－研究記録（Research Note）－

野生型エノキタケ新品種の開発（第1報）ランダム交配菌株の作出と選抜

宜寿次　盛生，米山　彰造，齋藤　沙弥佳，東　智則，檜山　亮*[1]，津田　真由美*[2]

Breeding of new wild-type *Flammulina velutipes* varieties（I）Creation and selection of random hybrid strains

Seiki GISUSI, Shozo YONEYAMA, Sayaka SAITO, Tomonori AZUMA, Ryo HIYAMA, Mayumi TSUDA

キーワード：エノキタケ，育種，胞子混合液，食味，選抜

1. はじめに

エノキタケは，国内生産量が最も多い食用きのこで年間約13万トン生産されている[1)]。現在，人工栽培で生産されるエノキタケは「純白系」と呼ばれる品種がほとんどであるが[2)]，野生のエノキタケは傘が褐色で，柄の上部は淡黄褐色，下部は黒褐色を呈している[3)]。北海道立総合研究機構林産試験場（以下，道総研林産試）では天然の形態・風味を有する野生型エノキタケ「えぞ雪の下」を開発して[4)]，実生産に活用されている。「えぞ雪の下」は，北海道の統計上，エノキタケとは別品目扱いで，市場での根強い需要から25年以上一定量の生産が行われ流通している[1)]。また，他のきのこ生産者から野生型エノキタケを導入したいという要望や，「えぞ雪の下」の機能性[5,6)]を高めた品種開発の要望がある。

きのこの品種開発（育種）では，胞子由来の単核菌糸同士を交配する方法や親菌株の細胞をプロトプラスト化することで構成核を分離して得た単核菌糸を用いて交配する方法などがある[7,8)]。いずれも多数の単核菌糸系統を組み合わせ，シャーレ上で交配，分離して新たな菌株を取得する。

一方，伊東ら[9)]は食用きのこであるムキタケを用いてランダムに交配して品種改良を行った。すなわち，形質の異なる2菌株の胞子混合液を接種し菌床栽培を行い，様々な形質の子実体を得た。それら子実体から組織分離した菌株の中からビン栽培に向いた菌株を選抜している。この胞子混合液を用いた菌株選抜は粗放的な手法であるが，実施する栽培条件（培地組成，栽培工程）に適した子実体が発生する。そのため，ランダムに作出される多様な菌株の中から目的の栽培条件に適する菌株が選抜されることが期待できる。

本稿では，野生型エノキタケ新品種の開発を目的として，胞子混合液を用いたランダム交配菌株の作出と選抜を行った結果について報告する。

2. 実験方法

2.1 保存菌株の栽培特性

2.1.1 菌株

第1表に示す道総研林産試保存のエノキタケ48菌株および対照菌株として，Fv92-04（えぞ雪の下）を用いた。

各菌株をPDA平板培地で培養し，その菌糸片を種菌用培地（850mL容ポリプロピレン製栽培ビン1本あたり絶乾重量でシラカンバおが粉140g，フスマ35 g，設定培地水分63.5 %）に接種，ビンの側面に菌糸が蔓延するまで培養して栽培試験用の種菌とした。

