

報 文

培養中のLED照射がシイタケ子実体のエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響^{*1}彌田涼子^{*2}・石原弘基^{*2}・十時しおり^{*2}・大賀祥治^{*3,4}

彌田涼子・石原弘基・十時しおり・大賀祥治：培養中のLED照射がシイタケ子実体のエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響 九州森林研究 73：147－149，2020 シイタケでは，二次培養中の菌床に青色LEDを照射すると，培養期間短縮や品質向上の効果があることが報告されている。さらに，ヌメリシイタケでは，芽だし後の栽培ビンに青色LEDを照射すると子実体のエルゴチオネイン含有量が増加することが報告されている。そこで，培養期間短縮及び機能性成分の一種であるエルゴチオネインの増加を目的として，二次培養中のシイタケ菌床に紫色（398 nm）または青色（452 nm）のLEDを照射する試験を行った。初回発生子実体のエルゴチオネイン含有量は，LEDを照射すると，照射なし及び蛍光灯を照射した場合より増加する傾向がみられ，培養中のLED照射が子実体の機能性成分含有量に影響することが示唆された。

キーワード：シイタケ，エルゴチオネイン，LED

I. はじめに

1988年の生鮮きのこ類の国内生産量は，238千tであり，そのうち34.7%が生シイタケであった。その後，エノキタケやブナシメジ，エリンギなどの生産量が増加したことにより，生鮮きのこ類の国内生産量は増加し，2009年には430千tを越え，2018年の生産量は447千tとなっている。一方，生シイタケ生産量は1988年以降，83千～64千tの間を推移しており，近年の生シイタケの割合は15～16%に低下している（農林水産省，2018）。

また，近年，菌床輸入量が急激に増加している。2010年の菌床輸入量は，4,645tであったが，2014年には10,218tと1万トンを超え，さらに2018年には21,584tと2万トンを超えた。菌床重量の3分の1の生シイタケが発生したと仮定して換算すると，2018年の輸入量は生シイタケ7,195tに相当し，国内生産量の約1割となる（財務省，2019）。

こうした状況にあつて，菌床シイタケの生産コストの削減や付加価値の向上は重要な課題である。菌床シイタケ栽培では一定の培養期間が必要であるが，培養期間の短縮は生産コストの削減に有効であり，年間生産回数増加による生産量の増加，需要期に合わせた増産など，生産性の向上にも寄与できる。

担子菌の子実体形成には近紫外から青色の光が有効とされており（北本・鈴木，1992），培養中のシイタケ菌床に青色LEDを照射すると，培養期間短縮や品質向上の効果があることが示されている（阿部ほか，2014）。しかし，培養中の光照射が子実体の成分含有量に及ぼす影響について，調査した事例はない。

一方，いくつかのキノコでは芽だし後の栽培ビンに異なる波長のLEDを照射すると子実体の機能性成分含有量に影響があり，ヌメリシイタケでは青色LED（470 nm）の照射により子実体傘部のエルゴチオネイン含有量が他の3色（白，赤，緑）のLEDを照射した場合より有意に多くなったとの報告がある（田淵ほか，

2016）。

そこで，培養期間の短縮と機能性成分の一種であるエルゴチオネインの増加を目的として，培養中の菌床に紫色または青色のLEDを照射する試験を行った。初回発生子実体のエルゴチオネイン含有量について報告する。

II. 材料および方法

1. 供試菌

市販の森XR1号（以下，XR1）及び北研607号（以下，607）のオガクズ種菌を用いた。

2. XR1の培地調製及び培養

培地基材は，県内の生産者が使用している株式会社ウッドミル（大分県国東市）のものとし，クヌギチップ（6 mm以下）とクヌギオガコ（1 mm以下）を容積比2：1で混合して用いた。栄養体は，米ぬかとふすまを容積比1：1の割合で混合し，1菌床あたり246 gまたは286 g添加した。培地含水率55%または56%に調整した培地を，自動袋詰め機（徳真電機工業，ST-PM）により菌床袋に充填し，20 cm×12 cm×13 cmの角形に成型した。培地重量は3.0 kgまたは3.2 kgであった。充填後の培地は，118℃，40分殺菌し，放冷後に種菌を1菌床あたり15 ml接種した。接種後は袋の上部を溶着し，温度22℃，湿度70%で一次培養を行った。一次培養は，種菌を接種した面を上向きにした状態（以下，縦置き）で行った。菌糸が培地全体に蔓延するまで，31日または32日間培養した後，菌床を二次培養に移行した。二次培養は，一次培養と同一の条件で培養し，照射条件と培養日数で試験区を設定した。

