

## ヌメリスギタケモドキ菌糸体の培養特性

高島幸司\*

### Some Factors Effcting Mycelial Growth of *Pholiota aurivella* (Batsch : Fr. ) Kummer

Takabatake, Koji\*

Some factors having an effect on mycelial growth of *Pholiota aurivella* in culture were investigated. The results are summarized as follows :

- 1) The minimum, maximum and optimum temperatures for the mycelial growth were 5°C, 31.5°C and 23~27°C, respectively. The suitable moisture content of the sawdust-rice bran medium for mycelial growth was 60~80%. The suitable and optimum initial pH were between pH 5.4~7.1 with a mean of about pH 6.5.
- 2) The mycelial growth in the liquid culture indicated that the dried weight increased rapidly after incubation and decreased slowly after it reached its maximum. The pH became lower as the mycelial weight was increased. Thereafter, the pH was increased slightly to pH 5.2~5.4.
- 3) Among the various carbon sources which where tested, mannose and glucose were utilized most effectivly for mycelial growth. Peptone and casamino acid as the organic nitrogen sources gave the best results among the nitrogen sources tested.
- 4) The optimum conentrations of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  for the mycelial growth were 0.05%, 0.02% and 0.01%, respectively. The absence of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  in the basal medium allow for remarkable mycelial growth. An addition of riboflavin, inositol and thiamine to the basal medium promoted the mycelial growth.

ヌメリスギタケモドキの菌糸体生長に影響を及ぼす数種の要因について検討した。結果は次のとおりである。

- 1) 菌糸体の生育温度は5~31.5°Cであり、適温は23~27°Cであった。鋸屑培地の好適含水率は60~80%であり、液体培養の良好な初発pHは5.4~7.1で、最適な初発pHは6.5前後であった。
- 2) 液体培養（静置）の菌糸体は、培養開始後急速に増加し、培養18日目で最大量に達し、その後漸減した。また、培養液のpHは、菌糸体の増加と共に低下し、菌糸体が最大量になった後、pH5.2~5.4に収束した。
- 3) 菌糸体の炭素源および窒素源の利用法は、六単糖のマンノースやグルコース、有機態窒素であるペプトンやカザミノ酸で良好であった。
- 4) 無機塩類では $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.05%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02%、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.01%でそれぞれ最も良好に生長し、また、 $\text{Zn}^{2+}$ や $\text{Fe}^{2+}$ で顕著な生長効果が認められた。ビタミン類ではリボフラビン・イノシトール・チアミンの添加で良好な生長を示した。

本報告の一部は日本菌学会第33回大会（大阪）で発表した。

\* 林業試験場

1. はじめに

食用きのこの生産は近年飛躍的に伸び、年間生産額は2,500億円余りに達した。これにともない、消費者の嗜好が多様化し、健康食品・天然きのこのイメージに基づく、より高品質で野生味のあるきのこが求められるようになってきた。

一方、健全なスギ造林木を育成するために間伐が推奨されており、間伐を推進するためにスギ間伐材の有効利用が多方面で研究・検討なされている。きのこ栽培においても、ほだ木原木・菌床用鋸屑として利用可能か、検討されている。

このような消費者のきのこに対する動向とスギ間伐材の利用を考慮して野生の食用きのこを調査・検討したところヌメリスギタケモドキに着目した。本菌はナメコの近縁種（モエギタケ科スギタケ属）であり、春～秋各種広葉樹の立木または枯木の幹木に束生し、歯ざわり良くきのこ臭のする野生味のある優秀な食用きのこである。また、予備実験で、本菌は、スギ辺・心材鋸屑培地で子実体を形成することを確認した。

しかし、ヌメリスギタケモドキに関する研究は少なく、三河<sup>2)</sup>が菌糸体生長・原基形成と温度について報告しているのみで、基本的諸性質はいまだ不明である。よって、本菌をスギ間伐材を用いて栽培するには、様々な生理的性質を解明する必要がある。

そこで、本報告では、まず、ヌメリスギタケモドキの生理的特性を明らかにするため、菌糸体の栄養生長に及ぼす各種外的要因、特に温度、培地水分、培地の初発pH、タイムコース及び栄養素の影響について検討した。

