

## 〈論文〉

## 担子孢子欠損性変異体を利用した無孢子性エリンギ菌株育成の可能性\*

小島 靖・村上重幸\*\*・松本晃幸\*\*・福政幸隆\*\*

The Potentialities of the Sporeless Mutant for Breeding of a Non-spore Commercial Strain of *Pleurotus eryngii*

Yasushi OBATAKE・Shigeyuki MURAKAMI\*\*・Teruyuki MATSUMOTO\*\* and Yukitaka FUKUMASA-NAKAI\*\*

エリンギの無孢子性栽培品種の開発を目的として、担子孢子欠損性変異体の構成一核菌糸体と野生型エリンギの交雑株を作出し、ビン栽培における栽培特性と子実体の形態的形質について調査した。供試した6株の交雑株は、変異体および交配親株よりも子実体の収量性に優れ、形態的形質も親株と異なるものが現われた。また、交雑株は担子孢子を全く形成しなかった。この結果から、本担子孢子欠損性変異体は無孢子性品種の育種材料として有用であることが示された。

For the purpose of the development of a non-spore commercial strains of *Pleurotus eryngii*, the sporeless mutant obtained in previous study was crossed with monokaryons derived from four wild-type strains, and then six hybrids were examined for productivity and morphology of fruit-body on the bottle cultivation. Hybrids of *P. eryngii* with high productivity of fruiting bodies have the sporeless trait. They were also equal to or superior to their parents in fruitbody yield. These results suggest that the sporeless mutant has breeding potentialities suitable for use in improvement of non-spore commercial strains of *P. eryngii*.

## 1. 緒言

先に我々はエリンギ [*Pleurotus eryngii* (D C. ex Fr.) Quel.] の担子孢子欠損性変異体を誘発分離し、そのうちの1菌株について、細胞学的性質を精査するとともに、担子孢子欠損性変異が二核菌糸体の一方の構成核の変異によるもので、その表現型は優性的に発現することを確認した<sup>1)</sup>。この性質は、栽培のトラブルの一原因となる担子孢子飛散の無い無孢子性エリンギ栽培品種の育種を進める上で極めて有用な性質である。しかし、食用きのこの栽培品種には子実体生産性や形態的形質、さらに食品としての栄養価や食味など総合的な優位性が求められ、無孢子性エリンギもこうした条件を満たさなければその利用価値は低い。そこで、本担子孢子欠損性変異体の栽培品種の育種素材としての有効性を検証するため、野生株との交配により交雑株を作出し、栽培特性、特に現在一般に行われているビン栽培における子実体生産性と形態的形質について調査した。

## 2. 材料および方法

## 2.1 菌株

供試菌株は、紫外線照射により誘発された担子孢子欠損性変異体U2553株<sup>1)</sup>の担子孢子欠損性構成一核菌糸体(ネオハプロント)Mplと野生型エリンギ3菌株、Germany株(以下D株)、ATCC90212株(以下A9株)およびWC827(以下W株)の担子孢子分離一核菌糸体との交配で得た交雑株12菌株のうち6菌株、D(1)×Mpl株、D(3)×Mpl株、W(1)×Mpl株、W(5)×Mpl株、A9(51)×Mpl株およびA9(52)×Mpl株である。また、U2553変異体とその親株であるNPE010株、交雑親株のD株、W株およびA9株を対照菌株として用いた。

## 2.2 栽培試験

栽培法等は「平成11・12年度種苗特性調査報告書きのこ(エリンギ)」<sup>2)</sup>に準じた<sup>3)</sup>。本試験では、菌糸が栽培ビン全体に伸長するに要した日数(菌糸蔓延日数)、植菌から子実体収穫までの栽培日数、1栽培ビン当たり子実体本数、1栽培ビン当たりの子実体収量(生重量)お

\*：本研究は農林水産省委託事業「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」によるものである。

\*\*：財団法人 日本きのこセンター菌蕈研究所

よび子実体の形態的特性の調査、ならびに担子胞子形成の有無を観察した。なお、栽培試験は1菌株あたり栽培ビン32本を用い、子実体の形態的特性は、すべての栽培ビンから最も成長の良い子実体を1~2本選び合計50本の子実体について測定した。担子胞子形成の有無については、収穫した子実体の菌傘の一部を切り取り、黒紙の上にヒダを下にして置き、数時間後に胞子紋の有無により判断した。

