

きのこ類の品種改良に関する研究

昭和61～平成2年度県単

加藤 龍一
澤 章三

要 旨

バイオテク技法を柱に、従来の育種法も取入れた品種改良試験を行った。新技法の実験系の基礎となるプロトプラストの分離条件の検討を、ヤナギマツタケ、ヒラタケ、マイタケ、クリタケについて行った。中でも、本県が開発に力を入れているヤナギマツタケについては、コルヒチン処理による孢子交配及びプロトプラスト由来の子実体を発生させ、その形態、発生量等を調べた。同時に発生培地の組成、菌糸伸長量及び培地重量の推移等についても、子実体の形態発生量等と関連させて検討を行った。この結果、いずれの方法からも様々な形態を持つ個体が発生した。一方、発生培地培地との関連においてこれらの点を見ると、子実体の変異の原因としては、コルヒチン処理やプロトプラスト化の他に、発生培地等の影響がかなり大きく子実体に働いているものと推察された。こうしたことから、キノコの品種改良には、菌自体のみならず、培地の研究も同時に含めた両者一体となった改良開発が今後は重要と考えられた。

I. はじめに

食用キノコ類は、近年、食生活の多様化に伴い、従来の栽培種に加え、新たに、ヤナギマツタケ、マイタケ、クリタケ等、これまであまり一般的ではなかった野生種のキノコ類の中から、市場性や嗜好性の高い品種の開発が望まれるようになってきた。そこで、バイオテクノロジーの技法に従来の育種方法も加え、これらのキノコを栽培目的にかなう品種に改良しようとするものである。

II. 試験方法

1. 対象とした食用キノコ

ヤナギマツタケ、マイタケ、クリタケ、ヒラタケを用い、菌糸の培養的性質の検討、プロトプラストを分離を行った。

この内、ヤナギマツタケについては、従来法によるコルヒチン処理由来の子実体の作出及びバイ

テク技法を用いてプロトプラスト由来の子実体の作出とプロトプラストの融合を行った。

2. プロトプラストの分離

主にヤナギマツタケについて行った。なお、分離に関わる菌糸の培養的性質の検討及び分離の方法については、「細胞融合による優良個体の作出」で述べた方法に準じて行った。

3. オガ屑培地の含水率、培地重量

オガ屑培地の樹種別含水率、子実体発生までの培地重量と発生量を調査した。

含水率については、各樹種のオガ屑を絶乾状態にした時点で、容積1リットル当りの重量及び、一定量の水を加えた場合の含水率を測り、樹種間での比較を行った。

栄養添加物(ヌカ、フスマ)を加えた場合についても同様な方法で調べた。

一方、接種後の培地含水率の推移については、子実体発生用に市販されている栽培ビン（800 mlプロービン）を用い、培地の組成別に重量の推移を調べ、接種時重量との間で比較した。

4. コルヒチン処理による子実体の作出

ヤナギマツタケ2菌系（ACY8601,ACY8801）を用い、倍数体キノコを作出する試みとして、（麦芽+酵母）の液体培地（MY培地：M：Y=2.0：0.5%）に、0.05%のコルヒチンを添加し、ACY8601を培養した。

一方、無添加の培地でも、2菌系を培養しそれから子実体を発生させた。処理、無処理由来の子実体胞子をそれぞれ交配させて種菌を作り、スギ及びヒノキのオガ屑にフスマを添加した培地（オガ屑：フスマ=10：4容積比）に再び子実体を発生させた。

5. プロトプラスト由来の子実体の作出

ヤナギマツタケを用いた。プロトプラスト分離及び再生の条件は、MY培地で、3~5日間、24℃で静置培養した菌体を、以下の酵素液（酵素+緩衝液）で処理した。

酵素には、（RS+Nov）、濃度（2：1%）の組合せを、

緩衝液（浸透圧調整+pH調整）には、（0.6 M MgSO₄+0.05 M コハク酸-NaOH、pH 5.6）を組合せて調整した。

再生培地には、MY培地に、浸透圧調整剤として、0.6 M サッカロース（Suc）と1.5% 寒天を加え、先の緩衝液で調整した固体培地を用いた。

発生培地の作成については、「細胞融合による優良個体の作出」で述べた方法に準じて行った。

6. プロトプラストの融合

ポリエチレングリコール（PEG）1500、4000、6000（30%）+塩化カルシウム（0.05M）+グリシン（pH 9.0）を用いて行った。

本文中で略記した、培地や酵素等の内訳については、表-1に示した。

III. 結果と考察

1. 菌糸の培養の性質について

（1）寒天培地での菌糸伸長量

1）キノコの種類間での比較：

表-1 培地及び酵素

略号	培地組成・酵素名	使用濃度 (%)	
培地	MY	M: 麦芽エキス	1.0~2.0
		Y: 酵母エキス	0.4~0.5
	MYG	M: 酵母エキス	0.4~0.5
		Y: 酵母エキス	0.4~0.5
		G: グルコース	1.0~2.0
	MYP _o	M: グルコース	1.0~2.0
		Y: グルコース	1.0~2.0
		Pe: ペプトン	0.4~0.5
	MYP _o	M: ペプトン	0.4~0.5
		Y: ペプトン	0.4~0.5
		Po: ペプトン	0.4~0.5
	PDA	P: ポテト浸出液	市販品39g/1,000ml (SIGMA)
D: ブドウ糖			
A: 寒天			
A	A: 寒天	0.7~1.5	
酵素	RS	セルラーゼ [®] オノズカ [®] RS	2.0~3.0(粉体)
	R-10	セルラーゼ [®] オノズカ [®] R10	2.0~3.0(粉体)
	Gul	β-グルクロニダーゼ	0.1~0.3(粉体)10.0(液体)
	Chi	キチナーゼ (SIGMA)	0.1~0.3(粉体)
	Nov	ノボザイム234 (ノボ社)	1.0~3.0(粉体)
Dri	ドリセララーゼ	1.0~3.0(粉体)	

