

令和3年度
きのこ類の種菌の有害菌等調査関連業務
調査報告書

令和4年3月

一般財団法人 日本きのこ研究所

1. 事業の実施状況

本業務は、種苗法(平成 10 年法律第 83 号)に基づく指定種苗であるきのご類の有害菌等の有無について確認・種別判定等の調査を行うものであり、令和 3 年 11 月 17 日に締結した請負契約書、および仕様書に準拠して実施した。

調査対象は、林野庁が種苗法に基づき検査のために種苗販売業者 4 事業者から収集し、当研究所に送付されたきのこの種菌等(表 1)を保存・培養し、林野庁に対して有害菌等の有無の判定に関する調査報告、及び適切な助言を行うことを目的とした。

なお、有害菌とは、種苗法施行規則(平成 10 年農林水産省令第 83 号)第 23 条第 3 項第 3 号の規定に基づき、農林水産大臣の指定する *Trichoderma* 属菌を指し、それ以外を害菌として説明する。

表 1 検査対象事業者および検査種菌等の一覧

都道府県	検査対象事業者	検査種菌等			検体番号	試験管番号
		形態	種類	数量		
■	■	瓶種菌	ぶなしめじ	50 床	A BS-1 ~ A BS-20	C01 ~ C20
		袋種駒	なめこ		A NK-1 ~ A NK-30	C21 ~ C50
■	■	瓶種菌	しいたけ	30 床	B SS-1 ~ B SS-15	D01 ~ D15
			ひらたけ		B HS-1 ~ B HS-15	D16 ~ D30
■	■	瓶種菌	しいたけ	20 床	C SS-1 ~ C SS-20	B01 ~ B20
■	■	瓶種駒	しいたけ	20 床	D SK-1 ~ D SK-20	A01 ~ A20
4 県	4 種苗販売業者			120		

1) 調査内容と方法

(1) 送付された種菌等の消毒・保管

- ① 送付された種菌等の数量を確認し、容器の破損、菌叢表面の状態等を点検したのち、外側をエタノール消毒液で消毒した。
- ② 種菌等は保冷庫内(5~10℃)の整理棚に収納し、分離片の採取まで保管した。
- ③ 上記の作業途上で、目視によって菌叢の状態(異常の有無等)を確認した。
- ④ 分離片の採取は、種菌等の到着日、または到着から遅くとも 3 日以内に実施した。

(2) 寒天培地を用いた分離片採取・培養

- ① 分離用培地としては馬鈴薯・ブドウ糖寒天培地(Difco 社製、以下、PDA 培地と称す)を用いた。なお、いずれも試験管に約 10 ml 分注し、オートクレーブ殺菌(120℃、20 分間)して供試した。
- ② 種菌等の分離片採取は、クリーンルーム内のクリーンベンチ(無菌作業台、清浄度:クラス 100 以上)で実施した。ピンセット、エーゼ等の分離器材は、種菌等を 1 片分離する都度、アルコール殺菌、および火炎殺菌を行った。
- ③ 種菌等の PDA 培地による分離片は、1 検体から上面(3 隅各 1 点、計 3 点)と中段面(2 隅各 1 点、および中央部 1 点、計 3 点)、下段面(3 隅各 1 点、およ

び中央部 1 点、計 4 点)の合計 10 点を採取し、試験管には分離箇所と対応するよう、通し番号(A-01-01、A-01-02、A-01-03・・・)をつけた(図 1)。