### 2.3 走査電子顕微鏡観察

交雑株の担子胞子形成および担子器の形態を走査電子顕微鏡により観察した。

試料の固定および観察条件は既報<sup>1)</sup>のとおりである。

### 2.4 統計処理

測定データは統計解析プログラムSPSS 7.5.1Jにより解析した。実験区間の有意差の検定は、Fisher's LSDを用いた。

## 3. 結果

### 3.1 栽培特性

供試した交雑株は、すべてのビンにおいて子実体を形成した。表1に供試菌株の栽培特性について示した。菌糸蔓延日数は交雑株において、U2553株およびそれぞれ

の交雑親株よりも短くなった。この傾向は、いずれの交配組み合わせにおいても共通して見られた。栽培日数は、U2553が62.9日、D株が62.3日であったのに対し、それらの交雑株はそれぞれ58.8日と60.3日であり、親株よりも短くなった。一方、A9株との交雑株では68.5日と67.2日であり、親株A9株の57.6日と比較して約10日長かった。栽培ビン当たりの有効茎数は、どの菌株においても菌傘の直径5cm以上の茎数が1~3本であった。また、U2553株では菌傘の直径5cm未満の茎数が5.7本であり、元株のNPE010株の1.9本と比較して多かった。D株との交雑株においても傘の直径5cm未満の茎数が多かった。U2553の子実体収量はNPE010株と比較して多く、有意な差が認められた。また、交雑株の子実体収量は交配親株であるW株、D株およびA9株と比較して多く、有意な差が見られた。特にD株との交雑株は親株の1.4倍および1.6倍の子実体収量が得られた。さらに、W株では1.2倍および1.3倍、A9株では1.3倍および1.4倍の子実体収量が得られた。

### 3.2 形態的形質

表2に子実体の形態的形質の調査結果を示した。U2553の子実体1個当たりの平均重量は、43.8gであり元株のNPE010株と同程度であった。D株との交雑株では、親株よりも子実体1個当たりの平均重量は小さくなった。

表1 担子胞子欠損性交雑株および親株の栽培特性

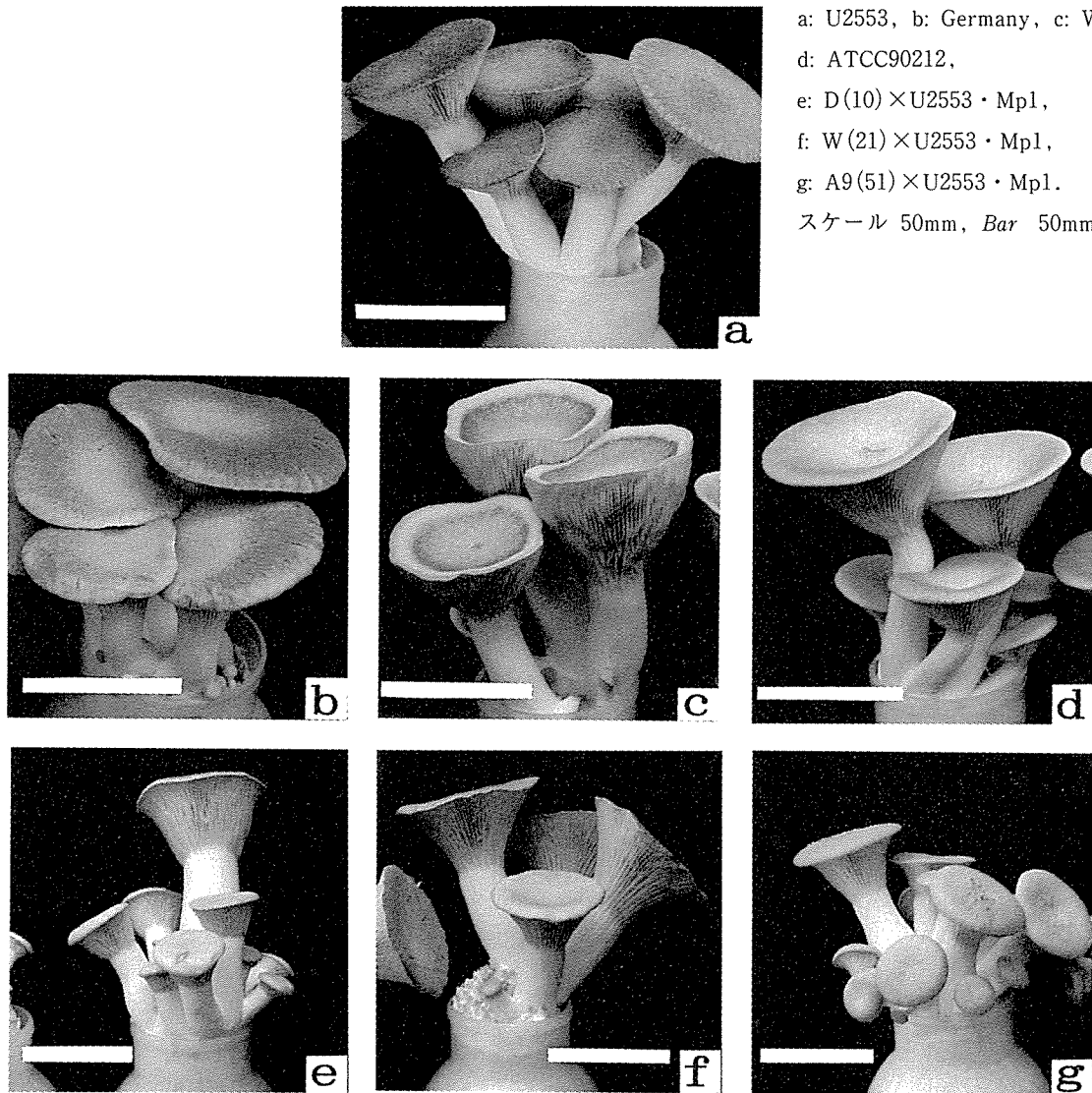
Table 1 Characteristics of sporeless hybrid strains and their parental strain on bottle cultivation.

