

Reports of The Tottori Mycological Institute

No. 46 (2016)

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

菌茸研究所研究報告 第46号
一般財団法人 日本きのこセンター
菌茸研究所 発行

REPORTS OF THE TOTTORI MYCOLOGICAL INSTITUTE No. 46 2016

(菌茸研究所研究報告 第四十六号)

THE JAPAN KINOKO RESEARCH CENTRE FOUNDATION

President

Takayoshi TSUNEDA

Managing Directors

Yukitaka FUKUMASA, D. Agr.; Masafumi ISHITANI

THE TOTTORI MYCOLOGICAL INSTITUTE ORGANIZATION & STAFF

Director

Kozaburo HASEBE, D. Agr.

Research Advisor

Keisuke KOHMOTO, D. Agr.

Emeritus Research Scientists

Mitsuo KOMATSU, D. Agr.; Keisuke TOKIMOTO, D. Agr.

ADMINISTRATION DIVISION

Masafumi ISHITANI; Junko NAKANISHI (Secretary); Moe WATANABE (Coordinator)

RESEARCH DIVISION

Koichi HASE (Research Assistant); Masao ISOBE (Technician); Makoto KURODA (Supervisory Technician); Shigeyuki MURAKAMI, D. Sc. (Research Fellow); Eiji NAGASAWA (Research Fellow, Curator of the herbarium); Yasuhito OKUDA, Ph. D. (Supervisory Research Scientist); Emi SAKUNO, Ph. D. (Associate Director for Research); Akimasa SASAKI, Ph. D. (Supervisory Research Scientist); Akiko TABUCHI (Research Scientist); Kazuhisa TERASHIMA, Ph. D. (Associate Director for Research); Shuji USHIJIMA, Ph. D. (Supervisory Research Scientist)

REPORTS OF THE TOTTORI MYCOLOGICAL INSTITUTE

Editorial Board

Eiji NAGASAWA (Editor-in-Chief), Yukitaka FUKUMASA, Shigeyuki MURAKAMI, Yasuhito OKUDA, Emi SAKUNO, Kazuhisa TERASHIMA, Keisuke TOKIMOTO, Akimasa SASAKI (Secretary), Akiko TABUCHI (Secretary),

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 June 2016

一般財団法人日本きのこセンター

理事長 常田亨詳

常務理事 農博 福政幸隆

常務理事 石谷雅文

菌蕈研究所の機構および職員

所長 農博 長谷部公三郎

研究顧問 農博 甲元啓介

名誉研究員 農博 小松光雄, 農博 時本景亮

事務・管理部門

石谷雅文, 中西純子 (事務員), 渡辺萌生 (調整員)

研究部門

長谷幸一 (研究補助員), 磯部正雄 (技師), 黒田 誠 (主任技師), 理博 村上重幸 (特別研究員), 長沢栄史 (特別研究員, 標本管理者), 博士(農学) 奥田康仁 (主任研究員), 博士(農学) 作野えみ (上席主任研究員), 博士(農学) 佐々木明正 (主任研究員), 田淵諒子 (研究員), 博士(農学) 寺島和寿 (上席主任研究員), 博士(農学) 牛島秀爾 (主任研究員)

研究報告編集委員会

長沢栄史 (長), 時本景亮, 村上重幸, 寺島和寿, 作野えみ
奥田康仁, 福政幸隆, 田淵諒子 (幹事), 佐々木明正 (幹事)

菌 蕈 研 究 所 研 究 報 告 第 46 号

平成 28 年 6 月 20 日 印刷
平成 28 年 6 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 46, June 2016

Contents

	page
Obituary	
KANEKO, S.: In memory of Dr. Yasuyuki Hiratsuka, 1933-2013 (in Japanese)	1
Original papers	
SAKUNO, E., TABUCHI, A., TERASHIMA, K., MAEDA, A. and TOKIMOTO, K.: Influence of growing and storage conditions of <i>Lentinula edodes</i> fruiting bodies on the content of some functional components (in Japanese)	4
TOKIMOTO, K., TABUCHI, A., SAKUNO, E. and KOSHITANI, H: Comparative analyses of anatomical, physical, and chemical properties of dried shiitake mushrooms (<i>Lentinula edodes</i>) cultivated on logs and sawdust media (in Japanese)	12
OKUDA, Y., NAGASAWA, E., TOKIWA, T., HASE, K. and MURAKAMI, S.: Cottony leak on cultivated <i>Auricularia nigricans</i> caused by <i>Hypomyces pseudocorticicola</i> (in Japanese)	23
Notes	
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 Kinko115, a cultivar of <i>Lentinula edodes</i> (in Japanese)	30
NAGASAWA, E. and SATO, S. : <i>Suillus glandulosus</i> , a bolete species new to Japan	39
Abstracts of papers published in other scientific journals during 2007-2015	S1

菌 蕈 研 究 所 研 究 報 告

第 46 号（平成 28 年 6 月）

目 次

追 悼 文

金子 繁：元菌蕈研究所所長平塚保之博士を偲んで	1
-------------------------------	---

原 著 論 文

作野えみ・田淵諒子・寺島和寿・前田亜紗・時本景亮：シイタケ子実体の生育および保存条件の違いが機能性成分含量に及ぼす影響	4
時本景亮・田淵諒子・作野えみ・越谷博：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	12
奥田康仁・長澤栄史・常盤俊之・長谷幸一・村上重幸： <i>Hypomyces pseudocorticicola</i> によるアラゲキクラゲ綿腐病（新称）について.....	23

ノ ー ト

前田亜紗・船戸知聖・寺島和寿・長谷部公三郎：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	30
長澤栄史・佐藤清吉：日本新産種アカチャヌメリイグチ（新称）について（英文）	39

外部学術雑誌掲載論文摘要再録	S1
----------------------	----

元菌茸研究所所長平塚保之博士を偲んで

元(独)森林総合研究所 金子 繁

菌茸研究所で1994年11月～2004年10月まで所長をされていた平塚保之博士が、2013年10月13日に、カナダエドモントンの自宅で79才で亡くなくなられました。同年の7月には鳥取の会議でお会いしていたので、突然の悲しい知らせに啞然としました。日本で航空会社の乗務員をしているお孫さんが、偶然最後をみとられたことを日本での偲ぶ会で知り、神様の思し召しではないかと驚きました。所長就任前には、1987～1994年の間非常勤の副所長を、所長退任後は亡くなられるまで研究顧問をされていたので、長年にわたり菌茸研究所と係わっておられたことになります。

平塚さんは、カナダエドモントンにあるカナダ天然資源省林業庁北方森林研究所で、長く樹病、菌学の研究に取り組んでこられ、退職後も名誉研究員として活躍されていたので、鳥取とカナダの行き来に御多忙の時期もありました。同じエドモントンにあるアルバータ大学の教授としても、多くの博士課程の学生指導をされてきました。平塚さんは、父の平塚直秀先生が鳥取高等農林の教授をされていた関係で、1933年に鳥取で生まれ、平塚直秀先生が1946年に東京農業教育専門学校（後の東京教育大学農学部）教授として赴任されたため、中学生時代に東京へ移られました。その後都立豊玉高校時代には、バレー部の選手として活躍されたことをよく話されていました。

大学は、東京の国際基督教大学に学び、篠遠喜人先生のもとで、黒穂病菌やさび病菌の研究をされたとお聞きました。大学時代には洗礼も受け、将来の伴侶となる治子さんとの出会いもありました。その後北海道大学農学部の修士課程を終え、米国パデュー大学博士課程で、G. B. Cummins教授のもとでさび病菌の系統分類の研究でPh. D.を得られました。その学位論文を基に1963年に発表した論文は、それまでさび病菌類の分類の標徴としては見過ごされていた、精子器の形態を重視して同菌群の系統分類を論じており、その後



ベトナム森林科学研究所（ハノイ）で
(2011年)

のさび病菌類の系統分類上非常に重要な役割を果たしたのではないかと思います。それは同菌類の科（Family）の段階での分類に発展し、その新しい考え方は後に続く多くの研究者に強い影響を与えました。遺伝子解析が盛んになった現在でもその基本に変化はありません。

その後、カナダでの研究を1963年にスタートし、最初にプリティッシュコロンビアにある林業庁太平洋森林研究所勤務の後、カルガリーの研究所を経て、1965年にエドモントンの北方森林研究所研究員になりました。退職後も名誉研究員として在籍されたので、50年近く同研究所で研究を続けてこられたことになります。その間にはカナダ国籍もとられました。

カナダでは、北部の林業地帯で最も重要な病害である様々な針葉樹のさび病についての研究をスタートしました。それらの中でも特に力を入れたのが、中間宿主なしに、マツからマツへ伝染

するマツ類の幹さび病についての研究でした。一般的なマツ幹さび病のさび胞子と同様の形態であるにもかかわらず、核行動から見ると有性世代の冬胞子的な発芽をする胞子を持ち、マツからマツに感染する菌が存在することを明らかにし、新属 *Endocronartium* を設立されました。その調査過程では、ヨーロッパ各地、日本を含むアジア地域の多くの樹病研究者と交流を持ち、ヨーロッパにも同様の生活史を持つ菌が分布することを証明し、新種として記載されました。また、マツのさび病防除を目的とした、樹病、育種、遺伝学、昆虫研究者などとの共同研究で多くの成果をあげられました。さび病患部に生息する昆虫を使った拮抗菌の分散試験など、アイデアに飛んだ研究も実施されました。さらに、マツ幹さび病と関係した様々な糸状菌類についての詳細な研究でも、菌蕈研究所からエドモントンに移った常田昭彦さんらとの共同研究で成果をあげられました。

カナダの森林病害全体についても、アルバータ大学の学生達や、各国からの共同研究者達とともに、広い角度から取り組んでおられました。それらは、ならたけ病菌、青変菌類、木材腐朽菌類など、カナダの森林で生態的に重要な役割を持っている病原菌類であり、日本からプロジェクトに参加した若い研究者達もかなりいました。

研究面での国際的業績とともに、平塚さんの思い出として誰もが最初に口にするのが、その暖かさやユーモアにあふれた人柄であったと思います。私が平塚さんに初めてお会いしたのは、東教大に勤務していた1973年でしたが、運良く岩手県へのマツこぶ病調査に同行させていただくことができました。その時も、頼もしい兄貴のような雰囲気ですぐに接して下さったのを今も思い出します。

また、様々な形で短期間、あるいは数年にわたり、個人あるいは家族共々カナダに滞在して平塚さんのお世話になり、国際経験を積んできた日本の菌学や林学、植物病理分野の研究者も多数おられます。若い時にカナダに滞在し、研究、私生活両面でお世話になり、色々な面で強い影響を受けた人々も少なくないと思います。

1977年に第2回国際菌学会が米国のタンパで開催されました。その時私は菌蕈研に移動していましたが、研究所からも平塚直秀先生、牛山六男

部長始め、数名の研究員が出席しました。その帰りには、菌蕈研からの研究員や幾人かの日本菌学会員の方々とともに、エドモントンの森林研究所を訪れることができました。平塚さんの自宅で、バーベキューを楽しみながら、“マツタケが天から降ってくる”など、カナダの森林の話をお聞きし、仕事場であるロッキーを案内していただいた感激は、今も忘れません。平塚さんはよく“ロッキーのツアーガイドをやってるからね”と笑っておられました。本当にたくさんの方々が、カナダの大自然に感嘆し、ユーモアあふれる話を聞き、忘れがたい思い出を作っていたことと思います。

1989年に、平塚さんがオーガナイザーとなって、世界林業機関連合（ユフロ）マツさび病部会の大会がカナディアンロッキーのバンフで開催されました。研究の先端に行く、北米、ヨーロッパの研究者とともに、日本を含む中国、韓国、インドなどのアジア諸国からも多数の研究者が参加し、印象深い会議となりました。エクスカージョンでは、ツアーガイド「Yasu」の案内でロッキーの森林病害を見て回り、参加者は名ガイドのホスピタリティーをそれぞれ楽しんでいました。

平塚さんは早くに日本を離れ、国際的な活躍をされてきた研究者ですが、エドモントンの日本人仲間の方々とともに深いつながりをもって生活されていることを話されていました。また、日本の学会、研究者、特に若い研究者への温かい目が常に感じられました。京都での第17回ユフロ世界大会（1981）、東京での第3回国際菌学会（1983）の際にも、学会そのものや、多くの研究者個人の方々が世話になりました。中国や韓国の若い研究者のことも、非常に気にかけておられた科学者でした。

平塚さんをささえ、私たちも非常にお世話になってきたのが治子夫人でしたが、2000年に先に他界されました。広島出身の奥様は被爆の影響もあったようですが、冗談を言い合いながらも平塚さんの生き方かなりの影響を与えられたのではないかと感じる事が多々ありました。おふたりの間には2人の子息（幸治、穰治さん）と長女（加奈子さん）がおられ、子供の頃には鳥取にも来られていましたが、最近はお孫さんも元気に活躍されている様子を、楽しそうに話されてい

ました。

平塚さんの研究を支えたのが、優秀なテクニシャンや博士課程の学生達だったと思いますが、全く対等な人間関係で一緒に仕事を進めている様子が、平塚さんの話から伺えました。特に、長く一緒に仕事をされてきた、テクニシャンのポールマルヤマさんのことは、色々な機会に平塚さんの話に出てきましたが、おふたりの間には強い信頼関係があることをいつも感じていました。

ベトナム中部高原に *Pinus krempfii* と言う、針葉が1本ずつ独立しているマツの希少種が生息しています。私が森林総研を退職後、JICA のプロジェクトでベトナムに滞在していた2006年に、平塚さんがそのマツを是非見てみたいと来越されました。マツの生息地は、かなり山奥まで歩かなければならない天然林でしたが、元気に歩いて念願を果たされました。“僕は食いしん坊だから”と、ベトナムの食べ物も気に入っておられました。亡くなる2年前の2011年には、再び一緒にベトナムをに行く機会がありました。その少し前に軽い脳梗塞を患われたとのことでしたが、ベトナムの若い人々との交流も楽しんでおられました。

菌茸研究所所長時代には、いつも研究員の方々の将来を考えながら、現在の姿のような鳥取大学との連携協力も含めて、研究所としての体制作りにも尽力されていた姿を思い出します。

さび病菌への情熱はいつまでもお持ちになっていました。さび病菌の全属について解説した名著“*Illustrated genera of rust fungi*”の第2版と3版を、恩師の Cummins 博士と共に米国植物病理学会から出していますが、その改訂版のための仕事をなさっていると聞きしていました。また、平塚さんが設立された *Endocronartium* 属の場合と同様に、外見はさび胞子と区別はできないが、核行動からは有性世代の冬胞子と見なされる胞子をもつ *Endoraecium* 属がマメ科樹木に寄生しています。2010年にはそれらを含めた近縁属菌類についての論文が国際誌に受理されていましたが、御自分でさら再考察を加える作業を継続しておられました。そのために、私どもと共著で発表したベトナムのさび病菌についての短い論文(2007)が、長い研究生活最後の論文となりました。

平塚夫妻の御遺骨は、国際基督教大学の墓地に

眠っているとお聞きしています。またおふたりで楽しい会話をなさっているに違いありません。保之さん、長い間本当にお世話になりました。

平塚保之博士の主要な著述

• 学術誌掲載論文 (サビキン関係)

Hiratsuka, Y. Cummins, G.B. 1963 Morphology of the spermogonia of the rust fungi. *Mycologia* **55**:487-507.

Hiratsuka, Y. 1969 *Endocronartium*, a new genus for autoecious pine stem rusts. *Can. J. Bot.* **47**: 1493-1495.

Hiratsuka, Y. 1988 Ontogeny and morphology of teliospores (probasidia) in Uredinales and their significance in taxonomy and phylogeny. *Mycotaxon* **31**: 517-531. 他, 約 75 篇

• 学術誌掲載論文 (その他菌類及び樹病関係)

Tsunedo, A. Hiratsuka, Y. 1981 *Scopinella gallicola*, a new species from rust galls of *Endocronartium harknessii* on *Pinus contorta*. *Can. J. Bot.* **59**: 1192-1195.

Klein-Gebbinck, H.W. Blenis, P.V. Hiratsuka, Y. 1991 Clones of *Armillaria ostoyae* and the pattern of infected juvenile lodgepole pine in Alberta, Canada. *Eur. J. For. Path.* **21**: 260-266.

Yamoka, Y. Hiratsuka, Y. Maruyama, P.J. 1995 The ability of *Ophiostoma clavigerum* to kill mature lodgepole pine trees. *Eur. J. For. Path.* **25**: 401-404. 他, 約 70 篇

• 単行本

Cummins, G.B. Hiratsuka, Y. 2003 *Illustrated genera of rust fungi*. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 3rd edition. 223 p.

Hiratsuka, Y. Langor, D.W. Crane, P.E. 2004 Field guide to forest insects and diseases of the prairie provinces. (2nd ed.). Canadian Forest Service, NFC, Edmonton, Al. Special Report **3**. 297 p. 他, 9 篇

その他手引き書など 約 20 篇

シイタケ子実体の生育および保存条件の違いが 機能性成分含量に及ぼす影響*

作野 えみ・田淵 諒子・寺島 和寿・前田 亜紗・時本 景亮

Influence of growing and storage conditions of *Lentinula edodes* fruiting bodies on the content of some functional components*

Emi SAKUNO, Akiko TABUCHI, Kazuhisa TERASHIMA, Asa MAEDA, and Keisuke TOKIMOTO*

Abstract

Ergothioneine, guanosine monophosphate (GMP), and eritadenine are important components of shiitake (*Lentinula edodes*) in terms of the taste or health benefits. The influence of humidity and temperature on the content of the three compounds was investigated. Fruiting was induced by soaking the bed logs (*Quercus serrata*) in water for approximately 16 hours. The content of those compounds in fruiting bodies were more abundant in the third flush than in the second flush. The ergothioneine content of fruiting bodies showed no significant variation with changes in the temperature and humidity, but decreased with increasing duration of the preservation period at 5°C was observed. High humidity conditions resulted in a much higher GMP content than low humidity conditions. However, the GMP content decreased with increasing duration of the storage period at 5°C and with increasing storage temperature. Under the temperature range from 10°C to 30°C, higher temperature generally led to greater eritadenine content. Particularly at 30°C, although fruiting bodies barely developed, they produced more eritadenine, significantly higher than those of any other temperature.

Key words: ergothioneine, eritadenine, guanosine monophosphate (GMP), shiitake.

緒 言

シイタケは、日本をはじめアジアの国々を中心に食用として広く利用されているきのこである。

近年日本では、高齢化が進み健康食材への関心が非常に高くなってきており、シイタケもその健康機能性を期待して消費されることが少なくない。長年の研究によって、シイタケから健康機能性が

*菌蕈研究所研究業績，第 398 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. 398 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

期待される様々な成分が見つかり報告されてきている。例えば、血清コレステロールレベルを下げると言われるエリタデニン（金田ら、1964；樋口ら、1978）、抗酸化性成分であるエルゴチオネイン（Hartman et al., 1990; Akanmu et al., 1991; Aruoma et al., 1999）がある。これに旨味成分であるグアニル酸を加えた3つの成分はシイタケにおいて非常に重要な成分である。エリタデニンについては過去に含量の多いシイタケ品種の開発なども行われている（豊増・杉山、2003）。このような成分に注目した育種を行う際、それぞれの成分含量を分析し比較検討しなければならない。しかし、これらの成分含量はシイタケの生育環境条件や保存条件によって大きく変化することが考えられる。そこで本研究では、エルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニンに着目し、シイタケ原木栽培における生育条件および収穫後の保存条件が成分含量に与える影響を調査した。

材料と方法

1. 供試菌株と発生処理

本研究には浸水栽培用品種である菌興 702 号を用いた。2013 年 4 月 2 日にコナラ原木にオガ菌を加工した成型種菌を植えつけ、同年 9 月 26 日に 1 回目の浸水・発生処理、10 月 4 日に子実体収穫を終えたほだ木を実験に用いた。翌年の 2014 年 6 月に 2 回目となる浸水・発生処理を行い、ほだ木を 22.5℃、湿度 59～63%の栽培施設内に置いた。ほだ木表面に幼子実体が確認できた段階で発生数の多いものを実験用を選抜し、番号をつけ各試験に使用した。全ての子実体を収穫した後、人工庇陰によって直射日光を避けた温かな環境下でほだ木を休養させ同年 10 月に 3 回目となる浸水・発生処理を行った。2 回目と同様にほだ木を 22.5℃、湿度 59～63%の栽培施設内に置き、ほだ木表面に幼子実体が確認できた段階で各試験に使用した。

2. 発生回数の検討

6 月の 2 回目発生試験において、浸水処理後 7～9 日後に 7～8 分程度に開傘した子実体が 2 個以上あるほだ木 18 本を選抜し No. 1～18 の番号

を付け、それぞれのほだ木から 7～8 分程度に開傘した成熟子実体を 2 個ずつ採取した。これらはすぐに 50℃で 24 時間送風乾燥させた。この番号をつけた 18 本のほだ木について、10 月に 3 回目となる浸水・発生処理を行い同様に子実体を生育させ、採取後すぐに 50℃で 24 時間送風乾燥させた。

3. 生育湿度の検討

6 月の 2 回目発生試験において、浸水処理から 4 日後、2 個以上の幼子実体が確認できたほだ木 5 本を選抜し、それぞれのほだ木を最低 1 個の幼子実体が各断片に含まれるように 2 つに切り分けた。一方のグループは、高湿度条件で子実体を生育させるために、ほだ木に水をかけた後 1 本ずつナイロン袋をかぶせた（湿度 99%）。もう一方のグループは低湿度グループとしてそのままの状態の子実体を生育させた（湿度 59～63%）。いずれのグループも 22.5℃の栽培施設内に置いた。浸水処理から約 1 週間後に両グループとも 7～8 分程度に開傘した成熟子実体を採取し、50℃の乾燥機で 24 時間送風乾燥させた。

4. 生育温度の検討

浸水処理から 4 日後、3 個以上の幼子実体が確認できたほだ木 5 本を選抜し、それぞれのほだ木を最低 1 個の幼子実体が各断片に含まれるように 3 つに切り分けた（3 温度区）。切断したほだ木を 1 本ずつナイロン袋に入れ、袋の口は通気できるように綿栓を挟んで輪ゴムで固定した。6 月の発

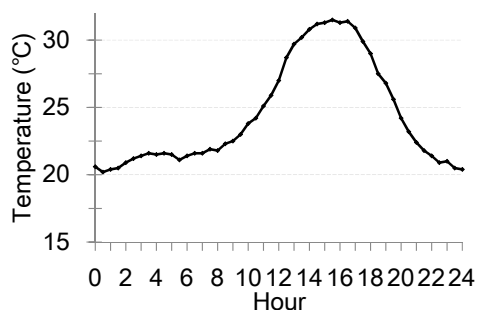


Fig. 1. A temperature change for 24 hours on variable temperature condition.

