

# 細胞融合による食用きのこの育種に関する研究

—ヒラタケの単核性発茸およびヒラタケ、ナメコ群内交配株の栽培特性—

(県単課題 平成6年～10年)

林産部 竹原 太賀司  
熊田 淳

## 目 次

要 旨 .....	79
I 緒 言 .....	80
II 実験方法 .....	80
1. ヒラタケの単核性発茸の検討 .....	80
2. ヒラタケ群内交配株の栽培特性 .....	82
3. ナメコ群内交配株の栽培特性 .....	82
III 結果と考察 .....	83
1. ヒラタケの単核性発茸の検討 .....	83
2. ヒラタケ群内交配株の栽培特性 .....	88
3. ナメコ群内交配株の栽培特性 .....	91
IV 結 論 .....	96
文 献 .....	97

## 要 旨

ヒラタケの単核性発茸およびヒラタケ、ナメコそれぞれの群内交配株の子実体収量等栽培特性を検討したが、ヒラタケ交配株の子実体収量については一核菌糸の発茸能力との相関についても併せて検討した。

ヒラタケの単孢子一核菌糸は閉鎖系培地でその14%が一核性子実体を形成し、開放系培地では78%が二核性子実体を形成した。一核性子実体の単孢子一核菌糸の交配型は、もとの一核菌糸の交配型と同一であり、かつ、交配型の分離は認められなかったことから、単孢子一核菌糸の核型は単相であると考えられた。しかし、開放系培地で形成した二核性子実体が孢子汚染によるものとの証拠は得られなかった。

ヒラタケ群内交配株の栽培特性を検討した。子実体収量は、二核菌糸元株比で約0.8を中心とするほぼ正規分布を示し、子実体収量等の栽培特性および子実体の形質において菌株間でかなりの変異が認められたが、その多くは二核菌糸元株に比べ栽培特性面で劣る傾向を示したことから、効率的な品種選抜のためには何らかのスクリーニングが必要と思われた。なお、同一組み合わせの正逆で

子実体収量および形質の相違は全く認められなかった。一核菌糸の発茸能力を指標にスクリーニングが可能か否かを明らかにするため、一核菌糸の発茸能力とこれと交配して得られた二核菌糸の子実体収量との間に相関が認められるか否かを検討したが、明確な関係は見いだせなかった。従って、交配に用いる一核菌糸の選抜指標としてその発茸能力を用いることは不相当と考えられた。

ナメコの群内交配では、菌糸の先端部を除くほとんどの菌叢にクランプ結合が観察されたものから、両菌叢の接触部のみにしかクランプ結合が認められないものまで、組み合わせによってクランプ結合の形成範囲に大きな差がみられた。群内交配株の栽培特性は、子実体収量および収穫日数とも二核菌糸元株に比べ大幅に劣る結果を示し、しかも、同一の組み合わせを正逆で比較すると、栽培特性にかなりの差を示す組み合わせも存在した。交配株の栽培特性をその分離位置によって比較すると、両菌叢の接触部から分離した菌株は接種源の外側から分離した菌株に比べ、子実体収量および収穫日数とも良好な特性を示した。

## I 緒 言

善如寺<sup>1)</sup>によると、きのこの品種は野生きのこの胞子の自然交雑によって生じたか、栽培過程で胞子が飛散しそれらの間で交雑が起きたか、もしくは野外に逸出した栽培品種の胞子と野生株の胞子との交雑によったものとされている。

また、氏は同じ著書で、「多くの栽培きのこは自家不和合機構を有し、他殖性が高いので野生株は遺伝的変異に富むものと推定され、従って、このような系統から単胞子分離によって得られた一核菌糸は変異性が高いと予想され、その中から組み合わせ能力の高い一核菌糸を選抜して多数の自殖株を育成することにより新しい形質を有する優良菌株を選抜することが可能と思われる」と述べている。<sup>1)</sup>

きのこの育種においても群内交配すなわち自殖法は広く用いられているが、群内交配株の栽培特性について詳細に検討した例はそれほど多くはない。そこで、ここではヒラタケおよびナメコを用いてそれぞれの群内交配株の栽培特性を検討した。

なお、この研究の過程で、ヒラタケ単胞子一核菌糸に発茸性を有する菌株の存在が明らかとなったので、一核菌糸の発茸能力と単核性発茸の過程における核相の変化を検討した。また、一核菌糸の発茸能力とこれを用いて交配した二核菌糸の子実体収量等栽培特性との関係についても併せて検討した。

## II 実験方法

### 1. ヒラタケの単核性発茸の検討

#### (1) 供試菌

供試したヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) 菌株はFO-1<sup>2)</sup>である。子実体胞子から平板希釈法によって分離された単胞子一核菌糸のなかから任意に選んだ50株 (m1 - m50) を用いた。

#### (2) 閉鎖系培地を用いた子実体形成

##### ①子実体形成試験

子実体形成能の調査は、m1 - m50の50株の一核菌糸を供して行った。500mℓのガラスビンに培

地組成が広葉樹おが粉：ふすま = 3 : 1 (風乾重量比)、含水率を  $64 \pm 1\%$  に調整したおが粉培地約 200g を均一に詰め、綿栓を施して  $120^\circ\text{C}$  で 1 時間滅菌した。放冷後あらかじめ作成しておいたおが粉種菌を接種し、 $22 \pm 2^\circ\text{C}$  で 25 日間培養した。培養後培地表面の気中菌糸を無菌的に掻き取り、綿栓を施したまま  $15 \pm 1^\circ\text{C}$  の室内に放置して子実体形成の状況を観察した。

### ②子実体組織分離株の核相の検討

(2) - ① で形成した 7 株 (m3, m22, m31, m34, m37, m39, m48) の一核菌糸から形成した子実体の組織分離を行い、菌糸を検鏡してクランプ結合の有無を確認した。

また、HCl-Giemsa により核染色を行い<sup>3)</sup> 核数の確認を行った。

### ③単孢子一核菌糸の交配型分析

(2) - ① で形成した 3 株 (m34, m37, m48) の一核菌糸から形成した子実体胞子から平板希釈法により単孢子一核菌糸を分離して、任意に選んだそれぞれ 25 株を検定に供した。

交配型は、(1) で分離した 25 株 (m26 - m50) の一核菌糸の総当たり交配を行って交配型を決定し、A1B1 - A2B2 のそれぞれの交配型一核菌糸をテスター株とし、PDA 平面培地を用いて対峙培養を行い、 $25^\circ\text{C}$  で 15 日間培養後クランプ結合の有無を確認した。

## (3) 開放系培地を用いた子実体形成

### ①子実体形成試験

m1 - m50 の 50 株の一核菌糸を供し、通常の菌床栽培を行った。栽培容器には 850ml のポリプロピレン製ビンを用い、培地組成は、広葉樹おが粉：ふすま = 3 : 1 (風乾重量比) として、含水率を  $63 \pm 1\%$  に調整した。培地重は 540g/本とし、中心に直径 2cm 程度の穴をあけ、ウレタンシート入りのキャップを施し  $120^\circ\text{C}$  で 1 時間滅菌した。放冷後あらかじめ作成しておいたおが粉種菌を接種し、 $22 \pm 2^\circ\text{C}$  で 25 日間培養した。培養終了後菌掻きを行ってから冠水し 1 時間放置した。その後倒立させて水抜きをしてから、 $15 \pm 1\%$ 、湿度 95% 以上の環境下で発芽を促し、原基が形成された後は  $13 \pm 1^\circ\text{C}$  で育成した。形成された子実体は、傘が八分開きになった頃をみはからって採取し、その重量、個数および収穫日数等を調査した。なお、栽培本数は 1 株当たり 4 本とし、子実体発生の調査は発生操作後 45 日間行った。

さらに、(2) - ① で発茸性が認められた 7 株を供し、再び同様に栽培試験を行った。栽培本数は 1 株当たり 16 本とした。なお、菌掻きの時点で培地の気中菌糸のクランプ結合の有無を確認した。

### ②子実体組織分離株の核相の検討

(3) - ① で子実体を形成した 39 株から任意に選んだ 20 株について、子実体の組織分離株および子実体収穫時における培地表面の気中菌糸を検鏡しクランプ結合の有無を確認した。

また、(2) - ① で発茸性が認められた 7 株について、子実体および子実体収穫時における栽培培地 (ほぼ中間部) の両者から菌糸を分離して検鏡しクランプ結合の確認と HCl-Giemsa による核染色を行い核数の確認を行った。

### ③単孢子一核菌糸の交配型分析

(2) - ① で発茸性が認められた 7 株から形成した子実体胞子から平板希釈法によって単孢子株を分離し、その交配型を確認した。

各々の一核菌糸から形成した子実体から平板希釈法により単孢子一核菌糸を分離して、それぞれから任意に選んだ15株を供して、(2)－③と同様にテスター株と対峙培養を行い、25℃で15日間培養後クランプ結合の有無を確認した。