菌株 Strain	菌糸蔓延日数 Days for mycelium spreading over the whole bottle after inoculation	栽培日数 Days for cultivation	1ビン当たりの有効子実体茎数 Fruit body number per bottle		子実体収量 Fresh weigh of fruitbody yeild (g/bottle)
			菌傘直径5cm以上 Pileus diam $\geq$ 5 cm	菌傘直径5cm未満 Pileus diam < 5 cm	
U2553	25.0 $\pm$ 1.8	62.9 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.9	5.7 $\pm$ 3.0	125.4 $\pm$ 12.3
NPE010	20.2 $\pm$ 0.7 <sup>*1</sup>	59.4 $\pm$ 0.7 <sup>*1</sup>	2.9 $\pm$ 1.1	1.9 $\pm$ 1.0 <sup>*1</sup>	121.6 $\pm$ 15.3 <sup>*1</sup>
Germany (D)	22.3 $\pm$ 1.8 <sup>*1</sup>	62.3 $\pm$ 0.6	2.3 $\pm$ 1.0	1.6 $\pm$ 0.9 <sup>*1</sup>	106.1 $\pm$ 12.3 <sup>*1</sup>
WC827 (W)	23.3 $\pm$ 3.5 <sup>*1</sup>	59.4 $\pm$ 1.3 <sup>*1</sup>	2.1 $\pm$ 0.9	2.9 $\pm$ 1.2 <sup>*1</sup>	101.8 $\pm$ 10.6 <sup>*1</sup>
ATCC90212 (A9)	23.5 $\pm$ 2.6 <sup>*1</sup>	57.6 $\pm$ 0.9 <sup>*1,*2</sup>	2.1 $\pm$ 0.7	2.6 $\pm$ 1.2 <sup>*1</sup>	85.1 $\pm$ 10.6 <sup>*1</sup>
D (10) $\times$ U2553 $\cdot$ Mpl	20.4 $\pm$ 1.2 <sup>*1,*2</sup>	58.8 $\pm$ 0.4 <sup>*1,*2</sup>	3.1 $\pm$ 0.9 <sup>*1,*2</sup>	4.3 $\pm$ 2.0 <sup>*1,*2</sup>	153.8 $\pm$ 10.8 <sup>*1,*2</sup>
D (11) $\times$ U2553 $\cdot$ Mpl	20.7 $\pm$ 1.1 <sup>*1,*2</sup>	60.3 $\pm$ 0.7 <sup>*1,*2</sup>	2.5 $\pm$ 1.0 <sup>*1</sup>	5.5 $\pm$ 2.2 <sup>*2</sup>	166.3 $\pm$ 7.8 <sup>*1,*2</sup>
W (21) $\times$ U2553 $\cdot$ Mpl	20.1 $\pm$ 0.7 <sup>*1,*2</sup>	60.7 $\pm$ 1.5 <sup>*1,*2</sup>	2.4 $\pm$ 1.1	2.9 $\pm$ 1.8 <sup>*1</sup>	124.4 $\pm$ 18.6 <sup>*2</sup>
W (23) $\times$ U2553 $\cdot$ Mpl	20.1 $\pm$ 0.9 <sup>*1,*2</sup>	59.0 $\pm$ 1.1 <sup>*1</sup>	2.0 $\pm$ 0.9	3.1 $\pm$ 2.1 <sup>*1</sup>	134.9 $\pm$ 17.0 <sup>*1,*2</sup>
A9 (51) $\times$ U2553 $\cdot$ Mpl	20.2 $\pm$ 0.7 <sup>*1,*2</sup>	68.5 $\pm$ 1.5 <sup>*1,*2</sup>	1.8 $\pm$ 1.0	2.8 $\pm$ 2.6 <sup>*1</sup>	114.0 $\pm$ 17.2 <sup>*1,*2</sup>
A9 (52) $\times$ U2553 $\cdot$ Mpl	20.2 $\pm$ 0.7 <sup>*1,*2</sup>	67.2 $\pm$ 5.2 <sup>*1,*2</sup>	1.8 $\pm$ 1.0	3.6 $\pm$ 4.1 <sup>*1</sup>	120.9 $\pm$ 23.7 <sup>*1,*2</sup>

