

## ナメコ菌菌糸の振盪培養（2）

三野紀雄 信太 寿

- 前号に続く - 鋸屑培養基からの食用菌の栽培が盛んになる傾向にあるが、雑菌汚染等を考えると殺菌・接種・培養の工程を連続・工業的にする生産方式の確立がのぞましい。その一工程として接種源菌を液体培養により得ることを検討している。前月号においてはガラス片を混入して振盪培養することにより、微細な菌糸体がえられることがわかった。

### 3.2. 分散材としての植物性油の検討

植物性油は菌じん類の菌糸生育また子実体形成に有効に作用するといわれている<sup>9,10)</sup>、さらに振盪培養での培養菌糸体の分散剤あるいは培養液の消泡剤としての効果も期待できる。

#### 3.2.1. 植物性油添加培養基における菌糸生育

実験3 静置培養における植物性油添加が菌糸生育におよぼす影響

培養基StPYIを用い振盪培養を行ったところ、添加した植物性油と培養基中の無機塩類とのケン化物質の形成が見られた。この実験では、StPYAを用い静置培養での植物性油（コーン油）が菌糸生育におよぼす影響を検討した。その結果は第6表に示したが、植

物性油の添加は静置培養での菌糸生育に有効に作用しているようである。ただし、第6表に示す植物性油添加時にえられた菌糸体重量は、エチルエーテルで十分に洗い落せなかった植物性油の重量も含まれているものと思われる。

#### 3.2.2. 無機塩類を含まない培養基組成の検討

実験4 振盪培養における培養基の違いが菌糸生育におよぼす影響

実験3で知られたように、無機塩類を含む培養基に植物性油を添加した場合、静置培養では菌糸生育に有効であったが、振盪培養ではケン化物質の形成が見られ菌糸の分散の上から好ましくない。

この実験では、無機塩類を含まずまた実用上培養基の作製手順が簡単ないくつかの培養基と実験2で用いた無機塩類を含む培養基との振盪培養での菌糸生育を比較した。また、炭素源と生長素の種類についても検討した。その結果は第7表に示すように菌糸体重量についてはSuPYが最もすぐれ、GPM, StPYI, SuPMの順であった。本試験のごとく水道水を使った

第6表 静置培養におけるコーン油添加が菌糸生育におよぼす影響

培養基	コーン油 添加量 (cc/100cc)	菌体重量 (mg)	観 察
StPYIA	無 添 加	1013	無添加に比較し良好 ◇
	0.5	5732	
	1	8303	

第7表 培養基の種類が菌糸生育におよぼす影響

培養基	稀釈平板法での菌糸生育日数			菌体粒度	観 察	菌体重量 (mg)
	1/10	1/100	1/1000			
GPM	2-5	5-7	5-8	1	生育良好, 1mm以下のバルブ状菌糸, 1~2mmのベレット状菌糸も少量含む	817
GPY	3-5	4-5	4-7	1	◇	1045
SuPM	3-7	4-7	5-7	1	◇	704
SuPY	2-5	3-6	4-8	1	◇	1131
StPYI	3-5	3-5	5-10	1	◇	715

場合は、培養基への無機塩類の添加はかならずしも必要ないものと思われる。また、生長素としてのイーストエキストラクトとマルトエキストラクトとの間には1%の危険率で有意差がありイーストエキストラクトがすぐれていた。炭素源としてのグルコースとシュークローズの間には有意差は見られなかった。なお、用いた培養基の間には菌糸体粒度に違いはみられなかった。しかし、稀釈平板法での接種効果はSuPYが最もすぐれていた。それ故、以後の実験では生長素としてイーストエキストラクトを、また炭素源としては経済的見地からシュークローズ（市販砂糖）を用いた。

実験5 培養基の各組成成分の濃度が菌糸生育におよぼす影響

実験4において、培養基の炭素源と生長素の選択ができたので、この実験では、さらに炭素源としてのシュークローズ、窒素源としてのポリペプトン、生長素

としてのイーストエキストラクトの添加量について検討した。

まず、イーストエキストラクトの添加量を一定にし、シュークローズとポリペプトンの添加量について検討した。その結果は第8表に示すようにシュークローズが40g/lそしてポリペプトンが1.5g/lの時菌糸体重量が最も多かった。なお、炭素源の添加量間、窒素源の添加量間ともに1%の危険率で有意差があった。この実験でもさきの報告<sup>1)</sup>におけると同様、ポリペプトンの添加量を減少させるにしたがい菌糸体重量が増加した。しかし、炭素源と窒素源とは交互作用はみられなかった。

次にイーストエキストラクトの添加量について検討したが、シュークローズとポリペプトンの添加量はさきに検討して最も有効であった40g/lと1.5g/lとした。その結果は第9表に示すように添加量の違いによ

