

## 野生型エノキタケ新品種の開発 (第2報) 構成核由来単核系統を用いた菌株の作出と選抜

宜寿次 盛生, 米山 彰造, 吉野 (齋藤) 沙弥佳\*<sup>1</sup>, 東 智則,  
檜山 亮\*<sup>2</sup>, 津田 真由美\*<sup>3</sup>

### Development of new wild-type *Flammulina velutipes* varieties (II) Generation and selection of new strains using mononuclear mycelia derived from parental strain cells

Seiki GISUSI, Shozo YONEYAMA, Sayaka YOSHINO-SAITOH, Tomonori AZUMA,  
Ryo HIYAMA, Mayumi TSUDA

キーワード: エノキタケ, 育種, プロトプラスト, 分生子, ネオハプロント

#### 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<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>、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<sup>3)</sup>。北海道立総合研究機構林産試験場 (以下、林産試) が開発した<sup>4)</sup>、天然の形態・風味を有する野生型エノキタケは実生産に活用されている。北海道の統計上、野生型エノキタケは「えぞ雪の下」と呼ばれ、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<sup>1)</sup>。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、野生型エノキタケの機能性<sup>5,6)</sup>を高めた品種開発の要望がある。

前報<sup>7)</sup>では、孢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。本稿では、複核 (二核) 菌糸体からの構成単核 (一核) 菌糸体 (ネオハプロント) を用いた交配菌株の作出と選抜を行った結果を報告する。ネオハプロントを用いた交配菌株は、親菌株の特性を半分受け継ぐことが期待される。

まず、平成23年 (2011年; 以下「H23」のように記す) にネオハプロントを用いて作出した菌株群

の再検討を行い、H23に分離、継代保存しているネオハプロントから新たに作出した菌株群の栽培特性を検討した。続いて、新たに分生子由来およびプロトプラスト由来ネオハプロントから菌株を作出し選抜を行った。また、ネオハプロントとその交配菌株の特性改良を目的として、プロトプラストからの菌糸再生時に高温処理を試みた。

#### 2. 実験方法

##### 2.1 供試菌株および交配菌株の作製

###### 2.1.1 H23作出菌株の再検討

H23～25 (2011～2013) 年にプロトプラスト再生ネオハプロントと単孢子由来単核系統を交配して作出した菌株<sup>8)</sup>の栽培特性を再確認した。まず、H23～25 (2011～2013) 年の栽培試験データから収量を指標に正逆交配48菌株 (24組合せ) を選抜した (第1表)。

###### 2.1.2 H23分離構成核系統からの菌株作出

育種素材としての可能性を検討するため、継代保存しているH23年に分離したプロトプラスト由来のネオハプロントの交配能を確認した。

(1) HfpriFv92-04 (以下、Hfpriは省略してFv92-04のように記す) 自家交配試験

核A (第1表) を有するネオハプロント9系統 (PNA1～9) と核B (第1表) を有するネオハプロ

第1表 エノキタケ供試菌株

菌株	構成核*2(交配型)	細胞質由来*3	備考
Fv92-04	A (A1B1) + B (A2B2)	Fv92-04	交配菌株
Fv09-01	C (----) + D (----)	Fv09-01	野生菌株, 旭川市, 2009年
Fv82-03	J (A3B3) + K (A4B4)	Fv82-03	野生菌株, 旭川市, 1982年
H23作出株(Ajk)*1	A (A1B1) + 823# (----)	Fv92-04	3菌株; A45, A59, A87
H23作出株(jkA)*1	823# (----) + A (A1B1)	Fv82-03	3菌株; 45A, 59A, 87A
H23作出株(Bjk)*1	B (A2B2) + 823# (----)	Fv92-04	6菌株; B45, B60, B72, B81, B87, B93
H23作出株(jkB)*1	823# (----) + B (A2B2)	Fv82-03	6菌株; 45B, 60B, 72B, 81B, 87B, 93B
H23作出株(Jab)*1	J (A3B3) + 924# (----)	Fv82-03	1菌株; J23
H23作出株(abJ)*1	924# (----) + J (A3B3)	Fv92-04	1菌株; 23J
H23作出株(Kab)*1	K (A4B4) + 924# (----)	Fv82-03	10菌株; K06, K11, K15, K19, <b>K23</b> , K27, K29, K30, K37, K38
H23作出株(abK)*1	924# (----) + K (A4B4)	Fv92-04	10菌株; 06K, 11K, 15K, 19K, 23K, 27K, 29K, 30K, 37K, 38K
H23作出株(Acd)*1	A (A1B1) + 091# (----)	Fv92-04	3菌株; A50, A74, A80
H23作出株(cdA)*1	091# (----) + A (A1B1)	Fv09-01	3菌株; 50A, 74A, 80A
H23作出株(Dab)*1	D (----) + 924# (----)	Fv09-01	1菌株; D38
H23作出株(abD)*1	924# (----) + D (----)	Fv92-04	1菌株; 38D
H23作出株(AK)*1	A (A1B1) + K (A4B4)	Fv92-04	Fv92-04とFv82-03の構成核由来系統の交配菌株
H23作出株(KA)*1	K (A4B4) + A (A1B1)	Fv82-03	Fv92-04とFv82-03の構成核由来系統の交配菌株
E274	924#38 (A2B1) + K23#74 (A4B4)	Fv92-04	Fv92-04とFv82-03の交配菌株K23にFv92-04を戻し交配した
E704	K23#04 (A4B4) + 924#38 (A2B1)	Fv82-03	Fv92-04とFv82-03の交配菌株K23にFv92-04を戻し交配した

\*1: ( )は交配株の構成核概略; 英大文字は親菌株の構成核, 英小2文字は親菌株の単孢子由来核  
 \*2: 英大文字は菌株を構成する2核の名称, 細胞質側由来の核(交配型) + 逆側の核(交配型)  
 \*3: 菌株の細胞質

ント9系統 (PNB1~9) で第2表(1)に示す9組み合わせの交配試験を行った。各組み合わせにつき9cmシャーレのPDA培地上に約5mm間隔で2組を対峙させ接種した。両菌叢が接触後, 菌叢外周部を検鏡してクランプの有無を確認した。クランプを確認した箇所から新たなPDA培地に分離, 培養後, 再度検鏡してクランプを確認し交配菌株を得た。

(2) Fv92-04ネオハプロント×Fv82-03 ネオハプロント交配試験

核Aを有するネオハプロント10系統と核K(第1表)を有するネオハプロント9系統(PNK1~9)で第2表(2)に示す18組み合わせの交配試験を行った。(1)と同様に対峙培養しクランプを確認した。各接種源側それぞれの菌叢外周でクランプ確認および分離を行い, 細胞質が異なる菌株として正逆交配菌株とした。交配菌株名は, 細胞質側の系統を先に逆側の系統を後にして命名した。(例: PNA1とPNK2を対峙接種, PNA1側から分離した菌株名はA1K2, 逆のPNK2側から分離した菌株はK2A1)

