < 1.0-2.0                      \*\*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 ≐ 10:2

10:1 > 10:3                                      \*

10:2 ≐ 10:3

Moisture  
content of  
substrate

55% ≐ 60%

55% > 65%                                      \*\*

55% ≐ 70%

60% ≐ 65%

60% ≐ 70%

65% ≐ 70%

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

## II. 5 子実体原基形成温度調査

### (1) 材料と試験方法:

佐賀県林業試験場で保存しているムキタケ野生菌株6種類を供試した。

ブナおが粉と米ぬかを容積比で10:3, 含水率65%の培地を調整し, 内径36mm長さ130mmの平底試験管に45g突き固め高圧蒸気滅菌を行った。種菌接種後温度23°Cで60日間培養した。ついで, 7°C~16°Cの範囲において3°C間隔で4段階に温度設定したインキュベータに入れ, 60日間原基形成状況を観察した。菌床面の子実体原基の占有面積を測定し, その面積率で子実体原基形成率を表した。なお, 後半の60日間は, 蛍光灯下約250lux, 10時間/日で照明した。なお, 試験管は1処理区に5本供試し, これを3回繰り返した。

### (2) 結果と考察:

伊藤<sup>6)</sup>らは7~18°Cでムキタケの原基形成を確認しているが, 当調査においても同様の結果が得られた。ムキタケ6菌株の子実体原基形成温度を比較した結果(Fig. 12), 7°Cで最も早く形成された菌株が1種類みられるが, 全体的にみると10°C付近が好適温度であることが確認された。また菌株によってその至適温度に若干の差があることが示唆された。

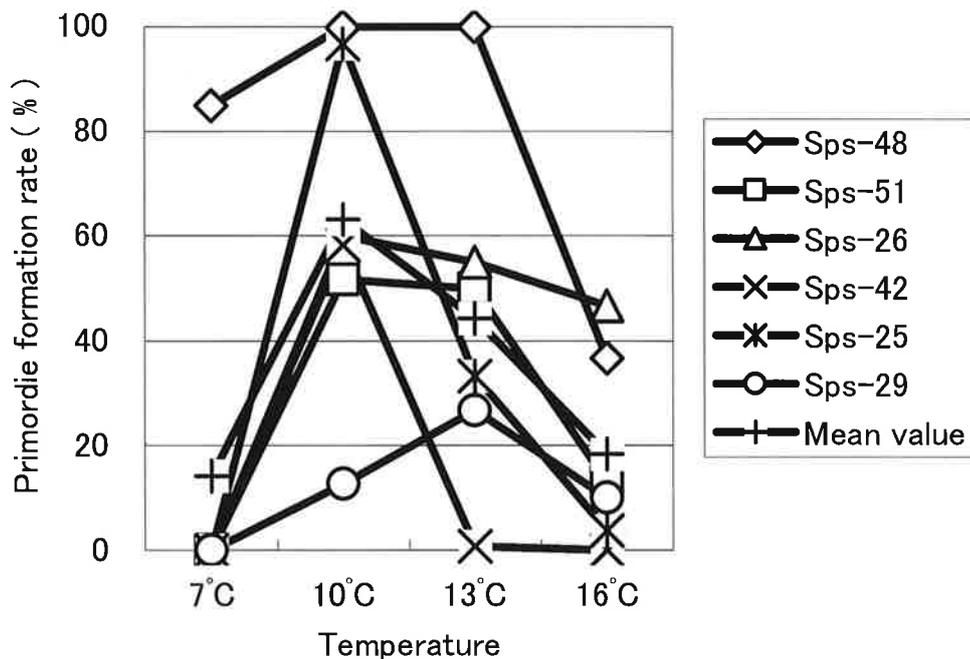


Fig. 12 Effect of temperature on the formation of fruiting body primordia in *Panellus serotinus*.

Six strains were used.

## II. 6 培地条件別子実体発生試験および培地絶乾重量減少率（腐朽度）比較

### (1) 試験方法：

II. 2. 1 で用いた24種類の培地を用いて90日暗黒下で培養後、温度10℃、相対湿度90%、照度250 luxの発生室に移した。子実体原基を形成した袋から順次、原基の上を十文字にカットして子実体の発生をうながし、発生室移動後収穫完了までの日数を発生・成長日数として記録した。また、傘が開いて成熟した子実体を随時収穫して重量を測定するとともに、傘径1cm以上を有効茎数とした。

なお、上記の23℃、90日間の培養における400 g 袋培地の絶乾重量減少率を求め、培地の腐朽度の指標とした。培地の絶乾重量は105℃で恒量まで乾燥して求めた。菌床は1処理区に10個供試し、これを3回繰り返した。

### (2) 結果と考察：

培地条件別の子実体の発生・成長日数、生重量及び有効茎数の調査結果をTable 5に示す。II. 3と同様の分散分析と最小有意差による検定を行ったところ、発生・成長日数は、おが粉の粒度が大きい方が有意に長かった。米ぬかの添加量では10:1は10:2および10:3より有意に長かったが、10:2と10:3は差が認められなかった。培地の含水率では70%は55%より有意に長かったが、その他は差が認められなかった。発生・成長日数が短い培地は栽培周期が短いので、実用栽培では時間当たりの生産量が増し、有利である。

子実体発生量（生重量）は、おが粉の粒径では差は見られなかった。含水率は65%と70%がその他の区よりも有意に高く、含水率が高くなるほど発生量も多くなる傾向を示したが、65%と70%では差は認められなかった。米ぬかの添加量では、添加量が多くなるほど発生量も多くなり、その差は有意であった。

子実体有効茎数は、おが粉の粒径が小さく、米ぬかの添加量が多い方が有意に多かった。培地の含水率は高いほど有効茎数も多くなる傾向を示し、その差は有意であった。

以上のように、子実体発生量と発生・成長日数からは、含水率65-70%、米ぬか添加割合10:3の培地が好適といえる。なお、発生・成長日数はおが粉粒径が小さい方が短い、有効茎数もおが粉粒度が小さい方が多くなる。有効茎数の増加は子実体の個重を小さくするので、おが粉の粒径は消費者が大きな子実体を好むか否かをみながら判断する必要がある。

子実体の有効茎数と生重量はそれぞれ $\text{CO}_2$ 濃度と負の相関（ $r=-0.74, -0.73, n=24, p<0.01$ ）、 $\text{CO}_2$ 濃度とは正の相関（ $r=0.64, 0.69, n=24, p<0.01$ ）が認められた。子実体発生とガス組成との関係については、高濃度の $\text{CO}_2$ が子実体発生を阻害することがシイタケ<sup>29)</sup> やスエヒロタケ<sup>30)</sup> で認められており、スエヒロタケの阻害濃度は5%とされる。しかし、本試験では培地の気相率が比較的高いことなどから、 $\text{CO}_2$ 濃度の最大値は約3%であり、子実体形成を阻害するレベル以下であったと考えられる。培地含水率や米ぬか添加量が多いことによる子実体収量の増大は、養水分の供給量の増大に起因する可能性が高い。

子実体発生初期に呼吸が急増することがシイタケのおが粉培養<sup>31)</sup> やほだ木<sup>32)</sup> で観察されている。またタモギタケにおいても子実体発生時には、栄養菌糸体成長時に比べて呼吸が増大することが報告されている<sup>33)</sup>。ムキタケにおいても子実体発生時に呼吸が増大する可能性は否定できないが、本試験では子実体発生処理開始時（原基形成前）に培養温度を23℃から10℃に下げているため、少なくとも子実体発生時までは $\text{CO}_2$ 濃度は高くならなかった。子実体の発生の後では栽培袋の子実体原基形成部をカットしているので通気性が増し、栽培袋内の $\text{CO}_2$ 濃度の上昇は生じていないと考えられる。

23℃90日間培養における培地絶乾重量の減少率（腐朽度）は培地間で4~23%の範囲があり、培地重量減少率と子実体重量とは正の相関（ $r=0.48, n=24, p<0.05$ ）がみられた。シイタケの菌床栽培の例<sup>27)</sup>では培地重量減少率は27-39%と大きく、この範囲内では子実体収量に大きな差異はみられていない。本試験とシイタケの事例との不一致は、シイタケの方が腐朽度が高く、腐朽度不足によ

る子実体発生の抑制がみられなかったためと推察される。

Table 5 . Cultivation period and the yield of fruiting bodies of *Panellus. serotinus*, Strain SPs-11, on various sawdust media

Table 5a. Period necessary for fruiting

C: Moisture content of medium	Period (days) necessary for fruiting <sup>1)</sup>					
	A: Size of sawdust particle (mm)					
	1.0-2.0			0.25-1.0		
	B: Sawdust-to-rice bran ratio					
	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	36 ±2	36 ±2	49 ±3	36 ±2	36 ±2	47 ±4
65%	34 ±2	36 ±2	47 ±4	36 ±2	36 ±2	41 ±2
60%	34 ±2	36 ±2	46 ±5	36 ±1	36 ±1	37 ±2
55%	35 ±0	42 ±10	39 ±5	37 ±1	37 ±1	37 ±2

Least Significant Difference at 5%  
Sawdust-to-rice bran ratio, 3.97  
Sawdust-to-rice bran ratio, 3.97  
Moisture content of medium, 5.04

<sup>1)</sup> The period from fruiting induction to fruiting maturation.

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	64.24	1	64.24	4.04	0.0489	*
B	808.78	2	404.39	25.40	0.0000	**
C	82.94	3	27.65	1.74	0.1686	
Error	1,003.03	63	15.92			
Total	1,958.99	69				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 < 1.0-2.0 \*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 > 10:2 \*\*

10:1 > 10:3 \*\*

10:2 ≈ 10:3

Moisture content of substrate

55% ≈ 60%

55% ≈ 65%

55% < 70% \*

60% ≈ 65%

60% ≈ 70%

65% ≈ 70%

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 5b. Stipe number

C: Moisture content of medium	Stipe number of fruiting bodies(g/400g-bag)					
	A: Size of sawdust particle (mm)					
	1.0-2.0			0.25-1.0		
	B: Sawdust-to-rice bran ratio					
	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	38 ±5	16 ±5	5 ±3	42 ±12	24 ±6	5 ±1
65%	32 ±10	13 ±4	5 ±2	36 ±4	23 ±6	1 ±0
60%	23 ±5	17 ±4	2 ±1	29 ±6	23 ±6	10 ±3
55%	15 ±6	10 ±4	3 ±2	15 ±3	15 ±4	5 ±2

Least Significant Difference at 5%  
 Sawdust-to-rice bran ratio, 2.27  
 Sawdust-to-rice bran ratio, 3.34  
 Moisture content of medium, 4.23

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	1,597.03	1	1,597.03	31.24	0.0000	**
B	24,727.79	2	12,363.89	241.87	0.0000	**
C	6,049.54	3	2,016.51	39.45	0.0000	**
Error	15,539.94	304	51.12			
Total	47,914.30	310				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 > 1.0-2.0 \*\*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 < 10:2 \*\*  
 10:1 < 10:3 \*\*  
 10:2 < 10:3 \*\*

Moisture content of substrate

55% < 60% \*\*  
 55% < 65% \*\*  
 55% < 70% \*\*  
 60% < 65% \*  
 60% < 70% \*\*  
 65% ≐ 70%

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 5c. Fresh weight

C: Moisture content of medium	Fresh weight of fruiting bodies (g/400g-bag)					
	A: Size of sawdust particle (mm)					
	1.0-2.0			0.25-1.0		
	B: Sawdust-to-rice bran ratio					
	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	71.65 ±8.35	56.68 ±7.26	20.48 ±8.23	60.19 ±14.27	62.94 ±11.61	32.84 ±4.42
65%	68.43 ±17.37	45.99 ±7.69	21.55 ±4.77	68.70 ±9.00	52.76 ±5.99	11.69 ±4.22
60%	53.28 ±6.81	35.60 ±4.75	13.33 ±5.14	38.00 ±6.79	35.83 ±5.10	33.50 ±5.11
55%	24.91 ±9.64	20.51 ±5.30	17.58 ±7.14	23.06 ±5.18	24.98 ±2.98	16.23 ±5.07

Least Significant Difference at 5%  
 Sawdust-to-rice bran ratio, 3.77  
 Sawdust-to-rice bran ratio, 5.53  
 Moisture content of medium, 7.02

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	3.63	1	3.63	0.03	0.8725	
B	37,034.00	2	18,517.00	131.71	0.0000	**
C	47,184.00	3	15,728.00	111.87	0.0000	**
Error	42,738.00	304	141.00			
Total	126,961.00	310				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0  $\doteq$  1.0-2.0

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 < 10:2 \*\*

10:1 < 10:3 \*\*

10:2 < 10:3 \*\*

Moisture content  
of substrate

55% < 60% \*\*

55% < 65% \*\*

55% < 70% \*\*

60% < 65% \*\*

60% < 70% \*\*

65%  $\doteq$  70%

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

## II. 7 培地条件別子実体含水率比較試験

### (1) 試験方法:

II. 6 で収穫調査した生の子実体を50℃, 送風下で24時間乾燥し, さらに105℃で24時間乾燥して絶乾重量を測定した. 生重量に対する乾燥による重量減少率を含水率とした.

### (2) 結果と考察:

II. 6 で収穫調査した子実体の含水率を比較した結果をTable 6に示す.

II. 3と同様の分散分析を行ったところ, 子実体の含水率は, 培地の水分量が高くなるほど有意に高くなる傾向を示し, おが粉の粒径は, 大きい方が有意に高かった. 米ぬかの添加量の違いによる差は認められなかった.

子実体の生重量や有効茎数は含水率65%と70%とで有意差が無かった (Table 5). 含水率65%の培地は子実体の含水率が70%の培地のものよりも低いため, 生産・流通の現場で指摘されているように, 貯蔵可能日数も長いと推察される. したがって, 品質と収量の両面を考えると, 培地含水率は65%が好適である.

