

野生きのこの栽培に関する研究
－薬用きのこ栽培技術－
(県単課題 平成9年～平成13年度)

熊田 淳
青野 茂

目次

要旨	57
I はじめに	57
II 実験材料および方法	58
1. ハナサナギタケ人工栽培試験	58
(1) 菌糸伸長特性の把握	58
(2) 接種源の検討	58
(3) 培地基材に用いる蛹の保存方法の検討	59
(4) 培養器の検討	59
(5) 収穫した子実体の殺菌条件の検討	59
2. マゴジャクシ人工栽培試験	60
(1) 菌糸伸長特性の把握	60
(2) アカマツ短木を用いた栽培試験	60
(3) 木粉培地を用いた栽培試験	60
3. コフキサルノコシカケ人工栽培試験	60
(1) 菌糸伸長特性の把握	60
(2) 原木を用いた栽培試験	61
(3) 木粉培地を用いた栽培試験	61
III 結果と考察	62
1. ハナサナギタケ人工栽培試験	62
(1) 菌糸伸長特性の把握	62
(2) 接種源の検討	63
(3) 培地基材に用いる蛹の保存方法の検討	64
(4) 培養器の検討	64
(5) 収穫した子実体の殺菌条件の検討	65
2. マゴジャクシ人工栽培試験	66
(1) 菌糸伸長特性の把握	66

受理日 平成14年2月28日

(2)アカマツ短木を用いた栽培試験	-----	67
(3)木粉培地を用いた栽培試験	-----	67
3. コフキササルノコシカケ人工栽培試験	-----	68
(1)菌糸伸長特性の把握	-----	68
(2)原木を用いた栽培試験	-----	68
(3)木粉培地を用いた栽培試験	-----	70
IV まとめ	-----	72
V 参考文献	-----	73

要旨

キノコ類の新たな需要拡大を目指し、薬理効果が期待される冬虫夏草のハナサナギタケ (*Isaria japonica* Yasuda)・マゴジャクシ (*Ganoderma neojaponicum* Imazeki)・コフキササルノコシカケ (*Elfvigia applanata*)の栽培法の開発を目的とし、3種のキノコについて基礎的生理試験と人工栽培試験を行った。

ハナサナギタケについては、既に当所で人工栽培法を確立しているが、課題として残された実用化のための大量培養法と劣化しやすい菌株の保存法について検討を行った。その結果、縦210mm、横170mm、深さ30mmのステンレストレイに蚕の乾燥蛹100gと水200mlを充填し、フィルター付きPP袋で包んだ培地を用いる栽培法を開発した。また、-85℃で保存した菌糸体または栽培子実体の分生胞子を接種源として次々と使用する方法が菌株の栽培特性の維持に有効であることが解った。

マゴジャクシについては、15cm程度の長さに玉切りしたアカマツ短木を、短木重量に対し生米糠5%、グルコース0.2%添加した98℃の熱水で3時間煮沸処理することにより、子実体形成が見られた。また、スギ木粉を培地基材とした菌床栽培においても子実体が形成された。これにより、マツクイムシ被害木、およびスギ間伐材のマゴジャクシ栽培による有効利用の可能性が見いだされた。

コフキササルノコシカケについては、コナラを用いた原木栽培において子実体が形成された。原木の長さは、90cm程度が子実体形成率が高かった。太い(直径18cm程度)原木は、野生子実体に近い大形な子実体生産に適するが、ほだ木の管理に注意が必要と考えられた。また、細い(直径10cm程度)原木は、総収量に重点を置いた栽培に有利で、管理も比較的容易と考えられた。一方、菌床栽培においては、20℃で60日間程度培養して発生操作を行うことにより、子実体が形成された。培地組成は、広葉樹木粉に対するフスマの混合比10:1が比較的収量性がよかった。培養終了時の浸水処理、または発生室(22℃相対湿度80%)での散水が子実体の大形化に効果が見られた。

I はじめに

自然食あるいは嗜好食としてのキノコ類の需要は、人工栽培の発展にともない、飛躍的に増大してきた。しかし、近年、食用としてのキノコ類の需要は、キノコの種類による増減は見られるが、全体としては横這い傾向にある。今後、キノコ類の需要を拡大するには、料理方法の拡大を目指した新品種開発、および野生キノコの人工栽培への取り組みが必須である。さらに、キノコ類が有する潜在的

有用性を明らかにすることにより、キノコ産業の新たな進展が期待される。

一部のキノコは、古くから薬用として利用されてきたが、最近、種々の生理活性物質を含むキノコ類に関する多くの報告¹⁾が見られる。キノコ類の生理活性物質としては、生体防御、生体機能調節等に関わるものが報告されているが、特に抗腫瘍性物質等に関する関心が高く、 β -D-グルカン等の活性成分が明らかにされている²⁾。

シイタケ(*Lentinus edodes*)のレンチナン³⁾、カワラタケ(*Coriolus versicolor*)のクレスチン⁴⁾、スエヒロタケ(*Schizophyllum commune*)のシゾフィラン⁵⁾、マイタケ(*Grifola frondosa*)のMT-1⁶⁾等は、多糖類制癌剤として既に実用化されている。また、最近、ヒメマツタケ(*Agaricus blazei*)⁷⁾、ヤマブシタケ(*Hericium erinaceum*)⁸⁾等の薬理効果が相次いで報告され、機能性食品としてのキノコに消費者の関心がますます高まっている。

このため、キノコ類の新たな需要拡大を目指し、冬虫夏草・マゴジャクシ(*Ganoderma neojaponicum* Imazeki)・コフキササルノコシカケ(*Elfvigia applanata*)の栽培法の開発を目的とし、3種のキノコについて基礎的生理試験と人工栽培試験を行った。

冬虫夏草は古くから漢方薬として珍重されてきたが、最近、これらのきのこに抗腫瘍性成分が含まれていることや免疫を高める作用があることがわかってきた。冬虫夏草のハナサナギタケ(*Isaria japonica* Yasuda)については、既に人工栽培法を確立⁹⁾したが、実用化のための大量培養法および母菌の安定的保存技術に課題が残されていた。

マゴジャクシは漢方薬で靈芝と呼ばれるマンネンタケと同じ仲間であるが、傘の色やマツ、モミ類などの針葉樹に生える点で区別される。このため、人工栽培によるマツクイムシ被害木のアカマツやスギ間伐材の有効利用が期待されるが、未だ栽培法が確立していない。

コフキササルノコシカケは、マンネンタケ科に属する多年生の「猿の腰掛け」である。このキノコは、制癌性があるのではということから古くから民間療法で用いられてきた。サルコマ180腹水癌ハツカネズミの腹腔内投与では、メシマコブ(*Phellinus linteus*)、カワラタケとともに強い抗癌性が認められた報告例¹⁰⁾があるが、未だ栽培法が確立していない。

