

## きのこ資源の利用技術の研究開発

藤澤示弘\*・木内信行\*\*

### Research and development of application technology of mushroom resources

Tokihiro FUJISAWA\*, Nobuyuki KIUCHI\*\*

#### 要旨

藤澤示弘・木内信行：きのこ資源の利用技術の研究開発 神奈川県自環保セ報告3：1-10, 2006 本県きのこ生産者の経営安定を図るため、きのこの機能性評価技術と本県独自の高付加価値品種並びに低コスト栽培技術の開発を8年間に渡り行い、その結果について次のように取りまとめた。

- ① 野生きのこ等より106種345系統の菌株を収集し、遺伝資源として有用な多くの種類を保存した。
- ② 機能性成分評価技術の開発と遺伝資源の特性解明を行い、ヤナギマツタケ胞子欠損遺伝子の標識(マーカー)遺伝子を発見し、胞子欠損品種の育種を効率良く行うことを可能とした。また、有望な形質を持つアラゲキクラゲの白色変異株(白化子実体)を発見し、ビタミンD<sub>2</sub>増進技術の開発と食感の簡易評価を行った。
- ③ 各種きのこ類の大腸菌群に対する抗菌性を検討し、弱いながらも複数種のきのこに抗菌活性を認めた。
- ④ 栽培技術の開発と育種を行い、アラゲキクラゲ白色変異株について栽培特性の解明と、菌床栽培技術が未だ開発されていないマスタケについて小型子実体発生に成功した。また、ヤナギマツタケについて野生種の持つ欠点を改良した品種を開発し品種登録を行った。
- ⑤ 効率的生産技術開発を行い、ヤナギマツタケについて簡易施設を活用した低コスト栽培技術並びに高温処理による培養中発生抑制技術等を開発した。さらに県内の生産者団体へ品種利用許諾を行い、新品种の普及と産地化への道を開いた。

キーワード：遺伝資源、ヤナギマツタケ、胞子欠損遺伝子、アラゲキクラゲ、白化子実体

#### I はじめに

消費者の食品に対する嗜好の多様化や健康指向を反映して、新しい食用きのこ類に対するニーズは増大している。しかし、少なくとも二百数十種あるとも言われている食用きのこのうち、栽培されているものは現在数十種程度に過ぎない。

一方、本県のきのこ生産は、県人口870万人という大消費地内生産という特性を活かし、約150名の生産者が4億1千万円もの粗生産額を上げており、林業粗生産額の4割を占めている(林野庁, 2004)。しかし、生産品目がシイタケ、ヒラタケ、ナメコといった他地域で生産されているきのここと重複するた

め、産地間競争により価格が低迷しているうえ、生産コストの増大にさらされ生産者の経営状況は厳しい状況にある。このため、小規模生産者が多い本県では、新たなきのこの開発や生産コスト低減のための技術開発が望まれていた。

そこで、栽培化されていないきのこについて、本県の自然条件に適した新品种を開発し特産品化すると共に、省コスト型の栽培技術を開発することにより、本県きのこ生産者の経営安定と地域の活性化を図ることを目的として、本研究を実施した。

なお、本研究課題は林野庁国庫補助事業共同研究課題「地域先端技術等地域実用化型研究促進事業(バイオテクノロジー実用化型)」の一環として、平成8

\* 神奈川県自然環境保全センター研究部 (〒243-0121 神奈川県厚木市七沢 657)

\*\* 神奈川県湘南地域県政総合センター農政部森林課 (〒254-0073 神奈川県平塚市西八幡 1-3-1)

～15年度に実施したものである。

## II 遺伝資源の収集と保存

### 1 材料と方法

将来の活用が期待される遺伝資源として、採集したきのこ子実体由来の菌糸体・孢子・腐朽材等の発生基質から常法により分離培養した。純粋分離できた菌株については、継代培養法（一部は凍結保存法（大政, 1992））により保存した。

### 2 結果

附表1の収集菌株リストのとおり106種345系統の菌株を収集保存した。その中にはシイタケ、ヒラタケ、ナメコ等の従来栽培種の他に、本県では野生きのことして人気が高いナラタケ、含有成分の抗がん活性が注目されているハナビラタケ、アルツハイマー予防効果が認められているヤマブシタケ等が含まれる。

## III 機能性成分評価技術の開発と遺伝資源の特性解明

### 1 ヤナギマツタケ孢子欠損変異系統の特性解明とマーカー遺伝子の探索

#### (1) 材料と方法

食品の機能は大きく三つに区分される。食品が本来持っている生命を維持する栄養素としての働きを一次機能、味・香りなどの人間の感覚に訴える働きを二次機能、疾病防止・老化抑制などの生体調節機能を三次機能と呼んでいる。

担子孢子欠損形質は、栽培品種の形質としては二次機能としてのきのこの品質向上、栽培者のアレルギー・施設汚染・野生種への遺伝子汚染等の防止に役立つとされる（長谷部, 1991）。特にヤナギマツタケ (*Agrocybe cylindracea*) においては、孢子が成熟すると褐色になりきのこが汚れて見えるため、二次機能の一つである嗜好性（見栄え）に影響がある。したがって、孢子欠損形質をコントロールしている遺伝子の染色体上の位置を知ることは重要である。

