

## 細胞融合による食用きのこの育種に関する研究

— ナメコ栽培特性の安定化を目的に育成した菌株 LL の性質 —

(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 .....	19
I 緒 言 .....	20
II 実験方法 .....	20
1. 供試菌 .....	20
2. 菌叢形態の観察 .....	20
3. 栽培試験 .....	20
4. 安定性の検定 .....	20
III 結果と考察 .....	21
1. 菌叢形態 .....	21
2. 栽培特性 .....	22
3. 安定性の検定 .....	22
IV 終わりに .....	24
V 文 献 .....	24

## 要 旨

ナメコ栽培特性の安定化を図るため、これまでに選抜されたNo51を親株とし、この系統の脱二核化を抑制することを育種目標として菌株 LL を育成した。

LL およびNo51の20℃以下における菌糸伸長速度は両者ともほとんど変わらず、25℃での菌糸伸長速度もそれほどの差は認められなかった。しかし、LL の30℃での菌糸伸長速度はNo51の半分程度であった。また、No51および市販系統はいずれも25℃よりも30℃での菌糸伸長速度の方がより速い傾向を示したが、LL のみは逆の傾向を示した。LL は寒天平面培地を用いて30℃で培養しても、これよりも低い培養温度と同じように菌叢は厚く均一で、全面にクランプ結合が観察された。しかし、No51および市販系統は培養温度が高くなるに従って菌叢が薄くなる傾向を示し、30℃培養では薄い菌叢部が多くなり、この薄い菌叢部にクランプ結合は認められなかった。

1999年6月8日 受理

25℃、28日間培養による初回の子実体発生は、LLでは80-90gの収量を示し、20℃、28日間培養による収量とはほぼ同程度であった。一方、No51および市販系統の25℃、28日間培養による初回収量は30-40gと20℃培養の半分程度に減収した。

以上の結果から、今回育成されたLLは、親株であるNo51や市販系統と比べ脱二核化しにくくなり、その結果、栽培特性の面で安定性が大きく改善されたものと考えられた。

## I 緒 言

ナメコの発生不良現象については、従来から種菌の劣化、退化現象との関連が経験的に知られてきた<sup>1)</sup>。また、ナメコ空調施設栽培における発生不良現象についても、近年その現象が報告され、原因についても説明されつつある<sup>2,3)</sup>。しかし、そもそもナメコはその生活環に二核菌糸の脱二核化プロセスが存在し<sup>4-6)</sup>、しかも、ナメコでは一核菌糸の菌糸伸長速度が二核菌糸よりも遅いことはほとんどないので培地中に一核菌糸が優先的に伸長しやすく、このことが子実体収量等栽培特性が安定しない主要な要因と考えられる。しかも、最近市販されている菌床栽培用の極早生系統は脱二核化しやすくなっているようであり、寒天平面培地上でセクターがしばしば観察される。

このため、脱二核化を抑制することが栽培の安定化につながるものと考えられ、今回、このような育種目標によりナメコLLが選抜されたのでその性質について報告する。

## II 実 験 方 法

### 1. 供 試 菌

これまでに選抜されたナメコNo51およびこれをもとに育成されたLLを用いたが、同時に市販系統A、B、Cを対照とした。

### 2. 菌叢形態の観察

GMYP(2%Glucose, 0.6%Malt ext., 0.4%Yeast ext. および0.4%Peptone)培地20mlを含む内径9cmのシャーレを用いた。あらかじめ、同径のシャーレに作成したGMYP平板培地に前培養した測定供試菌の菌叢を径5mmのコルクボーラーで打ち抜き、これを測定培地の中央に接種した。培養は25℃および30℃で行い、接種後7日目のコロニー形態を観察した。

### 3. 栽培試験

800mlの広口ポリプロピレンビンを用い、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540g/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21±2℃で60日間行い、その後14-16℃、湿度95%以上の環境下で発生処理を行った。子実体調査は初回発生のみ行い、栽培本数は1株当たりビン8本とした。

### 4. 安定性の検定

#### (1) 培養温度別菌叢形態の観察

GMYP培地20mlを含む内径9cmのシャーレを用いた。あらかじめ、同径のシャーレに作成した

GMYP 平板培地に前培養した供試菌の菌叢を径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、これをシャーレの中央に接種した。培養には、10、15、20、25 および 30℃ に設定した温度勾配定温器を用い、各設定温度につき 1 株当たりシャーレ 4 枚を培養に供した。

