

# 里山を活用したきのこの栽培及び増殖システムの開発

増野和彦・福田正樹\*・西澤賢一\*\*・吉村智之\*\*・細川奈美\*\*  
伊藤 淳\*\*\*・山本郁勇\*\*\*・市川正道\*\*\*\*・高木 茂・竹内嘉江

中山間地域の里山・遊休農地を活用して、多くの人々が参画できる、きのこの栽培及び増殖技術の開発を図った。また、自然味に溢れたきのこの生産・販売を促進するため、里山のきのこの安全性確認試験、販売・流通特性の改良、を行った。

1) クリタケ野生株について、「わりばし種菌」「つまようじ種菌」による簡易接種法を考案し、林内の原木、伐根を用いて、子実体を大量に発生することができた。2) 対峙培養試験及びDNA分析により系統識別を行い、殺菌原木栽培により接種したクリタケの系統が、林内に増殖していることを明らかにした。3) クリタケの自然増殖を促進する技術として、培養菌床を原木に接触させて埋設することで、培養菌床から子実体を発生させ、さらに接触した原木からも子実体を発生することができた。4) 遊休農地に設置した簡易施設で培養した菌床を、遊休農地、林床に埋設することで、ハタケシメジ及びクリタケの栽培ができることを実証した。5) ドリフト残留農薬、有害重金属、有害微生物の分析体制を確立し、試験で発生した子実体、使用した培地資材について分析・定量した結果、安全であることを確認した。5) 「山取りきのこ」の直販状況を調査して課題を抽出し、その課題を解決する「モデル商品」、加工品、鮮度保持技術を開発して、流通特性を改良した。

キーワード：里山、遊休農地、クリタケ、ハタケシメジ、接種法

## 目次及び共同研究者

- 1 緒言
- 2 課題の構成と目的
- 3 林内における接種技術の簡易化と自然増殖技術の開発
- 3.1 里山からの遺伝資源の収集と選抜(増野和彦, 吉村智之, 細川奈美, 西澤賢一, 竹内嘉江)
- 3.2 林内における接種技術の簡易化(増野和彦, 市川正道, 高木 茂)
- 3.3 林内等への自然増殖を促進する技術の開発(福田正樹, 増野和彦, 市川正道)
- 4 里山周辺の遊休農地を活用した自然活用型栽培技術の開発
- 4.1 簡易施設活用型栽培技術の開発(吉村智之, 増野和彦, 伊藤 淳, 山本郁勇, 細川奈美, 西澤賢一)
- 4.2 山村・都市交流型栽培技術の開発(山本郁勇, 伊藤 淳, 吉村智之, 増野和彦, 細川奈美, 西澤賢一)
- 5 きのこの安全性の確認と流通特性の改良
- 5.1 安全性確認試験(西澤賢一, 吉村智之)
- 5.2 直販状況調査と流通特性の改良(吉村智之,

増野和彦, 西澤賢一)

- 6 総合考察
- 7 結言
- 8 謝辞
- 9 文献

## 1 緒言

長野県の中山間地域では、林業の衰退と生活環境の変化により里山の手入れが行われず、また桑園が養蚕の衰退によって放置されている。その結果、集落周辺の林地及び農地の荒廃が進行しており、里山の保全が急務となっている。

一方、長野県は古くから大消費地へのきのこ供給産地であり、全国きのこ生産量の約3割を占めてきた。しかし、大量生産・大量販売方式の浸透により、極端な製品の画一化と市場価格の下落が引き起こされ、経営を中止せざるを得ない小規模生産者も多くなっている。

里山を利用して行われてきた従来の原木栽培方式も、重労働を必要とすることから敬遠され、衰退が続いている。また、原木は森林から伐りだすが、その他の工程は平場で行う等、森林離れの傾向も

\*信州大学農学部, \*\*<sup>(出)</sup>長野県農村工業研究所, \*\*\*JA 上伊那, \*\*\*\*星の町うすだ山菜きのこ生産組合

強まっている。

里山は、古くから人間が利用し、関り続けることで形成維持されてきた森林である。その形態を守ることが今後の「人と森林の関り合い」にとっても、重要なことと考えられる。これらを背景として、再び里山と人間が関りを持つ社会システムの一環として、これまでの原木栽培技術に、長野県内で蓄積された培養技術や菌床栽培技術を組み合わせ、里山の林床や遊休農地を活用した新たなきのこ生産の取り組みが現れている。この取り組みの実用性を高めて技術を体系化するため、本研究では、

(1) 林内における接種技術の簡易化と自然増殖技術の開発

(2) 里山周辺の遊休農地を活用した自然活用型栽培技術の開発

(3) きのこの安全性の確認と流通特性の改良により、『里山を活用した「自然味」に溢れるきのこ栽培と増殖の実現』及び『里山及び周辺地域の有効利用技術の確立』を目標とする。

研究全体の概要を図 1-1 に示した。

本研究は、農林水産省農林水産技術会議「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」独創的現場シーズ活用型研究の一環として、平成 17 (2005)～平成 19 (2007) 年度に、長野県林業総合センターを中核機関、信州大学農学部、(株)長野県農村工業研究所、JA 上伊那、星の町うすだ山菜きのこ生産組合を共同機関として実施した。

なお、平成 15 (2003)～平成 16 (2004) 年度に県単課題「里山を活用した特用林産物(きのこ)の生産技術の開発」(平成 15～19 年度)として実施した「除間伐材を利用したクリタケの栽培」に関する試験項目は、平成 17 年度より当該課題に移行したため、本報告に一括して記載した。

## 2 課題の構成と目的

本研究は、「林内における接種技術の簡易化と自然増殖技術の開発」、「里山周辺の遊休農地を活用した自然活用型栽培技術の開発」、「きのこの安全性の確認と流通特性の改良」の 3 つの中課題からなる。

「林内における接種技術の簡易化と自然増殖技術の開発」

概要を図 2-1 に示した。栽培しようとする地域の野生菌株から選抜した地域独自の種菌を用いるため、遺伝資源収集と選抜を行う。多くの人々が里山に入りきのこ栽培を行うために、接種作業の簡易化を図る。また、省力化のため、切り捨てた除間伐木、伐根等に林内で直接接種することを前提とした接種方法の確立を図る。さらに、林内に定着した菌糸体からの自然増殖を促進する。

「里山周辺の遊休農地を活用した自然活用型栽培技術の開発」

里山周辺には、放置されたままの桑園や遊休農地が多数存在し、里山と一体的に保全することが重要である。里山周辺の遊休農地内のパイプハウス等の簡易施設を用いた栽培方法の開発を図る。また、山村と都市住民の交流と理解を促進するためのグリーンツーリズムを意識したきのこ栽培ゾーンを里山周辺の遊休農地を中心に設置できる栽培技術の開発を図る。

「きのこの安全性の確認と流通特性の改良」

課題の概要を図 2-2 及び図 2-3 に示した。ここでは、自然志向のイメージのみに頼るのではなく、生産物の安全性について科学的な裏付けを行い、生産されたきのこに付加価値を付ける。また、きのこの直販状況を調査し、包装形態、鮮度保持技術の改良を行い、実用化の促進を図る。

本研究では、里山の代表的なきのこであるクリタケ、ハタケシメジを対象とした。



「林内における接種技術の簡易化と自然増殖技術の開発」

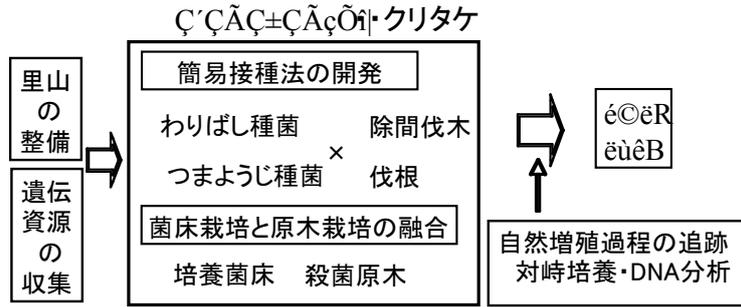


図 2-1 中課題「林内における接種技術の簡易化と自然増殖技術の開発」研究の概要

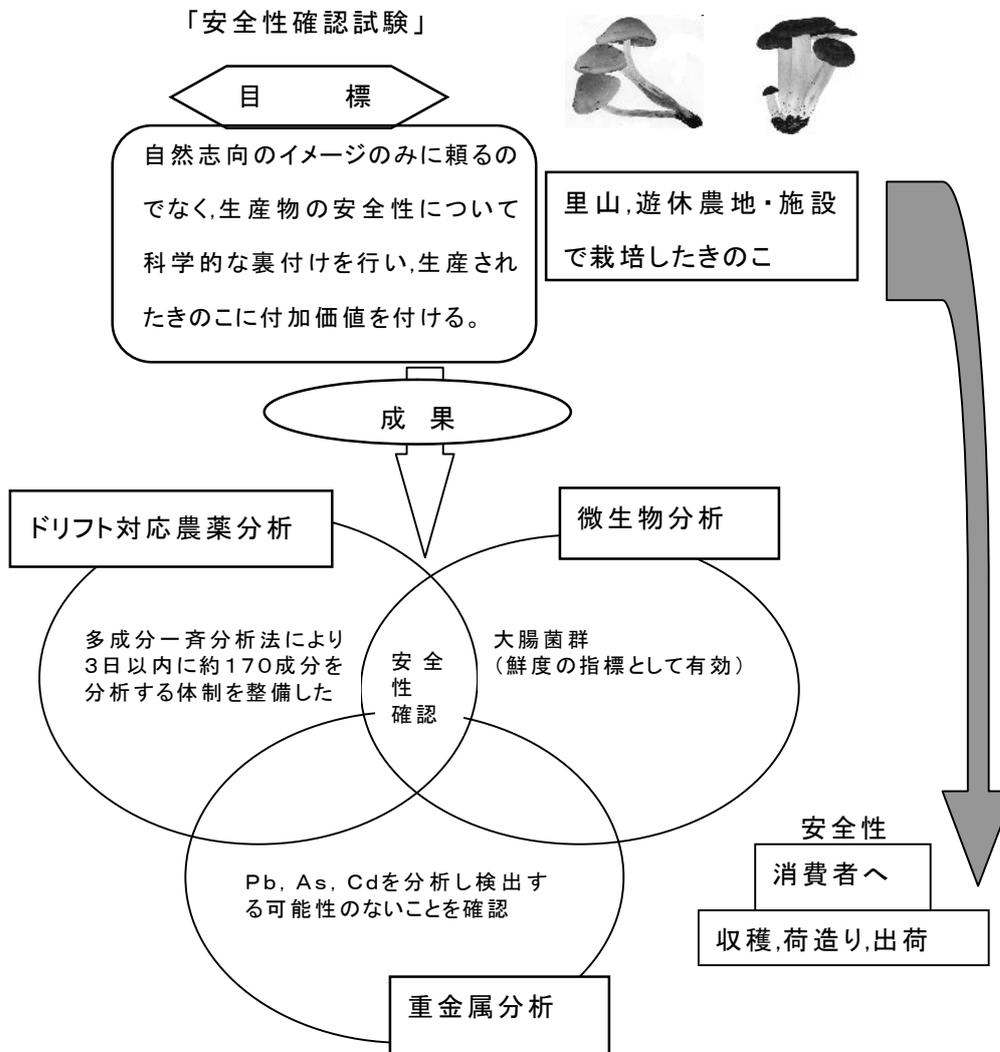


図 2-2 中課題「きのこの安全性の確認と流通特性の改良」の小課題「安全性確認試験」研究の概要

「直販状況調査と流通特性の改良」

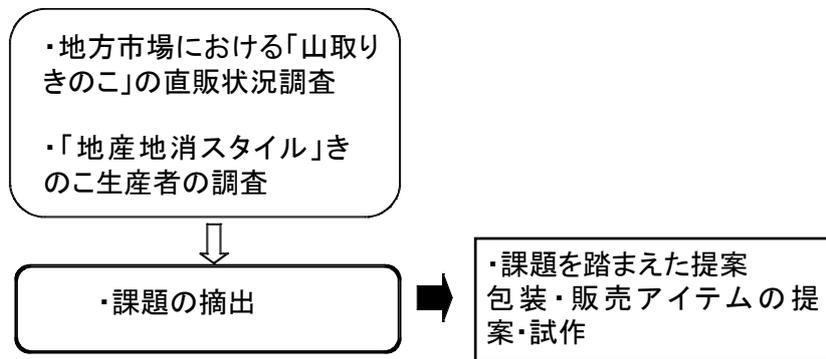


図 2-3 中課題「きのこの安全性の確認と流通特性の改良」の小課題「直販状況調査と流通特性の改良」研究の概要

### 3 林内における接種技術の簡易化と自然増殖技術の開発

#### 3.1 里山からの遺伝資源の収集と選抜

##### 3.1.1 試験の目的

地域独自の品種を開発するため、クリタケ、ハタケシメジの野生株を収集し、栽培特性を解明して選抜する。

##### 3.1.2 試験の方法

採集した子実体の組織・胞子・腐朽材を定法<sup>1)</sup>により分離・培養した。その後、継代培養法<sup>2)</sup>及び凍結保存法<sup>3)</sup>により菌株を保存した。

2005年度から2006年度にかけて収集した野生株、及び本研究開始までに収集した既存の野生株を用いて、栽培試験により特性調査を行った。

##### クリタケの試験栽培方法

培地組成は、ブナオガ粉・ホミニフィード・大豆種皮（容積比 10 : 1 : 1）、含水率 65%とした。容器は 800ml ナメコ用広口ビンを用い、培地を 1ビン当たり 600g 詰めた。高圧殺菌をして放冷した培地に種菌を接種し、20℃で4か月間培養した。発生処理は、ビンを切って培地を露出し、鹿沼土に埋設することによって行った。発生は温度 15℃、湿度 90%以上に保って行い、発生処理後の4か月間収穫調査を行った。1系統当たり4ビンを供試した。

##### ハタケシメジの試験栽培方法

容器には 850ml PPビン、PPウレタンキャップを用いた。培地組成は、1ビン当たりスギオガ粉 25g、コメヌカ 25g、フスマ 25g、ビール粕 50g、キノコマイスター（農工研製添加材）3gとし、含水率は65%に調整した。培地重量は1ビン当たり500gとした。高圧殺菌をして放冷した培地に種菌を接種し、培養は温度22℃、湿度50%以上で52日間行い、発生は温度16～17℃、湿度95%±5%で行った。一番収穫について収量を調査した。1系統当たり16ビンを供試した。

