

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5464588号
(P5464588)

(45) 発行日 平成26年4月9日(2014.4.9)

(24) 登録日 平成26年1月31日(2014.1.31)

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 N 1/14 (2006.01)

C 1 2 N 1/14 F

A O 1 G 1/04 (2006.01)

C 1 2 N 1/14 G

C 1 2 R 1/645 (2006.01)

A O 1 G 1/04 1 O 1

C 1 2 N 1/14 F

C 1 2 R 1:645

請求項の数 6 (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2010-105328 (P2010-105328)
 (22) 出願日 平成22年4月30日 (2010.4.30)
 (65) 公開番号 特開2011-110046 (P2011-110046A)
 (43) 公開日 平成23年6月9日 (2011.6.9)
 審査請求日 平成22年4月30日 (2010.4.30)
 (31) 優先権主張番号 10-2009-0113872
 (32) 優先日 平成21年11月24日 (2009.11.24)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

微生物の受託番号 KCCM KCCM11086P

(73) 特許権者 510121905
 ディーディーエルイー エイ シーエイチ
 イー アグリカルチュラル カンパニー、
 リミテッド
 大韓民国 チュンチョンナンド、チョナ
 ンシ、ドンナムグ、プンセーミョン、
 サンテーリ 137-1
 (74) 代理人 100091683
 弁理士 ▲吉▼川 俊雄
 (72) 発明者 クォン キョン イール
 大韓民国 チュンチョンナンド、チョナ
 ンシ、ドンナムグ、プンセーミョン、
 サンテーリ 202

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新菌株アギタケおよびその栽培方法 (A novel *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* strain and method of producing it)

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

寄託番号 K C C M 1 1 0 8 6 P で示される新菌株アギタケ (*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*)。

【請求項 2】

請求項 1 の菌株から形成されたアギタケ子実体。

【請求項 3】

前記子実体の傘の表面が唐皮模様の染みを持つことを特徴とする、請求項 2 に記載のアギタケ子実体。

【請求項 4】

培地製造段階、培地殺菌段階、種菌接種段階、培養段階、菌掻き段階、発茸段階および茸生育段階を含み、前記種菌接種段階の種菌が寄託番号 K C C M 1 1 0 8 6 P で示される新菌株アギタケ (*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*) であることを特徴とする、アギタケ栽培方法。

【請求項 5】

前記茸生育段階の生育適正温度は 11 ~ 14 に維持することを特徴とする、請求項 4 に記載のアギタケ栽培方法。

【請求項 6】

前記子実体の組織が、長さ方向の繊維質で構成されていて細かな筋に分けられることを特徴とする、請求項 2 に記載のアギタケ子実体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規なアギタケ（KACC93085P）菌株、その菌株の栽培によって得られる子実体、およびその栽培方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

