

# エノキタケ [*Collybia velutipes* (Curt.) Fr.] の人工栽培における雑菌問題

## 3 秋期空中雑菌について

田端信一郎・田部 真

信州大学農学部 植物病理学研究室

### 緒 言

エノキタケ人工栽培において雑菌による培地汚染が問題となっている。著者らはこれら混入雑菌の大部分は空中雑菌に起因するものであるとの判断から、冬期、春期、夏期の空中菌を落下法により捕集し、それらの諸性質について調べた<sup>8,9)</sup>。空中菌量は一般に夏期に多いと考えられるが、平松および著者らの実験によると、冬期間にも捕集が容易であり多数の菌を得ている<sup>3,8)</sup>。特に冬期で顕著に現われる菌はバクテリアと *Penicillium* であった。*Penicillium* 以外の糸状菌は増殖適温に近い夏期高温期に多量の捕集ができた。

これらの捕集菌について、エノキタケ栽培の過程で操作上問題となる耐熱性、耐紫外線性および菌の諸性質を調べてきた。今回は既報の実験に続き、秋期捕集空中菌の諸性質について報告する。

### 雑菌の捕集および類別

1968年10月に当研究室内で落下法によって捕集した菌、21種類を供試菌として用いた。前報に続き、秋期捕集菌を301, 302……の記号で示した。細菌、*Penicillium* およびその他の糸状菌類にそれぞれB, P, Fの記号を付して類別した。

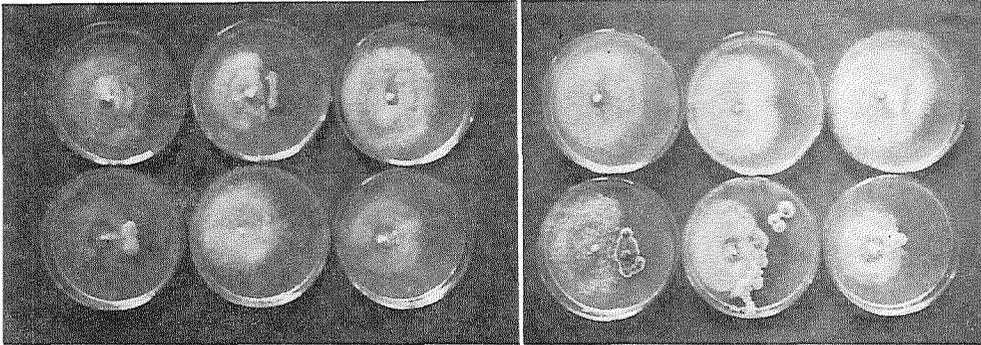
細菌は9種、*Penicillium* 4種、その他の糸状菌8種であり、春期捕集の場合と同様な傾向が認められた。

### 捕集雑菌とエノキタケ菌の培地上での競合

前報の方法により、捕集菌をエノキタケ菌と対峙培養させ、両者の相互作用を調べた結果を表一1、図一Iに示した。

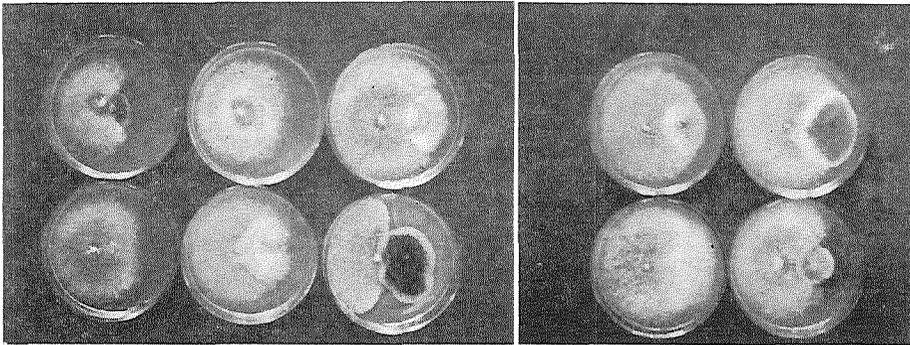
エノキタケ菌の生育が優勢なA, B型に属するものが大部分で、C型は *Penicillium* の場合に多くみられるものであり、P-302の1種であった。E型はエノキタケ菌の生育をほとんど抑制するもので、B-301の1種であった。雑菌の方がエノキタケ菌より優勢な生育をするF型はB-302, F-304の2種であった。エノキタケ菌の生育を阻害するC, D, E, F型を示す雑菌類は4種で他の17種はそれほど悪影響を与えることはないようである。