## 2. ヒラタケ群内交配株の栽培特性

### (1) 供試菌

供試一核菌糸は、1－(1)で分離した50株の単孢子一核菌糸のなかから任意に選んだ25株 (m26－m50) を用いた。

### (2) 群内交配株の作出

単孢子一核菌糸25株の総当たり交配を行った(組み合わせ:300通り)。交配は、内径9cmのシャーレに作成したPDA平面培地を用い、あらかじめ同じ培地で前培養した菌糸体をシャーレのほぼ中央に約1cmの間隔で接種した。25℃で15日間培養後検鏡してクランプ結合の有無を確認した。その結果、単孢子一核菌糸25株の交配型は、A1B1 7株、A1B2 7株、A2B1 4株およびA2B2 7株であり、クランプ結合の形成が確認された和合性の組み合わせ(7×7+7×4=77通り)から菌糸を分離した。

菌株は、接種源の両外側2カ所から分離し、合計154株の二核菌糸を栽培試験に供した。

### (3) 栽培方法

栽培は、850mlのPPビンを用いた菌床栽培により、1－(3)－①に準じて行った。培地組成は広葉樹おが粉:ふすま=2:1とし、栽培本数は1株当たり6本とした。なお、栽培試験は2回に分けて実施したため、子実体収量等の特性値は二核菌糸元株との比であらわした。

## 3. ナメコ群内交配株の栽培特性

### (1) 供試菌

ナメコ (*Pholiota nameko*) 供試菌は、FN-1およびFN-2<sup>2)</sup>を用いた。それぞれの子実体胞子から平板希釈法により単孢子一核菌糸を分離し、FN-1は分離した単孢子一核菌糸のなかから任意に選んだ15株 (ma1－ma15)、FN-2では21株 (mb1－mb21)を用いた。

### (2) 群内交配株の作出

それぞれの子実体から分離した単孢子一核菌糸の総当たり交配を行った(組み合わせ:FN-1:105通り, FN-2:210通り)。交配は、内径9cmのシャーレに作成したGMYP平面培地を用い、あらかじめ同じ培地で前培養した菌糸体をシャーレのほぼ中央に約1cmの間隔で接種した。25℃で21日間培養後検鏡してクランプ結合の有無を確認した。なお、交配を行った時点は、FN-1では単孢子株を分離して約3カ月後であり、FN-2は単孢子株を分離後直ちに行った。

FN-1では、和合性の組み合わせは105通り中54通り(Ax:9株, Ay:6株)であり、菌株は接種源の両外側2カ所から分離し、正逆での栽培特性の比較も併せて行った。

FN-2では、和合性の組み合わせ108通り(Ax:12株, Ay:9株)から交配株を分離した。菌株の分離位置は、交配型がAxのmb1およびmb2株との交配株(2×9=18通り)は両接種源の外側から分離して正逆を比較した。また、表-1に示すように、交配型がAxの2菌株(mb6, mb13)とAyの2菌株(mb4, mb7)の組み合わせ(mb6－mb4 (Ma), mb6－mb7 (Mb), mb13－mb4 (Mc)

およびmb13 - mb7 (Md) の4通り) については両接種源の外側および両菌叢の接触部の計3か所から分離した。

交配型がAxのmb1およびmb2株の2菌株を除く10菌株とAyの9株との組み合わせ(10×9=90通り)からは、両菌叢の接触部のみから分離した。

### (3) 栽培方法

栽培は800mlの広口PPビンを用い、培地組成をおが粉:ふすま=5:1(風乾重量比)、含水率を65±1%とし、培地重は520g/本とした。常法に従い滅菌、放冷後あらかじめ作成しておいたおが粉種菌を接種した。培養は22±2℃で60日間行い、その後12-15℃、湿度95%以上の環境下で発生操作を行った。子実体の収穫は、発生操作後60日間に収穫された子実体の総量であらわした。

なお、栽培本数は1株当たり4本とした。

表-1 ナメコ交配の組み合わせ

組み合わせ	記号	交配株No.
mb 6 - mb4	Ma	Ma01 - 03
mb 6 - mb7	Mb	Mb01 - 03
mb13 - mb4	Mc	Mc01 - 03
mb13 - mb7	Md	Md01 - 03

注) 1. 交配型 mb6, mb13 : Ax  
mb4, mb7 : Ay

#### 2. 菌株の分離位置

Ma01 : m6 (m4) Ma02 : 接触部 Ma03 : m4 (m6)  
Mb01 : m6 (m7) Mb02 : 接触部 Mb03 : m7 (m6)  
Mc01 : m13(m4) Mc02 : 接触部 Mc03 : m4(m13)  
Md01 : m13(m7) Md02 : 接触部 Md03 : m7(m13)

#### 3. クランプ結合の有無

Ma01 (+) Ma02 (+) Ma03 (+)  
Mb01 (+) Mb02 (+) Mb03 (+)  
Mc01 (-) Mc02 (+) Mc03 (-)  
Md01 (-) Md02 (+) Md03 (-)

## III 結果と考察

### 1. ヒラタケの単核性発茸の検討

ヒラタケの単孢子一核菌糸の発茸性を閉鎖系培地を用いて調べたところ、50株中7株が子実体を形成した。一核菌糸から形成した子実体は、写真-1に示すようにいずれも柄の発育に比べ傘が未熟であるものの、襲も正常に形成され二核菌糸子実体の形態に近いものであった。また、胞子も形成され、発芽能力も有していた。さらに、子実体を形成した7株の子実体から組織分離した菌株にはいずれもクランプ結合は認められず、核染色の結果からも一核菌糸と判断された。



写真-1 ヒラタケの単孢子一核菌糸から形成した子実体

また、このように正常な子実体を形成する菌株のほかに、写真-2に示すように培地とガラス壁の間に子実体原基様のものを形成する菌株も6株認められた。

以上のように、50株の単胞子一核菌糸中37株は全く子実体を形成しなかったものの、13株は子実体原基を形成し、そのうちの約半数は子実体まで形成し、ヒラタケの単胞子一核菌糸では、子実体の形成能力を有するものとそうでないものがあることが認められた。



単核性発茸は比較的広範囲の担子菌類で観察されており、食用きのこでもナメコ<sup>4)</sup> (*Pholiota nameko*) やエノキ

写真-2 ヒラタケ単胞子一核菌糸の培養で生じた子実体原基様物質

タケ<sup>5)</sup> (*Flammulina velutipes*) で単核性発茸の現象が知られているが、今回、ヒラタケ単胞子一核菌糸も発茸性を有することが確認された。

単核性子実体の形態については、菌糸塊状のものから通常の二核菌糸子実体の形態と同様なものまで変異に富むとされており<sup>6)</sup>、ナメコの単核菌糸子実体についても、傘の発達も良好で二核菌糸子実体とほとんど変わらないものから、子実体原基は形成するもののその後の発育がみられないものまでであることが報告されている。

今回、ヒラタケで観察された単核性子実体でも、傘が発育し、髯が正常に形成されるものから、子実体原基のままでその後子実体の分化がみられないものまで観察された。

次に、単核性子実体の形質の分離の有無を調べるため、正常な子実体を形成した7株の一核菌糸のなかから、m34、m37およびm48の3株を用い、子実体胞子を平板希釈法により単胞子一核菌糸を分離し、任意に選んだ各25株の交配型を調べた。なお、今回供試した二核菌糸元株の核構成を(A1B1 + A2B2) とすると、ここで供試した3株の一核菌糸の交配型はいずれもA2B2であった。

交配型の検定は、今回供試した50株の一核菌糸のなかから異なる4タイプの交配型を有する菌株をテスター株としてPDA培地上で対峙培養を行ったが、その結果、これらの一核菌糸から形成した子実体胞子株の交配型は25株全てA2B2であり、もとの一核菌糸の交配型と同一であり、かつ、交配型の分離は認められなかった。

なお、ナメコの単核性発茸でも、一核菌糸子実体の形成する担子胞子の交配型はもとの一核菌糸の交配型と全て同一であることが報告されている<sup>4)</sup>。この理由として、一核菌糸子実体である以上異系核との融合は起こり得ず、従って遺伝形質の分離もあり得ないことから、担子胞子の発芽によって復帰した一核菌糸体は必然的に元の一核菌糸体と遺伝的には全く同一となるからとされている。

従って、ヒラタケの単核性発茸でも同様に、胞子形成時における減数分裂では異系核との融合は起こらず、単相核であると考えられた。

## (2) 開放系培地による子実体形成

今回用いた単孢子一核菌糸の開放系培地を用いた子実体形成の有無を確認するため、通常のビン栽培によりその栽培特性の調査を行った。その結果、発生操作後45日間の調査範囲内で50株中39株が子実体を形成した。

子実体収量分布を図-1に示すが、二核菌糸元株に比べほとんど収量差が認められない株から、20-30gと極端に低いものまで菌株によって大きな差がみられた。しかし、写真-3に示すようにいずれの菌株もその形状は正常で二核菌糸子実体とほとんど変わらず、閉鎖系培地で形成した子実体とは異なっていた。