2. 実験方法

2.1 供試菌

本研究に使用したヌメリスギタケモドキは富山県内で発生していた子実体を組織分離したもので、菌糸体の伸長生長及び子実体形成の良好な系統(Pav-2)を供試した。

2.2 培地

供試した培地は表-1のとおりである。菌糸体生長と温度に関する試験にはPDA培地、pH試験にはMY培地、タイムコース試験にはWaksman培地、培地水分に関する試験には鋸屑米糠培地を使用した。また、菌糸体生長と栄養素に関する試験には基本培地を用いた。

液体培地及び寒天培地は15分間、鋸屑米糠培地は30分間、それぞれ1.2kg/cm<sup>2</sup>、121℃で、高压滅菌した。栄養素に関する試験のうち炭素源の利用試験では、100℃・30分間の間欠滅菌を行った。アデニン・ヒタミン類は、別途にミリポアフィルターで濾過除菌した後、培地に添加した。培地のpHは、pH試験に限り1N HClあるいは1N NaOHで培地調製時に調整した。

2.3 接種源

供試菌を保存培地（PDA培地にて12カ月間継代培養）よりMYA培地に接種し、2週間平板培養した後、コロニーの先端部を径5mmまたは10mmのコルクボーラーで寒天ごと打ち抜いたディスクを接種源とした。

2.4 培養及び菌糸体生長量の測定

培養温度は、温度試験を除き25℃で行った。培養期間は、液体培養（静置）では10日間、寒天培養では14日間、鋸屑培養では14日間及び21日間とした。

表-1 供 試 培 地

培 地	組 成 分
P D A	ポテトデキストロース寒天培地（日水製）
M Y	グルコース 4 g, 麦芽エキス10 g, 酵母エキス 4 g, 蒸留水1000ml
Waksman	グルコース10 g, ペプトン 5 g, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1 g, MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 0.5 g, 蒸留水1000ml
鋸屑米糠	スギ辺材：米糠 = 4 : 1 (w/w)
基本培地	グルコース20 g, L-アスパラギン 1 g, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1 g, MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 0.15mg, MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 0.3 g, CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O 0.1 g, ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 0.3mg, FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 0.15mg, MnCl <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O 0.1mg, CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O 0.1mg, thiamine-HCl 100 μ g 蒸留水1000ml

菌糸体生長量は、液体培養では菌糸体乾燥重量、平板及び鋸屑培養では菌糸体の伸長生長量を測定して求めた。菌糸体乾燥重量は、培養液中の菌糸体を濾別して蒸留水で洗浄し、80℃で2日間乾燥した後、秤量して求めた。平板培養の菌糸体生長量は、接種片を中心に直交する直線を任意にひき、各々の4方向で接種片を起点として直線に沿って伸長しているコロニー先端部までの長さを測定して求めた。鋸屑培養の菌糸体生長量は、供試菌を接種したのち3～4日間培養して試験管壁に沿って伸長したコロニー先端部を起点として所定の期間培養し、伸長した菌糸体先端部までの長さを測定して求めた。

初発pH試験及びタイムコース試験では、菌糸体生長量と培養濾液のpH・グルコース残量を測定した。グルコース残量はシュガーアナライザー(YS1モデル27, 日本科学機製)で測定した。

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 培養温度と菌糸体生長

5～33℃の温度条件下で培養した結果を図-1に示した。菌糸体生長は、5℃～31.5℃で確認されたが、33℃では確認されなかった。生長に好適な温度範囲は24～27℃で、最適温度は27℃であった。この結果は、本菌の近縁種であるヌメリシギタケ<sup>3)</sup>と一致し、またシイタケ<sup>4)</sup>、エノキタケ<sup>5)</sup>、ヒラタケ<sup>6)</sup>、ナメコ<sup>7)</sup>、マイタケ<sup>8)</sup>等、一般に栽培されている食用担子菌類の好適な温度範囲とよく一致した。

