



熊本での長期研修 ～ DNA を利用したきのこの育種に向けて～

一 はじめに

林業研究所で主にきのこの分野を担当している小野寺杏仁です。大学院卒業後、令和五年四月に採用された社会人になりたての新米研究員です。学生時代はきのこのチシオタケ（食不適）を研究しており、林業分野は専門外ですが、先輩の指導を受けながら、日々、きのこの栽培をはじめとする研究業務に励んでいます。

採用一年目ということで、ここに報告できるだけの研究成果はまだ出せておりませんが、研究業務に必要な技術習得を目的に、熊本県熊本市にある、国立研究開発法人 森林研究・整備機構 森林総合研究所 九州支所（以降、「九州支所」という）（図1、2）へ長期研修に行ってきましたので、今回は、そこで学んだこと、経験したことなどを報告します。



図1 九州支所の入り口



図2 九州支所の共同実験棟（CLTパネル使用）

長期研修は、七月九日から九月二日までの約二か月間で、人生初の九州沖活となりました。宿泊していた九州沖縄農業研究センターの寮が雷の直撃を受けて停電した時は、空調もなにも使えないと言われ、土地勘のない中で必死に宿探しをしたこともありました。青森とは異なる過酷な暑さと雨がある夏の時期ではありましたが、熊本の食と観光（図3）も楽しみながら、有意義に過ごしてきました。

二 研修で学んだこと

研修の目的は、きのこの育種を効率化・迅速化するために、遺伝子情報に基づき選抜技術を習得することです。これまで、林業研究所のきのこの育種は、野生株を用いた交配株の作出と栽培試験による選抜を主たる方法として取り扱っていました。この方法は時間と労力が大きくかかる上に、稀に突然変異が生まれることはありますが、親株の形質から大きく外れるものを生み出すのは難しいという特徴がありま

す。そこで、栽培選抜を省力化するために菌糸の状態でも形質や性質が分かるDNAマーカーの作成技術と、形質の遺伝子様式を解明するとともに全く新たな形質を得るためのプロトプラスト（細胞壁を取り除いた細胞）の作成技術を習得するため、DNAマーカーを活用した研究を行っている九州支所で研修させていただくことになりました。

DNAマーカー作成は、きのこを交配させ、孫世代まで発生させたのち特徴を評価して、連鎖地図（遺伝子がどの染色体のどの位置に存在するかを表すもの）のデータから複数の遺伝子で制御されている形質の遺伝子座の位置や数、影響の大きさを推定するQTL解析を行うことで、マーカーの設計を行います。研修では期間が限られていることから、各過程の手法を個別で学んできました。内容としては、交配の材料となるプロトプラストなどの作出方法、ゲノムシーケンス結果から、解析用のソフトを用いて連鎖地図の作成やQTL解析を行う方法、解析結果からプライマー（DNA複製時の開始点となるRNA）を設計する手法等で、これらの手法を組み合わせることで、きのこを形成させずに菌糸の状態、特徴の有無を判別することができるようになります。



【加藤清正像】



【細川氏ゆかりの水前寺成趣園】



【復旧した熊本城大天守】



【祭りやくまモンスクエアで踊るくまモン】



【熊本のソウルフードの太平洋燕】



【豚骨ベースの熊本ラーメン】

図3 熊本観光での名所と名物

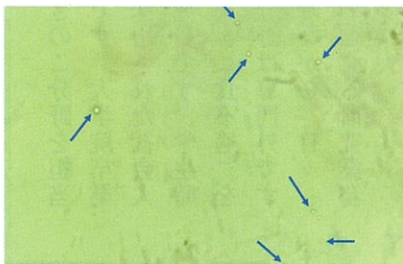


図5 アラゲキクラゲのプロトプラスト



図4 液体培養した菌糸

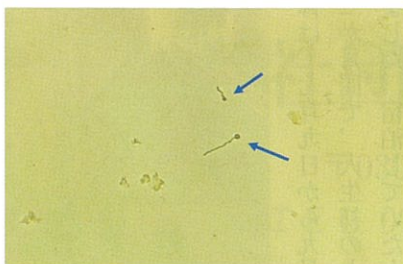


図6 ナメコのプロトプラストと再生菌糸



図7 福岡県農林総合試験場のスマートきのこ研究棟



図8 シイタケ発生作業

一核菌糸（遺伝子情報を持つ染色体が一組しかない菌糸）の作出や紫外線（以下、UVという）処理による突然変異誘導のために必要なプロトプラストは、液体培地内で培養したきのこの菌糸（図4）に対して酵素処理を行い、細胞壁のみを溶かして作成します。通常、複数の細胞が並んで菌糸になっ

ていますのが、プロトプラスト化によって単一の細胞になる上に、細胞壁を失った無防備な状態（図5、6）になります。その状態のプロトプラストに対し、UVを当てると通常の状態よりも短時間で変異処理ができます。研修ではアラゲキクラゲとナメコを使用し作成を試みましたが、品種により最適な酵素の種類や組み合わせが異なることが分かりました。また、UV処理の際にも細胞が死滅しないぎりぎりの時間のUV処理を行うことで、変異導入できる確率が上がるため、効率よくプロトプラスト化やUV処理による変