平均値 $\pm$ 標準偏差、mean  $\pm$  s.d.

\*1: U2553と有意差あり ( $P < 0.05$ ). Significant difference from U2553, ( $P < 0.05$ ).

\*2: 交配親株と有意差あり ( $P < 0.05$ ). Significant difference from parental strain, ( $P < 0.05$ ).



a: U2553, b: Germany, c: WC827,  
 d: ATCC90212,  
 e: D(10)×U2553・Mp1,  
 f: W(21)×U2553・Mp1,  
 g: A9(51)×U2553・Mp1.  
 スケール 50mm, Bar 50mm.

図1 交配親株と担子孢子欠損性交雑株の子実体

Fig. 1 Fruitbodies of the sporeless mutant, wild type strains and hybrid strains.

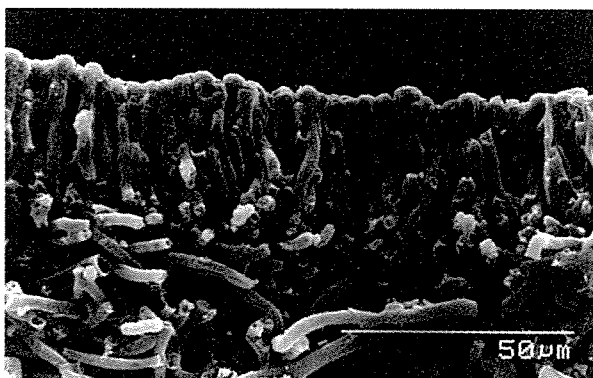


図2 担子孢子欠損性交雑株、D(1)×U2553・Mp1の担子器

Fig. 2 A scanning electron micrograph showing cross view of the hymenium of a D(1)×U2553・Mp1 hybrid sporeless mutant.

スケール 50µm, Bar 50µm.

一方、W株およびA9株ではどちらも交雑株が親株と比較して大きく、有意な差がみられた。子実体各部位の形態は、Dとの交雑株では、親株と比較して菌傘の直径が小さく、菌柄が長く、菌柄が太くなった。Wとの交雑F1株は菌傘が大きく、菌柄が長く太くなった。A9との交雑株においても同様の傾向がみられ、更に菌傘の厚さも大きかった。

図1に供試した交配親株および交雑株子実体の形態を示した。交雑株では、U2553と同様に子実体の傾きや歪みなど形態的異常が見られた。この現象はどの親株との組み合わせにおいても見られ、その程度はビンごとに様々であり一定の傾向は認められなかった。

孢子紋の観察から、すべての交雑株において担子孢子的落下は見られなかった(表2)。さらに、図2に示すように、顕微鏡観察の結果からも担子孢子的形成は全く

表2 担子孢子欠損性 交雑株および親株の子実体の形態的形質

Table 2 Morphologic characteristics of sporeless hybrid strain and their parent on bottle cultivation.

