

## 速報

シイタケの生長量に関わる遺伝子要因の評価方法の検討について<sup>\*1</sup>宮崎和弘<sup>\*2</sup>・町田誠司<sup>\*3</sup>・川端良夫<sup>\*4</sup>・金子周平<sup>\*4</sup>

宮崎和弘・町田誠司・川端良夫・金子周平：シイタケの生長量に関わる遺伝子要因の評価方法の検討について 九州森林研究 58：225-227, 2005 シイタケの遠縁交配菌株 (MCR14/MCR15) から分離した担子孢子分離菌株100菌株と一核菌糸 H600PP-39 との間で交配を行い、得られた交配菌株を PDA 平板培地上で10日間培養したときのコロニー直径には、菌株間で大きな差が見られた。最大値は、66.5mm (MCR176)、最小値は2.0mm (MCR143) であった。次に、その結果から担子孢子菌株 8 菌株を選抜し、4 種類の一核菌糸と交配を行い、32の交配菌株を調製した。それぞれの菌株の菌糸伸長速度を測定した。各一核菌糸との間で得られる 8 交配菌株を菌糸伸長速度で順位づけ、順位の相関係数 (スピアマンの順位相関係数) の有意性検定を行ったところ、H600PP-39 および M290SOS-1 との交配区間で有意性 (有意水準 5%) が認められた。この結果から、H600PP-39 および M290SOS-1 との交配菌株では、担子孢子菌株の影響を強く受けて菌糸伸長速度が決定されると類推された。

キーワード：シイタケ, 交配菌株, 菌糸生長量, 順位相関

## I. はじめに

シイタケ (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) は、日本で栽培されているきのこ類の中では、もっとも品種数の多い食用きのこである。品種の開発は交雑育種によって行われている。つまり、保有菌株由来の一核菌糸同士を組み合わせて生じる複数の交配菌株をいくつかの段階に分けて評価を行い、その中で最終的に栽培形質として優れた特徴をもつ菌株を品種登録する。しかし、この方法では多大な人手と時間を要する。そこで、染色体地図などのゲノム情報をベースとした DNA 解析による早期検定が実現できれば、品種の開発は飛躍的に低コストかつ短時間で進むこととなるであろう。しかし、シイタケの量的形質に関する遺伝的な解析はほとんど行われていないため、現時点ではシイタケのゲノム情報が得られたとしても、それを栽培形質と関連づけることは出来ない。そこでわれわれは今回、シイタケの量的形質遺伝の遺伝様式を解析するために、菌糸生長量を指標として、遠縁交配菌株由来の担子孢子菌株と異なる 4 つの菌株由来の一核菌糸を用いた交配株を作成し、その組み合わせによる菌糸生長量の違いを比較・検討した。

## II. 材料と方法

## 1. 供試菌株

一次検定に交配菌株 MCR14 および MCR15 (I) を親株とする担子孢子菌株100菌株 (25テトラッド) と北研600号のプロトプラ

ストから調製された一核菌糸株 H600PP-39 間の交配で得られた交配菌株100菌株 (MCR101-MCR200) を用いた。一次検定に用いた交配株は、すべて北研600号由来のミトコンドリア型をもつ。二次検定には、一次検定で選抜された交配菌株を構成する MCR14 由来の担子孢子菌株 8 菌株と、一核菌糸株 4 菌株間の交配から調製された32交配菌株を用いた (表-1)。二次検定に用いた菌株のミトコンドリア型はすべて、MCR14型である。

## 2. 交配

2つの一核菌糸株を、PDA 平板培地上で対峙培養し、交配菌株を得た。分離の際には、ミトコンドリア型を考慮し、目的とするミトコンドリア型を持つ菌株の接種位置よりも外側に生じた二次菌糸を拾った。二核菌糸であるかどうかの判断のため、顕微鏡下

