

## 第2章 菌床培地による *Grifola gargal* 子実体の形成

### 1. 目的

機能性きのことして有名なヒメマツタケ (*Agaricus blazei* Murrill) は 1975 年に岩出菌学研究所で人工栽培に成功し<sup>112)</sup>、商業的きのこ生産方法が確立された後、薬理活性が明らかとなり、生理・生態に関する基礎的研究も盛んになった<sup>113)</sup>。*Ggargal* は今までにない独特の芳香をもつ食用きのこであるとともに、マイタケと同様の機能性も期待されることから、早急な人工栽培技術の確立が必要と考えられる。*Ggargal* の人工栽培化を検討するにあたって、周年栽培が可能で、常時きのこを供給できる菌床栽培法を試みた。まず、チリで採取した *Ggargal* 12 菌株の菌糸成長を比較し、菌株の選抜を行った後、同属であるマイタケの栽培方法を応用し袋栽培にて子実体形成試験を行った。次に、工業的に人工栽培をするためには培地基材の検討が必要であると考えられたため、入手可能な広葉樹および針葉樹の木粉培地にて子実体形成試験を行なった。最後に、保存している *Ggargal* 12 菌株すべてにおいてあらためて子実体形成試験を行い、各菌株の特徴を比較した。

## 2. 材料および方法

### 2.1 供試菌

*Ggargal* の供試菌は、株式会社 岩出菌学研究所保有の IWADE-GG000 から GG012 までの 12 菌株を用いた。この菌株をペプトン・グルコース・酵母エキス・寒天培地 (PGYA 培地) で培養し、種菌として実験に供した。

### 2.2 寒天培地による菌糸伸長試験

上記の組成の PGYA 培地 (pH5.5) を調製し、121℃で 20 分間滅菌した後、シャーレ (9cm) に分注し、あらかじめ培養しておいた供試菌 12 菌株の種菌 (5mm) を培地中央部に接種して、20℃で培養し、培養 22 日目にコロニー直径を測定した。

### 2.3 ブナ木粉培地による菌糸伸長試験

ブナ木粉とフスマを 4:1 の割合で混合し、水を加えて含水率を約 65% に調整後、大型試験管に 10g ずつ培地を充填し、121℃で 120 分間滅菌した。これにあらかじめ培養しておいた IWADE-GG000, GG006, GG007, GG008 および GG010 の計 5 菌株を接種して、20℃で 60 日間培養し、培養 22 日目にコロニー直径を測定した。

### 2.4 ブナ木粉培地による子実体形成試験

ブナ木粉とフスマを 4:1 の割合で混合し、水を加えて含水率を約 65%に調整後、培養袋に培地を 2.2kg ずつ充填し、121℃で 120 分間滅菌した。これにあらかじめ培養しておいた IWADE-GG000, GG006 および GG010 の 3 菌株を接種して、20℃で 60 日間培養して菌糸体を菌床培地全体に蔓延させた後に 10℃の発生室で子実体を発生させた。

## 2.5 培地基材の検討

培地基材として、チリより購入した *Notofagus oblicua* の木粉、松阪飯南森林組合より購入したコナラ・ミズナラ・クヌギ・カシワ・カシ類・シデ類・シイ・クリ・ヤシカブシ・エノキ・トチノキ・サクラ類が混合された広葉樹木粉、および有限会社村田産業より提供されたスギ木粉を使用した。各木粉とフスマを 4:1 の割合で混合して 2.2kg の培地を調製し、供試菌として IWADE-GG010 を用いて、上記と同様の方法で培養後、子実体を形成させ、収量を測定した。

## 2.6 12 菌株での子実体形成試験

広葉樹木粉とフスマを 4:1 の割合で混合して 2.2kg の培地を調製し、これにあらかじめ培養しておいた 12 菌株を接種して、上記と同様の方法で菌糸体を菌床培地全体に蔓延させた後に子実体を発生させた。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 寒天培地による菌糸伸張試験