生試験では、5本ずつ10、20、30℃のインキュベーターに入れ明所で子実体を生育させた。10月の発生試験では同様に5本ずつ20、25℃のインキュベーターとFig. 1に示す20-30℃の変温条件を設定したインキュベーターに入れ、いずれも明所で子実体を生育させた。7～8分程度に開傘した成熟子実体を採取し、50℃の乾燥機で24時間乾燥させた。ただし、6月に試験を行った30℃一定温度区では子実体が開傘しなかったため、他の温度区で最も採取時期の遅かったサンプルと同時に採取した。

5. 保存条件の検討

保存条件の検討は、6月に発生させた子実体を用いて行った。7～8分程度に開傘した成熟子実体が11個以上あるホダ木5本を選抜し、それぞれのほだ木から11個の成熟子実体を採取した。これら子実体を以下の11種類の条件で保存および乾燥させた：①すぐに凍結乾燥 ②すぐに50℃温風乾燥 ③5℃で1日間保存 ④5℃で3日間保存 ⑤5℃で5日間保存 ⑥5℃で7日間保存 ⑦10℃で1日間保存 ⑧15℃で1日間保存 ⑨20℃で1日間保存 ⑩25℃で1日間保存 ⑪30℃で1日間保存。乾燥を防ぐためにポリエチレン製の透明袋に子実体を入れ、各温度に設定したインキュベーター内で暗所保存した。③～⑪の1日以上保存した子実体はその後すぐに50℃で24時間送風乾燥させた。

6. エルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニンの定量分析

乾燥子実体の柄を除いた傘部分をミルサーで粉碎し、粉末0.5gを50mlのサンプル瓶に量り取った。これに蒸留水10mlを加え70℃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10mlを加え良く振り混ぜ、さらに10分間氷上に置いた。これをNo. 2のろ紙で自然ろ過し、ろ液から10ml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2mlを加え十分に溶解または懸濁させた。ついで2mlのプラスチックチューブに移し13,000 rpm, 20℃, 10分間遠心分離し、上清1.2mlを新しい2mlプラスチックチューブに移した。500 µlのn-ヘキ

サンを用いて3回脱脂した後、水相を0.45 µmのフィルターでろ過し、ろ液2 µlを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により分析した。HPLC分析は日立LaChrom D-2000 Elite HPLCシステム(L-2455型DAD検出器、L-2300形カラムオープン、L-2200形オートサンブラ、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 (Shodex, 7.6 mm I. D. × 300 mm L.)、溶離液；0.1 M NaH₂PO₄、カラム温度；室温、流速；0.4 ml/min、検出波長；254 nm。

結果と考察

1. 発生回数と成分含量

6月に収穫した2回目の発生となる子実体と10月に収穫した3回目の発生となる子実体について、エルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニン含量を測定し比較した(Fig. 2)。エルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニン全ての成分において、2回目発生サンプルよりも3回目発生サンプルの方が有意に高含量であった。これら、3つの成分はいずれも含窒素化合物である。シイタケの原木栽培において通常の林内での自然栽培では5年間でコナラほだ木の窒素、リン、カリウムの主要3元素の消費率は60%前後である。また、

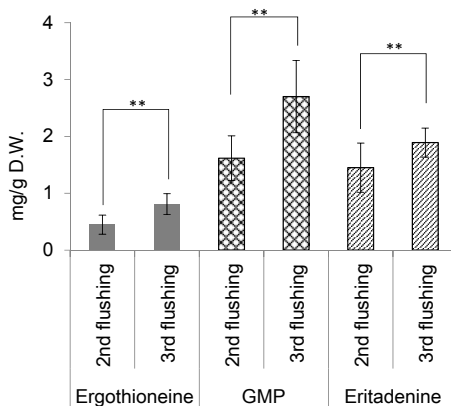


Fig. 2. The amount of ergothioneine, GMP, and eritadenine in the fruiting bodies obtained from 2nd or 3rd flush. The asterisk ** indicates the statistically difference at the 1% level.

元素ごとに原木 1 本あたりの含有量と子実体 1 g あたりの含有量を比較すると、元素の中では窒素、リン、カリウムの 3 元素がほだ木で不足しやすく、子実体の収量を制限する要因である可能性が高いことが分かる（時本，2010）。発生回数が増えるほどほだ木の窒素含量が減ると考えられるが、予想に反して含窒素化合物である 3 成分の子実体含量は 2 回目発生サンプルよりも 3 回目発生サンプルの方が多いう結果となった。同一ほだ木ごとに 2 個の子実体のエルゴチオネインまたはグアニル酸含量の平均値を比較しても、18 本全てのほだ木について 2 回目発生サンプルよりも 3 回目発生サンプルの方が含量が多かった（データ未公表）。ほだ化が進むことにより、ほだ木中の窒素を効率よく利用できるようなことになることも考えられるが、ほだ木休養期間の長さや環境が成分含量に影響したことも考えられる。この原因を解明するためには、より詳細な検討が必要であるが、いずれにしても同じほだ木由来の子実体であっても発生時期または発生回数の異なるものでは成分含量も大きく変化することが示唆された。

2. 生育湿度と成分含量

幼子実体からの生育速度は、高湿度条件（湿度 99%）の方が低湿度条件（湿度 59～63%）より

も半日程度早かった。それぞれの乾燥子実体について、エルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニン含量を測定した（Fig. 3）。エルゴチオネインは低湿度条件で生育した子実体より高湿度条件で生育した子実体の方が含量が多い傾向が見られたが、有意差は認められなかった（Fig. 3-A）。グアニル酸は低湿度条件で生育した子実体より高湿度条件で生育した子実体の方が有意に含量が多かった（Fig. 3-B）。エリタデニンについては生育湿度による含量の差は認められなかった（Fig. 3-C）。

3. 生育温度と成分含量

本研究に用いた菌興 702 号は、10、20、30℃では、20℃で最も子実体の生育が早く、浸水日から 7～8 日後に 8 分程度の開傘となった。10℃で 8 分程度の開傘になったのは浸水日から 10～14 日後であった。30℃一定条件では子実体は幼子実体の状態からほとんど生育せず、大部分が害菌に侵害された。浸水日から 11 日後に 30℃サンプルで害菌に侵されていないものを収穫し分析に用いた。20、25、20-30℃変温では、20℃と 25℃では生育速度にほとんど差はなかった。20-30℃変温条件では 20、25℃条件に比べると 1～2 日程度生育が遅かった。子実体は収穫後すぐに乾燥させ、エルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニン含

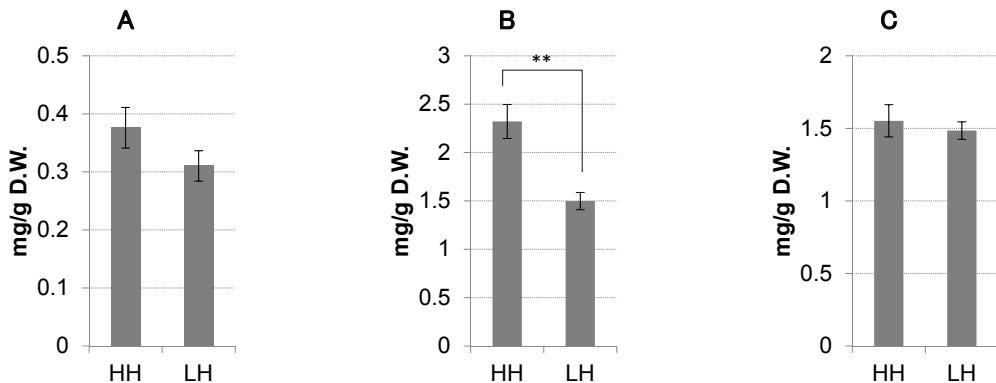


Fig. 3. The amount of 3 kinds of components in the fruiting bodies growing in the high humidity condition (HH) or low humidity condition (LH). A: Ergothioneine, B: GMP, C: Eritadenine. average $\pm$ standard error
The asterisk ** indicates the statistically difference at the 1% level.

量を測定した (Fig. 4). エルゴチオネインは同じ 20℃ 生育サンプルでも 6 月に試験を行ったもの (発生 2 回目) より, 10 月に試験を行ったもの (発生 3 回目) の方が平均値で約 5 倍含量が多かった (Fig. 4-A). これは前述の発生回数と成分含量の試験において発生 3 回目サンプルの方が発生 2 回目サンプルよりも成分含量が多かったという結果と一致する.

2 回目発生サンプルと 3 回目発生サンプルの間には有意差が認められたが, 3 回目発生試験での 20, 25, 20-30℃ 温度区それぞれから得られたサンプルの間には有意差は認められなかった. 2 回目発生試験では, 子実体がほとんど生育しなかった 30℃ 一定条件のサンプルではエルゴチオネインは検出されず, 10, 20, 30℃ と生育温度が高くなるほど含量が少なくなる傾向が見られたが, 10℃ と 20℃ サンプルの間に有意差は認められなかった. グアニル酸も子実体がほとんど生育しなかった 30℃ 一定条件のサンプルでは検出されなかった (Fig. 4-B). 3 回目発生試験での 20, 25, 20-30℃ 変温条件では, 20℃ サンプルの方が 25℃ サンプルよりも有意に含量が多かった.

エリタデニンについては, 30℃ 一定条件のサンプルで他のすべての温度区のものよりも有意に含量が多かった (Fig. 4-C). しかし, 30℃ 一定条件では子実体がほとんど生育しないため実用的では

ない. エリタデニンは生育温度が高い方が高含量になるという報告がある (豊増・杉山, 2003). 3 回目発生試験での 20, 25, 20-30℃ 変温温度条件では, 20-30℃ 変温条件で最も含量が多くなり, 20℃ サンプルとは有意差が認められた. この結果から本研究においても生育温度が高い方がエリタデニン含量が多くなる傾向は認められた. しかし, 同時に生育に最適な温度から外れると傘が小さくなり生育は遅くなった.

4. 保存日数と成分含量の関係

子実体を収穫後すぐに凍結乾燥したもの, 50℃ で 24 時間乾燥したもの, および 5℃ で 1~7 日間保存したのち 50℃ で 24 時間乾燥したものについて, それぞれのエルゴチオネイン, グアニル酸, およびエリタデニン含量を測定した (Fig. 5). エルゴチオネインについては, 収穫後すぐに乾燥させたものよりも 5℃ で 1 日置いたものの方が有意に含量が多く, 平均値で 2 倍近い値となった (Fig. 5-A). 保存中は 5℃ の冷蔵庫内であっても徐々に含量が減少し, 7 日後には 1 日後のサンプルの半分近くにまで減少した.

グアニル酸もエルゴチオネインと同様に保存日数にともない徐々に含量が減少する傾向が見られた (Fig. 5-B). 7 日保存サンプルのグアニル酸含量は 1 日保存サンプルの 6 割程度であった.

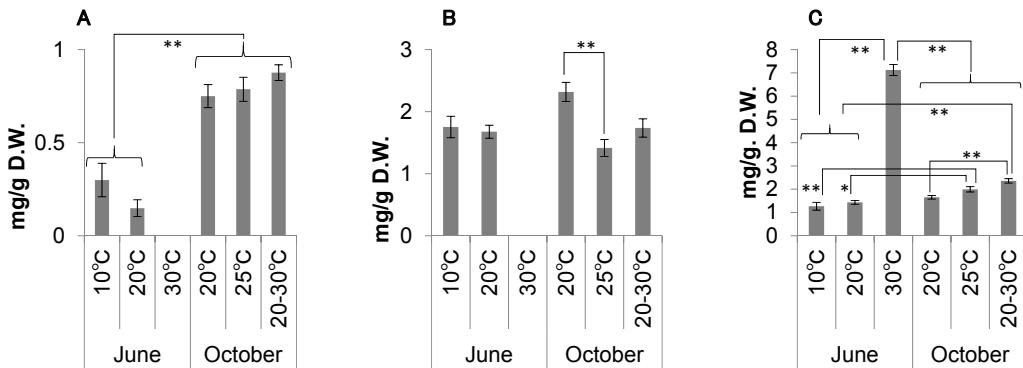


Fig. 4. The amount of 3 kinds of components in the fruiting bodies growing in the various temperature conditions. A: Ergothioneine, B: GMP, C: Eritadenine.

average $\pm$ standard error

The asterisks* and** indicate the statistically difference at the 5% and 1% level, respectively.

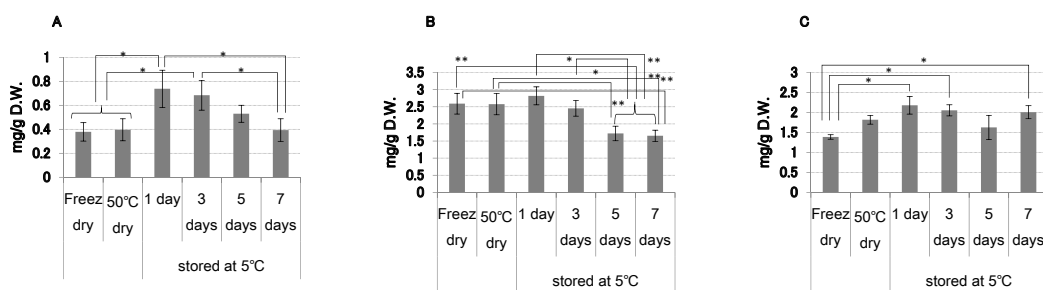


Fig. 5. The amount of 3 kinds of components in the fruiting bodies which varies in the storage days. A: Ergothioneine, B: GMP, C: Eritadenine. average $\pm$ standard error. The asterisks* and** indicate the statistically difference at the 5% and 1% level, respectively.

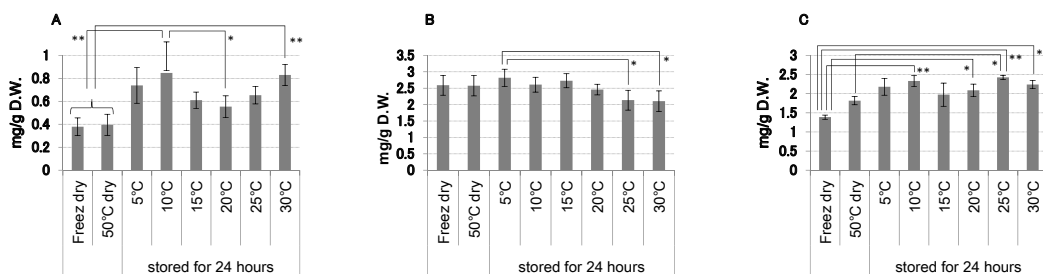


Fig. 6. The amount of 3 kinds of components in the fruiting bodies which varies in the storage temperature. A: Ergothioneine, B: GMP, C: Eritadenine. average $\pm$ standard error. The asterisks* and** indicate the statistically difference at the 5% and 1% level, respectively.

エリタデニンとは凍結乾燥させたサンプルに比べると 50°C 乾燥させたサンプルの方がやや含量が多い傾向が見られたが、有意差は認められなかった (Fig. 5-C)。一方、1 日保存サンプルの方が凍結乾燥サンプルよりも有意にエリタデニン含量が多かった。エルゴチオネインやグアニル酸のように保存日数に伴う顕著な含量の減少は確認できなかった。

エルゴチオネインは、アミノ酸であるヒスチジン、システイン、メチオニンから生合成される。エリタデニンはアデニンの誘導体であり、アデニンから生合成される。1 日保存している間にタンパク質や核酸が分解され、アミノ酸やヌクレオチ

ド類が増加することに伴いエルゴチオネインやエリタデニンが増加する可能性が考えられる。しかし、1 日保存することによりエルゴチオネイン、エリタデニン含量が増加する原因については今後詳細な検討が必要である。

5. 保存温度と成分含量の関係

シイタケを収穫後すぐに、凍結乾燥したもの、50°C で 24 時間乾燥したもの、5、10、15、20、25、30°C それぞれの温度で 24 時間保存したのち 50°C で 24 時間乾燥したもののエルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニン含量を Fig. 6 に示す。エルゴチオネインについては、上記の保存日数と

成分含量に関する試験結果と同様に、凍結乾燥したものの、収穫後すぐに50℃乾燥させたものより、10℃で1日置いたものの方が含量が多かった (Fig. 6-A)。一方、15、20、25℃で24時間保存したものでは、5、10℃で保存したものに比べ含量が少ない傾向が見られ、10℃保存サンプルと20℃保存サンプルの間には有意差が認められた。しかし、30℃で保存したものは、10℃で保存したものと同程度のエルゴチオネイン含量であったことから、保存温度とエルゴチオネイン含量の関係は複雑であると考えられる。他品種についても同様の試験を行う、保存時間を長くする、30℃以上の保存温度試験を行うなどさらなる検討が必要である。

グアニル酸については保存温度が25℃以上になると含量が少なくなる傾向が見られた (Fig. 6-B)。

エリタデニンについては、収穫後すぐに凍結乾燥させたサンプルに比べ5～30℃の各温度区で1日保存した後に50℃乾燥させたサンプルの方が含量が多い傾向 (10、20、25、30℃では有意差あり) が見られた。豊増と杉山 (2003) は未発表のデータとして、シイタケ子実体を収穫後に高温で保存することによってエリタデニン含量が顕著に増加すると報告している。本実験では5～30℃の範囲の保存温度で検討を行ったが、菌興702号について、この温度域では保存温度によるエリタデニン含量に有意な差は認められなかった。保存温度によるエリタデニン含量の変化については、今後他品種を用いた実験やより高温での保存を試みるなどの検討が必要である。

摘 要

シイタケに含まれる3つの水溶性成分であるエルゴチオネイン、グアニル酸、エリタデニンに着目し、浸水栽培用の品種である菌興702号を用いてシイタケ原木栽培における生育条件および収穫後の保存条件が成分含量に与える影響を調べた。同じほだ木から発生した子実体で発生2回目のものと3回目のものについて成分含量を比較したところ、3つの成分いずれも2回目発生のものより3回目発生のもの方が顕著に含量が多かった。

生育条件としては湿度と温度 (10～30℃) の検討を行った。エルゴチオネインについては生育湿度と温度の違いにより含量がやや変化する傾向が見られたが、有意差は認められなかった。保存条件の影響は、5℃の低温であっても保存日数が長くなるほど含量が減る傾向が認められ、保存温度によっても含量が変化する傾向が見られた。グアニル酸については高湿度で生育させたものの方が低湿度で生育させたものに比べ有意に含量が多かった。生育温度については20℃より高くなると減少する傾向が見られ、20℃と25℃では有意差が認められた。保存条件については、日数が長くなるほど、また温度が高くなるほど、含量が少なくなる傾向が見られた。エリタデニンについては、生育湿度による含量の差は見られなかった。生育温度は10～30℃の範囲で温度が高くなるほどエリタデニン含量が多くなる傾向が見られた。特に子実体がほとんど生育しなかった30℃一定条件のものは圧倒的に高含量であった。その他の温度域では3回目発生と20-30℃変温サンプルの間にエリタデニン含量について有意差が認められた。保存条件については、収穫後すぐに乾燥させたものより、1日置いてから乾燥させたものの方が含量が多い傾向が見られたが、保存日数や保存温度による変化は少なく一定の傾向は認められなかった。

引用文献

- Akanmu, D., Cecchini, R., Aruoma, O.I. and Halliwell, B. 1991. The antioxidant action of ergothioneine. *Arch. Biochem. Biophys.* **288**: 10-16.
- Aruoma, O.I., Spencer J.P.E. and Mahmood, N. 1999. Protection against oxidative damage and cell death by the natural antioxidant ergothioneine. *Food Chem. Toxicol.* **37**: 1043-1053.
- Dubost, N.J., Beelman, R.B., Peterson, D. and Royse, D.J. 2006. Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms by liquid chromatography-mass spectroscopy. *Int. J. Med. Mushr.* **8**: 215-222.
- Hartman, P.E. 1990. Ergothioneine as antioxidant. *Methods Enzymol.* **186**: 310-318.