ヤナギマツタケ、マイタケ、クリタケ、ヒラタケについて、菌糸伸長量と培養培地との関係について、PDA培地を対象区とみなして、培地別及びキノコの種類別に調べた。

これらの結果については、培地と菌糸伸長量との関係を、図-1に、キノコの種類と培地の適合性との関係を、図-2に表した。

グラフの高さは、菌糸伸長量の最大値を100とした指数で比較して表した。

ちなみに、図-1では、全ての培地で最も早く伸びたヒラタケを基準の100とした。

この結果、寒天培地での菌糸の伸びは、ヒラタ

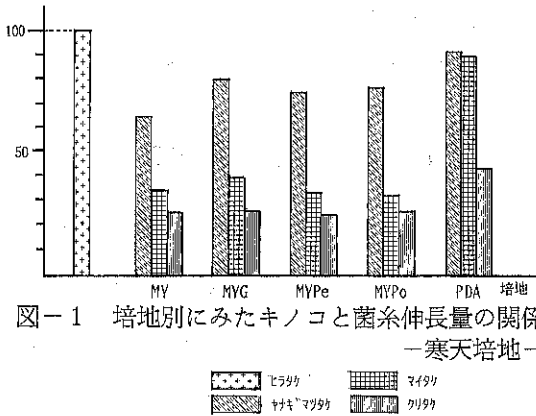


図-1 培地別にみたキノコと菌糸伸長量の関係
—寒天培地—

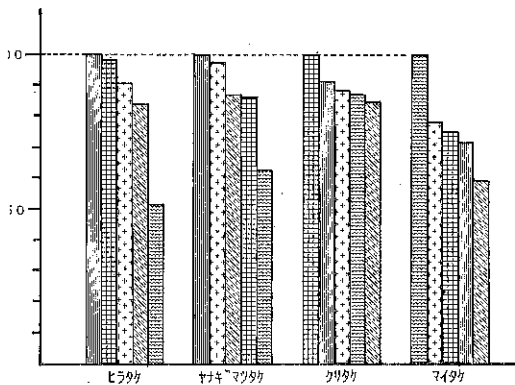


図-2 キノコ別にみた培地と菌糸伸長量の関係
—寒天培地—

ケが最も早く、逆に、クリタケが最も遅れた。

一方、キノコ別に培地の好みをみた場合、ヒラタケには、(麦芽+酵母)培地や、これにペプトンを加えた培地が、

ヤナギマツタケには、(麦芽+酵母)と、これにペプトンまたはグルコースを加えた培地が、

クリタケには、(麦芽+酵母)培地が、マイタケには、PDA 培地がそれぞれ適すると思われた。

反対に、ヒラタケ、ヤナギマツタケは、PDA 培地での菌糸の伸長は遅れた。

1) キノコの系統間での比較:

ヤナギマツタケの3系統 (S、F、M) を用いて、接種後4日及び7日目の菌糸伸長量を調べたのが、図-3である。

この結果、培地間でみた場合、PDA 及び MYGA 培地では、S系統の菌糸の伸長が他の2系統に比べ遅く、培地内の比較でも同じ傾向がみられた。しかし、MYA 培地では、3系統の間には伸長量に差はみられなかった。

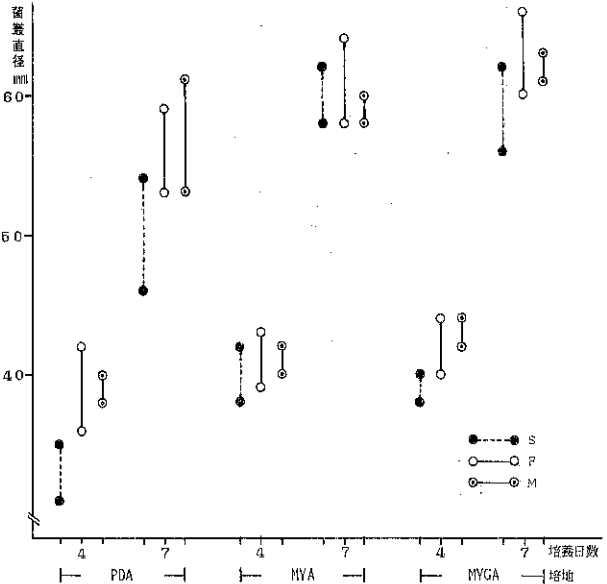


図-3 系統別菌糸伸長量 ヤナギマツタケ
(接種後4及び7日目) —寒天培地—

これらのことから、キノコの種類が同じでも、培地や系統によって菌糸の伸びに差があることが判った。

(2) 液体培地での培養菌体重量

1) キノコの種類間での比較:

ヤナギマツタケ、マイタケ、クリタケ、ヒラタケについて、液体培地で前項と同様な試験を行い、培地と培養菌体の生重量の関係を調べた結果が、図-4に、

キノコの種類と培地の適合性の関係を、図-5に表した。

この結果、一定期間内の培養で菌体の生重量は、どの培地でも、ヒラタケが最大で、次いでヤナギマツタケであった。

反対に、クリタケの菌体重量はどの培地でも最も少なく、マイタケの菌体重量も増えなかった。

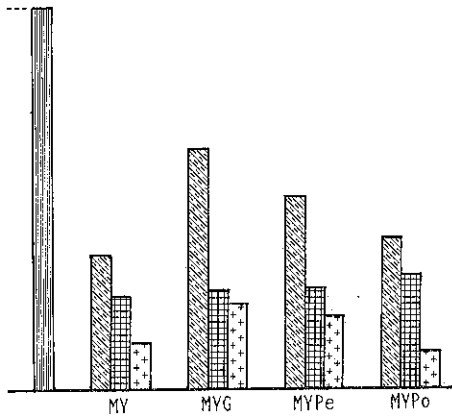


図-4 培地別にみたキノコと菌糸伸長量の関係
—液体培地—

ヒラタケ
 マイタケ
 ヤナギマツタケ
 クリタケ

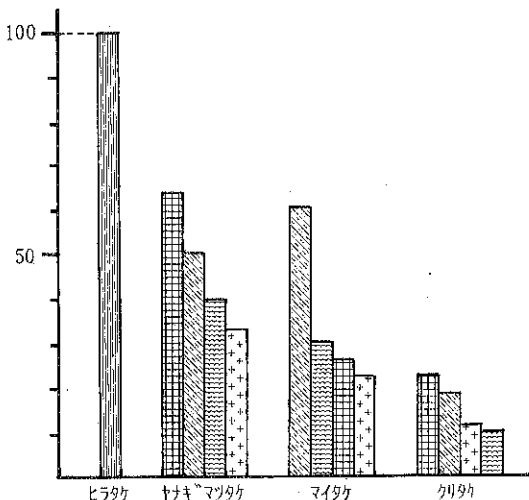


図-5 キノコ別にみた培地と菌体生重量の関係
—液体培地—

MYG
 MYPo
 MY
 MYPe

これらの結果は、図-1の寒天培地での菌糸伸長量と同じ傾向を示した。

一方、キノコ別に培地と菌体生重量の関係をみた場合、ヒラタケは、全ての培地で最も短期間で菌体が増加した。

ちなみに、同じ期間を培養した場合、全体とし

て、ヒラタケはヤナギマツタケの約2倍、クリタケの約5倍の菌体重量を示した。

ヤナギマツタケには、(麦芽+酵母+グルコース)培地が、

マイタケには、(麦芽+酵母)培地にペプトンを加えた培地が、

クリタケは、(麦芽+酵母)培地にグルコースやペプトンを加えた培地が適するよう思われた。

しかし、ヒラタケは、全ての培地で最も短期間で菌体が増加した。

2) 培養日数と菌体重量の関係:

ヤナギマツタケ(F系統)を用い培養培地別に両者の関係を調べた結果が、図-6である。

この結果、(麦芽+酵母)培地中の麦芽の量によっても菌体重量に差がみられることが判った。

こうしたことから、プロトプラストの分離に必要な、液体培地中の培養菌体の発育状況を、外見上の菌叢直径からあらかじめ予測することも可能と思われた。

一方、ヤナギマツタケで行った、図-5の液体

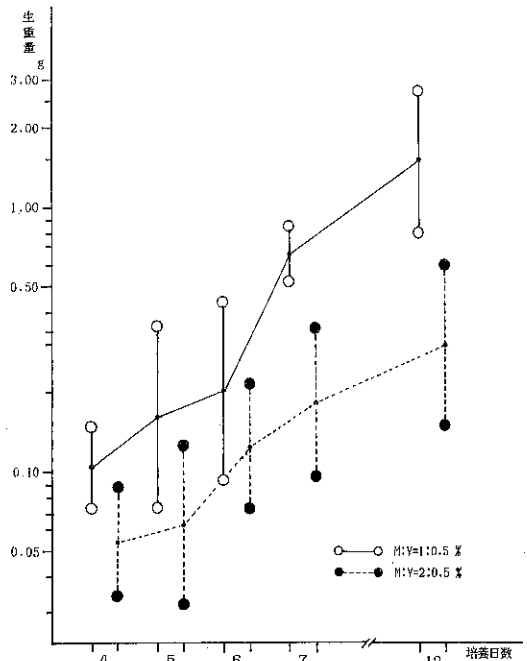


図-6 培養日数と菌体生重量の関係
ヤナギマツタケ —液体培地—

培地中における菌糸の発育経緯を全体的にみると、間欠的ではあるが、接種後5日目あたりで菌体の増加率が急に上昇するのがみられた。

このことから、培養期間も培養菌糸の生理的条件下に微妙な影響を与えることが想像された。

以上の試験結果から、キノコ菌糸間の培養的性質のちがいは、培養培地の影響もさることながら、本来から受け継がれて来た、そのキノコに固有な性質に影響される方が大きいのではないかと思われた。

ちなみに、4種類の中では、クリタケは発育が最も遅い菌であり、逆に、ヒラタケやヤナギマツタケは発育のスピードが早い菌であった。

菌糸の発育と培養培地との関係を、当試験の目的と関連させてみた場合、端的に言って、菌糸の培養条件には、培地組成等の他、培養方法の違いが菌糸の生理的条件下に影響を及ぼすとみられ、さらに、この点の検討が重要と思われた。

菌糸の培養的性質に関しては、これらの点を基本的に考慮しながら、その都度、具体的な方法を見いだすことが、当テーマの基礎となる「プロトプラスト」の分離に、重要であると考えられた。

2. プロトプラストの分離に用いる液体培地の条件及び分離結果について

(1) 培地における pH の動き

1) 滅菌後の pH :

一般に培地は、滅菌するとpHが変わる。

このことについては、「細胞融合による優良個体の作出」で述べたとおりである。

2) 接種後の培地 pH の動き :