II 実験材料および方法

1. ハナサナギタケ人工栽培試験

(1) 菌糸伸長特性の把握

供試菌株は、当所保管菌株 I j 97-4 株 (1997 年に郡山市安積町成田で採取した野生株から分離した菌株) とした。MYG 寒天培地 (水 1 l 当たり extract malt 20g, extract yeast 2g, glucose 10g, agar 20g, pH 5.5) 20ml を内径 9 cm のシャーレに分注し作成した平板培地に、径 5mm の寒天種菌を接種し、5~35℃ まで 5℃ 間隔で 7 通りの温度で培養を行い、接種 3 日目と 13 日目間の菌糸伸長量を測定し、1 日当たりの菌糸伸長速度を算出した。シャーレの枚数は各 5 枚とし、菌糸伸長速度の測定は 4 方向行った。また、pH を 4.5~7.0 まで 0.5 間隔で調整した MYG 寒天培地を用い、25℃ で培養し、接種 3 日目と 10 日目間の菌糸伸長量を測定し、pH 別の菌糸伸長速度を算出した。

(2) 接種源の検討

①接種源および菌株の保存法

ハナサナギタケ I j 97-1株を供試菌株とし、分生孢子由来菌糸体および分生孢子を用いた表-1に示した5通りの接種源について検討を行った。

表-1 ハナサナギタケ菌株の保存方法と接種源により設定した試験区

区の番号	保存方法			接種源
	期間(月)	温度(°C)	保存源	
①	3	-85	分生孢子由来菌糸体	分生孢子由来菌糸体
②	3	4	"	"
③	3	22	"	"
④	3	-85	栽培子実体	保存源の分生孢子
⑤	0	-	-	栽培子実体の分生孢子

栽培は径18mm、長さ12cmの

試験管に蚕の乾燥蛹を1個詰め、水を1ml添加後、120°Cで60分間滅菌し、上記の接種源を接種した。本数は各区50本とし、培養を22°Cで45日間行った。

②分生孢子を接種源とする場合の孢子濃度

上記の①試験では、適当に希釈した分生孢子懸濁液を用いた。このため、次に、血球計算板を用いて孢子懸濁液を900、9,000、90,000、900,000個/mlの4通りに調整し、分生子柄束（本試験では分生子柄束および分生孢子をハナサナギタケの子実体とする）形成に最適な分生孢子接種数を検討した。孢子懸濁液の接種量は、1mlとした。

(3)培地基材に用いる蛹の保存方法の検討

培地基材に用いる蚕の乾燥蛹を、常温と5°C定温の2通りの温度で、1年6ヵ月保存した。2通りの異なる温度条件で保存した蛹を用いて栽培を行い、分生子柄束形成率と子実体の高さを比較した。

径18mm、長さ12cmの試験管に蚕の乾燥蛹を1個詰め、水を1ml添加後、120°Cで60分間滅菌し、I j 97-4株子実体の分生孢子を接種し、栽培試験を行った。本数は各区50本とし、培養を22°Cで45日間行った。

(4)培養器の検討

ハナサナギタケは、試験管を培養器として人工栽培実験を行い、子実体形成に成功した。しかし、試験管を培養器とした場合、収穫時に子実体を破損しやすく取り出しにくいいため、実用化を目指した大量培養には、培養器の検討を要する。

このため、縦210mm、横170mm、深さ30mmのステンレストレイおよび、同様のトレイに直径25mm、高さ15mm、容量5mlのミニカップを30個並べた2通りの培養器について、培地基材の蛹の充填量を変えた栽培試験を行った。

ステンレストレイは、蛹重量を50、75、100gの3通りとし、添加水量は蛹重量の2倍とした。ミニカップは、1、2、3個の3通りの充填個数とし、添加水量は蛹1個に対し1mlとした。培地基材と水を充填した各培養器をフィルター付きPP袋に包んだ後、121°Cで60分間殺菌を行った。放冷後、I j 97-4株子実体の分生孢子を発芽させたMYG平板培地を径5mmのコルクボーラで打ち抜いた寒天片（I j 97-4株分生孢子由来菌糸体）を接種し、24°Cで培養した。

(5)収穫した子実体の殺菌条件の検討

ハナサナギタケは大量の分生孢子が形成されるために、子実体収穫時に孢子が大量に飛び散り、孢子による汚染が危惧されたため、収穫前に殺菌を行うことが望ましい。そこで、乾熱滅菌器を用い子実

体殺菌の温度と時間の検討を行った。殺菌温度は50、60、70、80、90、100、121℃の7通り、殺菌時間は5、10、15、30、60分5通りで、21通りの組み合わせについて分生孢子を分離して発芽の有無を判定した。

2. マゴジャクシ人工栽培試験

(1) 菌糸伸長特性の把握

供試菌株は、当所保管菌株G n 95-1株（1995年に郡山市安積町成田で採取した野生株から子実体分離した菌株）とした。菌糸伸長速度は、PDA（極東製薬）、MYG（水1l当たりextract malt 20g, extract yeast 2g, glucose 10g, agar 20g）の2種の寒天培地、およびスギ、アカマツ、コナラの3種の木粉培地を用いて測定した。また、pHを4.5～7.0まで0.5間隔で調整したPDAおよびMYG寒天培地を用い、pH別の菌糸伸長速度を測定した。

内径9cmのシャーレに寒天培地を20ml分注し作成した平板培地に、径5mmの寒天種菌を接種し、10～30℃まで5℃間隔で5通りの温度で培養を行った。シャーレの枚数は各5枚とし、菌糸伸長速度の測定は4方向行った。

3種の木粉培地は、栄養剤にふすまを用い、容量比で木粉：フスマ＝10：1で混合し、含水率を67%に調整した。直径3cmの試験管に培地を50gを14cmの長さに充填し、120℃で60分間殺菌を行った。放冷後、寒天種菌を接種し、25℃で培養を行い、菌糸伸長速度を測定した。

内径9cmのシャーレにpHを6段階に調整した寒天培地を20ml分注し作成した平板培地に、径5mmの寒天種菌を接種し、25℃で培養を行った。シャーレの枚数は各5枚とし、菌糸伸長速度の測定は4方向行った。

(2) アカマツ短木を用いた栽培試験

直径13cm程度のアカマツを15cmの長さに玉切りし、無処理（煮沸も殺菌も行わない）を対照区とし、煮沸処理（短木重量に対し、生米糠5%、グルコース0.2%添加した98℃の熱水で3時間煮沸）、煮沸処理＋殺菌処理（121℃で90分殺菌）殺菌処理の4通りの処理を行った。

各区の供試短木数は、12個とし、PP袋に入れた処理原木にG n 95-1株木粉種菌を5月中旬に接種し、無処理区以外は23℃で培養を行った。無処理区は本場アカマツ林内で培養を行った。培養の終わった培地は11月上旬に深さ15cmに掘ったアカマツ林床に並べ、周りを鹿沼土で覆った。子実体の収穫は孢子の飛散を目安に翌年の8月上旬～10月上旬まで行った。

(3) 木粉培地を用いた栽培試験

スギおよび広葉樹の2種の木粉を用いて袋栽培試験を実施した。栄養剤にふすまを用い、容量比で10:1、10:2、10:3混合した。含水率を66～68%に調整後、フィルター付きPP袋に1Kg詰め、120℃で60分間殺菌した。一袋当たり40mlのG n 95-1株木粉種菌を接種後、22℃で培養を行った。発生操作は培養40日後に袋の上部を開け、20℃前後の発生室で行った。

