

報 文

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

鈴木彌生子^{*1}, 中下留美子², Noemia Kazue ISHIKAWA³,
田淵 諒子⁴, 作野 えみ⁴, 時本 景亮⁴

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。

1 背景及び目的

シイタケは、日本において生産されている主な食用きのこの一つである。シイタケの栽培方法には、原木栽培と菌床栽培が挙げられる。原木栽培は、コナラ・クヌギ等の原木に種菌を接種し、森林内等において栽培する手法である。菌床栽培は、広葉樹のおがくずにフスマ等の栄養源を加えた培地を使い、温度、湿度を管理して栽培する手法である。1年以上の時間をかけて、木の栄養分だけで育つ原木栽培シイタケは、味、香り、歯ごたえは強く、繊維が多いなどの傾向があるが、気温、降雨等の気象条件によって生産量が大きく左右されることや、良質な原木の供給不足・原木価格の高騰などの問題点がある。一方で、栄養価の高い添加物を利用して数か月で育つ菌床栽培シイタケは、作業の機械化がしやすく、気象条件などにあまり影響を受けないために近年急速に普及したが¹⁾、生産コストが高いことが懸念材料である。

日本における乾シイタケの生産は、1984年にピークを迎えたが、為替レートの円高誘導を契機に2000年代初めから急速に増加した中国産の輸入によって、生産者の販売単

価が低迷し、生産量は大幅に減少している²⁾³⁾。乾シイタケの日本国内における生産量は、平成25年度は3499 tであったが⁴⁾、海外からの乾シイタケの輸入量は5467 tで、そのすべてが中国からの輸入であり⁵⁾、乾シイタケの国内流通量の60%以上が中国産を含む輸入品となっている。平成24年度までは韓国からも輸入があり、海外においても生産量が急激に増えていることから、グローバル化への対応が求められている。

乾シイタケは、JAS法（農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律）に基づき、原料・原産地及び栽培方法（「原木」または「菌床」）の表示が義務付けられている⁶⁾。2002年に発生した中国産野菜の残留農薬問題などの影響により、国産シイタケの需要が高まっている中、国内産の乾シイタケに比べると、中国産は1/3から1/4の価格で販売されており、安価な輸入物を国産として販売する産地偽装問題が懸念される。従来から行われているバーコードなどを用いた履歴情報の管理のみならず、商品そのものを分析する科学的手法による産地判別の開発も求められている。

乾シイタケの産地判別に関する科学的手法として、先行研究では、石附部の顕微鏡調査や傘肉の物性調査、微量元素組成やストロンチウム同位体比を用いた国産と中国産の乾シイタケの産地判別の可能性が報告されている^{7)~10)}。日本における乾シイタケの栽培は原木栽培が主であり、全体の95.2%を占める⁴⁾。一方、中国産の乾シイタケの多くは菌床栽培であることから、栽培方法の違いに着目し、無機元素組成の違いを利用した栽培方法及び産地判別方法が報

* E-mail: yaekos@affrc.go.jp

¹ 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所: 305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

² 国立研究開発法人森林総合研究所: 305-8687 茨城県つくば市松の里 1

³ National Institute for Research in the Amazon: Av. André Araújo, 2936, Aleixo, 69060-001

⁴ 一般財団法人日本きのこセンター菌茸研究所: 689-1125 鳥取県鳥取市古郡家 211

告されている⁹⁾。しかし、中国においては生産割合は低いながらも原木シイタケの栽培が行われている。そこで、門倉ら⁹⁾は、原木栽培の乾シイタケについて、微量元素組成を用いて、国産と中国産の判別モデルを構築している。9元素濃度(Li, Mg, Al, Ca, Mn, Co, Mo, Cd及びCe)を用いて構築した判別関数を用いて、検定用試料を判別した結果、93%の判別率で予測可能である¹⁰⁾。これらの違いは、各国で使用されるほだ木(シイタケの菌糸体を接種した原木)の微量元素組成の特徴の違いによると考えられる。また、日本国内における菌床栽培の生産量は4.8%と低いが⁴⁾、ごく一部が乾シイタケとして流通する傾向があり、原木の組成の違いを用いた産地判別技術では判別が困難な場合も想定される。

近年、食品の産地判別技術の一つとして軽元素の安定同位体比分析が注目されている。炭素・窒素といった軽元素の安定同位体比は、生物が育った環境を反映することから、食品においては、産地判別の分析技術として開発されつつある^{11)~13)}。そこで、本研究では、炭素・窒素安定同位体比分析を用いて、乾シイタケの産地判別の可能性を検証した。まず、シイタケの部位による変動を検証するため、シイタケの菌傘と菌柄を分けて分析を行った。また、ほだ木や生育環境がシイタケへ及ぼす影響を評価するため、国産及び韓国産の原木を用いて日本で栽培したシイタケの炭素・窒素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)を比較した。これらの検証を踏まえて、日本産・中国産を中心に、韓国産及びブラジル産についても収集した原木栽培及び菌床栽培の乾シイタケについて、栽培方法及び生産地における $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ を比較した。さらに、産地判別については、日本への輸入量を考慮して、中国産と国産について、 $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ を用いて判別モデルの構築を行った。

