

ヌメリスギタケモドキの生育温度

高島幸司*

The Optimal and Critical Temperatures for Growth of *Pholiota aurivella*

TAKABATAKE, Koji*

In order to obtain the basic information for cultivating the wood-rotting wild mushroom *Pholiota aurivella*, studies were conducted on effect of temperature on the monokaryotic and dikaryotic mycelial growth, conidial germination, fruit-body formation, and the resistibility of dikaryotic mycelia to high and frozen temperatures.

The optimal temperatures for dikaryotic and monokaryotic mycelial growth were 21 to 27°C and 18 to 24°C, respectively. The optimal temperature for the monokaryon was lower than that for the dikaryon. The optimal temperature for the germination of conidia from dikaryotic mycelia decreased with increased incubation period, that is, the optimal temperatures were 21 to 30°C after 24 hours-incubation, and 18 to 21°C after 48 to 72 hours-incubation. The dikaryotic mycelia could not survive when exposed to high temperature treatment at 50°C for 24 hours, 55°C for 4 hours, or 60°C for 1 hour. On the other hand, the dikaryotic mycelia exposed to the frozen temperature treatment at -30°C for 8 hours or -25°C for 12 weeks could survive.

The suitable and optimal temperatures for fruit-body formation were 18 to 21°C with mean temperature of about 18°C. The fruit-body production from the SUGI-rice bran medium was 40 to 60% of that from the BUNA-rice bran medium.

ヌメリスギタケモドキの栽培に関する基礎的な知見を得るため、一・二核菌糸体の伸長生長、分生胞子の発芽、子実体形成におよぼす温度の影響および二核菌糸体の高温・凍結耐性について検討した。

二核菌糸体の伸長生長の好適な温度範囲は21~27°Cで、一核菌糸体では18~24°Cであった。一核菌糸体の伸長生長の好適な温度範囲は、二核菌糸体に比べ低温域に移行した。分生胞子発芽の好適な温度範囲は、培養24時間で21~30°C、培養48および72時間で18~21°Cであり、培養時間が長くなるにつれ低温化する傾向を示した。二核菌糸体は、50°C・24時間、55°C・4時間、60°C・1時間の処理で死滅するのに対し、-30°C・8時間、-25°C・12週間の処理でも菌糸体の再生が認められた。子実体形成に好適な温度範囲は18~21°Cで、最適温度は18°Cであった。子実体収量は、スギ米糠培地でブナ米糠培地の40~60%にとどまった。

1991年6月11日受理

本報告の一部は、日本菌学会第34回大会（静岡）で発表した。

* 林業試験場

1. はじめに

ヌメリシギタケモドキの栽培に関する基礎的な知見を得るため、前報では、菌糸体の栄養生長に及ぼす各種外的要因について検討した。その結果、菌糸体培養の温度、初発pH、栄養素の好適条件を明らかにしたが、きのこ栽培は、菌糸体の栄養生長のみだけでなく、接種・培養・子実体原基の誘導・子実体の育成といった一連の工程を通して行われており、各工程での温度管理の良否は、子実体収量に直接結びつく。したがって、ヌメリシギタケモドキを栽培化するには、菌糸体の培養から子実体形成に至るまで、各生育ステージにおける適性温度を把握しなければならない。

本報告では、ヌメリシギタケモドキについて、一核菌糸体の生長、分生胞子の発芽および子実体形成に及ぼす温度の影響について検討した。さらに、二核菌糸体の高温・凍結温度に対する耐性も併せて検討した。

2. 実験方法

2.1 供試菌

二核菌糸体には、富山県内に自生していたヌメリシギタケモドキの組織より分離して得た当センター保存菌株7系統 (Pav-1~7) を供試した。また、一核菌糸体には、Pav-2 系統の子実体の担子胞子を単胞子分離して得た5系統 (M-1~5) を供試した。なお、分生胞子の発芽、菌糸体の高温・凍結耐性、子実体形成の各試験には、Pav-2 系統を用いた。