Table 6 . Moisture content of fruiting bodies of *Panellus serotinus* (Strain SPs-11) produced on various media

C: Moisture content of medium	Moisture content of fruiting bodies ( % )					
	A: Size of sawdust particle (mm)					
	1.0-2.0			0.25-1.0		
	B: Sawdust-to-rice bran ratio					
	10:3	10:2	10:1	10:3	10:2	10:1
70%	89.8 ±1.0	84.1 ±4.9	86.4 ±2.8	89.7 ±0.8	87.6 ±4.3	86.6 ±3.0
65%	87.8 ±0.6	80.5 ±4.5	87.9 ±4.2	83.0 ±4.1	83.3 ±2.1	83.2 ±2.2
60%	80.2 ±2.7	77.3 ±5.6	88.0 ±3.2	77.2 ±5.0	81.3 ±6.1	72.3 ±7.6
55%	70.0 ±4.4	81.6 ±4.4	83.7 ±1.0	78.4 ±4.1	72.3 ±1.8	75.1 ±4.9

Least Significant Difference at 5%  
 Size of sawdust particle, 0.03  
 Sawdust-to-rice bran ratio, 0.04  
 Moisture content of medium, 0.05

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	0.02	1	0.02	5.18	0.0247	*
B	0.01	2	0.00	1.23	0.2973	
C	0.20	3	0.07	22.45	0.0000	**
Error	0.34	113	0.00			
Total	0.57	119				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 < 1.0-2.0 \*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 ≐ 10:2

10:1 ≐ 10:3

10:2 ≐ 10:3

Moisture content of substrate

55% ≐ 60%

55% < 65% \*\*

55% < 70% \*\*

60% < 65% \*\*

60% < 70% \*\*

65% < 70% \*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

## II. 8 最適培地 pH 調査

### (1) 材料と試験方法:

佐賀県林業試験場で保存しているムキタケ野生菌株SPs-11を予め培養したものを種菌として供試した。

ムキタケの最適培地 pH を検討するために滅菌SMY（スクロース1%, 麦芽エキス1%, 酵母エキス0.4%, 寒天3%）培地に, 滅菌した0.1NのHClあるいは1NのNaOHを適量添加して段階的にpH設定した平板培地（10ml, 径9cm）を調製した. コルクボーラで打ち抜いた5mm径の二核菌糸体片をシャーレ中心に接種し, 温度23°Cのインキュベータで培養し, 接種後6日~12日の菌糸伸長度を測定した。

### (2) 結果と考察:

pH4.0~8.5まで0.5間隔で, 10段階に設定した平板培地で調査した結果を (Fig. 13) に示す. ムキタケの最適菌糸成長のpHは6.0付近にあり, その差は有意であった。

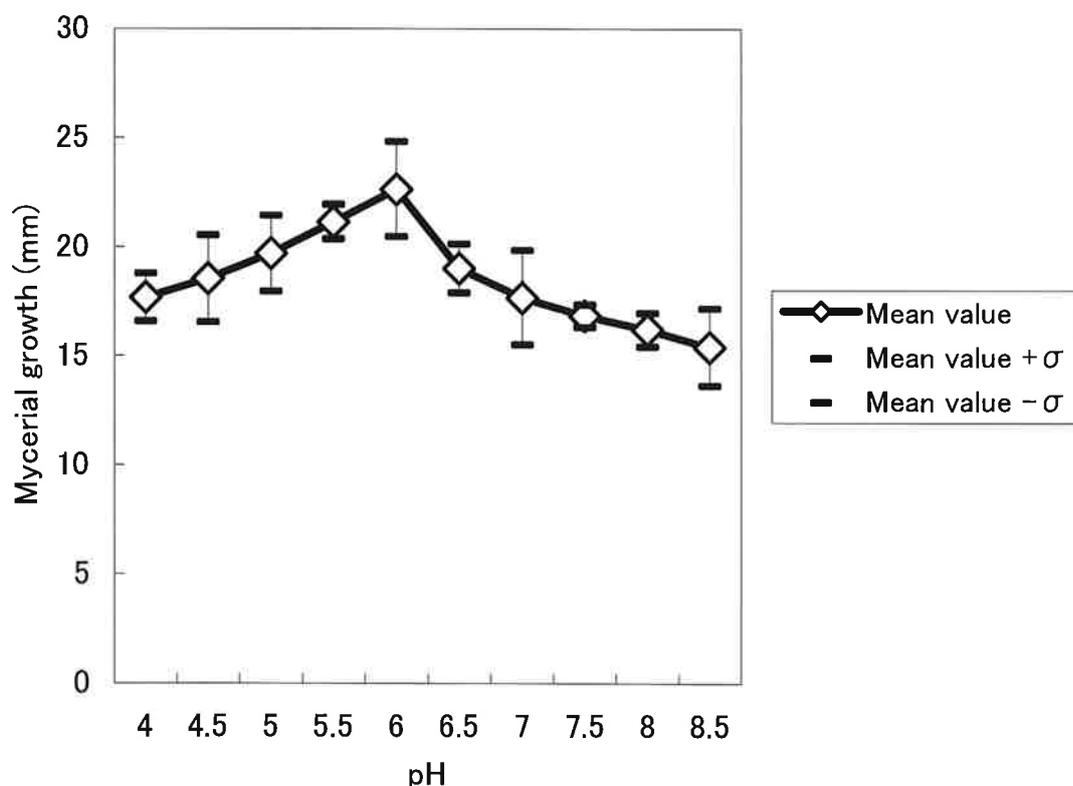


Fig.13. The initial pH on mycelial growth of *Panellus serotinus*.

## II. 9 大容量袋による栽培

### (1) 試験方法:

キャップ式の1500g栽培用の大容量PP袋を用いて、ブナおよびクヌギおが粉の実用栽培試験を行った。ブナ及びクヌギおが粉（粒径0.25～1.0mm）と米ぬかを容量比で10:3に混合し、含水率を65%に調製した培地を用いた。これを同上袋に1200g（直径13cm, 高さ11cm）詰め、高圧蒸気滅菌（120℃, 60分）した後、予め培養した供試菌株の種菌を、1袋当たり約15g接種した。

培養は23℃の暗黒下で85, 90, 95, 100, 105日間の5段階行い、その後子実体形成を誘導するため、温度10℃, 相対湿度90%, 照度250luxの発生室に移した。子実体原基を形成した袋から、順次原基の上を十文字にカットして子実体の発生をうながした。温度を10℃にしてから子実体が成熟するまでの期間を発生・生長日数として記録した。

また、傘が開いて成熟した子実体を随時収穫して重量を測定するとともに、有効茎数を記録した。

なお、菌床は1処理区に10個供試し、これを3回繰り返した。

### (2) 結果と考察:

実用栽培レベルの大容量袋（1500g用）を用いた栽培を試みた（Table 7）。培地基材にはブナおが粉の他にクヌギおが粉も用いた理由は、シイタケ原木栽培の減少から放置されたクヌギ原木が大径化してその利用に苦慮していることにある。培地組成は、小容量袋で良好な子実体発生を示した米ぬか添加量10:3, 含水率65%を採用した。

穴水ら<sup>34)</sup>はシイタケの菌床栽培においてクヌギの子実体収量がブナのそれを上回ることを報告している。ムキタケにおいては、ブナ培地の重量1200g当たりの平均子実体収量は90日間培養で約280gに達し、明らかにクヌギ培地より多かった。同樹種内での培養期間の違いによる有意差は確認できなかった。ブナ培地の大容量袋による培地重量当たりの子実体収量は小容量袋（Table 5）と大差無く、本培地組成が実用レベルの栽培にも適用可能であることを示した。

発生・生長日数は、ブナが短期（28～40日）なのに対してクヌギは長期（32～54日）であり、栽培周期を短くできる点においてもブナが優っていた。子実体の有効茎数はおが屑の樹種および培養日数の違いによる有意差は認められなかった。

本研究結果から総合的に判断した実用的な栽培条件は以下の通りである。培地素材はブナおが粉と米ぬかで、培地の米ぬか添加割合10:3, 含水率65%が好適である。23℃による前培養期間は90日、子実体の発生・成長温度は10℃が妥当である。

Table 7. Effect of incubation period on the fruiting period and the yield of fruiting bodies in *Panellus serotinus*, strain SPs-11

Table 7a. Fresh weight

B: Species of wood	Fresh weight of fruiting bodies (g/1200g)				
	A: Incubation period				
	85 days	90 days	95 days	100 days	105 days
<i>F. crenata</i>	238.58 ±36.13	276.04 ±28.63	261.34 ±62.60	244.01 ±61.04	252.63 ±43.91
<i>Q. acutissima</i>	215.42 ±49.85	170.3 ±27.12	241.58 ±23.83	213.15 ±57.96	243.33 ±21.28

Least Significant Difference at 5%  
 Incubation period, 59.16  
 Species of wood, 26.67

See Tables 4 for explanation.

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value
A	10,313.01	4	2,578.25	1.18	0.3228
B	29,341.38	1	29,341.38	13.48	0.0004 **
Error	198,018.63	91	2,176.03		
Total	237,673.02	96			

Test of difference of mean (least-significant-difference method)  
 Species of sawdust

*F. crenata* > *Q. serrata* \*\*

Incubation condition

- 85 days ≐ 90 days
- 85 days ≐ 95 days
- 85 days ≐ 100 days
- 85 days ≐ 105 days
- 90 days ≐ 95 days
- 90 days ≐ 100 days
- 90 days ≐ 105 days
- 95 days ≐ 100 days
- 95 days ≐ 105 days
- 100 days ≐ 105 days

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 7b. Stipe number

B: Species of wood	Stipe number of fruiting bodies				
	A: Incubation period				
	85 days	90 days	95 days	100 days	105 days
<i>F. crenata</i>	204 ±31	178 ±19	172 ±41	152 ±38	175 ±30
<i>Q. acutissima</i>	196 ±46	156 ±25	193 ±19	137 ±37	141 ±12

Least Significant Difference at 5%

Incubation period, 41.24

Species of wood, 18.59

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value
A	36,750.22	4	9,187.56	8.69	0.0000
B	2,946.66	1	2,946.66	2.79	0.0984
Error	96,197.63	91	1,057.12		
Total	135,894.50	96			

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Species of sawdust

*F. crenata*  $\hat{=}$  *Q. serrata*

Incubation condition

85 days > 90 days	**
85 days $\hat{=}$ 95 days	
85 days > 100 days	**
85 days > 105 days	**
90 days $\hat{=}$ 95 days	
90 days > 100 days	*
90 days $\hat{=}$ 105 days	
95 days > 100 days	**
95 days > 105 days	*
100 days $\hat{=}$ 105 days	

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 7c. Period necessary for fruiting

B: Species of wood	Period (days) necessary for fruiting <sup>1)</sup>				
	A: Incubation period				
	85 days	90 days	95 days	100 days	105 days
<i>F. crenata</i>	40 ±9	38 ±9	35 ±13	33 ±7	28 ±7
<i>Q. acutissima</i>	51 ±5	54 ±7	41 ±7	34 ±5	32 ±2

Least Significant Difference at 5%  
 Incubation period, 28.68  
 Species of wood, 12.46

<sup>1)</sup> From the fruiting treatment (shift down of temperature to 10 °C) to the maturation of fruiting bodies

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value
A	797.50	4	199.38	2.36	0.1038
B	296.45	1	296.45	3.51	0.0822
Error	1,183.80	14	84.56		
Total	2,277.75	19			

Test of difference of mean (least-significant-difference method)  
 Species of sawdust

$$F. crenata \doteq Q. serrata$$

Incubation condition

- 85 days  $\doteq$  90 days
- 85 days  $\doteq$  95 days
- 85 days  $\doteq$  100 days
- 85 days > 105 days \*
- 90 days  $\doteq$  95 days
- 90 days  $\doteq$  100 days
- 90 days > 105 days \*
- 95 days  $\doteq$  100 days
- 95 days  $\doteq$  105 days
- 100 days  $\doteq$  105 days

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

## II. 10 広葉樹チップによる栽培試験

### (1) 材料と試験方法:

佐賀県林業試験場で保存しているムキタケ野生菌株4菌株 (SPs-48, 54, 71, 73) を予め培養したものを種菌として供試した。

シイタケ菌床栽培用として比較的安価で市販されている広葉樹チップの利用を図るため、ブナと3種の広葉樹チップ (シイ・クヌギ・コナラ他数種類の材から調整: K-2, K-13, K-15) を用いて、子実体発生試験を行った。上記チップ (おが粉) と米糠を容量比で10:3に混合し、含水率を65%に調整した培地を用いた。これを1500g用PP袋に1200g詰め、高圧蒸気滅菌 (120℃, 60分) した後、予め培養したおが粉培養物を、1袋当たり約15g接種した。

培養は23℃の暗黒下で90日間で行い、その後温度10℃, 相対湿度90%, 照度250luxの発生室に移した。子実体原基を形成した袋から順次、原基の上を十文字にカットして子実体の発生をうながし、発生室移動後収穫までの日数を記録した。

また、収穫期に達した子実体を随時収穫し重量を測定するとともに、傘径1cm以上を有効茎数とし、その数を調査した。

### (2) 結果と考察:

広葉樹チップによる栽培試験の結果を (Fig. 14) に示す。菌株別平均収量はSPs-73が有意に最も多かった。培地別平均収量はブナが最も多くその差は有意であった。広葉樹チップではK-2とK-15は同等で、K13が最も低くその差は有意であった。

