

立ち枯れに強いエリンギ新品種の開発

2009年度～2011年度

門屋 健

要 旨

立ち枯れに強いエリンギ新品種を開発を目的に、当センター保有のエリンギ13菌株を用いて、単胞子交配により交配菌株を作出した。単胞子分離より得られた98個の一核菌糸を用いて、28組み合わせにより278個の交配菌株を作出した。得られた交配菌株の菌糸伸長試験と親株との独立性の検討から132菌株の交配菌株を選抜し、その中からトリコデルマ属菌とのオガ粉を用いた対峙培養試験により害菌抵抗性を有する27菌株の交配菌株を選抜した。そのうちの15菌株について、ビン栽培試験による子実体発生量調査と害菌接種による栽培レベルでの害菌抵抗性の検討を実施し、優良菌株として3菌株を選抜した。

I はじめに

ヒラタケ属の外国産きのこのエリンギは、当センターで1993年に人工栽培方法を開発した。2002年には、「とっとき1号」、「とっとき2号」を品種登録しているが、発生室内の雑菌密度が高くなると発生不良、いわゆる立ち枯れが生じ生産性が著しく低下する(澤 2001)。発生室の消毒等をこまめに行いトリコデルマ属菌の密度を低下させることで、立ち枯れの発生は減少するが、根本的な解決はなされていない(高尾ら 2003)。また、食の安全・安心の観点からも消毒等の回数を少なくするには、耐病性品種を開発する必要がある。そこで、当センターが保有するエリンギ菌株を交配し、立ち枯れに強い新品種を開発する。

II 方法

1. 既存菌株の病害抵抗性の検討

(1) 既存菌株の菌糸伸長試験

センター保有のエリンギ13菌株(以下E 1～E

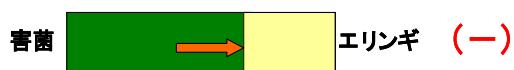
13)について、試験管斜面培地からポテトデキストロース寒天(以下PDA)平板培地に移植し菌糸が伸長したものを、5mmのコルクボーラーで打ち抜きPDA平板培地に接種し25℃の恒温器で7日間培養後の菌糸伸長量を測定した。

(2) 既存菌株の病害抵抗性の検討

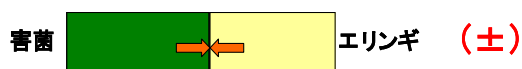
培地はスギオガ粉とフスマ、ホミニーフードを容積比10:3:0.5で混合し、含水率約65%に調整した。この培地を長さ25cm、直径3cmの両口試験管の中央部に40g詰め、両端にシリコ栓をし、121℃で1時間高压滅菌し、1. (1)と同様に前培養したエリンギ菌株を片側に接種した。培地の長さの3分の1程度にエリンギ菌糸が伸長後に、反対側にPDA平板培地において前培養したトリコデルマ属菌の菌糸片を接種し、更に両菌糸が接触するまで培養した。接種したトリコデルマ属菌は、*Trichoderma atroviride* (KRCF222)、*T. virens* (KRCF307)、*T. longibrachiatum* (KRCF306)の3種類である。培養は23℃の恒温器内で行い、エリンギ

菌糸とトリコデルマ菌糸が接触した部分を原点として、両菌糸が拮抗し帯線が形成された場合を±、エリンギ菌糸が害菌側に伸長した場合を+、害菌がエリンギ菌糸側に伸長した場合を-と判定した(図-1)。

害菌の侵害力が強い場合



害菌の侵害力があまり強くない場合



害菌の侵害力が弱い場合

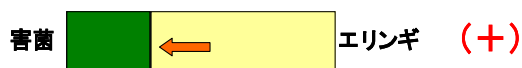


図-1 対峙培養の判定方法

2. 胞子交配による交配菌株の作出

(1) 一核菌糸の取得

1. (2) でスクリーニングした菌株について、常法によりビン栽培試験を行い、各菌株の子実体形成能と発生量を調査した。また、収穫した子実体の傘のヒダから胞子を採取し、滅菌水で希釈後、PDA平板培地に塗布した。25℃で1週間から10日間培養後、形成したコロニーの中で周辺コロニーと接触していないものを再度PDA平板培地に移植し、7日間培養後一核菌糸を選抜した。

