

# Reports of The Tottori Mycological Institute

---

No. 49 (2019)

---

REPORTS OF THE TOTTORI MYCOLOGICAL INSTITUTE No. 49 2019

(菌蕈研究所研究報告 第四十九号)

Published by  
The Tottori Mycological Institute  
The Japan Kinoko Research Centre Foundation  
Tottori, Japan

菌蕈研究所研究報告 第49号  
一般財団法人 日本きのこセンター  
菌蕈研究所 発行

THE JAPAN KINOKO RESEARCH CENTRE FOUNDATION

President: Takayoshi TSUNEDA

Managing Directors: Yukitaka FUKUMASA, D. Agr.; Masafumi ISHITANI; Kozaburo HASEBE, D. Agr.

THE TOTTORI MYCOLOGICAL INSTITUTE ORGANIZATION & STAFF

Director:

Kozaburo HASEBE, D. Agr.

Research Advisor: Keisuke KOHIMOTO, D. Agr.

Emeritus Research Scientists: Shigeyuki MURAKAMI, D. Sci.; Keisuke TOKIMOTO, D. Agr.; Eiji NAGASAWA

ADMINISTRATION DIVISION

Masafumi ISHITANI; Junko NAKANISHI (Administrative assistant); Moe OKAZAKI (Product development); Yoko IMAI (Assistant)

RESEARCH DIVISION

Associate Directors for Research: Kazuhisa TERASHIMA, Ph. D.; Emi SAKUNO, Ph. D.  
Supervisory Research Scientists: Shuji USHIJIMA, Ph. D.; Yasuhito OKUDA, Ph. D.; Akimasa SASAKI, Ph. D.  
Research Scientist: Akiko TABUCHI  
Supervisory Technician: Makoto KURODA, Atsuto IRIE  
Research Assistants: Tokuo ISHIGAMI, Masao ISOBE, Takuya HIGASHIDA, Mutsuaki FUKUTA, Makoto MIYAUCHI, Mina YAMAMASU

REPORTS OF THE TOTTORI MYCOLOGICAL INSTITUTE

Editorial Board

Emi SAKUNO (Editor-in-Chief), Yukitaka FUKUMASA, Kazuhisa TERASHIMA, Shuji USHIJIMA, Yasuhito OKUDA, Akimasa SASAKI, Akiko TABUCHI

All communications relating to this publication should be addressed to the  
Director, the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.  
E-mail: info@kinokonet.com

Issued on 24 September, 2019

一般財団法人日本きのこセンター

理事長 常田享詳

常務理事 農博 福政幸隆 常務理事 石谷雅文  
常務理事 博士(農学) 長谷部公三郎

菌蕈研究所の機構および職員

所長 博士(農学) 長谷部公三郎  
研究顧問 農博 甲元啓介  
名誉研究員 理博 村上重幸, 農博 時本景亮, 長澤栄史

事務・管理部門

石谷雅文, 中西純子(課長代理), 岡崎萌生(商品開発担当), 今井洋子(事務補助員)

研究部門

所長付部長: 博士(農学) 寺島和寿, 博士(農学) 作野えみ  
主任研究員: 博士(農学) 牛島秀爾, 博士(農学) 奥田康仁, 博士(農学) 佐々木明正  
研究員: 田淵諒子  
主任技師: 黒田誠, 入江淳人  
研究補助員: 石上徳雄, 磯部正雄, 東田卓也, 福田睦章, 宮内 誠, 山柘美奈

研究報告編集委員会

作野えみ(長), 福政幸隆, 寺島和寿, 牛島秀爾(幹事), 奥田康仁, 佐々木明正(幹事), 田淵諒子(幹事)

菌蕈研究所研究報告 第49号

令和元年9月19日 印刷  
令和元年9月24日 発行

編集・発行者 (一財)日本きのこセンター菌蕈研究所  
〒689-1125 鳥取市古郡家211  
TEL (0857) 51-8111  
FAX (0857) 53-1986

印刷所 (株)パレット  
〒680-0034 鳥取市元魚町1丁目116

この研究報告に関する事項のお問い合わせは、本研究所長宛にお願い致します。  
E-mail: info@kinokonet.com

**Reports of the Tottori Mycological Institute**  
**Number 49, September 2019**

---

**Contents**

	page
<b>Original papers</b>	
NAGASAWA, E., YONEZAWA, T., and NAKAGIRI, A.: <i>Ascotremella faginea</i> (Helotiales, Helotiaceae) new to Japan .....	1
OKUDA, Y., TABUCHI, A., and SAKUNO, E.: Development of a new <i>Auricularia polytricha</i> cultivar, and cultivar identification markers based on intergenic spacer 1 (in Japanese) ...	5
SAKUNO, E., TABUCHI, A. and TERASHIMA, K.: The taste and the component contents of freezer stored shiitake, <i>Lentinula edodes</i> (in Japanese) .....	13
TOKIMOTO, K., TABUCHI, A., SAKUNO, E., SUZUKI, Y., KAWASAKI, A., and HIRATA, T.: Determination of the geographic origin of log-cultivated shiitake mushroom, <i>Lentinula edodes</i> , using comparative analysis of Sr isotope, C · N · O isotopes, and levels of trace elements (in Japanese) .....	28
<b>Materials</b>	
TERASHIMA, K., SASAKI, A., KURODA, M. and HASEBE, K.: Yield-related properties of Kinko N115, a new shiitake cultivar for wood-log cultivation (in Japanese) .....	35
USHIJIMA, S. and NAGASAWA, E.: Culture collection at the Tottori Mycological Institute (TMI) (in Japanese) .....	45
<b>Records</b>	
A list of papers published in the Report of the Tottori Mycological Institute in Nos. 31 (1993) to 48 (2018) .....	49
<b>Abstracts of papers published in other scientific journals during July 2018 to June 2019</b> ...	S1

# 菌 蕈 研 究 所 研 究 報 告

第 49 号 (令和元年 9 月)

---

## 目 次

### 原 著 論 文

- 長澤栄史・米澤朋子・中桐昭：ビョウタケ目ビョウタケ科の日本新産種ダイセンニカワブドウタケ  
(新称) について (英文) ..... 1
- 奥田康仁・田淵諒子・作野えみ：アラゲキクラゲ新品種の育成と品種識別マーカーの開発 ..... 5
- 作野えみ・田淵諒子・寺島和寿：冷凍シイタケの食味および各種成分含量の調査 ..... 13
- 時本景亮・田淵諒子・作野えみ・鈴木彌生子・川崎晃・平田岳史：原木栽培シイタケの産地判別に  
おけるストロンチウム同位体分析, 炭素・窒素・酸素同位体分析および微量元素濃度分析の  
有用性比較 ..... 28

### 資 料

- 寺島和寿・佐々木明正・黒田誠・長谷部公三郎：菌興 N115 号の収量性について ..... 35
- 牛島秀爾・長澤栄史：菌蕈研究所 (TMI) が保有する菌類きのこ遺伝資源について ..... 45

### 雑 録

- 菌蕈研究所研究報告 31 号 (1993 年) ~ 48 号 (2018 年) に掲載された論文および資料等の目録 ... 49

- 外部学術雑誌掲載論文摘要再録 (2018 年度) ..... S1

## ***Ascotremella faginea* (Helotiales, Helotiaceae) new to Japan \***

Eiji NAGASAWA, Tomoko YONEZAWA, and Akira NAKAGIRI \*\*

### **Abstract**

***Ascotremella faginea* is reported for the first time from Japan and is also the first record of the genus from Japan. The specimen was collected in October on a fallen branch of an unidentified broad-leaved deciduous tree in a beech forest of Tottori Prefecture, western Japan. A brief description of the Japanese specimen is given along with illustrations including a color photograph of the fruiting-body, a SEM photograph of ascospores, and line drawings of salient microstructures.**

**Key words: biogeography, beech forest, discomycetes, Ascomycota.**

*Ascotremella faginea* (Peck) Seaver is the type and the only species of the genus which belongs to Helotiaceae of Helotiales in Leotiomycetes (Kirl et al. 2008, Korf 1973). This inoperculate discomycete species is well characterized by forming purplish brown to dull reddish purple, cerebriform, gelatinous fruiting-bodies reminiscent of those of the tremelloid jelly fungi on dead branches and trunks of broad-leaved deciduous trees, particularly *Fagus*, and microscopically by possessing relatively small, elliptic, non-septate, hyaline ascospores finely and longitudinally ribbed on the wall (Beaton and Weste 1976, Bessette 1997, Breitenbach and Kränzlin 1984, Dennis 1981, Gamundí and Dennis 1969, Korf 1973, Peck 1890, Seaver 1930).

So far it has been known from North America (USA – from New York State the species was originally described, and Canada) and Europe (Nordic countries, England, Switzerland, Slovakia) in Northern

Hemisphere, and also in Southern Hemisphere, from South America (Brazil and Argentine) and Australia (Bessette 1997, Breitenbach and Kränzlin 1984, Dennis 1981, Gamundí and Dennis 1969, Dissing 2000, Ripková et al. 2007, Seaver 1951). In Asia we have two records, one from Far East Asia (Kurile Islands, on *Alnus maximowiczii* Callier; Gamundí and Dennis 1969) and the other from West Asia (Turkey, on beech branch; Akata et al., 2016)

In October of 2018 an usual fungus (Fig.1) forming a soft-gelatinous, cerebriform fruiting-body colored more or less purplish brown on a fallen branch of broad-leaved deciduous tree was collected by one of us (TY) in a beech forest (dominated by *Fagus crenata* Blume) at Mt. Daisen (1,729 m above sea level) in Tottori prefecture, western Japan. Later the specimen was identified as *A. faginea* after microscopical observation and subsequent research of the literature. *A. faginea* has been hitherto unknown

---

\* Contribution No.412 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

\*\*Fungus/Mushroom Resource and Research Center, Faculty of Agriculture, Tottori University, 4-101 Koyama, Tottori 680-8553, Japan.

from Japan (Katamoto, 2010); hence it is reported here with a description and illustrations.

In the following description, the color codes given in parentheses (ex., 8E5 to 9F4-5) are from Kornerup and Wanscher (1967). Microscopic examinations were based on both fresh and dried specimen using Melzer's reagent and KOH (2.5% aqueous solution). The examined specimen was deposited in the herbarium of the Tottori Mycological Institute (TMI), Tottori, Japan.

*Ascotremella faginea* (Peck) Seaver, *Mycologia* **22**: 53, 1930. (Figs. 1-6)

≡ *Haematomyces fagineus* Peck, *Annu. Rep. New York State Mus. Nat. Hist.* **43**: 79, 1890.

≡ *Neobulgaria faginea* (Peck) Raitv., *Izv. Akad. Nauk Estonsk. SSR*: 302, 1963.

Ascocarp (Fig. 1) soft-gelatinous, a cerebriform mass or somewhat like a bunch of grapes, up to 55 × 33 mm wide and 30 mm high, comparatively easily detached from the substrate; consisting of irregularly rounded to lobed apothecia growing crowded together; hymenial surface shiny, smooth or wrinkled, dull to dark purplish brown (8E5 to 9F4-5), paler (near 8D4) in the sterile undersurface; flesh more or less translucent, subhyaline with a slightly purplish hue.

Ascospores (Figs. 2, 3) 7.2–9.0 × 3.3–3.6 μm (in Melzer's reagent, n=22: mean, 8.0 ± 0.7 × 3.5 ± 0.1



Fig. 1. Habit of *Ascotremella faginea*. TMI-37387. Photo by T. Yonezawa (20 Oct. 2018).

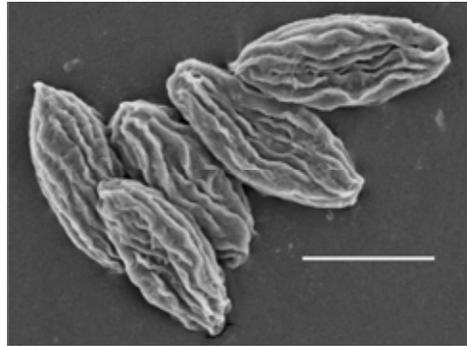
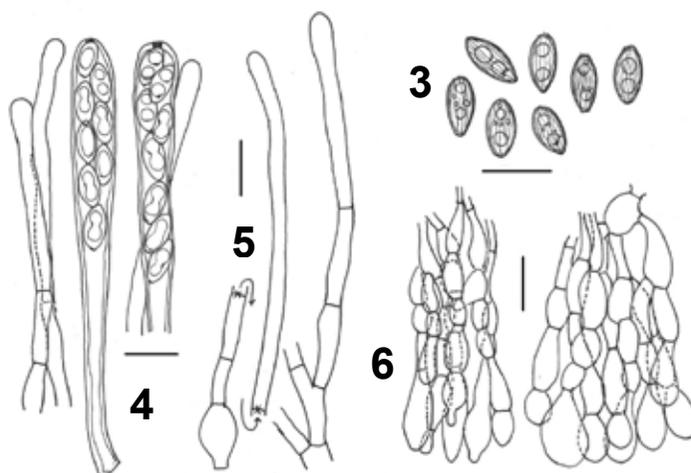


Fig. 2. SEM photograph of ascospores of *Ascotremella faginea*. TMI-37387. Note: This photograph was taken from dried spore deposits on malt agar medium and observed under a scanning electron microscope (SU1510, Hitachi High Technol., Japan) after coating with platinum. (Scale bar, 5 μm)

μm), length/width= 2.0–2.7 (in Melzer's reagent, n=22: mean, 2.3 ± 0.2) [6.6–9.0 × 3.6–4.2 μm (in KOH, n=14; mean, 7.8 ± 0.6 × 3.9 ± 0.3)], one-celled, elliptic to elliptic-fusoid, at times pointed or truncated at the one end, or more or less truncated at the both ends, usually 2-guttulate, hyaline, moderately thick-walled; walls longitudinally striate, with 6–8 (in side-view), thin and narrow ridges which are often forked and occasionally anastomosed. Asci (Fig. 4) 72.0–86.4 × 6.0–8.4 μm (spore bearing portion 29.4–42.0 μm long), cylindric-clavate, 8-spored, uniseriate to biseriate, inoperculate, with an amyloid apical pore. Paraphyses (Figs. 4, 5) filiform, nearly equal or somewhat shorter than asci in length, 2.4–3.0 μm wide, equal or somewhat enlarged at the apex (–3.6 μm), poorly septate (mostly in the lower portion), sometimes branched near the base. Medullary excipulum composed of loosely interwoven hyphae embedded in a gelatinous matrix; hyphae 3.2–9.6 μm wide, hyaline, filamentous to irregularly inflated, often crooked intricately, moderately branching. Ectal excipulum (Fig. 6) 88–112 μm thick, a palisade of catenulate hyphae vertically oriented to the surface, not gelatinous; element cells hyaline, thin-walled, 6.4–17.4 μm wide and usually widest at the terminal ones which are broadly clavate to obovate,



Figs. 3–6. Microstructures of *Ascotremella faginea*. TMI-37387. Fig. 3. Ascospores. (Scale bar, 10  $\mu$ m) Fig. 4. Asci containing ascospores and paraphyses. (Scale bar, 10  $\mu$ m) Fig. 5. Paraphyses. (Scale bar, 10  $\mu$ m) Fig. 6. Portions of an ectal excipulum. (Scale bar, 20  $\mu$ m)

occasionally broadly elliptic to subglobose, 12.6–31.8  $\times$  9.6–17.4  $\mu$ m, at times with a shortly prolonged apex,

**Specimen examined:** on fallen branch of broadleaved deciduous tree, in the beech forest of Mt. Daisen, above the sea level about 800–850 m, Daisen-cho, Saihaku-gun, Tottori Prefecture, Japan, 20 Oct. 2018, Coll. by Tomoko Yonezawa, EN 18-102 (TMI-37387)

**Remarks:** The Japanese specimen would be safely identified as this species, having characters described above, particularly the cerebriform, gelatinous ascocarp colored purplish brown, the striated ascospores measuring about 7–9  $\times$  3.5–4  $\mu$ m, and the ectal excipulum consisting of a non-gelatinous palisade layer of catenulate hyphae. The longitudinally ridged-striate ornamentation of the ascospores is so fine that it would be often easily overlooked in the observation with a light microscope. Our SEM observation of the ascospores clearly shows that the wall is ornamented by thin and narrow, more or less longitudinally oriented ridges like dorsal fins that are occasionally branching and anastomosing.

In the literature the apical pore of the asci is often described as not staining blue by iodine reagent (often as “J–” or inamyloid) (Breitenbach and Kränzlin 1984,

Bessette et al. 1997, Dennis 1978, Dissing 2000). In the Japanese specimen the amyloid reaction was very weak or little observed when Melzer’s reagent was directly applied to the asci, but a blue-staining reaction to the reagent was clearly observed with pretreatment with an aqueous 2.5 % KOH solution.

Due to its habit and habitat *A. faginea* may be easily mistaken in the field for *Neobulgaria pura* (Fr.: Fr.) Petrak (= *Ascotremela turbinata* Seaver) (Dennis 1978, Gamundí and Dennis 1969, Korf 1973) or a member of the jelly fungi, such as *Tremella* and *Exidia*. However, *N. pura* is distinctive in having smooth ascospores and a two-layered, differently organized ectal excipulum, and the jelly fungi are also distinctive in having basidia.

## References

- Akata, I., Uzun, Y. and Kaya, A. 2016. Macrofungal diversity of Zigana Mountain (Gümüşhane/Turkey). *Biol. Diversity and Cons.* **9**: 57–69.
- Beaton, G. 1976. Australian Discomycetes: *Ascotremella*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **67**: 146–148.
- Bessette, A.E., Bessette, A.R. and Fischer, D.W. 1997. *Mushrooms of northeastern North America.*

- Syracuse University Press, Syracuse. 582 p.
- Breitenbach, J. and Kränzlin, F. 1984. Fungi of Switzerland. Vol. 1. Ascomycetes. Verlag Mykologia, Luzern. 310 p.
- Dissing, H. 2000. *Ascotremella* Seaver. In: Hansen, L and Knudsen, H. (eds.) Pp. 136–137. Nordic macromycetes. Vol. 1. Ascomycetes. Nordsvamp, Copenhagen.
- Dennis, R.W.G. 1978. British Ascomycetes. Revised and enlarged edition. J. Cramer, Vaduz. 585 p.
- Gamundí, I.J. and Dennis, R.W.G. 1969. The status of *Ascotremella* Seaver (Fungi – Helotiales). *Darwiniana* **15**: 14–21.
- Katamoto, K. 2010. List of fungi recorded in Japan. The Kanto Branch of the Mycological Society of Japan, Chiba. 1,177 p.
- Korf, R.F. 1973. Discomycetes and Tuberales. In: Ainsworth. G.C., Sparrow, F.K., and Sussman, A.S. (eds.) Pp. 249–319. *The Fungi: an advanced treatise*. Vol. **IVA**. A taxonomic review with keys: Ascomycetes and Fungi Imperfecti. Academic Press, New York.
- Kornerup, A. and Wanscher, J. H. 1967. *Methuen handbook of colour*, 2nd ed. Methuen & Co. Ltd., London. 243 p.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., and Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the fungi*, 10th ed. CABI, Wallingford, UK. 784 p.
- Peck, C.H. 1890. Report of the Botanist. *Annu. Rep. New York State Mus. Nat. Hist.* **43**: 51–97.
- Ripková, S., Adamčík, S. and Kučera, V. 2007. New, rare and less known macromycetes in Slovakia II. *Czech Mycol.* **59**: 185–199.
- Seaver, F.J. 1930. Photographs and descriptions of cup-fungi. X. *Ascotremella*. *Mycologia* **22**: 51–54.
- Seaver, F.J. 1951. *The North American cup-fungi (Inoperculates)*. Published by the author, New York. 428 p.

---

## 摘 要

ビョウタケ目ビョウタケ科の日本新産種ダイセンニカワブドウタケ（新称）について

長澤栄史・米澤朋子・中桐昭

鳥取県大山のブナ林内において採集された標本（落葉広葉樹の落枝上に発生）に基づき、*Ascotremella faginea* (Peck) Seaver の日本における発生を初めて報告した。本種は、ビョウタケ目ビョウタケ科に所属する *Ascotremella* 属の基準種であり、かつ唯一の種類である。外観的には落葉広葉樹の落枝や倒木上に、ゼラチン質な紫褐色～鈍赤紫色の、複雑に入り組んだ脳みそ様塊状の子実体（子嚢果）を形成すること、また、顕微鏡的には比較的小形な（大山産標本ではほぼ  $7-9 \times 3.5-4 \mu\text{m}$ ）、楕円形、単細胞、無色の子嚢胞子を持つが、その表面に縦に走る繊細な筋状の模様（光学顕微鏡下では見逃され易いが、走査電子顕微鏡下では低い背びれ状～筋状の隆起として観察される）が有ることを著しい特徴とする。文献によれば主たる分布地は北アメリカ東部（原記載地はアメリカ合衆国ニューヨーク州）のおよび北西ヨーロッパのようであるが、南アメリカ（ブラジルおよびアルゼンチン）およびオーストラリアからも報告が有る。また、アジアからはトルコおよび千島列島での発生が知られている。本種は、外観的特徴においてブナ倒木上に一般的なニカワチャワンタケ (*Neobulgaria pura* = *Ascotremella turbinata*) に類似するが、同種は子嚢胞子が平滑で、また、托外層の構造において異なる。新和名として、産地および外観的特徴に因み、ダイセンニカワブドウタケ（大山膠葡萄茸）を提案する。

## アラゲキクラゲ新品種の育成と品種識別マーカーの開発\*

奥田康仁・田淵諒子・作野えみ

### Development of a new *Auricularia polytricha* cultivar, and cultivar identification markers based on intergenic spacer 1 \*

Yasuhito OKUDA, Akiko TABUCHI, and Emi SAKUNO

#### Abstract

Cloud ear mushroom (*Auricularia polytricha*; aragekikurage in Japanese) is known as an excellent edible mushroom in Japan. Most domestically distributed cloud ear mushroom is imported. Recently, clarification of risks of imported edible mushrooms has raised consumer awareness about food safety. Consequently, domestic production is attracting attention, although breeding of new cultivars has stagnated. In Tottori prefecture, cultivation of this mushroom is being promoted mainly by the Japan Kinoko Research Center Foundation. Several reasons improvement of conventionally used cultivars is needed include light color and low yield. Cultivars No. 1 (TMIC 36441) was selected from five candidates in this study as a new cultivar that improved these traits. This cultivar was given the final designation “KinjinAPI”. For the purpose of protecting breeder’s rights, we developed cultivar identification markers CI-1 and CI-2, which distinguish the new cultivar selected in this study from 3 domestic cultivars, and 39 dried mushrooms on the market (13 domestic and 26 foreign products).

**Keywords:** *Auricularia polytricha*, new cultivar, cultivar identification markers.

#### 緒 言

アラゲキクラゲ [*Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.] はキクラゲ [*A. auricula-judae* (Bull.) Quél.] と共にキクラゲ属の優秀な食用きのこであり、世界におけるキクラゲ類の生産量はシイタケ、ヒラタケ属に次いで多い (Royse et al. 2017). 対して

日本国内におけるキクラゲ類の生産量は1,710トン (生換算) と僅かであるが、輸入量が他のきのこ類と比較して圧倒的に多いことから国内消費量は、25,718トン (生換算: 輸入量 24,008トン) であり、エノキタケ、ブナシメジ、生シイタケ、マイタケ、エリンギに次いで大きい (林野庁 2018). 近年、産地偽装や残留農薬などといった輸入農産物のリスクが野菜に留まらず、きのこでも顕在化

\*菌草研究所研究業績, 第413号, (一財)日本きのこセンター・菌草研究所, 〒689-1125 鳥取市古郡家 211.