2.2 培地

接種源の培地及び菌糸体の伸長生長、分生胞子の発芽、菌糸体の高温・凍結耐性の各試験にMYA培地 (グルコース 4g, 麦芽エキス 10g, 酵母エキス 4g, 寒天 20g, 蒸留水 1000ml) を、分生胞子の調整にPDA培地 (日本製) を、子実体形成試験には、木粉米糠培地 (木粉:米糠=4:1 (w/w), 含水率約65%) を使用した。液体及び寒天培地は15分間、木粉米糠培地は30分間、それぞれ121℃, 1.2気圧で高圧滅菌した。

2.3 接種源

供試菌をMYA培地に移植し、24℃にて14日間培養したコロニー先端部を径5mmのコルクボーラーで寒天ごと打ち抜いたディスクを接種源とした。

2.4 菌糸体の伸長生長

菌糸体の伸長生長量は、供試菌をMYA培地に接種し、5~33℃にて10日間培養した後、接種源を中心に任意に直交する直線をひいて、コロニーの直径を測定して求めた。

2.5 分生胞子の発芽

50ml容三角フラスコ中のPDA培地 (15ml) に供試菌を接種し、24℃にて30日間培養した。培養後、滅菌水10mlを三角フラスコ内に注入し、内容物をよく振盪し、孔径100μmのナイロンメッシュで濾過して分生胞子液を得た。分生胞子液の濃度を約10⁶個/ml (200倍の視野に10~15個) になるように希釈した後、MYA培地に接種し、5~33℃で、24~72時間培養して分生胞子の発芽率を求めた。分生胞子の発芽は、分生胞子からの発芽管様態の出現の有無を確認した。発芽率は、1条件につきシャーレ5枚を供試し、シャーレ当たり1000個以上の分生胞子を調べ、シャーレ5枚の平均値で表した。

2.6 菌糸体の高温及び凍結耐性

300ml容三角フラスコ中のMYA培地 (80ml) の上にブナ材小片 (径9mm, 長さ15mm) を重ねないように並べた。MY培地で2週間静置培養した菌糸体をホモジナイザーで細片化し、得られた菌糸体の懸濁液を上記のブナ材小片上に接種して24℃で45日間培養した。培養したブナ材小片を径90mmのシャーレ中のMYA培地 (20ml) 上に2ヶ置き、40~60℃および-10~-30℃にて所定の時間高温及び凍結処理した。処理後、シャーレを直ちに24℃の恒温器に移して14日間培養し、ブナ材小片からの菌糸体再生の有無で生死を判定した。

2.7 子実体形成

前培養として、ブナ材及びスギ辺材の木粉米糠培地を100ml容三角フラスコに40g詰め、供試菌を接種した後、24℃にて30日間暗培養した。前培養の後、12~30℃の所定温度に培養基を移し、最長で90日間静置培養して子実体の発生を促した。なお、培養期間中は、15w昼色蛍光灯を連続照射した。発生した子実体の重量、個数及び前培養後の子実体の発生に要した日数を求めた。

3. 結果及び考察

3.1 菌糸体の伸長生長

ヌメリシギタケモドキ二核菌糸体7系統を5～33℃にて培養した結果を図-1に示した。

系統間に伸長生長の差が認められるものの、いずれの系統も5～30℃で生長が確認され、生長の好適な温度範囲は21～27℃であり、24℃前後で最適温度を示した。30℃で、いずれの系統でも極端に生長が低下し、33℃で、生長が認められる系統と認められない系統とがあった。日本に自生する温帯性食用担子菌類の多くは、10～30℃で生長可能で、30℃になると極端に生長が低下し、20～25℃で最適温度を示すと報告されているが²⁾、二核菌糸体の生長と温度の関係からみるとヌメリシギタケモドキは、温帯性食用担子菌に属するものと考えられる。