(2) 一核菌糸の交配試験

2. (1) で得られた一核菌糸同士の中から、子実体発生量の多かったE2とその他菌株との組み合わせで、各組み合わせとも5個の一核菌糸同士をPDA平板培地上で対峙培養した。また、E2以外の菌株同士についても交配菌株を作出した。互いの菌叢が接触後1週間程度経過した後、菌糸片を再度PDA平板培地に移植し、7日間培養後交配菌株を作出した。また、2009年度に得られた一核菌糸同士の中から、2009年度と異なる6系統の組み合わせで一核菌糸同士をPDA平板培地上で対

峙培養した。同様に互いの菌叢が接触した後、菌糸片を再度PDA平板培地に移植し保存した。7日間培養後に作出した交配菌株の菌糸のクランプ結合の有無を顕微鏡で確認し、2核菌糸を選別した。

3. 作出した交配菌株の選抜

2. (2) により作出した交配菌株について、

1. (1) と同様にPDA平板培地に接種し、7日間培養後の菌糸伸長量を測定した。

4. 病害耐性を持つ交配菌株の選抜

(1) 選抜した交配菌株の独立性の検討

選抜した交配菌株をそれぞれ両親の菌株と一緒にPDA平板培地に対峙培養し、帯線の有無により独立性を判定した。

(2) 選抜した交配菌株の病害耐性

培地は1. (2) と同様の配合条件で調整した。この培地を两口試験管に40g詰め高压滅菌した。前培養したエリンギ交配菌株を片側に接種し菌糸が伸長後、反対側にトリコデルマ属菌を接種し培養した。接種したトリコデルマ属菌は、*T. longibrachiatum* (KRCF306)、*T. atroviride* (KRCF222) の2種類で、侵害力が弱い*T. vires* (KRCF307) は使用しなかった。病害耐性は、1. (2) 同様図-1により判定した。

(3) 選抜した交配菌株の子実体発生量

選抜した病害耐性菌株について、子実体発生量を調査した。培地は通常のエリンギ栽培と同様で、常法により殺菌し、選抜した交配菌株種菌を接種した。23℃で40日間培養、菌かき後、15℃、湿度90%の発生室で子実体を発生させ、1ビン当たりの子実体発生量と本数を調査した。

(4) 選抜した交配菌株の栽培レベルでの病害抵抗性の検討

選抜した病害耐性菌株について、栽培レベルでの抵抗性を検討した。4. (3) と同様の条件で作成した菌床を40日間培養、菌かき後、以下の処理条件でトリコデルマ属菌を接種した。

処理①：菌床面に前培養したトリコデルマ属菌の菌糸および孢子懸濁液を各菌床20mlずつ接種した。
 処理②：PDA平板培地で前培養したトリコデルマ属菌の菌糸片を5mmのコルクボーラーで打ち抜き、各菌床上面に3個ずつ接種した。接種した菌床は、無処理のものと同条件で子実体を発生させ、病害への被害率や子実体の形態を調査した。また、子実体の柄について、子実体1本ずつ触診により肉質の硬さを判定した。判定区分は以下の5段階である。1：非常に柔らかい、2：柔らかい、3：やや柔らかい、4：やや硬い、5：硬い

Ⅲ 結果と考察

1. 既存菌株の病害抵抗性の検討

(1) 既存菌株の菌糸伸長試験

各菌株の菌糸伸長状況を図-2に示す。菌株により菌糸伸長速度に差が認められた。また、試験管斜面培地での保存により、菌糸伸長能が失われた菌株はなく、どの菌株も以後の試験に使用可能であった。