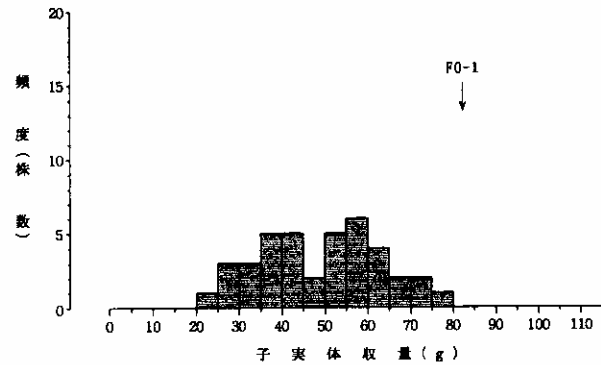


図-1 ヒラタケ単孢子一核菌糸の開放系培地による子実体収量分布

- 注) 1. 単孢子一核菌糸50株中39株が子実体を形成した。  
2. FO-1: 二核菌糸元株

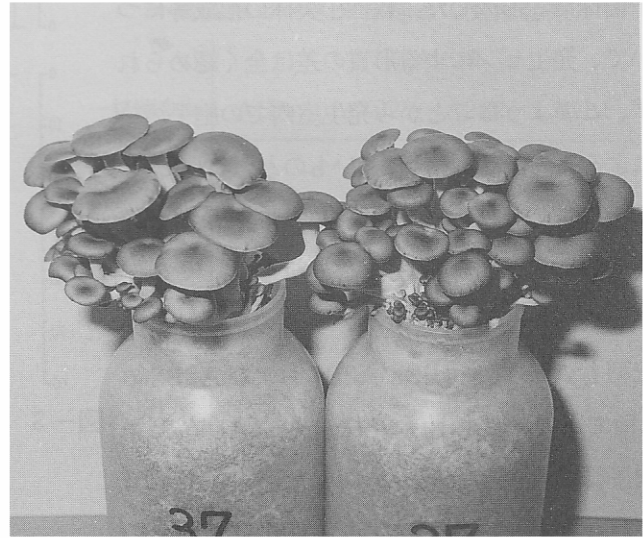
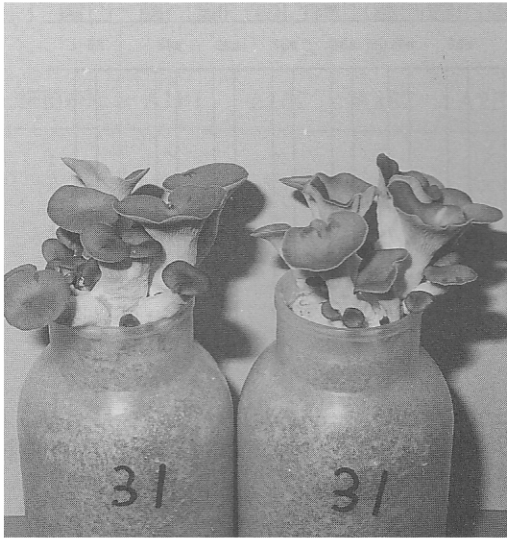


写真-3 ヒラタケ単孢子一核菌糸の開放系培地によって形成した子実体

子実体収穫日数分布を図-2に示したが、子実体形成に要する日数は、発生操作後日数で二核菌糸元株が9.5日であるのに対し、最短で収穫された株はm37の16日で最長はm49の45日であった。このように、単孢子一核菌糸の子実体形成に要する期間は、二核菌糸元株に比べ1週間程度の遅延に過ぎないものから、1か月以上遅れて収穫された株まで、菌株によって大きな差が認められた。

開放系培地で形成された子実体の核相を調べるため、子実体から組織分離した菌株を検鏡

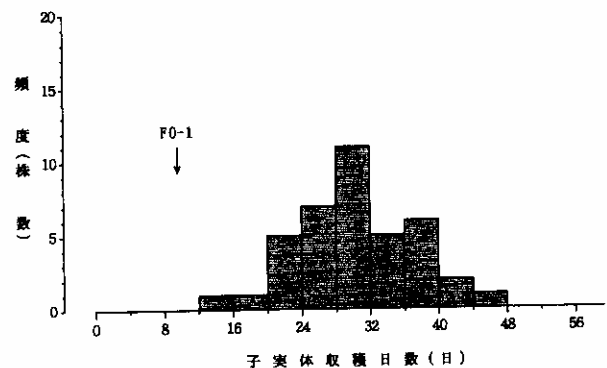


図-2 ヒラタケ単孢子一核菌糸の開放系培地による子実体収穫日数分布

- 注) 1. 子実体収穫日数は発生操作後日数である。  
2. FO-1: 二核菌糸元株

して、クランプ結合の有無を調べた。その結果、検鏡した25株全てにクランプ結合が観察された。また、培地の気中菌糸についても同様に顕鏡したが、同じようにクランプ結合が観察された。従って、種菌の接種から子実体形成までの過程で何らかの原因により一核菌糸が二核化されたものと思われた。

さらに、閉鎖系培地で子実体を形成した7株の一核菌糸を供し、同様の方法で、再度子実体形成に伴う核相の変化を調査した。その結果、培養終了時における培地表面の気中菌糸にはいずれもクランプ結合は認められなかったが、その後形成した子実体からの組織分離株にはいずれもクランプ結合が認められた。従って、一核菌糸元株の二核化は発生操作以降に生じたものと考えられた。

しかし、今回栽培に供した7株の一核菌糸のうちでは、図-3に示すようにm37およびm48の2株がもっとも短期間に収穫され、二核菌糸元株の収穫日数に比べ約1週間の遅延に過ぎず、写真-4に示すように培地による収穫日数等のバラツキも極めて少なかった。しかも、同一菌株から形成した二核性子実体の形成等について、発生ビンによる形質の差は全く認められず、このようなことから発生室内での胞子汚染による二核化とは考えにくいものと思われた。

そこで、5株の一核菌糸から形成した二核性子実体胞子株の交配型を分析した。その結果を表-2-6に示すが、いずれの胞子株の交配型もA1B1、A1B2、A2B1およびA2B2の4種であり、二核菌糸元株から分離された単胞子株の交配型と同一で新たな因子は見いだされなかった。従って、この結果から胞子汚染によるものとの証拠は得られなかった。

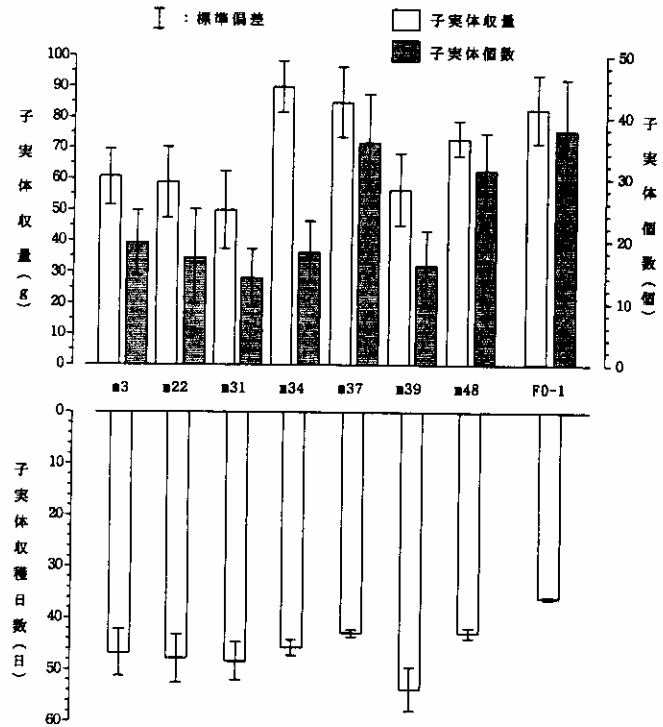


図-3 ヒラタケ単胞子一核菌糸の解放系培地による子実体収量、個数および収穫日数(再試験)