そこで、ヤナギマツタケ育種過程において孢子欠損形質を効率よく検出するための標識（マーカー）遺伝子を見出すため、担子孢子欠損自然突然変異体

と各種人為突然変異体等（表1）を用い、それぞれの関連遺伝子間の連鎖関係を検討した。

さらに、それらが実際に担子孢子欠損遺伝子（spo）の検出マーカーとして利用可能か、アデニン要求性遺伝子（ade）と菌糸先端二分岐型遺伝子（dt）を検討した。spoとadeの両方を合わせ持った一核菌糸体株F1-4（遺伝子型：A6B4 spo ade +）を作出し、別の一核菌糸体株30-27（遺伝子型：A14B14 + + dt）を交配して子実体を形成させ、239個の単孢子由来の一核菌糸体株を分離し、各株についてade遺伝子とdt遺伝子の有無を解析した。次に、239個の単孢子由来の一核菌糸体株（F1）に、担子孢子欠損遺伝子を持つ別の一核菌糸体株T-55（遺伝子型：A5B5 spo + +）をテスター菌株として交配して、239株の二核菌糸体株を作出した。これらを米糠を添加したおがくず培地で栽培試験を行い、出現した子実体について担子孢子的形成の有無とマーカー遺伝子の関係を検討した（木内, 1998a; 木内, 1998b）。

#### (2) 結果と考察

mor遺伝子間で1組、mor遺伝子と栄養素要求性遺伝子との間に2組、栄養素要求性遺伝子間で2組、mor遺伝子と担子孢子欠損遺伝子（spo-1）との間に1組の連鎖関係が見出された。これらの結果から、暫定的ではあるが連鎖地図を作製した（図1）。

adeとdtのマーカー遺伝子利用可能性を検討したところ、表2に示したようにade（アデニン要求性遺伝子）をマーカー遺伝子とすると、約80%の割合でspo（担子孢子欠損遺伝子）が検出できた。

単に担子孢子欠損形質を持つ株と他の野生型一核菌糸体株を交配させた子実体由来の一核菌糸体株が担子孢子欠損形質を持っている確率は、通常は約50%である。しかし、F1-4と他の野生型一核菌糸体株を交配させた子実体由来の一核菌糸体株から、アデニン要求性を持つ系統を選択すると、担子孢子欠損形質を持っている確率は通常の約1.6倍になる。

この一核菌糸体株F1-4は栽培形質良好で特性も安定しており、育種素材として十分利用可能であることから、アデニン要求性遺伝子を活用した効率的な担子孢子欠損形質品種の育種が可能となった。

表1 本研究に用いた突然変異体とその遺伝子型

Strain	Mating Type	Genotype
50-9	A13B13	<i>mor-1*,phe-1**</i>
30-27	A14B14	<i>mor-2(dt-1)***</i>
30-46	A5B5	<i>mor-3,aux?****</i>
25-9	A6B6	<i>mor-4,try-1*****,spo-1*****</i>
25-1	A6B6	<i>mor-2,mor-5,spo-1</i>
15-9	A6B6	<i>mor-6,mor-7,spo-1</i>
BSS-22	A4B4	<i>ade-1*****</i>
BSS-36	A4B4	<i>bio-1*****</i>
S-11	A6B6	<i>spo-1</i>

\* morphological mutant-type \*\* phenylalanineless \*\*\* dichotomous

\*\*\*\* unidentified \*\*\*\*\* tryptophanless \*\*\*\*\* sporless

\*\*\*\*\* adenineless \*\*\*\*\* biotinless

表2 担子孢子欠損遺伝子とマーカー遺伝子の関係

担子孢子欠損型	野生型	計	担子孢子欠損型の出現割合(%)
dt型	4	77	5
ade型	72	92	78

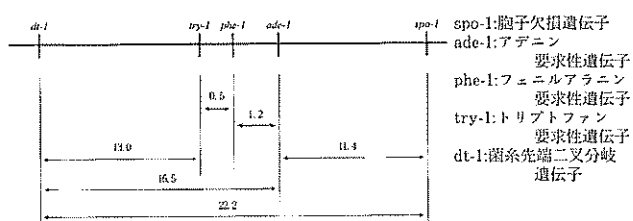


図1 二次機能(嗜好特性)としての担子孢子欠損遺伝子の暫定的な連鎖地図

## 2 アラゲキクラゲ白色変異株のビタミンD<sub>2</sub>増進技術と食感の簡易評価

### (1) 材料と方法

ア 神奈川県西部の高標高地において、広葉樹枯木の同一箇所から発生していたアラゲキクラゲ (*Auricularia polytricha*) の白色変異子実体と正常型子実体を発見し、採取した。それぞれの子実体から単孢子分離により得た株を用い、交配型を検討した(木内, 1998c)。

イ アラゲキクラゲ乾燥品は、五訂日本食品標準成分表によればビタミンD<sub>2</sub> (V. D<sub>2</sub>) 含有量が乾燥シイタケの約10倍、生シイタケの約40倍とされている。そこで、白色変異株について三次機能としてのV. D<sub>2</sub>含有量測定と、生状態での増大手法を検討した。表3の栽培方法により発生させた子実体について、収穫直後に日焼け用健康線蛍光ランプ(20W 波長310nm)を1hr照射した後、V. D<sub>2</sub>含有量を測定した(藤澤ら, 2002b)。

ウ 白色変異子実体は、同時に採取された正常型(野生型)に比較して食感が滑らかとの評価がなされた。そこで、二次機能としての食感特性を定量的に解明するため、子実体平均厚さと、破断強度を測定した。

試料は表3の栽培方法より発生させた子実体を用い、収穫後直ちに厚さと計測し、その後幅10mmにカットし供試した。破断強度はクリープメーター物性測定機器(山電製 レオナー RE-3305)を使用して測定した。プランジャはせん断用を使用した(藤澤, 2001c)。