アギタケは、エリンギの変種(*Pleurotus Eryngii* var. *ferulae*)または担子菌類のヒラタケ科ヒラタケ属の独立した種として分類されている種であって)体系上の論難となっている種であるが、乾燥地帯である中国新疆地方の植物「阿魏(アギ)」に発生するため、阿魏茸と呼ばれるようになった。アギタケは、分布地域からみて、主に南欧、チェコスロバキア、ハンガリー、フランス、北アフリカ、中央アジア、南ロシア、北アメリカ等の草原地帯および亜熱帯性気候に自生し、乾燥したステップ気候を好む典型的な草原型腐生菌である(Kim等、2007)。アギタケは、日本では白霊茸、または白雪(のようなもので)に似ているという意味で雪割茸とも呼ばれており、中国では阿魏側耳、阿魏こ、または白霊ことも呼ばれているが、形態的に似たアワビタケ(*Pleurotus nebrodensis*)と混用されて命名されることもある。アギタケは、傘が白い変種も存在し、形がエリンギに似ていると知られている。アギタケは、1958年からインド、フランス、ドイツなどで人工栽培に関する研究が開始され、1958年にKalmérが最初に人工栽培に成功したとされており、1983年に中国で鋸屑、綿実殻、ふすまを混ぜて人工栽培に成功したとされており、1990年には単孢子交雑により優れた菌株を確保して中国の福建省、新疆省などで広範囲に使用されており(Lee Dong Hee、2005)、世界的に年間1000トン程度少量生産されているキノコである(Hong Gi Hyung、2004)。アギタケは、他のキノコに比べて形が美しく、香味が豊富で食用価値が高いうえ、抗腫瘍および血糖降下作用をするものと知られている(Hongなど、2004)。また、アギタケは、胃障害および腎臓障害を緩和させるうえ、咳を(止めさせ)抑え、炎症を取り除き婦人科系(除去して産婦人科)の病気を防止する医薬的効能も知られている(Kim Dae Shik、2002)。この他にも、アギタケは、食餌繊維、アミノ酸およびその他のビタミンなどを多量含有しており、健康食品および機能性薬用茸としての価値が高い。最近、日本では、食用茸として人気を集め生産が急速に増加しており、アギタケに関して盛んに研究が行われているが、未だに商品化されて販売されていない。アギタケが日本と韓国で未だに量産されていない最も大きな理由は、肉質(物性)が弱く、茎が非常に肥大しており、傘の厚さが薄く、形がロート状になっているため収穫および包装過程で多くの問題点があり、何よりも消費者が好む商品的価値の面で非常に劣るためである。

【0003】

ヒラタケ(*Pleurotus* sp.)は、昔から各種広葉樹の枯れ木に発生した(する)ものを採取して食用として使ってきたが、近年では相当量を人工栽培している。人工栽培の増加に伴い、様々なキノコの新菌株が特許を受けている。例えば、特許文献1に開示された新規な褐色エノキタケ、特許文献2に開示されたトレハロース含量の高い新規なエノキタケ、特許文献3に開示された抗酸化活性を有するメシマコブ(*Phellinus linteus*)菌株などがある。

【0004】

一方、アギタケに関し、特許文献4にはヒラタケ属の新菌株「デワンソンイK9」とその栽培方法が開示されているが、この特許文献4の場合は、菌株を栽培用培地に接種してから発芽までの期間が82日であり、栽培日数が本特許に比べて2倍以上長く、栽培されたキノコが非常に肥大しており、その傘と柄が奇妙な形をしているため商品性が非常に劣るため、未だに生産および販売されていない。また、国立種子管理所に2007年に生産・販売を申告された導入品種は、2003年に中国から導入して瓶栽培に適用したが、キノコの子実体が非常に大きく、傘は柄の長さの1/2程度に相当する大きさでロート状の扁円形である。前記菌株は、中国では袋栽培が普遍化されているため、瓶栽培には適しな

10

20

30

40

50

い導入品種である。これも、商品性が劣るため、未だに栽培および生産されていない実情である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】韓国特許登録第0523942号

【特許文献2】韓国特許登録第0411239号

【特許文献3】韓国特許登録第0331497号

【特許文献4】韓国特許登録第0403411号

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

そこで、本発明者は、かかる問題点を解決するために、単孢子交配育種によって、瓶栽培に適した新規なアギタケを選び出し、本発明を完成するに至った。

【0007】

本発明の目的は、従来のヒラタケに比べて栽培期間が短く、味、形ともに優れて商品性が高く、瓶栽培が可能な新規のアギタケを提供することにある。

【0008】

本発明の他の目的は、前記アギタケの子実体、および前記アギタケの最適生産のための栽培方法を提供することにある。

20

【課題を解決するための手段】

【0009】

上記目的を達成するために、本発明は、第1様態として、新規なアギタケ(*Pleurotus Eryngii* var. *ferulae*)を提供する。前記菌株は、2009年11月17日付で韓国国立農業科学院の農業遺伝子院センターに寄託された(受託番号: KACC93085P)。第2様態として、本発明は、前記アギタケ(*Pleurotus Eryngii* var. *ferulae*)(寄託番号: KACC93085P)菌株から形成されたアギタケ子実体を提供する。