ヌメリシギタケモドキ二核菌糸体Pav-2系統の子実体より単孢子分離して得た一核菌糸体5系統を5～33℃にて培養した結果を図-2に示した。

いずれの系統も5～30℃にて生長が可能であった。生長の好適な温度範囲は18～24℃で、最適温度は、系統により21℃ないし24℃前後であり、30℃では二核菌糸体同様に生長が極端に低下した。また、親株(Pav-2系統)で生長可能であった33℃で、生長が認められなかった。本実験に供試した5系統において、一核菌糸体の生長に好適な温度範囲は、二核菌糸体に比べ低温域に移行した。

ナメコでは、一核菌糸体が二核菌糸体より速い伸長生長を示し³⁾、シイタケでは二核菌糸体が一核菌糸体より速い伸長生長を示す傾向にあるが⁴⁾、本菌の一核菌糸体では、二核菌糸体より速い伸長生長を示す系統と遅い伸長生長を示す系統とがあった。また、同一子実体より単孢子分離したにもかかわらず、一核菌糸体の系統間に伸長生長のばらつきが見られた。このことは、たとえ同一の交配型であっても一核菌糸体間の遺伝子構成が微

妙に異なっていると北本の指摘⁵⁾と符合する。

3.2 分生孢子の発芽

ヌメリシギタケモドキ二核菌糸体由来の分生孢子を5～33℃にて、24～72時間培養した発芽率を図-3に示した。

培養24時間後では、発芽に好適な温度範囲は、21～30℃であり、最適温度は24℃前後であった。培養48時間ないし72時間後では、好適な発芽温度範囲は、18～27℃であり、最適温度は21℃前後であった。このように、培養時間が長くなるにつれて、分生孢子発芽の好適な温度範囲が低温域に移行する傾向を示した。

本菌の類縁菌種であるヌメリシギタケでは、分生孢子の好適な発芽温度は、培養24時間後で23～26℃、48時間後で15～20℃、さらに72時間後で10～15℃であり、本菌と同様に培養時間が長くなるにつれて、好適な発芽温度範囲が低温域へ移行することが認められている⁵⁾。また、このような低温域への移行の原