##### 3.1.3 試験の結果と考察

###### (1) 遺伝資源の収集と保存

2005年度及び2006年度にクリタケ28系統、ハタケシメジ20系統の遺伝資源を収集して保存した。

###### (2) 優良系統の選抜

クリタケは、2005年度及び2006年度に収集し

た系統、及び本研究開始までに収集した既存の野生株、計32系統について栽培試験を行った。その結果、28系統で子実体が発生した。1培地当たりの平均累積収量が、供試した培地の重量600gの25%あった系統から、上位の5系統（系統名：No. 2424, No. 2329, No. 2421, No. 2423, No. 2432）を優良素材として選抜した（図3-1、写真3-1）。

ハタケシメジは、18系統を供試して栽培試験を行った。その結果、10系統で子実体が発生した。1培地当たりの平均収量が100g程度あった系統から、上位の2系統（系統名：No. 1297, No. 1809）を優良素材として選抜した（図3-2、写真3-2）。



写真3-1 クリタケ選抜株（系統名：No. 2432）



写真3-2 ハタケシメジ選抜株（系統名：No. 1809）

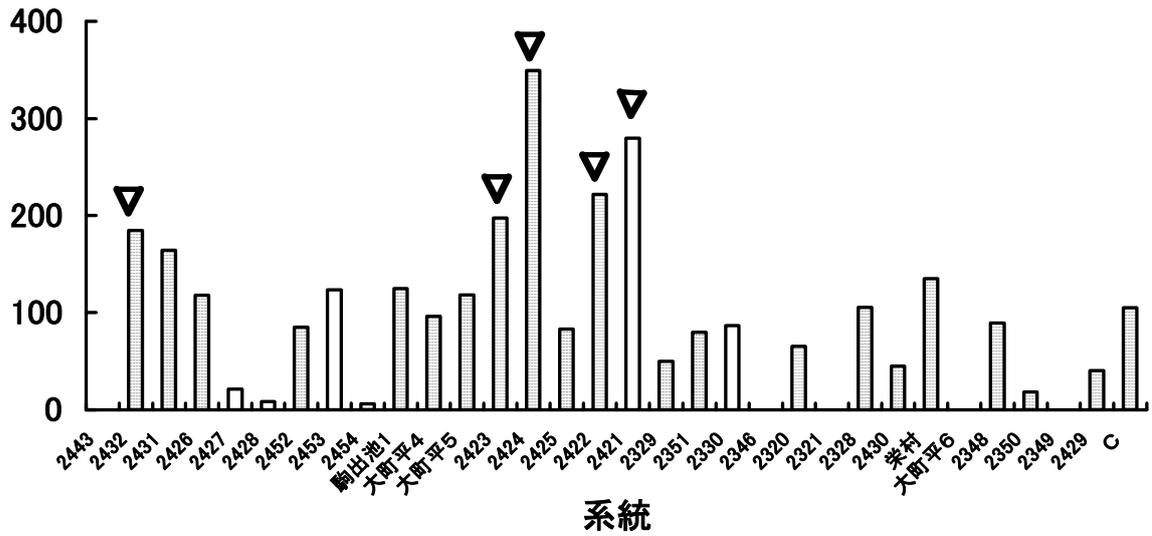


図 3-1 クリタケ野生株の栽培特性（培地 1 ビン当たりの収量）  
 培地：ブナ・ホミニフィード・大豆種皮（容積比 10：1：1），含水率 65%，容器：800ml ナメコ用広口ビン，培養：20℃4 か月間，発生処理：ビンを切って培地を露出し鹿沼土に埋設，発生：15℃湿度 90% 以上，収量調査：4 か月間，▼印：選抜した系統の箇所

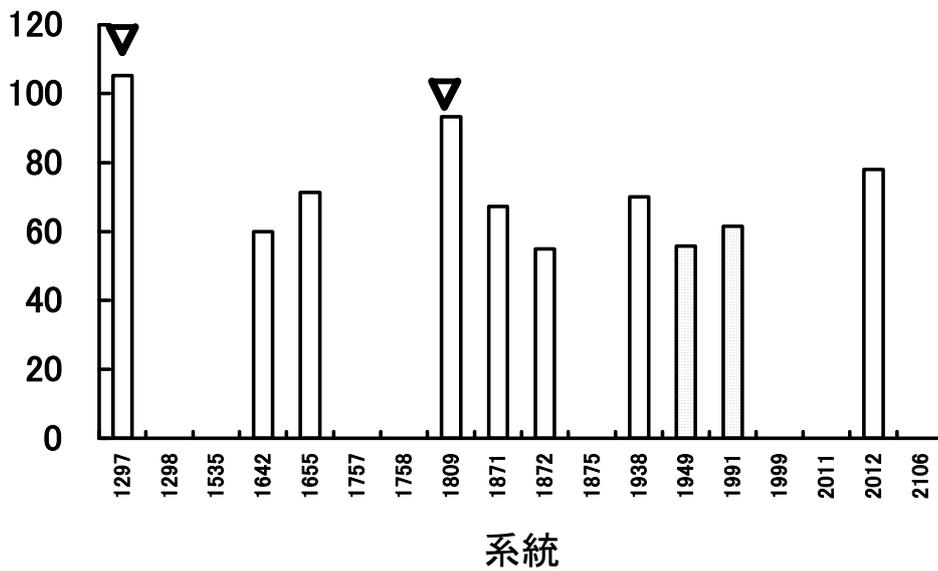


図 3-2 ハタケシメジ野生株の栽培特性（培地 1 ビン当たりの収量）  
 培地：培地重量 500g，スギオガ粉，コメヌカ 25g，フスマ 25g，ビール粕 50g，キノコマイスター 3 g，含水率 65%，容器：850ml PP ビン，PP ウレタンキャップ，培養：温度 22℃ 52 日間，発生：温度 16～17℃，湿度 95% ±5%，収量調査：1 番収穫のみ，▼印：選抜した系統の箇所。

## 3.2 林内における接種技術の簡易化

### 3.2.1 試験の目的

従来のきのこの原木栽培では、電動ドリルで原木に穴をあけ、そこに種駒を接種する。したがって、移動式の発電機等がないと、林内ではきのこの種菌接種をすることは困難である。きのこ栽培や収穫の楽しさを、誰もが林内で手軽に体験するためには、きのこの種菌接種がもっと簡易になることが必要である。そのため、「わりばし」及び「つまようじ」に菌を培養した種菌（以下「わりばし種菌」「つまようじ種菌」と言う）を使用する極めて簡便な接種方法を考案し、さらに除間伐木や伐根（切り株）を用いてクリタケが栽培できるか、実証試験を行った。

### 3.2.2 試験の方法

#### (1) 試験地の設定

2003年4月に佐久市平のアカマツ・コナラ混交林（標高820m）内に設置した。

#### (2) 「わりばし種菌」の製造

「わりばし種菌」の製造方法は、以下のとおりである。

市販の「わりばし」（国産：シラカンバ材）を用いた。「わりばし」を一昼夜、水に浸して十分に吸水させたのち、耐熱性のきのこ栽培用の袋に入れ、ブナオガ粉・フスマ培地（容積比10：2、含水率65%）に埋設した。高圧殺菌後、別の菌床に培養したオガ粉種菌を接種して、20℃で「わりばし」に菌糸が蔓延するまで培養した。

「わりばし種菌」を写真3-3に示した。

#### (3) 「つまようじ種菌」の製造

「つまようじ種菌」の製造方法は、以下のとおりである。

市販の「つまようじ」（国産：シラカンバ材）を用いた。ラック入りの「つまようじ」の蓋のみを外し、これを一昼夜、水に浸して十分に吸水させたのち、耐熱性のきのこ栽培用の袋に入れ、ブナオガ粉・フスマ培地（容積比10：2、含水率65%）に埋設した。高圧殺菌後、別の菌床に培養したオガ粉種菌を接種して、20℃で「つまようじ」に菌糸が蔓延するまで培養した。

「つまようじ種菌」を写真3-3に示した。

#### (4) 「わりばし種菌」による実証試験

「わりばし種菌」を用いて原木及び伐根（切り

株）に接種する実証試験を表3-1に示したとおりに行った。

#### 1) 「わりばし種菌」試験1—小規模試験—

2005年6月14日に接種した。

原木は、伐採後3か月経過した長さ1m、直径10cm程度のコナラ13本を用いた。

種菌の接種は、以下の方法で行った（図3-3）。

①チェーンソーで原木に切り込みを入れた。切り込みは、原木に2列6か所程度入れた。

②「わりばし種菌」を切り口に差し込んだ。

③種菌を接種した原木を広葉樹の枯れ落葉で被覆した。

④原木の間を埋める程度に周辺の土壌をかけた。

その後、原木の周辺に雑草が発生した、9月下旬に刈り払いをして、子実体の自然発生を待った。

2006年4月に種菌の活着状況を表3-2の基準に基づき、原木の表面と断面について調査した。断面については、厚さ5cmに切断した横断面を、きのこ栽培用袋に10ml程度の水とともに入れ、24時間25℃で培養した後、菌糸体の伸長状況で判断した。収量は、発生した子実体の生重量を測定した。

#### 2) 「わりばし種菌」試験2—栽培条件の検討—

2005年11月に、原木の伐採時期、原木の径、接種する穴の数、被覆材の有無により8種類の条件を変えて接種した。接種条件は、表3-4に示したとおりである。

#### 3) 「わりばし種菌」試験3—大規模試験—

2006年3月から8月までに5つの時期に分けて合計615本の原木に接種する大規模実証試験を行った。接種条件は、表3-6に示したとおりである。

#### 4) 「わりばし種菌」試験4—伐根栽培—

2006年6月14日に、前年秋に伐採したコナラの伐根9か所にチェーンソーで切り込みを入れて「わりばし種菌」を接種した。

#### (5) 「つまようじ種菌」による栽培試験

2003年4月23日に佐久市平試験地において、「つまようじ種菌」を接種した。種菌の接種は、以下の方法で行った（写真3-4）。

直径10cm、長さ20cmのコナラ原木に充電式ドリルで穿孔し、「つまようじ種菌」を原木1本当たり25本接種した。接種した原木は、そのままの状態で見内に置いた。その後、原木の周辺に雑草が発

生した,9月下旬に1回刈り払いをして,子実体の自然発生を待った。種菌の原木への活着状況を接種1年後に調査するとともに,発生した子実体の生重量を測定した。

### 3.2.3 試験の結果と考察

#### (1)「わりばし種菌」試験1-小規模試験-

活着調査の結果は表3-3及び写真3-5に示したとおりで,接種から10か月後の,表面の活着は「普通」から「良好」,横断面のホダ付きは「普通」から「多い」であり,全体として良好な活着であった。収穫調査の結果を,写真3-6,図3-4に示した。「わりばし種菌」を用いた簡易接種法により栽培した結果,接種翌年の秋には原木1本当たり100g,翌々年秋には260gの子実体が発生し,接種後,2年半の間に通算して原木1本当たり360gの子実体収量があった。

同一菌株を使用した,従来の方法による試験結果<sup>6)</sup>と比較すると,従来法が接種後2年経過した秋から子実体の発生が始まったのに対して,「わりばし種菌」による簡易接種法では,1年半後に子実体の発生が始まっており,接種後短期間で収穫することができた。また,従来法では,接種後,2年半の間に通算して原木1本当たり65gの収量であることから本法では,早期に大量に発生することができた。従来法による試験は,今回の栽培試験と同時に実施したものでないため,単純に比較することはできないが,これまでのクリタケ原木栽培の試験例<sup>5)</sup>と比較しても,早期に大量の子実体収量が得られている。

#### (2)「わりばし種菌」試験2-栽培条件の検討-

検討結果を表3-4,表3-5に示した。

いずれも小規模栽培試験で,概ねの傾向を把握するための予備的な検討であるが,原木の径は,細かい程,収量が多く,30cmを超える径の原木では,収量は少なくなった。原木の長さは,短い程,収量が多く,2mを超える原木では,収量は少なくなった。伐採直後の原木を用いた場合は,収量は少なくなり,伐採後6か月程度の一定期間が経過した原木を用いる必要性が認められた。接種後に落葉で被覆して保湿を図らない場合には,収量が少なくなっており,被覆処理をすることが収量増加に有効

であった。

#### (3)「わりばし種菌」試験3-大規模試験-

収量調査の結果を表3-6に示した。接種翌年までに原木1本当たり40g~89gの子実体収量があった。

接種翌年の秋までの収穫調査の結果であるが,小規模試験と同様に,接種翌年から子実体が発生し,「わりばし種菌」を用いた簡易接種法によりクリタケが栽培可能なことを大規模栽培試験でも実証することができた。

#### (4)「わりばし種菌」試験4-伐根栽培-

収量調査の結果を写真3-7,図3-5,図3-6に示した。9か所の伐根に接種したところ,接種当年に2か所,接種翌年に5か所,接種翌々年には7か所でクリタケ子実体が発生し,年々子実体の発生する伐根が増加した。ただし,接種当年は,接種源である「わりばし種菌」自体からの発生であった。全ての伐根について合計した子実体収量も,接種当年に39g,接種翌年に537g,接種翌々年に824gと年々増加した。

上記の結果より,「わりばし種菌」を林内のコナラ伐根に接種して,クリタケが栽培可能なことを示した。

#### (5)「つまようじ種菌」による栽培試験

佐久市平試験地において,「つまようじ種菌」をコナラ原木に接種する栽培試験を実施した。接種1年後の活着調査の結果(写真3-8),原木の横断面に菌糸体の活着が確認され,菌糸体は地面に接地している下面の活着が良好であった。接種当年の秋から子実体の発生が始まり3年目に子実体収量が最大になり,その後次第に減少した(図3-7)。接種後5年間に原木(直径10cm,長さ20cm)1本当たり通算81gの子実体収量を得ることができた。通常原木栽培に用いられる1mの原木に換算するため,単純に5倍すると,405gになる。この値により,これまでの栽培例<sup>4)5)</sup>と比較すると同等程度の子実体収量が得られた。

以上の結果より,「つまようじ種菌」を林内のコナラ原木に接種して,クリタケが栽培可能なことを示した。



写真 3-3 「わりばし種菌」(左)  
「つまようじ種菌」(右)

