

日本応用きのこ学会誌

Mushroom Science and Biotechnology

VOL.11 NO. 2
July, 2003



会 告：第7回ワークショップのご案内

論 文：① Application of DNA Markers to
Research on *Trichoderma* in
Mushroom Facilities of Japan (1)
—RAPD, SSCP marker—

② エノキタケ菌床栽培における子
実体収量，子実体成分に及ぼす餡
殻の影響

③ カンゾウタケ (*Fistulina hepatica*)
の液体培養条件の検討

④ 日本産アミガサタケの菌核形成

ノート：エノキタケ・シナノ6号の2本鎖
RNA 因子

会員の動向

学会記事

事務局・編集委員会

日本応用きのこ学会

カンゾウタケ (*Fistulina hepatica*) の 液体培養条件の検討

岩田喬子¹⁾, 齊藤 武¹⁾, 堀内 勲²⁾, 米山 誠³⁾

- ¹⁾ ㈱応微研 きのこ総合研究センター
〒407-0108 山梨県北巨摩郡双葉町宇津谷本屋敷 4548
²⁾ ㈱応微研 〒409-3821 山梨県中巨摩郡玉穂町乙黒 326
山梨ビジネスパーク D-1
³⁾ 〒407-0024 山梨県韮崎市本町 1-8-18

Examination of Liquid Culture Conditions of *Fistulina hepatica*

Takako IWATA¹⁾, Takeshi SAITO¹⁾, Isao HORIUCHI²⁾,
Makoto YONEYAMA³⁾

- ¹⁾ General Mushroom Research Center, Japan Applied Microbiology Research Institute Ltd., 4548 Honyashiki, Utsunoya, Futaba-cho, Kitakoma-gun, Yamanashi, 407-0108, Japan
²⁾ Japan Applied Microbiology Research Institute Ltd., D-1 Yamanashi Business Park 326, Ootoguro, Tamaho-cyo, Nakakoma-gun, Yamanashi, 409-3812, Japan
³⁾ Hon-cyo 1-8-18, Nirasaki, Yamanashi, 407-0024, Japan

Abstract

Fistulina hepatica Schaeff.: Fr. has been known as a mushroom having anti-tumor and anti-bacterial properties. In order to obtain much mycelia, several kinds of the nutritional factors affecting mycelial growth of *F. hepatica* in a liquid culture were examined. Optimum initial pH of the medium was 5.0 and the mycelia had a remarkable character which is that the mycelia could not grow in neutral range from pH 6.5 to 7.0. Corn starch was most effective for growth in the ten kinds of carbon sources, which yielded over twice as much mycelia as glucose. This result suggests that the mycelia of *F. hepatica* has a superior capability to efficiently use high-molecular polysaccharides for its growth. The effects of nitrogen sources on growth were examined with ten kinds of organic and inorganic materials. Malt extract was the most effective for the growth, and the optimum concentration was 4.0%. In this study, we obtained the fundamental conditions for mass culture of *F. hepatica* mycelia.

緒 言

カンゾウタケ (*Fistulina hepatica* Schaeff.: Fr.) は、カンゾウタケ科カンゾウタケ属のきのこ¹⁾で (図1)、他に *Pseudofistulina* 属の1種が知られているのみの極めて小さな科に属し¹⁾、分類学的にもたいへん貴重である。温帯域に広く分布し、日本では初夏～梅雨期にかけて、ブナ科の樹木とくにシイの樹幹に発生する。その子実体の大きさは直径10～20cmになる。傘は扇形から舌状で、表面は濃い赤紅～暗赤褐色、多汁な

肉質で切ると血のような赤い汁液がにじみ出る。若干の酸味を持っており、欧米では生のままスライスしてサラダの具などに利用したり、またはバターで炒めてステーキのようにして食べたりする。最近自然食品に対するニーズの高まりや医薬品、健康食品への応用などの目的から、全国各地で新しいきのこ、珍しいきのこの人工栽培が試みられている。カンゾウタケについてもすでに人工的に栽培する方法^{2,4)}は提案されているが、まだ年間を通して大量に生産する技術は確立しておらず、市場に出回っていないため一般的にほとんど知られていない。

