

茸類の生化学的研究—II

シイタケ及びナメコ菌糸の栄養要求に就て

橋本 一哉 磯部 信昭 高橋善次郎

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE MUSHROOMS — II

NUTRITIONAL REQUIREMENTS FOR VEGETATIVE GROWTH OF CORTINELLUS SHIITAKE AND PHOLIOTA NAMEKO

Kazuya Hashimoto, Nobuaki Isoe and Zenjiro Takahashi

In Japan for several centuries, wood-rotting fungus, *Cortinellus shiitake* and *Pholiota nameko* which produces a extremely flavorful mushrooms, have been artificially infected with logs.

C. shiitake and *P. nameko* are able to digest wood components directly to satisfy their carbohydrate requirements.

In the present study, the authors studied the growth of the vegetative mycelium of mushrooms on the liquid medium and on fortified pine wood sawdust.

When the sawdust was fortified with rice-bran and wheat-bran, the vegetative growth and yield of fruit-bodies were higher than those grown on sawdust fortified with other materials.

And peptone as nitrogen source was most suitable for the mycelial growth of mushroom on the liquid medium.

結 論

シイタケ及びナメコは共に我国に於てその栽培方法は年々改良され日常膾炙されている。

茸類はその風味の良好な事のみならず、良質な蛋白源やビタミン源としても益々注目されつつある。しかしその化学的な研究は比較的少なく、経験に依存する割合が大きい。両茸は枯木寄生菌 (wood-rotting fungi) で木材に生育する、木の種類としては主としてナラ、シイ、ブナ等によく生育するといわれているが廃物利用の点から考えて殆んど利用されず捨てられている鋸屑の利用がより特策と考えられる。米国に於いては、毎年 53,000,000¹⁾ トンの廃材を産出し、その内約 20,000,000²⁾ トンが燃料として使用されているに過ぎず、残りは捨てられている。Davidson 等は多くの担子菌類は木材を直接炭素源として利用する事を述べている。Badcock Rempe³⁾ は鋸屑を利用して *Agaricus campestris* を培養する実験をフラスコ中で行なっている。又 Block 等は *Pleurotus ostreatus* の鋸屑培養を試みている。吾々は我国では比較的入手の容易な松の鋸屑を用いて培養実験を試みた。

本報では両菌の液体培地及び鋸屑培地に於ける栄養要求に就て 2、3 検討を行なった。

実験方法

1. 供試菌及び接種

当研究室に分離保存せる *Cortinellus shiitake* 及び *Pholiota nameko* の保存培地より G P 培地に接種菌蓋を生成後、無菌水にて洗滌をくり返し Blender で 30 秒間高速処理をし、無菌水に懸濁したものを 1ml 接種する。(dry wt. of mycelium 3-5mg /ml)

2. 培地及び培養条件

基本培地組成 (G P 培地) は Table 1 の如くで 50ml を 300ml の三角フラスコに分注し、121°C 15 分間加圧殺菌を行ない、固体培地としては松の鋸屑を使用した。

鋸屑培地は Table 2 の如く 20×3cm の試験管に充填して 121°C、45 分間加圧殺菌した。

Table I. Medium used for growth of mushroom fungus

Component	Concn per liter
glucose	30g
peptone	6g
KH ₂ PO ₄	0.5g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5g
CaCl ₂	0.1g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	10mg
thiamine-HCl	10mg
mineral solution*	10ml
* Concn per 10ml	
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₇	3mg
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1mg
MnCl ₂	3mg
ZnCl ₂	3mg

Table II. Sawdust media (Key from Fig.2 to Fig. 9)

	Pine Saw-dust	Media
A	20gr	40ml. Water
B	"	40ml. P solution ^(a)
C	"	40ml. C solution ^(b)
D ₁	16gr	4gr. Rice-bran +40ml. Water
D ₂	"	" "
E	"	" +40ml. P solution ^(a)
F	"	" +40ml. C solution ^(b)
G	"	4gr. Wheat-bran+40ml. Water
H	"	" +40ml. P solution ^(a)
I	"	" +40ml. C solution ^(b)

(a) G.P media without glucose.

