

# シイタケ子実体形成能力の検定\*1

宮崎 和弘\*2

## I. はじめに

遺伝解析を行うためには、世代間での形態や培養的特性の比較が必要である。また、次世代における遺伝マーカーの分離比などの解析も重要である。よって、きのこの遺伝解析のためには子実体を発生させ、担子胞子を取得する必要がある。遺伝解析を効率良く行うためには、子実体を得るために極力特別な発生処理を行わずに済むことが供試菌株を選抜する上で重要な形質と言える。そこで、約120gのおが粉培地を調製し、その中でシイタケを培養し、子実体形成を誘導するために必要な処理条件の違いにより、各菌株の子実体形成能力の検定を試みた。さらに、1.2kgにスケールアップした培地を用いた栽培試験による検定結果との比較を行い、120g培地の検定結果の信頼性について評価を行ったので、その結果について報告する。

## II. 材料と方法

### (1) 供試菌株

一次検定に供試したシイタケ菌株は表-1の通りで、43菌株であった。うち、34菌株が野生株、残り9菌株が栽培品種であった。また、野生株には、ニュージーランド、ニューギニア島、台湾からの外国産野生菌株が含まれている。二次検定には、E569, FMC86, G408, D880, H600, B552, D703, FMC48, KRCM221, KRCM249の10菌株に、D703およびG408間の交配により作出された交配株、MCR14およびMCR15、2菌株を加えた計12菌株を供試した。

### (2) 使用培地

一次検定には、ブナおが粉および米ぬかを容量比で4:1に混合し、水道水で含水率約65%に調整した培地を、300ml容の三角フラスコに約200mlになる様に詰め、オートクレーブ滅菌(121℃, 60分間)したものを用いた。二次検定には、同組成のおが粉培地をPP袋に1.2kg詰め、同様の滅菌処理を行った培地を用いた。使用したPP袋のサイズは、W×D×H:100×130×220mmであった。

### (3) 一次検定

一菌株あたり培地3個におが粉種菌を約100mg接種し、23℃±1の暗所で2ヶ月間静置培養を行った。その

後、まず培地表面上の褐変化の程度を目視的に5段階に区分した。評価は、褐変しなかったものをポイント0、全面的に均一に褐変化していた場合をポイント4とし、その間の褐変化不十分な場合は、さらに3段階に区分した。色が薄い場合ポイント1、表面積で半分以下が褐変化している場合をポイント2、半分以上は褐変化しているが、全面にはいたっていない場合をポイント3とした。その後、2個の培地については、低温処理(15℃・一晚)を行った。低温処理後も子実体の発生が見られなかった菌については、さらに注水処理(注水・一晚)を行った。培養後何も処理をせずに子実体の発生した菌株をポイント3、15℃による低温処理を行って子実体の発生が見られた菌株をポイント2、さらに注水処理を行って子実体の発生が見られた菌株をポイント1、それらの処理を行っても子実体の発生の見られなかった菌株をポイント0として子実体形成能力の一次検定評価をおこなった。2菌床間で結果が異なった場合には、高い方を菌株のポイントとして採用した。

### (4) 二次検定

二次検定用培地におが粉種菌を約300mg接種後、一次検定と同一の条件下で培養を行った。一菌株あたり、3菌床を用いた。153日後に、1菌床に対して15℃による低温処理12時間を行った。その後、培養を続けて無処理区で子実体が発生した場合にはポイント2、低温処理した菌床のみで発生した場合をポイント1、子実体の発生が見られなかったものをポイント0として評価した。2菌床間で結果が異なった場合には、高い方を菌株のポイントとして採用した。

## III. 結果と考察

褐変化の程度の観察結果を表-1に示した。ポイントごとの分布としては、ポイント4の菌株が11、ポイント3が10菌株、ポイント2が4菌株、ポイント1が1菌株、ポイント0が17菌株であった。子実体形成能力に関する一次検定の結果、供試した43菌株のうち、ポイント3が9菌株、ポイント2が1菌株、ポイント1が4菌株、ポイント0が29菌株であった。2ヶ月後における褐変化の観察結果と一次検定による検定結果をみると、培養2ヶ月後に褐変化していないポイント0でも、無処理区で子実体が発生した菌株もあれば、よく褐変化をしてい

\*1 Miyazaki, K.: The estimation for the fruitification ability of shiitake

\*2 森林総合研究所九州支所 Kyushu Res. Center. For. and Forest Prod. Res. Inst., Kumamoto 860-0862