\* Contribution No.413 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

(福井 2010) したことで消費者の国内産志向が高まっている。アラゲキクラゲにおいても国内産の需要が高まりつつあり、2008 年から 2017 年の 10 年間で国内生産量は 181 トンから 1,710 トンと 9.4 倍に増加 (林野庁 2009, 林野庁 2018) している。しかし、キクラゲ類の国内生産と輸入の主体であるアラゲキクラゲ (西井 2013, 木村 2014) は供給を長らく輸入に依存していたため、現在、品種登録されている菌株は出願中の 2 菌株を併せても 5 菌株のみ (2019 年 7 月現在: 農林水産省品種登録ホームページ <http://www.hinshu2.maff.go.jp/>) となっており、アラゲキクラゲの国内生産基盤は非常に脆弱と言わざるを得ない。

鳥取県では 2015 年から一般財団法人日本きのこセンターが中心となってアラゲキクラゲの産地化を推進しており、2017 年の生産量は乾 17 トン、生 5 トンとなっている (林野庁 2018)。しかしながら、生産現場で用いられている栽培品種 TMIC 30459 や TMIC 36043 は収量性や子実体色といった点から改良の余地がある。そのため、本研究では鳥取県におけるアラゲキクラゲの生産基盤の強化に向け、収量性や子実体色等において既存品種より優れた菌株を選抜した。また、アラゲキクラゲを含めたきのこ類は生鮮品から容易に菌糸体を分離できるため、特にシイタケでは育成者権保護の観点から、様々な分子生物学的手法を利用した品種識別法が開発されている (Zhang and Molina 1995, Zhang et al. 2007, Terashima et al. 2012, 佐々木・高島 2018, Song et al. 2018)。しかし、アラゲキクラゲを含めた他の栽培きのこ類における品種識別に関する報告例は少なく (Ramirez et al. 2001, Le et al. 2008, Su et al. 2008, Yu et al. 2008)、育成者権の侵害が懸念されている。このため、本研究において選抜した新品種の育成者権保護を目的に、intergenic spacer 1 (IGS1) 配列に基づき、国内に流通する栽培品種 3 菌株、乾物として流通する国内産 13 商品、外国産 26 商品に対して新品種を識別できる品種識別マーカー CI-1, CI-2 を開発したので併せて報告する。

## 材料と方法

### 供試した菌株と乾物商品

アラゲキクラゲ [*Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.] の新品種候補株 5 菌株 (No. 1–5) は、菌蕈研究所保存の栽培品種 TMIC 30459, TMIC 36042 および TMIC 36043 に由来する単孢子分離株間の交配株もしくは多孢子分離株として得た (Table 1)。栽培試験にはこれら 5 菌株と対照品種として TMIC 36043 を用いた。また栽培試験で選抜された No. 1 は菌蕈研究所にて TMIC 36441 として保存した。品種識別マーカーの作製には、日本国内で乾物として流通する国内産 13 商品および外国産 26 商品 (Table 2) についても供試した。

Table 1. Candidate strains and the origins for a new cultivar of *A. polytricha* used in this study.

Strain number	Origin
No. 1	36043-12 × 36042-3
No. 2	36043-11 × 36042-11
No. 3	36043 multispore isolate
No. 4	36043-8 × 36042-11
No. 5	30459-1 × 36043-7

### 培地配合

栽培試験に用いた培地配合 (重量比) は Table 3 に示した。基材と栄養材は 8 : 2 で配合した。基材は広葉樹オガ粉 (ブナ・ナラ: 鶴崎商事株式会社, 愛媛県) とスギオガ粉 (2 ヶ月以上野積み, 放置したもの: 有限会社青木製材, 鳥取県) を 6 : 4 で配合した。栄養材はフスマ (日清製粉株式会社, 東京都) と米ヌカ (中島米穀株式会社, 鳥取県)、既成栄養材デルトップ (森産業, 群馬県) を 4 : 1 : 5 で配合し、消石灰 (鈴木工業株式会社, 岡山県) を菌床 1000 個あたり 13 kg 添加した。配合後、水を添加して含水率 65% に調整し、直径 12 cm 円筒状の PP 袋に約 1200 g 詰め、高圧蒸気滅菌した。

Table 2. Samples and their marker types for intergenic spacer 1 of *A. polytricha*.

Sample name	Cultivated area	Sample condition	Primer set	
			CI-F1, R1	CI-F2, R2
No. 1	Selected strain	Mycelia	+	+
TMIC 36043	Cultivar, Japan	Mycelia		+
TMIC 36042	Cultivar, Japan	Mycelia		
TMIC 30459	Cultivar, Japan	Mycelia		
O-2	Oita pref., Japan	Dried food		+
O-3	Kumamoto pref., Japan	Dried food		
O-4	China	Dried food		
O-5	China	Dried food		
O-6	Kumamoto pref., Japan	Dried food		
O-7	Kumamoto pref., Japan	Dried food		+
O-9	Japan	Dried food	+	
O-10	China	Dried food		
O-11	China	Dried food		
O-12	China	Dried food		+
O-13	China	Dried food		
O-14	China	Dried food		
O-15	China	Dried food		
O-16	China	Dried food		+
O-17	China	Dried food		+
O-18	China	Dried food		+
O-19	China	Dried food		+
O-20	China	Dried food		
Ac-1	China	Dried food		
Ac-4	China	Dried food		
Ac-5	China	Dried food		
Ac-8	China	Dried food		+
Ac-11	Fujian prov., China	Dried food		+
Ac-12	Fujian prov., China	Dried food		+
Ac-14	Fujian prov., China	Dried food		+
Ac-21	Fujian prov., China	Dried food		
Ac-30	China	Dried food		
Ac-42	China	Dried food		+
Ac-43	China	Dried food		
Ac-45	China	Dried food		+
Ac-46	China	Dried food		
Aj-4	Gifu pref., Japan	Dried food		
Aj-15	Fukuoka pref., Japan	Dried food		+

Table 2. continued

Aj-17	Japan	Dried food	+
Aj-18	Kumamoto pref., Japan	Dried food	+
Aj-19	Japan	Dried food	+
Aj-21	Kumamoto pref., Japan	Dried food	+
Aj-22	Kumamoto pref., Japan	Dried food	+
Aj-23	Kumamoto pref., Japan	Dried food	+

Table 3. Composition of medium for culture bags used in this study.

Whole materials:	Base materials 80%
	Nutritional materials 20%
Base materials:	Beech and oak 60%
	Cedar 40%
Nutritional materials:	Wheat bran 40%
	Rice bran 10%
	Ready-made material 50%
Other material:	Calcium hydroxide (13 kg/1000 culture bags)

All ratios mean weight ratio.

### 培養と栽培条件

本試験に用いた菌床は2017年12月18日に調製し、翌日に接種を行った。温度約23℃、湿度80%、暗下で60日間培養した菌床を栽培室へ移し、菌床表面にカッターを用いて4ヶ所、縦に切れ目を入れることで発生処理を行った。温度23℃（夜間は20℃）、湿度80%、自然光下で生育させ、散水を適宜行った。調査期間は発生処理後2ヶ月間とした。

### 収量性と子実体色の評価

収穫した子実体は菌柄下部（石突き）を切除した後、生重量を計測した。次に胞子による汚れや虫などの異物を除去するため洗浄を行った後、乾燥・検量し、乾燥歩留まり（%）および1菌床あたりの収量を計算した。子実体色については生の状態でRHS Large Colour Chart Sixth Revised Edition（Royal Horticultural Society, London, UK）を用いて調査した。

### ゲノム DNA 調製

栽培品種 TMIC 30459, TMIC 36042, TMIC 36043 および No. 1 を MA 培地（2% malt extract, 2% agar）に載せた滅菌セロファン膜上で25℃、2週間培養後、菌糸体を採取・凍結乾燥した。凍結乾燥菌糸体10mgを粉砕した後、DNeasy Plant Mini Kit（Qiagen, Hilden, Germany）を用いてゲノムDNAを調製した。また、乾物（Table 2: 国内産13商品、外国産26商品）のゲノムDNAは乾燥子実体20mgを粉砕して上記と同様に調製した。

### IGS1 解析

調製したゲノムDNAのうち、No.1, TMIC 36042, TMIC 36043, TMIC 30459, O-2, O-3, O-7, O-9, Ac-11, Ac-21, Ac-42の11サンプルについてはIGS1の相違点を見出すために配列解析に供試した。ゲノムDNAを鋳型にIGS1増幅用プライマーLR12R（5'-GAACGCCTCTAAGTCAGAATCC-3'）および5SRNA（5'-ATCAGACGGGATGCGGT-3'）を用いてPCR反応を行った。条件は94℃で初期熱変性を2分行った後、94℃・10秒の熱変性、

56℃・10秒のアニーリング、72℃・3分の伸長反応を30サイクル実施し、最終伸長反応は72℃・10分とした。全てのPCR反応は*Ex Taq* DNA polymerase (Takara Biomedicals, Inc., Shiga, Japan) と T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., CA, USA) を用いて行った。増幅産物は2.0% アガロースゲルで100 V, 30分電気泳動した。マーカーはλ *Hind*III digest (Takara Biomedicals, Inc.) を用いた。その後、Ethidium bromide で15分染色を行い、UV イルミネーターで泳動像を確認してゲルから切り出した。切り出したIGS1増幅断片はMinElute Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて抽出し、DynaExpress TA PCR cloning kit (BioDynamics Laboratory Inc., Tokyo, Japan) を用いてクローニングを行った。プラスミドDNAはFastGene Plasmid Mini kit (NIPPON Genetics Co.Ltd., Tokyo, Japan) を用いて調製した。各クローンのシーケンスはユニバーサルプライマー T7 (5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3') および SP6 (5'-ATTTAGGTGACACTATAG-3')、解析試薬 BigDye Terminator ver. 3.1 cycle sequencing kit (Thermo Fisher Scientific, Inc., MA, USA) を用いて、ABI PRISM 3130 genetic analyzer (Thermo Fisher Scientific, Inc.) で解析を行った。Sequence Scanner Software version 2.0 (Thermo Fisher Scientific, Inc.) でシーケンスデータのトリミングを行った後、各菌株および乾物に由来する各IGS1データはBioEdit Sequence Alignment Editor version 7.1.3.0 (Ibis Therapeutics, CA, USA) を用いてアラインメントを行うことで配列の相違点を見出した。

#### 品種識別マーカーのプライマー設計と条件

品種識別マーカーのためのプライマーはBioEdit Sequence Alignment Editor version 7.1.3.0の解析結果に基づき、設計した。CI-F1 (5'-AGGGCTCTGGCTGTGTTATT-3') および CI-R1 (5'-ATCCCTCGCCGTTTAA-3') のプライマーセットでは94℃で初期熱変性を2分行った後、94℃・10秒の熱変性、66℃・10秒のアニーリング、72℃・30秒の伸長反応を30サイクル実施し、最終伸長反応は72℃・10分とした。また CI-F2 (5'-GTGTACAGTTTGTATTCTCCGT-3') および CI-R2 (5'-GCCTTCTTCCTAGCCCC-3') のプライマーセットでは上記の条件のうち、アニーリング温度を67℃、伸長反応を40秒に変更して実施した。増幅産物は2.0% アガロースゲルで100 V, 30分電気泳動した。マーカーはGene Ladder 100 (NIPPON GENE Co.Ltd., Tokyo, Japan) を用いた。その後、Ethidium bromide で15分染色を行い、UV イルミネーターで各菌株および乾物由来増幅産物の泳動像を確認した。

#### 結果と考察

##### アラゲキクラゲ新品種の選抜

アラゲキクラゲを含めたキクラゲ類は、国内消費量の93.4%が外国産となっており、これは主要なきのこ類において特に多い数量である(林野庁2018)。近年、外国産きのこにおけるリスク(福井2010)が明らかになるにつれ、国内産アラゲキクラゲの需要が高まっている。アラゲキクラゲの産地化が進行している鳥取県では、生産性の高

Table 4. Comparison of yield among candidate strains.

Strain name	Number of culture bags	Yield		Drying yield (%)	Dry weight per culture bag (g)
		Raw weight (g)	Dry weight (g)		
No. 1	79	29387.6	3964.4	13.5	50.2
No. 2	104	40262.7	4319.0	10.7	41.5
No. 3	82	25937.2	3080.8	11.9	37.6
No. 4	44	6648.9	739.3	11.1	16.8
No. 5	63	9977.2	1023.4	10.3	16.2
TMIC 36043	106	33406.0	3618.7	10.8	34.1

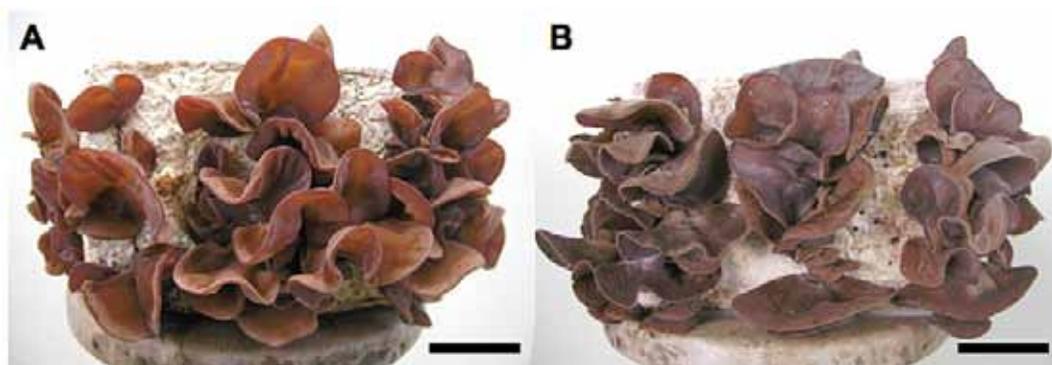


Fig. 1. Fruiting bodies of TMIC 30459 and No. 1. The color of TMIC 30459 (A) is Dark Reddish Orange (RHS No.173A) according to the RHS Large Colour Chart Sixth Revised Edition. By contrast, No. 1 (B) is darker than TMIC 30459 and was classified as Greyish Brown (RHS No.166A).

A, TMIC 30459 represents a conventional strain. B, Newly selected cultivar No. 1. Scale bars = 5 cm.

いアラゲキクラゲ新品種の早期育成に期待が寄せられている。そこで本研究では、1次・2次選抜試験において、品質および収量性に基づいて選抜した5菌株を供試して、最有望株を選抜するための栽培試験を行った。栽培試験にはTable 1に示した5菌株と対照品種として国内栽培品種TMIC 36043を用い、収量性と子実体色、乾燥歩留まりを調査した。その結果、菌床あたりの乾燥収量ではNo. 1の50.2 gが最も多く、No. 5が最も少ない

16.2 gであった (Table 4)。乾燥重量/生重量から算出した乾燥歩留まりについては収量と同様、No. 1が13.5%と最も高くなった。また市場では子実体色の濃いものが好まれるが、従来栽培されてきたTMIC 30459は色がDark Reddish Orange (RHS No. 173A)と薄いのに対し、No. 1はGreyish Brown (RHS No. 166A)と濃く (Fig. 1)、栽培を通してNo. 1の子実体色は安定していた。そこで、収量、乾燥歩留まり、子実体色の3形質において優れるNo. 1

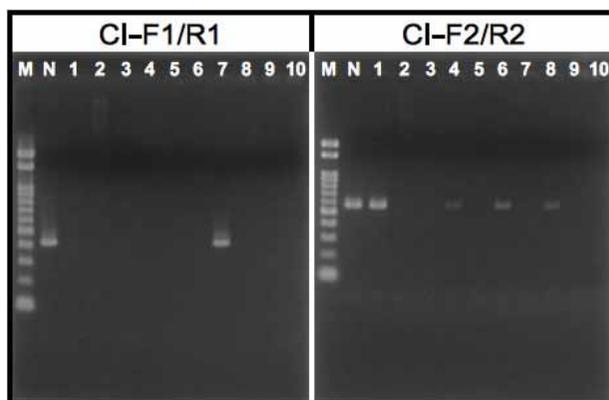


Fig. 2. Validation of developed cultivar identification markers, CI-F1/R1 and CI-F2/R2.

Electrophoretic images of PCR reactions using CI-F1/R1 (Left) and CI-F2/R2 (Right) indicated product amplification with templates from No. 1 and O-9, and No. 1, TMIC 36043, O-2, O-7 and Ac-11, respectively. M, 100 bp ladder marker (Gene Ladder 100). N, No. 1 as a new cultivar. The numbers from 1 through 10 represent, respectively, TMIC 36043, TMIC 36042, TMIC 30459, O-2, O-3, O-7, O-9, Ac-11, Ac-21 and Ac-42. Details of these samples are listed in Table 2.

をアラゲキクラゲ新品種「菌茸 AP1 号」と命名するとともに、菌茸研究所保存番号 TMIC 36441 を与えた。消費者の食の安全に対する意識が向上し、国内産アラゲキクラゲについてもその生産量が増加（林野庁 2018）しつつある現在、新たな栽培品種の育成は鳥取県における生産基盤の強化だけでなく、国内生産を活発化する上でも重要である。

### 新品種のための品種識別マーカーの開発

No. 1 および 3 栽培品種（TMIC 36042, TMIC 36043, TMIC 30459）、7 乾物商品（O-2, O-3, O-7, O-9, Ac-11, Ac-21, Ac-42）に由来する 11 サンプルについて IGS1 の相違点を見出すために解析を行った。IGS1 配列のアラインメントによって見出された相違点に基づき、CI-F1/R1 および CI-F2/R2 の 2 プライマーセットを設計した。No. 1 のゲノム DNA では前者が 418 bp、後者が 570 bp の断片を増幅する。上記 11 サンプルについて増幅を行ったところ、Fig. 2 のように CI-F1/R1 では No. 1 と O-9 において、CI-F2/R2 では No. 1, TMIC 36043, O-2, O-7, Ac-11 において増幅が確認された。No. 1 のみが両プライマーセットで増幅したことから No. 1 の品種識別のために CI-F1/R1 および CI-F2/R2 の 2 プライマーセットが有効であると判断し、国内に流通する 3 栽培品種、乾物として国内産 13 商品、外国産 26 商品のゲノム DNA を用いて増幅を行った。その結果、Table 2 のように No. 1 のみが CI-F1/R1 および CI-F2/R2 双方のプライマーセットで増幅したことから、これらをそれぞれ No. 1 の品種識別マーカー CI-1 および CI-2 として開発を完了した。アラゲキクラゲの品種識別マーカーの報告は極めて少なく（Yu et al. 2008）、育成者権の侵害が危惧される。またアラゲキクラゲは外国産と国内産で 5 倍程度の価格差があることから、外国産が国内産として偽装表示販売される恐れがある。産地偽装の先例として乾シイタケでは 2000 年代に 2,000 – 3,000 トンもの外国産が国内産として販売されたと推定されている（時本ら 2017）。アラゲキクラゲは輸入量の多さから他のきのこ類以上にその安全性について厳しい目が向けられており、育成者権の侵害や産地偽装はアラゲキクラゲの国内における生産およ

び消費の拡大に水を差す恐れがある。現在、国内産アラゲキクラゲは増産傾向にあるものの、外国産と比較すると価格面で競争力に欠ける。また国内産が増加することで競争が激化していく中、鳥取県のアラゲキクラゲ生産の拡大に向けて重要となるのが安全・安心なアラゲキクラゲの生産である。このような状況下、品種識別マーカーの開発は品種の信頼性を担保する手段としても重要であり、これら違法行為の抑止力となり得るものである。

### 摘 要

アラゲキクラゲは優秀な食用きのこであるが国内消費量の 93.4% が外国産である。近年の外国産きのこのリスクの顕在化により、国内産アラゲキクラゲが注目されているが、国内におけるアラゲキクラゲの品種開発は停滞している。鳥取県では一般財団法人日本きのこセンターが中心となってアラゲキクラゲの産地化が推進されている。しかし従来使用されている栽培品種は子実体色が薄く、収量性においても改良の余地がある。そのため、本研究ではこれらの形質に着眼して選抜された新品種候補株を栽培し、収量性等を比較・調査した結果、No. 1 を新品種として確定し、「菌茸 AP1 号」と命名した。また育成者権保護および品種の信頼性担保の観点から本研究において選定した新品種の品種識別マーカーとして CI-1, CI-2 を開発した。

### 引用文献

- 福井陸夫. 2010. “2010 年度版きのこ年鑑”. (株) プランツワールド. 東京. Pp. 84–87.
- 木村栄一. 2014. 2-2-11) 施設空調型キクラゲ栽培の最新技術. “改訂版最新きのこ栽培技術”. (株) プランツワールド, 東京, Pp. 222–228.
- Le, Q.V., Won, H.-K., Lee, T.-S., Lee, C.-Y., Lee, H.-S. and Ro, H.-S. 2008. Retrotransposon microsatellite amplified polymorphism strain fingerprinting markers applicable to various mushroom species. *Mycobiology* **36**: 161–166.

- 西井孝文. 2013. アラゲキクラゲ (*Auricularia polytricha*) の菌床栽培法. 三重県林業研報. **5**: 21–26.
- Ramírez, L., Muez, V., Alfonso, M., Barrenechea, A.G., Alfonso, L. and Pisabarro, A.G. 2001. Use of molecular markers to differentiate between commercial strains of the button mushroom *Agaricus bisporus*. FEMS Microbiol. Lett. **198**: 45–48.
- 林野庁. 2009. 平成20年特用林産基礎資料. 2008年.  
林野庁. 2018. 平成29年特用林産基礎資料. 2018年.
- Royse, D.J., Baars, J. and Tan, Q. 2017. 2 Current Overview of Mushroom Production in the World. Pp. 5–13. In: Zied, D.C. and Pardo-Giménez, A. (eds.). Edible and Medicinal Mushrooms, John Wiley & Sons, NJ, USA.
- 佐々木史・高嶋幸司. 2018. IRAP法によるシイタケ品種の識別. 富山森林研報 **10**: 32–36.
- Song, X.-X., Zhao, Y., Song, C.-Y., Li, C.-H., Chen, M.-J., Huang, J.-C. and Tan, Q. 2018. Intergenic spacer 1 (IGS1) polymorphism map: A marker for the initial classification of cultivated *Lentinula edodes* strains in China. J. Integr. Agric. **17**: 2458–2466.
- Su, H., Wang, L., Liu, L., Chi, X. and Zhang, Y. 2008. Use of inter-simple sequence repeat markers to develop strain-specific SCAR markers for *Flammulina velutipes*. J. Appl. Genet. **49**: 233–235.
- Terashima, K., Funato, C., Matsumoto, T., Maeda, A. and Hasebe, K. 2012. PCR-based gene marker with a high efficiency genome scanning (HEGS) system: application for distinguishing among cultivars in *Lentinula edodes*. World J Microbiol Biotechnol. **28**: 1315–1319.
- 時本景亮・田淵諒子・作野えみ・Noemia Kazue Ishikawa・中下留美子・鈴木彌生子. 2017. 安定同位体比と元素組成分析による高精度な乾シイタケの産地判別法. 菌蕈研報 **47**: 7–15.
- Yu, M., Ma, B., Luo, X., Zheng, L., Xu, X. and Yang, Z. 2008. Molecular diversity of *Auricularia polytricha* revealed by inter-simple sequence repeat and sequence-related amplified polymorphism markers. Curr. Microbiol. **56**: 240–245.
- Zhang, Y. and Molina, F.I. 1995. Strain typing of *Lentinula edodes* by random amplified polymorphic DNA assay. FEMS Microbiol. Lett. **131**: 17–20.
- Zhang, R., Huang, C., Zheng, S., Zhang, J., Ng, T.B., Jiang, R., Zuo, X. and Wang, H. 2007. Strain-typing of *Lentinula edodes* in China with inter simple sequence repeat markers. Appl. Microbiol. Biotechnol. **74**: 140–145.

## 冷凍シイタケの食味および各種成分含量\*

作野えみ・田淵諒子・寺島和寿

---

**The taste and the component contents of freezer stored shiitake, *Lentinula edodes* \***

**Emi SAKUNO, Akiko TABUCHI, Kazuhisa TERASHIMA**

### Abstract

Shiitake log cultivation in the woodlands near villages results in production of mushrooms from winter to spring; these mushrooms are of high-quality and taste good. If shiitake mushrooms could be stored for a long time while maintaining the high-quality and good taste, consumption of log-cultivated shiitake would expand. In this study, quantitative analysis of components related to taste or functionality, as well as sensory evaluation tests, were performed in order to reveal the usefulness of freezer storage of log-cultivated fresh shiitake.

Fresh and frozen shiitake mushrooms of the Kinko 115 or Kinko N115 variety that were log-cultivated in the woodlands were used for analysis of various components. Hot water extract of frozen shiitake samples exhibited higher glucose and fructose content than the hot water extract of fresh shiitake. As for free amino acids, glutamic acid and glutamine were more abundant in the fresh sample extracts, while alanine, leucine, phenylalanine were more abundant in the frozen sample extracts. There was no significant difference between both samples with respect to the 5'-guanosine monophosphate (GMP), ergothioneine, and eritadenine content.

The taste of fresh or frozen shiitake mushrooms was compared by sensory evaluation test using Kinko 702 and Kinko 706. We found that the flavor and smell of cooked frozen shiitake were slightly stronger than those of cooked fresh shiitake, but the comprehensive tastes of the two samples were not different.

**Key words:** amino acids, free carbohydrates, frozen shiitake, 5'-guanosine monophosphate (GMP), sensory evaluation.

---

\*菌草研究所研究業績, 第414号, (一財)日本きのこセンター・菌草研究所, 〒689-1125 鳥取市古郡家 211.

