

きのこの害菌防除に関する研究

菅原 冬樹・阿部 実・戸田武*・福島淳*・藤晋一*・古屋廣光*

* 秋田県立大学生物資源科学部

Studies on the prevention of harmful fungi and insects of mushroom cultivation.

Fuyuki Sugawara, Minoru Abe, Takeshi Toda*, June Fukusima*, Shinichi Fuji* and
Hiromitu Furuya*

要 旨

1. 落下菌調査

1) 接種室の落下菌数は、調査地によって0個から100個程度の幅がみられ、落下菌数の多少は施設の高度性よりも接種室の清掃・消毒等管理方法による影響が大きかった。

2) 落下糸状菌類で出現頻度が最も高かったのは *Penicillium* 属菌でほとんどの栽培施設で確認され、続いて多かったのは *Cladosporium* 属菌、*Aspergillus* 属菌であった。

3) 落下細菌類で出現頻度が高かったのは、*Staphylococcus epidermidis*、*Micrococcus luteus*、*Kurthia sibirica*、*Bacillus* sp.および*Curtobacterium flaccumfaciens*であった。

2. ブナシメジ菌床栽培の *Bacillus* 属菌による生育阻害

1) 被害培地から分離された細菌5菌株は、*Bacillus senegalensis* と *B. sporothermodurans* と同一性が高く、これら2種と近縁であることが示唆された。これらの *Bacillus* 属菌は、きのこ栽培の病原菌としてこれまでに報告されていない細菌である。

2) 分離された *Bacillus* 属菌は、pH5.4~7.2の範囲のオガ粉培地で顕著に増殖し、5時間以上の常圧殺菌でも死滅しなかった。これら *Bacillus* 属菌に対して、常圧殺菌の場合、培地pHを6以下に調製し、培地内温度が98℃を6時間以上維持する殺菌で被害を予防することができた。

3. きのこと栽培施設に発生するダニ類と被害の実態

1) ダニ類の生息が確認されたのは、シイタケ、ブナシメジ、ヒラタケおよびエリンギの4種きのこの栽培施設であった。

2) ブナシメジ栽培施設では、培養室からケナガコナダニとカブリダニ、シイタケ栽培施設では、発生室からケナガコナダニ、マヨイダニの一種及びゴミタメヒゲダニが捕獲された。

3) ケナガコナダニは、ブナシメジ栽培施設では *Penicillium* 属や *Trichoderma* 属などの害菌伝播による汚染被害、そしてシイタケ栽培施設では子実体食害による奇形化を引き起こした。その対策として、施設内を乾燥気味に管理し、床掃除によりダニの生息密度を低下させることで被害最小限に食い止めることができた。

I はじめに

農山村地域での重要な産業として定着しているきのこ生産において、特に菌床シイタケの生産額は年々増加し、全きのこ類の6割を占めるまでに成長している。その生産基盤についても整備・拡充がすすめられているが、きのこ栽培における害菌の発生は、生産規模が大きい程その損失も大規模になりうる事が懸念される。施設栽培においては、菌床シイタケに限らず、エリンギなど新しいきのこ品目や品種の増加そして栽培方法の変化に伴ってさまざまな害菌が発生している(河野ら, 1982; 田端ら, 1968, 1969; 富樫ら, 1992, 1996)。また、自然環境を利用した露地栽培では、粘菌被害など新たな病害事例も多く見られるようになった(菅原, 2007)。

農林家の貴重な収入源となっているきのこ栽培にとって、害菌に起因する収量の減少は、きのこ栽培経営に大きなダメージを与えることとなる。また、一度発生すると大規模となりその被害は甚大となりやすい。きのこ生産者からの相談では、病害に関する問い合わせが最も多く、早急な対処が求められている。このため栽培過程上に発生する害菌による病徴や被害を把握し、害菌の同定及び害菌防除対策の確立が必要である。

そこで、本研究では害菌の防除対策技術を確立するために、次の3項目について調査・研究を実施した。

1. 落下菌調査

きのこ菌床栽培において、常に問題となるのは、糸状菌や細菌などの培地混入によるきのこ生産への影響である。それら菌類による栽培施設の汚染度を判定する方法として、空中落下菌調査が有効とされている(田部ら 1968, 1969, 富樫ら 1992, 1996, 菅原ら 1997, 河野ら 1982)。そこで、害菌防除対策としての基礎資料を得るために、秋田県内の各きのこの菌床栽培施設において定期的な落下菌調査を実施し、糸状菌および細菌について落下菌数の測定や種類の同定などを行った。

2. ブナシメジ菌床栽培の *Bacillus* 属菌による生育阻害

ブナシメジ栽培の培養過程において、菌糸のストップ症状や発生不良を伴う菌叢の異常が認められた(図1)。本研究では、これら培地から細菌の検出を試み、著しく耐熱性のある細菌5菌株を得た。これら5菌株について、分子同定を行うと共に、分離細菌の耐熱性、汚染の再現及び発生源について試験を行い、防除方法の確立を目的に行った。

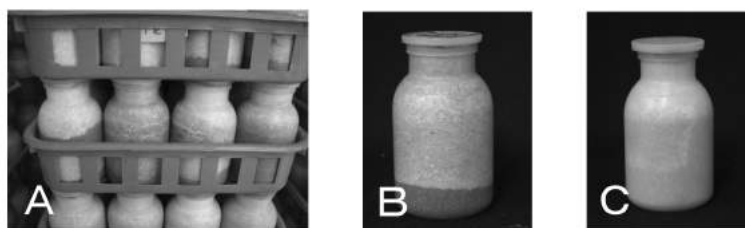


図1 菌糸のストップ症状や発生不良を伴う菌叢の異常

- A: 培養中の菌糸のストップ症状や菌叢の異常
- B: 菌糸のストップ症状
- C: 菌叢の異常

3. きのか栽培施設に発生するダニ類と被害の実態

ブナシメジなどのきのか菌床栽培で *Trichoderma* 属などの糸状菌が多発し、壊滅的被害を受けることがある（岡部，2006）。また、シイタケ栽培では、柄の褐変や奇形の発生が見られることがある（岡部，1998）。これらの原因として、ダニの介在が上げられる。きのか栽培に害をもたらすダニは、肉眼で確認することは難しく、その大きさは 0.5mm に満たない。ダニは体の表面にカビの胞子を付着し、培養室内では風に乗ったり、歩いたりして移動分散する。ダニの産卵数は 1 雌あたり 100 個を越え、卵から孵ったダニは菌床から菌床へと移動し、この繰り返して被害が広がる。そのため、ダニが一旦発生すると大規模となりその被害は甚大となりやすい。そこで本研究では、菌床栽培施設に生息するダニ類についてきのか被害の実態、症状調査並びに分離・同定を行った。

なお、本研究は秋田県立大学との公設試連携研究（2007 年度～2009 年度）として実施した。

II 材料と方法

1. 落下菌調査

1) 調査時期および調査地

落下菌調査は、2007 年から 2010 年にかけて、年 2 回（夏期 6 月～7 月、冬期 12 月～翌 1 月）、秋田県内のきのか菌床栽培施設 52 カ所（表 1）で実施した。栽培きのかの内訳は、シイタケ 21、ナメコ 5、ヒラタケ 3、エノキタケ 2、マイタケ 6、ブナシメジ 9、エリンギ 6 である。

2) 供試培地および落下法

調査には、ポテトデキストロース寒天培地（糸状菌用、以下 PDA）および一般細菌用寒天培地（細菌用、以下 BA）を、直径 90mm の滅菌ペトリ皿に約 20ml 分注し、平板培地として使用した。落下菌の採取は、栽培施設 1 カ所あたり、接種室、培養室、発生室の各室に PDA と BA の平板培地それぞれ 3 枚ずつを供試し、床から約 1 m の高さで培地面を 5 分間解放して行った。調査に用いた平面培地は、室温（約 25℃）で 1 週間培養し、出現した糸状菌および細菌のコロニーについて計数と観察を行うとともに、栽培施設単位で出現頻度の高い主な糸状菌および細菌については再分離を行い、PDA および BA の斜面培地に保存した。

3) 落下菌の同定

糸状菌類については、再分離した菌株のうち、菌叢の肉眼観察によって類別した形態的特徴の異なる 165 菌株について、培養菌叢と顕微鏡観察による形態的特徴や DNA の分析による同定を行った。前者については、PDA 斜面培地で培養し、7 日から 14 日後の培養形態に基づいて判別した。後者については、菌株から PEX 法によって DNA を抽出して、リボゾーム DNA の ITS (rDNA-ITS) 領域の塩基配列に基づいて判別した。