菌株 Strain	子実体1個当たりの重量 weight of one fruitbody (g)	菌傘の直径 Diameter of cap (mm)	菌柄の長さ Length of stipe (mm)	菌柄の太さ Thickness of stipe (mm)	菌傘の厚さ Thickness of cap (mm)
U2553	43.8±23.2	63.2±18.3	60.2± 8.2	23.5± 4.5	17.4± 4.6
NPE010	45.2±19.7	73.0± 9.1 <sup>*1</sup>	64.6±11.9 <sup>*1</sup>	23.7± 3.8	20.1± 2.9 <sup>*1</sup>
Germany (D)	50.1±19.6 <sup>*1</sup>	75.5±11.0	45.8± 7.4 <sup>*1</sup>	21.3± 5.4 <sup>*1</sup>	19.8± 3.3 <sup>*1</sup>
WC827 (W)	31.9± 8.6 <sup>*1</sup>	56.2±19.7 <sup>*1</sup>	62.3±11.4	15.8± 1.6 <sup>*1</sup>	18.9± 4.6 <sup>*1</sup>
ATCC90212 (A9)	43.1±19.3	62.4± 9.0	56.5± 9.6	22.4± 5.4	14.0± 2.9 <sup>*1</sup>
D (1) × U2553·Mpl	39.5±11.5	65.5± 6.8 <sup>*2</sup>	61.3± 6.9 <sup>*2</sup>	22.3± 2.7	16.5± 1.8 <sup>*2</sup>
D (3) × U2553·Mpl	47.6±16.8	65.5± 7.1 <sup>*2</sup>	73.6± 8.1 <sup>*1,*2</sup>	24.1± 3.9	16.9± 2.6 <sup>*2</sup>
W (1) × U2553·Mpl	45.8±15.9 <sup>*2</sup>	57.2±24.7	62.8± 8.2	25.9± 4.2 <sup>*1,*2</sup>	18.9± 7.6 <sup>*1</sup>
W (5) × U2553·Mpl	52.9±28.1 <sup>*1,*2</sup>	64.0±14.0 <sup>*2</sup>	69.8±14.8 <sup>*1,*2</sup>	27.0± 7.6 <sup>*1,*2</sup>	19.4± 5.1 <sup>*1</sup>
A9 (51) × U2553·Mpl	56.9±22.7 <sup>*1,*2</sup>	63.9±21.6 <sup>*2</sup>	63.3±11.4 <sup>*2</sup>	27.5± 6.2 <sup>*1,*2</sup>	21.0± 6.6 <sup>*1,*2</sup>
A9 (52) × U2553·Mpl	56.3±22.3 <sup>*1,*2</sup>	55.4±34.4 <sup>*1,*2</sup>	60.0±10.0	28.8± 7.1 <sup>*1,*2</sup>	21.8±10.1 <sup>*1,*2</sup>

菌株	子実層托の長さ Length of hymenophore (mm)	子実層托の幅 Width of hymenophore (mm)	担子胞の子の形成 <sup>*3</sup> Basidiospore formation	子実体の傾き <sup>*4</sup> Fruitbody leaning
U2553	40.8± 7.2	7.5± 2.0	—	+
NPE010	37.7± 5.3 <sup>*1</sup>	6.2± 1.0 <sup>*1</sup>	+	—
Germany (D)	40.4± 6.6	5.3± 0.6 <sup>*1</sup>	+	—
WC827 (W)	39.5±14.2	6.6± 2.1 <sup>*1</sup>	+	—
ATCC90212 (A9)	43.5± 6.9	5.7± 0.9 <sup>*1</sup>	+	—
D (1) × U2553·Mpl	41.8± 4.8	6.8± 0.9 <sup>*1,*2</sup>	—	+
D (3) × U2553·Mpl	40.7± 5.9	6.9± 1.3 <sup>*1,*2</sup>	—	+
W (1) × U2553·Mpl	39.4± 6.9 <sup>*</sup>	5.8± 0.8 <sup>*2</sup>	—	+
W (5) × U2553·Mpl	43.2±10.1	5.9± 1.3 <sup>*1</sup>	—	+
A9 (51) × U2553·Mpl	45.0± 7.8 <sup>*1</sup>	6.4± 1.1 <sup>*1</sup>	—	+
A9 (52) × U2553·Mpl	49.8± 9.7 <sup>*1,*2</sup>	7.7± 1.5 <sup>*2</sup>	—	+

mean± s.d., <sup>\*1</sup>: U2553と有意差あり、Significant difference from U2553 ( $P<0.05$ ). <sup>\*2</sup>: 交配親株と有意差あり、Significant difference from parental strain ( $P<0.05$ ). <sup>\*3</sup> +: 担子形成あり、Spore formation. -: 担子形成なし、Sporeless. <sup>\*4</sup> +: 子実体の傾きあり、Lending shape of fruitbodies. -: 正常、Normal.