注) 1. 子実体収穫日数は接種後日数である。  
2. FO-1: 二核菌糸元株

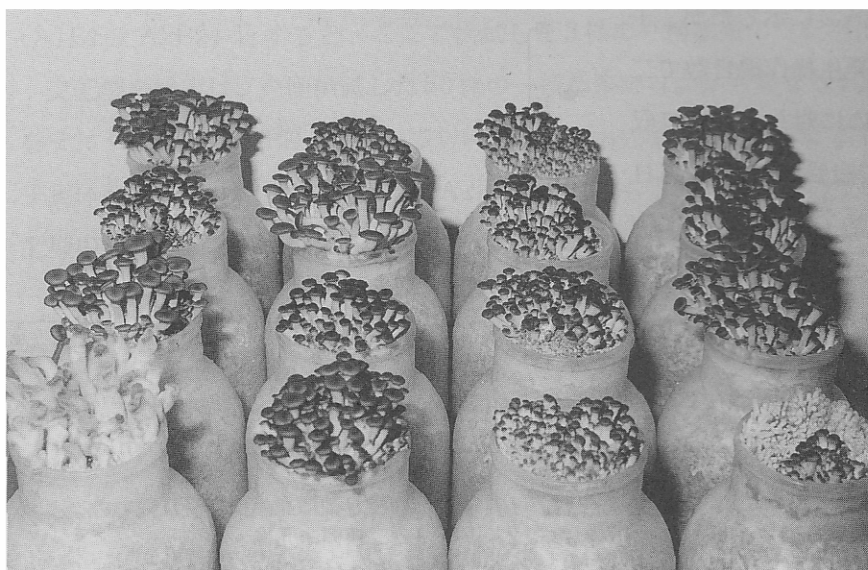


写真-4 ヒラタケ単胞子一核菌糸の解放系培地による子実体形成

注) 用いた菌株は同一(m48)である。



表-2 一核菌糸 m3 から形成した子実体単胞子  
一核菌糸とテスター株との交配結果

一核菌糸No.	テスター株			
	A1B1	A1B2	A2B2	A2B1
1	×	×	×	○
2	×	×	×	○
3	×	×	○	×
4	×	×	×	○
5	×	×	×	○
6	×	○	×	×
7	×	×	×	○
8	×	×	○	×
9	×	○	×	×
10	○	×	×	×
11	×	×	×	○
12	×	×	○	×
13	○	×	×	×
14	×	×	×	○
15	×	×	○	×

表-3 一核菌糸 m22 から形成した子実体単胞子  
一核菌糸とテスター株との交配結果

一核菌糸No.	テスター株			
	A1B1	A1B2	A2B2	A2B1
1	×	○	×	×
2	×	×	×	○
3	×	×	×	○
4	○	×	×	×
5	×	×	○	×
6	×	○	×	×
7	×	○	×	×
8	×	×	○	×
9	○	×	×	×
10	×	×	○	×
11	×	×	×	○
12	×	○	×	×
13	○	×	×	×
14	×	○	×	×
15	×	×	×	○

表-4 一核菌糸 m31 から形成した子実体単胞子  
一核菌糸とテスター株との交配結果

一核菌糸No.	テスター株			
	A1B1	A1B2	A2B2	A2B1
1	×	×	○	×
2	×	○	×	×
3	×	○	×	×
4	×	○	×	×
5	○	×	×	×
6	×	×	○	×
7	×	×	×	○
8	×	×	×	○
9	×	×	○	×
10	×	×	×	○
11	×	×	×	○
12	×	×	×	○
13	×	×	×	○
14	×	×	○	×
15	×	×	○	×

表-5 一核菌糸 m37 から形成した子実体単胞子  
一核菌糸とテスター株との交配結果

一核菌糸No.	テスター株			
	A1B1	A1B2	A2B2	A2B1
1	×	×	○	×
2	×	○	×	×
3	×	×	×	○
4	○	×	×	×
5	×	×	○	×
6	○	×	×	×
7	○	×	×	×
8	×	×	○	×
9	×	×	×	○
10	×	×	×	○
11	×	○	×	×
12	×	×	○	×
13	×	×	○	×
14	×	×	×	○
15	×	○	×	×

表-6 一核菌糸 m48 から形成した子実体単胞子  
一核菌糸とテスター株との交配結果

一核菌糸No.	テスター株			
	A1B1	A1B2	A2B2	A2B1
1	×	○	×	×
2	×	×	○	×
3	×	○	×	×
4	×	×	×	○
5	×	×	○	×
6	×	○	×	×
7	×	○	×	×
8	×	×	○	×
9	×	×	○	×
10	×	×	○	×
11	○	×	×	×
12	×	○	×	×
13	○	×	×	×
14	×	○	×	×
15	○	×	×	×

(3) 閉鎖系培地と開放系培地での単孢子一核菌糸子実体の核相の相違

ヒラタケの単孢子一核菌糸は閉鎖系培地と開放系培地の両者で子実体を形成した。しかし、閉鎖系培地では一核性子実体を、開放系培地では二核性子実体を形成した。このような培地の相違により子実体の核相が異なるのは、開放系培地では孢子汚染により一核菌糸が二核化したと考えるのが自然であろうが、以下のような現象から外部的な汚染と断定することは現時点ではやや無理があるものと思われた。

- ・ 開放系培地による二核性子実体の形成について、孢子汚染にしては一核菌糸の二核化が極めて速やかであり、m37, m48などは培養終了時から原基形成まで約1週間であり、この間に二核化が進行し、子実体の形成まで進むとは考えにくい。
- ・ m37, m48では子実体形成時期の培地（ビン）によるバラツキが極めて少なく1-2日で16本のビン全てが収穫された。
- ・ 二核性子実体の形状、形質は菌株によって異なるが、同一菌株では培地（ビン）によるバラツキが全く認められない。
- ・ 二核性子実体孢子株の交配型の分析結果からは新たな交配型因子は見いだせず、二核菌糸元株由来単孢子株の交配型と同一であった。

しかし、現在までに閉鎖系培地で二核性子実体の形成は認められていないことから、開放系培地での二核性子実体の形成が汚染以外の要因によるものとも断定はできない。

2. ヒラタケ群内交配株の栽培特性

(1) 群内交配株の栽培特性

群内交配によって分離された二核菌糸154株のうち14株は子実体原基の形成以後生育が止まったりして正常な子実体を形成しなかった。従って、これらを除いた140株について栽培特性の調査を行った。

なお、子実体収量分布（図-4）、子実体収穫日数分布（図-5）は片側からのみの分離菌株70株について示したヒストグラムである。

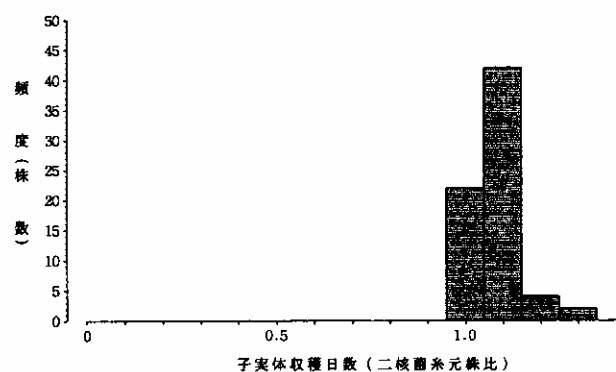
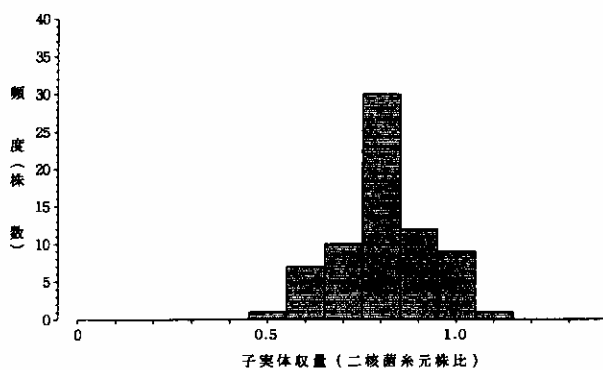


図-4 ヒラタケ群内交配株の子実体収量分布 図-5 ヒラタケ群内交配株の子実体収穫日数分布

子実体収量は二核菌糸元株比で0.53から1.09まで幅広く分布し、全体の平均値も $0.82 \pm 0.11$ と菌株間でかなりの変異が認められた。また、子実体収穫日数も二核菌糸元株との日数差で-0.4日から+8.0日まで幅広く分布した。このように、一個の子実体から作出された群内交配株でも菌株によ

ってその性質がかなり異なることが確認された。また、写真-5に示すように子実体の形態および色調等に関する変異も少なからず認められた。従って、二核菌糸元株の遺伝的変異性の限度内という制限はあるものの、自殖法も品種選抜の一手法として用いることが可能と考えられた。しかし、群内交配株の多くは二核菌糸元株の栽培特性に比べ劣る傾向を示したことから、自殖法による選抜効率はそれほど高くはないものと思われた。

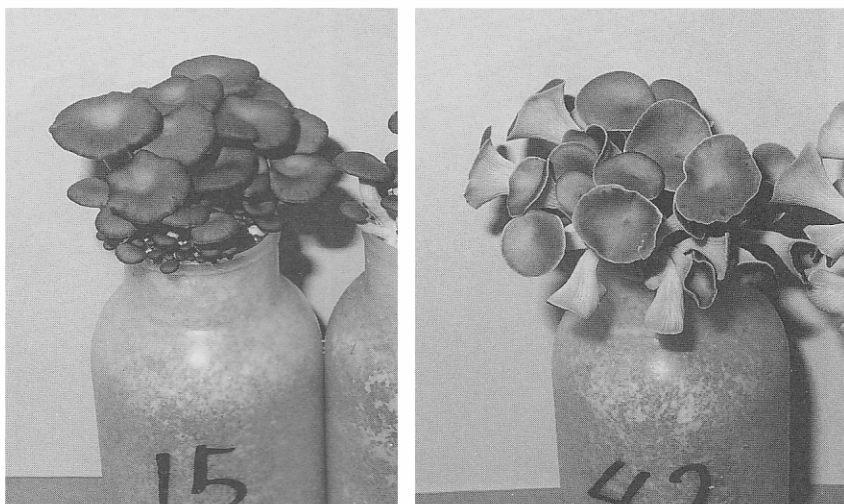


写真-5 ヒラタケ群内交配株から形成した子実体の菌株間変異

なお、一個の子実体から得られた複数の群内交配株で菌株間に変異が認められたことは、今回用いた二核菌糸元株が栽培系統であるにもかかわらず、遺伝的性質が固定されていないことを示唆するものである。