3. 607の培地調製及び培養

培地基材は，県内の生産者が使用している有限会社鳩野建設（熊本県小国町）のクヌギチップとし，規格は8 mm以下とした。

^{*1} Yada,R., Ishihara,H., Totoki,S. and Ohga, S. : LED irradiation to shiitake mushroom bed during cultivation: Effects on the ergothioneine content in the fruiting body.

^{*2} 大分県農林水産研究指導センター林業研究部きのこグループ Oita Pref. Agr., For. and Fis., Res. Cen. Forest Res. Div., Mushroom Group, Akamine, Mie, Oita 879-7111, Japan

^{*3} 九州大学 Kyushu Univ., Fukuoka, 812-8581, Japan

^{*4} 現住所：ヒマラヤンバイオ・ジャパン株式会社 HimalayanBio Japan Co. Ltd., Koga, Fukuoka 811-3103, Japan

栄養体は米ぬかとふすまを容積比2:3の割合で混合し、1菌床あたり242gまたは255g添加した。培地含水率57%または58%に調整した培地を、自動袋詰め機（徳真電機工業製、ST-PM）により菌床袋に充填し、20cm×12cm×13cmの角形に成型した。培地重量は3.0kgまたは3.2kgであった。充填後の培地は118℃、40分殺菌し、翌日に種菌を接種した。接種後の培地はキャップとフィルターで封をし、温度17℃、湿度70%で一次培養を行った。一次培養は、縦置きで行った。菌糸が培地全体に蔓延するまで、35日または40日間培養した後、菌床を二次培養に移した。二次培養は、種菌を接種した面を縦にした状態（横置き）で行い、温湿度条件は、温度22℃、湿度70%とした。照射条件と培養日数で試験区を設定した。

4. 発生条件

所定期間培養した菌床は、除袋し、発生室に展開した。

発生室の温度は12℃-22℃の変温（6時間毎のプログラム制御）、湿度は成りゆきとした。照射条件は、室内のLED照明（昼光色）の1日12時間点灯とした。

子実体の収穫は7分開きを目安に行い、菌傘の直径でLL（8cm以上）、L（6~8cm）、M（4~6cm）、S（3~4cm）の形状と、菌傘の膜がほとんど切れていないもの（7部開き以下、A品）、膜が切れているもの（8部開き、B品）、8部開き以上（C品）の開き方で、規格別に区分し、個数と生重量を1菌床ごとに調査した。

5. 試験区の設定

培養期間中の照射条件は、一次培養では暗黒とした。二次培養では1日8時間LED又は蛍光灯を点灯し、照射なしの対照区を設けた。LEDは、長さ120cmの直管型で、ピーク波長398nmの紫色LEDまたは452nmの青色LEDを使用した（株式会社セシア製）。LEDの照射は、高さ53cmの位置から2灯のLEDにより行った（図-1）。蛍光灯は、40Wの昼白色蛍光灯（株式会社パナソニック、FL40SN）1灯を使用し、高さ60cmの位置から照射した。照射量は、光量子センサー（株式会社セネコム、SE-SQ500）を用いて、菌床上部の光量子束密度を9箇所計測した（図-1）。

培養日数は、各品種の標準培養日数を基準として、標準より10日または20日間短い試験区を設定した。標準培養日数は、各種菌メーカー推奨の培養期間を参考に、XR1は90日、607は120日とした。

6. エルゴチオネインの定量分析

採取した子実体は、定温乾燥機で45℃で4日間、50℃で1日間乾燥し、7℃で保管した。菌傘のみをミルで粉碎し、試験区ごとに20gに調整したものを九州大学で分析した。