図-1



B-301      B-302      B-303  
 B-304      B-305      B-306

B-307      B-308      B-309  
 P-301      P-302      P-303



P-304      S-301      F-301  
 F-302      F-303      F-304

F-305      F-306  
 F-307      F-308

ペトリ皿中左側白色菌糸集落はエノキタケ菌，右側に捕集雑菌を対峙させた。

表—1 捕集雑菌とエノキタケ菌との対峙培養型

A 型	B 型	C 型	D 型	E 型	F 型
B-303	P-301	P-302		B-301	B-302
304	303				F-304
305	304				
306	F-301				
307	303				
308	305				
309	306				
F-302	307				
	308				

### 捕集雑菌の形態的生理的性質

#### 1 捕集細菌類の形態的生理的性質

結果を表—2, 3 に示した。細菌9種中桿菌7種, 球菌2種で桿菌が主であった。エノキタケ菌生育を阻害する2種は桿菌でグラム陰性, ゼラチン液化, 硝酸塩を還元した。メチレン青の還元, H<sub>2</sub>S 生成および糖を分解しガスを発生することはなかった。NH<sub>3</sub>生成, M—R 反応, V—P 反応, 薬剤耐性試験では両者は反対の性質を示した。夏期捕集菌と比較してM—R 反応陰性の菌が多く, 冬期捕集菌の場合に類似した。一方糖分解による酸の生成はほと

表—2 捕集細菌の培地上性質

	ジャガイモ培地					ブイヨン培地					穿刺培養		ゼラチン溶解		液体培地での生育				
	色	斜面		平面			色	斜面		平面			形態	程度	形態	程度	濁度	膜	沈澱
		形態	横断	形態	横断	周辺		形態	横断	形態	横断	周辺							
B-301	淡黄	e	c	c	c	e	白	e	c	c	c	e	—	s	卍	卍	—	卍	
302	淡黄	p	u	i	f	l	淡黄	e	f	i	f	l	b	+	st	卍	+	±	+
303	橙	e	c	c	ub	e	黄	f	c	i	r	u	±	n	卍	卍	—	+	
304	白	f	c	c	c	e	白	f	c	c	c	e	—	—	—	—	+	卍	
305	白	p	r	c	c	e	白	e	c	c	c	u	p	+	n	卍	—	—	卍
306	黄	b	c	c	c	e	黄	b	c	c	c	e	b	+	n	+	—	—	+
307	桃	e	f	c	f	e	桃	e	c	c	c	e	p	+	i	+	卍	+	+
308	白	f	c	c	c	e	白	f	c	c	c	e	b	+	st	卍	+	—	+
309	橙	f	c	c	c	e	橙	e	c	c	c	e	—	—	—	—	—	—	卍

斜面培養の生育状態

平面培養集落形態

平面培養集落周辺

斜面, 平面培養集落横断

穿刺培養の生育形態

ゼラチン溶解形態

f糸状, eいぼ状, p羽毛状, b念珠状

c円形, i不規則状

e全縁, u波状, l切裂状

f扁平状, c凸円状, u中心凸状, r隆起状, ub中凹状

p小乳頭状, b念珠状

nかぶ状, iろ斗状, s袋状, st層状

表-3 捕集細菌の形態的・生理的性質

	エノキタケ対峙型	形 態	大 き さ	グ ラ ム 染 色	ゼ ラ チ ン 溶 解	硫 化 水 素 発 生	ア ン モ ニ ア 反 応	M   R 反 応	V   P 反 応	硝 酸 還 元	メ チ レ ン 青 還 元	糖分解酸発生				薬剤耐性			
												グ ル コ ス	フ ラ ク ト ー ス	サ ッ カ ロ ー ス	ラ ク ト ー ス	ペ ニ シ リ ン	ス ト レ プ ト マイ シ ン	ス ペ ニ シ リ ン	ス ル フ ア ミ ン
B-301	E 桿	4.9×0.2μ	-	卍	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	卍	+	卍
302	F 桿	1.0×0.4	-	卍	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
303	A 桿	0.6×0.4	-	卍	+	-	-	-	+	-	-	-	-	±	-	+	-	+	
304	A 桿	6.1×4.2	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	卍	卍	+	卍	
305	A 球	0.7	+	卍	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	
306	A 球	1.2	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	±	+	+	
307	A 桿	1.6×1.0	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	
308	A 桿	1.0×0.5	+	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	卍	
309	A 桿	1.2×0.6	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	±	卍	±	-	