次に、細菌類については、空中落下菌に加えて病徴が現れた子実体や栽培培地から分離した 154 菌株を、LB 寒天培地で 5～10 日間あるいは LB 液体培地で 2～10 日間培養し、得られた菌体が

表1 調査地

調査地№	栽培きのこ	栽培方法		備考	調査地№	栽培きのこ	栽培方法		備考
		栽培型	栽培容器				栽培型	栽培容器	
1	シイタケ	季節	2.7kg袋	高圧	27	ヒラタケ	季節	850mlビ'ン	常圧
2	"	季節	2.7kg袋	-	28	"	季節	850mlビ'ン	常圧
3	"	季節	2.7kg袋	-	29	"	季節	850mlビ'ン	常圧
4	"	周年	2.5kg袋	常圧	30	エノキタケ	季節	850mlビ'ン	常圧
5	"	季節	2.5kg袋	常圧	31	"	周年	850mlビ'ン	常圧
6	"	季節	1.2kg袋	高圧	32	マイタケ	周年	2.5kg袋	高圧
7	"	季節	1.2kg袋	-	33	"	周年	1000mlビ'ン	常圧
8	"	周年	2.5kg袋	常圧	34	"	周年	2.5kg袋	常圧
9	"	周年	2.5kg袋	常圧	35	"	周年	1500mlビ'ン	常圧
10	"	周年	2.5kg袋	常圧	36	"	季節	2.5kg袋	常圧
11	"	季節	2.7kg袋	高圧	37	"	周年	2.5kg袋	常圧
12	"	季節	2.7kg袋	高圧	38	ブナシメジ	周年	850mlビ'ン	常圧
13	"	季節	2.5kg袋	常圧	39	"	季節	850mlビ'ン	常圧
14	"	季節	2.7kg袋	高圧	40	"	周年	850mlビ'ン	高圧
15	"	季節	2.7kg袋	高圧	41	"	周年	850mlビ'ン	高圧
16	"	周年	2.7kg袋	-	42	"	季節	850mlビ'ン	高圧
17	"	季節	2.2kg袋	常圧	43	"	季節	850mlビ'ン	常圧
18	"	季節	2.2kg袋	常圧	44	"	季節	850mlビ'ン	常圧
19	"	季節	2.2kg袋	常圧	45	"	季節	850mlビ'ン	常圧
20	"	季節	2.7kg袋	高圧	46	"	季節	850mlビ'ン	常圧
21	"	季節	2.7kg袋	-	47	エリンギ	周年	850mlビ'ン	高圧
22	ナメコ	季節	1.2kg袋	常圧	48	"	周年	850mlビ'ン	高圧
23	"	季節	1.2kg袋	常圧	49	"	周年	850mlビ'ン	高圧
24	"	周年	800mlビ'ン	高圧	50	"	周年	850mlビ'ン	常圧
25	"	季節	800mlビ'ン	常圧	51	"	季節	850mlビ'ン	常圧
26	"	季節	1.2kg袋	常圧	52	"	周年	850mlビ'ン	常圧

ら DNA を抽出し分子同定を行った。DNA の抽出には Wizard® Genomic DNA Purification Kit を用い、rDNA-16S 領域の一部分にあたる 1.5Kb の領域を PCR によって増幅した。プライマーは「27F」および「1492R」を用い、増幅のための酵素は rTaqDNA ポリメラーゼ (Takara 社製) を用いた。PCR における温度設定は、94℃ 3 分間を 1 サイクル、94℃ 30 秒間、50℃ 30 秒間、72℃ 1 分間を 30 サイクル、72℃ 7 分間を 1 サイクルとした。得られた産物を制限酵素 HaeIII で処理後、電気泳動のバンドパターンによって供試菌株を類別し、各菌株の PCR 産物を塩基配列の解析 (シーケンシング) に用いた。

得られた解析データをもとに、ジーンバンク (NCBI) の検索システム (BLASTN) を用いて各菌株の同定を行った。

2. ブナシメジ菌床栽培の *Bacillus* 属菌による生育阻害

常圧殺菌 (98℃) を行っている生産現場から栽培培地を回収し、微生物生存の有無・培地 pH について調査した。得られた菌株のうち細菌類において、芽胞染色による形態および芽胞の観察、およびリボゾーム DNA 16S 領域の塩基配列の解析による分子同定を行った。次に、検出された微生物を用いて病原性の再現試験を行い、病徴を示す微生物を特定した。さらに汚染がどの過程で生じるかを解明するため、殺菌から接種のどの段階で汚染されるかを検討し、分離菌株の増殖に及ぼす pH の影響と耐熱性に及ぼす培地の影響について調査した。

1) 細菌の同定

供試細菌はブナシメジの栽培培地から分離された 5 菌株である。芽胞染色は LB 寒天培地で培養した菌体をスライドガラス上で滅菌水と混合し、風乾および火炎固定処理して、染色用のサンプルとした。サンプルを芽胞染色処理し、顕微鏡観察した。分子同定は、菌体を LB 液体培地に移して 2~4 日間振とう培養し、培養後の菌体から DNA を抽出して行った。DNA の抽出および PCR の増幅の各条件は、前述の「落下菌の細菌同定」と同じである。各菌株の PCR 産物を塩基配列の解析 (シーケンシング) に用いた。シーケンシング用のプライマーは、「27F」と「1492R」に加え、「519F」と「806R」の合計 4 種類を用いた。塩基配列解析後、4 種類のプライマーから得られたデータを GENETYX で整頓し、各菌株の塩基配列をジーンバンク (NCBI) の検索システムおよび GENETYX を利用して、各菌株の属あるいは種を判別した。

2) 侵入経路の特定

検出された *Bacillus* 属菌が栽培期間のどの過程 (図 2) で混入しているかを確かめるため、細菌が検出された 3 カ所のブナシメジ栽培施設で以下の調査を行った。

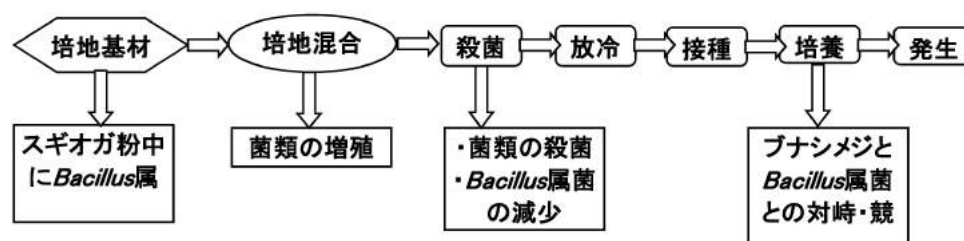


図2 きのか栽培過程と *Bacillus* 属菌の関係

(1)常圧殺菌の効果

供試培地は、ブナシメジ栽培用培地を調整後、98℃で8時間の常圧殺菌を行い、殺菌前および放冷後の培地の雑菌検査を行った。放冷中の外気吸い込みによる汚染も考えられるため、培地をポリプロピレン製（フィルター付き）に入れ、吸い込みによる汚染を防いだものと通常の状態に置いたものとで殺菌を行い、培地内の微生物について調査した。

(2)微生物侵入経路の特定

栽培に用いられる個々の培地基材から *Bacillus* 属菌の検出を行った。スギオガ粉、フスマ、米ぬか、オカラおよび菌糸活性剤各々1gを10ml滅菌水に懸濁し、一般細菌用寒天培地に200μlを塗布して *Bacillus* 属 No.1～No.5 菌株の検出を行った。

3) *Bacillus* 属菌の特性

分離した *Bacillus* 属菌の培養特性を調査した。

(1)一般細菌用寒天培地は、1N HCl または 1N KOH を用いて pH を 5.0 から 7.5 までの 0.5 単位で6段階に調製した。それらの培地に No.1～No.5 の5菌株を接種し、増殖に及ぼす pH の影響について調査した。

(2)スギオガ粉培地は、スギオガ粉にフスマを栄養源として混合し、菌糸活性剤を 850ml 栽培瓶1本当たり 0～14.29g 加え、pH を5段階に調製した。それらの培地を滅菌後、No.1～No.5 の5菌株を接種した。22℃で5日間培養後、培地 1g を滅菌水 10ml に懸濁し、良く攪拌した後適宜希釈し、この希釈液 200μl を一般細菌用寒天培地に塗布し、増殖に及ぼす pH の影響について調査した。

