
 総 説

[木材学会誌 Vol. 52, No. 1, p. 1-7 (2006)]

食用・薬用きのこの育種にかかる最近の展開*1

北本 豊*2

Current Progress in Breeding of Edible and Pharmaceutical Mushrooms*1

Yutaka KITAMOTO*2

The objective in breeding of edible and pharmaceutical mushrooms is to produce the strain that is suited for commercial production of high quality fruit bodies at lower running cost. The breeding of a new mushroom species is based on the selection of genetic variants that produced fruit bodies of desirable quality and appearance from wild genetic resources. The selected fruit bodies would be used as a source material for the preparation of the next generation of seed spawn by crossing. The breeding of new hybrid strain is performed by the four successive processes as follows: the selection of two parental dikaryons, the production of monokaryotic line stocks from parental dikaryons, the production of various hybrid dikaryons by crossing between the two selected monokaryotic line stocks, and several levels of cultivation tests of the crossing products for selecting superior hybrid. In this review, current progress in research and development of commercial mushroom breeding is introduced.

Keywords: breeding, crossing, Di-Mon mating, incompatibility factor, mushroom.

食用・薬用きのこの生産では、優良種菌と高度な栽培技術により高品質きのこを安価に生産することが求められる。きのこの育種、すなわち種菌開発は、野生きのこの子実体からの組織分離による二核菌糸体の栽培品種化と、栽培中に発生する優良な子実体を選抜する品種改良、それにつづく交配による品種改良が主な流れである。きのこの新品種開発のプロセスは、育種に用いる親株の選定、交配のための一核株作出、交配、交配後の数段階の栽培試験による優良交雑株選抜である。本稿では、まず、きのこの極めてユニークな生物学的特徴を解説し、つづいて、きのこの育種プロセスについて、最近の展開を概論する。

1. はじめに

食用・薬用きのこの生産では、優良種菌と高度な栽培技術により高品質きのこを安価に生産することが求められる。きのこの育種、すなわち種菌開発は、当初の野生きのこの子実体からの組織分離による二核菌糸体の栽培品種化と、栽培中に発生する優良な子実体を組織分離する選抜による品種改良、それにつづく交配による品種改良が主な流れである。きのこの品質と収量性にかかる形質、栽培環境制御にか

かる形質の改良が品種開発の最も重要な課題である。きのこの新品種開発には選抜、交配、細胞融合と遺伝子工学的手法が考えられるが、細胞融合はほとんど実用例がなく¹⁾、1 遺伝子の操作を対象とする遺伝子工学²⁾は今のところ実用性が見いだされず、現行技術として最重要なものは交配による方法である。きのこの品種は変異しやすいことが経験的に知られているため、長期間の遺伝学的安定性の付与も実用品種開発の前提条件である。

きのこの新品種開発にかかるプロセスとしては、①育種に用いる親株の選定、②交配のための一核株作出、③交配、④交配後の数段階の栽培試験による優良交雑株選抜がある。本稿では、まず、きのこと呼ばれる微生物の遺伝・育種にかかる極めてユニ

*1 Received September 28, 2005; accepted October 19, 2005.

*2 鳥取大学農学部 Faculty of Agriculture, Tottori University, Tottori 680-8553

類な生物学的特徴を解説し、つづいて、きのこの育種プロセスについて最近の展開を概説する。

2. きのこのユニークな生物学的特徴

食用・薬用食用きのこの多くは性的にヘテロタリズムの担子菌に属し、1細胞に交配型の異なる2種類の半数体の核が共存する重相と呼ばれる核相が生涯における主な生活形態である³⁾。きのこの育種には、その特異な生活環の理解が必要である⁴⁾。