#### 3.2 培地水分と菌糸体生長

鋸屑米糠培地を含水率39～84% (湿量基準) に調整して培養した結果を図-2に示した。80%までは含水率の増加と共に生長量は増加したが、80%を越えると急激に低下した。好適な含水率範囲は60～80%で、最適含水率は80%付近であった。これらのことは、本菌がナメコ<sup>9)</sup>、アラゲキクラゲ<sup>10)</sup>、ヤナギマツタケ<sup>11)</sup>と同様に高含水率を好む菌であることを示唆している。しかし、栽培にあたっては、高含水率にすると作業性が悪くなり、害菌が発生しやすくなるので65%前後の培地含水率が適当と考えられる。

#### 3.3 培地の初発pHと菌糸体生長

培地の初発pH3.8～7.5で培養した結果を図-3に示した。初発pH3.8～7.5の範囲で、菌糸体は生長可能であった。良好な生長を示す初発pH範囲は5.4～

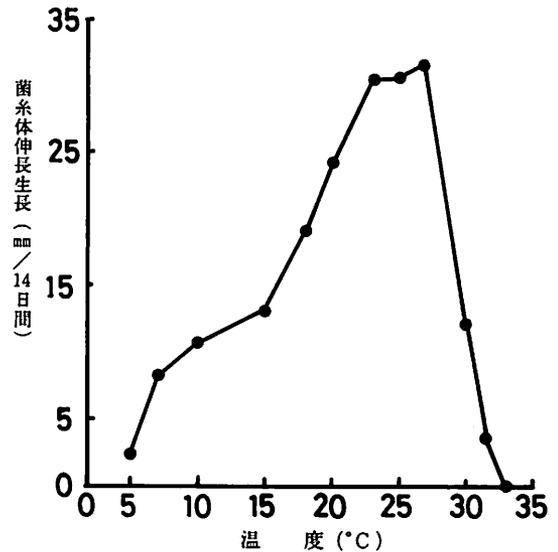


図-1 菌糸体生長に及ぼす温度の影響

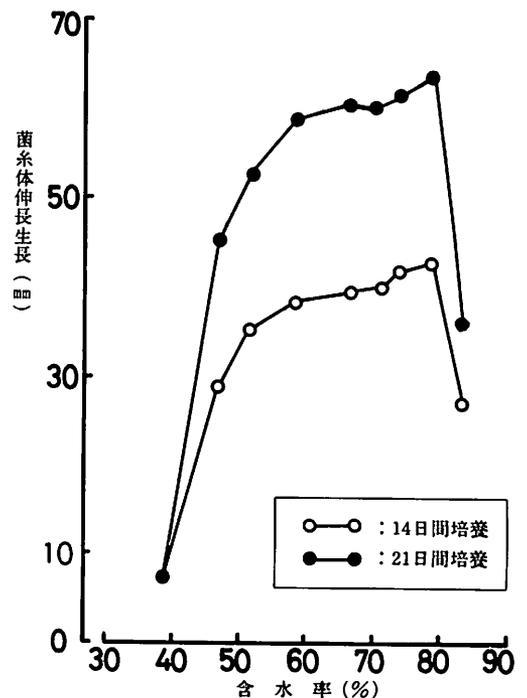


図-2 菌糸体生長に及ぼす含水率の影響

7.1で、最適初発pHは6.5前後であった。また、終期pHは、初発pHの上昇と共に高くなったが、初発pH5.8以上では6.0前後に収束した。このように、良好な生長を示す初発pHで培養すると、終期pHが一定の値に収束する傾向がヤナギマツタケ<sup>11)</sup>においても認められている。

3.4 タイムコース

3日間～30日間培養して3日毎に菌糸体乾燥重量、終期pH、グルコース残量を測定した結果を図-4に示した。

菌糸体重量は、培養後15日目まで急速に増加し、18日目で最大量に達したが、その後やや漸減した。

終期pHは、菌糸体重量の増加とともに低下し、菌糸体重量の漸減とともにややpHが上がり21日目以降、pH5.2～5.4に収束した。このことは、橋本<sup>12)</sup>が指摘しているように、菌糸体が最大量になるまで有機酸が菌体外に排出されるためpHが低下し、その後、菌糸体の自己消化が徐々に始まったため、培養液中のpHが上昇したものと考えられる。

