

タモギタケによる稲わらの飼料化

富 樫 巖 米 山 彰 造
瀧 澤 南海雄

Microbial Conversion of Rice Straw into Feed by Use of Edible Mushroom, *Pleurotus cornucopiae*

Iwao TOGASHI Syozo YONEYAMA
Namio TAKIZAWA

The enzymatic-saccharification ratio of rice straw was improved as a result of incubating the straw with edible mushroom *Pleurotus cornucopiae*. With a bed whose straw had borne no fruit, there was a good correlation between the apparent enzymatic saccharification ratio and the lignin content of the bed. The enzymatic saccharification net-ratio of the bed which had experienced fruiting was found to be smaller than that of the bed which had experienced no fruiting,

タモギタケを培養することにより、稲わらの酵素糖化率を向上させることができた。子実体の発生を行わせない場合、稲わら菌床の見掛けの酵素糖化率とそのリグニン含量との間に良好な相関関係が認められた。子実体の発生を行わせた稲わら菌床の正味の酵素糖化率は、子実体の発生を行わせないものと比べて、低い値となった。

1. はじめに

稲わらは、セルロース、ヘミセルロースなどの高分子多糖類を多く含有していることから、潜在価値の高い飼料資源である。しかし、木材と同様に、稲わらの細胞壁成分のリグニンが、セルロースやヘミセルロースの消化を妨げているため、軽処理のままでは飼料価値が低い。

ところで、木材腐朽菌はリグニンを分解する能力を持っている。そこで、著者らは、食用菌を中心とした15種の白色腐朽菌を稲わらに接種・培養することにより、稲わらの飼料価値を高めることを検討してきた。そして、タモギタケがこのような微生物処理に適す菌

種のひとつであることを見出した¹⁾。

本報告は、稲わらの飼料化に望ましいタモギタケの菌株選抜、稲わら菌床の成分変化、子実体形成と飼料価値の関係等について述べるものであり、平成2年度日本木材学会北海道支部大会で発表したものの要旨である。

2. 実験方法

2.1 供試稲わら

供試した稲わらは、菌株選抜試験においては深川市1988年産(品種不明)を、子実体発生試験においては北竜町1989年産のゆきひかりを用いた。

なお、これらの供試稲わらは9月末から10月初めに

採取されたものである。

2.2 供試菌株

菌株の選抜には、林産試験場が保有するタモギタケの17保存菌株の全てを供試した。これらは、PDA斜面培地で継代培養保存していたものである。

2.3 殺菌

殺菌処理は、試験の内容に応じて二つの方法で行った。

菌株選抜試験では、200ml容ガラス培養瓶に、3cm程度に切断し、水道水で水分を約75%に調整した稲わらを、約70g詰め、120分間の高圧滅菌を行った。

子実体発生試験では、はっ水性特殊フィルター付き5,000ml容ポリプロピレン培養袋（日昌株式会社製、商品名キノバッグNT-25）に、3cm程度に切断し、水道水で水分を約75%に調整した稲わらを、約900g詰め、120分、90分間の高圧滅菌を行った。

2.4 接種・培養

接種・培養は、試験の内容に応じて二つの方法で行った。

菌株選抜試験では、直径9cmのシャーレに敷いたPDA斜面培地に供試菌を接種・培養し、コルクボーラーで直径14mmの円盤状に菌糸体を打ち抜いたものを、培養瓶中の稲わら上部に接種した。そして、25℃、相対湿度70%、暗黒の条件で培養を行った。培養期間は、最長で60日間とした。

子実体発生試験では、第1表に示す組成の液体培地に供試菌を接種し、25℃の暗黒下で振盪培養したものを種菌として、稲わらが入った培養袋一袋あたりに30ml接種した。そして、25℃、相対湿度70%、暗黒の条件で、50~60日間培養を行った。子実体発生区については、菌回り直後に培養袋を取り去り18℃、相対湿度90%、300lx（12時間照明/日）の発生室へ展開した。

2.5 物性の測定

2.5.1 稲わら重量減少率

70℃で7日間乾燥して恒量化し、稲わら菌床の重量減少率を求めた。

第1表 タモギタケの増養に
用いた液体培地の組成

Table 1 The medium composition for
Pleurotus cornucopiae.