表3 アラゲキクラゲ栽培方法

培地組成	広葉樹オガコ:米ぬか=5:1(気乾容積比)	培地含水率	65%(湿量)
滅菌条件	121°C 60分	接種接種量	約20cc
培養温度	23±1°C	発生条件	空調施設(RC断熱構造 当所発生試験施設)
	2.5±0.2°C、相対湿度約90%、照明	白熱灯200lux	
発生操作	袋底面4カ所を十字型形で長さ3cmの切れ目を入れ発生室へ移動		
栽培容器	7(4)×11.2kg 詰用PP(47×77×17)袋		

### (2) 結果と考察

ア 交配型は二極性で、両菌株は一部共通な交配型の遺伝子を持っていることが判明した。

イ 正常型のV. D<sub>2</sub>含有量は40IU (1.0μg) / 100g(生重)、白色変異型56IU (1.4μg) / 100gに対し、白色変異型照射区は14000IU (351μg) / 100gと、大幅に増加した。子実体の劣化等は観察されず、本手法は三次機能成分の簡易増加手法として有効と思われた。

ウ 子実体の平均厚さは、白色変異型子実体は正常型の約半分であった(図2)。

破断強度については、白色変異型子実体は、正常型に比較して最初に破断する荷重値は低く、最終的に噛み切るのに必要な最大荷重値は大きかった。代表的な測定結果を図3に示す。感覚的には「バリバリ」的要素が少なく、「プリプリ」的要素が多いと思われた。また、子実体の部位と破断荷重の関係を参考までに測定したところ、縁部については破断荷重値は小さく、基部の値は大きかった。

今回は、白色変異型の食感の特徴を表す指標の一つである破断強度が簡易評価手法として有効か、その可能性について試験した。アラゲキクラゲのような比較的形狀がそろいやすいものは試料を用意しやすかったが、その他のきのこでは柄部の直径によって強度の変動が大きいと考えられ、この手法をすべてに適用することは困難と思われる。しかし、きの

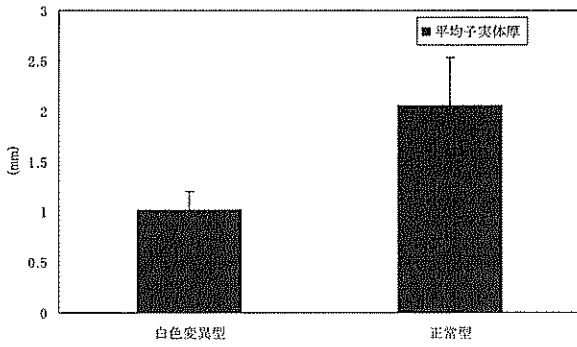


図2 アラゲキクラゲ系統別子実体平均厚さ  
縦棒はS. D. n=10, 15 t検定 p<0.001

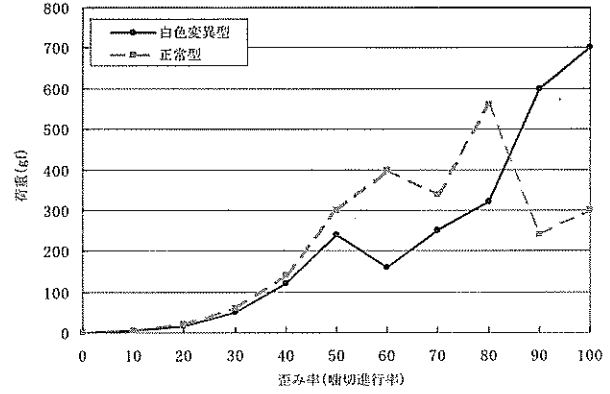


図3 アラゲキクラゲ 系統別破断荷重値

この品質評価の一項目としての「食感」は重要と考えられるので、今後も適正な評価手法確立とそれを生かした品種の開発等を推進すべきと思われた。

#### IV きこの類の抗菌活性の検討

##### 1 材料と方法

三次機能の一つに抗菌性がある。微生物が生成する抗菌性物質では放線菌によるものが主体であって、

表4 大腸菌群に対するきこの抗菌性

きのこ名	活性	きのこ名	活性
ナラタケ sp.	-	ブナシメジ	+
ムサシタケ	+	コムラサキシメジ	+
ニクウチワタケ	+	アケボノハリタケ	+
シャカシメジ	+	カンゾウタケ	-
ヌメリツバタケ	+	マスタケ	-
ニガクリタケ	+	マンネンタケ	-
ヌメリツバタケモドキ	+	ムレオオイチョウタケ	-
チャナメツムタケ	+	ササクレヒトヨタケ	-
クリタケ	-	ツキヨタケ	-
ヌメリスギタケ	-	キクラゲ	-
エノキタケ	-	<i>Crinipellis</i> sp. (ニセホウライタケ?)	-
カワラタケ	-	カンパタケ	-
スエヒロタケ	-	オオミヤマトンビマイ	-
ベッコウタケ	-	サマツモドキ	-
アミスギタケ	-	ホンシメジ	-
ツクリタケ	-	トキイロヒラタケ	-
アミヒラタケ	-	ミヤマトンビマイ	+
ハタケシメジ	-	ヌメリスギタケモドキ	+
マゴジャクシ	-	ツチスギタケ	-
<i>Galerina</i> sp. (コレラタケ?)	+	ナメコ	+
センボンイチメガサ	-	ロクショウグサレキン	+
ヒラタケ	-	キヌガサタケ	-
ブクリョウ	-	トンビマイタケ	-
シイタケ	-	タマチヨレイタケ	-
オオヒラタケ	-	ハナイグチ	+
ヤマブシタケ	-	スギエダタケ	+
シロマイタケ	-	ムキタケ	+
タモギタケ	-	マツオウジ	+
ヒラフスベ	+	ビロードツエタケ	-
エリンギ	-	エビタケ	-
ツバナシフミツキタケ	-	ナラタケモドキ	-
ブナハリタケ	+	ホテイシメジ	+
ハナビラタケ	-	オニフスベ	-
カキシメジ	-	カヤタケ	-
スギヒラタケ	+	ムラサキシメジ	-
コフキサルノコシカケ	+		