4) ブナシメジと *Bacillus* 属菌の二員培養におけるブナシメジ菌糸体の伸長

スギオガ粉にフスマを栄養源として混合し、菌糸活性剤を 0～14.29g 加え、pH の異なる培地を調製した。両口試験管に一定量の培地を詰め込み、滅菌後 No.1～No.5 の5菌株を接種した。22℃で5日間培養後、一方の培地表面にブナシメジ種菌（千曲 H2 号および H120 号）を接種し、22℃で数週間培養し、ブナシメジ菌糸体の伸長量を測定した。

5) 培地 pH と殺菌時間の関係

Bacillus 属菌の培養は、一般細菌用液体培地を 20 ml 添加した 100ml 容三角フラスコに、分離した *Bacillus* 属菌 No.1～No.5 菌株を接種し、20～25℃で3日間行った。供試培地は、スギオガ粉にフスマを栄養源として混合し、菌糸活性剤を 850ml 栽培瓶1本当たり 0～14.29g 加え、pH を6段階に調製した。100ml 容ガラス瓶（商品名：UM サンプル瓶）に培地を充填後、121℃で2時間滅菌した培地に、*Bacillus* 属菌 No.1～No.5 菌株を 1ml 接種し、5日間22℃で培養した。

培地の殺菌は、98℃で1～5時間の常圧殺菌と前日に2時間、翌日4時間の間欠殺菌を行い、殺菌前および放冷後の培地の雑菌検査を行った。

3. きこの菌床栽培に発生するダニ類と被害の実態

ダニの捕獲用培地と設置方法を検討するため、PDA 培地、GMY 寒天培地（グルコース 10g/l、麦芽エキス 10g/l、酵母エキス 4g/l）、PCMY 寒天培地（ポリペプトン 10g/l、カザミノ酸 2g/l、麦芽エキス 10g/l、酵母エキス 4g/l）、浜田寒天培地（グルコース

ス 10g/l, エビオス 4g/l) および素寒天培地 (寒天 1.5%) を滅菌済みシャーレ 2 種類 (直径 90mm×高さ 20mm, 直径 90mm×高さ 15mm) に約 20ml 分注し, 平板培地とした。捕獲試験は, 2008 年 6 月に秋田県横手市にある周年栽培と季節栽培の菌床シイタケ栽培施設で行った。2 施設の発生室 (室温 15-20℃, 湿度 50-80%RH, 床面積 15m×20m) で, 5 種類のダニ捕獲用培地を地上 30cm, 70cm, 110cm の高さにそれぞれ設置し, 24 時間, 48 時間, 72 時間放置し, 捕獲されたダニの数と種類を確認した。

次に, 栽培施設におけるダニ類の調査時期および調査地は, 「1. 落下菌調査」と同様とした。調査には, PDA 平板培地を使用した。3 枚の平板培地を設置して, 蓋を 1 昼夜開放後, まわりをビニールテープで封をし, 実体顕微鏡で頭数を調査した。また, 菌床シイタケ栽培では, 品種や栽培方法の異なる 18 カ所の培養及び発生施設で調査を行った。採集したダニは, 70%エタノール溶液に浸漬した後, ホイヤー氏液でマウントし, 位相差顕微鏡下で同定した (岡部ら, 2002)。

III 結果および考察

1. 落下菌調査

秋田県内の菌床栽培施設は, クリーンルームを備えた空調施設から, 暖房設備のみを備えたビニールハウスや木造の簡易施設まで多種多様であり, 栽培方式 (周年栽培, 季節栽培) や栽培容器 (ビン, 袋) も栽培するきのこによって様々である。今回の落下菌調査は, 栽培きのこ, 栽培方式および地域の各それぞれの栽培施設をほとんど全県網羅した形で実施した (阿部ら 2009, 2010, 菅原ら 2010)。

1) 落下菌数

落下菌数については, いずれの栽培施設においても, 接種室<培養室<発生室の順に増加傾向がみられた。接種室は, 種菌の植菌作業により培地面が一時暴露されることから, 落下菌数の度合いが培地汚染に大きく影響する。きのこ種および栽培方式毎に主な栽培施設の接種室における落下菌調査結果を表 2 に示した。その落下菌数は調査地によって 0 個から 100 個程度と大きな幅がみられ, シイタケ培養センター (調査地 No.11) やエリンギ栽培施設 (同 No.49) などの機密性の高いクリーンルームを備えた施設では 0~1 程度と少なかった。シイタケ栽培施設 (No.17) の簡易なパイプハウスであっても落下菌数が少ない場合があり, 一方, ブナシメジ (No.41) とエリンギ (No.52) の生産施設は空調施設となっているが, 両施設とも落下菌数が多く, 落下菌数の多少は施設の高度性よりも清掃・消毒等接種室の管理方法による影響が大きかった。ヒラタケ (No.28), マイタケ (No.33), ブナシメジ (No.42) の各栽培施設では, 接種室の清掃・消毒を励行して落下菌数を減らしたことにより, 被害を減少させるなど改善効果がみられたこともあり, 清掃・消毒と並行して落下菌調査を適宜実施することは, 施設管理の意識向上のためにも非常に有意義であると考えられる。今回の落下菌調査および全般的調査結果から, 平面培地 1 枚あたりの落下菌数と汚染度合いの目安を設定する場合, 接種室では [0 個: 問題なし, 1~2 個: 少々汚れている,

3個以上：問題あり」が適当と思われる。

PDA（糸状菌用）とBA（細菌用）との平板培地別への落下菌数については、一部に差がみられたが、全体的には概ね同程度であった（表2）。また、これまでの報告（菅原ら1997、宮崎ら2000）より夏期には落下菌数は増えるということが予想されたが、今回の調査では落下菌数の季節変動は認められなかった（表2）。

2) 落下菌の種類

落下菌の種類について、栽培きのこ毎の同定結果を表3～7に示す。糸状菌類165菌株については、これまでの報告（田部ら1968、1969、富樫ら1992、1996、菅原ら1997、河野ら1982）と同様、出現頻度が最も高かったのは *Penicillium* 属菌（70菌株）で、ほとんどの栽培施設で確認された。続いて多かったのは *Cladosporium* 属菌（15菌株）、*Aspergillus* 属菌（12菌株）で、これらは空中菌類として一般的な菌類とされている（箕浦1977）。出現数は多くなかったが、繁殖力が極めて旺盛で、きのこ栽培害菌として甚大な被害を及ぼす *Trichoderma* 属菌（5菌株）、*Hypocrea* 属菌（4菌株）および *Neurospora* 属菌（4菌株）も検出された。また、今回落下法ではほとんど出現しないとされている（箕浦1977）*Phoma* 属菌（6菌株）と *Epicoccum* 属菌（1菌株）が確認されたが、この菌の栽培きのこへの影響についてはこれまでも報告はなく不明である。さらには、落下菌の中に栽培種や野生種の担子菌類も検出され（35菌株）、特に栽培種であるエリンギの場合、機密性の高い接種室まで担子孢子が浮遊していることは予想外であったが、それだけエリンギの孢子飛散量の多いことが伺われた。

次に、細菌類154菌株のうち、108菌株の分子同定を行った結果、出現率の高かった細菌類は、表3～7に示すように、*Staphylococcus epidermidis*（21菌株）、*Micrococcus luteus*（19菌株）、*Kurthia sibirica*（19菌株）、*Bacillus* sp.（13菌株）および *Curtobacterium flaccumfaciens*（7菌株）であった。また、*Staphylococcus epidermidis*、*Micrococcus antarcticus*、*Kurthia sibirica* の3種は、エノキタケを除くきのこ栽培施設で確認された。なお、*Staphylococcus epidermidis* は表皮ブドウ球菌と呼ばれ、多くのヒトの皮膚に常在し、表皮を健康に保つ役目を果たしている菌として知られており、環境中には通常存在しないと言われている。この細菌が接種室で見られたことから、どの時点で侵入しているのか検討する必要がある。*Bacillus* sp. は、シイタケ（No.20）、エノキタケ（No.30）、マイタケ（No.32, 34, 35）、ブナシメジ（No.39, 40）、およびエリンギ

（No.50）の各栽培施設で確認された。特に、生育不良を起こしたきのこの栽培容器から分離された5菌株（菅原ら、2009）は *Bacillus senegalensis* および *B. sporothermodurans* と相同性が高く、*Kurthia sibirica* も見られた。