グルコースは菌糸体重量が最大に達する18日目まではほぼ一定の割合で消費され、30日目には、培養液中のグルコース残量は、当初の1/6位まで低下した。

3.5 栄養素と菌糸体生長

(1) 炭素源：基本培地のグルコースを2%濃度の他の炭素源11種に置き換えて、菌糸体生長に及ぼす影響について検討した結果を表-2に示した。

ヌメリシギタケモドキは、いずれの炭素源でも生長可能であった。本菌は、単糖類のマンノース、多糖類の可溶性デンプン・デキストリン、二糖類のラクトースで、対照区のグルコースと同様の生長を示したが、糖アルコールのグリセロール、ペントースのキシロース・

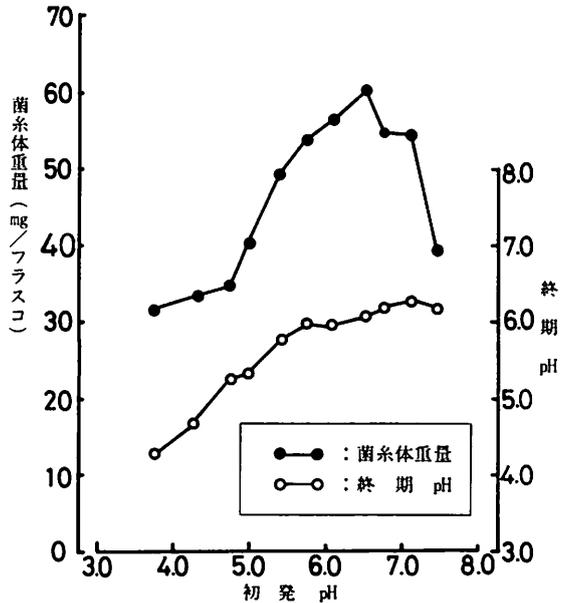


図-3 菌糸体生長に及ぼす初発pHの影響

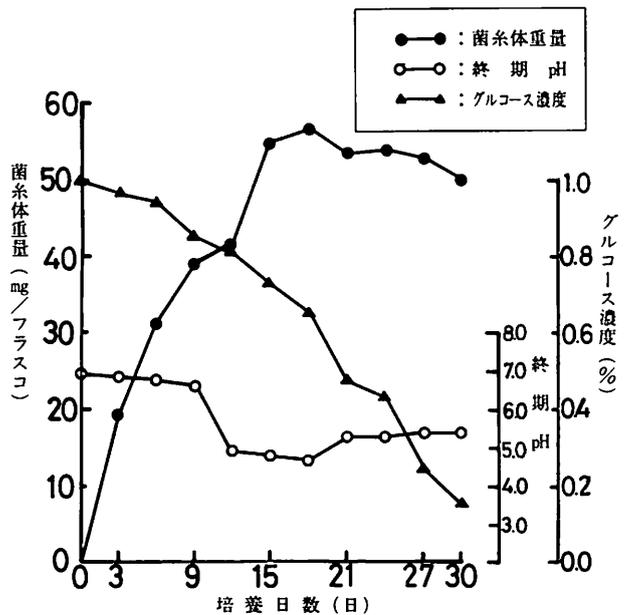


図-4 ヌメリシギタケモドキのタイムコース

アラビノースでは対照区より劣った。

ヌメリシギタケモドキがシイタケ<sup>13)</sup>、エノキタケ<sup>14)</sup>、マイタケ<sup>9)</sup>、ヤナギマツタケ<sup>11)</sup>と同様に広範囲の炭素源を利用できるのは、本菌も木材腐朽菌であるためと考えられる。