表3-1 「わりばし種菌」による実証試験

試験名	試験概要	接種対象	原木等の形状	接種日	供試数	種名	菌株名	試験地
「わりばし」種菌試験①	小規模実証	原木	直径10cm、長さ1m	2005. 6. 14	13本	クリタケ	臼田A-6 (27)	佐久市平
「わりばし」種菌試験②	栽培条件の検討	原木	長さ、直径各種	2005. 11. 28	全61本	クリタケ	C	佐久市平
「わりばし」種菌試験③	大規模実証	原木	直径10cm、長さ1m	2006. 3~2006. 8	全615本	クリタケ	C	佐久市平
「わりばし」種菌試験④	伐根	伐根	—	2005. 6. 14	9か所	クリタケ	臼田A-1 (23)	佐久市平

QuickTime<sup>®</sup> C<sup>2</sup>  
 èLîÉvEçÉOEáÉÀ  
 Ç™Ç±ÇÃÉsÉNÉ'ÉÉÇ%â©ÇÉÇzÇ½Ç...ÇÖIKóvÇ-ÇAB

図 3-3 「わりばし種菌」の接種



直径10cm、長さ20cmのコナラ原木に充電式のドリルで穿孔して、「つまようじ種菌」を接種。

写真 3-4 「つまようじ種菌」の接種

表3-2 活着調査評価基準

得点	評価	活着	ホダ付き
0	—	極めて悪い	微
1	+	悪い	少ない
2	++	普通	普通
3	+++	良好	多い
4	++++	完全	極めて多い

表3-3 「わりばし種菌」による活着調査結果

原木番号	活着上	活着下	ホダ付き
1	++	+++	++
7	++	+++	++
11	+++	+++	++



表面

横断面

写真 3-5 「わりばし種菌」の活着状況

接種 05. 6. 14 ⇒ 発生 06. 10. 26 ⇒ 07. 11. 3



写真 3-6 「わりばし種菌」試験 1 の経過（佐久市平）

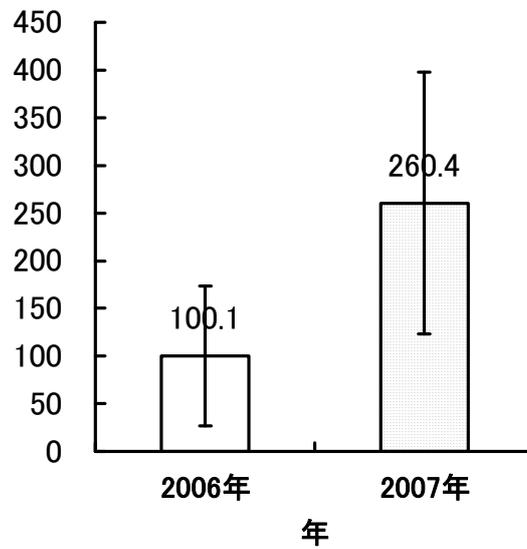


図 3-4 クリタケ「わりばし種菌」による収量（佐久市平）  
（原木 1 本当たり）

菌株：白田A-6（27），原木：直径10cm長さ100cm，原木13本の平均値±標準偏差

表3-4 「わりばし種菌」試験2（栽培条件の検討）の概要と収量

区分	接種時の伐採後期間	原木の長さ	原木の直径	スジ	落ち葉被覆	本数	2006年収量 (g/本)	2007年収量 (g/本)
①	直後	1m	10cm	3	有	19	2.9	8.5
②	直後	2m	10cm	3	有	4	0	2.5
③	直後	1m	30cm	2	有	5	0	12.6
④	6ヶ月	2m以上	10cm	3	有	4	0	0
⑤	6ヶ月	2m以上	10cm	3	無	4	0	0
⑥	6ヶ月	2m以上	10cm	上面3	有	5	0	1.0
⑦	6ヶ月	1m	7cm以下	1	有	11	0	56.5
⑧	6ヶ月	1m	7cm以下	3	有	6	0	35.8

表3-5 「わりばし種菌」による栽培条件の検討結果の概要

項目	傾向
原木の径	細いほど収量が多い。
原木の長さ	短いほど収量が多い。
原木伐採後の接種時期	伐採後6か月程度の一定期間が必要。
原木の被覆処理	落葉・土等による被覆等の保湿処理が有効。

表3-6 「わりばし種菌」試験3（大規模試験）の概要と収量

試験区名	接種穴	接種時期	2007年平均収量 (g/本)	調査本数
スジ4月	上下2スジ	06.4.12-4.17	63.1	61
スジ5月	上下2スジ	06.5.19-6.12	39.5	171
スジ6月	上下2スジ	06.6.21-6.30	39.3	126
たて穴3月	ドリル	06.3.20-3.30	87.7	115
たて穴7月	ドリル	06.7.13-8.18	88.9	142



写真 3-7 クリタケ「わりばし種菌」による栽培（伐根）の発生状況

○ 印：子実体発生箇所

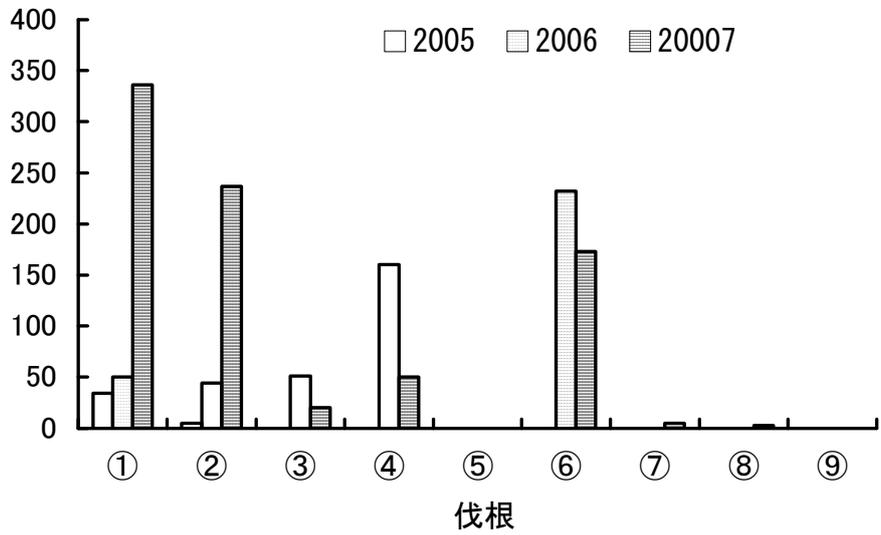


図 3-5 クリタケ「わりばし種菌」接種による収量（伐根栽培・伐根別）

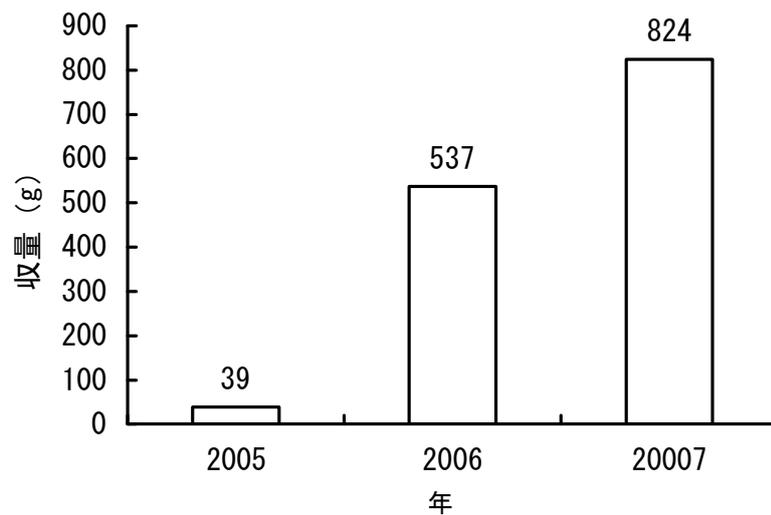


図 3-6 クリタケ「わりばし種菌」接種による収量（伐根栽培・全伐根計）



写真 3-8 クリタケ「つまようじ種菌」による活着と子実体の発生状況

○印：「つまようじ種菌」の接種箇所

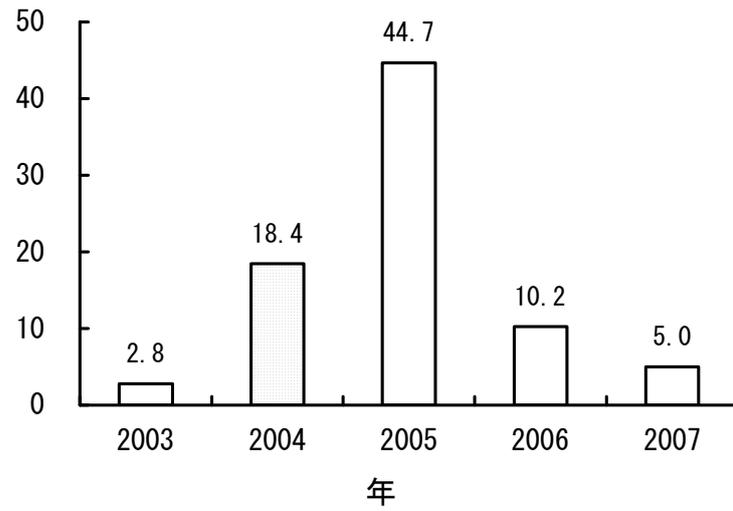


図 3-7 クリタケ「つまようじ種菌」による栽培の発生状況  
 菌株：白田A-1（23），原木直径10cm長さ20cm，供試数9本，接種日2003.4.23

### 3.3 林内等への自然増殖を促進する技術の開発

#### 3.3.1 目的

クリタケは木材腐朽性のきのこであるが、菌糸束や根状菌糸束を形成して、土壤中の木質の基質を介してテリトリーを広げていく生態を有している<sup>7)</sup>。このため、クリタケの人工栽培林内に発生した子実体が、接種した系統に由来するものか、あるいは林内に既存する野生系統に由来するものなのかを判定することが困難な場合がある。従って、発生した子実体が人工接種系統であることを明確にするためには、発生した子実体の特性を遺伝学・細胞学的手法やDNAマーカーを利用して明らかにする必要がある。

そこで、クリタケ人工栽培における自然増殖過程を追跡するために、コナラや針葉樹を用いた殺菌原木栽培を行い、栽培地に発生した子実体からの分離株について対峙培養試験およびRAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 分析<sup>7)</sup>を行い、発生した子実体の由来を推定した。

また、クリタケを栽培すると同時に、自然増殖を誘導する技術を開発するため、培養菌床と原木を接触させて埋設することによる自然増殖誘導試験を行った。試験の概念を図3-8に示した。

#### 3.3.2 試験の方法

##### (1) クリタケの殺菌原木栽培における自然増殖過程の追跡

コナラ原木(直径約12cm,長さ約30cm)4本を個別にポリプロピレン製袋内で殺菌したのち、クリタケのオガ粉種菌(A-1)を接種した。25℃,暗黒下で約5ヶ月間培養後、袋から取り出した原木(ほだ木)を飯田市野底山の林内に伏せ込んだ(2003年9月)。2005年10月に4本の原木から直接発生した子実体をそれぞれ1個(No.1~4)と原木から離れた位置に発生した子実体12個(No.5~16)を採取した(写真3-9参照)。採取した子実体の組織から、それぞれ分離株を得た。

一方、アカマツ、カラマツおよびサワラ原木(直径約12cm,長さ約30cm)各10本を同様に殺菌したのち、クリタケのオガ粉種菌(A-6)を接種した。約5ヶ月間25℃下で培養後、林業総合センター内の林内に伏せ込んだ(2005年11月)。翌年10月、各原木から直接あるいは原木から離れた位置に発生した子実体を採取(アカマツ25個,カラマツ

32個,サワラ17個)し、それぞれの子実体組織から分離株を得た。各分離株はGMA(グルコース10g,マルトエキス10g,粉末寒天20g/蒸留水1L)培地を用いて培養・保存した。

##### (2) 対峙培養試験

接種系統および各分離株をGMA平板培地(直径90mm)に接種し、25℃,暗黒下で約2週間培養した。それらのGMA培養菌糸体片(約5mm角)を、GMA平板培地上の3ヶ所に等間隔で接種した。25℃,暗黒下で約60日間培養後、菌糸体接触部における帯線形成の有無を観察した。

##### (3) RAPD 分析

接種系統および分離株のGMA培養菌糸体片を、100ml容の三角フラスコ内のGM(グルコース10g,マルトエキス10g/蒸留水1L)液体培地15mlに接種し、25℃,暗黒下で14日間静置培養した。培養後、菌糸体を液体培地ごとホモジナイザー(日本精機,AM-8)で細断(10,000rpm,30秒間)し、その菌糸体浮遊液約15mlを500ml容三角フラスコ内の新たなGM液体培地100mlに接種し、25℃,暗黒下で約14日間培養した。培養菌糸体をアスピレーターで吸引しながらガーゼ上に集め、蒸留水で十分に洗浄したのち、ろ紙で過剰な水分を除去した。培養菌糸体は凍結乾燥し、分析に用いるまで-20℃で保存した。

凍結乾燥菌糸体を2倍量(w/w)の海砂(ナカライ,30~50mesh)と共に乳鉢中で磨砕した。菌糸体と海砂の混合物150mgに0.5mlのDNA抽出用溶液[0.1M-クエン酸/0.2M-リン酸緩衝液(pH6.0)で10mM-EDTA-2Na(エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム)溶液を調製し、使用直前に0.1容の20%N-ラウロイルサルコシナトリウム溶液を添加したもの]を加え混合後、60℃で40分間処理した。室温で約30分間放冷後、20℃,20,000×gで30分間遠心し、上澄みを回収した。上澄みを等容のフェノール:クロロホルム:イソアミルアルコール(25:24:1)混合液で2回、続いてクロロホルム:イソアミルアルコール(24:1)混合液で3回処理し、除タンパクを行った。処理後の水相画分に0.1容の3M-酢酸ナトリウム(pH5.2)および2.5容のエタノールを加え十分に混合したのち、-20℃下に一晚置いた(エタノール沈澱)。次に、エタノール沈澱物を0℃,20,000×gで20

分間遠心して集め、70%エタノールで2回洗浄して、真空デシケーター内で30分間乾燥した。乾燥物を0.5mlのTES [30mM-トリス/塩酸 (pH 8.0), 5mM-EDTA-2Na, 50mM-塩化ナトリウム] に溶解したのち、RNase A (5 mg/ml, シグマ) および $\alpha$ -アミラーゼ (10 mg/ml, ナカライ) をそれぞれ10  $\mu$ l 加え、37°Cで2時間処理した。その後、前述の方法で除タンパクを行い、水相画分をエタノール沈澱して全DNAを得た。

