

ナメコ栽培に関する研究

— ナメコ優良品種選抜試験 —

(県単課題 平成7年～平成11年度)

主任研究員 熊田 淳

主任研究員 竹原 太賀司

目 次

要 旨	16
I はじめに	16
II 実験材料および方法	17
1. 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験	17
(1) 供試菌株と育種目標	17
(2) 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験区	18
(3) 原木栽培方法と調査方法	18
(4) 選抜過程における菌株の保存法	19
2. 菌床栽培用ナメコ優良品種選抜試験	19
(1) 育種母材	19
(2) 交配方法	20
(3) 菌床栽培方法	21
(4) 品種選抜試験区と育種目標	21
(5) 選抜菌株の安定性と区別性の検討	23
(6) 継代保存した一核菌糸を用いたモンモン交配における安定性の検討	24
III 結果と考察	25
1. 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験	25
(1) 供試株の収量分布と選抜基準	25
(2) 選抜株の子実体発生パターン	25
2. 菌床栽培用ナメコ優良品種選抜試験	27
(1) 交配に用いた単孢子株の菌糸成長特性	27
(2) 野生株による選抜試験	27
(3) ダイモン交配株による選抜試験	29
(4) モンモン交配株による選抜試験	35
(5) 選抜菌株の安定性と市販菌株との区別性	40
(6) 継代保存した一核菌糸を用いたモンモン交配における安定性の検討	44

平成12年2月25日 受理

IV 総合考察	47
1. 本試験におけるナメコ育種方法の妥当性	47
2. ナメコの安定性向上の可能性	50
V 引用文献	51

要 旨

ナメコ(*Pholiota nameko*)の優良品種を選抜するために、原木栽培に野生株165株、菌床栽培に交配株700株と野生株62株を供試し、栽培試験を行った。原木栽培では、市販菌の2倍以上の収量を示し子実体形質が優良な7株(供試株の5%)を選抜した。菌床栽培では、収量が市販菌と同等以上で育種目標の子実体形質を有する25株(供試株の3.6%)を選抜した。菌床栽培における選抜株は、市販菌に対し、子実体形質と生理特性に区別性を有し安定性が高いことが確認された。ナメコは2極性であり、単孢子株には2種の交配型に分かれることが期待される。しかし、市販菌のK248株は、第3の交配型が高頻度で出現し、不和合性因子内に組み換えや一部欠損が広範に生じている可能性が示唆された。市販菌を育種母材とする交配株は、発生不良株の出現頻度が高く収量分布が正規分布を示さなかった。この原因として、市販菌の不和合性因子が一部欠損した単孢子株の影響が考えられた。したがって、菌床栽培用市販菌および市販菌を育種母材とした選抜株は、不和合性因子の解析を行いさらに安定性を向上させる必要があると判断した。

I はじめに

ナメコ(*Pholiota nameko* (T. Ito) S. Ito and Imai in Imai)の菌床栽培は、昭和40年代に当場で選抜したF27株^{24,25)}を用いて当県から全国に急速に普及し、平成9年度には全国で24,522tの生産量を示すに至った⁷⁾。その中で福島県のナメコ生産量は、原木栽培が34.1t(全国4位)、菌床栽培が1,614.5t(全国5位)、計1,648.6t(全国5位)であり⁷⁾、依然として全国有数の生産県である。しかし、後発の長野県、山形県、群馬県、新潟県の実産量の伸びが著しく、本県の栽培者は厳しい産地間競争に晒されている。これらの地域では、全国的に展開する大手メーカーの種菌が画一的に用いられることが多く、子実体形質に地域的特徴はない。このため、独自品種により地域の特性を生かし、産地間競争を有利に展開するために、栽培者の要望を受けて長野県、山形県、新潟県等は独自品種の開発を行っている。当県は、過去に全国1の生産県であったことから、独自品種に対する栽培者の期待は特に大きい。このため、本試験では、原木用と菌床栽培用のそれぞれの優良独自品種を開発することを目的とする。

本県は、原木ナメコの全国生産量の約10%を占める有数の生産県であり、北塩原村、西会津町、金山町等の会津地方を中心⁸⁾として栽培が行われている。原木ナメコは、天然産と変わらない優良な品質であるため、近年消費者の本物志向とともにその関心が高まりつつある。しかし、生産量は年々減少し、平成9年の本県の実産量は、昭和50年の4%程度まで低下した。この原因として、菌床栽培の

普及や後継者問題以外にも、原木栽培における発生量の減少の問題²⁶⁾が指摘されている。発生量の減少については、ほだ場適地の減少等いくつかの要因が考えられるが、品種の問題もその一因と思われ、優良な品種に対する期待が高くなった。そこで、当场では、栽培の安定化に資し優良な品質のナメコ生産を存続するために、本県に適した品種の選抜を継続して行ってきたが、今回は平成7年から11年までの選抜結果について報告する。ナメコの原木栽培で年間に供試可能な菌株数は、作業性の面から菌床栽培よりかなり制限される。このため、本試験では、多数の菌株の供試が必要な交配等による育種方法は用いず、自生地に天然に発生した子実体の組織から分離した菌株を供試した。

ナメコの菌床栽培用品種は、各種菌メーカーとも昭和40年代に当场で選抜されたF27株^{24),25)}を育種母材として、主に組織分離株の選抜による品種開発が行われたといわれている。馬場崎⁵⁾は、ナメコ市販菌60品種を32種類のRAPDマーカーでクラスター分析した結果およびミトコンドリアDNA-RFLP分析の結果から、多くの菌床栽培用品種が含まれる分類群は主に群内と同等もしくはそれより近交な条件で育種されたと判断した。このため、本試験では、新たな遺伝子型の品種を育成するために、野生株から優良な形質を有する育種母材を検索した。次に、選抜した野生株とF27系の4種市販品種の組み合わせでモンモン交配(一核菌系同士の交配)とダイモン交配(一核菌系の二核菌系による複核化)を行い、市販菌の子実体形質および遺伝子型と区別性を有する実用品種の育成を目指した。育種目標により、育種母材の組み合わせを変えた試験区を設定し、試験区毎に育種目標を達成した交配株を選抜した。選抜株は、安定性および生理特性における市販菌との区別性を検討し、実用性を評価した。

単孢子株は、減数分裂を経て生産されるため各々異なる遺伝子型を有する。このため、遺伝的に優れた単孢子株の組み合わせを得るためには、多数の組み合わせを試みる必要がある。仮に一方を優良な単孢子株で固定できれば、育種的大幅な効率化が図れる。しかし、一核菌系の安定的保存が難しいため、通常の育種において単孢子株は保存されない。本試験では、交配の過程で優良単孢子株が存在する可能性が示唆された。このため、継代保存または斜面培地を直接凍結保存⁶⁾した単孢子株による交配を試み、保存した一核菌系による育種の実用性を評価した。

一方、1個の子実体から得られた単孢子株の細胞質遺伝子は同質である。したがって、群内交配の正逆位置の栽培特性は、変わらないと考えられる。実際、ヒラタケでは正逆で栽培特性の相違が全く認められていない²⁹⁾。しかし、本試験のナメコ群内交配において正逆の栽培特性に差異が認められた。このため、継代保存した市販菌単孢子株の同一組み合わせの交配を繰り返し、同位置の子実体収量と収穫時期の変動量を測定し、安定性に影響のある要因を解析し、市販菌を育種母材とした交配株の安定性を評価した。

II 実験材料および方法

1. 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験

(1) 供試菌株と育種目標

原木栽培用優良品種選抜試験における供試株は、県内および月山(山形県)、白山(福井県)、鳥海

山(秋田県)、谷川岳(群馬県)、大山(鳥取県)、恐山(青森県)、白神山(青森県)、吾妻連峰(山形県)、石鎚山(高知県)、佐渡金北山(新潟県)、黒松町(北海道)、佐和又山(奈良県)等日本各地のブナ林で採取された野生ナメコ子実体の組織分離株165菌株とした。

原木栽培用優良品種選抜における育種目標は、本県の気候に適合した市販菌より収量性の高い品種の育成とした。また、本選抜試験は、優れた子実体形質を有する菌床栽培用品種の育種母材を検索する目的も有する。

(2) 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験区

平成4年～11年の各年度に設定した試験区を、表-1に示す。対照株は、No. 6株(旧福島県きこのセンター市販菌S-18株)を平成4年度～8年度まで、M-2株(市販菌)を平成5年～11年度まで用いた。No. 6株は、昭和58年度から対照菌株として用いてきたが、平成4年頃から発生不良の兆候が生じてきたため、平成9年度以降はM-2株のみを対照株とした。

表-1 原木用ナメコ優良品種選抜における年度別試験区

年度	供試菌株	株数	原木本数	対照菌株	接種日	収量調査
H4	No.82～No.91	10	15本/区	No.6	4/8～9	終了
H5	No.92～No.104	13	20本/区	No.6, M-2	3/25～26	終了
H6	No.105～No.119	15	20本/区	No.6, M-2	4/15～27	終了
H7	No.120～No.144	25	15本/区	No.6, M-2	3/27～29	終了
H8	No.145～No.166	22	20本/区	No.6, M-2	3/27～28	H12まで
H9	No.167～No.193	27	15本/区	M-2	3/24～25	H13まで
H10	No.194～No.220	27	15本/区	M-2	3/23～24	H14まで
H11	No.221～No.246	26	15本/区	M-2	3/23～24	H15まで

脚注：原木の樹種はコナラ、仮伏せは省略し直接アカマツ・スギ混交林内に本伏せ。

(3) 原木栽培方法と調査方法

① 原木栽培方法

ア. 種駒の調整方法

3mmの篩を通した広葉樹木粉と米糠を10：1の割合で混合し、含水率を65±1%に調整した培地約120gを200mlのガラス製瓶に充填し、綿栓をした後121℃で60分間殺菌を行った。この培地に、その年の秋に斜面培地に分離した菌株の寒天片を接種し(12月上旬)、22±2℃で30日程度培養し原種菌とした。原種菌と同様の培地を1200mlのガラス瓶の上下に詰め、その間に少量の培地をまぶした500個の原駒を充填し、綿栓をした後121℃で80分間殺菌を行った。この培地に原種菌を接種し(1月上旬)、22±2℃で80日程度(3月下旬まで)培養し種駒とした。原駒は径8.5mm(先端径5mm)、長さ18mmのブナ製を用い、瓶に充填する前日に10万個(60kg)当たり米糠2kg、グルコース1kg、エビオス500gを加えた等量程度の熱水中で4時間煮沸して使用した。

イ. 種駒の接種方法と原木の樹種

直径10～25cm、長さ90cm程度のコナラを供試原木に用い、接種孔を千鳥状に1列4個とし、列数を原木直径の3倍の接種駒数を目安に決定し、電動式ドリルで深さ40mmの穴を開け、種駒を接種した。接種は、3月下旬から4月上旬に行った(各年度の接種日は表-1参照)。

ウ. 接種した原木の管理方法

接種後の原木は、仮伏せを省略し、本場内のマツとスギの混交林内に接地伏せした。接種翌年の春期に天地返しを行い、年2回程度の下刈りを行う以外は、被覆や土壌消毒等の特別な管理は行っていない。

② 収量の調査方法

子実体の傘の開ききらないうちに、なるべくほだ木を動かさないように収穫し、柄付きのままの子実体生重量、子実体個数、採取日を接種した年から5年間測定した。全供試原木の元口と末口の短径と長径及び材の長さを1mm単位で測定して材積を求め、各区の測定期間内の全収量を原木1㎡当たりの重量として表示した。

(4) 選抜過程における菌株の保存法

原木栽培用ナメコ優良選抜試験は、調査終了まで5年を要する。このため、継代保存による栽培特性の変化を防止するために、木粉培地直接凍結保存法¹⁹⁾により菌株保存を行った。3mmの篩いを通した広葉樹木粉と米糠を10:1の割合で混合し、含水率を65±1%に調整した培地を30mlのガラス製スクリー管瓶に充填し121℃で60分間殺菌を行った培地に、供試株を接種し1か月間培養後凍結保存を行った。保存培地への接種は、供試株の種駒調整と同時に行った。

2. 菌床栽培用ナメコ優良品種選抜試験

(1) 育種母材

ア. 育種母材とその特徴

本試験に供試した育種母材を表-2に示す。

ダイモン交配における二核親株は、野生株が4株、市販菌が2株、選抜株等が2株の計10株を用いた。野生株は、昭和40年代に当県で選抜されたF27^(24,25)(No.3)、原木栽培において大形で特に優良な子実体を形成したNo.94¹⁰⁾、菌床栽培において早期に子実体形成したNo.220、菌床栽培において早期にやや大形の子実体形成したW株を用いた。市販菌は、栽培者の使用頻度が高いK248株、T126株の2品種を用いた。また、本試験における選抜株のmK42×No.94株、細胞融合²⁷⁾における選抜株F320-44株の2株も、二核親株として供試した。

モンモン交配における担子孢子由来一核株(以下単胞子株とする)の二核親株は、市販菌と当场保管野生株(表-4参照)それぞれ3株を供試した。市販菌は、栽培者の使用頻度が高いK248株、T126株、T127株とした。野生株は、子実体の色が薄い特徴を有する野生株の選抜株No.144、他

表-2 交配株の育種母材

核相	区分	育種母材菌株番号	分離元	株数
二核親株	野生株	No.3(F27), No.94, No.220, W	-	4
	市販菌	K248, T126	-	2
	選抜株等	mK42×No.94, 320-44(細胞融合株)	-	2
一核親株	単胞子分離株	mK1~mK50	市販菌K248	50
		mT1~mT20	市販菌T126	20
		mT1~mT5	市販菌T127	5
		m1~m50	野生株No.144	50
		mI1~mI5	野生株No.204	5
		mM1~mM5	野生株No.220	5

の品種と容易にクランプ結合を形成する性質を有する No.204、菌床栽培において早期に子実体形成した No.220 を供試した。本試験で育種母材の一方に野生株を用いた理由は、市販菌の収量を維持し子実体形質と食味が天然ナメコに近い品種を育成し、産地間競争を本県が有利に展開するためである。

イ. 単孢子株の分離方法と保存方法

二核親株に形成された子実体を滅菌シャーレに静置し孢子紋を得た。このシャーレに滅菌水 5 ml を加えた担子孢子懸濁液を適当な濃度に希釈して、その 0.2 ml を MYPG 平板培地に抜けた。これを 24℃、暗黒下で 1～2 週間培養し、担子孢子が発芽したコロニーの菌糸を MYPG 斜面培地に移植した。分離した単孢子株は、K248 株由来株を mK1～mK50、T126 株の由来株を mT1～mT20、T127 株由来株を mT'1～mT'5、No.144 由来株を m1～m50、No.204 由来株を mI1～mI5、No.220 由来株を mM1～mM5 と表した。単孢子株は、分離後直ちに最初の交配と成長量の測定に用いた。その後、mK1～mK50、mT1～mT20 株は、4℃暗黒下で保存し、6 か月毎に MYPG 斜面培地で植え継ぎを行った。mT'1～mT'5、m1～m50、mI1～mI5、mM1～mM5 株については、分離した斜面培地(φ15mm×105mm 試験管、シリコ栓)を直接 -85℃ で保存する馬場崎らの方法⁶⁾ で凍結保存した。

ウ. 単孢子株の菌糸成長量の測定

単孢子株の菌糸成長量は、平板培地での菌糸伸長速度および液体培地における菌糸体重量の測定により行った。MYPG 培地(Glucose 20g, Peptone 4 g, Malt extract 8 g, Yeast extract 4 g, Agar 20g, 蒸留水 1L)を 20ml 分注して平面培地を調整したシャーレに上述の一株株を接種し、24℃暗黒下で 1 週間培養後、同培地に再度接種して培養を行い、3 日目および 8 日目に菌糸伸長量を測定して伸長速度を算出した。計測を終えた菌糸体コロニーを内径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、その菌糸体片を MYPG 培地を 20ml 入れて滅菌した 50ml 容アンプル管に接種し、予め殺菌した二重のアルミフイルで管口を覆い、24℃暗黒化で 15 日間培養後、予め乾燥重量を測定したろ紙上に移して蒸留水で十分に洗浄した。菌糸体をろ紙ごと 80℃ で恒量になるまで乾燥後、秤量して菌糸体重量を算出した。測定の繰り返しは、菌糸伸長速度を 6 回、菌糸体重を 2 回とした。

(2) 交配方法

① ダイモン交配

MYPG 平面培地で 24℃ で約 10 日間培養した単孢子株と二核親株を内径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、シャーレ(内径 9 cm)内の 20ml MYPG 平面培地に約 2 cm 間隔で接種した。24℃ で 30 日間培養後、単孢子株側中間部¹⁾でクランプ結合の有無を検鏡し、再二核化が確認できた菌株を MYPG 斜面培地に分離した。ダイモン交配株は、単孢子株番号×二核親株(例えば mK42×No.94)と表記した。

② モンモン交配

MYPG 平面培地で 24℃ で約 10 日間培養した単孢子株同士を直径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、シャーレ(内径 9 cm)内の 20ml MYPG 平面培地に約 2 cm 間隔で接種した。24℃ で 30 日間培養後、正・逆部から直径 5 mm の寒天片を MYPG 斜面培地に分離した。モンモン交配株は、単

胞子株番号×単胞子株(例えば mK50×mT1；下線は分離位置側の単胞子株)と表記した。

(3) 菌床栽培方法

木粉米糠培地(広葉樹木粉と米糠を10：1(風乾重量比)で混合して含水率を64%に調整したもの)120gを200ml ガラス瓶に入れて高圧滅菌した。放冷後、供試株を接種して24℃で30日間培養したものを種菌として栽培試験に供した。栽培は800ml 容ポリプロピレン製瓶を用い、木粉ふすま米糠培地(広葉樹木粉、ふすまおよび米糠を10：1：1(風乾重量比)で混合して含水率65±1%に調整したものを)、1瓶当たり500g 充填した。120℃、60min 高圧滅菌した。放冷後、種菌約30gを接種して、22±2℃で60日間培養後、14±1℃、相対湿度85%以上の環境下で60日間培養して子実体を得た。供試瓶数は各供試株を3または4本、対照株(供試株の育種母材の二核親株)を6～20本とした。