2 試料及び分析方法

2.1 試料

原木栽培における宿主植物とシイタケとの $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ を比較するために、鳥取県鳥取市の試験圃場において、鳥取県産($n=5$)及び韓国産($n=5$)のクヌギ原木にシイタケ種菌(菌興115号)を接種してほだ木を育成した。鳥取県産クヌギ原木から得られた子実体($n=8$)と韓国産クヌギ原木から得られた子実体($n=6$)を収集した。

また、原木栽培の年変動を検証するため、愛媛県肱川町の試験圃場で栽培されたシイタケを入手した。品種240号と菌株Y(試験品種)を用いた。240号は、2008年度から2013年度までの6年間、菌株Yは2008年度から2011年度までの4年間に栽培した。

産地判別のためのモデル構築試料として、日本及び中国から原産地と栽培方法の明確な乾シイタケを収集した。原木栽培乾シイタケについては、国産($n=95$)、中国産($n=66$)、

菌床栽培乾シイタケについては、国産($n=50$)、中国産($n=114$)を収集した。国産は、大分県・宮崎県・熊本県・愛媛県・山口県・広島県・岡山県・鳥取県・石川県・静岡県・岩手県、中国産は、陝西省・河南省・湖北省・安徽省・江西省・四川省・福建省で生産されたシイタケを収集した。

また、原木栽培乾シイタケについては、韓国産($n=45$)、ブラジル産($n=4$)、菌床栽培乾シイタケについては、ブラジル産($n=4$)を収集した。

2.2 分析方法

部位による変動を検証するため、一部の乾シイタケ(国産10検体、中国産10検体、韓国産10検体)については、菌傘部と菌柄部の二つに分け、ヒダ部を除いた菌傘部を試料として採取し、70℃で2時間以上送風乾燥した後、定温乾燥器(TABAI MFG. CO., LTD製, KS-3)にて100℃で2時間乾燥した。これらをポリエチレン製袋上から乳棒で叩いて粉碎した。栽培実験に用いた原木及びほだ木は、ステンレス製の鑿を使って細片化し、定温乾燥器(TABAI MFG. CO., LTD製, KS-3)にて100℃で24時間乾燥させた後、粉碎機(FRISCH製, pulverisette6)を用いて微粉碎した。発生子実体は恒温器(ESPEC製, LP-201)にて50℃で36時間送風乾燥させ、粉碎した。

各検体は、粉碎後、炭素・窒素安定同位体比測定用にシイタケは約4mg、原木及びほだ木は約20mgを錫カプセルに秤量した。秤量したカプセルは、元素分析計(Elementar vario Pyro cube, Elementar Analysensysteme GmbH)を接続した質量分析計(IsoPrime 100, Isoprime Ltd)を用いて炭素・窒素安定同位体比分析を行った。それぞれの元素の安定同位体比は、標準試料からの千分偏差で表した。これらは、 $\delta X = (R \text{ 試料} / R \text{ 標準} - 1) \times 1000$ によって、 δ 値として表記した。Xは、炭素、窒素に対して、それぞれ ^{13}C , ^{15}N を表し、Rはそれぞれの元素の同位体比 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ である。本研究にあたり、アラニン品質管理試料とし、標準偏差は、 $\delta^{13}\text{C}$ は0.0%、 $\delta^{15}\text{N}$ は0.1%であった。

2.3 統計解析

データの統計処理は、IBM SPSS Statistics 23.0を用いて解析した。同一個体内における菌傘部と菌柄部の $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ の差が有意であるかどうかについて、対応のあるt検定(paired t-test)を行った。国産及び韓国産の原木、ほだ木及びシイタケの $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ の相関関係については、Pearsonの相関係数を求めた。栽培方法によってシイタケの $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ の挙動が異なることから、地域間の有意差の検証及び産地判別モデルの構築については、原木栽培と菌床栽培に分けて統計解析を行った。原木栽培及び菌床栽培乾シイタケの $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ の地域間差が有意であるかどうか