んど認められず、これは春期、夏期捕集菌の性質に似ていた。秋期捕集菌は冬期と夏期の中間の性質を示すようである。

## 2 捕集 *Penicillium* の培地上性質

捕集 *Penicillium* について培地上の諸性質を調べた結果を表-4に示した。エノキタケ菌の生育を阻害するC型の菌はP-3021種のみで容易に胞子を飛散させるものであった。

表-4 *Penicillium* の培地上性質

	エノキタケ対峙型	ツァベック培地上集落									坂口・王培地		
		直 径	色	状 態	外 形	隆 起	中 心 部	中 間 部	様 相	放 射 状 し わ		裏 側 色	色 素 生 産
P-301	B	24	灰緑	綿毛	白	-	-	均一	-	暗褐	-	-	+
302	C	22	灰	ビロード	暗灰	+	+	均一	+	黄褐	-	+	+
303	B	35	灰白	羊毛	白	-	+	均一	+	淡褐	-	-	+
304	B	30	暗緑	綿毛	暗緑	-	-	均一	+	黒	-	-	+

## 3 *Penicillium* 以外の捕集糸状菌の培地上性質

糸状菌の培地上性質について観察した結果は表-5のようである。培地上に多量に単胞の胞子を形成するものが多かった。空中に浮遊している菌の形態の大部分は胞子であることから、胞子形成量の多い菌程空中密度が高くなるものと思われる。



*Penicillium* 1種, 糸状菌類6種は100°C90分処理でも生存していた。エノキタケ菌の生育を阻害すると思われる4種の菌のうち2種は100°C60分, 他の2種は100°C90分で生存していた。

## 2 耐湿熱性

前報の方法<sup>8)</sup>により耐湿熱性を調べた結果は表一7のようである。細菌1種が100°C30分処理で生存し比較的強い抵抗性を示した。細菌2種, 糸状菌2種が60°C30分処理でも死滅し, 乾熱に比べ湿熱に非常に弱かった。60°C60分で死滅した細菌, 糸状菌それぞれ1種は乾熱に対してもそれ程強い抵抗を示さなかった。他の菌類は60°C90分処理で生存できるか死滅し, 80°C30分以上の処理では生存できなかった。

捕集雑菌の耐熱性についてのこれまでの実験結果と同様, 乾熱に強く湿熱に弱い傾向が明らかに認められた。

## 捕集雑菌の耐紫外線性

前報の方法に従い処理し, 生育の可否を調べた結果を表一8に示した。

表一8 捕集雑菌類の耐紫外線性

照射時間 菌記号	照射時間			照射時間 菌記号	照射時間			照射時間 菌記号	照射時間		
	5分	10分	20分		5分	10分	20分		5分	10分	20分
B-301	+	+	+	B-308	+	-	-	F-302	-	-	-
302	+	+	+	309	+	+	-	303	-	-	-
303	+	+	-	P-301	+	+	+	304	+	+	+
304	-	-	-	302	+	+	+	305	+	-	-
305	+	+	+	303	+	+	+	306	+	+	+
306	-	-	-	304	+	+	+	307	+	+	+
307	+	+	+	F-301	-	-	-	308	+	-	-

細菌類9種中20分間照射でも生存していたもの4種で紫外線処理に強い細菌が多かった。5分間照射で死滅したものは2種で他の3種はある程度の抵抗性を示した。夏期捕集細菌に比べ耐紫外線性が強い菌が増加した。

*Penicillium* は紫外線処理に対し著しい抵抗力を示し, 糸状菌類においても3種にそのような性質が認められた。糸状菌類中3種は非常に処理に弱く, 他の2種も10分間照射で死滅した。