(4) 品種選抜試験区と育種目標

菌床栽培用ナメコ優良品種選抜試験区を表-3に示す。試験区は育種法および育種目標による育種母材の組み合わせにより区分した。各試験区の試験目的または育種目標は以下のとおりである。

表-3 菌床用ナメコ優良品種選抜における試験区と育種方法

育種法	試験区	親株 1	親株 2	株数	発生操作
野生株	1	—	—	62	60日
ダイモン交配	2	市販菌K248単胞子株(mK1~mK50)	No. 94(野生株), W(野生株), 320-44(細胞融合株),	150	60日
	3	野生株No. 144単胞子株(m1~m50)	市販菌K248, 市販菌T126, mK42×No. 94株(選抜株)	150	60日
	4	野生株No. 144選抜単胞子株(m18, m21, m32, m36, m37, m39, m40, m41, m44, m46)	野生株No. 3, No. 220, mK42×No. 94株(選抜株)	30	60日
モンモン交配	5	市販菌K248単胞子株群内交配(mK4×mK11, 19, 22, 33, 42, 50およびmK10×mK11, 19, 22, 33, 42, 50)	—	24	60日
	6	市販菌T127単胞子株群内交配(mT' 1~mT' 5の相互交配)	—	12	60日
	7	野生株No. 220単胞子株群内交配(mM1~mM5の相互交配)	—	8	60日
	8	市販菌K248単胞子株(mK4, mK50)	市販菌T126単胞子株(mT1~mT20)	80	60日
	9	市販菌T127単胞子株(mT' 1~mT' 5)	野生株No. 220単胞子株(mM1~mM5)	26	40日
	10	市販菌T127単胞子株(mT' 1~mT' 5)	野生株No. 204単胞子株(mI1~mI5)	50	40日
	11	野生株No. 220単胞子株(mM1~mM5)	野生株No. 204単胞子株(mI1~mI5)	50	40日
12	市販菌T127単胞子株(mT' 1~mT' 20)	野生株No. 144選抜単胞子株(m21, m39, m44)	120	40日	

総計 762株

脚注：培地組成は、広葉樹木粉10：米糠1：ふすま1(風乾重量比)、含水率65%
 培養は22±2℃で60日間、発生操作は14±1℃・相対湿度85%以上で40または60日
 瓶数は供試株当たり3または4本(ポリプロピレン製800ml 瓶に培地500~520g 詰め)

① 野生株による選抜試験(試験区1)

試験区1は、野生株から有用形質を検索し、育種母材を確保することを目的とする。また、野生株の収量分布を求め、野生株から直接実用品種が得られる可能性を検討した。供試株は、平成6年~8年の原木栽培用優良品種選抜の供試株 No. 105~No. 166とした。

② ダイモン交配株による選抜試験(試験区2~4)

ア. 市販菌の単胞子株の複核化(試験区2)

試験区2は、市販菌と形質的に区別性のある天然ナメコの子実体形質を有する多収量品種を

作出することを育種目標とする。野生株の二核親株に No. 94、W 株を用い市販菌 K248株の単胞子株 mK1～mK50を複核化した。また、本試験区では、市販菌 K248株をさらに多収量品種に改良するために、二核親株に細胞融合株 F320-44を用い mK1～mK50を複核化した。3種の二核親株により合計150株のダイモン交配株を作出し、選抜試験に供した。本試験区の交配株は、市販菌の細胞質遺伝子を有する。

イ. 野生株の単胞子株の複核化(試験区 3)

試験区 3 は、市販菌 K248株、市販菌 T126株、選抜株 mK42×No. 94株の 3 品種の子実体色を薄く改良し、市販菌と子実体色が明らかに異なる多収量品種を作出することを育種目標とする。子実体の色が薄い特徴を有する野生株の選抜株 No. 144の単胞子株 m1～m50を 3 種二核親株で複核化した。3種の二核親株により合計150株のダイモン交配株を作出し、選抜試験に供した。本試験区の交配株は、野生株の細胞質遺伝子を有する。

ウ. 凍結保存した野生株の選抜単胞子株の複核化(試験区 4)

試験区 4 は、試験区 3 の結果を基に選抜した No. 144の単胞子株 m21、m32、m36(薄色を期待)、m37、m39、m40、m41、m44、m46および m18により、野生株 No. 3、No. 220、選抜株 mK42×No. 94株の増収化と同時に子実体色を薄く改良することを目的とする。優良単胞子株を 3 種二核親株で複核化して得た150株のダイモン交配株を選抜に供した。

試験区 4 で用いた優良単胞子株は、斜面培地を直接-85℃で保存する馬場崎らの方法⁶⁾で約 6 か月凍結保存した株を、室温で一昼夜放置して解凍した再生菌糸を用いた。この保存法は、交配能が維持されることは馬場崎により確認されているが、交配株の栽培特性に与える影響は未だ不明である。したがって、試験区 4 は、この保存法が育種過程の一核菌糸の保存方法として実用的かを評価する目的も有する。

③ モンモン交配による選抜試験(試験区 5～12)

ア. 継代保存した市販菌の選抜単胞子株における群内交配(試験区 5)

試験区 5 は、試験区 2 の結果で優良(mK10、mK11、mK19、mK22、mK33、mK42、mK50)および非優良一核株(mK4)と判断された単胞子株を用い、モンモン交配においても一核株親の優劣の傾向が存在するか確認するとともに、市販菌 K248株の群内交配により表現型の異なる優良菌株の作出を図ることを目的とする。一核親株の組み合わせは、mK4×mK11、mK19、mK22、mK33、mK42、mK50および mK10×mK11、mK19、mK22、mK33、mK42、mK50とし、正逆交配株24株を作出し選抜試験に供した。

試験区 5 では、4℃暗黒下で約 6 か月保存した選抜単胞子株を用いた。これにより、育種過程の一核菌糸の保存方法として、継代保存の実用性を評価した。

イ. 市販菌の群内交配(試験区 6)

試験区 6 は、市販菌 T127株の群内交配により、表現型の異なる優良菌株の作出の可能性を検討することを目的とする。単胞子株 mT'1～mT'5を用いて得た12株の群内交配株を栽培試験に供した。

ウ. 野生株の群内交配(試験区7)

試験区7は、野生株 No.220の群内交配により、野生株の子実体形質を有する増収株の作出の可能性を検討することを目的とする。単孢子株 mM1~mM5を用いて得た8株の群内交配株を栽培試験に供した。

エ. 市販菌同士のモンモン交配(試験区8)

試験区8は、市販菌同士のモンモン交配により、表現型の異なる優良菌株の作出の可能性を検討することを目的とする。試験区2の結果で優良(mK50)および非優良一核株(mK4)と判断された市販菌 K248株の2種の4℃暗黒下で約6か月保存した単孢子株と、市販菌 T126株の単孢子株 mT1~mT20の組み合わせでモンモン交配を行い得られた正逆80株の交配株を栽培試験に供した。

試験区8では、モンモン交配においても一核株親の優劣の傾向が存在するか確認するとともに、継代保存一核菌系による育種の実用性を評価した。

オ. 市販菌と野生株の群間交配(試験区9、10)

試験区9、10は、市販菌と同等の収量性を有し、かつ市販菌に対し子実体形質および遺伝子型において区別性を有する優良菌株の作出を目的とする。試験区9は市販菌 T127株の単孢子株 mT'1~mT'5と野生株 No.220の単孢子株 mM1~mM5、試験区10は市販菌 T127株の単孢子株 mT'1~mT'5と野生株 No.204の単孢子株 mM1~mM5を相互に群間交配して得られた正逆交配株それぞれ26株と50株を栽培試験に供した。

カ. 野生株同士の群間交配(試験区11)

試験区11は、野生株同士の群間交配により、増収株が作出される可能性を検討することを目的とする。野生株 No.220の単孢子株 mM1~mM5と野生株 No.204の単孢子株 mM1~mM5を相互に群間交配して得られた正逆交配株50株を栽培試験に供した。

キ. 市販菌と野生株の凍結保存した選抜単孢子株の群間交配(試験区12)

試験区12は、市販菌の子実体の色を薄く改良することを目的とする。試験区3の結果を基に選抜した No.144の凍結保存した単孢子株 m21、m39、m44と、市販菌 T127株の分離直後の単孢子株 mT'1~mT'20の群間交配により得られた120株を栽培試験に供した。

試験区12では、育種過程の一核菌系の保存方法として、凍結保存⁶⁾の実用性を評価した。

(5) 選抜菌株の安定性と区別性の検討

① 選抜株の安定性の評価方法

ア. 交配株作出直後における子実体の組織分離

試験区2において選抜株 mK22×No.94株と mK42×No.94株とした。1回目の子実体発生時に優良系統子実体の傘の中央部から MYPG 斜面培地に組織分離を行い、それぞれ7株と5株の分離株を得た。組織分離株は、24℃で30日間培養後、4℃暗黒化で保存した。分離株の保存期間が12か月経過した後、栽培試験を行った。対照は、継代間隔12か月年で15か月経過した mK22×No.94株と mK42×No.94および単孢子株親株の K248株とした。

イ. 保存後における子実体の組織分離

15か月保存後の mK42×No. 94株を接種した同一瓶内の発生子実体から MYPG 斜面培地に組織分離を行い、20株の分離株を得た。12か月保存後の mK22×No. 94株を接種した同一瓶内の1回目発生子実体から組織分離を行い、16株の分離株を得た。12か月保存後の mK22×No. 94株に形成された大形子実体(12.5g/個)については、傘と柄各5部位から組織分離し、10株の分離株を得た。分離株の培養終了後、mK42×No. 94株から得た20株の対照を継代間隔12か月で作出後18か月経過した mK42×No. 94株とし、また mK22×No. 94株から得た26株の対照を継代間隔12か月で分離後15か月経過した mK22×No. 94株とし、栽培試験を行った。

ウ. 選抜株の安定性の評価

選抜株の継代保存前後の栽培特性の継時的変化、および継代保存期間が異なる選抜株に形成された子実体から組織分離した菌株の栽培特性のバラツキから、安定性の評価を行った。

② 選抜株の区別性の評価方法

選抜株 mK42×No. 94株の区別性を、品種登録における生理特性の測定法に従い、温度別菌糸伸長特性、および従来品種との PDA 培地上での帯線形成により評価した。温度特性の対照品種は、単孢子株 mK42の二核親株である市販菌 K248株とした。帯線形成の対照品種は、市販菌 K248株、K245株、T127株、T130株とした。

(6) 継代保存した一核菌糸を用いたモンモン交配における安定性の検討

継代保存した一核菌糸による交配は、クランプ結合の形成範囲が限定し、分離位置により栽培特性に差異が生ずる可能性がある。このため、同一材料による交配を繰り返し、同位置の子実体収量と収穫時期の変動量を測定し、分離部のクランプ結合と分離株の栽培特性の関係を求めた。6か月間隔で3回継代した(4℃暗黒下で保存)mT10、及び mK42、mK50の3種の一核菌糸を供試株とした。mK42×mT10と mK50×mT10の組み合わせで、各交配組み合わせを6回繰り返した。30日間24℃培養後、正逆、接触部の3箇所を鏡し、クランプ結合数を多・普通・少・無の4段階に分け、直径5mmの寒天片を MYPG 斜面培地に分離した。MYPG 平面培地で12日間培養した交配材料を、mK42×mT10と mK50×mT10の組み合わせで、同様の培地上に20mm 間隔で接種した。35日間24℃培養後、正逆、接触部の3箇所を鏡し、クランプ結合数を多・普通・少・無の4段階に分け、直径5mmの寒天片を MYPG 斜面培地に分離した。なお、6回の繰り返しの内1枚のシャーレについては、図-1に示す13位置について分離と鏡を行った。

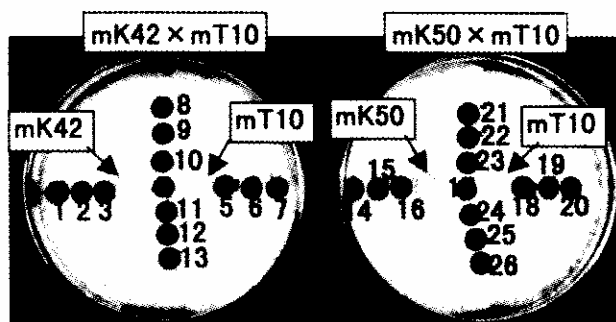


図-1 モンモン交配における分離位置

脚注：寒天平板培地上での K42×mT10と mK50×mT10のモンモン交配は、それぞれ6回の繰り返しを行い、内5回の繰り返しについては受容核側(2、15)、接触部(4、17)、供与核側(6、19)の位置から分離した。残りの1回については全ての位置から分離した。

Ⅲ 結果と考察

1. 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験

(1) 供試株の収量分布と選抜基準

平成3年から10年にかけて県内および日本各地で採取したナメコ子実体から組織分離した165菌株を分離翌年の春に順次コナラ原木に接種し、収量調査を行った。野生株の採取地リストと原木1m³当たりの収量(平成12年1月現在までの総収量)を表-4に示す。また、収量分布を図-2に示す。

No. 83~No. 220(平成4年~10年度設定試験)は、収量調査継続中の菌株も含め0.20~50.49kg/m³の範囲で、平均値および標準偏差は13.90±10.73kg/m³であった。分布型は、負の二項分布型を示した。分布の上位5%をしめるNo.175、No.178、No.193、No.189、No.168、No.86、No.194は、35kg/m³以上の収量であった。図-3に示した対照株の収量は、最大でも15kg/m³程度であった。上位5%の7菌株は、少なくとも市販菌の2.3倍以上の収量があり、いずれも優良な子実体形質を示した。この7菌株は、収量調査期間を未だ2~3年残しているが、この時点で優良株として選抜した。したがって、これら7菌株の最終収量は、さらに高くなると予想される。

(2) 選抜株の子実体発生パターン

選抜株の時期別発生割合を図-4に示す。No.175、No.178、No.189、No.168は、11月中旬に発生ピークを持つ。No.193は12月下旬、No.194は11月上旬に発生ピークを持つが、いずれの株も子実体発生期間が比較的長い。年度別発生ピークは、No.193、No.194が2年目、No.175、No.178、No.189、No.168が3年目であった。

選抜株No.86は、前報¹⁰⁾でNo.75、No.77、No.94、No.95、No.96とともに有望菌株として既に子実体発生パターンを報告した。今回の報告では平成4年以降の設定試験区を対象に選抜したが、これら有望株6株中で平成3年設定試験区からもNo.75(39.58kg/m³)、No.77(39.83kg/m³)が既に選抜されている。したがって、前報で選抜されたNo.25(38.19kg/m³)、No.51(43.90kg/m³)、

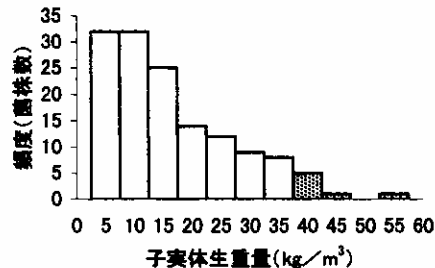


図-2 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験における

凡例：網目は選抜菌株(上位5%)のNo.175、No.178、No.193、No.189、No.168、No.86、No.194。

脚注：平成4~7年設定試験区(No.82~No.144)は収量調査終了、平成8年以降(No.145~220)は収量調査継続中。

収量；AVE=13.90、STD=10.73、n=139、Max=50.49、Min=0.20

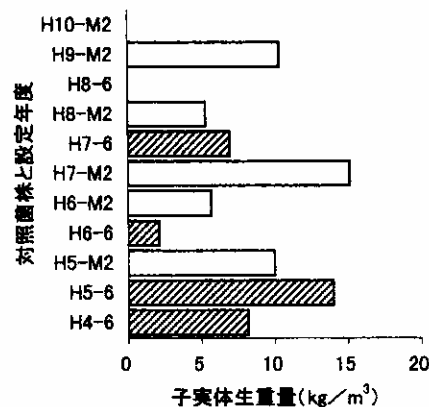


図-3 原木栽培用ナメコ優良品種選抜試験における対照菌株の収量(平成4~10年度設定試験)

凡例：斜線は対照菌株No.6菌株、白抜きは対照菌株M-2菌株(市販菌森2号菌)

