

資 料

シメジ属の菌根性キノコ3種の菌糸培養特性*

水谷和人

キーワード：ホンシメジ，シャカシメジ，カクミノシメジ，菌糸培養特性，菌根性キノコ

I はじめに

キシメジ科シメジ属は、我が国に約10種のキノコが存在することが知られており、腐生性キノコと菌根性キノコが存在することやアンモニア菌が含まれるなど非常に変化に富んだグループである（今関ら，1987）。また、ホンシメジ，シャカシメジ，カクミノシメジなど、食用キノコを多く含むグループでもある。

ホンシメジは、我が国に広く分布する代表的な食用キノコである。本菌はアカマツやコナラと共生する菌根性キノコで、人工栽培は困難と考えられてきたが、寄主植物を使わずに純粋培養下において子実体を発生させることが可能であることが示された（Ohta, 1994；吉田ら，1994；Watanabe et al., 1994）。その後、実用的な栽培方法について種々検討が進められ、現在では人工栽培されて高級食材として市場に流通するまでになっている。シャカシメジおよびカクミノシメジは、食用キノコとしての味の評価はホンシメジに比較すると劣るが、いずれもホンシメジと同様に菌根性の食用キノコである。これら2種は、純粋培養下での子実体発生事例が報告されているものの（菅原ら，1988；衛藤，2000）、実用化には至っていない。

菌根性キノコのホンシメジが実用栽培に至った理由として、太田（1998）は、ホンシメジは生理的性質の系統間変異が著しい種であり、純粋培養下での子実体形成能力にも大きな変異があつて、それが栽培に結びついた可能性があるとして述べている。また、ホンシメジやシャカシメジは日本では菌根性とされているが、欧米でシメジ属は菌根性とはされていない（山中ら，1998）。これらのことは、菌根性キノコでも腐生的な性質を強く持つなど栽培しやすい系統が野生種にはまだ存在している可能性があり、それらを探索してその特性を把握することの重要性を示している。そこで、当研究所で所有するシメジ属のホンシメジ，シャカシメ

ジ，カクミノシメジについて、菌糸培養特性として菌糸伸長速度・培養菌糸のコロニー形態，酢酸添加の影響，バーベンダム反応，ブナ木粉培地上での菌糸伸長速度，実用栽培規模での子実体形成について調査した。

II 材料および方法

供試菌

供試菌は当研究所で組織分離したホンシメジ *Lyophyllum shimeji* (LSH-17)，シャカシメジ *L. fumosum* (LFU-8)，カクミノシメジ *L. sykosporum* (LSY-1) で、これらはPDA（市販DIFCO社製，以下同じ）平板培地，あるいは赤玉土に米ぬかを10:1～2（v/v）で添加して含水率を調整した培地（以下，赤玉土培地とする）で21℃の暗所で静置培養したものを接種源として供試した。酢酸添加の影響を調べるためには、これら以外にシイタケ *Lentinus edodes*（北研600号）を供試した。

1. PDA平板培地での菌糸伸長速度および培養菌糸のコロニー形態

試験に使用した培地はPDA培地で、直径90mm，厚さ15mmの滅菌シャーレに20ml入れ，あらかじめPDA平板培地で培養した培養菌糸のコロニー先端部付近からコルクボーラで打ち抜いた直径5mmの菌糸片を接種した。その後，シャーレをビニールテープで密封し，23℃の暗所（作業時を除く）で静置培養した。20日間培養した後，培養菌糸のコロニー形態を肉眼観察し，菌叢直径を計測して菌糸伸長速度を求めた（供試数は各3枚）。

2. 酢酸の添加と菌糸伸長速度

試験に使用した培地は，改変MA培地（グルコース10g，麦芽エキス10g，ペプトン1g，寒天20g，蒸留水1L）で，酢酸の影響を比較するため酢酸を0.1ml／

* 本研究の一部は、日本応用きのこ学会第5回大会において発表した。

L 添加および0.2ml/L 添加した。各培地は滅菌後、直径90mm、厚さ15mmの滅菌シャーレに20ml入れ、あらかじめPDA平板培地で培養した菌糸体をコルクボーラで直径5mmに打ち抜いたものを接種した。その後、シャーレをビニールテープで密封し、21℃の暗所（作業時を除く）で静置培養した。菌叢直径が概ね5cmに達した時点で菌糸伸長を測定し、各条件5枚のシャーレの平均菌糸伸長速度を求めた。