PCRは、15 ngの全DNA、100  $\mu$ MのdNTP、5 pMのプライマー、0.5単位のDNAポリメラーゼおよび1倍量のPCR緩衝液を含む25  $\mu$ lの溶液で行った。なお、DNAポリメラーゼはHotStarTaqDNAポリメラーゼ(キアゲン)を、PCR緩衝液はDNAポリメラーゼに添付のものを使用した。また、プライマーは、オペロン社のプライマーキットAの中からクリタケの多型分析に有用なOPA-02 (5' -TGCCGAGCTG-3' )を使用した。PCRの条件は、熱変性94°Cを1分間、アニーリング36°Cを1分間、伸長反応72°Cを2分間行い、それを1サイクルとして45サイクル行った。なお、最初の熱変性は15分間、最後の伸長反応は5分間とした。PCR反応後の溶液に高比重液 [50% サッカロース, 10 mM-EDTA-2Na, 0.02% BPB (プロモフェノールブルー)] 3  $\mu$ l を加え混合後、全量をアガロースゲル電気泳動して増幅DNAバンドの確認を行った。アガロースにはニッポンジーンのType Sを使用し、TAE [40 mM-トリス / 酢酸 (pH 8.1), 1 mM-EDTA-2Na] 中、5V/cmの定電圧でBPBが4 cm移動するまで行った。泳動後のゲルを臭化エチジウム溶液 (0.5  $\mu$ l / ml) 中で30分間染色したのち、トランスイルミネーター(ウルトラバイオレットプロダクツ, TFM-20) で増幅DNAバンドを検出し、オレンジフィルター(ニコン, 056)を通して撮影した。なお、分子サイズマーカーとして $\phi$ X174 DNAのHaeIII分解物を用いた。

#### (4) 自然増殖誘導試験

菌株としてクリタケ野生株3系統(農工研保有No. 1531, 林総セ保有 No. 27, No. 31)を用いた。ブナオガ粉・ホミニフィード・大豆種皮培地(容積比10:1:1, 含水率65%)を調製し、培地1.2 kgをきのご栽培用PP袋に詰め、高圧殺菌した。放冷後に同じ組成の培地で培養した種菌を接種し

て、2006年1月7日~2006年7月18日まで20°Cの空調施設内で培養した。埋設まで室内の冷暗所で保管した後、アカマツ林床(佐久市平試験地)において2006年8月25日に培地を裸出して原木に接触させて埋設した(写真3-16)。埋設した菌床は1系統当たり8袋である。林内土壌で埋設後、広葉樹の前年秋に落葉した「落葉」で被覆した。

菌床を接触させた原木は伐採後6か月経過したコナラを用いた。1系統当たり、直径10 cm長さ25 cmの原木(チェンソーで側面に切れ込み入り)を4本、長さ50 cmに玉切り後に半割した原木を4本、それぞれ用いた。なお、これらは、直径10 cm長さ1 mの原木2本分に相当する。

埋設した菌床及び接触させた原木からの子実体発生状況を調査した。

### 3.3.3 試験の結果と考察

#### (1) クリタケの殺菌原木栽培における自然増殖過程の追跡

##### コナラ殺菌原木栽培

発生した子実体からの分離株について、対峙培養試験およびRAPD分析を行ったところ、試験した分離株16株中12株は、接種系統(A-1)との間に帯線形成が観察されず、またRAPDパターンも全てA-1と一致し、接種系統と同一系統と判断された(表3-7)。これら12株のうち、9株は原木から離れた位置に発生した子実体に由来するものであったため、原木から離れた位置にも接種系統に由来する子実体が発生することが示された。残り4株はA-1との間に帯線形成が観察され、RAPDパターンもA-1とは異なるパターンを示した。接種系統と性質が異なるそれら4株中1株は、原木から直接発生した子実体に由来する分離株(No. 2)であった(写真3-9参照)。

##### アカマツ殺菌原木栽培

発生した子実体からの分離株25株中21株は、接種系統(A-6)との間に帯線形成は観察されず、またRAPDパターンもA-6と一致した(表3-8)。原木周辺から発生し、接種系統と同一系統だった事例を写真3-10に示した。原木から離れた位置に発生した子実体No. 2およびNo. 3も接種系統A-6と同じ性質を示すものだった。一方、25株中4株はA-6との間に帯線形成が観察され(写真3-11参照)、RAPDパターンもA-6と異なるパターンが

検出された（写真 3-12 参照）。なお、接種系統と異なる性質を示した 4 株のうち 2 株は、原木から直接発生した子実体に由来する分離株 [原木 4-1（写真 3-13 参照）および原木 5-2] であった。

#### カラマツ殺菌原木栽培

発生した子実体からの分離株 32 株中 30 株は、接種した系統 (A-6) との間に帯線形成は観察されず、また RAPD パターンも A-6 と一致した (表 3-8)。原木 4 の周辺から発生した子実体を写真 3-14 に示したが、原木から離れた位置に発生した子実体 No. 1, 2 および 4 も接種系統 A-6 と同じ性質のものであった。一方、32 株中 2 株 (原木 4-1 および原木 10-2) は A-6 との間に帯線を形成し、RAPD パターンも A-6 と異なるパターンを示したが、それら 2 株はいずれも原木から直接発生した子実体に由来する分離株であった。

#### サワラ殺菌原木栽培

分離株 17 株中 14 株は、接種した系統 (A-6) との間に帯線形成は観察されず、また RAPD パターンも A-6 と一致した (表 3-8)。原木 8 の周辺から発生した子実体を写真 3-15 に示したが、他樹種を用いた栽培試験の結果と同様に、原木から離れた位置に発生した子実体 (No. 1, 2 および 4) の中でも接種系統 A-6 と同じ性質を示すものが認められた。一方、17 株中 3 株 (原木 2-1, 原木 5-1 および原木 6-2) は A-6 との間に帯線を形成し、RAPD パターンも A-6 と異なったが、それら 3 株はいずれも原木から直接発生した子実体に由来する分離株であった。

以上のように、コナラおよび 3 種類の針葉樹を用いた殺菌原木栽培において、対峙培養試験と RAPD 分析の結果から、原木から離れた位置からも接種した系統に由来すると考えられる子実体が発生していることが示された。すなわち、原木に接種した系統が菌糸束や根状菌糸束を形成し、土壌中の木質の基質を介してテリトリーを原木の周辺

に広げている。

一方、接種した系統とは性質が異なると考えられる分離株もいくつか認められた。これらは、栽培を行った林内に既に存在していた野生系統に由来するもの、野生系統と接種系統間のハイブリッドに由来するもの、あるいは菌糸体の増殖過程に変異したものと推察する。

また、予想に反して原木から直接発生した子実体からの分離株の中にも接種した系統と異なる性質を示すものが認められたが (コナラ, アカマツ, カラマツ, およびサワラ殺菌原木栽培において、それぞれ 1 株, 2 株, 2 株, および 3 株), これらは組織分離後の培養や保存過程で変異した可能性もある。

これら分離株の由来を精査するためには、今後、不和合性因子分析やミトコンドリア DNA 分析などを行う必要がある。

#### (2) 自然増殖誘導試験

子実体の発生状況を写真 3-17 に示した。埋設当年の 2006 年秋には菌床から直接発生する子実体が主体であったが、翌年の 2007 年秋には原木から発生する子実体が見られた。収量、及び原木からの発生割合を、図 3-9, 表 3-9 に示した。埋設の翌年には、原木からの収量が 57.8% あった。

培養菌床を原木に接触させて林内に埋設することで、培養菌床から子実体を発生させ、さらに菌床に接触する原木からも子実体が発生できた。

今回の報告では、埋設後 2 年間のみの結果である。埋設年には菌床から子実体が発生し、2 年目には原木からの発生も始まって菌床と原木の両者から発生した。さらに、翌年からは、原木からの発生割合が増加して、菌床からの発生割合は減少していくと予測し、菌床栽培と原木栽培を融合した栽培モデルを考え栽培試験を行った。今後も調査を継続するが、予測をイメージとして、図-10 に示した。

表3-7 針葉樹殺菌原木栽培において発生したクリタケ子実体に由来する分離系統の特性調査

分離株 <sup>1)</sup>	帯線 <sup>2)</sup>	RAPD <sup>3)</sup>
No. 1	1	1
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5*	1	1
6*	0	0
7*	0	0
8*	0	0
9*	0	0
10*	1	1
11*	0	0
12*	0	0
13*	0	0
14*	0	0
15*	0	0
16*	0	0

1) \*は原木から離れた位置に発生した子実体からの分離株を示す

2) 接種した系統 (A-6) との間に帯線形成なし (0) 及び帯線形成あり (1)

3) 接種した系統 (A-6) と同じRAPDパターン (0) 及び異なるRAPDパターン (1)

表3-8 針葉樹殺菌原木栽培において発生したクリタケ子実体に由来する分離系統の特性調査

アカマツ			カラマツ			サワラ		
分離株 <sup>1)</sup>	帯線 <sup>2)</sup>	RAPD <sup>3)</sup>	分離株 <sup>1)</sup>	帯線 <sup>2)</sup>	RAPD <sup>3)</sup>	分離株 <sup>1)</sup>	帯線 <sup>2)</sup>	RAPD <sup>3)</sup>
原木4-1	1	1	原木1-1	1	1	原木2-1	1	1
2	0	0	2	0	0	2	0	0
3	0	0	3	0	0	原木3-1	0	0
4*	0	0	4	0	0	原木4-1	0	0
原木5-2	1	1	5	0	0	2*	0	0
3*	0	0	原木2-1	0	0	原木5-1	1	1
原木6-1	0	0	2*	0	0	2*	0	0
2*	0	0	原木3-1	0	0	原木6-1	0	0
3*	0	0	2	0	0	2	1	1
原木7-1*	1	1	3*	0	0	原木7-1	0	0
2	0	0	5	0	0	原木8-1	0	0
原木8-1	0	0	6*	0	0	2	0	0
2*	0	0	原木4-1*	0	0	3*	0	0
3*	0	0	2*	0	0	4	0	0
4*	0	0	3	0	0	原木9-1	0	0
原木9-1	0	0	4*	0	0	原木10-1	0	0
2	0	0	5	0	0	2	0	0
3*	0	0	原木7-1	0	0			
4	0	0	2	0	0			
5*	0	0	4	0	0			
6*	0	0	5	0	0			
7*	1	1	原木8-1*	0	0			
原木10-1	0	0	3	0	0			
2*	0	0	原木9-1	0	0			
3*	0	0	2	0	0			
			3	0	0			
			4*	0	0			
			5	0	0			
			6*	0	0			
			原木10-1	0	0			
			2	1	1			
			3	0	0			

1) \*は原木から離れた位置に発生した子実体からの分離株を示す

2) 接種した系統 (A-6) との間に帯線形成なし (0) 及び帯線形成あり (1)

3) 接種した系統 (A-6) と同じRAPDパターン (0) 及び異なるRAPDパターン (1)

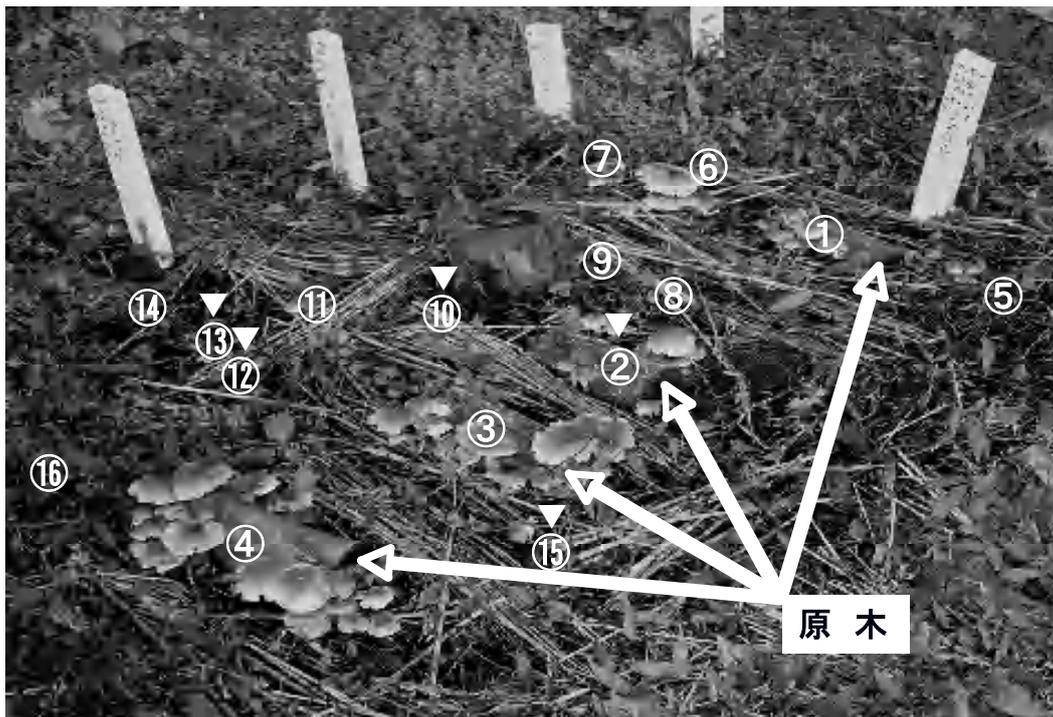


写真 3-9 コナラ殺菌原木栽培におけるクリタケ子実体の発生位置

①～⑯は子実体番号（分離株番号）を示す

①～④は原木から直接発生，⑤～⑯は原木から離れた位置に発生したもの

▼は，接種した系統（A-1）とは性質が異なるものを示す



写真 3-10 アカマツ殺菌原木栽培におけるクリタケ子実体の発生位置（原木 6）

1 は原木から直接発生，2 および 3 は原木から離れた位置に発生したもの



写真 3-11 クリタケ接種系統 (A-6) と分離株 (アカマツ原木 9-4~7) 間の対峙培養試験

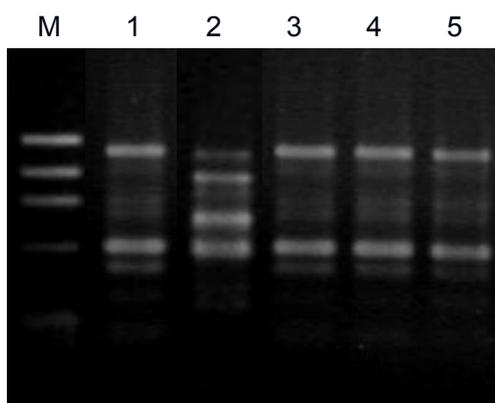


写真 3-12 クリタケ接種系統と分離株 (アカマツ原木 4-1~5) の RAPD パターン

レーン 1 : A-6

レーン 2~5 : 原木 4-1~5

レーン M : DNA サイズマーカー

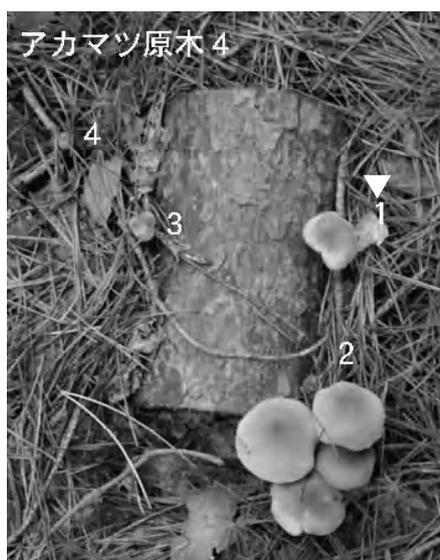


写真 3-13 アカマツ殺菌原木栽培におけるクリタケ子実体の発生位置 (原木 4)

