

栽培に用いる系統および培地組成がヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*) 子実体収量と子実体熱水抽出エキスの 細胞毒性活性に及ぼす影響

辻井弘忠*・末成美奈子*・増野和彦**

* 信州大学農学部応用生命科学科

** 長野県林業総合センター

要 約

長野県林業センターで系統維持しているヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*) 6系統 (国内産4, 台湾産1, 中国産1) を供試し, ヤマブシタケ子実体の収穫所要日数および収量ならびに子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性を調べた。すなわち, 栽培培地基材であるコーンコブミール含有量の違いや栄養剤添加が, 子実体の収穫所要日数および収量に及ぼす影響ならびに各系統の子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性に及ぼす影響を調べた。その結果, 実験に用いたヤマブシタケ6系統の子実体抽出エキスとも HeLa 細胞に対する細胞毒性活性がみられた。子実体の収穫所要日数が少なく, 子実体の収量の多い系統は Y5 と Y6, 子実体エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性の強い系統は Y1 と Y2 であった。栽培培地基材であるコーンコブミールを添加すると子実体の収穫所要日数は短くなり, 子実体の収量は少なかったが, コーンコブミール添加によって子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性は高まった。栄養剤 (フスマ) 添加によって, 子実体の収量は少なくなったが, 子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性は高くなった。これらのことから, ヤマブシタケの系統は台湾産および中国産より国内産の Y1~3 系統のものを使用し, 栽培培地基材としてはコーンコブミールを, 栄養剤としてはフスマをそれぞれ添加して栽培すれば, HeLa 細胞に対する細胞毒性活性の強い子実体を生産出来ることが判明した。

キーワード: ヤマブシタケ, 細胞毒性活性, 子実体, HeLa 細胞, コーンコブミール

緒 論

ヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*) は, 中国や日本に広く分布しているサンゴハリタケ科の食用キノコであり, ナラ, カシ, ブナ, クルミなどの広葉樹の立ち木や腐木に発生する¹⁾。真白い針がたくさん垂れ下がり, 山伏が着る鈴懸衣の胸の部分にある丸い飾りに似ている事からヤマブシタケと称されている。中国では, 古くから食用のほか, 漢方薬としても親しまれ, 消化不良や身体の虚弱改善など様々な効果があるとされ, 水やお湯で煎じたり, 醸造酒に浸けたものが広く飲用されている²⁾。ヤマブシタケは機能性キノコとして, 最近1~2年間に国内生産が増加している。その背景として, 次の2点があげられる。①急速に進展している高齢化社会に備え, 国民の健康意識の向上から食生活を見直す風潮が増加し機能性食品に対する期待が高まっている。②きのこ産業は近年の企業参入や輸入増大などにより市場価格が低迷し, 生産者の経営が圧迫されおり,

付加価値の高いきのこ生産と消費の拡大が求められている。

最近では, ヤマブシタケに免疫機能調整, 抗腫瘍作用, 抗胃潰瘍, 抗コレステロール作用, 抗炎症作用などに効果がある物質が含まれていると報告されている³⁻⁶⁾。水野らは, ヤマブシタケには「 β -D-グルカン」というガンに効く成分や「ヘリセノンD」や「エリナシンC」というアルツハイマー型痴呆症に効果がある物質が含まれていると報告している^{3,4)}。ヤマブシタケの栽培技術については種々検討が行われている⁷⁻¹³⁾。また, ヤマブシタケの栽培に用いる系統や培地組成が子実体成分に及ぼす影響については検討例¹⁴⁾があるが, ヤマブシタケの系統と細胞毒性活性との関係に関しては報告がない。長野県林業総合センターは, ヤマブシタケ6系統 (中国産1, 台湾産1 および国内産⁴⁾) を所有している。

本研究はヤマブシタケ子実体の6系統の子実体収量や子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性を比較するとともに, 菌床栽培培地の組成

が子実体収量や子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性におよぼす影響を調べる目的で、以下の実験を行った。