岩出菌学研究所保有の 12 菌株を用いて、PGYA 培地で 22 日間培養し、菌糸成長を測定した。

**Fig.2-1** に示すように検討した 12 菌株のうち IWADE-GG000, GG006, GG007, GG008 および GG010 の 5 菌株の菌糸成長が比較的良好であることが明らかとなった。このため、これら 5 菌株を用いて、さらに木粉培地を用いて菌糸伸長試験を行なった。

#### 3.2 ブナ木粉培地による菌糸伸長試験

*Ggargal* と同属であるマイタケの栽培では、一般にブナ材を培地基材として用いている。このため、まずはブナ材を用いた木粉培地にて、寒天培地で菌糸成長が良好であった *Ggargal* 5 菌株を培養し、それぞれの菌糸伸長を比較した。**Fig.2-2** に示したように、ブナ木粉培地では IWADE-GG000, GG006, GG010 の 3 菌株で比較的菌糸成長が良かった。一方、寒天培地で最も菌糸伸長が良かった IWADE-GG007 と GG008 の 2 菌株はブナ木粉培地においては菌糸成長が劣り、菌糸密度も薄かった。このことから、寒天培地と木粉培地では、それらの結果が必ずしも一致せず、菌糸の成長は培地の成分にも影響されることが明らかとなった。

#### 3.3 ブナ木粉培地による子実体形成試験

ブナ木粉培地にて菌糸伸長が良好な上記の 3 菌株を用いて子実体形成試験を行なった。マイタ

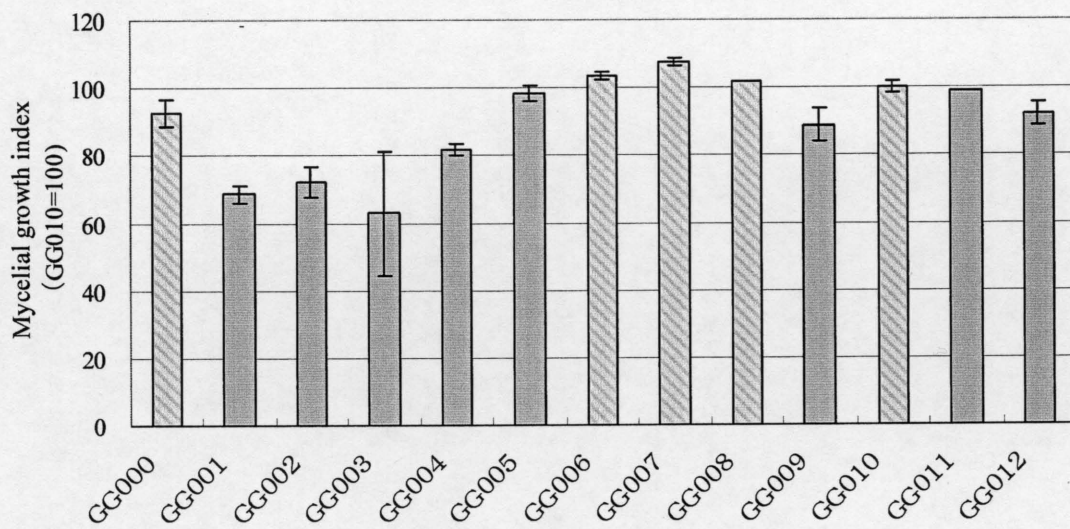


Fig.2-1 Mycelial growth of *G.gargal* 12 strains in PGYA media (Incubation for 22 days)