【0010】

第3様態として、本発明は、培地製造段階、培地殺菌段階、種菌接種段階、培養段階、菌、菌掻き段階、発茸段階および茸生育段階を含む、アギタケの栽培方法を提供する。

30

【0011】

ここに限定されていないが、(好ましくは、)前記培地は鋸屑と米糠が攪拌混合された培地であることが好ましく、さらに(好ましくは)、前記培地の最終培地含水率は68~70%であることが好ましい。

【0012】

また、ここに限定されていないが、(好ましくは、)前記培養段階は17~20日間17~19で行われた後、次いで22~24で8~10日間培養熟成させる段階を含む。(好ましくは、)湿度は、前期培養の場合には60~70%、後期培養の場合には70~80%で管理され、二酸化炭素濃度は、3000ppm以下で管理されること。(好ましくは、)照度も暗黒培養に維持され、培養期間は25~30日間であることが好ましい。

40

【0013】

そして、ここに限定されていないが、(好ましくは、)前記発茸段階は、14~15の温度で管理され、90~95%の湿度で3~5日間、後期発茸の場合には70~80%で3~5日間管理されること。また、(好ましくは、)二酸化炭素濃度は1000ppm以下で管理され、照度は昼にのみ電灯によって管理され、5~8日間逆立ち状態で管理されることが好ましい。後期発茸で原基形成の後、幼茸に分化されて1cm程度育てば正立状態に戻す。

【0014】

さらにここに限定されていないが、(好ましくは、)前記茸生育段階の生育適正温度は

50

11～14 に維持され、栽培容器の入口の表面に形成された幼茸の大きさを均一に同調化するために、最初3日間は11 に維持されること。(好ましくは、)また湿度は70～95%で管理して乾/湿の湿度交差を大きくすること。(好ましくは、)そして出芽を確認後(芽出し確認の後には)正立状態に戻して5～8日間管理されることが好ましい。

【発明の効果】

【0015】

本発明に係るアギタケは、既存のアギタケとは異なる新菌株と判明されており、既存のアギタケの栽培期間より短い期間内に栽培が可能であり、生長力にも優れる。また、本発明に係るアギタケは、肉質、味および香りに優れるうえ、既存のアギタケに比べて形や大きさなどの商品性にも優れた高品質のキノコであって、これを用いた食品産業および農業

10

の高付加価値の創出に非常に有用であると期待される。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】本発明に係るアギタケ(*Pleurotus Eryngii* var. *ferulae*)の子実体を撮った写真

である。

【図2】本発明に係るアギタケ(*Pleurotus Eryngii* var. *ferulae*)の子実体を撮った写真

である。

【図3】本発明に係るアギタケ(*Pleurotus Eryngii* var. *ferulae*)の子実体を撮った写真

である。

【図4】本発明に係るアギタケの傘の部分を示す写真である。

20

【図5】本発明に係るアギタケ(*Pleurotus Eryngii* var. *ferulae*) (KACC93085

P)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】

【0017】

以下、本発明を実施例によってさらに詳しく説明する。(ところが)ただし、下記実施例は本発明を例示するものに過ぎず、本発明の内容を限定するものではない。

【実施例】

【0018】

実施例1：アギタケの分離

(1) 単胞子の分離

30

本発明のために、農業会社法人(株)トルアチェ所有の菌株を使用し、落下法によってアギタケの傘をペトリ皿に載せ、24時間後に傘を除去し、しかる後に、ペトリ皿の上に落ちたキノコの胞子を滅菌水によって適正濃度で希釈してジャガイモ寒天培地に塗抹する。25℃で10日間培養した後、芽出した1次菌糸を楊枝によって分離する。それぞれの1次菌糸はさらにジャガイモ寒天培地に接種する。接種されたジャガイモ寒天培地は、25℃で14日間培養した後、それぞれの菌糸を一部分離して顕微鏡を通してクランプの有無を確認し、クランプが見えない菌糸のみを10%グリセロール溶液に入れて冷蔵保管しながら試験に使用した。