\* Contribution No. 414 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

## 緒 言

里山を利用した原木栽培シイタケの露地栽培において、シイタケが自然に発生する時期は秋から春（一般的に11月から4月、5月）にかけてであり、特に晩秋から初春にかけて（一般的に12月下旬から3月上旬ごろ）は気温が低く、子実体の生育が緩慢となるため厚肉で肉の締まった食味に優れたシイタケが採取できる（日本きのこセンター 1985）。シイタケの原木栽培用品種である菌興 115 号は食味に優れているうえ、特徴的な極厚肉の子実体を形成することから区別性が高く、生シイタケとしてのブランド化が各地で進められている（長谷部 2017, 藤作 2017）。一方で、原木シイタケの露地栽培では、発生時期や発生の集中度合いが品種や気象条件により異なり制御することが難しく、集中発生した場合は、生シイタケとしての出荷準備・出荷先が整わず、大多数は乾燥し、乾シイタケとして流通させることとなる。しかしながら、生シイタケの価格は乾シイタケよりも一般的に高く（生：1,048 円/生 kg、乾：生換算 680 円/生 kg、4,763 円/乾 kg）（林野庁 2018）、原木シイタケの生産者の経営安定のためには生シイタケとしての出荷が望まれる。

一方、現在流通している生シイタケの多くは菌床栽培品であり国内生産量で見ると、平成 29 年では原木栽培品は約 6,393 t であるのに対し菌床栽培品はおよそ 10 倍の 63,245 t である（林野庁 2018）。また、総務省統計局による家計調査の 1 世帯当たりの年間購入数量（2016~2018 年全国平均）によると、生シイタケの平均購入量は 1,574 g、乾シイタケは 51 g（生換算 357 g）であり、生シイタケの方が圧倒的に多く消費されている（総務省統計局）。

原木栽培された生および乾シイタケは食感に優れ、乾シイタケはさらに独特の風味や旨味加わり、和食文化には欠かせない食材である。しかしながら、乾シイタケは水戻しに時間がかかることや、煮物用であるというイメージが強いことから、現代においては敬遠されがちである。一方、一般にきのこ類は冷凍保存しても食味を損なわないことが指摘されており、冷凍保存に関する研究

も行われている（石黒ら 2006, 石黒ら 2008, 甲山ら 2015）。その中で、いくつかのきのこについては短期間冷凍保存してもその嗜好性は生鮮品と変わらないと報告されている（石黒ら 2008）。原木栽培された生シイタケも冷凍によって食味品質を損なうことなく長期間保存することができれば、食味に優れた冬期に発生するシイタケを周年流通させることができ、消費拡大も期待できるとともに、生産者の経営の安定化を図ることができる。

筆者らの先行研究（田淵ら 2018）では、冬期から初春に収穫された原木栽培シイタケ菌興 115 号を 1 カ月から 1 年程度長期冷凍保存しても生シイタケと同等の食味を有することを示した。本研究では、原木栽培された生シイタケの冷凍保存の有用性を検証するために新たな原木栽培品種も加え、食味に関わる成分の分析および食味官能試験を行った。

## 材料と方法

### 供試試料

成分分析には、（一財）日本きのこセンターの試験圃場（鳥取市広岡、標高約 80 m, 広葉樹林内）で栽培された低中温発生型（発生温度 8℃ 以下）の原木栽培用品種菌興 115 号（2019 年 1 月 11 日, 25 日および 2 月 8 日に収穫）および菌興 N115 号（2019 年 1 月 25 日および 2 月 8 日に収穫）を用いた。食味官能試験には、（一財）日本きのこセンター菌草研究所内（鳥取市古郡家、標高約 50 m, 無加温ハウス）で浸水発生させた菌興 702 号および菌興 706 号（2019 年 6 月 10 日~27 日に収穫）を用いた。いずれも高中温発生型（発生温度 20℃ 以下）の品種である。

### 成分分析用シイタケ試料の調製

2019 年 1 月 11 日採取の菌興 115 号サンプルは、柄を取り除いた 3 個の子実体を柄の付け根を中心に 4 等分し、切片 1 は生サンプル、切片 2 は冷凍サンプル、切片 3 は凍結乾燥サンプル、切片 4 は 50℃ 温風乾燥サンプルとした。さらに切断しない生、冷凍、凍結乾燥、50℃ 温風乾燥サンプルとして、それぞれ 3 個体ずつ準備した。冷凍には家庭用冷蔵冷凍庫を用い、凍結乾燥には凍結乾燥器

(FDU-2200, 東京理化器械株式会社)を用いた。50℃温風乾燥サンプルは、電気乾燥器(TABAI PS-112)を用い、外気を導入しながら50℃で24時間乾燥させた。全てのサンプルはそれぞれ新鮮重を測定し、凍結乾燥、50℃温風乾燥サンプルについては、乾燥後重量も測定した。

### 各種成分分析

50℃温風乾燥サンプルについて乾燥歩留まりを求め、生および冷凍サンプルの新鮮重から乾燥重を算出し乾燥重量当たりの各種成分含量を求めた。1月25日採取と2月8日採取分については、切片サンプルで生、冷凍、50℃温風乾燥の3処理区とし、50℃温風乾燥サンプルは乾燥歩留まりの算出のみに用いた。生と冷凍サンプルについては、あらかじめ70℃に加温した新鮮重の10倍量の蒸留水に切片または個体を入れ、そのまま70℃で30分間加温した。加温途中にハンドブレンダー(マルチクイック7, Braun)により粉碎した。これを吸引ろ過し(定性ろ紙No. 2, ADVANTEC), ろ液を各種成分分析に用いた。凍結乾燥シイタケと50℃温風乾燥シイタケはミルサー(IFM-800, 岩谷産業株式会社)で粉碎し乾燥粉末を各種成分抽出に用いた。成分分析の標準試薬として、エルゴチオネイン(Sigma-Aldrich), エリタデニン(Toronto Research Chemicals Inc.), グアノシン5'-リン酸二ナトリウム, D (+) - グルコース, D (-) - フルクトース, D (+) - トレハロース(いずれも和光純薬株式会社)を用いた。

#### 1) 糖分析

生および冷凍シイタケの熱水抽出液1.5 mLを2 mLプラスチックチューブに移し遠心分離した(14,000×g, 10 min, CF15RXII, 日立)。上清950 μLを新しいプラスチックチューブに量りとり、内部標準として1 mg/mLのキシロース水溶液を50 μL加えた後メンブレンフィルター(Dismic 25HP, ADVANTEC)に通した。これを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。HPLCによる遊離還元糖の分析は、ポストカラムリン酸-フェニルヒドラジン法により行った。HPLCは、日立高速液体クロマトグラフL-7000シリーズ(日立ハイテクサイエンス)を用い、検出器にはL-7400紫外線検出器を用いた。カラムはAsahipak

NH2P-50(4.0 mm I.D.×250 mm L., Shodex)を用い、カラム温度は40℃、流速は1 mL/minとした。移動相には、溶液A: 90% アセトニトリル/9.5% 超純水/0.5% リン酸と溶液B: 75% アセトニトリル/24.5% 超純水/0.5% リン酸を以下の条件で混合したものを用いた: 0-20 min, A 100%; 25 min, A 75%; 42 min, A 10%; 45-50 min; A 0%; 51-70 min, A 100%。検出波長は0-25 minは365 nm, 25-65 minは410 nmとした。ポストカラム誘導体化は、反応液(酢酸/フェニルヒドラジン/リン酸=90/3/110 mL)を流速0.4 mL/minで流し、反応ユニットL-5050(反応コイル0.5 mm ID×7 m, 150℃)で行った。凍結乾燥および50℃温風乾燥シイタケについては、乾燥粉末0.10 gに蒸留水20 mLを加え75℃のウォーターバスで30分間加熱し糖を抽出した。加熱後のシイタケ粉末懸濁液の一部を2 mLプラスチックチューブに移し遠心分離した(14,000 ×g, 10 min, CF15RXII, 日立)。上清950 μLを1.5 mLのプラスチックチューブに量りとり、上記と同様に内部標準として1 mg/mLのキシロース水溶液を50 μL加えHPLC分析に用いた。

#### 2) 遊離アミノ酸分析

生および冷凍シイタケの熱水抽出液25 mLを50 mLプラスチックチューブに移し*n*-ヘキサン10 mLを加えよく攪拌した後、遠心分離(900×g, 10 min, CF15RXII, 日立)し、*n*-ヘキサン層を取り除いた。この*n*-ヘキサンによる脱脂操作を2回繰り返した。脱脂した抽出液500 μLを1.5 mLのプラスチックチューブに量りとり、3%スルホサリチル酸水溶液500 μLを加え、ボルテックスミキサーで良く攪拌した。冷蔵庫内に一晩放置した後、遠心分離し(14,000 ×g, 15 min, 4℃, CF15RXII, 日立)上清をメンブレンフィルター(Dismic 25HP, ADVANTEC)に通したものをアミノ酸分析(鳥取県産業技術センター食品開発研究所, 全自動アミノ酸分析装置, JLC-500/V2, 日本電子株式会社)に用いた。凍結乾燥および50℃温風乾燥シイタケについては、粉末0.50 gを15 mLの蓋付きプラスチックチューブに量り取った。75%エタノール10 mLを加えボルテックスミキサーを用いて良く攪拌した後、80℃で20分間加熱抽出した。これを遠心分離(500×g, 10 min, 室温)し上清を回収した。75%エタノールによ

る抽出操作をさらに2回繰り返し、合わせて約30 mLの上清をエバポレーターを用いて濃縮乾固した。残渣にアミノ酸自動分析用クエン酸リチウム緩衝液 pH 2.2 (富士フィルム和光純薬株式会社) を2 mL加え十分に溶解または懸濁させた。これを2 mLのプラスチックチューブに移し、遠心分離 (14,000×g, 10 min, 4°C, CF15RXII, 日立) した。上清1.3 mLを新しい2 mLプラスチックチューブに移し、500 µLの*n*-ヘキサンで3回脱脂処理した。脱脂した水層を0.45 µmのメンブレンフィルター (Dismic 25HP, ADVANTEC) でろ過し、ろ液をクエン酸リチウム緩衝液 pH 2.2を用いて50倍希釈しアミノ酸分析に用いた。

### 3) エルゴチオネイン, グアニル酸, エリタデニンの分析

*n*-ヘキサンにより脱脂した生および冷凍シイタケの熱水抽出液15 mLをエバポレーターを用いて減圧濃縮した。残渣を2 mLの50%エタノールに溶解し、2 mLのプラスチックチューブに移した。これを遠心分離 (14,000 × g, 10 min, 4°C, CF15RXII, 日立) し、上清を0.45 µmのメンブレンフィルター (Dismic 25HP, ADVANTEC) でろ過し、ろ液5 µLをHPLCで分析した。HPLC分析は日立 LaChrom D-2000 Elite HPLC システム (L-2455型 DAD 検出器, L-2300形カラムオーブン, L-2200形オートサンプラ, L-2130形ポンプ) を用いて行った。分析条件は以下の通りとした: カラム, Asahipak GS-320HQ (7.6 mm I.D. × 300 mm L., Shodex); 溶離液, 0.1 M リン酸二水素ナトリウム; カラム温度, 室温; 流速, 0.4 mL/min; 検出波長, 254 nm。凍結乾燥および50°C温風乾燥シイタケについては、粉末0.50 gを50 mLのサンプル瓶に量り取った。これに蒸留水10 mLを

加え70°Cで30分間加熱抽出した。氷上に5分間置いた後、95%エタノール10 mLを加え良く振り混ぜ、さらに10分間氷上に置いた。これを定性ろ紙 (No. 2, ADVANTEC) を用いて自然ろ過し、ろ液10 mLをナスフラスコに測りとり減圧濃縮した。完全に乾固させたものに蒸留水2 mLを加え十分に溶解または懸濁させ、2 mLのプラスチックチューブに移した。これを遠心分離し (14,000 × g, 10 min, 4°C, CF15RXII, 日立), 上清1.2 mLを新しいプラスチックチューブに移した。*n*-ヘキサン500 µLで3回脱脂し、その後0.45 µmのメンブレンフィルター (Dismic 25HP, ADVANTEC) でろ過し、ろ液5 µLをHPLCで分析した。

### 統計解析

統計解析にはエクセル統計を用い、一元配置分散分析および多重検定を (Dunnnettの方法) 行った。

### 食味官能試験

食味官能試験は、菌茸研究所職員により行い、2点比較法または順位法で香り、味、食感、おいしさを評価した。

切断せずに個体の状態で冷凍するものと、あらかじめ切って冷凍するものの2通りの冷凍サンプルを準備した。個体での冷凍は生シイタケを流水で洗浄した後、柄を切り取りできるだけ重ならないようにジップ袋にまとめて入れ家庭用冷蔵冷凍庫で冷凍保存した。切片での冷凍は同様に洗浄後柄を切り、傘部を柄の付け根を中心に放射状に4~8等分に切り、ジップ袋に入れ冷凍保存した。比較用の生シイタケはそのままビニール袋に入れ冷蔵保存しておき、調理直前に洗浄し柄を切りとり、さらに切片冷凍サンプルと同様に放射状に

Table 1. Shiitake sample using sensory evaluation test and cooking methods.

Harvest period	Cultivar	Storage		Cooking methods
		period	shape	
2019/6/10-12	Kinko 702	overnight	piece	pan-fry
		4 days	whole	steam
2019/6/24-26	Kinko 702	4 days	piece, whole	pan-fry
2019/6/24-26	Kinko 706	5 days	piece, whole	boil

切った。調理方法は焼き調理、蒸し調理、茹で調理の3通りで検討した。各サンプルと調理法をTable 1にまとめた。焼き調理は200℃に熱したホットプレートにサラダ油を入れ、冷凍または冷蔵保存したシイタケのヒダ側を上にして並べ、その後蓋をして180℃で3～4分間加熱調理した。冷凍サンプルは解凍せず、そのまま加熱調理した。蒸し調理は、個体サンプルのみで行った。蒸し器にクッキングシートを敷き、冷蔵または冷凍保存したシイタケをヒダ側が上になるように並べ15分間加熱調理後、柄の付け根を中心に放射状に切り食味官能試験に用いた。茹で調理は冷蔵保存したシイタケを放射状に切ったもの、切片冷凍したもの、個体冷凍したものの3サンプルの比較に用いた。柄を切りとったシイタケの新鮮重の2倍量の水道水を準備しておき、あらかじめ200℃に加熱しておいたホットプレートにこの水道水とシイタケサンプルを同時に加え、15分間加熱調理した。生、冷凍いずれのサンプルもおよそ10分で沸騰した。その後、火力を弱め5分間加熱した。調理後に加えた水の5%量の食塩を加え室温程度まで冷ました。個体冷凍サンプルは調理、放冷後に放射状に切り、冷蔵保存、切片冷凍サンプルとともにそれぞれシイタケ自体と煮汁について食味官能試験に供した。

## 結 果

### 生、冷凍、凍結乾燥、温風乾燥シイタケに含まれる各種成分含量の比較

生シイタケを冷凍、凍結乾燥、温風乾燥した際、主要な食味成分（遊離糖、遊離アミノ酸、グアニル酸）および機能性成分（エルゴチオネイン、エリタデニン）含量が変化するかどうかを調べた。分析には菌興115号を用い、同一個体での成分比較をするために1個体を4等分し、それぞれ生、冷凍、凍結乾燥、温風乾燥サンプルとした場合と、個体の状態で生、冷凍、凍結乾燥、温風乾燥サンプルとした場合の両方を調べた。ただし、凍結乾燥と温風乾燥の切片サンプルについては、乾燥粉末量が少なくグアニル酸と機能性成分の分析を行うことができなかった。

#### 1) 遊離糖含量

主要な遊離糖として、トレハロースとグルコースが検出された。各サンプルのトレハロースおよびグルコース含量をFig. 1に示す。トレハロース含量については、全てのサンプルで有意差は認められなかった。一方、グルコースについては凍結乾燥サンプルで生、冷凍、温風乾燥サンプルに比べて含量が少なく、切片サンプルでは有意差が認められた( $p < 0.01$ )。また、有意差は認められなかったが、個体、切片ともに冷凍サンプルは生サンプルに比べグルコース含量が多い傾向が見られた。

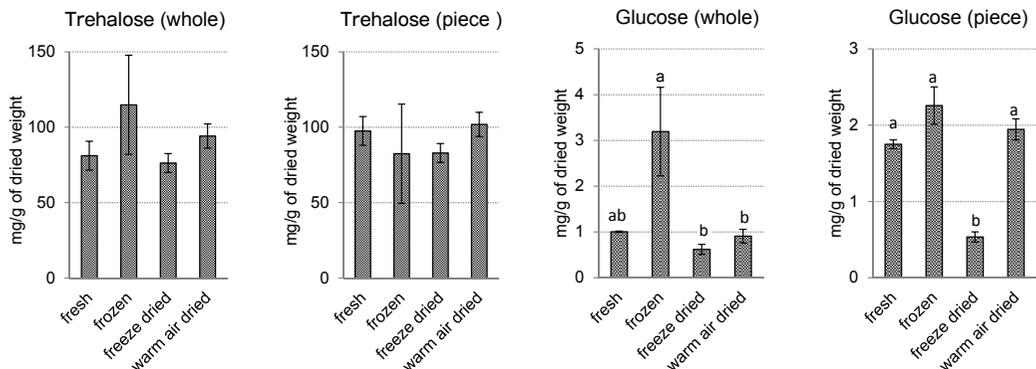


Fig. 1. Free sugar content of fresh, frozen, freeze-dried, or heat-dried shiitake Kinko 115. Each histogram represents mean  $\pm$  SE. Different letters indicate significant differences using the Tukey-Kramer test ( $p < 0.05$ ).

Table 2. Free amino acid content of fresh, frozen, freeze-dried, or heat-dried shiitake Kinko 115.

	fresh	frozen	freeze dried	heat-dried
whole				
Gln	11.17 ± 2.68	11.81 ± 1.67	6.59 ± 0.30	7.00 ± 0.58
Glu	7.85 ± 0.91	9.14 ± 1.07	6.60 ± 0.28	3.04 ± 0.30**
Asn	1.55 ± 0.26	1.77 ± 0.14	1.10 ± 0.06	0.87 ± 0.05*
Asp	0.41 ± 0.06	1.19 ± 0.06**	2.33 ± 0.12**	1.05 ± 0.12**
Ala	1.79 ± 0.16	4.79 ± 0.61**	1.30 ± 0.16	1.83 ± 0.04
Gly	0.80 ± 0.12	1.14 ± 0.22	0.53 ± 0.02	0.61 ± 0.01
Ser	1.30 ± 0.16	1.52 ± 0.06	0.76 ± 0.10**	0.75 ± 0.06**
Thr	1.35 ± 0.22	1.58 ± 0.07	0.93 ± 0.13	1.02 ± 0.07
Pro	0.30 ± 0.03	0.40 ± 0.08	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.03
Val	1.04 ± 0.18	1.58 ± 0.04*	0.64 ± 0.11*	0.65 ± 0.07
Cys	0.27 ± 0.04	0.46 ± 0.16	0.34 ± 0.05	0.26 ± 0.02
Met	0.15 ± 0.02	0.34 ± 0.03**	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.00*
Leu	0.99 ± 0.12	2.01 ± 0.11**	0.64 ± 0.09*	0.51 ± 0.06*
Ile	0.71 ± 0.10	1.07 ± 0.06**	0.41 ± 0.07*	0.33 ± 0.04**
Phe	1.10 ± 0.19	1.75 ± 0.08	0.71 ± 0.06	0.76 ± 0.04
Trp	0.13 ± 0.06	0.22 ± 0.06	0.16 ± 0.05	0.23 ± 0.02
His	0.89 ± 0.21	0.92 ± 0.05	0.70 ± 0.12	0.67 ± 0.04
Lys	1.89 ± 0.40	2.31 ± 0.18	0.77 ± 0.03**	0.80 ± 0.01**
Arg	1.27 ± 0.56	1.65 ± 0.37	0.53 ± 0.20	0.51 ± 0.17
GABA	0.24 ± 0.02	1.26 ± 0.48*	0.07 ± 0.01	0.11 ± 0.01
Orn	4.37 ± 1.01	2.79 ± 0.56	0.85 ± 0.04**	0.94 ± 0.12**
piece				
Gln	7.86 ± 1.14	6.18 ± 1.20	8.55 ± 2.60	10.58 ± 3.44
Glu	7.14 ± 0.69	5.98 ± 0.6	6.34 ± 0.70	2.53 ± 0.46**
Asn	1.16 ± 0.12	1.14 ± 0.07	1.34 ± 0.18	1.06 ± 0.16
Asp	0.38 ± 0.07	0.62 ± 0.09	2.66 ± 0.26**	0.86 ± 0.08
Ala	1.75 ± 0.19	3.24 ± 0.25**	1.34 ± 0.23	1.66 ± 0.12
Gly	0.66 ± 0.06	0.73 ± 0.02	0.61 ± 0.09	0.81 ± 0.06
Ser	1.01 ± 0.17	1.17 ± 0.13	0.86 ± 0.11	0.97 ± 0.14
Thr	1.13 ± 0.16	1.25 ± 0.16	0.95 ± 0.13	1.32 ± 0.13
Pro	0.25 ± 0.03	0.27 ± 0.01	0.18 ± 0.04	0.21 ± 0.02
Val	0.85 ± 0.20	1.13 ± 0.16	0.68 ± 0.11	0.91 ± 0.09
Cys	0.41 ± 0.08	0.38 ± 0.06	0.28 ± 0.03	0.23 ± 0.02
Met	0.14 ± 0.01	0.24 ± 0.02**	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.00**
Leu	0.86 ± 0.1	1.43 ± 0.16**	0.65 ± 0.09	0.65 ± 0.05
Ile	0.57 ± 0.07	0.74 ± 0.09	0.44 ± 0.07	0.52 ± 0.05
Phe	0.82 ± 0.06	1.24 ± 0.14*	0.82 ± 0.1	0.95 ± 0.04
Trp	0.09 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.18 ± 0.02*	0.30 ± 0.03**
His	0.79 ± 0.14	0.76 ± 0.09	0.68 ± 0.1	0.73 ± 0.13
Lys	1.34 ± 0.12	1.42 ± 0.1	0.97 ± 0.17	1.04 ± 0.14
Arg	0.71 ± 0.20	0.92 ± 0.18	0.72 ± 0.12	0.66 ± 0.18
GABA	0.35 ± 0.04	0.88 ± 0.12**	0.06 ± 0.01*	0.17 ± 0.03
Orn	1.80 ± 0.10	2.01 ± 0.16	1.42 ± 0.45	1.26 ± 0.27

mean (mg/g of dried weight) ± SE

Asterisks indicate significant differences using the Dunnett test (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

## 2) 遊離アミノ酸含量

遊離アミノ酸分析の結果を Table 2 に示す. 有意差検定は, 生サンプルをコントロールとして Dunnett 法により行った. うま味成分として重要なグルタミン酸は, 個体と切片の両方において生の方が温風乾燥したものよりも含量が多く有意差が認められた ( $p < 0.01$ ). 健康機能性が報告されているアミノ酸である  $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)は, 生よりも冷凍サンプルの方が含量が多く, 個体, 切片ともに有意差が認められた (個体:  $p < 0.05$ , 切片:  $p < 0.01$ ). その他, アラニン, メチオニン, ロイシンも生よりも冷凍サンプルの方が含量が多く, 個体, 切片ともに有意差が認められた ( $p < 0.01$ ). アスパラギン酸は, 生よりも冷凍, 凍結乾燥, 温風乾燥の方が多く, 凍結乾燥サンプルでは個体, 切片ともに有意差が認められた ( $p < 0.01$ ).

## 3) グアニル酸含量

グアニル酸含量を Fig. 2 に示す. 個体, 切片全てのサンプルにおいて, 含量に大差はなく, 有意差も認められなかった.

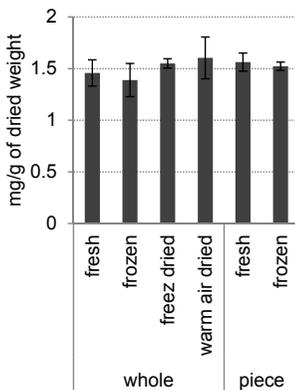


Fig. 2. 5'-GMP content of fresh, frozen, freeze-dried, or heat-dried shiitake Kinko 115.

No significant differences were observed up on using the Tukey-Kramer test ( $p < 0.05$ ).