菌株別・樹種別平均収量では、全ての菌株でブナが良好であったが、SPs-73はK-15においてブナと同等の収量があった。菌株による培地の選択性が示唆されたことは広葉樹チップの実用的利用に可能性を残すものである。

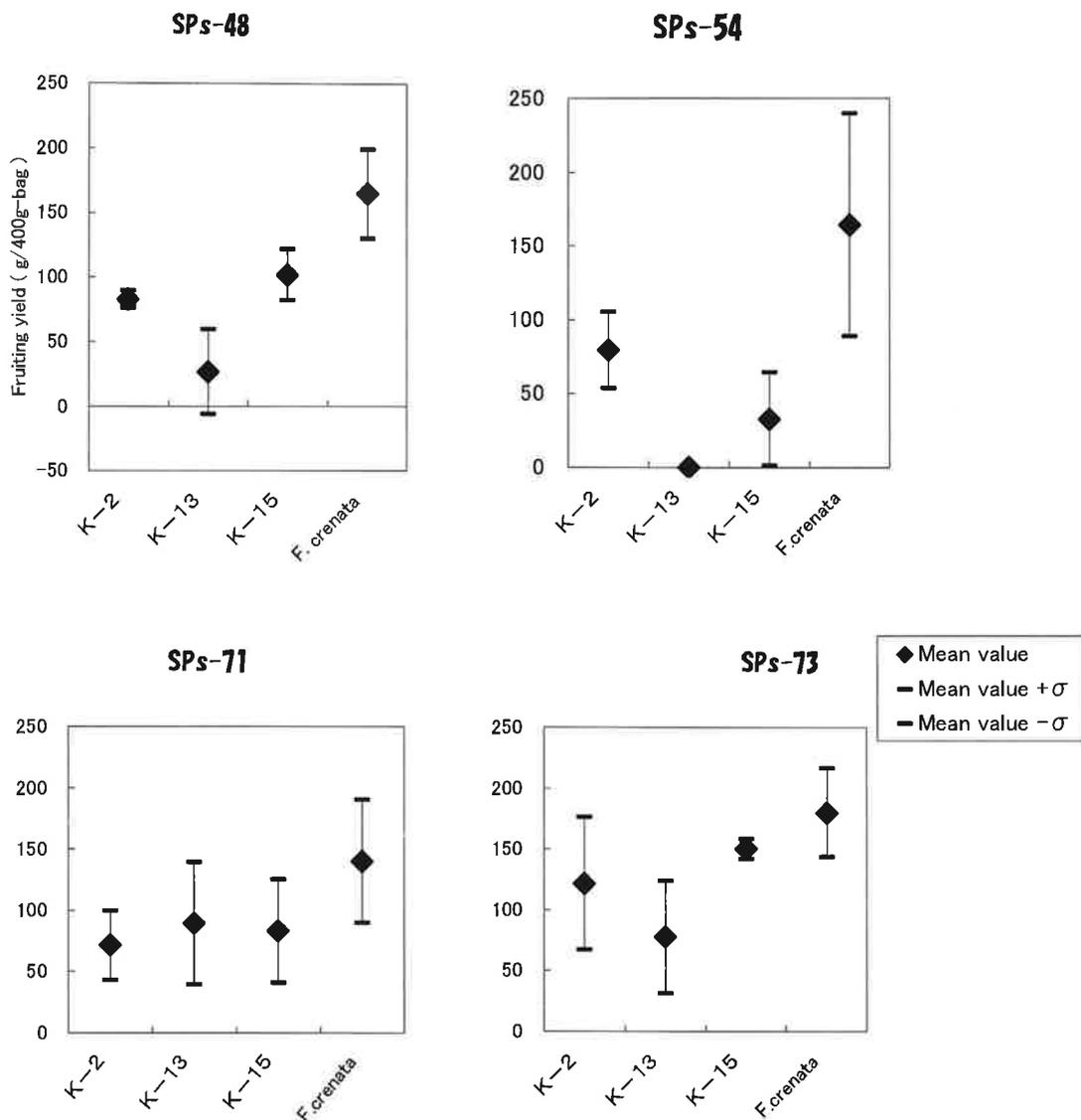


Fig. 14 Comparison of the fruiting body yield among different strains of *Panellus serotinus* and different materials for substrate .

Strains of *Panellus serotinus* : SPs-48, SPs-54, SPs-71, SPs-73 .

Materials for substrate : Mixed wood chips (powders) of several broadleaves trees such as *Castanopsis sieboldii* , *Quercus serrata* , and *Quercus acutissima* (K-2, K-13, K-15), and sawdust of *Fagus crenata* .

Size of wood chips : K-2=1.0~8.0mm , K-13=8.1~10.0mm , K-15=5.0~8.0mm

Size of *F. crenata* sawdust: 0.1~0.6mm=35% , 0.6~2.4mm=59% , 2.5~4.0mm=6%

### 第三章 ムキタケにおけるトリコデルマ強耐性菌株の選抜

#### 緒 言

*Trichoderma*属菌及びその類縁属菌（以下、トリコデルマと略称）はきのこの類の原木栽培で最も被害の大きい病害菌として知られるが、筆者らは本菌の菌床栽培中にもダニ（ケナガコナダニ等）を媒介とするトリコデルマによる菌床の汚染被害が生じることを経験した（Fig. 15）。きのこの菌床栽培におけるトリコデルマの汚染はシイタケ<sup>35)</sup>やブナシメジ<sup>36)</sup>で報告されており、ブナシメジではムキタケ同様ダニ類がその媒介者となっている。また、岡部らによりダニ類のトリコデルマの胞子や菌糸の伝搬は実験的にも証明されており、両者の関係は相互依存的であることも確認されている<sup>37)</sup>。欧米では、ツクリタケ栽培においてダニがトリコデルマを伝搬するとの報告もある<sup>38)</sup>。

栽培きのこのトリコデルマに対する抵抗性の検定の方法としては、寒天培地とおが粉培地を利用した対峙培養法がシイタケ<sup>39-43)</sup>やナメコ<sup>44)</sup>、ヒラタケ<sup>45)</sup>について報告されている。また、上記の数種の栽培きのこについては、交配による耐性品種の作出方法が検討されており、シイタケでは強耐性菌株が選抜されている<sup>45)</sup>。しかし、ムキタケにおいてはトリコデルマ耐性に関する研究は全く報告されていない。

特用林産物としてのムキタケの栽培は、菌床栽培に加えて原木栽培の普及も考えられるが、特に原木栽培ではシイタケ同様にトリコデルマによる大きな被害が懸念される。ムキタケ栽培の実用化と子実体収量の安定的増大のためには、トリコデルマ強耐性菌株の育成が必要であることから、本研究に着手した。

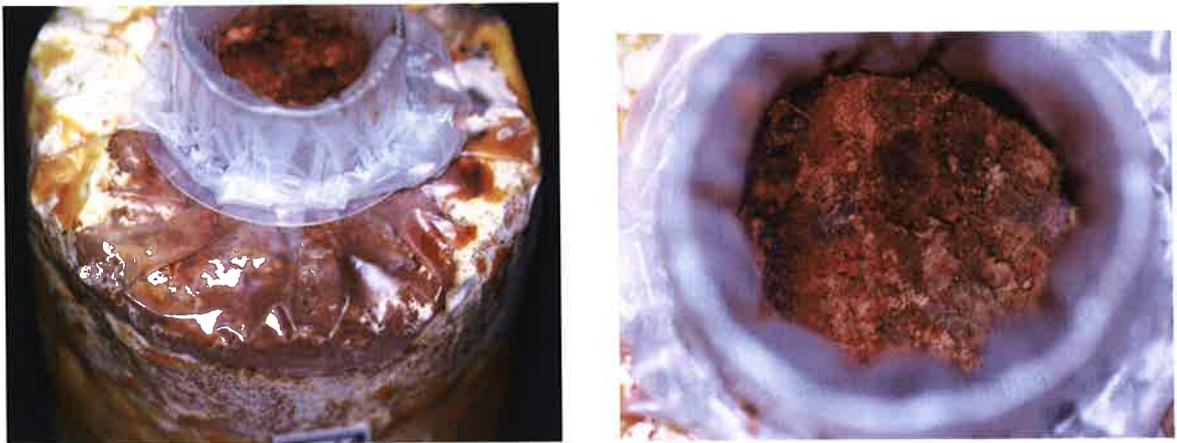


Fig. 15 Invasion of *Trichoderma* to the cultivation bag of *Panellus serotinus* through the medium of ticks.

#### III. 1 材料

##### (1) 供試菌株

ムキタケについては、佐賀県林業試験場で保存しているムキタケ野生菌株121種類を、トリコデルマについては菌草研究所保存の *Trichoderma harzianum* TMIC-60622, *Trichoderma polysporum* TMIC-60146, *Trichoderma viride* TMIC-31601を供試した。

## (2) 培地組成

ムキタケのトリコデルマ耐性の検定や菌糸伸長度の測定に用いるため、ブナ (*Fagus crenata*), コナラ (*Querus serrata*) あるいはクヌギ (*Querus acutissima*) おが粉 (粒径大1.0~2.0 mm, 粒径小0.25~1.0mm) と米糠をそれぞれ容積比で10:1と10:3に混合し, 含水率を65%に調製した培地を作成した. この培地約14 gを両口試験管(内径18mm, 長さ200mm)に両端を40mm空けて120mm長に詰め, 高圧蒸気滅菌(120° C, 60分間)した.

## III. 2 ムキタケ及びトリコデルマの菌糸伸長度の測定と培養条件

### (1) 試験方法:

予め培養した供試菌のおが粉種菌(ムキタケ121菌株, トリコデルマ3菌株)を, III.1.2の方法で培地作成した両口試験管に1本当たり約3g接種した. 特に記さない限り培養は23° C暗黒下で15日間行い, 菌糸の伸長が安定する接種後7日目から14日目までの7日間(ムキタケの場合), あるいは2日目から7日目までの5日間(トリコデルマの場合)のコロニー拡大幅を菌糸伸長度とした. なお, 各菌株につき3反復実施し, その平均値を当該菌株の伸長度とした.

### (2) 結果と考察:

おが粉培地におけるムキタケとトリコデルマの菌糸伸長度と培養条件との関係を調査した. ムキタケは子実体の収量および形態が良好な既選抜の2菌株(SPs-7, SPs-48)を, トリコデルマは *T. harzianum* 1菌株をそれぞれ代表として用い, 樹種(3種類), おが粉の粒径(2種類), および米糠添加量(2種類)の総当たりで計12種類の培地を設定した. 菌糸伸長データを三元配置で分散分析するとともに, 最小有意差法による要因内の有意差検定をおこなった (Table 8). ムキタケの場合, 樹種間で差が認められ, 菌株SPs-7はクヌギで, 菌株SPs-48はブナで有意に良好な伸長を示した. おが粉の粒径は両菌株とも小が大よりも有意に良く伸長した. 米糠の添加量では, 配合比10:1が10:3よりも有意に伸長度が大きかった. トリコデルマにおいては, 樹種ではコナラで最もよく伸長し, おが粉の粒径は大きいほうが良好であった. 米糠の添加量では差が認められなかった.

ムキタケとトリコデルマとでは菌糸伸長に好適な培地条件が異なることが明らかとなった. これらの結果は, ムキタケの菌糸伸長には好適でトリコデルマの菌糸伸長には不適な培地, たとえば粒径0.25-1.0mmで米糠添加量10:1の培地がトリコデルマによる被害の抑制に有効であること(後述)を示唆した. また, 実際の栽培においては, 短期間に目的とするきのこ類の菌糸体を培地に蔓延させることも病害菌被害の予防に有効であり<sup>46)</sup>, 培地組成の選択は大切である.

ブナおが粉(粒径0.25~1.0mm)と米糠とを10:3で混合した培地における温度別のトリコデルマ3菌株(*T. harzianum*, *T. viride*, *T. polysporum*)およびムキタケ2菌株(SPs-7, SPs-48)の菌糸伸長度調査結果をFig. 16に示す. *T. harzianum*は28° Cで最もよく伸長し, 次いで23° C, 18° Cの順であった. *T. viride*は23° Cで最もよく伸長し, 次いで18° C, 28° Cの順であり, 28° Cでは極端に伸長度が低かった. *T. polysporum*は23° Cで最もよく伸長し, 次いで18° C, 28° Cの順であった. *T. polysporum*も28° Cでは伸長度が極端に低かった. 一方ムキタケは2つの菌株とも23° Cで良好な伸長を示したが, 温度間の差異は比較的小さかった.