きのこの有性生殖環は、通常、1細胞に半数体の核を1個保有する単相 (n) の担子胞子が発芽して一核菌糸ができることから始まる。一核菌糸は生長して一核菌糸体 (一核菌糸の集合体) のコロニーを作り、その先端部の菌糸が不和合性因子の構成が異なり互いに和合性を示す別の一核菌糸に遭遇すると接合が起こり、一方の核が他方の細胞に移動して1細胞に2種の核を保有する重相 ($n+n'$) の二核菌糸ができる。交配を支配する不和合性因子遺伝子は、ナメコのように A 因子と呼ばれる複対立遺伝子により和合性が決定される二極性、あるいはシイタケのように A および B と呼ばれる両複対立遺伝子の組み合わせで和合性が決定される四極性がある。二核菌糸は、大部分が1細胞に2核を有するが、コロニー先端の菌糸細胞では一核化が生じることが知られ^{5,6)}、子実体の組織細胞では2個以上の核を有する細胞が混在する⁷⁾。菌糸は分裂を重ね、二核菌糸体のコロニーが発達する。子実体形成のための内的・外的環境条件が整うと、二核菌糸体から子実体の発生がはじまる。子実体の発育が進むと、傘のヒダの部分に担子器が形成され、ここで二核が融合して複相 ($2n$) となり、減数分裂を経て、4個の担子胞子が形成される。

ところで、きのこには、一核菌糸の半数体の核に生殖器官である子実体を作るために必要な遺伝子セットが備わっており、二核菌糸では生殖器官形成に必要な遺伝子が別々の核に2セットある。これは、エノキタケ、ナメコ、スエヒロタケ、ネナガノヒトヨタケなどで一核菌糸体から子実体が形成されることで確認される。しかし、実際の栽培では一核菌糸体からの子実体形成はきのこの品質、収量が著しく劣るために実用性がなく、きのこ栽培では二核菌糸体から子実体を生産する。

きのこの二核菌糸体の細胞分裂は、二核性であるが故に特殊な仕組みで行われる (Fig. 1)。核分裂に先立って細胞側壁にクランプが形成され、1核は細胞主構造内で、他の1核はクランプに入って核分裂が並進し、隔壁形成後、クランプ内壁が溶解して後

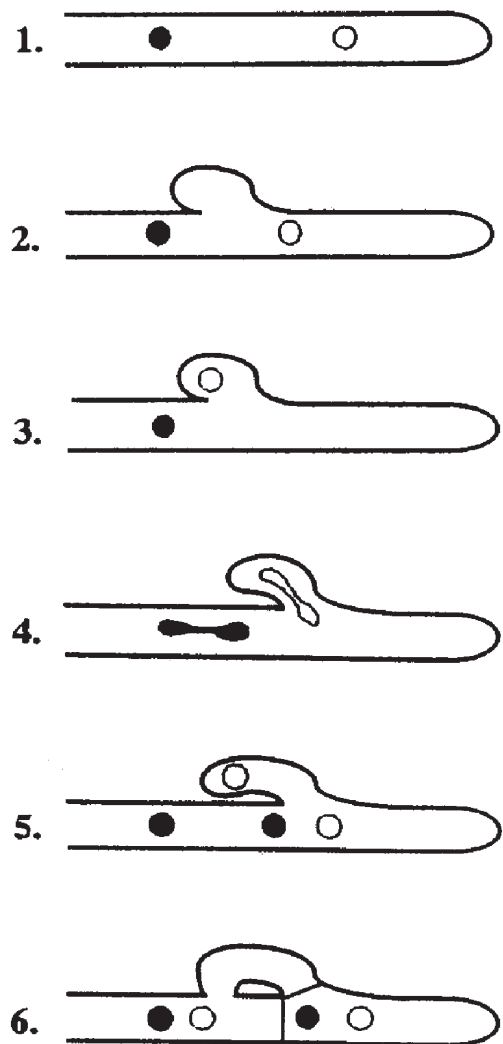


Fig. 1. Conjugate nuclear division in dikaryotic hyphal cells of basidiomycetous mushrooms.