きのこによるものはきわめて少ないとされている。きのこ類由来の抗菌性物質は数少なく、問題があることから現在臨床に用いられているものはない。しかし、近年は病原性大腸菌等の問題があるため、各種きのこ類の大腸菌群に対する抗菌性を検討した。

供試した大腸菌群は人糞便より DO 培地、EMB 培地、及び BGLB 培地を用いて分離同定した。各きのこは液体培地で培養後、菌体を除いた上澄み液について、pH 7 に調整し、カップ法で大腸菌群に対する抗菌性を検討した (木内, 1998c)。

## 2 結果と考察

表 4 のとおり、弱いながらも複数種のきのこに抗菌活性が認められた。今後はさらに対象を広げて検索すると共に、活性の強い系統をスクリーニングするための簡便なバイオアッセイ手法を確立する必要があると思われる。

## V ニュータイプきのこの栽培技術の開発と育種

### 1 アラゲキクラゲ白色変異株の栽培特性説明

#### ア 材料と方法

白色変異株の栽培特性を把握するため、表 3 の方法により発生試験を行った。また、栽培可能温度帯を把握するため、アラゲキクラゲにとっては低温条件である 16℃ の環境で発生比較試験を行った (藤澤, 2001c)。

#### イ 結果と考察

白色変異株の平均的な収量は 1.5% (子実体乾重/培地湿重量) であった。アラゲキクラゲの平均的な収量は 4% であり、より高収量系統の作出と選抜が必要と思われる。

低温条件下では、図 4 のとおり市販品種はほとん

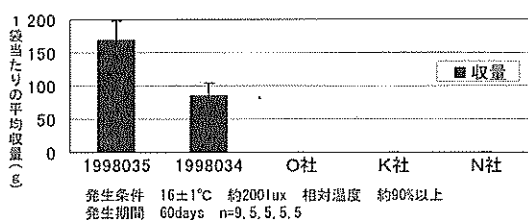


図 4 アラゲキクラゲ品種別収量 (子実体生重)

ど発生しなかったが、白色変異株は発生可能なことが判明した。本株は高標高地で採取されたもので、低温条件に適応した形質を持つものと推察された。

### 2 マスタケの栽培特性説明

#### ア 材料と方法

マスタケ (*Laetiporus sulphureus*) は、色が鮭の身のように赤く、鶏肉のような独特の食感を持つ食用菌であるが、菌床栽培技術は未確立である。そこで、常法 (800mlPP 瓶 スギオガコ 3 : フスマ 1 V/V 培養 23℃ 40days 菌搔後注排水 発生条件 20℃ RH90%) により栽培試験を実施した。菌株は自環保セ保存菌株 No2001008 を供試した (藤澤ら, 2002b)。

#### イ 結果と考察

小型子実体発生に成功した (写真 1)。しかし収量が 1 瓶あたり約 10 g と少なく、実用化は困難と思われた。

### 3 ヤナギマツタケ担子胞子欠損形質品種の作出

#### ア 材料と方法

栽培品種として有利な特性である、担子胞子欠損形質を持つヤナギマツタケを栽培化するため、交配等の育種手段を用いて新品種を開発する。前述したとおり胞子欠損形質は二次機能としてのきのこの品質向上、栽培者のアレルギー・施設汚染・野生種への遺伝子汚染等の防止に役立つとされる。ヤナギマツタケにおいては、胞子が成熟すると褐色になりきのこが汚れて見えるため、胞子欠損形質は二次機能の一つである嗜好性 (見栄え) に有利である。

そこで、自然突然変異による担子胞子欠損形質 (単一の劣性遺伝子支配) を持つ子実体から単胞子分離した一核菌糸を交配させ、得られた胞子欠損系統の栽培特性を調査した (木内, 1997; 木内, 1998a)。

#### イ 結果と考察

特性調査の結果、最終的に 1 株を選抜した。選抜

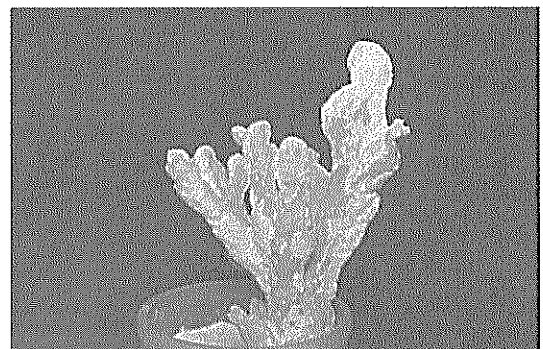


写真 1 菌床栽培によるマスタケ小型子実体形成

表5 交配に使用したヤナギマツタケ菌株

系統	由来	菌株番号	採集地	樹種	採集年月日	採集者	分離源	備考
S9	1987013							spo 一核
#8	1990021							+ 一核
8	S9 × #8							spo 一核
S12	1987013							spo 一核
1987013		1987013	藤沢市	ポプラ	1987/7/10	木内信行	組織	二核
1990021		1990021	鎌倉市		1990/7/14	江川公明	組織	二核