3. コフキササルノコシカケ人工栽培試験

(1) 菌糸伸長特性の把握

供試菌株は、当所保管菌株E a 93-N株（1993年に長野県小谷村で採取した野生株から分離した菌株：以下N株とする）およびE a 94-K株（1994年に郡山市開成で採取した野生株から分離した菌株：以下K株とする）とした。MYG寒天培地20mlを内径9cmのシャーレに分注し作成した平板培地に、径5mmの寒天種菌を接種し、10～35℃まで5℃間隔で6通りの温度で培養を行い、菌糸伸長速度を測定した。シャーレの枚数は各5枚とし、菌糸伸長速度の測定は3日間の伸長量を4方向測定した

(2) 原木を用いた栽培試験

① 原木栽培による子実体形成試験

N株とK株を供試菌株とし、長さ90cm、直径9cm程度のコナラ原木を用い、子実体形成を試みた。種菌の接種は平成6年5月2日に駒菌を原木直径の2倍接種した。接種本数はそれぞれ15本とし、種菌の接種後直ちに本場アカマツ林内に地伏せとした。子実体の形成を確認したため、生育調査を同年の12月から行い、収穫を平成9年12月4日に行った。

② 伏せ込み方法別栽培試験

原木栽培による子実体形成を確認したため、長さ90cm、直径10cm程度のコナラ原木を用いて伏せ込み方法の検討を行った。供試菌株は、N株とした。接種は平成9年3月26日におが粉種菌を5個×5～6列の千鳥植えとした。接種孔は、接種後に封蠟処理を行った。接種後直ちに本場アカマツ林内に地伏せした。本伏せの方法は立て伏せ、よろい伏せ、地伏せとし、各区20本とした。子実体の生育調査は、平成10年11月11日に行った。子実体の収穫は、春に子実体が生育しないのを確認した平成13年5月22日に行った。

③ 原木長さ別栽培試験

長さ90cm、直径10cm程度のコナラ原木を用いて原木長さ別試験を行った。供試菌株は、N株とした。試験区は90cm区、45cm区、33cm区の3区とし、本数は90cm区20本、45cm区40本、33cm区60本とした。接種は平成10年4月6日におが粉種菌を千鳥植えとし、接種孔は接種後に封蠟処理を行った。接種孔数は、90cm区が約30個、45cm区が15個、33cm区が約10個程度とした。原木は、接種後直ちに本場アカマツ林内に地伏せした。子実体の収穫は、子実体の生育が停止したのを確認した平成13年5月22日に行った。

④ 原木太さ別栽培試験

長さ約90cmのコナラ原木を用いて子実体収量と形質に与える原木直径の影響を検討した。直径級は、大区（18±1cm）、中区（14±1cm）、小区（10±1cm）の3区分とし、供試本数は各区40本とした。N株をブナ種駒に接種し約3カ月培養したものを種菌とし、平成11年3月25日に30mmの接種孔に打ち込んだ。接種駒数は、大区が9列×4個で36駒、中区が7列×4個で28駒、小区が5列×4個で20駒とした。接種した原木は棒積みにし、1週間程度散水した後、アカマツ林内へ地伏せした。子実体の収穫は、平成13年11月12日に行った。

(3) 木粉培地を用いた栽培試験

① 菌床栽培による子実体形成試験

N株を供試菌株とし、風乾重量比が広葉樹木粉10に対し、フスマ1、2、3の3通りの添加割合で混合した木粉培地を用い、子実体形成を試みた。含水率を65%程度に調整した1kgまたは2kgの培地

をフィルター付きPP袋に充填し、121℃で60分殺菌を行った。放冷後1袋当たり約40mlの木粉種菌を接種し、22℃で培養を行った。培養袋数は、各区12袋とした。大部分の培地に子実体原基が形成された74日目に、培地の高さで袋の上部を切り取り、22℃相対湿度80%の環境下で培地を横置きにした。子実体の採取は、発生操作79日目に行い、子実体の個数、生重量、長径および短径の測定を行った。

②菌床栽培における培地の水分管理技術の検討

ア. 供試菌株と種菌の作成方法

供試菌株は、当研究センターの凍結保存菌株¹⁾のN系統の再生菌糸を用いた。約64%に含水率を調整した木粉フスマ培地(10:1)を約500mlのガラス瓶に充填し、121℃で60分殺菌を行った。放冷後、PDA平板培地で再生した菌糸塊を接種し、22℃で約40日間培養し、種菌とした。

イ. 培地の調整

風乾重量比が広葉樹木粉10に対し、フスマ1の添加割合で混合した。含水率を65%程度に調整した1kgの培地をフィルター付きPP袋にを充填し、121℃で60分殺菌を行った。放冷後1袋当たり約40mlの木粉種菌を接種し、22℃で58日間培養を行った。

ウ. 培養終了時と発生室内における水分管理方法

培養57日目に、無処理を対照として、浸水処理または注水処理を行った。一昼夜処理を行った培地は、対照区の培地とともに、室温22℃、相対湿度80%の発生室内で、培地を横置きにした。発生室内では、各区の半数の培地に散水を行い(散水区)、残り半数には散水を行わなかった(無散水区)。すなわち、培養終了時の処理と、発生室内での散水の有無により、表-2に示した水分管理法の異なる8試験区を設定した。

表-2 培養終了時の処理と発生操作時の散水の有無による試験区

番号	試験区	散水	発生前処理	袋の有無
1	無(裸)－無散水区		無(裸)	×
2	無(袋)－無散水区	無し	無(袋)	○
3	注水－無散水区		注水	×
4	浸水－無散水区		浸水	○
5	無(裸)－散水区	有り	無(裸)	×
6	無(袋)－散水区		無(袋)	○
7	注水－散水区		注水	×
8	浸水－散水区		浸水	○

注：○：培養袋を開いただけ ×：培養袋を全て除去
 浸水処理：培地を袋から取り出して一昼夜浸水
 注水処理：培養袋を開き上面に注水して一昼夜静置
 散水は、週4～5回の頻度で1培地当たり15秒程度行った

エ. 子実体収量と形質調査

子実体の採取は、子実体の成長停止を確認した発生操作後117日目に行い、子実体の個数、生重量、乾燥重量、縦長、横長、厚さを測定した。

III 結果と考察

1. ハナサナギタケ人工栽培試験

(1) 菌糸伸長特性の把握

①培養温度別菌糸伸長速度

MYG平板培地に径5mmの寒天種菌（I j 97-4株分生孢子由来菌糸体）を接種し、7通りの培養温度で菌糸伸長速度を測定した結果を図1-1に示す。

I j 97-4株分生孢子由来菌糸体は、35℃まで菌糸伸長が認められ、25℃と30℃では有意差が認められず、25℃付近に菌糸伸長適温があると考えられた。なお、この結果を同じ *Isaria* 属のコナサナギタケ (*Isaria farinosa* (Holm.) Fr.) と比べると、25℃以下ではコナサナギタケの菌糸伸長速度が速く、30℃以上ではハナサナギタケが速かった。⁶⁾

