

〈資料〉

カンゾウタケの優良菌株選抜試験

山原美奈・河合昌孝

カンゾウタケの効率的な栽培技術を開発するため、優良な菌株の探索を行った。まず、野生のカンゾウタケ子実体を採集し、菌の分離操作を行って、15菌株を得た。さらに、他機関からの分譲や購入により、6菌株を入手した。予備試験で雑菌汚染が少なく子実体を形成しやすい菌株を選び出し、10菌株について、850mlきのこ栽培瓶で栽培試験を行った。その結果、形状が美しく収量の多いものが2菌株見つかった。また、不発生が多いものの形状が美しく、発生すれば収量も極めて多い菌株や、菌廻りが速い菌株など、育種材料として有望な菌株もみられた。

1. はじめに

きのこ類は、食物繊維、ビタミンB類、ビタミンD₂などの栄養素を豊富に含んだ低カロリー食品である。近年、その機能性に関する研究が進み、薬用きのこでなくとも、抗ガン作用、抗酸化作用などの効果があることが明らかになり、消費者の健康志向に合致して、きのこ産業は大きな市場を形成している。しかし、ブナシメジ、エノキタケ、マイタケといった既存の栽培きのこは、企業間の生産効率化競争の激化により価格が低迷して、小規模な生産者は厳しい状況に置かれている。そこで、各地の公設試験場等でムキタケ、ムラサキシメジなど特色ある新規作目の研究が進められている¹⁾。

著者らは、新規作目として奈良県にも自生するカンゾウタケに着目した。カンゾウタケ (*Fistulina hepatica* Schaeff.: Fr.) は、カンゾウタケ科に属する褐色腐朽菌である。赤色、多汁で独特の風味がある美味なきのこであり、欧米ではBeefsteak Fungusと呼ばれている。栽培方法が確立されておらず、市場に出回らないこともあり、インターネット等では野生のものが高額で取引されている。きのことしては珍しく酸味があり、これはビタミンCを含むためとされている²⁾。培養菌糸に抗腫瘍効果の高いβ-グルカン³⁾を多量に含有すると書かれた特許³⁾や、子実体から抗菌成分を単離したと書かれた特許⁴⁾もあり、機能性にも期待がもてるため、新規の作目として有望と考えられる。

当研究を始めた当初の既存研究には、短木を用いた原木殺菌法での試験例があるが、種菌を接種した部分以外からの子実体形成は確認されず、原木には菌が活着しないことがわかっていた⁵⁻⁷⁾。また、菌床栽培研究でも培地1kgあたりの収量が10~60g⁸⁾と少なく、実用段階には至っていなかった。それらの研究では、少数の菌株しか

使われておらず、菌株間の比較はなされていなかった。しかし、きのこ類は同じ培地、同じ環境で栽培しても菌株により収量が大きく異なるため、きのこ栽培においては菌株の選択が極めて重要である。そこで、多数の野生のカンゾウタケから菌を分離し、さらに他機関からも菌株を入手し、比較栽培を行ったので、その結果について報告する。

2. 材料と方法

2.1 菌株の収集

野生のカンゾウタケを採集し、紙袋に入れて持ち帰った。クリーンベンチ内で持ち帰ったきのこを裂いた後、菌傘断面中央付近の組織を切り出して分離培地に置床し、約23℃で培養して菌の分離を行った。分離培地としては、mMMN (G5g)、mMMN、MA、PDAのいずれかを用いた(表1)。他に、奈良県森林技術センター

表1 分離に用いた培地の組成

表1-1 培地の組成 (1リットルあたり/寒天15g)

| 組成\培地 | mMMN | mMMN (G5g) |
|----------------|-------|------------|
| グルコース | 10g | 5g |
| モルトエキス | 3g | 3g |
| リン酸2水素カリウム | 500mg | 500mg |
| 酒石酸アンモニウム | 500mg | 500mg |
| 硫酸マグネシウム7水和物 | 150mg | 150mg |
| クエン酸鉄アンモニウム | 8mg | 8mg |
| 塩化カルシウム2水和物 | 70mg | 70mg |
| 塩酸チアミン | 0.1mg | 0.1mg |
| 野菜ジュース(無塩)(注1) | 10ml | 10ml |

(注1) カゴメ野菜ジュース(トマトミックスジュース)

(食塩無添加)のろ液

表1-2 培地の組成 (1リットルあたり/寒天15g)

| 組成\培地 | MA | PDA |
|---------|-----|-----|
| モルトエキス | 20g | |
| ポテトスターチ | | 4g |
| デキストロース | | 20g |