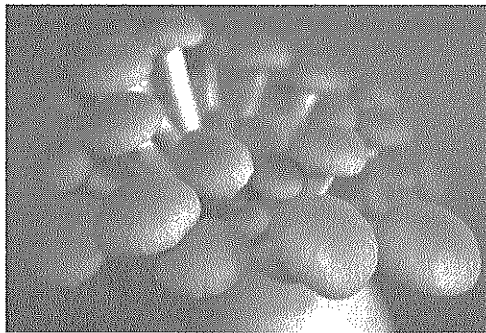


写真2 ヤナギマツタケ「しゃき丸」

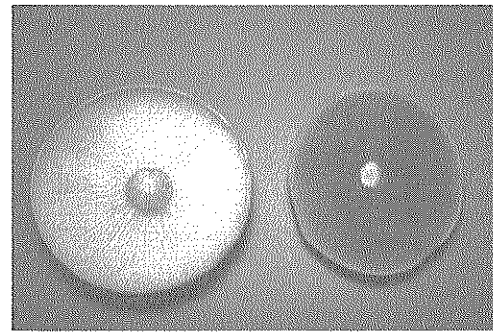


写真3 左：孢子欠損 右：野生型

した菌株の来歴は、S9(A5B5, spo) と #8 (A16B16, +) の F1 である 8 (A5B16, spo) に、S12(A6B6, spo) を交配して得られた、8 の細胞質遺伝子を持つ株である (表5)。

得られた選抜株 (写真2、3) について、遺伝的・生理的・栽培的・形態的の各特性について種苗特性分類調査を行い、農水省種苗課へ品種登録を出願し、平成13年10月18日に登録された (第9509号 登録名称「しゃき丸」)。

## VI ヤナギマツタケの効率的生産技術の開発

### 1 材料と方法

従来よりヤナギマツタケの生産はPP製瓶を使用した空調施設での菌床栽培が主流である。瓶栽培は子実体原基形成期からは培地表面が外気に直接接触するため、栽培環境調節が重要である。しかし現在では生産原価を落とす必要があり、空調にかかる経費は重要な問題である。一方、PPやPE (ポリエチレン) 製の栽培袋を用いたきのこ栽培も一般的に行われている。定温培養後に栽培袋を一旦開放後、袋上部を絞って培地表面の湿度を保持する手法により、空調設備のない簡易施設でも栽培可能である。つまり、栽培袋は発生操作の際に口の開け方を加減することにより培地表面湿度が容易に調節可能であるので、

空調のない簡易施設に適した栽培容器である。

そこで本研究では、瓶に替えて栽培袋を使用した場合に栽培所要日数と収量に与える影響と、簡易施設における栽培袋を使用したヤナギマツタケ栽培の可能性、並びに高温処理による培養中の発生抑制技術を検討した。

さらに、ヤナギマツタケの付加価値を向上させるため、柄部分を伸長させる技術について検討した。ヤナギマツタケは柄のしゃきしゃきした食感が特徴のきのこである。一般に子実体形成時における高濃度の二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>) には、傘の展開阻害と柄の伸長促進効果が認められている。そこで、袋開口部の開閉しての袋内CO<sub>2</sub>濃度調節により、柄の伸長促進が可能かについても検討した。

栽培方法は表6のとおりで、供試菌株は当センターにおいて開発した8 × S12 菌株 (品種登録名称「しゃき丸」) を用いた。

A 栽培容器比較 (袋と瓶) と簡易施設栽培試験 試験区設定は表7のとおり行い、試験区1、2については栽培所要日数と収量、3、4については収量を、それぞれ第2回発生まで調査した (藤澤, 1999; 藤澤, 2000; 藤澤, 2001a)。

I 高温処理による培養中発生抑制技術

培養途中の子実体形成を抑制するため、培養中期より子実体形成適温以上に昇温させて栽培容器内発

生の抑制並びに実収量に及ぼす影響を検討した。

温度  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度約 60%、暗黒条件に設定した培養室で 14 日間経過後、温度を 22(対照区)、26、30 $^\circ\text{C}$  の 3 区に設定した恒温器でさらに 34 日間培養した。培養終了後、栽培袋内に形成された原基についてはそのまま生育させ、発生していた低品質子実体は取り除き生重量を計測した。その後、温度  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度約 90%、白色蛍光灯 400lux 16hr/日に設定した発生室で、収量調査を発生操作日より 102 日間行った(藤澤, 2002a)。

#### ウ CO<sub>2</sub>濃度による子実体形状変化

柄部分を長くするために栽培瓶をビニール袋に入れ、収穫直前に袋の口を絞ることにより、CO<sub>2</sub>濃度を高める手法により発生させ、収量と C/S 比(傘径/柄長)を測定した(藤澤ら, 2001b; 藤澤ら, 2002b)。

表 6 ヤナギマツタケ栽培方法

培地組成	6ヶ月散水スライモ(2mmメッシュふるい通過); 生米ぬか=3:1(気乾容積比)		
	培地含水率65%(湿量基準)		
滅菌条件	121 $^\circ\text{C}$ 60分	種菌接種量	約20ml
培養条件	当所培養室にて暗培養 培養温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 。		
発生条件	空調施設(RC断熱構造)		
	室内温度17~19 $^\circ\text{C}$ 、相対湿度約90%、	照明	蛍光灯400lux 16hr/日
	室内温度17~19 $^\circ\text{C}$ 、相対湿度約90%、	照明	蛍光灯400lux 17hr/日
	室内温度10~30 $^\circ\text{C}$ 、相対湿度50~100%、	照明	よしず透過自然光
栽培容器	瓶:ヒラタケ用PP製800mlフラー瓶 口径58mm		
	袋:菌床シイタケ用フィルター付1.3Kg詰用PP袋		

表 7 試験区分

試験区	栽培容器	培地詰量	発生施設	供試数	備考
1	瓶	500g	空調施設	13	
2	袋	500g	空調施設	9	
3	袋	1000g	空調施設	15	
4	袋	1000g	簡易施設	22	1999年5月12日~7月23日