## 4) 機能性成分含量

強い抗酸化性をもつことが知られているエルゴチオネインと, 動物実験で血漿コレステロール低下作用や血漿ホモシステイン低下作用が報告されているエリタデニン含量を調べた (Fig. 3). エルゴチオネイン含量については個体の冷凍サン

プルで他のものに比べやや含量が多かったが有意差は無く, 切片サンプルでは生と冷凍サンプルで含量がほぼ変わらなかった. エリタデニンは, 個体の冷凍サンプルで含量が多く, 生および凍結乾燥サンプルとは有意差が認められた ( $p < 0.05$ ). 切片でも生より冷凍サンプルの方がややエリタデニン含量が多かったが有意差は認められなかった.

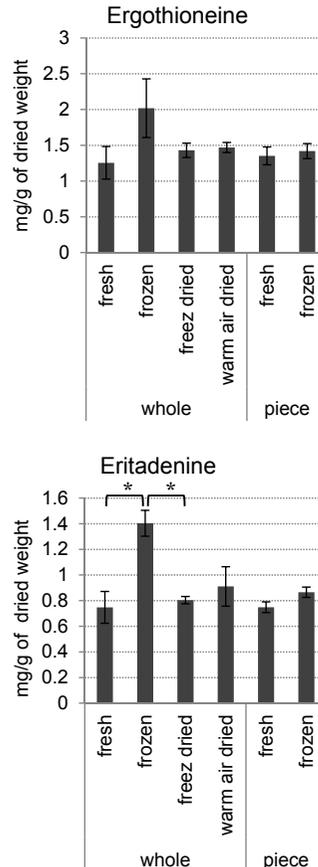


Fig. 3. Ergothioneine and eritadenine contents of fresh, frozen, freeze-dried, or heat-dried shiitake Kinko 115.

Asterisks indicate significant differences using the Tukey-Kramer test (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

## 生シイタケと冷凍シイタケに含まれる各種成分含量の比較

生シイタケと冷凍シイタケの主要な食味成分 (遊離糖, 遊離アミノ酸, グアニル酸) および機

能性成分（エルゴチオネイン，エリタデニン）含量についてより詳細に検討するために，収穫日の異なるサンプルや菌興 115 号以外の品種として菌興 N115 号についても検討した．前述の生，冷凍，凍結乾燥，温風乾燥の各サンプルの成分分析の結果から，自然発生した原木栽培シイタケでは同じように栽培・収穫されたものであっても個体間で成分含量にかなりバラつきがあり，冷凍や乾燥による成分含量の変化を検討するためには，同一個体を切片にしたものの方が良いことが示唆された．そこで生シイタケと冷凍シイタケの詳細な成分比較については同一個体の切片を用いて行った．菌興 115 号と菌興 N115 号の 2 菌株を用い，菌興 115 号については収穫日の異なる 3 試験区，菌興 N115 号については 2 試験区の分析を行った．

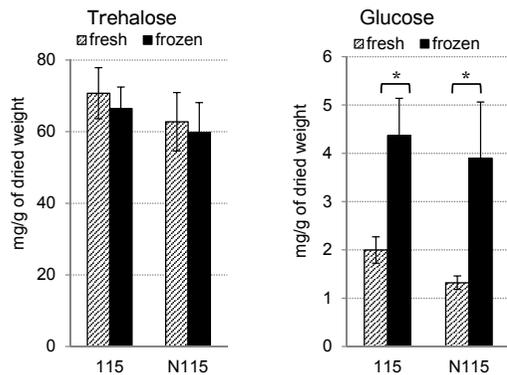


Fig. 4. Free sugar content of fresh or frozen shiitake Kinko 115 and Kinko N115.

Each histogram represents mean of all data for each strain  $\pm$  SE. Asterisks indicate a significant difference between fresh and frozen samples using the Tukey-Kramer test (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

### 1) 遊離糖含量

主要な遊離糖として，トレハロースとグルコースが検出された．試験区別での生と冷凍サンプルの遊離糖含量を Table 3 にまとめた．また品種別に全試験区を平均した生と冷凍の遊離糖含量を Fig. 4 に示した．トレハロースについてはいずれの菌株および試験区においても生と冷凍で含量に有意な差は見られなかった．一方，グルコースについては全ての試験区で生よりも冷凍サンプルの方が含量が多く，一部で有意差が認められた．全試験区の平均値でもグルコース含量については菌興 115 号と N115 号の両方の菌株で有意差が認められた ( $p < 0.05$ )．

### 2) 遊離アミノ酸含量

試験区別での生と冷凍サンプルの遊離アミノ酸含量を Table 4, 5 にまとめた．また，品種別に全試験区を平均した生と冷凍の遊離アミノ酸含量を Fig. 5 に示した．遊離アミノ酸の中でもシイタケ中の含量が多いグルタミンとグルタミン酸は，菌興 115 号および N115 号の全ての試験区で冷凍よりも生の方が含量が多く，一部有意差が認められた．一方，同じく含量が比較的多く甘味を呈するアミノ酸であるアラニンは，全ての試験区で生よりも冷凍の方が含量が多く，一部有意差が認められた．その他，含量はそれほど多くなく有意差も認められなかったが，うま味に関わるアミノ酸であるアスパラギン酸は冷凍の方が含量が多い傾向が見られた．苦味を呈するアミノ酸であるメチオニンとロイシンも全ての試験区で冷凍の方が含量が多く，一部有意差が認められた．健康機能性が報告されている GABA は，全ての試験区で冷凍の方が含量が多かったが，有意差は認められなかった．全試験区の平均値で生と冷凍の遊離アミ

Table 3. Free sugar content of fresh or frozen shiitake Kinko 115 and Kinko N115.

	Harvested on 11-Jan		Harvested on 25-Jan		Harvested on 8-Feb	
	fresh	frozen	fresh	frozen	fresh	frozen
<b>Kinko 115</b>						
Trehalose	97.53 $\pm$ 3.20	82.47 $\pm$ 5.22	69.73 $\pm$ 17.17	73.08 $\pm$ 15.75	55.25 $\pm$ 4.63	52.84 $\pm$ 5.13
Glucose	1.75 $\pm$ 0.06	2.26 $\pm$ 0.24	1.21 $\pm$ 0.38	2.94 $\pm$ 0.56	2.62 $\pm$ 0.41	6.49 $\pm$ 1.03**
<b>Kinko N115</b>						
Trehalose			57.98 $\pm$ 20.15	53.53 $\pm$ 22.44	65.64 $\pm$ 7.72	63.42 $\pm$ 6.12
Glucose			0.98 $\pm$ 0.21	1.10 $\pm$ 0.10	1.52 $\pm$ 0.12	5.57 $\pm$ 1.39**

mean (mg/g of dried weight)  $\pm$  SE

Asterisks indicate significant differences using the Tukey-Kramer test (\*\*:  $p < 0.01$ )

冷凍シイタケの食味と成分含量

Table 4. Free amino acid contents of fresh or frozen shiitake Kinko 115.

	Harvested on 11-Jan		Harvested on 25-Jan		Harvested on 8-Feb	
	fresh	frozen	fresh	frozen	fresh	frozen
Gln	7.86 ± 0.66	6.18 ± 0.70	13.67 ± 2.37	7.43 ± 1.23*	9.31 ± 1.50	7.03 ± 1.28
Glu	7.14 ± 0.69	5.98 ± 0.60	7.89 ± 0.55	5.44 ± 1.14*	7.43 ± 0.65	5.46 ± 0.50*
Asn	1.16 ± 0.12	1.14 ± 0.07	1.61 ± 0.12	1.26 ± 0.22	1.10 ± 0.16	1.11 ± 0.18
Asp	0.38 ± 0.07	0.62 ± 0.09	0.71 ± 0.16	0.99 ± 0.22	0.52 ± 0.07	0.86 ± 0.14
Ala	1.75 ± 0.19	3.24 ± 0.25*	3.05 ± 0.42	3.61 ± 0.83	2.02 ± 0.21	3.17 ± 0.33*
Gly	0.66 ± 0.06	0.73 ± 0.02	1.11 ± 0.05	1.10 ± 0.19	0.80 ± 0.13	0.86 ± 0.14
Ser	1.01 ± 0.17	1.17 ± 0.13	0.88 ± 0.07	0.95 ± 0.18	0.71 ± 0.08	0.81 ± 0.08
Thr	1.13 ± 0.16	1.25 ± 0.16	0.91 ± 0.45	0.61 ± 0.59	1.00 ± 0.15	0.83 ± 0.24
Pro	0.25 ± 0.03	0.27 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.37 ± 0.06	0.32 ± 0.04	0.33 ± 0.04
Val	0.85 ± 0.20	1.13 ± 0.16	0.92 ± 0.03	1.14 ± 0.12	0.85 ± 0.16	1.04 ± 0.15
Cys	0.41 ± 0.08	0.38 ± 0.06	0.41 ± 0.07	0.36 ± 0.07	0.29 ± 0.03	0.26 ± 0.02
Met	0.14 ± 0.01	0.24 ± 0.02*	0.15 ± 0.01	0.23 ± 0.05	0.12 ± 0.02	0.20 ± 0.02*
Leu	0.86 ± 0.10	1.43 ± 0.16*	1.05 ± 0.06	1.65 ± 0.32*	0.85 ± 0.12	1.27 ± 0.14*
Ile	0.57 ± 0.07	0.74 ± 0.09	0.80 ± 0.05	0.97 ± 0.16	0.66 ± 0.10	0.79 ± 0.10
Phe	1.24 ± 0.06	1.24 ± 0.14	1.02 ± 0.09	1.37 ± 0.28	0.70 ± 0.10	0.72 ± 0.26
Trp	0.09 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.20 ± 0.06	0.26 ± 0.06
HIs	0.79 ± 0.14	0.76 ± 0.09	0.90 ± 0.04	0.67 ± 0.13	0.60 ± 0.15	0.51 ± 0.11
Lys	1.34 ± 0.12	1.42 ± 0.10	1.76 ± 0.17	1.51 ± 0.31	1.23 ± 0.22	1.17 ± 0.18
Arg	0.71 ± 0.20	0.92 ± 0.18	2.19 ± 0.29	1.73 ± 0.40	1.38 ± 0.28	1.35 ± 0.25
GABA	0.35 ± 0.04	0.88 ± 0.12	1.57 ± 0.27	1.82 ± 0.27	0.68 ± 0.10	1.18 ± 0.23
Orn	1.80 ± 0.10	2.01 ± 0.16	2.42 ± 0.84	2.13 ± 0.78	3.34 ± 0.41	2.73 ± 0.26

mean (mg/g of dried weight) ± SE

Asterisks indicate a significant difference using the Tukey-Kramer test (\*:  $p < 0.05$ )

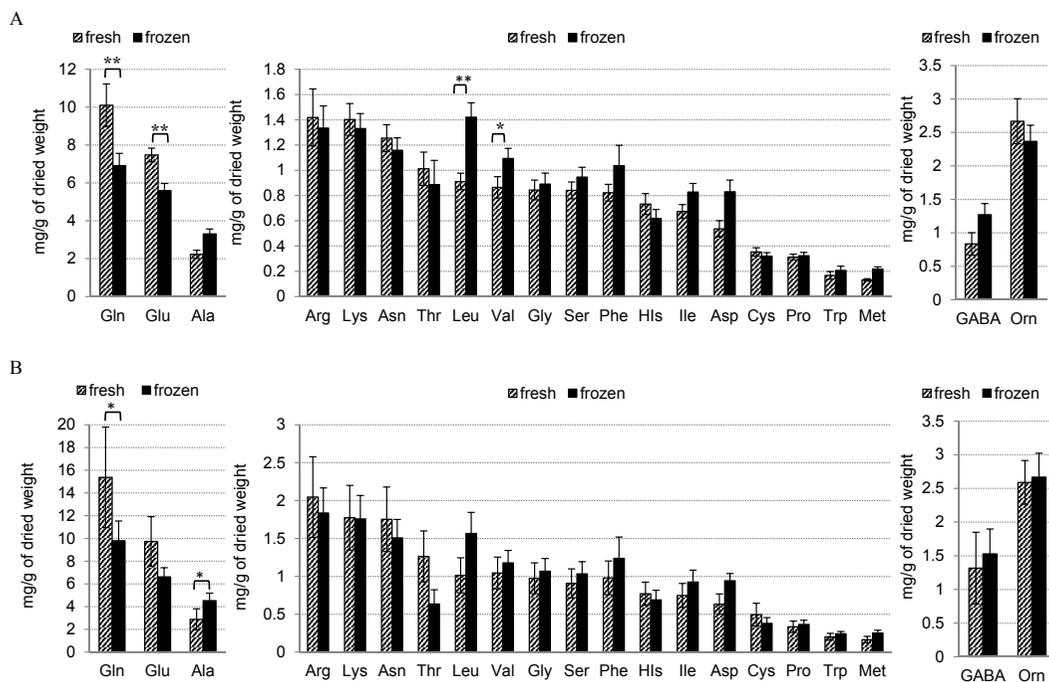


Fig. 5. Free amino acid contents of fresh or frozen shiitake Kinko 115 and Kinko N115.

A: Kinko 115, B: Kinko N115

Each histogram represents the mean of all data for each strain ± SE. Asterisks indicate a significant difference between fresh and frozen samples using the Tukey-Kramer test (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

Table 5. Free amino acid contents of fresh or frozen shiitake Kinko N115.

	Harvested on 25-Jan		Harvested on 8-Feb	
	fresh	frozen	fresh	frozen
Gln	25.80 ± 9.57	14.41 ± 2.93	9.13 ± 1.16	7.03 ± 0.87
Glu	14.36 ± 5.09	8.77 ± 1.39	6.97 ± 0.58	5.33 ± 0.35
Asn	2.68 ± 0.95	2.18 ± 0.38	1.20 ± 0.17	1.11 ± 0.12
Asp	0.89 ± 0.31	1.21 ± 0.02	0.48 ± 0.07	0.78 ± 0.09
Ala	5.09 ± 2.02	6.58 ± 0.71	1.55 ± 0.15	3.30 ± 0.19
Gly	1.40 ± 0.45	1.52 ± 0.27	0.72 ± 0.11	0.79 ± 0.08
Ser	1.30 ± 0.45	1.40 ± 0.34	0.67 ± 0.07	0.81 ± 0.06
Thr	1.62 ± 0.92	0.02 ± 0.00*	1.05 ± 0.17	1.00 ± 0.09
Pro	0.49 ± 0.17	0.50 ± 0.10	0.24 ± 0.04	0.28 ± 0.03
Val	1.44 ± 0.45	1.59 ± 0.29	0.81 ± 0.16	0.93 ± 0.10
Cys	0.83 ± 0.35	0.59 ± 0.12	0.29 ± 0.02	0.25 ± 0.02
Met	0.26 ± 0.10	0.34 ± 0.08	0.11 ± 0.02	0.20 ± 0.02
Leu	1.52 ± 0.50	2.17 ± 0.61	0.71 ± 0.12	1.20 ± 0.12
Ile	1.08 ± 0.34	1.29 ± 0.32	0.55 ± 0.09	0.70 ± 0.06
Phe	1.47 ± 0.48	1.83 ± 0.54	0.69 ± 0.10	0.88 ± 0.22
Trp	0.28 ± 0.10	0.29 ± 0.06	0.16 ± 0.04	0.22 ± 0.03
HIAs	1.08 ± 0.31	1.03 ± 0.21	0.58 ± 0.12	0.49 ± 0.07
Lys	2.64 ± 0.98	2.61 ± 0.46	1.25 ± 0.21	1.25 ± 0.16
Arg	2.93 ± 1.29	2.65 ± 0.55	1.52 ± 0.33	1.35 ± 0.24
GABA	2.56 ± 1.17	2.76 ± 0.18	0.57 ± 0.08	0.79 ± 0.08
Orn	2.18 ± 0.70	2.63 ± 0.94	2.84 ± 0.32	2.69 ± 0.29

mean (mg/g of dried weight) ± SE (\*:  $p < 0.05$ )

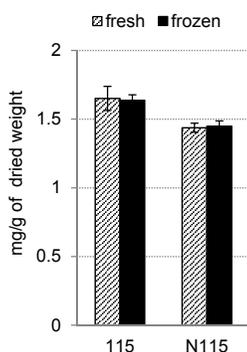


Fig. 6. 5'-GMP content of fresh or frozen shiitake Kinko 115 and Kinko N115.

Each histogram represents the mean of all data for each strain ± SE. No significant difference was observed using the Tukey-Kramer test ( $p < 0.05$ ).

ノ酸含量を見ると (Fig. 5) 菌興 115 号と N115 号で、生の方が多い傾向のアミノ酸、冷凍の方が多  
い傾向のアミノ酸の種類はほぼ一致していた。

### 3) グアニル酸含量

グアニル酸については、生と冷凍で含量に有意な差はなかった (Fig. 6).

### 4) 機能性成分含量

シイタケに含まれる機能性成分であるエルゴチオネインとエリタデニンについて、試験区別での生と冷凍サンプル中の含量を Table 6 に示し、品種別に全試験区を平均した値を Fig. 7 に示した。エルゴチオネインは、生と冷凍で含量に有意な差は認められなかった。エリタデニンについては、菌興 115 号の 1 月 11 日収穫サンプルと 2 月 8 日

Table 6. GMP, ergothioneine, and eritadenine content of fresh or frozen shiitake Kinko 115 and Kinko N115.

	11-Jan		25-Jan		8-Feb	
	fresh	frozen	fresh	frozen	fresh	frozen
<b>Kinko 115</b>						
Ergothioneine	1.35 ± 0.13	1.42 ± 0.10	1.84 ± 0.12	1.72 ± 0.07	1.48 ± 0.15	1.60 ± 0.27
GMP	1.56 ± 0.09	1.52 ± 0.04	1.69 ± 0.03	1.69 ± 0.04	1.68 ± 0.07	1.68 ± 0.08
Eritadenine	0.75 ± 0.04	0.87 ± 0.04	1.14 ± 0.30	1.06 ± 0.13	0.82 ± 0.05	1.15 ± 0.16
<b>Kinko N115</b>						
Ergothioneine			0.92 ± 0.32	0.95 ± 0.28	1.59 ± 0.13	1.52 ± 0.10
GMP			0.97 ± 0.10	0.96 ± 0.17	1.72 ± 0.12	1.74 ± 0.10
Eritadenine			0.62 ± 0.29	0.61 ± 0.27	1.04 ± 0.13	1.06 ± 0.07

mean (mg/g of dried weight) ± SE

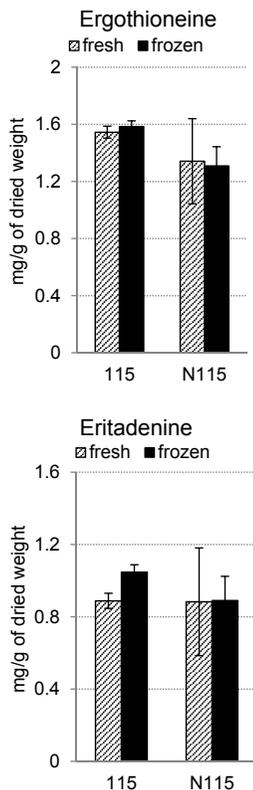


Fig. 7. Ergothioneine and eritadenine contents of fresh or frozen shiitake Kinko 115 and Kinko N115.

Each histogram represents the mean of all data for each strain ± SE. No significant difference was observed using the Tukey-Kramer test ( $p < 0.05$ ).

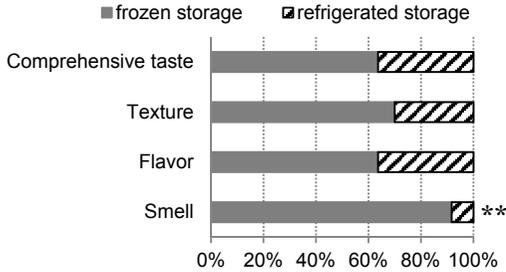
収穫サンプルで生よりも冷凍の方がやや含量が多い傾向であったが、有意差は認められず、それ以外のサンプルでは含量に顕著な差は見られなかった。

### 生シイタケと冷凍シイタケの食味比較

菌興 702 号と菌興 706 号を用いて生シイタケと冷凍シイタケの食味官能試験を行った。①生シイタケを切った状態で冷凍保存し焼き調理した場合 (2 点比較法, Fig. 8A) と②柄のみを切り取り個体のまま冷凍し蒸し調理した場合 (2 点比較法, Fig. 8B), ③生シイタケと、切片にして冷凍保存したもまたは個体のまま冷凍保存したものを焼き調理し 3 者を順位法で比較した場合 (Fig. 8C), ④生シイタケと、切片にして冷凍保存したもまたは個体のまま冷凍保存したものを茹で調理し 3 者を順位法で比較した場合 (Fig. 8D) の 4 通りの試験を行った。茹で調理したものについては茹で汁に食塩を加えて味付けした出汁も官能試験に供した。結果、①の場合は、香り、味、食感、おいしさの全ての項目で冷凍シイタケの方が好まれる傾向が見られ、香りに関しては有意差が認められた ( $p < 0.01$ ) (Fig. 8A)。自由回答では、香り、味など冷凍シイタケの方が強いという意見が目立つ一方で冷蔵保存した生シイタケは、良く言えばクセがなく食べやすいという意見も複数あった。②の場合は、香り、味、食感、おいしさの全ての項目で生と冷凍でほとんど差がなく (Fig. 8B)、自由回答もあまり差は感じられなかったという意見が多かった。③の場合、香り、味、食感、おいしさの全ての項目で切片冷凍と生サンプルについては大差がなかったが、個体冷凍したものは有意差は無いが全体的に評価が低かった (Fig. 8C)。④の場合、全体的に切片冷凍サンプルの評価が高く、香りと出汁のおいしさでは、生サンプルと有意差が認められた ( $p < 0.05$ ) (Fig. 8D)。自由回答を見ると、香りに関しては切片、個体とも冷凍サンプルは香りが強く生サンプルは香りが弱いと

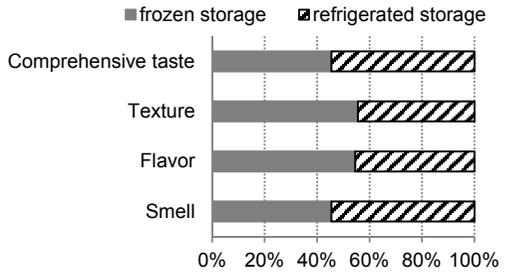
A

pan-fried (pieces)



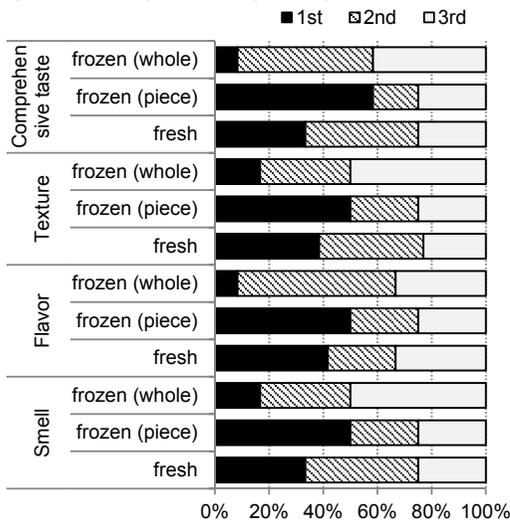
B

steamed (whole)



C

pan-fried (whole / piece)



D

boiled (whole / pieces)

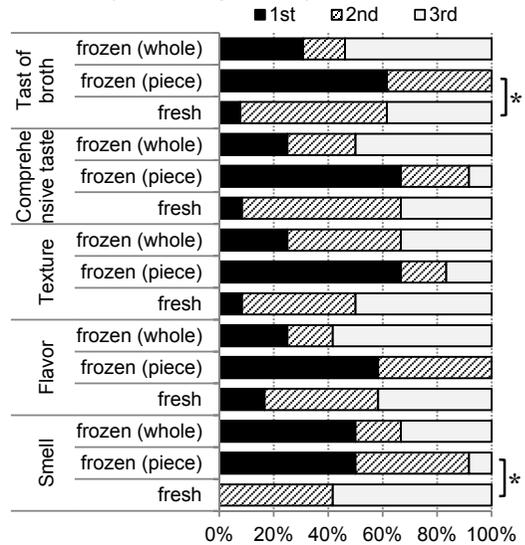


Fig. 8. Sensory evaluation tests for fresh or frozen shiitake mushroom.