- 樋口満・大島寿美子・鈴木慎次郎. 1978. しいたけが高血圧自然発症ラットの血圧および血漿コレステロール値に及ぼす影響. 栄養学雑誌 **36**: 119-125.
- 金田尚志・荒井君枝・徳田節子. 1964. シイタケのコレステロール代謝におよぼす影響 (I). 栄養と食糧 **16**: 466-468.
- 時本景亮. 2010. シイタケ原木栽培の基礎. 日本きのこ学会誌 **18**: 131-138.
- 豊増哲郎・杉山公男. 2003. エリタデニン高含有シイタケの開発とその脂質代謝に及ぼす影響. 日本応用きのこ学会誌 **11**: 151-158.

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*

時本景亮・田淵諒子・作野えみ・越谷 博**

Comparative analyses of anatomical, physical, and chemical properties of dried shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) cultivated on logs and sawdust media*

Keisuke TOKIMOTO, Akiko TABUCHI, Emi SAKUNO, and Hiroshi KOSHITANI**

Abstract

Most of the dried mushrooms of shiitake (*Lentinula edodes*) produced in Japan consist of fruiting bodies cultivated on logs, while the greater part of Chinese shiitake fruiting bodies are cultured in sawdust-medium. In this study, we investigated the anatomical, physical, and chemical properties of dried shiitake from 2 different methods of cultivation (log cultivation and sawdust-medium cultivation) and from 2 countries (Japan and China). In anatomical analysis, more than 50% of log-cultured shiitake had a sclerenchyma tissue, a component of the inner bark of logs, at the stipe base, but this tissue was not observed in sawdust-medium cultured shiitake. The increase rate of cap thickness after soaking a dried fruiting body in water was larger in log-cultured shiitake as compared to sawdust-medium cultured shiitake. In remoistened fruiting bodies, the energy necessary to pierce the cap flesh with a needle tended to be larger in sawdust-medium cultured shiitake than in log-cultured shiitake. ICP-AES analyses, using 0.15 g of the dried cap tissue, revealed that sawdust-medium cultured shiitake had much more Cu, K, P, and Zn content in comparison with log-cultured shiitake. The difference in element contents between log-cultured shiitake and sawdust-medium cultured shiitake appeared to depend on the quantity of the elements in the logs or sawdust-media, and on their own transition rate from substrates to fruiting bodies. Based on the results, a method was proposed to distinguish the 2 types of dried shiitake (log cultivation and sawdust-medium cultivation), with an accuracy of more than 99%.

Key words: cultivation method, discriminant analysis, fruiting body, geographic origin, ICP-AES, minor element.

* 菌蕈研究所研究業績, 第 399 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. 399 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

** 平成 21 年 11 月 6 日逝去. Passed away on 6 November 2009

緒 言

近年、我が国で生産される乾シイタケはほぼ全て原木栽培品であるが、中国の仲買業者によると、中国で生産される乾シイタケの97～98%は菌床栽培品であると言われている。我が国に輸入されている中国産乾シイタケの原木栽培品と菌床栽培品との比率については確かな資料がないが、中国における乾シイタケ生産の現状からみて菌床栽培品が多くを占めるのは疑う余地が無い。なお、韓国産の輸入量は僅かで、全て原木栽培品と考えられる（林野庁 2015）。

輸入乾シイタケの一部が日本産として偽装販売されることの詳細な経過は不明であるが、2000年当時には2,000～3,000トンの輸入品が国産品として販売されていたことが推定され、この問題の大きさと対策の緊急性が指摘されている（高岡 2000）。生産国を偽装することは消費者の信頼を

裏切るだけでなく、日本産の販売価格を不当に下落させる。乾シイタケは山村の貴重な換金作物であるため、その生産が脅かされれば山村の人々の生活基盤を揺るがし、山林の荒廃にも繋がる。筆者らは15年以上にわたって乾シイタケの原産国判別法の開発を進めてきており（時本ら 2000, 時本 2002, 臼井ら 2003, 時本 2005, 時本 2011, 鈴木ら 2015）、奥崎（2001）や門倉ら（2006）も同様の開発研究を行っている。その結果、原産国を判別する精度は大きく向上したが、分析に要する労力や経費を小さくすることが望ましいなど、まだ改善の余地がある。

本稿では、比較的広く普及している装置を用いて、個体毎の判別が可能な少量のサンプルで原木栽培品と菌床栽培品とを判別する手法を開発した。また、本手法で原産国を判別する根拠について検証した。

Table 1. Origin of shiitake samples used in this study

Produced on logs			
China	Number	Japan	Number
Anhui prov. 安徽省	42	Ohita pref. 大分	44
Shaanxi prov. 陝西省	36	Ehime pref. 愛媛	30
Henan prov. 河南省	26	Miyazaki pref. 宮崎	28
Jiangxi prov. 江西省	24	Iwate pref. 岩手	28
Fujian prov. 福建省	20	Shizuoka pref. 静岡	26
Hubei prov. 湖北省	12	Ishikawa pref. 石川	18
Unknown	40	Kumamoto pref. 熊本	14
Total	200	Others	22
		Total	210
Produced on sawdust based media			
China		Japan	
Fujian prov. 福建省	58	Iwate pref. 岩手	10
Zhejiang prov. 浙江省	52	Mie pref. 三重	10
Henan prov. 河南省	32	Hyogo pref. 兵庫	8
Unknown	68	Tottori pref. 鳥取	4
Total	210	Hokkaido 北海道	2
		Unknown	8
		Total	42

材料と方法

(1) 乾シイタケサンプルの収集

日本産の原木栽培乾シイタケは生産者から直接購入した。日本産の菌床栽培品はほとんどが生シイタケとして出荷されているため、各地で購入した生シイタケを40～50℃で送風乾燥して供試した。中国産においては、乾燥品を日本の輸入業者や中国の知人の協力を得て収集し、材料とした。また、菌床栽培品の一部は日本国内の小売店で購入したものを用いた。袋単位で収集したが、個体毎の分析を目的としたため、袋当たり2個体を選んでそれぞれを別サンプルとして扱った (Table 1)。

(2) 顕微鏡調査

柄の基部の先端に原木内樹皮の厚壁組織 (スクレレンキマ) が内包されているか否かを実体顕微鏡下で検定した。大平 (1991) は子実体の形成過程を詳細に観察し、ほだ木 (原木) から発生した子実体の原基にはスクレレンキマが内包されることを報告している。成熟子実体においても柄の基部にスクレレンキマは残存していると考えられ、それが確認できれば原木栽培品であると判断することができる (Fig. 1)。なお、菌床栽培品やおが粉を用いた種菌の接種孔から直接発生した原木栽培品においては柄の基部の先端部におが粉が付着していることがある (時本 2005)。



Fig. 1. Inner bark tissue showing sclerenchyma (arrows) attached to the stipe base of a dried shiitake.

(3) 物性調査

乾シイタケの子実体を柄の付け根を支点として扇状に切断し、柄の付け根と傘縁との中間点の傘厚を測定した。ついで5℃の水に5時間浸けて吸水させ、傘厚および重量の増加率を求めた。さらに物性測定器EZ1 (島津製作所) を用いて細い円柱状の治具 (径0.2mm) を吸水処理した傘のヒダ面側から貫通させ、それに要するエネルギーを測定した (Fig. 2)。

(4) シイタケの栽培

培養基質とその基質から発生した子実体との元素濃度を比較するため、コナラ原木にシイタケ種菌 (品種: 菌興 697 号) を接種し、林内で1年半ほだ木育成した。このほだ木を16時間浸水処理し、20℃室できのこを発生、成長させた。成熟した子実体を採取し、50℃で送風乾燥した。一方、浸水処理前のほだ木から辺材の一部を切り出し、子実体とともに元素分析に供した。



Fig. 2. Needle insertion test with EZ-Test. The energy necessary to penetrate a remoistened shiitake cap with a needle (0.2mm in diameter) was determined.

(5) 元素濃度分析

シイタケサンプルは傘表面をブラッシングしたのち少量の蒸留水で洗浄した。ついで、ヒダを含まないように傘肉をステンレス製カミソリで細断し、PP 袋に入れて乳鉢で粉末化した。ほだ木の辺材試料についてはテフロン製容器を装着した粉碎器 (HEIKO T1-100) を用いて粉末化した。

容量 7ml のテフロン PFA 容器に再乾した粉末サンプル 0.15g、濃硝酸 3ml、塩酸 0.3ml、過塩素酸 0.3ml、フッ化水素酸 0.15ml を入れ、電子レンジを用いる小島 (1992) の方法に準じて加圧加熱分解した。ホットプレート上で酸を蒸発させたのち、残った固形物を 15g の 0.1M 過塩素酸に溶解し、元素分析に供した。分析装置としては比較的広く普及している ICP-AES (堀場 JY2000-2S) を用いた。本手法による定量値の再現性 (添加回収率) は 90% 以上であり、実用レベルと考えられた (Table 2)。

(6) 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

(1) スクレンキマの確認

日本産と中国産の原木栽培品と菌床栽培品、それぞれ 2 袋ずつの調査結果を Table 3 に示す。柄の基部の先端を実体顕微鏡で観察したところ、原木栽培品の 50 ~ 70% の個体で同部位にスクレレンキマが認められたが、菌床栽培品には全く確認できなかった。したがって、顕微鏡調査は原木栽培品と菌床栽培品との判別に有効であることを確認した。

(2) 物性調査

乾シイタケの扇形断片を水戻ししたとき、吸水による重量増加率は中国産菌床栽培品が中国産原木栽培品よりも、日本産原木栽培品は中国産原木

Table 2. Operating conditions of ICP-AES for the analysis of shiitake samples

Element	Wave length (nm)	Detection limit (mg/kg)	Content determination (mean and SE of five repetitions)			Recovery rate (%)
			Without additive	Amount added	With additive	
				(mg/kg)		
Al	396.152	1.0	54.79±3.07	50	104.54±4.05	99.5
Ba	455.403	0.02	0.793±0.037	1	1.761±0.034	96.9
Ca	393.366	1	110.19±1.40	50	160.54±1.56	100.7
Cd	226.502	0.2	2.15±0.05	1	3.07±0.04	91.8
Cu	324.754	0.2	5.57±0.33	2	7.23±0.38	82.8
Fe	238.204	0.3	43.39±6.91	20	63.34±1.94	99.8
K	766.490	9	15.08±0.13	3	18.01±0.15	97.9
Mg	279.553	0.1	0.737±0.011	0.2	0.931±0.008	97.3
Mn	257.610	0.05	10.34±0.18	10	19.92±0.11	95.8
Na	588.995	8	177.40±1.47	500	651.95±2.18	94.9
P	213.618	6	2.44±0.02	0.5	3.01±0.04	112.6
Sr	407.771	0.02	0.503±0.016	1	1.434±0.015	93.1
Ti	334.941	0.08	2.93±0.18	2	4.74±0.33	90.5
Zn	213.856	0.2	18.68±3.50	20	36.98±4.37	91.5

Table 3. Detection of sclerenchyma at the stipe base of dried shiitake samples under a binocular microscope

Cultivation method	Origin	Number of samples observed	Sclerenchyma		Detection rate (%)
			Samples detected	Samples not detected	
Log	Ohita pref., Japan	28	15	13	53.6
Log	Ehime pref., Japan	36	26	10	72.2
Log	Anhui prov., China	41	25	16	61.0
Log	Shaanxi prov., China	38	26	12	68.4
Sawdust	Iwate pref., Japan	33	0	33	0.0
Sawdust	Mie pref., Japan	36	0	36	0.0
Sawdust	Fujian prov., China	42	0	42	0.0
Sawdust	Zhejiang prov., China	44	0	44	0.0

栽培品よりもそれぞれ 1% 水準で有意に大きかった (Fig. 3). また、吸水による傘厚の増加率は原木栽培品が菌床栽培品よりも有意に大きいことを認めた (Fig. 4). 吸水後の傘断片に治具を挿入するときに要するエネルギー (厚さ 1mm 当たり) は中国産菌床栽培品が最大で、原木栽培品同士では中国産の方が日本産よりも大きかった (Fig. 5). 菌床栽培品が原木栽培品よりも治具挿入に大きなエネルギーを要する一因として、菌床栽培品の方が吸水による傘厚の増加率が小さいことが関係していると考えられる.

(3) 培養基質の元素組成と基質からシイタケ (子実体) への元素移行率

原木と菌床培地の材料について元素含量を分析した. 菌床培地に加えることが多い米ぬかやフスマはコナラ (*Quercus serrata* Thunb.), クスギ (*Q. acutissima* Carruth) などの原木やブナ (*Fagus crenata* Blume) おが粉よりも K, Zn が 10 倍以上, P は 100 倍前後多く含んでいた. 一方, Ba のように原木の内樹皮に多く含有する元素もみられた (Table 4).

培養基質から子実体への元素の移行率 (子実体の濃度 / 基質の濃度) を求めたところ (Table 5), その値は K, P で最も高く, 次に Al, Cu, Fe, Mg, Ti, Zn が 1 より大きく, 基質よりも子実体の方が高濃度であった. 先に時本ら (1982), 松本・時本 (1987) および松本ら (1990) はシイタケのほだ木と子実体との元素組成を比較分析し, K や P はほだ木から子実体への移行率が高いこと, その

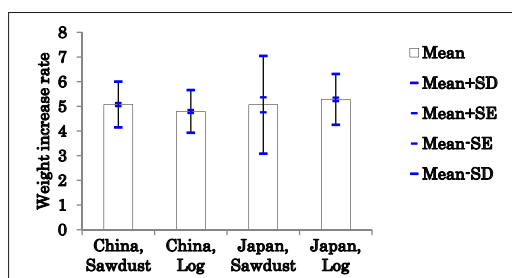


Fig. 3. Weight increase after soaking a dried shiitake fruiting body in water. The ratio of after soaking to before soaking was shown. China sawdust>China log; Japan log> China log (significant at 1%).

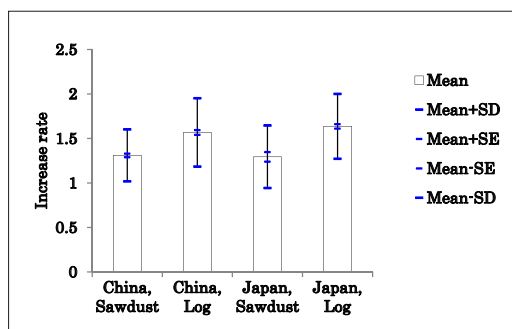


Fig. 4. Increase rate of cap thickness after soaking a dried shiitake fruiting body in water. The rate of after soaking to before soaking was determined. China log>China sawdust, Japan sawdust; Japan log>China sawdust, Japan sawdust (significant at 1%).

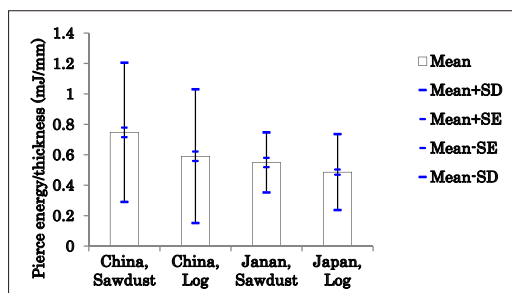


Fig. 5. The energy necessary to pierce a remoistened cap of dried shiitake with a needle. Total energy per cap thickness (mm) was shown. China sawdust>China log, Japan sawdust, Japan log; China log>Japan log (significant at 1%).

Table 4. Content of several elements in logs and sawdust medium materials used in shiitake cultivation

	Mean of several samples (mg/kg) in dry base													
	Al	Ba	Ca	Cu	Cd	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Sr	Ti	Zn
<i>Quercus serrata</i> , inner bark	32.3	1,440.0	3,650	2.72	0.290	18.6	2,601	4,723	2,258.0	69.2	1,788	41.70	0.69	6.90
<i>Quercus serrata</i> , sapwood	38.8	217.0	608	1.85	0.190	10	1,323	1,360	43.4	56.7	88	3.20	1.89	2.42
<i>Quercus acutissima</i> , sapwood	14.8	4.2	1,341	1.21	0.090	21.5	1,004	351	33.6	24.4	110	8.53	0.32	1.58
<i>Quercus liaotungensis</i> , sapwood	768.0	155.0	591	1.00	0.035	24	1,365	2,120	24.5	743.0	110	3.98	1.80	2.00
<i>Quercus mongolica</i> , sapwood	67.5	155.0	422	0.50	0.015	10	1,190	1,490	12.2	516.0	88	3.64	0.40	2.00
<i>Fagus crenata</i> , sawdust	191.0	51.0	4,480	1.50	0.085	184	2,900	534	115.0	71.0	188	6.63	9.40	5.10
Rice bran	130.0	7.0	729	6.70	0.075	164	26,350	13,400	168.0	115.0	29,860	2.56	2.70	67.50
Wheat bran	67.2	183.0	1,000	11.30	0.185	144	15,403	5,340	148.0	624.0	9,599	8.54	1.90	62.00

Table 5. Content of several elements in bedlogs and shiitake fruiting bodies and their content ratios (in fruiting body/in bedlog)

	Al	Ba	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Sr	Ti	Zn
Bedlog(mg/kg)	0.187	0.427	16.0	0.013	0.115	12.4	2.56	2.53	2.31	0.638	0.199	0.006	0.075
Fruiting body(mg/kg)													
Stipe 1	3.67	0.008	1.84	0.023	1.510	71.8	12.65	0.118	0.636	10.67	0.005	0.271	0.118
Stipe 2	3.33	0.016	1.16	0.012	3.460	37.7	9.89	0.111	1.367	3.51	0.010	0.406	0.063
Stipe 3	1.94	0.003	0.61	0.030	1.293	79.5	8.68	0.108	1.063	7.13	0.005	0.218	0.198
Mean	2.98	0.009	1.20	0.022	2.088	63.0	10.41	0.112	1.022	7.11	0.007	0.298	0.126
Cap 1	1.30	0.005	1.76	0.035	0.154	128	8.44	0.152	0.869	14.68	0.007	0.031	0.192
Cap 2	0.28	0.002	0.26	0.012	0.189	78	5.25	0.096	0.864	4.71	0.001	0.029	0.070
Cap 3	0.23	0.001	0.28	0.030	0.179	112	6.37	0.168	0.611	8.00	0.001	0.021	0.233
Mean	0.60	0.003	0.77	0.026	0.174	106	6.69	0.139	0.782	9.13	0.003	0.027	0.165
Fruiting body/bedlog													
Stipe 1	19.6	0.019	0.115	1.77	12.6	5.8	4.94	0.047	0.275	16.7	0.025	45.2	1.57
Stipe 2	17.8	0.037	0.072	0.92	28.8	3.0	3.86	0.044	0.592	5.5	0.049	67.7	0.84
Stipe 3	10.4	0.006	0.038	2.31	10.8	6.4	3.39	0.043	0.460	11.1	0.025	36.3	2.64
Mean	15.9	0.021	0.075	1.69	18.2	5.1	4.06	0.044	0.442	11.1	0.035	49.7	1.69
Cap 1	6.95	0.012	0.110	2.69	1.287	10.3	3.30	0.060	0.376	22.9	0.035	5.17	2.56
Cap 2	1.50	0.004	0.017	0.92	1.574	6.3	2.05	0.038	0.374	7.4	0.005	4.83	0.93
Cap 3	1.23	0.003	0.018	2.31	1.494	9.0	2.49	0.066	0.265	12.5	0.006	3.50	3.11
Mean	3.21	0.007	0.048	2.00	1.513	8.5	2.61	0.055	0.338	14.3	0.015	4.50	2.20

Notes:

Two-year-old *Quercus serrata* bedlogs inoculated with shiitake strain, Kinko-697, were used.

Fruiting was induced by soaking the bedlogs in tap water for 16hr.

The cap and the stipe of the shiitake (fruiting bodies) and the sapwood of the bedlog before fruiting were served for analysis.