表-4 原木栽培用品種選抜試験に供試したナメコ野生株リストおよび収量

No.	採取場所	分離日	分離者	収量 (kg/m ³)	No.	採取場所	分離日	分離者	収量 (kg/m ³)
82	大沼郡只見町	91.10.15	熊田	15.20	167	耶麻郡山都町一の木	96.10.16	熊田	9.20
83	"	"	"	18.84	168	"	"	"	38.13
84	"	"	"	8.20	169	岩瀬郡天栄村(布引山)	96.10.17	"	13.38
85	"	"	"	19.56	170	"	"	"	8.29
86	"	"	"	37.32	171	青森県西目屋村(白神山)	96.10.24	"	0.72
87	"	"	"	14.72	172	"(曙門の滝南東)	"	"	18.80
88	西会津町赤平四郎	91.10.16	"	5.67	173	"	"	"	28.70
89	"	"	"	1.04	174	"	"	"	26.91
90	郡山市安積町成田	91.10.22	"	30.70	175	南会津郡南郷村	96.10.25	"	50.49
91	大沼郡只見町	91.11.8	"	16.73	176	"	"	"	1.90
92	"	92.10.29	竹原	21.57	177	二本松市不動平	96.10.24	"	30.30
93	"	"	"	18.72	178	大沼郡昭和村(駒止温泉西)	96.11.1	"	41.11
94	"	"	"	23.35	179	南会津郡篤岩村(唐沢山)	"	"	7.17
95	"	"	"	25.07	180	"	"	"	10.76
96	"	"	"	29.46	181	"	"	"	2.84
97	"	"	"	27.33	182	"	"	"	14.42
98	"	"	"	11.22	183	"	"	"	12.49
99	"	"	"	2.55	184	"	"	"	17.54
100	"	"	"	10.66	185	"	"	"	10.52
101	喜多方市大峠	92.11.5	"	10.51	186	"	"	"	8.82
102	磐岩村	92.10.9	"	7.21	187	"	"	"	34.13
103	三春町	92.10.27	"	5.04	188	富山県東砺波郡平村(五箇)	95.11.8	増野	19.02
104	山形県(月山)	92.10.18	"	11.00	189	鳥取県(大山)	96.10.24	馬場崎	39.01
105	長野県小谷村	93.10.17	熊田	16.18	190	"	"	"	26.80
106	"	"	"	10.18	191	青森県大畑町(我山)	96.11.6	"	17.12
107	"	"	"	4.81	192	青森県大畑町(栗研温泉)	"	"	33.91
108	"	"	"	7.09	193	"	"	"	39.96
109	"	"	"	19.68	194	岩瀬郡天栄村(立矢山)	97.10.19	熊田	35.96
110	"	"	"	24.89	195	"	97.10.19	"	12.36
111	山形県月山	93.10.	"	8.72	196	"	97.10.19	"	10.94
112	"	"	"	2.46	197	"	97.10.19	"	26.66
113	"	"	"	30.98	198	"	97.10.19	"	23.26
114	郡山市山森峠	93.10.30	"	11.79	199	"	97.10.19	"	21.95
115	福井県大野郡栗村	93.10.26	増野	1.32	200	福島市土湯温泉町(馬川温泉)	97.10.21	"	34.44
116	"	"	"	6.24	201	米沢市天元台	97.10.29	"	10.82
117	"	"	"	13.59	202	"	97.10.29	"	3.54
118	"	"	"	10.12	203	高知県本川村(石鏡山金山)	97.10.30	"	22.73
119	"	"	"	11.58	204	"	97.10.30	"	21.23
120	秋田県由里郡(鳥海山)	94.11.1	熊田	4.26	205	"	97.10.30	"	32.01
121	"	"	"	6.32	206	"	97.10.30	"	13.46
122	"	"	"	4.71	207	"	97.10.30	"	9.67
123	"	"	"	1.86	208	"	97.10.30	"	6.74
124	"	"	"	4.23	209	"	97.10.30	"	7.54
125	"	"	"	3.41	210	"	97.10.30	"	8.72
126	"	"	"	8.55	211	"	97.10.30	"	4.24
127	"	"	"	17.12	212	群馬県水上町(奥遊覧林道)	97.10.13	馬場崎	25.36
128	"	"	"	1.76	213	群馬県水上町武尊山田代温泉	97.10.17	"	27.08
129	"	"	"	2.88	214	"	97.10.17	"	24.48
130	"	"	"	7.53	215	"	97.10.17	"	21.06
131	"	"	"	5.46	216	岩手県盛岡市(上明神山)	97.10.21	"	18.07
132	"	"	"	4.69	217	"	97.10.21	"	14.13
133	"	"	"	4.58	218	北海道旭川市江丹別	95.10.1	宜藤次	22.62
134	"	"	"	10.52	219	北海道美瑛町	95.10.9	"	18.42
135	"	"	"	8.64	220	"	"	鈴木	21.89
136	"	"	"	0.20	221	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	合同	-
137	"	"	"	6.35	222	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
138	"	"	"	11.02	223	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
139	"	"	"	6.26	224	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
140	"	"	"	9.77	225	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
141	"	"	"	8.52	226	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
142	"	"	"	30.84	227	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
143	"	"	"	3.07	228	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
144	柳津町高山	94.10.28	熊田	6.21	229	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
145	大沼郡只見町(白戸川右岸)	95.11.1	竹原	5.78	230	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
146	"	"	"	6.57	231	新潟県金井町(金北山)	98.11.11	"	-
147	"	"	"	5.84	232	新潟県相川町(金北山)	98.11.11	"	-
148	"	"	"	14.39	233	新潟県相川町(金北山)	98.11.11	"	-
149	"	"	"	21.97	234	新潟県相川町(金北山)	98.11.11	"	-
150	"	"	"	4.81	235	新潟県相川町(豊敷平)	98.11.11	"	-
151	"	"	"	4.89	236	新潟県相川町(金北山)	98.11.11	"	-
152	"	"	"	10.17	237	大沼郡金山町字風来沢	98.10.8	熊田	-
153	"	"	"	9.42	238	北海道島牧村・後志胆振	98.10.15	増野	-
154	"	"	"	7.24	239	奈良県上北山村・佐和又山	98.10.30	岩崎	-
155	"	"	"	2.95	240	北海道黒松営林所管内	98.10.15	馬場崎	-
156	"	"	"	3.15	241	北海道黒松営林所管内	98.10.15	"	-
157	"	"	"	10.07	242	北海道黒松営林所管内	98.10.15	"	-
158	"	"	"	4.19	243	北海道黒松営林所管内	98.10.15	"	-
159	"	"	"	3.91	244	北海道黒松営林所管内	98.10.15	"	-
160	"	"	"	4.85	245	北海道黒松営林所管内	98.10.15	"	-
161	"	"	"	3.98	246	福岡県	98.11.18	"	-
162	"	"	"	5.48					
163	"	"	"	0.73					
164	"	"	"	0.81					
165	"	"	"	1.13					
166	群馬県水上町	95.10.9	"	8.32					

分離者の所属先：
 福島県林業試験場(竹原、熊田) / 福島県きこ振興センター(鈴木)
 森林総合研究所(馬場崎) / 長野県林業総合センター(増野)
 北海道林産試験場(宜藤次)
 合同：森林総合研究所・新潟県林業試験場・長野県
 林業総合センター・長野県野菜かき試験場・長野県
 農村工業研究所・福島県林業試験場の共同採取

No. 69(79.08kg/m³)の3株、No. 75、No. 77の2株、今回の選抜株7株、総計12株が選抜された。No. 25、No. 51、No. 69、No. 75、No. 77の5株については、既に福島県きのご振興センターをとおして現地で試験的に栽培を行っている。

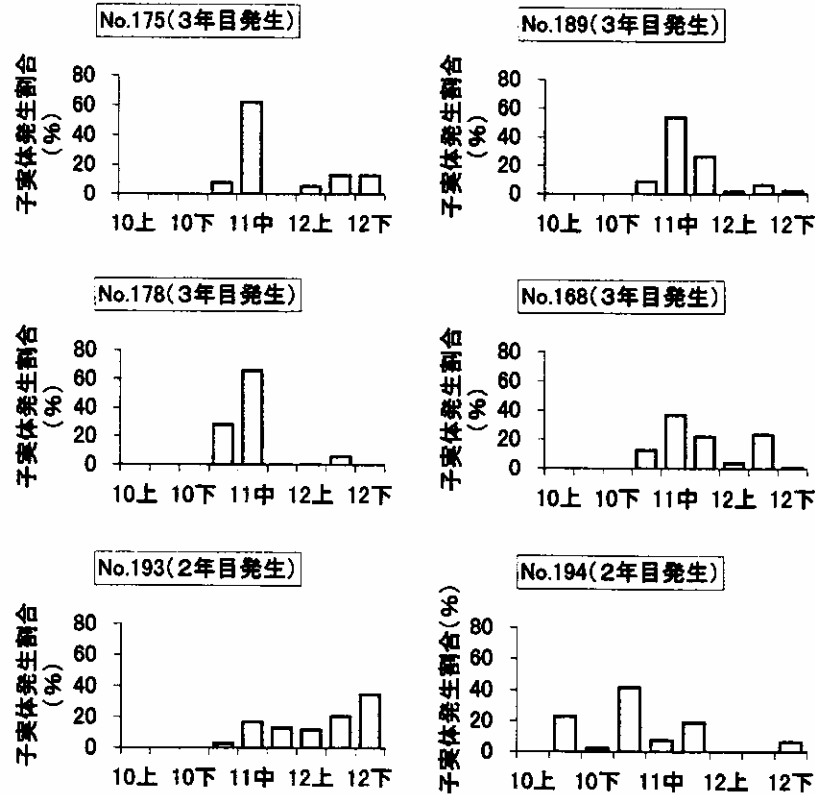


図-4 選抜菌株の発生ピーク年における時期別子実体発生割合

2. 菌床栽培用ナメコ優良品種選抜試験

(1) 交配に用いた単孢子株の菌糸成長特性

本試験で交配に用いた主な単孢子株の菌糸伸長速度と菌糸体重量を図-5に、単孢子株の二核親株別の平均値を表-5に示す。単孢子株の菌糸伸長速度は、市販菌 K248株と市販菌 T126株が速く、市販菌 T127株と野生株 No. 144の選抜単孢子株、野生株 No. 204が遅い傾向がみられた。菌糸体重量は、市販菌 K248株と市販菌 T126株が大きく、野生株 No. 204が小さい傾向がみられた。

表-5 交配材料単孢子株の親株別平均菌糸伸長速度と平均菌糸体重量

二核親株	菌糸伸長速度(mm/d)		菌糸体重量(mg/瓶)		株数(株)
	平均	STD	平均	STD	
K248	4.00	0.40	148.3	31.5	9
T126	3.87	0.24	144.1	18.3	20
T127	2.75	0.22	112.2	24.7	5
No.144	2.77	0.30	101.5	17.1	10
No.204	2.85	0.12	87.5	11.3	5
No.220	3.23	0.21	127.8	18.9	5

(2) 野生株による選抜試験

有用遺伝形質の検索と収量分布を求めることを目的とし、野生株 No. 105~No. 166を用い菌床栽培用品種の選抜試験を行った。子実体収量と収穫日数の分布を図-6に示す。発生操作期間の60日

間に子実体を形成しなかった株が8株出現したが、残りの54株には子実体が形成された。分布型は、子実体収量、収穫日数ともに正規分布を示さなかった。全供試株の平均子実体収量は50.6g/瓶で、最大が127.3g/瓶であった。平均子実体収穫日数は30.8日、最小が28.5日であった。実用品種は、収量180g/瓶以上、収穫日数21日程度の栽培特性が望まれるが、この目標値を超える菌株は本試験の野

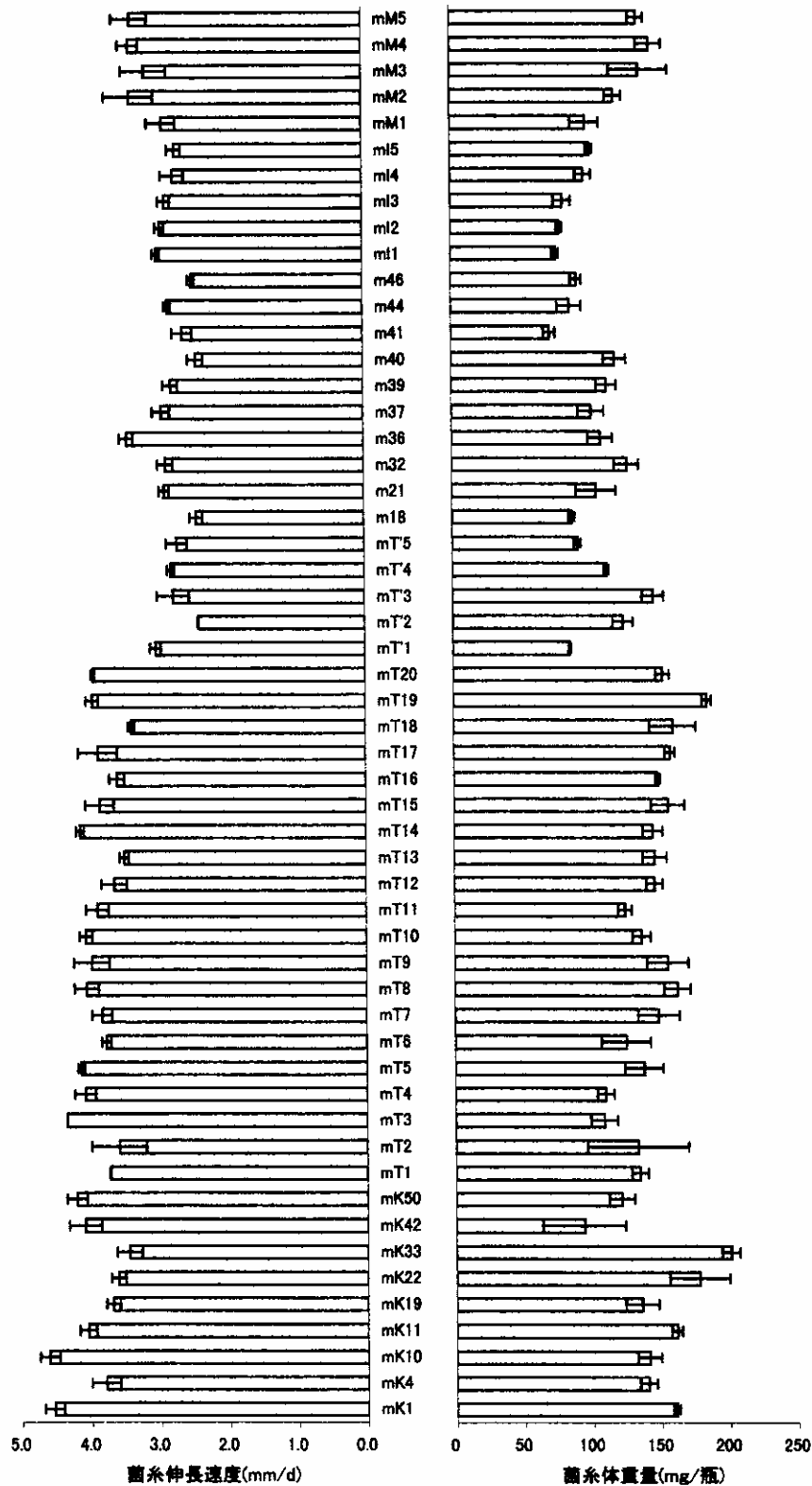


図-5 交配材料単孢子株の菌糸伸長速度と菌糸体重量

生株から出現しなかった。しかし、適切な培地組成の検討や子実体分離による選抜の繰り返しにより、野生株の増収化が図れる可能性があるため、野生株の選抜方法についてはさらに検討を要する。

野生株の子実体形質は、柄の長短や太さ、柄の繊維状のささくれの有無、傘の厚さや大きさ、傘の滑り等変化に富んだ表現型が認められた。しかしこれらの表現型は、商品価値として形質を考えた場合、図-7に示したNo.144株を除き、育種母材として選抜するには至らなかった。No.144株は、子実体の色が供試株の中で特に薄く、他の菌株と最も区別性の高い子実体形質を有した。

各野生株の子実体収量と収穫日数を図-8に示す。No.144株は、収量が67.0g/瓶、収穫日数が28.5日で、収量が平均以上で収穫日数は供試株中最短である。このため、本試験ではNo.144株を選抜株と決定した。

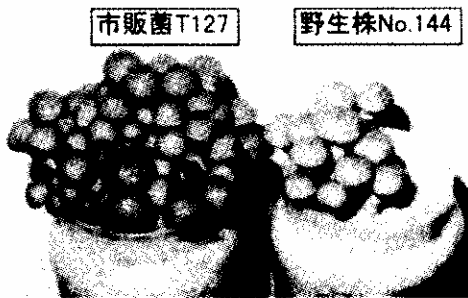


図-7 市販菌と野生株 No.144の子実体

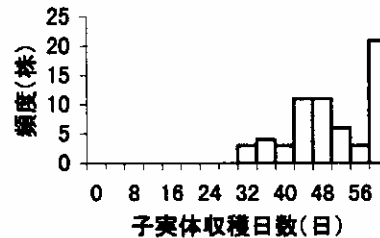
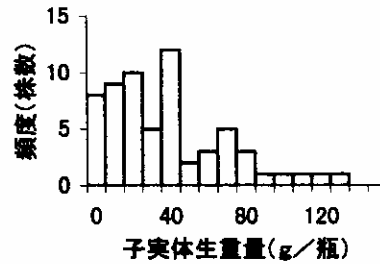


図-6 野生株の菌床栽培における子実体収量と収穫日数分布(試験区1)

脚注：Ave.=50.6g/瓶、30.8日
STD=9.3g/瓶、30.7日
Max=127.3g/瓶、60日
Min=0g/瓶、28.5日

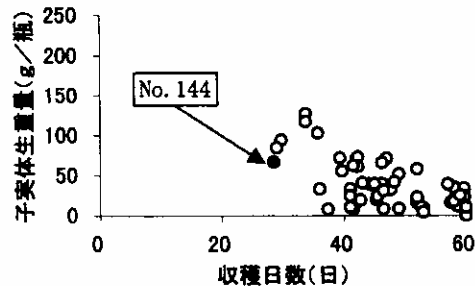


図-8 野生株の菌床栽培における選抜菌系の栽培特性(試験区1)

脚注：黒丸は選抜菌系 No.144は、収量が67.0±19.3g/瓶、収穫日数が供試株中最短の28.5±1.7日で、子実体の色が極めて薄い。

(3) ダイモン交配株による選抜試験

① 市販菌 K248株の単孢子株の複核化(試験区2)

市販菌 K248株の子実体を大形に改良した多収量品種を作出するために、単孢子株を No.94、W、320-44株の3種二核親株で複核化したダイモン交配株の子実体収量と収穫日数の分布を図-9に示す。3種二核親株ともに、子実体を形成しない菌株が4株出現した。子実体収量および収穫日数の分布は、両親株の平均値を中心とする正規分布にはならなかった。子実体収量分布は、右傾型非対称分布、子実体収穫日数は左傾型非対称分布を示した。

各ダイモン交配株の子実体収量と収穫日数を図-10に、二核親株、選抜株、二核親株別平均値を表-6に示す。実用品種の目安である、収量180g/瓶以上、収穫日数21日程度と同等あるいは上の栽培特性を有する菌株が4株出現した。この中で、mK22×No.94株と mK42×No.94株(図-11参照)の子実体1個当たりの重量は、それぞれ1.97gと1.75gであった。市販菌 K248株は、1.49

g/個であり、子実体が大型化し、形質も野生株に近かった。したがって、mK22×No. 94株と mK42×No. 94株は、育種目標が達成されたと判断した。この結果は、mK22×No. 94株と mK42×No. 94株において獲得された子実体形質は、核遺伝子支配である可能性が高いことを示す。一方、市販菌 K248株の増収化を図ることを目的とした細胞融合株 F320-44株との組み合わせは、50株の平均が72.1g/瓶であり、野生株 No. 94の90.5g/瓶より低く、目的を達成できなかった。