### (2) 高温培養による栽培試験

栽培容器、培地組成等は 3. に準じて行った。培養には定温培養器を用い、 $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$  で 4 週間培養後  $14 - 16^\circ\text{C}$ 、湿度 95% 以上の環境下で発生処理を行った。栽培本数は各系統 8 本である。

## III 結果と考察

### 1. 菌叢形態

ナメコ親株の No.51 およびこれをもとに育成された LL の 25℃ および 30℃ で培養した菌叢形態を写真-1 に示すが、No.51 は 25℃ 培養でセクター(斑模様)が認められ、30℃ 培養では菌叢全体が薄くなったが、LL では 25℃ および 30℃ 培養の両者とも菌糸の先端まで菌叢が厚く、かつ均一でセクターは全く認められなかった。また、LL では菌叢の全面にクランプ結合が観察された。

写真-2 に市販系統(A-C)を含めた菌叢形態を示すが、市販系統も No.51 と同様、25℃ 培養でセクターが認められ、30℃ 培養では菌叢全体が薄くなる傾向を示し、これらの薄い菌叢部にクランプ結合は認められなかった。

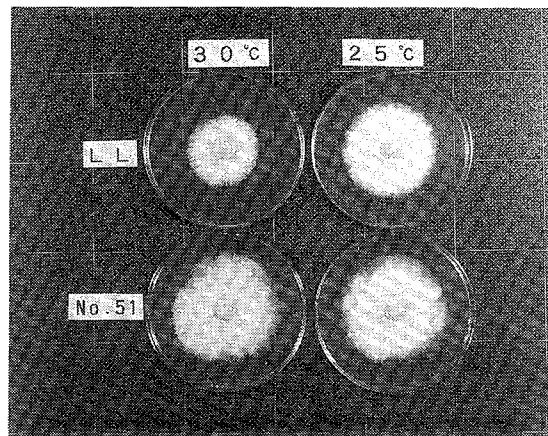


写真-1 ナメコ LL, No. 51 の 25℃ および 30℃ 培養による菌叢形態  
注) LL: No.51 を基に育成した安定株

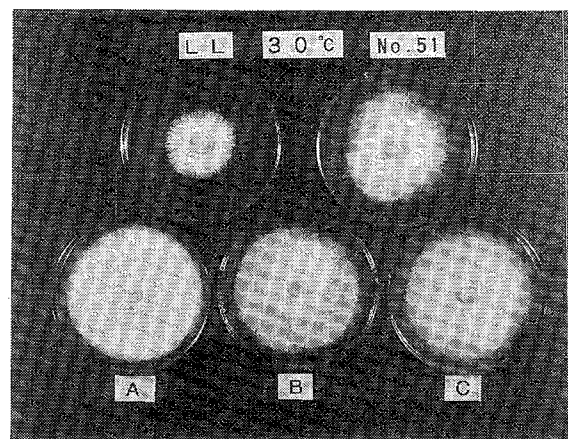
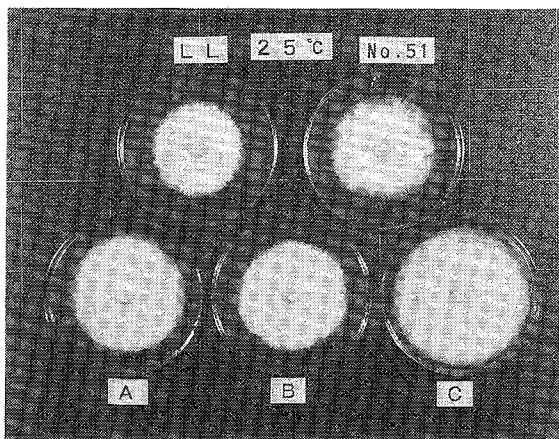


写真-2 ナメコ LL, No. 51 および市販系統の 25℃ および 30℃ 培養による菌叢形態  
注) A, B, C: 市販系統

以上のように、今回育成されたナメコ LL は、菌糸の先端まで菌叢が厚く、かつ均一でセクターは全く認められないなど、LL の親株である No.51 や市販系統とは明らかに異なる形態を示した。このこ