④ 分離片の培養は、接種した試験管を培養室(25℃)で 14 日間程度行った。

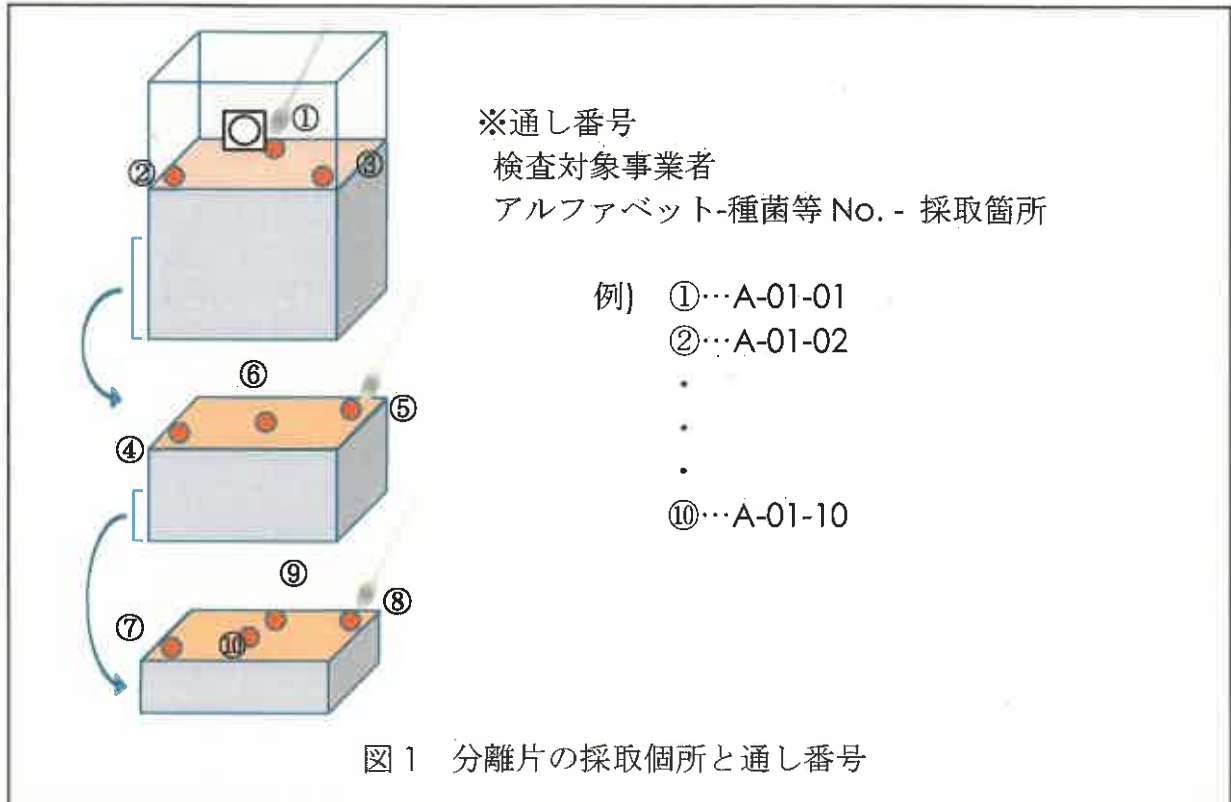


図 1 分離片の採取個所と通し番号

(3) 培養期間中の点検・調査

培養期間中の点検・調査は、おもに有害菌等の発生の有無(菌糸の生長状況、及び色の変化等)を中心に、分離から 2~4 日目、6~9 日目、9~11 日目、14~15 日目の計 4 回行った。なお、最終点検・調査が終了したそれぞれの試験管は、5℃の保冷庫で保管した。

2) 調査結果

(1) 有害菌等調査関連業務のフローチャート

林野庁によって種苗販売業者 4 事業者から有害菌等調査のために収集され、当研究所に送付されたきこの類の種菌等について、その受入れ、分離、および調査等に関する作業日程のフローチャートを表 2 に示す。

種菌等各部位からの分離片採取は、種菌等の到着日、または遅くても到着後 3 日以内に実施した。調査は分離から 2~4 日目、6~9 日目、9~11 日目、14~15 日目の計 4 回行った。

表2 有害菌等調査関連業務のフローチャート

検査対象事業者				きのこの種類	数量	培地 作製日	受入 日	分離 日	最終 調査日
検体 番号	試験管 番号	都道 府県	名称(略)						
A	C	■	■	ぶなしめじ なめこ	50床	12/27,28	1/17	1/18,19	2/2
B	D	■	■	しいたけ ひらたけ	30床	1/6	1/24	1/24,25	2/8
C	B	■	■	しいたけ	20床	12/2	12/24	12/27	1/11
D	A	■	■	しいたけ	20床	12/1	12/20	12/21	1/5

(2) 有害菌等の分離結果

培養中の点検・調査は、2～4日目、6～9日目、9～11日目、14～15日目の計4回行い、分離培地からの菌糸の生育状況、及び有害菌等の混入の有無・菌叢の色の变化等について観察した。分離後の観察から最終調査日までに、全ての試験管から有害菌および害菌は観察されなかった(表3)。

表3 調査結果(最終調査日)

検査対象事業者				きのこの 種類	数量	有害菌および害菌の有無と場所			
検体 番号	試験管 番号	都道 府県	名称(略)			検出 ・ 非検出	上面	中段面	下段面
A	C	■	■	ぶなしめじ なめこ	50床	非検出	×	×	×
B	D	■	■	しいたけ ひらたけ	30床	非検出	×	×	×
C	B	■	■	しいたけ	20床	非検出	×	×	×
D	A	■	■	しいたけ	20床	非検出	×	×	×

×：有害菌等の非検出。

3) 調査後の種菌等の保管と処分

調査後の種菌等については、林野庁担当者の了解を得て廃棄処分を行った。害菌を検出していない培地は、容器と培地を類別したのち、培地部分は堆肥化して廃棄処分した。

2. 担当者

林野庁から送付されたきのこ類の種菌等からの分離片採取、および害菌の確認調査については、当研究所に組織したチームで実施した(表 4)。

判定に関する調査報告書、及び助言の内容については、チーム内で十分検討を加えたのちに作成した。

表 4 担当者一覧

担当者		主な業務
■■■■■	■■■■■	〔統括〕 菌叢観察、報告書作成
■■■■■	■■■■■	菌叢観察、報告書作成
■■■■■	■■■■■	分離、菌叢観察、報告書作成
■■■■■	■■■■■	分離、菌叢観察、菌株保存 報告書作成
■■■■■	■■■■■	培地作製、経理事務
■■■■■ ■■■■■	■■■■■ ■■■■■	菌株の分類・同定
■■■■■ ■■■■■	■■■■■ ■■■■■	菌株の分類・同定