Table 8. Effect of medium conditions on mycelial growth rates of *Panellus serotinus* and *Trichoderma harzianum* at 23°C

Table 8a. *Panellus* strain SPs-7

C: Species of wood	Mycelial growth rate (mm) for seven days			
	A: Size of sawdust (mm)			
	1.0-2.0		0.25-1.0	
	B: Sawdust-to-rice bran ratio			
	10:3	10:1	10:3	10:1
<i>F. crenata</i>	4.51 ±0.08	6.14 ±0.19	5.17 ±0.06	6.60 ±0.08
<i>Q. serrata</i>	4.83 ±0.16	5.74 ±0.12	5.04 ±0.10	6.55 ±0.15
<i>Q. acutissima</i>	4.89 ±0.16	6.25 ±0.14	5.25 ±0.11	6.83 ±0.09

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	59.63	1	59.63	4.78	0.0354	*
B	55.26	1	55.26	4.43	0.0424	*
C	240.40	2	120.2	9.63	0.0004	**
A × B	36.75	1	36.75	2.94	0.0948	
A × C	106.76	2	53.38	4.28	0.0216	*
B × C	215.45	2	107.72	8.63	0.0009	**
A × B × C	39.47	2	19.73	1.58	0.2198	
Error	449.40	36	12.48			
Total	1203.13	47				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 > 1.0-2.0 \*\*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 > 10:3 \*\*

Species of sawdust

*F. crenata* > *Q. serrata* \*

*F. crenata* < *Q. acutissima* \*\*

*Q. serrata* < *Q. acutissima* \*\*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 8b. *Panellus* strain SPs-48

Mycelial growth rate (mm) for seven days				
A: Size of sawdust (mm)				
1.0-2.0		0.25-1.0		
B: Sawdust-to-rice bran ratio				
C: Species of wood	10:3	10:1	10:3	10:1
<i>F. crenata</i>	4.79 ±0.28	5.50 ±0.40	4.79 ±0.13	5.70 ±0.15
<i>Q. serrata</i>	4.69 ±0.17	5.22 ±0.21	4.86 ±0.20	5.15 ±0.35
<i>Q. acutissima</i>	4.46 ±0.23	5.26 ±0.39	4.61 ±0.24	5.48 ±0.46

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	15.76	1	15.76	6.05	0.0188	*
B	67.69	1	67.69	26.00	0.0000	**
C	41.57	2	20.79	7.98	0.0014	**
A × B	5.01	1	5.01	1.92	0.1742	
A × C	4.54	2	2.27	0.87	0.4268	
B × C	20.09	2	10.05	3.86	0.0303	*
A × B × C	23.57	2	11.79	4.53	0.0176	*
Error	93.75	36	2.60			
Total	271.98	47				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 > 1.0-2.0 \*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 > 10:3 \*\*

Species of sawdust

*F. crenata* > *Q. serrata* \*\*

*F. crenata* > *Q. acutissima* \*\*

*Q. serrata* ≐ *Q. acutissima*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.



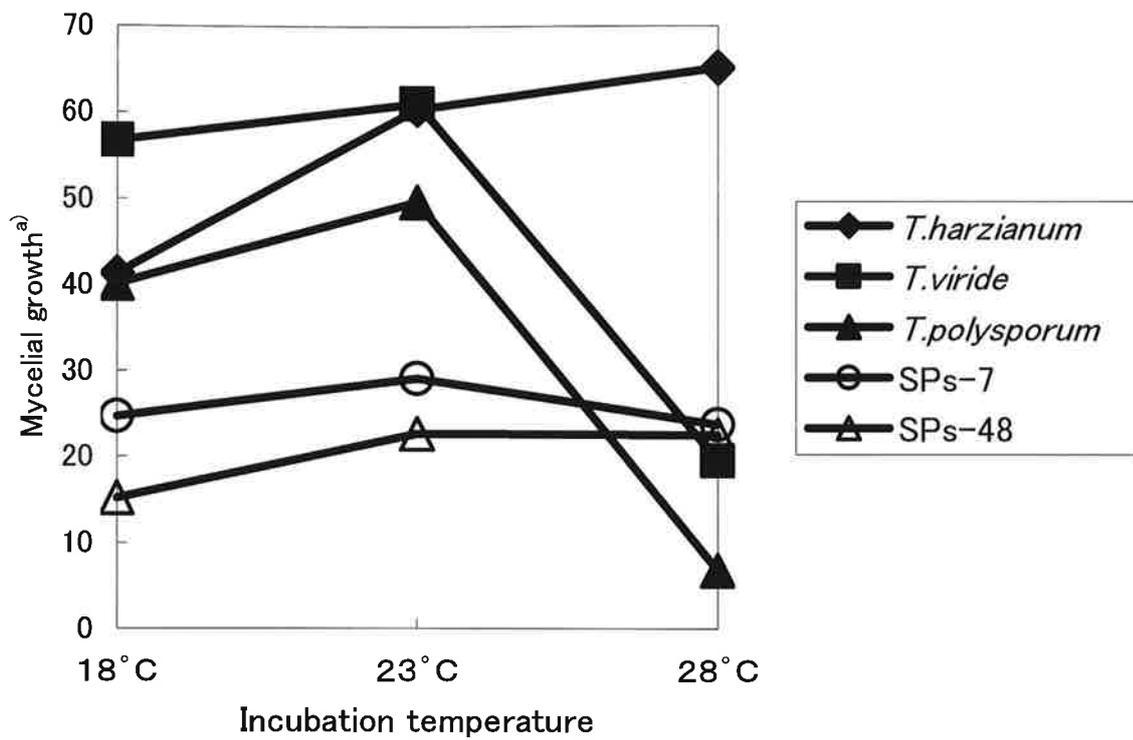


Fig. 16. Comparison of mycelial growth rates among three species of *Trichoderma* and *P. serotinus* strains.

Condition of sawdust medium:

Species of sawdust, *F. crenata*; Sawdust size, 0.25–1.0;

Sawdust-to-rice bran ratio, 10:3.

Incubation temperature: 23°C.

<sup>a)</sup> *Trichoderma*: for five days

*P. serotinus* (SPs-7 and SPs-48): for seven days

### III. 3 おが粉培地によるトリコデルマ耐性（侵害長, 耐性度）の検定

III. 1. 2の方法でムキタケ(121菌株)を23°Cで15日間培養した。ついで、ムキタケを接種した側の菌叢を10mm幅掻き取り、その部分に予めムキタケと同一条件で培養した *T. harzianum*のおが粉培養物を幅10mmになるよう充填し、両菌を接触させた。引き続き3温度段階(18°C, 23°C, 28°C)で培養した。

#### 1) ムキタケのトリコデルマ耐性（侵害長）と培養条件

##### (1) 試験方法：

トリコデルマ接種後14日目にムキタケとトリコデルマの拮抗状況を観察するとともに、トリコデルマ接種後3日目から5日目の2日間、10日目までの7日間、および14日目までの11日間のトリコデルマによる侵害長を測定した。なお、各試験区ごとに3反復実施した。

##### (2) 結果と考察：

保有するムキタケ121菌株のトリコデルマ耐性を調査する前試験として、ムキタケ2菌株(SPs-7, SPs-48)と *T. harzianum*1菌株を用いて、トリコデルマ耐性（侵害長）におよぼす培養条件の影響を調査した。

培地組成については、三元配置分散分析と最小有意差法による有意差検定を行った結果、両菌株とも米糠添加量の多いもの、おが粉の粒径が大きいものがそれぞれ有意にトリコデルマ侵害長が大きかった (**Table 9**)。一方、おが粉の樹種の影響はムキタケの菌株によって異なった。また、培地の比較では、SPs-7はブナ、粒径大、米ぬか添加10:3の組み合わせが、SPs-48ではクヌギ、粒径大、米ぬか添加量10:3の組み合わせが著しく侵害長が大きかった。

Table 9. Damages of *Panellus serotinus* caused by *Trichoderma harzianum* on various sawdust media at 23°C

Table 9a. *Panellus* strain SPs-7

C: Species of wood	Damaged length (mm) for 11days' interaction			
	A: Size of sawdust (mm)			
	1.0-2.0		0.25-1.0	
	B: Sawdust-to-rice bran ratio			
	10:3	10:1	10:3	10:1
<i>F. crenata</i>	15.81 ±7.85	3.68 ±2.20	5.06 ±5.64	1.56 ±0.65
<i>Q. serrata</i>	1.19 ±0.78	3.19 ±1.56	0.44 ±0.32	3.19 ±2.98
<i>Q. acutissima</i>	2.31 ±1.15	0.75 ±0.18	1.88 ±0.52	1.44 ±0.21

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	59.63	1	59.63	4.78	0.0354	*
B	55.26	1	55.26	4.43	0.0424	*
C	240.40	2	120.2	9.63	0.0004	**
A × B	36.75	1	36.75	2.94	0.0948	
A × C	106.76	2	53.38	4.28	0.0216	*
B × C	215.45	2	107.72	8.63	0.0009	**
A × B × C	39.47	2	19.73	1.58	0.2198	
Error	449.40	36	12.48			
Total	1203.13	47				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 < 1.0-2.0 \*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 < 10:3 \*

Species of sawdust

*F. crenata* > *Q. serrata* \*\*

*F. crenata* > *Q. acutissima* \*\*

*Q. serrata* ≐ *Q. acutissima*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

Table 9b. *Panellus* strain SPs-48

C: Species of wood	Damaged length (mm) for 11 days' interaction			
	A: Size of sawdust (mm)			
	1.0-2.0		0.25-1.0	
	B: Sawdust-to-rice bran ratio			
	10:3	10:1	10:3	10:1
<i>F. crenata</i>	2.44 ±0.37	0.63 ±0.57	1.88 ±0.13	0.31 ±0.27
<i>Q. serrata</i>	2.75 ±0.25	2.25 ±1.79	2.44 ±0.21	0.44 ±1.32
<i>Q. acutissima</i>	7.88 ±3.92	1.13 ±0.45	3.38 ±1.40	1.75 ±0.64

Three-way layout analysis of variance

Factor	S(Square sum)	f(Freedom)	S/f	F-value	P-value	
A	15.76	1	15.76	6.05	0.0188	*
B	67.69	1	67.69	26.00	0.0000	**
C	41.57	2	20.79	7.98	0.0014	**
A × B	5.01	1	5.01	1.92	0.1742	
A × C	4.54	2	2.27	0.87	0.4268	
B × C	20.09	2	10.05	3.86	0.0303	*
A × B × C	23.57	2	11.79	4.53	0.0176	*
Error	93.75	36	2.60			
Total	271.98	47				

Test of difference of mean (least-significant-difference method)

Size of sawdust

0.25-1.0 < 1.0-2.0 \*

Sawdust-to-rice bran ratio

10:1 < 10:3 \*\*

Species of sawdust

*F. crenata* ≐ *Q. serrata*

*F. crenata* < *Q. acutissima* \*\*

*Q. serrata* < *Q. acutissima* \*\*

\*, \*\* : significant at 5% and 1%, respectively.

## 2) ムキタケ121菌株のトリコデルマ耐性（侵害長, 耐性度）比較

### (1) 試験方法:

シイタケのトリコデルマ耐性度の評価方法<sup>43)</sup>に準じて、トリコデルマ接種後4週間の観察において下記5段階の耐性度を求めた。耐性度5：ムキタケが両菌の境界面近くで白色～褐色の明瞭な拮抗帯線を形成した後、トリコデルマ菌叢内に逆に侵攻していくタイプ。耐性度4：ムキタケ菌叢はトリコデルマにより両菌の境界面から10mm未満の所まで侵害されるが、そこで褐色の明瞭な拮抗帯線を形成した後、トリコデルマ側に盛り返すように徐々に侵攻していくタイプ。耐性度3：ムキタケが自らの菌叢内（境界面から10mm未満の所）に褐色の明瞭な拮抗帯線を形成することでその後のトリコデルマの侵入を阻止し、そのままの状態を維持するタイプ。耐性度2：ムキタケ菌叢はトリコデルマにより両菌の境界面からかなり深く（10mm以上50mm未満の所）まで侵害されるが、そこで褐色の拮抗帯線を形成し、そのままの状態を維持するタイプ。耐性度1：ムキタケが拮抗帯線を形成することなく、ほぼ全面的にトリコデルマに侵害されるタイプ。

### (2) 結果と考察:

Ⅲ. 2の結果をふまえ、トリコデルマ侵害長が比較的判定し易く、しかも実際の栽培に近い培養条件として、米糠添加率10:3、粒径小（0.25～1.0mm）のブナおが粉培地、培養温度23℃を選定した。この条件下において、ムキタケ121菌株に対するトリコデルマの侵害長を比較調査した（Fig. 17）。

トリコデルマの侵害長はムキタケの菌株間で大きな変動を示し、最小値は-2.50mm、最大値は84.08mmであった。菌株SPs-61やSPs-75を含む10菌株は侵害長が負の値となり、ムキタケが逆にトリコデルマ側に進入した。トリコデルマは抗菌性物質<sup>47, 48)</sup>や溶菌酵素<sup>49, 50)</sup>を生産してきのこ類を侵害すると考えられるが、シイタケで観察されているように<sup>51)</sup>、逆にムキタケが抗菌性物質を生産してトリコデルマの進入を拒絶していることも考えられる。

トリコデルマ耐性を調査する方法としては、シイタケで耐性度を詳細に検定した事例があることから、シイタケのトリコデルマ耐性度検定で用いられた5段階（Fig. 18）の耐性程度の評価法をムキタケ121菌株に適用した<sup>43)</sup>。その結果をFig. 19に示す。耐性度5の最も強いタイプとしてSPs-27, 61, 75, 77, 90の5菌株（全体の4%）が確認され、耐性度4は19菌株（16%）、耐性度3は20菌株（16%）、耐性度2は24菌株（20%）、耐性度1は53菌株（44%）で、トリコデルマ耐性が弱い菌株の割合が高かった。

トリコデルマによるムキタケ侵害長は5段階評価のムキタケのトリコデルマ耐性度と高い有意な負の相関があった（Table 10）。

これらの結果より、ムキタケの菌株によってトリコデルマ耐性の強さに差異があることが明らかとなった。また、菌株SPs-61およびSPs-75は侵害長および耐性度でともに強い耐性を示し、両菌株はトリコデルマ耐性が強いことが明らかになった。