ヤナギマツタケを用いて、培養日数とpHの関係を調べた結果が、図-7、図-8である。

この試験では、培養容器の口を、パラフィンで密封状態にして培養した。

ヤナギマツタケ菌の培地pHは、接種後しばらくは変化はみられないが、その後は培養日数の経過

に伴いpHが上昇し、アルカリ側に向かう傾向がみられた。

ちなみに、この傾向は通気性の良い培地ほどp

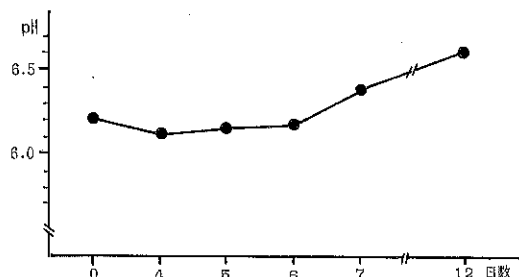


図-7 培養日数と培地pHの関係(密封培養)
ヤナギマツタケ 液体培地 M:Y=1:0.5%

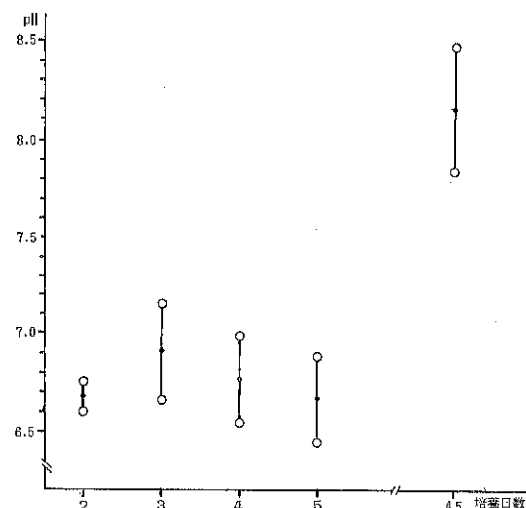


図-8 培養日数と培地pHの関係
ヤナギマツタケ 液体培地

Hの上がり方は早く、1か月以上の培地では、pHの値は、8.0を越えた。

ヤナギマツタケ菌の場合は、発育が早いもの程、また、早く発育させたもの程、培養培地はアルカリ性になっていると思われる。

この様な、培地におけるpHの変化が菌糸の培養的性質とともに、プロトプラストを分離に際して、重要な条件になるものと考えられた。

(2) プロトプラストの分離について

プロトプラストを分離する酵素液に関しては、「細胞融合による優良個体の作出」で述べたとおりである。

1) ヤナギマツタケ :

酵素の組合せを決めたうえで (RS+Chi)、浸透圧調整剤の種類及びpHを変えて試験を行った結果が、図-9である。

これらの結果をみると、分離数は、緩衝液のpHの値に影響を受けると思われた。

ちなみに、浸透圧調整剤にマンニトールを用いた pH 5.6 の条件では分離数が少なくなった。そこで、酵素を、(Nov+RS) 及び (Nov+R-10) に変えて試験した結果が、図-10である。

この結果、(Nov+RS) の方が (Nov+R-10)

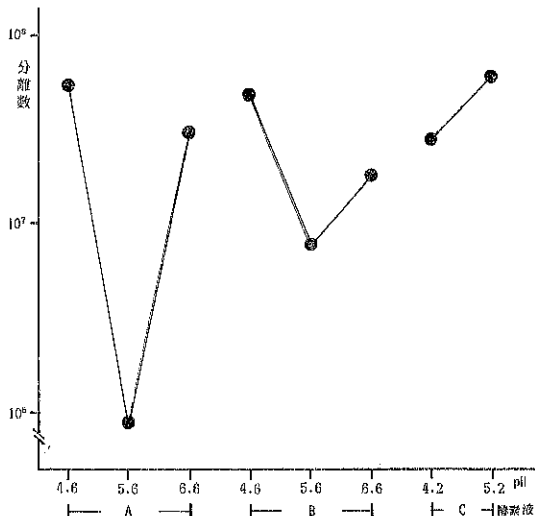


図-9 酵素液の組成及びpH別にみたプロトプラスト分離数 ヤナギマツタケ

A: 0.6 M 2-(2-β-D-グルコピラノシド)リボシトール RS+Chi
 B: 0.6 M 2-(2-β-D-グルコピラノシド)リボシトール RS+Chi
 C: 0.6 M MgSO₄ · 0.05 M コハク酸

に比べ有効であった。

ちなみに、(Nov+R-10) の場合も、pH 5.6 の条件では、図-9と同様な傾向を示した。

これらの結果から、分離数は、酵素と緩衝液のpHの影響を受けるものと思われた。

そこで、緩衝液を同一条件 (0.6 M MgSO₄-0.05M コハク酸) とし、酵素みを変えて分離数を調べた結果が、図-11である。

これら3図の結果から、ヤナギマツタケには、(Nov) を含む酵素が有効と思われた。

2) マイタケ、クリタケ :