2.1.2 「えぞ雪の下」標準栽培法（L培地法）

道総研林産試における「えぞ雪の下」の標準的な方法[10)]に準じて栽培試験を行った。 850 mL容ポ

第1表　エノキタケ保存菌株とランダム交配法で作出した菌株

保存菌株	野生種W（採取地）または栽培種C	L培地収量（g/ビン）	ランダム交配法で作出した菌株 *1
Fv 68-04	W （東川町）	96.3	684-a, -b, -c
Fv 75-01	C	120.1	751-a, -b, -c, -d, -e
Fv 76-07	W （旭川市）	45.1	767-a, -b, -c, -d, -e
Fv 78-02	C	122.8	782-a, -b, -c
Fv 79-01	C	120.7	791-a, -b, -c, -d, -e
Fv 81-01	W （旭川市）	79.3	811-a, -b, -c
Fv 82-01	W （旭川市）	89.4	821-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 82-03	W （旭川市）	135.8	823-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 84-01	C	125.6	841-a, -b, -c, -d, -e
Fv 84-02	C	147.6	842-a, -b, -c, -d, -e
Fv 85-01	W（幌加内町）	109.5	851-a, -b, -c, -d, -e
Fv 86-01	C	145.6	861-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 86-02	C	117.4	862-b, -c
Fv 87-01	W （旭川市）	99.8	871-a, -b, -c
Fv 87-02	C	122.1	872-a, -b, -c
Fv 89-01	W 不明	82.9	891-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 91-02	W （旭川市）	60.3	912-a, -b, -e
Fv 92-02	W （愛別町）	36.5	922-a, -b, -c, -d, -e
Fv 95-02	W （美瑛町）	（No Spore Print）*2	
Fv 97-01	W （旭川市）	71.7	971-a, -b, -c
Fv 97-02	W （旭川市）	68.2	972-a, -b, -c, d
Fv 97-03	W （旭川市）	（No Spore Print）*2	
Fv 97-04	W （旭川市）	13.6	974-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 97-05	W （旭川市）	70.8	975-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g
Fv 97-06	W （旭川市）	111.6	976-a, -b
Fv 97-07	W （旭川市）	103.1	（No Fruitbody）*3
Fv 98-01	W （旭川市）	108.7	981-a, -b, -c
Fv 98-02	W （旭川市）	6.9	（No Fruitbody）*3
Fv 98-03	W （旭川市）	77.5	983-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 98-04	W （旭川市）	117.8	984-a, -b, -c
Fv 98-05	W （旭川市）	106.9	（No Fruitbody）*3
Fv 98-06	W （旭川市）	77.8	986-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g
Fv 99-05	W （東川町）	（No Spore Print）*2	
Fv 00-01	W （上川町）	98.0	001-a, -b, -c, -d, -e
Fv 00-02	W （上川町）	57.4	（No Fruitbody）*3
Fv 00-03	W （美瑛町）	74.5	003-a, -c
Fv 01-01	C	146.6 *4	
Fv 01-02	W （旭川市）	90.0	012-a, -b
Fv 06-01	W （東川町）	54.9	（No Fruitbody）*3
Fv 07-01	W（東神楽町）	50.7	（No Fruitbody）*3
Fv 09-01	W （旭川市）	108.7	091-a, -b, -c, -d, -e
Fv 12-01	W （豊浦町）	71.6	121-a, -b, -c
Fv 13-01	C	152.3 *4	
Fv 13-03	W（西興部村）	85.2	133-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 13-04	W（西興部村）	63.9	134-a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -h, -i, -j
Fv 13-05	W （旭川市）	（No Spore Print）*2	
E704	C （H23開発）	159.7	E704-a
E274	C （H23開発）	145.8	E274-a, -b, -c, -d, -e
Fv 92-04	C えぞ雪の下	157.3	（対照菌株）

*1　作出した菌株名は，胞子親菌株名を短縮した3桁の数字にa～jを付し，本表ではb～jの前の数字を省略した。
*2　（No Spore Print）：保存菌株の栽培試験で子実体，すなわち胞子紋が得られなかった。
*3　（No Fruitbody）：ランダム交配法で子実体が得られなかった。
*4　登録品種の可能性が高いため，胞子紋を採取しなかった。

リプロピレン製栽培ビンを用い，カラマツおが粉と米ぬかを混合した培地を作製した。1ビンあたりの米ぬか量は絶乾重量で100gとし，カラマツおが粉はロットにより粒度が異なるため，あらかじめ試験ごとに適切な量を検討し下記のとおりおが粉量と設定水分を適宜修正して調製した。以下，特に区別する必要が無い場合はすべてL培地と呼ぶ。

L1：カラマツ125g（培地600g，設定水分62.5%）
L2：カラマツ120g（培地580g，設定水分62.1%）
L3：カラマツ110g（培地560g，設定水分62.5%）

栽培工程は，種菌を接種後，22℃，70%RH，暗所で菌糸蔓延まで培養を行った。培養後，菌掻き・注水（2時間冠水後排水）を行い，ビンを逆置きにして，13℃，90%RH以上，照明12時間/日の環境下で管理した。子実体原基の形成を確認後，ビンを正置し，子実体が成熟したら写真撮影後，収穫し，石突き部分で切り取り生重量を測定し子実体収量とした。また，子実体収量を栽培日数で除して生産効率[10]をもとめた。

2.1.3　品種登録栽培法（C培地法）

農林水産省品種登録における「えのきたけ種」審査基準に準じて栽培試験を行った。当初は旧審査基準[11]で，情報入手後は新審査基準[12]で行った。

旧審査基準では，800mL容ポリプロピレン製栽培ビンを用い，1ビンあたりの培地重量は480g（スギおが粉95g，米ぬか85g，水300g，水分62.5%）である。一方，新審査基準では，栽培ビンが850mL容に変更され，1ビンあたりの培地重量は510g（スギおが粉100g，米ぬか90g，水320g，水分62.7%）となった。以下，特に区別する必要が無い場合は両方ともC培地と呼ぶ。

