

# 酵母抽出物に含まれるシイタケ子実体形成促進物質

宮崎大学農学部 申 甲均・日黒 貞利  
河内 進策

## 1. はじめに

ペプトン・グルコース液体培地でシイタケを培養する際、酵母抽出物を添加した場合にのみ、シイタケ子実体が発生することを見出した。そこで、酵母抽出物中に含むことが知られているアミノ酸、ビタミン類および無機塩基をペプトン・グルコース液体培地に加えてシイタケ子実体発生試験を行った。その結果、ビタミンのチアミン (B<sub>1</sub>) を添加した培地のみから子実体が発生することが分かった<sup>1)</sup>。

そこで、本研究では酵母抽出物中のチアミンの存在を明らかにするために、酵母抽出物をゲルクロマトグラフィーにより5つのフラクションに分画し、各画分のチアミン含有量を明らかにするとともにその子実体形成促進能を比較検討した。

## 2. 実験方法

### 1) 酵母抽出物の分画

酵母抽出物 (Difco社製) 0.5gをSephadex G-25 fineを充填したカラム (1.6×100cm) を用い、260nmの吸光度を基に5つのフラクションに分画した。酵母抽出物のゲルクロマトグラムを図1に示す。

### 2) チアミンの定量法

酵母抽出物またはその各フラクションに0.1N塩酸50mlを加えて、沸騰水溶液中でチアミンを抽出した。冷却後、ビタチェンジを充填したカラム中に加えてチアミンを吸着させ、さらに沸騰25%塩化カリウム・塩酸液で脱着した。この試料中のチアミンおよびリン酸エステル類をHPLCで分離後、アルカリ性フェリシアン化カリウム液と反応させてチオクロムとした後、蛍光検出器で検出定量した。

3) シイタケ液体培養中のチアミンと菌糸体重量および子実体発生との関係

100mlのペプトン・グルコース液体培地 (PG)、PGに酵母抽出物0.25gを添加した培地 (PGY)、およびPGにチアミン塩酸塩0.129mgを加えた培地 (PGT) にそ

れぞれシイタケ森465を接種し、25℃で培養した。その間、菌糸体重量の測定と子実体発生でのチアミンの効果を観察した。

## 3. 結果および考察

### 1) 酵母抽出物中のチアミン含有量

酵母抽出物には図2に示すクロマトグラムで明らかのように、遊離のチアミンのみが検出され、一リン酸、二リン酸および三リン酸エステルは検出されなかった。したがって、Difco社製の酵母抽出物に含まれるチアミンはすべて遊離型であり、酵母生体内に豊富に存在することが知られている各種のリン酸エステル類は含有しないことが明らかとなった。

酵母抽出物をカラクロマトグラフィーで分画した各フラクションに含まれるチアミン量を検討した。図3に示すように、酵母抽出物1g中には436 μgのチアミンが存在した。この全体量の約76%に相当する332 μgのチアミンはフラクション2に、約20%に相当する87 μgがフラクション1にそれぞれ存在していたが、フラクション3, 4, 5ではチアミンは検出されなかった。これは、シイタケ子実体の発生試験でのフラクション2は酵母抽出物とほぼ同等の活性を示し、フラクション1は2よりは劣るものの3, 4よりは活性が高いという結果と良く一致した。

### 2) シイタケの成長とチアミンとの関係

PG培地、酵母抽出物を添加したPGY培地、及びチアミンを添加したPGT培地の3種の液体培地を用いて、シイタケの菌糸成長および子実体形成に及ぼす影響についてそれぞれ検討した。図4に示す様にシイタケの菌糸成長はPGY培地で最も速かったが、チアミンを添加したPGT培地での成長はチアミンを添加していないPG培地と大差なかった。一方、シイタケ子実体の形成についてみると、図5に示す様に、PG培地ではシイタケ子実体はまったく形成されなかったが、PGT培地ではPGY培地と同様に供試したすべての培地で子実体が形成された。

以上の検討の結果、チアミンはシイタケの栄養成長には影響せず、生殖成長に関与し、子実体の形成を促進するものと考えられた。

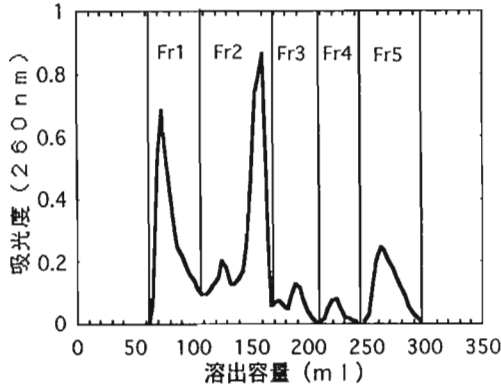


図-1 酵母抽出物のゲルクロマトグラム

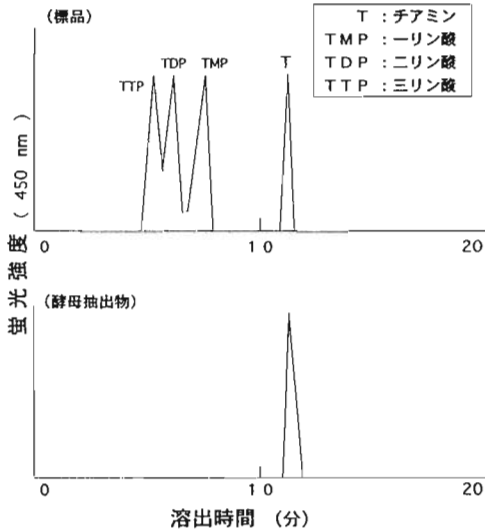


図-2 HPLCによる酵母抽出物のクロマトグラム

引用文献

- 1) 松尾尚洋; アブ・バカール・ビン・モハメド; 目黒貞利; 河内進策: 木材学会誌, 38, 400 - 402 (1992)

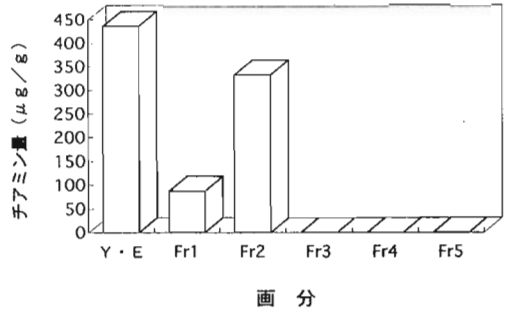


図-3 酵母抽出物1g当たりの各分画のチアミン含有量

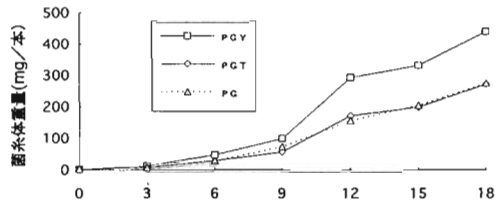


図-4 液体培地によるシイタケの菌糸成長

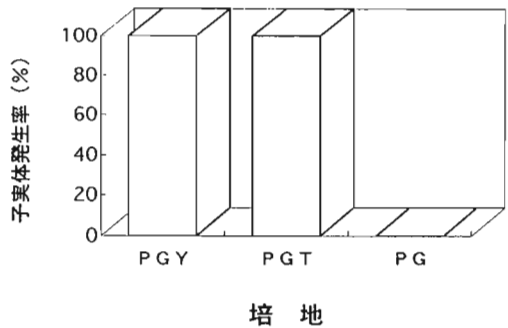


図-5 液体培地によるシイタケの子実体形成