に持ち込まれた野生カンゾウタケからも菌の分離を試みた。また、滋賀県と岡山県から各2菌株の分譲を受け、財団法人発酵研究所 (IFO) から2菌株を購入した。ここに、NFh-1を栽培して得た形の良い子実体の再分離株を合わせ、合計22菌株を得た。各菌株の分離年月、採集場所等は表2のとおりである。

表2 菌株の由来

| 菌株名 | 採集場所 | 分離年月 | 分離培地 | 備考 |
|------------|----------|---------|---------------|--------------------------|
| NFh-1 | 京都市北区上賀茂 | 2001年9月 | 記録無 | センターへの持ち込み |
| NFh-1F | | | 記録無 | NFh-1を栽培して得た形のよい子実体から再分離 |
| NFh-2 | 奈良市春日野町 | 2005年5月 | mMMN (G5g) | スタジイに発生 |
| NFh-3 | 奈良市春日野町 | 2005年5月 | mMMN (G5g) | スタジイに発生 |
| NFh-4 | 奈良市春日野町 | 2005年5月 | mMMN (G5g) | スタジイに発生 |
| NFh-5 | 奈良市春日野町 | 2005年5月 | mMMN (G5g) | スタジイに発生 |
| NFh-6 | 奈良市春日野町 | 2005年5月 | mMMN (G5g)・MA | スタジイに発生 |
| NFh-7 | 奈良市春日野町 | 2005年5月 | mMMN (G5g)・MA | スタジイに発生 |
| NFh-8 | 奈良市春日野町 | 2005年5月 | MA | スタジイに発生 |
| NFh-9 | 奈良市春日野町 | 2006年6月 | MA | スタジイに発生 |
| NFh-10 | 奈良市春日野町 | 2006年6月 | MA | スタジイ (NFh-9と同じ木) に発生 |
| NFh-11 | 奈良市春日野町 | 2006年6月 | MA | スタジイに発生 |
| NFh-12 | 奈良市春日野町 | 2006年6月 | MA | スタジイに発生 |
| NFh-13 | 奈良市春日野町 | 2006年9月 | mMMN | スタジイに発生 |
| NFh-14 | 奈良市春日野町 | 2006年9月 | mMMN | スタジイ (NFh-13と同じ木) に発生 |
| NFh-15 | 吉野郡十津川村 | 2007年5月 | PDA | センターへの持ち込み |
| Fh-1 shiga | | | | 滋賀県から分譲 |
| Fh-2 shiga | | | | 滋賀県から分譲 |
| OFh-1 | | | | 岡山県から分譲 |
| OFh-2 | | | | 岡山県から分譲 |
| NBRC8764 | | | | IFOから購入 |
| NBRC30300 | | | | IFOから購入 |

2.2 予備選抜試験

予備試験には、収集した菌株のうち、NFh-1、NFh-1F、NFh-2~NFh-12、Fh-1shiga、Fh-2shiga、OFh-1、NBRC8764、NBRC30300を用いた。木粉培地 (スギオガコ:コナラオガコ:コーンブラン=1:1:2 (乾燥重量比)、含水率65%) を平底試験管 (直径21mm、深さ10cm) には20g (生重量)、広口ガラス瓶 (500ml) には250g詰め、121℃で60分間、殺菌した。冷却後、PDA培地に蔓延させた菌糸体を培地ごと切り出して接種し、約23℃で2~3ヶ月培養した。菌が蔓延したのを確認後、接種源の寒天片を掻き取り、注水して約1時間吸水させた後排水し、温度約18℃、相対湿度100%の発生室に置いた。予備試験では子実体形成の良否のみ確認した。

2.3 栽培試験

予備試験において子実体が発生し、比較的雑菌汚染が少なかった7菌株に、予備試験後入手した菌株のうち3菌株を加え、10菌株について栽培試験を行った。供試菌株はNFh-1F、NFh-2、NFh-7、NFh-9、NFh-10、NFh-11、NFh-12、NFh-14、NFh-15、OFh-2である (表2)。栽培容器は口径58mm、容量850mlのポリプロピレン製きのこ栽培瓶を用いた。キャップは内部通気口6個のNARAキャップを用いた。予備試験に用いたのと同じ木粉培地を1瓶あたり生重量で550±20g詰め、118℃で30分間殺菌し、放冷後、おがこ種菌を接種した。供試瓶数は1菌株あたり32本とした。接種後は温度約23℃、相対湿度70±10%で培養した。それぞれの菌株から任意に8本を選