Total panelists: A: n = 11, B: n = 11, C: n = 12, D: n = 12. Asterisks indicate statistically significant differences (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

言う意見が複数あった。また、少しずつ風味などが異なるがどれもおいしかった、など違いはあるが優劣つけにくいと言う意見も複数あった。また、個体のままよりも適当な大きさに切ってから冷凍したものの方が全体的な食味の評価が高かった。

## 考 察

先行研究として(田淵ら 2018)菌興 115号を用い1カ月から1年程度長期冷凍保存した原木栽培シイタケについて、食味を中心に調査した。本研究では、生シイタケと冷凍シイタケの各種成分含量の比較を主な目的とした。菌興 115号および菌興 N115号の生と冷凍サンプルの遊離糖含量比

較では、いずれの試験区でも生に比べ冷凍の方がグルコース量が多く、2月8日収穫サンプル (Table 3) と菌株別の全試験区の平均値 (Fig. 4B) では有意差が認められた。シイタケにはトレハロースなどの遊離糖のほか、 $\beta$ -グルカンなどの多糖類が大量に含まれている。また子実体中にトレハロースをグルコースに分解するトレハラーゼ活性 (Kitamoto et al. 1998) や  $\beta$ -1,3 グルカナーゼおよび  $\beta$ -1,6 グルカナーゼ活性 (金野 2013) が存在することが確認されている。糖は 70℃ の熱水で抽出しているが、生シイタケや冷凍シイタケではサンプルを投入した際に水温が下がり、その後再び水温が上がるまでに短時間ではあるがトレハラーゼやグルカナーゼなどグルコースの生成に関わる酵素が作用すると推察される。冷凍では生よりサンプル投入後の水温が低くなり 70℃ に達するまでの時間がさらに長くなり、また冷凍によって細胞が破壊されているため基質と酵素類が接触・反応しやすく、これによりグルコース量が多くなったと考えられる。乾燥サンプルは、常温の蒸留水に粉末を加え加熱しているが液量が少なくすぐに高温になることから、酵素類はほとんど働かないと考えられる。冷凍サンプルに比べ凍結乾燥サンプルでグルコース含量が有意に少ないのはこのためであると考えられる (Fig. 1B)。実際にシイタケを食べる際には加熱調理の間に短時間ではあるが酵素が働き、生よりも冷凍の方がグルコース量はやや多くなると考えられる。シイタケには糖アルコールであるマンニトールやアラビトールも大量に含まれており、マンニトールはスクロースの 0.5 倍の甘味度をもつ (前橋 2011)。本研究で遊離糖の分析に用いたリン酸フェニルヒドラジン法では糖アルコールであるマンニトールやアラビトールは検出できないことから分析を行っていないが、シイタケ中の含有量が多いことから食味に関わる重要な成分の一つと考えられる。吉田らは -20℃ で冷凍保存した際の遊離糖および遊離糖アルコール含量の変化を調べ報告しているが、6 カ月までマンニトール、アラビトール含量に変化はなかった (吉田ら 1987)。この分析は、80% エタノールを用いた酵素が働かない条件での抽出、分析結果である。実際に調理する際には何らかの酵素が働きこれら糖アルコール類

の含量も変化する可能性もあるため、今後これら糖アルコール類についても分析が必要である。

菌興 115 号の個体と切片の両方で生、冷凍、凍結乾燥、温風乾燥サンプルの遊離糖含量を比較した結果 (Fig. 1) について、生と温風乾燥サンプルで個体よりも切片の方が顕著に含量が多かった。個体差である可能性もあるが、シイタケを切片にするために傷つけたことが影響したことも考えられ、この現象について明らかにするためは、再現性を確認するなど詳細な検討が必要である。

タンパク質が分解されて生じる遊離アミノ酸類は、うま味に関わるグルタミン酸をはじめ、甘味や苦味など味を呈するものが多く、食味に関わる重要な成分である (河合 2011)。シイタケ中の含量が多くうま味に関わるアミノ酸であるグルタミン酸と甘味を呈するグルタミン、スレオニンは、冷凍よりも生シイタケの方が多い傾向が見られた (Fig. 5)。一方、比較的含量が多く甘味を呈するアミノ酸であるアラニンやうま味に関わるアスパラギン酸、苦味アミノ酸であるロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンは、生よりも冷凍の方が多い傾向が見られた (Fig. 5)。生と冷凍サンプルの遊離アミノ酸含量については、冷凍による組織の損傷や熱水抽出時のサンプル投入による温度低下の影響で冷凍サンプルの方がプロテアーゼがよく働き、全体的に遊離アミノ酸含量が多くなると推測された。しかし、実際はアミノ酸の種類により生と冷凍での含量の多少は異なっていた。この原因について、それぞれのアミノ酸の変換に関わる酵素の影響や加熱抽出の際に起こるメイラード反応の影響などが考えられるが、原因を明らかにするためには、さらに詳細な検討が必要である。

シイタケの主要なうま味成分であるグアニル酸含量については、いくつかの文献では生よりも冷凍シイタケの方が含量が多くなると報告されているが (石黒ら 2006, 甲山ら 2015)、今回の試験では生と冷凍で含量に有意な差は見られなかった。甲山らや石黒らの報告では、常温の水に生または冷凍サンプルを入れ 5 分または 10 分かけて沸騰させ抽出している。一方、本研究ではあらかじめ 70℃ に加温した水に生または冷凍サンプルを入れ、そのまま 70℃ で 30 分間加温して抽出した。

乾シイタケを用いた実験では、70℃付近が最もグアニル酸生成量が多くなる温度であった（データ未発表）。甲山らや石黒らの方法は、より高温で加熱時間も短いことから、ヌクレアーゼの働きが弱く、基質であるRNAが残存している状態で反応を終えていると考えられる。実際に、石黒らの報告ではRNA量も合わせて測定しており、生を加熱したものの方が冷凍サンプルを加熱したものよりRNA量が多い（石黒ら2006）。本研究ではRNA量は測定していないが、ヌクレアーゼが最もよく働く70℃付近で、より長時間加熱しているため生、冷凍サンプルともにほぼ全てのRNAが分解され最大量のグアニル酸となっているためほとんど含量に差がなかったと考えられる。

冷凍シイタケと生シイタケの食味比較について、以前行った試験では（田淵ら2018）、冷凍期間を1カ月以上に設定したため、食味試験に用いた生シイタケは冷凍サンプルと発生時期が異なるものであった。特に露地栽培品であったため生と冷凍サンプルでシイタケ本来の品質に差が生じ、単純に冷凍による食味の変化の有無を検討することが困難であった。そこで本研究では、高中温発生型の品種を用いた原木栽培シイタケでも安定した品質のものが得られる浸水発生、施設栽培シイタケを用い、さらに冷凍期間を短くし生と冷凍サンプルは同じ時に収穫されたものを用いて食味試験を行った。きのこを冷凍保存する場合、調理前に十分に解凍してしまうと外観も食味も悪くなることが分かっている。そのため、冷凍きのこは完全解凍をせず加熱調理することが望ましいが、あらかじめ適当な大きさに切って冷凍した場合と個体のまま冷凍した場合では、特にシイタケ内部で調理時の温度上昇に違いがあると考えられプロテアーゼやヌクレアーゼ、その他さまざまな酵素反応の影響により食味に関わる成分の量が異なることが考えられた。実際に、菌興115号を用いた成分分析試験では個体と切片で、グルコース量やいくつかのアミノ酸量に若干の差が見られた。そこで冷凍サンプルとしてあらかじめ切って冷凍したものと個体のまま冷凍したものを準備し、調理法は焼く、蒸す、茹でる、の3通りを検討した。食味試験全体の結果を見ると、生と冷凍で味や食感に大差はないことが分かった。しかし、切片で冷

凍した場合、特に茹で調理において、生に比べ冷凍サンプルの方が香りや味が強い傾向が認められた。生と切片冷凍サンプルについて茹で調理をした際の茹で汁の遊離糖含量を比較するとグルコース含量は切片冷凍サンプルで生サンプルの2倍近くであり、一方トレハロース含量は生サンプルの6割程度であった（データ未発表）。上記の菌興115号や菌興N115号を用いた成分分析の結果でも、冷凍シイタケの方がグルコース含量が多かった。遊離アミノ酸については、成分分析の結果から、いくつかのアミノ酸で生と冷凍サンプルで含量に有意な差が認められた。α-アミノ酸の中でもグリシン、L-アラニン、L-バリン、L-セリン、L-メチオニン、L-ヒスチジン塩酸塩、DL-トリプトファンなどは、核酸系うま味物質によるL-グルタミン酸ナトリウムのうま味の相乗効果をさらに増強する効果をもつことが報告されている（横塚ら1969、田中ら1969A、田中ら1969B）。グルタミン酸は生サンプルの方が有意に含量が多かったが、うま味の相乗効果を増強するアラニン、バリンは冷凍サンプルの方が含量が多かった。切片冷凍サンプルで味が強いと感じられた理由として、このグルコース含量や、いくつかの遊離アミノ酸の含量の違いが影響しているかもしれない。またシイタケ特有の香り成分はレンチニンなどの硫黄化合物であり、レンチニン酸から酵素反応によって生成される。そのため、冷凍シイタケでは細胞が壊れレンチニン酸と酵素が出会う機会が増えたこと、調理時の温度上昇が生サンプルに比べやや緩慢となることなどによって生に比べ冷凍サンプルの方が香り関連成分が多くなることが考えられる。香りに関係する揮発性成分含量も実際に分析し確認する必要がある。

以前に自然発生した菌興115号を用いた冷凍保存試験では、1年以上長期冷凍保存したのも生シイタケと同等の食味品質であることが示された。今回、浸水発生した菌興702号および706号を用いた短期冷凍試験でも生と冷凍サンプルで食味に優劣はなかった。しかし今回、冷凍シイタケでは生シイタケに比べ、やや香りや味が強くなる傾向があり、顕著な差ではないが生とは食味が異なる可能性が示唆された。しかし、この違いは個人の嗜好によって良し悪しが分かれるものであ

り，原木栽培シイタケは，冷凍することによって食味や機能性成分を大きく損なうことなく長期保存できることが確認できた。

## 摘 要

露地栽培された低中温発生型の原木栽培シイタケ菌興 115 号と菌興 N115 号を用いて，生シイタケと冷凍シイタケの各種成分比較を行った。また，浸水発生させた高中温発生型原木栽培シイタケ菌興 702 号と菌興 706 号を用いて，生と冷凍シイタケの食味比較を行った。遊離糖について，生より冷凍サンプルの方がグルコースとフルクトースの含量が多い傾向が見られ，一部有意差が認められた。遊離アミノ酸について，グルタミン酸とグルタミンは生サンプルの方が含量が多く，アラニン，ロイシン，フェニルアラニンなどは冷凍サンプルの方が含量が多かった。グアニル酸含量は生と冷凍で顕著な差はなかった。機能性成分であるエルゴチオネインとエリタデニン含量も生と冷凍で顕著な差はなかった。食味については，調理方法によって生と冷凍で違いがあることが示唆され，冷凍シイタケの方が味や香りをやや強く感じる事が示された。

## 引用文献

石黒弥生・菅原龍幸. 2008. キノコの保存に対する家庭用冷凍冷蔵庫の利用— 冷凍したマツタケ，ナメコと水戻しした干しシイタケを冷凍保存した場合の受容性の検討—. 日本食生活学会誌 **19** (2) : 175–177.

石黒弥生・藤原しのぶ・佐々木弘子・松本伸子・菅原龍幸. 2006. 冷凍した食用担子菌類の嗜好性. 日本食生活学会誌 **17** (3) : 247–254.

河合美佐子. 2011. 生物工学 **89** (11) : 679–682.

甲山恵美・青柳康夫. 2015. キノコは冷凍に適しているか. 日本食生活学会誌 **26** (1) : 11–19.

金野尚武. 2013. きのこと類が生産する糖質加水分解酵素. 木材保存 **39** (2) : 60–70.

総務省統計局. 家計調査 (二人以上の世帯) 品目別都道府県庁所在市および政令指定都市ランキング (2016 年～2018 年平均) <http://www.stat.go.jp/data/kakei/5.html> (2019 年 7 月 8 日閲覧)

田中輝男・斎藤伸生・奥原章・横塚保. 1969.  $\alpha$ -アミノ酸の呈味作用に関する研究 (第 2 報)  $\alpha$ -アミノ酸の旨味増強作用について (1). 日本農芸化学会誌 **43** (3) : 171–176.

田中輝男・斎藤伸生・奥原章・横塚保. 1969.  $\alpha$ -アミノ酸の呈味作用に関する研究 (第 3 報)  $\alpha$ -アミノ酸の旨味増強作用について (2). 日本農芸化学会誌 **43** (4) : 263–268.

田淵諒子・作野えみ. 2018. 原木シイタケにおける長期冷凍保存と解凍条件が食味および成分含量におよぼす影響. 菌蕈研報 **48**: 5–13.

日本きのこセンター. 2008. 原木シイタケ栽培研修テキスト.

長谷部公三郎. 2017. 日本のきのこ生産の動向と課題. 森林技術 **906**: 2–6.

藤作清吾. 2017. 原木しいたけのブランド化の 115 「のとてまり」. 森林技術 **906**: 8–11.

前橋健二. 2011. 甘味の基礎知識. 日本醸造協会誌 **106** (12) : 818–825.

横塚保・斎藤伸生・奥原章・田中輝男. 1969.  $\alpha$ -アミノ酸の呈味作用に関する研究 (第 1 報) グリシンの旨味増強作用について. 日本農芸化学会誌 **43** (3) : 165–170.

吉田博・菅原龍幸・林淳三. 1987. シイタケ子実体の収穫後における炭水化物の変化. 日本食品低温保蔵学会誌 **13** (2) : 44–53.

林野庁. 2018. 平成 29 年特用林産基礎資料 (特用林産物生産統計調査 結果報告書) P 39.

Kitamoto, Y., Tanaka, H., and Osaki, N. 1998. Survey of  $\alpha$ -glucose 1-phosphate forming trehalose phosphorylase and trehalase in various fungi including basidiomycetous mushrooms. *Mycoscience* **39**: 327–331.

原木栽培シイタケの産地判別におけるストロンチウム  
同位体分析，炭素・窒素・酸素同位体分析および  
微量元素濃度分析の有用性比較\*

時本景亮・田淵諒子・作野えみ・鈴木彌生子\*\*・川崎晃\*\*\*・平田岳史\*\*\*\*

---

Determination of the geographic origin of log-cultivated shiitake mushroom, *Lentinula edodes*, using comparative analysis of Sr isotope, C·N·O isotopes, and levels of trace elements\*

Keisuke TOKIMOTO, Akiko TABUCHI, Emi SAKUNO, Yaeko SUZUKI\*\*, Akira KAWASAKI\*\*\*,  
and Takafumi HIRATA\*\*\*\*

Abstract

Dried mushrooms of shiitake (*Lentinula edodes*) cultivated on logs in Japan, China, and Korea were used. Strontium isotope ratio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ), carbon, nitrogen, and oxygen isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{18}\text{O}$ , respectively), and the levels of trace elements were analyzed to identify the geographic origin of the mushrooms.  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  was shown to be a key factor that distinguished Japanese shiitake from Chinese and Korean shiitake, although  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{18}\text{O}$ , and levels of trace elements were also useful for the distinction among the three countries. Combination of the isotope ratios and the element levels provided clear discrimination, e.g. “ $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  and the levels of nine elements” or “ $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{18}\text{O}$ , and the levels of 14 elements” led to 99.3% (139/140) hitting ratio between Japanese and Chinese shiitake.

**Key words:** discriminant analysis, dried shiitake, minor element, stable isotopes.

---

\*菌蕈研究所研究業績，第415号，(一財)日本きのこセンター・菌蕈研究所，〒689-1125 鳥取市古郡家211。

\* Contribution No. 415 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

\*\*国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門，\*\*\*国立研究開発法人農業環境技術研究所(現所属：農研機構中央農業研究センター)，\*\*\*\*国立大学法人京都大学(現所属：東京大学)

緒 言

輸入乾シイタケの一部が日本産として偽装販売されるゆゆしき問題は 30 年以上前に顕在化し、いまだに完全には解消していない。消費者の信頼を裏切るばかりか、日本産に偽装された安価な輸入品が市場で増えることで真の日本産の販売価格が不当に下落し、国内生産者にも甚大な被害をもたらしてきた。高岡 (2000) によれば、2000 年当時には 2,000 ~ 3,000 トンの輸入乾シイタケが国産品として販売されていたことが推定されている。この状況を打開するため、乾シイタケの産地判別法の開発が進められてきた、それらは柄の顕微鏡調査と傘の物性調査に元素濃度分析を加えた手法 (時本ら 2000, 時本 2005, 時本 2002, 時本ら 2016) にはじまり、元素濃度分析にアミノ酸分析を加味したもの (奥崎 2001)、元素濃度分析に注力したもの (臼井ら 2003, 門倉ら 2006)、窒素と炭素の安定同位体比分析の有用性を認めたもの (鈴木ら 2015)、などがある。さらに判別精度を高めるため、ストロンチウム安定同位体比と構成元素濃度分析の組み合わせ (時本ら 2009, 時本 2011, 石井・箱田 2016) あるいは窒素、炭素安定同位体比と元素濃度分析の組み合わせ (時本ら 2017) も行われた。

乾シイタケの原木栽培品同士の産地判別は菌床栽培品と原木栽培品の判別よりも難しいとされ、上記の様々な手法が提唱されてきたが、それぞれの手法の精度や実用性について十分な比較検証は行われていない。ここでは、同じサンプルを用いて元素濃度分析、ストロンチウム同位体比分析 ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ )、および炭素 ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ )・窒素 ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ )・酸素 ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ) の同位体比分析を行い、これら手法の比較と組み合わせについて検討した。

材料と方法

乾シイタケサンプルの収集、調製

供試した原木栽培シイタケのサンプル数は日本産 77, 中国産 63, 韓国産 40 であった (Table 1)。日本産の原木栽培乾シイタケは生産者から直接購

Table 1. Origin of shiitake samples used in this study.

Area	Number
<b>China</b>	
Shanxi sheng 陝西省	18
Henan sheng 河南省	11
Anhui sheng 安徽省	6
Hubei sheng 湖北省	6
Sichuan sheng 四川省	6
Jiangxi sheng 江西省	5
Fujian sheng 福建省	3
Non-identified	8
Total	63
<b>Japan</b>	
Ohita 大分	16
Ehime 愛媛	9
Miyazaki 宮崎	9
Iwate 岩手	11
Shizuoka 静岡	11
Ishikawa 石川	9
Kumamoto 熊本	6
Hiroshima 広島	2
Tottori 鳥取	2
Yamaguchi 山口	1
Total	77
<b>Korea</b>	
Jeollanam-do 全羅南道	11
Chung cheong buk-do 忠清北道	10
Chung cheong nam-do 忠清南道	4
Gyeong sang nam-do 慶尚南道	4
Jejudo 濟州島	2
Jeolla buk-do 全羅北道	1
Gang won-do 江原道	1
Non-identified	7
Total	40

入した。中国産および韓国産においては、乾燥品を日本の輸入業者や当該国の知人の協力を得て収集するとともに、一部は現地に出かけて購入した。粉末サンプルの調製法は既報 (時本ら 2016) と同じであり、傘表面をブラッシングした乾シイタケを少量の蒸留水で洗浄し、ヒダを含まないように傘肉を粉末化した。

ストロンチウム同位体比分析

乾シイタケ粉末 1 g と硝酸 10 mL を分解用ポリプロピレンチューブに入れて一夜放置し、ヒートブロックにセットして 95℃ で 150 分間加熱した。その間、過酸化水素水を 0.2 mL ずつ 5 回添加し、

分解を促進した。分解液からの Sr の分離には、Sr 樹脂 (Eichrom Technologies 社製) を用いた。すなわち、Sr 樹脂を 0.6 mL 充填したカラムに分解液を流し、8 mol/L 硝酸で測定妨害になる Rb を流去した後、0.05 mol/L 硝酸で Sr を回収した。Sr 同位体比測定は既報 (川崎・織田 2005) に準じ、多重検出器型 ICP 質量分析計 (MC-ICP-MS) で行った。

### 炭素、窒素および酸素安定同位体比分析

既報 (鈴木ら 2009, 鈴木ら 2015) の方法と同じであり、炭素・窒素同位体比分析として、約 4 mg の粉末サンプルを錫カプセルに、酸素同位体比分析として、約 1 mg の粉末サンプルを銀カプセルに秤量した。元素分析計を接続した質量分析計 (EA-IRMS) を用いて炭素、窒素および酸素の安定同位体比を分析した。標準試料からの千分偏差で安定同位体比を標記した。

### 元素濃度分析

比較的濃度の高い Ba, Ca, K, Mg, Mn, Na, Sr および Zn は ICP-AES を用いて分析し (時本ら 2016), その他の微量元素は Kawasaki ら (2000) に準じて ICP-MS で分析した。

### 統計分析

有意差検定および判別分析にはエクセル統計 2012 (社会情報サービス) を用いた。

### 結果と考察

日本、中国および韓国産の原木栽培シイタケはストロンチウム同位体比 ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , Fig. 1), 炭素 ( $\delta^{13}\text{C}$ )・窒素 ( $\delta^{15}\text{N}$ ) の同位体比 (Figs. 2,3), および多くの元素濃度 (Table 2) においてグループ間で有意差が認められたが、酸素 ( $\delta^{18}\text{O}$ ) 同位体比 (Fig. 4) には有意差はなかった。

輸入量の大部分を占める中国産と日本産との判別の中率は  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  単独で 96.4%,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  の 3 つの同位体比の組み合わせで 90.0%, As, Ca, Cd など 11 種類の元素濃度の組み合わせでは 96.4% であった (Table 3)。韓国産と日本産との判別でも、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  は 94.9%,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  の組み合わせで 79.5%, 7 種類の元素濃度で 93.2% の的中率であり、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  は高い有用性を持つことが認められた。一方、中国産と韓国産の場合では  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  は 74.8%,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  も 77.7% と特に高くなく、As, Ca など 10 種類の元素濃度で 98.1% の高い的中率が得られた。

Table 2. Statistical basic data on the element levels of dried shiitake used for discriminant analyses.

	Japan (n = 77)	China (n = 63)	Korea (n = 40)	Difference in mean values at 1% significance on Tukey-Kramer method
Al	21.2 ± 38.3	39.6 ± 27.9	23.2 ± 17.0	China > Japan
As	0.061 ± 0.028	0.168 ± 0.060	0.108 ± 0.041	China > Japan, Korea; Korea > Japan
Ba	0.501 ± 0.282	0.932 ± 0.611	0.543 ± 0.314	China > Japan, Korea
Ca	78.9 ± 40.3	149.2 ± 68.3	90.9 ± 61.3	China > Japan, Korea
Cd	0.652 ± 0.492	0.889 ± 0.603	0.451 ± 0.403	China > Korea
Cu	5.01 ± 3.69	4.61 ± 1.39	3.42 ± 1.27	Japan > Korea
Co	0.025 ± 0.022	0.055 ± 0.028	0.042 ± 0.022	China > Japan, Korea > Japan
Eu	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	China > Japan; Korea > Japan
K	16000 ± 2930	14600 ± 1440	13900 ± 2130	Japan > China, Korea
La	0.011 ± 0.015	0.032 ± 0.030	0.020 ± 0.016	China > Japan, Korea
Li	0.019 ± 0.017	0.079 ± 0.048	0.027 ± 0.015	China > Japan, Korea
Mg	894 ± 171	1258 ± 304	1032 ± 110	China > Japan, Korea; Korea > Japan
Mn	12.39 ± 3.52	12.68 ± 2.76	14.60 ± 7.59	Korea > Japan
Mo	0.055 ± 0.106	0.113 ± 0.162	0.037 ± 0.025	China > Korea
Na	109.4 ± 62.6	59.3 ± 17.6	91.0 ± 77.1	Japan > China
Ni	0.220 ± 0.221	0.295 ± 0.238	0.183 ± 0.116	China > Korea
Pb	0.114 ± 0.117	0.190 ± 0.129	0.119 ± 0.107	China > Japan, Korea
Rb	66.8 ± 32.3	38.5 ± 26.2	52.7 ± 20.0	Japan > China
Sr	0.369 ± 0.221	0.502 ± 0.261	0.371 ± 0.220	China > Japan
Zn	23.11 ± 7.72	19.53 ± 4.84	27.59 ± 12.39	Korea > China

mg/kg, mean ± SD

原木栽培シイタケにおける産地判別法の比較検討

$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  による日本産と中国産あるいは韓国産との判別の中率が高いのは日本列島よりも中国大陸や朝鮮半島の方が地殻が古いことに起因すると考  
えられる。中国産と韓国産とでは  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  の差異は大きくないが<sup>5</sup>、我が国におけるシイタケ原産国判別の実用性においては日本産と外国産（中国産

Table 3. Discriminant analyses of dried shiitake samples between two countries.