(b) Czapek solution, dilute solution of mineral salts.

3. 菌糸の生育と測定

鋸屑培地では菌糸の伸長度を測定し、液体培地では菌蓋を分離、洗滌、乾燥恒量に達した後重量を測定した。

各値は 5 標品の平均値で表示する。

糖はベルトラン法、総窒素はマイクロケルダール法によって測定した。

実験結果及び考察

1. 液体静置培養に依るシイタケ及びナメコ菌糸の発育状態

両菌を基本培地にて培養すると Fig.1 の如くナメコでは 18 日目に生育は最高に達した後、徐々に自己消化のために菌体量は減少する。pH は 20 日目に非常に下がるが、それ以後は菌体の自己消化に比例して上昇する。

シイタケでは菌糸の生育は非常に悪く、菌糸の培養と共に pH の低下が著しく、急速な pH の低下が菌の生育を阻害する原因であると推察された。

2. シイタケ及びナメコ菌糸の窒素源との関係

a) シイタケ

茸類の窒素要求性は一般に極めて選択性が強く、窒素源の適否が菌体生育の重要な要素である。

前報に於いてマッシュルーム菌糸は酵母抽出物の添加で生育が著しく促進される事を知ったので同様に酵母抽出物 0.3% 添加した培地の菌体量を 100 とし種々の窒素源を添加した時の Relative growth は Table 3 の如くであった。

peptone を窒素源とした時が最高で次に硝酸塩でアンモニウム塩は窒素源として好ましくない。この理由は恐らく cation が消費されて生理的に酸性度を増加するためと推察される。培養の終末点では pH は 3 に下る。

Table III. Effect of some nitrogen source on growth of *Cortinellus shiitake*

Expt.	Nitrogen	Mycelium		Glucose		pH		Economic* coefficient %
	utilized %	dry wt. mg	relative growth %	original %	consumed %	initial	final	
(NH ₄) ₂ SO ₄	21.0	24.4	37.4	3.13	13.7	5.94	3.26	10.6
Ca(NO ₃) ₂ ·H ₂ O	79.5	44.5	68.1	3.19	11.9	6.09	3.09	28.9
NH ₄ NO ₃	17.7	21.4	32.8	3.27	17.7	6.09	3.12	6.7
NaNO ₃	48.3	34.0	52.0	3.23	10.8	6.12	3.27	24.1
Glycocol	22.6	31.6	48.4	3.18	31.8	6.14	3.49	16.7
Yeast ext.	77.7	65.3	100	21.5	21.5	6.10	3.35	25.1
Peptone	65.5	65.0	99.5	22.1	22.1	6.19	3.18	22.7

* economic coefficient = $\frac{\text{cell substance}}{\text{glucose consumed}} \times 100$

b) ナメコ

シイタケの培養と同様に peptone が適しており生育は Table 4 の如く、硝酸アンモニウム > グリコロール > 硫酸の順序でシイタケとは反対に硝酸塩よりもアンモニウム塩の方が適している。この理由はナメコは培養中の pH の低下がシイタケに比較して少なく 20 日目以後では逆に上昇する事が原因であると推定される。

3. 鋸屑培地に於ける菌糸の生育状態

使用した松は樹脂が多くそのままでは茸類菌糸の生育に適しないので、1% Na₂CO₃ 溶液に一夜浸漬し水洗後、風乾し 10メッシュの篩を通過した鋸屑を炭素源とし Table 2 の割合で窒素源及び無機物を強化する。