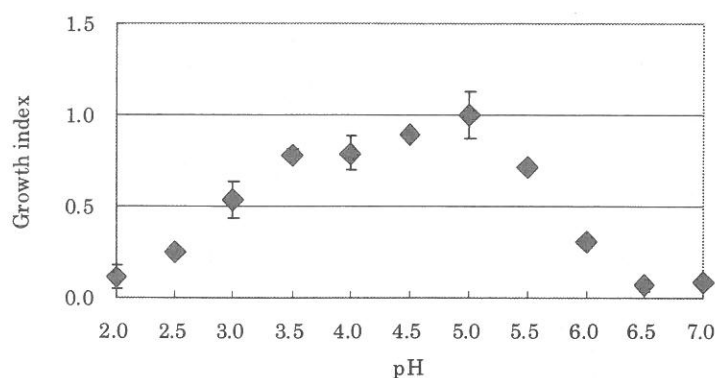


図2 *F. hepatica* 菌糸体の成長に及ぼす初発 pH の影響

初発 pH 5.0 の液体培地で培養した菌糸体の乾燥重量を Growth index 1.0 として他と比較した。横軸には試験を行った初発 pH を表した。

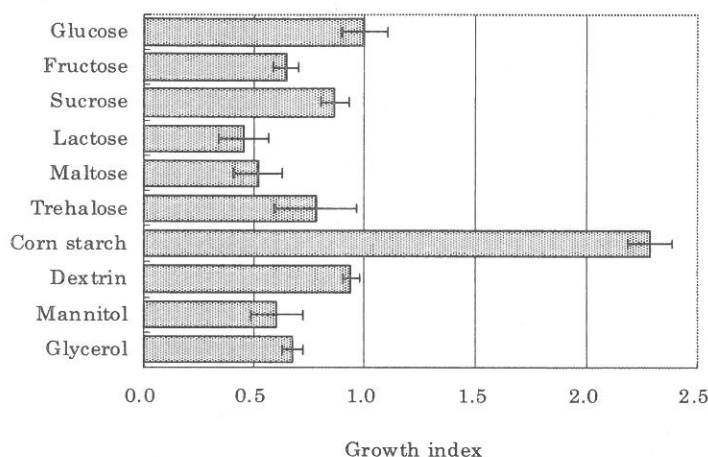


図3 *F. hepatica* 菌糸体の成長に及ぼす炭素源の影響

グルコース 1.0% の液体培地で培養した菌糸体の乾燥重量を Growth index 1.0 として他と比較した。

イーストエキスについては、濃度 0~5% の範囲で 0.3~1.0% 間隔で変えた培地を調製し、培養後、乾燥菌糸体重量を測定した。

結 果

初発 pH の影響 高圧滅菌後の pH 値は、全範囲で ±0.15 程度の変動が見られた。初発 pH 5.0 のときの菌糸体重量を 1.0 とし、その他の初発 pH での菌糸体重量を Growth index で表した (図 2)。Growth index は、コントロールの菌糸体重量を 1.0 とし、他の条件の菌糸体重量をコントロールとの相対値で表した

ものである。本実験におけるカンゾウタケの液体培養のための最適初発 pH は pH 5.0 付近であるといえるが、pH 3.5 から 5.5 までの範囲にわたって良好な成長が認められた。また pH 5.5 以上になると成長量が急激に低下する傾向が認められ、中性付近ではほとんど生育できないことが分かった。

炭素源の影響 グルコースでの菌糸体重量を 1.0 として、その他の炭素源での菌糸体重量を Growth index で表した (図 3)。カンゾウタケは、コーンスターチを添加した場合に極めて生育が良好であり、コントロールであるグルコースの 2 倍以上の成長量を示した。その他の炭素源については、グルコースと同等またはそれ以下の成長量を示し、炭素源としてはコーンスターチが最も