とは、LL はNo51はもとより市販系統と比べても、脱二核化しにくくなったことを示している。

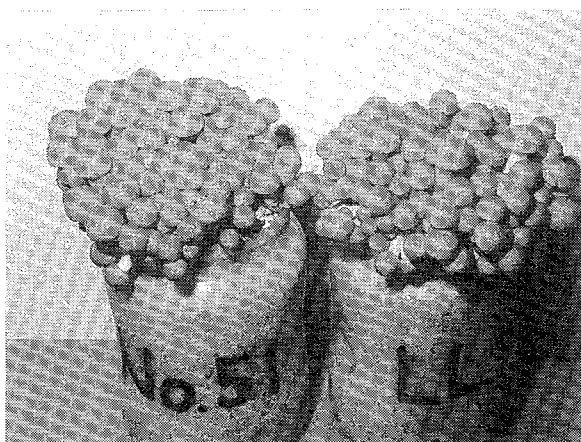
## 2. 栽培特性

LL およびNo51の通常の栽培条件による子実体収量等の栽培特性を表-1に示すが、初回の子実体収量は両者とも125g程度、収穫日数は発生処理後約21日で、有意差は全く認められなかった。両者の子実体を写真-3に示すが、両者の間の子実体形質に関する差異はほとんど認められなかった。

表-1 ナメコLL および No.51の栽培特性

菌株No	初回子実体収量(g)	子実体個数(個)	子実体収穫日数(日)
No51	127.0±4.2	95.8±6.2	21.3±2.9
LL	125.0±5.7	97.0±5.2	21.3±1.7

注) 1. No51:LL(安定株)の親株  
2. 子実体収穫日数は発生処理後の日数である。



(No.51) (LL)

写真-3 ナメコLL および No.51の子実体

従って、今回行った選抜圧が子実体収量等の栽培特性および子実体形質に及ぼす影響は無視し得る程度のもと考えられた。

## 3. 安定性の検定

ナメコ二核菌糸の脱二核化の程度及び子実体収量等栽培特性は、培地の培養温度に大きく依存することが最近別々に見出され、寒天平面培地を用いた菌叢は、培養温度が高温になるに従って脱二核化の程度が大きくなり、30℃培養では一核化した菌叢が大きな部分を占めることが見出されている<sup>7)</sup>。また、子実体収量等の栽培特性は18℃培養をピークにして、培養温度が高くなるに従い子実体収量が減少し、25℃培養での一番収穫は18℃培養に比べ半分程度となることが報告されている<sup>8)</sup>。

従って、培養温度が高くなると二核菌糸の脱二核化が進行し、その結果、子実体収量の低下をきたすと考えられる。よって、高温培養での寒天平面培地を用いた菌叢形態と栽培特性が菌株の安定性を評価するうえでの指標となると考えられることから、二核菌糸LLの高温培養での菌叢形態と栽培特性を親株であるNo51および市販系統と比較した。

### (1) 培養温度別菌叢形態の観察

写真-4にLL、No51および市販系統(A-C)の温度別に培養した菌叢を示すが、No51および市販系統は培養温度が高くなるに従って菌叢が薄くなる傾向を示し、これらの菌叢の周辺部にはクランプ