- (2) 窒素源：基本培地のL-アスパラギンを0.3gN/ℓ濃度の8種類の窒素源に置き換えて菌糸体生長に及ぼす影響について検討した結果を表-3に示した。

本菌は、ペプトン・カザミノ酸で良好な生長を示した。有機態窒素と無機態窒素を比較すると、L-アスパラギンは、生長にあまり影響を及ぼさなかったが、有機態窒素であるペプトン・カザミノ酸は、無機態窒素より菌糸体の生長に有効であった。この傾向は、シイタケ<sup>14)</sup>、エノキタケ<sup>15)</sup>、ヒラタケ<sup>16)</sup>、ナメコ<sup>17)</sup>、マイタケ<sup>9)</sup>などの木材腐朽性の食用担子菌類でも認められている。無機態窒素では、アンモニア態窒素より硝酸態窒素で良好な生長を示した。

シイタケ<sup>13)</sup>、ヒラタケ<sup>15)</sup>、ナメコ<sup>16)</sup>、マイタケ<sup>9)</sup>等、栽培されている食用担子菌類の大半は、硝酸態窒素よりアンモニア態窒素で良好な生長を示したが、本菌は、ヤナギマツタケ<sup>11)</sup>と同様に硝酸態窒素で良好な菌糸体の生長を示した。これらのことより、菌糸体の栄養生長におけるアンモニア態窒素と硝酸態窒素での利用性の差は、個々の菌の種に依存していると考えられる。

- (3) 無機塩類：無機塩類のうち多量成分である $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ を各々 $KH_2PO_4$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ として基本培地に添加し、菌糸体生長に好適な濃度を検討した結果を図-5に示した。

$KH_2PO_4$ では、0.05%で最も有効であり0.2%以上では添加の効果が認められなかった。 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ では0.1%までの添加を検討した

表-2 菌糸体生長に及ぼす各種炭素源の影響

炭素源 (2.0%)	菌糸体重量 (mg/フラスコ)		
グリセロール	17.3	±	0.8 <sup>1)</sup>
アラビノース	21.4	±	0.5
キシロース	18.7	±	0.7
フラクトース	26.8	±	1.0
グルコース	29.8	±	0.5
マンノース	29.9	±	1.0
マンニト	23.8	±	0.3
ラクトース	28.1	±	1.3
サッカロース	24.9	±	0.8
マルトース	26.0	±	1.3
デキストリン	27.7	±	1.3
可溶性デンプン	28.6	±	0.8
無添加	4.9	±	0.2

1) 平均値±標準偏差

表-3 菌糸体生長に及ぼす各種窒素源の影響

窒素源 (0.3gN/ℓ)	菌糸体重量 (mg/フラスコ)		
L-アスパラギン	23.9	±	1.0 <sup>1)</sup>
カザミノ酸	42.2	±	0.7
ペプトン	47.8	±	0.9
硫酸アンモニウム	25.7	±	1.1
塩化アンモニウム	27.9	±	1.3
硝酸アンモニウム	28.9	±	1.8
硝酸カリウム	30.6	±	0.9
硝酸ナトリウム	30.9	±	2.3
無添加	20.9	±	0.7

1) 平均値±標準偏差

ところ、いずれの濃度でも生長の効果が認められたが、0.02%で最も効果があり、0.06%以上では添加効果に差がみられなかった。 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ では、0.01%で最も効果があったが、0.03%以上の添加では無添加より極端に生長が劣った。

微量成分については、 $Fe^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ の4種類全部含む培地を対照にして各々一成分を除いた培地で影響を検討した。その結果を図-6に示す。

$Zn^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ を欠いた培地ではそれぞれ対照区の約70%、80%、90%の生長にとどまり、