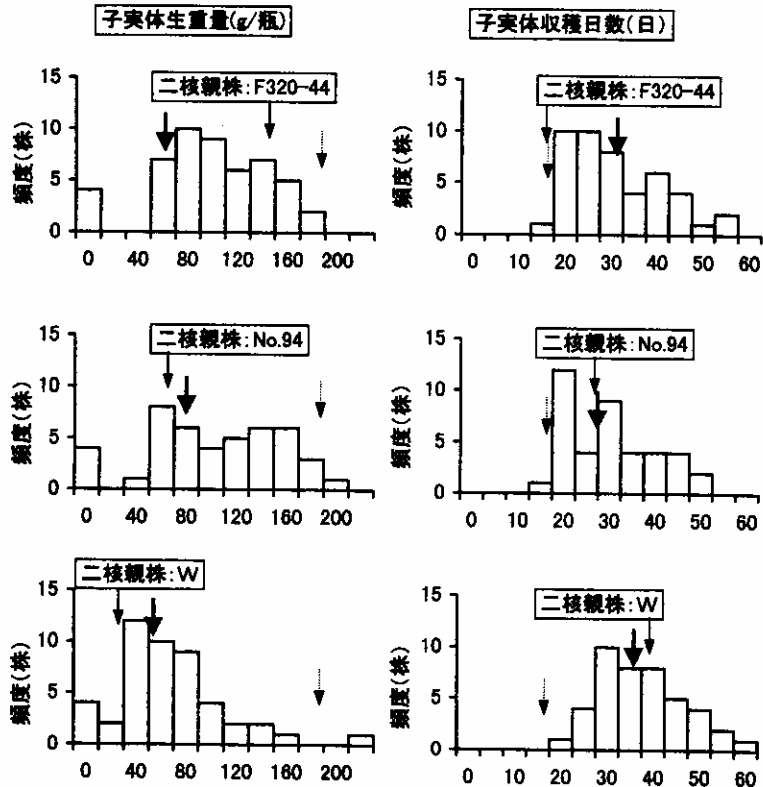


図-9 市販菌 K248株の単胞子株のダイモン交配における子実体収量と収穫日数の分布

凡例：↓；二核親株 ↓；K248 ↓；ダイモン交配株50株の平均値

表-6 市販菌 K248株の単胞子株のダイモン交配(試験区2)

菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重(g/個)
	平均	STD	平均	STD	
F320-44	17.8	6.2	152.8	27.8	1.26
No. 94	28.7	3.3	73.5	10.8	1.76
W	41.5	6.5	34.8	13.8	2.08
K248	18.4	2.3	196.3	20.2	1.49

選抜菌株の栽培特性					
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重(g/個)
	平均	STD	平均	STD	
<u>mK22</u> ×No. 94	20.7	0.6	178.7	6.7	1.97
<u>mK33</u> ×F320-44	18.7	2.9	180.0	12.1	1.20
<u>mK42</u> ×No. 94	19.3	1.5	198.0	10.4	1.75
<u>mK42</u> ×W	22.0	1.4	200.5	7.8	1.49

ダイモン交配株の二核親株別平均値					
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		株数(株)
	平均	STD	平均	STD	
F320-44	34.9	9.9	72.1	58.3	50
No. 94	29.1	10.0	90.5	44.9	50
W	36.8	8.5	62.7	43.4	50

脚注：No. 94株とW株は野生株。F320-44株は細胞融合株。

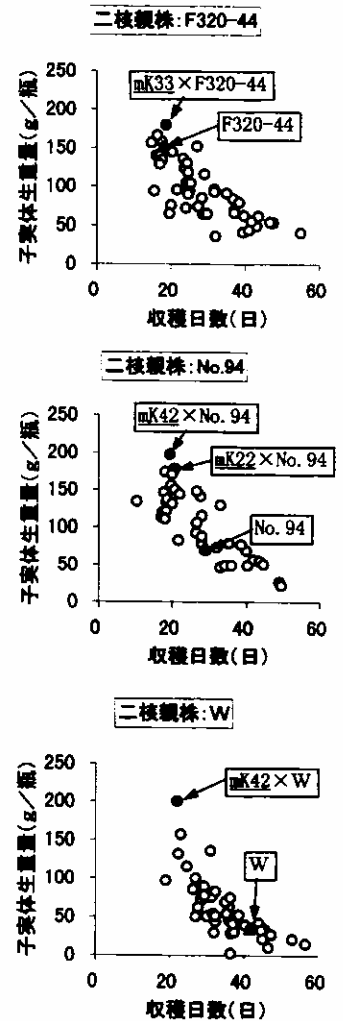


図-10 市販菌 K248株の単胞子株のダイモン交配(試験区2)

凡例：黒丸は選抜菌株、黒三角は二核親株
脚注：K248株の単胞子株は mK1～mK50。
二核親株の No. 94株とW株が野生株、
F320-44株が細胞融合株。

単胞子株 mK1~mK50は、いずれの二核親株による複核化株とともに子実体を形成しない株 (mK4)といずれの組み合わせでも比較的優良な栽培特性を示す株がみられた。3種の親株による複核化株の単胞子株別の平均栽培特性を図-12に示す。mK50は、50株中3種親株で複核化した株の平均収量が最も高く、本試験区では最も優良な単胞子株と判断される。

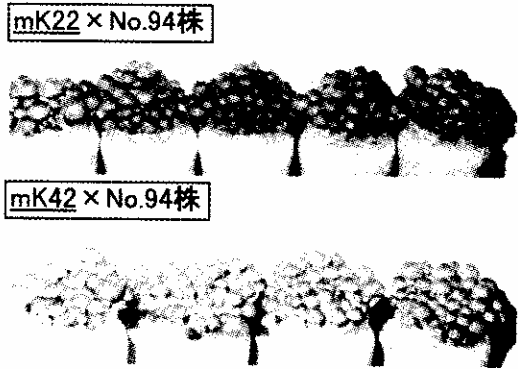


図-11 試験区2における選抜菌株の子実体発生状況

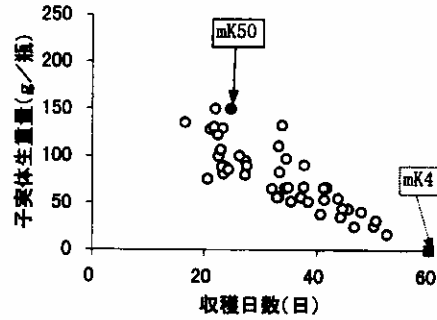


図-12 3種の二核親株を用いた市販菌 K248ダイモン交配における単胞子株別の栽培特性(試験区2)

脚注：黒丸は優良単胞子株 mK50で、3種の複核化株の平均が収量 150.4 ± 15.3 、収穫日数 24.7 ± 7.6 日。黒四角は抜非優良単胞子株 mK4で、3種の組み合わせとともに子実体を形成しない。

② 野生株 No. 144の単胞子株の複核化(試験区3)

市販菌 K248株、市販菌 T126株、mK42×No.94株の3品種の子実体色を薄く改良し市販菌と区別性の高い多収量品種を作出するために、子実体の色が薄い特徴を有する野生株 No. 144(試験区1の選抜株)の単胞子株を3種二核親株で複核化して得た150株の栽培特性を図-13に示す。子実体収量および収穫日数の分布は、両親株の平均値を中心とする正規分布にはならなかった。子実体収量分布は、右傾型非対称分布、子実体収穫日数は左傾型非対称分布を示した。

各ダイモン交配株の子実体収量と収穫日数を図-14に、二核親株、選抜株、二核親株別平均値を表-7に示す。実用品種の目安である、収量180g/瓶以上、収穫日数21日程度と同等あるいは上の栽培特性を有する菌株が、二核親株を mK

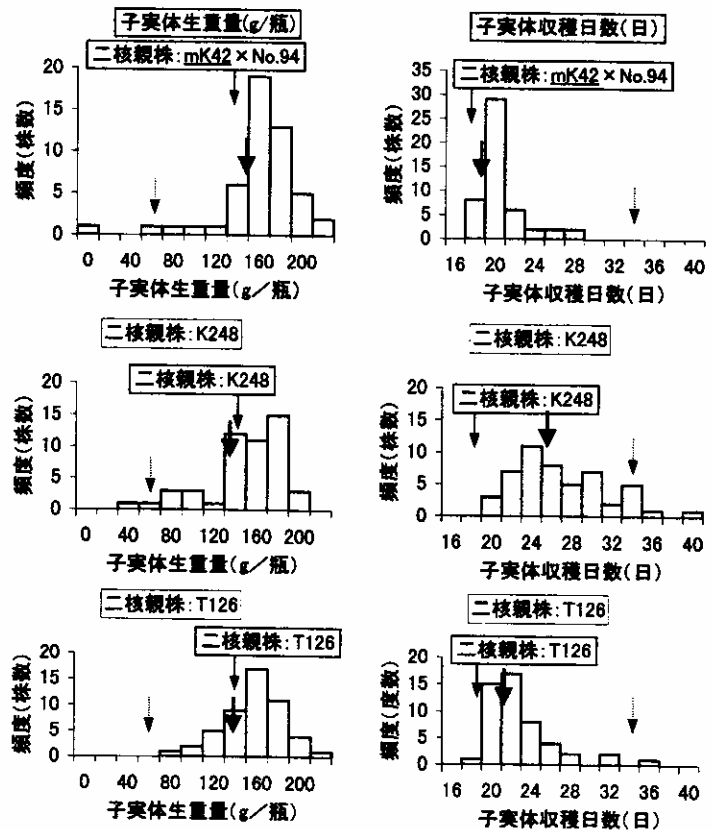


図-13 野生株 No. 144の単胞子株のダイモン交配における子実体収量と収穫日数の分布(試験区3)

凡例：↓；二核親株 ↓；K144 ↓；ダイモン交配株50株の平均値

42×No. 94株とするダイモン交配株で7株、二核親株を市販菌 K248とするダイモン交配株で3株、二核親株を市販菌 T126株とするダイモン交配株で3株出現した。このため、本試験区では選抜基準を収量190g/瓶とし、m39×(mk42×No. 94)株、m46×(mk42×No. 94)株、m44×T126、m21×K248株、m21×T126株、m39×T126株を選抜した。選抜株6株の中でm39×(mk42×No. 94)株は、子実体の色が特に薄く(色指数2.1)、市販菌と子実体色においても明らかな区別性を有し(図-15参照)、当初の育種目標が達成された。この結果は、No. 144の子実体の色が薄い形質は、遺伝的形質である可能性を示す。また、市販菌と同等の子実体収量と収穫時期の交配株を得るためには、必ずとも市販菌の細胞質遺伝子を必要としないことを示す。

3種の親株による複核化株の単孢子株別の平均栽培特性を図-16に示す。本試験区ではm21、m32、m37、m39、m40、m41、m44、m46が、いずれの二核親株の組み合わせにおいても比較的優良な栽培特性を示した(表-8参照)。また、m36は、いずれの二核親株との組み合わせにおい

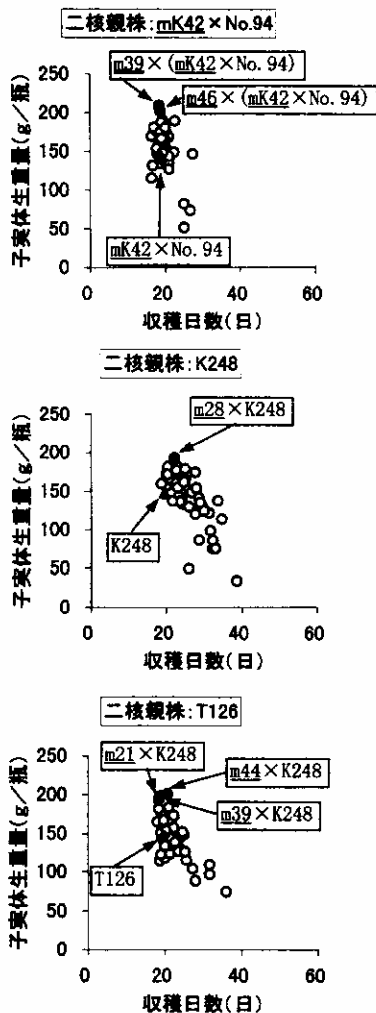


図-14 野生株 No. 144株の単孢子株のダイモン交配(試験区3)

凡例：図-10参照。

脚注：No. 144株の単孢子株はm1～m50。二核親株のmk42×No. 94株が選抜株(図-10、表-6参照)、K248株とT126株は市販菌株。

表-7 野生株 No. 144株の単孢子株のダイモン交配(試験区3)

菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重(g/個)	色指数
	平均	STD	平均	STD		
mk42×No. 94	18.8	0.8	144.2	19.2	1.23	4.0
K248	19.5	0.5	148.0	9.6	1.30	4.3
T126	19.8	1.0	146.8	13.9	1.24	3.9
No. 144	34.8	6.1	75.3	47.1	1.85	1.4
選抜菌株の栽培特性						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重(g/個)	色指数
	平均	STD	平均	STD		
m39×(mk42×No. 94)	18.3	1.2	209.0	9.5	1.49	2.1
m46×(mk42×No. 94)	18.7	0.6	202.3	32.5	1.41	3.2
m44×T126	20.7	1.5	201.3	37.9	1.45	2.9
m21×K248	22.0	1.7	193.0	23.1	1.35	3.8
m21×T126	18.7	0.6	198.0	2.6	1.47	3.0
m39×T126	18.3	0.6	193.7	21.0	1.21	2.7
ダイモン交配株の二核親株別平均値						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		色指数	株数(株)
	平均	STD	平均	STD		
mk42×No. 94	19.7	2.3	150.8	35.9	3.5	50
K248	26.1	4.6	140.5	35.7	3.5	50
T126	22.1	3.6	146.5	27.0	3.4	50

脚注：mk42×No. 94は表-1ダイモン交配株の選抜菌株。

K248株とT127株は市販菌。

色指数は野生株の最も薄色子実体を1、K248株の最も濃色子実体を5とし、交配株子実体を5段階の色調に分け、発生回数毎に各瓶の平均的子実体の色指数を決定し、株毎に各瓶の色指数を平均した。

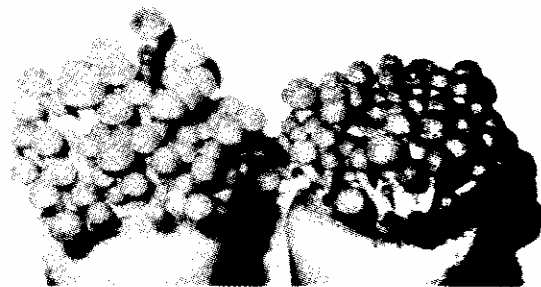


図-15 選抜株 m39×(mk42×No. 94)株の子実体発生状況(試験区3)

でも子実体の色が明らかに薄くなる傾向がみられた。

ダイモン交配株の子実体色指数分布を図-17に示す。いずれの二核親株においても、子実体色は正規分布を示さず、右傾型非対称分布を示した。したがって、No.144の子実体の色が薄い形質は多因子形質とは別な要因の影響の可能性がある。発生不良の進行過程において、子実体の色が薄く変化する現象が観察されるときがあり、No.144の交配株の安定性については特に慎重に検討する必要がある。

③ 凍結保存した野生株 No.144選抜単胞子株の複核化(試験区4)

斜面培地で直接凍結保存した m21、m32、m36、m37、m39、m40、m41、m44、m46の選抜単胞子株および m18は、全て再生し、二核菌糸により複核化されることが確認された。

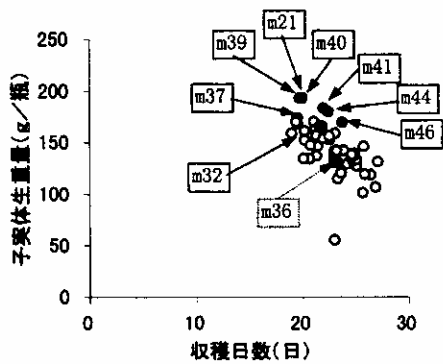
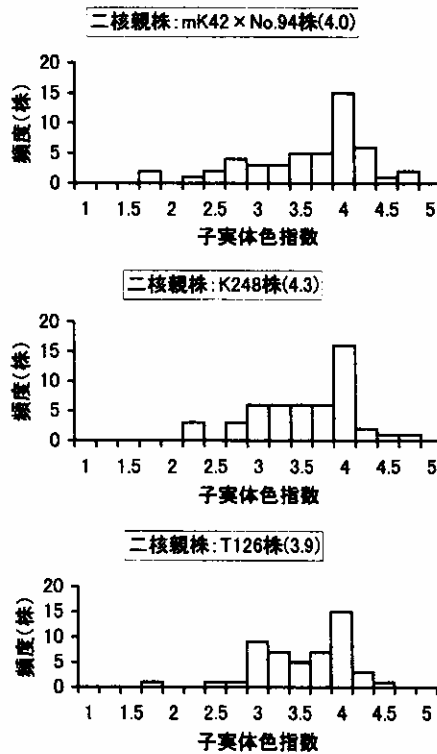


図-16 3種の二核親株を用いた野生株 No.144ダイモン交配における単胞子株別の栽培特性(試験区3)

凡例：黒丸は選抜優良単胞子株、黒四角は選抜優良単胞子株(薄色)



脚注：色指数は野生株の最も薄色子実体を1、K248株の最も濃色子実体を5とし、交配株子実体を5段階の色調に分け、発生回数毎に各瓶の平均的子実体の色指数を決定し、株毎に各瓶の色指数を平均した値

図-17 野生株 No.144ダイモン交配株の子実体色指数分布(試験区3)

表-8 3種の二核親株を用いた野生株 No.144のダイモン交配における選抜優良単胞子株別の栽培特性(試験区3)

単胞子株番号	収穫日数(日)		収量(g)		色指数	
	平均	STD	平均	STD	平均	STD
m21	20.0	1.8	193.6	4.2	3.4	0.4
m32	21.7	2.4	166.1	25.9	3.7	0.2
m36	23.0	5.4	131.6	38.8	2.0	0.5
m37	19.6	3.6	174.0	8.0	3.4	0.2
m39	19.8	2.5	193.3	15.8	2.5	0.4
m40	25.9	4.2	119.2	27.2	2.0	0.4
m41	22.0	3.4	183.4	5.3	3.1	0.1
m44	22.4	4.6	180.2	19.0	2.8	0.4
m46	23.8	4.7	169.8	28.2	3.1	0.1