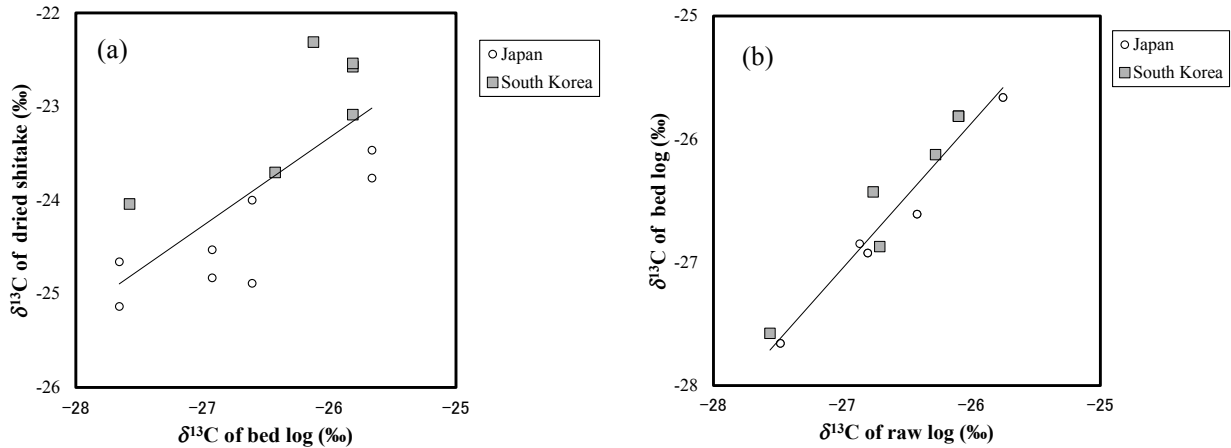


Fig. 1 The relationships between $\delta^{13}\text{C}$ values of raw log and $\delta^{13}\text{C}$ values of bed log (a) and between $\delta^{13}\text{C}$ values of bed log and $\delta^{13}\text{C}$ values of dried shiitake samples (b)

については、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行い、有意差が検出された場合は、Tukey の HSD 法で各国間の有意差を検証した。国内流通量を考慮して、国産と中国産に焦点を置き、原木栽培及び菌床栽培乾シイタケについて、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を用いて、栽培方法別に判別モデルの構築を行った。正準判別分析のステップワイズ法を用いて分析を行い、判別に寄与する安定同位体比を選択した。構築した判別式の有効性を検証するために、leave-one-out cross validation 法を用いて、判別モデルの検証を行った。

3 結果と考察

3.1 部位 (菌傘部と菌柄部) による違いの検証について

菌傘部と菌柄部の $\delta^{13}\text{C}$ は、国産は $-25.0 \pm 1.0\%$ (平均値 \pm 標準偏差) ($n=10$)、 $-24.8 \pm 1.1\%$ ($n=10$)、中国産は $-23.5 \pm 0.6\%$ ($n=10$)、 $-23.0 \pm 0.5\%$ ($n=10$)、韓国産は $-24.0 \pm 0.6\%$ ($n=10$)、 $-24.4 \pm 0.7\%$ ($n=10$) であった。菌傘部と菌柄部の $\delta^{15}\text{N}$ は、国産は $-0.2 \pm 1.2\%$ ($n=10$)、 $-0.9 \pm 1.1\%$ ($n=10$)、中国産は $-3.2 \pm 1.1\%$ ($n=10$)、 $-3.3 \pm 1.1\%$ ($n=10$)、韓国産は $-2.5 \pm 1.0\%$ ($n=10$)、 $-3.4 \pm 1.0\%$ ($n=10$) であった。同一個体内の $\delta^{13}\text{C}$ の差は、国産は $0.4 \sim 1.3\%$ 、中国産は $0.3 \sim 1.4\%$ 、韓国産は $0.1 \sim 2.0\%$ であった。同一個体内の $\delta^{15}\text{N}$ の差は、国産は $0.1 \sim 0.5\%$ 、中国産は $0.3 \sim 1.2\%$ 、韓国産は $0.0 \sim 0.7\%$ であった。国産の $\delta^{13}\text{C}$ 及び $\delta^{15}\text{N}$ は、菌傘部と菌柄部において有意差はなかった ($\delta^{13}\text{C}$ は $p=0.305$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ は $p=0.200$)。一方で、中国産の $\delta^{13}\text{C}$ は、菌傘部よりも菌柄部の方が高く ($p=0.002$)、韓国産シイタケの $\delta^{15}\text{N}$ は、菌柄部よりも菌傘部の方が高かった ($p=0.045$)。しかし、国産・中国産・韓国産で比較すると、地域差が大きいことから、産地判別の観点では、どちらの部位を用いても問題ないことが分かった。本研究では、主食部であることから菌傘部をターゲットとし、以降の検証を行うこととした。

