

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⁾、高野めぐみ¹⁾、長谷 純宏²⁾、野澤 樹²⁾、小林 仁¹⁾

Mariko ISHIKAWA、Megumi TAKANO、Yoshihiro HASE、Shigeki NOZAWA and Hitoshi KOBAYASHI

¹⁾ホクト(株)きのこ総合研究所 ²⁾(国研)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。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 31 年度は、前年度までに取得したイオンビーム照射株の栽培試験を継続し、新たな無孢子性変異体の取得および、栽培試験結果に基づいたさらなる照射線量の検討を目的とした。

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 30 年度までに、両供試体に対して10-500 Gy の範囲で計 6 回ずつの照射を行い、イオンビーム照射株を取得した。それぞれのイオンビーム照射株を栽培し、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、菌糸の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 年度までに計 6 回のヘリウムイオンビーム照射試験を行い、合計 2 株の無孢子性変異体が得られたことを報告した。また、照射条件を検討した結果、無孢子性変異体取得率の高かった生存率 41-60%になるような条件が適していると考えた。

そこで令和元年度は、取得しているイオンビーム照射株のうち、生存率 41-60%の試験区を中心に 1781 株について栽培試験を行った。その結果、傘の色や形態が元の品種である「HOX 1号」と異なる変異体を 2 株

取得したが、新たに無孢子性変異体を得ることは出来なかった。

栽培試験が終了した 7457 株について、変異体の取得率を Table 1 に示した。無孢子性以外に子実体の色や形状が「HOX 1 号」とは異なるが栽培性や収量性に問題のない変異を「その他変異」とした。無孢子性変異体は生存率 41-60%の試験区でしか得られていないが、傘の色や形態などのその他変異を併せた変異体取得率が最も高いのは生存率 31-40%の試験区であった。さらに、生存率ごとに取得した変異形質の内訳を Table 2 に示した。生存率 41-60%の試験区では合計栽培数 5318 株に対して 9 種類の変異形質が得られていたのに対し、生存率 31-40%の試験区では栽培数 413 株に対して 3 種類の変異形質が得られていた。このことから、生存率 31-40%のほうが、栽培数に対して取得可能な変異形質が多く、栽培数を増やすことで無孢子性変異体を高頻度で取得できる可能性がある。

以上の結果より、照射条件を再検討し、生存率 31-40%になるような線量で再照射することにした。これまでに計 6 回行った照射試験結果を踏まえ、80-110 Gy で 2 回の照射試験を行い、線量とプロトプラスト生存率との関係を Table 3 に示した。生存率 27.8-42.4%となる条件からイオンビーム照射株を新たに 3403 株取得したので、今後は栽培試験を行い、実用品種となるような無孢子性変異体を取得したい。

マイタケ「Grifon120」では、これまでに計 6 回のヘリウムイオンビーム照射試験を行い、平成 30 年度までに、合計 3 株の無孢子性変異体を得られたことを報告した。平成 31 年度は、分離した 9377 株のうち 1248 株について栽培試験を行い、新たに 1 株の無孢子性変異体(18GIB5802)を得た。この変異体は、「Grifon120」より孢子紋が顕著に薄いのが、子実体発生時の形態や栽培性に問題があったため、実用品種として導入できないと判断した(Figure 1)。

現在までに栽培試験が終了した試験区について、無孢子性変異体の取得率および不良変異率を Table 4 に示した。ただし、照射試験の 1 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、試料調製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栽培試験結果を記載している。不良変異率は、子実体発生不良や明らかな形態異常が見られた変異体数より算出した。無孢子性変異体は、生存率 61-90%の試験区で得られた。生存率 60%以下の試験区では現在までに無孢子性変異体を得られていない上に、不良変異を伴いやすいことが予想される。したがって、マイタケについて今後照射試験を行う際には、不良変異を伴いにくいと考えられる生存率 61%以上になるように照射するのが良いと考えられた。今後は、残り 1404 株の栽培試験を継続して新たな無孢子性変異体の取得を目指すとともに、既に取得している無孢子性変異体を用いた交配試験も検討し、無孢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)

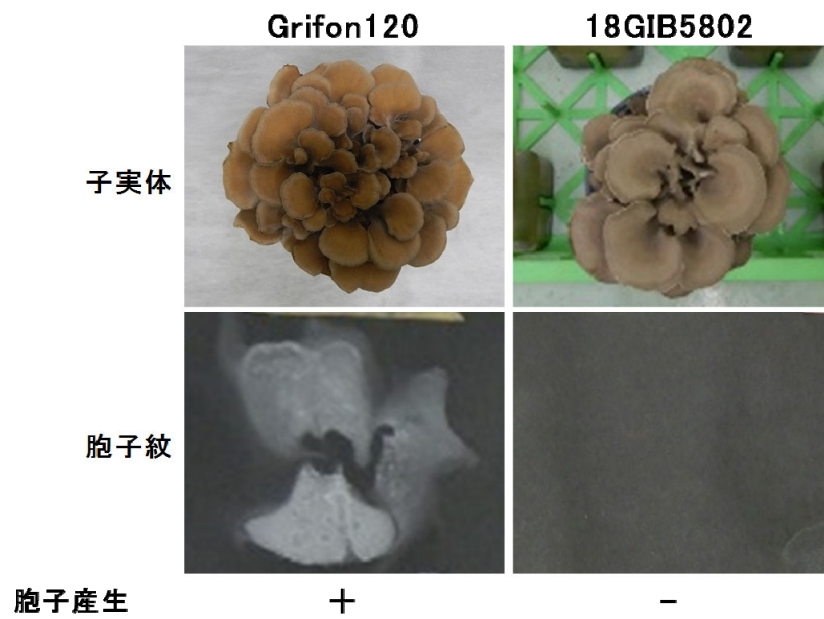


Figure 1。マイタケ無胞子性変異体
と胞子紋

Table 1. 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 (%)		
		無胞子性	その他	無胞子性+その他	無胞子性	その他	無胞子性+その他
0-10	23						
11-20	471						
21-30	104						
31-40	413		3	3		0.73	0.73
41-50	2253	1	11	12	0.04	0.49	0.53
51-60	3065	1	8	9	0.03	0.26	0.29
61-70	551						
71-80	200						
81-90	377						
91-100	0						

Table 2. ヒラタケ属の取得変異形質の内訳

生存率 (%)	栽培数 (株)	変異体取得数 (株)									
		無胞子性	傘色薄い	傘色濃い	傘模様異なる	傘形態異なる	傘巻き強い	柄太い	傘イボ	背地性喪失	傘形態異なる
31-40	413				1						1
41-50	2253	1	1	3	5	1				1	
51-60	3065	1	1		2		3		1		1

Table 3. ヒラタケ属品種「HOX 1号」プロトプラスト生存率

線量 (Gy)	0	80	90	100	110
生存率 (%)	1回目	100.0	-	33.7	28.5
	2回目	100.0	42.4	39.2	34.0

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 (%)		
		無胞子性 ^{※1}	その他	不良	無胞子性	その他	不良
0-10	0						
11-20	0						
21-30	168		1	168		0.60	100.00
31-40	610						
41-50	377			367			97.35
51-60	533						
61-70	2605	1	1	1725	0.04	0.04	66.22
71-80	1857	1	1	654	0.05	0.05	35.22
81-90	525	1		103	0.19		19.62
91-100	0						

※1 これまでに取得した無胞子性変異体 4 株のうち、1 株は実験条件が他の 3 株とは異なっており、生存率および変異率について議論することができないため Table から除外した。