実験 1：ヤマブシタケ子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性の発現日数

実験 2：ヤマブシタケ 6 系統間の子実体収量差と子実体抽出エキスの細胞毒性活性の差

実験 3：コーンコブミール添加がヤマブシタケ子実体の収量および子実体抽出エキス中の細胞毒性活性に及ぼす影響

実験 4：栄養剤添加がヤマブシタケ子実体の収量および子実体抽出エキス中の細胞毒性活性に及ぼす影響

材料および方法

1, ヤマブシタケ供試系統

ヤマブシタケは、長野県林業総合センターで系統維持している Y 1～6 の 6 系統を用いた。Y 1 は榎川村産、Y 2 は塩尻市産、Y 3 は栄村産、Y 4 は北相木村産、Y 5 は台湾産、Y 6 は中国産の野生子実体を採取して林業総合センターで系統維持しているものを使用した。

2, 栽培方法

ヤマブシタケの栽培は、ブナオガコを用いてビン栽培で行った。なお、栽培ビンは 800ml 容のものを使用し、培地量は 600g とした。菌糸体の培養は、温度 22°C で 15 日間行った。子実体の発生は培養終了後、温度 12°C で超音波加湿器により空中湿度を 95% 以上に保って行った。培地組成; 培地基材 (ブナオガコ, コーンコブミール等): 栄養剤 (フスマ, コーンブラン, スーパーブラン等) = 10 : 2 (容積比) で、含水率は 63% に調整した。ヤマブシタケの幼子実体は球状の菌塊で薄いピンク色を呈するが、生長に伴い針が形成され白色となる。さらに針が長くなると同時に褐色になってくる。針が形成され白色を呈している間に収穫した。

3, ヤマブシタケ熱水抽出物 (子実体抽出エキス) の調製

収穫した生子実体 150g を一辺 3 センチ程度のサイコロ状に切り、これに対して純水 525ml を入れ、4 時間逆流冷却管下で煮沸した。ろ過後、ろ液を 15ml まで 40°C 以下で減圧濃縮した。

4, HeLa 細胞の培養法

HeLa 細胞 (大日本製薬) を medium 199 (Sigma) に 10% ウシ胎児血清 (Sigma) を添加した培養液を用いて、37°C, 5% CO₂ 条件下で培養を

行った。継代培養している HeLa 細胞を 3.5cm dish (IWAKI) に 5×10^4 cells/ml に調製して、濾過滅菌したヤマブシタケ子実体の抽出液 100~500 μ l を添加した同上の培養液で培養した。培養後、Ca-free phosphate buffered saline で洗浄し、2% EDTA (Nacalai) を含むトリプシン 480u (WAKO) で生存接着細胞を浮遊させ、エオシン染色して生存細胞数のみを血球計算盤で計測した。

実験 1：ヤマブシタケ子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性の発現日数

ヤマブシタケ 2 系統 (Y 1 および Y 6) の子実体抽出エキス 100 μ l を HeLa 細胞に添加後、添加 5 日目まで生存細胞数を毎日調べた。

実験 2：ヤマブシタケ 6 系統間の子実体収量差と子実体抽出エキスの細胞毒性活性の差

ヤマブシタケ 6 系統 (Y 1~6) の子実体収量ならびに収穫所要日数を調べ、さらに各子実体抽出エキス 100, 300, 500 μ l を HeLa 細胞に添加し、添加後 4 日目の生存細胞数を調べ、細胞毒性活性の差をみた。

実験 3：コーンコブミール添加がヤマブシタケ子実体の収量および子実体抽出エキス中の細胞毒性活性に及ぼす影響

ヤマブシタケ 2 系統 (Y 1 および Y 6) を用いて実験を行った。ヤマブシタケ Y 6 を用いて、栽培培地のコーンコブミール含有量を各々ブナオガコ: コーンコブミールを 100 : 0, 75 : 25, 50 : 50, 25 : 75, 0 : 100 (容積比) とした場合とヤマブシタケ Y 5 を用いて 50 : 50 (容積比) とした場合の子実体収量ならびに収穫所要日数を調べ、各子実体抽出エキスを上記の方法で抽出した。各ヤマブシタケ子実体エキス 100 または 300 μ l を HeLa 細胞に添加し、添加 4 日後に各々の細胞数をカウントし、細胞毒性活性効果を算出した。