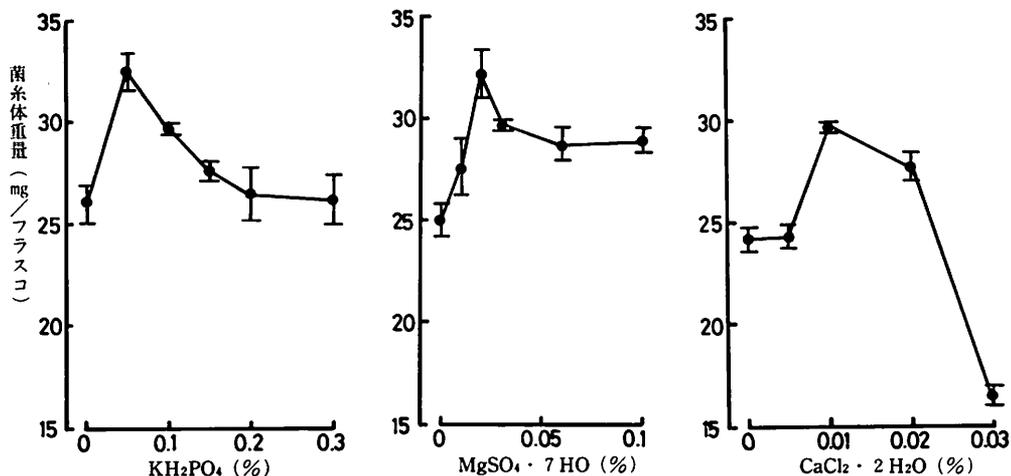


図-5 菌糸体生長に及ぼす無機塩類の影響

↓ : 平均値±標準偏差

各々の成分が、本菌の生長に有効に働くと考えられる。また、Mn<sup>2+</sup>の欠いた培地では、対照区とほぼ同程度の生長を示したことから、Mn<sup>2+</sup>は菌糸体の生長に影響を及ぼさないと考えられる。

(4) アデニン・ビタミン類：基本培地のチアミンをアデニン (5.0mg/l)、ニコチンアミド (0.3mg/l)、パントテン酸 (0.3mg/l)、ピリドキシン (0.2mg/l)、葉酸 (0.03mg/l)、ビタミンB<sub>12</sub> (0.01mg/l)、イノシトール (3.0mg/l)、ビオチン (0.01mg/l) に置き換えてアデニン・ビタミン類の菌糸体生長に及ぼす影響を検討した。その結果が図-7である。

ビオチン・葉酸はヌメリシギタケモドキの菌糸体生長にほとんど影響を及ぼさなかった。しかし、アデニンや他のビタミン類は、いずれも菌糸体の生長に有効に働き、特にイノシトール、チアミン、リボフラビン、ビタミンB<sub>12</sub>で有効であった。

チアミンは、シイタケ<sup>13)</sup>、エノキタケ<sup>14)</sup>、マイタケ<sup>8)</sup>、アミスギタケ<sup>17)</sup>等、多くの担子菌類の菌糸体の生長と子実体形成に対して必須成分であると報告されて

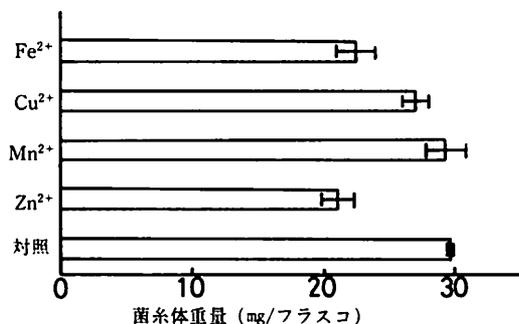


図-6 菌糸体生長に及ぼす微量無機塩類の影響

± : 平均値±標準偏差

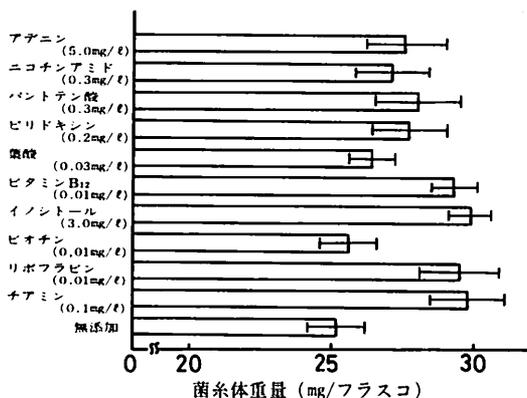


図-7 菌糸体生長に及ぼすアデニン・ビタミン類の影響

± : 平均値±標準偏差

いる。しかし、イノシトールとリボフラビンは、本菌の菌糸体の生長にチアミンとほぼ同程度の効果を示したことから、チアミンは、ヌメリスギタケモドキの菌糸体の生長には、有効な一成分ではあるが、必須成分であるとは言えない。