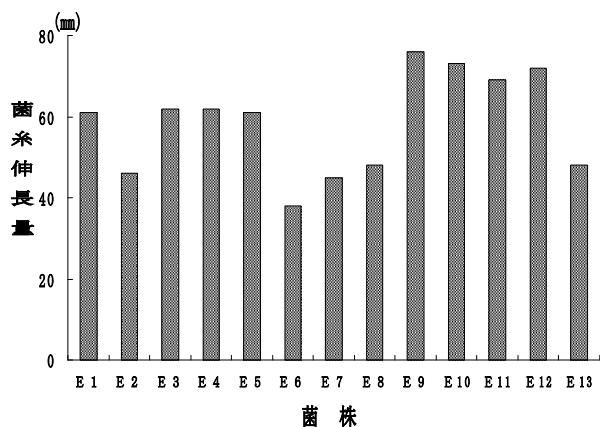


図-2 各菌株の菌糸伸長量

(2) 既存菌株の病害抵抗性の検討

3種のトリコデルマ属菌に対する耐性は、ERINGI菌株により差が認められた(表-1)。また、E1(とっとき1号)とE2(同2号)に比べ、害菌への耐性が同等かそれ以上と考えられる菌株は、*T. atroviride*では9菌株、*T. longibrachiatum*

では7菌株、*T. virens*では9菌株であった。

表-1 各菌株の害菌に対する抵抗性

菌株名	トリコデルマ属菌		
	T. a	T. l	T. v
E 1	—	+	+
E 2	—	+	+
E 3	—	+	+
E 4	+	±	+
E 5	±	±	+
E 6	±	+	+
E 7	±	±	±
E 8	—	—	±
E 9	+	+	+
E 10	+	+	+
E 11	+	+	+
E 12	+	+	+
E 13	±	+	+

2. 孢子交配による交配菌株の作出

(1) 一核菌糸の取得

1. (2)で、*T. virens*に対して+でないものを除いた11菌株から一核菌糸の取得を行った。子実体形成能は11菌株全てで維持され、奇形が多く発生する菌株は見られなかった。また、図-3に示すとおり、子実体発生量はE2が他菌株と比べて多かった。表-2に示すとおり11菌株から98個の一核菌糸を取得した。

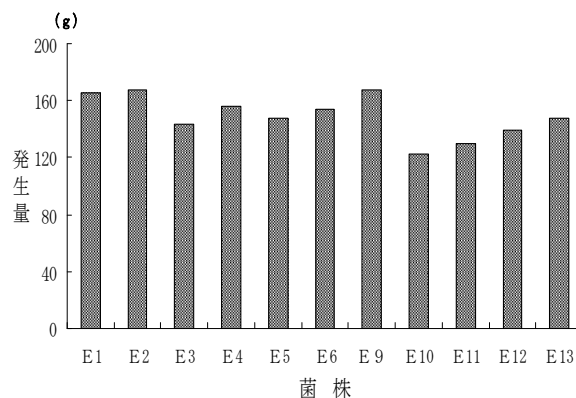


図-3 各菌株の子実体発生量

表－2 各菌株から取得した一核菌糸数

菌株名	一核菌糸数
E 1	5
E 2	16
E 3	15
E 4	6
E 5	9
E 6	14
E 9	6
E 10	7
E 11	6
E 12	5
E 13	9
計	98

(2) 一核菌糸の交配試験

E 2 と他菌株との交配から作出した200個の交配菌糸のクランプの有無を確認し、140個の交配菌株を選抜した(表－3)。また、E 2 以外の菌株の組み合わせから78個の交配菌株を作出し、同様に43個の交配菌株を選抜した(表－4)。

表－3 交配の組み合わせと選抜菌株数

交配組み合わせ	交配試験数	選抜菌株数
E 2 × E 3	25	25
E 2 × E 4	25	15
E 2 × E 5	25	10
E 2 × E 6	25	23
E 2 × E 9	25	18
E 2 × E 10	25	16
E 2 × E 11	25	12
E 2 × E 13	25	21
計	200	140