### (2) 群内交配株栽培特性の正逆での比較

一例として一核菌糸m30との6通りの組み合わせによる群内交配株の正逆での比較を図-6に示すが、子実体収量および子実体収穫日数とも菌株による有意差は認められたものの、正逆での有意差は全く認められなかった。また、写真-6に示すように子実体の形質においても正逆で差は認められなかった。

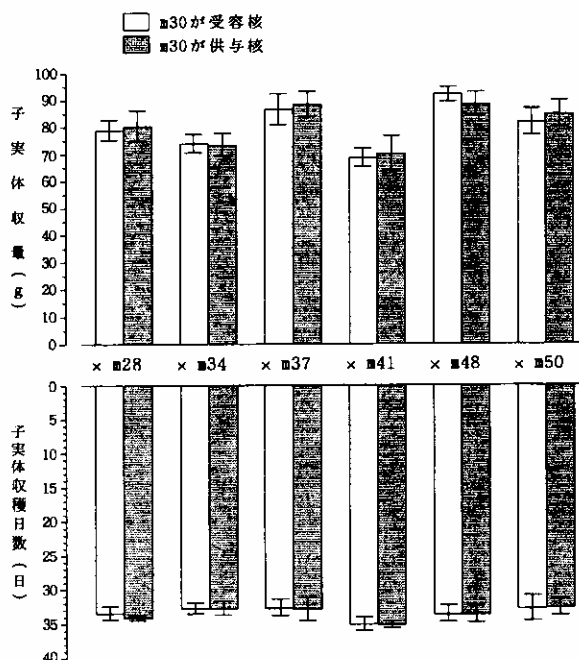


図-6 一核菌糸m30との組み合わせによるヒラタケ群内交配株の子実体収量および子実体収穫日数の正逆での比較

注) 子実体収穫日数は接種後日数である。

通常、交配株の核型は正逆で同型となるが細胞質型は受容核となった一核菌糸の細胞質型を

保持すると考えられている。従って、同一の組み合わせの交配で、正逆で菌糸伸長速度等の遺伝的性質に差が認められる場合、細胞質遺伝子の相違によるものと説明されている<sup>7)</sup>。しかし、同一の子実体から得られた複数の単孢子株からは、核遺伝子は菌株によって異なるものの細胞質遺伝子は同一であることから、群内での同一の組み合わせの交配株は、核遺伝子のみならず細胞質遺伝子の構成も同一となり、その結果、正逆で子実体収量および形質に差が認められなかったものと思われる。

### (3) 交配に用いた一核菌糸の発茸能力と二核菌糸子実体収量との相関

栽培きのこのなかで、エノキタケでは一核菌糸の発茸能力とそれを用いて交配した二核菌糸の子

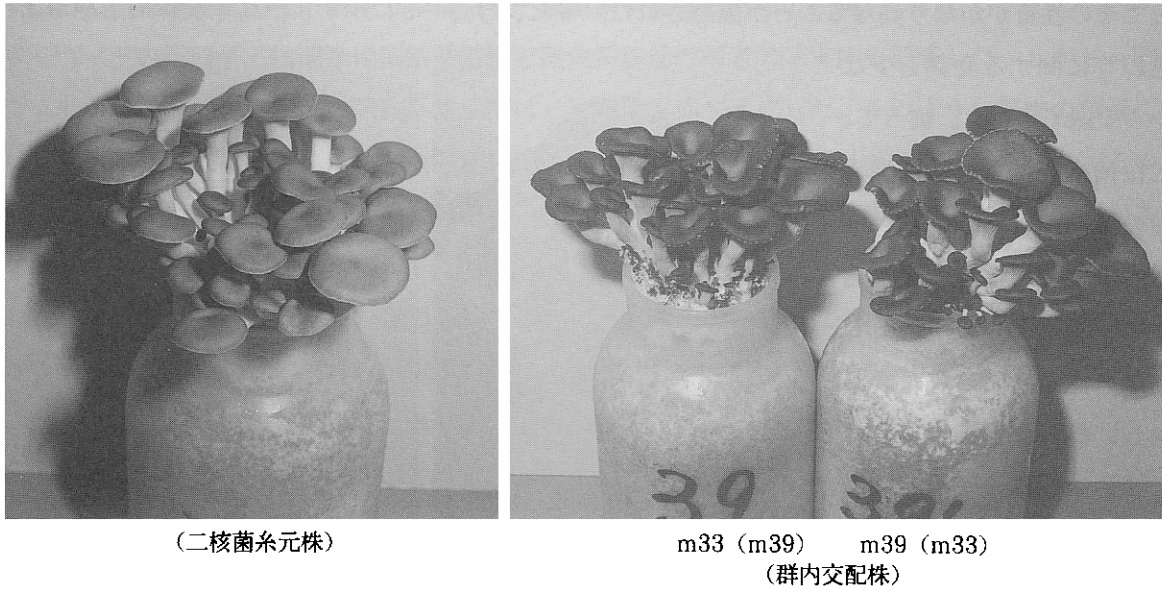


写真-6 同一の組み合わせによるヒラタケ群内交配株子実体の正逆での比較

実体収量との間には高い相関があることが報告されており<sup>8,9)</sup>、エノキタケの品種選抜には、一核菌糸の発茸能力を指標とすることで交配に供する一核菌糸のスクリーニングが可能であるとされている。そこで、ヒラタケ一核菌糸の発茸能力とそれを用いて交配した二核菌糸子実体収量との相関について検討した。

群内交配株の子実体収量の結果を、交配に供した25株の一核菌糸毎に分類した結果を図-7に示す。今回交配に供した25株の一核菌糸のうちm31, m34, m37, m39およびm48の5株は発茸性を有した。しかし、m31およびm34との組み合わせによる交配株の子実体収量は二核菌糸元株比で0.7-0.8と極めて低く、逆に発茸性を示さなかったm30との組み合わせによる菌株が最も高い値を示した。

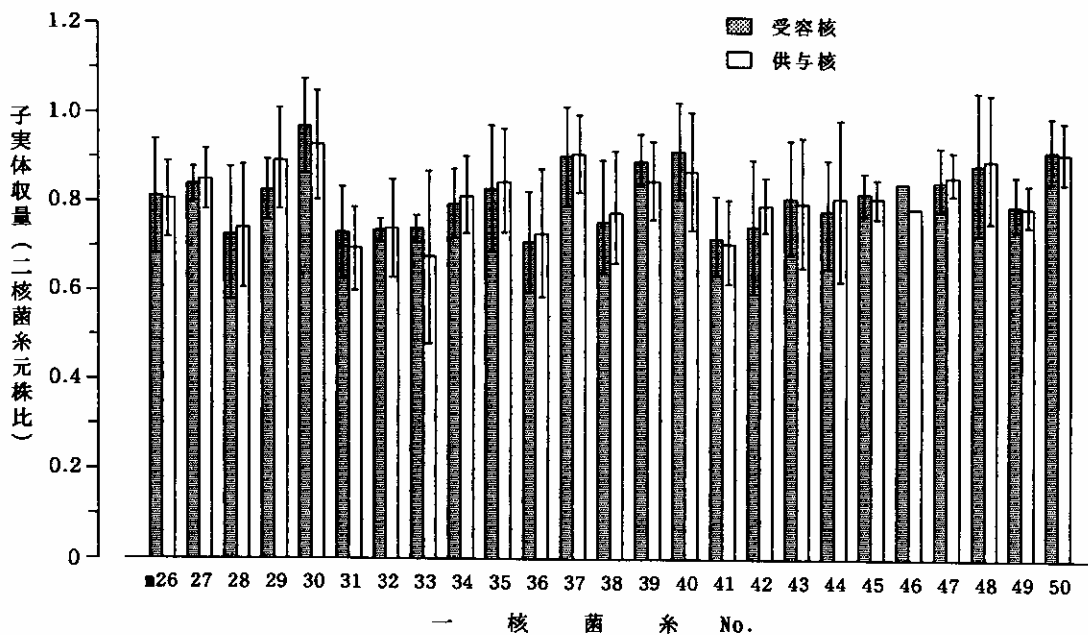


図-7 交配に用いた単孢子一核菌糸ごとに分類したヒラタケ群内交配株の子実体収量

注) m31, 34, 37, 39およびm48の5株は発茸性を有する。

また、交配に供した一核菌糸の発茸能力の有無によって分類した結果を図-8に示すが、組み合わせⅠすなわち両者とも発茸性を有する一核菌糸どうしの組み合わせによる菌株が子実体収量において最も低い値を示した。