各分析用試料（1g）に10倍量の80%メタノールを加え、超音波で90分間抽出を行った。抽出液を4℃、12,000rpmで5分間遠心分離し、上澄み部を0.45μmのメンブランでろ過後HPLC分析を行った。分析は日本分光JASCO PU-2089を用いて、カラム：JASCO Crestpak C18S4.6mm×150mm、移動相：50mM-リン酸ナトリウム緩衝液、3%アセトニトリル、0.1%トリエチルアミン、流量：1ml/min、カラム温度：40℃、波長：254nm JASCO GNB-2075 UVの条件で、1サンプルあたり5回実施した。統計処理はR（version 3.4.3）を用い、一元配置分

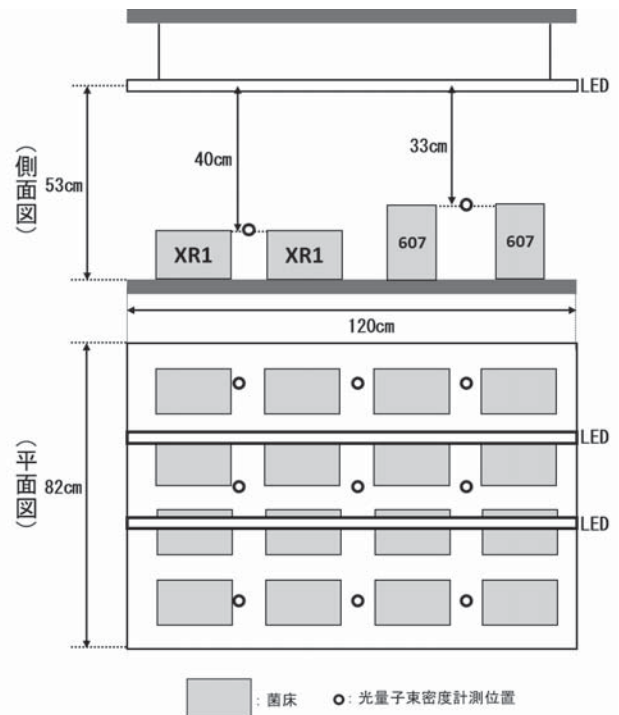


図-1. LED照射状況（模式図）

散分析により5%有意差が認められた場合は、Tukey法で多重比較検定を行った。

Ⅲ. 結果および考察

1. XR1における培養日数、照射条件がエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響

菌床上部の光量子束密度の平均は、紫色LEDでは $10.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、青色LEDでは $47.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、蛍光灯では $14.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。

乾燥重量100gあたりに含まれるエルゴチオネインの含有量は、LED区では177~221mg、蛍光灯区では131~189mg、対照区では112~198mgであり、どの全培養日数においてもLED区で多くなる傾向がみられた。LED区のエルゴチオネイン含有量は、紫色LED試験では対照区の1.1~1.7倍、青色LED試験では対照区の1.1~1.5倍であった。また、照射条件が同じ場合には、培養日数が長いほうが、エルゴチオネイン含有量が多くなる傾向が見られた（表-1）。

照射条件別に見ると、対照区の含有量は $145 \pm 38 \text{ mg}$ であったのに対し、LED区（紫色）は $204 \pm 15 \text{ mg}$ 、LED区（青色）は $186 \pm 13 \text{ mg}$ 、蛍光灯区は $166 \pm 21 \text{ mg}$ と多く、LED区（紫色）と対照区との間には危険率5%水準の統計的有意差が認められた（表-2）。

2. 607における培養日数、照射条件がエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響

菌床上部の光量子束密度の平均は、紫色LEDでは $11.0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、青色LEDでは $52.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、蛍光灯では $15.7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。

表-1. 培養日数, 照射条件が子実体のエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響 (XR1)

試験区	紫色 LED 試験		青色 LED 試験	
	全培養 日数	含有量 (mg/100gD.W.)	全培養 日数	含有量 (mg/100gD.W.)
蛍光灯区		158		131
20日区 LED区	71	193	70	181
対照区		112		119
蛍光灯区		162		171
10日区 LED区	82	198	80	177
対照区		128		123
蛍光灯区		184		189
標準区 LED区	92	221	97	201
対照区		198		188