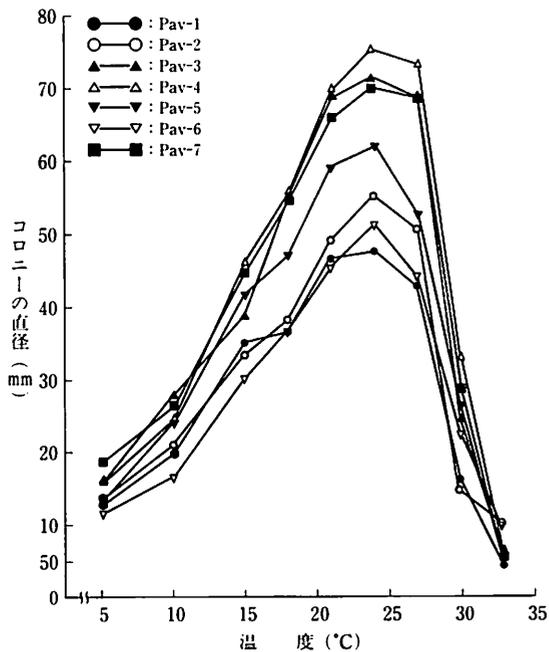


図-1 ヌメリシギタケモドキ二核菌糸体の生長に及ぼす温度の影響

因として、分生孢子発芽に伴う発芽抑制物質の関与が指摘されている⁹⁾ので、本菌においても、分生孢子発芽に発芽抑制物質が関連していると推察される。

3.3 菌糸体の高温及び凍結耐性

ブナ小片に培養したヌメリスギタケモドキ核菌糸体の高温に対する耐性を検討したところ、40および45℃では、54時間処理しても菌糸体の再生が確認された。しかし、50℃では24時間で、55℃では4～5時間で、60℃では1～2時間で菌糸体が死滅した(表-1)。ヤナギマツタケ⁹⁾は45℃・15時間ないし50℃・5時間、ホンシメジ⁹⁾は50℃・1時間、ハタケシメジ⁹⁾は50℃・30分間、ヒラタケ属3種⁹⁾は40℃・48～72時間、ヌメリスギタケ⁹⁾は50℃・5～6時間の処理で、菌糸体が死滅すると報告されている。これら食用担子菌類と本菌の高温耐性を比較すると、本菌は、高温に対して比較的耐性のある食用担子菌であると考えられる。しかし、気温26～27℃で、直射日光にさらされたホダ木内温度は50℃以上になること¹⁰⁾から、本菌を栽培するには、ホダ木を直射日光に長期間さらさないように注意する必要がある。

次いで、-10～-30℃の凍結温度下で1～8時間処理し、菌糸体の生死を検討したところ、-10～-30℃のいずれの凍結温度下で8時間処理しても、菌糸体の再生が確認された(表-2)。そこで、-25℃でさらに長期間処理して菌糸体の生死を検討したところ、12週間処理しても菌糸

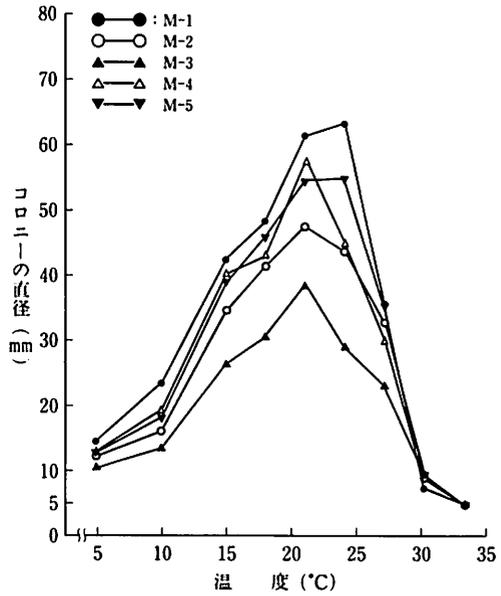


図-2 ヌメリスギタケモドキ核菌糸体の生長に及ぼす温度の影響

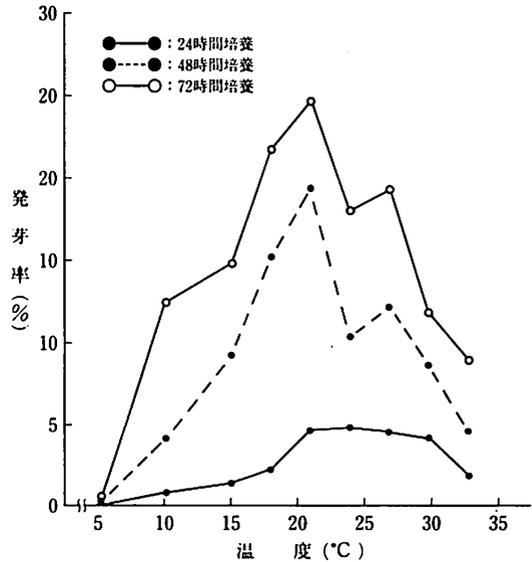


図-3 ヌメリスギタケモドキ核菌糸体由来分生孢子の発芽に及ぼす温度の影響

表-1 ヌメリスギタケモドキ二核菌糸体の高温耐性

処理時間 ℃	処理時間 (時間)													
	1/4	2/4	3/4	1	2	3	4	5	6	7	8	24	54	
40				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
45				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
50				+	+	+	+	+	+	+	+	-		
55	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-		
60	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-		

“+”: 全ての培養ブロックより、菌糸体の再生が認められた。
 “±”: 一部の培養ブロックで、菌糸体の再生が認められなかった。
 “-”: 全ての培養ブロックで菌糸体の再生が認められなかった。