以上のように、一核菌糸の発茸性とこれを用いて交配した二核菌糸の子実体収量との間に、ヒラタケでは明確な相関は認められなかった。従って、群内交配によるヒラタケの育種において、交配に供する一核菌糸のスクリーニングにその発茸能力を指標として用いることは不適當と思われた。

### 3. ナメコ群内交配株の栽培特性

ナメコの交配型は二極性であるため、群内交配においてはクランプ結合の有無を全ての組み合わせで確認しなくとも、比較的容易に単孢子

一核菌糸を二群に分類することが可能である。このように分類した単孢子一核菌糸どうしの和合性の組み合わせを改めて検鏡すると、FN-1およびFN-2いずれの群内交配でも、菌糸の先端部を除く菌叢の大部分にクランプ結合が観察されたものから、両菌叢の接触部のみにしかクランプ結合が認められないものまで、組み合わせによってクランプ結合の形成範囲には大きな差がみられた。例えば、表-1に示した4種の組み合わせでのうち、MaおよびMbは菌叢の全面にクランプ結合が観察されたが、McおよびMdの組み合わせは両菌叢の接触部のみにしかクランプ結合は認められなかった。また、接触部のみにしかクランプ結合が認められない組み合わせを経時的に観察しても、クランプ結合の形成範囲が広がる様子は観察されなかった。従って、ナメコでは和合性の対峙培養であっても、核の移動速度が極端に遅い組み合わせが存在するものと推定された。

ナメコFN-1の群内交配株の子実体収量および子実体収穫日数を図-9, 10に示すが、群内交配株の子実体収量は30 - 130gの範囲に幅広く分布し、多くは二核菌糸元株収量の半分以下であった。また、子実体が発生操作後25日以内に収穫された株はなく、30日以内でも54株中7株であり、ほとんどが二核菌糸元株に比べ大幅に遅れる結果となった。通常、群内交配によって得られた複数の菌株集団には、二核菌糸元株の遺伝的変異性の限度内で遺伝分散が現れ、各菌株の特性値は連続変異を示すとされている<sup>10)</sup>。事実、ヒラタケ群内交配株の子実体収量は、二核菌糸元株比で約0.8を中心とするほぼ正規分布を示した。これに対し、今回行ったナメコ群内交配株の栽培特性は、子実体収量および収穫日数とも二核菌糸元株に比べ大幅に劣る結果を示した。

図-11に群内交配株の栽培特性を交配に用いた単孢子一核菌糸毎に分類した結果を示すが、いずれの一核菌糸の組み合わせであっても子実体収量の平均は80g以下で、二核菌糸元株に比べ大幅に劣っており、組み合わせ能力の高い一核菌糸の存在は今回用いた単孢子一核菌糸の中には認められなかった。

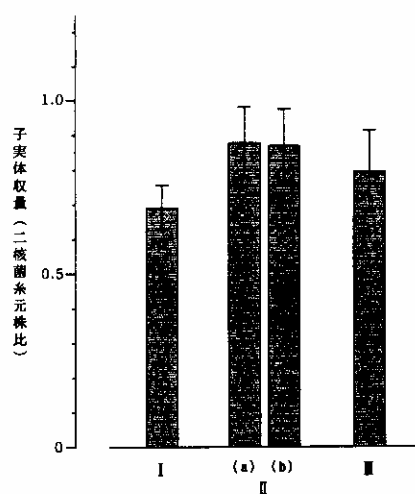


図-8 交配に用いた単孢子一核菌糸の発茸能力別に分類したヒラタケ群内交配株の子実体収量

- I : 両者の一核菌糸とも発茸性あり (6株の平均値)
- II (a) : 受容核一核菌糸のみ発茸性あり (27株の平均値)
- II (b) : 供与核一核菌糸のみ発茸性あり (27株の平均値)
- III : 両者一核菌糸とも発茸性なし (80株の平均値)

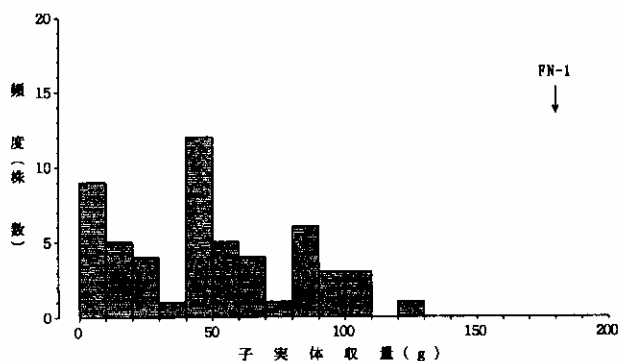


図-9 ナメコ (FN-1) 群内交配株の子実体収量分布

注) FN-1 : 二核菌糸元株

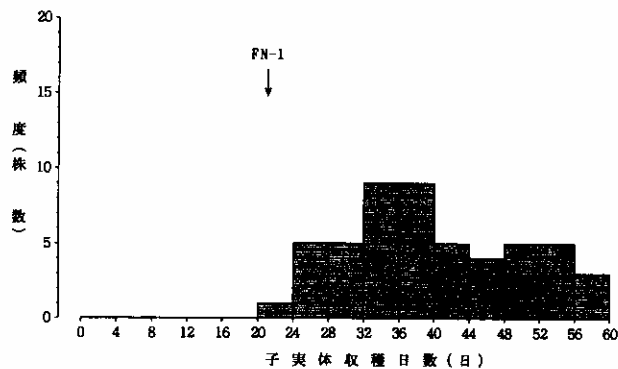


図-10 ナメコ (FN-1) 群内交配株の子実体収穫日数分布

注) 1. FN-1 : 二核菌糸元株

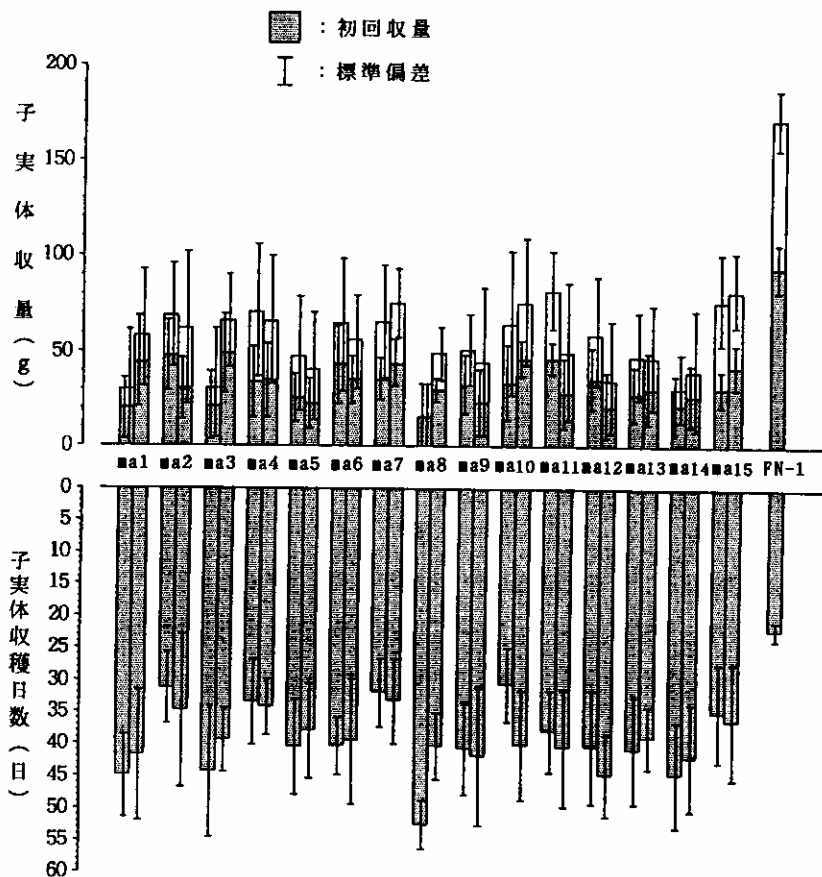


図-11 交配に用いた単孢子一核菌糸毎に分類したナメコ (FN-1) 群内交配株の子実体収量および子実体収穫日数

- 注) 1. FN-1 : 二核菌糸元株
- 2. ma1 - ma15 : 単孢子一核菌糸
- 3. 子実体収穫日数は発生操作後日数である。
- 4. ma1 - ma15の各々のグラフは、左側が当該一核菌糸が受容核となった場合、右側は供与核となった場合である。

また、群内交配株の栽培特性を正逆で比較した結果を図-12に示すが、(ma4 × ma2) の組み合わせでは正逆で子実体収量に約2倍の差が認められた。一般に、一個の子実体から得られた単孢子一核菌糸の細胞質遺伝子は同質であるため、群内交配では正逆で栽培特性は変わらないはずであり、