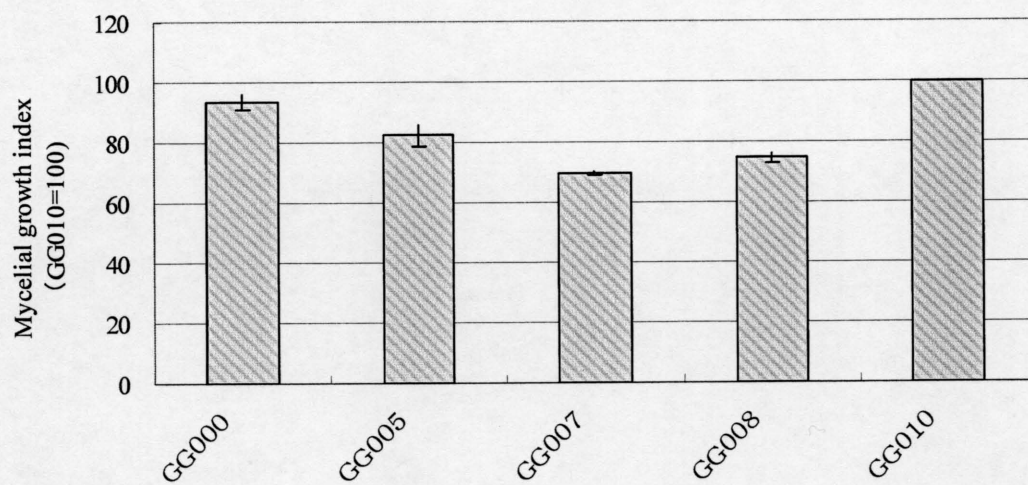


Fig.2-2 Mycelial growth of *G.gargal* 5 strains in buna wood meal media (Incubation for 28 days)

ケの袋栽培を応用して *Ggargal* の子実体を形成させたところ、いずれの菌株においても子実体が形成された。このことから、ブナ木粉培地において *Ggargal* を栽培することは十分に可能であると考えられた。また、形成された子実体には各菌株によって特徴があり、子実体収量、子実体形成日数および子実体の形態などに違いがみられた。これらの特徴を **Table 2-1** に示した。

IWADE-GG000 と比較し GG006 および GG010 の 2 菌株で収量がより多かった。また、子実体形成までの日数はこの 2 菌株でほとんど差はなかったが、子実体の形状に関しては違いがみられ、GG006 の傘は大きく黄色であるのに対し、GG010 の傘は GG006 よりも小さく、クリーム色であった。

このように、菌糸伸長にはほとんど差がなくとも、形成された子実体には収量や形態などに各菌株の特徴が見られることが明らかとなった。

培地基材の検討には子実体の形態に商業的価値があると思われる IWADE-GG010 を使用した。

### 3.4 培地基材の検討

*Ggargal* が自然に発生する *Notofagus oblicua* は和名で南極ブナと呼ばれ、同属のマイタケの栽培には通常ブナ材が培地基材として用いられていることから、子実体形成試験には国産ブナ材を用いた。しかし、きのこ栽培用の広葉樹木粉(オガコ)は一般に針葉樹木粉と比較して高価であり、ましてやブナ材のように単独の樹種を指定するとさらに高価となる上に、マイタケ栽培と競合することにより安定供給自体が困難になるのではないかと思われる。

Table.2-1 Fruit-body formation and characteristics of *G.gargal* 3 strains in buna wood meal Media

	GG000	GG006	GG010
Yields of fruit-body (g)	97.4±29.3	166.1±52.1	172.1±29.3
Cultivation period (days)	94±1	92±1	92±1
Size of pileus (S<M<L)	S	L	M
Color of pileus	Light-beige	Yellow	Cream



上述のように、天然の *Ggargal* は *Notofagus.sp* 主に *Notofagus oblicua* の枯木や倒木に発生すると Rajechnberg ら<sup>19)</sup>により記述されているが、実際にチリでは *Weinmannia trichosperma* (tineo)<sup>81)</sup> や *Eucryphia cordifolia* (ulmo)<sup>82)</sup> など *Notofagus.sp* 以外の樹木上でも発生が確認されており、現に本邦産ブナ材を使用した今回の木粉培地でも子実体を形成することが確認できた。これらのことから *Ggargal* の樹種選択性は比較的弱いのではないかと考えられた。そこで、シイタケ栽培等に用いられ、安価で比較的容易に入手できる広葉樹の木粉を使用して子実体形成試験を行なった。また、ブナシメジやエリンギ等の培地に使用され、広葉樹木粉よりもさらに安価である針葉樹スギの木粉を *Ggargal* の培地基材として使用することが可能か否かについても比較検討した。