脚注：m21、m36、m37、m39、m40、m41、m44、m46株は、優良交配材料一核株として凍結保存した。

3種二核親株によるダイモン交配株の栽培特性を図-18に示す。野生株 No. 3 を二核親株にしたダイモン交配株を除き、凍結保存再生単胞子株の複核化株は、子実体形成能を有することが確認された。野生株 No. 3 は、継代保存期間が30年以上経過した株であり脱二核化しやすく、本試験では子実体が形成されなかった。したがって、野生株 No. 3 を二核親株にしたダイモン交配株で10株中8株に子実体が形成されなかったのは、単胞子株の凍結保存による影響ではなく二核親株 No. 3 の供与核または供与核とともに移動可能な遺伝物質の影響と判断される。二核親株を野生株 No. 220としたダイモン交配株は、供試株10株全てが野生株 No. 220より収量が多くかつ収穫時期が短かった。二核親株を選抜株 mK42×No. 94株としたダイモン交配株は、mK42×No. 94株より収量が多くかつ収穫日数の短い株が3株出現した。本試験区では、この3株中最も子実体形質が優れた m39×(mK42×No. 94)株を選抜した。この結果から、単胞子株を斜面培地で直接凍結保存する方法⁶⁾は、育種過程における単胞子株の保存方法として実用的であると判断する。

二核親株、選抜株、ダイモン交配株の二核親株別平均値を表-9に示す。二核親株別平均値

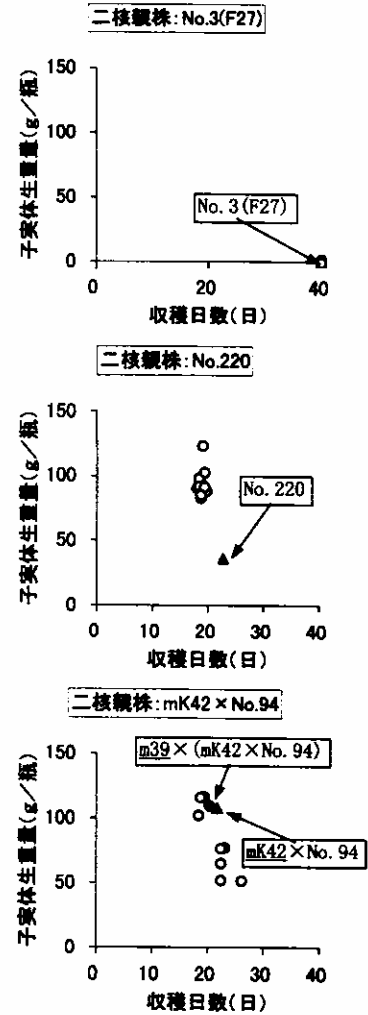


図-18 野生株 No. 144株の選抜単胞子株のダイモン交配(試験区4)

凡例：図-10参照。

脚注：No. 144株の選抜単胞子株(21、32、36、37、39、40、41、44、46)およびm18、は、凍結保存株の再生菌糸。(図-6、表-8参照)。二核親株の mK42×No. 94株が選抜株(図-10、表-6参照)、No. 3 (F27)株とNo. 220株は野生株。発生操作期間は40日。

表-9 野生株 No. 144選抜単胞子株のダイモン交配

菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重(g/個)	子実体形成能喪失瓶数
	平均	STD	平均	STD		
No. 3 (F27)			0			6/6
No. 220	22.7	2.7	36.2	16.5	1.33	0/6
<u>mK42</u> ×No. 94	21.7	0.8	108.2	17.4	1.53	0/6
No. 144	40		12		0.92	5/6
選抜菌株の栽培特性						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重(g/個)	
	平均	STD	平均	STD		
<u>m39</u> ×(<u>mK42</u> ×No. 94)	19.3	0.6	116.7	12.7	1.05	
ダイモン交配株の二核親株別平均値						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		株数(株)	子実体形成能喪失株数
	平均	STD	平均	STD		
No. 3 (F27)	40.0	0.0	0.3	0.7	10	8
No. 220	18.8	0.5	94.7	11.6	10	0
<u>mK42</u> ×No. 94	21.2	2.4	88.5	26.6	10	0

を比較すると、選抜株 mK42×No. 94株を二核親株とするダイモン交配株より、野生株 No. 220を二核親株とするダイモン交配株の栽培特性が優れていた。この結果は、二核親株自体の栽培特性の優劣がダイモン交配株の優劣と一致していない。したがって、単孢子株の優劣は、相手核との組み合わせによって変化する可能性がある。

(4) モンモン交配株による選抜試験

① 群内交配(試験区 5、6、7)

市販菌 K248株、市販菌 T127株および野生株 No. 220の3種の群内交配株の栽培特性を図-19に示す。市販菌 K248株および市販菌 T127株の群内交配ともに、栽培特性が二核親株を上回る交配株は出現しなかった。子実体形質は、変異が認められたが市販菌より優良な形質を有する交配株は出現しなかった。野生株 No. 220の群内交配においては、栽培特性が二核親株を上回る株が1株出現したが、収量が50g/瓶以下であり選抜するには至らなかった。

二核親株の栽培特性と交配株の平均値を表-10に示す。市販菌 K248株は、非優良単孢子株 mK4と優良単孢子株6株および優良単孢子株 mK10と優良単孢子株6株の組み合わせで群内交配を行ったが、交配株の栽培特性は優良単孢子同士との組み合わせが子実体収量が高く収穫日数が短い傾向がみられた。しかし、優良単孢子同士の組み合わ

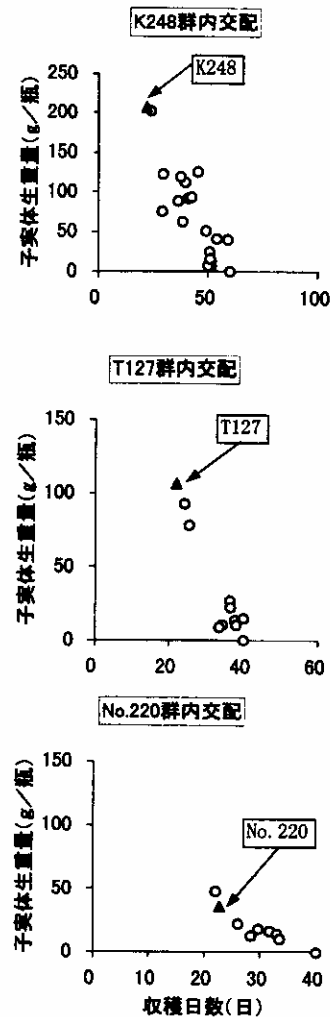


図-19 市販菌 K248株、市販菌 T127株および野生株 No. 220の群内交配株の栽培特性(試験区 5、6、7)

凡例：図-10参照。

脚注：群内交配の組み合わせは K248株が mK4×mK11、19、22、23、42、50および mK10×mK11、19、22、23、42、50、T127株が mT1~mT5の相互交配、No. 220株が mM1~mM5の相互交配。群内交配株の発生操作期間は K248株が60日、T127、No. 220が40日。

表-10 市販菌 K248株、市販菌 T127株および野生株 No. 220株の群内交配株における二核親株の栽培特性と交配株の平均値(試験区 4、5、6)

菌株	収穫日数 (日)		収量 (g)		1個重 (g/個)	子実体形成能喪失瓶数
	平均	STD	平均	STD		
K248	22.0	1.2	206.9	16.5	1.49	10/10
T127	21.8	0.8	106.5	10.8	1.32	6/6
No. 220	22.7	2.7	36.2	16.5	1.33	6/6
交配株の二核親株別平均値						
菌株	収穫日数 (日)		収量 (g)		株数 (株)	子実体形成能喪失株数
	平均	STD	平均	STD		
K248 (総平均)	43.3	9.6	53.9	55.3	24	6
K248 (非優良mK4)	54.2	5.3	25.8	36.3	12	4
K248 (優良mK10)	40.8	11.4	82.0	57.9	12	2
T127	34.0	5.6	23.3	30.4	9	2
No. 220	29.2	4.1	17.9	13.8	7	1

脚注：群内交配株の発生操作期間は K248株が60日、T127、No. 220が40日。

せにおいても、12株中2株で子実体が形成されなかった。子実体を形成しない交配株は、いずれの群内交配においても出現したが、特に非優良単孢子株 mK4 を交配材料とする株で出現率が高かった。子実体を形成しない交配株は、菌回りが薄く発生不良株^{11-15,21}と酷似した菌叢を示した。

② 市販菌同士のモンモン交配(試験区 8)

市販菌 K248株の単孢子株(mK4、mK50)と市販菌 T126株の単孢子株(mT1~mT20)におけるモンモン交配株の子実体収量と収穫日数の分布を図-20に示す。市販菌同士のモンモン交配株は、mK4×mT1~20の組み合わせ、mK50×mT1~20の組み合わせともに、両親株の平均値を中心とする正規分布を示さなかった。平均値は、子実体収量が両親株より126~142g/瓶減少し、収穫日数が16~18日遅延した。

各交配株の栽培特性を図-21に示す。子実体収量、収穫日数ともに両親株より明らかに優良な株は出現しなかったが、mK50×mT1株、mK50×mT1株、mK4×mT1株は両親株と同等もしくはやや優良な栽培特性を示した。また、この3株は、子実体1個当たりの重量が2.21~2.43gであり、両親株の1.32~1.49gを大幅に上回り(表-11参照)、子実体の大きさの点で両親株と区別性を有したため、本試験区の選抜株と判定した(図-22参照)。ただし、本試験区で用いた2種の市販菌は、子実体形質に明瞭な区別性がなく、選抜株も子実体の大きさ以外は明瞭な区別性が生じなかった。子実体の大きさについては、遺伝的要因もあるが、環境要因による影響が高い性

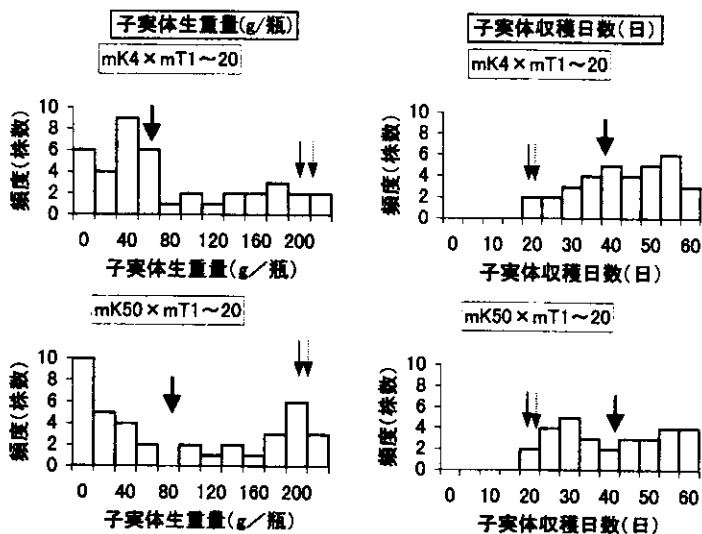


図-20 市販菌 K248株と市販菌 T126株の単孢子株におけるモンモン交配株の子実体収量と収穫日数の分布(試験区 8)

凡例：↓；K248株 ↓；T126株 ↓；交配株40株の平均値

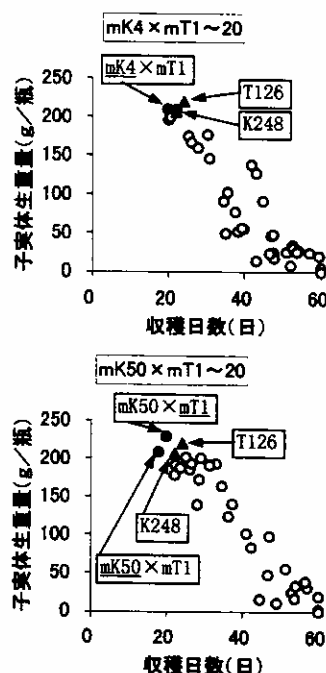


図-21 市販菌 K248株と市販菌 T126株の単孢子株におけるモンモン交配(試験区 8)

凡例：図-10参照。

脚注：群間交配の組み合わせは mK4×mT1~mT20 および mK50×mT1~mT20。
mK50×mT1、mK50×mT1、mK4×mT1 の下線は、交配時の分離位置。
mK4は非優良、mK50は優良単孢子株(図-12参照)。

質と推定される。したがって、遺伝的変異幅の極めて小さな交配組み合わせの mK50×mT1株、mK50×mT1株、mK4×mT1株における子実体形質の区別性については、さらに検討を要する。

一方、2種の二核親株は、全ての瓶で同調的に子実体が形成されており、栽培特性の上からは発生不良の兆候は認められない。しかし、市販菌同士の交配株は、子実体が形成されない株が15～25%の高頻度で出現した(表-11参照)。子実体を形成しない株は、交配組み合わせが mK4(非優良)、mK50(優良)のいずれの場合にも出現し、菌回りの薄い発生不良株^{11-15,21)}と酷似した菌叢を示した。

表-11 市販菌 K248株の単孢子株(mK4、mK50)と市販菌 T126株の単孢子株(mT1～mT20)におけるモンモン交配株と親株の栽培特性

菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重 (g/個)	子実体形成 能喪失瓶数
	平均	STD	平均	STD		
K248	22.0	1.2	206.9	16.5	1.49	10/10
T126	24.0	1.1	220.3	9.8	1.32	6/6
選抜菌株の栽培特性						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重 (g/個)	子実体形成 能喪失瓶数
	平均	STD	平均	STD		
<u>mK50</u> × <u>mT1</u>	17.8	2.6	208.8	40.8	2.35	
<u>mK50</u> × <u>mT1</u>	19.8	0.5	229.3	9.2	2.21	
<u>mK4</u> × <u>mT1</u>	19.8	2.5	210.3	12.7	2.43	
モンモン交配株の一核親株(mK4、mK50)別平均値						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		株数 (株)	子実体形成 能喪失株数
	平均	STD	平均	STD		
mK4(正)	46.3	12.3	59.5	61.6	20	3
mK4(逆)	40.8	13.4	84.1	76.8	20	3
mK4(平均)	40.7	11.9	71.8	69.8	40	6
mK50(正)	44.5	14.9	85.5	81.6	20	5
mK50(逆)	43.3	15.2	89.3	87.6	20	5
mK50(平均)	38.6	13.4	87.4	83.6	40	10

脚注：mK50×mT1、mK50×mT1、mK4×mT1の下線は、交配時の分離位置。
mK4は非優良、mK50は優良単孢子株(図-12参照)。

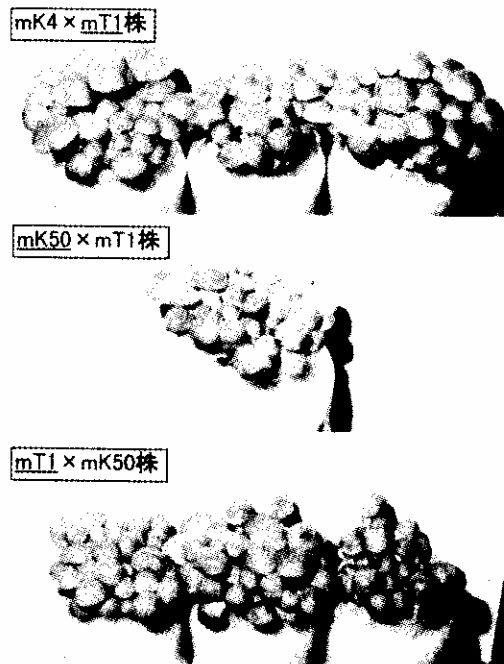


図-22 試験区 8 における選抜株の子実体発生状況

③ 市販菌と野生株および野生株同士のモンモン交配(試験区9、10、11、12)

市販菌 T127と3種の野生株(No.144、No.204、No.220)の単孢子株間、および野生株 No.204と No.220の単孢子株間でモンモン交配を行った。交配株の子実体収量と収穫日数の分布を図-23に示す。市販菌と野生株の組み合わせ、野生株同士の組み合わせともに、子実体収量分布と収穫日数分布は、いずれも2種の二核親株の平均値を中心とした正規分布を示さなかつた。

各交配株の栽培特性を図-24に、選抜株とに各親株の栽培特性を表-12に示した。

市販菌 T127株と野生株 No.220の組み合わせ(試験区9)において、市販菌 T127株と同程度またはそれ以上の収量を示す株は出現しなかつたが、いずれの二核親株の子実体形質とも類似しな

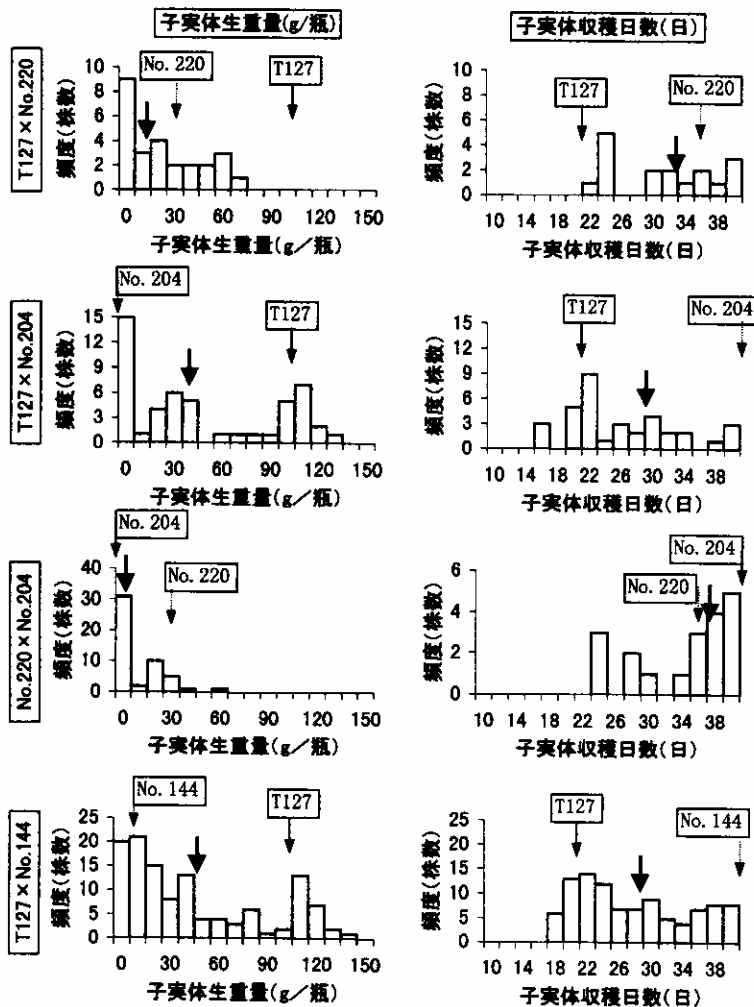


図-23 市販菌と野生株間および野生株同士のモンモン交配株における子実体収量と収穫日数の分布(試験区9、10、11、12)