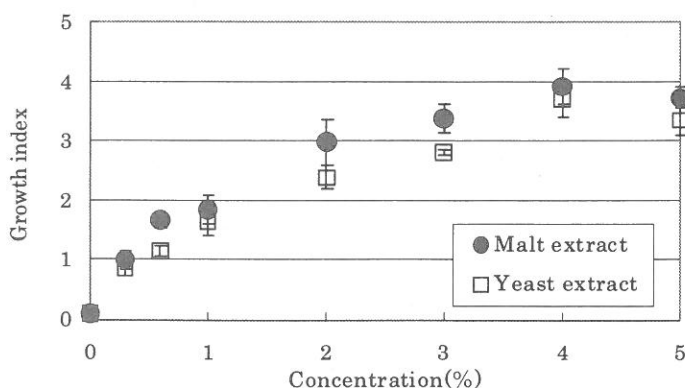


図6 *F. hepatica* 菌糸体の成長に及ぼすモルトエキスおよびイーストエキスの添加濃度の影響

モルトエキス 0.3% の液体培地で培養した菌糸体の乾燥重量を Growth index 1.0 として他と比較した。添加濃度は重量 % として横軸に表した。

弱酸性 (5.0~7.0) である¹⁶⁾。カンゾウタケの最適 pH は 5.0 付近であり、菌根菌のマツタケ¹⁷⁾、ホンシメジ、ジャカシメジ¹⁸⁾ や冬虫夏草シネンシス¹⁹⁾ と同様であった。しかしながら、カンゾウタケは pH 5.5 を越えると急激に成長量が低下し、中性付近ではほとんど生育できない。多くのきのこは中性付近でも充分生育でき、ハタケシメジ²⁰⁾ やブナシメジ^{21, 22)} のように弱アルカリ付近で生育可能なきのこもある。カンゾウタケのように中性付近で生育できないきのこは報告がほとんどなく、非常に特徴的な性質である。また培養後の pH を測定したところ、初発 pH 3.5~5.5 では 0.2~1.0 程度酸性側へ変化していた (結果は示していない)。高圧滅菌前後、この範囲における培地の pH 変動幅は ±0.05 であり、培養後のこの変化は高圧滅菌によるものとは考えにくい。この結果は、シイタケ^{23, 24)} 同様、カンゾウタケ菌糸体が培養中に有機酸等の酸性物質を放出することを示唆している。

炭素源としてコーンスターチを用いると、他の炭素源に比べて極めて高い成長量が得られた。ホンシメジ¹⁸⁾、ブナシメジ²²⁾、エノキタケ²⁵⁾、ヒラタケ²⁶⁾ も、スターチでグルコースと同程度の良好な生育を示すが、カンゾウタケのようにグルコースの 2 倍以上の成長量を示すきのこは報告されていない。きのこは木材やわら、腐植物中に含まれる単糖類、二糖類、多糖類を利用して成長し、そのままでは利用できないオリゴ糖や多糖類は自らが作り出す種々の糖質分解酵素類によって分解・低分子化した後、栄養源として利用する²⁷⁾。カンゾウタケは、コーンスターチのような高分子多糖類を効率的に資化することから、糖質分解酵素であるアミラーゼ等の生産性、

あるいは活性が非常に高いことが示唆される。一方、コーンスターチをグルコースにまで分解してから利用するとすれば、分解にエネルギーを必要とする分、グルコースが炭素源である場合より生育上不利となるはずである。しかし、実際はグルコースの 2 倍以上もの成長量を示している。このことから、カンゾウタケはコーンスターチをグルコースやマルトースまでは分解せず、オリゴ糖レベルで優先的に取り込むシステムを持っていることも考えられる。あるいは、高分子多糖類の存在により、糖質分解酵素の生産とともに単糖類の取り込み効率が高まるような誘導がかかるのかもしれない。

一方、菌糸体成長のための窒素源としては、蛋白質加水分解物であるペプトンやソイトン、カザミノ酸などがエノキタケ²⁵⁾、ヒラタケ²⁶⁾、クリタケ²⁸⁾、およびヤナギマツタケ²⁹⁾ で適していると報告されている。しかし、カンゾウタケは、蛋白質加水分解物よりも麦芽由来のモルトエキス、微生物由来のイーストエキスにおいて生育が良好であった。蛋白質以外にこれらのエキスに豊富に含まれるビタミン、ミネラル類が大きく影響しているのかもしれない。また担子菌は、基本的に無機態窒素を資化できるが、アンモニア態および硝酸態窒素とも有機態窒素に比べて菌糸体成長が格段に劣る³⁰⁾。カンゾウタケも同様であり、無機態窒素は菌糸体の生育には適していないことが明らかになった。

本研究より、カンゾウタケ菌糸体の液体培養における最適初発 pH は、5.0 付近であることが分かった。またカンゾウタケは、中性付近で生育できないという特徴的な性質を示した。さらに炭素源としてコーン

ターチを効率的に資化する高い能力を保持しており、窒素源としてはモルトエキスを用いると生育が最も良好であることが示された。本研究で求めた最適条件で培養することにより、基本液体培地の約 16 倍もの乾燥菌糸体重量が得られた。以上により、カンゾウタケ菌糸体を大量に供給するために必要な、液体培養の初発 pH、炭素源、窒素源の添加の基本条件が確立した。