表-1. 菌糸伸長速度の順位相関に用いた交配菌株と交配の組み合わせ

担子孢子菌株	一核菌糸株			
	H600PP-39	M290SOS-1	K248SOS-2	K115SOS-1
MCR14B-5-3	MCR211	MCR291	MCR331	MCR371
MCR14B-5-4	MCR212	MCR292	MCR332	MCR372
MCR14B-16-1	MCR213	MCR293	MCR333	MCR373
MCR14B-16-2	MCR214	MCR294	MCR334	MCR374
MCR14B-81-4	MCR224	MCR304	MCR344	MCR384
MCR14B-142-1	MCR233	MCR313	MCR353	MCR393
MCR14B-147-1	MCR237	MCR317	MCR357	MCR397
MCR14B-149-2	MCR242	MCR322	MCR362	MCR402

<sup>\*1</sup> Miyazaki, K., Machida, S., Kawabata, Y. and S. Kaneko: The study on the procedure of estimation of genetic factors affecting the growth rate of *Lentinula edodes* (Shiitake).

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

<sup>\*3</sup> 沖縄県林業試験場 Okinawa Pref. Forest Exp. Stn., Nago, Okinawa 905-0017

<sup>\*4</sup> 福岡県森林林業技術センター Fukuoka Pref. For. Res. and Ext. Ctr., Kurume, Fukuoka 839-0827

でクランプ結合細胞の観察を行った。クランプ結合細胞が確認された場合、二核菌糸と判断し、新しいPDA斜面培地に移植し菌株の保存を行った。

3. 一次検定

PDAの平板培地(直径;60mm)に、斜面培地から出来るだけ小さく拾った寒天片を接種し、25℃の恒温器中で培養を行った。培養開始から10日目に、直行する2方向におけるコロニー直径を計測し、その平均値を測定した。

4. 二次検定

PDA平板培地(直径;90mm)のほぼ中央に、あらかじめPDA平板培地で培養しておいたコロニーをコルクボーラー(内径;5mm)で打ち抜いたディスクを接種した。一菌株あたり、5枚の平板培地を用い、ディスクを接種後25℃の培養器中で培養を行い、数日おきに直行する2方向におけるコロニー直径を測定し記録した。測定値から最小自乗法によりえられる直線の傾きを2で割り、菌糸の伸長速度とした。得られた菌糸伸長速度を基に、それぞれ同一核菌糸株と交配して得られた8菌株内での順位を決定し、その後スピアマンの順位相関係数を求め、順位相関の有意性検定を行った。

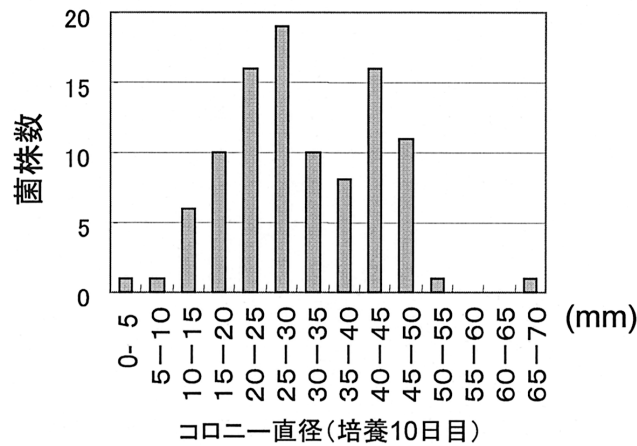


図-1. 交配菌株の培養10日目のコロニー直径による菌株分布

III. 結果と考察

1. 一次検定

試験の結果、交配菌株100菌株(MCR101-MCR200)間では、培養10日目のコロニー直径に大きな差が観察された。コロニー直径の最大値は、66.5mm(MCR176)、最小値は2.0mm(MCR143)であった。培養10日目のコロニー直径を5mm間隔で区切ったときの1区あたりに存在する菌株数の分布を図-1に示した。分布は、広い範囲にわたっており、生長量を決定する遺伝因子が複数存在することが示唆された。測定された結果を基に、生長量が偏らないような8菌株を選抜した(表-2)。