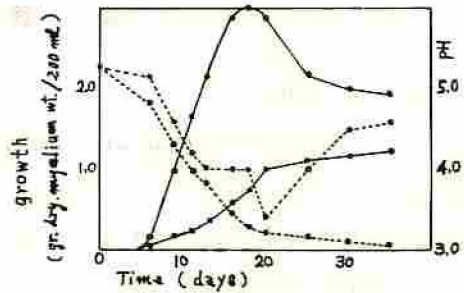


Fig. 1 Change in pH during mycelial growth of mushroom fungus

○ *Pholiota nameko*
● *Cortinellus shiitake*
— mycelial growth
... pH in medium

Table IV. Effect of some nitrogen source on growth of *Pholiota nameko*

Expt.	Nitrogen	Mycelium		Glucose		pH		Economic coefficient %
	utilized %	dry wt. mg	relative growth %	original %	consumed %	initial	final	
(NH ₄) ₂ SO ₄	35.7	194.3	52.9	3.13	35.5	5.94	4.41	41.2
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	79.4	32.6	8.9	3.19	12.5	6.09	4.36	18.1
NH ₄ NO ₃	30.7	197.4	53.7	3.27	37.3	6.09	4.50	40.5
NaNO ₃	53.8	14.0	3.8	3.23	13.6	6.12	4.57	7.9
Glycocol	40.2	197.2	53.6	3.18	32.4	6.14	4.64	43.6
Yeast ext	75.6	367.3	100	3.17	65.3	6.10	4.82	44.6
Peptone	64.9	314.7	85.7	3.26	59.2	6.19	4.67	42.8

1) シイタケの鋸屑培養

G P 培地強化は比較的良い生育状態を示し子実体形成に至るが、Czapek 培地では菌糸の生育も悪く、子実体の形成には至らなかった。窒素源として有機体窒素が秀れている事を示す。

(Fig 2)

米糠を強化した場合には、何れの場合にも良い生育状態を示すが、窒素が過剰に成る傾向があり米糠を強化する場合には他の窒素源を添加せぬ方が良い。(Fig 3)

麩を強化する時は三者共に良好な生育状態を示す。(Fig 4)

鋸屑をアルカリ処理することによって菌糸の生育を促進する効果がある。(Fig 5)

D₁ はアルカリ処理を行なったもので D₂ に比べて良好である。

2) ナメコの鋸屑培養

三者共に菌糸の伸長度は早いですが、菌糸自体は假柔組織の形成には至らず、従って子実体の形成は見られなかった。(Fig 6)

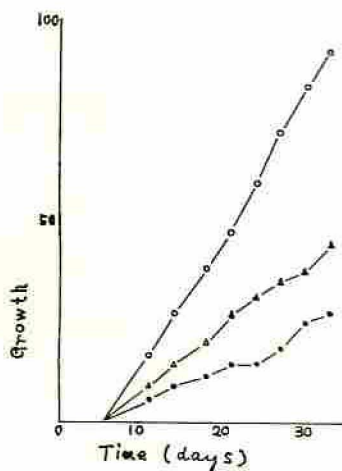


Fig. 2 The rate of growth of *C. shiitake* on the sawdust media fortified with the G. P. medium solution.
Symbols; ●-A ○-B ▲-C

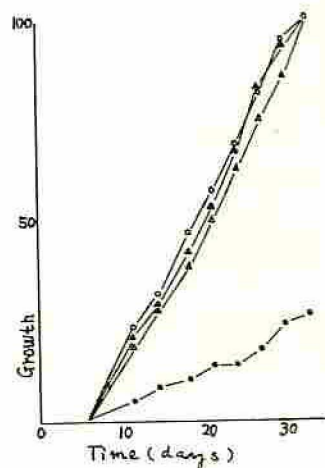


Fig. 3 The rate of growth of *C. shiitake* on the sawdust media fortified with rice-bran
Symbols; ●-A ○-D₁ ▲-E ◆-F

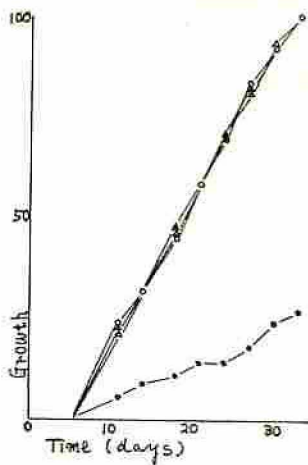


Fig. 4 The rate of growth of *C. shiitake* on the sawdust media fortified with wheat-bran.
 Symbols; ● - A ○ - G △ - H ▲ - I

