

明 細 書

発明の名称：

ヒラタケ属 (*Pleurotus* sp.)の新種及びその作出方法

技術分野

[0001] 本発明は、ヒラタケ属 (*Pleurotus* sp.)の複数の種を使用して新種を作成する方法とその新種に関するものである。

背景技術

[0002] 従来から日本国内に自生するヒラタケ属の種（以下、国内種という）としては、ヒラタケ(*P. ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer)、トキイロヒラタケ(*P. salmoneostramineus* L.Vass.)、タモギタケ(*P. cornucopiae* (Paulet) Roll and var. *citrinopileatus* (Sing.) Ohira)、クロアワビタケ(*P. abalonus* Y .H. Han, K.M. Chen & S. Cheng)及びウスヒラタケ(*P. pulmonarius* (Fr.) Quel.)等が知られている。なかでもヒラタケは特用林産物として親しまれてきたが、流通や料理の過程で傘が割れやすい等の欠点があり、1989年頃から国内の生産量が減少してきた。

[0003] 一方、日本国内には自生していないヒラタケ属の種（以下、外国種という）としては、エリンギ(*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel.)、ネブロデンシス (*P. nebrodensis* (DC.:Fr.) Quel.)、フェルラ (*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel. var. *ferulae* Lanzi)、エレオセリニ (*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel. var. *elaeoselini*) 及びバイリング (*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel. var. *tuoliensis* C.J.Mou) 等が知られており（非特許文献1，非特許文献2）、1995年頃からエリンギが日本で生産販売されるようになり、その数年後にはバイリングなども販売されるようになった。なかでもエリンギは人気商品となって国内の生産量が増加している。後発のバイリングなどは、エリンギと類似している等の理由から新たな市場としてマーケットを広げるには至っておらず、目新しい品種の開発が待望されている。

[0004] ところで、ヒラタケ属においては、最近、外国種において種間での交配が

確認されている（非特許文献2）。しかし、国内種と外国種との交配例はなく、系統樹についても別グループに分類できるため交配ができないとされている（非特許文献2、非特許文献3）。そのため国内種と外国種の両方の特徴を併せもつような新種の開発はいまだにされていない（特許文献1乃至6）。

先行技術文献

特許文献

- [0005] 特許文献1：特開2011-109941号公報
特許文献2：特開2011-110046号公報
特許文献3：特開2009-22218号公報
特許文献4：特開2008-104380号公報
特許文献5：特開2007-37455号公報
特許文献6：特開2006-67930号公報

非特許文献

- [0006] 非特許文献1：G. Venturella et al. *Pleurotus eryngii* var. *elaeoselini* var. nov. from Sicily, *Mycotaxon*, 76, 419-427 (2000)
非特許文献2：G. Kawai et al. Taxonomic position of a Chinese *Pleurotus* "Bai-Ling-Gu" : it belongs to *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quel. and evolved independently in China, *Mycoscience*, 49, 75-87(2008)
非特許文献3：D. Bao et al. The biological species of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) from Asia based on mating compatibility tests, *J Wood Sci*, 50, 162-168(2004)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0007] 本発明が解決しようとする課題は、国内種と外国種との種間で交配可能な組み合わせを見出し、国内種と外国種の特徴を併せ備える新種（種間雑種）と当該種間雑種を育成する方法に関する技術を提供することである。

課題を解決するための手段

- [0008] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねたところ、国内種のヒラタケと外国種のバイリング、ネブロデンシス又はフェルラとを交配させることに成功し、当該交配株にエリングイ又はエレオセリニなどを交配することでバラエティに富んだ種間雑種の育成を可能にする方法とその方法により得られた新種（種間雑種）を提供する。
- [0009] すなわち、請求項 1 に記載の発明は、ヒラタケに対してネブロデンシス、バイリング又はフェルラのいずれかを交配させることで、国内種のヒラタケと外国種との交配による種間雑種を得ることを可能とするヒラタケ属の種間雑種の育成方法である。
- [0010] 請求項 2 に記載の発明は、請求項 1 の方法により得られた種間雑種である。
- [0011] 請求項 3 に記載の発明は、請求項 2 の種間雑種とエリングイ又はエレオセリニのいずれかとを交配させることを特徴とするヒラタケ属の種間雑種の育成方法である。
- [0012] 請求項 4 に記載の発明は、請求項 3 の方法により得られたヒラタケ属の種間雑種である。
- [0013] 請求項 5 に記載の発明は、外国種であるネブロデンシス、バイリング、フェルラ、エリングイ又はエレオセリニのなかから、一方の親がネブロデンシス、バイリング又はフェルラのいずれかになるように任意に 2 種を選び、その 2 種間で交配をして得られた外国種の種間雑種とヒラタケとを交配することで国内種のヒラタケと外国種との種間雑種を得ることを特徴とするヒラタケ属の種間雑種の育成方法である。
- [0014] 請求項 6 に記載の発明は、請求項 5 の方法で得られたヒラタケ属の種間雑種である。
- [0015] 請求項 7 に記載の発明は、ネブロデンシス、バイリング又はフェルラに換えてネブロデンシス、バイリング又はフェルラのうちから 2 種を選択して交配して得られた交配株を使用した請求項 1, 3 及び 5 に記載された種間雑種