び出し、菌糸が培地全体に蔓延した日を記録した。約2ヶ月後、すべての瓶で菌糸が廻った菌株から、菌掻き、注水して、発生室に移した。発生室は、温度は常温(管理期間12月下旬から4月下旬、加温無し)、相対湿度は100%(床に常に水が溜まっている程度)で管理した。発生室に移動後原基形成までの日数、収穫日、収量を記録した。

2.4 統計解析

得られたデータは統計解析プログラムSPSS 13.0 Jを用い、分散分析で解析した。菌株間の比較にはTukeyの検定を用いた。危険率5%未満を有意とした。

3. 結果

3.1 菌株の分離

子実体からの菌の分離には4種類の培地を用いたが、いずれの培地でも問題なく分離が成功した。

3.2 菌廻り

菌廻りに要した日数は菌株により42日から62日程度であった(図1)。NFh-9は他に比べて有意に菌廻りが速く、41.9±0.4日(平均値±標準誤差)であった。菌廻りに要する日数は50日前後のものが多かったが、NFh-11とNFh-15は共に60日以上かかり、他より菌廻りが遅かった。

3.3 芽きり(原基形成)

発生操作(菌掻き、注水)を行ってから子実体原基が形成されるまでの日数は、ほとんどの菌株が30日前後であったが、NFh-12とNFh-15は他に比べて有意に長くばらつきも大きかった(図2)。

3.4 収穫までの日数

発生操作を行ってから収穫までの日数は60~70日のものが多かった。NFh-11は59.5±1.6日(平均値±標準誤差)で、若干他より速い傾向がみられた。NFh-12とNFh-15は芽きりの遅さが影響して収穫までに他より日数を要した(図3)。

3.5 収穫成功率

カンゾウタケは培養中や発生中の雑菌汚染が激しく、菌株によってはほとんど収穫できないものがあつた。NFh-14は培養中の雑菌汚染により全く収穫に至らなかった。OFh-2は発生操作後、発生室の加湿の不具合により多くの瓶の中に水が溜まり、雑菌が多発して収穫に至らなかった。また、NFh-2は雑菌が出ていないにもかかわらず子実体原基が形成されない不発生が多かった。NFh-7とNFh-12は雑菌や不発生が少なく、32本接種したうちそれぞれ30本、27本が収穫に至った(図4)。

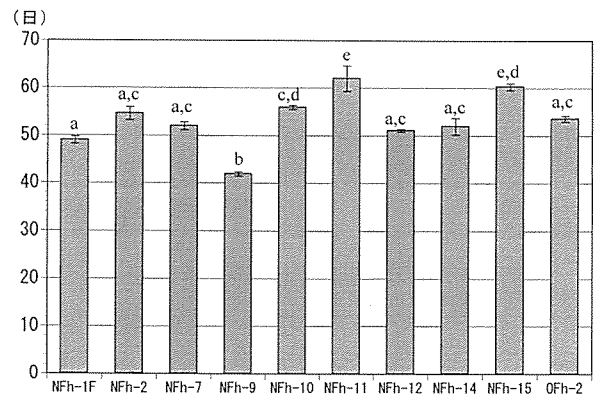


図1 菌廻りに要した日数

(図中の縦線は標準誤差を示す。

異符号間は $p < 0.05$ で有意差を示す。)

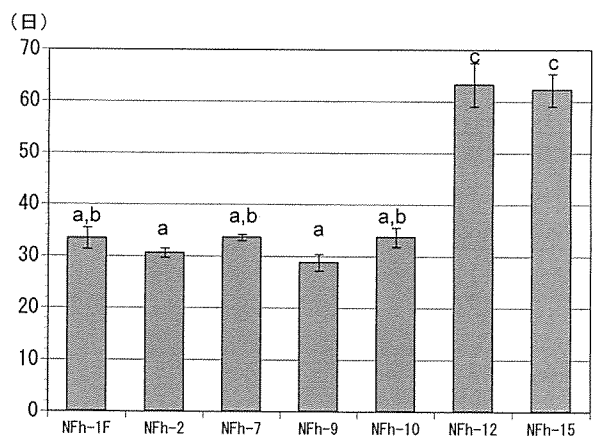


図2 菌掻きから原基形成までの日数

(図中の縦線は標準誤差を示す。

異符号間は $p < 0.05$ で有意差を示す。)

