

イオンビーム照射によるきのこの無孢子性品種の開発

Development of new strains with sporeless mutation in mushrooms using ion beam irradiation

石川真梨子¹⁾, 河西めぐみ¹⁾, 長谷 純宏²⁾, 野澤 樹²⁾, 大内 謙二¹⁾

Mariko ISHIKAWA, Megumi KASAI, Yoshihiro HASE, Shigeki NOZAWA and Kenji OUCHI

¹⁾ホクト(株)きのこ総合研究所 ²⁾(国)量子科学技術研究開発機構

(概要)

きのこの生産現場における過剰な孢子飛散は、栽培施設汚染や商品の品質低下、栽培従事者の喘息・アレルギー性呼吸器疾患といった問題を引き起こす¹⁾。これら諸問題の解決策として、無孢子性品種の利用は有効な手段である。

本研究では、イオンビーム照射により無孢子性品種を開発し、実用化することを目的とする。ホクト株式会社は、ブナシメジ・エリンギ・マイタケ等の生鮮きのこを生産・販売しており、全国 20 か所のきのこ工場から、1 日あたり約 250 万パックのきのこを供給している。従って、新品種開発にあたっては無孢子性形質を有するだけでなく、大型施設での安定栽培に不都合となる悪質形質を持たないことが望まれる。これまで、きのこへの紫外線照射等から無孢子性品種が取得された報告はあるものの、無孢子性だけでなく悪質形質も併せ持つことが多いため、ほとんど実用化には至っていない。

以上の背景から、目的形質のワンポイント改良への適性があると言われているイオンビーム照射により無孢子性品種の開発を試みた。まず、ホクトの販売品種の中で特に孢子飛散量の多いヒラタケ属品種「HOX 1 号」²⁾およびマイタケ品種「Grifon120」を供試体として試験を開始し、各々に適した照射条件の検討と、無孢子性変異のスクリーニングを行った。今後、得られた変異体の繰り返し栽培試験により、変異形質および栽培安定性を確認するとともに、交配試験も組み合わせて無孢子性品種の実用化を目指す。

キーワード：イオンビーム，ヒラタケ属，マイタケ，無孢子性変異

1. 目的

平成 29 年度よりヘリウムイオンビームを用いて照射試験を開始し、照射線量の検討と無孢子性変異のスクリーニングを行ってきた。平成 30 年度は、前年度までに行った照射試験によるプロトプラストまたは厚壁孢子生存率、および、栽培試験結果に基づいてヘリウムイオンビーム照射線量の範囲を定め、照射試験を行い、無孢子性変異体を得ることを目的とした。

2. 実施方法

ヒラタケ属品種「HOX 1 号」の子実体から調製したプロトプラストおよびマイタケ品種「Grifon120」の種菌から調製した厚壁孢子（菌糸の途中や末端において、一部の細胞が厚膜化して形成される無性生殖細胞）を供試した。

1.0×10⁴ 個/ml に調製したプロトプラストを寒天培地にのせ、軟寒天培地を加えてプロトプラストが均一に分散するように重層した後、カプトンフィルムで密封した。厚壁孢子は 1.0×10³ 個/ml に調製し、寒天培地に塗抹後、カプトンフィルムで密封した。その後、高崎量子応用研究所の AVF サイクロトロンにより発生させたイオンビーム (⁴He²⁺, 50 MeV) を照射した。照射後、20-25℃にて培養し、培地ごとに再生したコロニーを計数して、イオンビーム無照射培地での再生コロニー数に対する照射培地での再生コロニー数から生存率（各線量における再生コロニー数/0 Gy における再生コロニー数×100）を算出した。平成 29 年度に行った照射試験の生存率の結果を考慮し、両供試体に対して 25-75 Gy の範囲で、それぞれ計 2 回の照射試験を行った。再生コロニーを分離して子実体を発生させ、傘を黒紙上に置いて 20℃で一晩静置した後、孢子落下の有無を目視で確認した。孢子落下が見られない、あるいは「HOX 1 号」および「Grifon120」よりも著しく孢子落下量が少ない菌株については、栽培試験を反復して行い、孢子落下量の再現性が確認できたものを無孢子性変異体とした。また、無孢子性変異以外にも、栽培試験の過程において元の品種と比べて明らかに形質に変化があった場合や、菌糸生長不良や栽培工程で不都合な形質がみられた場合も、変異が起きたものとして、変異率を算出した。