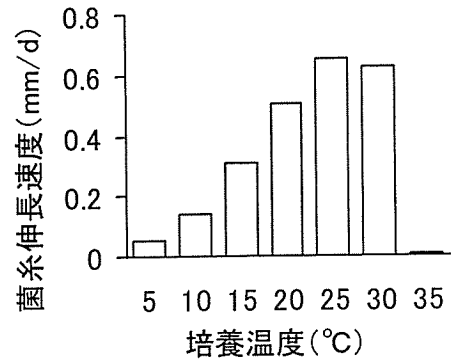


図1-1 ハナサナギタケの培養温度別菌糸伸長速度

②培地 pH 別菌糸伸長速度

pHを4.5~7.0まで0.5間隔に調整したMYG平板培地における菌糸伸長速度を、図1-2に示す。

I j 97-4株分生孢子由来菌糸体は、pHによる菌糸伸長速度の差が認められなかった。

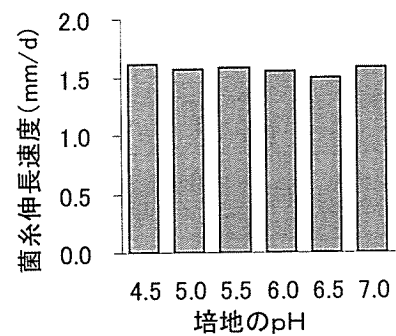


図1-2 ハナサナギタケの培地pH別菌糸伸長速度

(2)接種源の検討

①接種源および菌株の保存方法

保存温度の異なる3種のI j 97-4株分生孢子由来菌糸体および、分離源の保存の履歴が異なる2種のI j 97-4株分生孢子的計5種の接種源における、分生子柄束形成率および平均の子実体高（写真1-1参照）を表1-1に示す。

分生孢子由来菌糸体を-85℃で保存した①区、栽培子実体から採取した保存期間を経ない分生孢子⑤区は、8日目まで全ての培地に分生子柄束が形成された。分生孢子由来菌糸体を22℃で保存した③区は、子実体が形成されなかった。子実体の大きさは、-85℃で3ヵ月保存した栽培子実体から採取した分生孢子的④区が大きかった。

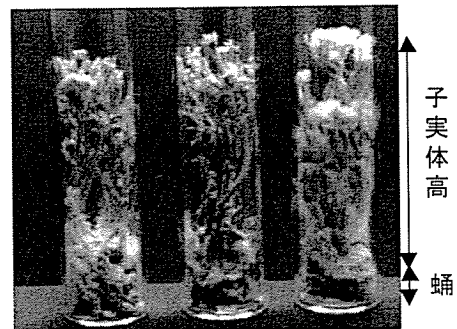


写真1-1 蚕の乾燥蛹を培地基材としたハナサナギタケ人工栽培子実体

注：本試験では、分生子柄束の高さを子実体高、蛹を含む分生子柄束の重量を子実体重量とした

以上の結果は、I j 97-4株は、常温での保存により、子実体が小形化したり、子実体形成能が喪失し、短時間で劣化しやすいことを示す。この傾向は、他の保管菌株でもみられることから、ハナサナギタケ菌株の

保存源	保存温度	接種源	分生子柄束形成率(%)			子実体高 (mm)
			8日目	10日目	13日目	
菌糸体	-85℃	菌糸体	100			29.2
	4℃	菌糸体	94	100		28.1
	22℃	菌糸体	0	0	0	0
子実体 保存無し	-85℃	分生孢子	60	82	100	39.4
		分生孢子	100			26.4

長期間保存には、-85℃以下の超低温保存が比較的安全と考えられる。一方、栽培子実体の分生孢子的を接種源として次々と使用する方法も栽培レベルでは、実用的な方法と思われる。

②分生胞子を接種源とする場合の胞子濃度

栽培レベルでは、栽培子実体に形成された分生胞子を、次々に接種源とするのが安定生産に実用的な接種方法として考えられた。そこで、次に接種源の胞子濃度を検討するために、4通りの分生胞子濃度における分生子柄束形成率を求めた。その結果を、表1-2に示す。

表1-2 接種源の分生胞子濃度が分生子柄束形成率に与える影響

胞子濃度 (個/ml)	培養日数と分生子柄束形成率(%)			
	10日目	13日目	16日目	21日目
900	25	80	100	
9,000	15	100		
90,000	0	75	100	
900,000	20	100		

胞子濃度900~900,000個/mlでは培養13日~16日の間に分生子柄束を全て形成し差がみられなかった。この結果は、栽培のための胞子濃度は、1mlの接種量であれば900個/ml程度で可能なことを示す。

(3)培地基材に用いる蛹の保存方法の検討

本試験において、ハナサナギタケの培地基材には、蚕の乾燥蛹を用いている。このため、蛹の保存方法を検討するために、常温と5℃の2通りの温度で1年6カ月保存した蛹を用いて栽培を行い、分生子柄束形成率と子実体の高さを比較した。その結果を表1-3に示す。

表1-3 培地基材の蚕乾燥蛹の保存温度が分生子柄束形成率と子実体高に与える影響

保存温度 (℃)	分生子柄束形成率(%)			子実体高 (mm)
	9日	14日	20日	
常温保存	26	76	90	13.1
5℃保存	100			25.7

5℃保存区が培養9日目に全て分生子柄束を形成したのに対し、常温保存区は培養20日目でも90%の形成率であった。子実体の大きさは、5℃保存区より常温保存区が小さかった。この結果から、乾燥蛹であっても子実体形成に保存温度や期間の影響があり、なるべく新鮮な蛹を用いることが望ましいと考えられる。やむをえず、蛹を長期間保存する場合は、5℃程度の低温保存であれば、少なくとも1年6カ月程度は使用可能と思われる。

(4)培養器の検討

①ミニカップを用いた栽培試験

実用化を目指した大量培養法を開発するために、ミニカップを用いて3通りの蚕の充填量で栽培を行った結果を、表1-4に示す。

表1-4 ミニカップを培養器とした場合における蛹充填量が子実体収量と子実体高に与える影響

蛹充填量 (個/カップ)	蛹乾燥重量 (mg/カップ)	子実体乾燥重量		子実体高 (mm)
		(mg/カップ)	(mg/蛹)	
1	382	362	362	24.3
2	661	600	300	48.7
3	1052	941	314	62.6

1カップ当たりの乾燥重量は32~941mgで用いた蛹の乾燥重量に比例したが、蛹1個当たりの子実体

乾燥重量は蛹1個区が大きかった。子実体の大きさは24.3~62.6mmで蛹の個数が多くなるに従って大きくなった。ミニカップ栽培では子実体の形態は野生のものに近い形態(写真1-2参照)となった。

②ステンレストレイを用いた栽培試験

実用化を目指した大量培養法を開発するために、ステンレストレイを用いて3通りの蚕の充填量で栽培を行った結果を、表1-5に示す。

子実体の大きさは50g区、75g区が71mmで変わらず、100g区が85.9mmと大きかった。蛹を含む子実体の乾燥重量は50g、75g、100g区がそれぞれ38.1、61.0、80.4gで培地重量に比例した。

