

きのこ類の品種改良に関する研究

— ヤナギマツタケのプロトプラスト

再生菌による発生量について —

澤 章 三
菱 田 重 寿

要 旨

ヤナギマツタケのプロトプラスト再生菌、40菌株を使用して菌床による発生試験を行ったところ、親株より発生量が多く、所要日数も短い。優秀な菌株がわずかであるが選抜できることが明らかになった。しかし、これらは親株と対峙培養した場合、帯線を形成しなかった。なお、得られた菌株のうち最も優れたものは発生量で1.25倍、発生所要日数で5日位短かかった。

I はじめに

本県におけるヤナギマツタケの栽培試験への取り組みは、昭和58年8月に豊橋市内の街路樹のブラタナスに生えていたものを一栽培者が当センターに同定依頼されたのを契機として始まった。以来、県内で採集した野生種を選抜したり、栽培に使用するオガ屑の樹種、添加物、その配合比、培地の含水率、菌カキの有無、容器等、原材料から収穫に至るまでの一連の栽培技術について検討してきた。昭和60年度にはこれを用いて岡崎市で現地適応化事業が行われ、昭和61年には県内で23tのキノコを生産するようになった。しかし、栽培するにつれて、キノコバエの発生、キノコの品質保持、培養や発生の不ぞろい、茎の太い品種や、晩生種の開発等の要望が出て来た。それらを解決するには今後、細胞融合等バイオテクノロジーの新しい手法も導入していかなければならないが、まだいくもの課題が残されている。この試験はその一過程で得られたヤナギマツタケのプロトプラスト再生菌40菌株を使用して、菌床による発生試験を行ったもので、その事例について報告する。

なお、この試験結果については既に第37回日本林学会中部支部論文集（1989年）に掲載済みである。

II 試験方法

1. プロトプラストの作製と再生、ヤナギマツタケの野生種の1種、ACY8601を4日間MYG液体培地で培養し、酵素セルラーゼオノズカR-10（3%）、マイセロザイム（2%）、ドリセラゼ（2%）を用いて4時間振とう処理し、プロトプラストを作った。まず、ガラスフィルター3G2でろ過し、ろ液を遠心した（1,000 × g、5分）。さらにその液を分取してプロトプラストの精製液を得た。その液を希釈し、少量を0.5Mショ糖を含むMYG寒天培地上に注ぎ、寒天0.5%の同培地で拡散させながら被った。25°Cで保管し、約10日後現われた菌叢を分離した。

2. 菌床による発生試験

- (1) 容器 900ccスーパービン
- (2) 原材料 ブナオガ屑、フスマ（増産フスマ）
- (3) 培地の調整、詰め込み ブナオガ屑とフスマを10：3の配合比（容積比）で混合し、水を加

えて含水率を65%に調整した。培地はその後、550g/本あて詰め込んだ。

(4) 殺菌 高圧釜で125°C、1.7kg/cm²、50分間殺菌した。

(5) 接種 1昼夜冷却してから親株(ACY8601)と上記で得たプロトプラスト再生菌40菌株のオガ菌を各30本づつ培地(計41菌株×30本=1,230本)に10cc/本あてクリーンベンチ内で接種した。

(6) 培養 温度23°Cで25日間培養した。ただし未まんえんのは完全にまんえんするまで培養した。

(7) 菌カキ 完全にまんえんしたものはその時点で菌カキを行った。菌カキ後はビンの口一杯に水を入れて1昼夜おき、翌日水を出して新聞で覆った。

(8) 発生 温度20°C、湿度90%、2時間に10分間換気できる室内で発芽・成長させた。

(9) 採取 キノコのカサの径が最大4cmまで、膜が切れないのを目安に採取した。

(10) 調査項目 発生個数、発生量、発生所要日数等を調査した。

3. 両口試験管による親株との対峙培養 口径30mm、長さ25cmの両口試験管の中央に長さ10cm、重さ50gの培地(ブナオガ屑とフスマの配合比10:2、含水率65%)を詰め込んだ。高圧殺菌釜で殺菌後、一方の口から親株のオガ菌を1本当たり10ccあて、他の口からプロトプラスト再生菌(H-1~H-20まで20菌株)のオガ菌を同量づつ、計3本×20菌株=60本接種し、22°Cの定温器内で対峙培養を行い、帯線の有無を調査した。

