

学 位 論 文 題 名

シイタケの突然変異および農業形質に関する
遺伝・育種学的研究

学位論文内容の要旨

シイタケは我が国における最も重要な食用菌叢の1つであり、今日までに多数の品種が育成されているが、現今の交雑育種は、比較的限定された素材を用いており、基礎となる遺伝・育種に関する知見に乏しい。本研究では、まずシイタケの種々の突然変異を用いて遺伝学および細胞学的な解析を行い、想定される8連鎖群の確立を目標として連鎖分析を行った。さらに実用形質の遺伝と効率的な選抜法を検討すると共に遺伝資源として重要なシイタケ自然集団における作型や収量関連形質、不和合性因子構成などを調べた。

シイタケの生活環は単相、二核相および複相の3種から成り、本研究に供試した各核相（発育段階）で発現する突然変異としては、①単相細胞から成る一核菌糸体の生育およびコロニー形成における形態的突然変異、②二核相菌糸体の形成過程（クランプ形成過程）における異常クランプ形成突然変異、③複相から単相への核相交替の過程で発現する担子孢子欠損突然変異および④核相交替を経た単相細胞（担子孢子）の発育初期に発現する配偶体致死突然変異である。研究成果は下記のように要約される。

まず、16種の形態的突然変異体を、それらの菌糸あるいはコロニー形態に基づき4型に類別し、1種の変異体には互いに独立な2つの劣性遺伝子、他の15種の変異体にはそれぞれ単一の劣性遺伝子が関与しており、新たに12種の劣性遺伝子（*mor-1*～*mor-12*）を見出した。異常クランプ形成突然変異体は、異常に伸長したフック細胞と次端細胞の隔膜近傍から生じた突起とが融合して、異常なクランプ構造により二核相を保持する特徴を有していた。この変異形質には不和合性因子 *A* および *B* と独立関係にある単純劣性遺伝子 *clp* が関与し、*clp* と組換え価30%程度で連鎖する優性の抑制遺伝子の存在も示唆された。さらに、子実体が正常な担子孢子を形成しない *sporeless* 突然変異体は担子器成熟が小柄形成段階あるいは形成直後で停止し、その後担子器は崩壊した。この変異形質には、不和合性因子（*A* および *B*）および4種の *mor* 遺伝子（*mor-2*, *mor-3*, *mor-4* および *mor-11*）のいずれとも独立な単純劣性遺伝子 *spo* が関与して

いた。担子胞子の発芽に異常が認められる TMI-655の担子胞子形成からコロニー形成に至る過程を解析した結果、胞子発芽および菌糸生育のそれぞれの初期段階に作用する互いに独立な2種の配偶体致死因子 (*l-1*および*l-2*) によることが明らかになった。また、2種の致死因子はいずれも TMI-655の一方の構成核に保有され、di-mon 交配によって伝達された。*l-1*は不和合性因子 *A* と8~10%の組換え価で連鎖していた。

つぎに上記16種の遺伝子と11種の栄養素要求性遺伝子および不和合性因子 (*A* および *B*) に関して連鎖分析を行い、予想される8連鎖群のうち以下の5連鎖群を見出した。

第I連鎖群 — *mor-1* ——— *A* ——— *mor-7* ——— *mor-11*, *ade-5*, *l-1*

第II連鎖群 — *B* ——— *mor-8* ———

第III連鎖群 *mor-3*, *mor-6*, *ade-2*, *ade-6*, *ade-7*

第IV連鎖群 — *mor-4* ——— *met-1* ———

第V連鎖群 *ade-8*, *ade-12*, *met-2*, *met-5*, *met-8*, *nic-4*

これらの標識遺伝子は将来一核菌糸レベルでの効率的な選抜におけるマーカーとして役立つと考えられる。

トリコデルマ耐性に関する選抜試験を TMI-655の戻し交雑 (B_1) 集団を用いて行った。木粉培地を用いた室内におけるトリコデルマ耐性試験において強耐性と判定されたグループは、ほど木を用いた条件においても強耐性を示し、トリコデルマ耐性検定法は菌糸体レベルにおける早期検定法として役立つと考えられる。また、TMI-655の戻し交雑株および自殖 (S_1) 株を用いて、室内トリコデルマ耐性の遺伝を検討した結果、耐性は優性に発現する多数の微働遺伝子によると推察された。

ほど木栽培における子実体発生時期を気温の推移に従って高温型 (H型)、中温型 (M型)、低温型 (ML型) および低温型 (L型) の4種の発生型に区分し、交雑 F_1 株、自殖株および戻し交雑株を用いて、H型の遺伝を検討した結果、優性に発現する少数の主働遺伝子の関与すること、供試した既存菌株の TMI-643はこれらの遺伝子をホモに持つことが示唆された。

自然集団における発生型および収量関連形質の変異を、北海道、中国およびパプア・ニューギニアの野性株を用いて調査した。中国の自然集団は北海道およびパプア・ニューギニアの自然集団に比較して、4形質について明らかに広い幅の変異を示した。発生型と地理的分布との間には密接な関係が認められ、北海道およびパプア・ニューギニアにはH型およびM型が、中国にはL型を中心に他の3型が分布していた。また、H型とM型には子実体の最多発生の時期および発生時期の幅が異なる幾つかの亜型が認められ、北海道には発生時期の幅の狭いもの、パプア・ニュー