3.2 原木及びほだ木とシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ の比較

国産原木の $\delta^{13}\text{C}$ は $-26.9 \pm 0.4\%$ ($n=5$)、韓国産は、 $-26.7 \pm 0.6\%$ ($n=5$)、国産ほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ は $-27.0 \pm 0.5\%$ ($n=5$)、韓国産は、 $-26.6 \pm 0.7\%$ ($n=5$) であった。国産ほだ木から収穫したシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ は、 $-24.5 \pm 0.4\%$ ($n=8$)、韓国産ほだ木から収穫したシイタケは、 $-23.2 \pm 0.8\%$ ($n=6$) であった。ほだ木は、原木に菌糸体を接種したものであるが、原木に菌糸体が蔓延しても、ほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ は原木自体の $\delta^{13}\text{C}$ とほぼ同じ値を示した。国産及び韓国産原木の $\delta^{13}\text{C}$ とほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ は、正の相関が見られた ($R=0.955$, $p<0.001$) (Fig. 1a)。ほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ とシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ は、正の相関が見られた ($R=0.743$, $p<0.001$) (Fig. 1b)。シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ はほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ を反映していると考えられる。原木及びほだ木の $\delta^{15}\text{N}$ は、窒素含有量が低かったため、測定することができなかった。国産ほだ木から収穫したシイタケの $\delta^{15}\text{N}$ は、 $-0.1 \pm 0.1\%$ ($n=8$)、韓国産ほだ木から収穫したシイタケは、 $-1.3 \pm 0.6\%$ ($n=6$) となった。

きのこは、従属栄養生物であり、栄養の摂取方法の違いから大きく分けて腐生菌と共生菌に分類される。シイタケは、前者の中の木材腐朽菌に分類され、リグニン分解能をもつ白色腐朽菌である¹⁴⁾。木質成分のセルロース・リグニンなどを分解・代謝して子実体を形成する。腐生菌の $\delta^{13}\text{C}$ は、宿主植物の $\delta^{13}\text{C}$ を反映し、一般的には植物体の $\delta^{13}\text{C}$ よりも $0.3 \sim 5\%$ 程度高い値を示すことが報告されている^{15)~19)}。これは、腐生菌による木質成分の分解における同位体分別と考えられている。原木栽培シイタケの場合は、シイタケの菌体がほだ木成分を分解して栄養分とするため、ほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ と相関関係が見られたと考えられる。腐生菌の $\delta^{15}\text{N}$ は、 $\delta^{13}\text{C}$ と同様に宿主植物の $\delta^{15}\text{N}$ を反映すると報告されている^{14)~18)}。 $\delta^{13}\text{C}$ とは異なり、腐生菌の $\delta^{15}\text{N}$ と宿主植物の $\delta^{15}\text{N}$ との間に大きな値の違いは認められず、

同位体分別がないことが報告されている。これは、宿主植物中の窒素含有量が少ないため、ほぼ完全に窒素源として利用するため、同位体分別がないと考察されている¹⁷⁾。本実験では、原木及びほだ木中の窒素含有量が低く、それらの $\delta^{15}\text{N}$ は測定できなかったが、日本の森林における材木の窒素同位体比が $-3 \sim +0\%$ 程度であることを考慮すると、シイタケの $\delta^{15}\text{N}$ は宿主植物の値を反映していると考えられる¹⁸⁾。

3.3 原木栽培シイタケについて

国産 ($n=95$) の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ は $-25.1 \pm 0.8\%$ 、 $-0.7 \pm 1.2\%$ 、中国産 ($n=66$) は、 $-23.6 \pm 0.7\%$ 、 $-3.2 \pm 1.8\%$ 、韓国産 ($n=45$) は、 $-24.2 \pm 0.7\%$ 、 $-2.2 \pm 1.2\%$ 、ブラジル産 ($n=4$) は、 $-23.5 \pm 0.9\%$ 、 $+3.5 \pm 1.9\%$ となった (Fig. 2)。国産の $\delta^{13}\text{C}$ は、中国産、韓国産、ブラジル産よりも有意に低かった ($p < 0.001$) (Table 1)。国産の $\delta^{15}\text{N}$ は、中国産、韓国産よりも有意に高かった ($p < 0.001$) (Table 1)。ブラジル産の $\delta^{15}\text{N}$ は、国産、中国産、韓国産よりも有意に高かった ($p < 0.001$) (Table 1)。

原木栽培乾シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ は、主にほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ の影響を反映すると考えられる。中国産の原木栽培乾シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ が国産のそれよりも値が高いのは、中国の原木の