2.1.3 分生子由来ネオハプロント交配試験

育種素材としての可能性を検討するため, エノ

第2表 H23分離ネオハプロントの交配試験

(1) Fv92-04自家交配試験

	PNA1	PNA2	PNA3	PNA4	PNA5	PNA6	PNA7	PNA8	PNA9	PNA10
PNB1	A1B1									
PNB2		A2B2								
PNB3			A3B3							
PNB4				A4B4						
PNB5					A5B5					
PNB6						A6B6				
PNB7							A7B7			
PNB8								A8B8		
PNB9									A9B9	

(2) Fv92-04 PNAシリーズ×Fv82-03 PNKシリーズ交配試験

	PNA1	PNA2	PNA3	PNA4	PNA5	PNA6	PNA7	PNA8	PNA9	PNA10
PNK1	A1K1	A2K1	A3K1							A10K1
	K1A1	K1A2	K1A3							K1A10
PNK2	A1K2	A2K2	A3K2							A10K2
	K2A1	K2A2	K2A3							K2A10
PNK3	A1K3	A2K3	A3K3							A10K3
	K3A1	K3A2	K3A3							K3A10
PNK4				A4K4						
				K4A4						
PNK5					A5K5					
					K5A5					
PNK6						A6K6				
						K6A6				
PNK7							A7K7			
							K7A7			
PNK8								A8K8		
								K8A8		
PNK9									A9K9	
									K9A9	

□: 交配で得られた菌株  
 □: 菌株が得られなかった(交配試験でクランプが確認できなかった)  
 空欄は交配試験を行っていない

キタケ培養菌糸コロニーに形成される分生子を採取し、その核相（単核、複核）および交配型を確認した。

Fv92-04をPDA薄片（1×2×1 mm程度）に接種、室温で29日培養後、検鏡して分生子の形成を確認した。シャーレに滅菌蒸留水を1mL加え、ピペティングを行い、分生子を含む液を回収した。検鏡して分生子の存在を確認したのち、計数せずに希釈系列を作製し、各々PDAに播種した。再生してきたシングルコロニーを採取、それぞれ新たなPDAで培養し、検鏡してクランプの有無を確認した。クランプを形成しない分離系統の菌糸を用い、すべての組み合わせで交配試験を行い、クランプの有無を確認し交配菌株を得た。また、H23年分離ネオハプロント（2.1.2 参照）をテスターに交配型の確認を行った。

#### 2.1.4 プロトプラスト分離単核系統の取得

供試菌株は、Fv92-04, Fv09-01, E274, E704を用いた（第1表）。

まず、各菌株をMYG液体培地にて4日間培養後、Yatalase消化処理（2%, 30°C, 2-3時間）によりプロトプラストを調製した。検鏡してプロトプラストを確認したのち、計数せずに希釈系列を作製し、各々PDAに播種した。

播種したPDAは、24°Cと32°C、24°C一晚培養後に32°Cの変温処理（以下「24°C⇒32°C」）の3条件下で管理した。再生してきたシングルコロニーを採取、それぞれ新たなPDAで培養し、検鏡してクランプの有無を確認した。クランプを形成しない分離系統の菌糸を用い、交配型の確認を行った。

## 2.2 栽培試験と選抜

### 2.2.1 種菌の作製

2.1の菌株をそれぞれ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、ビン全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のほか、E274およびE704を供試した。

### 2.2.2 栽培方法および食味試験

道総研林産試における野生型エノキタケの標準的な方法（L培地法）<sup>7)</sup>および品種登録栽培法（C培地法）<sup>7)</sup>に準じて栽培試験を行った。また食味試験も前報<sup>7)</sup>に準じて行った。

### 2.2.3 選抜

1次選抜は、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、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。

## 2.3 統計解析

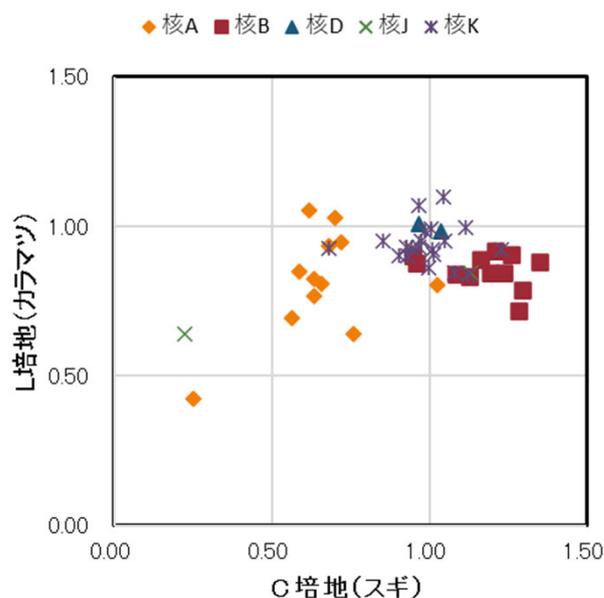
「エクセル統計2015」（社会情報サービスベルカーブグループ）を用い、前報<sup>7)</sup>に準じて解析を行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 H23作出菌株の再選抜と栽培特性

#### 3.1.1 栽培試験1回目および2回目

対照（Fv92-04）に比べL培地で収量が高いのは5菌株（38K, K38, A80, 80A, 38D）で、C培地では対照に比べ収量が高いのは23菌株で、Fv92-04の構成核Bを有する菌株が多かった（第1図）。正逆交配菌株間で収量を比較すると、各組み合わせそれぞれ正逆で収量差が見られたが、正逆の優劣について共通する傾向は認められなかった（データは示していない）。また、正逆でのL培地とC培地の収量について、24組み合わせ中11組み合わせで



第1図 H23作出菌株から再選抜した48菌株の栽培試験結果(収量比)の分布

第3表A H23作出菌株の栽培特性 (対照Fv92-04との相対比)

菌株	1回目の結果(第1回)				2回目の結果				3回目(2次選抜)の結果			
	L培地(カラマツ) n=4		C培地(スギ) n=4		L培地(カラマツ) n=4		C培地(スギ) n=4		L培地(カラマツ) n=8		C培地(スギ) n=8	
	収量比*1	生産効率比*1	収量比*1	生産効率比*1	収量比*1	生産効率比*1	収量比*1	生産効率比*1	収量比*1,2	生産効率比*1,2	収量比*1,2	生産効率比*1,2
K30	0.984	1.130	0.988	1.190	0.792	0.943	0.713	0.927				
30K	0.995	1.059	1.117	1.285	0.998	1.068	1.060	1.201				
K37	0.994	1.058	1.004	1.007	0.972	1.047	0.952	1.079				
37K	0.950	1.005	0.854	0.846								
38K	1.098	1.184	1.044	1.099	1.112	1.205	0.947	1.098	1.318	++	1.520	++
K38	1.071	1.140	0.966	1.008	1.159	1.272	0.921	1.068	1.173	++	1.273	++
A80	1.054	1.072	0.619	0.607	1.173	1.202	0.666	0.701	1.209	++	1.459	++
80A	1.028	1.053	0.702	0.690	1.144	1.201	0.763	0.809	0.921		1.011	
D38	0.983	1.039	1.039	1.033	1.104	1.131	0.518	0.489	1.056		1.127	
38D	1.007	1.006	0.968	0.931	1.080	1.120	0.723	0.667	1.048		1.114	
E274					0.956	1.037	0.941	1.126	1.135		1.308	++
E704					1.068	1.188	0.983	1.179	1.251	++	1.289	++
Fv92-04(対照)	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
収量(g/ビン)	140.9	5.94	92.0	22.21	141.3	11.92	126.4	6.11	111.3	14.16	69.2	36.02
栽培日数	40	0.7	58	1.3	42	0.0	51	0.0	51	1.9	63	2.3
供試ビン数n	9		7		9		9		12		11	