ギニアにはその幅の広いものが多く分布した。種菌を接種した初年目に多量の子実体を発生する超早生型、発生数が極端に多い子実体数型、および1個重が極端に大きい子実体重型などは、今後の育種素材として有望な変異である。

北海道の自然集団における不和合性因子構成を調査した結果から、北海道の自然集団は未だ栽培品種によって汚染されていないと判定された。同一基質から採集された野生株を除く42株を分析した結果、62のA因子と68のB因子を確認した。栽培品種による遺伝子汚染の顕在化している西日本の自然集団では変異が1/2に減少していた。

有用な突然変異として sporeless 変異体は担子胞子の吸入に起因する栽培者の健康障害の解消だけでなく、生態系における遺伝資源の保全のためにも有用である。また、本研究によってトリコデルマ耐性の選抜を効率的に実施するために早期検定法と特性検定試験法が確立された。これらの研究結果は今後のシイタケ育種に役立つ所が大きいと考える。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 木 下 俊 郎

副 査 教 授 八 鍬 利 郎

副 査 教 授 中世古 公 男

副 査 教 授 生 越 明

シイタケは我が国における重要な食用菌類の一つであるが、育種の基礎となる遺伝的知見に乏しい。本研究ではシイタケで見出された各種の突然変異体を用いて、遺伝および細胞学的な解析を行うと共に2、3の実用形質についての効率的な選抜法の検討や遺伝資源として重要なシイタケ自然集団における作型や収量形質、不和合性因子構成などを調査した。

本論文は4章より成り、143頁で表51と図69を含む。主な内容は下記の如く要約される。

- (1) まず、一核菌糸体の16種の形態的突然変異体を、それらの菌糸あるいはコロニー形態に基づき4型に類別し、それらの内の一つの変異体には互いに独立な2種の劣性遺伝子、他の15種にはそれぞれ単一の劣性遺伝子が関与していることを明らかにし、相補性検定により12種の劣性遺伝子 (*mor-1* ~ *mor-12*) を同定した。
- (2) 二核菌糸体の異常クランプ形成突然変異体は、異常に伸長するフック細胞と次端細胞の隔

膜近傍から生じる突起とが融合する特徴を有し、この形質には、不和合性因子 *A* および *B* と独立関係にある単純劣性遺伝子 *clp* が関与していた。

- (3) 子実体が担子胞子を全く形成しない突然変異体では担子器成熟が小柄形成段階あるいは形成直後に停止し、その後担子器が崩壊する。この形質には、不和合性因子や4種の *mor* 遺伝子のいずれとも独立な関係を有する単純劣性遺伝子の *spo* が関与していた。
- (4) 担子胞子の発芽異常が認められる変異体では、胞子発芽および菌糸生育のそれぞれの初期段階に作用する互いに独立な2種の配偶体致死因子 (*l-1* と *l-2*) が関与していた。また、2種の致死因子は一方の構成核に保有され di-mon 交配により伝達された。*l-1* は不和合性因子 *A* と8~10%の組換え価で連鎖していた。
- (5) 29種の標識遺伝子について連鎖分析を行い、基本染色体数から予想される8連鎖群のうちの5連鎖群までを見出した。これらの標識遺伝子はいずれも一核菌糸レベルでの選抜のためにマーカーとして役立つ。
- (6) トリコデルマ耐性に関する選抜試験を戻し交雑集団を用いて行った。木粉培地を用いた室内耐性試験で強耐性と判定されたグループは、ほだ木条件でも強耐性を示したことから、早期検定法として役立つことを確かめた。この室内トリコデルマ耐性の遺伝には優性に発現する多数の微働遺伝子が関与していた。
- (7) ほだ木栽培における子実体発生時期を気温の推移に従って、高温型 (*H* 型)、中温型 (*M* 型)、中低温型 (*ML* 型) および低温型 (*L* 型) の4種の発生型に区分し、*H* 型には、優性に発現する少数の主働遺伝子の関与することならびに既存の菌株中にはそれらの遺伝子をホモに持つ系統が含まれることを明らかにした。
- (8) 自然集団における発生型および収量形質の変異を、北海道、中国およびパプア・ニューギニアの野生株について調査し、中国の自然集団が他の2集団に比較して、4形質について広い幅の変異を有することや発生型と地理的分布との間には密接な関係があり、北海道には発生時期の変異幅の狭いものが多く、逆にパプア・ニューギニアには変異幅の広い型が分布することを見出した。その外、超早生型、子実体数型、および子実体重型のような特徴ある育種素材が含まれていた。
- (9) 北海道の自然集団における不和合性因子構成を調査した結果、北海道の自然集団は未だ栽培品種によって汚染されておらず、遺伝子汚染の顕在化している西日本の自然集団では不和合性因子の変異が1/2に減少していた。

以上の研究成果はいずれも今後のシイタケ育種に役立つ所が大きい、特に無担子胞子変異体

は栽培者の孢子吸入による健康障害の解消に役立つのみならず、生態系における遺伝資源の保全のためにも有効である。

よって審査員一同は別に行った学力確認試験の結果とあわせて、本論文の提出者長谷部公三郎は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。