## 考 察

夏期空中菌の調査に続き, 秋期空中菌を捕集し, その諸性質について調査した。秋期空中菌は夏期よりも糸状菌類が減少し春期, 冬期の場合に類似した。気温の低下による菌類生活力の減退によるもので, 他の菌類の空中密度も減少の傾向にあるようである。秋期雑菌類の中でエノキタケ菌の生育を阻害する菌は21種中4種であり, これは春期捕集菌の場合と同様

に割合少なかった。

細菌は桿菌を主としたもので、他の時期の捕集細菌の形態と同様であった。空気中の糸状菌類は孢子を多量に形成するものが多く、空中の菌密度を高く保つ点で有利な性質である。

エノキタケ菌との競合試験による対峙培養型をみると、生育阻害を示す雑菌類は非常に少なくなっている。秋期雑菌類の1特徴であるがその原因については今後の問題である。

耐熱性についてはこれまでの実験結果からも推定できるように、耐乾熱性が大であり、耐湿熱性が弱かった。耐紫外線性も一般に細菌類が弱く、糸状菌類は強いといわれているような傾向を示すが、秋期空中菌については抵抗力に明らかな差は認められない。夏期捕集菌とは非常に異なる点である。恐らく紫外線の年間を通じての変化が関係しているものと思われる。

## 総 合 考 察

エノキタケ栽培過程で特に雑菌混入が問題となるのは、培地殺菌後の種菌接種から収穫までの期間である。この期間に混入、増殖する雑菌類は殺菌不良による培地に由来する菌もあるが、大部分殺菌後の操作、管理、設備不完全等に起因した空中雑菌類であると考えられる。そこで著者らはエノキタケ栽培との関連を考慮して、空中菌類の種類、分布、諸性質等について年間を通じ調査した。

空中菌捕集には種々の方法があるが、特別な装置を必要とせず容易に実施できる落下法を用いた<sup>6)</sup>。落下法には一定量の空気中の菌数を測定できないこと、また空気が流動していると不正確になるなどの欠点がある。

空中菌の捕集場所は当研究室内で実施したが、薬学会協定衛生試験法の室内空気試験成績判定基準によると<sup>5)</sup>、年間を通じて評価成績Aで適(優)と判定できた。

空気中の菌量は場所、時期、環境等により大きく変動するが、一般に都市、工場、畜舎等の人間、動物の集まる場所に多く、空気が乾燥しじんあい量の多い時に増加する<sup>1,7)</sup>。菌の種類は細菌類が最も多く、球菌を主とし桿菌、有芽胞菌がいくらか出現するものといわれている<sup>3)</sup>。しかし大部分が桿菌であるとの報告もみられる。著者らの実験でも年間を通じて桿菌が圧倒的に多く得られた。恐らく、時期、場所、気象環境等により空気中のマイクロフローラは相当大きく変動するものようである。

冬期間の糸状菌類は *Penicillium* を主としたもので種類が単純であったが、夏期には *Penicillium* 以外の多種類の糸状菌が多数出現した。夏期高温多湿による種々の菌の増殖の結果である。

年間を通じての菌類の変化をみると、冬期が最も多く夏期、秋期、春期の順に少なかった。冬期は菌の生存力を保持する上で好条件の低温乾燥状態が長期間続く結果、そのような環境に耐えうる菌類が蓄積したためと考えられる。春期、秋期は冬期、夏期相互の移行時期で菌量、種類ともに類似の傾向を示した。秋期は夏期の影響をいくらか受けているようである。

エノキタケ菌と捕集菌との対峙培養の結果、エノキ菌の生育を阻害すると考えられる菌の割合は冬期40.8%、夏期35.9%、秋期19.1%、春期13.3%の順に少なくなった。エノキタケ

栽培を開始する秋期にエノキ菌生育を阻害する菌の割合が減少することは好条件であるが、いまだ夏期の影響が残存する恐れがあるため油断はできない。エノキタケ栽培最盛時の冬期間はかなり空中菌が多く、しかもその中でエノキ菌の生育を阻害する菌が半数弱を占めることから、確かに栽培過程における雑菌混入ということは大きな問題であると思われる。