原木および菌床栽培乾シイタケの比較分析

Table 6. Statistical analyses on the element contents^a of the cap tissue of dried shiitake

Element	Log shiitake		Sawdust shiitake	
	Japan	China	Japan	China
Al	24 ±1.6	59.1 ±5.0	25.3 ±6.1	53 ±5.9
Ba	0.68 ±0.06	1.35 ±0.1	0.35 ±0.06	0.8 ±0.09
Ca	86.8 ±3.5	173.8 ±8.3	75.4 ±10.0	99 ±6.4
Cd	0.7 ±0.1	1.1 ±0.1	0.5 ±0.1	0.9 ±0.1
Cu	4.2 ±0.2	5.2 ±0.2	6.5 ±0.4	6.8 ±0.2
Fe	20.3 ±0.9	42.6 ±2.6	28.3 ±3.2	34 ±1.9
K	16200 ±233	14000 ±198	22900 ±1016	19500 ±253
Mg	923 ±16.6	1133 ±18.0	1124 ±43.9	1005 ±13.3
Mn	13.4 ±0.4	15.9 ±0.9	15.5 ±0.8	13.8 ±0.5
Na	102 ±13.0	49.1 ±2.6	100.6 ±8.4	56.2 ±1.9
P	2331 ±52	2125 ±45	6730 ±245	5310 ±66
Sr	0.41 ±0.03	0.6 ±0.03	0.38 ±0.09	0.34 ±0.02
Ti	1.47 ±0.12	3.5 ±0.31	0.83 ±0.29	2.56 ±0.28
Zn	23.1 ±1.18	20.6 ±0.58	65.9 ±3.52	55 ±0.97

Comparison on Fisher's LSD

Element	JPN log:CN sawdt	JPN log:CN log	CN log:CN sawdt	JPN sawdt:CN sawdt
Al	<**	<**		<**
Ba		<**	<**	<*
Ca		<**	>**	
Cd		<**		
Cu	<**	<**	<**	
Fe	<**	<**	>**	
K	<**	>**	<**	>**
Mg	<**	<**	>**	>**
Mn		<**	>*	
Na	>**	>**		>*
P	<**	>*	<**	>**
Sr		<**	>**	
Ti		<**	>**	<**
Zn	<**		<**	>**

^a mg/kg in dry base.

Sample numbers: CN log 200, CN sawdust 210, JPN log 210, JPN sawdust 42

**, *: Significant at 1% and 5%, respectively.

Table 7. Discriminant analyses of dried shiitake samples

Combination	Factors used for analyses	Hitting ratio (%)
Total log : Total sawdust	Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, Sr, Ti, Zn, Cap enlargement, Energy/mm	99.7
Japan log : China sawdust	Al, Ca, Cu, K, Mn, Na, P, Sr, Zn, Cap enlargement	99.8
Japan log : Japan sawdust	Al, Cd, Cu, K, Mg, Na, P, Zn, Weight increase	100
China log : Japan sawdust	Al, Cd, Cu, Mg, P, Ti, Zn	100
China log : China sawdust	Ba, Cd, Cu, Mg, P, Zn, Cap enlargement	99.3
Japan log : China log	Al, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr, Weight increase, Cap enlargement	95.4
Japan sawdust : China sawdust	Al, Ba, Ca, Cu, Na, P, Zn, Cap enlargement, Energy/mm	88.8

結果としてこれら元素がほだ木に欠乏し易いことを報告しているが、今回の結果はそれと符号した。逆に、Ba, Ca, Mn, Na, Srは基質よりも子実体濃度の方が低く、子実体に移行し難いことが明らかとなった。また、Al, Ba, Fe, Ti,などは柄の方が傘よりも高濃度であった。このように各元素はそれぞれ固有の移行率を持つことから、子実体の元素濃度は栽培法や原産地判別の指標となり得ると考えられる。

(4) シイタケ元素濃度の生産国、栽培方法間の比較

日本産原木栽培品と中国産原木栽培品との比較では、大部分の元素で中国産の方が有意に高含量であり、日本産の方が多いのはK, Na, Pだけであった。日本産原木と中国産菌床とでも、日本産原木の方が有意に含量が多いのはNaだけであり、Cu, Fe, K, Mg, P, Znは中国産が多かった。生産国に関わらず、原木栽培品よりも菌床栽培品はCu, K, P, Znを多く含んでいた (Table 6)。この理由としては、日本と中国との土壌成分の違いがシイタケ栽培に用いる原木や菌床材料の元素含量を左右すること、菌床栽培では原木由来のおが粉の他に種々のおが粉代替品や栄養添加物が用いられることが考えられる。

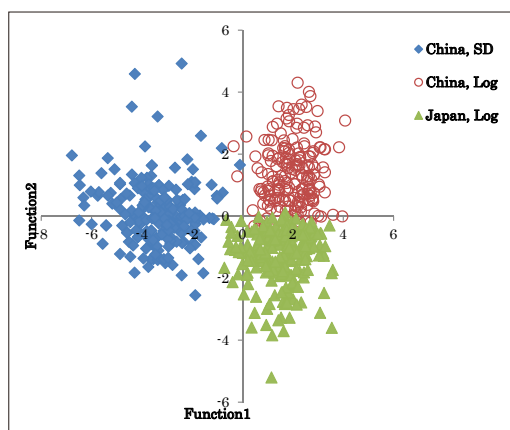


Fig. 6. Scattering graph in three shiitake groups after a discriminant analysis. SD: sawdust medium cultivation, Log: log cultivation

(5) 判別分析

物性調査と元素分析のデータを用いて、生産国2群 (日本産, 中国産), 栽培方法2群 (原木栽培品, 菌床栽培品) の総当たりで2群間の判別分析を行った (Table 7)。その結果、原木栽培品と菌床栽培品との判別精度はどの組み合わせでも99%以上の的中率を示した。日本産と中国産を合わせた原木栽培品と菌床栽培品との判別でも99.7%の的中率であり、顕微鏡調査を含めれば約99.9%に向上する。したがって、比較的広く普及

している ICP-AES と物性および顕微鏡調査を組み合わせて原木栽培品と菌床栽培品とを子実体 1 個で高精度判別できることが明らかとなった。

日本国内で流通している乾シイタケは中国産菌床栽培品、日本産原木栽培品および中国産原木栽培品が主体である（林野庁 2015）。これら 3 群の乾シイタケを同時に判別分析した分布図を Fig. 6 に示すが、実用レベルの判別精度と判断できる。なお、本手法による日本産原木栽培品と中国産原木栽培品との判別の中率は 95.4% であり、中国産と日本産の菌床栽培品同士では 88.8% まで低下する（Table 7）。これら組み合わせの判別精度をさらに向上するためには別途報告している重元素や軽元素の同位体比を加えることで対処でき、日本産と中国産の原木栽培品同士の的中率は 99% 以上になることを確認している（時本 2013, 時本ら 2013）。

摘 要

我が国で市販されている乾シイタケにおいて、日本産はほぼ全て原木栽培品であるが、中国産は多くが菌床栽培品と考えられる。ここでは原木栽培品と菌床栽培品とを少量のサンプルで判別する手法を提示し、その根拠を考察した。原木栽培品は 50% 以上の子実体において、柄の基部の先端部に内樹皮の厚壁組織（スクレレンキマ）を内包していることを観察した。また、原木栽培品は水戻し時の傘肉厚の増加率が菌床栽培品よりも大きいこと、戻したシイタケに治具を貫通させるときに要するエネルギーが菌床栽培品よりも小さい傾向があること、などを認めた。傘肉の粉末 0.15g を用いて ICP-AES で元素組成分析を行うと、原木栽培品よりも菌床栽培品は Cu, K, P, Zn を多く含んでいた。この理由としては、原木栽培と菌床栽培とでは培地素材の元素組成が異なることと、各元素は培養基質からシイタケ子実体への固有の移行率をもつことが考えられた。得られた結果から判別分析を行うと、原木栽培品と菌床栽培品とは約 99.9% の的中率で判別することができた。

引用文献

- 臼井祐一・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. 食品の鑑別的研究—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.
- 大平郁男. 1991. シイタケ菌によるコナラの腐朽様式と子実体発生に関する研究. 菌蕈研報 **29**: 70-128.
- 門倉雅史・臼井祐一・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.
- 小島 功. 1982. マイクロ波加熱による固体試料の酸分解. ぶんせき 1992 (1): 14-19.
- 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・酸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. サイエンスフォーラム, 我孫子市, pp. 49-54.
- 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): 42-45.
- 時本景亮・広居忠量・西田篤實・玉井篤・福田正樹. 1982. シイタケの栽培過程におけるほだ木成分と子実体発生量の変化. 菌蕈研報 **20**: 117-122.
- 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・作野えみ・越谷博・鈴木彌生子・川崎

- 晃・平田岳史. 2013. 元素組成と安定同位体比に基づく原木栽培乾シイタケの原産地判別. 第2回同位体環境学シンポジウム講要集, p.69.
- 松本晃幸・時本景亮. 1987. シイタケ子実体の生長にともなう元素含量の変動. 菌草研報 **25**: 62-67.
- 松本晃幸・時本景亮・福田正樹・坪井正知. 1990. シイタケ原木の伐採時期による無機元素含量の差異が子実体発生量に及ぼす影響. 菌草研報 **28**: 325-332.
- 林野庁 2015. 26 年特用林産基礎資料. 林野庁経営課特用林産対策室. http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokuyo_rinsan/ (2015 年 12 月 20 日確認)

Hypomyces pseudocorticicola* によるアラゲキクラゲ 綿腐病（新称）について

奥田康仁・長澤栄史・常盤俊之**・長谷幸一・村上重幸

Cottony leak on cultivated *Auricularia nigricans* caused by *Hypomyces pseudocorticicola**

Yasuhito OKUDA, Eiji NAGASAWA, Toshiyuki TOKIWA, Koichi HASE and
Shigeyuki MURAKAMI**

Abstract

A wood ear mushroom, *Auricularia nigricans* (syn. *Auricularia polytricha*) is well known as a good edible species in Japan. However, 97% of the *Auricularia* mushrooms consumed in Japan are imported. Japanese food-service industries are beginning to use domestically produced wood ear mushrooms in an attempt to reduce the risk related to food safety of the imported mushrooms. Thus, the production of *A. nigricans* in Japan appears to be increasing gradually. Recently a hitherto-unknown mold disease attacking the fruiting bodies of the species has become a problem in its cultivation in Japan. The diseased *Auricularia* fruiting bodies are covered by a white, cottony mycelium bearing conidia at first both on the inner hymenial and outer hair-bearing sterile surfaces. Later, numerous orange to reddish-orange colored, pyriform perithecia half-buried in a thin, whitish subiculum are produced on the hymenial surface of the diseased mushroom. The causal fungus of the disease is identified here as an ascomycete *Hypomyces pseudocorticicola*, based on morphological observations of the fungus found on the diseased fruiting bodies and that isolated and cultured on a malt extract medium, and by inoculation experiments. We propose that this new disease caused by *H. pseudocorticicola* be called a cottony leak disease. A method of disease control is also briefly discussed.

Key words: ascomycetes, fungus disease, fungicolous fungi, mushroom cultivation.

*菌草研究所研究業績, 第400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. 400 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

**（有）環境衛生検査センター, 〒188-0012 東京都西東京市南3-9-6. Environmental Hygiene Inspection Center Co., Ltd.
3-9-6 Minamicho, Nishitokyo, Tokyo 188-0012, Japan.

緒 言

アラゲキクラゲ [*Auricularia nigricans* (Fr.) Birkebak, Looney & Sánchez-García; *A. polytricha* (Mont.) Sacc.]はキクラゲ(*A. auricula-judae* (Bull.) Quél.)と共にキクラゲ科の優秀な食用栽培きのこであるが、現在、日本国内で消費されているこれらキクラゲ類の約97%は主に中国からの輸入品である。その大きな理由は中国産輸入品の安い価格にあり、この廉価な輸入品に押され、国内でのキクラゲ類の生産は極めて少ない(日本特用林産振興会 2011)。近年、輸入食材の産地偽装や残留農薬などの問題発生を受け、食品業界や外食産業では国民の食に対する安全・安心への期待に応えるために食材を輸入品から国産品に転換する動きが強まっているが、大部分を輸入に頼っているキクラゲ類においてもその流れにあり、国内における生産量も徐々に増加の傾向にある。

食用栽培きのこの病害についてはこれまでに多くの報告があり、大きく分けて細菌によるものと糸状菌によるものがある。前者には *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula によるシイタケの細菌病(古川・野淵 1986)や *Pseudomonas tolaasii* Paine によるヒラタケの黄褐色変色病(古川・野淵 1986)、後者では *Trichoderma* 属菌によるシイタケの様々なトリコデルマ病害(小松 1976)や *Lecanicillium fungicola* (Preuss) Zare & W. Gams によるツクリタケのドライバブル病(中村 1982)などがある。アラゲキクラゲの病害としてはこれまでに子実体が溶解して不快な臭いを発する *Pseudomonas* sp. による腐敗病(古川・野淵 1986)や *Scytalidium lignicola* Pesante による Slippery Scar 病が報告されている(Sun and Bian 2012)。近年、原木栽培あるいは鋸屑袋栽培においてアラゲキクラゲの子実体に綿毛状の病徴を示す新しい病害の発生が認められるようになってきている。本研究では、アラゲキクラゲ栽培の国内における拡大に対して障害となりうるこの病害の原因菌を特定するとともに、その生態的特徴に基づいて防除方法を探った。

材料および方法

標本および菌株と形態学的観察

菌草研究所菌類標本庫に保存されている以下の5標本を供試した。

- 1) TMI-26304: 原木栽培されたアラゲキクラゲ子実体上、鳥取県郡家町、2009年7月29日、西澤久則
- 2) TMI-26305: 原木栽培されたアラゲキクラゲ子実体上、広島県三次市作木町、2009年11月16日、房田正行
- 3) TMI-26306: 分離菌株を接種したアラゲキクラゲ子実体上、鳥取市古郡家、2010年3月2日、長澤栄史(1月12日接種)
- 4) TMI-26307: 原木栽培(エノキ)されたアラゲキクラゲ子実体上、愛媛県大洲市司馬、2010年10月下旬、福安 司
- 5) TMI-26308: 鋸屑栽培されたアラゲキクラゲ子実体上、鳥取県鳥取市古郡家、2010年10月26日～11月10日、長澤栄史・長谷幸一

肉眼的特徴は、罹病したアラゲキクラゲ子実体および培養菌糸体を肉眼および実体顕微鏡(ニコン SMZ10, 最大倍率 $\times 40$) 下で観察した。顕微鏡の特徴は、子実体上および培地上に形成された菌叢の一部あるいは罹病子実体組織の切片を光学顕微鏡下で観察した。試料は蒸留水、2.5%苛性カリ水溶液、あるいはラクトフクシン液にマウントして観察し、大きさの測定には接眼マイクロメータを用いた。胞子の測定では突起物および模様を除外し、それらについては別途測定した。

菌株は、1) 罹病アラゲキクラゲ子実体上に形成された子嚢果を滅菌水中で洗浄後、スライドグラス上の滅菌水中でスパチュラを用いて細かく押しつぶし、その懸濁液を MA 培地上に塗布して1～2日間23℃前後に保ち、発芽した子嚢胞子を実体顕微鏡下で拾い新たな MA 培地(麦芽エキス2%, 寒天2%)に移植、2) 罹病アラゲキクラゲ子実体上に形成された分生子を実体顕微鏡下で接種針を用いて分離し MA 培地に移植の2つの方法で分離した。また、その他に玉川大学学術研究所菌学応用研究センター(東京都)から分譲を受けた *Hypomyces pseudocorticicola* Tokiwa & Okuda TAMA24 および TAMA64 (それぞれカワラタケと

エゴノキタケ子実体上から分離) の 2 菌株を供試した。

病原性試験

罹病アラゲキクラゲ子実体から分離した 2 菌株 (TMIC-36025 および TMIC-36026), 玉川大学から分譲をうけた 2 菌株 (*H. pseudocorticiicola* TAMA24 および TAMA64) を MA 培地上で 20°C, 2 週間培養し形成された分生子を接種源として供試した。病原性試験は 10^4 個/ml に調製した分生子を菌床から発生したアラゲキクラゲの各子実体上に数滴滴下し, 25°C・湿度 95% の栽培室内で 6 日間, 保温・保湿することで行った。非接種区では孢子懸濁液の代わりに蒸留水を滴下した。

温度別菌糸伸長試験

H. pseudocorticiicola の温度別菌糸伸長については 15, 20, 25 および 30°C の 4 区画で行った。MA 培地上に直径 7 mm のコルクボーラーで採取した接種源を接種し, それぞれの温度で 2 日間培養した後, 5 日間の菌糸生長を測定した。

結果および考察

本病害の病徴

本病害は野外での自然発生 (Fig. 1) および屋内での菌床栽培から発生した (Fig. 2) アラゲキクラゲ子実体上で観察されている。症状としては



Fig. 1. Symptoms of the disease on *Auricularia nigricans* fruiting bodies cultivated on a log under natural environment.

最初に綿毛状の菌糸 (Fig. 2) がアラゲキクラゲ子実体表面に発生する。その後, これらの子実体は黄変し (Fig. 3), 最終的にアラゲキクラゲの子実体は委縮もしくは溶解する。



Fig. 2. Healthy (left) and diseased (right) fruiting bodies of *Auricularia nigricans* in sawdust bag culture. Note that the diseased fruiting bodies are entirely covered by white, cottony mycelium of the pathogen, showing a symptom of the disease in its early stage.



Fig. 3. Symptom of the disease in its later stage. The white cottony mycelium seen in the early stage of the disease disappears and thin hyphal layer tinted yellow to orangish covers over hymenial surfaces of the diseased fruiting bodies, where many ascocarps (perithecia) are formed.

同定および菌の形態的特徴

罹病子実体上には白い綿毛状の菌叢と共に、そこに群生する橙黄色、細粒状の構造物が認められたが、それらは内部に多数の子嚢を形成しており子嚢殻であることが判明した。この子嚢殻は球形～亜球形で大きさ $151-189 \times 132-180\mu\text{m}$ (隔壁は厚さ $16-24\mu\text{m}$)、著しく突き出た鈍頭嘴状の孔口 (長さ $94-126$, 基部の径 $70-80\mu\text{m}$) を有し、孔口部を除いてほぼ本体の大部分が子実体形成菌糸層 (厚さ $189-280\mu\text{m}$, 密な錯綜菌糸組織からなり、菌糸は薄壁で径 $4-13\mu\text{m}$, 円筒形ときに多少数珠状) に埋没し形成され、KOH 水溶液 (2.5%) 中で子嚢殻はくすんだ黄色、子実体形成菌糸層はほぼ無色を示した (KOH 陰性)。子嚢 (Fig. 4A) は大きさ $109-120 \times \pm 6\mu\text{m}$, 長円筒形で短い柄をもち、頂部において壁がやや肥厚するが特別な構造物を欠く。内部に8個の紡錘形あるいはやや舟形 (側面観察時) の2細胞性子嚢胞子を1列に有する。子嚢胞子 (Fig. 4B) は大きさ $12.6-18.6 \times 3.3-5.4\mu\text{m}$ ($n=71$: 平均値 $14.4 \pm 1.5 \times 4.3 \pm 0.4\mu\text{m}$)、長さ/幅比率 (l/w) $3-4.7$ ($n=71$: 平均値 3.2 ± 0.3)、無色。中央で1横隔壁を生じ、隔壁部で稀に狭くする。表面は細かないぼ状の突起 (高さ $0.6\mu\text{m}$, 幅は基部で $0.9-1.2\mu\text{m}$) で覆われ、両端に鈍くとがった

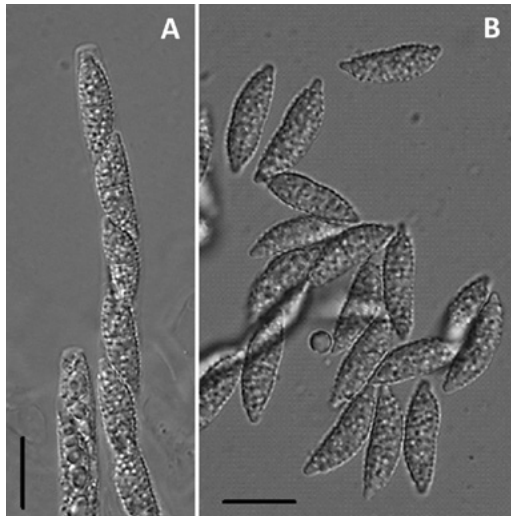


Fig. 4. Asci and ascospores of *Hypomyces pseudocorticiicola* produced on MA medium. A: Asci. B: Ascospores. Scale bars: $10\mu\text{m}$.