旧審査基準では，「培養温度20±2℃，原基形成温度13～14℃」と記載されていることから，本研究ではL培地法と同様にそれぞれ22℃および13℃で管理した。一方，同基準では暗黒化で管理することになっているが，ここではL培地法と同様に，照明12時間/日の環境下で管理した。その後，同基準「子実体が2～3mmに達したら温度6～7℃」に従い，7℃設定の暗所で管理した。

新審査基準での栽培工程は記載どおり行った。すなわち，19℃，70%RH，暗所で菌糸蔓延まで培養を行い，菌掻き後は2時間冠水は行わず「水道水で菌床面洗浄」し，15℃，暗所で原基形成を促した。原基形成確認後，7℃，85%RH，暗所下で管理し，ケース巻き（紙巻き）を経て，収穫適期に写真撮影後，収穫，生重量を測定し子実体収量とした。また，L培地法と同様に生産効率（子実体収量/栽培日数）を求めた。

2.2　ランダム交配菌株の作出

発生する子実体として，Fv92-04と胞子由来単核系統との「ダイモン交配菌株」群，胞子由来単核系統の「自家交配菌株」群，元の「Fv92-04菌株」がランダムに得られることを期待し，保存菌株の胞子混合液をFv92-04のおが粉種菌と同時接種して栽培試験を行った。

2.2.1　胞子混合液の調製と同時接種

L培地法で得られた保存菌株子実体の菌傘1～4個をあらかじめガラスシャーレに入れてオートクレーブ滅菌済みの黒紙（3cm×3cm）上に1晩静置し胞子紋を採取した。50 mL容遠心チューブを用いて，滅菌蒸留水10 mLに各胞子紋を黒紙ごと投入，攪拌・懸濁し胞子混合液とした。培地の接種孔にFv92-04のおが粉種菌を薬サジ1杯（約10-20 mL）接種後，同接種孔上に胞子懸濁液を5 mL接種した。さらに接種孔および培地表面にFv92-04のおが粉種菌を薬サジ1杯（約10-20 mL）接種し，その上に胞子懸濁液を5mL接種した。

培地および栽培工程は2.1.2のL培地法に準じ，供試ビン数は1本ずつとした。

2.2.2　交配菌株の分離

各ビンから3～10本の子実体を選択し，それぞれ組織分離を行った。得られた菌株名は，胞子親の菌株名を短縮した3桁の数字にa～jを付した（第1表）。

2.3　ランダム交配菌株の栽培特性

2.3.1　菌株および種菌

2.2で作出した187菌株をそれぞれPDA平板培地で培養し，その菌糸片を種菌用培地（555mL容ポリプロピレン製栽培ビン，培地量320g；シラカンバおが粉93g，フスマ23g，設定培地水分63.8%）に接種後，ビンの側面に菌糸が蔓延するまで培養して栽培試験用の種菌とした。対照菌株として，Fv92-04（えぞ雪の下）のほか，E704（2013年開発菌株）およびE274（2013年開発菌株）[10]を供試した。

2.3.2　栽培試験と選抜

栽培試験は，2.1.2のL培地法および2.1.3のC培地法（新審査基準）に準じて行った。

1次選抜は185菌株を6回に分けて，供試ビン数4

本ずつで栽培試験を行い，L培地法での子実体収量平均値が対照菌株（Fv92-04）より高い菌株を選抜した。2次選抜は3.2.1で後述するように選抜した55菌株を7回に分けて，供試ビン数8本ずつで栽培試験を行った。1次選抜および2.4 食味試験の結果も考慮し，L培地法での子実体収量平均値が対照菌株（Fv92-04）より高い菌株を選抜した。3次選抜は3.2.2で後述するように選抜した16菌株を4回に分けて栽培試験（供試ビン数16本）を行い，L培地法での子実体収量平均値または生産効率（子実体収量/栽培日数）が対照菌株（Fv92-04）より高い菌株を選抜した。

2.4 食味試験

2.4.1 試料

2回目の栽培試験においてL培地法で得られた子実体（55菌株，対照菌株：Fv92-04，E704，E274）を用いた。

2.4.2 調理方法

①各子実体の可食部分（100g）を裁断した（ビン口で切って，さらに半分の長さに切った）。
②陶器の皿に載せて霧吹きで水道水を1回噴霧した。
③ラップをかけて電子レンジ（600W）で1分30秒加熱した。

2.4.3 評価方法

試料1菌株につき**第1図**に示す評価用紙を1枚用いた。4項目（かたさ，食感の好ましさ，味の濃さ，味の好ましさ）について，対照と比較して5段階で評価した。「かたさ」と「味の濃さ」は分析型官能評価，「食感の好ましさ」と「味の好ましさ」は嗜好型官能評価と位置づけた[13]。

