

自殖により得られた2次菌糸間の系統識別について

大分県きのこ研究指導センター 野上 友美・田中 滝二
石原 宏基

1. はじめに

今回はシイタケを材料にし、自殖により遺伝的に近縁な系統を作出し、その系統識別を平板対峙培養法及び電気泳動法により試みたので報告する。

2. 材料および方法

(1) 自殖親

自殖親を当センター保有シイタケOMC0031(不和合性因子A₁A₂B₁B₂), OMC0001(不和合性因子A₂A₃B₂B₃)の2菌株とした。

(2) 自殖親菌株の作出

両菌株から子実体を形成させ常法により単胞子分離を行った。得られた1次菌糸の不和合性因子分析を行い不和合性組合せの2次菌糸を作出し供試菌株とした。

(3) 供試菌株

供試菌株を表-1, 2に示した。例えば供試No. 1の2次菌糸は、不和合因子A₁B₁の1次菌糸であるZ-1, A₂B₂の1次菌糸であるZ-9の交配により得られZ-1側の細胞質を持つ系統であり、供試No.2はNo. 1と正逆の関係の系統である。

(4) 識別を行う組合せ

今回識別を行う組合せは、1) 片方の核は異なるが細胞質が同じである系統同志の4菌株での総当り組合せ(例えば表-1の1, 3, 5, 7), 2) 正逆の関係である

表-1 供試菌株 (OMC - 0031)

供試No	不和合性因子 A ₁ B ₁	不和合性因子 A ₂ B ₂	供試No	供試No	不和合性因子 A ₁ B ₂	不和合性因子 A ₂ B ₁	供試No
1	Z-1	Z-9	2	21	Z-24	Z-25	22
3	Z-1	Z-10	4	23	Z-24	Z-26	24
5	Z-1	Z-11	6	25	Z-24	Z-27	26
7	Z-1	Z-12	8	27	Z-24	Z-28	28
1	Z-1	Z-9	2	21	Z-21	Z-25	22
9	Z-2	Z-9	10	29	Z-22	Z-25	30
11	Z-3	Z-9	12	31	Z-23	Z-25	32
13	Z-4	Z-9	14	33	Z-24	Z-25	34

表-2 供試菌株 (OMC - 0001)

供試No	不和合性因子 A ₃ B ₁	不和合性因子 A ₂ B ₂	供試No	供試No	不和合性因子 A ₃ B ₂	不和合性因子 A ₂ B ₁	供試No
41	Y-1	Y-13	42	61	Y-17	Y-25	62
43	Y-1	Y-14	44	63	Y-17	Y-26	64
45	Y-1	Y-15	46	65	Y-17	Y-30	66
47	Y-1	Y-16	48	67	Y-17	Y-32	68
41	Y-1	Y-13	42	61	Y-17	Y-25	62
49	Y-2	Y-13	50	69	Y-18	Y-25	70
51	Y-4	Y-13	52	71	Y-19	Y-25	72
53	Y-6	Y-13	54	73	Y-20	Y-25	74

系統同志の組合せ(例えば表-1の1, 2)である。

(5) 平板対峙培養法

識別を行う2菌株をPDA平板培地に接種し、25℃暗所で培養した。両菌叢が十分接触した後、明所でさらに培養を続け帯線形成を試みた。なお帯線の判定は接触部が着色し明らかに識別が可能な組合せ(++), 着色はしないが菌叢の状態の違い、接触部の隆起等により差異を認められると思われる組合せ(+), 不明瞭な組合せ(-)の3タイプとした。

(6) 電気泳動法

菌株の培養条件、抽出方法は前報と同様である。泳動方法は、Homo20ゲル、400V、10mA、2.0W、170vh、5℃で行いエステラーゼの活性染色を行った。

3. 結果および考察

(1) 平板対峙培養法と1)の組合せ

識別結果を表-3に示した。OMC0031株の自殖により得られた供試菌株4組、総当り24組合せ中6組合せで明らかに識別が可能であった。OMC0001株については、24組合せ中5組合せで明らかに識別が可能であった。