第8表 培養基の各組成成分の濃度が菌糸生育におよぼす影響（1）

No.	培 養 基			稀釈平板法での菌糸生育日数			菌体粒度	観 察	菌体重量 (mg)
	組 成 (g/l)			1/10	1/100	1/1000			
	Su	P	Y						
1	40	12	1	3-4	4-5	4-6	1	1 mm以下のバルブ状菌糸	598
2	40	6	1	3-4	3-5	4-5	1	〃	630
3	40	3	1	3-4	3-5	4-5	1	〃	707
4	40	1.5	1	—	—	—	1	〃	805
5	20	12	1	3-4	3-6	4-6	1	〃	448
6	20	6	1	2-5	3-6	4-6	1	〃	478
7	20	3	1	2-5	3-5	4-6	1	〃	504
8	20	1.5	1	3-4	3-6	4-6	1	〃	757

第9表 培養基の各組成成分の濃度が菌糸生育におよぼす影響（2）

No.	培 養 基			稀釈平板法での菌糸生育日数			菌体粒度	観 察	菌体重量 (mg)
	組 成 (g/l)			1/10	1/100	1/1000			
	Su	P	Y						
1	40	1.5	1	2-4	3-5	4-6	1	1 mm以下のバルブ状菌糸	883
2	40	1.5	3	2-4	3-5	4-6	1	〃	941
3	40	1.5	5	2-4	3-5	4-6	1	〃	969
4	40	1.5	10	2-4	3-5	4-6	1	〃	836

る菌糸体重量には有意差はみられなかったが、添加量が3g/lあるいは5g/lの時にわずかにすぐれていた。このことは接種効果でも同様に観察された。

3.2.3. 添加する植物性油の種類とその添加量

実験6 振盪培養において各種植物性油の添加が菌

糸生育におよぼす影響

実験4, 5で振盪培養における菌糸生育に有効な無機塩類を含まない培養基（Su40g/l, P1.5g/l, Y3g/l）がみいだされたので、この実験ではこの培養基に種々の植物性油を添加し、それが菌糸の生育状態

と稀釈平板法での接種効果におよぼす影響について検討した。その結果は第10表で示すように大豆油およびコーン油の添加で最もすぐれた接種効果がえられ、また菌系の生育状態も観察によってはすぐれていた。植物性油の菌糸体粒度にあたる影響については、米油あるいはゴマ油のように明らかに菌糸体が大きなものもあり、その有効性は明確ではなかった。消泡剤としての効果は、用いた植物性油すべてにみられ、培養基

に1%添加することにより培養期間中その効果が持続された。このように大豆油あるいはコーン油の添加はガラス片を単用するものよりも本試験の目的にとって有効であると考えられる。

実験7 振盪培養における大豆油の添加量が菌系生育におよぼす影響

実験6において、植物性油の添加が振盪培養における菌系生育に有効であることが明らかとなった。この

第10表 振盪培養で各種植物性油が菌系生育におよぼす影響

培養基	添加植物性油	稀釈平板法での菌系生育日数			菌体粒度	観 察
		1/10	1/100	1/1000		
SuPY	オリーブ油	2-3	3-5	3-5	1	1mm以下のバルブ状菌糸
	大豆油	1-3	2-4	3-5	1	〃
	コーン油	1-3	2-4	4-9	1	〃
	米油	2-4	2-4	4-9	3	生育良好であるが、3~4mmのバルブ状菌糸を含む
	ゴマ油	2-4	3-4	3-5	3	〃
	無添加	2-4	3-5	5-9	1	1mm以下のバルブ状菌糸

第11表 振盪培養で大豆油の添加量、接種源の種類と量が菌系生育におよぼす影響

No.	大豆油添加量 (cc/100cc)	接種源の種類と量 ( /100cc)	稀釈平板法での菌系生育日数			菌体粒度	観 察
			1/10	1/100	1/1000		
1	0.5	寒天片 3コ	2-4	3-5	3-6	1	1mm以下のバルブ状菌糸
2	0.5	菌体液 10cc	2-4	3-6	3-6	1	〃
3	0.5	菌体液 5cc	2-4	2-4	3-6	1	〃
4	1	寒天片 3コ	2-4	3-5	3-6	1	〃
5	1	菌体液 10cc	2-4	2-4	3-6	1	〃
6	1	菌体液 5cc	2-4	2-4	3-6	1	〃

実験では、実用上容易に大量に入手できる大豆油を用い、その添加量を変えて菌系生育または培養液の消泡効果について検討した。その結果は第11表に示すように、大豆油の添加量を変えても菌糸体粒度、稀釈平板法での接種効果、培養液の消泡効果には差がみられなかった。

