

機能性を強化したきのこの成分育種及び栽培技術の開発

—ヤマブシタケ—

増野和彦・松瀬収司*・高木 茂

ヤマブシタケ子実体中に存在することが分かっている、神経成長因子 (nerve growth factor, NGF) 誘導促進物質の一つであるヘリセノン類の含有量を高める成分育種を図ったところ、以下の結果を得た。①ヤマブシタケ子実体におけるヘリセノン類含有量の効率的な定量方法を確立した。②栽培条件によってヘリセノン類含有量に差が生じるものの、既往の栽培技術をヘリセノン類含有量評価の標準的な栽培方法としてもよいことが示唆された。③ヘリセノン類含有量が多く、収量の優れた菌株を優良素材として選抜した。

キーワード：ヤマブシタケ、ヘリセノン類、成分育種

1 緒言

森林総合研究所交付金プロジェクト I の一環として、森林総合研究所きのこ・微生物研究領域・同九州支所、北海道立林産試験場、三重県科学技術振興センター、福岡県森林林業技術センター、静岡大学農学部、九州大学大学院農学研究院及び長野県林業総合センターが参加して平成 16 年度～18 年度に実施した。

機能性を強化したきのこ品種を中山間地のきのこ栽培に導入し、低価格・量産の外国産や大手企業産との差別化を図り、安全で良質な国産きのこの地産地消型の持続的生産・安定供給の体制づくりを目的とする。ブナシメジ、ハタケシメジ、ヤマブシタケ、マンネンタケなどのきのこ特有の各種機能性成分を高める成分育種及び栽培技術の開発、生シイタケの免疫多糖含量を高める栽培技術の開発、嗜好に応じて乾シイタケのニオイ成分量を制御できる栽培技術の開発を行う。

このうち、長野県林業総合センターは静岡大学農学部河岸洋和教授との共同により、ヤマブシタケに関して研究を実施した。ヤマブシタケ子実体には、神経成長因子 (nerve growth factor, NGF) 誘導促進物質の一つであるヘリセノン類が存在することが明らかにされている¹⁻³⁾。さらに、臨床試験において、半年間乾燥ヤマブシタケを接種することによって老年認知症患者の病状改善が認められている⁴⁾。本研究では、ヤマブシタケについてヘリセノン類の含有量の高い品種を育成するとともに、育成した品種に適した栽培技術の開発を行う。

2 研究の方法

2.1 供試菌株

長野県林業総合センター保存の野生株 11 系統 (Y1～Y11)。

2.2 栽培方法

培地は、ブナオガコと栄養材を容積比で 10:2 の比率で配合し、含水率 63%、培地重量 600g とした。培養は 20℃18 日間、発生は湿度 95%以上で行った。

2.3 ヘリセノン類の定量方法

収穫したそれぞれの子実体は目的に応じて、凍結真空乾燥あるいは熱風乾燥した。凍結乾燥は、採取した子実体を-35℃で予備凍結後、-45℃において 4 日間凍結真空乾燥器で行った。熱風乾燥は、送風式乾燥機で 40℃50℃60℃各 24 時間行った。

静岡大学におけるヘリセノン類の抽出および定量の手順は以下のとおりである。

《抽出方法》試料 (乾燥粉末ヤマブシタケ) 1g をクロロホルム 10ml 中でスターラーを用いて 1 時間攪拌し、吸引ろ過した。次に、抽出液にシリカゲル (関東化学:シリカゲル 60N (球状、中性)) 1g を加えスターラーを用いて 30 分間攪拌し、吸引ろ過して、Hericenone 抽出液を得た。HPLC に供する際は、メンブランフィルター (0.50 μm) で抽出液をろ過し、エバポレーターで濃縮乾固させ重量を測定した後で、クロロホルム 1ml に溶解した。

《検量線の作成》Hericenone C, D, E, F および G をメタノールに溶解し、0.02、0.01、0.005、0.0025、0.00125 mg/ml の希釈系列を作り、各濃度を HPLC に供した。得られた各濃度の Hericenone C, D, E, F および G のピーク面積から、検量線を作成した。