$\delta^{13}\text{C}$ が高い可能性が考えられる。植物の $\delta^{13}\text{C}$ は、植物の炭素源は、大気中の CO_2 であり、 CO_2 の $\delta^{13}\text{C}$ は -8% 程度を示す。大気中の CO_2 と植物組織の $\delta^{13}\text{C}$ の違いは、植物の炭酸同化過程において、同位体分別が起こるために生じる。植物による CO_2 の取り込みは、植物の気孔で行われるが、気孔の開閉は、植物が利用できる水分条件によって左右される。植物の水利用効率と植物組織の $\delta^{13}\text{C}$ には、正の相関があることが知られており、乾燥条件にある植物ほど、 $\delta^{13}\text{C}$ が高くなる²⁰⁾²¹⁾。日本の主な産地である大分は $1500 \sim 2000\text{ mm}$ 、宮崎は $2000 \sim 3000\text{ mm}$ 、熊本は $1500 \sim 2000\text{ mm}$ 、愛媛は $1000 \sim 1500\text{ mm}$ に対して、河南省は 500 mm 、陝西省は 500 mm 、四川省は 900 mm 、湖北省は 1000 mm 、福建省は 1300 mm であり²²⁾²³⁾、今回シイタケを収集した地域については中国よりも日本は降水量が多い。原木の成長における水ストレスがほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ に影響を及ぼし、中国産の原木は $\delta^{13}\text{C}$ が高くなり、中国産の原木栽培シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ が高くなると考えられる。また、シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ の違いは、成長過程における生育環境の影響も考えられる。先行研究において、腐生菌の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ と年平均気温・年平均降水量・緯度を比較した結果、腐生菌の $\delta^{13}\text{C}$ は、年平均気温 ($R^2=0.63$)・緯度 ($R^2=0.67$) と有意な相関関係が報告されている¹⁵⁾。よって、シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ はほだ木の $\delta^{13}\text{C}$ を主に反映するが、気温などの生育環境も反映されて、各国の特徴が得られたと考えられる。

腐生菌の $\delta^{15}\text{N}$ は、 $\delta^{13}\text{C}$ と同様に植物体の $\delta^{15}\text{N}$ を反映すると報告されているが、年平均気温・年平均降水量・緯度のいずれの生育環境も有意な相関性が見られないことも報告されている¹⁴⁾。よって、原木栽培シイタケの $\delta^{15}\text{N}$ は、ほだ木の $\delta^{15}\text{N}$ を反映すると考えられる。ブラジル産シイタケについては $\delta^{15}\text{N}$ が高い傾向が得られた。ブラジルにおいては、植物の $\delta^{15}\text{N}$ が高いことが報告されている²⁴⁾。宿主植物の $\delta^{15}\text{N}$ も高くなり、シイタケに反映されたと考えられる。

年変動に伴う原木栽培乾シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を検証するため、二つの菌種を用いて同じ実験圃場で栽培したシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を比較した。各年度のシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ をTable 2に示す。240号では、2008年度から2013年度の間で、 $\delta^{13}\text{C}$ は $-26.6 \sim -24.1\%$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ は、 $-3.2\% \sim +1.5\%$ となった。菌株Yについては、2008年度から2011

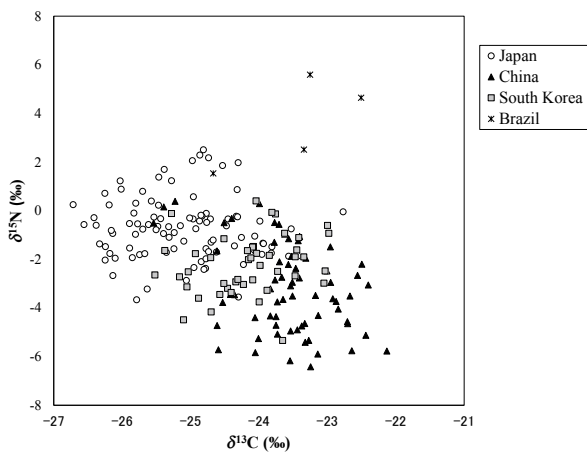


Fig. 2 $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of Japanese, Chinese, South Korean and Brazilian dried shiitake samples in log cultivation

Table 1 Results of one-way ANOVA for the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of dried shiitake samples in log cultivation among Japanese, Chinese, South Korean and Brazilian

	Japan $n=95$	China $n=66$	South Korea $n=45$	Brazil $n=4$	F	P
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-25.1 ± 0.8^a	-23.6 ± 0.7^b	-24.2 ± 0.7^b	-23.5 ± 0.9^b	58.53	< 0.001
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	-0.7 ± 1.2^b	-3.2 ± 1.8^a	-2.2 ± 1.2^a	$+3.5 \pm 1.9^c$	58.18	< 0.001

Values represent means and standard deviations. Different letters indicate a significant difference among countries (Turkey's HSD, $P < 0.05$)

年度の間で、 $\delta^{13}\text{C}$ は $-26.0 \sim -25.2 \%$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ は、 $-1.1 \sim -0.2 \%$ となった。原木栽培実験の結果から、シイタケは主に宿主植物の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を主に反映する。木材の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ も年変動や個体差が予想されることから、同じ圃場においても栽培年によって変動は見られると考えられる。しかし、いずれの年度の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ においても、国産の原木栽培乾シイタケの数値の範囲内であることから、経年変化を踏まえても、地域差の方が大きいと考えられる。