みられず、U2553の担子器の観察結果と同様に<sup>1)</sup>担子器上に小柄や前担子胞の形成は一切認められなかった。

#### 4. 考察

既往の研究で得た担子孢子欠損性変異体U2553の構成一核菌糸体(ネオハプロント) Mplと野生株子実体から単胞子分離した一核菌糸体とを交配した交雑株は、ビン栽培において親株と異なる栽培特性および形態を現した。特に1栽培ビン当たりの子実体収量は、すべての交雑株において、U2553およびそれぞれの親株より有意に多かった。形態的特性の測定結果から、交雑株における子実体収量の増大はそれぞれの親株と比較して、D株で

は子実体本数が多く特に菌傘直径5cm未満の子実体が株状に発生したこと、W株およびA9株では子実体1個当たりの重量およびサイズが大きいことによると考えられた。また、子実体各部の形態は、交配に用いた両親株のどちらか一方の形態に似るもの、中間的なものなど、その傾向は交配組み合わせにより異なった。また、前報で明らかになったように、交雑株はすべて担子胞子を形成しなかった。担子器の顕微鏡観察から、小柄形成前に担子器が膨張する段階で生育過程は完全に停止しており、U2553でみられた変異形質は交雑株においても安定して発現していることが確認された。

以上の結果は、U2553の担子孢子欠損性ネオハプロントを交雑育種の材料として用いることで、担子欠損性と

いう栽培上有利な形質を備え、かつ収量性に優れ、多様な形態的特徴を現す菌株が交配によって作出できる可能性を示唆するものである。

一方、U2553は子実体発生時に、子実体が斜めに傾いて発生するなどの形態的異常が見られた。このような形態は、栽培において子実体発生時に互いに子実体が接触し、品質低下を招く危険性があり、あまり望ましいものではない。この子実体の形態異常は胞子欠損性と同様に、交雑株においてすべて発現し、優性発現することが明らかとなった。一般にハラタケ目Agaricales菌類の子実体は、生長初期には正の光屈性を示し、担子胞子の形成開始後には負の重力屈性を示すことが指摘されている<sup>4)</sup>。また、Kaneko and Sagara<sup>5)</sup>らはハラタケ目菌類の子実体の光と重力に対する反応について詳細な実験をおこない、その反応性の違いを3パターンに分類した。このなかでハラタケ属菌類は菌褶の生長が重力屈性を示さないものの、菌傘自体は負の重力形態形成を示すPolyporus Typeに属すると報告している。これは菌傘を重力方向に対して逆向きに形成し、菌褶から担子胞子を効率的に飛散させるための適応であると推察される<sup>4)</sup>。担子胞子形成能力を欠損した変異株において、菌傘の負の重力屈性に異常が発現したことは、これら機能の関連性を示唆するものであり興味深い。また、子実体の形態的異常が胞子欠損性と同時に発現し優性発現することは、この担子胞子欠損性変異体が担子菌類の担子菌類の形態形成とその調節機構を解明するための有用な材料となる可能性を持つといえる。

以上の結果から、本研究において得られた担子胞子欠損性変異体は実用的な無胞子性品種の開発のための育種材料として有用であることが明らかとなった。しかし、胞子欠損性という特性を有し、形態的にも優れた新品種を育成するためには、今後、担子胞子欠損にともなって発現する上述の形態的異常を改善する方向の育種選抜を継続することが重要である。

## 引用文献

- 1) Obatake, Y.: Murakami, S.: Matsumoto T. and Fukumasa, N. Y.: Isolation and characterization of a sporeless mutant in *Pleurotus eryngii*. *Mycoscience*. 44, 33-40 (2003)
- 2) 小島 靖、山本八郎：エリンギ新品種の開発(2) 選抜株の栽培特性. 奈良県森林七研報. 32, 39-43 (2003)
- 3) 全国食用きのこ種菌協会：平成11・12年度種苗特性

調査報告書きのこ(エリンギ). 2002.

- 4) 堀越孝雄:きのこの一生. 東京, 築地書館, 1990
- 5) Kaneko, A and Sagara, N.: Responses of lignicolous-agaric fruit-bodies to light and gravity: a study to overview the fruit-body development in hymenomycetes. *Mycoscience*. 42, 301-310 (2001)

(2002年11月6日受理)