Combination	Factors used for analyses	Hitting ratio (%) <sup>*</sup>
Japan : China	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	96.4 (135/140)
	$\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , $\delta^{18}\text{O}$	90.0 (126/140)
	As, Ca, Cd, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Rb, Zn	96.4 (135/140)
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , As, Ca, Li, Mg, Mn, Na, P, Rb, Sr	99.3 (139/140)
	$\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , $\delta^{18}\text{O}$ , As, Ca, Cd, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Ni, Pb, Rb	99.3 (139/140)
Japan : Korea	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	94.9 (111/117)
	$\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , $\delta^{18}\text{O}$	79.5 (93/117)
	As, Cu, Cd, K, Mg, Na, Pb	93.2 (109/117)
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , As, Cu, Eu, K, Mg, Pb	95.7 (112/117)
	$\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , As, Cu, Eu, K, Mg, Ni, Pb, Sr	93.2 (109/117)
China : Korea	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	96.6 (113/117)
	$\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , $\delta^{18}\text{O}$ , As, Eu, Mg, Na, Rb	96.6 (113/117)
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	74.8 (77/103)
	$\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , $\delta^{18}\text{O}$	77.7 (80/103)
	As, Ca, Cu, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Rb, Zn	98.1 (101/103)
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , As, Ca, Co, Cu, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Zn	99.0 (102/103)
	$\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , Ca, Cu, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Ti, Zn	99.0 (102/103)
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , Ca, Ce, Cu, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Ni, Pb, Pr, Zn	99.0 (102/103)

\* In parenthesis: hitting sample number / tested sample number

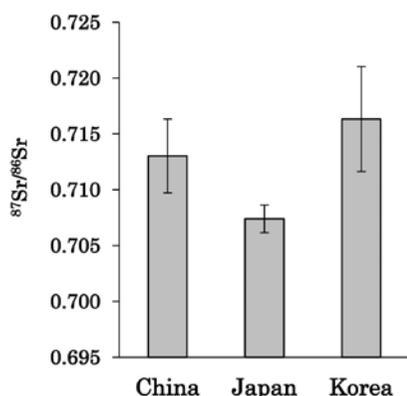


Fig. 1. Comparison of  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  among shiitake from Japan, China, and Korea.

Each histogram represents mean  $\pm$  SD. Difference in mean values at 1% significance was determined by the Tukey-Kramer method: China > Japan; Korea > China and Japan.

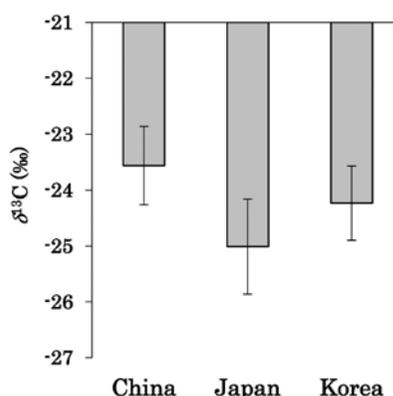


Fig. 2. Comparison of  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) among shiitake from Japan, China, and Korea.

Each histogram represents mean  $\pm$  SD. Difference in mean values at 1% significance was determined by the Tukey-Kramer method: China > Japan and Korea; Korea > Japan.

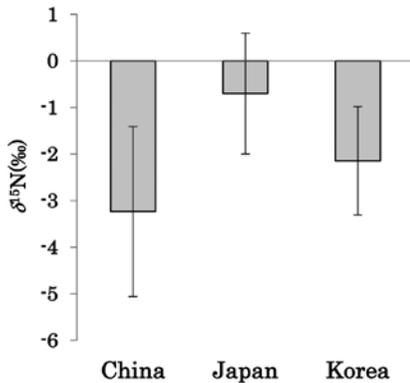


Fig. 3. Comparison of  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) among shiitake from Japan, China, and Korea.

Each histogram represents mean  $\pm$  SD. Difference in mean values at 1% significance was determined by the Tukey-Kramer method: Japan > China and Korea; Korea > China.

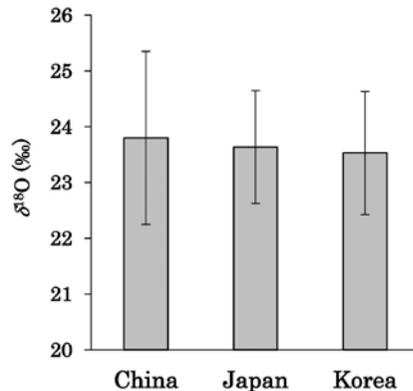


Fig. 4. Comparison of  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) among shiitake from Japan, China, and Korea.

Each histogram represents mean  $\pm$  SD.

や韓国産)との仕分けが大切であり, その意味で $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の実用性は高い。

元素は多くの種類を測定することができ, 産地判別に有用である。しかし, それらの濃度はシイタケ栽培の基質である原木の樹種, 生育状態, 樹齢などによって変化する弱点がある。一方, 元素の同位体比はこれらの影響を殆ど受けず, 原木が生育した地点に大きく依存することから, 正確な原産地判別に寄与すると考えられる。そこで, 元素濃度と同位体比とを組み合わせることによる高精度の産地判別が期待される。

中国産と日本産との判別において $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ とAs, Ca, Liなど9種類の元素濃度, あるいは $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ とAs, Ca, Cdなど14種類の元素濃度を組み合わせると, どちらの中率は99.3%に達した。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ および元素濃度を全て組み合わせても99.3%を超える的中率を得ることができなかった。韓国産と日本産との的中率はやや低く,  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と6つの元素濃度あるいは $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ と8つの元素濃度を組み合わせても95.7%および93.2%の的中率であった。

Fig. 5と6に日本, 中国および韓国の3グループを合わせた判別分析結果の例を示す。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ とCa, K, Mgなど12種類の元素濃度, あるいは

$\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ とCa, Cu, Kなど15種類の元素濃度を組み合わせたものである。全供試サンプルにおいて, 日本産, 中国産, 韓国産のいずれであるかを判別する的中率がそれぞれ95.6%および92.8%となっている。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を用いる方が $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ を用いるよりもやや高精度であり, 化学操作の煩雑さや分析の迅速性の問題はあるものの $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ はより優れた判別要素であると言える。ただ,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ と元素濃度との組み合わせはサンプル量が僅かで済むうえ分析装置も比較的広く流通しており, その意味での実用性は高いと考えられる。なお,  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ および元素濃度の全データを用いた場合の3国間の判別の中率は96.7%であった。

謝辞: 本研究の一部は, 農林水産省「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業, 乾シイタケの高精度原産国判別法の開発」(2008~2010年度)により行った。

原木栽培シイタケにおける産地判別法の比較検討

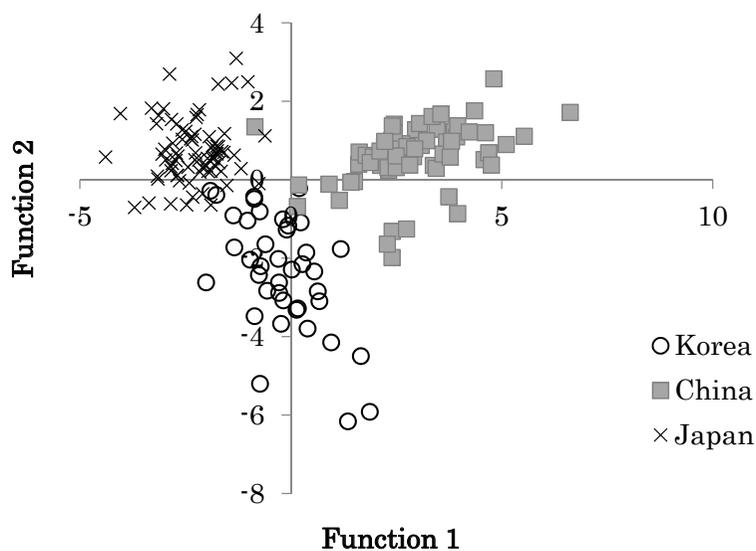


Fig. 5. Scattering graph in three shiitake groups after a discriminant analysis using the data of  $^{86}\text{Sr}/^{87}\text{Sr}$  and the levels of elements, As, Ca, Cd, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Pb, Rb, and Zn. Total hitting ratio = 95.6% (172/180).

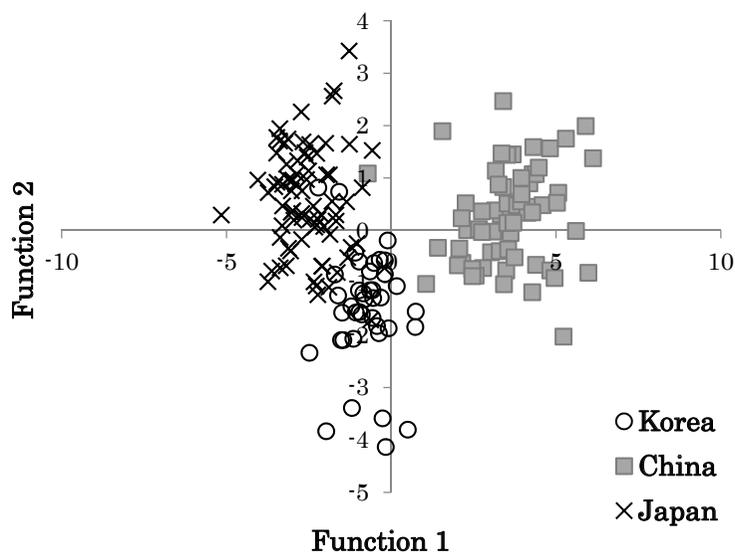


Fig. 6. Scattering graph in three shiitake groups after a discriminant analysis using the data of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  and the levels of elements, As, Ca, Cd, Cu, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Rb, and Zn. Total hitting ratio = 92.8% (167/180).

## 摘 要

日本産、中国産および韓国産の原木栽培乾シイタケを供試し、ストロンチウム、炭素、窒素および酸素の安定同位体比分析と元素濃度分析を同じサンプルで行った。それぞれの分析手法に有用性を確認したが、日本産と外国産（中国産および韓国産）との判別ではストロンチウム同位体比の貢献度が高かった。同位体比と元素濃度を組み合わせることで原木栽培シイタケの生産国を高精度で判別することが可能であることを再確認し、日本産と中国産との判別の中率は99.3%（139/140）であった。

## 引用文献

- 石井修人・箱田晃子. 2016. 原木栽培乾しいたけの元素分析とストロンチウム安定同位体比分析の組み合わせによる原料原産地判別法の検討. 農林水産消費安全技術センター食品関係等調査研究報告 **40**: 9-16.
- 白井祐一・塚田政範・藤原守・津村明宏・諸橋保・時本景亮. 2003. 日本産乾しいたけと中国産乾しいたけ判別法の検討. 農林水産消費安全技術センター調査研究報告 **27**: 45-54.
- 奥崎政美. 2001. 食品の鑑別の研究—化学的成分組成の多変量解析によるキノコ類の原産地および栽培法の判別について—. 女子栄養大栄養科学研報 **9**: 173-207.
- 門倉雅史・白井祐一・有山薫. 2006. 無機元素分析による乾シイタケの原料産地および栽培方法の判別. 日食工 **53**: 489-497.
- 川崎晃・織田久男. 2005. 水田土壌と米のストロンチウム同位体比の関係. 日本土壤肥科学雑誌 **76**: 579-585.
- Kawasaki, A., Kimura, R. and Arai, S. 2000. Fractionation of trace elements in wastewater treatment sludges. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **31**: 2413-2423.
- 鈴木彌生子・中下留美子・赤松史一・伊永隆史. 2009. 安定同位体比分析による国産米の産地及び有機栽培判別の可能性. 分析化学 **58** (12): 1053-1058.
- 鈴木彌生子・中下留美子・Noemia Kazue Ishikawa・田淵諒子・作野えみ・時本景亮. 2015. 炭素・窒素安定同位体比分析による原木栽培及び菌床栽培乾シイタケの原産地比較. 分析化学 **64**: 859-866.
- 高岡八郎. 2000. 乾シイタケ流通の問題点と改革方向. 菌蕈 **46** (5): 28-33.
- 時本景亮. 2002. 日本産シイタケと中国産シイタケとを判別する手法の開発. 菌蕈 **48** (6): 10-14.
- 時本景亮. 2005. 原産地判別「シイタケ」, 食品鑑定技術ハンドブック. pp. 49-54, サイエンスフォーラム.
- 時本景亮. 2011. 「ストロンチウム同位体比を用いる乾シイタケの原産国判別法」の開発を終えて. 菌蕈 **57** (5): 16-22.
- 時本景亮. 2013. 乾シイタケの原産国判別法の開発経過と現状について. 特産情報 **2013**(4): 42-44.
- 時本景亮・大平郁男・片田直伸. 2000. 乾燥椎茸判別方法. 特願 2000-302260.
- 時本景亮・越谷博・川崎晃・平田岳史. 2009. 重元素同位体比を用いるシイタケの原産地判別技術について. 第57回質量分析総合討論会講演要旨集, Pp. 432-433.
- 時本景亮・田淵諒子・作野えみ・越谷博. 2016. 原木および菌床栽培乾シイタケの解剖学的, 物理的および化学的性質の比較. 菌蕈研報 **46**: 12-22.
- 時本景亮・田淵諒子・作野えみ・Noemia Kazue Ishikawa・中下留美子・鈴木彌生子. 2017. 安定同位体比と元素組成分析による高精度な乾シイタケの産地判別法. 菌蕈研報 **47**: 7-15.

## 菌興 N115 号の収量性について\*

寺島和寿・佐々木明正・黒田誠・長谷部公三郎

### Yield-related properties of Kinko N115, a new shiitake cultivar for wood-log cultivation \*

Kazuhiisa TERASHIMA, Akimasa SASAKI, Makoto KURODA, and Kozaburo HASEBE

#### Abstract

We have developed Kinko N115, a new shiitake cultivar for log cultivation. In this study, we have compared the yields of Kinko N115 and Kinko 115 (a shiitake cultivar that has been used for cultivation of premium products). Three forest cultivation plots (42 sawdust plug spawns per log, 30 sawdust plug spawns per log, and 42 or 48 wood plug spawns per log) and one greenhouse cultivation plot (42 sawdust plug spawns per log), in which harvest after the first year was performed in a greenhouse and harvest after the second year was carried out in an experimental forest, were established. As a result, four-years yields of Kinko N115 developed in forest cultivation plots were higher than those of Kinko 115; especially in the experimental plot of wood plug spawn, the difference between the mean values of Kinko N115 and Kinko 115 was statistically significant. In addition, the yield of Kinko N115 after the first year in the greenhouse cultivation plot was greater than that of Kinko 115. Therefore, it is suggested that Kinko N115 is also useful for greenhouse cultivation of fresh shiitake in winter as well as cultivation in the outdoors, such as, forest.

**Key words:** new shiitake cultivar, Kinko N115, Kinko 115, wood log cultivation, yield of fruiting bodies.

#### 諸 言

シイタケは我が国を代表とする食用きのこの一つであり、これまでに 203 品種が登録されてきた(農林水産省 2019)。また、シイタケの原木栽培は、主に中山間地域で行われることから、当該地域の雇用と活性化に重要な役割を果たしている。シイ

タケの原木栽培の収量は栽培管理に加えて、品種(橋岡ら 1961, 長谷部 1991)、原木(岸本ら 1985, 福田ら 1987, 前田ら 2016)、気象条件(橋岡ら 1961, 温水ら 1968)、ホダ場環境等に大きく左右され、とりわけ品種の選定が原木シイタケ栽培・経営の成否に大きな影響を与える。そのため、菌草研究所ではシイタケの原木栽培用品種を精力的に育成しており(橋岡ら 1961, 長谷部 1991)。

\*菌草研究所研究業績, 第 416 号, (一財)日本きのこセンター・菌草研究所, 〒689-1125 鳥取市古郡家 211.

\* Contribution No. 416 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.



Fig. 1. Fruiting body of Kinko N115.

現在までに 39 品種を登録してきた。その中でも、原木シイタケ品種「菌興 115 号」は、菌傘が極めて厚く、食味に優れた特徴をもつため、この品種のブランド化に向けた取り組みが各地で行われている（上馬 2012, 垣田 2014, 安達 2015, 長谷部 2017, 藤作 2017）。一方で、現在、菌茸研究所では、菌興 115 号の優れた特性（極厚肉、良食味）を受け継ぎ、収量性、子実体発生温度特性（秋期の発生量）、子実体の形態的形質（秋期の菌柄徒長）を改良した良食味でブランド力の強い新品種の開発を実施している。本年度までに、菌興 115 号よりも収量性の高い菌興 N115 号（Fig. 1）の育成を完了したので、当該品種の収量特性について報告する。

## 材料と方法

本研究で実施した菌興 N115 号と菌興 115 号の栽培試験の概要を Table 1 に示す。成型 42 穴・露地試験区（成型種菌 42 個を原木に植菌し、林内の試験圃場で栽培した試験区）、成型 30 穴・露地試験区（成型種菌 30 個を原木に植菌し、林内の試験圃場で栽培した試験区）および駒・露地試験区（駒種菌 42 個か 48 個を原木に植菌し、林内の試験圃場で栽培した試験区）の 4 年間の収量データ、成型 42 穴・ハウス - 露地試験区（成型種菌 42 個を原木に植菌し、1 年目はビニールハウス内で、2 年目は林内の試験圃場で収穫した試験区）

Table 1. Experimental plots for cultivation of Kinko N115 and Kinko 115.

Type of spawn	Spawn per log	Location for cultivation	Cultivation period	Years of Inoculation <sup>1)</sup>	Number of cultivation trials
Sawdust plug spawn	42	Experimental forest	Four years	2000-2002(10) 2004-2006(10) 2010-2015(10)	12
Sawdust plug spawn	30	Experimental forest	Four years	2010( 50) 2011( 50) 2015(100)	3
Wood plug spawn	42 or 48	Experimental forest	Four years	2000-2002(20) 2004-2006(20) 2010-2014(20) 2015(10)	12
Sawdust plug spawn	42	Greenhouse (first year) Experimental forest (Second year)	Two years	2015-2016(10) 2017(30)	3

1) Number in parenthesis is number of logs used for cultivation.

の2年間の収量データを用いて、菌興 N115 号と菌興 115 号の収量性の比較を行った。なお、1年間の収量は9月から翌年4月までの収量を集計し、材積 0.1 m<sup>3</sup> あたりに換算した値を用いた。また、本研究においては、コナラ原木を使用し、一般財団法人日本きのこセンターの圃場において慣行法（日本きのこセンター 1986）に従って管理した。露地試験区は 2000 年から 2008 年までは、鳥取市岩倉にある試験圃場（標高：約 120 m）、2009 年以降は鳥取市広岡の試験圃場（標高：約 80 m）で栽培試験を実施した。ハウス・露地試験区（2015 年～2017 年）は、鳥取市古郡家の菌茸研究所（標高：約 50 m）敷地内の林内でホダ木を育成した後、10 月上旬にビニールハウスに搬入し、1 年目はハウス内で子実体を収穫し、その後、春に広岡の試験圃場に移動させ、2 年目は林内で収穫を行った。乾重収量、子実体 1 個乾重（乾重収量 / 発生個数；以下、1 個乾重）の平均値の差の検定（対応のある t 検定）は、統計ソフト R ver. 3.5.1 を使用した。

## 結 果

### ホダ木齢ごとの収量（露地栽培試験区）

成型 42 穴・露地試験区、成型 30 穴・露地試験区、駒・露地試験区における、菌興 N115 号と菌興 115 号のホダ木齢ごとの乾重収量（0.1 m<sup>3</sup> 当たり）の平均値を Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4 に示した。

成型 42 穴・露地試験区（Fig. 2）において、菌興 N115 号と菌興 115 号ともに 1 年目収量が最も多く、その後は減少した。1 年目から 3 年目、4 年間収量において、菌興 N115 号の収量が菌興 115 号よりも多く、特に 2 年目では有意差が認められた（ $p < 0.05$ ）。成型 30 穴・露地試験区（Fig. 3）においては、菌興 N115 号では 1 年目収量と 2 年目収量はほぼ同等（2 年目 - 1 年目収量割合：1.2%）で、菌興 115 号では、2 年目収量が最も多く（2 年目 - 1 年目収量割合：7.1%）、その後は両品種ともに減少した。また、すべてのホダ木齢と 4 年間収量において菌興 N115 号の収量が菌興

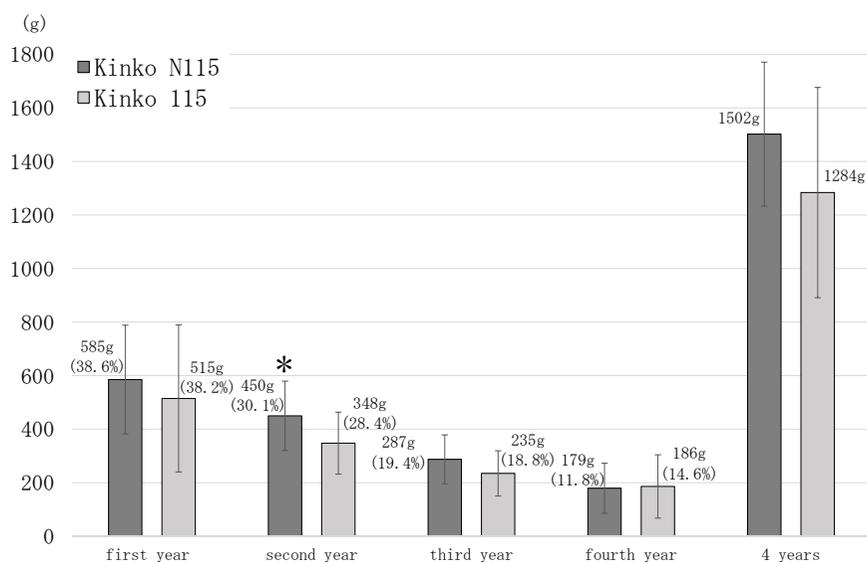


Fig. 2. The mean value of harvest year yield per 0.1 m<sup>3</sup> of the log in cultivation with 42 sawdust plug spawns per log. The number in parentheses is the rate of harvest year yield to the total yield. t-test, \*:  $p < 0.05$ .

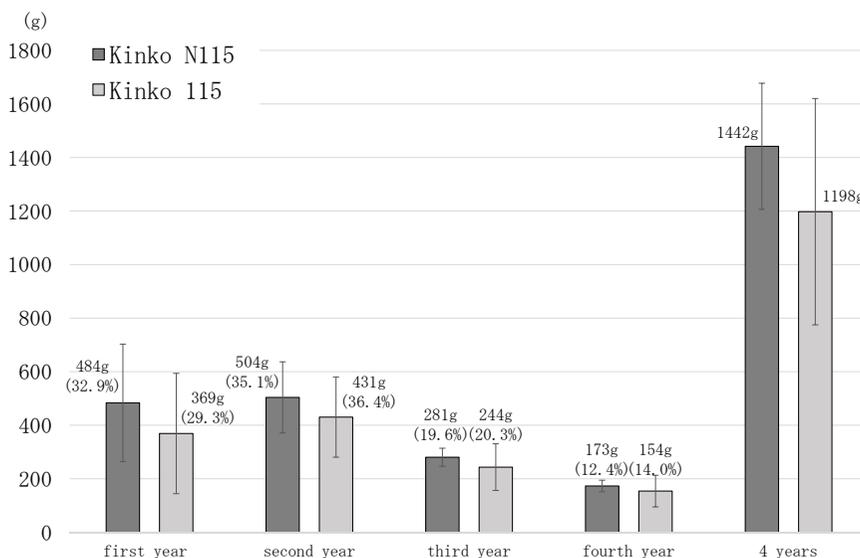


Fig. 3. The mean value of harvest year yield per 0.1m<sup>3</sup> of the log in cultivation with 30 sawdust plug spawns per log. The number in parentheses is the rate of harvest year yield to the total yield.

