

B-4 シイタケにおけるウイルスフリー化の検討

○太田 千奈¹⁾, 高橋 信¹⁾, 枝 克昌¹⁾, 福井 隆夫¹⁾, 鮎澤 澄夫¹⁾, 馬替 由美²⁾

1)株式会社 北研・食用菌類研究所, 2)独立行政法人 森林総合研究所

Trial of making virus-free strain of cultivated commercial *Lentinula edodes*.

○China OHTA¹⁾, Shin TAKAHASHI¹⁾, Katsumasa EDA¹⁾, Rikuo FUJII¹⁾, Sumio AYUSAWA¹⁾ and Yumi MAGAE²⁾

1)Edible Mushrooms Inst., Hokken Co., Ltd.,

2)Forestry and Forest Products Research Institute

[目的]

カビやキノコなどの菌類を宿主とする菌類ウイルスについては、1962年 Hollings が La France 病のツクリタケから病原体として検出したのが最初の発見である。ツクリタケの La France 病は子実体の奇形や発生の遅延、発生量の著しい減少などの病的症状を示し、大きな被害をもたらした。その後、日本国内でもシイタケからウイルスの検出が報告されているが、そのほとんどが無病徴であったため、ウイルスは病害因子と見なされてこなかった。しかしながら一方では、エノキタケで褐変症状を誘起するウイルスが明らかになり、また、奇形シイタケでも新たにウイルスが検出されてきている。そこで、現場で発生している数多くの栽培不良症状の原因として、改めて菌類ウイルスに注目した研究を開始している。本研究では、2本鎖 RNA の検出されたシイタケ菌 2 菌株について¹⁾、ウイルスフリー化を目的として各種処理を試みたので、その結果について報告する。

[方法]

ウイルス感染株として 2 本鎖 RNA の検出されたシイタケ菌 2 菌株を用いた。ひとつは「菌床表面の褐変化不良」の不良症状がみとめられた菌床の不良部位から組織分離して得られた菌株で、もうひとつは正常と思われる菌株である。これら 2 菌株にウイルスフリー化を目的として以下の 4 種類の処理を試みた。

- ① 菌糸先端分離（菌糸先端を切り出して培養）
- ② 加熱処理（35～100℃の乾熱処理）
- ③ 低温処理（-85℃の低温処理）
- ④ 孢子（孢子発芽後の一核菌糸または二核菌糸）

上記処理を行った後 GPY 液体培地で 23℃約 1 ヶ月静置培養した菌糸を、りん酸バッファー中で破碎し、PEG8000 と NaCl を添加してウイルスを沈殿させた。得られたウイルスから 2 本鎖 RNA をフェノール抽出し、アガロースゲル電気泳動を行い、2 本鎖 RNA バンドの有無について確認した。

[結果および考察]

試験の結果、菌糸先端分離、加熱処理、低温処理では 2 本鎖 RNA の残存が認められ、ウイルスフリー化できなかったが、発生した子実体から得た孢子由来の菌糸体では 2 本鎖 RNA の消失が認められ、ウイルスフリー化されていることを確認した。

孢子的利用では元菌株と同じ性質の菌株を得ることは難しいが、品種内交配を行うことにより、元菌株に近いウイルスフリー株の作出、選抜が可能と思われる。また、mon-mon 交配であれば、親株のウイルス感染の有無を気にすることなく利用できることが示唆された。

ウイルス感染菌株をダイレクトにウイルスフリー化できる処理条件についてさらに検討するとともに、シイタケのウイルスと病害の関連性についても明らかにすることを今後の課題と考えている。

引用文献 1) 太田 他「栽培シイタケにおける 2 本鎖 RNA 因子の検出」日本きのこ学会誌(印刷中)