の育成方法である。

[0016] 請求項 8 に記載の発明は、エリンギ又はエレオセリニに換えてエリンギとエレオセリニとの交配株を使用した請求項 3, 5, 7 に記載された種間雑種の育成方法である。

[0017] 請求項 9 に記載の発明は、請求項 7 及び 8 に記載された方法で得られた国内種のヒラタケと外国種の種間雑種である。

[0018] 請求項 10 に記載の発明は、国内種のヒラタケと外国種のヒラタケ属の種間雑種をきのこ栽培用培地に接種して、きのこを発生する栽培方法である。

[0019] 請求項 11 に記載の発明は、国内種のヒラタケと外国種との種間交配により得られた寄託番号 N I T E B P - 1 3 7 8 又は N I T E B P - 1 3 7 9 のヒラタケ属の新種である。

[0020] 請求項 12 に記載の発明は、国内種のヒラタケと外国種との種間交配により得られた寄託番号 N I T E B P - 1 3 7 8 又は N I T E B P - 1 3 7 9 のヒラタケ属の新種をきのこ栽培用の培地で栽培する方法である。

発明の効果

[0021] 本発明によれば、国内種のヒラタケと外国種との種間雑種を作ることが可能となった。そのため、今までに存在しなかったヒラタケの遺伝子とエリンギの遺伝子を混在するような新種を作ることが可能とした。具体的に本願発明についてのそれぞれの効果を以下に述べる。

[0022] 請求項 1 及び 2 にかかる発明は、国内種のヒラタケと外国種のうちのネブロデンス、バイリング又はフェルラとの交配を可能にしたことで、国内種と外国種との種間雑種を得ることができ、さらには、外国種のうちヒラタケと交配できなかった種もヒラタケの遺伝子を内在する種との交配を可能とした。そして、従来存在しなかった新種により新たなマーケットの開拓に貢献できる。

[0023] 請求項 3 及び 4 にかかる発明は、国内種のヒラタケとは交配できなかった外国種のエリンギ又はエレオセリニとの交配を可能としたため、人気の高いエリンギの形質をヒラタケに導入すること、又はヒラタケの特徴的な形質を

エリンギに取り入れること等が可能となる。より具体的に説明すれば、外觀はヒラタケに近似しているが食味はエリンギの味を呈する、あるいは、傘色はヒラタケに近似した色だが形状はエリンギのように茎太のきのこを育成することができるといような効果が得られる。

[0024] 請求項5乃至9にかかる発明は、国内種のリタケと外国種との交配をするにあたり、外国種において交配可能なパターンで外国種間の種間雑種を作出し、その作出された交配株に国内種のリタケを交配することで、より多くのバリエーションの種間雑種開発を可能とした。例えば、交配親に使用したそれぞれの種に特有な栄養成分を含有することが可能となったり、リタケ又は外国種の各種内の交配では従来呈することができなかった色彩を呈するような品種を育成することが可能となる等の効果が得られる。

[0025] 請求項10にかかる発明は、国内種のリタケと外国種とを交配させて得た新種をきのこ栽培用培地に接種して大量に生産することを可能とした。大量生産を可能とするため新規市場の開拓ができ、経済的な発展も期待できる。

[0026] 請求項11及び12にかかる発明は、国内種と外国種との交配により得られた新種を提供する。交配をしながらも種間雑種を生産することができる。

図面の簡単な説明

[0027] [図1]国内種、外国種及び本願発明により得られた寄託番号NITE B P-1378とNITE B P-1379についての系統関係をUPGMA方法によって示す図である。

発明を実施するための形態

[0028] 本発明を実施するために必要な外国種について、エリンギ、バイリンク、フェルラについては、市販されているため入手は容易である。一方、エリオセリニやネプロデンスについては、日本では入手が困難であるが、菌株の保存機関から入手するかヨーロッパの市場（イタリアなど）から輸入することができる。また、バイリンクについてはネプロデンスと混同されていることが多いので入手時には注意を要する。

[0029] 本発明によれば、ヒラタケ属のうち国内種のヒラタケと外国種のバイリング、ネブロデンシス又はフェルラとを交配することで種間雑種を得ることができる。そして、さらに当該種間雑種を利用して他の外国種と交配することで、ヒラタケとは交配できなかったエリンギ等の外国種との種間雑種を得ることができる。

[0030] また、本発明は国内種のヒラタケの遺伝子と外国種の遺伝子が混在する新種が作出されることで、形質が多様化しヒラタケ属の新たな新種を作成するという目的を達成できるが、その目的を達成するためには、外国種と種間雑種の育成の過程において、国内種のヒラタケと外国種のバイリング、ネブロデンシス又はフェルラとの交配によって得られる効果、すなわち種間雑種が具備するエリンギ等と交配できる能力と同等の効果が得られる交配が少なくとも一回行われていることを必要とする。