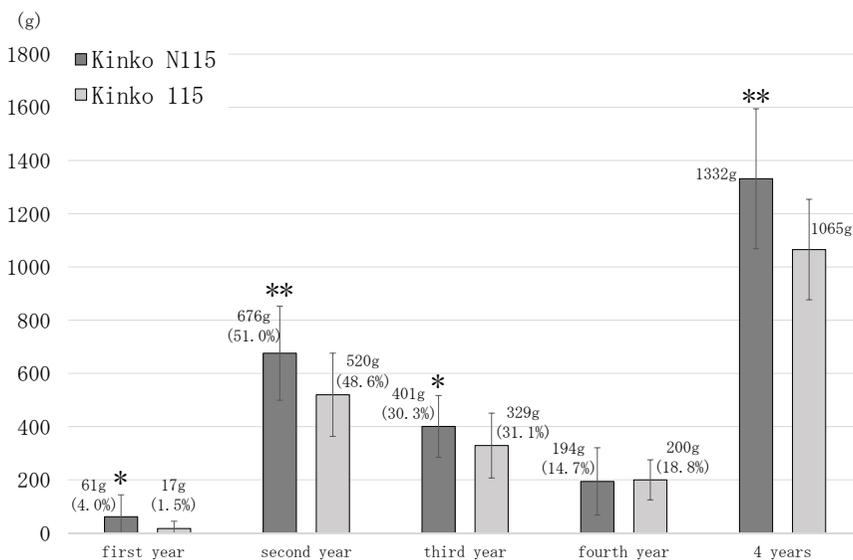


Fig. 4. The mean value of harvest year yield per 0.1 m<sup>3</sup> of the log in cultivation with wood plug spawn. The number in parentheses is the rate of harvest year yield to the total yield. t-test; \*\*:  $p < 0.01$ , \*:  $p < 0.05$ .

菌興 N115 号の収量性

115号よりも多かったが、有意差は認められなかった。駒・露地試験区 (Fig. 4) においては、菌興 N115号と菌興 115号ともに2年目収量が最も多く、その後は減少した。また、当該試験区では1年目から3年目、4年間乾重収量において、菌興 N115号の収量が菌興 115号より多く、統計的な有意差が認められた(2年目、4年間:  $p < 0.01$ ; 1年目、3年目:  $p < 0.05$ )

月別収量 (露地栽培試験区)

成型 42 穴・露地試験区、成型 30 穴・露地試験区、駒・露地試験区における、菌興 N115号と菌興 115号の月別乾重収量 (0.1 m<sup>3</sup> 当たり) の平均値を Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7 に示した。

成型 42 穴・露地試験区の月別収量 (Fig. 5) において、両品種ともに3月が最も多く、菌興 N115号は菌興 115号よりも多かった。秋率はそれぞれ 23.5% (標準偏差 16.4) と 22.0% (標準偏差 17.6) であり、ほぼ同等であった。成型 30 穴・露地試験区 (Fig. 6) においても、両品種ともに3月が最も多く、菌興 N115号は菌興 115号よりも多かった。秋率はそれぞれ 5.1% (標準偏差 1.9)

と 4.9% (標準偏差 1.7) であり、ほぼ同等であった。駒・露地試験区においても、両品種ともに3月が最も多く、菌興 N115号は菌興 115号よりも多く、有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。そして、12月以降の各月の月別収量でも、菌興 N115号のほうが菌興 115号よりも多い傾向があり、12月の乾重収量では有意差が認められた ( $p < 0.05$ ) (Fig. 7)。秋率はそれぞれ 5.4% (標準偏差 5.6) と 4.0% (標準偏差 2.7) であり、ほぼ同等であった。

子実体 1 個当たりの乾重 (露地栽培試験区)

成型 42 穴・露地試験区、成型 30 穴・露地試験区、駒・露地試験区における、菌興 N115号と菌興 115号の1個乾重の平均値と標準偏差を Table 2 に示した。

成型 42 穴・露地試験区と成型 30 穴・露地試験区の1年目で、菌興 N115号の1個乾重が菌興 115号よりも小さく、成型 42 穴・露地試験区において有意差が認められた ( $p < 0.01$ )。しかしながら、2年目以降は、両試験区ともに、菌興 N115号の1個乾重は菌興 115号と同等か、より

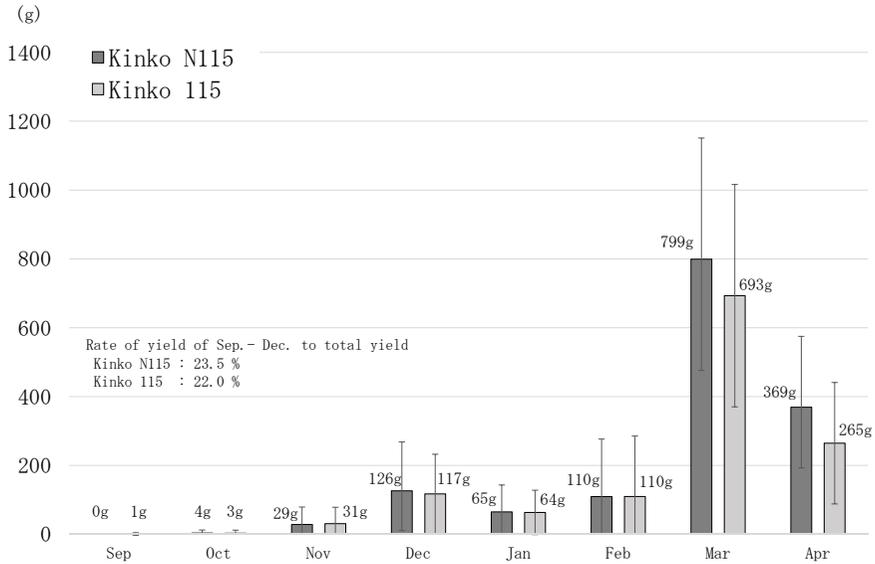


Fig. 5. The mean value of monthly yield in cultivation with 42 sawdust plug spawns per log.

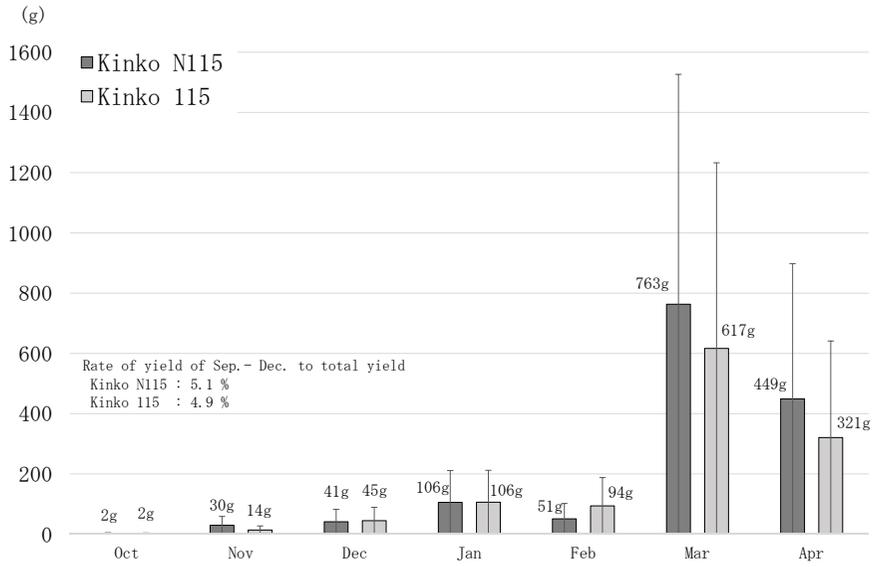


Fig. 6. The mean value of monthly yield in cultivation with 30 sawdust plug spawns per log.

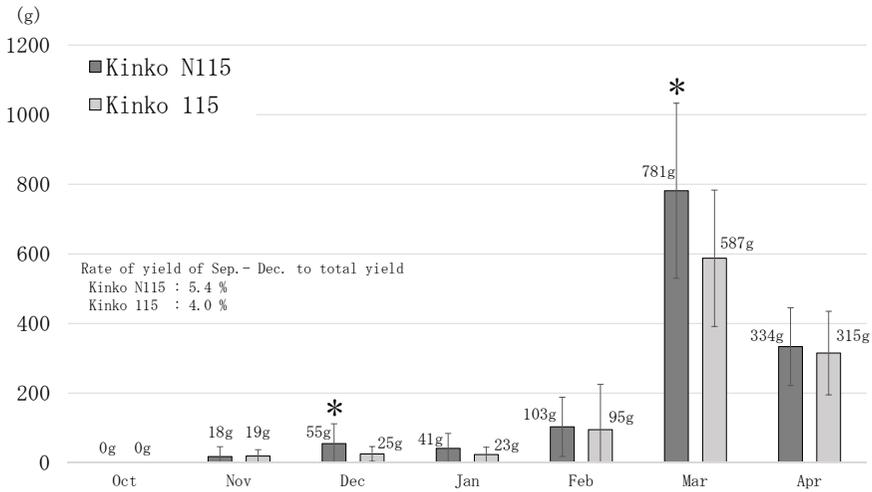


Fig. 7. The mean value of monthly yield in cultivation with wood plug spawn.

大きい傾向であり、特に成型 42 穴・露地試験区 4 年目では、菌興 N115 号のほうが菌興 115 号よりも有意に大きかった ( $p < 0.05$ )。また、駒・露地試験区においては、2 年目と 3 年目で菌興 N115 号の 1 個乾重が菌興 115 号よりも小さかったが、4 年目では菌興 N115 号が菌興 115 号よりも有意に大きかった ( $p < 0.05$ )。

### ハウス栽培特性

成型 42 穴・ハウス - 露地試験区および成型 42 穴・露地試験区 (2015 ~ 2017 年植菌) の 2 年間の乾重収量 (3 回試作の平均値) を Fig. 8 に示した。同一試験区で品種間を比較した場合、両試験区ともに菌興 N115 号が菌興 115 号よりも多かったが、有意差は認められなかった。また、同一品種で試験区間を比較すると、両品種ともにハウス - 露地栽培試験区が多く、菌興 115 号の 1 年目においては有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

ハウス - 露地試験区の 1 年目の月別乾重収量を Fig. 9 に示した。いずれの品種も 1 年目にハウスで収穫すると、12 月および 1 月の収量が露地栽培よりも多く、発生月が早まった。また、1 年目の秋率はハウス - 露地試験区で菌興 N115 号および菌興 115 号はそれぞれ 31.1%、29.8% であり、露地試験区では、それぞれ 7.8%、8.6% であった。

### 考 察

本研究では、菌興 N115 号と菌興 115 号を用いて、成型 42 穴・露地試験区、成型 30 穴・露地試験区、駒・露地試験区、成型 42 穴・ハウス - 露地試験区における、ホダ木齢毎乾重収量、月別乾重収量および 1 個乾重の比較を行った。

4 年間乾重収量では、露地試験区すべてで菌興 N115 号が菌興 115 号よりも多く、特に駒・露地試験区では統計的な有意差 ( $p < 0.01$ ) が認められた。このことから、菌興 N115 号は菌興 115 号よりも収量性が高いことが明らかになった。

本研究では、菌興 N115 号において成型種菌の植菌数が異なる試験区の収量性を示した (Fig. 2, Fig. 3)。菌興 N115 号の成型 42 穴・露地試験区と成型 30 穴・露地試験区の 4 年間収量はそれぞれ 1,502 g/0.1m<sup>3</sup> 原木 (Fig. 2) および 1,442 g/0.1m<sup>3</sup> 原木 (Fig. 3)、秋率はそれぞれ 23.5% および 5.1% であり、種菌数が多い方が、収量が多く、秋率が高い傾向が見られた。一方で、1 個乾重を比較すると、2 年目から 4 年目において、成型 30 穴・露地試験区のほうが 1.0 g 以上大きく (Table 1)、2 年目においては、統計的な有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた。両試験区での原木材積は統計的な有意差が認められなかったため、4 年間収量、秋率および 1 個乾重は、主に原木 1 本あたりの種菌数に起因すると考えられる。本研究の結果から、出

Table 2. The mean value of dry weight per fruiting body in forest cultivation plots of Kinko N115 and Kinko115.

Type of spawn	Cultivar	first year	second year	third year	fourth year	4 years
Sawdust plug spawn (42 spawn per log)	Kinko N115	4.2 (1.0)	4.9 (1.2)	4.8 (1.0)	4.7 (1.2) *	4.3 (0.6)
	Kinko 115	5.2 (1.5) **	5.1 (2.7)	4.4 (1.2)	3.6 (1.0)	4.3 (0.5)
Sawdust plug spawn (30 spawn per log)	Kinko N115	4.3 (0.8)	6.2 (2.0)	5.9 (1.2)	5.7 (0.6)	5.2 (0.5)
	Kinko 115	6.2 (1.6)	5.3 (2.2)	5.2 (0.9)	4.7 (1.3)	4.9 (0.8)
Wood plug spawn	Kinko N115	11.7 (8.0)	4.3 (1.2)	4.4 (0.7)	4.9 (0.9)*	4.4 (0.6)
	Kinko 115	11.5 (2.3)	4.7 (1.2)	4.7 (1.1)	4.2 (1.0)	4.5 (0.8)

t-test, \*\*:  $p < 0.01$ , \*:  $p < 0.05$

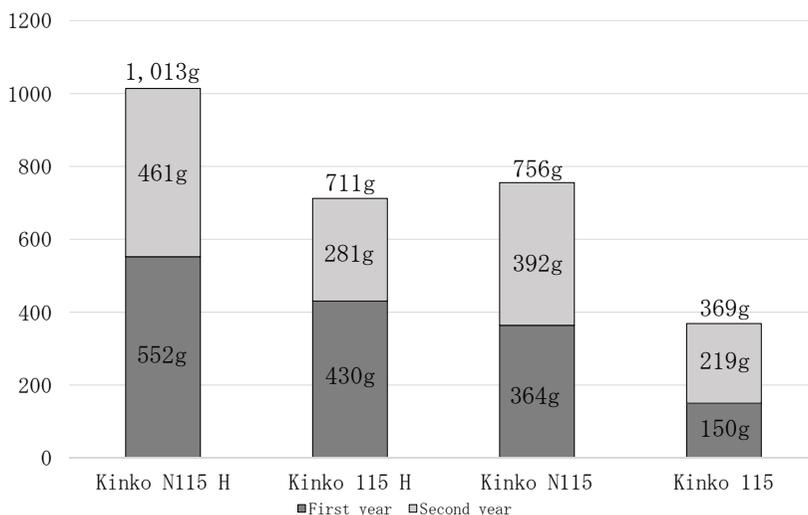


Fig. 8. The mean value of two years cultivation yield in greenhouse and experimental forest from 2015 to 2017.

Harvest of Kinko N115-H and Kinko 115-H was performed in greenhouse and that of Kinko N115 and Kinko 115 was carried out in the experimental forest.

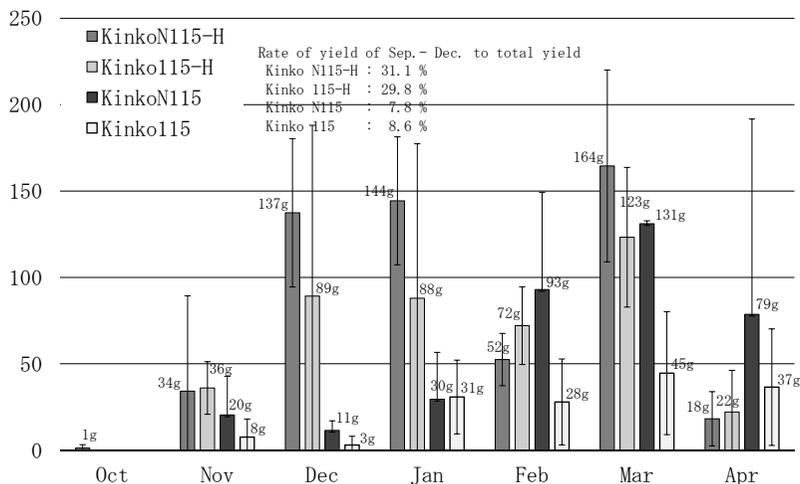


Fig. 9. The mean value of monthly yields in the first year of cultivation in greenhouse and forest from 2015 to 2017.

Harvest of Kinko N115-H and Kinko 115-H was performed in greenhouse and that of Kinko N115 and Kinko 115 was carried out in the experimental forest.

荷方法（出荷時期、生あるいは乾シイタケ出荷、子実体の大きさ、シイタケステーキや品種ブランド化対応の有無など）に応じて、1本あたりの種菌数を調整する必要が示唆された。今後は、原木樹種や原木の径級に対する種菌数を検討するなど、より詳細な適性種菌数の検討が必要である。また、寺島ら（2018）は、菌興 115 号の 1 年目収量において、成型 30 穴試験区と 42 穴試験区間で有意差が認められることを報告した。本研究では、菌興 N115 号において、同様な傾向はみられる一方で、統計的な有意差は認められなかった。今後、30 穴試験区を継続的に実施していくことにより、両試験区間の収量性の違いが明らかになると考えられる。

本研究では 2015–2017 年に植菌した、成型 42 穴・ハウス・露地試験区と成型 42 穴・露地試験区の 2 年間の収量性を比較検討した（Fig. 7, Fig. 8）。ハウス・露地試験区において、菌興 N115 号のほうが菌興 115 号よりも高い収量性が示唆され、菌興 N115 号もハウス栽培による冬期の生シイタケ生産に適していることが期待される。また、ハウス栽培における 12 月および 1 月の収量も菌興 115 号よりも高かった（Fig. 8）ことから、年末年始の需要期での生産が期待される。2015–2017 年の菌興 115 号の成型 42 穴・露地試験区の収量は、12 回試作の平均値と比較すると、1 年目マイナス 70.9%、2 年目マイナス 37.1% と非常に低かったが、菌興 N115 号では 1 年目マイナス 37.8%、2 年目マイナス 12.9% であり、減少幅は小さかった。2015–2019 年の気象条件や原木の品質が収量減少をもたらしたことが予想されたが、菌興 N115 号の減少幅が小さかったことから、気象や原木に対する適応幅が広いことが予想される。また、両品種ともハウス・露地試験区のほうが多い傾向があり、1 年目秋期から冬期にハウス内で散水管理することで 1 年目の収量を増やすだけでなく、2 年目の収量を増やすことが示唆された。今後、収量調査を継続することにより、1 年目秋冬期のハウス管理が 4 年間収量に与える影響を明らかにしていく予定である。

本研究結果から、菌興 N115 号は菌興 115 号よりも収量性に優れ、露地栽培だけでなく、ハウス栽培にも適していることが示された。一方、菌興

N115 号の 1 年目の子実体 1 個乾重が菌興 115 号よりも小さく、2 年目以降は逆に菌興 N115 号が同等かより大きくなり、さらに菌興 N115 号において 1 本あたりの種菌数の少ないほうが、子実体が大きくなる傾向が認められたため、菌興 N115 号を使用する際は、個々の生産者の使用樹種や栽培・経営に適した種菌数を検討することが必要である。また、本研究では、子実体形態については検討しなかったが、菌興 N115 号のほうが菌興 115 号よりも極厚肉で丸みを帯びた菌傘を持っていることが観察されている（Fig. 1）。当該形態特性は他品種との区別性が高く、ブランド化に資する特性である。しかしながら、極厚肉の菌傘は水分が多いと柔らかくなりすぎ、食味を低下させることが危惧されるので、露地栽培する場合は、ビニール被覆や袋掛けを実施するとともに日和子採取を心掛ける必要がある。菌興 N115 号は、このような留意点を押さえた上で栽培することで、原木シイタケのブランドに値する品柄を多く生産することを可能とし、シイタケの原木栽培の再生・拡大に寄与することが期待される。

## 摘 要

本研究では、菌興 N115 号と菌興 115 号を用いて、成型 42 穴・露地試験区、成型 30 穴・露地試験区、駒・露地試験区、成型 42 穴・ハウス・露地試験区における、ホダ木齢毎の乾重収量、月別乾重収量および平均 1 個乾重の比較を行った。その結果、露地試験区 4 年間収量では、菌興 N115 号が菌興 115 号よりも収量性が高く、特に駒種菌を使用した場合は統計的に有意差が認められた。秋子率は菌興 115 号と同等であった。一方、菌興 N115 号の子実体 1 個乾重は、発生の最盛期では菌興 115 号よりも小さく、それ以降は菌興 115 号と同等かより大きい傾向が認められた。また、1 年目の冬期をビニールハウス内で管理し、収穫した場合でも、菌興 N115 号は菌興 115 号よりも高い収量性が示唆され、冬期の生シイタケ生産にも適していることが示された。

## 引用文献

- 安達和美. 2015. 鳥取県産原木シイタケのブランド化に向けて. 菌草 **61**: 18-21.
- 上馬裕子. 2012. 原木シイタケ「のと115」の生産拡大・知名度向上に向けた取組みについて. 菌草 **58**: 16-20.
- 垣田修. 2014. 「鳥取県きのこビジョン」～きのこ王国とつとりの実現を目指して～. 菌草 **60**: 10-17.
- 岸本潤・古川郁夫・作野友康. 1985. コナラ, クヌギほだ木におけるシイタケ発生の比較. 広葉樹研究 **3**: 121-131.
- 日本きのこセンター (編). 1986. “シイタケ栽培の技術と経営”, 家の光協会, 東京, 220p.
- 温水竹則・日高忠利・久保田暢子. 1968. シイタケのほだ付きと子実体の発生について (II) — ほだ付き, 子実体の発生と気象因子との関係 —. 日林九支研論集 **22**: 171-172.
- 農林水産省. 2019. 品種登録ホームページ (<http://www.hinshu2.maff.go.jp/>)
- 橋岡良夫・小松光雄・有田郁夫. 1961. 交雑によって得られたシイタケ子実体の形態学的ならびに生理的性質. 菌草研報 **1**: 69-84.
- 長谷部公三郎. 1991. シイタケの突然変異および農業形質に関する遺伝・育種学的研究. 菌草研報 **29**: 1-69.
- 長谷部公三郎. 2017. 日本のきのこ生産の動向と課題. 森林技術 **906**: 2-6.
- 福田正樹・時本景亮・坪井正知・西尾幸弘. 1987. シイタケ原木の形質とほだ木の腐朽度および子実体発生量の関係. 菌草研報 **25**: 68-74.
- 藤作清吾. 2017. 原木しいたけのブランド化のと115「のとてまり」. 森林技術 **906**: 8-11.
- 前田亜紗・船戸知聖・寺島和寿・長谷部公三郎. 2016. 原木の形質(産地, 樹種, 径級)と植菌法(種菌の種類, 植菌孔の深さ)がシイタケの栽培品種・菌興115号の子実体収量に及ぼす影響. 菌草研報 **46**: 30-38.
- 寺島和寿・佐々木明正・黒田誠・長谷部公三郎. 2018. 菌興115号の原木栽培における子実体収量の年次変動について. 菌草研報 **48**: 14-21.

## 菌蕈研究所 (TMI) が保有する菌類きのこ遺伝資源について\*

牛島秀爾・長澤栄史

### Culture collection at the Tottori Mycological Institute (TMI)\*

Shuji USHIJIMA and Eiji NAGASAWA

#### Abstract

The Tottori Mycological Institute (TMI) was established in 1959. Over the last 60 years, TMI has been collecting fungal cultures of mainly commercially important edible mushrooms, unutilized edible mushrooms, and species that requires taxonomical consideration. Currently, 9,567 strains of 1,009 species are cryopreserved in the liquid phase at  $-196^{\circ}\text{C}$  in liquid nitrogen tanks. These strains are used for the development of commercial strains and in basic and applied studies. Since the fiscal year of 2017, 21 strains have been distributed to the universities. Recently, we introduced a new strain management system and a high-security tube (Cryo Bio System) made with resin materials for efficient cryopreservation in LN<sub>2</sub> liquid phase. In the fiscal year of 2018, 64 mushroom strains were newly collected; these are listed in Table 1.

**Key words:** culture collection, genetic resources, liquid nitrogen cryopreservation.

菌蕈研究所 (TMI) は一般財団法人日本きのこセンターの研究部門として 1959 年に鳥取市富安に設立され、その後 1972 年に現在の鳥取市古郡家に新築移転した。本研究は原木シイタケ等の重要な栽培食用きのこの野生株、交雑株ならびに育成品種を主体に、未利用食用きのこや分類学的に重要なきのこの種の野生株を、TMIC 番号 (Tottori Mycological Institute Culture Collection) を付与して保有している (Fig. 1A)。これらの菌株は 1987 年に導入された 4 基の液体窒素保存タンクの液相中に、ガラスアンプルによって凍結保存されている (Fig. 1B, C)。設立以来約 60 年の間に精力的

に収集・保存された国内外の菌株は、2018 年現在では 1,009 種、9,567 株に達し、新たな品種開発をはじめ、基礎・応用研究、他機関との共同研究等に積極的に活用されている。近年の主な分譲先は大学等であり、2017 年度から本年度までに大学等に 5 件、21 株のきのこ菌株を分譲した。2018 年 4 月には菌株の入出庫をバーコード管理する新しい菌株管理システムを導入し、効率的な管理が可能になった。なお、現在のガラスアンプルは順次液相保存可能な特殊樹脂製のハイセキュリティチューブ (Cryo Bio System) に切り替えていく予定である (Fig. 1D)。

\*菌蕈研究所研究業績, 第 417 号, (一財) 日本きのこセンター・菌蕈研究所, 〒689-1125 鳥取市古郡家 211.