食する順番や回数等は，特に指示しなかった。評価結果は以下例のような値（5，4，3，2，1）に変換して試料毎に平均値を求めた。

Q1かたさ：かたい5，同じ3，やわらかい1
Q2食感の好ましさ：好5，同じ3，嫌1
Q3味の濃さ：濃5，同じ3，うすい1
Q4味の好ましさ：好5，同じ3，嫌1

2.5 統計解析

「エクセル統計2015」（(株)社会情報サービス）を用いて，それぞれの栽培試験で「収量」および「生産効率」について統計解析を行った。「菌株＆収量」，「菌株＆効率」2列のデータ配置で「多元配置分散分析」および「Dunett法」による多重比較を行った。対照群は，Fv92-04とした。

食味試験の評価結果（平均値）を用いて，4項目（Q1かたさ，Q2食感の好ましさ，Q3味の濃さ，Q4味の好ましさ）間の相関係数をもとめ，無相関の検定を行った。

3. 結果と考察

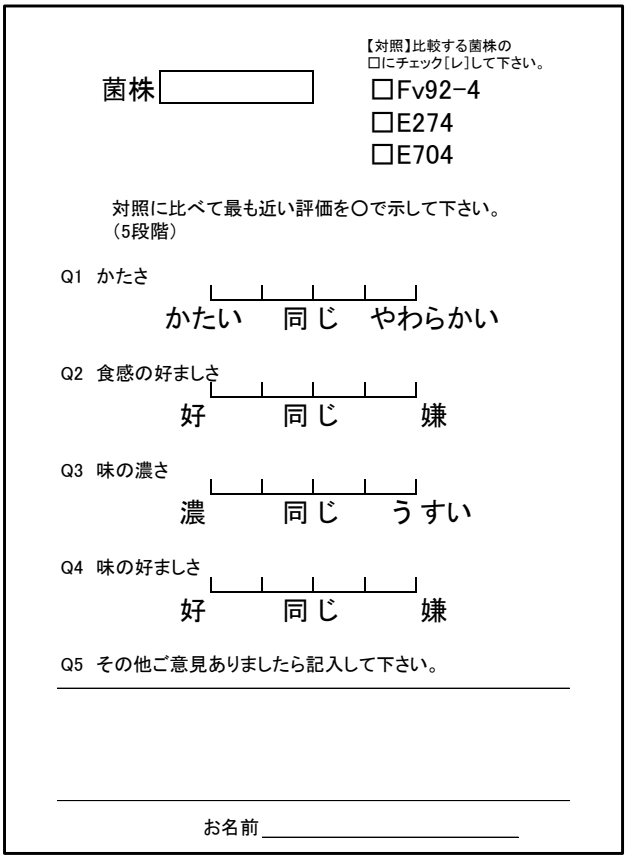
3.1 ランダム交配菌株の作出

3.1.1 保存菌株の栽培試験

供試した48菌株の中で，対照菌株（Fv92-04）に比べ有意に高収量，生産効率のよい菌株はなかった。そのため，L培地法で子実体が得られなかった4菌株（Fv95-02，Fv97-03，Fv99-05，Fv13-05）および登録品種の可能性が高い2菌株（Fv01-01，Fv13-01）を除くすべての42菌株から胞子紋を採取した（第1表）。

3.1.2 ランダム交配栽培試験

胞子紋が得られた42菌株それぞれの胞子混合液と「えぞ雪の下」の同時接種試験の結果，42ビン中36ビンで子実体が発生した。収量は示していないが，148.0g/ビン（胞子親菌株；Fv76-07）から8.1g/ビン（同；Fv97-06）まで菌株間にバラツキが


【対照】比較する菌株の
□にチェック[レ]して下さい。
菌株
□Fv92-4
□E274
□E704
対照に比べて最も近い評価を○で示して下さい。
（5段階）
Q1 かたさ
かたい　同じ　やわらかい
Q2 食感の好ましさ
好　同じ　嫌
Q3 味の濃さ
濃　同じ　うすい
Q4 味の好ましさ
好　同じ　嫌
Q5 その他ご意見ありましたら記入して下さい。
お名前

第1図 食味試験に用いた評価用紙

見られ6菌株（同；Fv97-07，Fv98-02，Fv98-05，Fv00-02，Fv06-01，Fv07-01）のビンからは子実体が得られなかった。形態が良好な子実体から様々なサイズを選択し，組織分離で新たに187菌株を得た（第1表）。