【0019】

(2) 交配

40

純粋分離されて冷蔵保管中にあるそれぞれのアギタケの単胞子(一核)菌糸をジャガイモ寒天培地に接種し、25℃で14日間培養した後、生育が良く且つ菌糸体量が多いものだけを選び出し、交配育種に使用した。選び出されたそれぞれの一核菌糸体、すなわちジャガイモ寒天培地で育った菌糸体を1cm円形のサイズに切って単胞子(一核)菌糸と単胞子(一核)菌糸をそれぞれ1つずつ新しいジャガイモ寒天培地に3cmの間隔で接種する。接種されたジャガイモ寒天培地を25℃の恒温器で21～28日間培養した後、菌糸を分離して顕微鏡を通して観察することにより、クランプの形成された菌株を交配株として確認した後、クランプ形成菌株を選び出す。

【0020】

(3) 交配株の栽培試験

50

鋸屑：米糠を8：2の割合で混合して水分を65％に調整し、850ccの茸栽培用瓶に580gずつ入れた後、2cmの棒で中央、上部および底部を穿孔して121で60分間滅菌を行った。滅菌の後、20に冷却した後、前記選出された菌株を接種し、24の暗黒状態で30日間培養した。培養完了の後、菌掻き作業を行った後、14～18、湿度80～95％、照度100～200luxで発茸および生育などの栽培試験を行った。

【0021】

(4) 新規アギタケの選出

前記栽培試験で生育した子実体の傘の形、傘の色沢、柄の太さ、柄の長さなどを調べるにより、最も優れたもののみを選び出す。この際、培養および栽培日数が短く、数量が多く、子実体の傘が雨傘形であり、肉質があまり堅くなく緻密なものを選び出す。

10

【0022】

前記試験で選出された菌株をそのまま実用化してもよいが、選出された菌株を再交配して再び選出してもよい。これはより市場価値の高いキノコを選び出すためである。

【0023】

(5) アギタケの形態的特性

傘は、大きさが15～100mm、できれば20～50mmが好ましい。初めは半球形で、縁が内側に曲がっており、成熟すると半々球形、中高扁平形または扁平になる(。好ましくは)が半球形が好ましい。表面は平滑で、唐皮模様の染みがある。幼茸のときには褐灰色(5D2、brownish gray、Methuen Handbook of Color)を呈し、成熟すると灰黄色(5B3、grayish orange)を呈する。湿ったときには吸湿性であるが、乾燥すると乾変色現象が起こる。組織は柔らかくて弾力性のある肉質形であり、乳白色である。味は甘く、香りはサトウキビの香りに似ている。特に、噛むときにコリコリとした感触が非常に良い。

20

【0024】

襞は柄に垂生し、15～35×1～3mmであり、4型で多少密である。初めは乳白色であるが、成熟すると黄白色(4A2、yellowish white)を呈する。襞の先端は平滑である。

【0025】

柄は、大きさが50～150×15～35mm、できれば15～40×70～90mmの円筒形であることが好ましく、基部側が多少太いか膨大になっている。柄の表面は乳白色を呈し、平滑である。柄の内部は充実している。柄は、縦方向には非常に強く、横方向には薄く裂かれている。

30

【0026】

胞子の色は白色である。胞子は、サイズ5～6×7～9μmで円筒形である。

【0027】

担子器は、サイズ24～39×5～7μmで長い棍棒状をし、大部分が4胞子型であり、基部にクランプがある。

【0028】

縁シスチジアは、大きさが25～35×5～8μmで、棍棒形、紡錘形、棍棒状紡錘形であり、一般に頂端部には1～3つの尖った突起があり、細胞壁は薄く、無色である。

40

【0029】

側シスチジアはない。

【0030】

子実層の組織は、平行菌糸型ないし混線形で第1菌糸組織型であり、菌糸の隔膜にクランプがある。

【0031】

(6) アギタケの生理的特性

1) 寒天培地上における特徴：

MCM寒天培地を用いて25で菌糸生長形態と菌叢を観察した。寒天培地のpHは6

50

、 0 ± 0.2 であり、 90×15 mm のペトリ皿を使用した。その結果、恒温器で 12 日間培養した MCM 寒天培地における菌叢の色沢は表面および底部共に白色を呈し、形は表面に気中菌糸が形成される浮上型であり、初期、中期培養の菌叢ではすべて同心円形であり、のちに直線形となる。