*元長野県林業総合センター特産部長

2.4 系統、栄養材、乾燥方法とヘリセノン類含有量

これまでに収集した野生株 11 系統について、栄養材に 3 種類(スーパーブラン、コーンブラン、フスマ) を用いて栽培試験を行った。収穫したそれぞれの子実体を凍結真空乾燥した場合と熱風乾燥した場合について、ヘリセノン類の定量を行った。

2.5 子実体の発生ステージとヘリセノン類含有量

野生株 3 系統 (Y1、Y5、Y6) について、子実体の発生ステージを 4 段階 (表-1、写真-1) に分け、発生ステージ別のヘリセノン類含有量の定量を行った。収穫したそれぞれの子実体を凍結真空乾燥した後、定量に供した。

表-1 発生ステージの基準

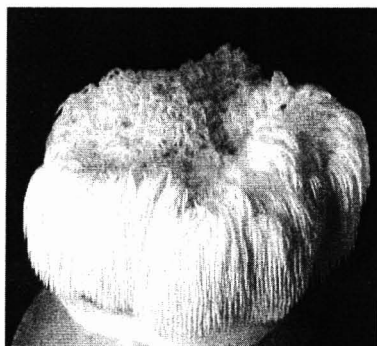
発生ステージ	状態
1	ビンロより上に菌塊が生長し、針の形成が始まった状態
2	針が伸長してきたが、針の長さが15mm未満の状態
3	針の長さが15mm以上22mm未満、胞子の落下前の状態
4	針の長さが22mm以上で、胞子の落下が始まっている状態



ステージ 1



ステージ 2



ステージ 3



ステージ 4

写真-1 発生ステージ

2.6 子実体発生温度とヘリセノン類含有量

野生株 3 系統 (Y1、Y5、Y6) について、子実体の発生温度を 10℃、14℃、18℃の 3 段階に分け、発生温度別のヘリセノン類含有量の定量を行った。収穫したそれぞれの子実体を凍結真空乾燥した後、定量に供した。

2.7 交配による系統の作出と交配株のヘリセノン類含有量

栽培試験及びヘリセノン類の定量結果から野生株 4 系統 (Y1、Y5、Y6、Y9) を選定して、単胞子分離により一核菌糸体を取得した。取得した一核菌糸体の交配により系統を作出した。

交配株について、栽培条件とヘリセノン類含有量の検討結果により、ヘリセノン類含有量評価の標準的な方法として妥当と判断された栽培条件を用いて栽培試験を行い、収量調査と採取した子実

体の系統別のヘリセノン類含有量の定量を行った。収穫したそれぞれの子実体を凍結真空乾燥した後、定量に供した。

3 結果と考察

3.1 ヤマブシタケ栽培条件とヘリセノン類含有量について

系統、栄養材、乾燥方法、発生ステージ、発生温度と子実体のヘリセノン類含有量の関係についてそれぞれ検討した結果、これらの条件の相違により、ヘリセノン類含有量に差が生じることを確認した(図1~4)。

ヤマブシタケの菌床栽培条件については、長野県林業総合センターにおける既往の成果⁵⁾として、栄養材はスーパーブランを用いると収量性に優れ、発生温度は10~12℃の低温域が子実体の形状を整えるのによいことが明らかにされている。当該研究における目的であるヘリセノン類を高含有する系統の育成にとって、有効成分含有量の安定性を確保することが重要な課題である。栽培条件によってヘリセノン類含有量に差が生じるものの、これまでに検討した栽培条件とヘリセノン類含有量の関係を総合的にみて、既往の栽培技術をヘリセノン類含有量評価の標準的な栽培方法として採用しても大きな問題のないことが示唆された。そこで、作出したヤマブシタケのヘリセノン類含有