表5に示した調査地No.34のマイタケ栽培の赤水被害培地からは、*Paenibacillus taichungensis* が分離されたが、赤水発生による発生不良との関連性は特定できていない。この菌はブナシメジ栽培施設（No.40, 41）からも検出されており、芽出し時に茶褐色の液体が生じ、発生不良を起こす点が共通している。また、*Staphylococcus epidermidis*、*Micrococcus luteus*、*Kurthia sibirica*、*Bacillus* sp.、*Pseudomonas* sp. 以外の細菌類は、栽培きのこ毎に特異的な発生を確認したが、これらの細菌類が栽培中のきのこにどのような被害をもたらすのか不明な点も多く、今後の

表2 接種室における落下菌調査結果

調査地 No.		栽培きのこ 栽培方式	平均落下菌数(個/平板培地)									
			2007				2008				2009	
			夏期		冬期		夏期		冬期		冬期	
			PDA*	BA**	PDA	BA	PDA	BA	PDA	BA	PDA	BA
8	シイタケ	周年栽培	7.7	3.7	1.0	0.3	8.7	8.7	2.3	1.3	1.0	0.3
11	シイタケ	培養センター	-	-	0.0	0.0	-	-	1.7	1.7	0.0	0.0
17	シイタケ	季節栽培	-	-	0.0	1.3	-	-	0.0	11.0	8.0	13.0
22	ナメコ	季節栽培	-	-	7.4	12.0	-	-	5.7	8.0	4.3	9.7
24	ナメコ	周年栽培	9.6	15.7	5.0	5.0	3.0	19.0	0.6	1.0	5.0	5.3
28	ヒラタケ	周年栽培	18.7	16.0	8.0	6.3	19.3	21.3	13.3	6.3	0.7	1.7
31	エノキタケ	周年栽培	4.7	7.3	0.7	0.0	0.3	0.3	10.0	0.6	25.7	3.7
33	マイタケ	周年栽培(ビン)	2.3	1.3	0.0	3.7	3.0	2.3	1.3	2.3	0.3	0.0
37	マイタケ	周年栽培(袋)	4.4	5.4	9.6	24.4	5.0	4.3	0.7	1.0	4.0	6.0
41	ブナシメジ	周年栽培	14.0	9.3	4.7	5.0	23.3	28.9	21.0	23.0	34.3	25.3
42	ブナシメジ	周年栽培	1.7	5.3	3.0	4.0	1.6	4.0	7.0	9.0	2.0	1.0
49	エリンギ	周年栽培	0.3	0.7	0.0	0.0	0.3	1.0	0.0	0.0	0.3	0.3
51	エリンギ	季節栽培	-	-	0.3	0.3	-	-	1.3	3.0	0.0	0.7
52	エリンギ	周年栽培	15.3	2.0	50.0	50.7	7.6	4.0	100.0	100.0	5.0	6.7

*PDA:ポテトデキストロス寒天培地

**BA:一般細菌用寒天培地

表3 きのこ栽培施設および栽培培地から検出された糸状菌と細菌（シイタケ）

調査地 No	栽培きのこ	栽培施設等	種 名	
			菌株No	細 菌
1	シイタケ	接種室	1 <i>Ophiostoma quercii</i>	
		培養室	2 <i>Trametes versicolor</i>	
4	シイタケ	接種室		1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
		培養室	3 <i>Neurospora crassa</i> *	
5	シイタケ	接種室	4 <i>Pleurotus</i> spp. 外3種	2 <i>Micrococcus antarcticus</i>
			5 <i>Eucasphaeria capensis</i>	3 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
			6 <i>Aspergillus</i> spp.	
			7 unidentified	
			8 <i>Penicillium</i> sp.*	
		培養室	9 <i>Cladosporium</i> spp.	
			10 <i>Penicillium</i> sp.*	
		発生室	11 <i>Hypocrea lixii</i>	
			12 <i>Lentinula edodes</i>	
			13 <i>Trichoderma</i> sp.	
8	シイタケ	接種室	14 Uncultured basidiomycetes	4 <i>Pseudomonas</i> sp.
			15 <i>Sistotrema sernanderi</i>	5 <i>Kurthia sibirica</i>
			16 <i>Phoma herbarum</i>	
		培養室	17 <i>Penicillium</i> sp.*	
			18 <i>Penicillium</i> sp.*	
			19 <i>Penicillium</i> sp.*	
		発生室	20 <i>Mucor</i> spp.	
			21 <i>Lentinula edodes</i>	6 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
9	シイタケ	接種室		7 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
		培養室	22 <i>Phlebia radiata</i>	
			23 <i>Aspergillus</i> spp.	
			24 <i>Aspergillus</i> spp.	
			25 <i>Aspergillus sydowii</i>	
11	シイタケ	接種室		8 <i>Micrococcus antarcticus</i>
				9 <i>Micrococcus antarcticus</i>
		培養室	26 <i>Pleurotus</i> sp.	
13	シイタケ		27 <i>Penicillium</i> sp.*	
		発生室	28 <i>Lentinula edodes</i>	10 <i>Kurthia sibirica</i>
17	シイタケ		29 <i>Penicillium</i> sp.*	
20	シイタケ	接種室	30 <i>Lentinula edodes</i>	
			31 <i>Fusarium</i> spp.	11 <i>Micrococcus antarcticus</i>
				12 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
				13 <i>Bacillus</i> sp.
				14 <i>Bacillus</i> sp.
		培養室	32 unidentified	

*：培養形態による同定

表4 きのこと栽培施設および栽培培地から検出された糸状菌と細菌 (ナメコ、ヒラタケ、エノキタケ)

調査地 No	栽培きのこ	栽培施設等	種 名	
			菌株No	細 菌
22	ナメコ	接種室	33 <i>Penicillium</i> sp.*	15 <i>Micrococcus antarcticus</i>
			34 <i>Penicillium</i> sp.*	16 <i>Micrococcus foliorum</i>
			35 Imperfect fungus	17 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
			36 <i>Cladosporium cladosporioides</i>	
			37 <i>Neurospora crassa</i> *	
			38 <i>Trametes versicolor</i>	
		培養室	39 <i>Penicillium</i> sp.*	
			40 <i>Neurospora crassa</i> *	
			41 <i>Schizophyllum commune</i>	18 <i>Kurthia sibirica</i>
			42 <i>Penicillium</i> sp.*	19 <i>Micrococcus antarcticus</i>
24	ナメコ	接種室	43 <i>Cladosporium</i> spp.	
			44 <i>Cladosporium cladosporioides</i>	
			45 <i>Penicillium</i> sp.*	
		培養室	46 <i>Hypocrea lixii</i>	
			47 <i>Aspergillus flavus</i>	
			48 <i>Sistotrema brinkmannii</i>	20 <i>Pseudomonas</i> sp.
			49 <i>Penicillium</i> sp.*	21 <i>Micrococcus antarcticus</i>
26	ナメコ	接種室	50 <i>Penicillium</i> sp.*	22 <i>Microbacterium foliorum</i>
			51 <i>Penicillium</i> sp.*	23 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
			52 <i>Penicillium</i> sp.*	24 <i>Kurthia sibirica</i>
		培養室	53 <i>Penicillium</i> sp.*	25 <i>Kurthia sibirica</i>
			54 <i>Trichoderma</i> spp.	26 <i>Kurthia sibirica</i>
			55 <i>Pestalotiopsis</i> spp.	
			56 <i>Epicoccum nigrum</i>	
27	ヒラタケ	接種室	57 <i>Pleurotus</i> spp.	
			58 <i>Penicillium</i> sp.*	27 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
			59 <i>Penicillium</i> sp.*	28 <i>Micrococcus antarcticus</i>
		培養室	60 <i>Penicillium</i> sp.*	29 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
			61 <i>Penicillium</i> sp.*	
			62 <i>Penicillium</i> sp.*	
			63 <i>Cladosporium</i> spp.	30 <i>Kurthia sibirica</i>
30	エノキタケ	接種室	64 <i>Cladosporium</i> spp. 外1種	
			65 <i>Penicillium</i> sp.*	
			66 <i>Penicillium</i> sp.*	
		培養室	67 <i>Penicillium</i> sp.*	
			68 <i>Baerispora</i> sp.	31 <i>Bacillus</i> sp.
			69 <i>Penicillium</i> sp.*	
			70 <i>Penicillium</i> sp.*	
31	エノキタケ	発生室	71 <i>Penicillium</i> sp.*	