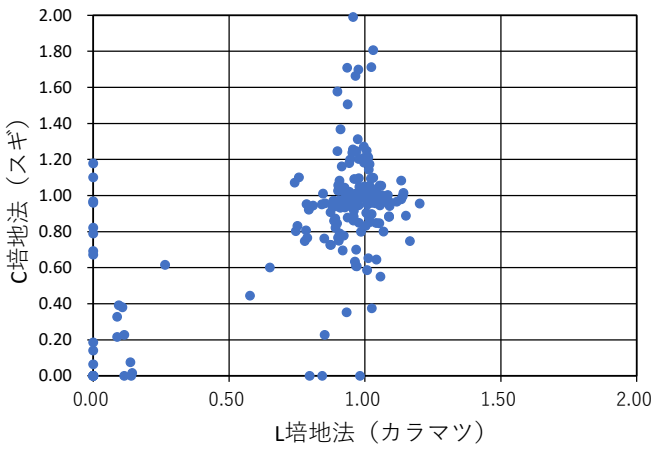
3.2　ランダム交配菌株の選抜

3.2.1　ランダム交配菌株の栽培試験（1次選抜）

得られた187菌株を555 mL容栽培ビン（2.3.1）で2本ずつ種菌を作製した。種菌の菌糸蔓延は20～23日で対照菌株の18～19日より遅く，雑菌汚染で種菌を作製できなかった2菌株（791d，811c）は除外した。

第2図に185菌株のL培地法とC培地法での栽培試験結果（収量分布）を示す。

対照菌株（Fv92-04）の収量および生産効率が試験毎にバラつくことを考慮し，それぞれの栽培試験で，対照群（Fv92-04）との多重比較を行った。その結果，L培地法では2回目の栽培試験において有意に収量および生産効率が高い6菌株（872-c，922-a，871-c，872-b，872-a，871-a）が検出された。また，3回目の栽培試験において雑菌汚染が大規模に発生し，L培地法では22菌株が収穫なしあるいは1ビンのみ収穫のため解析不可となったが，再試験は行わなかった。収量分布のバラツキから，ランダム交配で発生した子実体から分離した菌株はFv92-04ではなく，様々な菌株が得られたことが示唆された。また，C培地法での広がりが大きいことは，品種登録における対照品種（えぞ雪の下など）との区別性において好ましい。L培地法で対照菌株より収量が高かった55菌株を選抜した。



第2図　ランダム交配で得られた185菌株の栽培試験結果（収量）の分布（1次選抜）
L培地法（n=4）とC培地法（n=4）それぞれにおける収量を対照菌株（Fv92-04）と比較した。Fv92-04の収量を1.00とした。L培地法で対照菌株より収量が高かった（横軸で1.00より右側に分布）55菌株を選抜した。

3.2.2　ランダム交配菌株の2次選抜

第2表に1次選抜した55菌株の栽培試験（L培地法およびC培地法における収量および生産効率）と食味試験の結果を示した。

1次選抜と同様に7回の試験それぞれについて対照群（Fv92-04）との多重比較を行った。その結果，L培地法において有意に収量（922-d；$p < 0.05$）または生産効率（821-e，821-f；$p < 0.01$）が高い3菌株が検出された。

食味試験の対照菌株は，基本的にFv92-04としたが，栽培日数の関係で一部はE704またはE274を対照とした。

「Q1かたさ」について，対照がFv92-04の場合，「かたい」が16菌株，「同じ」が2菌株，「やわらかい」が26菌株であった。対照がE704の場合，「かたい」が5菌株，「同じ」が1菌株，「やわらかい」が4菌株であった。対照がE274の場合，「かたい」が1菌株，「同じ」が0菌株，「やわらかい」が0菌株であった。

「Q2食感の好ましさ」（＝食感良）について，対照がFv92-04の場合，「好」が20菌株，「同じ」が8菌株，「嫌」が16菌株であった。対照がE704の場合，「好」が8菌株，「同じ」が2菌株，「嫌」が0菌株であった。対照がE274の場合，「好」が1菌株，「同じ」が0菌株，「嫌」が0菌株であった。

55菌株の全データを用いて，4項目（Q1かたさ，Q2食感の好ましさ＝食感良，Q3味の濃さ，Q4味の好ましさ＝味良）間の相関係数をもとめた（**第3表**）。「Q3味の濃さ」と「Q4味の好ましさ（＝味良）」間で有意な相関が認められた（相関係数0.69，$p < 0.01$）が，「Q1かたさ」と「Q2食感の好ましさ（食感良）」間では相関が認められなかった（相関係数0.22）。一方，「Q1かたさ」と「Q3味の濃さ」間（相関係数0.38）および「Q1かたさ」と「Q4味の好ましさ（＝味良）」間（相関係数0.39）でも有意な相関（$p < 0.01$）となった。これは，「かたさ」が咀嚼回数を介して「味の濃さ」に影響したことが考えられる。