1~3 は原木から直接発生, 4 は原木から離れた位置に発生したもの

▼は, 接種した系統 (A-6) とは性質が異なるものを示す



写真 3-14 カラマツ殺菌原木栽培におけるクリタケ子実体の発生位置（原木 4）  
3 および 5 は原木から直接発生，1，2 および 4 は原木から離れた位置に発生したもの



写真 3-15 サワラ殺菌原木栽培におけるクリタケ子実体の発生位置（原木 8）  
1，2 および 4 は原木から直接発生，3 は原木から離れた位置に発生したもの

原木栽培・・接種後発生の最盛期まで長時間  
長期間の発生可能

+

菌床栽培・・接種後発生の最盛期までが短い  
短期間の発生で終わる



短所の補完・培養菌床を接種源に

1～2年目菌床から発生+3年目以降原木から発生

培養菌床を接種源とした林内への自然増殖の誘導

図 3-8 原木栽培と菌床栽培の融合による自然増殖誘導の概念



写真 3-16 培養菌床と原木を接触させた埋設



写真 3-17 クリタケの発生状況

菌床からの発生（左） 原木からの発生（右）

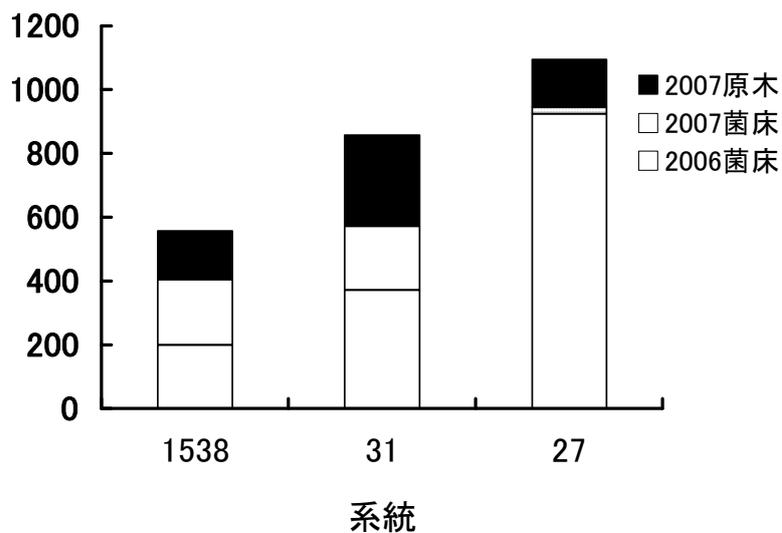


図 3-9 クリタケ培養菌床の利用による自然増殖法の検討結果

表3-9 クリタケ自然増殖法の検討-原木からの子実体発生状況 (2007年) -

系統	1538	31	27	全体
菌床収量 (g)	180	200	20	400
原木収量 (g)	117	280	150	547
原木発生率 (%)	39.4	58.3	88.2	57.8

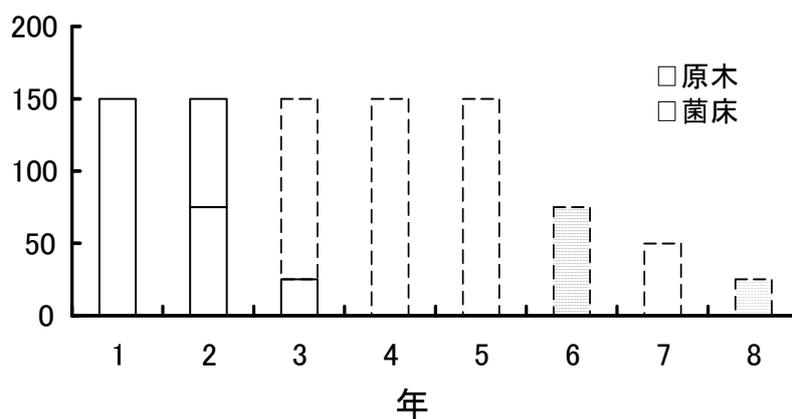


図 3-10 菌床栽培と原木栽培の融合による収量経過の概況

棒グラフの点線部分は将来の予測をイメージとして示したもの

## 4 里山周辺の遊休農地を活用した自然活用型栽培技術の開発

### 4.1 簡易施設活用型栽培技術の開発

#### 4.1.1 目的

ハタケシメジ、クリタケの、遊休農地に設置した簡易施設内（パイプハウス等）における栽培実証により、遊休農地を活用した自然活用型栽培技術の開発に資する。

#### 4.1.2 試験の方法

##### (1) 簡易施設の設定

2005年にJA上伊那種菌センター周辺（上伊那郡中川村）の、以前は野菜栽培を行っていた遊休農地内に表4-1に示した仕様のパイプハウスを設置した（写真4-1）。

##### (2) ハタケシメジ培地組成の改良

ハタケシメジ菌床栽培における培地基材としては、収量性が良いことから「バーク堆肥」が用いられることが多い<sup>8)</sup>。しかし、「バーク堆肥」は、オガ粉に比べ購入価格が高く、攪拌による凝集性があり作業効率を低下させる。また、子実体に付着すると除去が困難で商品性の低下に繋がる。そこで、ハタケシメジ菌床栽培において「バーク堆肥」をオガ粉に代替する培地組成改良を図った。

培地組成と栽培方法は、表4-2に示したとおりである。

##### (3) 簡易施設での菌床栽培

**ハタケシメジ** 「里山からの遺伝資源の収集と選抜」において選抜した系統と、バーク堆肥の一部をオガ粉に置き換えた培地を用いて、簡易施設において栽培試験を行った。試験の概要は、表4-4に示したとおりである。

**クリタケ** 「里山からの遺伝資源の収集と選抜」において、選抜した系統を用いて、簡易施設において栽培試験を行った。試験の概要は、表4-5に示したとおりである。培養菌床は1つのプランターに4個ずつ埋設した。

#### 4.1.3 試験の結果と考察

##### (1) ハタケシメジ培地組成の改良

結果を表4-3に示した。1ビン当たり350gバーク堆肥を配合した試験区（1区）の1ビン当たりの子実体収量が108.8gに対して、半量をオガ粉に代替した試験区（2区）でも子実体収量が111.4gと、同等の収量が得られた。形状が不良な子実体がやや見られたが、低コストで作業効率の良い培地組成に改良できたと考えた。

##### (2) 簡易施設での菌床栽培

**ハタケシメジ** 結果を図4-1、写真4-2に示した。空調施設を用いない簡易施設の中で、2007年10月31日～11月7日の8日間の短期間に集中して子実体が発生した。2.5kg詰め45袋分の培地から、累積収量で8,715g（1袋当たり194.3g）の子実体が発生し、簡易施設においてハタケシメジを栽培できることが実証された。

**クリタケ** 結果を図4-2、写真4-2に示した。空調施設を用いない簡易施設の中で発生に供したところ、2007年2月21日～4月19日の2か月に分散して子実体が発生した。0.6kg詰め60袋分の培地から、累積収量で3,680g（1袋当たり61.3g）の子実体が発生し、簡易施設においてクリタケを栽培できることが実証された。

表4-1 培養ハウスの仕様

大きさ	シート資材	その他
横：6.3m 縦：7m 高さ：3m	外：フリールーフホワイト 内：ダイオーシート遮光率90%	両サイドは、1.7mまで開閉可能 両妻面は左右開きの引き戸



写真 4-1 遊休農地に設置したパイプハウス（全景と内部の培養状況，中川村）

表4-2 試験区の培地組成（培地組成g/ビン）

培地原料	1区	2区
バーク堆肥	350g	175g
スギオガコ		175g
コメヌカ	30g	30g
ビール粕	60g	60g

栽培ビン：850mlPPビン，口径 58mm  
 培養：温度 22℃，湿度 50%以上，52日  
 栽培：温度 16～17℃，湿度 95%±5%  
 供試菌株：No. 1809

表4-3 ハタケシメジ培地組成の改良 栽培結果

試験区	菌まわり日数	平均収量g	標準偏差	生育日数	備考
1区	49	108.8	23.3	21	
2区	56	111.4	20.8	21	茎が暴れる

表4-4 簡易施設における菌床栽培試験の概要（ハタケシメジ）

項目	条件
菌株	No. 1809（農工研保有）
培地組成	バーク堆肥730g・スギオガコ730g・コメヌカ125g・ビール粕250g（2.5kg詰め1袋当たり）、含水率65%
培養	空調施設による温度管理無し、JA上伊那培養センター内50日間、簡易施設内（パイプハウス）114日
発生	簡易施設内自然温度（2007. 10. 30～11. 30）、散水、供試数45袋

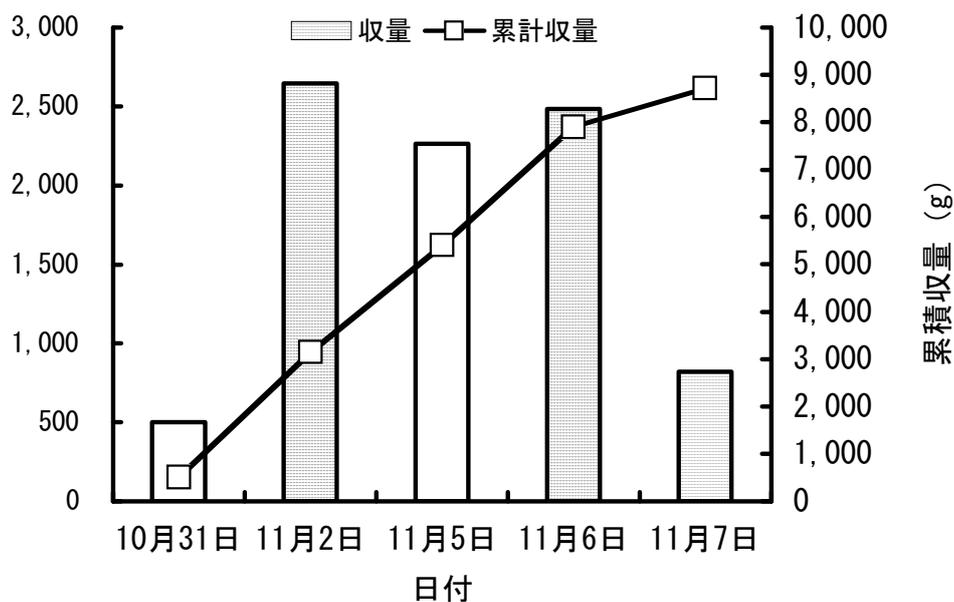


図 4-1 簡易施設（パイプハウス）におけるハタケシメジの発生（2007年）

表4-5 簡易施設における菌床栽培の概要（クリタケ）

項目	条件
菌株	No. 1538（農工研保有）
培地組成	ブナオガコ・ホミニフィード・大豆種皮（容積比10：1：1）、含水率65%、PP袋0.6kg詰め
培養	中川村簡易施設内（パイプハウス）2006. 6. 26～2006. 12. 21
発生処理	培地を裸出して、プランター内で鹿沼土を用いて埋設
発生	飯島町簡易施設内（パイプハウス）、冬期12月～3月凍結防止の暖房（5℃以下に低下を防止）、散水、2006. 12. 21～2007. 4. 30、供試数15プランター60袋

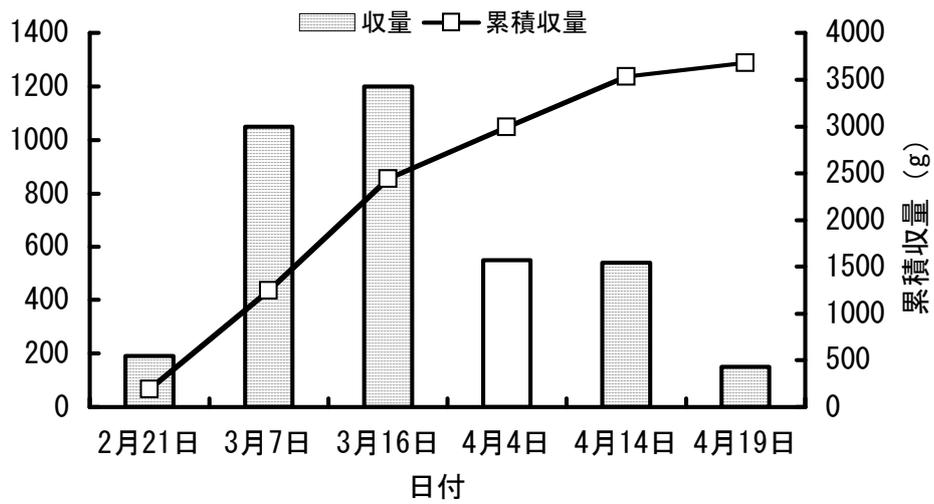


図 4-2 簡易施設(パイプハウス)におけるクリタケの発生(2007)



写真 4-2 簡易施設(パイプハウス)における発生状況(左:ハタケシメジ 右:クリタケ)