ヒラタケでは正逆で栽培特性の相違は全く認められなかった。ナメコで観察されたこのような現象が、今回用いた菌株のみの特異なものかを明らかにするため、FN-2を用いて同様に群内交配を行い、交配株の栽培特性を検討した。

一核菌糸mb1およびmb2との組み合わせによる群内交配株を正逆で比較した結果を図-13, 14に示すが、(mb1×mb10)および(mb2×mb15)の組み合わせでは正逆で子実体収量に3-4倍の差が認められ、FN-1と同様な現象が認められた。しかし、全般に交配株の多くは子実体収量が100g以下、初回収穫日数は30日以上を要するなど劣悪な傾向を示した。

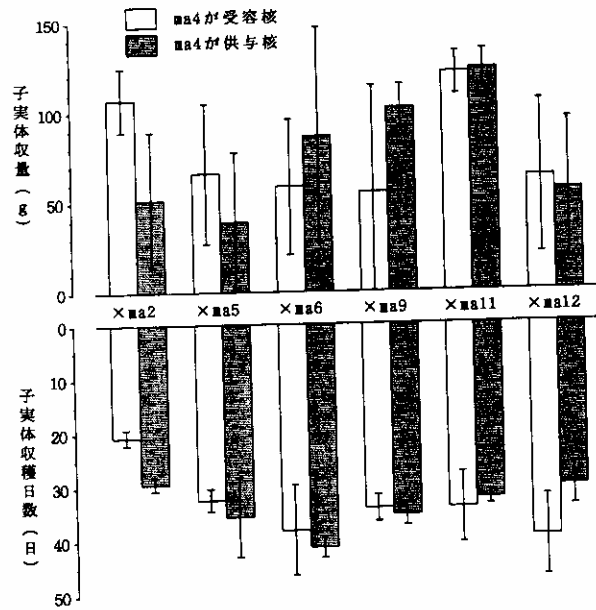


図-12 一核菌糸ma4との組み合わせによるナメコ(FN-1)群内交配株子実体収量および子実体収穫日数の正逆での比較

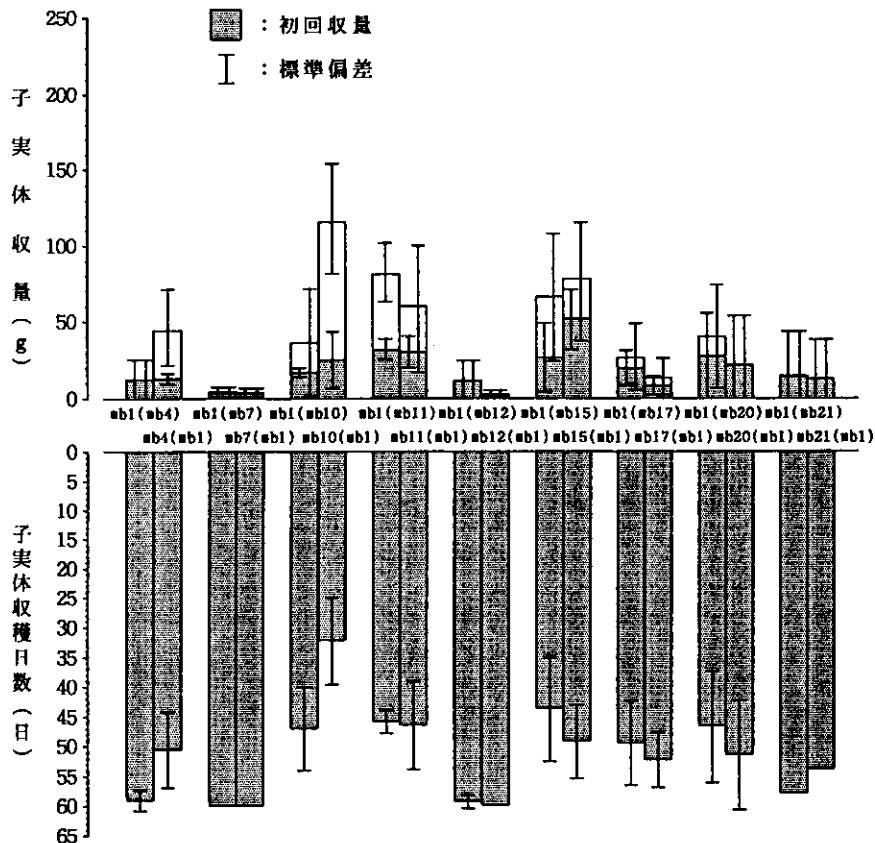


図-13 一核菌糸mb1との組み合わせによるナメコ(FN-2)群内交配株子実体収量および子実体収穫日数の正逆での比較

注) 子実体収穫日数は発生操作後日数である。

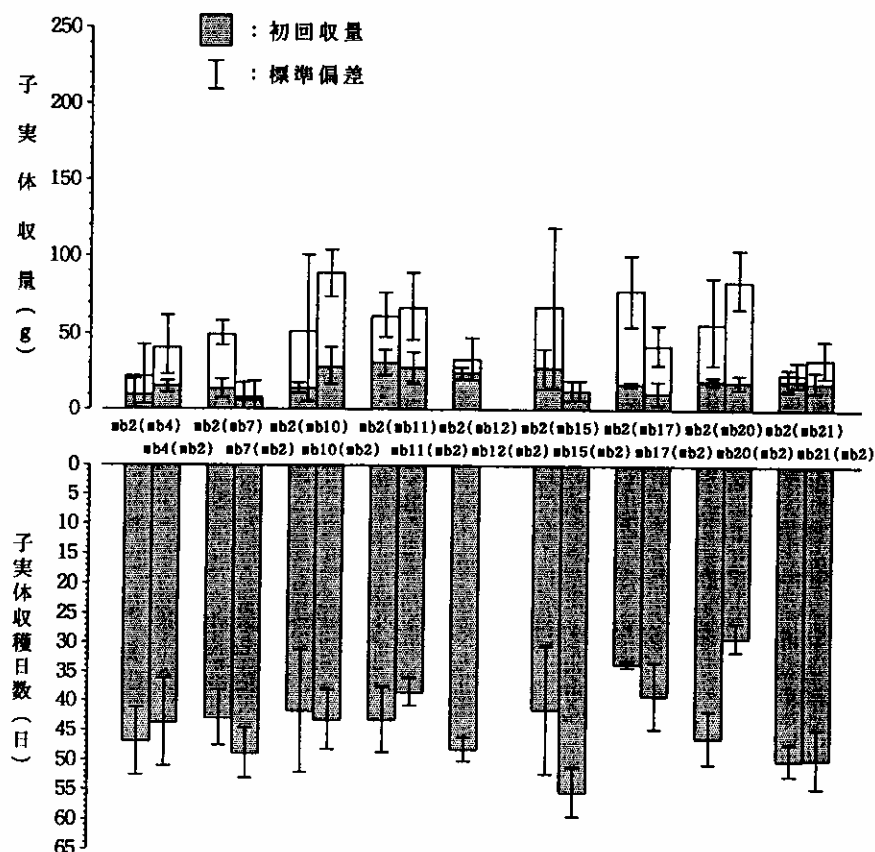


図-14 一核菌糸mb2との組み合わせによるナメコ(FN-2)群内交配株子実体収量および子実体収穫日数の正逆での比較

注) 子実体収穫日数は発生操作後日数である。

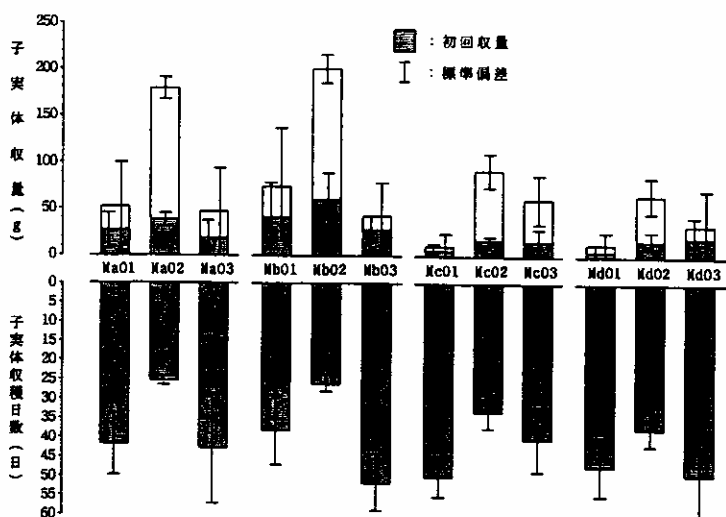


図-15 ナメコ群内交配株の分離位置による子実体収量および子実体収穫日数の比較

注) 1. 菌株No. : 表-1 参照  
2. 子実体収穫日数は発生後日数である。



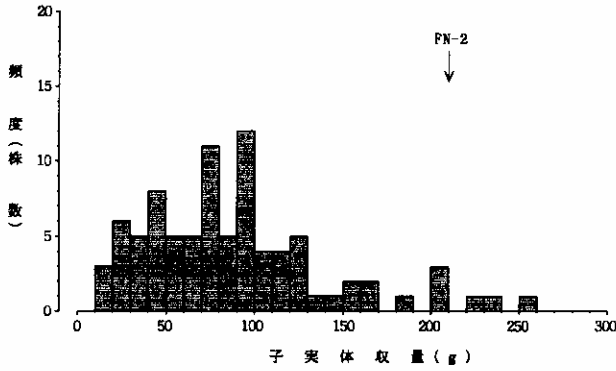


図-16 ナメコ (FN-2) 群内交配株の子実体収量分布

注) FN-2: 二核菌糸元株

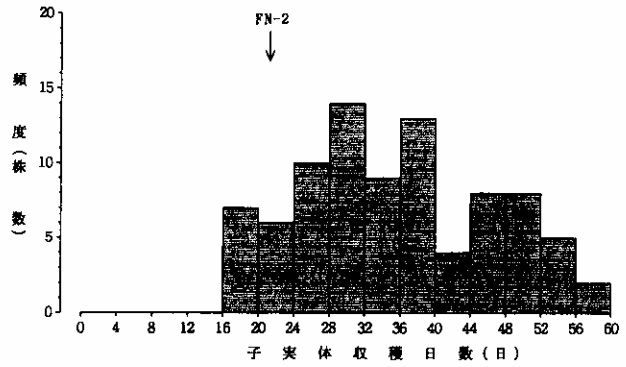


図-17 ナメコ (FN-2) 群内交配株の子実体収穫日数分布

注) 1. FN-2: 二核菌糸元株  
2. 子実体収穫日数は発生操作後日数である。

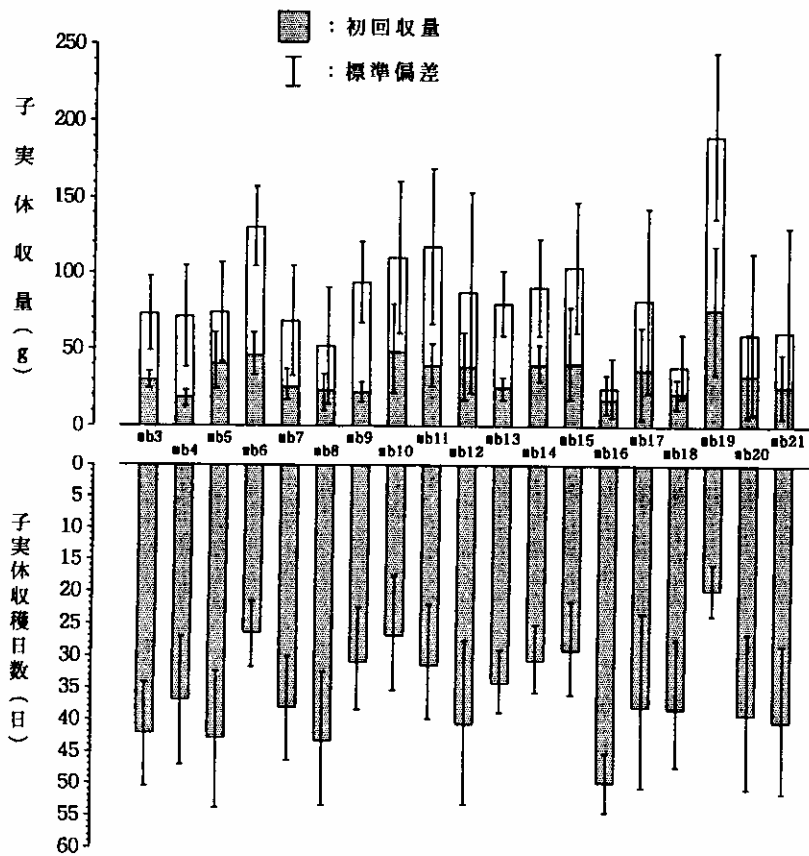


図-18 交配に用いた一核菌糸毎に分類したナメコ (FN-2) 群内交配株の子実体収量および子実体収穫日数

注) mb3, mb5, mb6, mb8, mb9, mb13, mb14, mb16, mb18, mb19はそれぞれ9株、mb4, mb7, mb10, mb11, mb12, mb15, mb17, mb20, mb21は10株の平均である。

FN-2で行った群内交配のうち、Ma - Mdの4種の組み合わせについて、接種源の両外側および菌叢の接触部の計3か所で分離した菌株の栽培特性を図-15に示すが、いずれの組み合わせでも分離位置によって異なる特性を示し、両菌叢の接触部から分離した菌株は接種源の両外側から分離した菌株に比べ子実体収量および収穫日数とも良好な特性を示した。今回比較した4種の組み合わせでは、前述したようにMcおよびMdの組み合わせは両菌叢の接触部のみにしかクランプ結合は認め

られなかったことから、交配時におけるクランプ結合の形成範囲の差異と分離位置による栽培特性の相違とは密接な関連があるものと推定された。しかし、MaおよびMbは菌叢の全面にクランプ結合が観察されたが、このような組み合わせであっても菌叢の接触部から分離した菌株は接種源の両外側から分離した菌株に比べ優れた特性を示した。