ろの細胞にクランプ内の1核が移動して完成する⁸⁾。しかし、きのこの二核細胞はクランプ形成を必然的に伴うように多くの教科書等に書かれているが、二核菌糸体のコロニーを観察すると、菌糸細胞の多くでクランプ結合が見られず、クランプ結合のある菌糸細胞を顕微鏡下で見出すのは根気がある。また、マツタケをはじめとしてクランプ結合を形成しないきのこもある。クランプ結合を有しない細胞においても二核が共役して核分裂し、二核性がコロニー全体として保持されると考えられる。しかし、二核細胞における共役核分裂や細胞分裂における二核による遺伝的制御の仕組みは、ほとんど解明されていない

い。

きのこの二核細胞における二核間の相互作用に関しては、若干の知見がある。著者らは、ナメコ⁶⁾およびエノキタケ⁹⁾を実験系として、共役核分裂における二核細胞の二核間には優位核および従属核として説明できる遺伝学的上下性があることを報告した。二核における上下性は、後述する一核と二核細胞による交配(ダイ・モン交配)における二核株側の核の挙動(一核細胞への核の移動)を決定する。上下性を決定する遺伝形質は担子胞子の形成に先立つ核融合と減数分裂を経て均等に分離する¹⁰⁾。しかしながら、二核菌糸の形質発現におけるそれぞれの核が及ぼす遺伝学的相互作用は理解されていない。

3. 交配育種のための親株の選定(菌株識別)

きのこの子実体を形成する二核菌糸体と子実体とともに、通常、1細胞に交配型の異なる2種類の核を保有するヘテロカリオンの二核細胞からできている。きのこにおける交配育種とは、交配型の異なる2種類の一核菌糸体を接合させて二核菌糸体の菌株を作ることである。二核菌糸体の形成に用いる一核菌糸体は、子実体の傘のヒダ(子実層)の担子器上で形成された担子胞子が放散され、発芽してできるものを利用する。きのこの育種は、子実体の形状・品質が良く収量性が良い2種類の親二核株を選定し、有性生殖を経て2系統の一核菌糸体を作ることから始まる。ところで、きのこの子実体の形状は培地や栽培条件で大きく変化するため、2種類の親株を形態学的観察のみで品種識別し、遺伝学的近縁関係を推測するのはなかなか困難と言える。しかしながら、現在でも、観察において優良な形態で収量性の良い親株を遺伝資源として選定し、交配を行ってできる多数の交雑株を栽培試験にかける方法で栽培品種を開発するのが、きのこの育種の主流である。

きのこの育種において、2種類の親株の遺伝学的近縁関係の分析が、最近、種菌開発の成果に影響を及ぼすほど有用と考えられつつあり、菌株識別にDNA技術が活用され始めている。全く新規なきのこの育種には、自然界から野生のきのこを収集し、それを資源として育種を進めるが、きのこの属種の形態学的同定は困難さと不確かさがあるため、DNA技術が活用される方向にある。もちろん、在来の食用・薬用きのこの品種改良にも、品種識別のためにDNA技術が活用され始めている。

きのこの生物種の同定は、mt SSU rDNAの塩基配列の分析が有用である¹¹⁾。Fig. 2は、著者が作製したヒラタケ属のうち近縁な3つの生物種のSSU

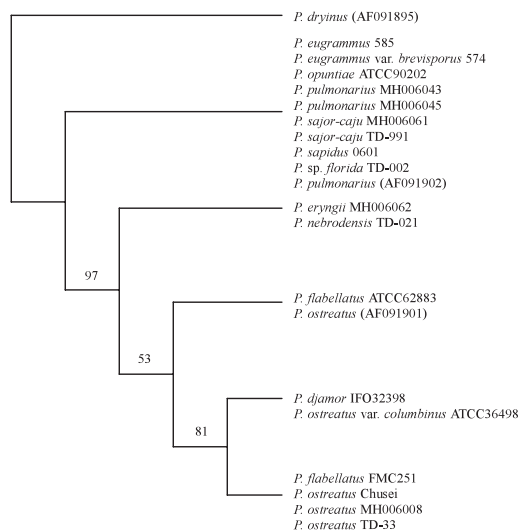


Fig. 2. Estimation of biological species of the genus *Pleurotus* based on the sequence analysis of V4 domain of mt SSU rDNA.