実験 4：栄養剤添加がヤマブシタケ子実体の収量および子実体抽出エキス中の細胞毒性活性に及ぼす影響

ヤマブシタケ 2 系統 (Y 5 および Y 6) を用いて実験を行った。ヤマブシタケの栽培時に、培地基材であるブナオガコ 10 容量に対して、栄養剤であるスーパーブラン、コーンブラン、フスマの各々を 2 容量添加した場合の Y 5 と Y 6 の子実体収量を調べ、子実体エキスを上記の方法で抽出した。各ヤマブシタケ子実体抽出エキス 100 または 300 μ l を HeLa 細胞に添加し、添加 4 日後に各々の細胞数をカウントし、細胞毒性活性に及ぼす影響をみた。

統計処理は各平均値と標準誤差で、Fisher's PLSD (P<0.05) で示した。

結果

実験1：ヤマブシタケ子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性の発現日数

ヤマブシタケ Y 1 と Y 6 系統の子実体抽出エキスを HeLa 細胞に添加後の細胞毒性活性の発現日数を図 1 に示した。対照区において HeLa 細胞の細胞増殖曲線は 4 日で最大となり、その後減少した。Y 6 子実体抽出エキス添加区においても HeLa 細胞の細胞増殖曲線は 4 日で最大となり、その後減少した。Y 1 子実体抽出エキス添加区においては、HeLa 細胞の生存細胞数の変化はほとんど見られなかった。このことから、ヤマブシタケ子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性は系統による違いがあることが判った。HeLa 細胞を用いて細胞毒性活性の判定は子実体抽出エキス添加後 4 日目良かったので、子実体抽出エキス添加後 4 日にこの条件で行うことにした。

実験2：ヤマブシタケの 6 系統間の子実体収量差

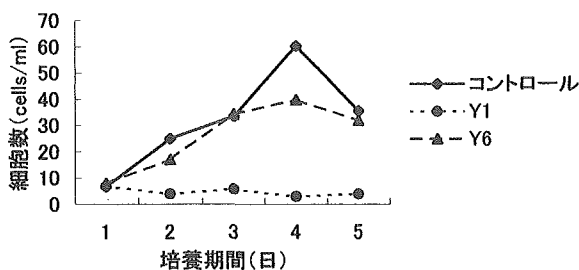


図1 ヤマブシタケ子実体抽出エキスが HeLa 細胞に対する細胞毒性活性の発現日

表1 ヤマブシタケ 6 系統の子実体の収穫所要日数と収量

系統	Y 1	Y 2	Y 3	Y 4	Y 5	Y 6
収穫所要日数	32.2±0.4 ^a	22.8±2.1 ^b	32.1±0.3 ^a	24.8±2.1 ^b	17.2±0.4 ^b	21.0±0.0 ^b
収量 (g)	83.6±4.6 ^c	81.5±10.8 ^c	112.3±17.6 ^c	92.3±11.3 ^c	115.6±6.4 ^d	153.0±4.3 ^d

(M±SE)

異符号間で有意差あり P<0.05

収穫時期：ヤマブシタケの針が形成され針が白色を呈した時期

全区とも栄養材基材：スーパーブラン=10：2 添加。

表2 ヤマブシタケ 6 系統の子実体抽出エキスが HeLa 細胞に対する細胞毒性活性

系統 添加量	Y 1	Y 2	Y 3	Y 4	Y 5	Y 6
0 (μl)	39.2±2.2 ^a	40.0±2.5 ^a	38.8±1.9 ^a	41.0±1.9 ^a	40.2±2.3 ^a	39.8±1.9 ^a
100	15.8±1.6 ^c	16.2±2.8 ^c	15.6±2.4 ^c	30.0±4.5 ^{ab}	28.4±4.8 ^{ab}	39.2±4.4 ^a
300	0±0 ^d	0.8±0.4 ^d	2.4±2.2 ^d	8.2±1.9 ^{cd}	12.0±2.7 ^c	13.2±2.2 ^c
500	0±0 ^d	0±0 ^d	0±0 ^d	5.2±1.6 ^{cd}	0.6±0.6 ^d	2.2±1.7 ^d