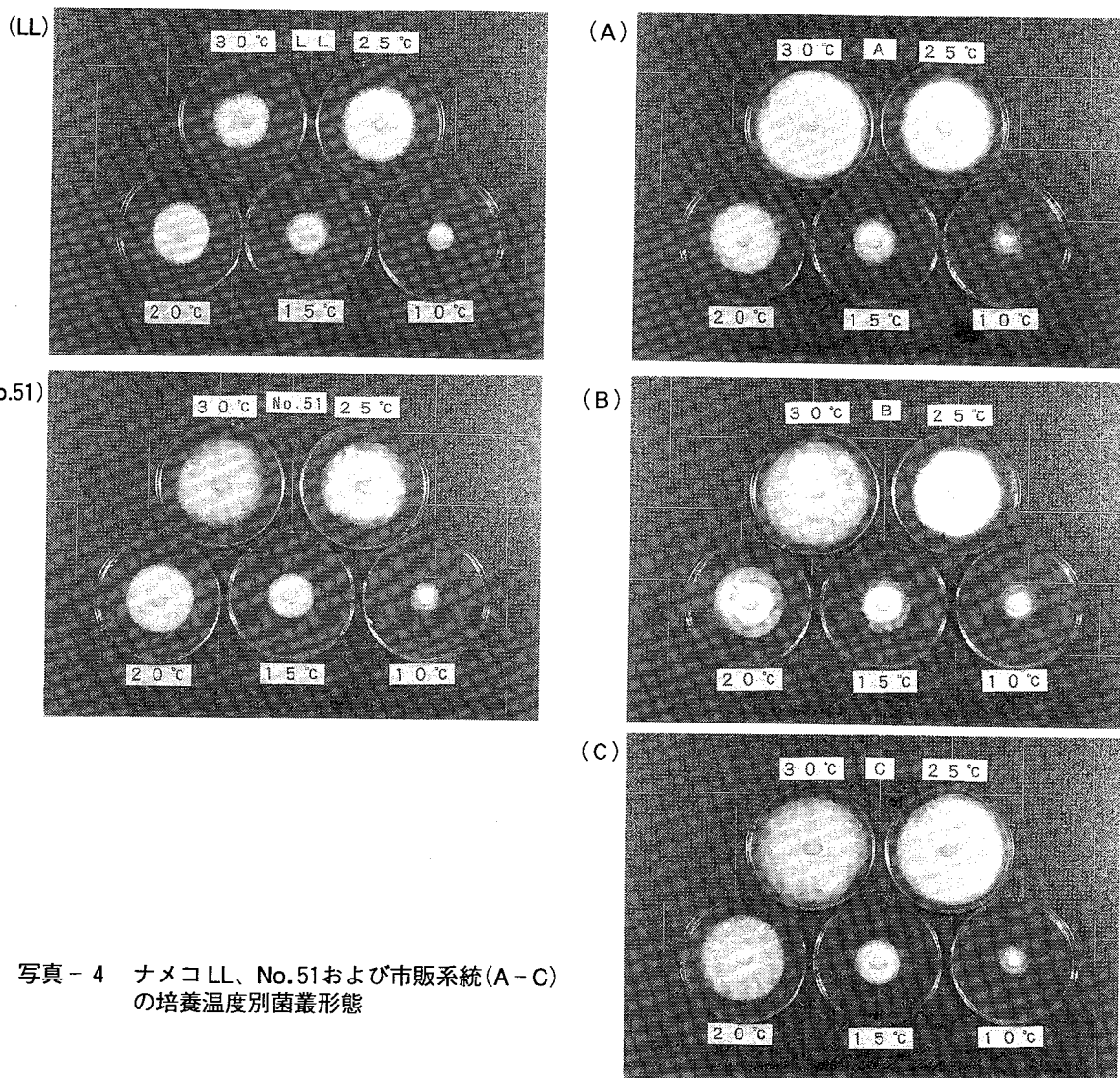


写真-4 ナメコ LL、No. 51 および市販系統(A-C)の培養温度別菌叢形態

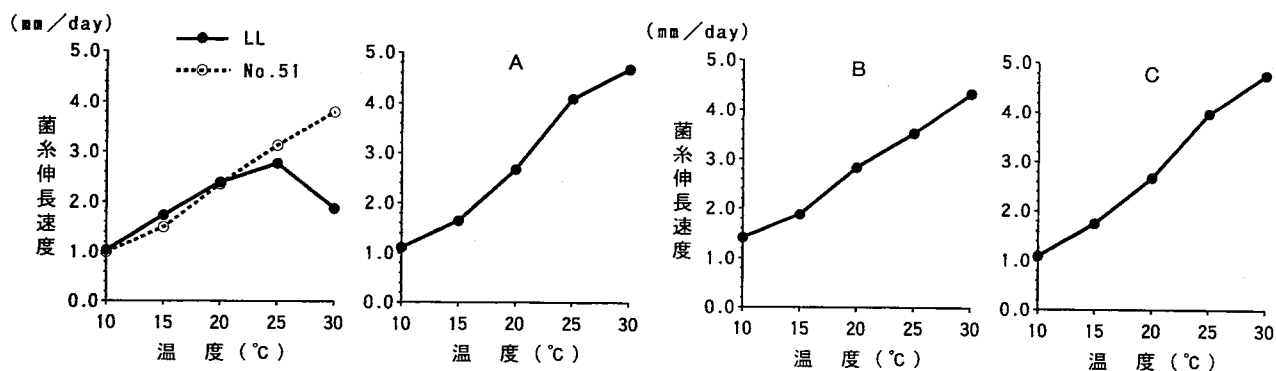


図-1 ナメコ LL および、No. 51 および市販系統の培養温度別菌糸伸長速度

注) 1. No. 51: 安定株(LL)の親株  
2. A、B、C: 市販系統

結合は認められなかった。しかし、写真-2にも示したように、LLは30°C培養であっても菌叢は厚く、全面にクランプ結合が観察されるなど、No. 51および市販系統とは明らかに異なる形態を示した。