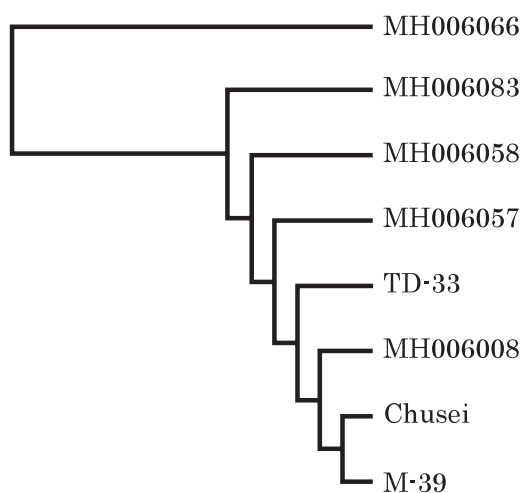


Fig. 3. Discrimination of various commercial strains of *Pleurotus ostreatus* by RAPD analysis.

rDNAのV4領域の分析による系統樹を示す¹²⁾。第1のクラスターは*P. pulmonarius* complexのクラスターで、ここに帰属した亜種は相互に和合性を示した。第2のクラスターは*P. eryngii* complexで、*P. eryngii*と*P. nebrodensis*は同一の塩基配列であり、部分交配性を示した。一方、*P. ostreatus* complexについては、相互に交配可能な亜種が3つの遺伝的距離の小さいサブクラスターに分かれた。これらの結果から、mt SSU rDNAの分析で同一クラスターであるものは、少なくとも同一の生物種であると推察される。

一方、亜種の比較には核 rDNA の ITS 領域塩基配列の分析が有用であろう¹³⁾。育種に重要な在来種や野生種といった品種の識別には、RAPD 法などが活用できる¹⁴⁾。Fig. 3 は、著者らによるヒラタケの栽培品種の分析結果であり、8 品種全てが独立したクラスターに分別され、品種間の遺伝学的近縁関係が明らかにできた。交配には、一般にできるだけ遺伝的距離の遠い 2 つの優良な形質の親株を使う方が交雑株により大きな変異を期待できる。

なお、交配に用いる野生株の交配型の解析とそれに由来する一核株の交配型の解析は親株の遺伝的識別に役立ち、新品種作出のために多数の交雑株を作る作業を効率化する。菌株識別技術は種苗登録品種の権利保護のためにも活用されるべきである。

4. 交配のための一核株作出

きのこの交配育種には、一核株の作出が不可欠であり、これは、単胞子分離による。きのこの担子胞子形成では、核融合後の減数分裂において染色体組換えが生じる。交配型を支配する不和合性因子の構成は胞子においてナメコのように 2 種類（二極性）あるいはシイタケのように 4 種類（四極性）に過ぎないが、それ以外の遺伝子構成は胞子ごとに無数に異なるものが生じる。育種のための一核株の作出は、親株として選定した菌株の子実体から胞子紋を得、担子胞子懸濁液を調製して、単胞子分離をする。単胞子分離には種々の方法があるが、胞子懸濁液を少量の半流動 PDA 寒天培地と混合し、予め調製した PDA 平板培地上に重層・固化して培養する方法が最も確実な方法である。きのこによっては、例えば、エノキタケやブナシメジなど、分離した一核系統株に交配型の極端な偏りがあるものがあり、発芽率と交配型には相関がある¹⁵⁾。発芽率の改善には、酪酸やイソ酪酸などの化学物質を発芽培地に加えることにより、改善が可能な場合がある^{4,16)}。

きのこの一核株の作出は、コロニー先端細胞で二核菌糸の一核化が生じることを利用して一核化した菌糸体の部分を顕微鏡下で切断する方法でも作出することができる。Fig. 4 は、著者らが、ホンシメジのコロニー先端細胞の核と隔壁を DAPI および Calcofluor white で蛍光染色したもので、先端の 2 細胞区画で脱二核化が生じていることがわかる。また、著者らは、エノキタケ、シイタケ、ナメコなどを機械的切断して一核化菌糸体が分離できることを確認している。