[0031] 例えば、ネブロデンシスとバイリングとを交配しておいて、次にその交配株とヒラタケを交配しても良いし、ネブロデンシスとエリンギを交配しておいて、次にその交配株とヒラタケを交配しても良い。他には、ネブロデンシスとバイリングとを交配して交配株を得て、その交配株とエリンギとを交配させて交配株をさらに得てからその交配株とヒラタケとを交配することでも良い。ヒラタケとネブロデンシス、バイリング又はフェルラとが交配される前に交配可能な組み合わせにおいて何回交配が繰り返されてもよく、ヒラタケとネブロデンシス、バイリング又はフェルラとが交配された後に何回別の交配が繰り返されても良い。

[0032] ヒラタケと外国種との種間雑種の作出については、育種技術の分野において常法である交配法を用いて行うことができる。すなわち次の方法による。親となるきのこから胞子を落下させ、単孢子分離を行い、寒天培地上で単孢子から菌糸を発芽させて一核菌糸を得る。そして、他の親となるきのこからも同様にして一核菌糸を得て、両者の一核菌糸を寒天培地上で対峙して培養する。培養が進むと交配した菌糸はクランプを形成する。すなわちクランプが観察された菌糸を分離すれば交配株を得ることができる。この場合におい

て寒天培地はポテトデキストロース寒天培地等、きのこの菌糸の培養において使用できる寒天培地を用いればよい。

[0033] 上記において、交配方法について説明したが、交配方法を採用しなければならないわけではなく、細胞融合や遺伝子導入等の他のバイオテクノロジーを利用することも可能である。

[0034] 作出された種間雑種の栽培方法は、ヒラタケ属のきのこ栽培の従来技術を利用して栽培することができる。すなわちヒラタケ、エリンギ及びバイリングで利用されている栽培方法を応用することができる。

[0035] 本発明にかかる種間雑種のきのこ栽培用の培地については、その培地材料として、おがくず、コーンコブ、コットンハル、ヤシ殻、稲わら、ビートパルプ、大豆皮、大豆ミール、コーングリッツ、ふすま、米ぬか、大麦、小麦、大麦糠、エン麦、もみ殻、トウモロコシ糠、コーンミール、コーンファイバー、コーンハル、マイロ、菜種粕、大豆油粕、ごま油粕、コーヒー粕、バガス又はタピオカ等の豆類、穀類又は根菜類など様々な草本類や木本類が使用できる。他にも、おから、焼酎粕、ビール粕などの食品加工で生じる粕も使用することができる。培地材料の選択については、基本的にはヒラタケ、エリンギ及びバイリングで採用している培地を使用することができるが、種間雑種の特徴に併せて、きのこ栽培の技術分野における通常の知識の範囲内において多少の設計変更が必要となる場合がある。

[0036] 本発明にかかる種間雑種のきのこ栽培で使用する容器は、きのこ栽培用の瓶を用いて行うことができるが、きのこ栽培用袋で栽培することも可能である。きのこ栽培用の瓶を使用した場合には、機械的に作業を行うことが容易であるため、工業生産的に栽培するにはきのこ栽培用の瓶の使用が適している。

[0037] 本発明にかかる種間雑種のきのこ栽培方法は、上記培地材料のうちから任意に選択した培地材料を攪拌後、水分率が60から70%程度なるように水を添加して、さらに攪拌して培地を調整し、当該培地を栽培用の瓶に充填し、加熱殺菌してから、本発明にかかる種間雑種の菌糸を接種し、続いて培養

し、その後発生処理をして、さらに生育させる方法である。

[0038] 標準的な培養の管理は次の通りである。温度は、20℃から23℃で好ましくは22℃で管理する。湿度は80%～90%の間で管理する。換気は、培養室の炭酸ガス濃度が3000ppmを超えないように管理をする。培養室内は暗くしておく。

[0039] 標準的な発生および生育の管理は次の通りである。温度は14℃から15℃で管理する。湿度は80%～90%で管理する。換気は、発生室の炭酸ガス濃度が750ppm以下になるように管理する。発生及び生育中は蛍光灯で100lx程度の光を照射する。

[0040] ヒラタケ属の各種の栽培管理は上記環境で良いが、培養、発生及び生育日数などは、種によって異なる。例えば、培養日数については、ヒラタケは21日、エリンギ及びエレオセリニは28日、バイリング及びフェルラは35日、ネブロデンシスは42日である。発生及び生育日数についてはヒラタケは9日、エリンギ、エレオセリニ、バイリング及びフェルラは14日、ネブロデンシスは18日である。

[0041] 種間雑種の場合、栽培の管理も作出された品種によって異なったり、親種の栽培条件の違いから、栽培管理条件が変化することになるため、種間雑種を複数作成し、育成目的とする環境に適合した種間雑種を選抜することが容易になる。例えば、ヒラタケのように短期間の栽培サイクルの品種を得たい場合は、培養日数や生育日数を短期間で設定しておいて、上記の標準的な管理下でこの栽培をし、目的とする形質を具備しているかどうかを検定し、検定の結果、目的を達成した場合には、その目的を達成した種間雑種を選抜すればよい。

[0042] また、ヒラタケ、ネブロデンシス、エリンギ及びエレオセリニを使用して数回にわたり交配を繰り返すことで得られた比較的短期間で栽培できる菌株例として2菌株を独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターに(NPMD)に寄託した。それぞれ、NITE BP-1378、NITE BP-1379として寄託されている。