くちばし状の突起 (長さ $1.2-1.8\mu\text{m}$, 幅は基部で $1.2-1.8\mu\text{m}$) をもつ。

子嚢殻が他菌 (アラゲキクラゲ) の子実体上に子実体形成菌糸層を伴って形成されること (Fig. 5A), 子嚢が長円筒形で頂部において壁が若干肥厚するが特別な構造物を欠くこと, また, 子嚢胞子が中央に仕切りをもち2細胞性でいぼ状の突起に覆われて粗面, さらに両端に嘴状の突起をもつことなどの特徴から, 罹病アラゲキクラゲ子実体上に認められた子嚢菌は明らかに *Hypomyces* 属

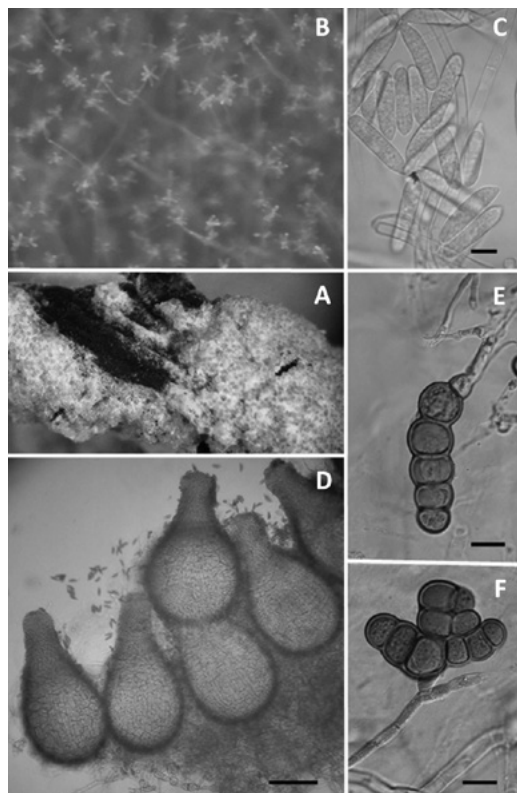


Fig. 5. Morphological characters of *Hypomyces pseudocorticiicola* and its anamorph. A: Perithecia on the diseased *Auricularia nigricans* fruiting body. B: Part of colony of the anamorph produced on MA medium (enlarged). C: Conidia of the anamorph (*Cladobotryum* sp.) on MA medium. D: Perithecia produced on MA medium (in Lactofuchsin). E and F: Clamidospores observed on MA medium (in Lactofuchsin). Scale bars: for perithecia in fig. D $=100\mu\text{m}$; for conidia and clamidospores in Figs. C, E and F $=10\mu\text{m}$.

の1種と考えられた。

罹病アラゲキクラゲ子実体上には、子囊殻が未形成あるいは未熟なものにおいて *Trichothecium* 型の分生子形成様式をもつ *Cladobotryum* sp. の発生が認められたが、*Hypomyces* 属菌はそのような *Cladobotryum* 属菌をアナモルフにもつことが知られており (Rogerson and Samuels, 1993), 罹病アラゲキクラゲ子実体上で認められた *Cladobotryum* sp. は同じ子実体上に子囊殻を形成する *Hypomyces* sp. のアナモルフと考えられた。そこで、罹病子実体上の *Hypomyces* sp. から子囊胞子を用いて多胞子および単胞子分離を行いアナモルフ形成の有無を調査した。分離株を MA 培地 (2%) で培養 (20-23℃) したところ、約1週間経過後、罹病子実体で観察されたのと同様の *Cladobotryum* sp. が培地上に形成され (Fig. 5B), その分生子 (Fig. 5C) は2-3 隔壁をもち3-4 細胞性、大きさ $21-43.2 \times 7.2-11.4 \mu\text{m}$ ($n=51$: 平均値 $32.3 \pm 5.0 \times 9.4 \pm 1.0 \mu\text{m}$), 長さ/幅比率 2.3-4.7 ($n=57$: 平均値 3.4 ± 0.5) であった。多胞子分離した菌株では約1カ月経過後、培地上に子実体 (子囊殻) が形成され (Fig. 5D), また、気中菌糸に

は暗褐色多細胞性の硬壁胞子の形成も認められた (Figs. 5E, F)。

キクラゲ属に寄生する *Hypomyces* 属としては *H. auriculariicola* K. Põldmaa & Samuels が知られており、アミキクラゲ (*Auricularia delicata* (Mont. ex Fr.) Henn.) を寄主とする (Põldmaa and Samuels, 2004)。今回罹病アラゲキクラゲ子実体上において見出された菌は先に記述した形態的および培養的特徴において、ヒダナシタケ類に寄生することが報告されている *H. polypolynus* Peck (Rogerson and Samuels, 1993; Põldmaa and Samuels, 1999) および最近日本から新種として報告された *H. pseudocorticiicola* Tokiwa & Okuda (Tokiwa and Okuda, 2005) に類似する。

両菌のうち *H. polypolynus* は、Rogerson and Samuels (1993) によれば通常カワラタケに発生し、アナモルフのみがキクラゲ上で記録された例が1例あると報告されているが、分生子がアラゲキクラゲ上の *Hypomyces* sp. と比較してより小さい [(15-) 18-28 (-40) $\times$ (4-) 6-8 (-12) μm]。また、その子囊胞子の大きさは一部重複するが、長さ/幅の比率において (3.8-) 4.5-5.9 (-6.2) (Põldmaa

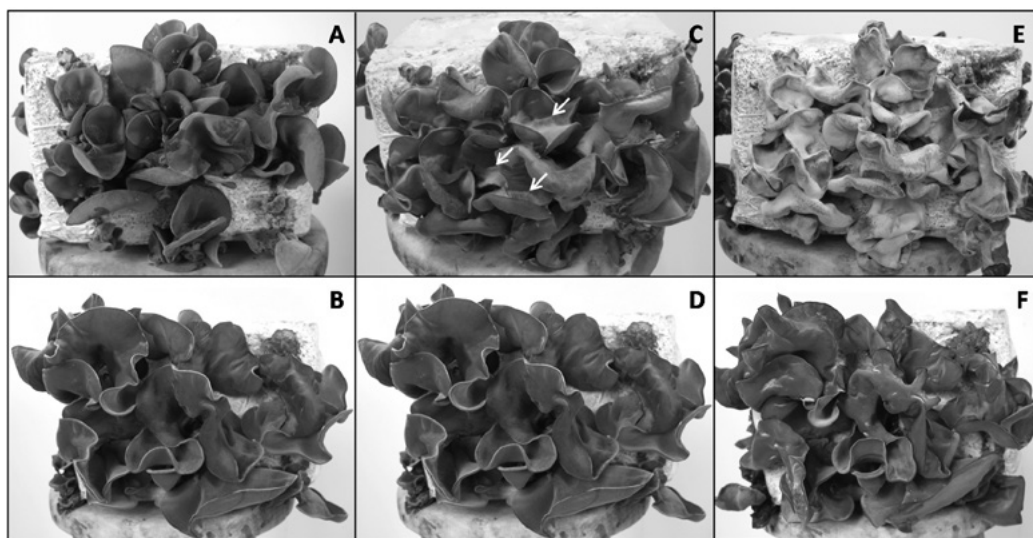


Fig. 6. Pathogenicity test of *Hypomyces pseudocorticiicola* on *Auricularia nigricans* fruiting bodies. Upper lane: inoculated. Lower lane: non-inoculated. A, B: 0 day. C, D: 3 days later. E, F: 6 days later. Symptoms were observed on the inoculated fruiting bodies. The white cottony mycelium appeared 3 days later and covered up the fruiting bodies 6 days after the inoculation. Arrows indicate that the white cottony mycelium has begun to appear 3 days later (Fig. 6C).

and Samuels, 1999) と明らかに細長く, *Hypomyces* sp. と異なる. 一方, *H. pseudocorticicola* は, 子嚢胞子が⁸ (14-) 16.0-19.0 (-21.0) × (4.0-) 4.5-5.0 (-6) μm (Tokiwa and Okuda, 2005) と若干大きい, アナモルフの特徴を含むその他の特徴において罹病アラゲキクラゲ子実体上の *Hypomyces* sp. にほぼ一致する. 従って, 罹病アラゲキクラゲ子実体上で見いだされた菌を *H. pseudocorticicola* と同定した.

病原性試験

H. pseudocorticicola がアラゲキクラゲに対して病原性を示すことを確認するため, アラゲキクラゲ子実体から分離した TMIC-36025 および TMIC-36026, カワラタケとエゴノキタケ子実体から分離した TAMA24 および TAMA64 の分生子を用いて病原性試験を行った. それぞれ 10^4 個/ml に調製した分生子を菌床から発生したアラゲキクラゲの各子実体上に数滴滴下することで接種したところ, 供試した全ての菌株で病徴が再現され, 本菌が再分離された (Fig. 6). 以上の試験結果から *H. pseudocorticicola* を本病害の原因菌と決定した. また本病害をその病徴部の様相からアラゲキクラゲ綿腐病と命名することを提案する.

H. pseudocorticicola の発生はこれまでにエゴノキタケやモミジウロコタケ, カワラタケといった担子菌類の子実体上から分離されている (Tokiwa and Okuda 2005). Tokiwa and Okuda (2005) によ

ると *H. pseudocorticicola* は初夏から秋にかけて腐敗した上記のような担子菌子実体上で観察される. このような観察例はあるがキクラゲ類に対する病原性については本論文が初めての報告である.

生態的特徴と防除法の検討

温度差による *H. pseudocorticicola* の菌糸伸長を確認するため, 15, 20, 25 および 30°C の 4 区画で生長を測定したところ, 伸長速度は 25>20>15>30°C という順になり, 特に 30°C では殆ど伸長しなかった (Fig. 7). このような温度特性は Tokiwa and Okuda (2005) による初夏から秋にかけての温暖な季節に観察されるという結果と一致している. またアラゲキクラゲの施設栽培では散水や加湿により常に子実体や棚が湿った状態になりやすい. そのような環境下では *H. pseudocorticicola* の菌糸は棚上にも繁茂し, 多数の分生子を形成, さらなる病害の拡大が起こる (Fig. 8). 一般にアラゲキクラゲの栽培適温は 15–30°C とされており (大森清寿・小出博志

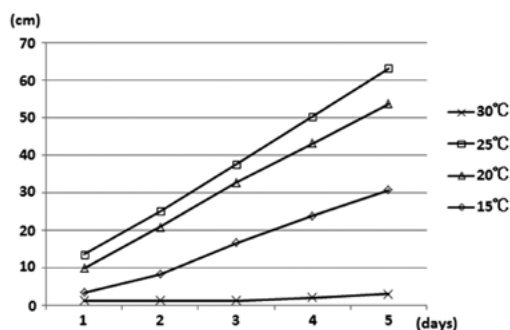


Fig. 7. Mycelial growth rate of *Hypomyces pseudocorticicola* in 4 temperature sections (15–30°C). The mycelial growth is the fastest in 25°C and the slowest in 30°C.



Fig. 8. Spread of the symptom under high humidity condition. Arrow indicates the mycelium of *Hypomyces pseudocorticicola* extends on the wet shelves, and spreads over the other fruiting bodies on the lower shelves. Brightness of this picture was changed for visibility of the extension.

2001), 本病原菌の生育適温と重複することから温度による防除は難しいが, 感染拡大を防ぐうえで恒常的な多湿状態は避けることが望ましい。アラゲキクラゲの栽培に関しては空調が完備され, 常に湿度が 100% 近くになっている施設よりも 70–100% の間で乾湿差がある簡易施設の方が収量性は良いという報告 (関谷 2015) があるが, 本病害の防除の観点からもアラゲキクラゲの栽培は簡易施設に適しており, 乾湿差をつけた栽培を心掛けることが重要である。

近年の気温上昇により, 菌床シイタケ栽培の生産者にとって夏季における温度管理の負担が大きくなりつつある。その中で栽培適温が 15–30°C と高く, 菌床シイタケ栽培と同様簡易な施設で栽培が可能なアラゲキクラゲ栽培は最近の気候変動にも即した品目であり, 夏季における菌床シイタケからアラゲキクラゲへの転作の動きは加速すると考えられる。今後, アラゲキクラゲ綿腐病を確実に防除していくことがアラゲキクラゲの国内自給率の確実な向上につながると思われる。

摘 要

アラゲキクラゲ (*Auricularia nigricans*; *A. polytricha*) は食用きのことしてよく知られているが, 日本国内で消費されるキクラゲ類の実に 97% が輸入品で占められている。一方, 近年の輸入食品の安全性に関するリスクの顕在化により, 徐々に外食産業ではアラゲキクラゲの国内生産品に回帰する動きが出始めており, 増産する傾向にある。それに伴いアラゲキクラゲの栽培において子実体上に綿毛状のカビが発生し, ついには子実体を溶解してしまう病害が問題となってきている。そのため, 本研究ではこの病害の原因菌を特定するとともに, 本病害の発生環境条件を明らかにすることによりその防除方法を提案した。この綿毛状のカビの不完全世代と完全世代の形態学的な観察結果から, このカビを *Hypomyces pseudocorticicola* Tokiwa & Okuda と同定した。また本菌の分生子を用いて病原性試験を行ったところ, 綿毛状の病徴が再現されたことから, *H. pseudocorticicola* が本病害の原因菌であると決定した。綿毛状の病徴から本病害をアラゲキクラゲ綿腐病と命名した。さらに本

病原菌の 4 温度区における菌糸伸長速度は 25>20>15>30°C という順になった。アラゲキクラゲの栽培適温は 15–30°C とされているため, 温度を制御することによる防除は難しいが, 本病害は多湿環境下で多発することから, キクラゲ類の栽培においてありがちな子実体や栽培棚が常に湿った状態が続くことを避け, 乾湿差をつけた栽培が本病防除の有効策と思われる。

引用文献

- 古川久彦・野淵輝. 1986. 栽培きのこ害虫・害虫ハンドブック, 一般社団法人全国林業改良普及協会, 東京.
- 小松光雄. 1976. シイタケに抗菌性の *Hypocrea*, *Trichoderma* および類縁菌群の研究. 菌蕈研報 **13**: 1–113.
- 中村克哉. 1982. キノコの辞典, 朝倉書店. 東京. 420p.
- 日本特用林産振興会. 2011. 特用林産物需給の推移 (<http://nittokusin.jp>). 2015 年 5 月 18 日
- 大森清寿・小出博志. 2001. キノコ栽培全科, 社団法人農山漁村文化協会. 東京. 137p.
- Põldmaa, K. and Samuels, G. J. 1999. Aphyllophoricolous species of *Hypomyces* with KOH-negative perithecia. *Mycologia* **91**: 177–199.
- Põldmaa, K. and Samuels, G.J. 2004. Fungicolous *Hypocreaceae* (Ascomycota: Hypocreales) from Khao Yai National Park, Thailand. *Sydowia* **56**: 79–130.
- Rogerson, C. T. and Samuels, G.J. 1993. Polyporicolous species of *Hypomyces*. *Mycologia* **85**: 231–272.
- 関谷敦. 2015. 九州はアラゲキクラゲ生産に適している. 九州の森と林業 **112**: 1–3.
- Sun, J. and Bian, Y. 2012. Slippery scar: A new mushroom disease in *Auricularia polytricha*. *Mycobiology* **40**: 129–133.
- Tokiwa, T and Okuda, T. 2005. Japanese species of *Hypomyces* and its anamorph III. *Mycoscience* **46**: 294–302.

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*

前田亜紗**・船戸知聖***・黒田 誠・寺島和寿・長谷部公三郎

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 Kinko115, a cultivar of *Lentinula edodes*

Asa MAEDA**, Chisato FUNATO***, Makoto KURODA, Kazuhisa TERASHIMA, Kozaburo HASEBE

Abstract

Branding of "Kinko 115", a cultivar of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*), is being carried out in several regions in Japan because it produces large and very thick-fleshed fruiting bodies with an excellent taste and good flavor. In this study, we investigated the effects of the wood-log differences in terms of place of origin, tree species (*Quercus serrata* and *Q. acutissima*), and diameter, and of inoculation methods (spawn types and depth of inoculation hole) on the fruiting body yields in log cultivation of Kinko 115. The results were as follows: (1) the origin of the logs used for the cultivation affected mushroom yields; (2) *Q. acutissima* logs gave higher total yields in the 4-year cultivation period than *Q. serrata* logs in all of the experiments, while the yields in the first year were higher in *Q. serrata* logs than in *Q. acutissima* logs when sawdust plug spawns were used; (3) in the yields per unit volume, the small-diameter logs (5 to 7 cm) gave higher yields in dry-weight than the middle- (7 to 13 cm) and very small-diameter (below 5 cm) logs; (4) for the total yield per log, the middle-diameter logs gave higher yields in dry-weight than the small- and very small-diameter logs; (5) for yield per spawn, the very small-diameter logs tended to give higher yields than the middle- and small-diameter logs in *Q. serrata*; (6) the average dry-weight of fruiting bodies produced on the middle-diameter logs tended to be larger than those on the logs of the small- and very small-diameter; (7) the inoculation methods, in which the effect of the deep hole (80 mm) with the wooden-plug spawn, and the standard depth hole (25 mm) with the sawdust and wooden-plug spawn were compared, did not significantly influence yields.

Key words: fruiting body yields, Kinko 115, *Lentinula edodes*, *Quercus acutissima*, *Quercus serrata*, shiitake mushroom, wood-log cultivation.

*菌蕈研究所研究業績，第 401 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. 401 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

**現住所：鳥取県生活環境部，〒 680-0061 鳥取市立川町 6-176, Present address: Tottori Prefectural Government, 6-176, Tachikawa, Tottori 680-0061.

***現住所：菌興椎茸協同組合，〒 680-0845 鳥取市富安 1-84, Present address: Kinko Shiitake Cooperative Association, Tomiyasu, Tottori, 680-0845

緒 言

原木栽培用シイタケ品種「菌興 115 号」は、大型で極めて肉厚な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）。一方、里山（林地）において栽培される原木シイタケの作柄や品柄は、原木の形質、栽培管理手法の違いおよび気象条件などにより大きく変動することが知られており、子実体の発生量を増大、安定させるためには、これらの要因と子実体発生量との関係を精査する必要がある。これまでに、いくつかの栽培品種について原木の形質と子実体発生量との関係を調査されており（岸本ら，1985；福田ら，1987；時本，2010）、菌興 115 号については、ブランド化が推進されている石川県において八島ら（2015）により子実体発生量と原木の径級の関係についてが報告されている。

本研究では、菌興 115 号の子実体発生量に影響すると考えられる栽培要因に関する基礎的知見を集積するために、原木の産地、樹種、径級、植菌法の異なる条件下における菌興 115 号の子実体収量を調査した。

材料及び方法

供試原木は国内の 3 産地（A，B，C）から入手したクヌギ（*Quercus acutissima* Carruth.）およびコナラ（*Q. serrata* Murray）を使用した。産地 A、産地 B および産地 C のコナラ原木の外樹皮形態は、それぞれイワ肌からフツウ肌、フツウ肌からサクラ肌、フツウ肌であり、産地 A のコナラ原木の樹皮は産地 B のそれよりも明らかに厚かった。これらの原木外樹皮形態の記載は、橋詰・脇田（1983）に従った。供試した原木の長さは 0.9 m（B）または 1 m（A，C）であった。原木の径の区分は、直径が 7～13 cm の原木を中径木、5～7 cm を小径木、5 cm 以下を極小径木とし、材積は中径木の直径を 10 cm、小径木の直径を 6 cm、極小径木の直径を 5 cm として算出した。種菌は菌興 115 号の駒菌あるいは形成菌を使用し、1 列につき 6 穴、列間が 3 cm となるように穿孔して植菌した。なお、孔の深さは形成種菌試験区

では 2.5 cm、駒種菌試験区では 3 cm、駒種菌の深植え試験区では 8 cm とした。原木産地、樹種、径級、植菌法の違いにより区分した試験区（22 試験区，20 本/試験区）を設置し（Table 1）、鳥取市広岡にある一般財団法人日本きのこセンター圃場（ヒノキ林）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。各試験区の詳細に関しては Table 1 に示す。2010 年に植菌後、2013 年までの 4 年間のほだ木 1 本ずつの収量（発生個数と乾燥重量）を調査した。

統計処理には、Excel 統計 2012 を使用し、多重比較（Tukey-Kramer 法）により解析を行った。

結果と考察

1) 原木の産地による収量の比較

産地 A と産地 B のコナラ原木を使用した場合の、1 m³ 当たりの収量（乾燥重量）を比較した結果を Fig. 1 に示した。形成種菌を植菌した 1 年ほだ木からの収量については、産地 B の原木が多かったが、4 年間の収量については、小径木・形成種菌区を除き、産地 A の原木の方が産地 B の原木よりも多い傾向が見られた。

菌興 241 号において原木産地の違いにより子実体の収量に差が認められることが報告されており（福田ら，1987）、菌興 115 号においても同様な傾向が認められた。本研究で使用したコナラ原木の外樹皮形態として、産地 A の原木はイワ肌からフツウ肌、産地 B の原木はフツウ肌からサクラ肌、産地 C の原木はフツウ肌であり、産地 A のコナラ原木の樹皮厚は産地 B のそれよりも明らかに厚かった。外樹皮が厚いと子実体原基の形成が阻害され、収量が低下することが報告されている（主計・金子，1978；福田ら，1987）。しかしながら、4 年間の収量においては、外樹皮厚が厚い A 原木を使用した試験区で、収量が多い傾向が認められた。本試験は樹高が高いヒノキ林で行ったために、外樹皮厚が薄いほだ木の方が乾燥気味となり、子実体原基の形成が阻害された可能性が考えられる。今後、外樹皮厚と水分管理の関係をより詳しく検討する必要性が示唆された。