\*1 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 ++:危険率1%で有意に大きいことを示す(Dunnett法による多重比較, 供試ビン数8本/菌株)

第3表B H23作出菌株の食味評価試験結果

菌株	対照菌株	食味評価試験(評価値1~5の平均値)			
		Q1 かたさ	Q2 食感好	Q3 味濃さ	Q4 味好
38K	E274	2.64	2.91	3.00	3.18
K38	E274	2.91	3.09	2.91	3.00
A80	E704	2.75	2.92	2.58	2.83
80A	E704	2.58	3.00	2.58	2.75
D38	E704	3.00	2.75	2.75	2.83
38D	E704	3.25	3.17	2.83	2.83

対照と比較して5段階で評価した。評価結果は下記例の

値(5, 4, 3, 2, 1)に変換して平均値を求めた。

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

□ : >3.00 □ : <3.00

優劣の傾向が一致しなかった(データは示していない)。

L培地で比較的収量が高い9菌株(30K, K30, K37, 38K, K38, A80, 80A, 38D, D38)にE274とE704を加え再度栽培試験を行った(第3表)。これらは各正逆交配株間では収量差が小さく栽培特性が近いと考えられた。2回の試験で対照菌株(Fv92-04)に比べL培地で収量が高かった6菌株(38K, K38, A80, 80A, D38, 38D)およびE274とE704を選抜し次の試験に供した。

### 3.1.2 2次選抜試験(第3表A)

1, 2回目の栽培試験に比べ, 対照(Fv92-04)はL培地, C培地とも栽培日数が長く, 収量が低かった。種菌の影響が考えられるが原因は不明である。

Fv92-04を対照群として多重比較を行った結果,

L培地において有意に収量が高い3菌株が検出された(38K, K38, A80;  $p < 0.01$ )。一方, E704を対照群として多重比較を行った結果, L培地においてFv92-04のほか3菌株が有意に収量および生産効率が低かった(データは示していない)。

食味試験の対照菌株は, 栽培日数の関係でE704またはE274とした(第3表B)。

客観評価である「Q1かたさ」について, 38Dが対照E704よりかたく, D38が同等, 他の4菌株はかたかないという評価だった。「Q3味の濃さ」について, 38Kが対照E274と同等で, 他5菌株は対照より濃くない評価であった。主観評価である「Q2食感の良否」について, 対照より良いのは38D(対照E704)とK38(対照E274)の2菌株だった。80Aは対照E704と同等で, 他3菌株は対照より良くない評価であった。「Q4味の良否」について, 38Kが対照E274より良く, K38が対照E274と同等で, 他4菌株は対照より良くない評価であった。

6菌株の全データを用いて, 4項目(Q1かたさ, Q2食感の良否, Q3味の濃さ, Q4味の良否)間の相関係数を求めた。前報<sup>7)</sup>と同様に「Q3味の濃さとQ4味の良さ」間で有意な相関が認められた(相関係数0.8587,  $p < 0.05$ )が, 「Q1かたさとQ2食感の良否」間では相関が認められなかった(相関係数0.3416)。

栽培特性と食味試験の結果を考慮して, H23作出菌株から38K, K38, A80の3菌株と対照に用いたE274およびE704を次の選抜候補とした。

### 3.2 H23分離ネオハプロントから作出した菌株の栽培特性

#### 3.2.1 交配試験（第2表）

Fv92-04自家交配9組み合わせの内7菌株が得られた。Fv92-04 PNAシリーズ×Fv82-03 PNKシリーズ交配正逆36組み合わせの内29菌株が得られた。1組み合わせしか供試していない「PNB1」と「PNB3」は交配が確認できなかったが、他の単核系統は交配能を有していた。ただし交配できない組み合わせがあり、長期保管の影響等で交配能が低下（劣化）している可能性が示された。

#### 3.2.2 栽培特性（第4表）

##### (1) Fv92-04自家交配菌株

雑菌汚染のため菌糸蔓延しなかった1菌株を除き他の6菌株は26～34日で菌糸蔓延した。菌糸蔓延後、順次菌掻き処理を行ったが、すべて子実体の発生は見られず49日で試験を終了した。

##### (2) Fv92-04 ネオハプロント×Fv82-03 ネオハプロント交配菌株

3.2.1で得られた29菌株のうち、L培地で26菌株、C培地では24菌株で子実体を得られた。収量は菌株間差（バラツキ）が大きく、対照のKAが最も高かった。長期間保存した単核菌糸を新たに交配し

た場合、交配能の低下に加え、得られた菌株群の収量性も低下すると考えられる。また、Fv82-03由来の細胞質を有する菌株群が比較的高収量で栽培日数が短くなり生産効率が高かった。

### 3.3 分生子由来ネオハプロントから作出した交配菌株の栽培特性

#### 3.3.1 分生子の分離と交配型の確認

Fv92-04培養菌糸のコロニーに形成された分生子20個体中12個体はクランプを形成し複核菌糸と判断した。クランプを形成しない8系統を総当たり交配した結果、4系統ずつ2グループに分かれた。3.2.1の結果から選んだ6系統のテスターで検定したが、第5表に示すように、供試した12組合せ中クランプ形成が確認できたのはPNB6とcm01の1組のみであった。供試した6系統はいずれも3.2.1でクランプを形成した（第2表）が、あらためて交配能低下（劣化）の可能性が示唆された。他の組合せで精査する必要があるが、分生子由来ネオハプロントの交配型は以下と判断し、以降はこれらを交配型因子テスターとした。

交配型因子A1B1：cm01, cm15, cm16, cm19

交配型因子A2B2：cm09, cm10, cm12, cm20

第4表 H23分離ネオハプロントから作出した菌株の栽培特性(対照Fv92-04との相対比)