量を定量する際の標準的な栽培方法として以下の条件を採用することとした。

培地組成；ブナオガコ：スーパーブラン=10：2(容積比)、含水率63%、培養；20℃18日間、発生；12℃、収穫；発生ステージ3。

3.2 交配による系統の作出と交配株のヘリセノン類含有量の定量

選定した野生株4系統について単孢子分離を行い、それぞれ一核菌糸体を取得した。これらの一核菌糸体の交配により、各系統内の自殖系統、各系統間の他殖系統を分離し系統を作出した。

表-2 に単孢子分離の際の孢子発芽率を示したが、最大の系統でも0.283%と低かった。

自殖系交配株について栽培試験を行い、収量を調査するとともに、収穫した子実体についてヘリセノン類含有量を定量した。結果を図-5~6 に示した。菌株名「Y6④-4」は、子実体中のヘリセノン類含有量がサンプル100g当り744.3mg有り、栽培条件とヘリセノン類含有量の検討結果で、最もヘリセノン類の多かった野生株の含有量サンプル100g当り199.1mgの3.7倍であった。また、この菌株は1ビン当り127gの収量があり、現在実用化して使用されている菌株と同等の収量性を持っていた。これらの結果から、交配株1系統を優良育種素材として選抜した。

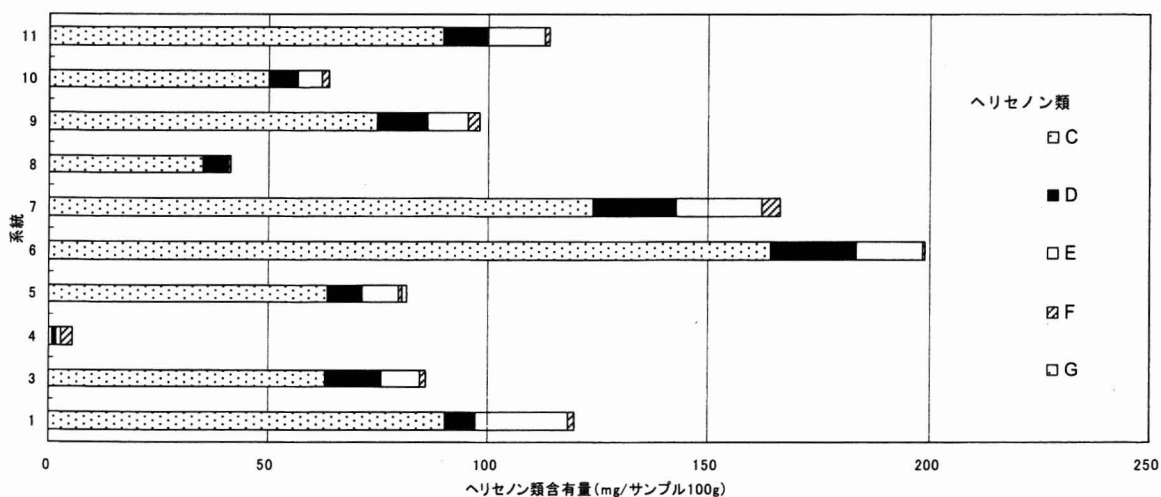


図-1 系統とヘリセノン類含有量 (スーパーブラン・凍結乾燥)

