

資 料

オカラを添加したエリンギ菌床栽培における酵素処理の影響

上辻久敏・水谷和人

キーワード：菌床栽培，酵素処理，エリンギ，オカラ，子実体発生

I はじめに

近年，食用キノコ生産の大部分は菌床で栽培されている。菌床の培地資材となる穀物や施設の温調にかかる燃料などの価格が上昇しておりキノコを生産する経費が増大している。しかし，キノコの販売価格は低迷しており，キノコの発生量を増大させ，収益性の向上につながる技術開発が求められている。キノコの発生量を増大させるには，培地組成や培養条件の改良，種菌の変更などが考えられる。その中でも，生産工程に大きな変更を伴わずにキノコの生産量を増やすことができれば新たな投資が少なく，低コストで技術の導入が図れると考えられる。

エリンギ (*Pleurotus eryngii*) は，様々な樹種のオガコで栽培が可能で，広葉樹オガコよりも針葉樹が基材に適しているとされている（木村，1999）。このため菌床の基材には，安価な針葉樹が既に利用されており，基材の低コスト化は難しいと考えられる。水谷ら（2011）は，子実体発生量を増大させる栄養材について研究し，栄養材として培地にオカラを添加することでエリンギ子実体の発生量が増加することを報告している。

高畠ら（2008）は，マイタケの廃菌床をヤマブシタケ菌床栽培の培地基材に用いると子実体の収量が増加することを報告しており，その中で菌床を混合する際の酵素反応と考えられる培地のグルカン含量の高まりを子実体増収の原因として注目している。また，高畠ら（2010）は，培地にアミラーゼ等の多糖分解酵素の処理を行うことでナメコの子実体の収量が10～20%増加することについても報告している。培地の酵素処理は，培地資材の攪拌工程に添加する比較的簡易な処理として，栽培工程に大きな変更を伴わないことから導入しやすい技術であり，ヤマブシタケやナメコに限らず，培地の酵素処理が他の菌床栽培されているキノコでも子実体の発生量を増加させる効果が期待できる。

そこで，本研究では，栄養材として有望なオカラの培地への添加と培地の酵素処理による増収効果について，主要な栽培食用キノコのエリンギで栽培試験を行った。

II 材料と方法

1. エリンギ栽培試験

(1) 供試菌

供試菌には市販種菌であるエリンギ（キノックスKX-EG079号）を用いた。

(2) 供試培地

基本培地（以下フスマ・コメヌカ培地とする）の組成は，スギオガ粉にフスマ（四天王：日清製粉株式会社）とコメヌカを容積比で8：1：1とした。試験は，フスマ・コメヌカ培地の栄養体を乾燥オカラ（㈱キラス）で50%（容積比）置換した（以下オカラ・フスマ・コメヌカ培地とする）培地を用いて試験した。いずれの培地もpH調整を行わず，含水率を約65%に調整しポリプロピレン製800mlボトルに526±1g充填した。その後，121℃で105分間殺菌した。

(3) 多糖分解酵素処理

多糖分解酵素としてアミラーゼを供試した。アミラーゼは産業用酵素である酵素A（耐熱性アミラーゼ）と酵素B（中温性アミラーゼ）を使用した。培地への添加量は，容積800mlのボトルあたり酵素原液1mlとなる割合で，培地含水率の調整時に水と混合して添加し攪拌を行った。酵素を添加してからオートクレーブ開始までの時間は，2時間程度を要した。酵素反応の有無による培地成分への影響を調査するため，酵素Aまたは酵素Bをオートクレーブにて110℃で5分間，加熱することで熱変性させ失活させた。失活させた酵素を通常の酵素と同様に培地へ添加した処理を熱変性酵素の処理とした。

(4) 栽培方法

供試培地に種菌を約8g接種して温度21℃，湿度60%で培養した。培養期間は35日および40日間とし，培養期間別にオカラの添加と酵素処理の効果を比較した。培養終了後，菌掻きを行い，温度16℃，湿度90%，照

度約20～80lux下へ移動して、原基形成まではピンを倒立させて管理し、その後ピンを反転させて子実体形成を誘導した。調査項目は菌糸蔓延日数（接種後、培地全体に菌糸が蔓延するまでの日数）、発生所要日数（発生操作後、子実体を採取するまでに要した日数）、子実体発生重量、発生本数（傘計2cm以上）である。供試数は6本とした。