3. バーベンダム反応

各供試菌のバーベンダム反応を把握するために、浅輪（1989）に準じて、エタノールを5%添加したPDA培地、および7mMのα-ナフトールを溶解したエタノール溶液を5%添加したPDA培地で比較した。各培地は滅菌後、直径90mm、厚さ15mmの滅菌シャーレに20ml入れ、別途PDA平板培地で培養した菌糸体をコルクボーラで直径5mmに切り取って接種した。その後、シャーレをビニールテープで密封し、23℃の暗所（作業時を除く）で20日間静置培養して培地の色や生育状況などを観察した。供試数は各3枚である。

4. ブナ木粉培地での菌糸伸長速度

水道水で含水率65%に調整したブナ木粉30gを直径24mm、長さ200mmの試験管に約120mmの高さまで詰めて、シリコ栓で蓋をした。120℃で30分間滅菌し、あらかじめ赤玉土培地で培養した菌糸体を接種し、23℃で20日間暗所（作業時を除く）で静置培養した。供試数は各3本で、20日間培養後に接種面から下方に伸長する菌糸の先端部までの距離を4方向で測定し、1日当たりの菌糸伸長速度を求めた。

5. 実用栽培規模での子実体形成

太田（2002）の方法に準じて実用栽培規模での子実体形成を検討した。培地組成は、押麦19.5L、ブナ木粉30.0L、添加液18.0L（添加液の組成は、水道水1Lに対してクエン酸0.5g、リン酸1カリウム0.1g、硫酸マグネシウム0.2g、アセチルアセトン5μl、塩化第2鉄50mg、硫酸マンガン0.03mg、硫酸銅1.5mg、硫酸コバルト0.3mg、硫酸ニッケル0.1mg、硫酸亜鉛1.0mg）である。これらを混合して1晩置いたものをナメコ栽培用の広口800ml栽培ビンに300g詰めた。滅菌条件は120℃で100分間とし、滅菌後に別途赤玉土培地で培養したホンシメジ、シャカシメジ、カクミノシメジを接種した。接種後、21℃で60%RHの暗所（作業時を除く）で静置培養し、菌糸が蔓延した時点で16℃、90%RHの部屋へ移動した。その際に、ホンシメジとシャカシメジのみピートモス（ピートモス3.0L、炭酸カルシウム11g、水道水1.1Lを混合して120℃で90分間

滅菌したもの）で培地表面を厚さ1cm程度に被覆した。培地供試数は各10個で、接種後約8ヶ月間にわたり子実体発生等を調査した。

Ⅲ 結 果

1. PDA平板培地での菌糸伸長速度および培養菌糸のコロニー形態

3種ともPDA平板培地では、高い菌糸密度で比較的容易に伸長した。菌糸伸長速度は、カクミノシメジとホンシメジが同程度で、シャカシメジはこれらに比較して遅かった（表-1）。PDA培地上の培養菌糸は、ホンシメジがコロニー全体に気中菌糸が形成されたのに対して、カクミノシメジは接種付近にのみ長めの気中菌糸が出現し、シャカシメジでは気中菌糸は観察されなかった。また、シャカシメジとカクミノシメジでは接種付近が黄変したが、ホンシメジでは黄変しなかった。カクミノシメジのコロニーの表面は光沢があり、放射状の条線ができた。