たポイント3および4でも、子実体の発生が見られなかった菌株もあった。分布数の少ない、一次検定においてポイント1および2を示した菌株を除いて、Mann - Whitney の U 検定を行ったところ、5%の有意水準では、2ヶ月後の三角フラスコ培養における菌そうの褐変化の程度と子実体形成に関する検定結果の間では、分布は一樣であるという分析結果になった。よって、褐変化の程度と、今回の子実体形成能力一次検定の結果との間には相関関係はみられず、褐変化の程度観察は子実体形成能力の高い菌株を選抜するための検定法には不適であると考えられた。

次に、一次検定結果と二次検定結果の関係について、Mann - Whitney の U 検定を行った。一次検定結果は、無処理区で発生した菌株 ( $n_1=5$ ) と、その他の菌株の区 ( $n_2=5$ ) に分けて検定を行った。U 値は、6.5であっ

た。有意水準5%では、分布は一樣であるという結果になった。 $n_1=5, n_2=5$  のときの U 値7以下になる確率は、15.5%であることから、三角フラスコを用いた検定方法は危険率15.5%以下であることが期待出来る。三角フラスコによる検定は、120g という少量の培地で行える、検定に結果を得るまでに3カ月でよい等の利点があり、危険率が15.5%とやや高い検定方法ではあるが、大量のサンプルから選抜を行う場合などには菌株選抜の上で有効な方法であると考えられる。

なお、三角フラスコによる検定結果がポイント3であった菌株、G408とD703間で交配した交配株 MCR14およびMCR15はどちらも1.2kgの二次検定用培地で無処理で子実体形成可能な菌株であった。この両交配株は、遺伝解析に用いるために使用する菌株として有利な形質である、子実体形成能力の高い菌株と考えられる。

表-1 供試菌株の褐変化観察、一次検定および二次検定の結果

No.	菌株名	W or C <sup>*1</sup>	採集場所 or 品種名	ポイント		
				褐変化	一次検定	二次検定
1	D703	W	ニュージーランド	0	3	0
2	G408	W	屋久島	2	3	1
3	G409	W	屋久島	3	0	- <sup>**</sup>
4	G410	W	屋久島	2	0	-
5	G411	W	屋久島	3	0	-
6	G412	W	屋久島	4	0	-
7	G413	W	屋久島	1	0	-
8	G414	W	屋久島	3	0	-
9	A901	W	日光	4	0	-
10	B552	W	茎崎	4	1	1
11	D880	W	日光	3	0	1
12	D881	W	日光	3	3	-
13	E84	W	広島県吉和村	0	3	-
14	E569	W	日光	4	3	2
15	E846	W	千葉県君津市	0	0	-
16	10S	W	清澄山	0	0	-
17	FMC2	W	鳥取県六栄社	4	3	-
18	FMC86	C	菌興198	2	3	2
19	KRCM249	C	森465	0	3	2
20	H600	C	北研600号	3	0	1
21	G325	W	屋久島	0	0	-
22	KRCM71	W	宮崎県	0	0	-
23	12-III-2	W	ニュージーランド	0	0	-
24	シ北17	W	北海道	0	0	-
25	FMC4	W	長野県南牧村	0	0	-
26	KRCM27	W	富山県井波町	4	0	-
27	KRCM12	W	静岡県上狩野村	0	0	-
28	KRCM178	W	大分県日田市	4	0	-
29	KRCM145	W	沖縄県本島	3	0	-
30	KRCM221	C	森121	0	0	0
31	FMC48	W	ニューギニア島	4	1	1
32	KRCM154	W	台湾台北	0	0	-
33	A679	W	埼玉県秩父村	2	3	-
34	KRCM72	W	宮崎県	0	2	-
35	KRCM183	W	宮崎県綾町	4	0	-
36	KRCM286	C	ヤクルト春秋5号	4	0	-
37	KRCM135	W	大分県米津村	4	0	-
38	KRCM257	C	秋田種菌A-20号	0	0	-
39	KRCM264	C	深田食菌14号	3	0	-
40	KRCM254	C	北研50号	3	1	-
41	KRCM251	C	大貫菌草	0	1	-
42	シイタケ1	W	英彦山	0	0	-
43	シイタケ2	W	犬ヶ岳	3	0	-
44	MCR14	-	G408 x D703	-	-	2
45	MCR15	-	G408 x D703	-	-	2

<sup>\*1</sup> wは野性株、cは栽培株、-は交配株をあらわす

<sup>\*\*</sup> ポイント結果の「-」は試験に供試していないことをあらわす