異符号間で有意差あり P<0.05

細胞数 (M±SE)

と子実体抽出エキスの細胞毒性活性の差
ヤマブシタケ 6 系統 (Y 1 ~ Y 6) の各子実体収穫所要日数、すなわちヤマブシタケの針が形成され針が白色を呈す時期と各子実体収量を表 1 に示した。収穫所要日数は、Y 5 が最も短かく、次いで Y 6, Y 2 の順であった。これらの収穫所要日数は Y 1 および Y 3 の収穫所要日数より有意に短かった。各収穫日の子実体の収量に関して、Y 6 および Y 5 は Y 1 ~ Y 4 の 4 系統に比べて有意に収量が多く、次いで Y 3 の順であった。このように、ヤマブシタケ子実体の収量にも系統差がみられた。

ヤマブシタケ 6 系統子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性の影響を表 2 に示した。全ての系統の子実体抽出エキス 300 および 500 μml 添加により、HeLa 細胞の細胞増殖は対照に比べて有意に抑制され、実験に使用したヤマブシタケ 6 系統全ての子実体抽出エキスに細胞毒性活性効果が見られた。

子実体抽出エキスの細胞毒性活性効果に対する系統間における差は、100 μml 添加では、Y 1, Y 2, Y 3 の子実体抽出エキスの方が Y 4, Y 5 および Y 6 の子実体抽出エキスより細胞毒性活性が高かった。300 μml 添加では、Y 1, Y 2, Y 3 の子実体抽出エキスの方が Y 5 および Y 6 の子実体抽出エキスより細胞毒性活性が高かった。500 μml 添加では、Y 1 ~ Y 6 の子実体抽出エキスの細胞毒性活性には有意な差はみられなかった。これらの結果から Y 1, Y 2 および Y 3 の子実体抽出エキスの細胞毒性活性が高いことが判った。

実験3：コーンコブミール添加がヤマブシタケ子実体の収量および子実体抽出エキス中の

細胞毒性活性に及ぼす影響

栽培培地基材であるコーンコブミール含有量の違いが、ヤマブシタケ子実体の収穫所要日数と子実体収量に及ぼす影響を表3に示した。ヤマブシタケ Y 6 においてコーンコブミール含有量が増えるにしたがい子実体収穫所要日数が短くなる傾向が見られた。しかし、子実体収量はコーンコブミール含有量が増えるにしたがって少なくなる傾向が見られた。Y 1 のコーンコブミール50は、Y 6 のコーンコブミール50と比べて収穫所要日数が長かった。

栽培培地基材であるコーンコブミール添加割合がヤマブシタケ子実体エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性に及ぼす影響を表4に示した。全ての実験区において、コーンコブミール含有区のヤマブシタケ子実体抽出エキス添加に HeLa 細胞に対する細胞毒性活性がみられた。子実体抽出エキス100 $\mu\text{m}\ell$ 添加は、コーンコブミール含有量が Y 1 の50%, Y 6 では25, 50, 75および100%含有区の子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性が有意に高かった。子実体抽出エキス300 $\mu\text{m}\ell$ 添加は、

コーンコブミール含有区のいずれもがコーンコブミール無添加より HeLa 細胞に対する細胞毒性活性が有意に高かった。

実験4：栄養剤添加がヤマブシタケ子実体の収量および子実体抽出エキス中の細胞毒性活性に及ぼす影響

栄養剤であるスーパーブラン、コーンブラン、フスマ含有量の違いが、ヤマブシタケ子実体の収量に及ぼす影響を表5に示した。

収穫日を栽培20日目に統一した場合、栄養剤の種類によって子実体収量に有意差が認められ、Y 5 および Y 6 とともに C のスーパーブランを添加した方が子実体の収量が有意に高かった。