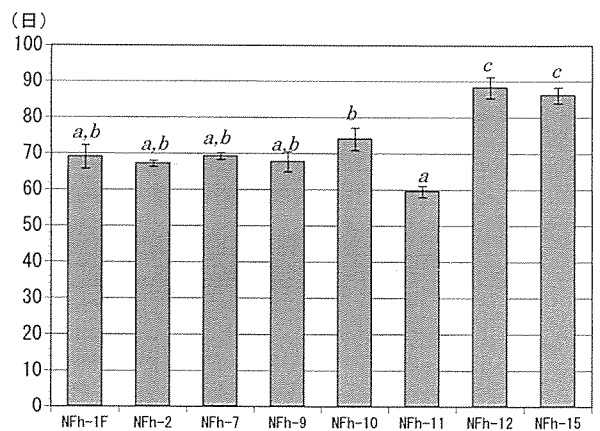


図3 菌掻きから収穫までの日数

(図中の縦線は標準誤差を示す。

異符号間は $p < 0.05$ で有意差を示す。)

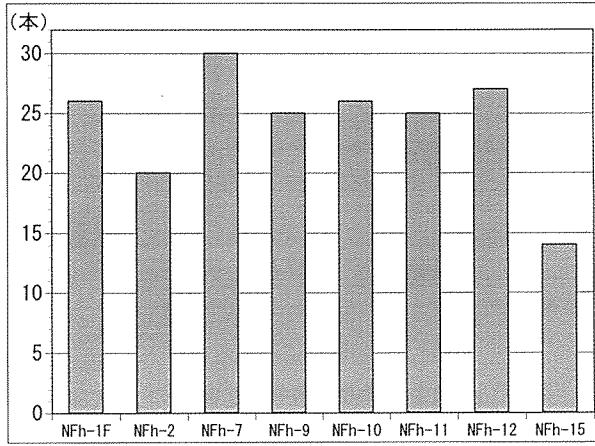


図4 収穫に至った瓶の数 (32本中)

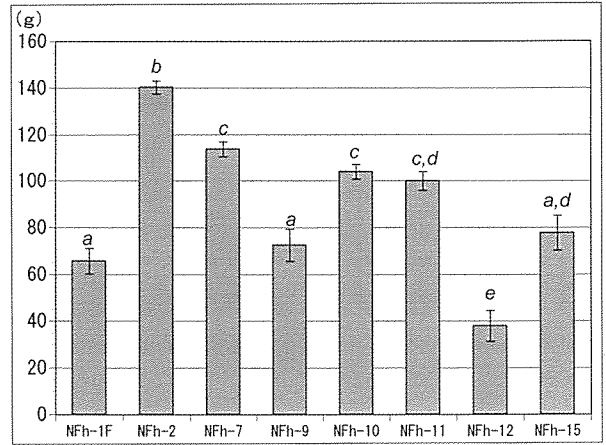


図5 各菌株の平均収量

(図中の縦線は標準誤差を示す。
異符号間は $p < 0.05$ で有意差を示す。)