凡例: ↓ ↓; 二核親株の値、↓ ↓; モンモン交配株の平均値

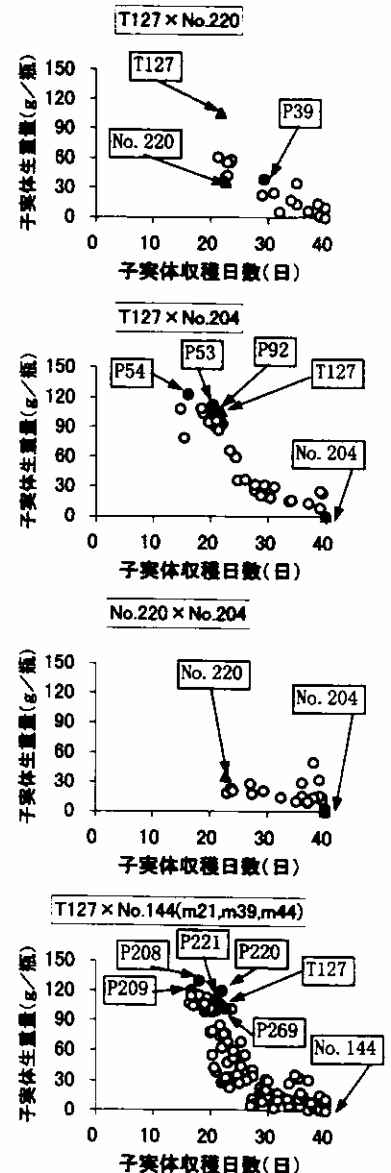


図-24 市販菌と野生株間および野生株同士のモンモン交配株の栽培特性(試験区9、10、11、12)

凡例: 図-10参照。

脚注: P39、P51、P53、P54、P87、P92、P208、P209、P220、P221、P269は選抜株。

い柄が太くて短く子実体色が濃色な P39株が出現した。P39株は、市販品種と区別性が極めて高い子実体形質を有するため、子実体収量が低く収穫日数が長い、育種母材として選抜した。

市販菌 T127株と野生株 No.204の組み合わせ(試験10)において、市販菌 T127株と同程度またはそれ以上の収量を示す株が多数出現した。この中で、P51、P53、P54、P87、P92株は、子実体形質が野生株の二核親株に近く市販菌 T127株と明瞭な区別性を有するため、選抜株とした。これら5株は、従来の市販菌と比較して足が太く、傘がより饅頭型に近い子実体形質を有する。

野生株 No.220と野生株 No.204の組み合わせ(試験11)において、両親株より収量の高い交配株が出現したが、60g/瓶以下であったため選抜しなかった。また、この野生株同士の組み合わせにおいて、二核親株のいずれとも大きく異なる子実体形質を有する交配株は出現しなかった。

市販菌 T127株と野生株 No.144の組み合わせ(試験12)において、市販菌 T127株と同程度またはそれ以上の収量を示す株が多数出現した。この中で、P208、P209は形質の区別性は低い収量が明らかに多いため、P220、P221は傘が小型で色が薄い区別性の高い子実体形質を有するため、P269は、いずれの二核親株の子実体形質とも類似しない柄が太くて短く子実体色が濃色な子実体形質を有するため、それぞれ選抜株とした。

上記の試験区 9～12における11選抜株は、菌株の安定性の検討と同時に子実体分離による育種

表-12 市販菌と野生株間および野生株同士のモンモン交配における二核親株と選抜株の栽培特性(試験区 9、10、11、12)

菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重 (g/個)	40日内子実体 未形成瓶数
	平均	STD	平均	STD		
市販菌T127	21.8	0.8	106.5	10.8	1.32	0/6
野生株No.144	40.0		12.0		0.92	5/6
野生株No.204			0			6/6
野生株No.220	22.7	2.7	36.2	16.5	1.33	0/6
選抜菌株(子実体分離育種効果の検討試験供試株)の栽培特性						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		1個重 (g/個)	子実体の特徴
	平均	STD	平均	STD		
P39(mM3×mT'4)	29.3	2.5	39.0	10.6	1.43	足太、短足、濃色
P51(mI3×mT'1)	20.0	0.0	110.7	4.0	1.47	優良形質
P53(mI4×mT'1)	20.3	0.6	113.0	10.6	1.31	優良形質
P54(mT'1×mI4)	16.0	3.5	123.3	10.8	1.46	優良形質
P87(mI1×mT'5)	21.3	0.6	101.7	12.5	1.47	優良形質
P92(mT'5×mI3)	20.3	1.2	106.0	7.8	1.31	優良形質
P208(mT'8×m39)	18.0	0.0	130.3	6.7	1.12	多収量
P209(m39×mT'8)	16.7	3.2	120.7	3.2	1.03	多収量
P220(mT'14×m39)	22.0	0.0	120.3	10.1	0.80	小形、淡色
P221(m39×mT'14)	21.0	0.0	110.3	3.1	0.79	小形、淡色
P269(m44×mT'18)	22.7	0.6	102.0	10.1	1.04	足太、短足、濃色
モンモン交配株における二核親株の組み合わせ別平均値						
菌株	収穫日数(日)		収量(g)		株数 (株)	40日内子実体 未形成株数
	平均	STD	平均	STD		
T127×No.220	33.7	7.0	19.6	21.7	26	9
T127×No.204	29.7	8.9	44.7	44.0	50	15
No.220×No.204	37.6	4.6	7.5	11.6	50	31
T127×No.144	29.3	8.1	40.6	41.4	120	15

脚注：それぞれmT'1～mT'20がT127株、mI1～mI5がNo.204株、mM1～mM5がNo.220株由来の単孢子株(交配に供試後、寒天培地で-85℃保存)。m21、m39、m44は、No.144株由来の選抜単孢子株(図-16、表-8参照)。m21、m39、m44は寒天培地で-85℃保存した菌株の再生菌糸を用いた。P39、P51、P53、P54、P87、P92、P208、P209、P220、P221、P269の選抜菌株は、子実体分離育種効果の検討試験に供試し、二次選抜を行う。

効果を期待し、連続的に6回子実体分離を繰り返し、最終選抜を行う予定である。

一方、野生株 No.204は、40日以内に子実体を形成しなかったが、40日以降に子実体が形成されることが確認されている(表-12参照)。試験区9、10、11は、40日以内に子実体が形成されない交配株がそれぞれ9、15、31株出現した。これらの株は、菌回りが厚く大部分の株が40日以降に子実体または子実体原基が形成された。これに対し、試験区12では、子実体を形成しない15株は菌周りが薄く害菌の侵害を受けやすく、明らかな発生不良の兆候を示した。試験区12で用いた野生株 No.144の単孢子株は、凍結保存した菌株の再生菌糸であり保存の影響も考えられるが、前述の試験区4(表-9参照)において栽培特性に保存の影響がないことが確認されていることから、その可能性は低い。野生株 No.144の供試瓶6本中5本に子実体が形成されず、明らかな発生不良の兆候²⁾が見られることから、野生株 No.144自体に安定性を喪失する要因が内在し、その影響が試験区12で用いた単孢子株の一部に現れた可能性がある。

(5) 選抜菌株の安定性と市販菌株との区別性

① 選抜菌株の安定性の検討

ア. 親株作出直後における子実体組織分離株および親株の保存後の栽培特性

選抜過程におけるナメコ交配株の均一性の喪失度を推定するために、15か月保存前後に形成した子実体の組織を分離し、分離株の子実体収量と子実体収穫時期の変化量を求めた。

交配株作出直後における子実体の組織分離株と親株の保存後における栽培特性を図-25に示す。mK22×No.94株の子実体収量と子実体収穫日数は、15か月保存前が178.7±6.7g、20.7±0.6日、15か月保存後が178.8±19.1g、22.7±0.8日で、15か月保存前後の栽培特性に有意差は認められなかった。また、組織分離株の mK22×No.94-1~7についても、二核親株の12か月保存前後と有意差の認められる菌株は出現しなかった。

mK42×No.94株の子実体収量と子実体収穫日数は、15か月保存前が198.0±10.4g、19.3±1.5

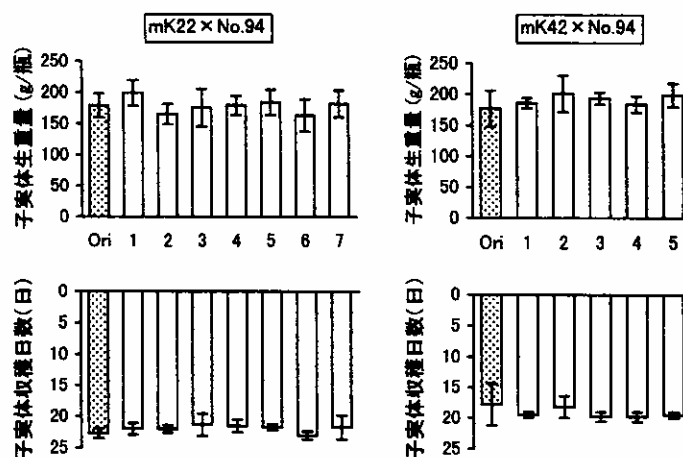


図-25 選抜株(mK22×No.94、mK42×No.94)の交配直後に形成された子実体から組織分離した株における栽培特性

脚注：oriはそれぞれの選抜株、各番号は子実体分離株の菌株番号。
栽培試験には、選抜株が15か月(12か月目に植え継ぎ)、子実体分離株が12か月間MYPG寒天培地を用いて4℃暗黒下で保存した株を供試した。

日、15か月保存後が $176.7 \pm 29.0\text{g}$ 、 17.8 ± 3.4 日で、15か月保存前後の栽培特性に有意差は認められなかった。また、組織分離株 mK42×No.94-1~5についても、二核親株と有意差の認められる菌株は出現しなかった。したがって、mK22×No.94株、mK42×No.94株は、交配直後において菌株の均一性が保たれていると判断される。

イ. 継代保存した選抜株における組織分離株の子実体収量と収穫日数の分布

15か月保存した mK42×No.94株に形成された子実体の組織分離株と18か月保存した mK42×No.94株の子実体収量分布と子実体収穫日数分布を図-26に示す。分離株の子実体収量分布は、18か月保存親株より正規分布に近い分布を示したが、20株中10株が親株より収量が低下し有意差($\alpha = 5\%$)が認められた。有意差の認められない分離株には、供試瓶毎の収量が同調しなかった株が6株含まれた。分離株と18か月保存した mK42×No.94株の子実体収穫日数分布は、ほぼ同様の分布を示したが、20株中1株が親株より子実体収穫日数が小さく有意差($\alpha = 5\%$)が認められた。したがって、子実体収量と子実体収穫日数が保存前とほぼ同じとみなされた分離株は、20株中3株であった。

12か月保存した mK22×No.94株に形成された子実体組織の再分離株と15か月保存した mK22×No.94株の子実体収量分布と子実体収穫日数分布を図-27に示す。再分離株は、子実体収量と子実体収穫日数の分布幅が15か月保存した mK22×No.94株より大きく、16株中10株が収量の低下または収穫時期の遅延が認められた($\alpha = 5\%$)。また、有意差の認められない再分離株には、供試瓶の子実体の発生時期、回数、収量の同調性が喪失した株が4株含まれた。残り2株の再分離株は、保存前の栽培特性とほぼ同じとみなされた。

ウ. 選抜株と組織分離株の保存前後の栽培特性の変化

選抜株と組織分離株の保存前後の栽培特性の変化を図-28に示す。mK42×No.94株は、保存前、15か月保存、18か月保存の順に子実体収量が低下し、それぞれ有意差($\alpha = 5\%$)が認め

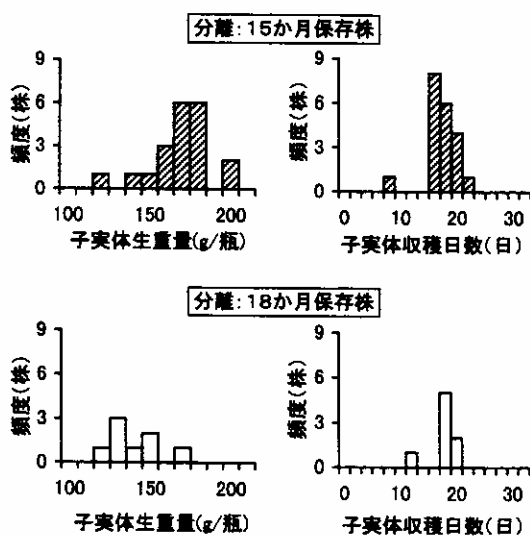


図-26 15、18か月継代保存した選抜株(mK42×No.94)に形成された子実体から組織分離した株の収量と収穫日数の分布

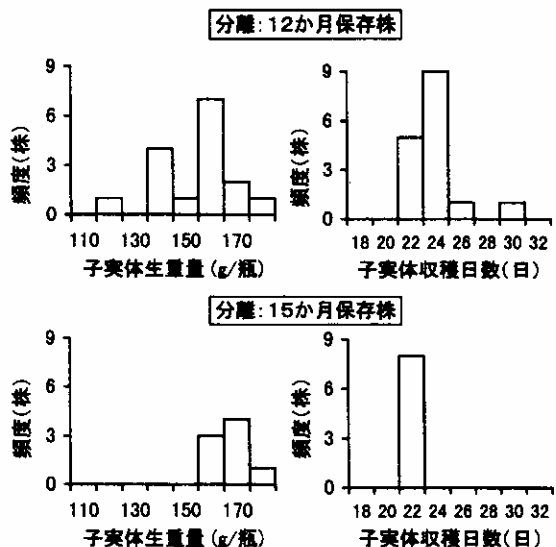
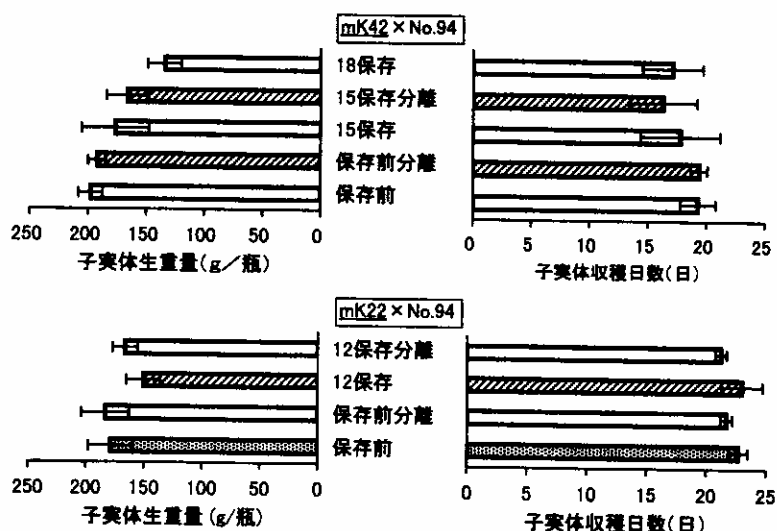


図-27 12、15か月継代保存した選抜株(mK22×No.94)に形成された子実体から組織分離した株の収量と収穫日数の分布

られた。分離株の子実体収量も、保存後に収量が低下し、有意差($\alpha = 5\%$)が認められた。15か月保存による収量の低下程度は、親株より分離株が大きかった。

一方、15か月保存 K248株の子実体収量と子実体収穫日数は、 $55.8 \pm 66.4\text{g}$ 、 32.7 ± 11.0 日で、保存前とそれぞれ有意差($\alpha = 1, 5\%$)が認められた。この現象の詳細については既に報告¹⁹⁾したとおりであるが、K248株は、12か月保存時にはほぼ正常な栽培特性を示したが、15か月保存で急激に発生不良株に変化した。この変化時期が、市販菌 K248株の単孢子株から作出した mK42×No. 94株と一致していた点については、興味もたれる。

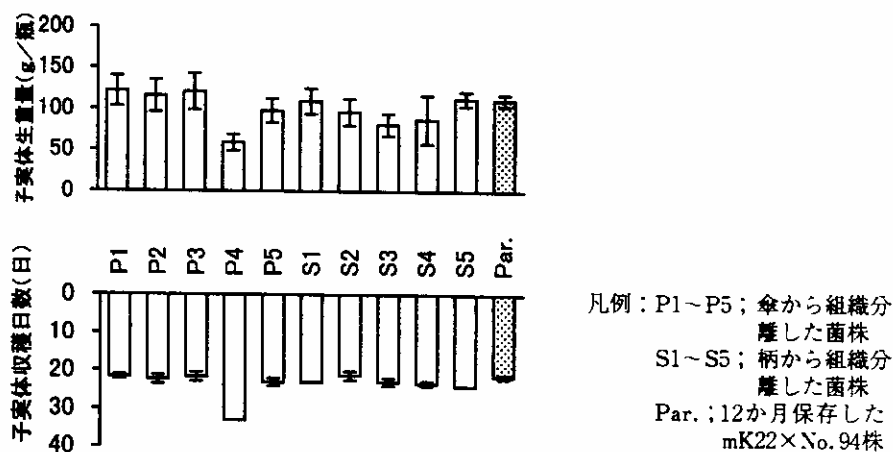
保存前の mK22×No. 94株、12か月保存 mK22×No. 94株および15か月保存 mK22×No. 94株の子実体収量は、菌株間で有意差が認められなかった。しかし、12か月保存 mK22×No. 94株からの再分離株は、平均子実体収量が分離原菌株より18%低下し、有意差($\alpha = 1\%$)が認めら



図一28 保存期間の異なる選抜株の子実体から組織分離した菌株の栽培特性の平均値

凡例：斜線は選抜株、白抜きは選抜株の子実体から組織分離した菌株を表す。

保存前分離；継代保存する前の菌株の子実体からの分離株
 15か月保存；15か月継代保存した選抜株
 15か月保存分離；15か月継代保存した選抜株の子実体からの分離株
 18か月保存；18か月継代保存した選抜株