【0032】

2) 菌糸生長最適温度：

ジャガイモ寒天培地上で育った菌糸体を直径 10 mm のサイズに切った後、MCM 寒天培地の正中央に接種し、温度別に培養した後、12 日後に生長した菌糸体の直径を測定したところ、最適の温度は 27 付近であった。

【0033】

3) 菌糸生長最適温度：

菌糸生長に適した最適酸度を調べるために、グルコース - ペプトン - イーストエクストラクト液体培地 25 mL を pH 4 ~ 7 にそれぞれ調節した後、25 で 12 日間静置培養し、しかる後に、乾燥菌糸体の重量を測定したところ、菌糸生育最適酸度は pH 5.5 付近であった。

【0034】

実施例 2：アギタケの同定

(1) ITS 地域の塩基配列の決定

培養体からビードビーティング (bead beating) 方法を用いて DNA を抽出し、内部転写される ITS (Internal transcribed spacer) を PCR (polymerase chain reaction) 増幅するために、ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG；配列番号 1) / ITS4 (TCCCTCCGCTTATTGATATGC；配列番号 2) のプライマーセットをそれぞれ用いて増幅した後、精製によって (株) MacroGen にシーケンシングを依頼して塩基配列を決定した (配列番号 3)。

【0035】

(2) 遺伝的特性の分析

塩基配列が決定された 2 つの遺伝子部分を修正して遺伝子銀行の BLAST サーチによって最も類似した菌株の塩基配列を得た後、さらに正確な遺伝的分析を試みた。

【0036】

Bio-edit (BioEdit Sequence Alignment Editor) を用いて全ての塩基配列を整列し、これに基づいて MEGA (4.1) program を用いて Kimura 2-parameter で進化学的距離を計算し、UPGMA 方法で分子進化学的関係を図 4 に示した。この際、bootstrapping 値は 1000 とした。これに基づいてこれらの類似性および最終同定を行った。その結果、ヒラタケ属のキノコ「Pleurotus Eryngii var. ferulae」と同定された。

【0037】

実施例 3：アギタケの栽培

1. 培地調製

培地材料は、鋸屑：米糠 = 8：2 (容積比、40 ~ 50 g / 850 cc 瓶が標準) で混合して使用した。攪拌混合することにより、最終培地含水率が 68 ~ 70 % となるように調整した。

【0038】

2. 充填

培地の充填量は 850 cc の空き瓶に 480 ~ 520 g (内容量) となるように充填した。

3. 殺菌

高圧殺菌は、培地内の温度が 120 に達してから 60 分間 (有効殺菌時間) 行い、殺菌釜の温度を標準とする場合には 90 分間 (850 cc の瓶) 行う。

【0039】

4. 放冷

10

20

30

40

50

清潔な環境の下で培地温度が20以下となるまで冷却した。

5. 接種

種菌の接種量は1瓶当たり15cc程度を標準として接種した。

【0040】

6. 培養管理

温度は18で25日間管理し、これに続いて23で8～10日間培養熟成管理した。湿度は、前期培養は60～70%、後期培養は70～80%で管理し、二酸化炭素濃度は、3000ppm以下で管理した。照度は暗黒培養で管理し、培養期間は25～30日間である。