(2) 平板対峙培養法と2)の組合せ

正逆の関係である系統同志の組合せでは、すべての組合せで識別はできなかった。

(3) 電気泳動法と1)の組合せ

表-3 平板対峙培養法と1)の組合せ

	1	3	5	7	
2		++	++	++	1
10	-		-	-	3
12	-	-			5
14	+	+	+		7
	2	10	12	14	

	41	43	45	47	
42		+	-	-	41
50	-		+	++	43
52	+	+			45
54	+	+	-		47
	42	50	52	54	

	21	23	25	27	
22		++	-	-	21
30	+		++	-	23
32	+	-		++	25
34	-	+	+		27
	22	30	32	34	

	61	63	65	67	
62		+	+	+	61
70	++		+	-	63
72	+	++		+	65
74	++	-	++		67
	62	70	72	74	

表-4 電気泳動法と1)の組合せ

	1	3	5	7	
2		+	+	+	1
10	-		+	+	3
12	-	-		+	5
14	+	+	-		7
	2	10	12	14	

	41	43	45	47	
42		+	+	+	41
50	-		+	+	43
52		+			45
54	+	+			47
	42	50	52	54	

	21	23	25	27	
22		+	+	-	21
30	+		+	+	23
32	+	+		+	25
34	+	-	+		27
	22	30	32	34	

	61	63	65	67	
62		+	+	+	61
70	+		+	+	63
72	+	+		+	65
74	+	-	+		67
	62	70	72	74	

識別結果を表-4に示した。OMC0031株の自殖により得られた供試菌株4組，総当り24組合せ中18組合せで識別が可能であった。OMC0001株では，21組合せ中20組合せで識別可能であった。(1株は欠損)

(4) 電気泳動法と2)の組合せ

識別結果を表-5に示した。OMC0031株の自殖により得られた正逆の関係である系統の14組合せ中4組合せで，OMC0001株では13組合せ中8組合せで識別が可能であった。

(5) 平板対峙培養法と電気泳動法の比較

両識別法の比較を表-6に示した。片方の核は異なるが細胞質が同じである系統同志の組合せでは，平板対峙培養法で明らかな差異が認められなかった34組合せについて電気泳動法では，27組合せで識別が可能であった。また両法を用いても識別不能な組合せが6組存在した。正逆の関係の系統同志の組合せでは，平板対峙培養法では，28組合せすべてにおいて識別不能であった

表-5 電気泳動法と2)の組合せ

1 - 2	21 + 22	41	42	61 + 62
3 - 4	23 - 24	43 + 44	63 - 64	
5 - 6	25 + 26	45 - 46	65 + 66	
7 - 8	27 + 28	47 + 48	67 - 68	
9 - 10	29 + 30	49 + 50	69 - 70	
11 - 12	31 - 32	51 + 52	71 + 72	
13 - 14	33 - 34	53 + 54	73 - 74	

が電気泳動法では12組合せで識別可能であった。

今回は，遺伝的に近縁な系統を作成し，2法，2通りの組合せで識別を行った。電気泳動法によれば，両組合せにおいて明らかに識別能力は向上したが，正逆の組合せの場合は，半数以下の識別しかできなかったことから，泳動法の改善や他酵素の検索が必要となり，系統を品種として考えるなら合わせて生理的，栽培的側面からの照合も必須であると考えられる。

表-6 平板対峙培養法と電気泳動法の比較

識別を行なった組合せ	平板対峙培養法			電気泳動法						
	0031株	0001株		0031株	0001株					
	++	+	-	++	+	-	+	-		
片方の核が異なるが細胞質が同じである系統同志の組合せ	6	7	11	5	12	7	18	6	20	1
正逆の関係である系統同志の組合せ	0	14	0	14	4	10	8	5		