*: 培養形態による同定

表5 きのこと栽培施設および栽培培地から検出された糸状菌と細菌（マイタケ）

調査地 No	栽培きのこ	栽培施設等	種 名	
			菌株No	細 菌
32	マイタケ	接種室	72 <i>Cladosporium</i> spp.	32 <i>Kurthia sibirica</i>
			73 <i>Lentinula edodes</i>	33 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
			74 <i>Penicillium</i> sp.*	34 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
			75 <i>Penicillium</i> sp.*	35 <i>Kurthia sibirica</i>
			76 <i>Penicillium</i> sp.*	36 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
			77 <i>Penicillium</i> sp.	
			78 <i>Strumella</i> sp.	
			79 <i>Phlebia tremellosa</i>	
		培養室	80 <i>Pleurotus fuscus</i>	
			81 <i>Cladosporium</i> spp.	
		発生室	82 <i>Penicillium</i> sp.*	
			83 <i>Sarcomyxa</i> sp.	37 <i>Bacillus</i> sp.
				38 <i>Kurthia sibirica</i>
33	マイタケ	接種室	84 <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	39 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
				40 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
				41 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
				42 <i>Pseudomonas</i> sp.
34	マイタケ	接種室	85 <i>Sistotrema brinkmannii</i>	43 <i>Bacillus</i> sp.
			86 <i>Trametes versicolor</i>	44 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
			87 <i>Penicillium</i> sp.*	45 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
		培養室	88 <i>Phlebia tremellosa</i>	
			89 <i>Pleurotus</i> sp. 外1種	
			90 <i>Phoma herbarum</i> 外3種	
			91 <i>Pennicillium spinulosum</i>	
			92 <i>Trametes</i> sp. 外1種	46 <i>Eringella americana</i>
		発生室		47 <i>Paenibacillus taichungensis</i>
				48 <i>Kurthia sibirica</i>
35	マイタケ	接種室	93 <i>Mollisia mntella</i>	49 <i>Bacillus</i> sp.
			94 <i>Hypocrea lixii</i>	
			95 <i>Hypocrea lixii</i>	
			96 <i>Penicillium</i> sp.*	
			97 <i>Penicillium</i> sp.*	
			98 <i>Talaromyces spectabilis</i>	
			99 <i>Neurospora crassa</i> *	
			100 uncultured basidiomycetes	
		発生室	101 Basidiomycetes	
			102 <i>Aspergillus sclerotiorum</i>	
36	マイタケ	接種室		50 <i>Eringella americana</i>
		培養室	103 <i>Trametes vesicolor</i>	51 <i>Micrococcus antarcticus</i>
			104 <i>Aspergillus</i> sp.	
			105 <i>Aspergillus versicolor</i>	
		発生室	106 <i>Penicillium</i> sp.*	52 <i>Kurthia sibirica</i>
			107 <i>Penicillium brevicompactum</i>	
37	マイタケ	接種室	108 <i>Phoma herbarum</i>	53 <i>Micrococcus antarcticus</i>
			109 <i>Phoma</i> sp.	54 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
			110 <i>Phoma</i> sp. 外1種	55 <i>Terrabacter</i> sp.
			111 <i>Phoma medicaginis</i>	56 <i>Terrabacter</i> sp.
			112 <i>Cladosporium cladosporioides</i>	57 <i>Kurthia sibirica</i>
		培養室	113 <i>Sympodiella acicola</i>	
				58 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
		発生室		

*: 培養形態による同定

表6 きのか栽培施設および栽培培地から検出された糸状菌と細菌（ブナシメジ）

調査地 No.	栽培きのこ	栽培施設等	種 名			
			菌株No.	糸状菌	菌株No.	細菌
38	ブナシメジ	接種室	114	<i>Aspergillus versicolor</i> .		
			115	<i>Penicillium</i> sp.*		
		培養室	116	Ascomycetes		
			117	<i>Phlebia radiata</i>		
			118	<i>Penicillium</i> sp.*	59	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
39	ブナシメジ	接種室	119	<i>Strobilurus trullisatus</i>		
			120	<i>Cladosporium</i> sp.		
			121	<i>Cladosorium sphaerospermum</i>		
		培養室	122	<i>Penicillium</i> sp.*		
			123	unidentified	60	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
			124	<i>Penicillium</i> sp.*		
		発生室			61	<i>Kurthia sibirica</i>
					62	<i>Kurthia sibirica</i>
					63	<i>Kurthia sibirica</i>
					64	<i>Bacillus senegalensis</i>
40	ブナシメジ	接種室	125	<i>Aspergillus</i> spp.	65	<i>Bacillus sporothermodurans</i>
			126	<i>Penicillium</i> sp.*	66	<i>Bacillus sporothermodurans</i>
			127	<i>Penicillium</i> sp.*	67	<i>Bacillus sporothermodurans</i>
			128	<i>Penicillium</i> sp.*	68	<i>Paenibacillus taichungensis</i>
			129	<i>Penicillium</i> sp.*	69	<i>Bacillus senegalensis</i>
		培養室	130	<i>Trichoderma virens</i>	70	<i>Micrococcus antarcticus</i>
					71	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
41	ブナシメジ	接種室	131	<i>Phlebia radiata</i>	72	<i>Paenibacillus taichungensis</i>
			132	<i>Penicillium</i> sp.*	73	<i>Ewingella americana</i>
			133	<i>Penicillium</i> sp.*		
			134	<i>Penicillium</i> sp.*		
			135	<i>Penicillium</i> sp.*		
		発生室			74	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
42	ブナシメジ	接種室	136	<i>Penicillium</i> sp.*	75	<i>Micrococcus antarcticus</i>
			137	<i>Penicillium brevicompactum</i>		
43	ブナシメジ	接種室			76	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
		発生室	138	<i>Cladosporium</i> sp.		
44	ブナシメジ	接種室			77	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
		発生室	139	<i>Penicillium</i> sp.*		

*：培養形態による同定

表7 きのこと栽培施設および栽培培地から検出された糸状菌と細菌（エリンギ）

調査地 No.	栽培きのこ	栽培施設等	種 名			
			菌株No.	糸状菌	菌株No.	細菌
47	エリンギ	接種室	140	<i>Pleurotus</i> spp.	78	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
			141	<i>Penicillium</i> sp.*	79	<i>Kurthia sibirica</i>
		発生室	142	<i>Penicillium</i> sp.*		
48	エリンギ	接種室	143	<i>Aspergillus</i> spp.	80	<i>Micrococcus antarcticus</i>
			144	<i>Pleurotus eryngii</i>		
		培養室	145	<i>Penicillium</i> sp.*		
			146	<i>Penicillium</i> sp.*		
		発生室	147	<i>Pleurotus</i> spp.		
			148	<i>Cladosporium</i> spp.		
			149	<i>Penicillium</i> sp.*		
			150	<i>Penicillium</i> sp.*		
			151	<i>Trichoderma atroviride</i>		
49	エリンギ	接種室			81	<i>Micrococcus antarcticus</i>
					82	<i>Micrococcus antarcticus</i>
		培養室	152	<i>Penicillium</i> sp.*		
			153	<i>Penicillium</i> sp.*		
			154	<i>Penicillium</i> sp.*		
		発生室	155	<i>Penicillium</i> sp.*		
50	エリンギ	接種室	156	<i>Aspergillus westerdijkiae</i>		
			157	<i>Pleurotus eryngii</i>	83	<i>Bacillus</i> sp.
			158	<i>Trichoderma</i> sp.	84	<i>Micrococcus antarcticus</i>
			159	<i>Penicillium</i> sp.*	85	<i>Micrococcus antarcticus</i>
					86	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
					87	<i>Micrococcus antarcticus</i>
					88	<i>Micrococcus antarcticus</i>
					89	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
		殺菌処理培地			90	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
					91	<i>Kurthia sibirica</i>
51	エリンギ	接種室	160	<i>Cladosporium</i> sp.		
		培養室	161	<i>Penicillium</i> sp.*		
			162	<i>Penicillium</i> sp.*		
52	エリンギ	接種室	163	<i>Penicillium</i> sp.*	92	<i>Kurthia sibirica</i>
			164	<i>Penicillium</i> sp.*		
		培養室	165	<i>Penicillium</i> sp.*		
		被害培地			93	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
					94	<i>Kurthia sibirica</i>

*：培養形態による同定

課題である。

また、シイタケ原木栽培における子実体の腐敗被害の原因として報告のあった *Ewingella americana* (有馬ら, 2010) については、今回マイタケ (No.34, 36) とブナシメジ (No. 41) の生産施設から検出されたが、この細菌による顕在的な被害は見受けられなかった。