[0043] 本発明を以下実施例で具体的に説明するが、本発明は、その趣旨を逸脱しない限りにおいて以下の実施例によって何ら限定されるものではない。

実施例 1

[0044] 国内種のヒラタケ、トキイロヒラタケ、タモギタケ、クロアワビタケ及びウスヒラタケと外国種のエリンギ、ネブロデンシス、フェルラ、エレオセリニ及びバイリングのそれぞれのヒラタケ属のきのこから単孢子分離を行って一核菌糸を得た。それぞれの種内においてそれぞれの一核菌糸を対峙培養して交配するか否かを観察し、種内において一核菌糸を4極に分類した。

[0045] 4極の各極から2株の一核菌糸を選択し、各種から合計8株の一核菌糸を使用して種間でかけあわせることが可能なすべての組み合わせで対峙培養を行って、交配の成否を検討した。その結果を表1に示した。表1では、交配をした組み合わせは+で示し、交配をしなかった組み合わせは-で示した。さらに、それぞれの種間交配の全組み合わせに対して交配した組み合わせの数を交配率として100分率で表示した。

[表1]

	ヒラタケ	トキイロヒラタケ	タモギタケ	クロアワビタケ	ウスヒラタケ	エリンギ	ネブロデンシス	フェルラ	エレオセリニ	バイリング
ヒラタケ		0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	56.3%	9.4%	0.0%	18.8%
トキイロヒラタケ	-		0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
タモギタケ	-	-		0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
クロアワビタケ	-	-	-		0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
ウスヒラタケ	-	-	-	-		0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
エリンギ	-	-	-	-	-		62.5%	75.0%	78.1%	71.9%
ネブロデンシス	+	-	-	-	-	+		54.7%	31.3%	50.0%
フェルラ	+	-	-	-	-	+	+		70.3%	62.5%
エレオセリニ	-	-	-	-	-	+	+	+		12.5%
バイリング	+	-	-	-	-	+	+	+	+	

[0046] 次に、ネブロデンシスとヒラタケとの交配株について栽培試験を行った。

実施例 2

[0047] ネブロデンシスとヒラタケとを交配させて、任意に90株を選択し、きのこ栽培用の培地に当該90株の菌糸をそれぞれ個々に接種し、きのこを発生

状況を調査した。きのこの栽培は次のように行った。

[0048] きのこの栽培方法について。

きのこの栽培用培地は、エリンギの発生が良好な次の配合の培地を使用した。重量比でコーンコブ：豆皮：ふすま：米ぬかが64：18：9：9の割合で配合し、攪拌後水を添加して64%とした。

[0049] きのこの栽培用培地を850m³のきのこの栽培用瓶に充填し、培地を圧入するとともに上面から底まで貫通する穴を培地上面中央から底に向かって設け、瓶口にキャップを嵌着した後、殺菌を118℃15分行った。殺菌後のきのこの栽培用瓶は、20℃まで冷却した後ネプロデシスとヒラタケとの交配株の菌糸を接種した。その後、温度22～23℃、湿度80～90%で21～42日間培養し、続いて菌掻きを行って、温度14～15℃、湿度80～90%で6～10日間発生処理を行い、発芽後は温度14～15℃、湿度80～90%で3～10日間生長させて収穫をした。

[0050] ヒラタケとネプロデシスとの交配株の栽培の結果について、その栽培的特性や形態的特性を表2に示した。

(1) 培養日数については、ヒラタケ標準的な培養日数は、21日で、ネプロデシスの標準的な培養日数は42日であったが、新種の交配株については、18日から36日の間でばらつきがみられた。

(2) 生育日数（発生処理してから収穫までの期間をいう）については、9日から20日の間でばらつきがみられ、ヒラタケに近いもの中間的なものネプロデシスに近いもの等を得ることができた。

(3) 形態的特性や食味についても、ヒラタケに近似する形態や味を呈するもの、ヒラタケとネプロデシスの中間型、ネプロデシスに近似するものなど多種多様な品種を得ることができた。

[表2]

			ヒラタケ	ネブロデンシス	ヒラタケとネブロデンシスとの交配株
栽培特性	培養日数		21日	42日	18~36日
	生育日数		9日	18日	9~20日
	収量性(w/w)		収率 22.1%	収率 17.6%	収率 15.8~23.7%
形態的特性	傘	形	凹型	凹型	ロート型、凹型、平型
		色	灰褐色	淡黄白色	白色、淡黄白色、灰褐色
	茎	形	細短	中太	細長、細短、中太
		色	白色	淡黄白色	白色、淡黄白色
食味	味		えぐみがある	甘みがある	えぐみがあるもの、えぐみが緩和されているもの、栗のような甘みがあるものなど多様化した。
	食感		柔らかく歯切れ悪い	コリコリとした食感で、歯切れが良い	ヒラタケに近似した食感のもの、ネブロデンシスに近似した食感のもの、どちらに似ているとも言えないものなど多様化がみられた。

実施例 3

[0051] ヒラタケとネブロデンシスとの交配株とエリンギ又はエレオセリニとの交配について、それぞれから単孢子分離を行って、実施例 1 と同様な方法で交配を行った。その交配結果について表 3 に示した。表 3 中の数字は、それぞれの種間交配の全組み合わせのうち交配した数を 100 分率で示した。ヒラタケとネブロデンシスを交配したことで、エリンギやエレオセリニとも交配できるようになり、エリンギ又はエレオセリニとヒラタケとの遺伝子を内在する菌を作出することができた。