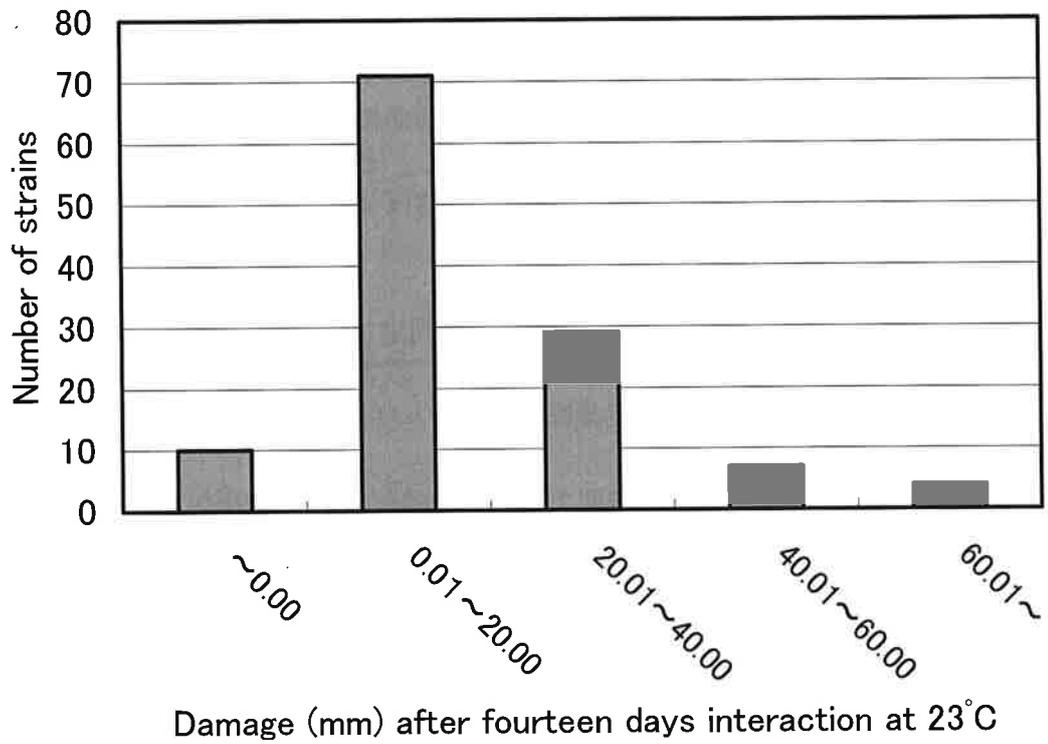


Fig.17. Damages of 121 different strains of *Panellus serotinus* caused by *T. harzianum*.

See Fig. 16 for culture medium.

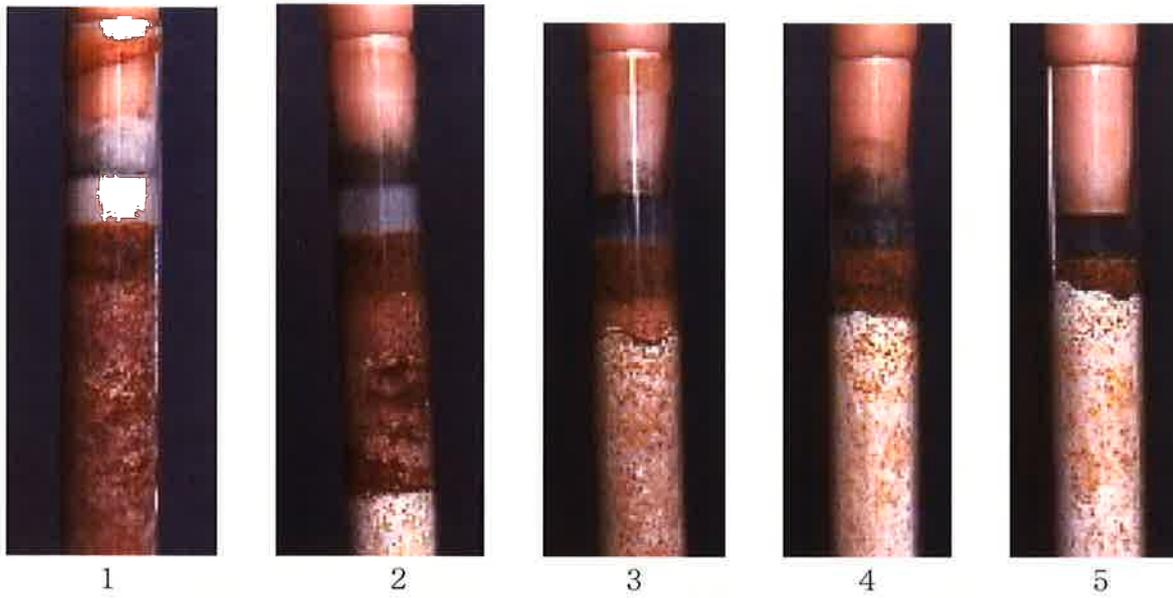


Fig. 18. Various types of colony interactions between *Panellus serotinus* strains and antagonistic fungi *Trichoderma* species. Numerals show relative competition degrees of *Panellus serotinus*. 1: very weak, 2: weak, 3: medium, 4: strong, 5: very strong.

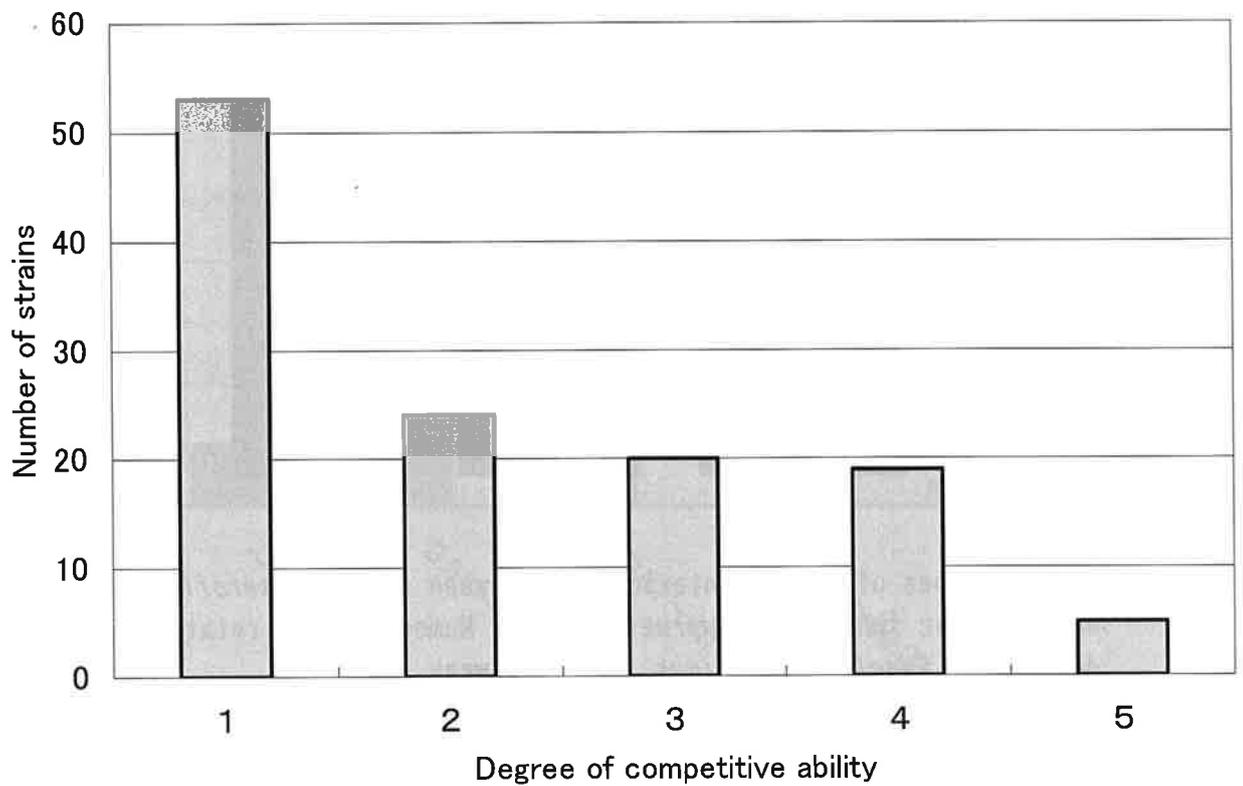


Fig 19. Competitive abilities of 121 different strains of *Panellus serotinus* against the attack of *Trichoderma harzianum*.

See Fig. 16. for culture condition.

Degree of competitive ability

1: very weak, 2: weak, 3: medium, 4: strong, 5: very strong

Table 10. Correlation coefficients among properties of *Panellus serotinus* in 121 different strains

	Mycelial growth rate	Wood-decaying ability	Damaged length caused by <i>T. harzianum</i>
Mycelial growth rate	—	* 0.17	* -0.15
Wood-decaying ability	* 0.17	—	-0.10
Damaged length caused by <i>T. harzianum</i>	* -0.15	-0.10	—
Degree of competitive ability	* 0.12	0.06	** -0.63

\*, \*\*: significant at 5% and 1%, respectively.

### III. 4 ムキタケ野生株121菌株の菌糸伸長度および材腐朽度比較

#### (1) 試験方法:

風乾ブナおが粉(粒径0.25~2.0mm)6.3gに養分液(蒸留水1,000mlに酒石酸アンモニウム2.4gとリン酸第一加水1.7gを溶解)を11.7ml添加した培地を用いた(含水率65%)。これをサンプル瓶(内径40mm,高さ60mm)に18g詰め, 高圧蒸気滅菌(120°C, 60分)した後, 予めPDA培地(Difco)で培養したムキタケ菌糸体(121菌株)を, 1本あたり約2g接種した。

培養は23°C暗黒下で63日間行った。培養後の培地を100°Cで36時間乾燥して絶乾重量を測定し, 未培養時の絶乾重量に対する減少率を材腐朽度とした。なお, 各菌株につき3反復実施し, 平均値を求めた。

#### (2) 結果と考察:

ムキタケの菌糸伸長度, 材腐朽度がトリコデルマ耐性にどう影響するかを調査するため, 粒径0.25-1mmのブナおが粉と米糠とを10:3で混和した培地を用いて, ムキタケ野生菌株121種類の菌糸伸長度を調査した(Fig. 20)。菌糸伸長度は菌株間で大きな変動があり, SPs-6, 21, 36等が良好で, 最高値のSPs-6は52.8mmであった。なお, 最低値はSPs-53の15.1mmであった。

つぎに, 粒度0.25-2mmのブナおが粉に養分液を添加した培地を用いて, 121菌株の材腐朽力を比較調査した(Fig. 21)。材腐朽度は菌糸伸長度と同様に菌株間で大きく変動し, 14.1%以上の腐朽度を示したものが7菌株あった。最高値はKPs-20の22.2%, 最低値はKPs-17の0.8%であった。

Figs. 17~21のデータをもとに相関分析をおこなったところ, ムキタケのトリコデルマ耐性度は菌糸伸長度と有意な正の相関があった(Table 10)。シイタケにおいてもほぼ同様の結果が得られており<sup>43)</sup>, 菌糸生長の旺盛な菌株はトリコデルマ耐性も強いことが考えられる。

また, ムキタケの菌糸伸長度と材腐朽度は正の相関があった。

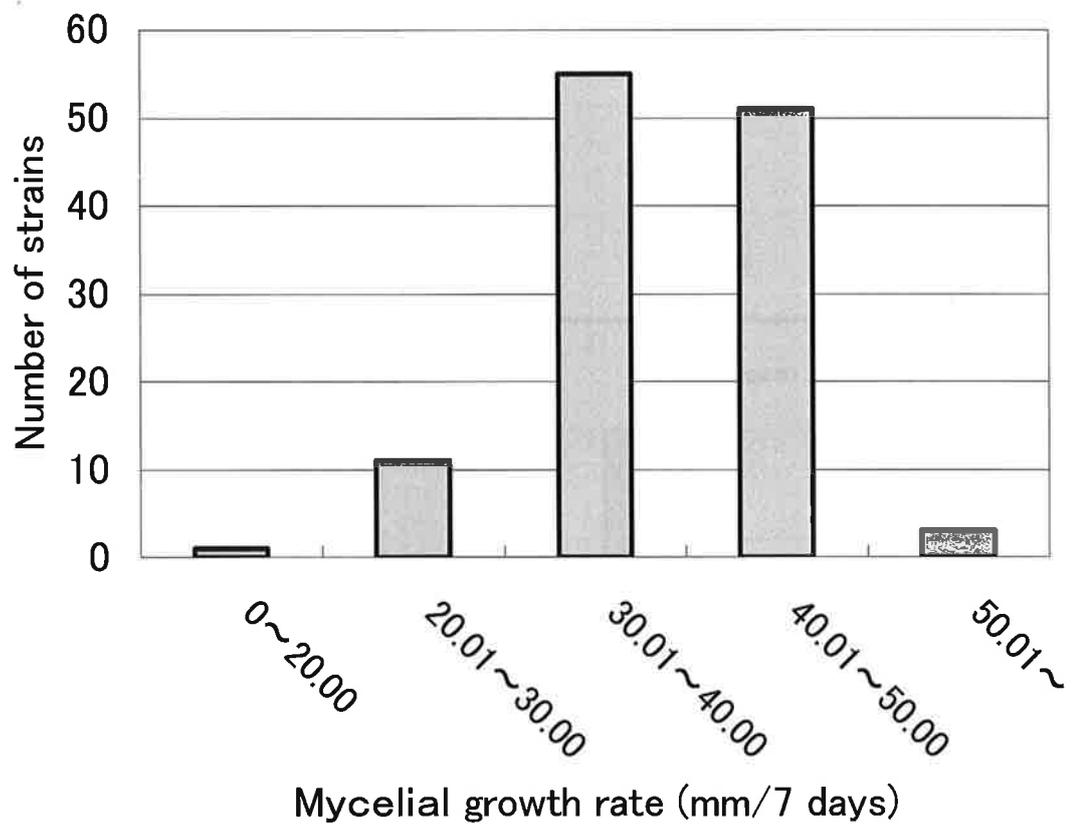


Fig. 20. Mycelial growth rates of 121 different strains of *Panellus serotinus*.