Table 1. Experimental sections and results

Growth regions of wood-logs	Classifications of wood-logs ^a	Species	Spawn forms	Numbers of wood-logs	Wood-log volume (m ³) ^b	Numbers of inoculums	The amounts of harvested fruiting bodies per bed log		The amounts of harvested fruiting bodies per unit volume	The average dry-weight of fruiting bodies (g)	Drying yields per plug spawn (g)
							Dry weight (g)	Numbers			
A	middle	<i>Q. acutissima</i>	sawdust plug spawns	20	0.00785	42	219.8	44.0	27979.4	5.1	5.2
A	small	<i>Q. acutissima</i>	sawdust plug spawns	20	0.00283	24	117.9	33.8	41698.6	3.7	4.9
A	small	<i>Q. acutissima</i>	wooden plug spawns	20	0.00283	24	132.1	26.6	46703.1	5.2	5.5
C	middle	<i>Q. acutissima</i>	sawdust plug spawns	20	0.00785	42	280.0	76.1	35650.7	4.0	6.7
C	middle	<i>Q. acutissima</i>	wooden plug spawns	20	0.00785	42	249.9	54.0	31818.3	5.1	6.0
C	middle	<i>Q. acutissima</i>	wooden plug spawns (deep holes)	20	0.00785	42	257.8	53.5	32817.7	4.9	6.1
C	small	<i>Q. acutissima</i>	sawdust plug spawns	20	0.00283	24	137.9	35.6	48772.1	4.0	5.7
C	small	<i>Q. acutissima</i>	wooden plug spawns	20	0.00283	24	116.9	31.9	41327.2	3.8	4.9
C	very small	<i>Q. acutissima</i>	sawdust plug spawns	20	0.00196	6	31.5	10.5	16017.4	3.2	5.2
C	very small	<i>Q. acutissima</i>	wooden plug spawns	20	0.00196	6	27.6	8.5	14031.1	3.4	4.6
A	middle	<i>Q. serrata</i>	sawdust plug spawns	20	0.00785	42	130.4	27.5	16603.0	5.3	3.1
A	middle	<i>Q. serrata</i>	wooden plug spawns	20	0.00785	42	205.1	44.2	26107.8	4.7	4.9
A	middle	<i>Q. serrata</i>	wooden plug spawns (deep holes)	20	0.00785	42	177.4	37.7	22587.3	5.1	4.2
A	small	<i>Q. serrata</i>	sawdust plug spawns	20	0.00283	24	80.3	26.1	28400.3	3.2	3.3
A	small	<i>Q. serrata</i>	wooden plug spawns	20	0.00283	24	78.7	22.7	27816.7	3.4	3.3
A	very small	<i>Q. serrata</i>	sawdust plug spawns	20	0.00196	6	41.6	12.9	21161.2	3.2	6.9
A	very small	<i>Q. serrata</i>	wooden plug spawns	20	0.00196	6	36.4	9.1	18538.4	4.6	6.1
B	middle	<i>Q. serrata</i>	sawdust plug spawns	20	0.00707	42	114.9	34.7	16255.0	3.5	2.7
B	middle	<i>Q. serrata</i>	wooden plug spawns	20	0.00707	42	127.5	32.1	18030.5	4.6	3.0
B	middle	<i>Q. serrata</i>	wooden plug spawns (deep holes)	20	0.00707	42	116.6	29.6	16488.5	4.8	2.8
B	small	<i>Q. serrata</i>	sawdust plug spawns	20	0.00254	24	96.5	31.4	37902.5	3.2	4.0
B	small	<i>Q. serrata</i>	wooden plug spawns	20	0.00254	24	67.3	20.2	26447.2	4.1	2.8

^a According to the diameters, wood-logs were classified as follows: middle, 7-13 cm; small, 5-7 cm; very small, <5 cm.^b Wood log volume was calculated regarding the diameters of the middle-, small-, and very small-logs as 10 cm, 6 cm and 5 cm, respectively.

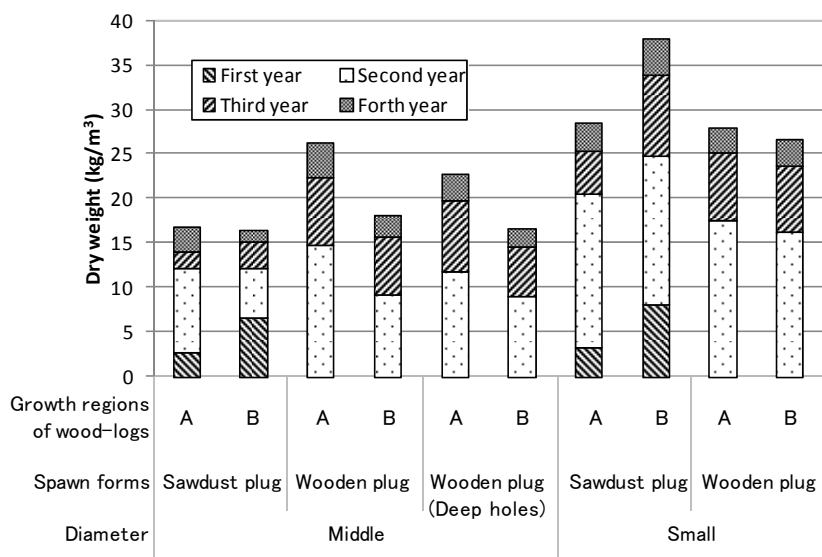


Fig. 1. The yields (dry weight/m³) of 4 years cultivation using the wood-logs of different localities.

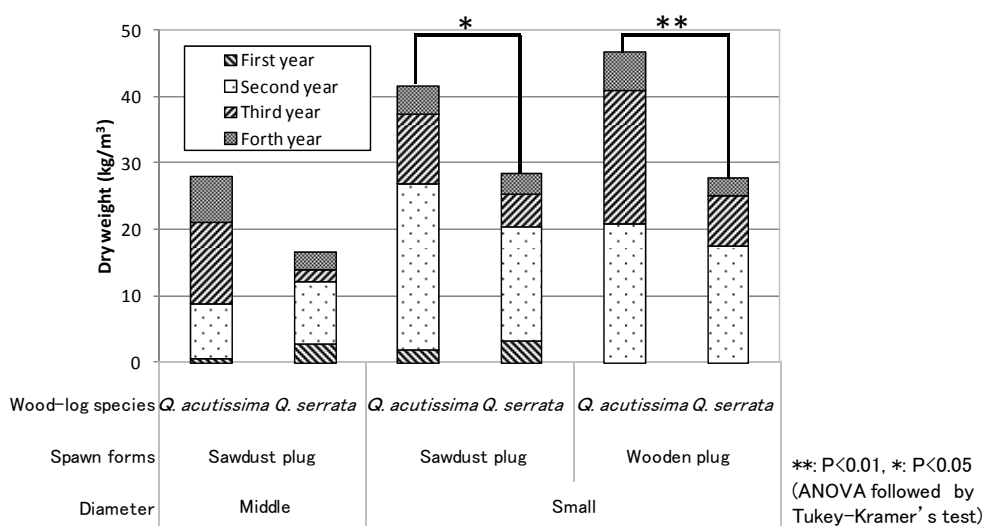


Fig. 2. The yields (dry weight/m³) of 4 years cultivation using the wood-logs of *Q. acutissima* and *Q. serrata*.

2) 樹種の違いによる収量の比較

産地 A の原木を使用した場合の、クヌギとコナラにおける 1 m^3 当たりの収量（乾重）を比較した結果を Fig. 2 に示した。原木の径、植菌法に関わらず、4 年間の収量については、クヌギがコナラよりも収量が多く、特に小径木においては、形成種菌植菌原木では 5%，駒種菌植菌原木は 1% レベルで統計的に有意な差が認められた。一方、1 年目の発生に注目すると、形成種菌を植菌したコナラの方が同クヌギよりも収量が多かった。また、予備的に行った大径木（直径 13～20 cm）を用いた試験においても同様な傾向が認められた（データ未公表）。

4 年間の収量において、クヌギがコナラよりも多かったことは、菌興 101 号、菌興 514 号の子実体発生総量はクヌギの方がコナラよりも多いという報告（岸本ら，1985）と一致する。クヌギはコナラよりも辺材率が大きく（岸本ら，1985），含まれる養分含量も多いため（時本，2010），子実体収量が高くなったと考えられる。一方、形成種菌を植菌した場合、クヌギの方がコナラよりも 1 年目の発生が少なかったが、これは、導管などの材組織構造の影響により、クヌギはコナラよりも組織内の孔隙率が小さく（岸本ら，1985），シイタケ菌の蔓延が遅くなりやすいことなどが影響し

ていると考えられ、今後検討する必要がある。

3) 径級と収量との関係

原木の産地（A, B, C），樹種（クヌギ，コナラ），植菌法（形成，駒）の条件を同一とする各試験区において、乾燥収量（原木 1 m^3 当たり、ほだ木 1 本当たり、種菌 1 個当たり）を、原木の径級区分（中径木，小径木，極小径木）ごとに比較した結果を，Figs. 3-5 に示した。また、子実体 1 個当たりの乾重を原木径級ごとに比較した結果を，Fig. 6 に示した。なお、調査期間は 2010 年～2013 年の 4 年間であったが、4 年目の極小径木からの発生は認められなかった。

径級間で 1 m^3 当たりの乾燥収量を比較した結果、比較できる全ての試験区において、小径木の収量が、中径木、極小径木よりも多かった（Fig. 3）。特に、産地 A のクヌギに形成種菌を植菌した中径木と小径木との間、産地 C のクヌギに形成種菌を植菌した小径木と中径木・極小径木との間、および駒種菌を植菌した小径木と極小径木との間、また、産地 B のコナラに形成種菌を植菌した小径木と中径木との間において統計的に有意な差が認められた。これらの結果は、コナラを用いた TMI-563 の栽培試験において、直径が小さいほど材積当たりの発生量は多いが、直径が小さす

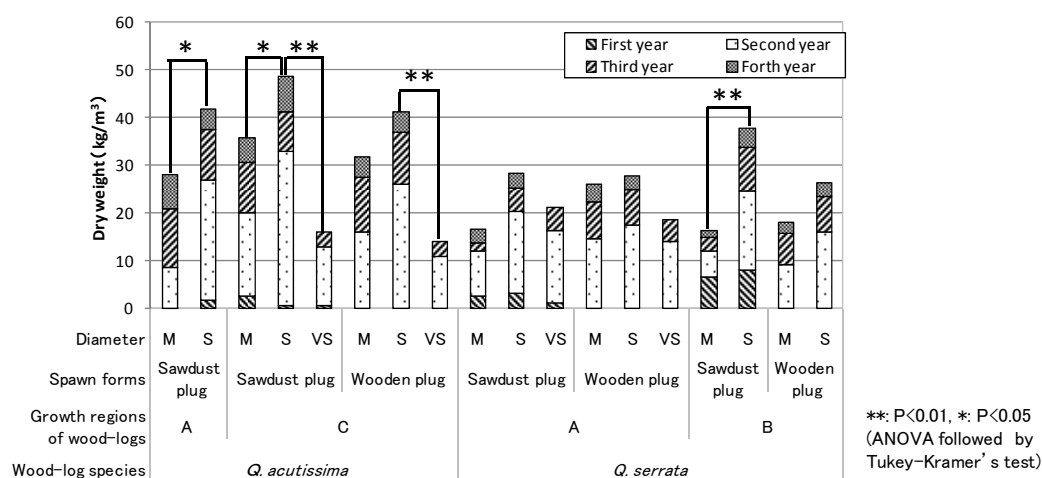


Fig. 3. The yields (dry weight/m³) of 4 years cultivation using the wood-logs of different classes. Classification of wood-logs: see Table 1. M, middle; S, small; VS, very small.

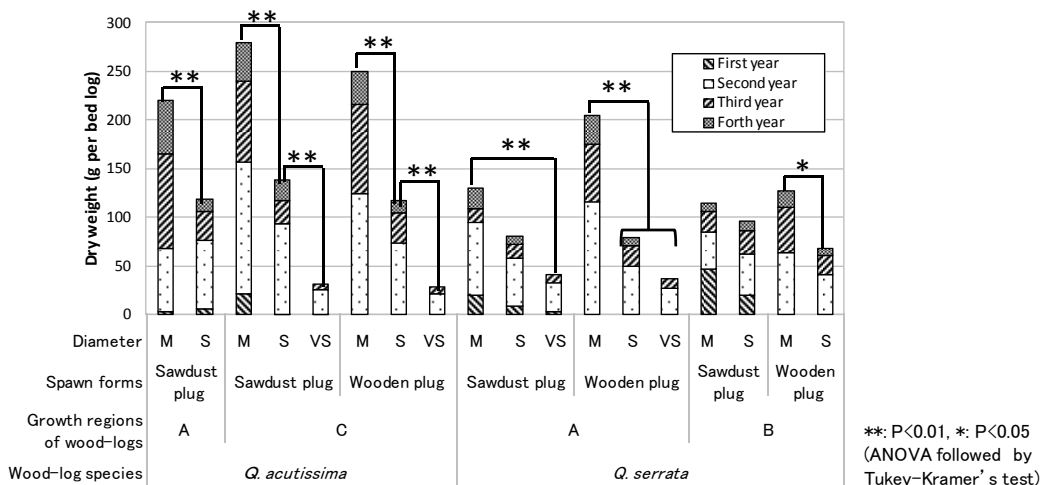


Fig. 4. The yields (dry weight) per bed log of 4 years cultivation using the wood-logs of different classes. Classification of wood-logs: see Table 1 and Fig.3.

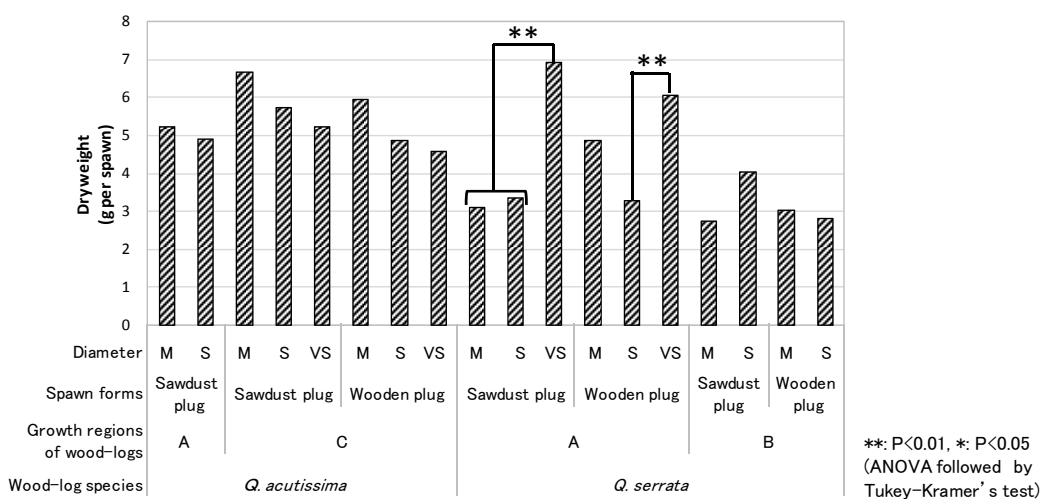


Fig. 5. The yields (dry weight) per spawn in 4 years cultivation using the wood-logs of different classes. Classification of wood-logs: see Table 1 and Fig.3.

ざる（6 cm 以下）と逆に、発生量が減少することを示した福田ら（1987）および時本（2010）の報告と一致した。本試験では、菌興 115 号の栽培において、コナラ原木だけでなく、クヌギ原木においても直径が小さすぎると発生量が減少することを示した。これは材積当たりでは小径木（7 cm 前後）の方が大～中径木よりも水溶性の窒素など養分量が多く菌糸成長が良好だが、直径が小さすぎる（6 cm 以下）と過乾燥などの弊害を受けやすく、発生量が少なくなるためと考えられる（福田ら，1987；時本，2010）。

ほだ木 1 本当たりの乾燥収量を比較した結果、全ての試験区において、原木の径が大きくなるほど収量も多かった（Fig. 4）。特に、クヌギでは全ての試験区で、コナラにおいては産地 A と産地 B の原木に駒種菌を植菌した試験区で、中径木の収量が、小径木や極小径木の収量と比べて統計的に有意に多かった。この結果は小山田ら（1979）の結果と一致しており、ほだ木 1 本当たりの養分量は径が大きい方が多いためであると考えられる（時本，2010）。

種菌 1 個当たりの乾燥収量を比較した結果、コナラ極小径木において収量が高くなる傾向が認められた（Fig. 5）。特に、産地 A の形成試験区に

おける極小径木と小および中径木との間および産地 A の駒試験区における極小径木と小径木との間で、統計的に有意な差が認められた。これらの結果は、径が小さいほど材積当たりの養分量が豊富なため（福田ら，1987；時本，2010）、シイタケ菌がよく蔓延したのと考えられる。クヌギ極小径木において、コナラと同様の結果が得られなかった原因として、クヌギはコナラと比較して樹皮面からの水分の出入りが多いため（本田ら，1981）、径級が小さいほど乾燥しやすかったことが考えられるが、今後の精査が必要である。

子実体 1 個あたりの乾重（平均 1 個乾重）について比較した結果、クヌギ・産地 C・形成試験区およびコナラ・産地 A・駒試験区を除き、原木径が大きくなるほど、平均 1 個乾重が重い傾向が認められた（Fig. 6）。特に、クヌギ・産地 C・駒試験区およびコナラ・産地 A・形成試験区においては、中径木の平均 1 個乾重が、極小径木あるいは小径木と比較して、有意に大きかった。これらの傾向は 八島ら（2015）の報告でも同様な結果が得られている。これらの結果は、径が大きい程、樹皮面積に対する材積が大きくなり、きのこ 1 個当たりの養分供給量も多くなるためと考えられる（時本，2008）。

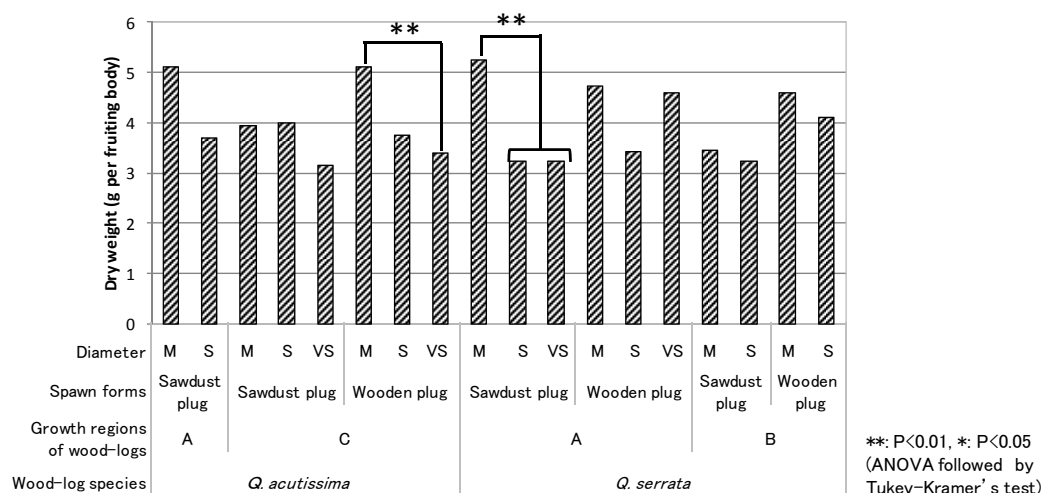


Fig. 6. Mean values of dry weight per fruiting body in 4 years cultivation using the wood-logs of different classes. Classification of wood-logs: see Table 1 and Fig.3.

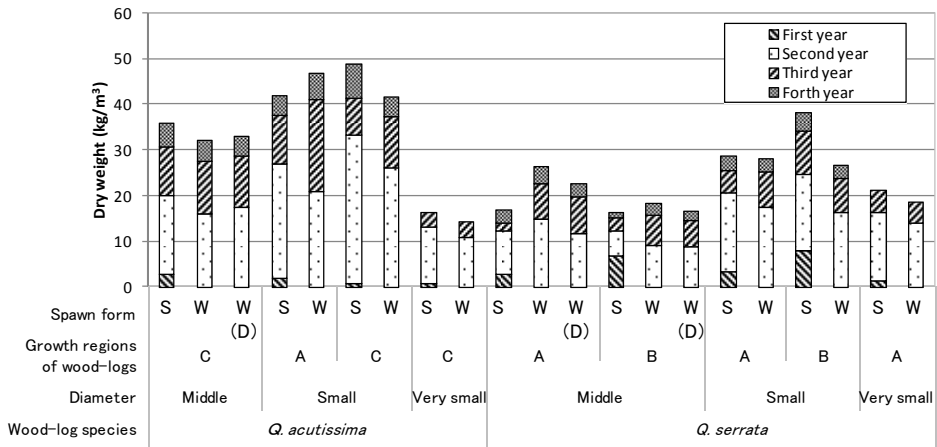


Fig. 7. The yields (dry weight/m³) of 4 years of cultivation using the wood-logs inoculated with sawdust and wooden spawn. S; Sawdust plug spawn; W; Wooden plug spawn; W (D); Wooden plug spawn (Deep hole, 8 cm depth).