III 結果および考察

1 各菌株の発生量 1+2番の発生量は図-1のとおりであった。発生量は2番出しまで調査したが、2番の発生量が少なく(1+2番の5%位)、図の発生量は1番の発生量とみなしてよいと思われる。これによると、各菌系の発生量は親

株に近い発生をするもの(15菌株の平均発生量94.8g、親株の発生量98.2g)と、親株より発生量の少ないもの(25菌株の平均発生量10.7g)に大別できた。さらに前者について平均値の差を測定してみると、3菌株が親株より多く、6菌株が同等、6菌株が親株より少なかった。親株より多い3菌株については今後繰返し試験を行って安定した性質を示すものか調査したい。

2 各菌株の発生所要日数 前述のように2番の発生量が少なかったため、図-1には各菌株の1番の発生所要日数を示した。これによると、前述の親株に近い発生をするものの発生所要日数は親株と同じ位(15菌株の平均所要日数42.7日、親株の所要日数42.1日)であったが、親株より発生量の少ないものは親株より37日も長くかかった(25菌株の平均所要日数79.5日)。さらに前者について、平均値の差の検定をしてみると、5菌株が親株より短かく、3菌株が同等、7菌株が長くかかった。なお、前述の親株より発生量の多かった3菌株においては発生所要日数も短かかった。

3 各菌株のキノコ1個当たり重量、各菌株の1番、2番に発生したキノコ1個当たりの重量は同じく図-1に示したが、親株に近い発生をするものは平均で3.9g(親株も3.9g)、親株より発生量の少ないものは2.7gであった。

4 対峙培養による帯線の有無 H-1からH-20までの20菌株の親株との対峙培養の結果は表-1に示すとおりであった。帯線は発生量が親株に近い菌株からはみられず、親株より少ない菌株から観察された。これは菌糸を酸素処理することにより何らかの遺伝的な変化があったためだと考えられる。しかし、ここでは発生量が親株と同じ位で帯線を形成する菌株や、親株より発生量が少なく帯線を形成しない菌株は1つも見当たらなかった。このことについては今後さらに検討する必要があるが、親株との対峙培養による帯線の有

無で再生菌株の発生量の優劣が判定できるかもしれないと考えられる。なお、寒天培地上では親株と帯線を形成しない菌株は親株の菌叢に似た褐色の被膜をつくるのに対し、帯線を形成する菌株は気中菌糸が多く被膜はみられなかった。

以上ヤナギマツタケのプロトプラスト再生菌40菌株を使用して菌床による発生試験を行ったところ、親株より発生量が多く、所要日数も短い優秀な菌株がわずかであるが選抜できることが明らかになった。しかし、これらは親株と対峙培養し

ても帯線を作らなかった。なお、今後これらについては安定した性質であるのか繰返し試験をしてみたい。最後に親株より最も優れた菌株は発生量で1.25倍、発生所要日数で5日間位短いものであったことを明記しておく。