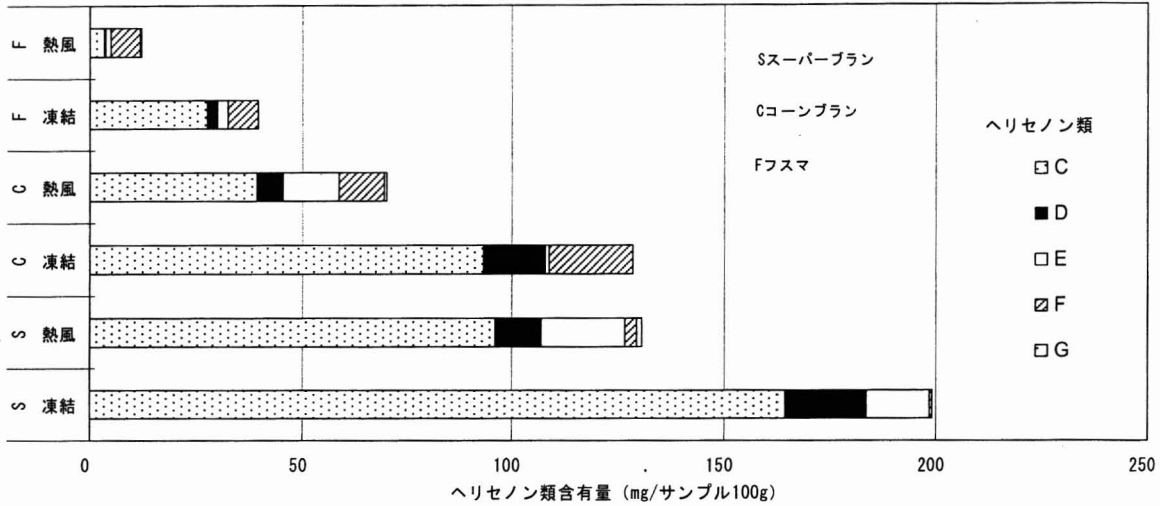


図-2 栄養材、乾燥方法とヘリセノン類含有量 (Y6)