2. ブナシメジ菌床栽培の *Bacillus* 属菌による生育阻害

1) 細菌の同定

培地から分離された5菌株はともに芽胞染色処理によって芽胞形成桿菌であることが確認され、*Bacillus* 属であることが明らかになった。供試した5菌株から rand 上の 16S からの PCR 産物が得られ、NCBI の検索システムおよび GENETYX により、No.1 および No.2 は、互いに 99.7% 以上の高い相同性があると確認された。また、両菌株ともに、*B. senegalensis* と 96%以上の相同性があることが確認され、近縁であることが考えられた (表8)。芽胞染色による細胞の形態においても No.1 および No.2 は互いに酷似していた。次に同種であると考えられた他の3菌株 No.3, No.4, No.5 は、互いに 16S の塩基配列において 97-99%の相同性が確認された。さらに、3菌株ともに *B. sporothermodurans* と 96%以上の相同性が認められ、近縁であることが考えられた。さらに、芽胞染色により、同3菌株は前者の2菌株よりも細胞の幅が狭く、長さがあることが確認された。

表8 ブナシメジ害菌の16S rDNA 塩基配列における類縁度 (%)

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
No.1	100	99.7	93.2	93.4	92.1
No.2		100	93.4	93.5	92.0
No.3			100	98.7	97.1
No.4				100	97.2
No.5					100

2) 侵入経路の特定

微生物調査の結果、No.1～No.5 の5菌株が殺菌前および放冷後の培地から検出された。ポリプロピレン製の袋に密閉された培地からも検出されたことから、外気の吸い込みによる汚染ではなく、培地調整時点ですでに混入しているものと考えられた。

次に、栽培に用いられる個々の基材について調べた結果、スギオガ粉から *Bacillus* 属菌が検出され、他の基材からは検出されなかった。

以上の結果から、殺菌工程終了時の戻り空気の吸い込みによるものではなく、培地調製時に混入していた細菌が、殺菌工程を経て死滅せずに残存していることが明らかとなった。

3) *Bacillus* 属菌の特性

(1) 一般細菌用寒天培地

pH5.0では、*Bacillus* 属菌の増殖は見られなかった。しかし、供試した *Bacillus* 属菌全ての菌株で、pH5.5以上の中性になるにしたがい良く増殖した（図3）。

表9 スギオガ粉培地での細菌数（個/g）

供試菌株	細菌の種名	培地 pH				
		4.9	5.4	6.6	7.3	8.3
No.1	<i>Bacillus senegalensis</i>	19×10^6	99×10^6	98×10^6	2×10^6	4×10^6
No.3	<i>B. sporothermodurans</i>	2×10^4	1×10^4	1×10^5	3×10^3	1×10^3

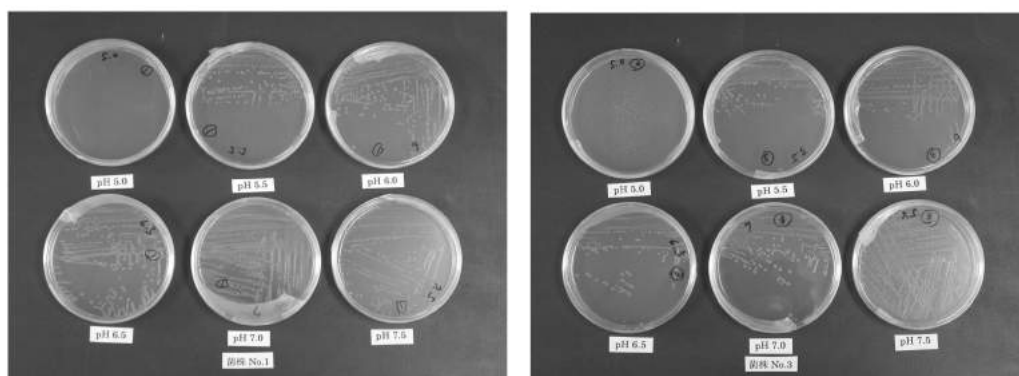


図3 *Bacillus* 属細菌の増殖に及ぼすpHの影響

左：*B. senegalensis* (No.1株)

右：*B. sporothermodurans* (No.3株)

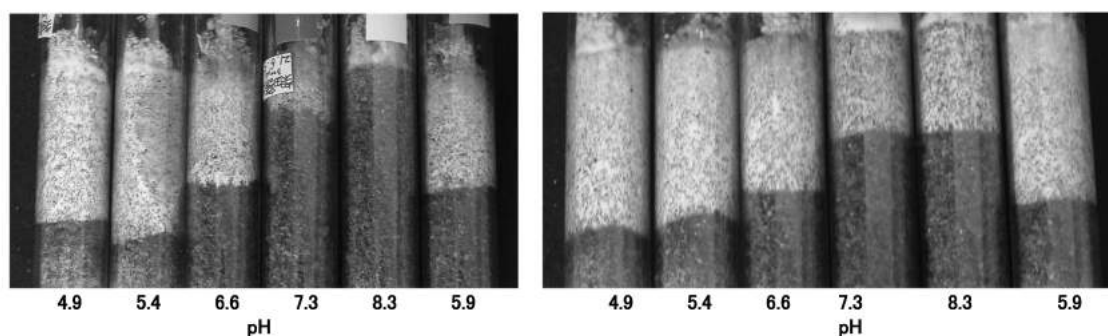


図4 プナシメジと *Bacillus* 属菌の二員培養

左：*B. senegalensis* (No.1株)

右：*B. sporothermodurans* (No.3株)

(2)スギオガ粉培地

B. senegalensis と考えられる No. 1 および No.2 は、pH5.4～6.6 の範囲で最も良く増殖した。また、*B. sporothermodurans* と考えられる No.3, 4 および 5 は、pH4.9 以上で増殖がみられ、pH6.6 で良く増殖し、7.3 以上で増殖が抑制された。（表9）。

4) ブナシメジと *Bacillus* 属菌の二員培養におけるブナシメジ菌糸体の伸長

検出された *Bacillus* 属菌を用いて病原性の再現試験を行った結果、生産現場と同様な病徴を示し、病原菌を特定した。一方、生産現場で病徴を示す培地の pH を調べた結果、pH6.2～6.7 の範囲にありブナシメジ以外のきのこ栽培用培地より pH 値が高い状況にあった。そこで、細菌が検出された生産者に共通する pH 値上昇をもたらす添加物を調べた結果、菌糸活性剤と称するケイ酸、酸化カルシウムおよび酸化アルミニウムを主成分とする添加剤に起因していることが明らかとなった。

5) 培地 pH と殺菌時間の関係

ブナシメジの品種や培地 pH に係わらず、*Bacillus* 属菌が培地内に生息している場合、菌糸体の生育は抑制された。特に、*B. senegalensis* と考えられる No.1 および No.2 では、pH 値が高くなるにしたがいブナシメジの菌糸体の生育が抑制され、pH7.3 以上では、培地内に侵入できず、生育が停止した（図4）。また、*Bacillus* 属細菌が培地内に生息している培地では、全て菌糸のストップ症状が認められた。

これらの *Bacillus* 属菌は、pH5.4～7.2 の範囲のオガ粉培地で顕著に増殖し、pH 値がこの範囲にあるオガ粉培地では、5時間以上の常圧殺菌でも死滅しなかった。また、No.1 および 2 株は、pH5.0 以下のオガ粉培地では3時間の常圧殺菌で死滅したにもかかわらず、No.4 株は5時間の常圧殺菌でも生存可能であった（表10）。さらに、この菌株は、強い耐熱性を示し、118℃、50分間の高压殺菌下でも生存可能であった。一方、芽胞などの殺菌に効果のある間欠殺菌法では、完全な殺菌効果は認められなかった（表10）。

菌糸のストップ症状や発生不良を伴う菌叢異常などの生育阻害は、*Bacillus* 属菌に起因していることが明らかとなった。今回検出された *Bacillus* 属菌は *B. senegalensis*、*B. sporothermodurans* と考えられ、きのこ栽培の病原菌としての報告は過去になく、新たに見出された菌株である。これらの細菌は堆積中のオガ粉に生息しており、常に汚染の可能性があるため栽培にあたっては注意が必要である。また、栽培培地の pH 値が高い場合、常圧殺菌では *Bacillus* 属菌の滅菌は不可能であり、栽培にあたっては、*Bacillus* 属菌の生息密度を低く保ちながらブナシメジの生育を促すことが重要である。特に、菌糸活性剤の添加量を少なめにし、pH6.0 以下の培地になるよう調製することで、被害を最小限に食い止めることができる。具体的には、一般的な栄養添加剤を用いる場合、850cc 栽培瓶1本当たり（詰め込み重量 500～550g とした場合）、菌糸活性剤を 3g 以下に抑えることで、pH6.0 以下の培地に調製できる。