子実体収量に及ぼす培地基材の影響について検討し、それらの結果を *Notofagus oblicua* の木粉培地にて得られた子実体収量を 100 とする指標で示した (Fig. 2-3)。広葉樹木粉単体を使用した培地においても子実体が形成され、子実体収量も培地あたり  $344 \pm 23.5\text{g}$  得られ、*Notofagus oblicua* 木粉単体での培地から得られた子実体収量 ( $360 \pm 58.9\text{g}$ ) と比較してもほとんど差がなかった。きのこ栽培において培地基材である木粉の粒度は、きのこの菌糸成長に大きく影響しており<sup>114)</sup>、実際のきのこ栽培においても菌糸成長を良くするために培地にチップダストあるいはコーンコブを添加し空隙率を上げる工夫を行なっている<sup>115)</sup>。このことから *Notofagus oblicua* 木粉単体および広葉樹木粉単体に比較して、ブナ木粉での収量 ( $172.1 \pm 29.3\text{g}$ ) が劣るのは、単なる基材の違いのみではなく木粉の粒度の差も影響しているの

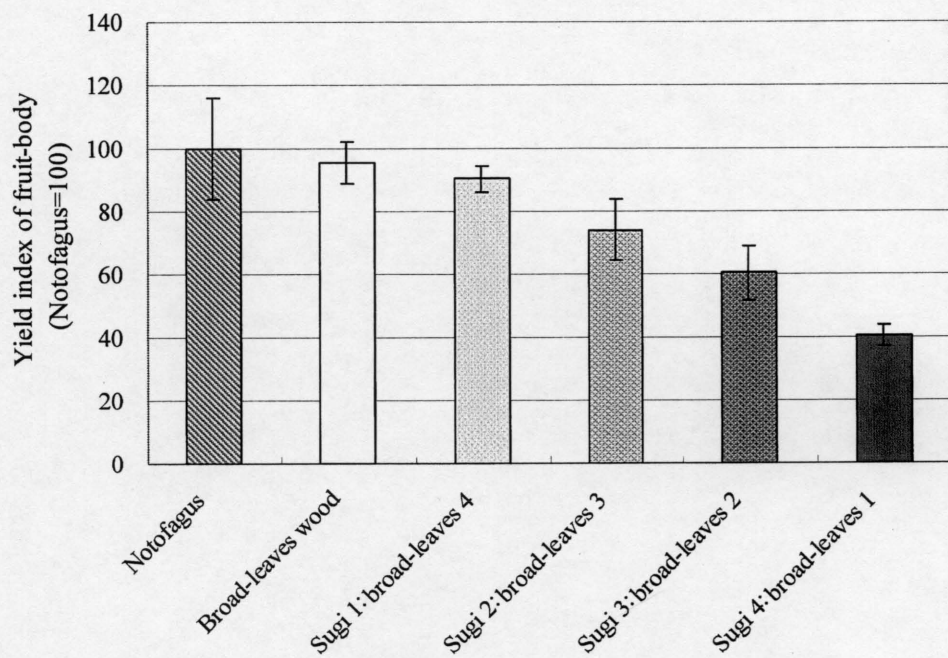


Fig.2-3 Fruit-body formation of *G.gargal* GG010 in various wood meal media.

ではないかと推測している。

これらの結果より, *Ggargal* は樹種選択性が比較的小さく, シイタケに使用される広葉樹木粉でも十分に栽培可能と考えられた。また, スギ木粉培地での栽培を検討したところ, スギ木粉添加の割合を増加させるほど子実体収量が減少する傾向が見られた。このことはシイタケ子実体形成にみられる傾向と同様であった。以上のことから, スギ木粉を添加しても子実体は形成されるが, 添加の割合が多いと収量が落ちるため, 広葉樹木粉:スギ木粉=4:1 程度が適当であると思われる。また, 培地基材と同様に培地に添加する栄養分の種類および量はきのこの子実体収量に大きく影響することは明らかである。このため, 栄養剤の添加効果を検討することで, さらなる子実体収量の増加も可能であり, スギ木粉の使用割合を増加させることも可能ではないかと考えられた。