表－1 PDA 培地上における菌糸伸長速度

種	菌糸伸長速度 (mm/day)
ホンシメジ	1.05±0.08
シャカシメジ	0.76±0.07
カクミノシメジ	1.18±0.08

供試数は各3枚、菌糸伸長速度は平均値±標準偏差

2. 酢酸の添加と菌糸伸長速度

ホンシメジとシャカシメジは、酢酸添加による菌糸伸長阻害は少なく、0.2ml/L 添加でも酢酸無添加培地の菌糸伸長速度に対して93～95%であった（表-2）。それに対して、カクミノシメジでは酢酸添加により菌糸伸長速度が低下し、0.2ml/L 添加では無添加の約63%となった。ブナ木粉を高圧滅菌すると酢酸が発生し、この酢酸がシイタケの菌糸伸長を阻害することが報告されている（目黒ら、1991）。しかし、今回の酢酸の濃度では、ホンシメジやシャカシメジはシイタケよりも菌糸伸長阻害を受けにくかった。

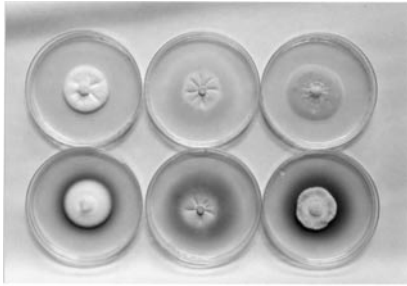
3. バーベンダム反応

ホンシメジ、シャカシメジ、カクミノシメジとも、α-ナフトールを添加していない培地では変色しなかったが、α-ナフトールを添加した培地はすべてが褐色に変化した（図-1）。3種とも培地中のα-ナフトールに由来する酸化物が生成して褐色を示したことから、リグニン分解酵素などの酸化酵素が存在すると考えられた。

表－2 酢酸添加量と菌糸伸長速度

種	無添加	酢酸0. 1m1/L添加		酢酸0. 2m1/L添加	
	菌糸伸長速度	菌糸伸長速度	相対値	菌糸伸長速度	相対値
ホンシメジ	1. 71±0. 04	1. 96±0. 03	115	1. 63±0. 06	95
シャカシメジ	1. 30±0. 02	1. 35±0. 03	104	1. 21±0. 05	93
カクミノシメジ	1. 30±0. 02	1. 26±0. 02	97	0. 82±0. 04	63
シイタケ	3. 06±0. 21	3. 02±0. 31	99	2. 74±0. 29	90

菌糸伸長速度：mm/day，相対値は酢酸無添加培地の菌糸伸長速度に対する比，供試数は各5個



カクミノシメジ ホンシメジ シャカシメジ
図-1 バーベンダム反応
下段はα-ナフトールを添加，上段は無添加

4. ブナ木粉培地での菌糸伸長速度

3種とも菌糸はブナ木粉のみの培地で伸長したが，菌糸密度は極めて低かった。ホンシメジの菌糸伸長速度は0. 83mm/dayで，カクミノシメジの0. 79mm/dayと同程度であった。シャカシメジは0. 23mm/dayで，ホンシメジおよびシャカシメジの約1/4であった。

5. 実用栽培規模での子実体形成

子実体形成の状況を表-3，図-2，図-3に示した。ホンシメジおよびカクミノシメジは菌糸の蔓延に約2ヶ月，シャカシメジは約3ヶ月を要した。ホンシメジは蔓延時には原基が形成されず，覆土して16℃の部屋へ移動した後約1ヶ月ですべてのビンに原基が形成された。子実体は接種102～223日後に1ビン当たり70. 0 g（培地重量の23%）が採取できた。カクミノシメジは蔓延時にすべての供試ビンで原基を形成し，16℃の部

屋へ移動して約1ヶ月後に1ビン当たり74. 7 g（培地重量の25%）の子実体が採取できた。

ホンシメジでは培養中に一部雑菌が混入した。シャカシメジは雑菌の混入により栽培の継続が困難で廃棄する栽培ビンが半分を占め，残りの半分は雑菌が混入せずに菌糸は蔓延したが，覆土をしても子実体は発生しなかった。



図-2 ホンシメジの発生状況



図-3 カクミノシメジの発生状況

表-3 純粋培養下での子実体形成

種	子実体形成割合(%)	子実体発生量(g)	子実体採取時期
ホンシメジ	100	70. 0±12. 9	接種102～233日
シャカシメジ	0	0	—
カクミノシメジ	100	74. 7±4. 0	接種91日