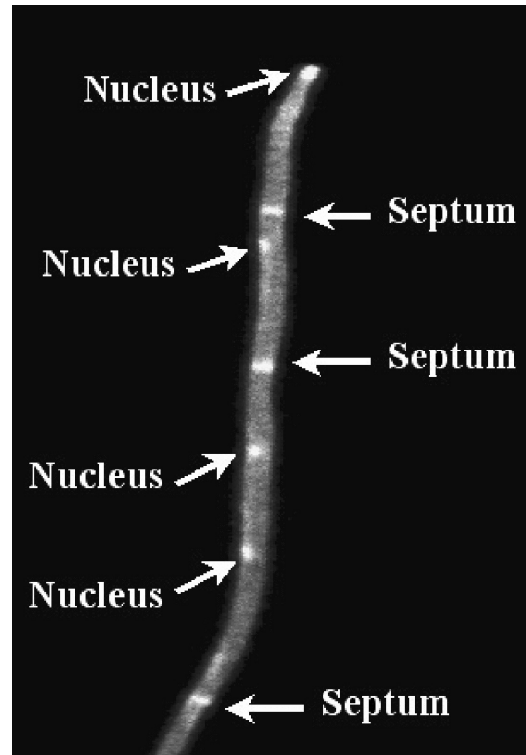


Fig. 4. Fluorescent dye staining of nuclei and septa in the dikaryotic hyphal tip cells of *Lyophyllum shimeji* with DAPI and Calcofluor white, respectively.

5. 交配技術

きのこの交配は不和合性因子により制御され、2 株の一核株を交配させるには、それぞれの菌株の不和合性因子が相補的な組み合わせであることが前提である¹⁷⁾。二極性きのこの場合、一核菌糸体の A 因子が互いに異なる組み合わせ ($A1+A2$ あるいは $A1+A3$ のような組み合わせ)、四極性きのこの場合、A, B 両因子が互いに異なる ($A1B1+A2B2$ あるいは $A1B2+A2B1$ のような組み合わせ) 場合のみ、交配が成立する。交配の成否は、二核菌糸体がクランプ結合を有するきのこでは、2 種類の一核菌糸体を対峙培養し、一核菌糸体の 2 つのコロニーの接合部、あるいはそれぞれのコロニー外縁部から菌糸体を採取して顕微鏡でクランプ結合の有無を確認する。しかし、今後、期待される食用きのこにはクランプ結合を形成しないか、ほとんど形成が見られない種もある。その場合は、きのこの細胞の隔壁と核をそれぞれ蛍光染色し、一細胞区画内の核数を数えることによって実用上二核化を確認できる (Fig. 5)。

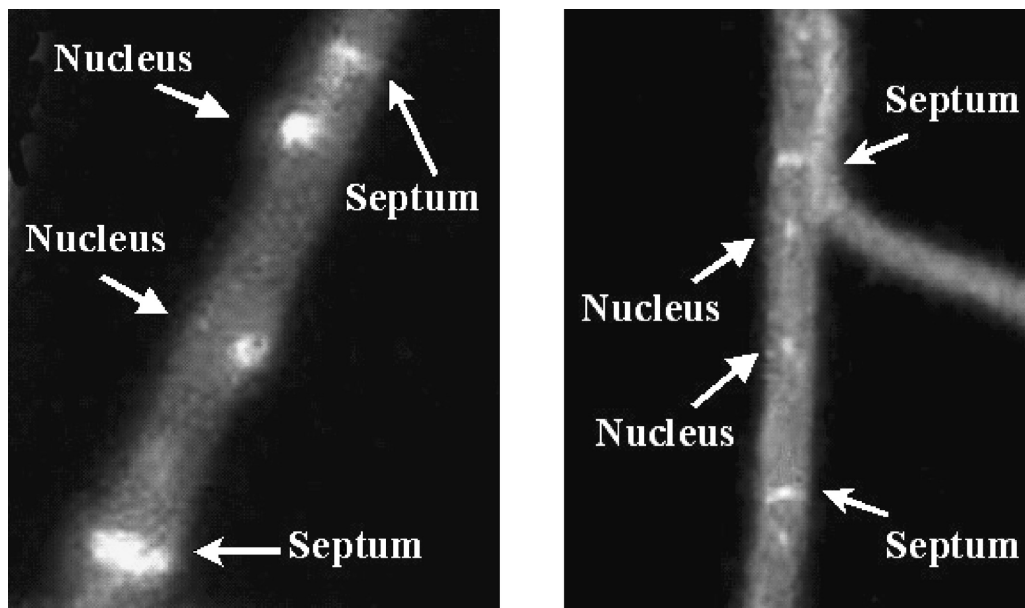


Fig. 5. Confirmation of dikaryotization in mating between two monokaryotic parental mycelia of *Flammulina velutipes* (Left) and *Pholiota nameko* (Right) by fluorescent dye dual staining with DAPI and Calcofluor white.