[表3]

	エリンギ	エレオセリニ
ヒラタケとネブロデンシス との交配株	34.4%	10.0%

実施例 4

[0052] ヒラタケとネブロデンシスとの交配株から単孢子分離を行い、一方では、

エリンギとエレオセリニとの交配株から単孢子分離を行って、両方の一核菌系を対峙培養することで交配をおこなって、ヒラタケとネブロデンシスとの交配株とエリンギとエレオセリニとの交配株との交配株を70株得て、実施例2のきのこ栽培方法と同様にして栽培を行った。

[0053] ヒラタケとネブロデンシスとの交配株とエリンギとエレオセリニとの交配株との交配株の栽培の結果について、その栽培的特性や形態的特性を表4に示した。

(1) 培養日数は21日から36日までのばらつきがあった。

(2) 生育日数については10～14日だった。

(3) 形態的特徴は、傘や茎の形などヒラタケに近似した色や形、エリンギに近似した色や形の形質を表現したものやヒラタケとエリンギの中間的なものあるいは、ヒラタケ又はエリンギよりもネブロデンシスに近似するものなど多種多様であった。なお、色についてはR H S colour chart を参考にした。

[表4]

栽培特性	培養日数	21～36日	
	生育日数	10～14日	
	収量性	収率は20.3～31.6%	
形態的特性	傘	形	ロート型、凹型、平型、凸型
		色	白色、淡黄色、青灰色、灰褐色、暗灰褐色、褐色、濃褐色 その他(159C ORANGE-WHITE GROUP、22A YELLOW-ORANGE GROUP等)
	茎	形	細長、細短、太長、太短、中太
		色	白色、黄白色、淡灰色
食味	味	甘みを強く感じるものやあまり味を感じないものなどがあった。	
	食感	ネブロデンシス、ヒラタケ、エリンギ及びエレオセリニのいずれかに近似する食感のものやいずれかの中間的なものなど様々だった。	

[0054] 次にヒラタケ、ネブロデンシス、エリンギ及びエレオセリニを使用して数回にわたり交配を繰り返すことで得られた実用的な菌株例について説明する。

実施例 5

[0055] 独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターに（NPMD）にNITE BP-1378及びNITE BP-1379として寄託されている菌株は、ヒラタケ、ネブロデンシス、エリンギ、エレオセリニを使用して、任意に選択した親品種から単孢子分離を行って得られた一核菌糸の対峙培養による交配を繰り返し得た菌株である。具体的には次の通りである。

[0056] ヒラタケとネブロデンシスとを交配し交配株を得て、形態などを検定して1品種を選抜した（交配株1とする）。一方、エリンギとエレオセリニとを交配し交配株を得て、形態などを検定して1品種を選抜した（交配株2とする）。次に交配株1と交配株2とを交配し交配株を得て、形態などを検定して1品種を選抜した（交配株3とする）。交配株3とヒラタケとを交配し交配株を得て、形態などを検定して1品種を選抜した（交配株4とする）。交配株4とエリンギとを交配し交配株を得て、形態などを検定して1品種を選抜した（交配株5とする）。交配株5とヒラタケとを交配し交配株を得て、形態などを検定して1品種を選抜した（交配株6とする）。交配株5と交配株6とを交配し交配株を得て、形態などを検定して、その交配株のなかから2菌株を選抜して独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターに（NPMD）に寄託し、寄託番号NITE BP-1378及びNITE BP-1379とされた。

[0057] 次に寄託されたそれぞれの菌株の微生物学的諸形質についての各種寒天培地での培養例について以下に示す。

実施例 6

[0058] 寄託番号NITE BP-1378と寄託番号NITE BP-1379とをそれぞれポテトデキストロース寒天培地で前培養し、コルクボーラーで

直径 5.0 mm に打ち抜き、下記の各培地に接種して暗培養した。

[0059] 寄託番号 N I T E B P - 1 3 7 8 の結果

(1) 麦芽エキス寒天培地での生育状態 (25℃)

6 日目のコロニー直径は 23.5 mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は極めて希薄であり、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。気中菌糸の量は少なく、エリンギと比較するとやや少なく、ヒラタケと比較すると同程度であった。

(2) ポテトデキストロース寒天培地での生育状態 (25℃)

6 日目のコロニー直径は 42.5 mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。気中菌糸の量は多く、エリンギ及びヒラタケと比較してやや多かった。

(3) サブロー寒天培地での生育状態 (25℃)

6 日目のコロニー直径は 22.3 mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。気中菌糸の量は多く、エリンギと比較して同程度であり、ヒラタケと比較してやや多かった。

(4) 合成ムコール寒天培地での生育状態 (25℃)

6 日目のコロニー直径は 17.1 mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギと比較して同等で、ヒラタケと比較してより密であった。気中菌糸の量は少なく、エリンギと比較して同程度であり、ヒラタケと比較するとやや多かった。

(5) Y p S s 寒天培地での生育状態 (25℃)

6 日目のコロニー直径は 49.4 mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。気中菌糸の量は中程度で、エリンギと比較して同程度でありヒラタケと比較すると少なかった。