供試数は描10個，シャカシメジは培養中に雑菌混入により5本を廃棄
子実体形成割合は子実体発生ビン数/供試ビン数

Ⅳ 考 察

シメジ属の菌根性キノコであるホンシメジ、シャカシメジ、カクミノシメジの3種について菌糸培養特性を調査した。なお、調査した菌糸培養特性は、キノコの施設栽培では培地基材に木粉を使用する場合が多いため、木粉を想定したものとした。

3種ともPDA平板培地では、菌糸が高い密度で比較的容易に伸長した。培養菌糸のコロニーは、菌糸伸長速度、気中菌糸の有無、条線の有無やコロニーの光沢に違いが見られ、コロニーの形態から3種を区別することが可能であった。ブナ木粉のみの培地では3種とも菌糸が伸長したものの、菌糸密度は極めて低かった。木粉を分解する能力があるかどうか不明であるが、パーベンダム反応の結果から、3種ともにリグニン分解酵素などの酸化酵素を分泌すると考えられた。ブナ木粉を高圧滅菌して発生する酢酸は、キノコを栽培する上での阻害要因である（目黒ら，1991）。今回添加した酢酸量（0.2ml/L添加）では、ホンシメジやシャカシメジは菌糸伸長阻害をあまり受けず、カクミノシメジに阻害が大きかった。しかし、ブナ木粉培地および実用栽培規模での菌糸伸長は、酢酸を生成していると考えられるにも係わらず、PDA平板培地と同じようにホンシメジやカクミノシメジが早く、シャカシメジで遅かった。このことから、ブナ木粉培地や実用栽培規模では、菌糸伸長は酢酸の影響だけではなく、酢酸以外の要因も関与していると考えられた。

実用栽培規模の培地では3種とも高い菌糸密度であった。ホンシメジ、カクミノシメジは供試したすべての栽培ビンから子実体が発生し、ホンシメジの子実体発生には最短でも接種後102日を要した。当研究所が所有するホンシメジ菌株は、ホンシメジの栽培所用日数は85～90日（太田，2002）に比較すると、10日以上長く、栽培期間が長いこと、発生のばらつきや雑菌の混入が課題である。シャカシメジは菌糸伸長が極めて遅く、子実体発生も全く見られなかった。

引用文献

- 浅輪和孝（1989）木材腐朽菌の酵素．（木材科学実験書Ⅱ・化学編．日本木材学会編，375pp，中外産業調査会，東京）．336-341．
- 衛藤慎也（2000）シャカシメジの純粋培養下での子実体形成．日本応用きのこ学会第4回大会講演要旨集：46．
- 今関六也・本郷次雄編著（1987）原色日本新菌類図鑑（Ⅰ）．325pp，保育社，大阪．
- 目黒貞利・平出政和・今村博之・坂井克己・河内進策（1991）高圧滅菌処理したブナ木粉中のシイタケ菌糸生長阻害物質．木材学会誌37（4）：375-378．
- Ohta, A. (1994) Production of fruit-bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. *Mycoscience*35：147-151．
- 太田明（1998）菌根菌栽培－林地から施設まで－．ホンシメジの施設栽培．日菌報39：121-124．
- 太田明（2002）ホンシメジ．（きのこ栽培全科．大森清寿・小出博志編，258pp，農山漁村文化協会，東京）．226-230．
- 菅原幸一・菅原忠幸（1988）カクミノシメジの容器内培養と子実体形成．日本菌学会第32回大会講演要旨集：21．
- 山中勝次・太田千絵（1998）ホンシメジおよびシャカシメジの菌糸体生長における栄養要求性．日本応用きのこ学会誌6（4）：159-165．
- 吉田博・藤本水石（1994）ホンシメジ菌床栽培の試み．日菌報35：192-195．
- Watanabe, K., Kawai, M. and Obatake, Y. (1994) Fruiting body formation of *Lyophyllum shimeji* in pure culture. *Mokuzai Gakkaishi*40：879-882．