2. 二次検定

一次検定で選抜された8菌株の元となるMCR14由来の担子孢子菌株とその他の一核菌糸株間で交配させた交配菌株32菌株の菌糸伸長速度、およびそのときの同一一核菌糸株と交配して得られた8菌株内での順位を表-3に示した。スピアマンの順位相関係数を求め、順位相関の有意性検定を行った結果を表-4に示した。その結果、一核菌糸株、H600PP-39とM290SOS-1との交配から得られた交配菌株の菌糸伸長速度から決定される順位には5%水準で正の相関があると認められた。正の相関が認められた組み合わせにおいては、菌糸伸長速度はMCR14由来の担子孢子菌株が形質に対する影響が強いため、順位に相関があると考えられる。それに比べ、どの組み合わせとも相関の認められないK248SOS-2およびK115SOS-1と交配した交配菌株では、MCR14由来の担子孢子菌株の形質に対する影響が小さいために、

表-2. 一次検定で選抜された交配菌株のコロニー直径(培養10日目)、順位、交配組み合わせ

菌株名	コロニー		交配組み合わせ
	直径	順位	
MCR103	48.0	1	MCR14B-5-3 x H600PP-39
MCR104	25.5	5	MCR14B-5-4 x H600PP-39
MCR113	42.5	2	MCR14B-16-1 x H600PP-39
MCR114	18.0	7	MCR14B-16-2 x H600PP-39
MCR128	24.0	6	MCR14B-81-4 x H600PP-39
MCR161	36.5	3	MCR14B-142-1 x H600PP-39
MCR173	13.5	8	MCR14B-147-1 x H600PP-39
MCR178	26.5	4	MCR14B-149-2 x H600PP-39

表-3. 各菌株の菌糸伸長速度と同一一核菌糸株区内での順位

(a)			(b)			(c)			(d)		
菌株名	菌糸伸長速度(mm/h)	順位	菌株名	菌糸伸長速度(mm/h)	順位	菌株名	菌糸伸長速度(mm/h)	順位	菌株名	菌糸伸長速度(mm/h)	順位
MCR211	0.182	1	MCR291	0.196	3	MCR331	0.214	1	MCR371	0.095	8
MCR212	0.102	6	MCR292	0.177	6	MCR332	0.146	4	MCR372	0.188	4
MCR213	0.150	2	MCR293	0.202	2	MCR333	0.112	7	MCR373	0.158	6
MCR214	0.092	7	MCR294	0.177	5	MCR334	0.074	8	MCR374	0.197	1
MCR224	0.114	3	MCR304	0.206	1	MCR344	0.189	2	MCR384	0.193	2
MCR233	0.065	8	MCR313	0.146	7	MCR353	0.121	6	MCR393	0.173	5
MCR237	0.112	4	MCR317	0.187	4	MCR357	0.159	3	MCR397	0.192	3
MCR242	0.108	5	MCR322	0.130	8	MCR362	0.139	5	MCR402	0.151	7

- (a) H600PP-39と掛け合わせをした8菌株の中での順位
- (b) M290SOS-1と掛け合わせをした8菌株の中での順位
- (c) K248SOS-2と掛け合わせをした8菌株の中での順位
- (d) K115SOS-1と掛け合わせをした8菌株の中での順位

表-4. 順位相関係数による有意性検定の結果

	x H600	x M290	x K248	x K115
x H600		*	NS	NS
x M290			NS	NS
x K248				NS
x K115				

NS; 5%水準で有意性なし

\*; 5%水準で有意性あり

順位に相関が認められなかったと考えられる。

#### IV. おわりに

今回の試験から、担子孢子由来の単核菌糸の量的形質の解析を行う上で、ある固定した単核菌糸との交配株を利用することは可

能であると考えられた。しかし、組み合わせによっては担子孢子のもつ特徴が表現型として現れにくいことがあることも示唆された。今後、シイタケ等食用担子菌のQTL解析をすすめる上では、注意を要する点であると考えられる。

#### 謝 辞

本試験は、森林総合研究所運営費交付金プロジェクト（課題番号：200403）によって行った。

#### 参考文献

- (1) Miyazaki, K. and Neda, H. (2004) Breeding Science. 54:75-78.  
(2004年11月8日 受付; 2004年11月30日 受理)