マイタケ及びクリタケについて、分離数を培養培地との関係で調べた結果は、図-12のとおりである。なお、分離には同じ酵素液を用いた。

この結果、クリタケの方が分離数は明かに多く、また、培地間にも分離差がみられなかった。

一方、マイタケは前者とは反対に相対的に分離

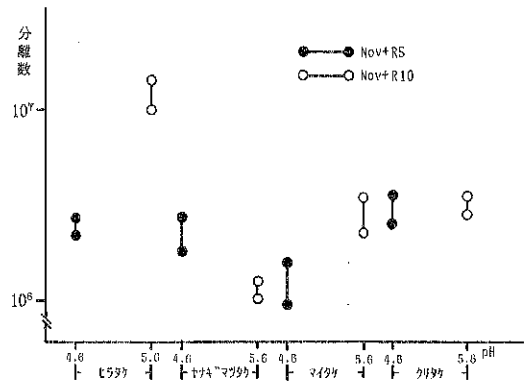


図-10 キノコ別にみた酵素とプロトプラスト分離数の関係
 培養培地 MY 0.6M マグネシウム - 0.05M コハク酸

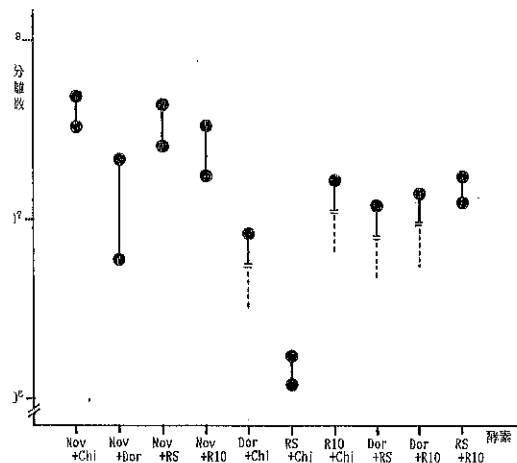


図-11 酵素とプロトプラスト分離数の関係
 0.6M MgSO₄-0.05M コハク酸 pH 5.6

数も少なく、培地によって差がみられた。

両者の分離数の差は、酵素液の適合性の他に、「細胞融合による優良個体の作出」で述べた様に、酵素処理の時点での細胞壁の硬さのちがいにもよ

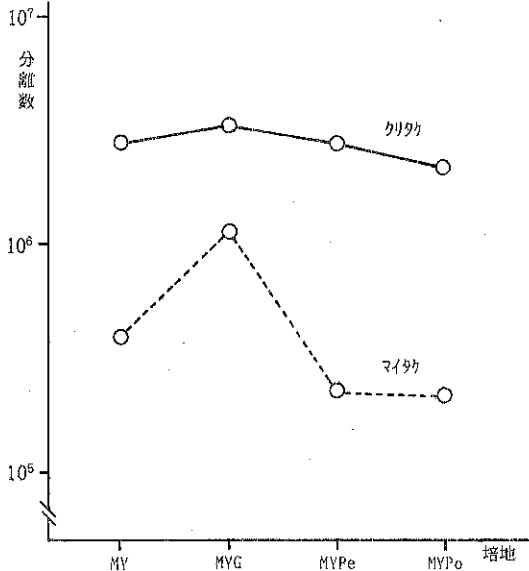


図-12 培地別にみたキノコとプロトプラスト分離数の関係
0.6 M MgSO₄・0.05 M マレイン酸 pH 5.2 RS+Dr+Chi

るのではないかと思われた。つまり、発育が早い菌ほど、細胞壁がある時点を経に短時間に厚さや硬さが増すためと思われた。

ちなみに、4種類の中では、クリタケは発育のスピードが最も遅い菌であった。

この様に、クリタケとマイタケの相対的な分離数の違いは、培地の嗜好性、培養期間等の条件が異なるのが原因と思われた。

3) ヒラタケ :

酵素及び pH 調整剤を同一条件 (Nov+Chi、マレイン酸、pH 5.6) にした場合、緩衝液の組成と分離数の関係を調べた結果が、図-13 である。

なお、緩衝液の組成については、次の2つの点から検討を行った。

浸透圧調整剤の濃度のみを、3段階 (0.2、0.4、0.6 M) に変えた場合と、

浸透圧調整剤の濃度を一定 (0.6 M) として、

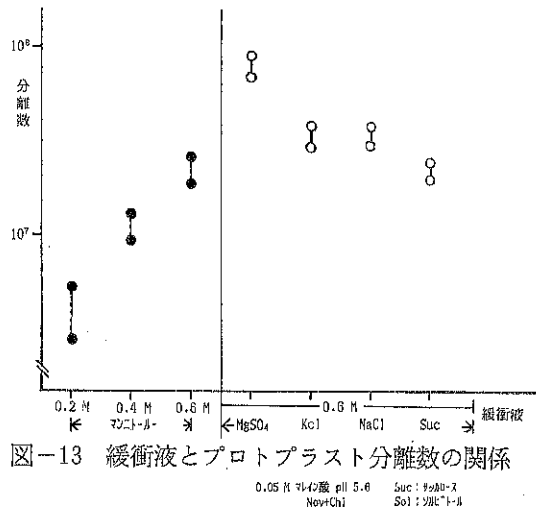


図-13 緩衝液とプロトプラスト分離数の関係

調整剤に3種類塩類 (MgSO₄、KCl、NaCl)、2種類の糖類 (Suc、Sol) の計5種類の浸透圧調整剤を用いた場合について調べた。この結果、分離数は、浸透圧の濃度に比例して増えた。

この原因は、酵素液の浸透圧が低くな程、次々に分離されてくるプロトプラストが、酵素処理中に順次、破壊されていくためと考えられた。

一方、浸透圧調整剤の種類と分離数の関係をみると、

分離数が最も多かったのは、塩類の (MgSO₄) を用いた場合であり、糖類のサッカロース (Suc) を用いた場合が最も少かった。

全体的に、ヒラタケはプロトプラストの分離数も多く、そのパラツキも少ないキノコであった。

3. オガ屑培地の含水率、培地重量

オガ屑培地の含水率の調整は、オガ屑と栄養添加物を、容積を目安に混合し、水を加えながら、適正な値にもっていく。

そこで、栽培ビン (ブロービン、800 ml) を用い、樹種別に混合の条件、含水率及び培地重量の関係を調べた結果、

(1) 絶乾状態にした、各樹種のオガ屑重量を、

同じ容積のもとで比較すると、スギが最も軽く、次いで、ヒノキ、コナラの順となった。

(2) 一般的に適正な含水率は、65%前後といわれているが、今回の結果からスギやヒノキの場合、乾燥したオガ屑 1リットルに対し、水を 400ml程度加えると、ほぼ適正な含水率になると思われた。

やや粗目の針葉樹オガ屑を詰め込んだ場合、栽培ビン中のオガ屑の正味重量は、430g前後と推計された。しかし、添加物を加えた場合、詰め込み容積は増える。

ちなみに、フスマの容積 1リットル当りの重量は、市販の乾燥状態で、340~360g、よく乾かした状態で、300~310gであった。

一般には、細かいオガ屑(帯鋸製材)を使うため、430gよりは、少し多め(20g前後)に詰める込むことができる。

以上の結果から、ブロービンで栽培する場合、1ビン当りの総重量は、520g前後(ビン重量:約70gを含む)が適当と思われた。

ちなみに、培地の組成別にみたブロービン内の菌糸の蔓延状況(接種後22日経過)が、写真-1

である。

(3) 菌接種後の培地重量、菌糸伸長量及び子実体発生量の関係について、コルヒチン由来のヤナギマツタケで調べた結果が、表-2である。

これらの結果をみると、

1) 培地重量は、培養期間中は、接種後、時間の経過とともに、徐々に減少していった。

2) 35日間培養した場合、接種時を基準(100%)とすると、培地展開時が平均で約98%、初回の子実体採取後は、同じく78%に減少した。

また、培地重量の減少率が大きい程、子実体の発生量が増える傾向がみられた。

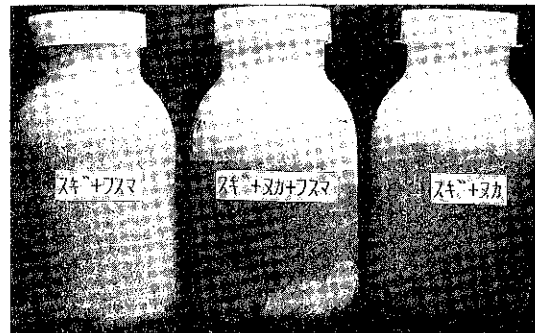


写真-1 発生培地の組成別にみた菌糸の蔓延状況(ブロービン、プロトプラスト由来菌)