5.1 モン・モン交配

きのこの交配とは、通常、交配型の異なる2種類の単核株を対峙培養することでなされるモン・モン交配を言う。モン・モン交配では、同一子実体から単孢子分離した単核系統株同士で交雑する自殖交配と異品種の1核系統株間で交雑する他殖交配があり、他殖が自殖より変異幅が大きいと考えられている¹⁸⁾。単核株同士を交配すると、細胞質因子がいずれかの親株に由来する2種の交雑株が得られ、細胞質因子の二核株の遺伝形質発現への影響も若干知られている^{4, 19)}。しかし、栽培試験の効率化には菌糸生長の速い側の単核菌糸体コロニー外縁部で生じた二核菌糸体を分離し、交雑株の栽培試験を行い、優良株として2つの単核親株が選別された後に、2種の交雑株の比較試験をすればよい。

従来、きのこの育種では、多数の交雑株をモン・モン交配により作出し、栽培試験で評価する方法が適用されてきた。これは、交雑株の形質を栽培で実証する手段しかないことによる。したがって、交配育種の成果は、偏に供試親二核株の数、それらの単核系統株の数と栽培試験にかける交雑株の数に比例する。しかし、交配後に交雑株から優良株を効率的に選別する方法の開発は重要である。

5.2 ダイ・モン交配

きのこは、単核株と二核株の間でも交配可能であ

り、これはダイ・モン交配と呼ばれる²⁰⁾。単核株と二核株における核の交配型組み合わせの違いから、和合性組み合わせ、半和合性組み合わせ、および不和合性組み合わせのダイ・モン交配がある²¹⁾。

和合性および半和合性ダイ・モン交配により二核親株の一方の核を活用し、交配の相手である単核菌糸体に核を導入する“核の交換”技術の活用が考えられ、現行品種の遺伝的改良に考慮されるべき方法である。ダイ・モン交配では二核親株の二核のうち一核が交配相手の単核細胞に移動するが、どちらが移動するかは二核の上下性に基づく核の選択が機能する^{22, 23)}。二核親株のうち優位核の導入には和合性組み合わせ（四極性の例として、 $A1B1$ と $A2B2+A3B3$ ）、従属核を相手に導入したい場合は半和合性組み合わせ（四極性の例として、 $A1B1$ と $A2B2+A1B3$ ）で交雑する。

優秀な現行品種の二核の遺伝形質を混ぜ合わせた核を創製して交雑株を作出するには、四極性きのこに限るが、不和合性ダイ・モン交配が活用できる。四極性きのこの単核株の交配型が $A1B2$ 、二核株の交配型が $A1B2+A2B1$ のように、単核株に対して二核株のどちらの核もAあるいはB因子が共通の場合、二核株で“体細胞組換え”が生じ、減数分裂によらずに染色体組換えにより交配型が変換された新核が生じ、これが接合した単核株の菌糸細胞に移

動して交配が完成する。不和合性因子が座乗しない染色体上の遺伝子も合わせて組み換えられる²⁴⁾。

6. 交配育種の事例

きのこの交配育種で交雑株における形質発現の科学的ルールは、残念ながら確立していない。本項では、著者らの行った育種の事例の若干を列挙するに留めたい。

6.1 純白エノキタケ品種の創製

エノキタケは、光照射下で栽培すると茶色～淡褐色のきのこを形成する (Fig. 6)。本菌の栽培品種は1985年頃まで選抜育種で開発が進められ、遮光栽培によりきのこの淡色化が進められたが、著者らは交配による品種開発に取り組み、光照射下でも着色しない純白の革新的品種 M-50 を創製した²⁵⁾。M-50 は在来着色品種品種「上小」と「K1」を親株として作出されたもので、スーパーオキシドジスムターゼ活性が在来品種より数倍高く、フェノールオキシダーゼ活性が低いことが特徴である²⁶⁾。