(1)Fv92-04自家交配菌株				(2)Fv92-04 ネオハプロント×Fv82-03 ネオハプロント交配菌株					
菌株	L培地(カラマツ) n=4		C培地(スギ) n=4		菌株	L培地(カラマツ) n=4		C培地(スギ) n=4	
	収量比	生産効率比	収量比	生産効率比		収量比 <sup>*1</sup>	生産効率比 <sup>*1</sup>	収量比 <sup>*1</sup>	生産効率比 <sup>*1</sup>
A1B1	No Crossed strain <sup>*2</sup>				A1K1	No Crossed strain <sup>*2</sup>			
					A1K2	0.840	0.889	0.717	0.710
					A1K3	0.693	0.710	0.805	0.875
					A2K1	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>	
A2B2	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>		A2K2	0.892	0.940	0.798	0.812
					A2K3	0.733	0.714	0.492	0.459
					A3K1	No Crossed strain <sup>*2</sup>			
					A3K2	0.093	0.078	No Fruitbody <sup>*3</sup>	
A3B3	No Crossed strain <sup>*2</sup>				A3K3	0.628	0.647	0.831	0.834
A4B4	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>		A4K4	No Fruitbody <sup>*3</sup>			
A5B5	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>		A5K5	0.942	1.017	0.847	0.877
A6B6	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>		A6K6	0.944	0.999	0.793	0.772
A7B7	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>		A7K7	0.896	0.924	0.724	0.750
A8B8	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>		A8K8	0.795	0.789	0.671	0.645
A9B9	No Fruitbody <sup>*3</sup>		No Fruitbody <sup>*3</sup>		A9K9	0.139	0.121	0.093	0.073
					A10K1	No Crossed strain <sup>*2</sup>			
					A10K2	0.320	0.301	0.313	0.243
					A10K3	0.637	0.674	0.800	0.896
					AK	0.926	0.993	0.920	0.936
					K1A1	No Crossed strain <sup>*2</sup>			
					K2A1	0.837	0.858	0.552	0.521
					K3A1	0.815	0.964	1.015	1.242
					K1A2	No Fruitbody <sup>*3</sup>			
					K2A2	0.950	1.019	0.742	0.735
					K3A2	0.825	1.020	0.976	1.220
					K1A3	No Crossed strain <sup>*2</sup>			
					K2A3	0.660	0.676	0.170	0.165
					K3A3	0.897	1.054	0.875	0.988
					K4A4	No Crossed strain <sup>*2</sup>			
					K5A5	0.957	1.013	0.786	0.782
					K6A6	0.926	1.000	0.808	0.804
					K7A7	0.924	1.025	0.727	0.798
					K8A8	0.721	0.699	0.552	0.521
					K9A9	0.040	0.031	No Fruitbody <sup>*3</sup>	
					K1A10	No Crossed strain <sup>*2</sup>			
					K2A10	0.361	0.344	0.289	0.241
					K3A10	0.874	1.065	0.964	1.219
					KA	1.025	1.231	0.804	0.947
					Fv92-04(対照)	平均	標準偏差	平均	標準偏差
					収量(g/ビン)	145.9	6.87	96.7	10.54
					栽培日数	40	0.4	56	0.8
					供試ビン数 n	14		18	

\*1 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 No Crossed strain：交配菌株が得られなかった

\*3 No Fruitbody：栽培試験で子実体が発生しなかった

### 3.3.2 栽培特性

第2図に得られた自家交配16菌株（4系統×4系統）の栽培試験結果を示した。L培地，C培地とも元菌株Fv92-04と同等で，培地間の相関はなくランダムに分布した。

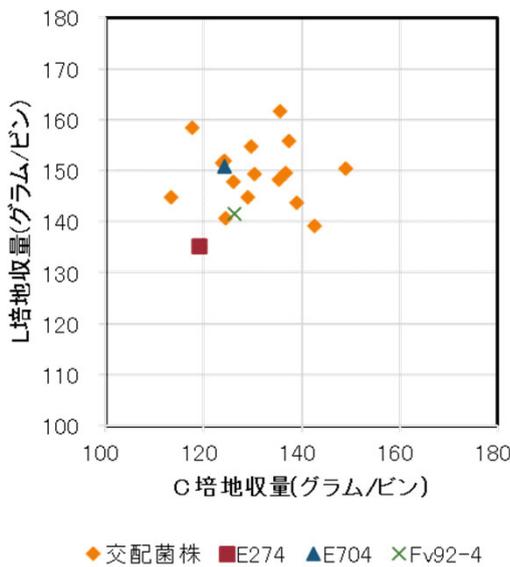
第5表 Fv92-04分生子由来ネオハプロントの交配試験結果

供試系統	テスターとその交配型					
	PNA5	PNA6	PNA9	PNB5	PNB6	PNB9
	A1B1			A2B2		
cm01	×	×	×	×	○	×
cm09	×	×	×	×	×	×

○: クランプ形成、×: クランプ無し

テスターはH23分離構成核系統(第2表参照)

cm01とcm09はFv92-04から分離した交配型が異なる単核系統



第2図 分生子由来ネオハプロントを再交配して得られた16菌株の栽培試験結果(収量)の分布

### 3.4 プロトプラスト分離ネオハプロントの取得と交配菌株の作出

#### 3.4.1 Fv92-04プロトプラスト由来ネオハプロントの交配型

24°Cで再生したプロトプラスト由来菌糸を38個体得た。クランプが認められた7個体を除く31個体をテスター（3.3.1）と交配試験を行った結果を第6表Aに示す。交配型因子A1B1が17系統，A2B2が6系統と偏りがみられた。両方に交配可能な2系統，両方に交配できない6系統を合わせた26%（8個体/31）は，比較的遅く再生してきた個体で交配型因子の変異が示唆された。

32°C処理では40個体得られ，36個体にクランプが認められた。残り4個体は，両方に交配可能な1系統，両方に交配できない3系統で，交配型因子の変異が示唆された。

#### 3.4.2 E274プロトプラスト由来ネオハプロントの交配型

24°C⇒32°Cおよび32°C処理では全く再生してこなかったが，24°C処理で24個体得た。クランプが認められない23系統から無作為抽出した5系統の総当たり交配試験の結果，274p01はいずれとも交配しなかったが，2系統ずつの2組に分かれた。E274を構成する核の交配型は，A2B1とA4B4である（第1表）。そこで交配型を推定するため，テスター（cm01；交配型A1B1，cm09；交配型A2B2）と交配試験を行った。また，274p02～274p05の4系統をテスターとして，残り18系統と交配試験を行った。テスター

第6表A エノキタケFv92-04のプロトプラスト由来ネオハプロントの交配試験結果

供試系統	テスターと交配型		供試系統	テスターと交配型		供試系統	テスターと交配型		供試系統	テスターと交配型	
	cm15	cm10		cm16	cm12		cm19	cm20		cm19	cm20
	A1B1	A2B2		A1B1	A2B2		A1B1	A2B2		A1B1	A2B2
pm02	×	○	pm12	×	○	pm29	×	×	pmH05	×	×
pm03	×	○	pm13	×	○	pm30	×	○	pmH07	×	×
pm04	○	×	pm14	×	○	pm31	×	×	pmH09	×	×
pm05	×	○	pm16	×	○	pm32	×	×	pmH22	○	○
pm06	×	○	pm17	○	×	pm33	×	○			
pm07	×	○	pm21	×	○	pm34	○	○			
pm08	○	×	pm22	×	○	pm36	×	○			
pm09	×	○	pm23	×	○	pm37	×	×			
pm10	○	×	pm26	×	○	pm38	×	×			
pm11	○	×	pm27	○	×	pm39	×	×			
						pm41	○	○			