\* Contribution No. 417 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.



Fig. 1. A: Laboratory of cryopreservation. B: Liquid nitrogen tanks. C: Grass ampules (1.2 ml, Wheaton Science Co.) under the liquid phase,  $-196^{\circ}\text{C}$ . D: SYMS II sealer and high-security sterile tube (1.2 ml, Cryo Bio System). E: *Cordyceps militaris*. F: Sclerotium of *Wolfiporia extensa*. G: *Urnula craterium*. H: *Ponticulomyces orientalis*. I: *Auricularia polytricha*. J: *Grifola frondosa*.

収集したきのこは色や形等の肉眼的特徴を記録した。顕微鏡は微分干渉顕微鏡 (Eclipse Ni-U, ニコン) を使用し, 400 倍あるいは 1000 倍 (油浸) 下で胞子をはじめとする諸形態を観察した。培地は MA 培地 [麦芽エキス粉末 (オリエンタル酵母株式会社) 2%, 粉末寒天 (松木寒天産業株式会社) 2%] を使用し, 既報 (日本きのこセンター, 2004) を基に, 組織分離法あるいは多胞子分離法で分離作業を実施した。組織分離は子実体の内部組織を, 滅菌したカミソリを用いて組織片を切り出して培地に移植した。多胞子分離は子実体のひだの一部をメス等を用いて切り出し, シャーレの蓋の内側に塗布したワセリンに貼り付けて, 胞子をシャーレの MA 培地上に自然落下させた。移植した組織あるいは落下させた胞子から再生した菌糸は, 目視ならびに顕微鏡下で確認した後, 新しい MA 培地に速やかに移植し, 25℃, 暗下で

培養した。なお, 菌株の分離作業と同時に, 分離菌株の証拠となる乾燥標本 (温風 50℃) を作成した。

本年度は食用きのこならびに毒きのこ, 薬用きのこや病害菌等の 64 菌株を得た (Table 1)。なお, 収集菌株のうち興味深い種類について以下に記した。

***Cordyceps militaris* (L.) Fr.**

**[Fig. 1E]**

**和名: サナギタケ**

昆虫の鱗翅類の蛹から発生し, 橙色の棍棒状子実体を形成する寄生菌である。コルジセピン等生理活性物質を生産することで知られており近年注目されるきのこである。本菌株は島根県のブナ・ミズナラ林で採集したものから組織分離培養により得た。

Table 1. Mushroom strains collected in 2018.

Scientific name	Japanese name	Number of strains
<i>Aleurodiscus</i> sp.		2
<i>Auricularia auricula-judae</i> (Bull.) Quél. s.l.	Kikurage	5
<i>Auricularia polytricha</i> (Mont.) Sacc. s.l.	Aragekikurage	8
<i>Chlorociboria</i> sp.		1
<i>Clitocybe</i> sp.		1
<i>Cordyceps militaris</i> (L.) Fr.	Sanagitake	1
<i>Cordyceps</i> sp.		2
Corticoid fungi		1
<i>Dactylosporina</i> sp.		1
<i>Dasyscyphella longistipitata</i> Hosoya	Bunano-shirohinano-chawantake	1
<i>Dendrothele</i> sp.		1
<i>Exidia glandulosa</i> (Bull.) Fr.	Himekikurage	1
<i>Exidia</i> sp.		2
<i>Exidia uvapassa</i> Lloyd	Tamakikurage	1
<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis) Singer	Enokitake	4
<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.) Gray	Maitake	3
<i>Gymnopillus</i> sp.		1
<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers.	Yamabushitake	2
<i>Hymenopellis amygdaliformis</i> (Zhu L. Yang & M. Zang) R.H. Petersen	Okinatsuetake	1
<i>Hypholoma lateritium</i> (Schaeff.) P. Kumm.	Kuritake	3
<i>Hypocrea peltata</i> Berk.	Oobotantake	1
<i>Hypomyces</i> sp.		1
<i>Morchella conica</i> Krombh. s.l.	Togari-amigasatake	4
<i>Panellus serotinus</i> (Pers.) Kühner	Mukitake	1
<i>Pholiota nameko</i> (T. Itô) S. Ito & S. Imai	Nameko	3
<i>Pleurotus cystidiosus</i> O.K. Mill.	Ohiratake	1
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	Hiratake	4
<i>Podostoma</i> sp.		1
<i>Ponticulomyces orientalis</i> (Zhu L. Yang) R.H. Petersen	Tsubaki-kinobori-tsuetake	3
<i>Tricholoma fulvocastaneum</i> Hongo	Nise-matsutake	1
<i>Urnula craterium</i> (Schwein.) Fr	Êtsuki-kurokopputake	1
<i>Wolfiporia extensa</i> (Peck) Ginns	Bukuryou	1

***Wolfporia extensa* (Peck) Ginns. [Fig. 1F]**

和名：ブクリョウ

タマチョレイタケ目の褐色腐朽菌であり、菌核はアカマツ等針葉樹の根に形成する。漢方薬の必需品であり、菌核の内部は白色からやや淡い褐色を呈する。鳥取市内のモミの倒木近辺に落ちていた菌核の内部組織を分離して菌株を得た。

***Urnula craterium* (Schwein.) Fr. [Fig. 1G]**

和名：エツキクロコップタケ

春先に発生する種類であり、明瞭な柄を伴う類黒色のコップ状子実体を形成する。わんの縁は明瞭な鋸歯状で、わんの外側にも鱗片を多数形成する。4月に腐朽したシイタケのホダ木から複数発生したものから多孢子分離によって菌株を得た。鳥取県では初めての記録である。

***Ponticulomyces orientalis* (Zhu L. Yang) R.H. Petersen. [Fig. 1H]**

和名：ツバキキノボリツエタケ

ヌメリツバタケモドキ等によく似ているが、傘は中央に多少シワを生じ、類白色から灰色、柄にツバを欠き、胞子は楕円形で前者よりも明らかに小さい。最初中国で報告された種類であり、その後本邦でもその発生を報告した (Ushijima et al., 2012)。5～6月頃、主にヤブツバキの枯幹から発生する。日本(本州,九州(屋久島)),中国(Yang, 2000),韓国(Park et al., 2017)に分布する。鳥取市ならびに広島市で得られた子実体から多孢子分離によって3菌株を得た。

***Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc. s.l. [Fig. 1I]**

和名：アラゲキクラゲ(広義)

キクラゲに似るが子実体には長い背毛を有し、幾分肉質も菌ごたえがある食用きのこであり、国内外で広く栽培される。本年度は鳥取および島根県から8菌株を得た。

***Grifola frondosa* (Dicks.) Gray. [Fig. 1J]**

和名：マイタケ

主に9～10月のブナ・ミズナラ林において特にミズナラの根回りに発生する美味な木材腐朽性

の食用きのこである。本年度は鳥取および島根県から3菌株を得た。

## 摘 要

菌蕈研究所では様々な基礎・応用研究に供試するための菌類きのこ菌株を液体窒素(液相)により凍結保存しており、2018年現在1,009種、9,567株に達した。また効率的な保存と管理のために菌株のバーコード管理システムを導入した。本年度は食用ならびに毒きのこ、薬用きのこや病害菌等計64菌株を得た。興味深いものとしてツバキキノボリツエタケ、ブクリョウ、エツキクロコップタケ、サナギタケ、アラゲキクラゲ等が含まれる。

## 引用文献

- 日本きのこセンター(編). 2004. 図解よくわかるきのこ栽培. 家の光協会, 東京, Pp. 21–22.
- Ushijima, S., Nagasawa, E., Suhara, H. and Maekawa, N. 2012. The genus *Ponticulomyces* (Physalacriaceae, Agaricales) from Japan. *Mycoscience* **53**: 156–160.
- Yang, Z. L. 2000. Further notes on the genus *Oudemansiella* from southwestern China. *Mycotaxon* **74**: 357–366.
- Park, K. H., Kim, C., Kim, M., Kim, N. K., Eimes, J., Cho, H. J., Han, S. K. and Lim, Y. W. 2017. Three New Recorded Species of the Physalacriaceae on Ulleung Island, Korea. *Mycobiology* **45**: 9–14.

## Papers published in the Report of the Tottori Mycological Institute (1993–2018)

(Back issues and reprints may be available on request.)

No.31 (Dec. 1993)

Maekawa, N.: Taxonomic study of Japanese Corticiaceae (Aphylophorales) I. Pp. 1–150.

---

Proceeding of a symposium on “Breeding and Production of Cultivated Mushrooms”, in the XV International Botanical Congress (Yokohama, Japan)

Matsumoto, T. and Fukumasa-Nakai, Y.: Mitochondrial DNA polymorphism and inheritance in *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus*. Pp. 153–161.

Royse, D.J. and Nicholson, M.S.: Allozymes, ribosomal DNA and breeding in *Lentinula*. Pp. 162–167.

Labarère, J., Noël, T., Iraçabal, B. and Maleville, H.: Breeding strategies and molecular biology in heterothallic basidiomycetes. Pp. 168–187.

Kerrigan, R.W. : New prospects for *Agaricus bisporus* strain improvement. Pp. 188–200.

Ogawa, M.: Semi cultivation methods of mycorrhizal fungi *Tricholoma Rhizopogon* and *Lyophyllum*. (Abstract). P. 201.

No.32 (Dec. 1994)

Maekawa, N.: Taxonomic study of Japanese Corticiaceae (Aphylophorales) II . Pp. 1–123.

No.33 (Dec. 1995)

Nagasawa, E.: A new poisonous species of *Boletus* from Japan. Pp. 1–6.

Lumley, T.C. and Currah, R.S.: A preliminary account of some unusual Onygenalean fungi from decayed wood. Pp. 7–13.

Tuneda, A., Maekawa, N. and Sigler, L.: Evidence of the *Hyphozyma* synanamorph of *Eleutheromyces* sp. occurring on diseased fruiting bodies of *Lentinula edodes*. Pp. 14–20.

Murakami, S. and Tsuneda, A.: Intra and intercrosses of European and Japanese strains of *Agrocybe cylindracea*. Pp. 21–28.

Matsumoto, T., Fukumasa-Nakai, Y. and Komatsu, M.: Efficient dikaryotization of higher basidiomycetes by the protoplast regeneration method. Pp. 29–33.

Gill, W.M.: Bacterial diseases of *Agaricus* mushroom. Pp. 34–55.

No.34 (Dec. 1996)

Matsumoto, T.: Studies on the genetical control of mitochondrial DNA polymorphisms in Hiratake, *Pleurotus ostreatus*. Pp. 1–97. In Japanese with English abstract.

No.35 (Dec. 1997)

Guzmán, G., Salmones, D. and Tapia, F.: *Lentinula boryana*: morphological, variations, taxonomic position, distribution and relationships with *Lentinula edodes* and related species. Pp. 1–28.

Maekawa, N.: Taxonomic study of Japanese Corticiaceae (Aphylophorales) III. Pp. 29–38.

Nagasawa, E.: A preliminary checklist of the Japanese Agaricales. I. The Boletineae. Pp. 39–78.

No.36 (Dec. 1998)

Maekawa, N.: Taxonomic study of Japanese Corticiaceae (Aphylophorales) IV. Pp. 1–12.

Hongo, T.: Three species of agarics newly recorded from Japan. Pp. 13–15. In Japanese with English abstract.

Kudo, S. and Nagasawa, E.: *Tricholoma cingulatum* new to Japan. Pp. 16–20. In Japanese with English abstract.

Hasebe, K., Ohira, I. and Arita, I.: Genetic relationship between high-, medium- and low- temperature-type fruiting of *Lentinula edodes* in wood log culture. Pp. 21–28. In Japanese with English abstract.

Murakami, S.: Cytology of sporeless mutants of *Agrocybe cylindracea*. Pp. 29–35. In Japanese with English abstract.

Nagasawa, E.: A preliminary checklist of the Japanese Agaricales. II. The suborder Russulineae. Pp. 36–71.

No.37 (Dec. 1999)

Nagasawa, E. and Hongo, T.: *Entoloma sarcopum* nom. nov. for *E. crassipes* and *Rhodophyllus crassipes*. Pp. 1–6.

Maekawa, N.: Taxonomic study of Japanese Corticiaceae (Aphylophorales) V. Pp. 7–20.

Fukumasa-Nakai, Y. and Matsumoto, T.: Fruiting body dwarf disease of Shiitake, *Lentinula edodes*, caused by a rickettsia-like organism. Pp. 21–35.

Fukuda, M. and Ono, Y.: Phylogenetic analysis of Shiitake based on restriction fragment length polymorphisms of three regions of nuclear ribosomal DNA, 18S, 26S and internal transcribed spacers: New information on Bornean wild strain. Pp. 36–49. In Japanese with English abstract.

Hasebe, K.: An indoor screening method for the high-temperature-type fruiting strains of *Lentinula edodes* in wood log cultivation. Pp. 50–56. In Japanese with English abstract.

Tsuboi, M. and Tokimoto, K.: Relation between respiratory activity and fruiting body production in *Lentinula edodes* bedlogs. Pp. 57–63. In Japanese with English abstract.

Murakami, S.: A supplemental genetic study on *Pleurotus salmoneostramineus* forming albino basidiocarps. Pp. 64–70. In Japanese with English abstract.

Matsumoto, T., Mimura, K. and Fukumasa-Nakai, Y.:

Distribution of incompatibility factors in the natural population of *Pholiota nameko*. Pp. 71–76. In Japanese with English abstract.

No.38 (Dec. 2000)

Kaneko, S.: Life cycle of *Coleosporium pini-pumilae* on *Pinus pumila*. Pp. 1–5.

Nagasawa, E., Shimono, Y. and Hongo, T.: The occurrence of *Hypholoma tuberosum* (Agaricales, Strophariaceae) in Japan. Pp. 6–13.

Maekawa, N.: Taxonomic study of Japanese Corticiaceae (Aphylophorales) VI. Pp. 14–22.

Fukuda, M., Fujishima, M. and Nakamura, K.: Genetic differences among the wild isolates of *Flammulina velutipes* collected from a fallen tree of *Broussonetia papyrifera*. Pp. 23–31.

Murakami, S. and Hasebe, K.: Mutations in the B incompatibility factor of *Lentinula edodes*. Pp. 32–37. In Japanese with English abstract.

Tsuboi, M., Tokimoto, K. and Arita, I.: BT-formulations: Insecticidal activity to *Morophagoides moriutii* and application to Shiitake cultivation. Pp. 38–45. In Japanese with English abstract.

Kudo, S.: Mushrooms of the Jomon Period. Pp. 46–57. In Japanese with English abstract.

No.39 (Jun. 2001)

Nagasawa, E.: Taxonomic studies of Japanese boletes I. The genera *Boletinellus*, *Gyrodon* and *Gyroporus*. Pp. 1–27.

Hongo, T.: Two species of agarics newly recorded from Japan. Pp. 28–31. In Japanese with English abstract.

No.40 (Jun. 2002)

Tsuneda, A., Koshitani, H. and Hiratsuka, Y.: Wood cell wall degradation of *Betula papyrifera* by *Lentinula edodes*. Pp. 1–10.

## No.41 (Jun. 2003)

- Tsuneda, A., Hambleton, S. and Currah, R.S.: Conidiogenesis and phylogenetic status of *Capnobotryella renispora*. Pp. 1–12.
- Maekawa, N., Suhara, H., Kinjo, K. and Kondo, R.: Taxonomic study of Japanese Corticiaceae (Aphylophorales) VIII. Pp. 13–19.
- Matsumoto, T., Terashima, K. and Hasebe, K.: Strain typing in cultivated strains of shiitake (*Lentinula edodes*) in Japan by AFLP analysis. Pp. 20–25.
- Kudo, S. and Nagasawa, E.: *Armillaria ectypa* rediscovered in Aomori Prefecture, northern Japan. Pp. 26–34. In Japanese with English abstract.

## No.42 (Jun. 2004)

- Tsuneda, A. and Currah, R.S.: *Knufia endospora*, a new dematiaceous hyphomycete from trembling aspen. Pp. 1–9.
- Nagasawa, E.: Taxonomic studies of Japanese boletes II. The genus *Boletinus*. Pp. 10–22.

## No.43 (Jun. 2005)

- Petersen, R. H. and Nagasawa, E.: The genus *Xerula* in temperate East Asia. Pp. 1–49.

## No.44 (Jun. 2006)

- Tsuneda, A. and Currah, R. S.: Toward a deeper understanding of the nature of pleomorphism in conidial fungi. Pp. 1–52.
- Murakami, S. and Iwami, K.: Cultural features and incompatibility factors of the Japanese isolates of *Lyphyllum decastes*. Pp. 53–59. In Japanese with English abstract.
- Kamohara, K., Murakami, S., Tokimoto, K. and Morinaga, N.: Mating system and basidiospore formation in *Panellus serotinus*. Pp. 60–65. In Japanese with English abstract.

## No.45 (Jun. 2007)

- Hughes, K.W., Petersen, R.H., Mata, J.L., Psurtseva, N.V., Kovalenko, A.E., Morozova, O.V., Lickey, E.B., Cifuentes-Blanco, J., Lewis, D.P., Nagasawa, E., Halling, R.E., Takehashi, S., Aime, M.C., Bau, T. and Henkel, T.: *Megacollybia* (Agaricales). Pp. 1–57.
- Tokimoto, K. and Koshitani, H.: Delignification and digestibility of wood accompanied with decay by Shiitake, *Lentinula edodes*. Pp. 58–65. In Japanese with English abstract.

## No.46 (Jun. 2016)

- Sakuno, E., Tabuchi, A., Terashima, K., Maeda, A. and Tokimoto, K.: Influence of growing and storage conditions of *Lentinula edodes* fruiting bodies on the contact of some functional components. Pp. 4–11. In Japanese with English abstract.
- Tokimoto, K., Tabuchi, A., Sakuno, E. and Koshitani, H.: Comparative analyses of anatomical, physical, and chemical properties of dried shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) cultivated on logs and sawdust media. Pp. 12–22. In Japanese with English abstract.
- Okuda, Y., Nagasawa, E., Tokiwa, T., Hase, K. and Murakami, S.: Cottony leak on cultivated *Auricularia nigricans* caused by *Hypomyces pseudocorticiicola*. Pp. 23–29. In Japanese with English abstract.
- Maeda, A., Funato, C., Kuroda, M., Terashima, K. and Hasebe, K.: Effects of wood-log characteristics (place of origin, tree species and log diameter) and inoculation methods (spawn types and depth of inoculation hole) upon fruiting body yields in wood-log cultivation of Kinko 115, a cultivar of *Lentinula edodes*. Pp. 30–38. In Japanese with English abstract.
- Nagasawa, E. and Sato, S.: *Suillus glandulosus*, a bolete species new to Japan. Pp. 39–42.

No.47 (Aug. 2017)

- Nagasawa, E. and Nakanishi, T.: The occurrence of *Plectania melastoma* (Pezizales, Sarcosomataceae) in Japan. Pp. 1-6.
- Tokimoto, K., Tabuchi, A., Sakuno, E., Ishikawa, K.N., Suzuki, Y. and Nakashita, R.: Highprecision method for determining geographic origin of dried shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) by analyzing stable carbon and nitrogen isotopes and the contents of elements. Pp. 7-15. In Japanese with English abstract.
- Nabe, M. and Nagasawa, E.: The occurrence and distribution of *Buchwaldoboletus sphaerocephalus* in Japan. Pp. 16-23. In Japanese with English abstract.

No.48 (Sep. 2018)

- Ushijima, S. and Maekawa, N.: First record of the corticioid fungus *Dendrothele arachispora* (Agaricomycetes) in Japan. Pp. 1-4.
- Tabuchi, A. and Sakuno, E.: Influence of long-term freezing and thawing conditions on the taste and content of chemical ingredients in log-cultivated fruiting bodies of shiitake, *Lentinula edodes*. Pp. 5-13. In Japanese with English abstract.
- Terashima, K., Sasaki, A., Kuroda, M. and Hasebe, K.: Variation in the yields of fruiting bodies produced in the log cultivation of Kinko 115, a premium cultivar of *Lentinula edodes*. Pp. 14-21. In Japanese with English abstract.

#### Papers with TMI contribution numbers

No. 411

##### **A new species of the genus *Tubulicium* collected from living *Pieris japonica***

Shuji Ushijima, Nitaro Maekawa, and Kozue Sotome  
*Mycoscience* **60**: 137–140. 2019.

*Tubulicium curvisporum* sp. nov. frequently grows on the Japanese andromeda *Pieris japonica* on Honshu Island, Japan. Molecular phylogenetic analysis revealed that this species belongs to the genus *Tubulicium*, of the family Hydnodontaceae (Trechisporales). The present species is morphologically distinguishable from the other *Tubulicium* species, because of its strongly curved, sickle-shaped basidiospores, measuring 16.5–25.5 × 4.5–7 μm. In this study, the morphological descriptions, illustrations, and cultural characteristics of *T. curvisporum* are provided, as well as a key to the species of this genus.

**Key words:** basidiomycota, corticioid fungi, morphology, phylogenetic information.

---

Contribution No. 411 of the Tottori Mycological Institute.  
菌蕈研究所研究業績第 411 号.

#### Papers without TMI contribution numbers

##### **Isolation of 6-hydroxy-L-tryptophan from the fruiting body of *Lyophyllum decastes* for use as a tyrosinase inhibitor**

Atsushi Ishihara, Naomi Sugai, Tomohiro Bito, Naoki Ube, Kotomi Ueno, Yasuhito Okuda and Emi Fukushima-Sakuno  
*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. **83** (10): 1800–1806. 2018.

Tyrosinase is the key enzyme that controls melanin formation. We found that a hot water extract of the lyophilized fruiting body of the fungus *Lyophyllum decastes* inhibited tyrosinase from *Agaricus bisporus*. The extract was fractionated by ODS column chromatography, and an active compound was obtained by purification through successive preparative HPLC using an ODS and a HILIC column. Using spectroscopic data, the compound was identified to be an uncommon amino acid, 6-hydroxytryptophan. 6-Hydroxy-L-tryptophan and 6-hydroxy-D-tryptophan were prepared through a Fenton reaction from L-tryptophan and D-tryptophan, respectively. The active compound was determined to be 6-hydroxy-L-tryptophan by comparison of their circular dichroism spectra and retention time on HPLC analysis of the *N*<sup>α</sup>-(5-fluoro-2,4-dinitrophenyl)-L-leuciamide derivative with those of 6-hydroxy-L-tryptophan and 6-hydroxy-D-tryptophan. A Lineweaver–Burk plot of the enzyme reaction in the presence of 6-hydroxy-L-tryptophan indicated that this compound was a competitive inhibitor. The IC<sub>50</sub> values of 6-hydroxy-L-tryptophan was 0.23 mM.

**Key Words:** mushroom, tyrosinase, inhibitor, *Lyophyllum decastes*, 6-hydroxy-L-tryptophan.

---

##### **Antifungal activity of the volatile compound isovelleral produced by ectomycorrhizal *Russula* fungi against plant-pathogenic fungi**

Kumiko Osaki-Oka, Sayaka Suyama, Emi Sakuno, Shuji Ushijima, Eiji Nagasawa, Nitaro Maekawa, and Atsushi Ishihara  
*Journal of General Plant Pathology*. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10327-019-00872-8>

Fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi were collected from different areas of Tottori Prefecture,

Japan, during 2011–2015, and 18 species were identified by morphological characteristics and molecular analysis. Volatile compounds were extracted with acetone from fruiting bodies, and after concentration, the aqueous residue was extracted with *n*-hexane. The antifungal activities of the volatile extracts were assayed by inhibition of conidial germination of a phytopathogenic fungus, *Alternaria brassicicola*; the volatiles from *Russula* aff. *anthracina*, *R. chloroides* and *R. senecis* completely inhibited conidial at 1 ppm (w/v), the maximum concentration diffused as vapor. In addition, volatile compounds from *R. aff. anthracina* had remarkable antifungal activity against seven phytopathogenic fungi when tested at vapor concentrations of 0.2 ppm (w/v). The conidia of *A. brassicicola* did not germinate

even after the removal of the volatile compounds, indicating that the active compound had fungicidal activity. The volatile compounds were isolated from the extracts of *R. aff. anthracina*, and isovelleral was identified as the major antifungal compound. Isovelleral was also detected in the extracts of *R. chloroides* and *R. senecis* and had significant antifungal activity against conidial germination of *A. brassicicola* at a vapor concentration as low as 0.05 ppm (w/v). This is the first report that isovelleral, the volatile compound produced by *Russula* spp., has antifungal activity against phytopathogenic fungi.

**Key words:** antifungal activity, isovelleral, *Alternaria brassicicola*, *Russula* spp., volatile compound.