栄養剤であるスーパーブラン、コーンブラン、フスマ含有量の違いが各ヤマブシタケ子実体エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性に及ぼす影響を表6に示した。各子実体抽出エキス添加区において、HeLa 細胞に対する細胞毒性活性がみられた。子実体抽出エキス100 $\mu\text{m}\ell$ 添加区では、Y 5 および Y 6 のフスマを添加した方 (A) が、HeLa 細胞に対す

表3 コーンコブミール添加割合がヤマブシタケ子実体の収穫所要日数と収量に及ぼす影響

コーンコブ(容積比)	Y 1	Y 6				
	50	0	25	50	75	100
収穫所要日数	33.0 \pm 0.0 ^b	21.0 \pm 0.0 ^a	20.6 \pm 3.4 ^a	18.0 \pm 0.0 ^a	18.0 \pm 0.0 ^a	18.5 \pm 1.6 ^a
収量	117.3 \pm 5.7 ^c	153.7 \pm 3.8 ^d	123.1 \pm 19.3 ^c	113.8 \pm 8.7 ^c	120.3 \pm 5.2 ^c	117.7 \pm 6.6 ^c

(M \pm SE)

異符号間で有意差あり P < 0.05

収穫時期：ヤマブシタケの針が形成され針が白色を呈した時期

コーンコブ：ブナの容積比で (コーンコブ 25 はコーンコブ 25 : ブナ 75 を示す)

全区とも栄養材基材：スーパーブラン=10 : 2 添加。

表4 コーンコブミール含有量の違いが子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性

系統	Y 1	Y 6				
	50	0	25	50	75	100
子実体抽出 0 ($\mu\text{m}\ell$)	50.2 \pm 2.3 ^a	52.4 \pm 3.0 ^a	50.4 \pm 2.0 ^a	51.2 \pm 2.7 ^a	51.6 \pm 2.0 ^a	49.2 \pm 2.2 ^a
エキス添加 100	7 \pm 1.8 ^d	47.6 \pm 4.5 ^a	26 \pm 2.3 ^c	26.6 \pm 2.7 ^c	30.6 \pm 3.0 ^{bc}	33.6 \pm 4.1 ^b
300	0 \pm 0 ^e	9.8 \pm 2.4 ^d	0 \pm 0 ^e	0 \pm 0 ^e	0.2 \pm 0.2 ^e	0.4 \pm 0.4 ^e

異符号間で有意差あり P < 0.05

(M \pm SE)

コーンコブ：ブナの容積比で (コーンコブ 25 はコーンコブ 25 : ブナ 75 を示す)

全区とも栄養材基材 (スーパーブラン)=10 : 2 添加。

表5 栄養剤の含有量の違いがヤマブシタケ子実体の収量に及ぼす影響

系統	Y 1			Y 6		
	A	B	C	A	B	C
収量	61.9 \pm 3.8 ^a	74.4 \pm 9.7 ^a	49.8 \pm 16.0 ^b	59.6 \pm 7.1 ^a	80.0 \pm 13.6 ^a	27.6 \pm 20.6 ^b

(M \pm SE)

異符号間で有意差あり P < 0.05

全区とも収穫は20日目に行った。

各生育培地の組合せ (容積比)

A ; ブナ : フスマ = 10 : 2, B ; ブナ : コーンブラン = 10 : 2, C ; ブナ : スーパーブラン = 10 : 2

表6 栄養剤添加がヤマブシタケ子実体エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性に及ぼす影響

系統		Y 5			Y 6		
栄養剤の種類		A	B	C	A	B	C
エキス	0 (μl)	63.2 \pm 6.4 ^a	59.0 \pm 3.6 ^a	62.8 \pm 3.3 ^a	59.4 \pm 3.6 ^a	57.2 \pm 4.5 ^a	64.2 \pm 5.1 ^a
添加量	100	12.0 \pm 2.0 ^d	38.6 \pm 3.0 ^b	43.2 \pm 4.5 ^b	26.6 \pm 2.3 ^c	41.6 \pm 1.8 ^b	47.8 \pm 3.6 ^b
	300	0 \pm 0 ^e	14.6 \pm 2.9 ^d	11.8 \pm 2.9 ^d	0 \pm 0 ^e	1.6 \pm 0.7 ^e	7.8 \pm 0.8 ^{de}