○: クランプ形成、×: クランプ無し

テスターはFv92-04分生子由来ネオハプロント(本文3.3.1参照)

pm02～pm41の21系統は24°C，pmH05～pmH22の4系統は32°Cで再生・分離した。

cm01およびcm09の両方とクランプを形成した274p03の交配型はA4B4、両方とクランプを形成しない274p05の交配型はA2B1と判断した（第6表B）。同様に判断すると23系統の内訳は、交配型因子A2B1が7系統、A4B4が9系統となった。また、両方に交配可能なのが3系統、両方に交配できないのが3系統で、26%（6個体/23）は交配型因子の変異が示唆された。

### 3.4.3 E704プロトプラスト由来ネオハプロントの交配型

24°C処理で得られた76個体中、クランプが認められない64系統から無作為抽出した5系統の総当たり交配試験の結果、3系統（704p02, 704p03, 704p06）と2系統（704p04, 704p05）の2組に分かれた（第6表C1）。

次に、704p02～704p05の4系統をテスターに、24°C⇒32°C処理および32°C処理で得られた系統の交配試験を行った（第6表C2）。24°C⇒32°C処理では40個体得られ、9個体にクランプが認められた。残り31系統（704pH01～704pH40）は、片方に交配可能なのが22系統および2系統と偏りがみられ、両方に交配可能なのが4系統、両方に交配できないのが3系統で、22%（7個体/31）は交配型因子の変異が示唆された。32°C処理では40個体が得られ、7個

体にクランプが認められた。残り33系統（704pH42～704pH80）は、片方に交配可能なのが23系統および4系統と偏りがみられ、両方に交配可能なのが4系統、両方に交配できないのが2系統で、18%（6個体/33）は交配型因子の変異が示唆された。

E704を構成する核の交配型はE274と同様、A4B4とA2B1である（第1表）。そこで交配型を推定するため3.4.2と同様に、テスター（cm01；交配型A1B1, cm09；交配型A2B2）と交配試験を行った（第6表C2）。E704由来でテスターに用いた2系統（24°C処理）では704p02とcm09の組合せのみで交配が確認された。24°C⇒32°C処理での再生系統では交配型が異なる2系統ずつの4系統を供試したが、同じ交配型であるはずの704pH15では両方と交配できず、704pH30では両方と交配可能で矛盾する結果となった。32°C処理での再生系統では交配型が異なる4系統ずつの8系統を供試したが、704pH51とcm01の組合せのみで交配が確認された。今回用いた分生子由来のテスターが1系統ずつであったことと、供試した14系統中12系統が高温処理したもので交配型因子が変異している可能性があり、明確な結果を得られなかった。分生子由来のテスターを2系統ずつに増やし、24°C再生ネオハプロントを供試して検討する必要がある。

第6表B エノキタケE274のプロトプラストから24°Cで再生したネオハプロントの交配試験結果

供試系統	想定される交配型	テスターと交配型				供試系統	想定される交配型	テスターと交配型	
		274p02 仮274p02	274p04 仮274p04	cm01 A1B1	cm09 A2B2			274p03 仮274p02	274p05 仮274p04
274p01		×	×				○	○	
274p02	A4B4		○		274p13		○	○	
274p03	A4B4	×	○	○	274p15	A2B1	○	×	
274p04	A2B1	○		○	274p16	A2B1	○	×	
274p05	A2B1	○	×	×	274p17		×	×	
274p06	A4B4	×	○		274p18		×	×	
274p07	A2B1	○	×		274p19	A2B1	○	×	
274p08	A2B1	○	×		274p20	A4B4	×	○	
274p09	A2B1	○	×		274p21		○	○	
274p10	A4B4	×	○		274p22	A4B4	×	○	
274p11		○	○		274p23	A4B4	×	○	
274p12	A4B4	×	○		274p24	A4B4	×	○	

○:クランプ形成、×:クランプ無し、空欄は未検討 ■:交配型因子が想定できない系統  
 テスター274p02および274p04はE274プロトプラスト24°C再生ネオハプロント  
 テスターcm01およびcm09はFv92-04分生子由来ネオハプロント(本文3.3.1参照)  
 24°C一晚⇒32°C、および32°Cでは再生菌糸が得られなかった。  
 □は栽培特性を評価した菌株(本文3.5.1参照)

第6表C1 エノキタケE704のプロトプラストから24°Cで再生したネオハプロントの自家交配試験結果

	704p03	704p04	704p05	704p06	cm01 A1B1	cm09 A2B2
704p02	×	○	○	×	×	○
704p03	■	○	○	×	■	■
704p04	■	■	×	○	×	×
704p05	■	■	■	○	■	■

○:クランプ形成、×:クランプ無し

第6表C2 エノキタケE704のプロトプラストから32°Cで再生したネオハプロントの交配試験結果

供試系統	テスターと交配型				供試系統	テスターと交配型				供試系統	テスターと交配型				テスターと仮交配型		
	704p02 仮704p02	704p04 仮704p04	cm01 A1B1	cm09 A2B2		704p03 仮704p02	704p05 仮704p04	cm01 A1B1	cm09 A2B2		704p03 仮704p02	704p05 仮704p04	cm01 A1B1	cm09 A2B2	704p02 仮704p02	704p04 仮704p04	
704pH01	×	○			704pH27	×	×			704pH42	×	○	×	×	704pH68	×	○
704pH03	○	○			704pH29	×	×			704pH43	○	×	×	×	704pH69	×	○
704pH05	×	○			704pH30	○	×	○	○	704pH44	○	×	×	×	704pH70	×	○
704pH06	×	○			704pH31	×	○	×	○	704pH46	×	○	×	×	704pH71	×	○
704pH08	×	○			704pH33	○	○			704pH48	×	○	×	×	704pH72	×	○
704pH11	×	○			704pH34	×	○			704pH49	○	×	×	×	704pH73	×	○
704pH12	×	○			704pH35	×	○			704pH50	×	○	×	×	704pH74	×	○
704pH13	×	○			704pH36	×	○			704pH51	○	×	○	×	704pH75	×	○
704pH14	×	○	○	×	704pH37	×	○			704pH52	○	○			704pH76	×	○
704pH15	○	×	×	×	704pH39	×	○			704pH56	○	○			704pH77	×	×
704pH16	×	○			704pH40	×	○			704pH57	○	○			704pH78	×	○
704pH17	×	○								704pH58	○	○			704pH79	×	○
704pH18	×	○								704pH60	×	○			704pH80	×	○
704pH20	×	○								704pH61	×	○					
704pH21	×	○								704pH62	×	○					
704pH22	×	×								704pH63	×	○					
704pH23	○	○								704pH64	×	○					
704pH24	×	○								704pH65	×	○					
704pH25	×	○								704pH66	×	×					
704pH26	○	○								704pH67	×	○					

○:クランプ形成、×:クランプ無し、空欄は未検討 ■:交配型因子が想定できない系統  
 交配型は「A2B1とA4B4」が想定されるが仮とした。

テスターcm01およびcm09はFv92-04分生子由来ネオハプロント(本文3.3.1参照)