Soluble starch	10g
Glucose	10g
Polypeptone	1.5g
Yeast extract	3g
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	0.5g
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0.5g
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	2mg
MnSO ₄ · 6 H ₂ O	2mg
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	2mg
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0.04mg
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0.02mg
Phosphate buffer(pH 5)	100ml
Distilled water	900ml

2.5.2 酵素糖化率

まず、重量減少率を測定した稲わら菌床をウイレーミルと遠心微粉砕機により2mmパスまで粉碎した。つづいて、これをふた付きのサンプル瓶（35mm×65mm）に約0.5g秤り取り、セルラーゼ（オノズカFA、酵素濃度：0.5%）を溶解した0.2M酢酸緩衝液（pH：4.0）40mlを加え、40℃で24時間振盪した。そして、試料をろ過、水洗した後、105℃で一晩乾燥して残さの乾燥重量を測定し、出発試料の乾燥重量との差を出発試料の乾燥重量で割って『見掛けの糖化率』とした。

また、セルラーゼを入れずに緩衝液のみを加えた試料についても何様の測定を行い、重量減少率を算出し、これと見掛けの糖化率との差を『正味の糖化率』とした。無処理稲わらについても何様な粉碎と酵素糖化处理を行った。

なお、いずれの場合にも繰り返し回数は2回はした。

2.5.3 セルロース、ヘミセルロース、リグニン含量

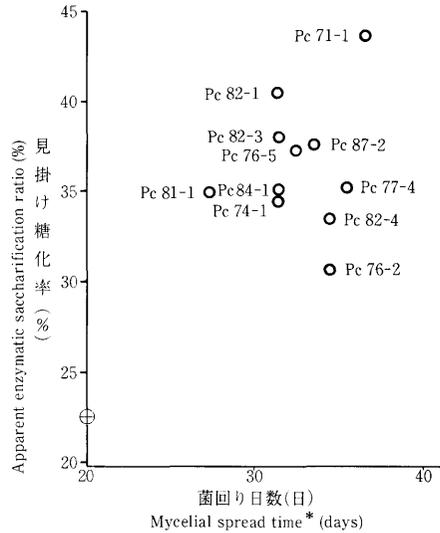
常法²⁾に従って、酸性デタージェント分析と中性デタージェント分析を行い、絶乾試料（無処理稲わら、稲わら菌床）中のセルロース含量、ヘミセルロース含量、AD-リグニン含量（以下リグニン含量と略す）を算出した。

3. 結果と考察

3. 1 菌株の選抜

第2表には、全供試菌株の菌回り日数、原基形成日数、経時的な培地重量減少率を示した。Pc 72-5株とPc 77-1株およびPc 82-2株は第1回目のサンプリング日である40日において、菌回りが終了していなかったため以後の実験を中止した。

菌回りが早い11株について、稲わら菌床の酵素糖化率測定を行った。第1図には、この11株の菌回り日数と、60日培養における見掛け糖化率の関係を示した。実際の稲わらの飼料化を考えると、害菌や雑菌の混入防止のためには担子菌の菌回りが可能なかぎり早いこと、そして、消化性の向上のためには稲わら菌床の酵素糖化率が大きいことが望まれる。そこで、稲わらの飼料化の実用化に向けた供試担子菌として、見掛け糖化率41.7%のPc 82-1株と菌回りは遅いものの最大の見掛け酵素糖化率45.0%を示したPc 71-1株を選抜した。



*The incubation period when the substrate is completely covered with the mycelial growth.

⊕ は無処理稲わらの見掛け糖化率の値を示す。
⊕ : control of rice straw.

第1図 菌回り日数と培養60日経過の稲わら菌床の見掛け糖化率

Fig. 1 The apparent enzymatic saccharification ratio of the rice straw which incubated with *Pleurotus cornucopial* (60 days, 25°C) versus the mycelial spread time.

第2表 タモギタケ菌株選抜試験結果

Table 2 The data of the strain selection test.