トレイ栽培はミニカップ栽培に比べ1トレイ当たりの培地重量を大きくできるため大量培養に適するが、蛹が接着しているため野生の形態のように、子実体を1つつ分けるとは困難である(写真1-3参照)。一方、子実体形質に優れたミニカップ栽培では、蛹を1個づつ充填する作業が必要であり、大量培養の作業性はステンレストレイ栽培に劣る。実用化にあたっては、子実体の販売形態により、より有利な栽培法を選択することが望ましい。

(5)収穫した子実体の殺菌条件の検討

ハナサナギタケは、子実体収穫時に孢子汚染が危惧されるため、殺菌温度と時間を組み合わせ、分生孢子の生死を判別した。その結果を、表1-6に示す。

本試験では、ハナサナギタケ分生孢子の耐熱性はかなり高く100℃、30分間でも1部が生存した。このため、完全な殺菌を行うためには100℃で60分以上か121℃で15分以上の殺菌時間が必要と考えられる。

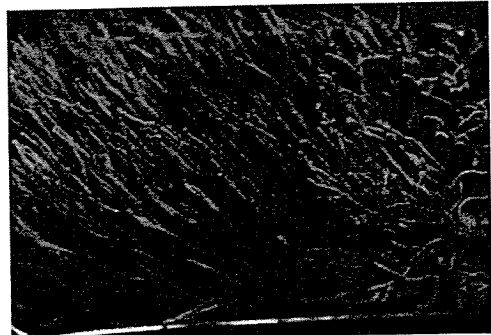


写真1-2
ミニカップを培養器とした場合の子実体

注: 210×170×30mmステンレストレイに高さ15mm(容量5ml)のミニカップを30個並べ、乾燥蛹を充填

表1-5 ステンレストレイを培養器とした場合における蛹充填量が子実体収量と子実体高に与える影響

蛹充填量 (g/トレイ)	子実体乾燥重量 (g/トレイ)	子実体高 (mm)
50	38.1	71.3
75	61.0	71.2
100	80.4	85.9

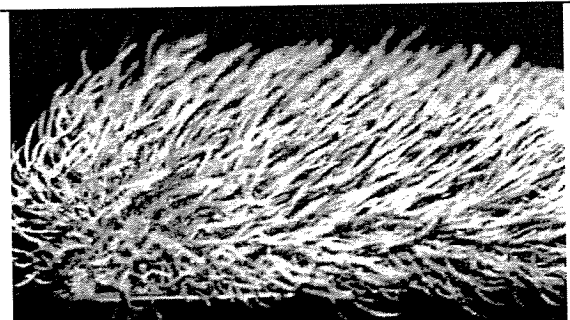


写真1-3
ステンレストレイを培養器とした場合の子実体

注: 210×170×30mmステンレストレイに直接乾燥蛹を充填

表1-6 収穫した子実体の殺菌条件と分生孢子の生存

殺菌温度 (°C)	子実体の殺菌時間(分)				
	5	10	15	30	60
50	+	+	+		
60	+	+	+		
70	+	+	+		
80	+	+	+	+	+
100	+	+	±	±	-
121			-	-	

凡例: +; 生存 -; 死滅 ±; 一部生存

2. マゴジャクシ人工栽培試験

(1) 菌糸伸長特性の把握

① 培養温度別菌糸伸長速度

培養温度別菌糸伸長速度の測定結果を図2-1に示す。PDA、MYG培地ともに、25℃付近に最適菌糸伸長温度が認められ、1日当たりの菌糸伸長量は両培地とも4mm以上であった。また、30℃でも20℃以上の菌糸伸長がみられ、かなり高温に適するものと思われる。

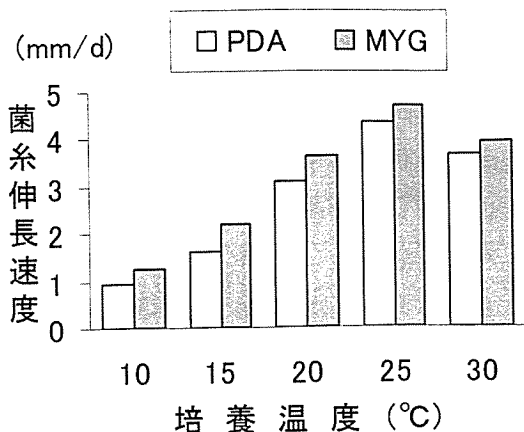


図2-1 マゴジャクシの寒天平板培地における培養温度別菌糸伸

② 培地pH別菌糸伸長速度

培地pH別菌糸伸長速度を図2-2に示す。MYG培地、PDA培地ともに、pH4.5~5.0の間で菌糸伸長速度が速い傾向がみられた。

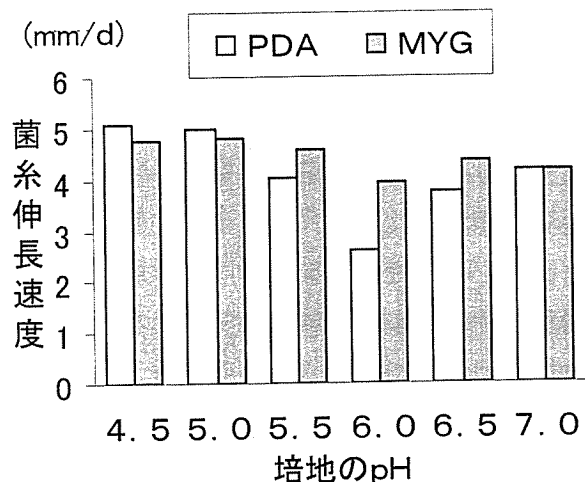


図2-2 マゴジャクシの寒天平板培地におけるpH別菌糸伸長速度

③ 樹種別菌糸伸長速度の把握

スギ、アカマツ、コナラ木粉における菌糸伸長速度を図2-3に示す。スギ、アカマツでは菌糸伸長速度に差がみられなかったが、両者ともコナラに比べ菌糸伸長速度が速かった。

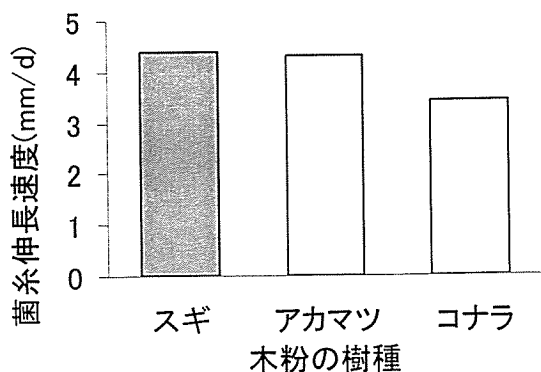


図2-3 マゴジャクシの木粉樹種別菌糸伸長速度

(2) アカマツ短木を用いた栽培試験

アカマツ短木を用い、煮沸処理、煮沸+殺菌処理、殺菌処理、無処理の4通りの処理を行い、子実体形成を試みた。その結果、トリコデルマ等の発生により途中で培養を中止した無処理区を除き、子実体が形成された(写真2-1参照)。



写真2-1 アカマツ短木栽培におけるマゴジャクシ子実体

得られた子実体の収量および形質を表2-1に示す。ほだ木1本当たりの発生個数は0.92~1.25個で少なかった。子実体1個当たりの生重量は6.8~9.9gでマンネンタケに比べ小さいものであった。傘の大きさは47~50mmであった。