図一29 mK22×No. 94株の同一子実体から分離した菌株の栽培特性のバラツキ

れた。すなわち、mK22×No.94株は、15か月保存後の子実体収量が保存前と有意差が認められないが、12か月保存時に均一性が喪失していた。

エ. 1個の子実体内における再分離株の栽培特性の変異

12か月保存 mK22×No.94株に形成された1個の子実体の傘と柄から組織を再分離した菌株の栽培特性を図-29に示す。P4、S3は、親株より子実体収量が低下し、有意差が認められた。P4、P5、S3、S4、S5は、子実体収穫日数が親株より大きく有意差が認められた。mK22×No.94株は、同一子実体から再分離した10菌株中6株に発生不良株が出現したことから、同一子実体を形成する菌糸の均一性が喪失していたと推定される。

オ. 選抜株の安定性の評価

選抜株 mK22×No.94株と mK42×No.94株は、保存前には菌株の遺伝的均一性が保たれていたが、15か月保存後には均一性の喪失が認められ、18か月保存後に発生不良株に変化した。15か月保存親株から得られた保存前と同じ栽培特性を示す分離株は、1年保存後に栽培特性の変化が認められなかった。また、1年保存した分離株の子実体から再び組織分離を行った結果、保存前と同じ栽培特性を示す菌株が得られた。したがって、本試験の供試株は、保存期間15か月以内に子実体から組織分離を行い正常株を選抜することにより、栽培特性の維持期間が少なくとも1年以上延長できる。しかし、12か月保存した株の1個の子実体を構成する菌糸は、均一性が喪失していた。また、保存による収量の低下程度は、親株より分離株が大きかった。したがって、本供試株の栽培特性を長期的に維持するには、組織分離を繰り返す方法では難しいと予想される。このため、本試験の分離株を実用品種として用いる場合、分裂子¹⁶⁾またはプロトプラスト²⁸⁾により二核の細胞を選抜した後、木粉培地直接凍結保存¹⁷⁾等により母菌の保存を行う必要がある。しかし、これらの方法は、菌株の栽培特性の延命策にすぎない。実用品種の安定性を根本的に向上させるためには、本供試菌株の安定性に問題が生じた原因、および菌株の遺伝的均一性喪失のメカニズムを解明する必要がある。

② 選抜菌株の市販菌株との区別性の検討

二核親株の一方が野生株である選抜株 mK42×No.94株は、子実体形質において従来の市販菌と区別性が高いことは前述のとおりである。ここでは、品種登録の審査で用いられる生理特性試験の温度別菌糸伸長特性と帯線形成の検討を行った。

選抜株 mK42×No.94株と二核親株の一方である市販菌 K248株の培養温度別菌糸伸長速度を図-30に示す。選抜株 mK42×No.94株は、全ての培養温度において市販菌 K248株より菌糸伸長速度が遅く、特に20℃と25℃における差が大きくなっている。この結果から、選抜株 mK42×No.94株は、菌糸伸長特性においても市販菌 K248株と区別性を有すると判断される。安定性の低い菌株は、25℃以上の培養温度での菌糸伸長速度が速く脱二核化しやすい²⁰⁾。

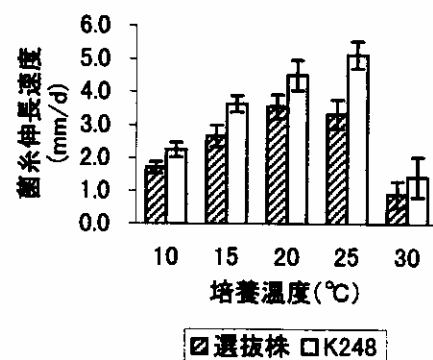


図-30 選抜株(mK42×No.94)と対照菌株(K248)の培養温度別菌糸伸長速度

このため、選抜株 mK42×No. 94株は、菌糸の温度別伸長特性においては、市販菌 K248株より安定性が高いと推定される。

選抜株 mK42×No. 94株と K245株、K248株、T127株、T130株の4種市販菌とのPDA平面培地における対峙培養結果を図-31に示す。選抜株 mK42×No. 94株は、いずれの市販菌とも帯線を形成しなかった。また、市販菌同士もいずれの組み合わせにおいても帯線を形成しなかった。したがって、帯線形成については、選抜株 mK42×No. 94株および4種市販菌とも互いの区別性は認められなかった。しかし、選抜株 mK42×No. 94株は、子実体形質、培養温度別菌糸伸長特性、安定性において従来品種と明らかな区別性を有するため、帯線形成による区別性がなくとも、種苗法における品種登録の条件は十分満たすと判断する。

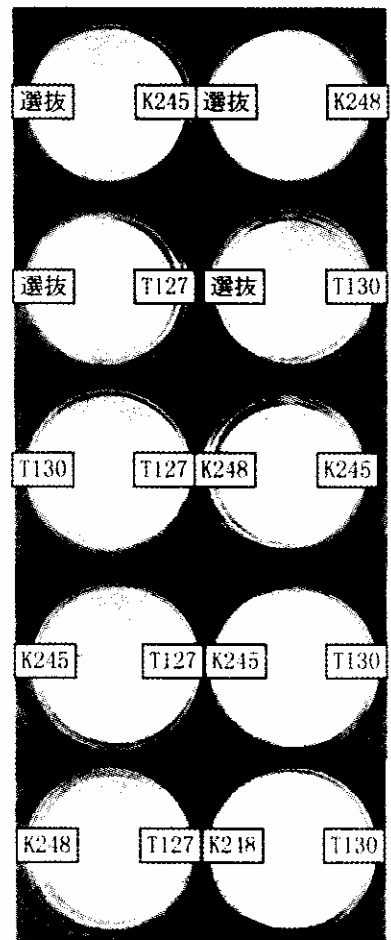


図-31 PDA平面培地における選抜株と市販菌の対峙培養

脚注：選抜は mK42×No. 94株
他は市販菌

(6) 継代保存した一核菌糸を用いたモンモン交配における安定性の検討

① 継代保存した市販菌 K248単孢子株による群内交配

群内交配の交配結果を表-13に示す。8か月継代保存後に行った群内交配結果は、正常な二極性^{6),7)}の交配様式を示さず、3種の交配型因子が出現した。Cao⁹⁾によれば、ナメコは、減数分裂時に不和合性因子の組み換えや欠損が生じる可能性があり、そのため新たな交配型が出現したり、供与核を受け入れる能力が変化する。このことから、本試験における第3の交配型は、減数分裂時に組み換えで生じた可能性が強いと推定される。また、群内交配において mK

表-13 市販菌 K248株における担子孢子株による群内交配の結果

	供与核側									不和合性因子		
	mK1	mK4	mK10	mK11	mK19	mK22	mK33	mK42	mK50	An	An+1	An+2
受容核側	mK1	-	-	-	-	-	-	-	-	○		
	mK4	-	-	±	±	-	-	-	-	?		?
	mK10	±	-	+	+	+	+	+	+			○
	mK11	-	-	+	-	+	-	±	-		○	
	mK19	±	-	+	-	-	-	±	-		○	
	mK22	±	-	+	-	-	-	-	-		○	
	mK33	-	±	+	-	-	-	-	-	?	?	
	mK42	-	-	-	-	-	-	-	-	○		
	mK50	±	-	+	-	-	-	-	-		○	

凡例：+；クランプ結合確認
±；ごく少数のクランプ結合確認
-；クランプ結合未確認
?；mK4を An と仮定すれば mK33は An+1、
mK4を An+2と仮定すれば mK33は An または An+1

1、mK42は、相手核を受け入れる能力が喪失していた。単胞子分離直後における各供試株は、二核菌糸とのダイモン交配により、受容核側に全てクランプ結合が認められた(試験区2)。継代保存による相手核受け入れ能力の喪失には、不和合性因子の組み換えや欠損による交配能の問題以外に、核移動の問題が考えられる。核移動は、遺伝的問題とともに細胞質の生理活性の影響も推定される。

一方、前述のとおり選抜株 mK42×No. 94株は、継代保存15か月で菌株の均一性が喪失し18か月目に子実体収量の低下と子実体収穫時期の遅延が認められており、mK42の相手核受け入れ能力喪失が、この現象に関係する可能性がある。

② 継代保存した市販菌 K248と T126単胞子株によるモンモン交配時の分離位置と栽培特性

mK42×mT10、mK50×mT10のモンモン交配を6回繰り返し、正・逆・接触部から分離した菌株の栽培試験結果を図-32に示す。mK42側は、6株中1株しか子実体が形成されず、接触部およびmT10側と比較して平均収量が低く有意差が認められた。mK50側は、子実体を形成しない菌株が1株出現し、接触部およびmT10側と比較して平均収量が低かったが、標準偏差が大きく有意差は認められなかった。

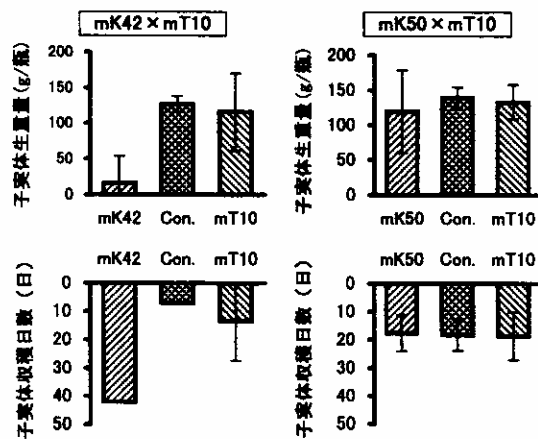


図-32 モンモン交配における分離位置と栽培特性

凡例：Con.；接触部、mK50、mK10；分離位置側の一核親株
脚注：値は6回の交配繰り返しの平均値

試験区4(市販菌 K248株と市販菌 T126株のモンモン交配)では、正逆位置で栽培特性が大きく異なる組み合わせが多発した。すな

わち、mK50×mT11、mK50×mT16、mK50×mT18、mK4×mT10、mK4×mT15の組み合わせは、下線側で子実体が形成されず、正逆間の栽培特性の違いが特に大きかった。しかし、子実体を形成しない側の mK4、mK50、mT16は、他の単胞子株との組み合わせにおいて子実体が形成された。通常、モンモン交配の正逆位置における栽培特性の相違は、細胞質遺伝子の違いに起因すると考えられる。しかし、子実体形成能の喪失が細胞質遺伝子の相違のみに起因するとは考え難い。モンモン交配の供試株は単胞子株を8か月保存した株の中で、少なくとも mK4、mK50および mT5、mT11、mT15、mT16、mT20は、相手核を受け入れる能力に異常が生じている。したがって、子実体形成能の喪失の一要因として、交配能および核移動の異常が考えられる。

③ モンモン交配時のクランプ結合数と栽培特性

mK42×mT10、mK50×mT10のモンモン交配時における各位置のクランプ結合数を図-33に示す。mK42、mK50、mT10は、いずれも相手核を受け入れる能力に異常が生じている。しかし、異常の程度はそれぞれ異なった。mT10は、mK42を相手核とする場合に異常が認められないが、mK50を相手核とする場合に6回の交配中2回に異常が生じた。mK42は、6回の交配中4回異常が生じた。mK50は、6回の交配全てに異常が生じた。なお、前述の通り、8か月継代時点の群

内交配における相手核を受け入れる能力は、mK42が喪失、mK50が相手核により喪失しており、18か月保存と異なる結果が得られた。繰り返し間の交配能の相違がみられることから、8か月と18か月保存時の相違は、保存期間の影響とは考え難い。しかし、繰り返し間あるいは相手核により単胞子株の相手核を受け入れる能力が変化する原因は、不和合性因子内の組み換えや欠損、細胞質の活性低下による核移動の阻害等が考えられるが、未だ不明である。

mK42×mT10、mK50×mT10のモンモン交配株のクランプ結合数と栽培特性を図-34に示す。mK42×mT10の組み合わせは、クランプ結合数の減少に伴い収量低下と子実体形成時期の遅延がみられ、クランプ結合の認められない4株全てに子実体が形成されなかった。mK50×mT10の組み合わせは、クランプ結合の認められない8株中7株に子実体が形成され、クランプ結合数と栽培特性の間に特定の関係が認められなかった。

モンモン交配における平面培地上の各位置におけるクランプ結合数および栽培特性を図-35に

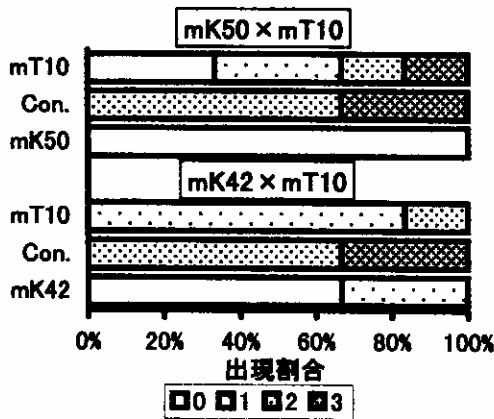


図-33 モンモン交配における分離位置のクランプ結合数

- 凡例：0；クランプ結合未確認
 1；ごく少数のクランプ結合確認
 2；平均的クランプ結合数確認
 3；極めて多数のクランプ結合確認

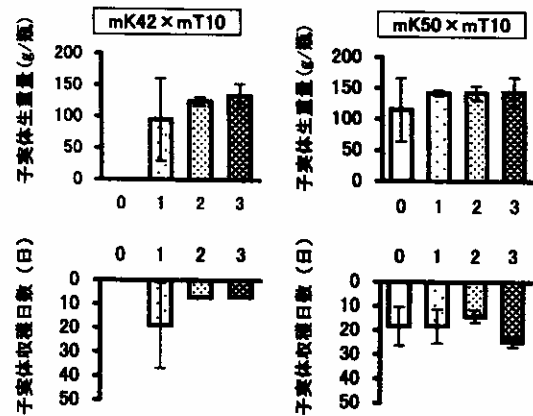


図-34 モンモン交配時のクランプ結合の多少と栽培特性

- 凡例：0、1、2、3については図-33参照

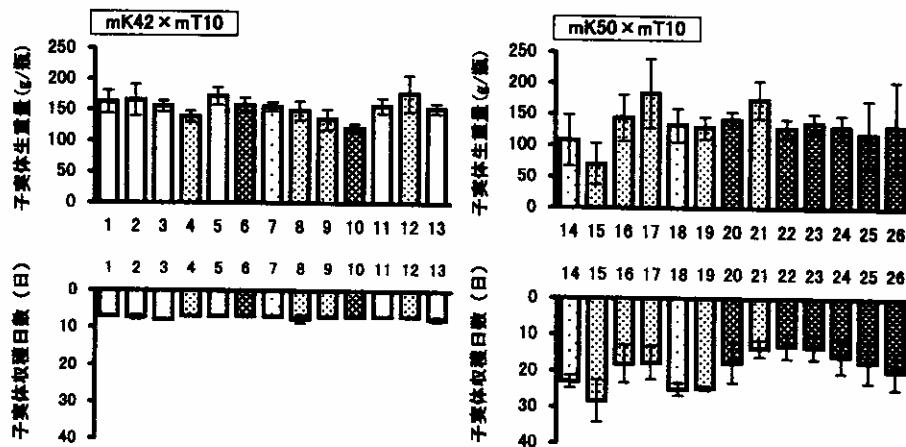


図-35 モンモン交配における平面培地上の各位置におけるクランプ結合数および栽培特性

- 凡例：No. 1～No. 13はmK42×mT10の交配組み合わせ、No. 14～No. 28はmK50×mT10の交配組み合わせにおける各位置から分離した菌株の番号(図-1参照)。

示す。1枚の平面培地内の13部位から分離した菌株は、mK50×mT10の組み合わせでは特定の関係は認められなかったが、mK42×mT10の組み合わせでは接触部からシャーレ両外側方向に収量の低下と収穫時期が遅延する傾向がみられた。

④ 継代保存した単孢子株による交配の評価

核遺伝子および細胞質遺伝子が共通な群内交配の正逆位置において、栽培特性が異なる株が出現した。市販菌間のモンモン交配では、正・接触・逆の各位置内に栽培特性が大きく異なる菌株が出現し、正逆位置の一方に子実体形成能の喪失もみられた。また、同一交配組み合わせを繰り返し、同じ分離位置の株の栽培特性を比較した結果、栽培特性に差が認められた。継代保存した単孢子株の交配において、同一になると予想される栽培特性に差異がみられたこれらの現象は、相手核を受け入れる能力の喪失と核移動の阻害に起因すると考えられた。一方、群内交配において3種の交配型が出現したことから、減数分裂時に不和合性因子に組み換えや欠損が生じたと考えられ、これが交配能の異常に影響したと推定される。しかし、継代保存により核移動に異常が生じる現象は、不和合性因子の異常だけでは説明できない。

以上の結果から、継代保存した単孢子株による交配は安定性に問題が生じる可能性が高く、育種過程の単孢子株の保存方法として実用的でない判断する。継代保存により核移動に異常が生じる現象を防止するには、今のところ斜面培地で直接凍結保存する方法⁶⁾が最も実用的と判断する。しかし、凍結保存にあたっては、予め不和合性因子に異常が生じていない単孢子株の選抜を行う必要がある。

IV 総 合 考 察

1. 本試験におけるナメコ育種方法の妥当性

(1) 原木栽培用ナメコ品種

交配株による選抜を行うとすれば、供試株数が物理的要因(労力、施設、予算等)により規定されるため、多数の交配株を予めスクリーニングする必要がある。しかし、これまで様々な角度から検討を行ってきたが、有効なスクリーニング方法は見つかっていない¹⁰⁾。野生株は、野生ナメコの発生時期に多数の系統を得ることが難しく、また予めスクリーニングしなくとも子実体を形成する確率が高い。このため、本試験における供試株は、全て野生株で交配株等を用いた。その結果、全ての供試株に子実体が形成された。

平成7年～11年までの5年間で、収量調査中の菌株も含め結果が得られている野生株は139株である。この中で、収量が35kg/m³以上で子実体形質が優れた選抜株が7株(5%)であった。したがって、本試験の規模と方法により、1年に1株程度の確率で、市販菌を2倍以上上回る収量の実用品種が開発が可能と判断される。また、10年に1株程度の確率で前回の平成2年～6年の報告に示した収量80kg/m³程度の菌株も得ることができると推定される。比較的高い確率で市販菌を上回る菌株が得られるのは、市販菌の収量が年々減少している影響もある。種菌製造業者は、菌床用種菌と比較すると種菌の売上が極端に小さな原木用品種の開発を積極的に行わなくなってきた。