栽培試験の結果から，L培地法で対照菌株より収量が高かった12菌株を選抜した。また，食味試験の4項目すべてが対照菌株と同等以上の3菌株（841-e，842-b，871-b）と食味試験3項目が同等以上でか

第2表　ランダム交配菌株の栽培特性（相対比）および食味評価試験結果（2次選抜）

栽培特性					食味試験					
	L培地法（カラマツ）		C培地法（スギ）			Q1	Q2	Q3	Q4	
菌株 *1	収量	生産効率	収量	生産効率	対照菌株	かたさ	食感良	味濃い	味良	菌株 *1
821-e	1.075	1.160	0.989	0.944	Fv92-04	2.80	2.70	2.80	3.20	821-e
821-f	1.074	1.141	1.055	1.011	Fv92-04	2.60	2.90	3.20	3.30	821-f
922-d	1.071	1.019	1.061	1.089	Fv92-04	2.40	2.70	2.50	2.50	922-d
975-a	1.049	0.993	1.062	1.083	Fv92-04	2.80	3.50	2.70	2.70	975-a
974-c	1.036	1.049	0.608	0.569	Fv92-04	2.64	3.00	3.09	3.27	974-c
891-i	1.025	1.040	0.750	0.693	Fv92-04	2.78	3.00	2.89	3.00	891-i
012-b	1.020	1.062	1.596	1.663	Fv92-04	3.36	3.27	2.55	3.27	012-b
872-a	1.019	1.047	1.119	1.160	Fv92-04	3.40	3.10	3.30	3.20	872-a
842-a	1.017	1.008	1.211	1.280	Fv92-04	3.18	2.91	2.36	2.73	842-a
872-b	1.012	1.029	1.109	1.124	Fv92-04	2.91	3.45	2.73	2.82	872-b
821-d	1.010	1.088	0.923	0.841	Fv92-04	2.60	2.90	3.10	3.20	821-d
751-b	1.006	0.996	1.104	1.051	Fv92-04	3.33	3.00	3.17	3.50	751-b
841-e	0.998	0.999	1.111	1.165	Fv92-04	3.27	3.09	3.00	3.18	841-e
821-b	0.995	1.084	1.087	1.079	E274	3.30	3.20	2.70	3.10	821-b
971-a	0.994	1.023	0.479	0.438	Fv92-04	2.90	2.80	2.60	2.60	971-a
891-g	0.991	1.000	0.669	0.666	Fv92-04	2.80	3.00	2.30	2.50	891-g
891-h	0.989	1.002	0.426	0.402	E704	2.70	3.20	2.90	3.00	891-h
842-b	0.988	0.988	1.100	1.136	Fv92-04	3.09	3.09	3.00	3.00	842-b
974-e	0.985	1.022	0.825	0.763	Fv92-04	2.90	2.90	2.70	2.80	974-e
861-g	0.984	1.045	1.077	1.118	E704	2.78	3.22	2.44	2.78	861-g
922-c	0.980	1.016	1.083	1.139	Fv92-04	2.82	3.27	2.82	2.82	922-c
922-a	0.979	0.982	1.177	1.215	Fv92-04	3.36	3.00	2.91	2.91	922-a
861-f	0.977	1.042	1.033	1.095	E704	3.00	3.11	2.78	3.33	861-f
861-a	0.976	1.006	1.006	1.037	Fv92-04	2.91	3.09	2.36	2.82	861-a
684-c	0.974	1.032	0.994	0.910	Fv92-04	2.90	3.20	2.80	3.00	684-c
891-d	0.966	0.963	0.922	0.877	Fv92-04	3.00	2.88	2.75	2.88	891-d
976-a	0.965	0.964	0.763	0.716	E704	3.09	3.00	2.73	2.73	976-a
872-c	0.965	0.989	1.120	1.176	Fv92-04	3.22	3.22	3.10	2.90	872-c
821-a	0.963	0.955	1.103	1.034	Fv92-04	2.50	2.67	2.42	2.75	821-a
823-b	0.963	0.962	0.835	0.800	Fv92-04	2.78	2.89	2.56	3.00	823-b
922-b	0.960	0.981	1.214	1.276	Fv92-04	3.10	3.20	2.90	3.20	922-b
891-e	0.959	0.973	0.833	0.838	Fv92-04	2.88	3.25	2.63	2.75	891-e
986-d	0.955	0.975	1.062	1.152	E704	3.11	3.11	2.78	3.00	986-d
891-c	0.954	0.963	0.723	0.693	Fv92-04	2.63	3.13	2.25	2.50	891-c
823-f	0.950	0.965	1.035	1.062	E704	2.56	3.00	2.89	2.89	823-f
134-e	0.948	0.972	1.078	1.010	Fv92-04	2.90	3.10	2.80	3.40	134-e
871-b	0.945	1.122	1.141	1.159	E704	3.44	3.33	3.33	3.44	871-b
851-b	0.940	0.962	1.195	1.206	Fv92-04	3.11	2.89	2.89	3.00	851-b
841-c	0.933	0.967	0.906	0.918	E704	3.11	3.33	3.00	3.22	841-c
983-e	0.925	0.912	0.800	0.765	Fv92-04	3.11	2.78	2.78	2.89	983-e
871-a	0.913	1.100	1.196	1.213	Fv92-04	3.00	2.89	2.56	3.11	871-a
851-c	0.912	0.909	0.955	0.903	Fv92-04	3.11	3.00	3.00	3.11	851-c
862-c	0.911	1.106	1.086	1.126	Fv92-04	3.11	3.33	3.22	3.00	862-c
891-b	0.906	0.953	0.881	0.845	Fv92-04	2.60	3.30	2.80	3.10	891-b
862-b	0.902	1.087	1.184	1.204	Fv92-04	2.89	3.22	2.56	2.67	862-b
861-i	0.897	1.033	1.216	1.293	Fv92-04	2.91	3.00	2.73	3.09	861-i
823-j	0.894	0.889	0.848	0.821	E704	2.78	3.22	2.56	2.78	823-j
823-d	0.891	0.876	0.750	0.718	Fv92-04	3.30	2.90	3.00	3.00	823-d
823-c	0.882	0.872	0.944	0.885	Fv92-04	2.56	2.89	2.78	3.00	823-c
821-j	0.875	0.942	1.066	1.143	Fv92-04	2.67	2.83	2.50	2.58	821-j
871-c	0.864	1.034	1.187	1.233	E704	3.22	3.11	2.78	3.00	871-c
861-j	0.860	1.029	1.166	1.194	Fv92-04	2.89	3.22	2.67	3.00	861-j
823-i	0.837	0.801	0.727	0.665	Fv92-04	3.10	3.00	2.70	2.80	823-i
891-f	0.835	0.850	0.758	0.787	Fv92-04	3.11	3.11	2.78	3.00	891-f
861-h	0.619	0.670	0.202	0.208	Fv92-04	2.80	3.50	2.70	2.70	861-h