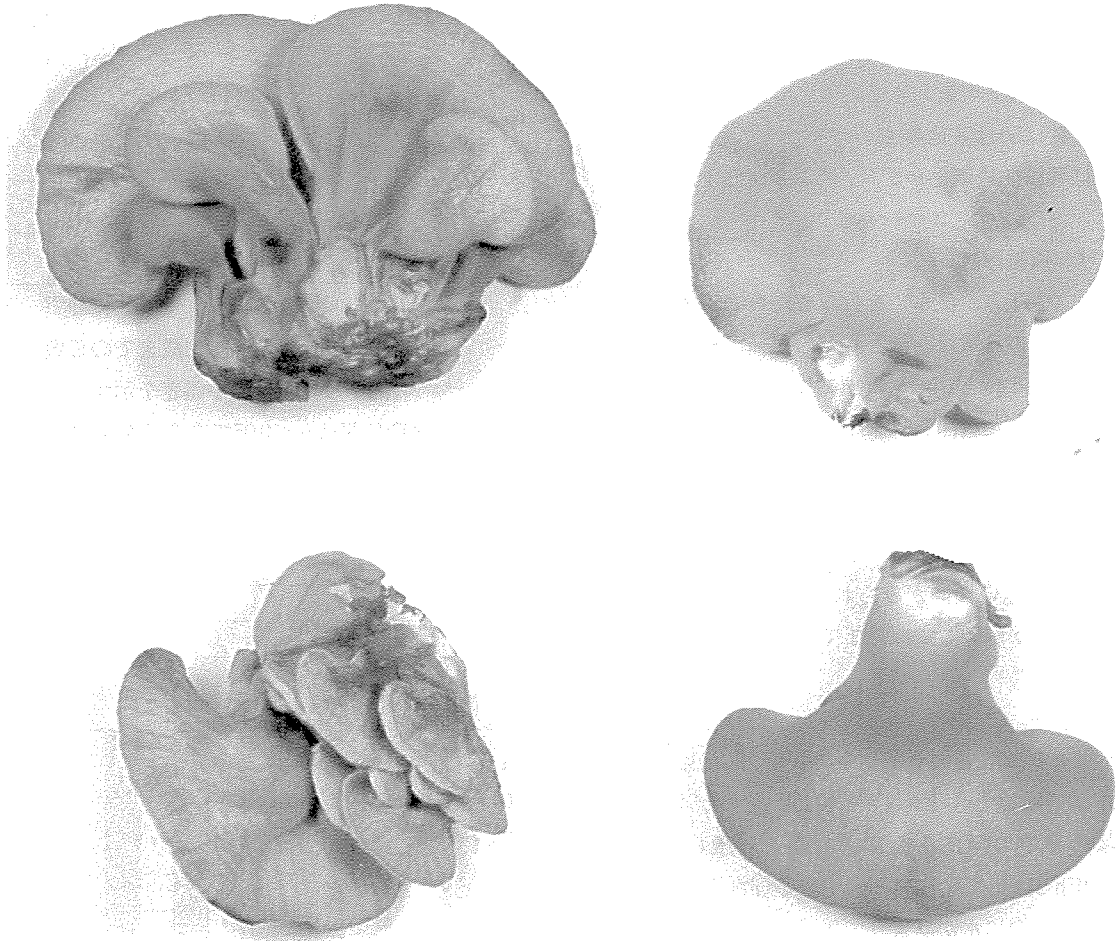


図6 子実体の形状

(上段 左: NFh-2、右: NFh-7、下段 左: NFh-11、右: NFh-12)

3.6 収量

収量は収穫に至った瓶の一瓶あたりの生重量で比較した。最も収量が多かったのはNFh-2で、 140.2 ± 2.8 g (平均値 \pm 標準誤差)であった。他にNFh-7 (113.7 ± 3.2 g)、NFh-10 (103.9 ± 3.2 g)、NFh-11 (99.9 ± 4.0 g) で収量が多かった。NFh-12は収量が極めて少なく 37.9 ± 6.5 gであった(図5)。

3.7 子実体の形質

収穫に至った8菌株は、それぞれ子実体の厚みや表面の色、裏面の管孔が発達するパターン、子実体の成長中に生じる液体の色などに様々な違いが見られた。

子実体の厚みは、NFh-1FとFNFh-15で特に薄く、NFh-2とNFh-10は極めて厚かった。表面の色はNFh-2とNFh-12が特徴的で、前者は青みが強い赤紫色、後者は赤みが強い朱色であり、他の菌株はこの両者の中間的な色合いであった。子実体の成長中に生じる液体もこの二者で大きく違い、前者が不透明な静脈血色であるのに対し、後者は透明な薄い赤色であった。子実体裏面の管孔については、NFh-1Fでは子実体が大きく成長するまで発達せず、全ての管孔が同じくらいの速さで成長するのに対し、NFh-10では子実体の成長初期から柄の付け根付近の管孔が針のように伸び始め、子実体裏面中央部の管孔がすでに5mm程度まで成長しているのに、周縁部ではまだ管孔の分化すら起こっていないという状態になるのが観察された。

ほとんど全ての菌株では、はじめに多数の子実体原基が形成され、成長過程でそれらが融合し、1~4枚程度の大きな子実体に成長したが、NFh-11だけは多数形成された子実体原基がほとんど融合せずに成長し、小さな子実体が瓦状に発生した(図6)。

4. 考察

本試験から、カンゾウタケも他の栽培きのこ同様、菌株間で栽培上の性質が大きく異なることが示された。

ランニングコストを考慮すると、培地に接種してから全体に菌糸が廻るまでの時間は短い方が好ましい。NFh-9は菌廻りに要する日数が 42 ± 1 日(平均値 \pm 標準誤差)で他に比べて速く、菌廻りに関しては最優良菌株と言える。逆にNFh-11とNFh-15は共に菌廻りに60日以上を要しており、現在の栽培条件では実用的な菌株ではない。