## 4.2 山村・都市交流型栽培技術の開発

### 4.2.1 目的

ハタケシメジ、クリタケについて、培養菌床の遊休農地あるいは森林林床埋設により子実体が発生収穫する技術開発を行い、山村住民と都市住民の交流の場を創出するとともに遊休農地や里山の利用（再開発）に資する。

### 4.2.2 試験の方法

#### (1) ハタケシメジ

野生株1系統（農工研保有 No.2109）を用い、きのこ栽培用PP袋に1袋2.5kg詰めた。培地組成は、1袋当たりスギオガ粉125g、コメヌカ125g、フスマ125g、ビール粕250g、キノコマイスター（農工研製添加材）15g、含水率は65%とした。培養は温度22℃、湿度50%以上で行い、培養後に、上伊那郡中川村の梅園林床と佐久市平のアカマツ林床に、菌床を埋設した。

**梅園** 培養52日後の菌床100個を裸出して、2006年8月17日に、高さ20cmの合板による木枠で囲った地面に並べ、中川村の山林から採取した山土で埋設し、稲わらで被覆した（写真4-3）。

**アカマツ林床** 培養60日後に計100個の菌床を3か所に分け、最外層に3種類（ドリルくず、根・草、落葉）の被覆材料を用いて、以下の手順で2006年8月25日に埋設した（写真4-3、図4-4）。林床の落葉等を除去した地表面に、雨水の滞留を防ぐために鹿沼土を2～3cm敷き、その上に菌床を並べた。ピートモスと山土を容積比で7対3に配合した材料で菌床の隙間を埋めるとともに菌床を薄く被覆し、さらに最外層に被覆資材を施した。供試した菌床数は、被覆資材別に、ドリルくず用34個、根・草用33個、落葉用33個である。

#### (2) クリタケ

**培養菌床の林内埋設** 菌株は、クリタケ野生株4系統（農工研保有のNo.2107, No.1538, 林総セ保有のNo.31, No.27）を用いた。ブナオガ粉・ホミニフィード・大豆種皮（容積比10:1:1）、含水率65%に調製した培地を1.2kgPP袋に詰め高压殺菌した。供試数は1系統につき8袋とした。2006年1月7日～2006年7月18日まで20℃で培養し、その後埋設まで冷暗所で保管した。2006年8月25日にアカマツ林に運び、袋から取り出した1系統につき8個の菌床を林内土壌中に埋設した後、広

葉樹の「落葉」で被覆した。

**コンテナ埋設による林内発生** 「簡易施設活用型栽培技術の開発」において、簡易施設内で培養してコンテナに埋設し、2006年12月21日～2007年4月30日まで簡易施設内で子実体が発生・収穫した培地（表4-5、図4-2）をコンテナごと、6コンテナをクリタケと同様の林地に2007年5月16日に移動して、自然環境下で子実体が発生させた。

### 4.2.3 試験の結果と考察

#### (1) ハタケシメジ

**梅園** 2006年10月7日～2006年10月16日に100個埋設した培地より6,970gの収量（1培地当たり69.7g）が得られた（写真4-3、図4-3）。

**アカマツ林** 2006年9月28日～2006年10月7日に計100個埋設した培地より18,600gの収量（1培地当たり186g）が得られた（写真4-3、図4-5、図4-6）。埋設資材別に見ると、ドリルくず1,200g、根・草6,900g、落葉10,500gであった。2006年8月25日に菌床埋設してから速やかに、2006年9月14日には幼子実体が地上に発生してきたが、収穫までは14日間を要し、幼子実体が発生してから収穫までの期間は、ナメコ、クリタケ原木栽培における7日間程度に比較すると長かった。

梅園内においても、林内においても、1次発生のみで終了したが、遊休農地や林床での培養菌床の埋設により、選抜した野生株を用いてハタケシメジが栽培できることが実証された。

#### (2) クリタケ

**培養菌床の林内埋設** 結果を図4-7、写真4-4に示した。埋設当年である2006年10月中旬～12月上旬にかけて子実体が4系統とも得られ、最も収量のよいNo.27では925gが収穫され、最も少ないNo.1538は200gであった。埋設当年には4系統合計で1,708gの収量が得られた。翌年の2007年にも10月下旬～11月中旬に、No.2107を除く3系統で子実体が発生した。2007年の合計収量は400gであった。

2年間の合計で2,108gの収量があり、1.2kg詰め1培地当たり66gの収量が得られた。収量性の良い菌株としてNo.27を選抜した。

**コンテナ埋設による林内発生** 結果を図4-8、写真4-5に示した。2007年10月15日～2007年11月15日までに6コンテナの合計で725gの収量

が得られた。前年冬期に簡易施設内で子実体を発生させた後、林内に放置しても翌年引き続き収穫できた。

梅園の林床



平坦なアカマツ林の林床



培養菌床の埋設

子実体の発生(ハタケシメジ)

写真 4-3 培養菌床の埋設によるハタケシメジの栽培(左: 中川村, 右: 佐久市)

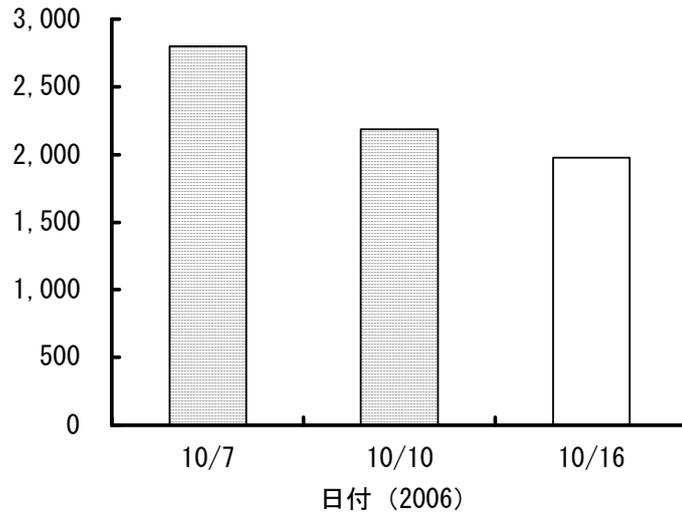


図 4-3 ハタケシメジ菌床埋設による収量（梅園内・中川村）

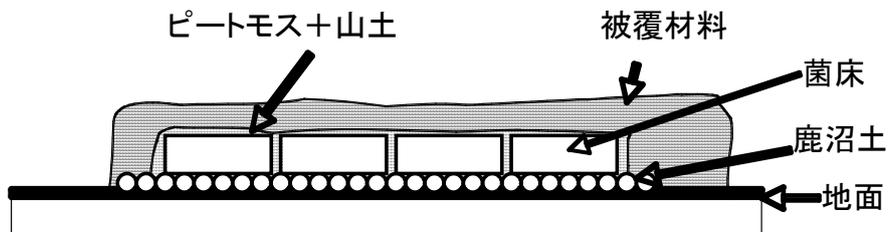


図 4-4 アカマツ林床におけるハタケシメジ培養菌床埋設方法

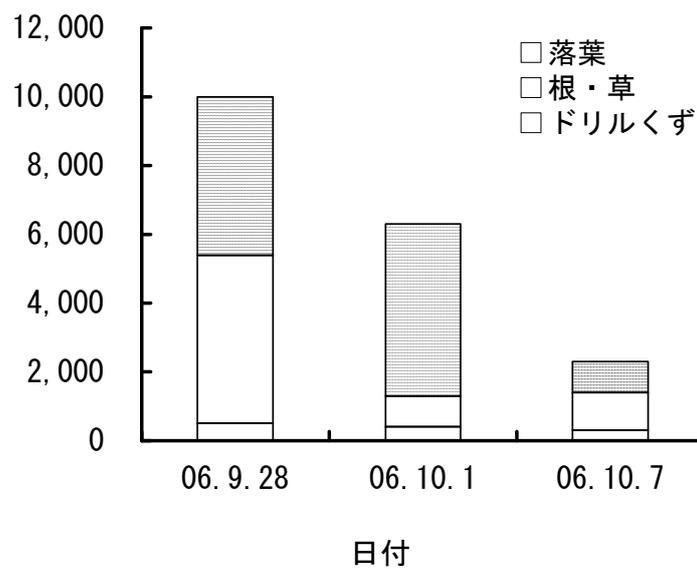


図 4-5 ハタケシメジ菌床埋設による収量（林内・佐久市）

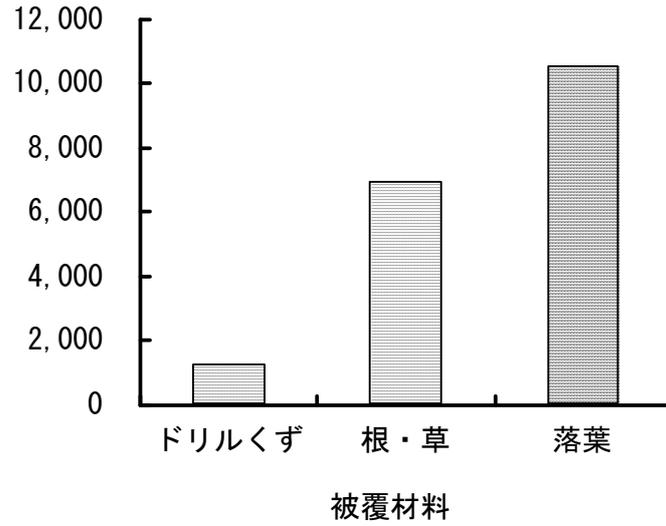


図 4-6 ハタケシメジ菌床埋設による被覆材料別の収量（林内・佐久市）

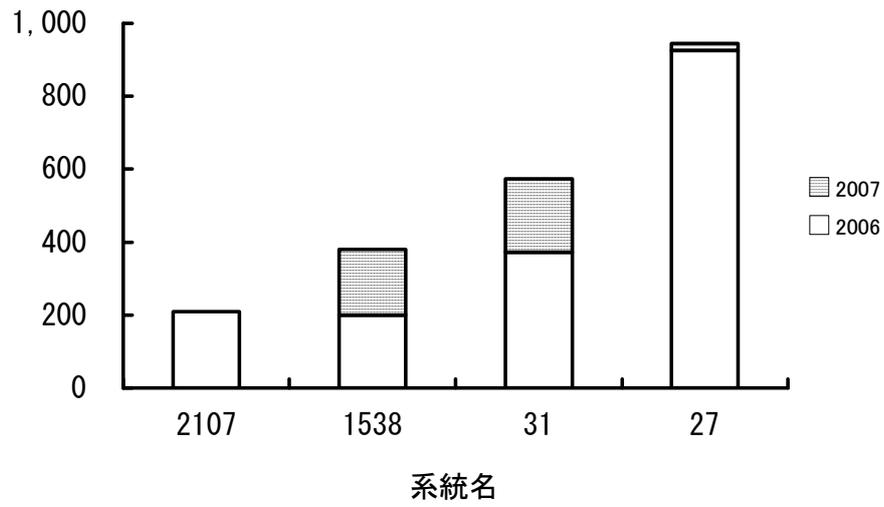


図 4-7 クリタケ培養菌床埋設による収量（佐久市平）



写真 4-4 クリタケ菌床埋設の林内発生（佐久市平, 左: 菌株 No. 27, 右: 菌株 No. 2107）

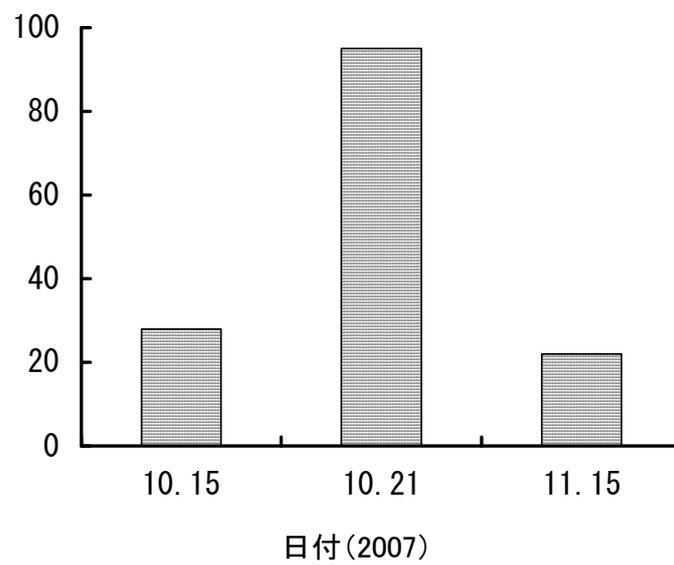


図 4-8 プランター埋設クリタケの林内発生（佐久市平, 菌株 No. 1538）



写真 4-5 プランター埋設クリタケの林内発生（佐久市平, 菌株 No. 1538）

## 5 きこの安全性の確認と流通特性の改良

### 5.1 安全性確認試験

#### 5.1.1 目的

自然志向のイメージのみに頼るのではなく、生産物の安全性について科学的な裏付けを行い、生産されたきのこに付加価値を付けるため、簡便で迅速な分析手法の確立と安全管理に必要な分析項目の決定を行う。また、収穫した子実体、用いた材料について、有害物質(農薬、重金属、微生物)の有無を確認する。

#### 5.1.2 試験の方法

##### (1) 多成分一斉分析法の検討

ポジティブリスト制に対応して、ドリフト残留農薬の簡便で迅速な分析方法を検討する。農薬を付着させたきのこについて、一般野菜で実用化している多成分一斉分析法によって、検出精度を確認することで、きのこに応用できる方法であるか検討した。

現在、一般的な野菜生産において使用可能な全ての農薬の標準溶液を添加したエノキタケ、ブナシメジ、エリンギを対象に、SFE(超臨界流体)抽出方法およびキャッチャーズ法による多成分一斉分析法で添加回収試験を行い、添加回収率が70~120%の農薬成分を、分析可能な農薬成分として検索した。定性・定量方法の検討はGC/MS(ガスクロマトグラフ質量分析装置 Agilent 社 5973N)およびLC/MS/MS(高速液体クロマトグラフタンデム四重極型質量分析装置 Waters 社 Acquity UPLC Quattro premier XE)で最適分離条件を検討した。