704pH01~704pH40の31系統は24°C一晚⇒32°Cで再生・分離した。

704pH42~704pH80の33系統は32°Cで再生・分離した。

□は栽培特性を評価した菌株(本文3.5.1および3.5.2参照)

### 3.4.4 Fv09-01プロトプラスト由来ネオハプロントの交配型

24°C処理で得られた15個体中10個体にクランプが認められた。また32°C処理で得られた26個体中25個体にクランプが認められた。H23分離ネオハプロント(PNC1~PNC10; 交配型A5B5, PND1~PND6; 交配型A6B6)をテスターとして残りのネオハプロント6個体と交配試験を行った。091p08は交配型A5B5と判断されたが他の組合せは全てクランプが認められ、テスターの変異が示唆された(第6表D)。

### 3.4.5 ネオハプロント再生菌糸へ与える高温処理の影響

以上の結果をまとめて第6表Eに示した。再生温度を高温(32°C)にすると、単核菌糸に比べ複核菌糸が増える傾向が見られた(Fv92-04の24°C; 18%, Fv92-04の32°C; 90%, Fv09-01の24°C; 67%, Fv09-01の32°C; 96%)。一方, E274では高温処理では再生菌糸が得られず, E704では再生温度によっても複核菌糸が得られる割合に違いは見られ

なかった(24°C; 18%, 24°C⇒32°C; 23%, 32°C; 18%)。

第6表D エノキタケFv09-01のプロトプラストから再生したネオハプロントの交配試験結果

供試系統	テスターと交配型					
	PNC7 A5B5	PNC10 A5B5	PND1 A6B6	PND4 A6B6	cm10 A1B1	cm15 A2B2
091p04	○	○	○	○	○	○
091p05	○	○	○	○	○	○
供試系統	テスターと交配型					
	PNC8 A5B5	PNC1 A5B5	PND2 A6B6	PND5 A6B6	cm12 A1B1	cm16 A2B2
091p06	○	○	○	○	○	○
091p08	×	×	○	○	○	○
供試系統	テスターと交配型					
	PNC9 A5B5	PNC2 A5B5	PND3 A6B6	PND6 A6B6	cm19 A1B1	cm20 A2B2
091p09	○	○	○	○	○	○
091pH	○	○	○	○	○	○

○:クランプ形成、×:クランプ無し

テスターPNC1~PND6はH23分離ネオハプロント

テスターcm01およびcm09はFv92-04分生子由来ネオハプロント(本文3.3.1参照)

□は栽培特性を評価した菌株(本文3.5.3参照)

第6表E エノキタケのネオハプロント再生菌系のまとめ

元菌株 Fv92-04 再生温度 24°C		元菌株 Fv92-04 再生温度 24°C 32°C		元菌株 E274 再生温度 24°C	元菌株 E704 再生温度 24°C 24⇒32°C 32°C			元菌株 Fv09-01 再生温度 24°C 32°C					
【参考】分生子													
交配型: A1B1	4	交配型: A1B1	17	0	交配型: A2B1	10	交配型: 仮 704p02	3	22	26	交配型: A5B5	1	0
交配型: A2B2	4	交配型: A2B2	6	0	交配型: A4B4	7	交配型: 仮 704p04	2	2	1	交配型: A6B6	0	0
両方に交配可	0	両方に交配可	2	1	両方に交配可	2	両方に交配可	0	4	4	両方に交配可	4	1
交配不可	0	交配不可	6	3	交配不可	4	交配不可	0	3	2	交配不可	0	0
交配型確認計	8	交配型確認計	31	4	交配型確認計	23	交配型確認計	5	31	33	交配型確認計	5	1
交配型未確認計	0	交配型未確認計	0	0	交配型未確認計	0	交配型未確認計	57	0	0	交配型未確認計	0	0
単核系統合計	8	単核系統合計	31	4	単核系統合計	23	単核系統合計	62	31	33	単核系統合計	5	1
複核菌株合計	12	複核菌株合計	7	36	複核菌株合計	1	複核菌株合計	14	9	7	複核菌株合計	10	25
合計	20	合計	38	40	合計	24	合計	76	40	40	合計	15	26

### 3.5 プロトプラスト由来ネオハプロントおよび分生子由来ネオハプロントから作出した交配菌株の栽培特性

#### 3.5.1 プロトプラスト由来交配株の栽培試験その1

##### (1) 対照菌株

Fv92-04はL培地の収量（166.5 g/ビン）が高く、C培地の収量（89.8 g/ビン）が低かった。

##### (2) Fv92-04分生子×E274由来

L培地では対照菌株Fv92-04に対して、6菌株中4菌株は有意に収量が低く、B06c（PNB6×cm01）とc06B（cm01×PNB6）はC培地でも有意に収量が低かった。一方、c01p（cm01×274p03）とp01c（274p03×cm01）では比較的収量低下が小さく、H23分離ネオハプロント（PNB6）の劣化の影響が示唆された（第7表A）。

##### (3) E704×E704高温再生

12菌株中、H14pとH49pの2菌株はL培地で対照菌株Fv92-04に比べ有意に収量が低かった（第7表A）。一方、C培地では全ての菌株で収量が有意に高かった。L培地で比較的高収量の3菌株（H42p, H44p, H51p）のほか2菌株（H14p, H30p）を選抜した。

#### 3.5.2 プロトプラスト由来交配株の栽培試験その2

##### (1) 対照菌株（第7表B）

Fv92-04はL培地の収量（111.3g/ビン）、およびC培地の収量（69.2g/ビン）とも低かった。E704はL培地の収量（139.2g/ビン）はやや低く、C培地の収量（125.0g/ビン）は高かった。

##### (2) Fv92-04分生子×E704高温再生（第7表B）

対照菌株Fv92-04に対して、L培地では10菌株中8菌株で有意に収量が高く、9菌株で生産効率が高かった。C培地では10菌株中7菌株で収量および生産効率が有意に高かった。

第7表A プロトプラスト由来および分生子由来ネオハプロントから作出した交配菌株の栽培特性

構成単核系統	菌株	L培地(カラマツ)		C培地(スギ)	
		収量比	生産効率比	収量比	生産効率比
cm01 × 274p03	c01p	0.893	0.904	0.982	0.947
274p03 × cm01	p01c	0.878	0.864	0.438	0.355
cm09 × 274p03	c09p	0.741	0.864	1.272	1.669
274p03 × cm09	p09c	0.719	0.838	1.299	1.781
PNB6 × cm01	B06c	0.367	0.315	0.292	0.260
cm01 × PNB6	c06B	0.554	0.518	0.364	0.325
704pH14 × 704p04	H14p	0.803	0.836	1.390	1.776
704pH15 × 704p02	H15p	0.884	0.915	1.558	2.054
704pH30 × 704p03	H30p	0.897	0.912	1.397	1.862
704pH31 × 704p05	H31p	0.890	0.956	1.484	1.978
704pH42 × 704p05	H42p	0.957	1.020	1.549	2.021
704pH43 × 704p03	H43p	0.893	0.952	1.466	1.945
704pH44 × 704p03	H44p	0.901	0.891	1.505	1.964
704pH46 × 704p05	H46p	0.900	0.990	1.575	2.100
704pH48 × 704p05	H48p	0.872	0.935	1.484	1.947
704pH49 × 704p03	H49p	0.869	0.968	1.480	1.921
704pH50 × 704p05	H50p	0.882	0.958	1.458	1.892
704pH51 × 704p03	H51p	0.903	0.909	1.447	1.849
E274		0.816	0.898	1.345	1.760
E704		0.915	1.016	1.403	1.826
Fv92-04(対照)	平均		標準偏差	平均	標準偏差
収量(g/ビン)	166.5		6.44	89.8	15.84
栽培日数	44		1.5	61	3.1
供試ビン数 n	8			9	