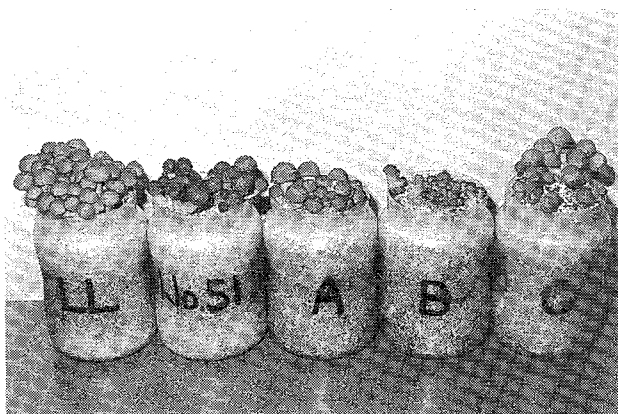
図-1に培養温度別の菌糸伸長速度を示すが、LLおよびNo. 51の20°C以下での菌糸伸長速度は両者ともほとんど変わらず、25°Cでの菌糸伸長速度もそれぞれ2.77および3.13mm/dayとそれほどの差は

認められなかった。しかし、30℃での菌糸伸長速度は、No51の3.80mm/day に対し、LL では1.87mm/day とNo51の半分程度であった。また、A-Cの市販系統はいずれも25℃よりも30℃での菌糸伸長速度が速く、30℃では4.3-4.7mm/day の伸長速度を示した。

以上のように、LLの親株であるNo51や市販系統では、30℃での菌糸伸長速度が25℃よりも速いのに対し、LLのみは逆の傾向を示した。これは、No51や市販系統の脱二核化が、25℃より30℃での培養によって、より進行したからと考えられる。これに対し、LLでは脱二核化しにくいことから二核菌糸のみの伸長速度が反映されたことで逆の傾向を示したと考えられ、このことは、菌叢形態とあわせLLが30℃でも脱二核化しにくくなったことを示している。

## (2) 高温培養による栽培試験

写真-5に25℃で28日間培養した培地からの初回の発生状況を示したが、LLでは80-90gの発生量を示した。しかし、No51は30-40gとLL



(LL) (No.51) (A) (B) (C)

写真-5 ナメコLL、No.51および市販系統(A-C)の25℃、28日間培養による子実体発生

の半分程度、他の市販系統もNo51と同程度であった。なお、これらの菌株を供し、20℃で同じく28日間培養した培地からは、いずれも70-90gの発生量を示した<sup>9)</sup>ことから、LL以外の菌株の25℃での培養培地は20℃に比べ収量が大きく減少したことになる。

以上、(1)、(2)の結果から今回育成されたLLは、親株であるNo51はもとより市販系統A-Cと比べても脱二核化しにくく安定であると結論され、所期の目的は達成されたものと考えられた。

## IV 終わりに

現在、ナメコ空調施設栽培では、初期培養温度を15-17℃に設定している栽培者が多いが、これを今回選抜されたような菌株(LL)を用いることで、初期培養温度を20℃程度に上げることができないかを今後検討する予定である。これが可能であれば、空調費用の大幅なコストダウンと培養日数の短縮化が図られるものと考えられる。

また、今後は、一核菌糸の交配能についても、より交配能の高い一核菌糸を用いることで、より脱二核化しにくい菌株に改良することも考慮に入れる必要があるだろう。

## V 文 献

- 1) 庄司 当：ナメコ栽培の実際，農山漁村文化協会，p.40-41，1981.
- 2) 熊田 淳，竹原太賀司，青野 茂：木材学会誌，41，114-119(1995).

- 3) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂: 同上, 41, 1158-1164(1995).
- 4) 有田郁夫: 菌蕈研究所研究報告, 4, 44-51 (1964)
- 5) 有田郁夫: 同上, 6, 49-57 (1968).
- 6) Arita, I.: Rept. Tottori Mycol. Inst., 17, 1 - 118(1979).
- 7) 熊田 淳, 青野 茂: 第3回日本応用きのこ学会発表要旨集, p.1999.
- 8) 増野和彦, 馬場崎勝彦, 小出博志: 第49回日本木材学会研究発表要旨集, p.448, 1999.
- 9) 竹原太賀司: 未発表.