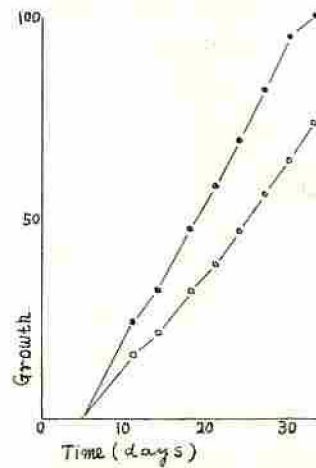


Fig. 5 The rate of growth of *C. shiitake* on the sawdust media treated with alkali.
 Symbols; ● - D₁ ○ - D₂

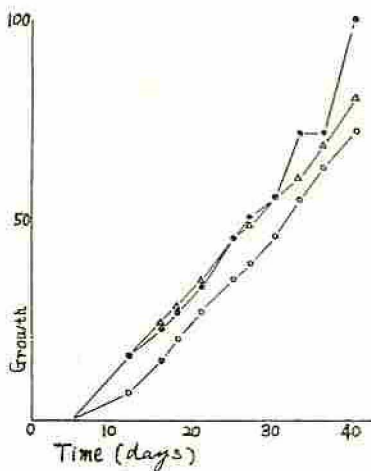


Fig. 6 The rate of growth of *P. nameko* on the sawdust media fortified with the G. P medium solution.
 Symbols; ● - A ○ - B △ - C

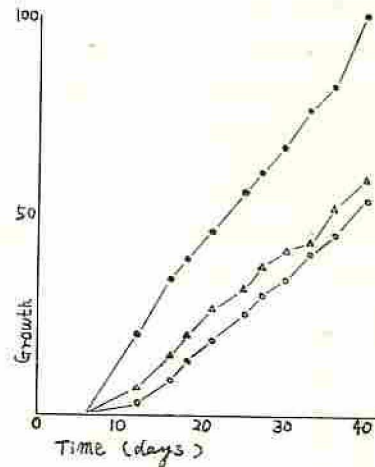


Fig. 7 The rate of growth of *P. nameko* on the sawdust media fortified with rice-bran
 Symbols; ● - D₁ ○ - E △ - F

米糠強化のみの場合 (D) は生育は良好だが強化窒素量が過多に成ると生育は低下する。(Fig 7)
 麩の場合も米糠と同様、他の窒素源の添加によって、窒素過多となり、生育は阻害される。

(Fig 8)

アルカリ処理はシイタケと同様効果はあるがシイタケに於けると同様の有効性は認められない。

(Fig 9)

4. 鋸屑培地より子実体の発生

(3) の実験に依って得られた菌糸を加水し 15°C に保ち発芽試験を行なうとシイタケでは4日目

に pin head を発生し、加水更に 6 日間15度に保存すれば、27ヶの子実体の発生を見た。(Fig 10)

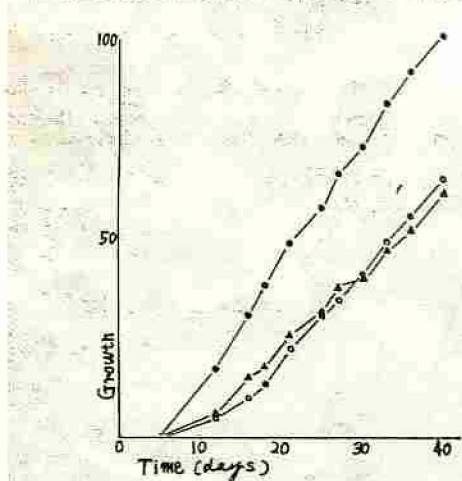


Fig. 8 The rate of growth of *P. nameko* on the sawdust media fortified with wheat-bran
 •-G ○-H △-I