See Fig. 16 for culture medium.

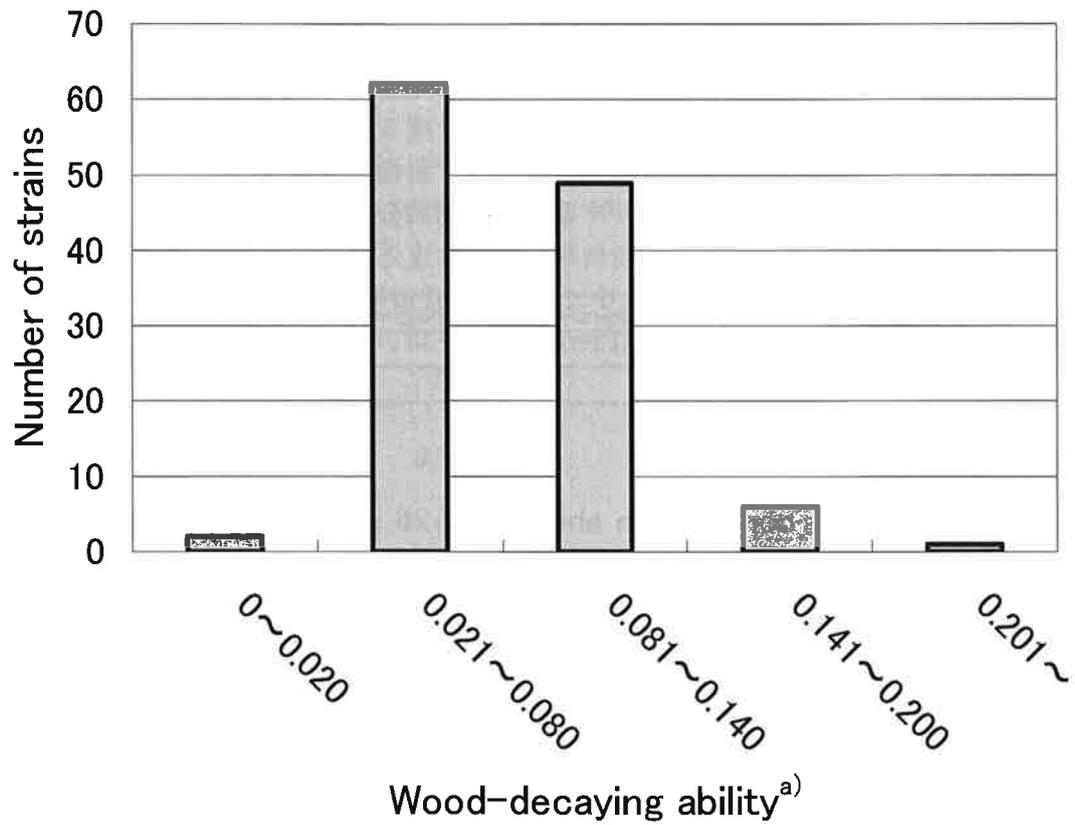


Fig.21. Wood-decaying abilities of 121 different strains of *Panellus serotinus*.

See Fig. 16 for culture condition.

<sup>a)</sup> Weight loss of the sawdust medium after 63 days'.

### III. 5 寒天培地上におけるトリコデルマ耐性（耐性度）の検定

#### (1) 試験方法:

PDA培地 (Difco) 20mlを9cm径のシャーレに分注し、シャーレの端にムキタケ菌糸体(121菌株)を接種した。23℃で23日間培養し、ムキタケの菌叢がほぼシャーレ全面に拡大してから、ムキタケ菌叢の上にコルクボーラ (5.0 mm径) で打ち抜いたトリコデルマ菌糸体 (*T. harzianum* 1菌株) を接種した。23℃で両菌の拮抗現象を10日間観察し、おが粉培地での耐性度判定に準じて5段階で評価した。なお、各試験区ごと3反復実施した。

#### (2) 結果と考察:

トリコデルマ耐性度の検定を簡便化するため、寒天培地上での検定の可能性を検討した。おが粉培地での耐性度検定結果をもとに、耐性度1から耐性度5の菌株がほぼ同数になるように26菌株を選び、寒天培地上でのムキタケのトリコデルマ耐性度を検定した。

寒天培地とおが粉培地上でのトリコデルマ耐性度の相関分析を行ったところ、ムキタケの寒天培地上でのトリコデルマ耐性度はおが粉培地での耐性度と相関しないことが明らかとなった (Table 11)。同様のことがシイタケのトリコデルマ耐性度検定においても認められており<sup>40)</sup>、おが粉栽培での耐性度を検定するためにはおが粉培地を用いる必要がある。

Table 11. Comparison of competitive abilities of 26 different *Panellus* strains between sawdust and PDA mediums

---

Competitive ability against <i>T. harzianum</i> (mean and standard error)	
on the sawdust medium <sup>a)</sup>	2.97 ± 1.40
on PDA media <sup>a)</sup>	2.53 ± 0.63
Correlation coefficient between the two media	0.18 <sup>b)</sup>

---

a) Five levels, see Fig. 18

b) no significant

### III. 6 トリコデルマ3種のムキタケ侵害長比較

#### (1) 試験方法:

*T. harzianum* に対する5段階の耐性程度がほぼ同数になるようにムキタケ菌株20種類を選び、トリコデルマ3種による培養温度別侵害長調査を行った。

#### (2) 結果と考察:

トリコデルマ3種による培養温度別侵害長調査を行った結果を (Table 12) に示す。全般に *T. polysporum* と *T. viride* の侵害長は低く、ムキタケが逆にトリコデルマ側に進入する場合が多かった。23℃と28℃では *T. harzianum* が他の2種のトリコデルマよりも有意に高い侵害長を示した。18℃において、*T. harzianum* と *T. viride* は *T. polysporum* より侵害長が有意に高かったが、*T.*

*harzianum*と*T. viride*の差は認められなかった。28℃で*T. polysporum*と*T. viride*の侵害長が小さいのは、この2菌株の菌糸伸長が28℃で著しく不良であることが関係していると考えられた。

トリコデルマ3種の培養温度別のムキタケ各菌株に対する侵害長の相関分析を行った (Table 13)。3種のトリコデルマのムキタケ各菌株に対する侵害長は、ほぼ全ての組合せで正の相関が認められた。

以上より、培養温度は耐性の順位に大きな影響を及ぼさず、実際の菌床栽培の培養温度は23℃で行っていることから、ムキタケのトリコデルマ属に対する強耐性菌株の選抜は、*T. harzianum*を用いる23℃下の耐性の検定のみを行えばよいことが明らかになった。

Table 12. Damages of *Panellus serotinus* strains caused by three *Trichoderma* species at different temperatures

<i>Trichoderma</i> species	Damaged length of <i>Panellus</i> (mm/11days) caused by <i>Trichoderma</i> <sup>a)</sup>		
	Incubation temperature		
	18°C	23°C	28°C
<i>T. harzianum</i>	3.94±7.16	4.47±14.07	2.90±14.80
<i>T. polysporum</i>	-1.1±2.52	-3.57±3.66	-3.88±2.43
<i>T. viride</i>	4.7±11.80	-0.67±11.30	-5.43±5.21

a) Mean and standard error of 20 different strains of *Panellus serotinus*.

Table 13. Correlation coefficients of damaged length of *Panellus serotinus* among the attacks by three *Trichoderma* species at different incubation temperatures

		<i>T. harzianum</i>			<i>T. polysporum</i>			<i>T. viride</i>		
		18°C	23°C	28°C	18°C	23°C	28°C	18°C	23°C	28°C
<i>T. harzianum</i>	18°C	—	—	—	0.59**	—	—	0.48*	—	—
	23°C	—	—	—	—	0.49*	—	—	0.83**	—
	28°C	—	—	—	—	—	0.49*	—	—	0.89**
<i>T. polysporum</i>	18°C	0.59**	—	—	—	—	—	0.17	—	—
	23°C	—	0.49*	—	—	—	—	—	0.65**	—
	28°C	—	—	0.49*	—	—	—	—	—	0.66**
<i>T. viride</i>	18°C	0.48*	—	—	0.17	—	—	—	—	—
	23°C	—	0.83**	—	—	0.65**	—	—	—	—
	28°C	—	—	0.89**	—	—	0.66**	—	—	—

20 different *P. serotinus* strains were used.  
\*, \*\* Significant at 5% and 1% , respectively.

### III. 7 選抜したトリコデルマ強耐性ムキタケ菌株の培養特性と子実体発生能力

#### (1) 試験方法:

ブナおが粉と米糠を容量比で10:3に混和した培地を用いて既報<sup>10)</sup>の方法でムキタケを23℃で90日間培養した。ついで、10℃の発生室に移して発生操作を行い、その後20日間の子実体の収量と形態を調査した。ムキタケは選抜した2菌株及び対照1菌株で行い、各菌株につき3反復実施した。

#### (2) 結果と考察:

侵害長、耐性度試験で共通して強耐性を示したムキタケ菌株SPs-61およびSPs-75の培養特性をTable 14に示す。両菌株は佐賀県林業試験場で実用化に向けた試験栽培に用いている菌株SPs-48と比較して、菌糸伸長度および子実体収量は同程度であり、実用レベルの特性を有していた。SPs-61およびSPs-75の子実体の形態は淡色・肉厚系であり、SPs-48と比較して黄色味が少なく、傘が厚くて形態的にも優良であった。これらの選抜したトリコデルマ強耐性のムキタケ菌株は、ムキタケの病害菌耐性機構の解明や、強耐性優良菌株育成の交配母本として有益と思われるので、今後はこれらの課題に取り組んでいきたい。

Table 14. *Panellus serotinus* strains selected as strongly resistant to *Trichoderma* spp

	Strongly resistant strains		Previously selected strain
	SPs-61	SPs-75	SPs-48
Damaged length by <i>T. harzianum</i> (mm)	-2.50 ±1.50	-2.17 ±0.76	36.17 ±2.67
Damaged length by <i>T. viride</i> (mm)	-8.45 ±1.15	-5.25 ±2.19	16.4 ±5.79
Damaged length by <i>T. polysporum</i> (mm)	-6.25 ±0.85	-7.35 ±1.07	2.75 ±1.86
Degree of competitive ability	5	5	1
Mycelial growth rate (mm/7days)	43.75 ±1.94	37.75 ±1.47	38.33 ±2.14
Wood-decaying ability (%)	10.9% ±2.2	17.3% ±1.2	14.7% ±1.3
Fruiting body yield in the first flush (g/400g-bag)	76.4g ±3.29	74.0g ±2.89	77.6g ±2.67
Morphology of fruiting bodies <sup>a)</sup>	Thick cap, light color	Thick cap, light color	Thin cap, deep color

Culture medium: *Fagus crenata* sawdust, 0.25–1.0mm in diameter; sawdust-to-rice bran ratio, 10:3.

Culture temperature: 23°C.

Strain SPs-48: selected previously by its fruiting body productivity.

<sup>a)</sup>Strains SPs-61 and SPs-75 are superior to SPs-48.