(6) ツァベック・ドックス寒天培地での生育状態 (25℃)

6 日目のコロニー直径は 32.9 mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は

極めて希薄であり、エリンギと比較して密、ヒラタケと比較すると同程度であった。気中菌糸の量は少なく、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。

(7) オートミール寒天培地での生育状態 (25℃)

6日目のコロニー直径は59.2mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。気中菌糸の量は中程度で、エリンギと比較して同程度でありヒラタケと比較して少なかった。

(8) フェノールオキシダーゼ検定培地での生育状態 (25℃)

0.5%タンニン酸添加ポテトデキストロース培地において、培養6日目で菌糸は生長せず、かつ不活着症状を示すとともに接種源の周辺培地がわずかに褐変した。エリンギ、ヒラタケも同様の結果であった。

0.5%没食子酸添加ポテトデキストロース培地において、培養6日目では菌糸は生長せず、接種源の周辺培地が褐変した。引き続き培養を継続したところ菌糸が活着し、接種後9日目でコロニーの直径は24.2mmになった。菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギと比較して同程度であった。気中菌糸の量は少なく、エリンギと比較して同程度であった。一方、ヒラタケでは菌糸の活着及び生長が見られず、接種源の周辺培地の褐変のみが見られた。

(9) 最適生長温度：ポテトデキストロース寒天培地に直径5mmの菌糸片を接種し、25℃で2日間前培養した後、各温度でそれぞれ培養した。6日後に生長したコロニー半径を測定したところ、最適生長温度は28℃付近だった。また、5℃ではほとんど菌糸が生長せず、34℃では生長が著しく悪かった。

(10) 最適生長pH：PD液体培地25mlを滅菌後、塩酸又は水酸化カリウムでpHを無菌的にpH3.0～10.0の範囲で0.5毎に調整した。その後直径5mmの菌糸片を接種して、15日間静置培養した後、各乾燥重量を測定したところ、最適生長pHは6.0付近であった。また、本菌株の生

長はpH 4.5～9.0の範囲で良好だった。

[0060] 寄託番号NITE BP-1379の結果

(1) 麦芽エキス寒天培地での生育状態(25℃)

6日目のコロニー直径は49.0mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は極めて希薄であり、エリンギ及びヒラタケと同程度であった。気中菌糸の量は少なく、エリンギと比較してやや少なく、ヒラタケと比較して同程度であった。

(2) ポテトデキストロース寒天培地での生育状態(25℃)

6日目のコロニー直径は61.2mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。気中菌糸の量は多く、エリンギ及びヒラタケと比較してやや多かった。

(3) サブロー寒天培地での生育状態(25℃)

6日目のコロニー直径は39.8mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。気中菌糸の量は多く、エリンギと比較して同程度でありヒラタケと比較してやや多かった。

(4) 合成ムコール寒天培地での生育状態(25℃)

6日目のコロニー直径は19.5mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は希薄で、エリンギと比較して希薄、ヒラタケと比較して同等であった。気中菌糸の量は中程度で、エリンギと比較して多く、ヒラタケと比較してやや少なかった。

(5) YpSs寒天培地での生育状態(25℃)

6日目のコロニー直径は63.5mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと同程度であった。気中菌糸の量は中程度で、エリンギと比較して同程度であり、ヒラタケと比較して少なかった。

(6) ツァペック・ドックス寒天培地での生育状態(25℃)

6日目のコロニー直径は60.4mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は極めて希薄であり、エリンギと比較して密で、ヒラタケと比較して同程度で

あった。気中菌糸の量は少なく、エリンギ及びヒラタケと比較して同程度であった。

(7) オートミール寒天培地での生育状態 (25℃)

6日目のコロニー直径は75.6mm, 菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギ及びヒラタケと同程度であった。気中菌糸の量は中程度で、エリンギと比較して同程度でありヒラタケと比較して少なかった。

(8) フェノールオキシダーゼ検定培地での生育状態 (25℃)

0.5%タンニン酸添加ポテトデキストロース培地において、培養6日目で菌糸は生長せず、かつ不活着症状を示すとともに接種源の周辺培地がわずかに褐変した。エリンギ、ヒラタケも同様の結果であった。

0.5%没食子酸添加ポテトデキストロース培地において、培養6日目では菌糸は生長せず、接種源の周辺培地が褐変した。引き続き培養を継続したところ菌糸が活着し、接種後9日目でコロニーの直径は8.0mmになった。菌叢の色は白色だった。菌叢の密度は密であり、エリンギと比較して同程度であった。また、気中菌糸の量は少なく、エリンギと比較して同程度であった。一方、ヒラタケでは菌糸の活着及び生長が見られず、接種源の周辺培地の褐変のみが見られた。

(9) 最適生長温度：ポテトデキストロース寒天培地に直径5mmの菌糸片を接種し、25℃で2日間前培養した後、各温度でそれぞれ培養した。6日後に生長したコロニー半径を測定したところ、最適生長温度は28℃付近だった。また、5℃ではほとんど菌糸が生長せず、34℃では生長が著しく悪かった。