体の再生が確認された(表-3)。

前川らは、食用担子菌類の二核菌糸体35属69種250菌株を凍結保護剤と共に液体窒素(-196℃)中に1ヶ月間保存し、麦芽エキス培地で再生させたところ、一菌株を除く全ての菌株で、菌糸体の再生が認められ、菌叢形態及び菌糸体の伸長度において、凍結前と有意差が認められなかった¹¹⁾。また、エノキタケ・ヒラタケ・ヤナギマツタケでは、凍結前後の菌株間で子実体収量に有意差が生じなかったこと¹²⁾を報告している。このように食用担子菌類の菌糸体は、グリセリン等の凍結保護剤の混在下で強い凍結耐性を示すが、ヌメリスギタケモドキは、本実験の結果が示すように、培養菌糸体を凍結保護剤なしで凍結温度下に長期間処理しても菌糸体の再生が確認された。このことより、ヌメリスギタケモドキを栽培する場合、培養基やホダ木を凍結温度下で長期間さらしても影響がないと考えられる。

3.4 子実体形成

ヌメリスギタケモドキ子実体の発生を促し、子実体収量を測定した結果を図-4に示した。

バナ米糠培地(以下、バナ培地とする。)では、12~24℃で子実体を形成し、27℃以上では、前培養後90日経っても子実体原基の形成すら認められなかった。子実体の収量が良好な温度範囲は、18~21℃であった。スギ米糠培地(以下、スギ培地とする。)では、15~21℃で子実体を形成し、12℃あるいは24℃では、子実体原基を形成するにとどまった。また、27℃以上では、バナ培地同様に子実体原基を形成しなかった。子実体の収量が最も多かったのは、18℃前後であった。

これまでに、シイタケ¹³⁾¹⁴⁾・ヒラタケ⁹⁾・エノキタケ¹⁵⁾・ツクリタケ¹⁶⁾・ヌメリスギタケ⁶⁾・ヤナギマツ

表-2 ヌメリスギタケモドキ二核菌糸体の凍結耐性

処理温度 ℃	処理時間 (時間)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
-10	+	+	+	+	+	+	+	+
-20	+	+	+	+	+	+	+	+
-30	+	+	+	+	+	+	+	+

“+”, “±”, “-”: 表-1と同様。

表-3 ヌメリスギタケモドキ二核菌糸体の凍結耐性

処理温度 ℃	処理時間 (日間)						
	1	2	3	4	5	6	7
-25	+	+	+	+	+	+	+

処理温度 ℃	処理時間 (週間)						
	2	3	4	6	8	10	12
-25	+	+	+	+	+	+	+

“+”, “±”, “-”: 表-1と同様。

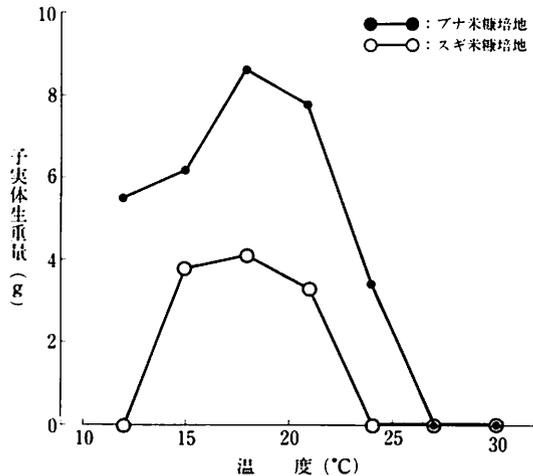


図-4 ヌメリスギタケモドキの子実体形成(子実体の発生量)に及ぼす温度の影響

タケ⁷⁾に関して、子実体原基や子実体形成に及ぼす温度の影響について検討されているが、いずれの食用担子菌も子実体原基および子実体形成に好適な温度範囲は、菌糸体の栄養生長に好適な温度範囲よりも低温域に移行し、また、子実体形成可能な温度範囲は、菌糸体の栄養生長可能な温度範囲よりも狭くなると指摘されている。ヌメリスギタケモドキにおいても、それらと全く同様な傾向を示した。また、本菌において、スギ培地では、ブナ培地よりも子実体形成可能な温度範囲が狭くなることから、子実体形成可能な温度範囲が培地条件により変化するものと推察する。