以上のことから、これら *Bacillus* 属菌対策としては、高压殺菌の場合、培地 pH に関係なく、培地内温度が 118℃以上を 60 分以上維持することで完全に滅菌できるが、常圧殺菌の場合は、培地 pH を 6.0 以下になるよう調製し、培地内温度が 98℃を 6 時間以上維持すること、さらには菌糸が蔓延するまで、できるだけ低い温度で培養し、*Bacillus* 属菌の生息密度を低く抑えるようにする。

3. きのこ菌床栽培に発生するダニ類と被害の実態

ダニを捕獲するための培地を比較したところ、周年栽培で GMY 培地と素寒天培地とで捕獲数

の間に有意な差が認められた。また、季節栽培で GMY 培地および PCMY 培地と素寒天培地とで捕獲数の間に有意な差が認められた (表 11)。これ以外の培地, PDA, GMY, PCMY および

表10 *Bacillus* 属菌の培地 pH と殺菌時間 (常圧) の関係

培地 pH	1時間			2時間			3時間			5時間			2時間+4時間 (間欠殺菌)		
	No.1*	No.2*	No.4**	No.1	No.2	No.4	No.1	No.2	No.4	No.1	No.2	No.4	No.1	No.2	No.4
4.9	生存	生存	生存	生存	死滅	生存	死滅	死滅	生存	死滅	死滅	生存	死滅	死滅	生存
5.4	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存
6.6	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存
7.3	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存
8.3	生存	生存	生存	生存	生存	生存	生存	死滅	生存	生存	死滅	死滅	死滅	死滅	死滅

* No.1, No.2 : *B. senegalensis* ** No.4 : *B. sporothermodurans*

HAMADA 間で、有意な差は認められなかった。また、捕獲用に用いたシャーレの高さの違い、15mm と 20mm での違いは認められなかった。

ダニ捕獲用培地を地上部 30cm, 70cm, 110cm の高さにそれぞれ設置して調べた結果、地上部 70cm に設置した場合、最も多く捕獲できたが、有意な差は認められなかった (図 5)。次に、培地を開放してから 24 時間後、48 時間後、72 時間後の全供試培地の平均捕獲数 (n=120) は、6.13, 17.14, 51.82 で、開放時間が長くなるにしたがって捕獲数が増加した (図 6)。一方、48 時間以降の開放は、細菌類および糸状菌類の繁殖が顕著となり、ダニ類が見分けにくくなり、施設内の雑菌汚染の原因にもなりうる事が懸念された。

以上の結果から、ダニ捕獲用培地は、調製が簡便で市販されている PDA 培地とし、設置位置は地上部 70cm 前後で、24 時間開放して調査を行うこととした。

きのこ栽培施設でダニの生息が確認できたきのこ種は、シイタケ、ブナシメジ、ヒラタケおよびエリンギの 4 種であった。ブナシメジ栽培施設では、培養室からケナガコナダニとカブリダニが捕獲された。また、シイタケ栽培施設では、発生室からケナガコナダニ、マヨイダニの一種およびゴミタメヒゲダニが捕獲された。その他、エリンギ、ヒラタケ栽培施設では、捕獲数は少ないものの、培養室からケナガコナダニが認められた。その他のきのこ栽培施設 (マイタケ、ナメコ、エノキタケ) からは、ダニ類は検出されなかった (表 12)。

ブナシメジ栽培施設では、すべての施設からケナガコナダニが確認された。捕獲数が多い場合、*Penicillium* 属、*Aspergillus* 属あるいは *Trichoderma* 属による害菌被害が顕著に見られた。全調査期間でダニの生息を確認したが、夏期と冬期での生息数の違いは見られなかった。また、ブナシメジ栽培施設からはヘヤカブリダニの生息も確認されている。ヘヤカブリダニは、ケナガコナダニの捕食者 (天敵) として知られており、ヘヤカブリダニが検出された施設では、ケナガコナダニが原因と考えられる害菌被害は認められなかった。ダニ被害が確認された施設は、乾燥気味に管理し、無風に近い条件で培養し、床をこまめに掃除機で掃除することで、ダニ密度を低下させ、被害を最小限に食い止めることができた。

ヒラタケ、エリンギの栽培施設からケナガコナダニの生息を確認したが、ダニ被害が拡大する

ことはなかった。

表11 培地別ダニ捕獲頭数

培地	ダニ頭数	
	季節栽培	周年栽培
PDA	50.28 ± 24.01	1.64 ± 0.39
GMV	66.86 ± 25.87*	2.56 ± 0.85*b
PCMY	101.31 ± 22.28*a	1.39 ± 0.40
HAMADA	21.75 ± 10.14	1.44 ± 0.44
A	0.56 ± 0.16	0.47 ± 0.17

A：素寒天培地

*：Significantly different from disregard group：p<0.05 or more

a, b：New multiple range test

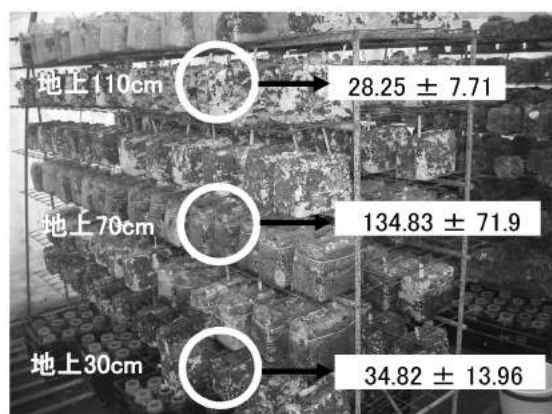


図5 トラップ設置位置の違いによるダニ捕獲頭数（GMV培地）

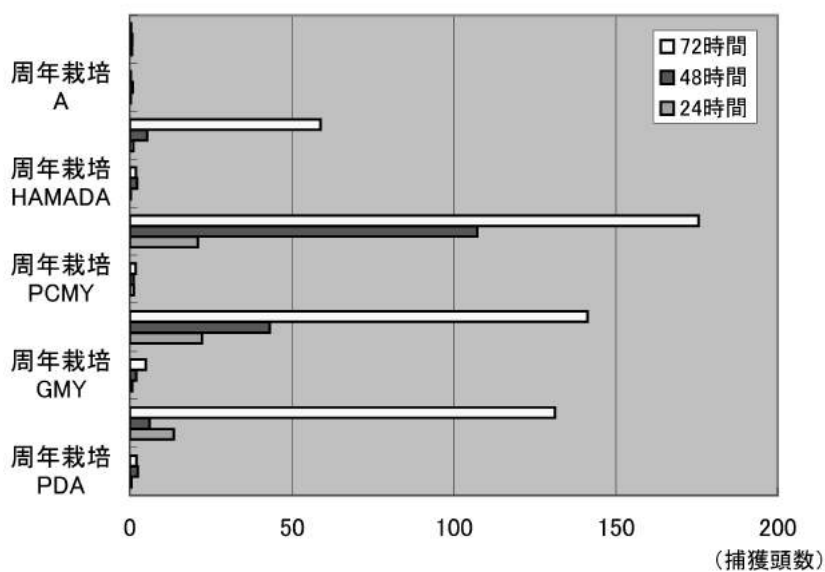


図6 トラップ設置時間別ダニ捕獲数

表12 栽培施設におけるダニ類の発生状況

栽培きのこ		発生率(%)	ダニ類の発生場所		ダニ類の種類
きのこ種	栽培形態	(発生施設数/調査施設数)			
シイタケ	培養センター	0(0/7)	—		
"	菌床購入	100(5/5)	発生室	ケナガコナダニ、ゴミタメヒダニ、マヨイダニの一種	
"	一貫生産	100(9/9)	培養室及び発生室	同上	
ブナシメジ	ビン	100(9/9)	培養室	ケナガコナダニ、カブリダニ（ヘヤカブリダニ：未同定）	
ヒラタケ	ビン	33(1/3)	培養室	ケナガコナダニ	
エリンギ	ビン	67(4/6)	培養室	ケナガコナダニ	
エノキタケ	ビン	0(0/2)	—		
マイタケ	袋	0(0/4)	—		
"	ビン	0(0/2)	—		
ナメコ	袋	0(0/3)	—		
"	ビン	0(0/2)	—		