細菌類の耐熱性に関しては食品保存の面から多くの研究がなされている<sup>7)</sup>。著者らは空中雑菌類の耐熱性がどの程度であるかを知る目的で耐乾熱性、耐湿熱性について調べた。細菌、糸状菌類は乾熱処理に非常に抵抗的で、100°C 90分処理でもかなり生存している。乾熱殺菌は常法どおり 150~160°C、30分間処理しなければ目的を達することはできない。一方湿熱に対しては一般に弱く、100°C 90分処理でほとんどの菌が死滅した。しかし *Bacillus*, *Clostridium* 属の細菌胞子は耐熱性がきわめて強く、*B. megaterium* の胞子は 20lbs の蒸気圧、1時間の処理で殺菌できるといわれる<sup>2)</sup>。エノキタケ栽培に使用するコヌカや古オガクズにはこのような胞子が存在することは明らかであるから、これらの培地素材の殺菌には充分な注意を払う必要がある。

紫外線による殺菌効果は波長2500~2600Åのもの最大で、市販殺菌灯は2000~3000Åの紫外線を利用している。紫外線はエノキタケの種菌を無菌操作により培地に移植する際に、無菌室内の空気殺菌および表面殺菌の目的で使用されるものである。殺菌効果は菌の種類により非常に差がある。細菌類は一般に弱く、糸状菌類は強いが<sup>7,4)</sup>、著者らの実験でも同様な結果が得られた。紫外線は人の目、皮膚を刺激するため使用に際しては充分注意することが必要である。

エノキタケ栽培における雑菌問題は収量低下の問題以外に、性質不明の種々の雑菌が混入増殖、附着する結果極めて重要な問題を含んでいる。これらの点についてはこれまでの報告においてしばしば指摘してきたので省略する。

## 摘 要

1. 秋期空中菌として細菌9種、*Penicillium* 4種、その他の糸状菌8種を捕集し、それらの諸性質について調べた。
2. エノキタケ菌との対峙培養の結果、A型8種、B型9種、C型1種、E型1種、F型2種であった。
3. 捕集した雑菌について形態的、生理的性質を調査した。
4. 耐乾熱性は細菌1種、糸状菌1種が非常に弱く、他の菌類は強い抵抗力を示した。
5. 耐湿熱性の強いものは細菌1種のみで、他の菌類の抵抗力は弱かった。
6. 耐紫外線性では細菌4種、*Penicillium* 4種、その他の糸状菌3種が強く、他の菌類は紫外線処理に弱かった。

### 参 考 文 献

1. 相磯和嘉ら編 (1967). 食品衛生学. 東京. 朝倉書店.
2. 蜂須賀養悦 (1962). 芽胞. 東京. 岩波書店.
3. 平松利男 (1951). 千葉大腐研報. 4 : 31.
4. 河端俊治・原田常雄 (1952). 照明学会雑誌. 36 : 89.
5. 日本薬学会編 (1965). 衛生試験法注解. 東京. 金原出版.
6. 太田達男 (1964). 微生物学実験書. 東京. 広川書店.
7. 桜井芳人ら編 (1967). 食品保蔵. 東京. 朝倉書店.
8. 田部 真・田端信一郎 (1968). 信州大農紀要. 5 : 19.
9. ————・———— (1968). 信州大農紀要. 5 : 65.

**Some Problems of Air-borne Micro-organisms in Cultivation  
of *Collybia velutipes* (Curt.) Fr.**

**3 Air-borne Micro-organisms during the Autumn**

By Shin-ichiro TABATA and Makoto TANABE

Laboratory of Phytopathology, Fac. Agric., Shinshu Univ.

**Summary**

1. Air-borne micro-organisms collected during the autumn were 9 bacteria, 4 *Penicillium* and 8 other fungi.
2. Results of competition of collected micro-organisms to *C. velutipes* were 8 A-type, 9 B-type, 1 C-type, 1 E-type and 2 F-type.
3. From the results of sterilization by dry heat treatment one bacteria was tolerant to heat and other micro-organisms were susceptible.
4. Sterilization experiments by hot water treatment indicated that one bacteria was tolerant and others were susceptible.
5. Four bacteria, 4 *Penicillium* and 3 other fungi were tolerant to ultra-violet treatment.