一方、長さ90cm、直径10cm程度のアカマツおよびコナラ原木に木粉種菌を接種（直径の2倍）し、アカマツ林内に地伏せを行った原木栽培試験においては、子実体が形成されなかった。

表2-1 マゴジャクシのアカマツ短木栽培における子実体収量および形質

短木の処理	子実体収量		傘径 (mm)
	個/本	生重 (g/個)	
煮沸	1.25	8.9	49.8
煮沸+殺菌	1.17	6.8	47.0
殺菌	0.92	9.9	46.9
無処理	0	0	0

短木のは直径13cm、長さ15cm程度

(3) 木粉培地を用いた栽培試験

スギまたは広葉樹木粉を培地基材に用い、栄養剤として用いたフスマ添加割合が異なる6種の培地組成において、マゴジャクシの袋栽培を試みた。その結果、スギおよび広葉樹木粉のいずれにおいても子実体が形成された（写真2-2参照）。



写真2-2 スギ木粉を用いた菌床培におけるマゴジャクシ子実体

各培地組成における収量と子実体形質を表2-2に示す。栽培袋数に対する収穫袋数の割合は、フスマの添加割合が高くなるに従って低くなった。スギと広葉樹木粉を比較すると10:2区でスギの方が低かった。これは主にトリコデルマ等の害菌の発生によるものであった。

表2-2 マゴジャクシ菌床栽培における子実体形成率、収量および形質

おが粉 樹種	フスマ 混合比	形成率 (%)	子実体収量		傘の大きさ	
			個/袋	乾重 (g/袋)	横 (mm)	縦 (mm)
スギ	1	100	3.2	9.45	73.2	47
	2	58.3	2.3	10.09	67	41.9
	3	8.3	1.0	4.20	78	77
広葉樹	1	91.7	5.1	11.90	51.2	10.1
	2	91.7	6.9	14.47	69	12.9
	3	16.7	1.0	5.80	101.5	44.5

フスマ混合比はおが粉10に対する容量比
培地重量は1kg/袋

1袋当たりの発生重量はスギ、広葉樹とも10:2区で大きい傾向がみられた。子実体の傘の大きさは横70mm、縦50mm程度で差はみられなかった。

3. コフキサルノコシカケ人工栽培試験

(1) 菌糸伸長特性の把握

N株、K株をPDAおよびMYG平板培地に接種し、10~35℃まで5℃間隔で6通りの温度で培養を行い菌糸伸長速度を測定した結果を、それぞれ図3-1、3-2に示す。

今回の培養温度では、N株、K株ともに30℃で最大の菌糸伸長速度を示した。35℃培養における菌糸伸長速度は、N株とK株の菌糸伸長速度の差が大きく、N株は高温培養における速度低下割合が小さい傾向がみられた。

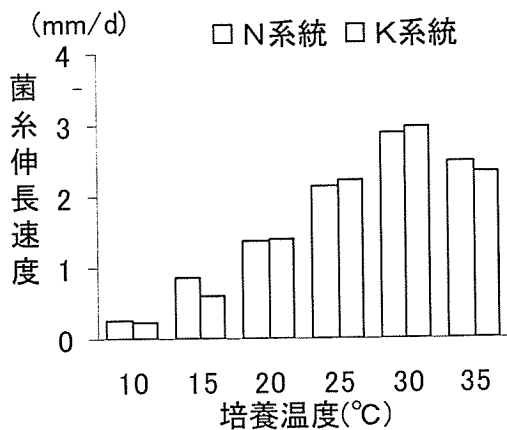


図3-1 PDA平板培地におけるコフキサルノコシカケの培養温度別菌糸伸長速度

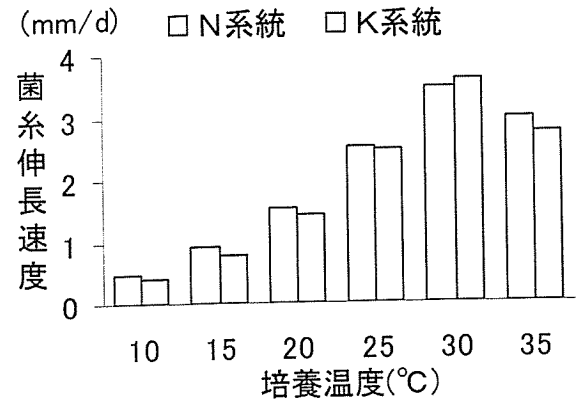


図3-2 MYG平板培地におけるコフキサルノコシカケの培養温度別菌糸伸長速度

(2) 原木を用いた栽培試験

①原木栽培による子実体形成試験

N株とK株を供試菌株とし、コナラ原木を用い、子実体形成を試みた。その結果、K株が接種年に、N株は接種の翌年に子実体形成が確認された(写真3-1参照)。接種2年後の秋に採取した子実体の収量と形質を表3-1に示す。

ほだ木1本当たりの平均発生個数は、N株が2.1個、K株が1.6個であった。1本当たりの平均発生重量は、それぞれN株が89.4g、K株が58.5gであった。子実体1個当たりの生重量はN株が43.3g、K株が36.5g

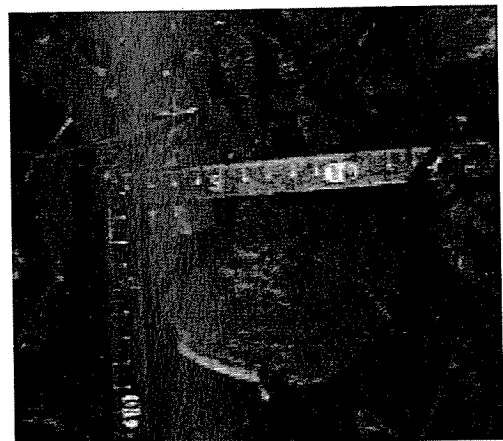


写真3-1 原木栽培におけるコフキサルノコシカケ(N株)子実体

であった。子実体の大きさはN株が71(縦)×64(横)mm、K株が69(縦)×55(横)mmであ

った。N株は、子実体収量、子実体の大きさともに、K株より大きい傾向がみられた。

表3-1 コフキサルノコシカケN, K株の原木栽培における子実体収量および形質

菌株	個数 (個/本)	生重量 (g/本)	乾燥重量 (g/本)	子実体の大きさ(mm)	
				横	縦
N	2.1	89.4	41.0	71	64
K	1.6	58.5	36.5	69	55

②伏せ込み方法別栽培試験

原木栽培による子実体形成を確認したため、コナラ原木を用いて伏せ込み方法による子実体収量と形質に与える影響を検討した。接種翌年の平成10年11月に行った生育調査の結果を表3-2に示す。

子実体発生ほだ木数は、各区20本の供試数中、立て伏せ区が30%、よろい伏せ区が15%、地伏せ区が5%であった。子実体の発

生個数は、立て伏せ区が8個、よろい伏せ区が4個、地伏せ区2個であった。平均の子実体の大きさは、縦18~30mm、横33~46mm程度と小形で、翌年以降も成長すると予測された。