(10) 最適生長pH：PD液体培地25mlを滅菌後、塩酸又は水酸化カリウムでpHを無菌的にpH3.0～10.0の範囲で0.5毎に調整した。その後直径5mmの菌糸片を接種して、15日間静置培養した後、各乾燥重量を測定したところ、最適生長pHは6.5付近であった。また、本菌株の生長はpH4.5～9.0の範囲で良好だった。

実施例 7

[0061] 寄託番号N I T E B P - 1 3 7 8と寄託番号N I T E B P - 1 3 7 9とを実施例2のきのこ栽培方法と同様の方法によりきのこを発生させた。その栽培結果について、栽培的特性や形態的特性等について表5に示した。傘の色や茎の形状などはエリンギよりもヒラタケの形状に近似していた。なお、色についてはR H S colour chartを参考にした。

[表5]

栽培特性			NITE BP-1378	NITE BP-1379
	培養日数		21日	21日
	生育日数		12日	12日
	収量性		収率 31.6%	収率 31.6%
形態的特性	傘	形	凸型で縁が内側に巻き込んでいる。成熟すると傘の中央部分はややくぼみ、縁の巻き込みは弱くなる。表面は平滑である。	平型で縁が内側に巻き込んでいる。成熟すると傘の中央部分はややくぼみ、縁の巻き込みは弱くなる。表面は平滑である。
		大きさ	30~40 mm	35~45 mm
		色	灰褐色(N199A, GREY-BROWN GROUP)	灰褐色(N199B, GREY-BROWN GROUP) 薄く繊維模様が見られる。
	茎	大きさ・形	65~75×8~9 mmの円筒型	60~65×8~10 mmの円筒型
		色	白色(155D, WHITE-GROUP) 表面は平滑である。内部は充実している。	白色(155D, WHITE-GROUP) 表面は平滑である。内部は充実している。
	髯		茎に垂生し、先端は平滑 灰白色(156B, GREYED-WHITE GROUP)	茎に垂生し、先端は平滑 灰白色(156A, GREYED-WHITE GROUP)
	担子器	形	長い棍棒状、4孢子型	長い棍棒状、4孢子型
		大きさ	23~27×6~9 μm	24~27×5~7 μm
	担子孢子	形	円筒型	円筒型
		大きさ	9.0~11.0×3.5~5.0 μm	6.5~10.5×2.5~4.5 μm
		孢子紋の色	白色	白色
	緑シシチジア	形	棍棒状	棍棒状
		大きさ	18.0~22.0×4.5~7.0 μm	19.0~23.0×4.0~7.0 μm
食味	味		独特のうまみ、風味がある。	独特のうまみ、風味がある。
	食感		程よい硬さを持ち、歯切れが良い。	程よい硬さを持ち、歯切れが良い。

実施例 8

[0062] ヒラタケ、ネブロデンシス、エリンギ、エレオセリニ、種間雑種寄託番号

N I T E B P - 1 3 7 8 及び種間雑種寄託番号 N I T E B P - 1 3 7 9 のそれぞれについて I T S 領域の塩基配列を調査して比較した。

[0063] (1) ITS 領域の塩基配列の決定

P D A 平板培地で培養したヒラタケ、エリンギ、エレオセリニ、ネブロンシス、N I T E B P - 1 3 7 8 及び N I T E B P - 1 3 7 9 の 6 菌株の菌糸体をそれぞれ集菌し、凍結乾燥したものから DNA 抽出キット「Plant Geno-DNA-Template (TaKaRa 社)」を用いて DNA をそれぞれ抽出した。抽出したそれぞれの DNA を鋳型として、ITS1 (5' -TCCGTAGGTGAACCTGCGG) 及び ITS4 (5' -TCCTCCGCTTATTGATATGC) のプライマー対により、リボソーム DNA の内部転写スペーサー領域 (以下、ITS 領域とする) を PCR (polymerase chain reaction) 法により増幅し、得られた PCR 産物を精製し、シーケンシングをして塩基配列を決定した。シーケンシングは株式会社ベックスに依頼し、ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems Japan) を用いたダイターミネーター法により行った。

[0064] (2) 遺伝的特性の分析

上記 6 菌株のそれぞれの ITS 領域の塩基配列に基づいて、MEGA (5.05) プログラムを用いて Kimura2-parameter で進化学的距離を計算し、UPGMA 法で分子進化学的関係を図 1 に示した。このとき、boot-strapping の値は 1000 とした。

[0065] この結果に基づき、本実施例で使したきのこの最終同定を行ったところ、N I T E B P - 1 3 7 8 はヒラタケ属のきのこ「*P. eryngii*」の配列と相同性が最も高く、N I T E B P - 1 3 7 9 は「*P. eryngii*」と「*P. ostreatus*」の 2 つの配列と相同性が高いという結果になった。このことから、N I T E B P - 1 3 7 9 は、ヒラタケとエリンギの両方の遺伝子を併せもつことが明確となった。一方、N I T E B P - 1 3 7 8 は、ITS 領域においては、エリンギに近似しているものの、実施例 7 の結果からきのこの形状はエリンギよりもヒラタケに近似しており、総合的に考察するとヒラタケとエリンギの形質が混在していると