2. 培地含有グルコース量の測定

(1) 完成培地のグルコース量

栽培試験に用いた培地の成分が酵素処理により変化しているのかを調べるために、オートクレーブ後の完成した培地から水により抽出されるグルコースの量を測定した。水抽出については、培地試料1gを遠沈管に秤量し、蒸留水 5mlを加え室温にて15分間攪拌した後、3500 r.p.m.で15分間遠心分離を行い、上清を濾過し、濾液を蒸留水で5mlに定容し水抽出液とした。各培地の水抽出について供試数は3とした。本試験におけるグルコースの定量はすべて酵素法（試薬：グルコースCIIテストワコー）により測定した。試薬の代わりに蒸留水を用い試薬の吸光度を除外し、標準物質としてグルコース（特級）を用いて検量した。

(2) 培地調整時におけるデンプン添加と培地のグルコース量

培地に残存する活性を有する酵素の存在を調べるために、酵素の基質であるデンプンを調整中の培地に添加して、残存する酵素が生産するグルコース量を測定した。グルコースの測定は、クエン酸緩衝液でpH 5.5に調整した1%可溶性デンプン5mlに酵素Aで処理したオートクレーブ前のフスマ・コメヌカ培地とオカラ・フスマ・コメヌカ培地をそれぞれ1g添加して、50℃で1時間反応した後に、3500 r.p.m.で15分間遠心分離を行い、上清を濾過し、濾液を蒸留水で5mlに定容し溶液中のグルコース量を測定した。可溶性デンプンを添加していないクエン酸緩衝液（pH 5.5）で調整した溶液5mlをもちいた条件をデンプン無添加条件とした。各培地の供試数は3とした。

(3) 酵素分解におけるグルコース生産量へのフスマとオカラ混合の影響

酵素Aによるフスマの分解へのオカラ混合の影響を調べるために200mgフスマと200mgオカラをそれぞれ単独または混合したものを遠沈管に秤量し、4mlの蒸留水を遠沈管へ添加して懸濁後に10倍希釈した酵素Aを1ml添加して、攪拌しながら50℃で15分間酵素反応した。反応後に、3500 r.p.m.で15分間遠心分離し、

上清を濾過して蒸留水で5mlに定容し、溶液中のグルコース量を測定した。各酵素による分解の供試数は3とした。

Ⅲ 結 果

1. エリンギ子実体発生

フスマ・コメヌカ培地とオカラ・フスマ・コメヌカ培地ともに酵素処理の有無に関わらず、どの試験区においても菌糸の蔓延は良好であった。また、発生した子実体の形状に関して、子実体の奇形などは観察されなかった。エリンギ子実体発生について図-1に示した。基本となるフスマ・コメヌカ培地では、35日と40日培養ともに酵素処理による子実体発生量への影響は認められなかった。一方、オカラ・フスマ・コメヌカ培地において、35日培養では、酵素A処理区のみで無処理区より15%子実体発生量が増加した。40日培養では酵素Aと酵素B処理区ともに無処理区より25または36%子実体の発生量が増加した（U検定、有意水準5%）。子実体の発生本数について無処理区と有意差は認められず、35日培養で、子実体発生量への影響が認められなかった酵素B処理区では、子実体発生所要日数が長くなり無処理区との間に有意差があった（図-2）（U検定、有意水準5%）。