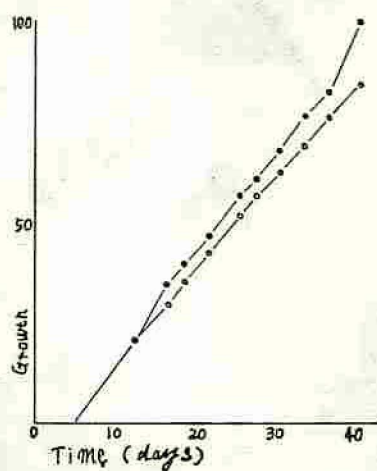
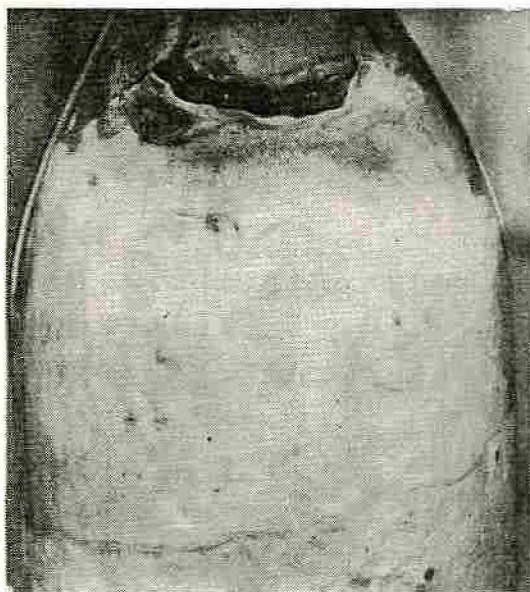
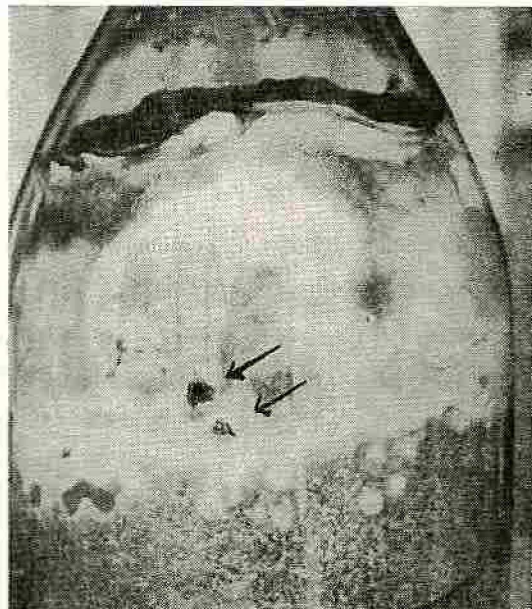


Fig. 9 The rate of growth of *P. nameko* on the sawdust media treated with alkali
 Symbols; •-D₁ ○-D₂

Fig. 10 The process of *Cortinellus shiitake* growing on sterile sawdust fortified with rice-bran



A. Supply with water



B. After 4 days, it appeared the pin heads.



C. After 2 days, the pin heads growing up to the buttons.



D. After 4 days, the fruit-bodies growing on sawdust.

要 旨

シイタケ及びナメコ菌糸の培養を行ない2, 3の知見を得た,

1. 基本培地ではシイタケの培地は酸性に偏し生育を阻害する。これに反しナメコは良好な生育を示す。
2. 両菌共に窒素源として peptone が適した。
シイタケはアンモニウム塩を消費して培地を生理的に酸性するため好ましくないが、ナメコでは硝酸塩よりもむしろアンモニウム塩が適した。
3. 鋸屑培養ではアルカリ処理後窒素源として麩又は米糠を加えた時に両菌共に最高の生育を示し又子実体発生も旺盛であった。

文 献

- 1) Winters, R. K., Chidester, G.H., Hall, J. A., U.S. Dept. Agr. Forest Serv. Rept. 4 wood waste in U.S. (1957)
- 2) Davidson, R. A., Campbell, W. A., Blaisdell, D.J., J.Agr. Research 57, 683-695 (1938)
- 3) Badcock E. C. Brit Mycol. Soc. Trans. 25 200-205 (1941)
- 4) Rempe, H., Mushroom Sci. 2, 131 (1953)
- 5) Seymour S. Block, George Tsao, Lunghwa Han Agr. Food Chem. 6, 923-927 (1958)
- 6) 橋本・磯部・高橋 (1964) 本誌 6, 1