スギ培地とブナ培地での子実体収量を比較すると、スギ培地の収量は、15℃、18℃、21℃でそれぞれブナ培地の61%、48%、42%であった。

前培養後の子実体形成に要した日数と発生した子実体の個体数を求めた結果、ブナ培地とスギ培地では同様な結果を示したので、ブナ培地での結果を図-5に示した。

子実体形成に要する日数は、18℃で27日、21℃で43日、15℃で46日、24℃および12℃で58日であった。即ち、18℃から高・低温域にずれるにしたがい子実体形成に要する日数が増える傾向を示した。一方、子実体の個体数でも、18℃で4.1個、21℃で2.5個、15℃で2.1個、24℃で1.9個、12℃で1.4個であり、18℃から高・低温域にずれるにしたがい子実体個数が少なくなる傾向を示した。これらのことから、ヌメリスギタケモドキの子実体を発生誘導するには、子実体形成に要する日数が最も少なく、さらに、形成する子実体の個体数が最も多くなる18℃前後が最適と考えられる。

当初、スギ間伐材を有効利用することを念頭において、スギ

培地での本菌の栽培化を目的に様々な試験を重ねてきたが、スギ培地での子実体収量がブナ培地での40~60%の収量にとどまる結果となり、ブナ培地に比べスギ培地では、栽培効率が劣る。したがって、ヌメリスギタケモドキを大量に栽培するには、スギ材と米糠のみの混合培地で栽培することは難しいと判断せざるをえない。しかし、スギ米糠培地より子実体が発生することから、米糠以外の栄養添加物やブナ材とスギ材を混合した培地を検討すれば、ヌメリスギタケモドキの栽培用培地としてのスギ間伐材の使用が可能であると考えられる。

4. まとめ

ヌメリスギタケモドキを栽培化するための基礎的な知見を得ることを目的に、ヌメリスギタケモドキ

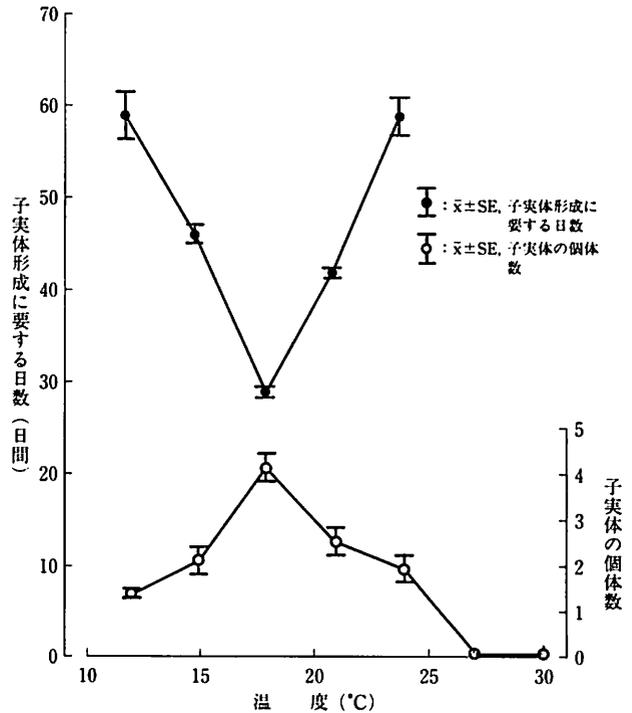


図-5 ヌメリスギタケモドキの子実体形成(子実体形成に要する日数、子実体の個体数)に及ぼす温度の影響

の一・二核菌糸体の伸長生長、分生胞子の発芽、子実体形成に及ぼす温度の影響と二核菌糸体の高温・凍結耐性について検討したところ、

(1) ヌメリスギタケモドキ二核菌糸体の好適な温度範囲は21~27℃で、一核菌糸体の好適な温度範囲は18~24℃であった。一核菌糸体の好適な温度範囲は、二核菌糸体に比べ低温域に移行した。