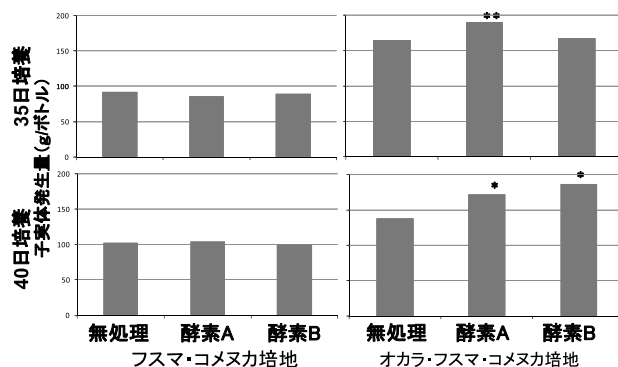


図-1 エリンギ栽培試験の各処理区における子実体発生量

無処理との比較において有意水準 **：1%，*：5%

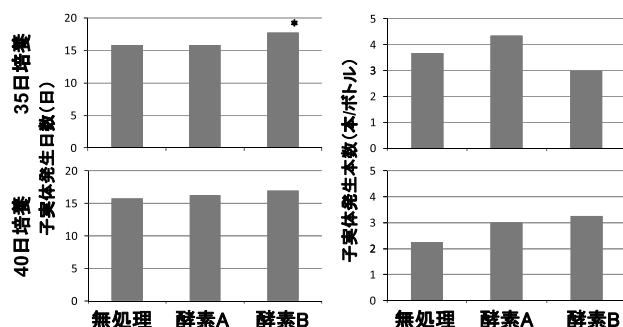


図-2 オカラ・フスマ・コメヌカ培地における子実体発生所要日数と発生本数

無処理との比較において有意水準 *：5%

2. 培地中のグルコースの定量

(1) 完成培地のグルコース量

酵素処理による最終産物のグルコースを、低分子化の1つの指標として測定した結果、水抽出によりフスマ・コメヌカ培地とオカラ・フスマ・コメヌカ培地でともに無処理区よりも酵素処理区で、培地中に生産されたグルコース量が多かった（図-3）（U検定，有意水準5%）。酵素を熱変性させ不活性化させた場合にはグルコース量の増加が認められず（図-3）（U検定，有意水準5%），酵素が培地に作用することができ，酵素反応で培地中の多糖が低分子化していることが分かった。

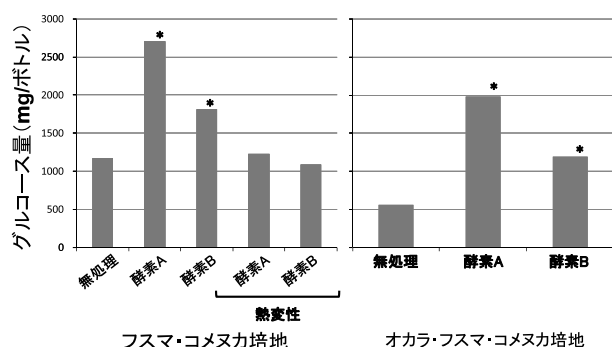


図-3 エリンギ栽培試験の各処理区における培地中のグルコース量

無処理との比較において有意水準 * : 5%

(2) 培地調整時におけるデンプン添加と培地のグルコース量

酵素Aを添加したオートクレーブ前のフスマ・コメヌカ培地とオカラ・フスマ・コメヌカ培地中に活性をもつ酵素が存在するのかを調査するために同量の可溶性デンプンを両培地へ添加した。その結果，可溶性デンプンを添加した両培地からグルコースの生産が認められた（図-4）（U検定，有意水準5%）。また，可溶性デンプンを添加しない条件ではフスマ・コメヌカ培地とオカラ・フスマ・コメヌカ培地から新たなグルコ

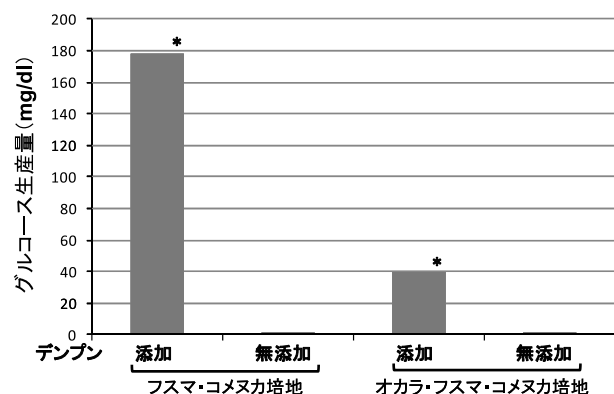


図-4 酵素A処理したフスマ・コメヌカ培地およびオカラ・フスマ・コメヌカ各培地におけるデンプン添加後のグルコースの生産量

デンプン無添加との比較において有意水準 * : 5%

ースは生産されなかった。このことから，本試験において添加した酵素は，処理後にも活性を有する状態で存在しており，酵素処理に添加した酵素量を減らせる可能性があることが分かった。

(3) 酵素分解におけるグルコース生産量へのフスマとオカラ混合の影響

フスマとオカラをそれぞれ単独で酵素Aを用いて処理するとオカラよりもフスマから生産されるグルコース量が多かった。フスマと同重量のオカラからはフスマの酵素分解時の約10%のグルコースしか生産されなかった。また，同量のフスマとオカラを混合するとフスマを単独で酵素処理した時の63.8%に生産されるグルコース量が減少した（図-5）（クラスカルウォリスとSteel-Dwass検定による多重比較，有意水準5%）。この結果から，フスマとオカラの混合は，グルコースへの酵素分解を阻害することが分かった。