(3) 作出した交配菌株の選抜

選抜した140菌株の菌糸伸長試験から、上位103菌株を、続いて43菌株の菌糸伸長試験から上位31菌株を、合計134菌株を再選抜した。

(4) 選抜した交配菌株の独立性の検討

選抜した134菌株のうち132菌株で帯線が認められた。これら132菌株は、両親株の形質を持った交配菌株であると考えられた。

表－4 交配の組み合わせと選抜菌株数

交配組み合わせ	交配試験数	選抜菌株数
E 3 × E 5	4	1
E 3 × E 6	2	0
E 3 × E 9	2	1
E 3 × E 10	2	1
E 3 × E 13	2	0
E 5 × E 5	6	2
E 5 × E 6	8	6
E 5 × E 9	8	7
E 5 × E 10	8	6
E 5 × E 13	8	3
E 6 × E 6	1	0
E 6 × E 9	4	2
E 6 × E 10	4	2
E 6 × E 13	4	2
E 9 × E 9	1	0
E 9 × E 10	4	4
E 9 × E 13	4	3
E 10 × E 10	1	0
E 10 × E 13	4	3
E 13 × E 13	1	0
計	78	43

3. 病害耐性を持つ交配菌株の選抜

(1) 選抜した交配菌株の病害耐性

2. (3) で選抜したE 2 と他菌株との交配から作出した101菌株の2種のトリコデルマ属菌に対する耐性は、菌株により差が認められた(表－5)。また、とつとき2号と比較して、害菌への耐性が同等かそれ以上と考えられる菌株は*T. longibrachiatum*に対して+、*T. atroviride*に対して+か±の23菌株で、これらを病害耐性菌株として