6.2 エノキタケ高温性品種の作出の経験則

きのこの高温生長性品種の開発は、栽培のランニングコスト低減を可能とする。エノキタケでは、一核株を温度特性により高温性、中温性、低温性に分別して交配すると、高温性×高温性では約65%の交雑株が高温性を示した。また、高温性株同士の交雑では、A1B1×A2B2の交配で高温性株が80%以上の比率で作出された²⁷⁾。

6.3 子実体の形態発現の遺伝特性

エノキタケの子実体の傘は偏平型と饅頭型がある。傘の形態の遺伝性を調べる栽培試験では、供試

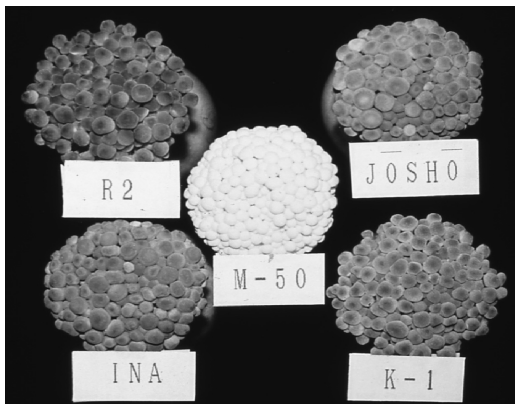


Fig. 6. Comparison of color of fruit-bodies of four *Flammulina velutipes* commercial strains (R2, JOSHO, INA and K1) with a novel white strain (M50) grown under 300 lux of light illumination.



Fig. 7. Breeding of new *Hypsizygos marmoreus* commercial strains, T-1 (Upper) and 413 (Lower), with flat and round pilei of fruit-bodies, respectively.

した一核菌糸株に、交配により饅頭型を形成する因子が保有されていると推測されるものが多かった。しかし、これらと特定の一核株では偏平型が発現する場合が見られ、いずれかの一核親株の遺伝形質が優先して発現させる何らかの法則あるように思われる。一方、演者らは、ブナシメジの育種において、子実体の形状と遺伝特性の経験則に基づいて親株を選択し、種苗登録品種の作出に成功した (Fig. 7)。

6.4 高収量性きのこ作出の経験則

エノキタケの高収量性品種の作出には、交配株多数から菌糸伸長速度およびフェノールオキシダーゼ活性の高い菌株を予備選抜するスクリーニング技術の活用が育種に有効であった²⁵⁾。多数の交配株のなかからの優良菌株の選抜には、様々な経験則があるが、きのこ種菌メーカーにとって重要なノウハウであり、公開は期待できない。

7. 交配後の栽培試験

品種開発の最後のステージは、多数の交雑株から優良形質の菌株を栽培試験で選抜することである。子実体の品質が特に重要であるが、収量性が高く菌回りが速いものが選抜の目標となる。味に関する因

子も評価に挙がるものである。栽培試験では、数回にわたり試験対象とする菌株を絞り込んでゆくが、最終段階では実用規模の栽培施設において菌株の評価がなされる。試験段階では、菌株の遺伝的安定性、すなわち、復帰変異の有無²⁵⁾、脱二核化⁶⁾および交配株における核移動不全²⁸⁾の有無などを検定しなければならない。開発品種の遺伝的安定性の検査が疎かになると、種菌をユーザーに供給する段階で発生不良が生じるおそれがあり、種菌の商業生産においては補償問題となることもある。しかし、種菌の劣化の仕組みはほとんど理解されておらず、今後の重要な研究課題である。

8. 結 語

我が国で主にこの総説を書く過程で、きのこの遺伝学、育種学における知見の不足を痛感した。文献が多くないため、随所に不明確な推測を含むものとなったことは、現在のきのこの育種学における水準を示すものとご理解いただきたい。きのこの育種は経験と勘を必要とするものであり、開発プロセスの全てが必ずしも科学的ではなく、「感性」を必要とするところがある。我々の責務は、「感性」に負う部分をできるだけ「科学」と「技術」の言葉で説明できるものに努力することであろう。