以上のように、振盪培養において植物性油を培養基に添加することにより菌系生育に有効に作用する。また、その添加量は0.5cc/100ccで充分であると考えられる。

### 3.3. 接種源と培養日数の検討

これまでの実験で、振盪培養における菌系生育に有効な分散材とその添加量、また培養基組成などについて検討を加え培養条件が決定された。ここでは、最後

の実験として実用上問題となる接種源と培養日数とについて検討した。

実験8 振盪培養における接種源の種類とその接種量が菌系生育におよぼす影響

これまでの実験ではPoSuYAで培養した菌そうを接種源として用いてきたが、あらかじめ振盪培養した菌体液を接種源として用いることによりさらに高い接種効果が期待されるので、ここでは接種源の種類がその後の振盪培養での菌系生育におよぼす影響について検討した。

その結果は第11表に示すように、培養日数が12日間では接種源の違いによる差は、菌糸体粒度・接種効果ともに明らかな差はみられなかった。ただし、接種源を培養菌体液にした場合、PoSuYAでの培養菌そうに

第12表 振盪培養での培養日数が菌糸生育におよぼす影響

培養日数	稀釈平板法での菌糸生育日数			菌体粒度	観 察	培養後の培養液 pH
	1/10	1/100	1/1000			
6	2-4	3-6	3-6	1	生育良好, 1 mm以下のバルブ状菌糸	4.50
8	1-4	1-4	1-6	1	〃	4.40
10	1-2	1-4	2-5	1	〃	4.25
12	1-3	1-4	3-5	1	〃	4.23
14	1-4	2-4	3-5	1~2	2 mm前後のバルブ状菌糸を含む	4.22
16	—	—	—	3	3 mm以上のバルブ状菌糸を含む	—

比較しわずかに接種効果はすぐれていた。接種菌体液量の違いでは全く差がみられなかった。しかし、接種量を多くすると培養日数は短くてすみ、また少なくすると長くなるものと考えられるので、培養期間を変えることにより接種量の違いによる差は明確になるものと思われる。

#### 実験9 培養日数の検討

この実験では、接種源をあらかじめ培養して得た菌体液とし培養日数を検討した。なお、接種量についてはさらに検討を要するが、ここでは5 cc/100ccとした。

その結果は、第12表に示すように接種効果は8日ないし10日間培養して得た菌体液が最もすぐれており、菌体粒度も微細であった。10日目を過ぎるにしたがい接種効果も低下し、また、菌体粒度も大きくなり、16日目では直径3~4 mmのかかなり大形の菌糸体を含むようになった。したがって、接種源量を菌体液5 cc/100ccにした場合、培養日数は8日ないし10日間が適当と思われる。

#### 4. まとめ

1) 鋸屑などの木質培養基にナメコ菌菌糸を接種するに際して接種源となる接種効果のすぐれた微細な菌糸体をうるための増殖方法に関し検討を加えた。

2) 鋸屑などの木質培養基に対する接種効果の判定は、その方法の簡便さから寒天平板への接種効果をも

って替えた。

3) 培養基組成がシュクローズ 40g/l, ポリペプトン1.5g/l, イーストエキストラクト 3g/l の培養液 100cc に 5~10 メッシュのガラス片を 4g, 大豆油を 0.5cc 添加し、あらかじめ振盪培養により得た菌糸体液を 5 cc 接種、振盪条件が振幅 90mm, 回転数が毎分 102回の往復振盪機で 1日 2時間 3回振盪し、23~25°C の温度を保持して 8~10日間培養することにより、菌糸の生育状態の良好でまた寒天平板への接種効果のすぐれた微細な培養菌体液がえられた。

4) えられた培養菌体液の鋸屑などの木質培養基への接種効果、また、振盪培養での継代培養が子実体形成にあたる影響などについては、今後さらに検討を加えなければならない問題である。

#### 文 献

- 1) 小田島輝一ほか；北林産試月報または木材の研究と普及 11月号(1964)
- 2) 高橋穰二ほか；農化誌, 32, 7, p501 (1958)
- 3) 高橋穰二ほか；農化誌, 33, 8, p707 (1959)
- 4) 高橋穰二ほか；農化誌, 34, 1, p100 (1960)
- 5) 高橋穰二ほか；農化誌, 34, 5, p441 (1960)
- 6) 高橋穰二ほか；農化誌, 34, 12, p1043 (1960)
- 7) 矢吹 稔ほか；農化誌 42, 3, p120 (1968)
- 8) 秋光良洋；日本菌学会第13回大会講演集(1969), P50
- 9) WARDLE, K, S, ほか；MYCOLOGIA, 61, 2, p305(1969)
- 10) SCHISLER, L, C. ほか；APPL. MICROBIOL., 15, 4, p844(1967)

—林産化学部 特殊林産科—

(原稿受理 46. 3. 15)