### III. 8 子実体収量および食味に優れるムキタケ菌株の選抜

子実体高収量の菌株選抜を試みた。また、本菌には苦みを呈する菌株があることから、食味に優れた菌株の探索を行った。

#### (1) 材料と試験方法：

佐賀県林業試験場で保存しているムキタケ野生菌株121種類を供試した。

ブナおが粉と米ぬかを容量比で10:3に混合し、含水率を65%に調整した培地を用いた。これをPP袋に400g詰め、高圧蒸気滅菌（120℃、60分）した後、予め培養した121菌株のおが粉培養物を、1袋当たり約15g接種した。

培養は23℃の暗黒下で90日間行い、その後温度10℃、相対湿度90%、照度250luxの発生室に移した。

子実体収量を集計するとともに、子実体を形成した93菌株について、苦みの有無を中心に以下の呈味試験を行った。10人の被験者にオーブントースターで素焼きにした子実体を試食してもらい、苦くない、やや苦い、苦いという3段階で食味を評価してもらった。最も多い評価をその菌株の食味として集計した。

#### (2) 結果と考察：

子実体収量の菌株間差異をFig. 22に示した。子実体を全く発生しなかった菌株が18種類みられ、袋当たりの平均収量は49g、最大収量は菌株KPs-25の82gであった。

子実体を形成した野性株93系統について食味試験を行った結果をTable 15に示す。実施93菌株中、苦いものは16菌株（17%）、やや苦いものは26菌株（28%）、苦みを感じないものが51菌株（55%）で、過半数が苦くないという結果であった。

甘味を感じたものが19菌株（20%）あった。ムキタケは菌株によって差はあるが、糖・糖アルコールが多いことが確認されている<sup>52)</sup>。これら甘みのある菌株について、甘みに関係する成分の量を今後調査してみたい。

以上の調査結果から、収量と食味をあわせて優良菌株の選抜を試みた (Fig. 23)。食味を「苦くない程度」で数値化し、苦いを1、やや苦いを2、苦くないを3とし、次の数式（各調査者の判定（1～3）×調査人数÷総調査人数）で評価値を算出した。ついで、ブナ培地での子実体収量と上記で算出した苦くない程度とで散布図を作成した。その結果をもとに、味覚が一定レベル以上で収量が上位5位の5菌株を選抜した。これら上位5菌株は収量45.0g/袋以下の菌株より有意に多収であった。

上位5菌株の栽培特性を整理した (Table 16)。たとえば、SPs-11は収量の最大値を、SPs-97は甘みのある優れた食味を示した。これら菌株は実用栽培の有力候補として活用できると考えられる。今後は、これら選抜菌株を交配親とした交配育種も実施していきたい。

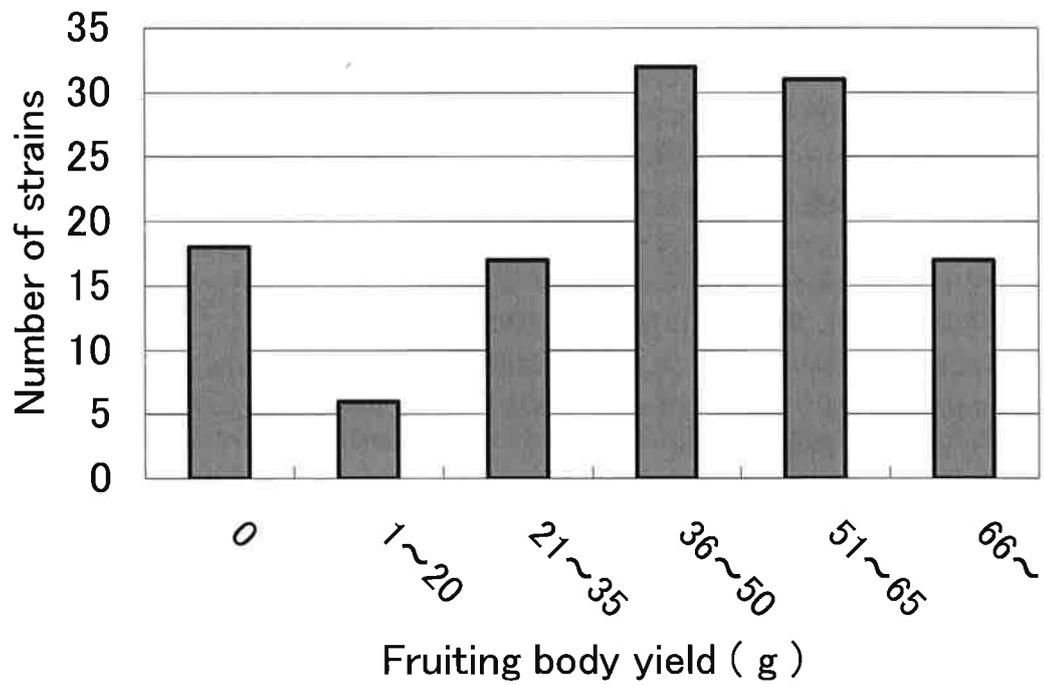


Fig. 22. Fruiting body yields ( fresh weight, g/400g-bag ) of 121 different strains of *Panellus serotinus*.

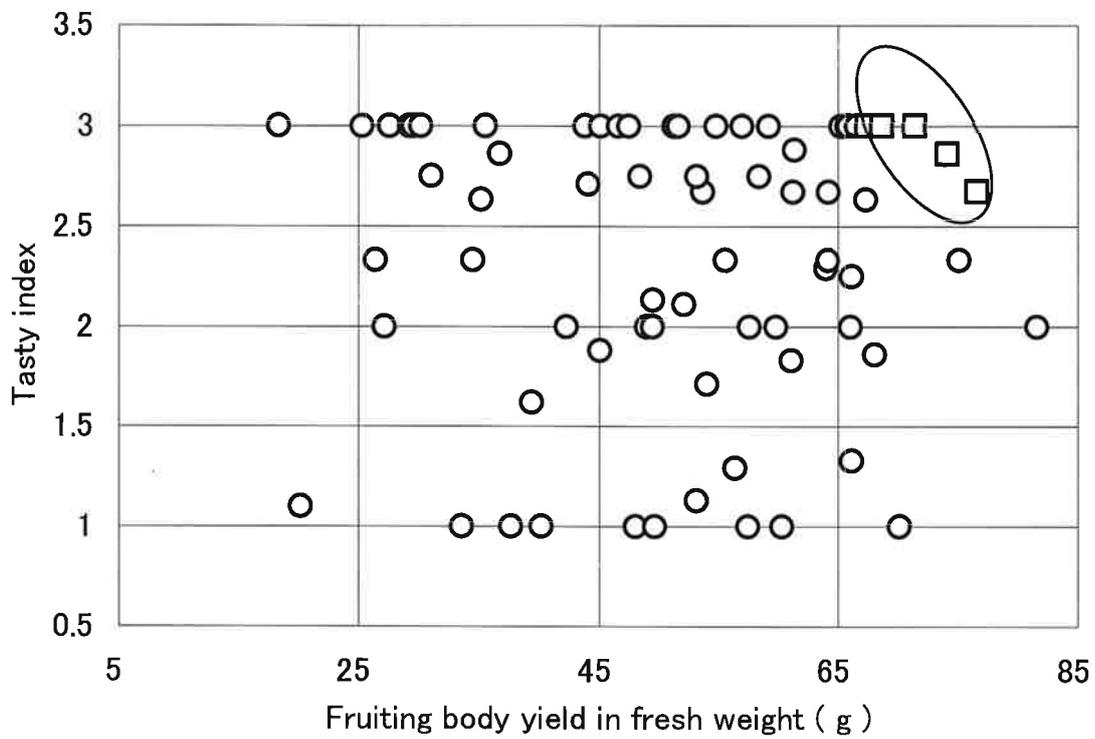


Fig .23. Scattering graph of tasty index and fruiting body yield for evaluation of *Panellus* strains.

Tasty index: 1, bitter; 2, a little bitter; 3, non-bitter

Table 15. Taste properties of fruiting bodies of *Panellus serotinus* in 93 different strains

	Bitter	Little bitter	Non-bitter	
			Non-sweet	Sweet
Number of strains	16	26	32	19
Ratio	17.2%	28.0%	34.4%	20.4%

Table 16. *Panellus serotinus* strains selected for fruiting body productivity and tasty index

B: Properties	A: <i>Panellus serotinus</i> strains				
	SPs-6	SPs-11	SPs-16	SPs-17	SPs-97
Fruiting body yield (g/400g-bag)	68.64 ±10.50	76.52 ±1.37	74.05 ±3.43	71.36 ±1.24	68.61 ±18.41
Stipe number of fruiting bodies (per 400g-bag)	22 ±2.83	30 ±3.54	37 ±9.90	33 ±10.61	49 ±22.63
Fruiting period (days)	47 ±0.00	52 ±1.41	47 ±2.83	46 ±1.41	40 ±0.00
Tasty index	3.00	2.67	2.86	3.00	3.00

## 総合考察

ムキタケの育種遂行に不可欠な基本的事項として、交配系の確認、担子胞子形成と交配過程における核の行動様式及び子実体の微細構造について調査した。その結果、既報告と同じく二極性の交配系であることを確認するとともに、担子胞子の形成とその核の行動様式は、シイタケと同様であることが判った。また、子実体の微細構造では、担子器にはシイタケと同様に4本の担子柄があり、ムキタケ独特のウイナー型の胞子を付けること、子実体の表皮部分はゼラチン層を形成していること等を明らかにした。このゼラチン層の存在が表皮が簡単に剥けることにつながっていると考えられ、ムキタケの名前の由来にもなっていると推察される。(第I章)

ムキタケは一部の地域で試験的な栽培が行われているが、培地組成をはじめとする細かい栽培条件については十分な検討がなされておらず、実用レベルには達しているとは言い難い。本研究では子実体の変形し難い点で優れた袋栽培方式を採用し、実用栽培の基本的な条件について検討した。

その結果、子実体原基形成温度は10℃が好適であり、最適培地pHは6.0付近にあることを明らかにした。子実体発生量は含水率が高く米ぬか添加量が多い培地ほど多いこと、培地含水率が高くなると発生した子実体の含水率も高くなる傾向等を認めた。子実体の収量と品質とを合わせると、ブナおが粉の粒径0.25-1.0mm、おが粉に対する米ぬか添加率10:3、含水率65%の培地が最適と判断した。なお、エノキタケ等では子実体生育期にCO<sub>2</sub>の高濃度下に置かれると子実体形成が阻害されることが報告されているが、ムキタケの当袋栽培においては子実体発生処理時の培養袋内のCO<sub>2</sub>濃度と培地の気相率は子実体の発生を阻害するレベルでは無いことを認めた。また、子実体の発生が始まると、その部分の袋をカットする方式を採用しているため、子実体成育中に袋内のCO<sub>2</sub>濃度が上昇する恐れは無い。

菌床シイタケ栽培の培地材料として近年利用されている「数種の広葉樹を混合したチップ」について、ムキタケ培地としての適性を調査した。菌株によってはムキタケ培地に同基材が利用可能であることが示唆され、このことは高価なブナおが粉に代わり、市販の広葉樹チップによる実用栽培に道を開くものである。(第II章)

筆者はムキタケの試験栽培を繰り返す中で、ダニを媒介とするトリコデルマによる菌床の汚染を経験し、その被害を目の当たりにした。特に外気にさらされる原木栽培ではシイタケ同様にトリコデルマによる大きな被害が懸念される。ムキタケ栽培の実用化と子実体収量の安定的増大のためには、トリコデルマ強耐性菌株の育成が必須である。

そこで、ムキタケとトリコデルマとの拮抗作用を種々の条件のおが粉培地で調査し、ムキタケのトリコデルマ耐性の検定法について検討した。ムキタケのトリコデルマ耐性はムキタケの菌糸伸長度と有意な正の相関があり、菌糸伸長の旺盛な菌株はトリコデルマ耐性も強い傾向があった。培養温度は耐性菌株の選抜には大きな影響を及ぼさなかったが、トリコデルマ耐性の検定には菌糸生長が良好で、実際の菌床栽培の培養温度である23℃が好適であると考えられた。また、*T. harzianum*に強い耐性を示すムキタケ菌株は*T. polysporum*や*T. viride*にも強い耐性を示す傾向が認められた。また、ムキタケとトリコデルマとを対峙して培養するとき、ムキタケの寒天培地上でのトリコデルマ耐性はおが粉培地での耐性と相関しないことから、耐性の検定は、おが粉培地を用いることが必要であることが明らかになった。

以上のことから、おが粉培地と*T. harzianum*を用いる23℃下の耐性試験を行うことにより、多くのトリコデルマ種に対して強耐性を示すムキタケ菌株が選抜できることが明らかになった。本手法を用いて121種類のムキタケ菌株を検定し、トリコデルマ強耐性と子実体高収量を併せ持つ菌株としてSPs-61、SPs-75などを選抜した。トリコデルマに対してほとんどあるいは全く耐性を持たない菌株が64%あり、ほぼ同じ条件で検定したシイタケの同値が25%程度であることに比較すると、ムキタケのトリコデルマ耐性は概して低い。強耐性菌株の育種が必要であることを示している。

きのこの食味は嗜好性に大きな影響を与えるが、ムキタケの野生菌株には、苦味を感じるものが多い。一方、ムキタケには糖・糖アルコールが多いことが報告されており、中でもマンニトール

とトレハロースが多い菌株が良い味覚を呈することが判っている<sup>53)</sup>。その検証として行った本調査では、供試した93菌株中苦味を感じないものが51種類確認され、そのなかで甘味を感じた菌株が19種類認められた。子実体収量にも大きな菌株間差異がみられ、収量と食味ともに優れた菌株として5種類を選抜した。しかし、子実体の収量、食味およびトリコデルマ耐性の全てにおいて優れた野生菌株は得られておらず、今後の交雑による育種が必要である。（第III章）

ムキタケに関しては、まだ種苗登録されている品種はなく、食味をはじめとする実用形質に関する報告も皆無に近い。そのような中で、糖尿病予防効果が期待できるグリケーション阻害作用が他のきのこに比べて強いことが報告されており<sup>54)</sup>、生活習慣病の予防への効果も期待できる。

以上の結果を踏まえながら、ムキタケの実用栽培を推進するとともに、優良品種の作出に向けて研究を進めていきたい。

## 摘 要

ムキタケ (*Panellus serotinus* (Fr.) Kühn.) は優れた食用きのことして知られるが、実用的な栽培を行うための培養条件や品種改良に関する研究はほとんど報告されていない。本研究では、ムキタケの袋栽培を実用化するため、本菌の培養条件を解明するとともに、病害菌トリコデルマ (*Trichoderma* spp.) に耐性を有する菌株等の選抜を行った。また、交配育種の基盤整備として、交配系や核の行動を調査した。

### 1. 生活環と交配系の調査

ムキタケの担子器の電子顕微鏡観察、核の行動の観察および単孢子菌糸体（一核菌糸体）相互の交配反応を調査した結果、本菌が典型的な帽菌類の生活環を有し、交配系は2極性ヘテロリズムであることを確認した。担子胞子の形成と核の行動はシイタケの場合と同様のパターンを示した。即ち、担子器で形成された四分子核は担子胞子へ移動後、1回の体細胞分裂を経て、それぞれ1個の核は担子胞子に留まり、他の1個は担子器へ戻った。