No.	Strain	Mycelial spread time (days)	Primordium generation (days)	Weight loss of the rice straw bed(%)		
				40days *1	50days	60days
1	Pc 71-1	36	47	21.1	29.9	38.1
2	Pc 72-5	Incubation was discontinued at 40th day.*2				
3	Pc 74-1	31	40	18.5	20.4	26.4
4	Pc 75-3	39	—*3	22.4	32.1	41.8
5	Pc 76-2	34	37	8.8	12.6	16.1
6	Pc 76-4	37	—	16.6	21.4	25.2
7	Pc 76-5	32	30	16.7	23.0	29.3
8	Pc 77-1	Incubation was discontinued at 40th day.				
9	Pc 77-4	35	—	20.0	25.0	32.3
10	Pc 81-1	27	32	17.0	22.3	28.2
11	Pc 82-1	31	43	15.5	20.1	26.7
12	Pc 82-2	Incubation was discontinued at 40th day.				
13	Pc 82-3	31	35	14.9	19.6	26.4
14	Pc 82-4	34	47	13.7	16.2	19.6
15	Pc 84-1	31	26	14.2	19.2	25.8
16	Pc 87-2	33	33	13.7	20.3	28.4
17	Pc 87-3	40	43	8.0	15.2	18.2

*1 Incubation period.

*2 Mycelial growth rate was slow.

*3 Absence of primordium generation.

第3表 稲わら菌床の成分変化

Table 3 The component changes of the rice straw incubated with *Pleurotus cornucopiae*.

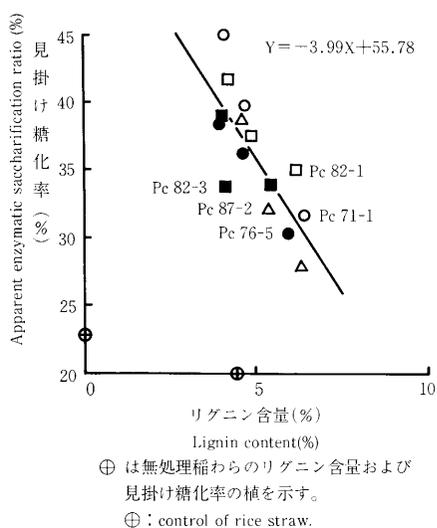
Strain	Incubation period (days)	Residual ratio of the components (%)		
		Cellulose	Hemi-cell.	Lignin
Control	straw	100.0	100.0	100.0
Pc 71-1	40	74.5	47.5	114.8
	50	60.7	34.8	74.1
	60	48.2	24.0	56.8
Pc 76-5	40	84.7	50.1	112.3
	50	74.5	41.2	80.5
	60	63.3	32.7	62.7
Pc 82-1	40	84.0	45.4	117.5
	50	75.6	43.6	88.4
	60	65.6	30.4	69.1
Pc 82-3	40	89.1	60.3	104.8
	50	80.3	49.0	73.6
	60	66.4	31.1	66.4
Pc 87-2	40	88.4	60.0	123.4
	50	77.2	50.7	96.8
	60	64.6	34.1	73.6

3. 2 稲わら菌床の成分変化

Pc 71-1, Pc 76-5, Pc 82-1, Pc 82-3, Pc 87-2の5株を用いた稲わら菌床について、無処理稲わらに対するセルロース、ヘミセルロースおよびリグニンの残存率を経時的に求め、その結果を第3表に示した。

セルロースとヘミセルロースについては、全ての供試菌について、いずれの場合も無処理稲わらの含量より減少していた。リグニンについては、50日培養時と60日培養時の場合は全ての株において残存率が100%以下となったが、40日培養時の場合は全て100%以上の値を示した。本研究の分析方法では、菌体のタンパク質の一部がリグニン量に加算されるため、稲わら菌床のリグニン量が大きく評価されうるが²⁾、上記の結果からみてタモギタケにより稲わら中のリグニンが分解されていることがわかる。

稲わら菌床について、リグニン含量と見掛け糖化率の関係を第2図に示した。図から明らかなように、リグニン含量と見掛け糖化率の関係が一次方程式 ($Y = -3.99X + 55.78$, Y: 見掛け糖化率, X: リグニン含量) で表わされ、その相関係数は、 $r = -0.7770$ と、



第2図 稲わら菌床のリグニン含量と見掛け糖化率の関係

Fig. 2 The apparent enzymatic saccharification ratio of the rice straw which incubated with *Pleurotus cornucopiae* versus the lignin content.

第4表 子実体発生試験の分析結果

Table 4 The data of the fructification test.