発生操作後、収穫に至るまでの時間は、ほとんどの菌株が2ヶ月強であり、特に秀でた菌株は無かった。また、NFh-12とNFh-15は収穫まで3ヶ月近く要しており、

その間に培地が乾くなどのトラブルがあった。収穫まで2ヶ月以上を要するというのは栽培上好ましいとは言えず、改善の必要がある。今回、菌糸が全体に廻ったものからすぐに発生処理を行ったため、菌床が完熟しておらず、子実体の発生が遅れた可能性もある。しかし、菌床の完熟に時間を要しては結局接種から収穫までの時間は短縮されないため、培養温度の調整、培地添加物の改良などで、菌床の完熟を速める工夫が必要と考えられる。

収量については、既存の栽培例では、1kgの培地に対して10~60gであったものが⁸⁾、本試験では550gの培地に対してNFh-2で平均140.2g、最大158.6gと、大きな飛躍があった。また、収穫できた全ての菌株で一瓶あたりの収量の最大値が100gを超えており、今回用いた培地は既存研究で用いられてきた培地よりもカンゾウタケ栽培に適していると考えられる。しかし、一瓶あたりの平均収量には菌株間で100g以上の開きがあり、優良菌株の選抜が重要なことは明らかである。

カンゾウタケ栽培では雑菌汚染が多発することが知られており⁹⁾、本試験でもNFh-14とOFh-2は収穫までに全てが、NFh-15も約半数が汚染した。また、最も収量の多かったNFh-2では、雑菌がみられないのに原基形成が起こらない不発生が多発し、収穫に至ったのは32瓶中20瓶であった。雑菌汚染対策としては、培地へのベンレート水和剤の添加⁹⁾や菌床をスペースラップ(菌床収納袋、(有)スズカミミクロン)という雑菌よけの袋で被覆することが提案されている⁸⁾。しかし食の安全、安心に対する意識が高まっている現在、菌床に農薬を添加することは好ましくない。また、菌床を一つ一つ袋に入れるのは大変な労力を要するため、大量に生産する場合にはスペースラップは不向きかもしれない。生産規模が大きい場合には、培養中の室内を一気に殺菌できるオゾン発生装置の導入が効率的ではないかと考えられる。不発生については原因が不明であり、解明していく必要がある。

以上を総合して優良菌株を選ぶと、収量という観点からはNFh-2、NFh-7、NFh-10、NFh-11が優良と言える。しかし、培地の利用効率を考えると、不発生の多いNFh-2はロスが多く好ましくない。また、生やそれに近い形で販売するのであれば、瓦状に発生して形状が不良のNFh-11も不向きである。本試験に用いた菌株の中ではNFh-7とNFh-10が、収量が多くて培地のロスも少なく形状も美しい優良菌株と考えられる。

今後、品種改良等を行うにあたっては、不発生は多いものの収量が極めて多く色も形状も美しいNFh-2や、菌廻りが速いNFh-9なども育種材料として有望と考えられる。

謝辞

本研究を行うにあたり、菌株をご提供いただいた岡山県林業試験場と、滋賀県森林センターに深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 小川真 (編著) : 野生きのこの作り方. 林業改良普及双書110. 東京, (社) 全国林業普及協会, 1992.
- 2) Arora, D. : "Fistulina hepatica (Beefsteak Fungus; Ox Tongue)". Mushrooms Demystified. 2nd ed. California, Ten Speed Press, 1986.
- 3) 株式会社応微研 : カンゾウタケ菌糸体の培養法. 特開2004-24159. 2004-1-29.
- 4) ハウス食品株式会社 : 新規物質FH-1、FH-2及びその製造法並びにそれを有効成分とする抗菌剤. 特開2000-125892. 2000-5-9.
- 5) 山口亮 : カンゾウタケの栽培特性の解明と原木袋栽培試験. 静岡県林業技術センター業務成績報告. 2002, 46-47.
- 6) 山口亮 : オオヒラタケ、コフキサルノコシカケ及びカンゾウタケの原木栽培試験. 静岡県林業技術センター業務成績報告. 2003, 56.
- 7) 山口亮 : カンゾウタケの原木培地への接種方法. 静岡県林業技術センター業務成績報告. 2004, 52.
- 8) 袴田哲司 : カンゾウタケの菌床栽培—スペースラップの利用、培地添加物、子実体生長時の温度について—. 日本林学会論文集. 108, 455-456 (1997)
- 9) 袴田哲司 : カンゾウタケ菌床栽培の試み. 静岡県林業技術センター研究報告. 23, 45-47 (1995)
(2008年12月24日受理)