表-2 コルヒチン処由来の子実体胞子との交配によるヤナギマツタケの発生量

交配組合せ		発生培地の樹種、培養日数及び子実体発生量						
		樹種	スギ	ヒノキ	スギ+ヒノキ	スギ	スギ	スギ+ヒノキ
		日数	35	35	35	65	35及び65	35及び65
同系間	(ACY) 8601 × 8601 -Co1-	重量 (g)	35.3 24.4~46.2	40.0 21.8~58.2	37.2 28.0~46.4	62.1 44.3~79.9	50.6 38.5~62.8	48.3 38.4~58.2
	個数 (個)	5.2 2.0~8.3	13.3 9.0~17.5	8.4 5.4~11.4	17.4 10.8~23.9	12.1 7.6~16.7	12.4 8.8~15.9	
異系間	(ACY) 8801 × 8801 -Co1-	重量 (g)	4.8 0~18.1	21.5 3.3~39.7	13.1 2.8~23.4	17.8 0~35.6	13.4 0.3~26.6	15.4 4.9~25.9
	個数 (個)	5.5 1.7~9.3	6.3 2.0~10.5	5.9 2.5~9.2	7.1 0.6~13.7	6.6 1.6~11.5	6.5 2.8~10.2	
両間の有意差 * : (95%) ** : (99%)		重量	**	-	**	**	**	**
		個数	-	*	-	*	-	*

(注) 発生培地: 栄養添加物の混合割合(カ+フスマ=10:4)
発生量: 平均及び信頼区間(95%)
-Co1-: 菌糸の培養培地へのコルヒチン添加(0.05%)

同様に、プロトプラスト由来菌での結果が、表-3である。

培地重量は、展開時重量に差がなかったにもかかわらず、子実体採取後は、(スギ+ヌカ+フスマ)培地が最も軽くなった。また、子実体発生量は、(スギ+ヌカ+フスマ)培地が最も多かった。

ちなみに、発生量が平均で1培地当たり約180g採られた培地では、採取後の培地重量は、約30%軽くなった。この場合も先と同様、全体としては発生量が多い培地程、軽くなる傾向がみられた。

しかし、発生量が、ゼロや少量の場合は、逆に接種時よりも重くなった培地がみられた。この原因は、菌のまわりが不完全な部分へ、発生処理に

よる水が吸収されるためと思われた。

一方、菌が完全に蔓延した培地は、ほとんど水を吸収しなかった。

4. コルヒチン処理による子実体の作出

コルヒチン処理と未処理の、胞子間の交配から発生した、子実体の結果については、表-2のとおりである。これによると、

(1) 発生量(重量、個数)は、異系間(8801×8601-COL)よりも、同系間(8601×8601-COL)の方が多かった。

(2) スギ培地の発生量を培養期間別にみた場合、65日間培養のほうが、発生量が多かった。

なお、発生処理に入ってから、初回の子実体採

表-3 発生培地の組成別にみた菌糸伸長量、培地重量の推移及び子実体発生量
(プロトプラスト由来のヤナギマツタケ菌)

培地組成 (オカノ)	菌糸伸長量 (mm)	培 地 重 量		子 実 体 発 生 量	
		培地展開時 (g)	子実体採取後 (g)	総重量 (g)	総個数 (個)
	平均及び信頼区間 (95%)	平均及び信頼区間 (95%)	平均及び信頼区間 (95%)	平均及び信頼区間 (95%)	平均及び信頼区間 (95%)
A	62.4 57.1 ~ 67.7	97.9 97.5 ~ 98.3	84.0 79.6 ~ 88.3	101.5 82.8 ~ 120.2	17.9 12.7 ~ 23.1
B	153.0 147.7 ~ 158.3	98.1 97.8 ~ 98.5	81.3 76.1 ~ 86.5	50.6 31.9 ~ 69.3	9.8 4.6 ~ 15.0
C	80.7 75.4 ~ 86.0	97.2 96.8 ~ 97.6	69.9 65.5 ~ 74.2	177.9 159.2 ~ 196.6	21.2 16.0 ~ 26.4
各間の有意差 * (95%) ** (99%) - (なし)	A-B (**) A-C (**) B-C (**)	A-B (-) A-C (-) B-C (-)	A-B (-) A-C (**) B-C (**)	A-B (**) A-C (**) B-C (**)	A-B (*) A-C (-) B-C (**)

(注) A: スギ+ヌカ (10:4) 伸長量: 接種30日後にフコヒン(全長185mm)上面より計測
 B: スギ+フスマ (10:4) 展開: 接種35日後
 C: スギ+ヌカ+フスマ (10:2:2) 採取後重量: 初回発生後重量
 接種時培地重量 (490 g /ピソ) 子実体発生量: (初回+2回目)

取までの日数は、およそ11日～30日を要した。

(3) 樹種別にみた場合、スギよりもヒノキのほうが、発生個数が多かった。しかし、実際には、この程度の発生量では問題にならない。

ちなみに、2菌系の元株からの発生量は、同じスギ培地では、1培地当たり、80～130gであった。

以上の結果から、針葉樹オガ屑の培地では、培地を如何に早く完熟させるのが実用化へのポイントとなる。これには、菌の開発改良と共に培地の研究が、今後の検討課題と思われた。

(4) 発生してきた子実体は、全体に小形で発生量も少なく、かつ、様々な形態のものが発生してきた。(写真参照)

発生量の多いもの(写真-2)、数が少ないもの(写真-3)、特に茎が太いもの(写真-4)

大小の差があるもの(写真-5)、茎がしだれ状のもの(写真-6)、極端にキノコが小さいもの(写真-7)等が現れた。

(5) 採取後のキノコの鮮度保持にかかわると考えられる、ツバ(傘の裏側の膜)の特徴をみると、子実体の発生後、短期間のうちに、膜が切れてしまうもの、逆に、子実体が充分成長した時点でも切れないものがみられた。