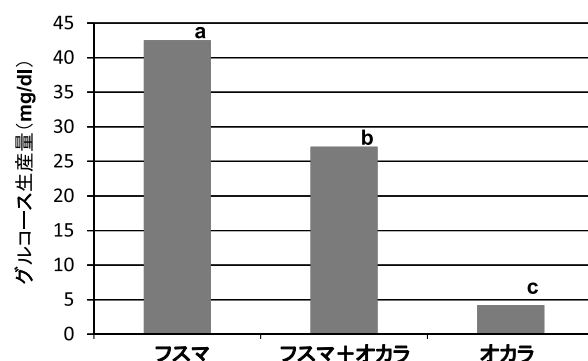


図-5 酵素A処理によるグルコース生産量へのフスマとオカラ混合の影響

異なるアルファベットは，Steel-Dwass検定の5%水準で有意であることを示す。

IV 考 察

本試験の結果から，オカラは，エリンギ栽培に有効な材料であるとともに菌床の酵素処理による子実体発生を増収効果を得られる栄養材として適すると考えられた。オカラ・フスマ・コメヌカ培地の酵素A処理区で，35日培養と40日培養ともに子実体の増収効果を得ることができた（図-1）。酵素B処理区についても40日培養では子実体の増収効果が得られた（図-1）。酵素処理区における酵素は，培地に酵素を添加してから，殺菌工程の殺菌温度に向けて温度が上昇している工程途中まで反応可能である。酵素Bよりも高温性である酵素Aがより高い温度まで基質と反応することが可能であったと考えられるが，子実体発生量の増加と酵素の温度耐性との関係は明らかではなかった。

予備試験で，グルコースの直接的な添加では，エリンギの子実体の発生量は増加しなかったことからグル

コース量の分析だけでは、オカラ・フスマ・コメヌカ培地で、エリンギ子実体の増収効果を得ることができた原因を説明できなかった。しかし、酵素反応に培地組成が影響したと考えられる点があった。

酵素処理後の培地に可溶性デンプンを同量添加した分解試験からオカラ・フスマ・コメヌカ培地からはフスマ・コメヌカ培地より少ない量のグルコースしか生産されなかった（図-4）。また、単独のオカラをフスマに混合すると酵素分解におけるグルコース量が減少し（図-5）、オカラが添加された培地においても酵素によるグルコースまでの分解が阻害される状態にある可能性が考えられた。

高島ら（2010）はナメコ栽培において酵素で処理した後、低分子グルカン量が増加していることを報告している。グルコースはグルカンが酵素で分解されて生産されることから、本試験においても子実体の増収効果が認められたオカラを添加した培地条件において、酵素反応が妨げられることで、酵素処理後、グルコースまで分解されなかった中間産物が増加している可能性があると考えられる（図-5）。

水谷ら（2012）のオカラの置換割合の試験では、オカラの置換割合が100%のオカラ単独の培地組成では、子実体の発生量が減少した。オカラ単独の条件ではなく、複数の栄養材が共存する条件で、エリンギの増収効果が高かった。本試験においてもオカラやフスマなどが共存する培地条件に酵素を添加することで子実体発生量が高まる条件が存在した。これは、子実体発生量が高めるために酵素処理を行うにしても、培地との組合せが重要であることを示唆していると考えられる。

V まとめ

2種類の栄養材組成の培地に対して、酵素処理を行ったが、フスマ・コメヌカ培地では、子実体発生量の増加が認められず、オカラ・フスマ・コメヌカ培地で酵素処理による子実体増収効果が認められた。

栽培所要日数に関して、酵素処理区では、無処理の対照区と比較して、同程度かまたはわずかに長くなる傾向を示した。発生所要日数が長くなった処理区で、子実体発生量の増加が認められなかった。

子実体の発生量に関して、酵素処理することにより子実体重量が15～36%増加した。オカラ・フスマ・コメヌカ培地で酵素処理による子実体発生量が増加したメカニズムは明らかになっていないが、処理に用いた酵素の反応性に培地組成が影響することが推察された。培地基材の組合せだけでなく生体触媒である酵素の前処理条件を組み合わせることで、エリンギ子実体のさらなる増収を目指すことができる可能性が示された。

引用文献

- 木村榮一（1999）培地調整．図説基礎からのエリンギ栽培．261pp，農村文化社，東京．66-99.
- 水谷和人・久田善純・上辻久敏（2012）エリンギおよびシイタケ菌床栽培における乾燥オカラと消石灰の添加効果．岐阜県森林研報41：13-16.
- 高島幸司（1998）オカラを利用したヒラタケ菌床栽培．日本応用きのこ学会誌6：167-170.
- 高島幸司・五十嵐圭日子・鮫島正浩（2008）ヤマブシタケ菌床栽培における廃菌床のリサイクル利用．木材学会誌54（6）：327-332.
- 高島幸司・五十嵐圭日子・鮫島正浩（2010）ナメコ栽培における菌床培地酵素処理の影響．日本木材学会大会研究発表要旨集60th：O18-0930.