菌叢の接触部から分離した90株のうち4株は調査した期間内に子実体を全く形成しなかった。子実体を形成した86株の子実体収量および子実体収穫日数を図-16, 17に示すが、子実体収量は11-253gの極めて幅広い範囲に不規則に分布した。しかし、その多くは150g以下で、子実体の初回収穫日数も発生操作後24日以上を要するなど、二核菌糸元株に比べ大幅に劣る傾向を示したが、6株は200g以上の収量を示した。

栽培に供した群内交配株の栽培特性を交配に用いた単孢子一核菌糸毎に分類すると、図-18に示すように、その多くが平均子実体収量100g以下のなかにおいて、mb19との組み合わせによる交配株の平均子実体収量は190.6g、初回収穫日数は19.7日で、他の単孢子一核菌糸による組み合わせと比べ優れた特性を示した。以上のことから、組み合わせ能力の高い一核菌糸の存在が示唆された。しかし、ナメコではこのような一核菌糸の組み合わせ能力に加え、前述したような交配時における核移動の難易が栽培特性に大きく関与していることも考えられた。

#### IV 結 論

ヒラタケの単孢子一核菌糸は閉鎖系培地でその14%が一核性子実体を形成し、開放系培地では78%が二核性子実体を形成した。一核性子実体の単孢子一核菌糸の交配型は、もとの一核菌糸の交配型と同一であり、かつ、交配型の分離は認められなかったことから単孢子一核菌糸の核型は単相であると考えられた。しかし、開放系培地で形成した二核性子実体が胞子汚染によるものとの証拠は得られなかった。

ヒラタケ群内交配株の子実体収量は、二核菌糸元株比で約0.8を中心とするほぼ正規分布を示し、同一組み合わせの正逆で栽培特性の相違は全く認められなかった。しかし、ヒラタケ一核菌糸の発芽能力とこれと交配して得られた二核菌糸の子実体収量との間に相関が認められるか否かを検討したが明確な関係は見いだせず、従って、交配に用いる一核菌糸の選抜指標として発芽性を用いることは不適當と考えられた。

ナメコ群内交配株の栽培特性は子実体収量および収穫日数とも二核菌糸元株に比べ大幅に劣る結果を示し、しかも、菌株によっては同一組み合わせの正逆でかなりの差が認められた。また、両菌叢の接触部から分離した菌株は接種源の外側から分離した菌株に比べ、子実体収量および収穫日数とも良好な特性を示した。また、ナメコの群内交配では、菌糸の先端部を除くほとんどの菌叢にクランプ結合が観察されたものから、両菌叢の接触部のみにしかクランプ結合が認められないものまで、組み合わせによってクランプ結合の形成範囲には大きな差がみられた。従って、交配株の分離位置による栽培特性の相違と交配時におけるクランプ結合の形成範囲の差異とは密接な関連があるものと考えられた。

文 献

- 1) 善如寺 厚：きのこ学，古川久彦編，共立出版，1992，p.158 - 181.
- 2) 竹原太賀司：細胞融合による食用きのこの育種に関する研究－ヒラタケおよびナメコの再生株菌糸栽培特性の均一性－：福島県林業試験場研究報告，**30**，1 - 17 (1998).
- 3) 中井幸隆：菌蕈研報，**24**，1 - 202 (1986).
- 4) 有田郁夫：同 上，**6**，49 - 57 (1968).
- 5) Takemaru, T. : *Biol. J. Okayama Univ.*, **7**, 133 - 211 (1961).
- 6) 石川辰夫：きのこ学，古川久彦編，共立出版，1992，p.141 - 157.
- 7) 中井幸隆：同 上，p.55 - 78 (1992)
- 8) 李 壁如，衣川堅二郎：日菌報，**22**，89 - 102 (1981).
- 9) 李 壁如，衣川堅二郎：同 上，**23**，177 - 186 (1982).
- 10) 衣川堅二郎：“きのこの遺伝と育種”，築地書館，1990，p.129 - 156.