今回の観察から、膜が切れる時点は、キノコの発育程度とは無関係に思われた。

発生後、子実体がまだ小さくても、ツバが切れるものもあれば、採取適期を過ぎても、しっかり離れないものもあった。

(6) この様な、変異に富んだ個体が生まれた原因が薬品処理の影響なのか、培地の条件にあるの

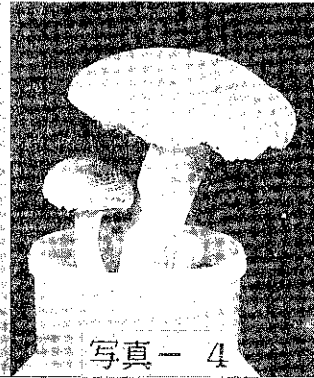
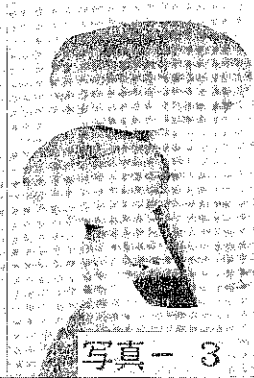
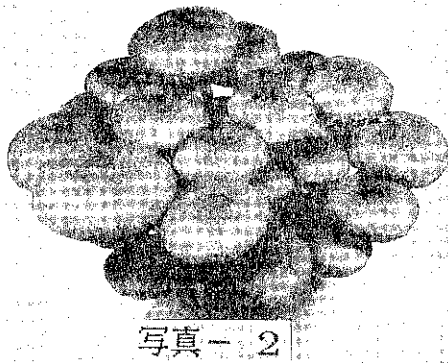


写真 コルヒチン処理の子実体胞子の交配によるヤナギマツタケ子実体の発生状況

か、あるいは、これらの相乗作用のためかは今後さらに追試検討しなければならない。

5. プロトプラスト由来の子実体の作出

プロトプラスト由来菌の中から形質の優良な1つを選び、組織分離を行い、組成を変えたオガ屑発生培地に接種して、再度子実体を発生させた結果が、表-3であり、これら子実体の形状を主なタイプ別に分けた写真が、(写真-8、9、10)である。

また、鮮度保持に関わると考えられる、ツバの状態を培地別にみたのが、写真-11である。

一方、菌糸の分離部位と子実体の形状との関係を見るために、組織分離する際の分離部位を(茎部、傘部)に分けて各々から種菌を作り、子実体を発生させた結果が、表-4である。

これらの結果をみると、プロトプラスト由来の子実体もコルヒチン処理の場合と同様に様々な個体が発生してきた。

これらの原因に関連して、両表をみると、菌株の由来が同じでも、発生培地の組成や樹種、組織分離部位等が、子実体の形状や菌糸の生理的条件下に大きな影響を与えることが推察された。