以上、ヌメリスギタケモドキ菌糸体の栄養生長に及ぼす数種の要因について検討したところ、菌糸体の生育適温は23~27℃、鋸屑培地の好適含水率は60~80%、液体培養の良好な初発pHは5.4~7.1であった。また、菌糸体の炭素源及び窒素源の利用性は、六単糖のグルコースとマンノース、有機態窒素のペプトンとカザミノ酸で良好であった。これらの結果は、これまで栽培されている木材腐朽性の食用担子菌類に関する結

果とほぼ同様であった。この事実よりヌメリスギタケモドキを栽培するには、従来の木材腐朽性食用担子菌類の手法が応用できると考えられる。

しかし、菌糸体の生長に及ぼす光・温度変化等の影響や子実体形成に及ぼす各種外的要因の影響は、個々のきのこによって異なるので、今後それらについて明らかにする必要がある。

#### 4. 謝 辞

本研究を行うにあたり、ヌメリスギタケモドキの同定をしていただいた農林水産省森林総合研究所根田仁研究官、ヌメリスギタケモドキをはじめ野生きのこの採集に御協力いただいた富山県林業技術センター職員各位に深く感謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) 今関六也, 大谷吉雄, 本郷次雄編: "日本のきのこ", 山と溪谷社, 1988, p.234-235
- 2) 三河孝一: ヌメリスギタケモドキの発生試験(1), 39回日林東北支誌, 283-284, (1987)
- 3) ARITA. I., A. TERATANI., Y. SHIONE.: The optimal and critical temperature for growth of *Pholiota adiposa*, Rept. Tottori Mycol. Inst., 18, 107-113, (1980)
- 4) TOKIAMOTO. K., M. KOMATSU. : "Biological nature of *Lentinus edodes*.", In Chang, S.T., and Wayes(ed.), The biological and cultivation of edible mushroom, Academic press. London and Newyork, 1978, p.445-459
- 5) TONOMURA. H. : "Flammulina velutipes.", ibid, 1978, p.409-421
- 6) ZADRAZIL. F. : The ecological and industrial production of *pleurotus ostreatus*, *pleurotus florida*, *pleurotus cornucopiae*, *pleurotus eryngii*, Mushroom Sci., IX, 621-652, (1974)
- 7) 有田郁夫: ナメコの栽培に関する研究 1. 菌糸の生長と温度, 菌蕈研報, 6, 58-73, (1968)
- 8) 松本晃幸, 大平郁夫: マイタケ菌糸体の培養特性, 菌蕈研報, 20, 140-147, (1982)
- 9) 庄司当, 大竹力次: オガ屑利用によるナメコ栽培に関する研究(I), 79回日本林講, 268-271, (1968)
- 10) 金城一彦, 近藤民雄: 担子菌栽培培地に関する研究(第3報)アラゲキクラゲの培養特性について, 木材誌, 25, 799-803, (1979)
- 11) 木内信行: ヤナギマツタケの菌糸体生長ならびに子実体形成におよぼす2, 3の要因の影響と子実体構成成分について, 神奈川林試研報, 12, 1-24, (1985)
- 12) 橋本一哉, 磯部信昭, 高橋善次郎: 茸類の生化学的研究 I 有機酸代謝について(a), 日菌報, 7, 20-24, (1966)
- 13) ISHIKAWA. H: Physiological and ecological studies on *Lentinus edodes*(Berk.) Sing., J. Agric. Lab., 8, 1-57, (1967)
- 14) 北本豊ら: エノキタケの栄養生長及び子実体形成における栄養要求性, 鳥取大農研報, 38, 35-41, (1985)
- 15) HASHIMOTO. K., Z.TAKAHASHI: Studies on the growth of *pleurotus ostreatus*, Mushroom Sci., IX, 585-593, (1974)
- 16) 橋本一哉, 磯部信昭, 高橋善次郎: 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性について, 東洋食品研報, 7, 208-214, (1966)
- 17) 北本豊, 葛西善三郎: 合成培地におけるアミスギタケの子実体形成, 農化誌, 42, 255-259, (1968)