3.4 菌床栽培シイタケについて

菌床栽培乾シイタケ栽培について $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を比較すると、国産 ($n=50$) の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ は、 $-23.8 \pm 0.7 \%$ 、 $+2.9 \pm 0.9 \%$ 、中国産 ($n=114$) は、 $-24.6 \pm 0.8 \%$ 、 $+0.4 \pm 1.4 \%$ 、ブラジル産 ($n=4$) は、 $-23.2 \pm 0.7 \%$ 、 $+4.5 \pm 1.0 \%$ となった (Fig. 3)。中国産の $\delta^{13}\text{C}$ は、国産及びブラジル産よりも有意に低かった ($p < 0.001$) (Table 3)。中国産の $\delta^{15}\text{N}$ は、国産及びブラジル産よりも有意に低かった ($p < 0.001$) (Table 3)。

先行研究において、オガコに、コーンコブまたはフスマを混合した基礎培地に、化学肥料や堆肥など様々な種類の

施肥を行い、栽培条件とシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ の変動を評価している²⁵⁾。栽培で得られたシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ は、コーンコブを使用した場合、フスマを使用した場合よりも高くなる。植物の $\delta^{13}\text{C}$ は、光合成経路の異なる C_3 植物 (-33% $\sim -24 \%$) と C_4 植物 (-16% $\sim -9 \%$) で大きく異なり、トウモロコシなどの C_4 植物は $\delta^{13}\text{C}$ が高い²⁶⁾。小麦の外皮であるフスマは C_3 植物、トウモロコシの芯を調整した培地基材であるコーンコブは C_4 植物であり、コーンコブ含有培地で栽培されたシイタケの $\delta^{13}\text{C}$ はフスマ含有培地よりも $\delta^{13}\text{C}$ が高くなる。 $\delta^{15}\text{N}$ については、施肥の影響を受けると考えられる。肥料においては、化学肥料は $\delta^{15}\text{N}$ が低く、堆肥などの有機肥料は $\delta^{15}\text{N}$ が高い。堆肥を施肥した培地は $\delta^{15}\text{N}$ が高く、収穫されたシイタケの $\delta^{15}\text{N}$ も高い値を示すことが報告されている。よって、易分解性もしくは易吸収性の炭素や窒素を多く含む培地で栽培されたシイタケは、培地の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を反映すると考えられる。以上より、菌床栽培乾シイタケにおいては、各国での基礎培地として使用する基材や施肥の内容が反映されて地域差が見られると考えられる。

Table 2 Seasonal variations of carbon and nitrogen isotope compositions in dried shiitake samples by log cultivation

Variety	year	n	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) Average	$\delta^{15}\text{N}$ (‰) Average
Kinko-240	2008	2	-25.7	1.5
Kinko-240	2009	2	-24.8	-0.1
Kinko-240	2010	2	-26.6	-2.0
Kinko-240	2011	2	-25.7	-3.2
Kinko-240	2012	2	-24.1	0.7
Kinko-240	2013	2	-24.6	1.3
	total	12	-25.2	-0.3
Stock Y	2008	2	-25.2	-1.1
Stock Y	2009	2	-25.5	-0.3
Stock Y	2010	2	-25.8	-0.2
Stock Y	2011	2	-26.0	-0.9
	total	8	-25.4	-0.2

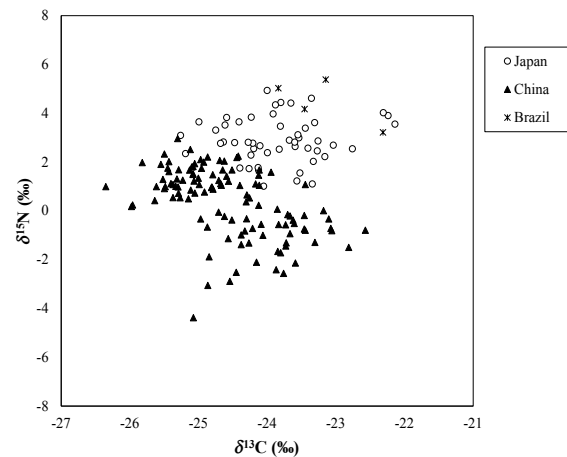


Fig. 3 $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of Japanese, Chinese, and Brazilian dried shiitake samples in mycelial cultivation

Table 3 Results of one-way ANOVA for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of dried shiitake samples in mycelial cultivation among Japanese, Chinese and Brazilian

	Japan $n=50$	China $n=114$	Brazil $n=4$	F	P
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-23.8 ± 0.7^b	-24.6 ± 0.8^a	-23.2 ± 0.7^b	22.09	< 0.001
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$+2.9 \pm 0.9^b$	$+0.4 \pm 1.4^a$	$+4.5 \pm 1.0^c$	82.53	< 0.001

Values represent the means and standard deviations. Different letters indicate a significant difference among countries (Turkey's HSD, $P < 0.05$)