なお、Figs. 3-6 に示したこれらの結果は、大径木（直径 13 ～ 20 cm）を含めた予備試験においても同様の傾向が認められた（データ未公表）。今後、大径木を用いた栽培試験において統計的処理が可能な試験区を設定し、同様な結果が得られるかを検討する必要があると思われる。

4) 植菌法の違いによる収量の比較

原木の産地（A, B, C）、樹種（クヌギ、コナラ）、径級（中径木、小径木、極小径木）の条件を同じとする各試験区において、植菌法（形成、駒、駒深植）の異なる試験区間で収量を比較した（Fig. 7）結果、植菌法と収量との間に明確な傾向は見られなかった。しかし、大径木を用いた予備試験において、駒深植区の収量は、対照区よりも、多い傾向が認められており（データ未公表）、今後、深植効果の精査が必要である。

摘 要

原木シイタケ品種「菌興 115 号」は、肉質が極めて厚く食味に優れた特徴を持つため、この品種のブランド化に向けた取組みが各地で行われている。本研究では、菌興 115 号の収量性に影響する

栽培要因に関する基礎的知見を集積するために、原木の産地、樹種、径級、植菌法（種菌の種類、植菌孔の深さ）の異なる条件における菌興 115 号の子実体発生特性を調査した。

その結果、菌興 115 号において、①原木産地が収量に影響を与えること、②形成種菌を用いた場合の 1 年目の発生では、コナラ試験区がクヌギ試験区よりも乾燥収量は多いが、4 年間では原木の径・種菌形態・植菌法を問わず、クヌギ試験区がコナラ試験区よりも乾燥収量が多いこと、③原木材積当たりの乾燥収量は、小径木試験区の方が中径木試験区および極小径木試験区よりも多いこと、④ほだ木 1 本当たりの乾燥収量は、中径木試験区が小径木試験区および極小径木試験区よりも多いこと、⑤種菌 1 個当たりの収量は、コナラ試験区では極小径木試験区が中径木試験区および小径木試験区よりも多いこと、⑥子実体の平均 1 個乾重は、中径木試験区の方が小径木試験区、極小径木試験区と比較して大きい傾向があること、⑦植菌法（種菌の種類、植菌孔の深さ）が異なる試験区間での収量性に有意な差が認められないこと、が示された。

引用文献

- 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. 菌蕈 **58**: 16-19.
- 小山田研一, 飯田達雄, 千原賢次, 松尾芳徳, 佐々木義則. 1979. シイタケ原木の採材部位に関する試験. 日林九支研論 **32**: 349-350.
- 垣田 修. 2014. 「鳥取県きのこビジョン」～きのこ王国ととりの実現を目指して～. 菌蕈 **60**: 10-17.
- 主計三平, 金子周平. 1978. シイタケ原木の特性に関する研究 (II) クヌギ原木樹皮の特性とシイタケ発生量について. 日林九支研論 **31**: 317-318.
- 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.
- 時本景亮. 2008. シイタケ原木栽培の栄養学－原木一本からのきのこの最大発生量を考える－. 菌蕈 **54**: 36-41.
- 時本景亮. 2010. シイタケ原木栽培の基礎. 日本きのこ学会誌 **18**: 131-138.
- 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.
- 橋詰隼人, 脇田嘉輔. 1983. シイタケ原木育種の基礎となるコナラ樹皮の形質の変異. 広葉樹研究 **2**: 27-40.
- 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. 菌蕈研報 **25**: 68-74.
- 本田耕吉, 古川郁夫, 作野友康, 岸本 潤. 1981. シイタケ原木としてのコナラ・クヌギの水分挙動について. 鳥大演報 **13**: 49-57.
- 八島武志, 小谷二郎, 角 正明. 2015. シイタケ子実体のサイズと原木サイズの関係について. 石川県農林セ林試報 **47**: 5-7.

Suillus glandulosus*, a bolete species new to Japan

Eiji NAGASAWA and Seikichi SATO**

Abstract

A North American bolete species, *Suillus glandulosus* is newly recorded from Japan based on collections made in mixed *Picea-Abies* forests of Hokkaido (September) . Morphological description and photographs of basidiomata in the habitat, basidiospores, and cystidia of the Japanese material are given for comparison.

Key words: boletes, fungi, *Fuscoboletinus*, morphology, mycogeography.

This brief note records a bolete species, *Suillus glandulosus* (Peck) Singer from Japan for the first time based on collections made in Hokkaido in *Picea-Abies* forests (September). The species was originally reported from New Brunswick, Canada (Peck, 1909) and since then has been known throughout northeastern North America growing under conifers, such as *Abies*, *Picea*, *Tsuga*, and *Thuja* (Both, 1993; Bessette, Roddy and Bessette, 2000, Grund and Harrison, 1976; Pomerleau and Smith, 1962; Smith and Thiers, 1971; Snell and Dick, 1970). Outside North America *S. glandulosus* has been recorded in China (Ding and Wen, 2003) and Taiwan (Cheng and Yeh, 2000).

In the following description color names and notations, such as “7E8-henna and 4A5-butter yellow” are from Kornerup and Wanscher (1967); color names in double quotation marks, such as “Dark Vinaceous” and “Dark Brick” from Rayner (1970). All specimens examined are deposited in the herbarium of the Tottori Mycological Institute (TMI).

Suillus glandulosus (Peck) Singer, Lilloa 22: 657. 1951 ('1949').

Figs. 1-3.

Boletinus glandulosus Peck, Bull. New York State Mus. 131: 34. 1909.

Fuscoboletinus glandulosus (Peck) Pomerleau & Smith, Brittonia 14: 162, pls. 3, 4. 1962.

Selected icones: Snell and Dick (1970: Pl. 12-above right).

Selected descriptions and illustrations: Bessette, Roddy and Bessette (2000: 176, 318 (color photos in the middle row) as *F. glandulosus*); Grund and Harrison (1976: 132-134; fig. 43 & pl. 34 as *F. glandulosus*); Pomerleau and Smith (1962: 162, pls. 3, 4 (upper figure) as *F. glandulosus*); Snell and Dick (1970: 26, pl. 75, fig. 5).

Pileus up to 90 mm broad, convex to conico-convex, finally nearly plane, dull subconic umbonate

* Contribution No. 402 of the Tottori Mycological Institute, 211 Kokoge, Tottori 689-1125, Japan.

**58-4, Asahimachi, Kamikawa-gun, Hokkaido 078-1761, Japan.



Figs. 1-3. Basidiomata, basidiospores, and hymenial cystidia of *Suillus glandulosus*. Fig. 1. Basidiomata in the habitat (TMI-26310). Fig. 2. Basidiospores in KOH (TMI-26311). Fig. 3. Hymenial cystidia in KOH (TMI-26311). Scale bar: 1 cm for Fig. 1; 10 μ m for Figs. 2 and 3.

at times; surface glutinous to viscid when wet, (brown) to reddish brown (7E7 to 7E8-henna, 8E7-mahogany brown to 8E8-reddish brown); context light yellow (4A5-butter yellow), unchanging. Hymenophore clearly boletinoid when mature, decurrent; tubes up to 5 mm long, brownish orange (5C6) to yellowish brown (5E7-linoleum brown, 5E8-yellowish brown) to brown (6E7-cognac, 6E8-rust brown) when mature, bright yellow when very young; pores angular, comparatively large (up to 3 mm long in radial directions, up to 2.5 mm wide), subcompound. Stipe 60-95 × 11-14 mm (at apex), up to 18 mm broad at base, equal or somewhat enlarged downward, often flexuous, annulate apically, solid; surface viscid when wet, light yellow above the annulus, more or less concolorous with the pileus below it, with appressed scaly patches, base light yellow (3A4, 5), annulus membranous, becoming gelatinized with age; context yellow (3A7-genet), unchanging when sectioned. Basidiospore deposit "Dark Vinaceous" when fresh, fading to "Dark Brick" (near 8D4 to 8E4) as drying.

Basidiospores $8.5-12 \times 4.0-5.0 \mu\text{m}$ ($n=61$: $10.2 \pm 0.8 \times 4.3 \pm 0.3 \mu\text{m}$), $l/w=2.0-2.7$ ($n=61$: 2.4 ± 0.1), in profile inequilateral with a slight suprahilar depression, at times obscurely so and appearing nearly elliptical, elliptical to elliptic-fusiform to oblong-elliptical in the front, thin-walled, nearly hyaline in KOH, yellowish or purplish brown (dextrinoid) in Melzer's. Basidia $27.2-40.0 \times 7.2-9.6 \mu\text{m}$ ($n=35$: $32.1 \pm 3.0 \times 8.3 \pm 0.8 \mu\text{m}$), 4-spored. Hymenial cystidia $48-120 \times 4.8-8.0 \mu\text{m}$ ($n=39$: $80 \pm 19.1 \times 6.4 \pm 0.8 \mu\text{m}$), mostly in bundles, frequent both in the insides and edges of tubes, protruding up to $50 \mu\text{m}$ beyond the hymenium, cylindrical to narrowly cylindric-fusiform, at times narrowly cylindric-clavate, tapering toward the base, (reddish) brown with oleiferous homogenous content in KOH, or at times hyaline with granular content, with brown encrusting material surrounding the basal portion in KOH. Caulocystidia similar to hymenial cystidia and frequent above the annulus, but absent below it. Pileipellis a collapsed ixotrichodermium, consisting of hyphae $3-6$ (-8) μm broad,

tubular, thin-walled, hyaline, Hyphae of stipe surface similar, often gelatinized. Clamp connections absent in all tissues.

Habit, habitat and distribution: Gregarious in mixed coniferous forests of *Picea glehnii* (Fr. Schm.) Masters. and *Abies sachalinensis* (Fr. Schm.) Masters. Hokkaido (Sounkyo, Kamikawa-cho). September.

General distribution: North America (Canada and U.S.A.). Asia (China and Taiwan; new to Japan).

Collections examined: HOKKAIDO: Kamikawa-gun, Kamikawa-cho, 14 Sept. 1985, S. Sato (TMI-26309); Kamikawa-cho, Peitora, 15 Sept. 1989, S. Sato et al. (E.N 89-107; TMI-26310); Kamikawa-cho, Uni-Ishikari, 14 Sept. 1995. E. Nagasawa et al. (TMI-26311).

Remarks: The glutinous to viscid, reddish brown pileus, viscid stipe, membranous annulus becoming gelatinized, boletinoid hymenophore, and the spore deposit with a purplish tint are good field characters of this species separating it from similar species. The Japanese bolete described above agrees well in its essential characters with previous descriptions and illustrations of *S. glandulosus* cited above. In Japan it may be confused with *S. grevillei* (Klotzsch: Fr.) Singer in its appearance, but the latter grows in *Larix* forests, have a hymenophore not boletinoid, and bears a brownish yellow to light brown spore print lacking purplish tints. It is interesting that Grund and Harrison (1976) observed in Nova Scotia, Canada that *S. glandulosus* often grew with or near *Gomphidius glutinosus* (Schaeff.: Fr.) Fr. and suggested a close association of the two species. We observed once such a case, when the collection TMI-26310 was collected in a *Picea-Abies* forest in Kamikawa-cho, Hokkaido.

References

- Bessette, A. E., Roody, W. C. and Bessette, A. R. 2000. North American boletes. Syracuse Univ. Press, Syracuse. 396 p.
- Both, E. E. 1993. The boletes of North America: A

- compendium. Buffalo Museum of Science, Buffalo. 436 p.
- Cheng, C. M. and Yeh, K. W. 2000. The boletes of Taiwan (XI). *Taiwania* **45**: 201-206.
- Ding, M. R. and Wen, H. A. 2003. Species of *Suillus* in China. *Mycosystema* **22**: 182-190.
- Grund, D. W. and Harrison, K. A. 1976. Nova Scotian boletes. J. Cramer: Vaduz. 283 p.
- Kornerup, A. and Wanscher, J. H. 1967. Methuen handbook of colour, 2nd ed. Methuen & Co. Ltd.: London. 243 p.
- Pomerleau, R. and Smith, A. H. 1962. *Fuscoboletinus*, a new genus of the Boletales. *Brittonia* **14**: 156-172.
- Rayner, R. W. 1970. A mycological colour chart. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey and British Mycological Society. 34 p.
- Smith, A. H. and Thiers, H. D. 1971. The boletes of Michigan. University of Michigan Press, Ann Arbor. 428 p.
- Snell, W. H. and Dick, E. A. 1970. The boleti of northeastern North America. J. Cramer, Lehre. 115 p.

摘 要

北米産のイグチ類の1種 *Suillus glandulosus* を、北海道上川町のアカエゾマツ・トドマツ混交林で採集された標本に基づいて日本新産種として報告し、アカチャヌメリイグチの和名を与えた。傘が赤褐色で著しい粘性を帯びること、管孔が多角形で放射状に配列すること（アミハナイグチ型）、柄が粘性を帯び、また、粘性な膜質のつばをもつこと、胞子紋がブドウ酒色を帯びることなどを主要な特徴とする。日本に産する種類では、外観的にハナイグチ（*S. grevillei*）に類似するが、同種はカラマツ林に発生し、管孔は放射状に配列することが無く、また、胞子紋は帯褐黄色～明褐色で紫色を帯びないなどの点で容易に区別できる。

Papers with TMI contribution numbers

No. 391

Intersterility between populations of *Lentinula edodes* from Papua New Guinea

Norihiro Shimomura, Kazuhisa Terashima, and Kozaburo Hasebe

Mycosciense **50**: 240-243, 2009.

Mating tests among strains of *Lentinula edodes* distributed in Asia-Australasia were conducted. As a result, 26 strains were classified into three groups: 2 strains from Mt. Wilhelm in Papua New Guinea (PN1 group) showed intersterility with 7 strains from Mt. Albert Edward and Mt. Kaisenik in Papua New Guinea (PN2 group) and semicompatibility (clamp formation restricted to contact zone between paired monokaryons) with 17 strains from Asia-Australasia (AA group), whereas the strains of the PN2 group showed compatibility with the AA group. These results suggest that the shiitake populations distributed in Asia-Australasia including Papua New Guinea are in the process of speciation.

Key words: geographic lineage, intersterility, *Lentinula edodes*, mating compatibility.

Contribution No.391 of the Tottori Mycological Institute. 菌草研究所研究業績 第 391 号.

No. 392

Possibility of three loci for *B* incompatibility factor in *Lentinula edodes*

Norihiro Shimomura, Yoshitaka Shimohiro, Tadanori Aimi and Kozaburo Hasebe

Mushroom Science and Biotechnology **19**: 22-24, 2011.

The genetic constitution of *B* incompatibility factors in *Lentinula edodes* was estimated by a recombination test. We isolated *B* factor recombinants in monosporous isolates from a cultivated strain from Japan and a wild strain from Papua New Guinea. By an intrastrain mating test between *B* factor recombinants, these recombinants were classified into two groups in a cultivated strain from Japan and at least four groups in a wild strain from Papua New Guinea. These results suggest that the third mating type locus, $B\gamma$, is linked to $B\alpha$ or $B\beta$ in a wild strain from Papua New Guinea and imply that a putative $B\gamma$ locus is the same in allelic specificity or absent in the two component homokaryons in a cultivated strain from Japan.

Key words: *B* incompatibility factor, *Lentinula edodes*, mating test, recombination.

シイタケの *B* 不和合性因子における 3 遺伝子座の可能性

霜村典宏・下廣慶宜・会見忠則・長谷部公三郎
日本きのこ学会誌 **19**: 22-24, 2011.

シイタケの *B* 不和合性因子組換え型菌株間の交配試験により、本因子の構成について解析した。日本産の栽培品種 1 菌株およびパプアニューギニア産野生菌株 1 菌株より *B* 不和合性因子組換え型菌株を分離した。*B* 不和合性因子組換え型菌株間の系統内交配をした結果、今回用いた日本産栽培品種では 2 群に、そしてパプアニューギニア産野生菌株では 4 群に分類できた。これらの結果から、パプアニューギニア産野生菌株の *B* 不和合性因子においては、 $B\alpha$ または $B\beta$ に第 3 の座位 $B\gamma$ が連鎖している可能性が考えられた。また、日本産栽培品種では $B\gamma$ がホモであるか、あるいは存在しない可能性があると思われた。

Contribution No. 392 of the Tottori Mycological Institute. 菌草研究所研究業績第 392 号.

No. 393

PCR-based gene marker with a high efficiency genome scanning (HEGS) system: application for distinguishing among cultivars in *Lentinula edodes*

Kazuhisa Terashima, Chisato Funato, Teruyuki Matsumoto, Asa Maeda, and Kozaburo Hasebe
World J Microbiol Biotechnol **28**: 1315-1319, 2012.

To establish a high throughput and cost-efficiency procedure for distinguishing among cultivars in *Lentinula edodes*, the polymorphism in the genes reported previously in this fungus was examined using PCR or PCR-RFLP techniques with a high-efficiency genome scanning (HEGS) system. As a result, PCR-based markers derived from eight genes (*tyr*, *cap*, *ppa*, *IGS*-RFLP, *pri B*-RFLP, *mfb C*-RFLP, *gla*-RFLP, *xy*-RFLP) showed polymorphisms among cultivars in this fungus and consequently, enabled to distinguish seventy-nine cultivars used in this study.

Key words: the shiitake mushroom, HEGS gene marker, breeder's right, premium production.

Contribution No.393 of the Tottori Mycological Institute. 菌草研究所研究業績 第 393 号.

No. 394

Intraspecific comparison of three complete mitochondrial genome sequences from the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*

Mai Morinaga, Yasuhito Okuda, Rika Takagi, Teruyuki Matsumoto and Yukitaka Fukumasa-Nakai
Mushroom Science **18**: 293-299, 2012. Proceedings of the 18th Congress of the International Society for Mushroom Science.

Mitochondria, ATP-producing organelles in cells, have their own independent genomes called the mitochondrial (mt) genome. The effects of the mt genome structure on cellular phenotype during the fruiting body formation of basidiomycetes are

presumably important; however, these effects have not been elucidated. Intraspecific variation of mt genome structures, which is indispensable information for assessing the effects of mt genome structure, has been assessed mainly by using restriction fragment length polymorphism (RFLP) patterns. Here, we used complete mt genome sequences of *Pleurotus ostreatus* isolates to examine intraspecific variation among mt genome structure among three genome types, I (accession number: AB573642), II (accession number: AB573692), and III (NC_009905), and compared this variation with that determined using RFLP patterns.

The mt genome of each *P. ostreatus* type was a circular DNA molecule ranging in size from 71 947 bp (type I) to 73 242 bp (type III). Each of the genomes contained 14 common mt genes, one ribosomal small subunit protein 3 gene, one RNA polymerase gene (only in type III), two DNA polymerase genes, and two rRNA genes. Twenty-four tRNA genes were determined to form a common set among the three types of mt genomes. The type I mt genome had two additional tRNA genes. The gene orders in each mt genome were almost identical, but each had different open reading frames (ORFs) and introns. Comparison of nucleotide sequences showed that there were many substitutions and indels in the intergenic regions. Furthermore, nucleotide sequence differences were observed in gene-coding regions, the majority of which were related to polymorphisms in amino-acid coding sequences. These results indicated both conservation of mt genome primary structure in *P. ostreatus* species and sequence polymorphisms that corresponded to the mtDNA RFLPs.

Key words: comparative genomics, genome organization, mitochondrial genome (mtDNA), *Pleurotus ostreatus*.

Contribution No. 394 of the Tottori Mycological Institute. 菌草研究所研究業績第 394 号.

No. 395

Characterization of vitamin B₁₂ compounds in the fruiting bodies of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) and bed logs after fruiting of the mushroom

Tomohiro Bito, Fei Teng, Noriharu Ohishi, Shigeo Takenaka, Emi Miyamoto, Emi Sakuno, Kazuhisa Terashima, Yukinori Yabuta, Fumio Watanabe

Mycoscience **55**: 462-468, 2014. DOI: 10.1016/j.myc.2014.01.008

This study determined the vitamin B₁₂ content in commercially available dried fruiting bodies of shiitake mushroom, *Lentinula edodes*. The vitamin B₁₂ contents in dried donko-type fruiting bodies with closed caps ($5.61 \pm 3.90 \mu\text{g}/100 \text{ g dry weight}$), did not significantly differ from those of dried koushin-type fruiting bodies with open caps ($4.23 \pm 2.42 \mu\text{g}/100 \text{ g dry weight}$). The bed logs after fruiting of the mushroom also contained the vitamin B₁₂ levels similar to that in the dried shiitake fruiting bodies. To determine whether the dried shiitake fruiting bodies and their bed logs contained vitamin B₁₂ or other corrinoid compounds that are inactive in humans, we purified corrinoid compounds using an immunoaffinity column and identified vitamin B₁₂ using vitamin B₁₂-dependent *Escherichia coli* 215 bioautograms and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC/ESI-MS/MS) chromatograms. Dried shiitake fruiting bodies rarely contained an unnatural corrinoid vitamin B₁₂[c-lactone] that is inactive in humans. Given that shiitake mushroom lacks the ability to synthesize vitamin B₁₂ *de novo*, the vitamin B₁₂ found in dried shiitake fruiting bodies must have been derived from the bed logs.

Key words: chloramine-T, cobalamin, pseudovitamin B₁₂, vegetarians, vitamin B₁₂[c-lactone].

Contribution No.395 of the Tottori Mycological Institute. 菌草研究所研究業績 第 395 号.

No. 396

Development of the specific rDNA-ITS and SSR primers to detect the ectomycorrhizal fungus *Rhizopogon roseolus* (In Japanese)

Yasuhito Okuda, Chisato Funato, Norihiro Shimomura and Teruyuki Matsumoto

Japanese Journal of Mycology **55**: 29-34, 2014.

