

シイタケ菌糸のアミノ酸要求について

盛 永 宏 太 郎

Effects of Amino Acids for Growth of Shiitake Mycelium

By Kōtarō Morinaga

緒言

シイタケは季節を問わず食卓に供せられる我国特産の嗜好品で、古くより栽培されている。近年の生産量を(表-1)に示したがその生産量および需要量は著しく増加している¹⁾。一方においてシイタケ栽培に不可欠のほだ木は最近では植林している様であるが、雑木林に自生する、なら、くぬぎ、しい、くりなどの樹木である。

(表-1) 生しいたけおよびほだ木生産量

	生しいたけ (単位 万 t)	ほだ木 (単位 万 m ³)
昭和36年	0.5	—
40年	1.6	100*
44年	3.1	126
48年	4.6	188

*昭和41年の生産量

この生産量はさほどには増加していない。これは、栽培地での原木資源の枯渇を示している。そこで最近、ほだ木を用いない栽培方法の研究がさかんとなっており²⁾、同時にシイタケの子実体のみでなく菌糸の食用化の研究もなされるようになってきた。

シイタケ菌糸の液体培養について、古くはシュウ酸生産菌として坂口³⁾の報告があり、また菌糸体の食用化の研究として寺本ら⁴⁾⁵⁾の報告もある。岩出⁶⁾は食用キノコ全般の栽培法とキノコの性質についてぐわしく著書にしている。しかしいまだにシイタケ菌糸の生育に必要な栄養成分について未解決の点が多く、完全合成培地で菌糸を充分満足に生育させた報告は見あたらない。そこで著者はこの必須栄養素について特に不明の分野である窒素源について興味をもち実験を行って見たが、今回の報告では、結果を単純化する目的で、すでに知られている⁵⁾ ビタミンB群などの微量必須成分およびポリペプチドなどに存在する生長促進因子の影響を除外するために、使用した培養基は炭素源とミネラルおよび実験目的である窒素源のみの制限合成培養基を用いた。この結果興味ある結果を得たので報告するが、著者と時を同じくして

シビレタケを用いて市川⁷⁾らは同様の結果を報告している。

実験方法

i) 培養液

シイタケ菌糸は木材腐朽菌であるので炭素源を必要とするが広い範囲の炭水化物でよく増殖することが知られている⁵⁾。ミネラルではリン1酸カリウムが必要でありリン酸の供給と菌糸の至適PH4~7⁶⁾を保つのに役立っている。またシイタケはシュウ酸を培養基中に蓄積するのでこれを無毒化するのにCaCl₂を加えると良いとされている³⁾。窒素源については麦芽エキス、酵母エキス、米糠エキスなどが良いとされているが窒素の要求量が少なく過剰の添加はかえって生育に悪影響を与える⁶⁾。このために通常はNとして0.1%程度に制限して加えている。

(表-2) 基礎培養基

基礎成分	g/培地 ℓ	微量塩類液*	g/ℓ
ブドウ糖	50	Fe Cl ₂	0.5
KH ₂ PO ₄	1	Mn Cl ₂	0.4
Mg SO ₄	0.5	Zn Cl ₂	0.2
Ca Cl ₂	0.5	Cu SO ₄	0.05
微量塩類液*	(20ml)	⑧G.P.Y培地はこれらの基礎成分の他にポリペプトンおよび酵母エキスをそれぞれ培地 ℓ中に2.5g加えた物	
pH	5.0		

以上の理由によりシイタケ培養によく用いられているG P Y培地⁴⁾より酵母エキス、ポリペプトンの窒素源を除いた(表-2)の培養液を基礎培養基とし、これに結果で示す各種窒素源をNとして0.1%になる様に加えて調製した。

ii) シイタケ菌糸

市販の生シイタケから常法により分離してG P Y培養基で静置培養した。この菌糸小片を実験に供した。

iii) 結果算出法

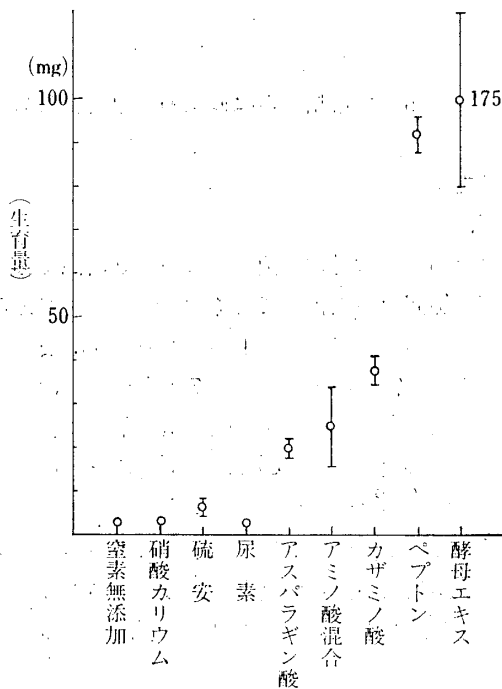
100 ml容三角フランコ 4個に上記実験用培養液 25 mlずつ分注し、菌糸約 1 mgを接種して25°C、1ヶ月間静置培養した。この菌糸体をろ過洗滌後、105°Cで乾燥して菌