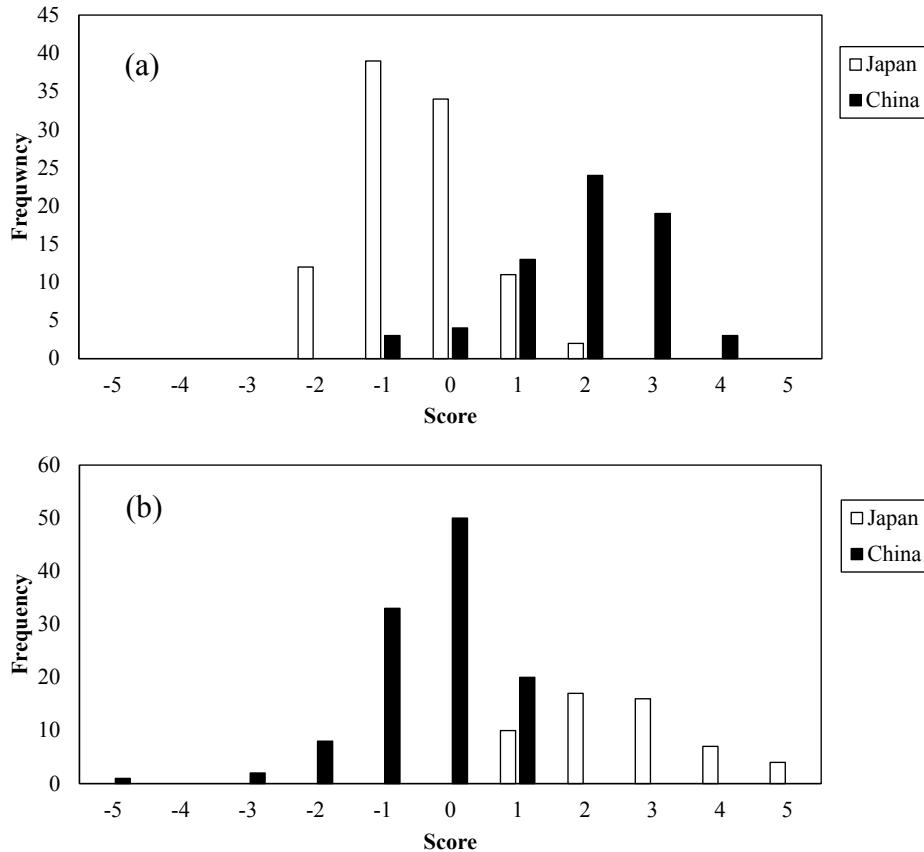


Fig. 4 Frequency histograms of the scores of discriminant analysis using the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of dried shiitake samples in log cultivation (a) and in mycelial cultivation (b) from Japan and China

3.5 国産及び中国産乾シイタケの産地判別

原木栽培乾シイタケについての判別式は式(1)に、菌床栽培乾シイタケについては式(2)に示す。

$$Y = 0.954[\delta^{13}\text{C}] - 0.364[\delta^{15}\text{N}] + 22.719 \quad (1)$$

$$Y = 0.994[\delta^{13}\text{C}] + 0.779[\delta^{15}\text{N}] + 23.327 \quad (2)$$

原木栽培乾シイタケについては、国産の判別得点は-1から+4、中国産は-2から+1となった (Fig. 4a)。判別関数を構築した試料について、正答率を計算すると、国産は87.4% (95点中)、中国産は87.9% (66点中)となった。構築した判別関数の精度について、交差検証法 (leave-one-out法) を用いて検証した結果、国産の判別率は87.4%、中国産の判別率は87.9%の精度が得られた。菌床栽培乾シイタケについては、国産の判別得点は+1から+5、中国産は-5から+1となった (Fig. 4b)。判別関数を構築した試料について、正答率を計算すると、国産は92.0% (50点中)、中国産は95.6% (114点中)となった。構築した判別関数の精度について、交差検証法 (leave-one-out法) を用いて検証した結果、国産の判別率は90.0%、中国産の判別率は93.9%の精度が得られた。以上より、式(1)及び

式(2)を用いることで、原木栽培及び菌床栽培乾シイタケの国産と中国産の判別の可能性が示唆された。

4 まとめ・今後の展開

乾シイタケについて、同一個体内の菌傘部と菌柄部の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を比較した結果、菌傘部と菌柄部の違いが見られたが、地域差の方が大きく、産地判別においてはどちらの部位を用いても問題ないことから、本研究では、主食部である菌傘部を用いて検証した。原木栽培乾シイタケの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ は、本研究の栽培実験から栄養源となる原木の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を主に反映することが分かり、さらに先行研究から、 $\delta^{13}\text{C}$ については年平均気温などの生育環境の影響を受けることも報告されている¹⁴⁾。菌床栽培乾シイタケは、主に培地の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を反映することが分かった。栽培方法によって $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ の挙動が異なることから、原木栽培と菌床栽培に分けて産地間での $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ の比較を行った。国内に主に流通している国産と中国産に焦点を置き、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を用いて判別分析を行った結果、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 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を用いるこ

