

(様式第 13号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: 米山 彰造

題目: タモギタケの突然変異および健康機能性成分の育種利用に関する研究
(Study on the utilization of mutation and health beneficial component in
breeding for *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*)

ヒラタケ属の食用きのこの一種であるタモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*) は高い抗酸化作用を持つアミノ酸の一種、エルゴチオネイン (L-ergothioneine, EGT) を多く含有することが特徴として知られている。一方、栽培においては、収穫前の子実体から放出される大量の胞子が、通称「きのこ肺」と呼ばれるアレルギー性の肺疾患、施設の汚染、それに伴う病虫害発生、子実体の品質低下など様々な問題を引き起こすため、タモギタケ生産の発展を考える際の障害となっている。本研究は、品種育成を通じてタモギタケの消費および生産拡大への貢献を目的とし、紫外線照射により胞子欠損性突然変異体を分離し、その育種利用に資するDNAマーカーを用いた効率的育種選抜技術 (Marker Assisted Selection, MAS) を開発するとともに、EGT含量に関する遺伝解析を行い、胞子欠損性とEGT含量において優位性を併せ持つ品種の育成を行った。

1. タモギタケ栽培品種由来プロトプラストへの紫外線照射により、胞子形成能が野生型の1/1000以下に低下した胞子欠損性変異体108Y2Dを分離・調製した。遺伝分析により、本変異体の胞子欠損性は一因子性の優性変異と推察された。本変異体の子実体ヒダの走査型電子顕微鏡観察により、長径が顕著に異なる胞子、皺状に萎縮した胞子、さらに担子器上に形成される小柄が4個より少ないケースが多く観察され、ギムザ染色による担子器内の観察では、減数分裂までは正常に終えた後、担子器内に留まる核が多数観察され、一方で担子器上には核を有しないか成長が停止した胞子や小柄が観察された。以上の結果より、本胞子欠損性変異株では減数分裂後の四分子核の移動あるいは胞子形成、胞子の成熟に関与する遺伝子に突然変異が生じていることが示唆された。

2. 変異体108Y2D株の胞子欠損性の原因となる変異点を、主に次世代シーケンサー解析によるゲノム比較解析により探索した。その結果、野生型である元ゲノムのコンティグ12、1,229,199 bpの位置に生じたSNP (C→T) が胞子欠損性変異に関わっていることを見出した。胞子欠損性品種育種へのMAS導入を目的に、変異型検出用のアレル特異的PCRマーカー、“Tamogitake spo”を設計し、簡易DNAを用いたリアルタイムPCR法での検定系を確立した。

続いて、QTL形質と推定されているEGT含量に対して、高含量株（8.4 mg/g-dw）と低含量株（0.25 mg/g-dw）との交配株を作出し、その分離集団を用いて主にRAD（Restriction-site Associated DNA Sequencing）マーカーをマッピングした12連鎖群からなる遺伝連鎖地図を構築した。続いて、高含量親株由来の単核系統との戻し交配株のEGT含量を調査し、その値に基づいてEGT含量形質についてのQTL解析を行った。その結果、CIM（Composite Interval Mapping）法による解析により、連鎖群LG10に1 QTL（QTL-EGT）が検出された。QTLピーク近傍の推定遺伝子領域に遺伝子型と表現型とがよく対応するSNP（A/T）が見出され、野生株集団においてもEGT含量の高低に対応して保存されている傾向がみられた。以上より、本SNP（A/T）はQTLマーカー作製に繋がる基盤情報と考えられる。

3. 孢子欠損性変異体108Y2Dを育種基盤材料として、Tamogitake spo マーカーを用いたMASの検証を兼ねながら、育種形質に優れた野生型素材との交配を反復した。一方で、EGT含量の高い素材についても同様の交配の反復を行い、最終的に第4世代となる孢子欠損性系統と第2世代となるEGT高含量系統との間で交配を行い、多角的かつ段階的な選抜を繰り返した。その結果、登録要件を満たす孢子欠損性とEGT含量における優位性を兼ね備えた1株、61633を選抜することができ、品種登録された。また、本株の大規模栽培における飛散胞子の粉塵調査を行ったところ、対照株の1/10以下、労働環境基準値の1/5まで低減し、当該変異の有効性が実証された。登録品種はEGT含量に優位な孢子欠損性タモギタケとして、北海道だけでなく、全国的な生産拡大および消費に貢献することが期待される。