##### (2) イムノアッセイ法の検討

免疫反応を利用し、簡便な分析法として、一般野菜での農薬分析に利用されているイムノアッセイ法について、きのこにも利用可能か検討した。

農薬成分としてベノミルを添加したエノキタケ、ブナシメジ、エリンギを対象とし、各試料を均一化し5g採取した。メタノールを25ml添加し30分間振とう抽出、濾過後、蒸留水7.5ml中に抽出液1mlを加えた。ウェルに試料80 $\mu$ l、更に酵素標識物試薬80 $\mu$ lを分注し1分間攪拌後、1時間静置した。蒸留水で洗浄後発色試薬を80 $\mu$ l注入し1分間攪拌後30分間静置した。発色停止試薬40 $\mu$ l注入し、15分後にスマートリーダーMPR-01(株

式会社ホリババイオテクノロジー)にセットし、吸光度を測定した。

##### (3) ドリフト残留農薬のモニタリング分析

培地資材(オガ粉、コメヌカ、フスマ等)、収穫子実体(クリタケ、ハタケシメジ)について、長野県下で一般的に使用される農薬成分のうち低極性・揮発性物質について、SFE(超臨界流体)抽出方法-GC/MS(ガスクロマトグラフ質量分析装置 Agilent 社 5973N)による多成分一斉分析法で90成分(表5-1)を定性、定量分析した。また、中・高極性・難揮発性物質は、キャッチャーズ法-LC/MS/MS(高速液体クロマトグラフタンデム四重極型質量分析装置 Waters 社 Acquity UPLC Quattro premier XE)による多成分一斉分析法で80成分(表5-2)を定性、定量分析した。なお、分析成分は農薬標準溶液を対象子実体に添加し、添加回収率が70~120%の農薬を分析可能として採用した。

##### (4) 重金属

収穫した子実体、使用した培地資材および試験栽培地の土壌について、Pb、As、Cdを食品衛生法に準拠した原子吸光法で定量した。

##### (5) 微生物

収穫した子実体について、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌を食品衛生検査指針の公定法により定量した。

### 5.1.3 試験の結果と考察

#### (1) 多成分一斉分析法

ドリフト残留農薬の迅速的、効率的な分析方法を確立するため、SFE抽出方法-GC/MSおよびキャッチャーズ法-LC/MS/MSによる多成分一斉分析法を検討し、添加回収試験等の結果から表5-1、表5-2に示した約170成分の農薬成分について従来の公定法による分析時間を1/4に短縮して一斉分析する体制を整備した。

#### (2) イムノアッセイ法

生化学的手法であるイムノアッセイ法によるベノミルの迅速的な分析法を検討した。きのこの添加回収試験による実サンプルでの分析の結果、コントロールとして分析した検体にも陽性反応がでた(表5-3)。このため、きのこのベノミル分析には迅速的な分析法であるイムノアッセイ法は適さない事が確認され、従来の公定法の適用が妥当と判断

された。

### (3) ドリフト残留農薬モニタリング

クリタケ菌床、ハタケシメジ菌床で使用した培地資材、また3年間にわたり(2005~2007年)各試験地で収穫した子実体(クリタケ、ハタケシメジ)について、多成分一斉分析法により170成分の農薬を分析した結果、すべて不検出であった。林内および遊休農地を利用したきのこの栽培は、ポジティブリスト制度に基づく基準にも全く問題ないことがわかり、安全性が実証できた。

ただし、農地が周辺に存在する栽培地によっては、飛散農薬残留の可能性も全く否定できないことから、自主的検査として定期的なモニタリングは必要である。

### (4) 重金属

収穫した子実体(クリタケ、ハタケシメジ)、使用した培地資材および試験栽培地の土壌について、すべて検出限界以下(不検出)であった(表5-4)。

重金属は、工場排水による汚染等の特別な経過がない限り、検出される可能性は極めて低い。今回の検討では、念のため分析項目に加えて、安全性を確認した。検討対象とした試験地は、重金属汚染との関係が疑われる特別な理由はなく、一般的な林地及び遊休農地である。したがって、過去の履歴等から特に理由がない限り、「山取りきのこ」の生産・販売のため、定期的に自主検査してモニタリングする項目として、重金属を除外しても差し支えないと判断された。

### (5) 微生物

黄色ブドウ球菌、サルモネラはすべての検体で陰性であった(表5-5)。大腸菌群は $10^2 \sim 10^4$ 個レベルで食肉、魚介類と同水準であったが、完熟子実体(菌傘が8分開き以上)で大腸菌群が多い傾向であった(表5-6)。これらの結果から、大腸菌群を鮮度の指標にできることがわかった。

表 5-1 多成分一斉分析法により検出可能な農薬成分(SFE(超臨界流体)抽出法による)

低極性・揮発性農薬成分：SFE(超臨界流体)抽出法による

フェンスルホチオン、カブタホール、アセフェート、ジクロフルアニド、キャプタン、ジコホル分解物、DDVP、メタミドホス、EPTC、ブチレート、イソプロカルブ、フェノブカルブ、エトプロホス、クロロプロファム、カズサホス、チオメトン、ベンダイオカルブ、 $\alpha$ -BHC、 $\beta$ -BHC、 $\gamma$ -BHC、 $\delta$ -BHC、テルブホス、ジメチペン、ダイアジノン、エトリムホス、ピリミカブ、テフルトリン、エチオフェンカルブ、ベンフレセート、トルクロホスメチル、パラチオンメチル、カルバリル、ピリミホスメチル、エスプロカルブ、ジコホル、メチオカルブ、フェニトロチオン、マラチオン、メトラクロール、チオベンカーブ、クロルピリホス、フェンチオン、ジメチルピンホス、ジエトフェンカルブ、イソフェンホスP=O、パラチオン、ホスチアゼート、クロルフェンビンホスE、クロルフェンビンホスZ、イソフェンホス、ベンディメタリン、フルトラニル、ピリフェノックスE、ピリフェノックスZ、フェントエート、キナルホス、トリアジメニール、パクロブトラゾール、プロチオホス、クロルベンジレート、p、p'-DDE、プレチラクロール、キノメチオネート、トリシクラゾール、フルシラゾール、ミクロブタニル、シプロコナゾール、メブロニル、ジコホル、p、p'-DDD、エディフェンホス、プロピコナゾール、レナシル、テニルクロール、テブコナゾール、EPN、イブロジオン、テブフェンピラド、アセタミプリド、ピリプロキシフェン、シハロトリン、ホサロン、メフェナセット、アクリナトリン、フェナリモル、ピラクロホス、ペルメトリン、シフルトリン、ピテルタノール、ピリダベン、ハルフェンプロックス、シペルメトリン、フルシトリネート、シラフルオフェン、ピリミジフェン、フェンバレレート、フルバリネート、ジフェノコナゾール、デルタメトリン、イミペンコナゾール

表 5-2 多成分一斉分析法により検出可能な農薬成分(キャッチャーズ法による)

中・高極性・難揮発性農薬成分：キャッチャーズ法による

アザメチホス、アジンホスメチル、アゾキシストロビン、アニロホス、アルジカルブ、イソキサフルトール、イプロバリカルブ、イマザリル、イミダクロプリド、インダノファン、インドキサカルブ、オキサジクロメホン、オキサミル、オキシカルボキシシン、オリザリン、カルバリル、カルボフラン、キザロポップエチル、クミルロン、クロキントセットメキシル、クロチアニジン、クロフェンテジン、クロマフェノジド、クロメプロップ、クロリダゾン、シアゾファミド、シフルフェナミド、ジフルベンズロン、シプロジニル、シメコナゾール、ジメチリモール、ジメトモルフ、シラフルオフェン、ダイヤモンド、チアクロプリド、チアベンダゾール、チアメトキサム、チオジカルブ、テトラクロルビンホス、テブフェノジド、テフルベンズロン、トラルコキシジム(混合)、トリデモルフ(混合)、ナプロアニド、ピラゾリネート、ピリフタリド、ピリミカルブ、フェノキシカルブ、フェノブカルブ、フェリムゾン(E)、フェリムゾン(Z)、フェンピロキシメート(E)、フェンピロキシメート(Z)、フェンメディファム、ブタフェナシル、フラチオカルブ、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン、ヘキシチアゾクス、ペンシクロン、ベンゾフェナップ、ベントキサゾン、ミルベメクチン A3、ミルベメクチン A4、メソミル、メタベンズチアズロン、メチオカルブ、メトキシフェノジド、メパニピリム、ラクトフェン、リニユロン、ルフェヌロン

表5-3 イムノアッセイ法によるペノミル分析結果

	吸光度1	吸光度2	平均	残留値(ppm)
ブランク	0.589	0.466	0.528	
標準液L	0.413	0.347	0.380	
標準液M	0.301	0.260	0.281	
標準液H	0.172	0.205	0.189	
エノキタケcont	0.368	0.369	0.369	0.024200
エノキタケadd	0.357	0.264	0.311	0.064200
シメジ cont	0.845	0.579	0.712	0.000075
シメジ add	0.487	0.415	0.451	0.006070
エリンギ cont	0.563	0.523	0.543	0.001300
エリンギ add	0.379	0.367	0.373	0.022700
ナメコcont	0.442	0.419	0.431	0.008520
ナメコadd	0.615	0.308	0.462	0.005050
シイタケcont	0.532	0.384	0.458	0.005410
シイタケadd	0.419	0.316	0.368	0.024600
検体1	0.441	0.397	0.419	0.010400
検体2	0.551	0.498	0.525	0.001750
検体3	0.484	0.607	0.546	0.001230
検体4	0.480	0.406	0.443	0.006940
検体5	0.637	0.416	0.527	0.001690
検体6	0.452	0.411	0.432	0.008360
検体7	0.438	0.455	0.447	0.006480

表5-4 重金属の分析結果 (2006年10月10日採取)

区分	C d	P b	A s
子実体 (15検体)	0.01ppm以下	0.1ppm以下	0.04ppm以下
土壌 (平試験地)	0.01ppm以下	0.1ppm以下	0.04ppm以下
土壌 (切原試験地)	0.01ppm以下	0.1ppm以下	0.04ppm以下

表5-5 収穫子実体の試験地別微生物数

区分	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ
平試験地	$5.2 \times 10^3$	陰性	陰性
切原試験地	$7.7 \times 10^3$	陰性	陰性

表5-6 菌傘開きの程度 (完熟度) 別微生物数

区分	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ
菌傘8部開き以上	$5.8 \times 10^4$	陰性	陰性
菌傘8部開き程度	$5.4 \times 10^3$	陰性	陰性
菌傘6部開き以下	$7.5 \times 10^2$	陰性	陰性

## 5.2 直販状況調査と流通特性の改良

### 5.2.1 目的

「山取りきのこ」の直販状況を調査して課題を抽出し、解決する「モデル商品」、加工品、鮮度保持技術を開発し、流通特性を改良する。これにより、自然味に溢れたきのこの生産・販売の促進に資する。

### 5.2.2 方法

#### (1) 直販状況調査

2005（平成17）年10月13日と10月18日の2回、長野地方卸売市場において聞き取りにより、「山取りきのこ」の流通品目や流通量を調査して「きのこ直販」における課題を抽出した。

2006（平成18）年には「地産地消スタイル」のきのこ生産者について、3か所（佐久市、阿智村、安曇野市）で聞き取りにより実態調査を行い、流通特性改良の方向性を検討した。

#### (2) 流通特性の改良

直販状況調査の結果から課題を整理して、問題点を解決するため、「モデル商品」の試作、加工品の試作を行い、流通特性の改良を図った。

### 5.2.3 結果と考察

#### (1) 直販状況調査

季節性の強い原木栽培きのこや、天然物を採取した野生きのこを中心とする、いわゆる「山取りきのこ」の流通状況を長野地方卸売市場において、聞き取り調査した。

調査日である2005年10月13日、2005年10月18日の入荷品目は表5-7に示したとおりである。「品目名」及び「他の呼称」は、市場の申告による。入荷された主要な品目は、「クリタケ」「ナメコ（原木栽培）」「ハナイグチ」「マイタケ（殺菌原木栽培）」であった。また、「山取りきのこ」の流通経路の現状は図5-1に示したように、市場流通と直販等の市場外流通の2通りに分かれた。

「山取りきのこ」の販売に関して抽出した課題と解決の方向性を整理すると表5-8に示したとおりで、特に、「鮮度」、「異物混入」、「汚れ」、「未知種の混入」に対する対応策を考えることが重要な課題と考えられた。原木栽培や野生きのこを採取したものであっても、子実体の汚れや異物の混入に対する「消費者の目」は厳しく、最大限の配慮と対策が必要である。また、市場流通を図る場

合、特に、きのこの大きさと包装方法等の規格の徹底が、安定的な販売のために重要になると思われる。

市場を通じた出荷を行わず、生産した地域で販売する「地産地消スタイル」のきのこ生産者の実態調査を表5-9に示した。

聞き取り調査の結果から、「自然味」に溢れたきのこの流通に必要な方向性を整理した。その結果、1) 単品目では出荷期間が短く出荷が集中してしまうため、事業として継続するためには複数品目を組み合わせる生産し、生産期間を長くする必要があり、対応策として、販売先にあわせて規格・包装を分け、多様な家庭用パッケージを作成する方法が考えられること。2) 規格外品が大量に発生するため、ロスを少なくする必要があり、対応策として、販売先にあわせて規格・包装を分け、多様な家庭用パッケージを作成する方法が考えられること。3) 販売の基本は青果（生）になるが、収穫が集中した場合等に備えて、水煮等の加工製品の検討が必要になること。を見出した。

「山取りきのこ」の流通調査、「地産地消スタイル」のきのこ生産者調査の結果から、「自然味」に溢れたきのこを流通させるポイントをまとめると、以下のとおりであった。1) 流通経費をかけること。2) 栽培と経営の安定のため、複数品目化を図ること。3) 売り先に見合った簡易な包装にすること。4) 販売ロスをなくすため、簡易な加工（冷凍加工）対策を施すこと。

#### (2) 流通特性の改良

直販状況調査により抽出された課題及び、見出した流通上のポイントに基づき販売先別の包装スタイルを試作した。

ハタケシメジについて、収穫された子実体の内、大型の子実体を中心にして、トレー、パック包装による直販や、店舗での「お土産用販売」向けの包装形態を試作した（写真5-1）。また、残された小型の子実体を中心にして、量販店での「家庭用販売」向けの包装形態として300gや500gの徳用袋包装を試作した（写真5-2）。