次に、菌床シイタケでは、食害で根元が褐色に変化した子実体が見られ、被害部にケナガコナダニが生息していた。ダニ類の発生は、栽培方法や品種間に関係なく、全ての施設からダニ類が認められた。侵入経路を確認するため、培養室の調査を行ったところ、ダニ類は認められなかった。そのため、発生室で増殖しているものと考えられた。また、初回発生の菌床は極めて少ないが、発生が長期間に及ぶと菌床表面で産卵が確認され(図7)、1シャーレ当たり1菌床から1,000頭近く捕獲されるものもあった。また、初回発生の菌床からは、ダニの生息はほとんど確認されなかったが、2回、3回と発生が進むにしたがい、ダニの生息密度が高まり、その被害も顕著に現れた。ダニの生息場所は、主に採取痕や被膜の割れ目あるいは菌柄部であり、産卵は菌柄や被膜の割れ目あるいは *Penicillium* 属、*Aspergillus* 属の菌糸表面で確認された。ダニ被害の多くは、菌柄部の褐変、食害、奇形など様々で、採取した子実体の石づき部と菌柄表面に付着していた(図8)。そのため、出荷の際にはダニの付着に注意しなければならない。

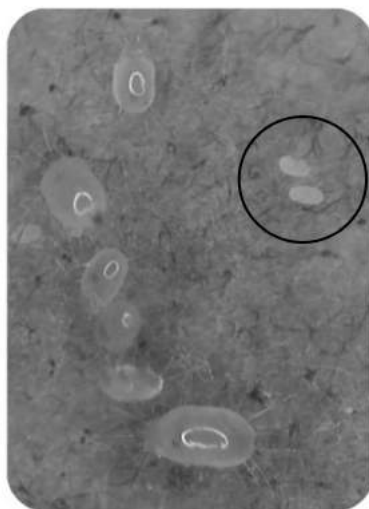


図7 ケナガコナダニとその卵
○：ケナガコナダニの卵

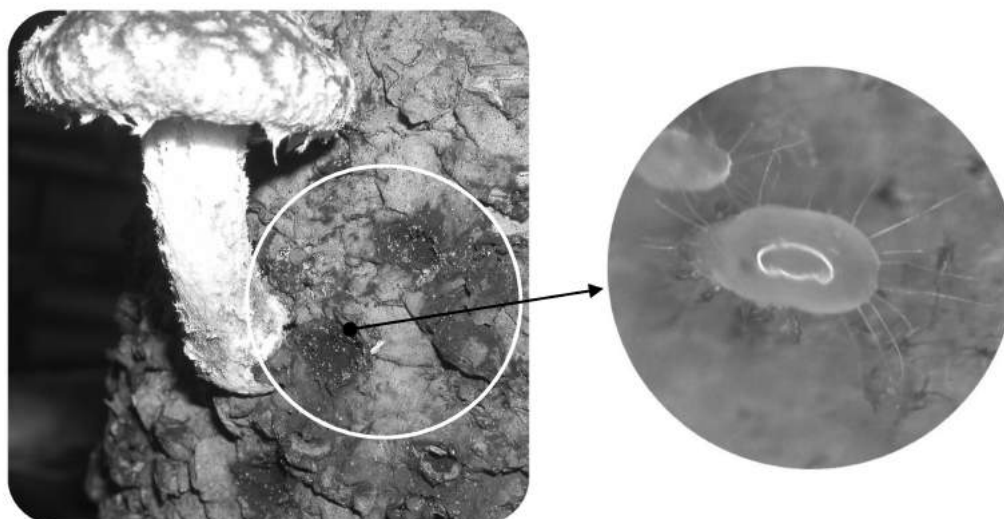


図8 菌床表面に生息しているケナガコナダニ

IV おわりに

本研究における病害に対する防除対策の確立は、病害による被害を軽減し安定した農家経営に大いに寄与するとともに、生産者の拡大や生産量の増大につながる。今回の調査・研究結果を基に、これまで報告のあった関連情報も加えて「栽培きのこの害菌・害虫防除マニュアル」（秋田県林業普及冊子No.18，秋田県農林水産部水と緑の森づくり課発行）を作成し，県内のきのこ生産者および関係機関に配布した。なお，生理・生態などが未解明で防除法が未だに確立されていない害菌や害虫による被害については，今後も防除対策の確立に向けて引き続き取り組んでいくことにしている。

最後に，今回の調査・研究に御協力をいただいた県内のきのこ生産者およびJ A，地域振興局の関係者の皆様に対して，心から感謝申し上げます。

引用文献

阿部実・菅原冬樹・戸田武・藤晋一・古屋廣光(2009) きのこ菌床栽培施設における落下菌調査（Ⅰ）糸状菌の落下菌数と種類，東北森林科学会第14回大会講演要旨集:38.

阿部実・菅原冬樹・戸田武・藤晋一・古屋廣光(2010) きのこ菌床栽培施設における落下菌調査（Ⅱ）糸状菌の種類について，東北森林科学会第15回大会講演要旨集:53.

秋田県農林水産技術センター，秋田県農林水産部 水と緑の森づくり課発行(2010) 栽培きのこ害菌・害虫防除マニュアル,秋田県林業普及冊子 No.18：1-29.

有馬忍・七海隆之・篠原弘亮・根岸寛光(2010) *Ewingella americana* によるシイタケ腐敗病の発生，日本きのこ学会誌 18(4)，139-144

春日志高(2005) トラップを利用したハウレンソウケナガコナダニのモニタリング,植物防疫 59(4):183-185.

河野又四・寺下隆夫(1982) ヒラタケの栽培場における汚染微生物について,日菌報23, 517-522

岡部貴美子・阿部実(1998) コナダニ科の一種によるシイタケ子実体の加害 日林九支研論 51: 91-92.

岡部貴美子・宮崎和弘(2002) きのこと菌床栽培害ダニモニタリングのための簡易トラップ法の開発, 森林総研研報 1(1): 131-133.

岡部貴美子(2006) 日本における食用きのこの害虫, 森林総研研報 5(2): 119-133.

菅原冬樹・佐藤博文(1997) 空調栽培マイタケ施設における空中落下菌の季節変動, 東北森林科学会第2回大会講演要旨集65, 81

菅原冬樹(2007) キノコ露地栽培に発生する真性粘菌(変形菌)ーマイタケとトンビマイタケの変形菌病ー, 日本きのこ学会誌 15(1):9-16.

菅原冬樹・阿部実・戸田武・福島淳・藤晋一・古屋廣光(2009) ブナシメジ菌床栽培の *Bacillus* 属菌による生育阻害, 東北森林科学会第14回大会講演要旨集:39.

菅原冬樹・阿部実・岡部貴美子(2009) きのこと菌床栽培に発生するダニ類と被害の実態 日本きのこ学会第13回大会講演要旨集:111

菅原冬樹・阿部実・戸田武・福島淳・藤晋一・古屋廣光(2010) きのこと菌床栽培施設における落下菌調査(Ⅲ)細菌類について, 東北森林科学会第15回大会講演要旨集:54.

田端信一郎・田部真(1968) エノキタケの人工栽培における雑菌問題, 1 冬期間空中雑菌について, 信州大学農学部紀要第5(1), 17-28

田端信一郎・田部真(1968) エノキタケの人工栽培における雑菌問題, 2 春期・夏期空中雑菌について, 信州大学農学部紀要5(2), 65-76

田端信一郎・田部真(1969) エノキタケの人工栽培における雑菌問題, 3 秋期空中雑菌について 信州大学農学部紀要6(1), 1-8

富樫巖・瀧澤南海雄(1992) シイタケ菌床栽培における真菌汚染について, 北海道林産試場報6(3), 1-5

富樫巖・伊藤清・宜寿次盛生・原田陽(1996) 北海道における菌床シイタケ発生施設の糸状菌汚染状況と *Trichoderma* spp. 分離菌株に対するペノミル水和剤の影響, 木材学会誌42(12), 1258-1263

宮崎和弘・明間民央・岡部貴美子(2000) きのこと栽培施設における落下菌調査, 平成11年度森林総合研究所九州支所年報12, 34

箕浦久兵衛(1977) 生態、空中菌類(菌類図鑑上. 宇田川俊一ら著, 講談社サイエンティフィック, 東京), 51-63