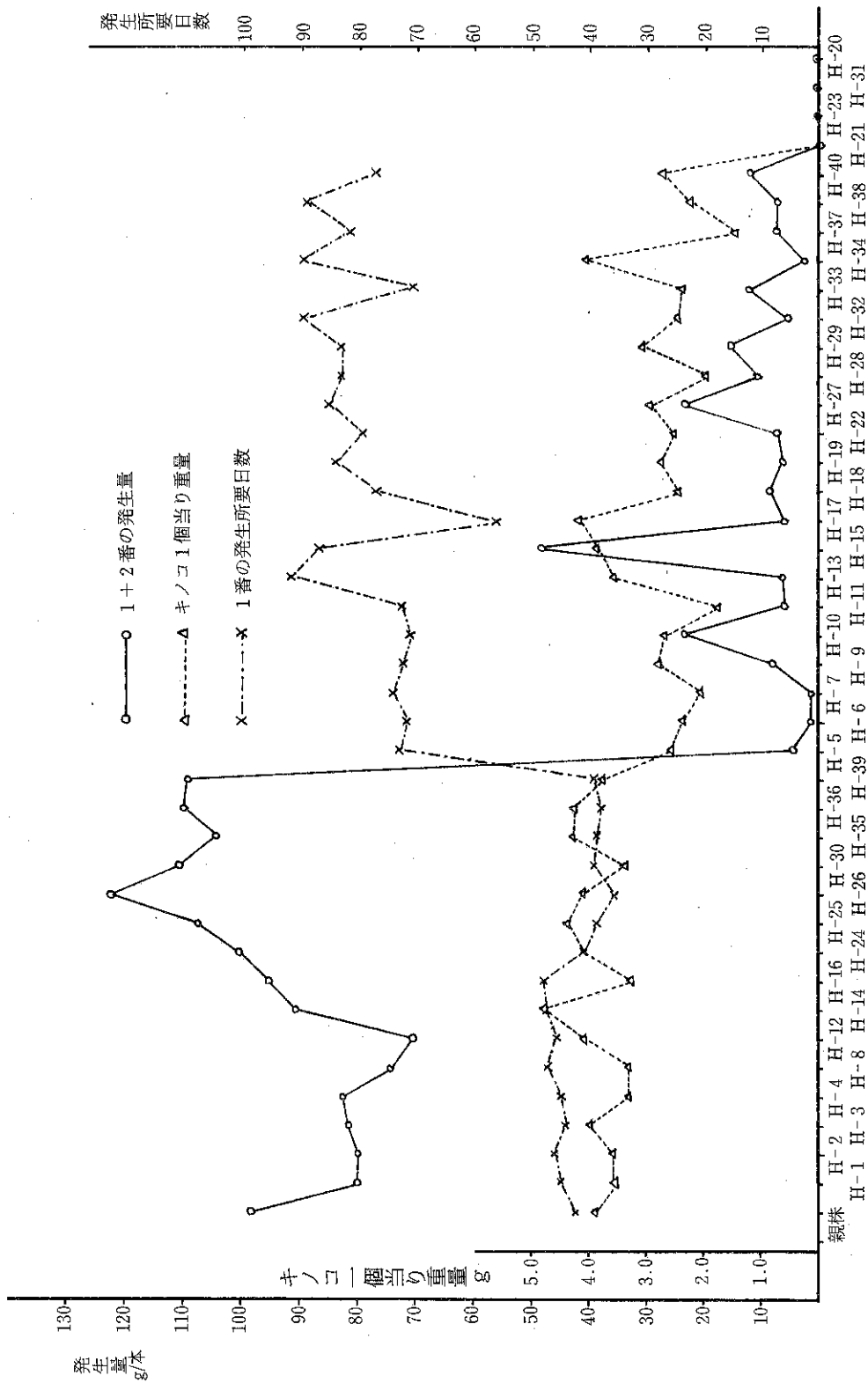
IV 参考文献

- (1) 木内信行：神奈川林試研報、12、1985
- (2) 佐々木堯：遺伝、6月号、1986
- (3) 澤 章三：愛知林セ報、24、1987

表-1 親株との対峙培養における帯線の有無

菌 株	帯線の有無	1+2番の発生量	1番の発生所要日数	菌 株	帯線の有無	1+2番の発生量	1番の発生所要日数
H-1	----	80.2g	45.4日	H-11	+++	6.5g	72.5日
H-2	----	80.3	46.4	H-12	+++	6.3	45.4
H-3	----	81.9	44.2	H-13	----	70.2	92.8
H-4	----	82.7	45.2	H-14	----	90.3	47.1
H-5	+++	4.8	73.8	H-15	+++	48.8	87.0
H-6	+++	1.2	72.0	H-16	----	95.6	48.4
H-7	+++	1.1	74.7	H-17	+++	6.2	56.2
H-8	----	74.6	47.2	H-18	+++	8.5	77.9
H-9	+++	8.0	72.8	H-19	+++	6.3	84.1
H-10	+++	23.4	71.1	H-20	+++	0	-

注：親株の1+2番の発生量98.2g 1番の発生所要日数42.1日



図一 各菌株の発生量、発生所要日数およびキノコ1個当り重量