3. 結果及び考察、今後の展開等

ヒラタケ属「HOX 1号」について、平成30年度に行った2回の照射試験におけるプロトプラスト生存率と線量の関係をTable1に示した。平成29年度に行った実験と併せて計6回のヘリウムイオンビーム照射試験において、合計11625株を分離した。現在までに5676株の栽培試験が終了している。平成29年度には、無胞子性変異体17PIB0081が得られたことを報告した。この菌株は栽培試験を反復したところ、「HOX 1号」と比べて孢子落下量が顕著に少ない性質の再現性が確認できた。しかし、栽培性や収量性には問題なく明らかな不良変異を伴わないものの、背地性喪失を伴っていた(Figure 1)。背地性喪失は、タモギタケ等の無胞子性変異体で報告のある形質であり、無胞子性形質と密接に関連していることも報告されている³⁾。17GIB0081の子実体は発生方向がばらつき、元の品種である「HOX 1号」とは株の形状が異なっていた。これにより、販売する際の包装形態に合わないことから、実用品種として導入できないと判断した。この菌株以外に、1株の無胞子性変異体(17PIB2074)が得られたが、17PIB0081と同様に背地性喪失を伴っていたため、実用化には至らなかった(Figure 2)。また、無胞子性以外にも傘色や傘形状が「HOX 1号」とは異なる変異体を20株得ることができた。これらの変異体は、栽培性や収量性に問題はなく、傘色または傘形状のみに変異が起こった可能性が考えられた。このことから、イオンビーム育種の特徴であるワンポイント改良が、「HOX 1号」においても可能であることが示唆された。現在までに栽培を終えた試験について、変異体が多かった確率および不良変異率を、Table 2に示した。不良変異率は、寒地培地上での菌糸生長不良や子実体発生不良、明らかな形態異常が見られた変異体数より算出した。不良変異を伴わない変異体の取得率が最も高かったのは、生存率31-40%の試験区であったが、目的としている無胞子性変異体は生存率41-60%の試験区でのみ得られた。このことから、無胞子性変異体を効率よく得るためには生存率41-60%になるような線量で照射するのが適していると考えられた。今後は、残り4855株の栽培試験を継続して新たな無胞子性変異体の取得を目指すとともに、17IB0081と17PIB2074についても交配によって背地性喪失の改善が可能であるか検討し、無胞子性変異体の実用化を目指したい。

マイタケ「Grifon120」について、平成30年度に行った2回の照射試験における厚壁孢子生存率と線量の関係をTable3に示した。平成29年度に行った実験と併せて計6回のヘリウムイオンビーム照射試験において、合計9377株を分離した。現在までに5287株の栽培試験が終了している。平成29年度には、無胞子性変異体17GIB941が得られたことを報告した。この菌株は栽培試験を反復したところ、「Grifon120」と比べて孢子落下量が顕著に少ない性質の再現性が確認できた。しかし、栽培性や収量性には問題なく明らかな不良変異を伴わないものの、栽培環境によっては傘の大きさや管孔(傘裏に形成される孢子形成器官)の様子といった製品の見た目に関わる性質が「Grifon120」と異なることがあったため、実用品種として導入できないと判断した(Figure 3)。この菌株以外に、2株の無胞子性変異体(17GIB1985, 18GIB097)が得られた(Figure 4)。17GIB1985は高温での菌糸伸長が悪いことから、大型施設での栽培には不向きであると判断して試験を終了した。18GIB097は、明らかな不良変異を伴わないものの、17GIB941と同様に栽培環境によっては見た目が悪くなるということがあったため、実用化には至らなかった。現在までに栽培試験が終了した試験区について、無胞子性変異体が多かった確率および不良変異率を、Table 4に示した。照射試験の一回目では、厚壁孢子を調製してから照射までに17時間程度要したため、多細胞化した厚壁孢子が混在していた可能性が考えられた。そのため、試料調整から照射までの時間が短い他の試験区とは生存率および変異率が異なる可能性があるため、この試験区を除いた4044株の栽培試験結果を記載している。現段階では、得られた無胞子性変異体数が少ない状況ではあるが、生存率が70%以上でも無胞子性変異体は得られた。一方で、不良変異率は生存率が高いほど低くなり、不良変異を伴わない無胞子性変異体が多くなると推察された。したがって、不良変異を伴わない変異体を得るためには、生存率60%以上になるような線量で照射するのが良いと考えられた。また、17GIB941と18GIB097から得た孢子を用いて交配試験を行い、形態的な問題の改良を試みている。今後は、残り2652株の栽培試験を継続して新たな無胞子性変異体の取得を目指すとともに、交配試験も検討し、無胞子性変異体の実用化を目指したい。

4. 引用(参照)文献等

- 1) Moore, JE, Convery, RP, Millar, BC, Rao, JR, and Elborn, JS: Hypersensitivity pneumonitis associated with mushroom worker's lung: An update on the clinical significance of the importation of exotic mushroom varieties, *Int Arch Allergy Immunol*, **136**, 98-102 (2005)
- 2) 石川真梨子・原田慎嗣・安積良仁・奥竹史・大内謙二・稲富聡: ヒラタケ属の新規菌株の育種, *日本きのこ学会誌*, **24**(1), 7-15 (2016)

3) 宜寿次盛生・米山彰造・原田陽・佐藤真由美・奥田康仁・松本晃幸：タモギタケ白色自然突然変異体の保有する菌傘色および菌柄背地性形質に関する遺伝分析，日本菌学会会報 56(2)，27-32 (2015)