### 2. 培養条件

ブナ (*Fagus crenata* Blume) おが粉（粒径大 1.0~2.0 mmあるいは小 0.25~1.0 mm）に米ぬかを容積比で 10:1, 10:2 あるいは 10:3 に混和し、含水率を 55% から 70% までの 4 段階に設定した 24 種類の培地を調製した。これら培地にムキタケ菌糸体を接種し、23℃で 90 日間培養後、10℃で子実体を発生させた。子実体の収量は含水率が高く米ぬか添加量が多い培地ほど多く、培地含水率が高いと発生した子実体の含水率も高くなる傾向があった。結論として、ブナおが粉の粒径小、米ぬか添加率 10:3、含水率 65% の培地が最適であり、実用栽培を想定した大容量袋（1,200g）では約 280g/袋の収量を達成した。なお、子実体原基の形成温度は 10℃が至適であった。また、子実体を多く発生する培地における子実体発生処理時の培養袋内の CO<sub>2</sub> 濃度と培地の気相率は、それぞれ 3.1% および 46% であり、子実体形成を阻害する範囲では無いと思われた。栽培コスト低減のため、菌床シイタケ栽培用のチップ（数種の広葉樹材の混合物）について適用性を試験したところ、菌株によってはムキタケ培地としての利用が可能であることを認めた。

### 3. トリコデルマ耐性菌株の選抜

ムキタケとトリコデルマとの拮抗作用を種々の条件のおが粉培地で調査するとともに、トリコデルマ強耐性のムキタケ菌株の選抜を行った。ムキタケのトリコデルマ耐性は粒径 0.25-1.0mm、米ぬか添加率小 (10:1) の培地の方が粒径 1.0-2.0mm、米糠添加率大 (10:3) の培地よりも強いなど、培地条件によって異なった。この理由の一つとして、ムキタケとトリコデルマとでは菌糸伸長に適した生育条件が異なり、ムキタケに適した条件下ではムキタケの抵抗力が強くなり、トリコデルマに適した場合は侵害度が強くなることが考えられた。

*T. harzianum*, *T. polysporum*, および *T. viride* の3種のトリコデルマに対するムキタケの耐性度には正の相関があることから、1種のトリコデルマを用いる選抜によって普遍的なトリコデルマ強耐性菌株が選抜できることが明らかとなった。*T. harzianum* を用いる検定により、全国各地で採集した 121 種類のムキタケ菌株のなかから、トリコデルマ強耐性と子実体高収量を示す菌株として SPs-61 や SPs-75 を選抜した。なお、おが粉培地上でのムキタケのトリコデルマ耐性度は菌糸伸長度とは正の相関を示したが、材腐朽度および PDA 培地上でのトリコデルマ耐性度とは相関しなかった。

ムキタケの子実体収量には大きな菌株間差異があり、無発生のものから 65g（400g袋当たり）を超えるものまでが認められた。また、ムキタケの野生菌株には苦味を感じるものが多くあるといわれるが、調査93菌株中苦味を感じないものが51種類あり、そのなかで甘味のあるものが19種類認められた。甘みと多収性とを併せ持つ菌株を数種類選抜することができ、これらは将来の育種材料として有望である。

## Abstract

*Panellus serotinus* (Fr.) Kühn. , mukitake in Japanese, is known as a tasty edible mushroom in Japan. Its biological nature and the practical method of cultivation have not been studied sufficiently so far. This study focused on the culture conditions and strain selections of *P. serotinus* to develop practical cultivation method of the mushroom.

### 1. Life cycle and nuclear behavior of *P. serotinus*

Analysis of mating pattern and ultrastructural observation of basidiocarps showed that this fungus has a typical life cycle of Hymenomycetes with bipolar mating system. The nuclear behavior during basidiospore formation was examined. After meiosis occurred in the basidia, each of the resultant four haploid nuclei migrated into a basidiospore and there divided mitotically. The daughter nucleus proximal to the basidium migrated from each spore back into the basidium so that the mature basidium bore four uninucleate basidiospores and then four residual nuclei in basidium degenerated.

### 2. Culture conditions

In order to test the fruiting body production of *P. serotinus*, various sawdust-rice bran media were prepared as the size of sawdust particle of *Fagus crenata* (0.25-1.0mm and 1.0-2.0mm indiameter) ,the sawdust-to-rice bran ratio (10:1 to 10:3) , and the moisture contents (55-70%) . It was determined that the optimum temperature for fruiting of *P. serotinus* was at 10 °C when the spawn running was performed for 90 days at 23°C. Higher moisture content and higher rice bran content of the media tended to increase the fruiting body yield, and higher moisture content of the media produced watery fruiting bodies. It appeared that the medium composed with smaller sawdust particle, 10:3 of sawdust-to-rice bran ratio, and 65% of moisture content was suitable for the cultivation of this mushroom. The CO<sub>2</sub> content and the air ratio against the medium volume in the plastic bag at 90 days of the mycelium incubation (the timing of fruiting treatment) was 3.1-3.3% and 34-46%, respectively.

### 3. Selection of strains resistant to *Trichoderma* spp.

*Trichoderma* spp. such as *T. harzianum*, and *T. polysporum* often attack and kill *P. serotinus* mycelium in bedlogs and in sawdust culture. Interactions between *P. serotinus* and *Trichoderma* spp. were observed on various types of sawdust media, and *P. serotinus* strains resistant to *Trichoderma* spp. were selected. The degree of damage to *P. serotinus* caused by *Trichoderma* spp. varied with medium parameters, e.g., smaller sawdust particles (0.25-1.0 mm in diameter) and a lower addition of rice bran (sawdust-to-rice bran ratio, 10:1) increased the resistance of *P. serotinus* against *Trichoderma* more than larger sawdust particles (1.0-2.0mm) and a higher addition of rice bran (10:3) . The mycelial growth rate of *P. serotinus* on those media tended to positively affect their resistance, and the faster growth of *Trichoderma* mycelium made its pathogenicity strong. To select a strain of *P. serotinus* universally resistant to *Trichoderma* spp., the use of one *Trichoderma* spp. was sufficient. This is because the degrees of damage to *P. serotinus* by *T. harzianum*, *T. polysporum*, and *T. viride* were positively correlated. Of the 121 different strains of *P. serotinus* collected throughout Japan, SPs-61 and SPs-75 were selected as strongly resistant strains using an isolate of *T. harzianum* as a test fungus. The two strains also showed high harvest property. The resistance of *Panellus* strains to *Trichoderma* on the sawdust medium correlated positively with their mycelial growth rate but not with their wood-decaying ability and with their resistance to *Trichoderma* spp. on PDA medium.

Fruiting body yield of this mushroom showed wide variation among strains. Comparison of the taste of fruiting bodies of these strains revealed that 51 strains showed no bitter and 13 strains tasted sweet. The selected strains will be useful for breeding of excellent mukitake strains which have rich harvest and nice taste in addition to anti-Trichoderma properties.

## 引用文献

- 1) 今関六也, 本郷次雄編著: 原色日本新菌類図鑑 (1), 保育社, 1987, pp. 95.
- 2) 熊本きのこ会: "熊本のきのこ", 熊本日日新聞社, 1992, pp. 73.
- 3) 広島きのこ同好会, 比婆科学教育振興会: "広島県のきのこ", 中国新聞社, 1992, pp. 56.
- 4) 信州きのこ研究会: "信州きのこ百科", 信濃毎日新聞社, 1982, pp. 186.
- 5) 小川眞編: "野生きのこのつくり方", 全国林業改良普及協会, 1992, pp. 41-47.
- 6) 伊藤英武, 瀧澤南海雄, 中村米松, 押切靖: 北海道林産試験報 3 (2), 18-25 (1989)
- 7) 渡部正明, 我妻実: 福島林試研報 23, 81-101 (1990)
- 8) 国友幸夫: 群馬林試業報 H 3 版, 24-25 (1991)
- 9) 国友幸夫: 群馬林試業報 H 7 版, 57 (1995)
- 10) 川島祐介, 国友幸夫: 群馬林試研報 6, 35-40 (1999)
- 11) 蒲原邦行: 佐賀林試報 H 8 版, 49-55 (1997)
- 12) 蒲原邦行: 佐賀林試報 H 10 版, 34-42 (1999)
- 13) 蒲原邦行: 佐賀林試報 H 11 版, 39-47 (2000)
- 14) 蒲原邦行: 佐賀林試報 H 12 版, 25-32 (2001)
- 15) 蒲原邦行: 佐賀林試報 H 13 版, 29-34 (2002)
- 16) 蒲原邦行, 桑原康成, 石松 誠: 日林九試研論集 51, 163-164 (1998).
- 17) 武丸恒雄: 遺伝, 9月号, 10-11 (1977).
- 18) 橋本一哉: 「マッシュルーム栽培法」, 農村文化社, 東京, 1987, pp33-35.
- 19) 永井行夫, 温水竹則: 国立林試研報 57, 1-6 (1952).
- 20) 蒲原邦行, 時本景亮: 日本きのこ学会誌 14 (1), 19-27 (2006).
- 21) Duncan, E. G. and Galbraith, M. H. 1972. Trans. Br. mycol. Soc. 58:387-392.
- 22) Murakami, S., Takemaru, T., Trans mycol. Soc. Japan 26, 253-260 (1985).
- 23) Tsuneda, A., Murakami, S., Nishimura, K. and Miyaji, M. 1986. Can. J. Bot. 64: 1112-1119.
- 24) Nakai, Y. and Ushiyama, R. 1974. Rept. Tottori Mycol. Inst. 11: 1-6.
- 25) 中井幸隆: 菌茸研究所研究報告 24, 148-159 (1986)
- 26) 蒲原邦行, 時本景亮: 木材学会誌 50, 183-192 (2004)
- 27) Watanabe, K. : Mokuzai Gakkaishi 41, 767-773 (1995)
- 28) Tokimoto, K., Fukuda, M. and Tsuboi, M. : Mycoscience 39, 217-219 (1998)
- 29) Garyf, Leatham, Mark A. and Stahmann: 88 (1), 9-20 (1987)
- 30) Niederpruem, D. J. : J. Bacteriol. 85, 1300-1308 (1963)
- 31) Matsumoto, T., Kitamoto, Y. : Trans. mycol. Soc. Japan 29, 265-270 (1988)
- 32) 坪井正知, 時本景亮: Rep. Tottori Mycol. Inst 37, 57-63 (1999)
- 33) 瀧澤南海雄: 「キノコの事典」, 朝倉書店, 東京, pp. 392-397 (1982)
- 34) 穴水義徳, 井上裕一: 山口林総センター業報 H 8 版, 22-25 (1996)
- 35) 富樫巖, 伊藤清, 宣寿次盛生, 原田陽: 木材学会誌 42, 1258-1263 (1996).
- 36) 山本秀樹, 中村公義, 松原喜光, 吉田利男: 長野野菜花き試報 10, 71-77 (1997).
- 37) 岡部貴美子, 宮崎和弘, 山本秀樹: 日本応動昆学会誌 45 (2), 75-81 (2001).
- 38) Seaby, D. : "Trichoderma and Gliocladium", Gary E. H. and Christian P. K. ed., Taylor & Francis, 1998, pp. 267-287.
- 39) 鳥越茂: 兵庫林試報 26, 15-23 (1984).
- 40) Tokimoto, K., Komatsu, M., Fukumasa-nakai, Y. : Proc. Japan Acad. 70, Ser. B, 112-116 (1994).

- 41) Ohmasa, M., Tsunoda, M., and Hiraide, M. "Science and Cultivation of Edible Fungi",  
Elliotted., Rotterdam, 1995, pp. 579-585.
- 42) 宮崎和弘,砂川政英,根田 仁,角田光利:日林九試研論集 48, 233-234 (1995).
- 43) 時本景亮,福政幸隆,松本晃幸,前川二太郎: 木材学会誌 44, 351-359 (1998)
- 44) 竹原太賀司,熊田淳: 福島林試報27, 107-119 (1995).
- 45) Tokimoto, K., Komatsu, M.: *Can. J. Bot.* 73, S962-S966 (1995).
- 46) 大賀祥治,近藤民雄: 木材学会誌 27, 136-140 (1981).
- 47) Fujita, T., Takaishi, Y., Okamura, A.: *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1981, pp. 413-414.  
(1981).
- 48) Mumpuni, A., Sharma, H. S. S., Averil E. Brown: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 5053-5056  
(1998).
- 49) Tokimoto, K. : *Trans. mycol. Soc. Japan* 23, 13-20 (1982).
- 50) Kitamoto, Y., Kono, R., Tokimoto, K., Mori, S., Ichikawa, Y.: *Trans. mycol. Soc. Japan*  
26, 69-79 (1984).
- 51) Tokimoto, K., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y.: *Proc. Japan Acad.* 63, Ser. B, 277-280  
(1987).
- 52) 蒲原邦行, 大塚静雄:全国レベル研究会発表要旨 H10版, 45-64 (1998)
- 53) 女子栄養大学栄養化学研究所 : ムキタケ成分分析報告書 (佐賀県委託) 11 (1999)
- 54) 高島幸司, 赤松やすみ, 金子周平, 蒲原邦行 : 第52回日本木材学会研究発表要旨集  
422 (2002).

## 学位論文の基礎となる学会誌公表論文のリスト

### 1 (第II章)

題目：ムキタケ菌床栽培の実用化のための栽培条件の検討 蒲原 邦行・時本 景亮

学術雑誌名 巻・号・頁：日本きのこ学会誌 VOL. 14, No.1, p. 19-27 (2006)

### 2 (第III章)

題目：ムキタケにおけるトリコデルマ強耐性菌株の選抜 蒲原 邦行・時本 景亮

学術雑誌名 巻・号・頁：日本木材学会誌 VOL. 50, No.3, p. 183-192 (2004)