表－5 交配菌株の病害耐性

	T. 1		
	+	±	-
+	11	2	0
T. a ±	12	43	0
-	0	23	10

T. 1 : *T. longibrachiatum*、T. a : *T. atroviride*

※太字は、害菌への耐性がとつとき2号と同等かそれ以上と考えられる菌株

選抜した。同様に2. (3) で選抜した31菌株からとっとき2号と比較して害菌の耐性が同等かそれ以上と考えられる4菌株を選抜した。

(2) 選抜した交配菌株の子実体発生量

3. (1) で選抜した23個の病害耐性菌株の子実体発生量は、各菌株間で有意差が認められた(ANOVA, $p < 0.01$)。そのうち、子実体発生量お

よび発生に要する日数で対照区のとっとき2号と同等かあるいは優れている11菌株を、病害耐性がある交配菌株として選抜した(図-3)。

(3) 選抜した交配菌株の栽培レベルでの病害抵抗性の検討

3. (2) で選抜した11菌株と3. (1) で2010年度に選抜した4菌株を合わせた15菌株につ

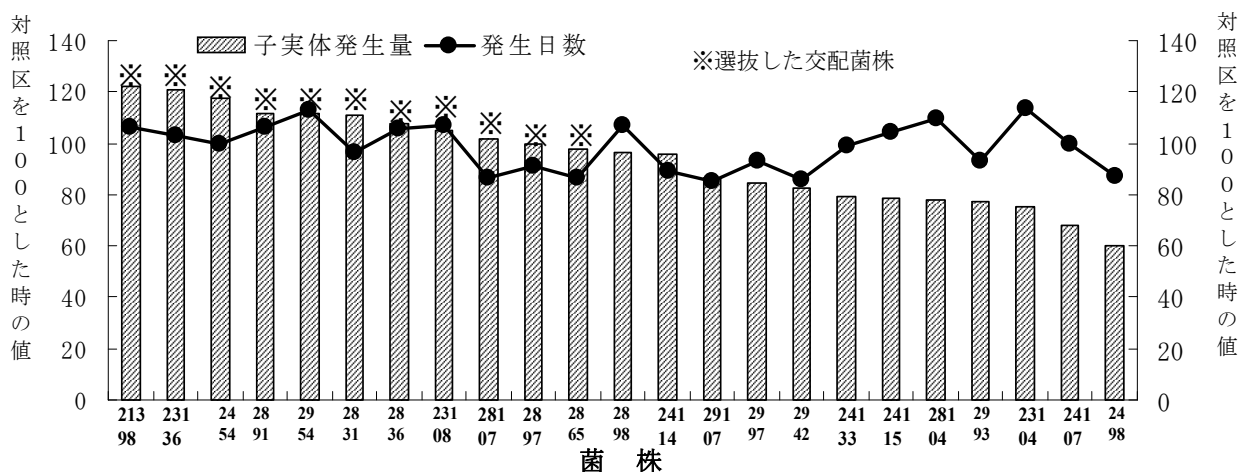


図-3 交配菌株の子実体発生量

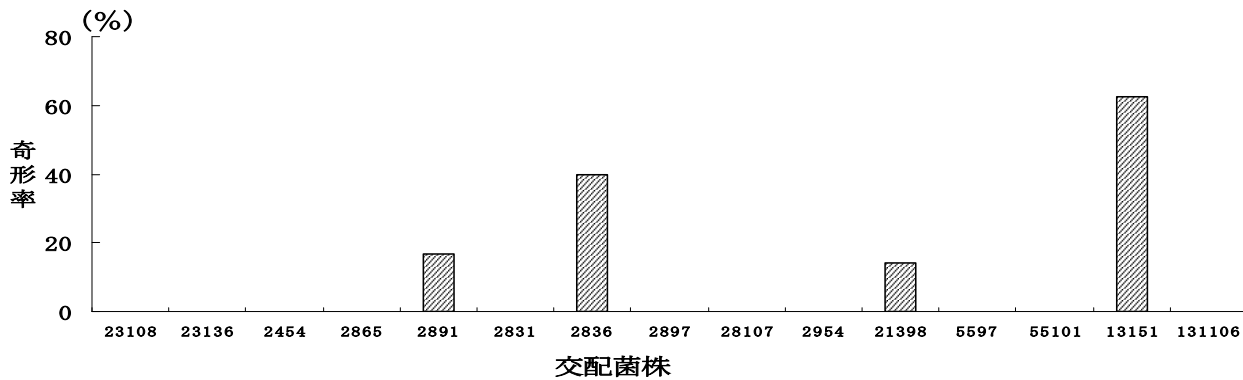


図-4 交配菌株の子実体の奇形率

いて栽培レベルでの病害抵抗性を検討した。各菌株とも菌かき後の菌床への害菌の胞子および菌糸懸濁液の接種、または害菌菌糸片の接種によって子実体発生が損なわれるものはなかった。このことは、菌糸レベルでの害菌抵抗性の選抜が栽培レベルでの結果に反映することを示唆した。一方、子実体の形態には影響が見られ、図-4のとおり4菌株で、14.3~62.5%のピンで奇形が発生し

た(写真-1)。これら4菌株は、菌糸状態では害菌抵抗性を有していたが、今回の試験のような害菌の接種に対しては奇形が発生する特性を有する菌株であると考えられた。

各菌株の子実体発生量に対する害菌の影響は認められず、害菌の接種による子実体発生量の低下はなかった。一方、各菌株の子実体発生までに要する日数への影響が認められ、4菌株で日数の増



写真－１ 害菌接種により奇形になった子実体
加が見られた。これは、害菌の接種により菌かき後の菌床面の菌糸の成長が遅延することが観察されたことから、そのため原基の形成が影響を受けたためと考えられた。

図－５に交配菌株の子実体発生に要する日数を示す。対照区のとつとき２号と比較して、15菌株のうち6菌株で日数が短縮され、効率的な栽培に適した菌株であると考えられた。