Figure 1. ヒラタケ属無胞子性変異体
 17PIB0081 の背地性喪失の様子

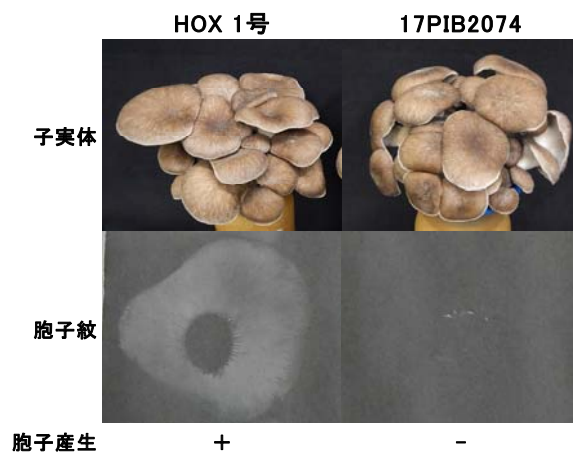


Figure 2. ヒラタケ属無胞子性変異体と孢子紋

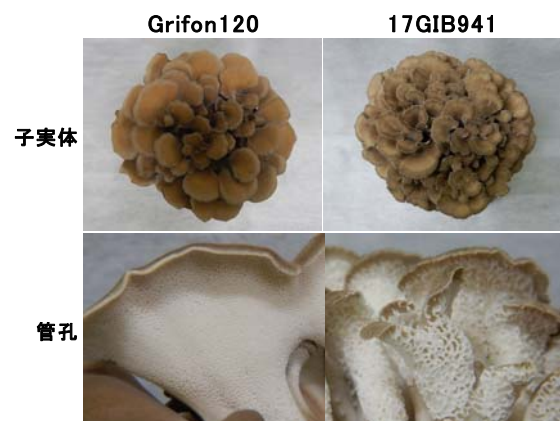


Figure 3. マイタケ無胞子性変異体 17GIB941 の傘の大きさおよび管孔の様子

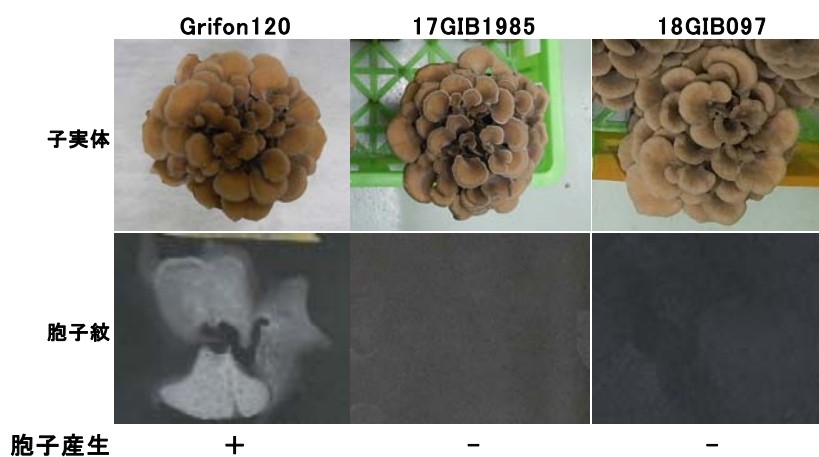


Figure 4. マイタケ無胞子性変異体
 と孢子紋

Table 1. ヒラタケ属品種「HOX 1号」プロトプラスト生存率

線量(Gy)	0	25	50	75	
生存率(%)	1回目	100.0	72.0	58.9	49.9
	2回目	100.0	78.0	60.4	43.2

Table 2. ヒラタケ属の変異体取得数と変異体取得率

生存率(%)	栽培数(株)	変異体取得数(株)			変異体取得率(%)		
		無孢子性	傘色・傘形状	不良	無孢子性	傘色・傘形状	不良
0-10	23			14			60.9
11-20	279			175			62.7
21-30	104			22			21.2
31-40	413		3	88		0.73	21.3
41-50	1732	1	10	267	0.06	0.58	15.4
51-60	2540	1	7	792	0.04	0.28	31.2
61-70	208			17			8.2
71-80	0						
81-90	377			58			15.4
91-100	0						

Table 3. マイタケ品種「Grifon120」厚壁孢子生存率

線量(Gy)		0	25	50	75
生存率(%)	1回目	100.0	77.7	74.1	64.9
	2回目	100.0	87.9	73.7	61.0

Table 4. マイタケの変異体取得数と変異体取得率

生存率(%)	栽培数(株)	変異体取得数(株)		変異体取得率(%)	
		無孢子性	不良	無孢子性	不良
0-10					
11-20					
21-30	168		168		100.0
31-40	0				
41-50	377		366		97.1
51-60	0				
61-70	2177	1	1448	0.05	66.5
71-80	1267	1	449	0.08	35.4
81-90	0				
91-100	55				