

チアミンによるシイタケ子実体誘導効果

— チアミンの菌体内への取り込み —

宮崎大学農学部 申 甲均・目黒 貞利
河内 進策

1. はじめに

本研究室では、酵母抽出物をペプトン・グルコース液体培地 (PG 培地) に添加するとシイタケ子実体が形成されることをすでに明らかにしている¹⁾。また、酵母抽出物をアルカリ性で加熱処理をすると活性が著しく低下することから、シイタケ子実体の形成を誘導する物質はチアミンである可能性が示された。そこで、PG 培地にチアミンを添加したところ、酵母抽出物を添加した場合と同様にシイタケ子実体が形成されたことから、シイタケ子実体誘導物質はチアミンであることが判明した。

本研究では、シイタケのチアミン合成能力の有無について検討し、さらに、チアミンの菌糸体内への取り込みについて検討した。

2. 材料および実験方法

(1) 供試菌

シイタケ菌株は本研究室保存の森 465 号菌を用いた。

(2) 培地および培養方法

PG 液体培地²⁾を基本培地としてシイタケ菌を接種し、温度 25℃、相対湿度 60%、200lux 以下の照射下 (12 時間照射、12 時間暗黒の繰り返し) で一定期間静置培養を行った。

(3) 菌糸体中のチアミンの定量

PG 培地にシイタケを接種して培養 10 日間ごとに菌糸体を分離し、蒸留水で十分洗浄後乾燥させた。乾燥重量測定後の菌糸体に 0.1N-塩酸 50ml を加え沸騰浴中で振り混ぜながら抽出した。1% タカチアスターゼで 37~40℃ で 12 時間処理後、ビタチェンジを充填したカラムを用いてチアミンのみを分離し、さらに、沸騰 25% 塩化カリウム・塩酸液で溶出後 HPLC で定量した。なお、チアミンの各種エステル量を求める際には 1% タカチアスターゼ処理は行わなかった。

3. 結果および考察

1) チアミンの添加量と子実体誘導効果

チアミンを酵母抽出物 2.5g 中に含まれる量 (1.54mg/l) と、その 1/10 から 1/1000 までの各種の濃度となるように PG 培地に添加し、70 日間培養した。

図-1 に示すように酵母抽出物中に含まれる量と同量のチアミンを添加するとシイタケ子実体形成率は 80% であったが、濃度を 1/100 にまで減少させてもチアミンの効果はなお維持され、形成率は 63% であった。しかし、もとの濃度の 1/300 以下に減少させると形成率は 50% 以下に低下し、1/1000 では全く子実体は形成されなかった。

以上の結果から、チアミンは酵母抽出物中に存在する量の 1/100 に相当する 15.4 μ g/l でもシイタケ子実体の形成を誘導することが明らかになった。この様にごく微量で活性を示すことから、チアミンは栄養分やビタミンとしてではなく、ホルモンと類似の働きをする可能性が示された。

2) シイタケによるチアミンの生合成

シイタケ菌をチアミンを含まない PG 培地で培養し、菌糸体中のチアミンを培養 10 日間毎に抽出し定量した。その結果、培養のいずれの時期にもチアミンおよびそのエステル類は全く検出されなかった。これらの結果から、シイタケ森 465 号菌がチアミンの生合成能力がないものと考えられた。

3) 菌糸成長とチアミンの取り組み

PG 培地とチアミン濃度を 15.4 μ g/l とした PGT 培地から 10 日間ごとに菌糸体を取り、その成長を観察した。結果を図-2 に示す。

培養 20 日目までは PG 培地と PGT 培地との間に菌糸成長の差は見られない。しかし、その後徐々に菌糸体の成長に差が生じ、培養 50 日目には PGT 培地での菌糸体重量は PG 培地での約 3 倍にまで増加した。PGT 培地では培養 30 日目ごろに原基が形成され、50 日目ごろには子実体に成長したが、PG 培地では原基も子実態も形