異符号間で有無差あり P<0.05

細胞数 (M \pm SE)

各培地の組合せ (容積比)

A；ブナ：フスマ=10：2， B；ブナ：コーンブラン=10：2， C；ブナ：スーパーブラン=10：2

る細胞毒性活性はフスマを添加しなかったBおよびCより高かった。子実体抽出エキス300 μml 添加区では、フスマを添加区(A)でY5およびY6の2系統ともHeLa細胞に対する細胞毒性活性がほぼ100%みられた。

ヤマブシタケ栽培培地に添加する栄養剤の種類によってヤマブシタケ子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性効果が異なり、栄養剤としてフスマを添加することで子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性効果が向上することが判った。

考 察

河岸らは、痴呆症の一種であるアルツハイマー症の治療や予防に有効である神経生長因子(nerve growth factor, NGF)を脳内で作らせる物質が、ヤマブシタケに存在することを確認し単離に成功した⁶⁾。また、多くのきのこ類は抗腫瘍性多糖類である β -D-グルカン含有していることが知られており、ヤマブシタケにも抗腫瘍活性が存在する³⁻⁵⁾。本研究の結果、ヤマブシタケ6系統全ての子実体抽出エキスにHeLa細胞に対する細胞毒性活性効果が存在した。

一方、増野らは、ヤマブシタケの栽培技術の開発を行ない効率的な生産技術を確立した⁷⁻¹⁰⁾。そこで、機能性の高いヤマブシタケ子実体の生産を行うため、抗腫瘍活性に関しての簡易評価技術の開発として、子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性、栽培条件と細胞毒性活性との関係などを検討した。ヤマブシタケ6系統の子実体の収穫所要日数および子実体収量はY5およびY6が他の4系統より収穫所要日数が短く、子実体収量が高かった。このように子実体の収穫所要日数および子実体収量にも系等差が存在した。コーンコブミール添加によって、子実体形成を促進する傾向が見られたが、有意差は見られなかった。

本研究の結果、子実体抽出エキスのHeLa細胞

に対する細胞毒性活性は、ヤマブシタケY1~3の国内系統の方が、北相木村産のY3、台湾産のY5および中国産のY6の子実体抽出エキスよりHeLa細胞に対する細胞毒性活性効果が高かった。このことから子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性効果に系等差があることが判った。ただし、子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性の高い系統と、収量性が高く収穫所要日数の短い系統とは一致しなかった。

培地基材のブナオガコをトウモロコシ芯の粉砕物であるコーンコブミールで置換えると、コーンコブミールが増加するにつれて収量は低下する傾向を示した。しかし、コーンコブミール添加によりブナオガコ単独より子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性が高くなった。このことからコーンコブミールの添加が抗腫瘍活性成分の β -D-グルカンなどの増量効果がうかがえた。

栄養添加材としては、フスマを使用した場合に子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性が高い傾向を示した。しかし、子実体収量性はフスマが最も低く、子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性と子実体収量はここでも一致しなかった。

これらのことから、ヤマブシタケの系統は国内産のものを使用し、培地基材としてコーンコブミールを、栄養剤としてフスマを、それぞれ添加して栽培すれば、子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性の高い子実体が生産できることが判明した。ただし、これらの栽培条件は、収量性などの栽培効率とは必ずしも一致しなかった。今後さらにマウスにガン細胞を移植した実験を行い抗腫瘍活性と子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性との関係を明らかにする必要があると思われる。また、収量性の良い系統と子実体抽出エキスのHeLa細胞に対する細胞毒性活性の高い系統との交配による品種改良を行うとともに、細胞毒性の高い子実体を効率良く生産できる栽培条件を明らかにす