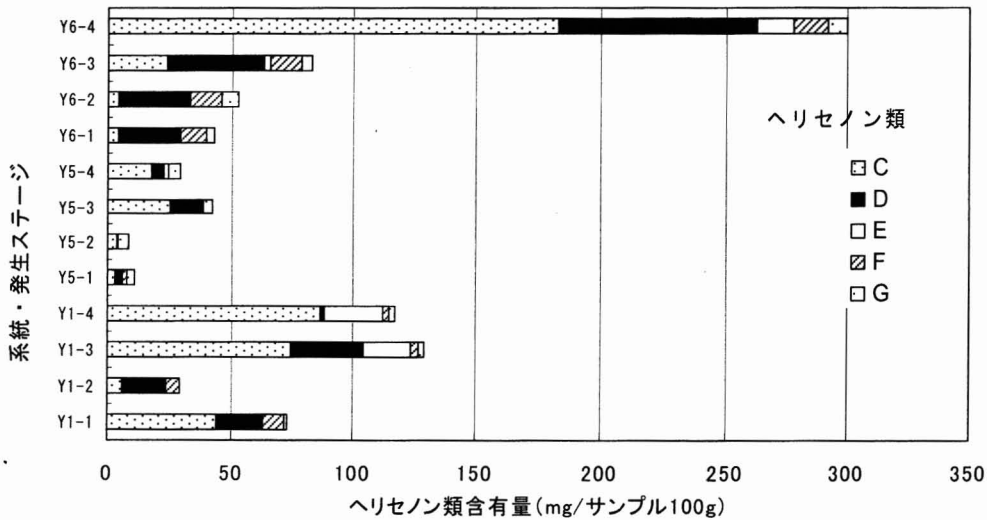


図-3 発生ステージとヘリセノン類含有量

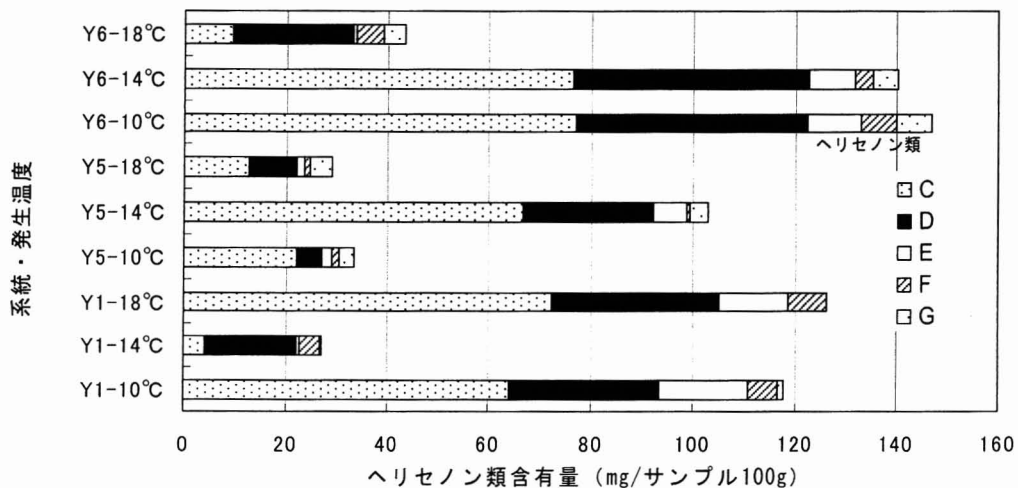


図-4 発生温度とヘリセノン類含有量

表-2 ヤマブシタケ孢子発芽率

系統	孢子発芽率 (%)
Y 1	0.014
Y 5	0.283
Y 6	0.014
Y 9	0.167

胞子液塗布後14日間

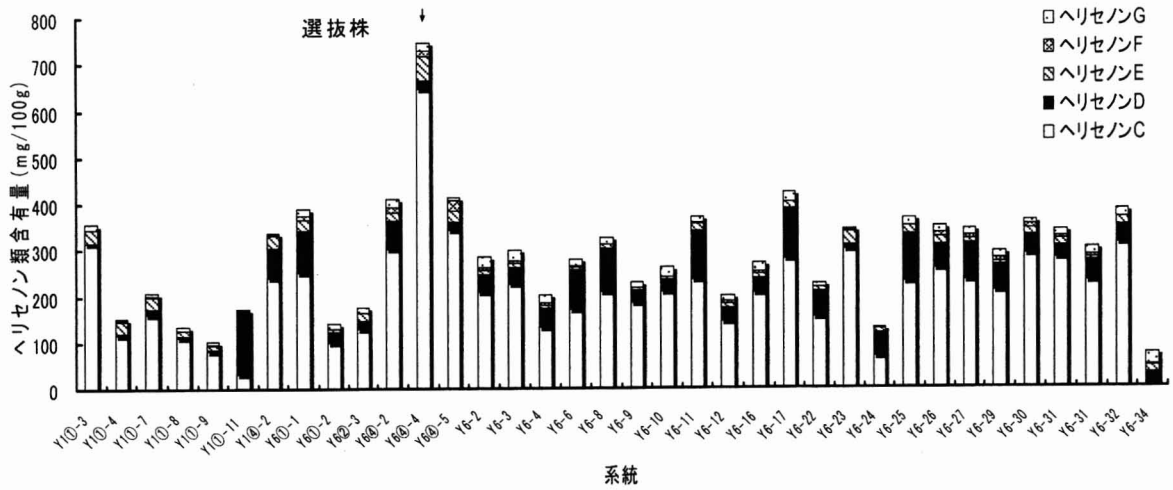


図-5 ヤマブシタケ交配系のヘリセノン類含有量

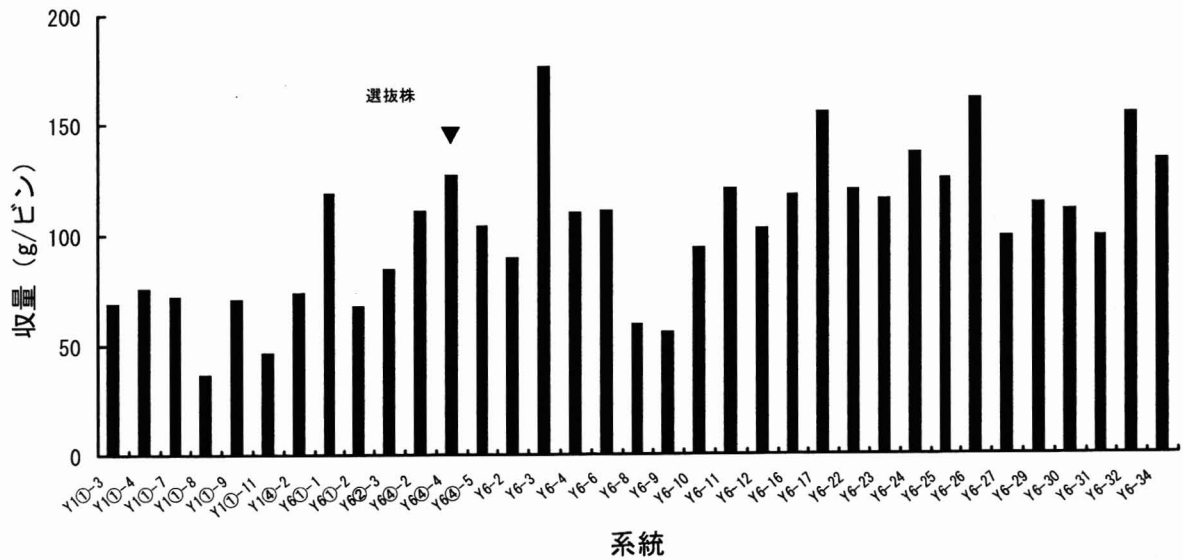


図-6 ヤマブシタケ交配株の収量

4 結言

栽培きのこの主要品目であるエノキタケ、ブナシメジ、ナメコなどの市場単価は、産地間競争の激化に伴う供給過剰により、近年下落傾向が続いている。中小規模の生産者にとっては、コストの削減などによる経営改善にも限界がみられるようになった。そのため、きのこ生産の高付加価値化が必要になり、製品の差別化のため、機能性が高く特徴にあるきのこの生産技術の開発が求められる。

当該プロジェクトでは、参加機関それぞれにシイタケ、ブナシメジ、ハタケシメジ、マンネンタケ、ヤマブシタケなどの持つ機能性に着目して、機能性成分を増加させる育種及び機能性を高める栽培技術の開発に取り組んだ。

当センターにおいては、これまでに栽培技術を開発し、神経成長因子誘導促進物質であるヘリセノン類を子実体を含むことが判明しているヤマブシタケを対象とした。ヘリセノン類の定量技術の開発及び定量を共同研究者である静岡大学農学部河岸洋和教授が担当し、育種、栽培、試料の調製を長野県林業総合センターが行った。

その結果をまとめると以下のとおりである。

①ヤマブシタケ子実体におけるヘリセノン類含有量の効率的な定量方法を確立した。