とで, 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。今後は, 軽元素の安定同位体比だけではなく, ストロンチウムの安定同位体比や微量無機元素組成などのほかの技術を総合することで, 判別率の向上を目指すことが求められる。

文 献

- 1) 高島幸司 : 木材学会誌, **61**, 243 (2015).
- 2) 農林水産省 : 特用林産物生産統計調査, 特用林産基礎資料, 「主要特用林産物需給総括表」, <http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokuyo_rinsan/>, (accessed 2015-9-16).
- 3) 高 飛 : 日本農業研究所研究報告「農業研究」, **23**, 271 (2010).
- 4) 農林水産省 : 特用林産物生産統計調査, 特用林産基礎資料, 平成 25 年主要品目別生産動向「しいたけ一都道府県別生産実績」, <http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokuyo_rinsan/>, (accessed 2015-9-16).
- 5) 農林水産省 : 特用林産物生産統計調査, 特用林産基礎資料, 輸入統計「乾しいたけ (0712.39-010)」, <http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokuyo_rinsan/>, (accessed 2015-9-16).
- 6) 農林水産省 : 日農林水産省告示第 513 号, 乾しいたけ品質表示基準 (2000).
- 7) 時本景亮 : 菌草, **48**, 10 (2000).
- 8) 白石裕一, 塚田政範, 藤原 守, 津村明宏, 諸橋保, 時本景亮 : 農林水産消費技術センター調査研究報告, **27**, 45 (2003).
- 9) 門倉雅史 : 日本食品科学工学会誌, **53**, 489 (2009).
- 10) 時本景亮 : 菌草, **57**, 16 (2011).
- 11) M. Guardia, A. González : “*Food protected designation of origin : methodologies & applications*”, Elsevier, (2013).
- 12) S. Kelly, K. Heaton, J. Hoogewerff : *Trends Food Sci. Technol.*, **16**, 555 (2005).
- 13) 鈴木彌生子, 中下留美子 : 生物と化学, **48**, 121 (2010).
- 14) 古川久彦 : 生物と化学, **26**, 631 (1988).
- 15) J. R. Mayor, E. A. G. Schuur, T. W. Henkel : *Ecology Letters*, **12**, 171 (2009).
- 16) B. Zeller, C. Brechet, J. P. Maurice, F. L. Tacon : *Ann. For. Sci.*, **64**, 419 (2007).
- 17) W. Hou, B. Lian, H. Dong, H. Jiang, X. Wu : *Geoscience Frontiers*, **3**, 351 (2012).
- 18) A. Kohzu, T. Yoshioka, T. Ando, M. Takahashi, K. Koba, E. Wada : *New Phytol.*, **144**, 323 (1999).
- 19) 和田英太郎, 西川絢子, 高津文人 : *RADIOISOTOPE*, **50**, 158 (2001).
- 20) G. D. Farquhar, M. H. O’Leary, J. A. Berry : *Aust J Plant Physiol*, **9**, 121 (1982).
- 21) B. Martin, Y. R. Thorstenson : *Plant Physiol.*, **88**, 213 (1988).
- 22) 国土交通省気象庁 : 気象統計情報「過去の気象データ検索」, <<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>>.
- 23) L. Araguás-Araguás, K. Froehlich : *J. Geophys. Res.*, **103**, 28 (1998).
- 24) K. A. Hobson, L. I. Wassenaar : *Tracking Animal Migration with Stable Isotopes*, ACADEMIC PRESS, (2008).
- 25) 中野明正 : 日本きのこ学会誌, **12**, 165 (2004).
- 26) M. J. DeNiro, S. Epstein : *Geochim. Cosmochim. Acta.*, **42**, 495 (1978).

A Comparison of Dried Shiitake Mushroom in Log Cultivation and
Mycelial Cultivation from Different Geographical Origins
Using Stable Carbon and Nitrogen Isotope Analysis

Yaeko SUZUKI^{*1}, Rumiko NAKASHITA², Noemia Kazue ISHIKAWA³,
Akiko TABUCHI⁴, Emi SAKUNO⁴ and Keisuke TOKIMOTO⁴

* E-mail : yaekos@affrc.go.jp

¹ Analytical Science Division, National Food Research Institute, NARO, 2-1-12, Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8642

² Forestry and Forest Products Research Institute, 1, Matsunosato, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8687

³ National Institute for Research in the Amazon, Av. André Araújo, 2936, Aleixo, 69060-001, BRAZIL

⁴ Tottori Mycological Institute, 211, Kokoge, Tottori-shi, Tottori 689-1125

(Received August 4, 2015; Accepted October 8, 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.

Keywords: geographical origin; stable isotope ratio; *Lentinula edodes*; Mushroom.