糸体重量を測定し、4個の値を統計処理後、菌糸体生育量とした。

実験結果および考察

i) 種々の窒素源と菌糸体生育量

通常微生物の培養に用いられている各種窒素源を実験方法 i) で示した基礎培養基にNとして0.1%となるよう添加して菌糸体の生育量を比較したものが(図-1)



(図-1) 窒素源による生育量の比較

である。硝酸態、尿素態では生育が見られなかった。アンモニウム態では生育を示すがアミノ酸類に較べて1/2程度である。なお同様の研究報告⁹⁾においてエノキダケでは硝酸態およびアンモニウム態でもよく生育することが知られている。

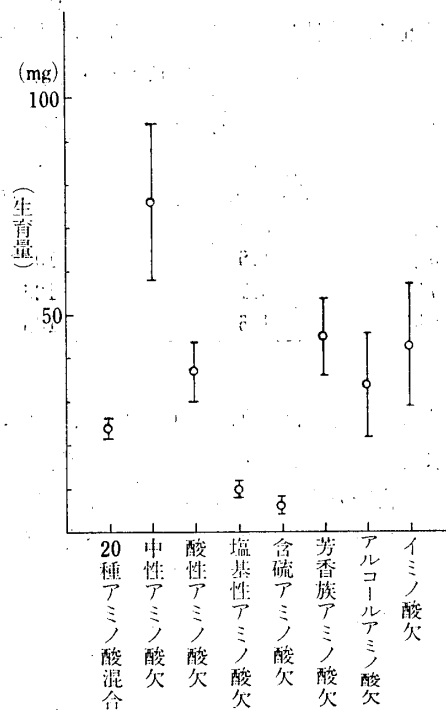
アミノ酸類ではカザミノ酸がよく、20種アミノ酸等量混合(実験結果ii)参照)およびアスパラギン酸単独で

は菌糸体の生育が前者に劣った。この結果は各アミノ酸個々の量に影響していると思われ、アミノ酸のうちでも菌糸体の生育に必要、不必要のものがあると考察できる。

ペプトンおよび酵母エキスでは生育がよいが、これはある種のペプチドが生長促進因子であること、および酵母エキス中に存在するビタミン類の影響によるものと思われる。

ii) 生育促進アミノ酸の検策(そのI)

前記結果よりアミノ酸が窒素源として適しているが、アミノ酸のうちでも特に必須のアミノ酸の存在を推定することが出来たので、通常タン白質を構成している20種のアミノ酸を(表-3)に示したように性質別に7つに分別して各区のアミノ酸類欠乏のアミノ酸混合を作成し



(図-2) 生育促進アミノ酸の検策(I)

(表-3) アミノ酸類の区分け

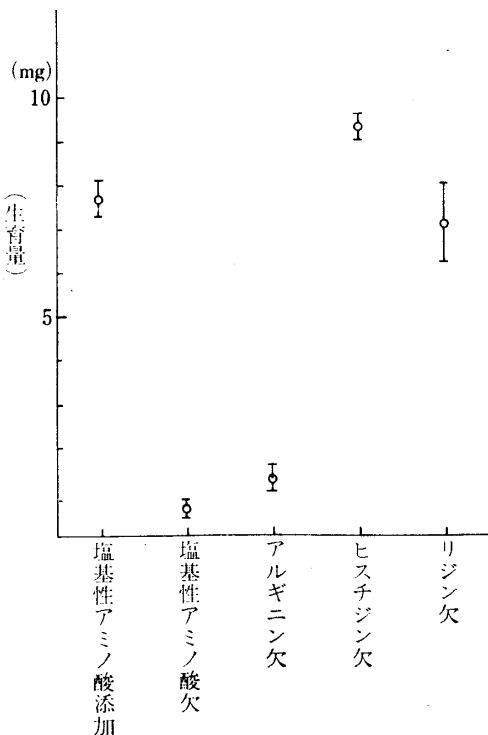
区	アミノ酸	各アミノ酸量*
中性アミノ酸区	グリシン・アラニン・バリン・ロイシン・イソロイシン	各200mg/50ml
酸性	アスパラギン酸・グルタミン酸	各500mg/50ml
塩基性	アルギニン・ヒスチジン・リジン	各300mg/45ml
含硫	システイン・メチオニン・シスチン	各300mg/45ml
芳香性	フェニールアラニン・チロシン・トリプトファン	各300mg/45ml
アルコール	セリン・スレオニン	各500mg/50ml
イミノ酸	プロリン・ヒドロキシプロリン	各500mg/50ml

*各区内のアミノ酸を均等に混合して区内のアミノ酸合計量を100mg/5mlとなるよう調製した。これらの各区アミノ酸混合液7区のうち6区を5mlずつ加え合せてアミノ酸合計量600mg/培地100mlの各区アミノ酸欠乏培地を作成した。