接種4年目の5月に新たな胞子を形成が見られなかったことから、子実体の成長停止が停止したと判断し、子実体の採取を行った。収量と子実体形質を表3-3に示す。

表3-2 コフキサルノコシカケ原木栽培における接種1年目における子実体形成状況

伏せ込み方法	子実体形成原木率 (%)	個数(個)	子実体形質(mm)	
			横幅	縦幅
よろい伏せ	15.0	4	37.0	18.0
立て伏せ	30.0	8	46.0	30.0
地伏せ	5.0	2	33.0	22.0

注:接種はH9.3.26、調査はH10.11.11

表3-3 コフキサルノコシカケ原木栽培における伏せ込み方法が子実体収量と形質に与える影響

伏せ込み方法	子実体形成原木率 (%)	個数(個/本)	子実体収量(g/本)				子実体形質(mm)					
			生重量		乾燥重量		横幅		縦幅		厚さ	
			平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD
よろい伏せ	60.0	1.2	55.0	19.6	10.4	8.1	55.0	19.6	43.0	25.1	35.9	20.3
立て伏せ	35.0	1.3	44.8	18.8	5.3	3.0	44.8	18.8	34.9	9.1	26.9	9.9
地伏せ	45.0	1.2	52.7	20.7	10.2	8.8	52.7	20.7	57.3	29.5	26.5	10.5

注:接種はH9.3.26、調査はH13.5.22

最終的な子実体発生ほだ木数は、各区20本の供試数中、立て伏せ区が60%、よろい伏せ区が12本、地伏せ区が9本であった。ほだ木1本当たりの平均発生個数は、立て伏せ区が1.3個、よろい伏せ区と地伏せ区が1.2個であった。子実体の大きさは、立て伏せ区が小さい傾向がみられた。

乾燥気味な環境における本試験の結果では、乾燥の影響が比較的小さいよろい伏せと地伏せが良い結果を示した。しかし、地伏せでは、草本類を巻き込んだ子実体が多く、除草管理が煩雑であった。したがって、ほだ木はできるだけ乾燥気味な環境を避けて立てた状態で伏せ込み、ほだ木の状態を見て散水を行うことが必要だと考えられる。

一方、接種から約3年経過した時点で子実体採取を行った本試験では、一部の子実体に虫食いや腐れが生じており、結果として子実体採取時期が遅れ気味であったと考えられる。

③原木長さ別栽培試験

長さ90、45、33cmのコナラ原木を用い、原木長さ別栽培試験を行い、接種3年目の5月に新たな胞子を形成が見られなかったことから、子実体の成長が停止したと判断し、子実体の採取を行った。収量と子実体形質を表3-4に示す。

子実体が発生した原木の割合は、90cm区が55%、45cm区が30%、33cm区が5%であった。子実体1個当たりの重量と大きさは、90cm区が大きい傾向が認められた。本試験では、自然条件下で散水を行

表3-4 コフキサルノコシカケ原木栽培における原木の長さが子実体収量と形質に与える影響

原木の長さ	子実体形成原木率 (%)	個数(個/本)	子実体収量(g/本)				子実体形質(mm)					
			生重量		乾燥重量		横幅		縦幅		厚さ	
			平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD
90cm	55.0	1.3	55.7	19.1	11.7	7.4	56	19	45	19	32	10
45cm	30.0	1.1	41.9	18.6	6.4	5.5	42	19	29	13	23	8
33cm	5.0	1.3	38.7	33.1	5.6	6.1	39	33	30	10	19	6

っていないため、45cm区と33cm区のほど木が乾燥し、子実体の発生に影響したと推定される。この結果は、コフキサルノコシカケの原木栽培において、ほど木の水分管理が子実体収量および子実体形質に大きな影響を及ぼすことを示唆する。

一方、接種から約2年経過した時点で子実体採取を行った本試験でも、一部の子実体に虫食いや腐れが生じており、結果として子実体採取時期が遅れ気味であったと考えられる。野生のコフキサルノコシカケ子実体は多年生であるが、散水を行わない原木栽培においては接種から約2年経過した時点でも、一部の子実体については採取時期が遅れ気味であったと考えられる。

④原木太さ別栽培試験

長さ約90cmのコナラ原木を用い直径級を大区(18±1cm)、中区(14±1cm)、小区(10±1cm)の3区分とし、子実体収量と形質に与える原木直径の影響を検討した。接種2年目の11月に採取を行った各直径級の子実体収量と子実体形質を表3-5に示す。

表3-5 コフキサルノコシカケ原木栽培における原木の太さが子実体収量と形質に与える影響

原木の直径級	子実体形成原木率 (%)	個数(個/本)	子実体収量(g/本)				子実体形質(mm)					
			生重量		乾燥重量		横幅		縦幅		厚さ	
			平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD
小(10cm)	67.5	1.05	31.7	31.6	16.3	15.6	52.6	28.4	67.1	40.3	27.0	8.0
中(14cm)	47.5	0.70	38.3	36.4	19.4	17.4	63.4	36.8	65.0	33.2	29.8	11.4
大(18cm)	32.5	0.45	42.6	34.7	21.8	18.2	65.8	33.2	64.6	25.5	30.1	8.7

子実体が発生した原木の割合は、大区が32.5%、中区が47.5%、小区が67.5%で、直径が大きくなるほど子実体形成率が低下する傾向がみられた。子実体1個当たりの重量と大きさは、大区が大きい傾向が認められた。最大の子実体は、乾燥重量が66.3gで大きさが102(縦)×132(横)×44mm(厚さ)で、大区に出現した。

以上の結果から、野生子実体に近い大形な子実体生産を目標とする場合は、太い原木が適するが、ほど木の管理に注意が必要となると考えられる。また、総収量に重点を置いた栽培であれば、細い原木が有利であり、管理も比較的容易と考えられる。

(3)木粉培地を用いた栽培試験

①菌床栽培による子実体形成試験

広葉樹木粉培地を用いた空調栽培により、子実体形成を試みた。その結果、培養60日目頃に、培地表面に白色で子座状の菌糸塊が形成された。さらに14日培養すると、この白色菌糸塊が隆起し、子実体に成長すると予測された。このため、培養74日目、培地の高さで袋の上部を切り取り、22℃相対

湿度80%の環境下で培地を横置きにし、子実体形成を促した。

白色菌糸塊は、徐々に着色して子実体へと順調に成長し、発生操作20日目頃には、培地周辺一帯に褐色の胞子が堆積した。その後成長が低下し、40日目頃には成長が停止した。成長が停止した原因は、培地の乾燥に起因すると推定されたため、直ちに散水を行い、相対湿度を95%に設定した。その後79日目まで子実体の成長を促したが、子実体の成長が見られないため、この時点で子実体を収穫した（写真3-2参照）。



写真3-2 菌床栽培におけるコフキササルノコシカケ子実体

採取した子実体の収量および形質を表3-6に示す。

培養培地の全てに子実体が形成された。収穫した子実体は、収量および子実体個数ともに、木粉10に対しフスマ1添加区が大きい傾向がみられた。また、1kgと2kg培地における単位培地重量当たりの収量は、ほぼ同等であった。

木粉10に対しフスマ1添加区（1kg培地）の平均的子実体は37（縦）×32（横）×23mm（厚）、採取時重量4.3g（平均含水率26%）で、1培地当たり平均3.4個収穫された。これらの結果は、コフキササルノコシカケの菌床栽培の実用化の可能性を十分示すものであった。