②栽培条件によってヘリセノン類含有量に差が生じるものの、既往の栽培技術をヘリセノン類含有量評価の標準的な栽培方法として採用しても大きな問題のないことが示唆された。

③ヘリセノン類含有量が多く、収量の優れた菌株を優良素材として選抜した。

今後は、作出された優良育種素材をもとにして、生産現場への普及のために現地適応性の検定を進めていく。

5 謝辞

当該プロジェクトの遂行に当り、研究主査の石原光朗博士（森林総合研究所きのこ・微生物研究領域長）、外部評価委員の福井陸夫氏（全国食用きのこ種菌協会技術顧問）、参加機関の近藤隆一郎教授（九州大学大学院農学研究院）を始め、プロジェクトメンバーより多大なご示唆・ご助言を頂戴したことに深く感謝し、御礼申し上げます。

6 引用文献

- 1) 河岸洋和(2005), ヤマブシタケ, 「きのこの生理活性と機能」, シーエムシー出版, 240-247
- 2) Kawagishi, H. et al. (1991), Hericenones C, D and E, stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mushroom *Herichium erinaceum*, *Tetrahedron Lett*, 32, 4561-4564
- 3) Kawagishi, H. et al. (1993), Chromans, hericenones F, G and H from the mushroom *Herichium erinaceum*, *Phytochemistry* 32, 175-178
- 4) 笠原浩一郎ら(2001), ヤマブシタケの高齢障害者への効用, 群馬医学別冊, 77-81
- 5) 増野和彦(2002), ヤマブシタケの特性とその栽培法, 日本応用きのこ学会第6回大会講演要旨集, 17-20