図－６に交配菌株の子実体柄の肉質の平均値を示す。とつとき２号の柄の硬さは、平均で3.75と

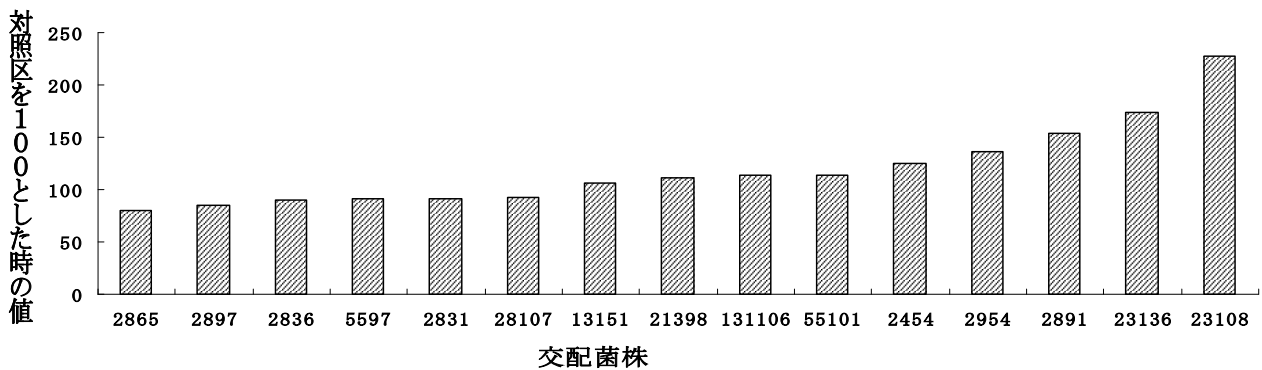
やや硬いとやや柔らかいの間であったのに対して、今回試験した15菌株のうち13菌株の平均硬さは、4.08～4.94とやや硬い～硬いの範囲に含まれており、柄の肉質に関しては、優良な交配菌株が選抜されたと考えられた。

以上の結果から、害菌への抵抗性を有し、子実体発生量と子実体発生に要する日数が優れ、とつとき２号の柄の肉質に比較して硬い肉質を持つ優良な交配菌株を選抜した（写真－２）。今後は、選抜した３菌株について、生産者レベルでの試験栽培が実施され、より実用的な優良菌株が再選抜されることが期待される。

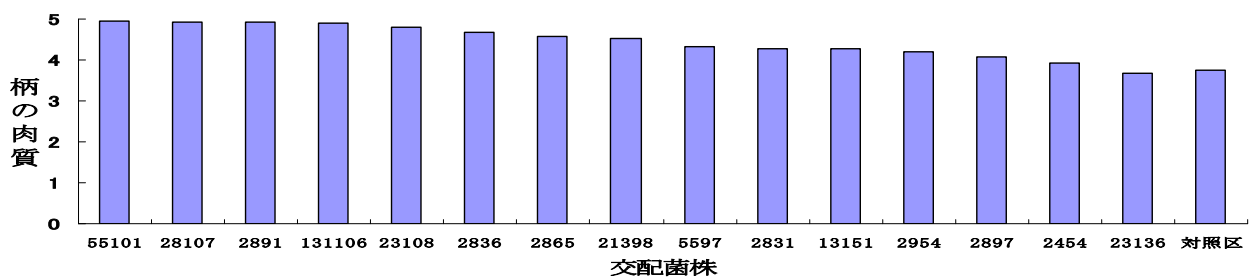
なお、独立行政法人森林総合研究所九州支所の宮崎和弘氏には、トリコデルマ属菌を譲渡していただきました。ここに、深謝の意を表します。

引用文献

澤章三（2001）新特産シリーズ エリンギ 安定栽培の実際と販売・利用．157pp, 社団法人農山漁村文化協会, 東京.



図－５ 交配菌株の子実体発生に要する日数



図－６ 交配菌株の子実体柄の肉質



写真-2 選抜した優良菌株

左上：No.2831、左下：No.2865

右上：No.28107（左：対照区、中・右：選抜菌株）

高尾宏毅・石田朗・澤章三（2003）エリンギの立ち枯れの解明と防除法の確立．愛知森林セ報40：31-35