表3-6 コフキササルノコシカケ菌床栽培における培地重量とフスマの添加割合が子実体収量と形質に与える影響

培地重 (kg)	フスマ 添加割 合	子実体 形成培 地率 (%)	個数 (個/ 袋)	子実体収量 (g/袋)				子実体形質(mm)					
				生重量		乾燥重量		横幅		縦幅		厚さ	
				平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD
1	10:1	100	3.4	14.8	4.7	3.1	1.2	37	6	32	7	23	7
	10:2	100	2.7	11.7	6.4	3.1	1.7	35	9	32	7	23	6
	10:3	100	2.5	5.9	3.8	1.8	1.2	26	7	23	5	18	4
2	10:1	100	4.9	29.8	9.1	4.4	1.8	45	7	34	5	21	7
	10:2	100	3.8	12.5	6.8	2.4	1.3	38	10	26	7	19	10
	10:3	100	3.0	6.7	6.0	1.5	1.3	28	11	21	7	15	5

注:フスマの添加割合は、広葉樹木粉に対する風乾重量比

②菌床栽培における培地の水分管理

培地の高さで袋の上部を切り取り、22℃相対湿度80%の環境下で散水を行わずに子実体形成を促したところ、発生操作40日程度で子実体の成長が停止し、子実体が大形化しなかった。この原因として、培地の乾燥により子実体への水分の供給が妨げられたことが考えられる。一旦乾燥した培地は、散水を行っても培地に水分がしみ込まなかったことから、培地を乾燥させない管理が必要と考えられた。そこで、発生操作時における浸水、注水処理、袋の切り取り方法、発生操作後の散水を組み合わせ、その効果を検討した。各処理区における収量と子実体形質をそれぞれ表3-7に示す。

散水を行った培地は、発生操作後100日程度まで、胞子の形成が見られた。散水を行わなかった培地は、発生前の処理方法により、子実体の成長期間が異なり、袋から培地を取り出した無（裸）区は、最も速い25日程度で子実体成長が停止した。このため、無（裸）－無散水区の子実体重量および大きさは、処理区中最も小さい値を示した。また、無（裸）－散水区の子実体重量も小さい傾向がみられた。浸水処理は、散水の有無に関わらず効果が見られたが、注水処理は、散水の有無に関わらず特に効果は見られなかった。

表3-7 コフキササルノコシカケ菌床栽培における培養終了時の処理と発生操作後の散水の有無が子実体収量と形質に与える影響

散水	発生前 処理	子実体 形成培 地率 (%)	個数 (個/ 袋)	子実体収量 (g/袋)				子実体形質(mm)					
				生重量		乾燥重量		横幅		縦幅		厚さ	
				平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD
無し	無(裸)	100	1.4	2.84	0.45	2.28	0.36	32.1	8.3	30.6	7.1	21.2	6.5
	無(袋)	100	1.6	46.30	9.05	20.69	3.89	85.0	29.3	46.4	10.0	37.7	13.2
	注水	100	2.6	13.61	4.37	10.89	3.52	44.1	11.7	40.2	7.8	29.4	11.0
	浸水	100	1.9	48.76	6.36	21.23	2.43	61.7	22.2	64.4	17.4	49.3	28.0
有り	無(裸)	100	1.4	14.54	2.79	11.12	2.06	65.4	13.0	60.8	4.2	21.6	3.0
	無(袋)	100	1.8	29.41	6.41	13.81	3.06	50.0	15.6	69.4	35.2	43.9	16.5
	注水	100	3.4	12.96	2.19	9.51	2.16	41.0	20.9	41.0	13.0	21.7	9.1
	浸水	100	1.3	31.51	6.13	14.63	3.23	69.4	26.7	65.9	27.4	48.2	14.0

以上の結果から、培地を袋から出さない場合は、前回の試験のように袋を培地の肩口で切り取るより、袋を開いただけの状態の方が子実体の大形化に効果的と考えられる。この方法では、袋中では子実体の変形しやすいため、形質を重視した栽培には不向きであるが、必ずしも散水を必要としないため収量性を重視した栽培に適する。子実体形質を重視する場合は、培地を袋から出して発生操作を行う必要があるが、この方法では、浸水処理または散水処理が子実体の大形化に不可欠である。コフキササルノコシカケの菌床栽培の実用化に当たっては、販売形態により水分管理法を選択する必要がある。

IV まとめ

薬理効果が期待される冬虫夏草のハナサナギタケ、マゴジャクシ、コフキササルノコシカケの3種のキノコについて基礎的生理試験と人工栽培試験を行った。

その結果、既に当所で人工栽培法を確立しているハナサナギタケについては、課題として残された実用化のための大量培養法と劣化しやすい菌株の保存法を開発した。マゴジャクシについては、煮沸処理したアカマツ短木、およびスギ木粉を培地基材とした菌床栽培においても子実体が形成された。コフキササルノコシカケについては、原木栽培および菌床栽培子実体が形成された。

本試験で開発されたこれらの栽培技術の中で、ハナサナギタケ、およびコフキササルノコシカケの菌床栽培については、ほぼ実用的レベルに達していると思われる。これらの技術は、一般的きのこ生産者の技術で導入可能であるが、技術の普及にあたっては販売先の確保が必要と考えられる。さらに、

栽培の定着化にあたっては、機能性についての科学的分析評価が重要と判断される。

一方、マゴジャクシの人工栽培については、マツクイムシ被害木やスギ間伐材の有効利用法として期待される結果が得られたが、実用的レベルまで収量性を向上させる必要がある。

V 引用文献

- 1)水野雅史：日本食品科学工学会誌48(11)：793-797, 2001.
- 2)川岸洋和：キノコの科学 朝倉書店(198pp) , 155-159, 1997.
- 3)Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. and Fukuoka, F. : *Cancer Res.*, 30 : 2776, 1970.
- 4)Tsukagoshi, S., Hasimoto, Y., Fuji, G., Nomoto, K. and Orita, K. : *Cancer Trear. Rev.*, 11 : 131, 1984.
- 5)Komatsu, N., Okubo, S., Kikumoto, S., Kimura, K. and Saito, G. : *Gann*, 60 : 137, 1969.
- 6)Nanba, H., Hamaguchi, A., and Kuroda, H. : *Chem. Pharm. Bull.*, 35 : 1162, 1987.
- 7)江口文陽, 渡辺泰雄, 張俊, 宮本康嗣, 吉本博明, 福原富男, 檜垣宮都：和漢医薬学雑誌16：201-207, 1999.
- 8)Furukawa, S., Furukawa, Y., Satoyoshi, E., and Hayashi, K. : *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 147 : 1048-1054, 1987.
- 9)青野茂：福島県林業試験場研究報告27：159-163, 1995.
- 10)澤田満喜, 吉田則子：きのこの栄養と家庭料理, 秋山書店 (275pp) : 109-116, 1982.
- 11)馬場崎勝彦：微生物遺伝資源利用マニュアル(5) 栽培きのこ菌株の直接凍結維持法およびDNA判別法、ISSN1344-115, P.5-6, 1999.