選抜菌株　　＞1　　＞平均値（3.00）　　選抜菌株

有意に大（L培地法のみ）

第3表　食味試験における4項目間の相関

a　食味試験4項目間の相関係数

	かたさ	食感良	味濃い	味良
かたさ	1.0000	0.2222	0.3770	0.3881
食感良	0.2222	1.0000	0.1478	0.0846
味濃い	0.3770	0.1478	1.0000	0.6938
味良	0.3881	0.0846	0.6938	1.0000

b　母相関係数の無相関の検定

	かたさ	食感良	味濃い	味良
かたさ	−	0.1030	0.0045	0.0034
食感良		−	0.2814	0.5390
味濃い	**		−	P < 0.001
味良	**		**	−

右上の無色欄:P値
左下の着色欄:*, p<0.05 **, p<0.01

つ栽培特性も良好な1菌株（861-f）を加え，合計16菌株を選抜した。

3.2.3　ランダム交配菌株の3次選抜

第4表に2次選抜した16菌株の栽培試験（L培地法およびC培地法における収量および生産効率）の結果を示した。

2回目の試験でL培地法において雑菌汚染が多発したため，3回目はL培地法のみ再試験を行った。対照菌株（Fv92-04）は，L培地法4回とC培地法3回の栽培試験で，両方において「収量」および「生産効率」ともにバラツキが見られたため，それぞれの栽培試験で，対照群（Fv92-04）との多重比較を行った。その結果，L培地法において有意に収量が高いのは1菌株（012-b；p < 0.01）で，生産効率が高いのは別の1菌株（975-a；p < 0.05）だった。一方，L培地法で収量および生産効率が有意に低いのは1菌株（821-d；p < 0.01），生産効率が有意に低いのは2菌株が検出された（751-b；p < 0.05，821-e；p < 0.01）。なお，雑菌汚染が多発したL培地法2回目の試験は除外した。

4.　まとめ

野生型エノキタケ新品種開発を目指して，胞子混合液を用いたランダム交配菌株の作出と選抜を行った。本法で得られた185菌株をL培地法とC培地法で検討した結果，各菌株の特性を反映する収量や生産効率の分布にバラツキが見られ，様々な菌株が得られたことが示唆された。L培地法での栽培