：選抜した菌株

第7表B プロトプラスト由来系統および分生子由来ネオハプロントから作出した交配菌株の栽培特性

構成単核系統	菌株	L培地(カラマツ)		C培地(スギ)	
		収量比	生産効率比	収量比	生産効率比
cm01 × 704pH14	c01H14	1.346	1.548	1.406	1.429
704pH14 × cm01	H14c01	1.186	1.379	1.601	1.949
cm01 × 704pH30	c01H30	1.315	1.529	1.634	1.701
704pH30 × cm01	H30c01	1.232	1.386	1.849	2.230
cm01 × 704pH51	c01H51	1.348	1.532	1.407	1.453
704pH51 × cm01	H51c01	1.202	1.292	1.356	1.345
cm09 × 704pH30	c09H30	1.351	1.486	1.710	1.788
704pH30 × cm09	H30c09	1.239	1.370	1.905	2.297
cm09 × 704pH31	c09H31	1.098	1.215	1.755	2.157
704pH31 × cm09	H31c09	1.054	1.219	1.902	2.338
cm19 × pmH22	c19H22	1.169	1.293	1.302	1.323
pmH22 × cm19	H22c19	1.018	1.052	1.524	1.555
cm20 × pmH22	c20H22	1.213	1.334	1.569	1.627
pmH22 × cm20	H22c20	1.012	1.046	1.206	1.221
	E274	1.135	1.170	1.854	2.307
	E704	1.251	1.442	1.807	2.075
Fv92-04(対照)	平均		標準偏差	平均	標準偏差
収量(g/ビン)	111.3		14.16	69.2	36.02
栽培日数	51		1.9	63	2.3
供試ビン数 n	12			11	

：選抜した菌株

対照菌株E704に対しては、L培地では10菌株中1菌株H31c09 (704pH31×cm09) で有意に収量が低かった。C培地では10菌株中別の1菌株H51c01で収量が有意に低く、3菌株の生産効率が低かった。正逆組合せに関して、L培地では分生子側 (cm01またはcm09) の収量が高く、C培地では逆側の収量が高い傾向が見られた。L培地で高収量の8菌株 (H14c01, H30c01, H30c09, H51c01, c01H14, c01H30, c09H30, c01H51) を選抜した。

(3) Fv92-04分生子×Fv92-04高温再生

対照菌株Fv92-04に対して、L培地では4菌株中2菌株で有意に収量および生産効率が高かった。C培地では4菌株中2菌株で収量および生産効率が有意に高かった (第7表B)。

対照菌株E704に対して、L培地では4菌株中2菌株で有意に収量および生産効率が低かった。C培地では4菌株中2菌株で収量が有意に低く、3菌株の生産効率が低かった。

正逆組合せに関して、収量に差が認められ、高温処理による細胞質の変異 (劣化) が示唆された。

第7表C プロトプラスト由来および分生子由来ネオハプロントから作出した交配菌株の栽培特性

構成単核系統	菌株	L培地(カラマツ)		C培地(スギ)	
		収量比	生産効率比	収量比	生産効率比
PND2 × 091p08	D2p8	1.008	1.178	2.794	3.391
PND5 × 091p08	D5p8	0.463	0.427	1.754	2.000
cm12 × 091p08	c12p8	0.601	0.583	2.302	2.637
cm16 × 091p08	c16p8	0.339	0.303	1.315	1.253
091p08 × PND2	p8D2	0.591	0.587	1.105	1.236
091p08 × PND5	p8D5	0.562	0.545	1.083	1.212
091p08 × cm12	p8c12	0.604	0.594	2.161	2.511
091p08 × cm16	p8c16	0.570	0.520	1.532	1.571
PND3 × 091pH	D3H	0.257	0.203	0.000	0.000
PND6 × 091pH	D6H	0.514	0.484	1.410	1.543
PNC9 × 091pH	C9H	0.607	0.622	1.961	2.155
PNC2 × 091pH	C2H	0.613	0.603	1.316	1.414
cm19 × 091pH	c19H	0.924	0.946	2.553	2.806
cm20 × 091pH	c20H	0.549	0.501	1.171	1.181
091pH × PND3	HD3	0.559	0.540	1.249	1.360
091pH × PND6	HD6	0.593	0.559	1.298	1.414
091pH × PNC9	HC9	0.597	0.554	1.136	1.277
091pH × PNC2	HC2	0.615	0.590	1.211	1.381
091pH × cm19	Hc19	0.408	0.368	1.457	1.532
091pH × cm20	Hc20	0.569	0.559	1.271	1.491
	E274	0.941	1.055	3.306	4.116
	E704	1.078	1.279	4.241	5.505
Fv92-04(対照)	平均	標準偏差	平均	標準偏差	
収量(g/ビン)	136.4	24.69	32.8	10.80	
栽培日数	42	0.9	61	2.1	
供試ビン数 n	8		7		

：選抜した菌株

3.5.3 プロトプラスト由来交配株の栽培試験その3

(1) 対照菌株 (第7表C)

Fv92-04はL培地の収量 (136.4g/ビン) に問題は無いが、C培地では供試8本中1本で収穫できず、収量 (32.8g/ビン) も低かった。E274およびE704はL培地、C培地とも問題なかった。

(2) 供試20菌株中2菌株 (D2p8, c19H) で、L培地の収量が対照Fv92-04と同等であった。他18菌株はすべて、L培地での収量および生産効率とも対照Fv92-04よりも有意に低かった。L培地で比較的高収量の2菌株 (D2p8, c19H) を選抜した。

3.5.4 2次選抜試験

2次選抜試験は第8表Aに示すように3回に分けて実施した。1回目は12菌株、3回目は2菌株で、それぞれ供試ビン数8本ずつで栽培試験を行った。2回目は1回目の12菌株8本ずつのほか、H42pを供試ビン数16本で栽培試験を行った。

対照 (Fv92-04) は1回目C培地では栽培日数が長く (60日) 収量が低かった (58.1g/ビン)。2回目および3回目のL培地では若干収量が低かった (2回目; 124.0g/ビン, 3回目; 138.3g/ビン)。

Fv92-04を対照群として多重比較を行った結果、1回目L培地において有意に収量が高い菌株は検出されなかったが、有意に生産効率が低い5菌株が検出された (H30c09, c09H30, H51p;  $p < 0.01$ , H14p, H30p;  $p < 0.05$ )。また2回目L培地においては13菌株中c09H30以外の12菌株が有意に収量および生産効率が高かった。3回目L培地においてD2p8の収量および生産効率が有意に高かった。