文 献

- 1) Yoo, Y.-B., You, C.-H., Cha, D.-Y.: *Korean J. Mycology* **21** (3), 200-211 (1993).
- 2) Honda, Y., Matsuyama, T., Irie, T., Watanabe, T., Kuwahara, M.: *Curr. Genet.* **37**, (3), 209-212 (2000).
- 3) Whitehouse, H. L. K.: *New Phytol.* **48**, 212-244 (1949).
- 4) 北本 豊, 鈴木 彰: “きのこ学”, 古川久彦編, 共立出版, 東京, 1992, pp. 79-115.
- 5) Aschan-Aberg, K.: *Svensk Bot. Tidskr.* **54**, 331-328 (1960).
- 6) Masuda, P., Yamanaka, K., Sato, Y., Kitamoto, Y.: *Mycoscience* **36** (4), 413-420 (1995).
- 7) Wong, W.M., Gruen, H.E.: *Mycologia* **69** (5), 899-913 (1977).
- 8) 中井幸隆: “きのこ学”, 古川久彦編, 共立出版, 東京, 1992, pp. 55-78.
- 9) Kitamoto, Y., Shishida, M., Yamamoto, H., Takeo, K., Masuda, P.: *Mycoscience* **41** (5), 417-423 (2000).
- 10) 曹 暉, 山本秀樹, 西原 紅, 北本 豊: 日本菌学会第41回大会講演要旨集, 広島, 1997, p. 30.
- 11) Gonzalez, P., Labarere, J.: *Appl. Environmen. Microbiol.* **64** (11), 4149-4160 (1998).
- 12) Bao, D., Aimi, T., Kitamoto, Y.: *J. Wood Sci.* **51** (2), 77-82 (2005).
- 13) Lim, S.R., Fischer, A., Berbee, M., Berch, S.M.: *BC Journal of Ecosystems and Management* **3** (1), 2-7 (2003).
- 14) Zervakis, G.I., Venturella, G., Papadopoulou, K.: *Microbiol.* **147** (11), 3183-3194 (2001).
- 15) 北本 豊: “'94年版きのこ年鑑”, 農村文化社, 東京, 1993, pp. 55-62.
- 16) Ohta, A.: *Trans. Mycol. Soc. Japan* **27** (2), 167-173 (1986).
- 17) 武丸恒雄: “きのこの基礎科学と最新技術”, きこの技術集談会編, 農村文化社, 東京, 1991, pp. 43-48.
- 18) Eugenio, C.P., Anderson, N.A.: *Mycologia* **60** (3), 627-643 (1968).
- 19) 北本 豊, 中山郁子, 河崎悦子, 中俣正人, 市川吉夫: 日本農芸化学会昭和61年度大会講演要旨集, 京都, 1986, p. 39.
- 20) Papazian, H.P.: *Bot. Gazette* **112** (1), 143-163 (1950).
- 21) Raper, J.R.: “*Genetics of Sexuality in Higher Fungi*”, Ronald Press, New York, 1966, pp.166-207.
- 22) Nogami, T., Kamemoto, Y., Ohga, S., Kitamoto, Y.: *Micologia Aplicada Internacional* **14** (2), 1-8 (2002).
- 23) Nogami, T., Kamemoto, Y., Kitamoto, Y.: *Mushroom Science and Biotechnology* **10** (2), 87-93 (2002).
- 24) 越智友也, 野上友美, 会見忠則, 北本 豊: 日本きのこ学会第9回大会講演要旨集, 広島, 2005, p. 55.
- 25) Kitamoto, Y., Nakamata, M., Masuda, P.: “*Genetics and Breeding of Edible Mushrooms*”, Chang, S.T., Buswell, J.A., Miles, P.G., ed., Gordon and Breach Science Publishers, Philadelphia, 1993, pp. 65-86.
- 26) 北本 豊, 野上友美, 荒井喜江: 日本応用きのこ学会誌 **5** (2), 87-94 (1997).
- 27) Masuda, P., 野上友美, 森 信寛, 北本 豊: 日菌報 **36** (4), 158-163 (1995).
- 28) 熊田 淳, 青野 茂, 北本 豊: 日本応用きのこ学会誌 **8** (4), 191-196 (2000).