## 2 結果と考察

### ア 栽培容器比較(袋と瓶)と簡易施設栽培試験

栽培容器別の子実体収量(生重)は、試験区1の瓶は培地 100g 当たり収量は 23.4g に対し試験区2の袋は 22.7g とほぼ同等であった。また栽培所要日数については、試験区2は試験区1に比較して平均培養日数は約 4 日長い第 1 回発生所要平均日数が約 14 日、第 2 回も約 5 日短いため、総栽培所要日数は約 15 日短くなった。

発生施設別の培地 1 袋当たり平均総収量は、試験区3の空調施設では 227.3g、試験区4の簡易施設では 247.0g と、ほぼ同等の収量を示した。

空調施設内では袋は瓶に比較して、総栽培所要日

数が短く収量は同等であった。簡易施設での袋栽培の可能性を検討したところ、本試験を実施した 5 月から 7 月の時期ならば簡易施設でも空調施設と同等の収量を得られることが明らかになった。従って、袋は簡易施設的环境下でも子実体原基形成可能な湿度を維持可能であり、ヤナギマツタケを簡易施設で発生させる手段として有効であると考えられた。

### イ 高温処理による培養中発生抑制技術

培養終了時に発生していた低品質な子実体重量は、22 $^\circ\text{C}$  区が  $27.1 \pm 28.8$  (平均  $\pm$  SD) g に対し、26 $^\circ\text{C}$  区が  $3.4 \pm 9.1$ g、30 $^\circ\text{C}$  区は 0 g であった。対照区に比較して高温処理区には抑制効果が確認された ( $H=11.46$ ,  $p < 0.01$ )。実収量に対する影響は、総実収量は 22 $^\circ\text{C}$  区が  $195.4 \pm 25.0$ g に対し、26 $^\circ\text{C}$  区が  $244.1 \pm 26.6$ g、30 $^\circ\text{C}$  区は  $168.3 \pm 65.3$ g であった。処理温度によって実収量に差が認められた ( $H=7.24$ ,  $p < 0.05$ )。

ヤナギマツタケの子実体形成は 26 $^\circ\text{C}$  で抑制されるとされており、本研究においても同様の抑制効果が認められた。本研究では培養中期以降、22 $^\circ\text{C}$  から 26 $^\circ\text{C}$  に昇温させることにより、培養途中の低品質子実体発生を抑制し、実収量が増加することが確認できた。従って、高温抑制処理による効率的なヤナギマツタケ袋栽培の可能性が示唆された。

### ウ CO<sub>2</sub>濃度による子実体形状変化

対照区では傘部 C/S 比(傘径/柄長)は約 0.3 であったのに対し、子実体原基形成時以降に袋を閉鎖して CO<sub>2</sub>濃度を上昇させた場合は、柄の部分が伸長し C/S 比が約 0.2 となり、有意な差が認められた (scheffe's 多重比較検定、 $p < 0.001$ ,  $n=178,150$ )。収量に変化はなく、本手法は付加価値の向上に有効と思われた。

## VII 総合考察

将来の活用が期待される遺伝資源として、106 種 345 系統の菌株を収集保存した。その中にはシイタケ、ヒラタケ、ナメコ等の従来栽培種の他に、本県では野生きのことして人気が高いナラタケ、含有成分の抗がん活性が注目されているハナビラタケ、アルツハイマー予防効果が認められているヤマブシタケ等が含まれる。

きのこの胞子欠損形質は、栽培品種の形質としては二次機能としてのきのこの品質向上、栽培者のアレルギー・施設汚染・野生種への遺伝子汚染等の防止に役立つとされる。ヤナギマツタケにおいては、胞子が成熟すると褐色になりきのこのが汚れて見えるため、二次機能の一つである嗜好性（見栄え）に影響がある。そこで、栽培上有利なヤナギマツタケ胞子欠損系統を簡易判別するためのマーカー遺伝子を探索した。その結果、アデニン要求性遺伝子をマーカー遺伝子とすると、子実体形成を待たずに約80%の確率で胞子欠損遺伝子が検出でき、今後は胞子欠損品種の育種を効率的に行うことが可能となった。

県西部の高標高域より、アラゲキクラゲの白色変異子実体を採集した。そこで、一次機能（ビタミンD<sub>2</sub>）増進技術と二次機能（食感）の簡易評価技術開発を目的として、日焼け用健康線蛍光ランプ照射後にビタミンD<sub>2</sub>含有量測定並びに子実体の厚さと破断強度を測定した。結果は、ビタミンD<sub>2</sub>含有量については照射区は350倍と大幅に増加した。子実体の劣化等は観察されなかった。子実体の平均厚さは、白色変異型は正常型の約半分であり、破断強度については、白色変異型は、正常型に比較して最初に破断する荷重値は低く、最終的に噛み切るのに必要な最大荷重値は大きかった。感覚的には「バリバリ」的要素が少なく、「プリプリ」的要素が多いと思われた。きのこの品質評価の一項目としての「食感」は重要と考えられるので、今後も適正な評価手法確立とそれを生かした品種の開発等を推進すべきと思われた。

微生物が生成する抗菌性物質では放線菌によるものが主体であって、きのこによるものはきわめて少ないとされている。きのこ類由来の抗菌性物質は数少なく、問題があることから現在臨床に用いられているものはない。しかし、近年は病原性大腸菌等の問題があることから、各種きのこ類の大腸菌群に対する抗菌性を検討した。その結果、弱いながらも複数種のきのこに抗菌活性が認められた。今後はさらに対象を広げて検索すると共に、活性の強い系統をスクリーニングするための簡便なバイオアッセイ手法を確立する必要がある。