異導入を行う際は、その都度最適な条件検討を行う必要があることが分かりました。
三 九州のきのこ
長期研修中に福岡県農林総合試験場資源活用研究センター（久留米市）を見学する機会をいただきました。福岡県農林総合試験場は、博多ラーメン専用の小麦やイチゴの定番となっている「あまおう」のほか、ナシやイ

チジク、花卉類の開発を行っています。令和三年度のきのこ生産量が長野、新潟に次いで三位の福岡県（※1）は、新たなきのこ品種の開発にも力を入れています。年々高くなる気温に対応するために高温でも発生するブナシメジヤシイタケ、純白のエノキや無胞子性のヌメリシイタケなど幅広く取り扱っており、改良を続けているとのことです。

令和三年に完成したスマートきのこ実験棟（図7）では、シイタケの菌糸を袋から取り出す発生作業（図8）などを見学しました。実験棟内には培養室と発生室が各四部屋と、菌掻き機や殺菌釜などがあり、発生室は一部屋を除き、温度や湿度のほかに二酸化炭素濃度も調整できる仕様になっていました。企業と共同で開発した、廃菌床を燃料として発電できるバイオマスボイ



図10 チャタマゴタケの幼菌



図9 チャタマゴタケの成菌



図12 20cmを超えるニオウシメジ



図11 ニオウシメジ

ラーは、はじめはチップなどの燃料で燃焼し、その熱で60%ほど残っている廃菌床の水分を蒸発させます。その後、乾燥した廃菌床を燃料として燃焼させ、再度その熱で新たな廃菌床を乾燥させるとともにタービンを回転させて発電を行う仕組みになっていました。実験棟の天井に設置された太陽光パネルと併用し、設備の電力の供給の一部となっているそうです。生産量の多い福岡だからその大量に廃棄される菌床をきのこ生産のエネルギーに再度使えるポイラーの開発が進んだことがうかがえました。

熊本にいたる間、青森では見ることができない野生のきのこに巡り合うことも出来ました。熊本大学キャンパス内で見つけたチャタマゴタケ(図9、10)は、日本では暖帯に分布しており、沖縄、熊本、京都で採取されています(※2)。九州支所敷地内で見つけた大ぶりのきのこニオウシメジ(図11、12)は大人でも一抱えもあるほどの大きさになります。世界では暖帯、日本では群馬以南に分布しているきのこです(※2)。どちらのきのこも青森県には分布しておらず、長期滞在ゆえに出会えたことを考えると、とても貴重な経験をすることができました。

四 研究への活用予定と今後

本研修で習得したプロトプラストの作成とUV照射による変異処理の技術は、青森きくらげ(青AK1号)の生産販売上の課題解決のための育種への活用を予定しています。しかし、今回の研修ではプロトプラストの作出量が効率的に変異処理を行うには不足していたため、先だって最適な酵素の組み合わせ等の条件を明らかにする必要があります。また、UV処理による目的形質の作出は狙ってできるものではなく、確率的に発生するものなので、持続的に菌株の作出と栽培試験によるきのこの確認を行い、多様な形質を持つた遺伝資源の入手を目指す必要があります。

変異導入や交配による育種によって、今後、きのこに優良な形質が得られた際は、今回の研修で習得した手法を利用し、ゲノム解析からDNAマーカーの設計と開発を行い、菌糸の状態での優良な形質の有無を判定できるようにすることで、選抜作業の効率化を図っていきます。

福岡県の見学では、近年の暑さで栽培きのこの発生状況が悪化しているのが課題で、暑さに耐え得るきのこの開発を行っていると同いました。今年の青森県での記録的な猛暑のような気候が今後も続くようであれば、青森県で

も、暑い夏に耐え、問題なく生育する特徴を持つ品種がいずれは必要になるかもしれません。

新たな技術を取り入れつつ、九州などで起こっているきのこの問題が、いずれ青森でも起こる可能性を視野に入れ、常にアンテナを張りつつ、研究に取り組んでまいります。

五 謝辞

今回の研修では実験方法や研究時の考え方で、九州支所 森林微生物管理研究グループ グループ長 木下晃彦氏に御指導いただきました。また、九州支所の方々には研修中に温かく接していただき、研修生活に御協力をいただきました。ここに改めて感謝申し上げます。

(地独) 青森県産業技術センター

研究員 小野寺 杏仁

(引用文献)

(※1) 「政府統計の総合窓口(e-Stat)」、「特用林産物生産統計調査(林野庁)」「令和3年特用林産基礎資料、きのこ類の生産量」

(※2) 今関六也・大谷吉雄・本郷次雄(2011) 山溪カラー名鑑日本のきのこ 増補改訂新版P75、p153