クリタケについて、自然味に溢れた多様な包装アイテムとして、100g、200g、300g、400g、500g、1kg入りの各包装形態を試作した（写真5-3）。

さらに、複数の品目の組合せとして「ハタケシメジとクリタケ」、「ハタケシメジとナメコ」の包装形態を試作した（写真5-4）。

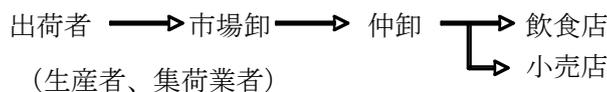
栽培試験で発生したクリタケ、ハタケシメジについて、考案した包装アイテムの一部を用いて、試験販売を行ったところ、好評を得た（表 5-10、表 5-11）。

さらに、生産コストの低い方法である「水煮」と「冷凍」による加工品をハタケシメジにより試作した（写真 5-5）。

表5-7 長野地方卸売り市場における入荷品目

調査日	品目名	他の呼称	調査日	品目名	他の呼称
H17. 10. 13	アイシメジ		H17. 10. 18	ウラベニホテイシメジ	
	アミタケ			キシメジ	金茸
	ウラベニホテイシメジ			クリタケ	
	キシメジ	金茸		コウタケ	
	クリタケ			コガネタケ	
	シモフリシメジ			シモフリシメジ	
	ナメコ（原木）			チャナメツムタケ	
	ナラタケ	ヤブタケ、シバタケ		ナメコ（原木）	
	ナラタケモドキ			ナラタケ	ヤブタケ、シバタケ
	ハナイグチ	ジコボ		ハタケシメジ	
	ヒラタケ			ハナイグチ	ジコボ
	マイタケ（原木）			ヒラタケ	
	マイタケ白（原木）			ブナハリタケ	
				ホテイシメジ	
		マイタケ（原木）			
		マツタケモドキ			
		ムキタケ			
		ムラサキシメジ			

A. 市場流通



B. 直販等（市場外流通）

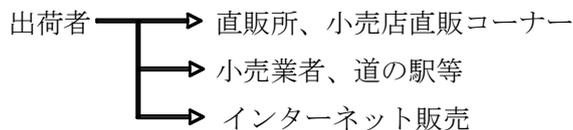


図 5-1 「山取りきのこ」現状の流通ルート

表5-8 「山取りきのこ」販売について抽出した課題

項目	課題
A. 出荷物	種の同定（食用にして安全なきのこであるか） 鮮度の保持、異物・汚れの除去
B. 商品形態	きのこの規格の決定（大きさが揃うか、揃わないか。特に市場流通の場合） 市場、小売業者への持ち込みの形態の決定（現在は、バラ売りがほとんど） 栽培きのこ（ナメコ、クリタケ等）のパック詰め方法の決定 直売所に適したパックまたは袋詰め方法の決定
C. 価格	市場流通の卸売りと直販の価格と量に差がある。
D. 出荷時期	季節感に対する対応策（早くても、遅くてもダメ）

表5-9 「地産地消スタイル」きのこ生産者調査結果

項目	A任意組合（佐久市）	B生産者（阿智村）	C生産者（安曇野市）
生産方法	佐久市近郊の里山を整備し林内で、きのこや山菜などの生産をおこなう。 きのこは原木栽培を主体に複数品目を取り入れて栽培し季節に沿ったきのこを出荷している。	村内の林地で、原木マイタケを主体に一部クリタケ、ナメコの栽培をおこなっている。 労力2名にあわせた規模に抑え、良品のマイタケ生産が主力。	安曇野市近郊で、菌床のハウス栽培を主体とし、一部菌床の地伏せ栽培、原木栽培を取り入れている。 シイタケ、ナメコを主体に複数品目の組合せで生産している。
販売方法	組合の店舗での販売3割程度。 その他は、県内量販店、生協、県内外の旅館への販売、インターネット販売や宅配による販売をおこなっている。 格外等は乾燥や冷凍にして加工。	収穫のうち1/3が青果販売。近くの温泉場の朝市で直接販売を主体に、宅配利用による販売（個人、料亭）、地元飲食店への提供。またきのこ狩りによる販売をおこなっている。 残り2/3は水煮を中心に冷凍等の加工をおこない朝市等で販売している。	上高地、安曇野といった観光地に近い立地をいかし、観光地周辺のお土産店への販売が主力。
規格・包装	量販店への販売は、時期により年3回程度の値決めをして販売。仲卸や市場の集配機能を利用し配送している。自然味をだすため、落ち葉等は取るが完全にきれいにはしない方がよい。	朝市では株を分け300円/100g～1000円売価、100g調整で揃いたきのこを集め100円/80g。 贈答用マイタケの株宅配3500円/kg見栄えが有り好評。収穫体験も2～3万円/人の購入がある。	お土産用には見栄え良くするためトレー包装。小売り@380～500円に合わせた容量にする。
課題	出荷の集中、きのこだけでなく山菜との組合せで年間通じて販売先へ提供をしている。	マイタケ主体のため出荷時期が集中する。収穫作業対策として収穫体験もおこなっている。青果での販売は量に限りがあるため加工製品を考え販売している。	販売の期間は8～12月が中心、時期にあった品目を栽培し、この期間継続して販売している。現在抱えている販売先で売り切れる量の生産に抑えている。

表5-10 試験販売結果（ハタケシメジ）

販売日	分量 (g)	パック数	単価 (円)	売り上げ (円)	売り先
2006. 9. 28	500	15	500	7,500	諏訪地方の仲卸業者
2006. 10. 1	100	10	350	3,500	諏訪地方の仲卸業者
2006. 10. 7	100	6	350	2,100	諏訪地方の仲卸業者
計				13,100	

表5-11 試験販売結果(クリタケ)

販売日	分量 (g)	パック数	単価 (円)	売り上げ (円)	売り先
2006. 10. 29	250	4	400	1,600	諏訪地方の仲卸業者
2006. 10. 29	100	4	280	1,120	諏訪地方の仲卸業者
2006. 11. 3	100	5	350	1,750	諏訪地方の仲卸業者
2006. 11. 13	200	3	300	900	諏訪地方の仲卸業者
計				5,370	



写真 5-1 包装スタイルの試作（ハタケシメジ）  
大型のきのこ：トレー、パック包装による直販や店舗でのお土産用



図 5-2 包装スタイルの試作（ハタケシメジ）  
小型のきのこ：300g や 500g の徳用袋包装による量販店での家庭用販売

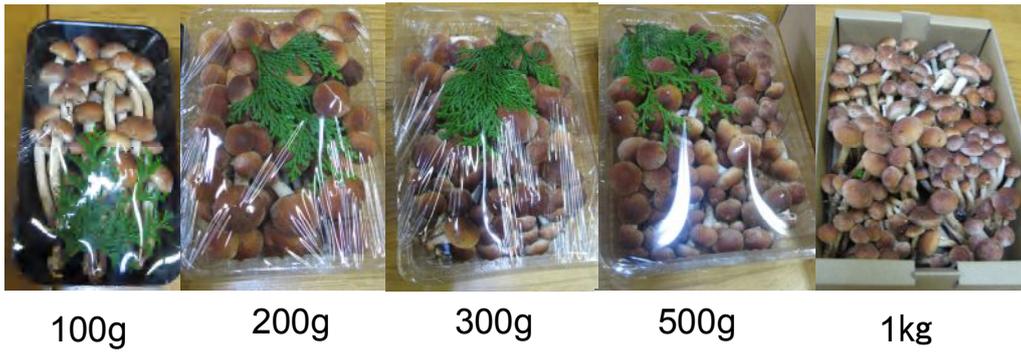


写真 5-3 包装スタイルの試作（クリタケ）  
自然味を強調した多様な包装スタイル



写真 5-4 包装スタイルの試作（複数品目）  
自然味を強調した包装 左：ハタケシメジとクリタケ 右：ハタケシメジとナメコ



写真 5-5 加工品の試作  
経費のかからない簡単な加工品

## 6 総合考察

中山間地域では放置された里山の保全と遊休農地の解消が急務となっている。一方、長野県におけるきのこ生産は、家族労働を中心に発展してきたが、近年の競争激化により、小規模生産者が経営の休停止に追い込まれている。

このような背景において、本研究では、長野県の里山、遊休農地、遊休きのこ施設を有効活用し、「自然味」に溢れたきのこの栽培及び増殖を実現するため、システムの構築を図った。

本研究においては、里山や集落周辺に自生しており、栽培品目としても有力なクリタケとハタケシメジを対象とした。

栽培及び増殖に用いる菌株は、生物多様性確保の観点から、対象とする地域の遺伝資源を利用することが望ましい。そこで、地域遺伝資源を活用するため、里山からクリタケ、ハタケシメジの野生株を収集して保存した。さらに、既往の遺伝資源と合わせて栽培特性を調査して優良素材を選抜した。選抜した遺伝資源は、一部を本研究に供試するとともに、里山におけるきのこの栽培及び増殖のために今後活用する。

多くの人々が、林内でのきのこ栽培に親しみ、さらに森林整備への関心を深めるためには、従来の原木栽培の重労働を解消する必要がある。そこで、クリタケについて、「わりばし種菌」「つまようじ種菌」を用いた「きのこの簡易接種法」を考案した。里山に試験地を設定して栽培試験を行い、林内で除間伐木、伐根（切り株）を用いて栽培可能なことを実証した。今回の報告は、基本的には当該課題の研究期間である2005年～2007年までの栽培試験結果であるが、試験に供試した原木、伐根等については、収穫調査を継続したい。また、クリタケ以外の品目での栽培可能性については、今後の検討課題である。

地域の遺伝資源を用いて栽培すると同時に、里山にきのこの増殖を図る技術開発が、本課題の目的の一つである。クリタケは、菌糸束や根状菌糸束を形成して、土壌中の木質の基質を介してテリトリーを広げていく生態を有しているとされており<sup>6)</sup>、栽培と同時に自然増殖を図ることに適している。クリタケについて対峙培養試験及びDNA分析を適応して、殺菌原木栽培により原木から離れ

た位置からも接種した系統に由来すると考えられる子実体が発生していることを確認した。これにより、クリタケが土壌中の木質を介して増殖していくことを、遺伝学的手法やDNAマーカーを利用して裏付けることができた。また、培養菌床を原木に接触させて林内に埋設することで、培養菌床から子実体を発生させ、さらに菌床に接触する原木からも子実体を発生することができた。これにより、自然増殖を誘導する接種源として培養菌床が利用できることを実証した。

里山周辺には、放置されたままの桑園や遊休農地が多数存在する。ハタケシメジ、クリタケについて、遊休農地を活用して設置したパイプハウスを用いて培養から発生まで行えることを実証した。これらの結果は、遊休農地を活用した簡易な施設による菌床栽培の実現に寄与するものである。また、ハタケシメジ、クリタケについて遊休梅園及び林縁部に培養菌床を埋設して、子実体が発生できることを実証した。これらの結果は、山村と都市住民の交流と理解を促進するためのグリーンツーリズムを意識したきのこ栽培ゾーンの構築に資するものである。

里山におけるきのこのドリフト残留農薬、重金属、微生物の分析体制を確立した。また、試験で発生した子実体、使用した培地資材等について分析・定量した結果、安全であることを確認した。今後、里山きのこの安全管理のために、ドリフト農薬の定期的モニタリング、大腸菌群の検査が必要と考えられ、今回確立した迅速で効率的な分析方法が利用できる。これらの手法は、自然志向のイメージのみに頼るのではなく、生産物の安全性について科学的な裏付けを行い、生産されたきのこに付加価値を付けることができる。

きのこの直販状況を調査し、調査結果を基に「モデル商品」、加工品、鮮度保持技術を開発し、流通特性を改良した。ここで得られた結果は、自然味に溢れたきのこの生産・販売の促進のために活用することができる。

これらの技術を用いたシステム全体（図1-1）は、「里山再生」の有効な手段として寄与するものである。

## 7 結言

本研究で得られた成果の一部は、2008年3月14日に「きのこの接種法」として、長野県と社団法人長野県農村工業研究所との共同により特許出願した（特願2008-65118）。これらも含め、得られた成果は、県普及指導事業及び関係機関との連携を強化して、普及に務める。特に、簡易接種法に用いる「わりばし種菌」「つまようじ種菌」は、地域の遺伝資源を利用し、長野県独自のJA種菌センター等で製造することを前提として開発したものであり、農林業が一体化して推進する必要がある。

本研究は、「里山」でもアカマツと広葉樹の混交林や雑木林をイメージして行ったものである。今後の課題として、長野県の代表的造林樹種であるカラマツ等針葉樹の間伐手遅れ林分の活性化に資するために、きのこの類の増殖による森林空間の有効利用技術の開発を図る必要がある。

## 8 謝辞

本研究の推進に当たり、外部有識者として、財団法人日本きのこセンター菌茸研究所 時本景亮博士に多大なご指導・ご助言を頂戴した。ここに深く感謝の意を表す。また、試験及び現地調査に当たって、NPO 法人信州フォレストワーク、飯田市野底山財産区、佐久地方事務所林務課、上小地方事務所林務課、下伊那地方事務所林務課、北安曇地方事務所林務課の皆様に、熱心にご協力を頂いた。ここに記して謝意を表す。

さらに、研究の遂行全般に当たりご指導を頂いた、農林水産省農林水産技術会議事務局 山中高史研究調査官（博士）、山田竜彦研究調査官（博士）に衷心より御礼申し上げます。

## 9 文献

- 1) 根田仁（1992）、きのこの増殖と育種、農業図書、最新バイオテクノロジー全書7、21-33
- 2) 古川久彦・大政正武・馬場崎勝彦（1992）、食用きのこの遺伝子組換え・品種改良試験法および品種登録法解説、林業科学技術振興所、51-53
- 3) 馬場崎勝彦・増野和彦・本間広之（1999）、栽培きのこの菌株の直接凍結維持法、農業生物資源研究所、微生物遺伝資源利用マニュアル（5）、3-20
- 4) 大貫敬二（1988）、クリタケ、農文協特産シリー

ズ、農文協、21-22

- 5) 増野和彦（2007）、クリタケの栽培特性- カラマツを用いた原木栽培の収量-、第57回日本木材学会大会研究発表要旨集、75
- 6) 増野和彦・細川奈美・西澤賢一（2004）、林地におけるきのこの類増殖方法の改良に関する研究（1）-クリタケの菌糸束および根状菌糸束の形成-、第54回日本木材学会研究発表要旨集、700.
- 7) Williams, J. G. K., Kubelic, A. R., Livac, K. J., Refalski, J. A., Tingey, S. V. (1990), DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.
- 8) 菅野 昭（2001）、ハタケシメジ、キノコ栽培全科、農文協、162-171