て基礎培養基に添加した。これに菌糸を接種し、20種アミノ酸等量混合培地(対照区)と比較してみたのが(図一2)である。対照と比較して塩基性アミノ酸類および含硫アミノ酸欠乏区が極端に菌糸の生育が悪く、一部には菌糸が黒変して死滅している状態もみられた。この結果は、塩基性アミノ酸類および含硫アミノ酸類のうちのいずれかのアミノ酸が菌糸の生育に必要不可欠であることを示している。一方中性アミノ酸類欠乏区は対照と比較して菌糸の伸長が良い(菌膜が広がる)ことが観察され菌糸体重量も大きくなっている。芳香族アミノ酸類欠乏区でも、(図一2)からは他の区とさほどの差はないけれども、対照区およびその他の区と比較して菌膜が厚く、またその色も淡黄色(他の区はすべて茶褐色)で活力があるように観察される。本来シイタケは窒素の要求量が少なく過剰添加はかえって生育を阻害することが知られていることを考え合せるとこれらのアミノ酸類は菌糸の生育にさほど必要ではなく、この程度の添加量ですでに過剰であって生育を阻害することを示している。

iii) 生育促進アミノ酸の検策(そのII)

ii) の結果で、菌糸体の生育に塩基性アミノ酸類および含硫アミノ酸類が必要であることから、これらのうちのどのアミノ酸が生育促進因子であるかを検策したもの



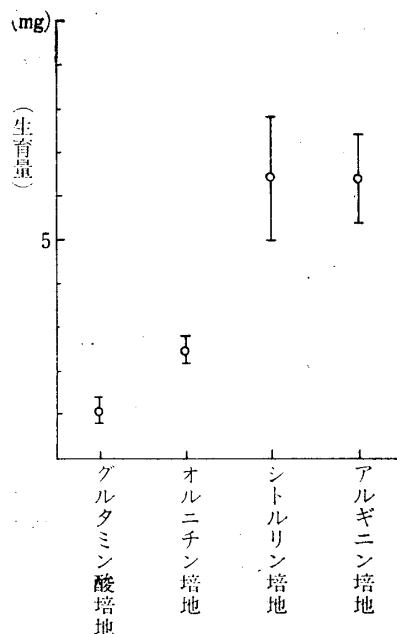
(図-3) 生育促進アミノ酸の検策(II)

が(図一3)である。(図一3)にみられるようにアルギニン欠乏区は極端に菌糸の生育が悪かった。この結果は、塩基性アミノ酸のうちでアルギニンが菌糸体の生育促進因子であることを示している。この様な事実を著者と時を同じくして市川⁹⁾がシビレタケを用いて報告している。

含硫アミノ酸類の検策は実験結果のバラツキが大きく、今回報告するに至っていないが、メチオニンがS源として良好と思われ、硫安でもかなり、S源として利用されるように現段階では推定している。

IV) アルギニン関連アミノ酸の生育効果

微生物は一般に生体内でアルギニンをグルタミン酸からオルニチン、シトルリンを経て生合成していることが知られている⁹⁾。そこでこれらのアミノ酸を基礎培養基にNとして0.01%になるように添加して生育量を比較してみたのが(図一4)である。当然のことながらアルギニン添加区が生育がよいが、シトルリンもこれと同等であった。グルタミン酸ではほとんど生育効果が見られなかった。アルギニンの一般代謝は尿素に分解されさらにアンモニアに変化する。このアンモニアが再び微生物に取り込まれて種々のアミノ酸に合成されるのであるが、i)の結果より尿素ではまったく生育効果がなく、アンモニウム態でいくぶん生育効果を有することを考え合せると、シイタケ菌糸体内のアルギニン代謝系路に於いて、オルニチンからシトルリンへの転換および、尿素からア



(図-4) アルギニン関連アミノ酸の影響

ソモニアへの転換系が欠除しており、アルギニンを外界より補給する必要があると推定することができる。

結 論

i) シイタケ菌糸の生育にアンモニウム態がわずかに有効であるが、アミノ酸と較べてはるかに劣った。

ii) アミノ酸類は窒素源として有効であるが、生育促進因子を含むペプトン、酵母エキスと比較してはるかに劣った。

iii) アミノ酸類のうちで、アルギニンおよび含硫アミノ酸が菌糸の生育をよく促進した。

iv) シイタケ菌糸体内のアルギニン代謝系路において、オルニチンからシトルリン、および尿素からアンモニニアへの転換系が欠除していることを推定した。

終りに、この研究の一部は昭和50年度日本農芸化学会大会（札幌）で発表した。

文 献

- 1) 農林省統計情報部：農林省統計表（1973～74）
- 2) 森：日本特許公報49—117233
- 3) 坂口，中尾：農化誌7，12，1110（1932）
- 4) 吉田，寺田：醸協誌24，7，263（1966）
- 5) 寺本，上田，吉田：醸協誌26，2，62（1968）
- 6) 岩出：キノコ類の培養法 地球社（1974）
- 7) 市川：農化大会講演（1975，7.23，札幌）
- 8) 脇田：農化誌28，7，577（1954）
- 9) 石本，水上，水島，和田編：メタボリックマップ，蛋白質・核酸・酵素，別冊 P40（1966）共立出版