ちなみに、表-3をみると、菌糸伸長は、(スギ+フスマ)培地が最も早く、子実体発生量は、(スギ+ヌカ+フスマ)培地が最も多かった。

一方、表-4をみると、茎部から分離した菌の方が、傘部に比べ発生処理後から初回発生までの日数が短い。

これらのことから、子実体の形状の変異や発生

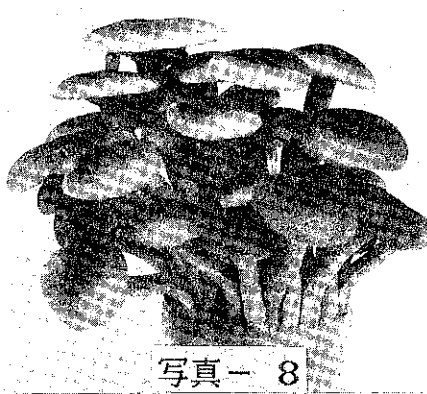


写真-8

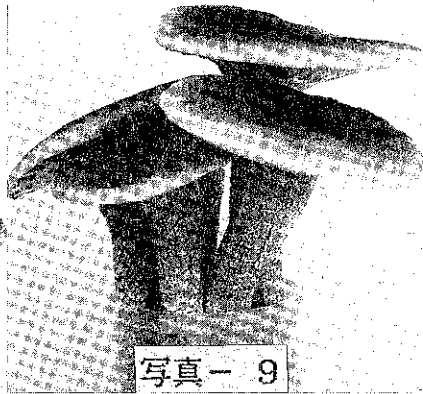


写真-9

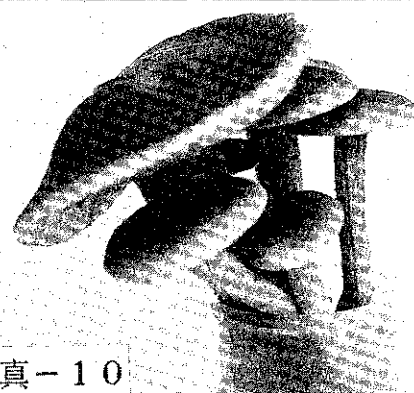


写真-10

写真 プロトプラスト由来のヤナギマツタケ子実体の発生状況

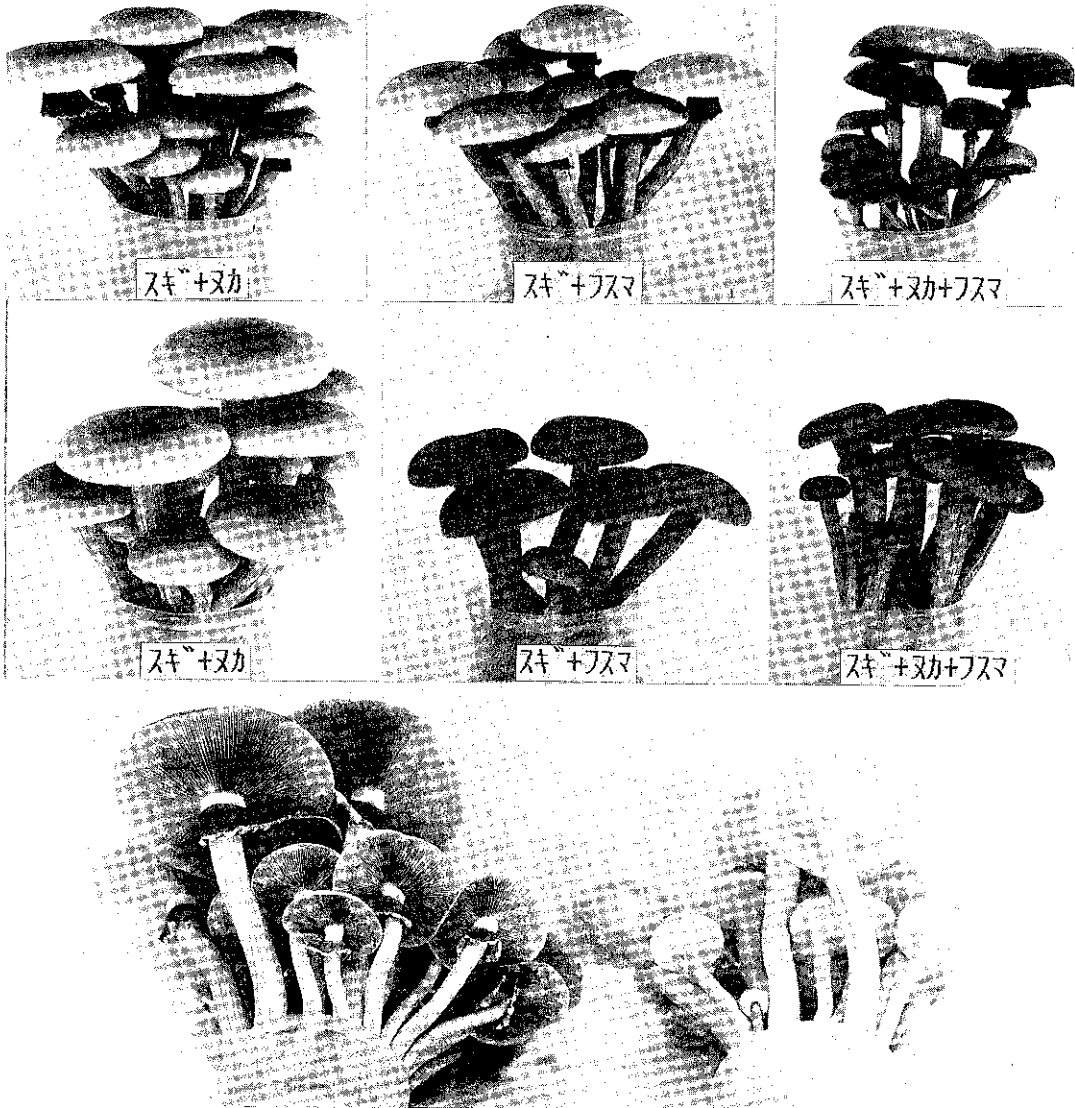


写真-11 プロトプラスト由来のヤナギマツタケ子実体の発生状況
一傘の膜の状態—早く切れる(上段)、切れない(中段)、拡大(下段)

量の違いは、プロトプラスト化による原因の他にも、培地の組成や種菌の起源等によるところが多いのではないかと推察された。ツバの状態については、コルヒチン処理の時と同様、どの培地組成の子実体にも、発生後の時間経過にかかわらず、膜が切れるものと切れないものがみられた。

両試験の結果から、膜が切れる時点は、キノコの発育程度とは無関係と思われた。

6. プロトプラストの融合

ポリエチレングリコール (PEG)4000(30%) + 塩化カルシウム(0.05モル) + グリシン (pH 9.0) を用いた条件で、写真-12の様に、融合現象がみられた。しかし、融合菌から子実体を作出するまでには至らなかった。

IV. まとめ

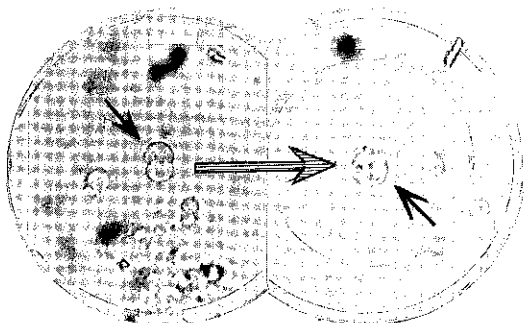


写真-12 細胞融合-ヤナギマツタケ-プロトプラストの融合(融合中→ほぼ完了)

キノコ菌糸からプロトプラストを分離する際の主な留意点としては、「細胞融合による優良個体の作出」で述べたとおりである。

端的に言えば、4種の中では、発育の早いヒラタケ、ヤナギマツタケは、4日前後の液体培養の期間で酵素処理し、発育の遅いマイタケ、クリタケは、1~2週間の培養期間で酵素処理をする方が有効と思われる。

ヤナギマツタケについては、(Nov)を含む酵素が分離に有効と思われた。

キノコの品種改良には、菌の開発のみならず、培地との関係を充分考慮に入れて、両者を「1セット」とした考えの上に立って今後試験を行っていくことが重要と思われた。

V. 参考及び引用文献

1. 農林水産省林業試験場バイオテクノロジー研究会：林業におけるバイオテクノロジー、一開発の現状と展望一、142 pp、林業科学技術振興所、東京、(1986)
2. 加藤龍一他：きのこ類の品種改良に関する研究、愛知県林業センター報告 No.24 (1987)
3. " " No.25 (1988)
4. " " No.26 (1989)
5. " " No.27 (1990)

表-4 菌糸の分離部位と発生量及び発生処理後から初回発生までの日数

子実体の発生量及び初回発生までの日数	子実体からの菌糸の組織分離部位				両部間での有意差の判定 * : (95%) - : 差なし
	茎 部		傘 部		
	平均	95%信頼区間	平均	95%信頼区間	
重量(g)	93.2	106.0~118.8	87.0	101.3~115.7	—
個数(個)	17.7	12.8~ 22.5	21.8	16.1~ 27.4	—
日数(日)	13.3	11.9~ 14.6	15.5	14.0~ 17.0	*

(注) 発生培地の組成—スギ : スカ : フスマ=10 : 2 : 2 菌株—プロトプラスト由来菌