Sample	Control straw	Pc 71-1 (50days * ¹)	Pc 71-1 (60days)	Pc 71-1 (fructification * ²)	Pc 82-1 (50days)	Pc 82-1 (60days)	Pc 82-1 (fructification * ²)
Mycelial spread time (days)	—	41			36		
Weight loss (%)	—	35.4	43.4	44.7	23.0	31.8	29.1
Enzymatic saccharification ratio (%)	21.4* ³ (8.1* ⁴)	36.8 (8.9)	39.4 (8.3)	26.9 (7.1)	32.0 (10.5)	36.0 (11.3)	34.0 (7.7)
Biological efficiency of fructification * ⁵ (%)	—	—		0.8	—		2.7

*¹ Incubation period.

*² Incubation periods were 55days in Pc 71-1 and 54days in Pc 82-1. The mushrooms had been harvested.

*³ Apparent enzymatic saccharification ratio.

*⁴ Enzymatic saccharification net-ratio.

*⁵ kg dry mushrooms harvested per kg dry initial substrate.

第5表 子実体発生試験における見掛け糖化率の計算値と実測値に対する誤差

Table 5 The error between the calculated and observed values of the apparent enzymatic saccharification ratio in the fructification test.

Sample	Calculated ratio (%)	Error* (%)
Pc 71-1		
50days	35.0	- 4.9
60days	40.6	+ 3.1
Fructification	32.3	+20.1
Pc 82-1		
50days	34.6	+ 8.1
60days	38.6	+ 7.2
Fructification	41.0	+20.6

*100×(Calculated-observed)/observed.

比較的高い値となった。このことから、タモギタケによりリグニンが分解され、その結果、稲わら菌床の見掛け糖化率の値が高くなることが推定される。

3. 3 子実体の発生と処理稲わらの酵素糖化率

子実体発生試験は、3. 1で選抜したPc 71-1とPc 82-1株を用いて行い、第4表に結果をまとめて示した。そして、本実験で得られた見掛け糖化率を、3. 2の関係式で計算した値と比較し、その誤差を第5表に示した。結果をみると、両供試菌とも子実体発生区で、計算式から予想される見掛け糖化率に比べ実測値が特に低かった。さらに、正味の糖化率についても子実体発生区のみが、無処理稲わらの値より低かった。この理由としては、タモギタケの子実体形成時に、菌体外酵素のセルラーゼ活性が高まり、菌床のセルロ

ースが分解・消費され、酵素糖化率が減少したことが考えられる。事実、シイタケ^{3,4)}やヒラタケ^{5,6)}の子実体形成時に、このような現象の発現が報告されている。

したがって、実用的な見地からすると、稲わらの飼料化工程では、子実体の発生を避けることが望ましい。しかし、供試菌Pc 82-1における子実体発生区の見掛け糖化率は、無処理稲わらの値の約1.6倍となっており、飼料化に用いる菌株を考慮すれば、多少の子実体発生は稲わらの飼料化の大きな障害にならない可能性がある。

また、子実体の発生を完全に抑える方法としては、一核菌糸による処理が考えられる。この点については、今後の検討課題である。

4. 結論

稲わらの飼料化を目的として、タモギタケを接種、培養した結果、次のことが明らかになった。

- (1) タモギタケを接種、培養することにより、稲わらの酵素糖化率を高めることができた。
- (2) 子実体を発生させない場合は、リグニン含量と見掛け糖化率に高い相関関係が認められ、リグニンが少ないほど、見掛け糖化率の値が大きくなった。
- (3) 子実体発生を行った場合は、稲わら菌床の正味の酵素糖化率が、子実体発生を行わないものと比べて低い値となった。

文 献

- 1) 富樫巖, 米山彰造, 瀧澤南海雄: 日本木材学会北海道支部講演集 No. 22, 74-79(1990)
- 2) 生物分析委員会編: “栄養診断のための栽培植物分析測定法”, 養賢堂, 494(1976)
- 3) 石川久雄, 沖 妙, 仙波裕子: 木材学会誌, **29**, 280-287(1983)
- 4) T. Matsumoto: *Rept. Tottori Mycol. Inst.*, **26**, 46-54(1988)
- 5) 岩原博樹, 善本知孝, 福住俊郎: 木材学会誌, **27**, 331-336(1981)
- 6) 川上日出國, 藤井正人: 第36回日本林学会中部支部大会論文集, 109-112(1988)

—利用部微生物利用科—
(原稿受理 平 3.1.8)