摘 要

カンゾウタケは、抗腫瘍活性や抗菌活性を持つこととして知られている。カンゾウタケ菌糸体を大量に供給することを目的として、その液体培養条件について検討した。最適初発 pH は 5.0 付近であり、pH 6.5~7.0 の中性付近でほとんど生育できないという特徴的な性質を持っていた。10 種類の炭素源のうち、コーンスターチを用いた場合に極めて生育が良好で、グルコースの 2 倍以上もの成長量を示した。この結果は、カンゾウタケ菌糸体が高分子多糖類を効率的に資化する高い能力を保持していることを示唆する。10 種類の有機態窒素と無機態窒素を用いて、菌糸体成長に対する窒素源の影響を調べたところ、菌糸体はモルトエキスにおいて最も良好な生育を示し、その至適濃度は 4.0% であった。本研究により、カンゾウタケ菌糸体の大量培養を行うための基本条件が確立した。

引用文献

- 1) 今関六也・本郷次雄：原色日本新菌類図鑑(Ⅲ)，保育社，大阪，pp. 111 (1998)
- 2) ハウス食品株式会社：公開特許公報，特開 7-95821 (1995)
- 3) ハウス食品株式会社：公開特許公報，特開 7-95822 (1995)
- 4) 袴田哲司：静岡県林業技術センター研究報告，23，45-47 (1995)
- 5) Humfeld, H., Sugihara T. F. : Food Tech. 3, 355 (1946)
- 6) Robinson, R. F., R. S. Davidson : Adv. Appl. Microbiol. 1, 261-278 (1959)
- 7) 水野 卓：キノコの化学・生化学(水野 卓・川合正允編)，学会出版センター，東京，pp. 223-228 (1992)
- 8) 横川祥子：キノコの科学(菅原龍幸編)，朝倉書店，東京，pp. 148-155 (1998)
- 9) 平瀬 進：キノコの化学・生化学(水野 卓・川合正允編)，学会出版センター，東京，pp. 315-321 (1992)
- 10) Lee, E. W., Shizuki, K., Hosokawa, S., Suzuki, M., Suganuma, H., Inakuma, T., Li, J., Ohnishi-Kameyama, M., Nagata, T., Furukawa, S., Kawagishi, H. : Biosci. Biotechnol. Biochem. 64, 2402-2405 (2000)
- 11) JaeHoon Lee, Soo-Muk Cho, Kyung-Sik Song, Nam-Doo Hong, Ick-Dong Yoo : Chem. Pharm. Bull. 44, 1093-1095 (1996)
- 12) 呉羽化学工業株式会社：特許公報，特許 52-44603 (1977)
- 13) 呉羽化学工業株式会社：特許公報，特許 54-27912 (1979)
- 14) Tsuge, N., Mori, T., Hamano, T., Tanaka, H., Shin-ya, K., Seto, H. : J. Antibiot. 52, 578-581 (1999)
- 15) 米山 誠・目黒貞利・河内進策：日本木材学会誌，43，349-355 (1997)
- 16) 谷口 實：きのこの増殖と育種(最新バイオテクノロジー全書編集委員会編)，農業図書株式会社，東京，pp. 46-61 (1992)
- 17) 浜田 稔・小原弘之：マツタケ人工増殖の試み(森林微生物研究会編)，農山漁村文化協会，東京，pp. 73-84 (1982)
- 18) 山中勝次・太田千絵：日本応用きのこ学会誌，6，159-165 (1998)
- 19) 宮下良平・米山 誠：日本応用きのこ学会誌，10，79-85 (2002)
- 20) 木内信行・七宮 清：神奈川県林試研報，7，69-84 (1981)
- 21) 中村克哉：キノコの辞典(中村克哉編集)，朝倉書店，東京，pp. 431-434 (1997)
- 22) 寺下隆夫・盧 成 金・吉川賢太郎・獅山慈孝：きのこの科学，2，15-20 (1995)
- 23) 時本景亮：2000 年度版きのこ年鑑(きのこ年鑑編集部編)，農村文化社，東京，pp. 80-85 (1999)
- 24) 寺下隆夫：きのこの科学，1，61-77 (1994)
- 25) 北本 豊：'98 年度版きのこ年鑑(きのこ年鑑編集部編)，農村文化社，東京，pp. 78-81 (1997)
- 26) 北本 豊：2000 年度版きのこ年鑑(きのこ年鑑編集部編)，農村文化社，東京，pp. 95-98 (1999)
- 27) 穴戸和夫：キノコとカビの基礎科学とバイオ技術，アイピーシー，東京，pp. 109-175 (2002)
- 28) 吉田 博・藤本水石・林 淳三：日食工誌，37，695-701 (1990)
- 29) 吉田 博・藤本水石・林 淳三：日食工誌，39，496-503 (1992)
- 30) 北本 豊：日本応用きのこ学会誌，5，5-11 (1997)

(2003 年 5 月 12 日受理)