第4表　ランダム交配菌株の栽培特性（3次選抜試験結果）

菌株	L培地法（カラマツ）					C培地法（スギ）				
	収量*1,2		生産効率*1,2		実施回*1	収量*1,2		生産効率*1,2		実施回*1
012−b	1.084	++	1.002		4th	1.006		1.013		4th
751−b	0.958		0.930	−	1st	1.237	++	1.244	++	1st
821−d	0.935	−,−	0.863	−,−	1st	1.246	++	1.249	++	1st
821−e	0.955		0.885	−,−	1st	1.215	++	1.244	++	1st
821−f	1.023		1.046		1st	1.239	++	1.256	++	1st
842−a	0.956		0.934		1st	1.322	++	1.389	++	1st
841−e	1.012		1.043		1st	1.179	++	1.211	++	1st
842−b	1.041		1.058		1st	1.296	++	1.329	++	1st
861−f	0.942		0.966		3rd	0.832	−,−	0.766	−,−	2nd
871−b	1.030		1.081		3rd	0.734	−,−	0.677	−,−	2nd
872−a	0.990		1.020		3rd	0.836	−,−	0.777	−,−	2nd
872−b	0.994		1.040		3rd	0.902		0.869	−,−	2nd
891−i	1.005		1.002		3rd	0.642	−,−	0.586	−,−	2nd
922−d	0.929		0.900		3rd	0.698	−,−	0.633	−,−	2nd
974−c	1.024		0.993		4th	0.991		0.992		4th
975−a	1.072		1.121	+	3rd	0.734	−,−	0.645	−,−	2nd

*1　栽培試験は4回実施し，それぞれの栽培試験で対照菌株（Fv92-04）に対する子実体収量（g/ビン）および生産効率（収量/栽培日数）の比を示した。
*2　数字の右側の記号は統計的有意差があることを示す。（Dunett法による多重比較，供試ビン数16本/菌株）
++:1 %の危険率で大きい，+:5 %の危険率で大きい，ー:5 %の危険率で小さい，-,-:1 %の危険率で小さい

特性（収量，生産効率）を主な指標とし，食味試験の評価を考慮して選抜を行った。対照菌株Fv92-04（えぞ雪の下）に対して， L培地法で栽培特性が有意に優れていたのは，2次選抜で3菌株，3次選抜で2菌株であり，それぞれ異なる菌株であった。

今後は，実生産に適した菌株を絞り込むため，これらを含む複数菌株を用いて，実際の生産現場で栽培試験を行う。

謝　辞

（一社）北海道林産技術普及協会の杉森紀和子氏，伊藤千穂氏，松下美恵子氏には，栽培試験全般の作業で大変お世話になりました。また食味試験では，多くの道総研林産試の職員にも協力していただきました。記して謝意とします。

5. 引用文献

1) 北海道水産林務部林業木材課：“北海道特用林産統計（令和元年）”，札幌，pp.1-25（2021）. https://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/rrm/04_mokusan/tokusantoukei.html
2) 中村公義：“最新バイオテクノロジー全書7 きのこの増殖と育種”，最新バイオテクノロジー全書編集委員会編，農業図書，東京，pp.246-248（1992）.
3) 今関六也，大谷吉雄，本郷次男：“増補改訂新版　山渓カラー名鑑日本のきのこ”，山と渓谷社，東京，pp.138-139（2011）.
4) 瀧澤南海雄：林産試だより，1991年4月号，1-3（1991）.
5) Yoneyama,S.,Gisusi,S.,Sato,M.,Watanabe,O.,：International Society for Mushroom Science Congress（Proceedings of ISMS）, 815-821（2012）.
6) 米山彰造：林産試だより，2012年1月号，2-3（2012）.
7) 北本豊：木材学会誌，52 (1), 1-7（2006）.
8) 金子周平：森林遺伝育種，2, 113-116（2013）.
9) 伊東英武，瀧澤南海雄，中村米松，押切靖：林産試験場報，3 (2), 18-25（1989）.
10) 米山彰造，佐藤真由美，宜寿次盛生，加藤幸浩，東智則：林産試験場報，544，41-47（2016）.
11) 農林水産省　輸出・国際局　知的財産課：“えのきたけ種，2017年12月”，農林水産省品種登録ホームページ，審査基準・特性表，2019年5月19日ダウンロード
12) 農林水産省　輸出・国際局　知的財産課：“えのきたけ種，2021年06月”，農林水産省品種登録ホームページ，審査基準・特性表，2021年8月3日ダウンロード http://www.hinshu2.maff.go.jp/info/sinsakijun/botanical_taxon.html
13) 古川秀子：“おいしさを測る－食品官能評価の実際－”，幸書房，東京，pp.5-6（1994）.

－利用部　微生物グループ－
－＊1：利用部　バイオマスグループ－
－＊2：森林研究本部　企画調整部企画グループ－
（原稿受理：2021.11.16）