アラゲキクラゲ白色変異株の栽培特性を把握するため、発生比較試験を行った。結果は、白色変異株

の平均的な収量は1.5%（子実体乾重/培地湿重量）であった。アラゲキクラゲの平均的な収量は4%であり、より高収量系統の作出と選抜が必要と思われた。また、16℃の低温条件下では市販品種はほとんど発生しなかったが、白色変異株は発生可能なことが判明した。本株は高標高地で採取されたもので、低温条件に適応した形質を持つものと推察された。

菌床栽培技術が未だ開発されていないきのこのマスタケ（色が鮭の身のように赤く、鶏肉のような食感）について栽培試験を実施したところ、小型子実体発生に成功した。しかし収量が1瓶あたり約10gと少なく、実用化は困難と思われた。

ヤナギマツタケ栽培品種として有利な特性である、胞子欠損形質を持つ新品種を開発した。野生型と自然突然変異による胞子欠損系統を交配させ、得られた系統の特性を調査し最終的に1株を選抜した。その選抜株について、遺伝的特性・生理的特性・栽培的特性・形態的特性の種苗特性分類調査を行い、農水省種苗課へ品種登録を出願し、平成13年10月18日に登録された（第9509号 登録名称「しゃき丸」）。さらに、平成16年3月17日には品種利用許諾を神奈川県林業協会へ行い、栽培者からの種菌生産要望に対応可能な体制を整備した。

従来よりヤナギマツタケの生産はプラスチック瓶を使用した空調施設での菌床栽培が主流である。瓶栽培は子実体原基形成期からは培地表面が外気に直接接触するため、栽培環境調節が重要である。しかし現在では生産原価を落とす必要があり、空調経費は重要な問題である。一方、プラスチック製の栽培袋を用いたきのこ栽培も一般的に行われている。定温培養後に栽培袋を一旦開放後、袋上部を絞り培地表面の湿度を保持する手法により、空調設備のない簡易施設でも栽培可能である。つまり、栽培袋は発生操作の際に口の開け方を加減することにより培地表面湿度が容易に調節可能であるので、空調のない簡易施設に適した栽培容器である。

そこで、簡易施設における栽培袋を使用したヤナギマツタケ新品種栽培の可能性、並びに高温処理による培養中の発生抑制技術を検討した。さらに、きのこ発生時に袋を閉じていると袋内二酸化炭素濃度が上昇するが、濃度が高まることによる傘の展開阻害と柄の伸長効果についても検討した。



結果は、空調施設内では袋は瓶に比較して総栽培所要日数は短く収量は同等であった。簡易施設での袋栽培の可能性を検討したところ、本試験を実施した5月から7月の時期ならば簡易施設でも空調施設と同等の収量を得られることが明らかになった。従って、袋栽培はヤナギマツタケを簡易施設で発生させる手段として有効であると考えられた。

高温処理による培養中発生抑制技術について、高温処理区には抑制効果が確認された ( $H=11.46$ ,  $p < 0.01$ )。実収量に対する影響は、総実収量は22℃区が $195.4 \pm 25.0g$ に対し、26℃区が $244.1 \pm 26.6g$ 、30℃区は $168.3 \pm 65.3g$ であった。処理温度によって実収量に差が認められた ( $H=7.24$ ,  $p < 0.05$ )。ヤナギマツタケの子実体形成は26℃で抑制されるとされており、本研究においても同様の抑制効果が認められた。また、培養中期以降、22℃から26℃に昇温させることにより、培養途中の低品質子実体発生を抑制し、実収量が増加することが確認できた。従って、高温抑制処理による効率的なヤナギマツタケ袋栽培の可能性が示唆された。

二酸化炭素濃度による影響については、柄部分を長くするため栽培瓶をビニール袋に入れ、収穫直前に袋の口を絞ることにより、CO<sub>2</sub>濃度を高める手法により発生させ、収量とC/S比(傘径/柄長)を測定したところ、収量変化は無かったが、C/S比(傘径/柄長)が減少し子実体が好ましい形状になった。本手法は付加価値の向上に有効と思われた。

## VIII おわりに

本研究では目標である本県独自の高付加価値品種と低コスト生産技術の開発提供を実現し、さらに県内の生産者団体へ品種利用許諾を行い、新品種の普及と産地化への道を開くことができた。しかし、実際の栽培現場における安定栽培技術の開発については、栽培現場が多様な環境であること、研究期間の制約等により、基礎的な知見の収集に留まった。

前述したとおり栽培現場の多様な環境では、品種や技術開発の過程においては発生しなかった問題が懸念される。今後の本格栽培に向けて、県普及指導事業及び関係機関と連携を図りながら、品種や技術の普及を図っていく必要があると思われる。

## IX 謝辞

本研究は林野庁森林総合研究所(現名称 独立行政法人森林総合研究所)を中核機関とし、23県の林業関係試験研究機関並びに財団法人日本きのこ研究所の計25機関が参画して共同実施された事業の一環として実施したもので、林野庁研究普及課並びに参画機関の皆様には多くのご助言とご指導を頂いた。

効率的栽培技術の開発にあたっては、多くのきのこ生産者及び単位農協・伊勢原市菌床生産組合・県林業普及部門等の関係機関に多大なご支援を頂いた。

本橋伸夫氏、尾沢沙織氏、西村幹雄氏、小出奏氏、妻田かよ子氏、猪頭友子氏、井上幸子氏、大久保陽子氏、孔大徳氏の皆様には、研究ボランティアとして各種業務を補助して頂いた。