### 3.5 12 菌株での子実体形成試験

上述のように, 用いる培地の種類によって, 菌糸成長や子実体形成が大きく影響を受けることから, 広葉樹木粉培地に適した優良菌株を選択する目的で, あらかじめ *Ggargal* の 12 菌株それぞれについて広葉樹木粉培地にて子実体形成試験を行なった。その結果, **Fig. 2-4** に示すように, 広葉樹木粉培地においても 12 菌株すべてで子実体を形成し, 中でも IWADE-GG004, GG005, GG006, GG010 および GG012 の子実体収量が多かった。子実体の形態などを考慮すると, GG004, GG006 および GG010 の 3 菌株が商業的きのこ生産の面から優良菌株である

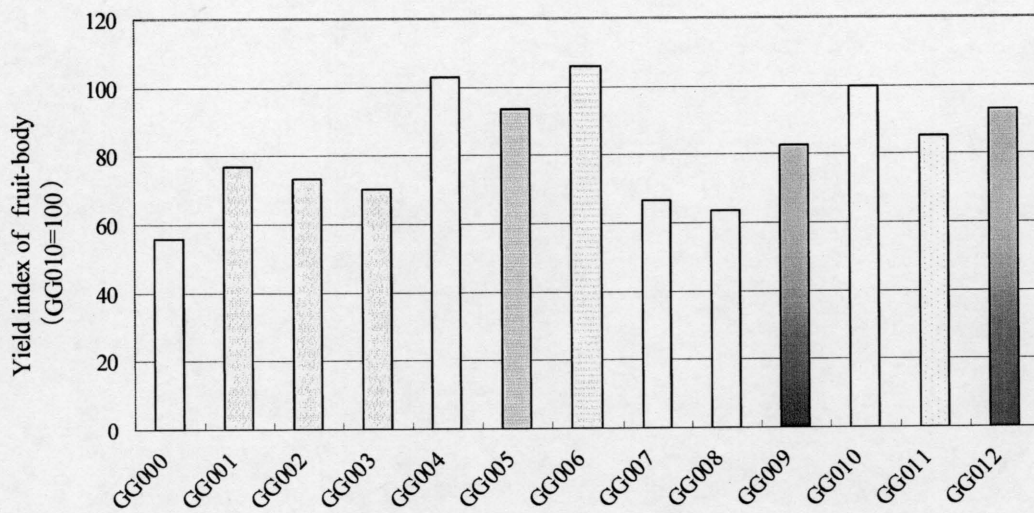


Fig.2-4 Fruit-body formation of *G.gargal* 12 strains in broad-leaves wood meal media

といえる(**Table 2-2**). しかし, GG001, GG0002 は子実体の肉質が柔らかく, GG012 は傘が大きく肉厚であるというように菌株によって多少食味に違いも見られたため, より食味特性が良いものを選択する必要もあると考えられる. また, 今後これらの菌株を用い, 交配・育種等による高品質・多収量の新菌株の作出も検討する予定である.

Table.2-2 Fruit-body characteristics of *G.gargal* 12 strains formed in broad-leaves wood meal media

Species	Color of pileus	Quality	Size of pileus (S<M<L)
GG000	Light beige	Tough	S
GG001	Gray	Tender	S
GG002	Gray	Tender	S
GG003	Gray	Tender	S
GG004	White		L
GG005	Dark yellow		S
GG006	Yellow		L
GG007	Yellow~Gray		M
GG008	Yellow~Gray		M
GG009	Orange~Black	Fleshy	L
GG010	Cream		M
GG011	Cream		M
GG012	Orange~Black	Fleshy	L

#### 4. まとめ

本研究では、*Ggargal* の菌床栽培による子実体形成について検討した。その結果、ブナ木粉および広葉樹木粉を使用した袋栽培によって子実体が形成されることが明らかとなった。さらに広葉樹木粉に針葉樹スギ木粉を混合した培地でも子実体を形成することは可能で、その添加割合は広葉樹:スギ=4:1が適当であった。

*Ggargal* の 12 菌株を用いて子実体形成試験を行なったところ、12 菌株すべてが子実体を形成したが、子実体の形状、色および肉質などには 12 菌株それぞれに違いがみられた。これらの結果をもとに、商業的きのこ生産に適している菌株は IWADE-GG004, GG006 および GG010 の 3 菌株と考えられる。今後はこれら特徴の異なる菌株を用いて、交配および育種を行ない、さらなる優良菌株の開発を行う必要があると考えている。