種菌製造会社が積極的に開発を行っていない原木用品種を当県で開発する妥当性については、十分に検討する必要がある。当県のお原木ナメコは、菌床ナメコの1%程度であるが、全国有数の原木ナメコ生産地である西会津地方を有し、優良品種の開発が期待されている。原木ナメコの風味に対する評価が高まりつつあり、会津地方の観光地で直接販売される統計に現れていない原木ナメコも相当量に達すると推定される。このような現状から、当県は品種開発の必要性を有すると判断する。

本試験の結果から、年間約30株の野生株を収集し(のべ約6人)要約500本程度の原木へ接種し(のべ約15人)要接種原木を管理(のべ約16人)要する労力により、1年に1株程度の確率で実用品種が、また10年に1株程度の確率で80kg/m³程度の菌株が得られると推定された。必要とする労力(総計のべ約37人)は、菌床栽培の1%程度の原木栽培に対しても、過大なものではない。また、実用品種が得られる確率は、容易に実現可能な数値である。また、収集した野生株は、菌床栽培の育種母材として利用可能である。したがって、原木栽培が今後急速に増加または減少しない限り、本試験の育種方法と規模は妥当なものと判断する。

(2) 菌床栽培用ナメコ品種

① 交配株の子実体収量と収穫日数の分布型と育種計画

野生株の原木栽培における収量分布は、稀有現象の分布である負の二項分布型を示した(図-2参照)。野生株の菌床栽培における収量分布は、負の二項分布が乱れた分布型を示した(図-6参照)。菌床栽培において野生株の分布型が乱れた理由は、子実体発生操作期間を60日と限定した影響と考えられる。各野生株の子実体発生パターンの影響が生じない十分な期間発生を行えば、分布型は二項分布に近似すると推定される。

子実体収量と子実体収穫日数は、いずれも量的形質であり、遺伝子が累積的に作用する。このため、交配株の分布は、両親株の平均値を中心とする正規分布を示すと予想される。しかし、本試験におけるダイヤモンド交配株およびモンモン交配株は、子実体収量と子実体収穫日数ともに正規分布を示さなかった。子実体収量の分布は左傾型非対称分布または双峰型の分布を示した。子実体収穫日数の分布は、右傾型非対称分布または双峰型の分布を示した。量的形質は、正規分布を前提として遺伝率を求め、育種の計画を行う。しかし、本試験における供試株は、遺伝率を推定できないため、通常の作物のような育種計画は不可能である。

交配株の分布が正規分布を示さない原因は、野生株と同様に子実体発生操作期間の影響で分布型が乱れる可能性も考えられる。しかし、交配株には、発生不良株に酷似した菌回りの薄い、子実体を形成しないまたは僅かな収量しか得られない株が出現した。このような株は、子実体発生操作期間を延長しても収量が増加しない。したがって、子実体発生操作期間は、交配株が正規分布しない原因とは考えがたい。発生不良株が出現する原因として、劣性の遺伝子が交配によりホモとなり表現型として現れる可能性がある。しかし、市販菌と野生株の交配組み合わせでも発生不良株が出現することから、劣性遺伝子のホモが原因とは考えがたい。したがって、交配株において正規分布を示さない原因は、発生不良株の出現と関係した因子の影響と推定される。

② 交配組み合わせと栽培特性

本試験の試験区1~12において、試験区1(野生株)、5(市販菌 K248株群内交配)、6(市販菌

T127株群内交配)、7(野生株 No.220群内交配)、9(市販菌 T127株×野生株 No.220)、11(野生株 No.204×野生株 No.220)以外の6試験区から、市販菌と同等以上の栽培特性を有する選抜株が得られた。すなわち、野生株同士の交配組み合わせ以外は、比較的高い確率で各試験区の育種目標を達成し、かつ子実体収量と収穫日数が市販菌と同等以上の菌株が得られた。

交配株には、市販菌と統計的に有意差が認められる増収株が出現した。しかし、交配株は、交配直後から数回植え継ぐ段階で収量が減少する。したがって、交配直後における有意差は、市販菌と同等とみなされ、供試株700株の中からの増収性において市販菌と区別性を有する菌株が選抜されなかったと判断する。この結果から、大部分のナメコ市販菌は、昭和40年代に当场で開発されたF27株^{24,25)}を長期間にわたり改良されており、現在の栽培法における収量はほぼ上限に達したと考えられる。したがって、本試験の結果、収量性の点で市販菌と区別性を有する株を交配で得られる可能性は、極めて低いと判断される。

③ 選抜株の実用性

当県では、選抜株を実用化にあたって品種登録が前提となる。また、品種登録の申請を行うには、予め登録品種の許諾の見込み(職務発明検討委員会審議要領)がなければならない。品種登録においては、一般の市販菌との明かな区別性が要求される。

市販菌同士の交配株からの選抜株 mK50×mT1株、mK50×mT1株、mK4×mT1株は、子実体形質が栽培現場で評価されるが、市販菌との区別性が低く品種登録が困難なため、実用化は難しい。

これに対し、市販菌と野生株の交配株からの選抜株は、子実体形質の点で明かな区別性を有し、かつ栽培特性が市販菌と同等であり、品種登録が十分可能である。選抜株 mK42×No.94株は、生理特性においても区別性が確認された。選抜株 mK42×No.94株以外にも市販菌と野生株の交配株からの選抜株は、それぞれの育種目標に沿って子実体形質を改良したため、色が薄い、子実体が大形等、細かなニーズに対応できる各品種が育種された。

しかし、財団法人福島県きのこ振興センターによる実証検定の結果、選抜株 mK42×No.94株は、天然のナメコに近い子実体形質が実用上の問題点として指摘され、改良が要望された。栽培現場や市場では、一般的に当场で開発されたF27株が母材と推定される市販菌の子実体形質が理想形とする固定観念があり、F27株の形質から離れるに従い評価が下がる。しかし、要望通りに改良を行えば、市販菌との区別性が喪失し品種登録が困難になる。本試験における市販菌と野生株の交配株からの選抜株は、全てこの問題を有した。一方、本県のヒラタケからナメコに転換した栽培者が、大粒で不揃な子実体で開きを含む製品を意識的に生産しネーミングを行った。この製品は、従来の市場の常識では欠点とされ、一般の栽培者の評価は極めて低い性質である。しかし、ナメコ本来のうま味を最も引き出した製品であり、食味性を強調し独自の販売ルートを開発した。その結果、大都市部の消費者から強い指示を得て商品名がブランド化し、市場指導型から栽培者主導型への脱却に成功し、極めて有利な経営を展開している。このナメコ栽培に新たに参入した栽培者の成功例は、従来の常識に縛られた栽培者の経営方針や品種開発の目標に極めて重要な示唆を含むものである。

本試験の結果、市販菌の栽培特性と野生株の形質を有する株は、細胞質遺伝子の組み合わせに

関わらず1回の交配で比較的容易に得ることができた。したがって、極端に柄が太い、あるいは極端に傘が厚い等の有用で差別性の高い遺伝形質を有する育種母材があれば、市販菌の1形質のみを改良した一般栽培者のニーズに適合した品種登録が可能な実用品種が作出できる。しかし、未だそのような育種母材は得られていない。また、母材が得られての改良に成功し品種登録できたと仮定して、「消費者の支持を得た独自品種で有利な経営戦略を展開する」という品種開発の最終目標が、僅か1形質の改良で達成されるのか大きな疑問が残る。したがって、品種登録が可能な差別性を有しかつ登録品種の許諾の見込みのある実用品種の育種は、一般栽培者の生産物に対する意識が変わらない限り、極めて可能性が低いと結論される。

一方、選抜株 mK42×No. 94株の安定性を検討した結果、市販菌より安定性が高いが、根本的に安定性の向上を要すると判断される。市販菌 K248株は、単孢子株の群内交配において正常な二極性の交配様式を示さなかったことから、発生不良の危険性が高い²⁾と考えられる。また、市販菌の K248株、K245株、T127株、T126株は、植え継ぎにより収量が低下した。F27株が母材と推定されるこれらの市販菌は、安定性が非常に低下しており、早急に安定性を改善する必要がある。また、安定性が改善されれば、市販菌と明らかに差別性を有するため、子実体形質に差別性がなくとも品種登録が可能になる。したがって、菌株の安定性を育種目標とすることが、最も実用化の可能性が高いと判断する。

2. ナメコの安定性向上の可能性

(1) ナメコの不安定性の要因

ナメコ種菌は1細胞が2種類の核で構成される²⁾二核菌糸である。二核菌糸は、菌糸が伸びる時に先端細胞が1種類の核構成になる脱二核化が生じる³⁾。また、脱二核化は、無性孢子の一種である分裂子の形成によっても生じる^{4,5)}。2種類の脱二核化によって生じた一核細胞は、交配型の異なる近傍の核により速やかに再二核化される^{4,5)}。しかし、発生不良株では、脱二核化した細胞が元の2種類の核構成に戻れない。元の二核に戻れない細胞は、子実体形成能を喪失しており、培養条件(25℃以上の培養温度における菌糸伸長速度が極端に速い)により急増する性質をもつ。

細胞の複核化は、不和合性因子により支配される。したがって、細胞が元の二核に戻れないのは、不和合性因子の機能に異常が生じたためと推定される。Cao⁹⁾によれば、ナメコは、減数分裂時に不和合性因子の組み換えや欠損が生じる可能性があり、そのため新たな交配型が出現したり、供与核を受け入れる能力が変化する。本試験においても市販菌 K248株は、不和合性因子の組み換えや欠損を示唆する結果が得られている。また、不和合性因子と子実体形成能が密接に関係する報告もあり、二核に戻れない細胞の子実体形成能喪失は不和合性因子の一部欠損に起因する可能性もある。

一方、馬場崎⁶⁾は、菌床栽培用の多くの品種が含まれる分類群は主に群内と同等もしくはそれより近交な条件で育種されたと判断した。したがって、市販菌 K248株で示唆された不和合性因子の組み換えや欠損は、K245株、127株、T126株にも生じている可能性が高い。これらの株の不和合性因子に欠損が生じていると仮定すれば、脱二核化した細胞が再複核化され難く、栽培特性が安定しない。

(2) ナメコに安定性向上の方向性

ナメコの栽培特性が不安定な原因として、不和合性因子の一部欠損があげられる。しかし、ナメコの不和合性因子の研究は、未だほとんど進んでいない。ナメコは、不和合性因子が1因子で支配される2極性であり¹⁾、2因子による4極性のシイタケやエノキタケ等より比較的解析が容易である。したがって、不和合性因子の解析により菌株の安定性を向上させる技術が開発される可能性は、極めて高い。不和合性因子の構造解析結果に基づき、不和合性因子が一部欠損した単胞子株を育種材料から除去する手法の開発を目指す。不和合性因子が一部欠損した単胞子株が除去されれば、交配株の収量分布が正規分布すると予想されるため、遺伝率に基づく計画的な育種が可能になる。予備選抜された単胞子株による交配株は、脱二核化した細胞が容易に元の二核の核構成に戻る。

一方、高温培養は、発生不良が起こる環境要因の一つであり、市販菌 T127株は、25℃以上の培養温度で気中菌糸の薄いセクターが生じ脱二核化した²⁰⁾。この現象が生じた時の市販菌 T127株は、25℃以上の培養温度で二核菌糸より二核菌糸を構成する2種の二核菌糸の菌糸伸長速度が速かった。継代培養期間が長期化したナメコ菌株は、分裂子由来二核菌糸の菌糸伸長速度が速くなる傾向がある^{18,23)}ことから、市販菌 T127株は継代培養により二核菌糸と二核菌糸の伸長速度差が広がったと推定される。このような継代培養により生じた二核菌糸と構成二核菌糸の伸長速度差の拡大は、脱二核化セクターが生じた原因の一つと推定される²⁰⁾。しかし、不和合性因子が正常に機能すれば脱二核化した細胞は速やかに二核に戻り^{21,4)}、セクターは形成されない。また、不和合性因子が正常に機能すれば、二核菌糸の中に混在する分裂子由来二核菌糸は速やか二核化されるため、二核菌糸との伸長速度差で二核菌糸だけ優先的に伸びることはない。したがって、この現象においても最終的には不和合性因子の機能異常が関与すると推定される。

このような環境因子によって発現する不和合性因子の機能異常は、因子内一部欠損⁹⁾以外にも細胞質の活性等の影響による核移動の阻害、あるいは供役核分裂における2種の核の分裂速度の同調性の喪失が考えられる。このため、不和合性因子と細胞質遺伝子の相互作用、あるいはn+nの状態における2種の核間の遺伝子(不和合性因子)発現制御機構を解明することにより、菌株の安定性を飛躍的に向上できる可能性がある。

V 引用文献

- 1) 有田郁夫, 武丸恒雄: ナメコの交配型. 菌蕈研報 2 : 1-10(1962)
- 2) 有田郁夫: ナメコ二生活環Ⅱ. 核学的観察. 菌蕈研報10 : 383-388(1973)
- 3) 有田郁夫: ナメコ二核菌糸の二核化Ⅰ. 菌蕈研報 4 : 44-51(1964)
- 4) 有田郁夫: ナメコ二生活環Ⅰ. 菌蕈研報 6 : 49-57(1968)
- 5) Arita, I. : Cytological studies on *Pholiota*. Rept. Tottori Mycol. Inst., 17 : 1-118(1979)
- 6) 馬場崎勝彦, 熊田 淳: 市販ナメコ種菌の RAPD 法による分析. 日本菌学会第41回大会講演要旨集 : 41(1997)
- 6) 馬場崎勝彦: 微生物遺伝資源利用マニュアル(5)栽培きのこと菌株の直接凍結維持法および DNA 判

- 別法, ISSN1344-115, P. 5-6 (1999)
- 7) 福島県農林水産部林業振興課：平成10年度特用林産関係統計書. pp96(1998)
 - 8) 橋本武雄, 庄司 当, 大竹力次：福島県におけるナメコの経営経済的調査について. 福島県林指研報13：1-16(1968)
 - 9) H. Cao, H. Yamamoto and Y. Kitamoto：Genetic Analysis on the Incompatibility Factor Characteristics in a Bipolar Basidiomycete, *Pholiota nameko*. Progress in Mycological Sciences in Japan and United Kingdom, PROCEEDINGS, 6th International Symposium of the Mycological Society of Japan-'98 Japan-UK International Mycological Symposium-：90(1998)
 - 10) 熊田 淳, 竹原太賀司, 渡部正明：ナメコ栽培に関する研究 — 原木用優良品種選抜 —. 福島林試研報28：45-70(1995)
 - 11) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)菌床栽培における子実体の発生不良現象. 木材学会誌41：114-119(1995)
 - 12) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)発生不良菌株に生じたセクターの消長と不発芽の関係について. 木材学会誌41：1158-1164(1995)
 - 13) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂：PDA平面培地によるナメコ(*Pholiota nameko*)菌株の連続的植え継ぎ過程における栽培特性と菌叢の変化について. 木材学会誌42：101-104(1996)
 - 14) 熊田 淳, 竹原太賀司：ナメコ栽培に関する研究 — ナメコ(*Pholiota nameko*)菌床栽培における子実体の発生不良現象(1) —. 福島林試研報29：29-54(1997)
 - 15) 熊田 淳, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)子実体の発生不良原因 — 1996年空調栽培現場より収集した菌株について —. 東北森林科学会誌3(1)：19-23(1998)
 - 16) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)二核菌糸の培養時に生じた分裂子の再二核化菌株の栽培特性, 木材学会誌43：370-374(1997)
 - 17) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)菌株の木粉培地による直接凍結保存法, 東北森林科学会誌3(1)：13-17(1998)
 - 18) 熊田 淳, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)分裂子の再二核化株の表現型分布 — 分裂子発生源菌糸および再二核化に用いた菌糸の核相の影響 —. 応用きのこ学会第2回大会講演要旨集：76(1998)
 - 19) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)菌株の木粉培地による直接凍結保存法. 東北森林科学会誌3(1)：13-17(1998)
 - 20) 熊田 淳, 青野 茂：ナメコ(*Pholiota nameko*)菌株の培養温度が脱二核化と分裂子由来一核菌糸に与える影. 日本日本応用きのこ学会第3回大会講演要旨集：59(1999)
 - 21) 熊田 淳, 竹原太賀司：ナメコ栽培に関する研究 — ナメコ菌床栽培における子実体の発生不良現象(2) —. 福島林試研報32：27-28(1999)
 - 22) 熊田 淳, 竹原太賀司, 青野 茂：ナメコ空調栽培における子実体の発生不良現象とその対策. きのこ変異判別と変異発生予防：農林水産省農林水産技術会議事務局・林野庁森林総合研究所, 7-11(1999)

- 23) 熊田 淳, 青野 茂, 北本 豊: ナメコ (*Pholiota nameko*) 栽培におけるオイディア形成につづく親二核菌糸との仕組みの解析と再二核化が及ぼす表現型変化の評価: 日本応用きのこ学会誌 8 (2), 77-81 (2000)
- 24) 中元六雄, 伊藤達次郎, 庄司 当: ナメコの発生量及び発生時期と形質に関する比較試験 (第 1 報). 福島県林指研報10: 1-36 (1965)
- 25) 中元六雄, 伊藤達次郎, 庄司 当, 大竹力次: ナメコの発生量及び発生時期と形質に関する比較試験 (第 2 報). 福島県林指研報12: 34-40 (1967)
- 26) 庄司 当, 大竹力次: 福島県におけるナメコの不作原因についての一考察. 福島県林指研報14: 29-37 (1969)
- 27) 竹原太賀司, 熊田 淳: 細胞融合による食用きのこ優良個体の作出, 福島林試研報27: 121-146 (1995)
- 28) 竹原太賀司, 熊田 淳: 細胞融合による食用きのこ育種に関する研究 — エノキタケおよびナメコの種内細胞融合とナメコ種内融合株子実体収量復帰法の検討. 福島林試研報30: 41-60 (1997)
- 29) 竹原太賀司, 熊田 淳: ヒラタケの単核性発茸及びヒラタケ, ナメコ群内交配株の栽培特性. 福島林試研報30: 79-98 (1997)