成されなかった。

PGT培地で培養した際のシイタケ菌糸体中と培養液中のチアミンをそれぞれ定量した。

図-3に示すように、培養10日目の菌糸体中のチアミンの総量は約1 μ gとなり、添加したチアミンの約65%が菌糸体内へ取り込まれ、約26%が培養液中に存在していた。10日目以降菌糸体中のチアミン量はほぼ一定となり、一方、培養液中のチアミンは培養20日以降でほとんど検出されなかった。これらの結果からチアミンは培養初期の10日間で培地から菌糸体内へ吸収されることが明らかとなった。

菌糸体中のチアミンを遊離型とそのエステル類に分けて抽出し、定量した結果を図-4に示す。

培養10日目までは約65%のチアミンは遊離型のまま

存在し、エステル類は少なかった。しかし、培養時間が経過するにつれ遊離型のチアミン量は減少し、逆にチアミン二リン酸エステル(TDP)が徐々に増加する傾向が見られた。さらに、シイタケ原基が形成される培養30日目にTDP量は最高となったが、その後減少し、50日目にはチアミン三リン酸エステル(TTP)がかなり増加した。TDPやTTPの生合成と原基及び子実体の形成との間に関連があるか否かは現在のところ不明である。

引用文献

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

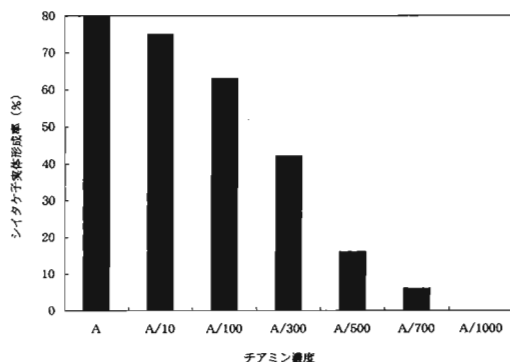


図-1 チアミン添加濃度のシイタケ菌糸体形成に及ぼす影響

Note A: 酵母抽出物中に含まれるチアミン量 1.54mg/l

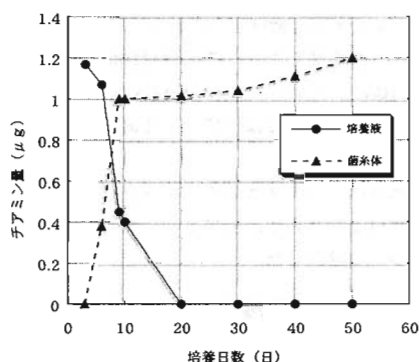


図-3 PGT培地での菌糸体中と培養液中のチアミン含量の変化

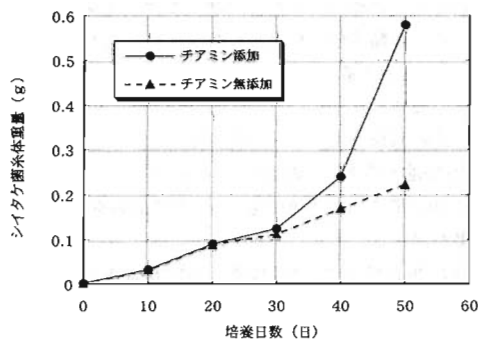


図-2 チアミンの菌糸成長に及ぼす影響

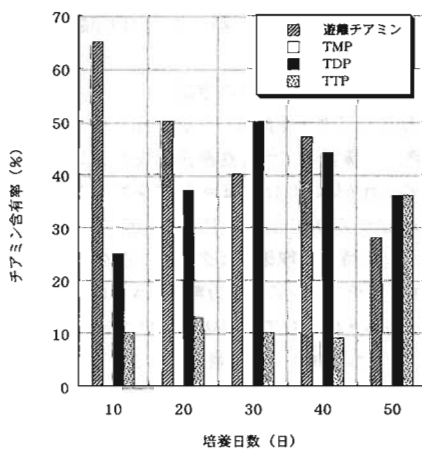


図-4 菌糸体中のチアミンの遊離型およびエステル類の含有率の変化