(2) 分生胞子発芽の好適な温度範囲は、培養24時間で21~30℃であったのに対し、培養48あるいは72時間では、18~21℃であった。分生胞子発芽の好適な温度範囲は、培養時間が長くなるにしたがい低温域に移行する傾向を示した。

(3) ヌメリスギタケモドキ二核菌糸体は、50℃・24

時間、55℃・4時間、60℃・1時間の処理で死滅した。凍結温度に対しては、-30℃・8時間、-25℃・12週間で処理しても、菌糸体の再生が確認された。

(4) ヌメリスギタケモドキの子実体形成に好適な温度範囲は、18~21℃であった。スギ培地での子実体収量は、ブナ培地での収量の40~60%にとどまった。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ヌメリスギタケモドキの同定をしていただいた農林水産省森林総合研究所研究員、根田 仁氏に、野生きのこの採集に御協力いただいた富山県林業技術センター林業試験場職員の方々に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 高島幸司：ヌメリスギタケモドキ菌糸体の培養特性，富林技研報，3，10-16，(1990)
- 2) HASHIOKA.Y., I.ARITA.: Naturalization of several saprophytic mushrooms under rice-straw-culture, Mushroom Sci., X, 127-135, (1978)
- 3) 有田郁夫：ナメコの栽培に関する研究 I. 菌糸の生長と温度，菌草研報，6，58-73，(1968)
- 4) 西門義一，山内己酉：シイタケの性とその鋸屑培養に就いて，農学研究，25，474-505，(1935)
- 5) 北本 豊：きのこの育種技術学，3 4 回日本菌学会講要集，16-17，(1990)
- 6) ARITA.I., A.TERATANI., Y.SHIONE.: The optimal and critical temperatures for growth of *Pholiota adiposa*, Rept. Tottori. Mycol. Inst., 18, 107-113, (1980)
- 7) 木内信行：ヤナギマツタケの菌糸体生長ならびに子実体形成におよぼす 2, 3 の要因の影響と子実体の構成成分について，神林試研報，12，1-24，(1985)
- 8) ————：ホンシメジおよびハタケシメジ培養菌糸の生理的性質の比較，ibid, 9，9-18，(1983)
- 9) ZADRAZIL.F.: The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus eryngii*, Mushroom Sci., IX, 621-652, (1974)
- 10) 松本由友，渡辺 章：陽光の直射によるシイタケ椀木内温度の変化について，菌草研報，1，85-91，(1961)
- 11) MAEKAWA. N., et al.: Cryopreservation of edible basidiomycetous fungi in liquid nitrogen, Rept. Tottori. Mycol. Inst., 26,15-28, (1988)
- 12) ————, et al.: Effects of liquid nitrogen cryopreservation on stock cultures of three cultivated basidiomycetous Fungi, ibid, 28, 227-232, (1990)
- 13) 時本景亮，小松光雄：シイタケの菌糸生長および子実体原基形成におよぼす温度の影響，日菌報，23，385-390，(1982)
- 14) 小松光雄，時本景亮：ほだ木上におけるシイタケの子実体原基形成におよぼす温度および水分の影響，菌草研報，20，104-112，(1982)
- 15) KINUGAWA.K., H.FURUKAWA.: The fruit-body formation in *Collybia velutipes* induced by the lower temperature treatment of one short duration, Bot. Mag. Tokyo., 78, 240-244, (1965)
- 16) P. B. FLEGG.: Effect of temperature on sporophore initiation and development in *Agaricus bisporus*, Mushroom Sci., X, 595-602, (1978)