自然環境保全センター研究部の皆様には取りまとめ・収量調査・培地調整等にあたり大変お世話になった。ここに深く感謝の意を表する。

## X 引用文献

- 藤澤示弘(1999)ヤナギマツタケ菌床栽培容器の比較. 第51回日本林学会関東支部大会講演要旨集:38
- 藤澤示弘(2000)栽培袋を利用したヤナギマツタケの菌床栽培. 第52回日本林学会関東支部大会講演要旨集:42
- 藤澤示弘(2001a)栽培袋を利用したヤナギマツタケの簡易施設栽培. 神奈川県自環保セ研報28:7-11
- 藤澤示弘・関谷敦(2001b)ヤナギマツタケの栽培環境が柄の破断特性に与える影響. 第51回日本木材学会大会研究発表要旨集:432
- 藤澤示弘(2002a)ヤナギマツタケ菌床栽培における高温抑制処理効果. 神奈川県自環保セ研報29:15-18
- 藤澤示弘・木下清子(2002b)きのこ資源の利用技術の研究開発. 神奈川県自環保セ業報34:28-29
- 藤澤示弘(2002c)きのこ資源の利用技術の研究開発. 神奈川県自環保セ業報34:28-29
- 長谷部公三郎(1991)シイタケの突然変異及び農業形質に関する遺伝・育種学的研究. 菌蕈研報

- 29:1-69.
- 木内信行 (1997) ニュータイプきのこ資源の利用技術の研究開発. 神奈川県森林研業報 29:38-39
- 木内信行 (1998a) ヤナギマツタケにおける突然変異体の遺伝分析. 神奈川県森研研報 24:1-8
- 木内信行 (1998b) きのこの担子胞子欠損形質に関する遺伝子の効率的な分離に関する基礎的研究. 神奈川県森林研業報 30:26-27
- 木内信行 (1998c) ニュータイプきのこ資源の利用技術の研究開発. 神奈川県森林研業報 30:22-23
- 大政正武 (1992) 菌株の保存法. 51-53.
- 用きのこの遺伝子組み換え・品種改良試験法及び品種登録法解説. 古川久彦・大政正武・馬場崎勝彦共著, 85pp, 林業科学技術振興所, 東京.
- 林野庁 (2004) 平成15年特用林産基礎資料. 108pp, 林野庁経営課特用林産対策室, 東京.

附表1 収集菌株リスト

No	種名	系統数	No	種名	系統数	No	種名	系統数
1	Isaria sp.	4	41	シイタケ	13	81	ヒカゲシビレタケ	1
2	アイカワタケ	1	42	シハイタケ	1	82	ヒメマツタケ	2
3	アイゾメシバフタケ	1	43	シメジモドキ	1	83	ヒラタケ	15
4	アミガサタケ	2	44	シヤカシメジ	1	84	ヒラタケsp.	1
5	アラゲキクラゲ	13	45	シロキクラゲ	1	85	ヒラフスベ	1
6	アワタケ sp.	1	46	シロシメジ	1	86	ヒロメノトガリアミガサタケ	2
7	アンズタケ	1	47	シロヌメリイグチ	1	87	ブナシメジ	6
8	イタチナミハタケ	1	48	スギタケモドキ	1	88	ブナハリタケ	2
9	ウススキキヌガサタケ	1	49	スギヒラタケ	1	89	ベッコウタケ	2
10	ウスヒラタケ	5	50	スッポシメジ	1	90	ホテイシメジ	2
11	ウツギサルノコシカケ	1	51	タモギタケ	1	91	ホンシメジ	5
12	ウラムラサキシメジ	1	52	チャアナタケ	3	92	マイタケ	8
13	エゾハリタケ	1	53	チャアナタケモドキ	1	93	マスタケ	5
14	エノキタケ	5	54	チャナメツムタケ	4	94	マツオウジ	3
15	エビタケ	3	55	ツキヨタケ	3	95	マツシユルム	1
16	エリンギ	6	56	ツチスギタケ	1	96	マンネンタケ	5
17	オオイチョウタケ	3	57	ツバナシフミジキタケ	2	97	ミヤマトンビマイ	3
18	オオヒラタケ	2	58	ツバナラタケ	1	98	ムカシオオミダレタケ	2
19	オオミヤマトンビマイ	1	59	ツリガネタケ	1	99	ムキタケ	3
20	オオワライタケ	1	60	ツリバリサルノコシカケ	1	100	ムサシタケ	3
21	オニフスベ	2	61	トガリアミガサタケ	3	101	ムラサキシメジ	4
22	カミカワタケ	1	62	トキイロヒラタケ	2	102	ヤチナラタケ	1
23	カヤタケ	1	63	ナガエノヤグラタケ	1	103	ヤナギマツタケ	17
24	カラカサタケ	1	64	ナメコ	6	104	ヤマウバノカミノケ	4
25	カワラタケ	2	65	ナラタケ	25	105	ヤマブシタケ	6
26	カンゾウタケ	1	66	ナラタケ sp.	18	106	ヤワナラタケ	4
27	カンバタケ	1	67	ナラタケモドキ	2			
28	キクラゲ	4	68	ニオイオオタマシメジ	1			
29	キシメジ	1	69	ニオウシメジ	2			
30	キツブナラタケ	1	70	ニガクリタケ	2			
31	キヌガサタケ	4	71	ニセホウライタケ	1			
32	クリタケ	4	72	ヌメリスギタケ	4			
33	クローアワビタケ	1	73	ヌメリスギタケモドキ	5			
34	クロゲナラタケ	1	74	ヌメリツバタケ	1			
35	コムラサキシメジ	5	75	ヌメリツバタケモドキ	6			
36	サケツバタケ	1	76	パイリング	2			
37	ササクレヒトヨタケ	3	77	ハタケシメジ	17			
38	サナギタケ	1	78	ハナビラタケ	4			
39	サマツモドキ	1	79	ハナビラニカワタケ	2			
40	サンゴハリタケ	2	80	ハルシメジ	1			