食味試験の対照菌株は主としてFv92-04であるが、2回目のH42pと3回目の2菌株の対照菌株は栽培日数の関係でE704とした (第8表B)。

客観評価である「Q1かたさ」について、3菌株 (H30c01, c09H30, H14p) が対照Fv92-04よりかたく、H30c09が同等、他の9菌株はかたくないという評価だった。また「Q3味の濃さ」について、3菌株 (H30c09, c01H30, c09H30) が対照Fv92-04より濃く、他12菌株は対照より濃くない評価であった。

主観評価である「Q2食感の良否」について、対照より良いのは4菌株 (c09H30, H14p, H44p, H51p) だった。H42pは対照E704と同等で、他10菌株は対照より良くない評価であった。「Q4味の良否」について、2菌株 (c01H30, c09H30) が対照

第8表A プロトプラスト由来および分生子由来ネオハプロントから作出した交配菌株の栽培特性(二次選抜;対照Fv92-04との相対比)

菌株	1回目の結果				2回目の結果				3回目の結果			
	L培地(カラマツ)		C培地(スギ)		L培地(カラマツ)		C培地(スギ)		L培地(カラマツ)		C培地(スギ)	
	収量 <sup>*1,2</sup>	生産効率 <sup>*1,2</sup>										
H14c01	0.985	1.104	1.795 ++	2.224 ++	1.155 ++	1.279 ++	0.945	1.086 ++				
H30c01	0.941	1.111	2.266 ++	2.896 ++	1.109 ++	1.236 ++	1.045	1.201 ++				
H30c09	1.055	1.206 ++	2.183 ++	2.791 ++	1.139 ++	1.252 ++	1.043	1.185 ++				
H51c01	1.017	1.092	1.650 ++	1.642 ++	1.171 ++	1.183 ++	1.008	1.022				
c01H14	0.960	0.939	1.242	1.267	1.112 ++	1.108 +	0.964	0.972				
c01H30	1.012	1.108	1.737 ++	1.836 ++	1.163 ++	1.174 ++	1.023	1.075 ++				
c09H30	1.060	1.141 ++	1.638 ++	1.659 ++	1.055	1.036	1.073 ++	1.146 ++				
c01H51	0.905	0.896	1.514 ++	1.550 ++	1.116 ++	1.093 +	0.913 --	0.920 --				
H14p	0.964	1.130 +	2.400 ++	3.187 ++	1.118 ++	1.221 ++	1.041	1.225 ++				
H30p	0.990	1.117 +	2.294 ++	2.973 ++	1.123 ++	1.226 ++	1.064 ++	1.251 ++				
H42p					1.093 +	1.214 ++	1.047 +	1.246 ++				
H44p	0.959	1.116	2.263 ++	2.939 ++	1.107 +	1.209 ++	1.023	1.212 ++				
H51p	1.008	1.174 ++	2.226 ++	2.892 ++	1.104 +	1.233 ++	1.055 +	1.257 ++				
C19HL									1.011	1.026	0.930	1.011
D2p8L									1.083 +	1.225 ++	0.869 --	1.039
E274	0.933	1.090	2.427 ++	3.341 ++	1.078	1.177 ++	1.017	1.226 ++	0.971	1.043	1.036 ++	1.239 ++
E704	1.024	1.244 ++	2.460 ++	3.361 ++	1.129 ++	1.245 ++	1.036	1.238 ++	1.101 ++	1.190 ++	1.044 ++	1.209 ++
Fv92-04(対照)	平均	標準偏差										
収量(g/ビン)	140.7	14.26	58.1	17.95	124.0	8.29	145.5	5.64	138.3	8.82	130.2	7.52
栽培日数	41	0.5	60	1.5	40	1.1	49	0.8	41	0.5	52	0.6
供試ビン数 n	16		16		8		8		16		16	

\*1 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。(Dunnett法による多重比較, 供試ビン数8本/菌株)  
 ++:1%の危険率で大きい, +:5%の危険率で大きい, -:5%の危険率で小さい, --:1%の危険率で小さい

第8表B 二次選抜試験における食味評価試験結果

食味評価試験(評価値1~5の平均値)					
菌株	対照菌株	Q1 かたさ	Q2 食感好	Q3 味濃さ	Q4 味好
H14c01	Fv92-4	2.91	2.91	2.36	2.36
H30c01	Fv92-4	3.20	2.70	2.80	2.60
H30c09	Fv92-4	2.99	2.88	3.08	2.85
H51c01	Fv92-4	2.91	2.91	2.80	2.82
c01H14	Fv92-4	2.89	2.56	2.22	2.44
c01H30	Fv92-4	2.73	2.82	3.09	3.36
c09H30	Fv92-4	3.18	3.18	3.18	3.09
c01H51	Fv92-4	2.89	2.89	2.56	2.56
H14p	Fv92-4	3.40	3.10	2.80	3.00
H30p	Fv92-4	2.94	2.81	2.78	2.50
H42p	E704	2.63	3.00	2.88	3.00
H44p	Fv92-4	3.40	3.10	2.80	3.00
H51p	Fv92-4	3.40	3.20	2.70	2.80
C19HL	E704	2.80	2.80	2.70	2.90
D2p8L	E704	2.60	2.90	2.70	3.00

対照と比較して5段階で評価した。評価結果は下記例の値(5, 4, 3, 2, 1)に変換して平均値を求めた。

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

□ : >3.00    □ : <3.00

Fv92-04より良く、4菌株(H42p;対照E704, H14p, H44p, D2p8;対照E704)が対照と同等で、他9菌株は対照より良くない評価であった。c09H30は、食感および味ともに高評価であった。

栽培特性と食味試験の結果を考慮して、新たにネオハプロントから作出した交配菌株からH51p, H30p, H30c09, H14p, D2p8, c19Hの6菌株を次の選抜候補とした。

#### 4. まとめ

野生型エノキタケ新品種開発を目指して、ネオハプロントから作出した菌株をL培地法での栽培特性(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。

H23作出菌株群の再検討を行い、3菌株(38K, K38, A80)およびE704を選抜した。また、新たにネオハプロントから作出した菌株群では二次選抜に供した15菌株すべて収量性が高く、高温処理で再生したネオハプロントが多く含まれていた。一方、H23に分離、継代保存したネオハプロントは、交配能の低下および栽培特性の低下が認められた。

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：“令和2年北海道特用林産統計”，札幌（2022）。
- 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 山溪カラー名鑑日本のきのこ”，山と溪谷社，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) 宜寿次盛生，米山彰造，齋藤沙弥佳，東智則，檜山亮、津田真由美：林産試験場報，549，43-50（2022）。
- 8) 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）。

#### －利用部 微生物グループ－

－\*1：法人本部研究事業部 知的財産グループ－

－\*2：利用部 バイオマスグループ－

－\*3：森林研究本部 企画調整部企画グループ－  
(原稿受理：2022. 12. 23)