判断できた。

産業上の利用可能性

[0066] 本発明は、農業及び食品分野において、新種きのこの生産及び提供、新種きのこを利用した加工品の提供、新種きのこを利用したメニューの提供などに有用である。

受託番号

[0067] MH006403 NITE BP-1378
 MH006404 NITE BP-1379

20/1

[0068]

0-1	様式 PCT/RO/134 (SAFE) この寄託された微生物又はその他の生物材料に関する表示 (PCT規則13の2)は、右記によって作成された。	PCT-SAFE Version 3.51.055.231 MT/FOP 20120701/0.20.5.19
0-2	国際出願番号	
0-3	出願人又は代理人の書類記号	PCTHOKT0002

1	下記の表示は発明の詳細な説明中に記載された微生物又は生物材料に関連している。	
1-1	段落番号	0042
1-3	寄託の表示	
1-3-1	寄託機関の名称	NPMD (独)製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター (NPMD)
1-3-2	寄託機関のあて名	日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8
1-3-3	寄託の日付	2012年 06月 22日 (22.06.2012)
1-3-4	受託番号	NPMD NITE BP-1378
1-5	この表示を行うための指定国	すべての指定国
2	下記の表示は発明の詳細な説明中に記載された微生物又は生物材料に関連している。	
2-1	段落番号	0042
2-3	寄託の表示	
2-3-1	寄託機関の名称	NPMD (独)製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター (NPMD)
2-3-2	寄託機関のあて名	日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8
2-3-3	寄託の日付	2012年 06月 22日 (22.06.2012)
2-3-4	受託番号	NPMD NITE BP-1379
2-5	この表示を行うための指定国	すべての指定国

受理官庁記入欄

0-4	この用紙は国際出願とともに受理した (はい/いいえ)	10.12.2012
0-4-1	権限のある職員	

国際事務局記入欄

0-5	この用紙が国際事務局に受理された日	
0-5-1	権限のある職員	

請求の範囲

- [請求項1] 交配親の一方にヒラタケ(*P. ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer)を選択し、交配親の他方にネブロデンシス(*P. nebrodensis* (DC.:Fr.) Quel.)、バイリング(*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel. var. *tuoliensis* C. J. Mou) 又はフェルラ(*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel. var. *ferulae* Lanzi) のいずれかを選択して、双方間で交配させることを特徴とするヒラタケ属の種間雑種の育成方法。
- [請求項2] 交配親の一方にヒラタケを選択し、交配親の他方にネブロデンシス、バイリング又はフェルラのいずれかを選択して、双方間で交配させて得られたヒラタケ属の種間雑種。
- [請求項3] 請求項2記載のヒラタケ属の種間雑種を交配親の一方に選択し、交配親の他方にエリンギ(*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel.)又はエレオセリニ(*P. eryngii* (DC.:Fr.) Quel. var. *elaeoselini*) のいずれかを選択して、双方間で交配させることを特徴とするヒラタケ属の種間雑種の育成方法。
- [請求項4] 請求項2記載のヒラタケ属の種間雑種を交配親の一方に選択し、交配親の他方にエリンギ又はエレオセリニのいずれかを選択して、双方を交配させて得られたヒラタケ属の種間雑種。
- [請求項5] ネブロデンシス、バイリング、フェルラ、エリンギ又はエレオセリニの中から、一方の親がネブロデンシス、バイリング又はフェルラになるように任意に2種を選択して交配株を得て、その交配株とヒラタケとを交配させることを特徴とするヒラタケ属の種間雑種育成方法。
- [請求項6] ネブロデンシス、バイリング、フェルラ、エリンギ又はエレオセリニの中から、一方の親がネブロデンシス、バイリング又はフェルラになるように任意に2種を選択して交配株を得て、その交配株とヒラタケとを交配させることで得られたヒラタケ属の種間雑種。
- [請求項7] ネブロデンシス、バイリング又はフェルラに換えてネブロデンシス、バイリング又はフェルラのうちの2種を親として交配して得られた交

配株を使用することを特徴とする請求項 1、請求項 3 及び請求項 5 に記載されたヒラタケ属の種間雑種の育成方法。

[請求項 8] エリンギ又はエレオセリニに換えてエリンギとエレオセリニとを交配させて得られた交配株を使用する請求項 3、請求項 5 及び請求項 7 に記載されたヒラタケ属の種間雑種の育成方法。

[請求項 9] 請求項 7 又は請求項 8 の方法で得られたヒラタケ属の種間雑種。

[請求項 10] 請求項 2、請求項 4、請求項 6 又は請求項 9 に記載されたヒラタケ属の種間雑種をきのこ栽培用の培地に接種してきのこを発生させることを特徴とするヒラタケ属の種間雑種の栽培方法。

[請求項 11] ヒラタケ、ネブロデンシス、エリンギ及びエレオセリニを親として使用することで得た種間雑種 *Pleurotus* sp. (N I T E B P - 1 3 7 8) 又は *Pleurotus* sp. (N I T E B P - 1 3 7 9)。

[請求項 12] 種間雑種 *Pleurotus* sp. (N I T E B P - 1 3 7 8) 又は *Pleurotus* sp. (N I T E B P - 1 3 7 9) をきのこ栽培用培地に接種して発生させることを特徴とする、ヒラタケ属の種間雑種の栽培方法。