表-2. 二次培養中の照射条件が子実体のエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響 (XR1)

試験区	含有量±標準偏差 (mg/100gD.W.)
蛍光灯区	166±21
LED区 (紫色)	204±15 ^{b)}
LED区 (青色)	186±13
対照区	145±38 ^{a)}

異なるアルファベット間には, Tukey 法の多重検定により危険率 5 % 以下で有意差があることを示す

乾燥重量 100 g あたりに含まれるエルゴチオネインの含有量は, LED 区では 116~171 mg, 蛍光灯区では 103~138 mg, 対照区では 102~119 mg であり, どの全培養日数においても LED 区で多くなる傾向がみられた。LED 区のエルゴチオネイン含有量は, 紫色 LED 試験では対照区の 1.2~1.4 倍, 青色 LED 試験では対照区の 1.1~1.3 倍であった。また, 照射条件が同じ場合には, 培養日数が長いほうが, エルゴチオネイン含有量が多くなる傾向が見られた (表-3)

照射条件別に見ると, 対照区の含有量は 112±8 mg であったのに対し, LED 区 (紫色) は 154±27 mg, LED 区 (青色) は 137±18 mg, 蛍光灯区は 125±13 mg と多く, LED 区 (紫色) と対照区との間には危険率 5 % 水準の統計的有意差が認められた (表-4)。

IV. まとめ

二次培養中のシイタケ菌床に青色 LED または紫色 LED を照射すると, 初回発生子実体のエルゴチオネイン含有量が対照区及び蛍光灯区より増加する傾向がみられた。エルゴチオネイン含有量の増加割合は, 青色 LED よりも紫色 LED のほうが大きい傾向がみられた。これらのことから, 培養中の LED 照射が初回発生子実体の機能性成分含有量に影響することが示唆された。

2 回目以降に発生した子実体のエルゴチオネイン含有量や, 照

表-3. 培養日数, 照射条件が子実体のエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響 (607)

試験区	紫色 LED 試験		青色 LED 試験	
	全培養 日数	含有量 (mg/100gD.W.)	全培養 日数	含有量 (mg/100gD.W.)
蛍光灯区		118		103
20日区 LED区	101	122	101	116
対照区		102		103
蛍光灯区		128		132
10日区 LED区	111	171	108	146
対照区		118		113
蛍光灯区		131		138
標準区 LED区	122	168	123	149
対照区		118		119

表-4. 二次培養中の照射条件が子実体のエルゴチオネイン含有量に及ぼす影響 (607)

試験区	含有量±標準偏差 (mg/100gD.W.)
蛍光灯区	125±13
LED区 (紫色)	154±27 ^{b)}
LED区 (青色)	137±18
対照区	112±8 ^{a)}

異なるアルファベット間には, Tukey 法の多重検定により危険率 5 % 以下で有意差があることを示す

射方法 (照射時間, 時期, 光強度) が異なる場合のエルゴチオネイン含有量に対する影響, その他の機能性成分含有量に及ぼす影響については, 今後の課題である。

本報告では, 総発生量に及ぼす影響を評価していないことから培養期間短縮については報告していない。今後は, 総発生量に及ぼす影響についても評価し, 培養期間短縮に効果的な照射方法について検討を行う予定である。

引用文献

- 北本豊・鈴木彰 (1992) きのこ学 (古川久彦編), 共立出版株式会社, 東京都, 89-92
- 阿部正範ほか (2014) 農林水産省委託プロジェクト「国産農作物の革新的低コスト実現プロジェクト」 「光・きのこコンソーシアム」編 LED を利用したきのこ栽培: 32-36
- 田淵諒子ほか (2016) 日本きのこ学会第 20 回大会公演要旨集: 78
- 農林水産省 (2018) URL: http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokuyo_rinsan/ (2019 年 10 月 28 日利用)
- 財務省 (2019) <https://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm?M=77&P=0> (2019 年 10 月 28 日利用)
- (2019 年 11 月 8 日受付; 2020 年 1 月 9 日受理)