

チアミンによるシイタケ子実体誘導効果 — 菌糸成長との関係 —

宮崎大学農学部 申 甲均・目黒 貞利
河内 進策

1. はじめに

我々はペプトン・グルコース基本液体培地 (PG 培地) に酵母抽出成分を加えるとシイタケ子実体が形成されること、また酵母抽出物の中に含まれるシイタケ子実体形成誘導物質がチアミンであることを示した。酵母抽出物 1g の中にはチアミンは 492 μ g 含まれており、その相当量を基本液体培地に加えると 80% の培地に子実体が形成された。そこで、シイタケの子実体形成のための最低チアミン要求濃度を求めた結果、酵母抽出物中に含まれているチアミン量の 1/100 に相当する 13.0 μ g/l であることが分かった。古くからチアミンは発育因子とも呼ばれ、菌類の成長を促進することが知られてきた。しかし、担子菌の子実体形成においてどのような役割を果たすのかについては未だ不明のままである。

そこで本研究では、チアミンがシイタケの子実体形成前の菌糸成長にどのような影響を与えるかを明らかにしようとした。

2. 材料および方法

2.1 試験菌株

本研究室保存用のシイタケ森 465 を用いた。

2.2 各種培地

基本培地 (PG 培地) 組織は次のようである。

グルコース; 50g, ポリペプトン; 2.5g,
KH₂PO₄; 1.0g, MgSO₄·7H₂O; 0.5g, CaCl₂·2H₂O; 0.5g,
FeCl₃·6H₂O; 10mg, MnCl₂·4H₂O; 7.2mg, ZnCl₂; 4mg,
CuSO₄·5H₂O; 1mg/H₂O 1L.

PG 培地に寒天 25g/l を加えた PGA 培地、ペプトンの代わりにビタミン分析で使われるカザミノ酸 (Difco 社製) 2.5g/l を基本培地に加えた CGA 培地およびペプトンの代わりにグルタミン酸 2.5g/l を基本培地に加えた完全合成培地を本実験に用いた。さらに、PG 液体培地にチアミンを加えた PGT 培地も用いた。

2.3 培養

各種の培地を滅菌後、予め PDA 培地で前培養したシ

イタケを接種し、培養しながら菌糸体直径を 14 日間測定した。この培養を継代 I とする。継代 I で菌糸体成長が安定期に入る培養 11 日目に同じ組成の培地に継代し (継代 II)、さらにもう一度継代培養 (継代 III) をした。培養温度は 25℃、相対湿度 60% の暗黒下で行った。

3. 結果および考察

3.1 液体培養におけるチアミンの効果

基本培地にチアミンを 13.0 μ g/l の濃度に加えた PGT 液体培地にシイタケを接種後、9 週間培養した。その結果、培養 4 週間目頃から菌糸体表面に小さな菌糸塊が形成され、その後原基に成長するのが観察された。さらに、培養 6~7 週間目頃にはシイタケ子実体が形成された。チアミンを添加していない PG 培地では 60 日間以上培養しても、原基も子実体も形成されなかった。

図-1 に示すように、生殖成長段階に入ったと考えられる菌糸塊形成以降はチアミンの添加によって明らかに菌体量の増加が認められるが、培養約 3 週間までの栄養成長段階ではチアミンの効果は全く見られなかった。

3.2 継代培養の効果

仮にシイタケ菌糸体内に予めチアミンが存在していたとしても、チアミンを含まない培地を用いて繰り返し継代培養したとすれば、その濃度は減少して行き、ついには枯渇してしまうと考えられる。そこで、チアミンを添加していないペプトン・グルコース・寒天 (PGA) 培地を用いて継代培養を行った。図-2 に示すように PGA 培地で 3 回継代を繰り返しても菌糸体の成長には大きな差は認められなかった。

寒天培地に用いたペプトンは天然物であり、その製造過程でチアミンが混入している可能性は否めない。そこでチアミンを含まないビタミン定量用のカザミノ酸を添加した培地を用いて継代培養したところ、図-3 に示すように、継代 I に比較して継代 II ではシイタケ菌糸成長は抑制されたが、それ以上継代を繰り返しても菌糸体の成長にはほとんど影響を与えなかった。また 2 回目の継代培養の際、チアミンを添加した培地を用