By the comparison of sequences of rDNA-ITS (internal transcribed spacer) region and SSR (simple sequence repeat) loci from 45 isolates of *Rhizopogon roseolus*, the five specific primer sets, one rDNA-ITS primer and four SSR primers, were designed for detection of *R. roseolus*. All these primer sets amplified the specific PCR products for the total DNAs from mycelia of 45 *R. roseolus* isolates, respectively, but no amplified product was detected for the DNAs from host plant (*Pinus thunbergii*) and 16 ectomycorrhizal isolates consist of 13 species including two *Rhizopogon* species, *R. luteolus* and *R. superiorenensis*. Furthermore, target regions of these primer sets were also specifically amplified using by DNA templates from ectomycorrhizas of this fungus. Thus, the five sets of primer pair represent a potent tool for the monitoring of introduced isolates of *R. roseolus* and for molecular ecology applications.

Key words: ectomycorrhiza, molecular marker, multiplex PCR, Shoro.

外生菌根菌シヨウロの検出用特異的 rDNA-ITS および SSR プライマーの開発

奥田康仁・船戸知聖・霜村典宏・松本晃幸

日本菌学会会報 **55**: 29-34, 2014.

日本産シヨウロ 45 株の rDNA-ITS および SSR 座位領域の配列比較を行い、シヨウロに特異的な rDNA-ITS および SSR 座位増幅用プライマーセットを作製した。各プライマーにより、シヨウロ 45 株の菌糸から抽出した全 DNA すべてから特異的な PCR 増幅が認められたが、宿主クロマツや本菌と同属の 2 種を含む 13 種 16 株の外生菌根菌の全 DNA では認められなかった。シヨウロの菌

根から抽出した DNA から特異的な増幅が認められた。このことはこれらのプライマーが菌根からのショウロの検出および分子生態学的調査に利用できることを示している。

Contribution No.396 of the Tottori Mycological Institute. 菌草研究所研究業績 第 396 号。

No. 397

Development of a method for rapid strain-typing of a shiitake cultivar, Kinko 115, by high-resolution melting (HRM) analysis (In Japanese)

Asa Maeda, Kazuhisa Terashima and Kozaburo Hasebe

Mushroom Science and Biotechnology **23**: 114-119, 2015.

High-resolution melting (HRM) analysis is a closed-tube method for detecting nucleotide polymorphisms, enabling rapid genotyping. In this study, we have developed a rapid strain-typing method for Kinko 115, a premium shiitake cultivar, by HRM analysis. When HRM analyses of *tyrosinase* (*tyr*) genes of 64 shiitake cultivars were carried out, 3 cultivars including Kinko 115 could be distinguished from another 61 cultivars. After that, HRM analyses of the ribosomal intergenic spacer (IGS) region in these 3 cultivars revealed that Kinko 115 was distinguished from the other 2 cultivars. Consequently, Kinko 115 could be distinguished from other cultivars by HRM analyses of the *tyr* gene and the IGS region. Furthermore, Kinko 115 could be distinguished from the others by HRM analyses using not only purified DNA, but also crude DNA extracts from mycelia or gills of dried fruiting bodies. Thus, the HRM analyses developed in this study would be useful for rapidly and easily identifying Kinko 115.

Key words: high-resolution melting (HRM) analysis, *Lentinula edodes*, premium shiitake cultivar, strain-typing.

High-resolution melting (HRM) 解析を用いたシイタケ品種「菌興 115 号」の迅速 DNA 品種識別法の開発 (和文)

前田亜紗・寺島和寿・長谷部公三郎

日本きのこ学会誌 **23**: 114-119, 2015.

本研究では、High-resolution melting (HRM) 解析を用い、各地でブランド化が進行中である、極厚肉で食味に優れた原木シイタケ用品種「菌興 115 号」の、迅速・簡便な識別法を開発した。まず、チロシナーゼ遺伝子座の 3' 末端領域を標的として、64 品種のシイタケを解析した結果、菌興 115 号を他 61 品種と識別することができた。さらに、IGS 領域を標的として残る 3 品種の解析を行った結果、菌興 115 号を他の 2 品種と識別することができた。これらの結果から、上記 2 箇所の遺伝子領域の HRM 解析を行うことにより、菌興 115 号を他の 63 品種と区別できることが明らかになった。また、培養菌糸体および乾シイタケのヒダから粗抽出した DNA を用いても菌興 115 号を識別できることを明らかにした。以上の結果から、HRM 解析法は、菌興 115 号の迅速、簡便な検出に有効であることが示された。

Contribution No.397 of the Tottori Mycological Institute. 菌草研究所研究業績 第 397 号。

Papers without TMI contribution numbers

Luminescent *Mycena*: new and noteworthy species

Dennis E. Desjardin, Brian A. Perry, D. Jean Lodge, Cassius V. Stevani and Eiji Nagasawa
Mycologia **102**: 459-477, 2010. DOI: 10.3852/09-197.

Seven species of *Mycena* are reported as luminescent, representing specimens collected in Belize, Brazil, Dominican Republic, Jamaica, Japan (Bonin Islands), Malaysia (Borneo) and Puerto Rico. Four of them represent new species (*Mycena luxaeterna*, *M. luxarboricola*, *M. luxperpetua*, *M. silvaelucens*) and

three represent new reports of luminescence in previously described species (*M. aff. abieticola*, *M. aspratis*, *M. margarita*). *Mycena subepipterygia* is synonymized with *M. margarita*, and *M. chlorinosma* is proposed as a possible synonym. Comprehensive descriptions, illustrations, photographs and comparisons with phenetically similar species are provided. A redescription of *M. chlorophos*, based on analyses of type specimens and recently collected topotypical material, is provided. The addition of these seven new or newly reported luminescent species of *Mycena* brings the total to 71 known bioluminescent species of fungi.

Key words: Agaricales, bioluminescence, Mycenaceae, mycenoid fungi, taxonomy.

Molecular phylogenetics of porcini mushrooms (*Boletus* section *Boletus*)

Bryn T.M. Dentinger, Joseph F. Ammirati, Ernst E. Both, Dennis E. Desjardin, Roy E. Halling, Terry W. Henkel, Pierre-Arthur Moreau, Eiji Nagasawa, Kasem Soyong, Andy F. Taylor, Roy Watling, Jean-Marc Moncalvo and David J. McLaughlin

Molecular Phylogenetics and Evolution **57**: 1276–1292, 2010.

Porcini (*Boletus* section *Boletus*: Boletaceae: Boletineae: Boletales) are a conspicuous group of wild, edible mushrooms characterized by fleshy fruiting bodies with a poroid hymenophore that is “stuffed” with white hyphae when young. Their reported distribution is with ectomycorrhizal plants throughout the Northern Hemisphere. Little progress has been made on the systematics of this group using modern molecular phylogenetic tools because sampling has been limited primarily to European species and the genes employed were insufficient to resolve the phylogeny. We examined the evolutionary history of porcini by using a global geographic sampling of most known species, new discoveries from little explored areas, and multiple genes. We used

78 sequences from the fast-evolving nuclear internal transcribed spacers and are able to recognize 18 reciprocally monophyletic species. To address whether or not porcini form a monophyletic group, we compiled a broadly sampled dataset of 41 taxa, including other members of the Boletineae, and used separate and combined phylogenetic analysis of sequences from the nuclear large subunit ribosomal DNA, the largest subunit of RNA polymerase II, and the mitochondrial ATPase subunit six gene. Contrary to previous studies, our separate and combined phylogenetic analyses support the monophyly of porcini. We also report the discovery of two taxa that expand the known distribution of porcini to Australia and Thailand and have ancient phylogenetic connections to the rest of the group. A relaxed molecular clock analysis with these new taxa dates the origin of porcini to between 42 and 54 million years ago, coinciding with the initial diversification of angiosperms, during the Eocene epoch when the climate was warm and humid. These results reveal an unexpected diversity, distribution, and ancient origin of a group of commercially valuable mushrooms that may provide an economic incentive for conservation and support the hypothesis of a tropical origin of the ectomycorrhizal symbiosis.

Key words: molecular systematics, molecular clock, biogeography, Boletales, evolution, synapomorphy, partial veil, ITS, RPB1, ATP6, stuffed pores, sustainable non-timber forest product, conservation.

Taxonomic reevaluation of a fungus described as “*Mucidula mucida*” in Japan

Shuji Ushijima, Norihiro Shimomura, Eiji Nagasawa and Nitao Maekawa

Mushroom Science and Biotechnology **20**: 22–30, 2012.

In Japan, a fungus described as *Mucidula mucida* (“Japanese *M. mucida*”, Japanese name: “Numeritsubake”) was identified as *M. mucida* var. *asiatica* based

on morphological features and phylogenetic analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA. This variety differs macromorphologically from *M. mucida* var. *venosolamellata* (Japanese name: “Numeritsubatakemodoki”) mainly in that the latter possesses reticulate, anastomosed veins on the lamellae. However, mating compatibility tests between *M. mucida* var. *asiatica* (= “Japanese *M. mucida*”) and var. *venosolamellata* appeared compatible in all pairings. Furthermore, the basidiomata derived from the mating-compatible mycelia possessed intermediate macro- and micromorphological features between *M. mucida* var. *asiatica* and var. *venosolamellata*. In our molecular phylogenetic tree, the two fungi formed a clade of “Japanese *M. mucida*”/*M. mucida* var. *asiatica*/*M. mucida* var. *venosolamellata*, and specimens of the two fungi were randomly scattered within this clade. These results strongly suggest that fungi belonging to the clade should not be divided into intraspecific taxa. *Mucidula mucida* var. *venosolamellata* (= var. *asiatica*) differed from *M. mucida* var. *mucida* in their pileipellis structure, basidiospore size and ITS-based phylogenetic analysis. These differences indicate that *M. mucida* var. *venosolamellata* and var. *mucida* are different at the specific level.

Key words: mating compatibility, molecular phylogenetic analysis, morphology, *Mucidula venosolamellata*, taxonomy.

日本産ヌメリツバタケ (*Mucidula mucida*) の分類学的再検討

牛島秀爾・霜村典宏・長澤栄史・前川二太郎

日本きのこ学会誌 **20**: 22-30, 2012.

日本産ヌメリツバタケ (Japanese *M. mucida*) として知られている菌は、形態の特徴および核 rDNA の ITS 領域を用いた分子系統解析の結果, *M. mucida* var. *asiatica* と同定された。本変種は、ひだに皺を持つ日本固有種のヌメリツバタケモドキ (*M. mucida* var. *venosolamellata*) とは、肉眼的特徴に基づいて区別されてきた。しかし、両菌は交配可能であり、両菌の中間的な形態的特徴を示す

捻性な子実体を形成した。さらに、ITS 領域に基づく分子系統樹において、両菌は 1 つのクレード内に混在した。これらの結果は、両菌を *M. mucida* の種内分類群として分割すべきでないことを強く示唆する。また、日本産ヌメリツバタケ (ヌメリツバタケモドキを含む) は、担子胞子の大きさ、傘表皮組織の構造および ITS 領域を用いた分子系統解析結果において、*M. mucida* var. *mucida* とは明らかに種レベルで異なった。

The genus *Ponticulomyces* (Physalacriaceae, Agaricales) from Japan

Shuji Ushijima, Eiji Nagasawa, Hiroto Suhara, Nitaro Maekawa

Mycoscience **53**: 156-160, 2012. DOI:10.1007/S10267-011-0147-Y

Two species of the genus *Ponticulomyces* collected from Japan for the first time are described and illustrated. *Ponticulomyces kedrovayae* is characterized by its lamellae staining yellow when bruised and in age, stipe lacking an annulus and a pseudorhiza, scattered pileal hairs, and large amygdaliform basidiospores. It mainly occurs on dead wood of *Fagus crenata*. *Ponticulomyces orientalis* is characterized by its scattered pileal hairs and broadly ellipsoid to ellipsoid basidiospores. It was collected mostly on dead wood of *Cameria japonica*.

Key words: Agaricomycetidae, new geographic distribution, *Oudemansiella*, taxonomy, *Xerula*.

Productivity of the toxic substance, fasciculol E, in fruiting bodies of *Hypholoma fasciculare* and some other members of Strophariaceae (In Japanese)

Kumiko Oka, Marina Nishida, Eiji Nagasawa, Shuji Ushijima, Atsushi Ishihara and Nitaro Maekawa

Mushroom Science and Biotechnology **22**: 147-152, 2015.

The poisonous mushroom *Hypholoma fasciculare* (Japanese name: Nigakuritake), belonging to the family Strophariaceae (Basidiomycota, Agaricales), produces fasciculol E as a major toxic agent. Fasciculol E has also been reported from a few related species, but the range of species producing it is not clear. In the present study, the content of fasciculol E in fruiting bodies of *H. fasciculare* and related species in the family Strophariaceae was analyzed by UPLC/MS/MS. The results revealed that all species of *Hypholoma* examined in this study stably produce fasciculol E. Moreover, a very small amount of the toxin was detected from several species belonging to the genera *Pholiota* and *Stropharia*. Of these, some species are known as edible mushrooms, but the amount contained in their fruiting bodies was much lower than the LD₅₀ values of fasciculol E. Phylogenetic analysis using the internal transcribed spacer (ITS) region sequences suggests that the productivity of fasciculol E is correlated with phylogenetic distance from *H. fasciculare* within the family Strophariaceae.

Key words: fasciculol E, *Hypholoma fasciculare*, phylogenetic analysis, Strophariaceae, UPLC/MS/MS.

ニガクリタケおよびモエギタケ科属種子実体における毒成分ファシキュロール E の生産性 (和文) 岡久美子・西田麻理奈・長澤栄史・牛島秀爾・石原 亨・前川二太郎
日本きのこ学会誌 **22**: 147-152, 2015

モエギタケ科に所属する *Hypholoma fasciculare* (ニガクリタケ) は毒きのこであり、主要な毒成分としてファシキュロール E を生産する。これまでに本種以外のきのこ種子実体にもファシキュロール E が含まれていることが報告されているが、詳細な調査は行われていなかった。そこで本研究では、*H. fasciculare* およびモエギタケ科属種子実体におけるファシキュロール E の含有量を調査した。その結果、供試した *Hypholoma* 属種の子実体すべてよりファシキュロール E が検出され、本属の近縁属である *Pholiota* 属や *Stropharia*

属種のいくつかの子実体中においても極めて少量であるが検出された。検出された子実体には食用きのこの種も含まれていた。さらに、分子系統解析の結果、ファシキュロール E 生産性はモエギタケ科内の *Hypholoma* 属との系統的類縁性と密接に関係していることが示唆された。

A new species of *Dactylosporina* (Physalacriaceae, Agaricales) from Japan

Shuji Ushijima, Eiji Nagasawa, Shiro Kigawa, Nitaro Maekawa

Mycoscience **56**: 10-13, 2015. DOI: 10.1016/j.myc.2014.01.012

Dactylosporina brunneomarginata sp. nov., belonging to the family Physalacriaceae (Agaricales) is described and illustrated. This fungus differs from previously described species of *Dactylosporina* macroscopically by its viscid pileus and stipe surface when wet, the lamellae with dark brown edges, and microscopically by its gloeocystidioid pileo-, cheilo-, and caulocystidia with olive to yellow-brown oily content. This is the first report on *Dactylosporina* from Asia.

Key words: Agaricomycetidae, echinulate basidiospores, taxonomy, *Xerula/Oudemansiella* complex.

Relationship between *Panus lecomtei* and *P. strigellus* inferred from their morphological, molecular and biological characteristics

Ruby Vargas-Isla, Marina Capelari, Nelson Menolli Jr., Eiji Nagasawa, Keisuke Tokimoto, Noemia Kazue Ishikawa

Mycoscience **56**: 561-571, 2015. DOI: 10.1016/j.myc.2015.05.004

Panus strigellus was first recorded in Amazonas State of Brazil. This edible mushroom has macroscopic characteristics similar to those of *P. lecomtei*. In this

study, we used evidence obtained from a morphological comparison, molecular analyses and mating tests to clarify the taxonomic status of *P. strigellus* and show differences compared to the sympatric species of *Panus*. In addition, this paper discusses and reports some morphological characteristics of *P. strigellus*. The tetrapolar mating system of *P. strigellus* and the incompatibility between *P. lecomtei* and *P. strigellus* was confirmed. The geographical distributions of both species in the Americas are presented.

Key words: edible mushroom, *Lentinus strigellus*, *Lentinus strigosus*, *Panus rudis*.

Identification and symbiotic ability of Psathyrellaceae fungi isolated from a photosynthetic orchid, *Cremastra appendiculata* (Orchidaceae)

Takahiro Yagame, Eriko Funabiki, Eiji Nagasawa, Toshimitsu Fukiharu and Koji Iwase
Am. J. Bot. **100**(9): 1823-1830, 2013. DOI: 10.3732/ajb.1300099

- Premise of the study: Photosynthetic orchids found in highly shaded forests are often mixotrophic, receiving part of their carbon energy via ectomycorrhizal fungi that had originally received carbohydrate from trees. A photosynthetic orchid, *Cremastra appendiculata*, is also found under highly shaded forest, but our preliminary data suggested that its associated fungi were not ectomycorrhizal. We tested whether their relation is an unusual example of a mixotrophic orchid associating with saprotrophic fungi by direct detection of fungal DNAs in conjunction with isolation of the fungus in pure culture and experimental inoculation of orchid seeds with the fungus.

- Methods: For isolated mycobionts of *C. appendiculata* plants, two regions of nuclear ribosomal DNA, the internal transcribed spacer (ITS) and the large subunit (LSU), were sequenced, and fruiting

bodies of the one isolate, SI1-1 were induced. In addition, two fungal isolates, SI1-1 and KI1-1, were grown in symbiotic cultures with *C. appendiculata* to verify their status as mycobionts.

- Key results: In phylogenetic analyses, all isolates clustered with fungi belonging to *Coprinellus* in Psathyrellaceae of Agaricales. Phylogenetic analyses of these DNA sequences showed that five fungal isolates from *C. appendiculata*, including SI1-1 and two mycobionts isolated from the mycoheterotrophic orchid *Epipogium roseum*, have very similar ITS sequences. Isolate SI1-1 was identified as *Coprinellus domesticus* based on the morphological characteristics of the fruiting body. Isolates SI1-1 and KI1-1 induced seed germination of *C. appendiculata* as mycobionts.

- Conclusions: This report is the first of a mycorrhizal symbiosis between a fungus in Psathyrellaceae and a photosynthetic orchid, revealing a new pathway to full mycoheterotrophy and contributing to our understanding of the evolution of mycoheterotrophy.

Key words: *Coprinellus domesticus*, mycorrhizal symbiosis, Orchidaceae, photosynthetic orchids, saprobic fungi.

A comparison of dried shiitake mushroom in log cultivation and mycelial cultivation from different geographical origins using stable carbon and nitrogen isotope analysis (In Japanese)

Yaeko Suzuki, Rumiko Nakashita, Noemia Kazue Ishikawa, Akiko Tabuchi, Emi Sakuno and Keisuke Tokimoto
Bunseki Kagaku **64**(12): 859-866, 2015.

We determined carbon and nitrogen isotopic compositions ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of dried shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) samples from Japan, China, South Korea and Brazil in order to discriminate their geographical origins. In log cultivation, the $\delta^{13}\text{C}$ values of Japanese dried shiitake samples were lower than those of Chinese samples, depending on the $\delta^{13}\text{C}$ values

of log and their growth conditions. In mycelial cultivation, the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of Japanese dried shiitake samples were higher than those of Chinese samples. By using the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values, 87.4% of Japanese dried shiitake samples ($n = 95$) and 87.9% of Chinese dried shiitake samples ($n = 66$) in log cultivation, 90.0% of the Japanese dried shiitake samples ($n = 50$) and 93.9% of Chinese dried shiitake samples ($n = 114$) in mycelial cultivation, were correctly classified according to the production site. These results suggested that the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values will be potentially useful for tracing their geographical origin of dried shiitake samples.

Key words: geographical origin, stable isotope ratio, *Lentinula edodes*, Mushroom.

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産地間比較 (和文)

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

分析化学 **64**: 859-866, 2015

原木栽培及び菌床栽培の乾シイタケについて、炭素・窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) を用いて、栽培方法及び産地判別の可能性を検証した。原木栽培乾シイタケは、国産は中国産よりも $\delta^{13}\text{C}$ は低く、 $\delta^{15}\text{N}$ は高い傾向が得られ、韓国産は国産と中国産の中間的な値を示した。菌床栽培乾シイタケは、国産は中国産よりも $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ が高い傾向を示した。ブラジル産については、原木栽培品・菌床栽培品ともにほかの地域よりも $\delta^{15}\text{N}$ が高い特徴が得られた。国産・中国産の乾シイタケについて、炭素・窒素安定同位体比分析を行い、産地判別の可能性を検証した結果、原木栽培の正答率は、国産 87.4%, 中国産 87.9%, 菌床栽培の判別率は、国産 90.0%, 中国産 93.9% となった。以上より、原木栽培及び菌床栽培の乾シイタケの $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ は、栽培方法及び産地によって特徴的な分布を示し、中国産と国産については産地判別の可能性が示唆された。