【0041】

7. 菌掻き

(芽出し)出芽数を抑える目的で5～15mm菌掻きを施した。

【0042】

8. 発芽管理

温度は14～15で管理し、前期発芽は90～95%の湿度で3～5日間、後期発芽は70～80%の湿度で3～5日間管理した。二酸化炭素濃度は1000ppm以下で管理し、照度は昼にのみ電灯によって管理した。5～8日間、逆立ち状態で管理した。後期発芽で1cm程度の幼茸の原基が形成されると、直ちに逆立ち状態から正立状態に変えて生育管理をした。

【0043】

9. 生育管理

栽培瓶の入口の表面に形成された幼茸の大きさを同調化するために、温度は11～12で管理して14以上には上がらないようにした。最初の3日間を11で管理した。湿度は70～95%で管理して乾/湿の湿度交差を大きくした。(芽出し確認の)出芽を確認後、正立状態に戻して5～8日間管理した。正立状態に戻った直後には、生育初期に低温管理によって除湿による湿度条件に注意して管理する。

【0044】

10. 収穫

茸の傘が丸やかな半球形の形状が残っている状態で菌掻き後15～18日目に収穫した。

10

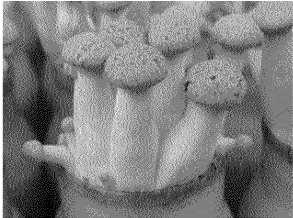
20

30

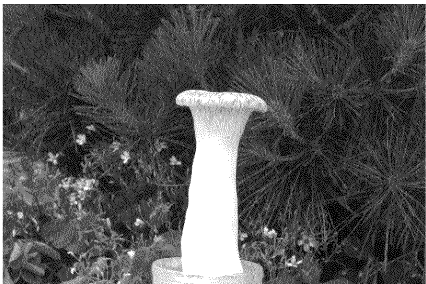
【 図 1 】



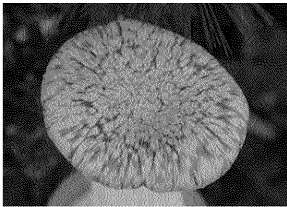
【 図 2 】



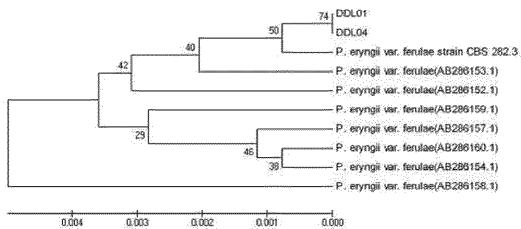
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



 フロントページの続き

- (72)発明者 ジョン ウク ジン
大韓民国 チュンチョンナン - ド, チョナン - シ, ドンナム - グ, シンパン - ドン, ソンジ セマ
ル アパートメント 208 - 1802
- (72)発明者 リー ソン ジン
大韓民国 チュンチョンナン - ド, チョナン - シ, ドンナム - グ, シンパン - ドン, ソンジ セマ
ル アパートメント 206 - 1404
- (72)発明者 ソク スーン ジャ
大韓民国 ギョンジ - ド, スウォン - シ, ジャンガン - グ, チョンチョン - ドン 333, 119
- 2401
- (72)発明者 パク キ ムーン
大韓民国 ギョンジ - ド, アニャン - シ, ドンガン - グ, ビサン - ドン 341, ニュー - タウン
アパートメント 341, 17 - 1302

審査官 伊達 利奈

- (56)参考文献 特開2004 - 344133 (JP, A)
特開2007 - 209303 (JP, A)
特開2008 - 104380 (JP, A)
特開2009 - 022218 (JP, A)
特開2009 - 240241 (JP, A)
特開2007 - 037455 (JP, A)
特表2003 - 520576 (JP, A)
特開2007 - 053928 (JP, A)
特開2008 - 131890 (JP, A)
特開2009 - 189317 (JP, A)
BIO INDUSTRY, 2006, Vol.23, No.12, pp.25-32
EurAsian Journal of BioSciences, 2009, Vol.3, pp.58-63

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 1/00 - 1/38

JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)
PubMed