ることが重要と考える。

今回の結果は、国民の健康に対する意識が向上しているなか、機能性きのことして生産が拡大してい

るヤマブシタケに関して、子実体抽出エキスの HeLa 細胞に対する細胞毒性活性を高める栽培方法に大きな示唆を与えることができた。

引用文献

- 1) 今関六也・本郷次雄編. 原色日本菌類図鑑 (II). 118-119. 保育社. 東京. 1989.
- 2) 劉 波. 難波恒雄, 布目慎勇共訳. 中国の薬用菌類. 58-59. 自然社. 東京. 1973.
- 3) Mizuno T, Wasa T, Ito H, Suzuki C, Ukai N. Antitumor-active Polysaccharides Isolated from the Fruiting Body of *Herichium erinaceum*, an Edible and Medicinal Mushroom Called Yamabusitake or Houtou. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 56 (2): 347-348. 1992.
- 4) 水野 卓・川合正允編. キノコの化学・生化学. 309-312. 学会出版センター. 東京. 1992.
- 5) 水野 卓. 効くキノコ. 127-129. 成星出版. 東京. 1999.
- 6) 河岸洋和. キノコ由来の細胞機能調節物質. *日本農芸化学会誌*, 68: 1671-1677. 1994.
- 7) 増野和彦. ヤマブシタケの栽培法の検討—子実体発生温度—. 41回日本林学会中部支部論文集, 169-170. 1993.
- 8) 増野和彦. ヤマブシタケの栽培法の検討 (II) —培養期間について—. 45回日本木材学会大会講演集, 614. 1995.
- 9) 増野和彦・小出博志. 菌床栽培用きのこの育種と栽培技術の改良. *長野林総セ研究報告*, 12: 113-152. 1998.
- 10) 増野和彦. ヤマブシタケ栽培法の検討 (III) —培養期間の短縮—. 52回日本木材学会大会講演集, 647. 2002.
- 11) 物江 修. ヤマブシタケ栽培試験—培地組成と芽出し・展開方法について—. *日林東北支誌*, 42: 202-204. 1990.
- 12) 井戸好美・大西好明. ヤマブシタケの栽培について—添加物とオガ屑の違いによる適正培地の検討—. 39回日林中支論, 151-152. 1991.
- 13) 小島 靖. ヤマブシタケの菌床栽培において培養温度が子実体発生と菌糸体の栄養生理におよぼす影響. *奈良県森林技術センター研究報告*, 4: 11-16. 2000.
- 14) 高島幸司・奥崎政美・根岸由起子・佐々木弘子・菅原龍幸. ヤマブシタケの菌床栽培における子実体成分に及ぼす菌株・栄養剤の影響. *日本食生活学会誌*, 11: 370-374. 2001.

Effects of strains and medium compositions on yield and cell toxic activities of fruit bodies in sawdust-based cultivation of Yamabushitake (*Herichium erinaceum*).

Hirotsada TSUJII*, Minako SUENARI* and Kazuhiko MASUNO**

*Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shinshu University

**Department of Mushroom Science, Nagano Prefectural Forest Research Center

Summary

This study was conducted to compare the cultivation period, yield and the cell toxic activities among 6 strains of Yamabushitake (*Herichium erinaceum*) in sawdust-based cultivation. Six strains were maintained in the Nagano Forestry Center: were used for purposes of this study: four from Japan, one from Taiwan and one from China. Cell toxicity was determined by adding hot-water extracts of fruit bodies to growing HeLa cells, and it was shown that all 6 strains had cell toxic activity. Two strains, Y5 and Y6, had the ability to form mature fruit bodies in a short period of cultivation, and also had higher yield than the other four strains.

On the other hand, the extracts from Y1 and Y2 exhibited higher cell toxicity potential. Next, we examined the effects of using different corncob meal content levels and supplements on three parameters under investigation. Addition of corncob meal as a substrate to sawdust media decreased fruit body yield and shortened the period of cultivation, while increasing cell toxicity. By adding wheat bran as a supplement to the sawdust media, the effect of cell toxicity improved, but fruit body yield decreased.

These results indicate that mature fruit body with greater cell toxicity can be produced if Japanese strains such as Y1 and Y2 are cultivated with corncob meal as a substrate and wheat bran as a supplement to sawdust media.

Key word : Yamabushitake, cell toxicity, fruit body, HeLa cell, corncob meal