いても同様の傾向を示したことから、継代Ⅱでは菌糸成長抑制の原因はチアミンの欠乏によるものではないことが分かった。

さらにチアミンを添加しないグルタミン酸から成る合成培地で同様の検討を行ったが、図-4に示したように、カザミノ酸とまったく同様の傾向が得られた。

以上の結果から見て、シイタケは菌糸成長のためにチアミンを要求しないように思われるが、仮に必須の

成分であったとしても、その要求量はごく微量と考えられる。しかし、上述のようにシイタケが子実体を形成するためには少なくとも $13.0 \mu\text{g/l}$ 以上のチアミンを必要としている。

従ってチアミンはシイタケの子実体形成において直接的な役割を演じているのではないかと推定される。

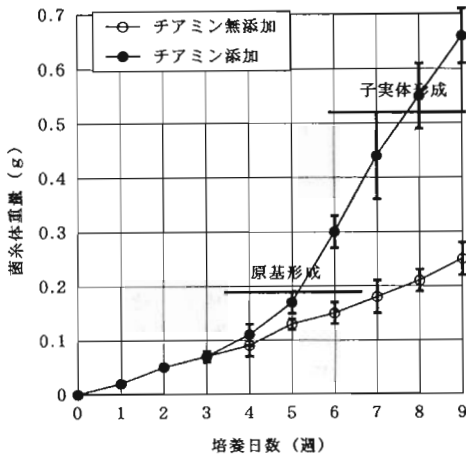


図-1 ペプトン・グルコース液体培地でのチアミンのシイタケ菌糸体の成長に及ぼす影響

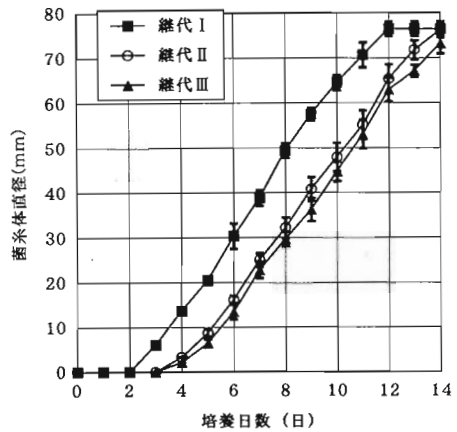


図-3 カザミノ酸・グルコース・寒天培地での継代培養のシイタケ菌糸体成長に及ぼす影響

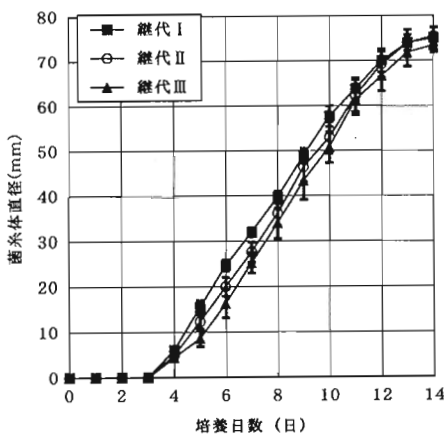


図-2 ペプトン・グルコース・寒天培地での継代培養がシイタケ菌糸体の成長に及ぼす影響

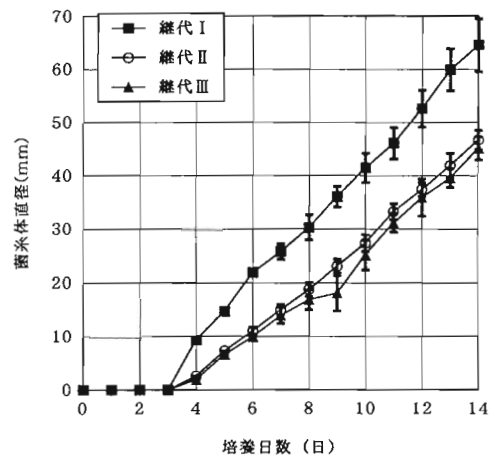


図-4 合成培地での継代培養の菌糸体成長に及ぼす影響