糖質加水分解酵素を蓄積するエノキタケの菌床培養法の開発

バイオマス分解能を有し、エタノール発酵が可能なエノキタケによる固相 CBP において繊維分の糖化率 70% 以上を達成するための必要酵素量 10mg/g バイオマスを培養基中に蓄積させることを目標に野生エノキタケのスクリーニング、無殺菌培養技術を開発することによって目標を達成しました。

1. エノキタケのスクリーニング

エノキタケの野生系統 11 系統、市販系統 1 系統を用いて、基質分解能（セルラーゼ、キシラナーゼ活性）、エタノール発酵能、子実体形成能より、エノキタケ Fv-1 をスクリーニングしました。

エノキタケ系統間の相違

系　統	Cellulase activity	Xylanase activity	EtOH Conc.		子実体形成率	子実体収量
			260 h	330 h	(%)	(g/500mlビン)
Fv-1	9.10	22.6	29	31	100	141.1 ± 22.3
Fv-2	5.68	16.2	31	30	83.3	63.7 ± 13.5
Fv-4	5.24	6.91	13	10	16.7	109.4 ± 10.4
Fv-5	14.70	21.3	26	22	25.0	118.4 ± 7.8
Fv-6	8.25	16.2	18	22	0	—
Fv-7	10.00	16.6	21	19	100	84.2 ± 10.2
Fv-8	4.31	20.1	22	21	100	74.7 ± 16.1
Fv-9	2.74	20.4	16	18	100	98.9 ± 11.5
Fv-10	12.70	19.4	25	30	100	37.5 ± 17.6
Fv-11	7.40	13.8	11	10	100	115.7 ± 16.3
Fv-12	4.72	13.3	17	19	100	88.6 ± 20.1
T-010	3.39	7.21	-	-	100	127 ± 5.1

（単位：μmol/l・min）　（単位：g/L）

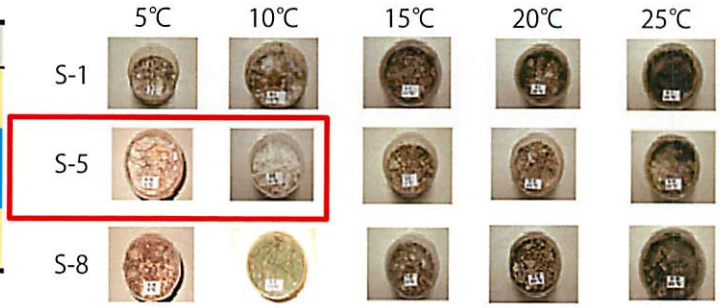
2. エノキタケの無殺菌培養

エノキタケの培養基を調製するうえで最も高価な施設とコストを要する工程が殺菌工程です。殺菌工程を省ければ簡便に超安価で培養基を提供できます。そこで、無殺菌培養について検討しました。

放線菌についてトリコデルマ属分生胞子の発芽に対する 抗菌活性を調べたところ、*Streptomyces. rimosus*（St-5）、*S.griseochromogenes*（St-8）で抗菌活性を有していました。

Species (Actionomycete)	Code	5℃	10℃	15℃	20℃	25℃
Streptomyces fradiae	S-1	Δ	Δ	×	×	×
Streptomyces rimosus	S-5	O	O	Δ	×	×
Streptomyces griseochromogenes	S-8	Δ	×	×	×	×

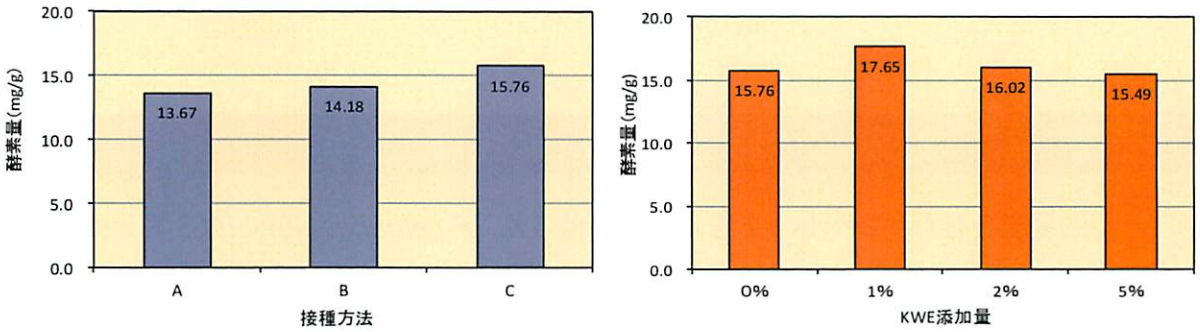
O:Fv-1 優性，Δ:雑菌混合，×:雑菌優性



エノキタケ Fv-1 と放線菌との無殺菌複合培養

放線菌 *S.fradiae*（S-1）、*S.rimosus*（S-5）、*S.griseochromogenses*（S-8）の 3 種を用いて、放線菌とエノキタケ Fv-1 をコーンコブ・米ぬか培地に接種して 5、10、15、20、25℃で培養したところ、放線菌 *S.rimosus* とエノキタケ Fv-1 の組合せで接種し、5、10℃で培養すると培養基内にトリコデルマ菌類が繁殖することなく、エノキタケ Fv-1 を無殺菌で培養できる方法を開発しました。

3. エノキタケの無殺菌培養による培養基中の酵素量



エノキタケ無殺菌培養の培養基中の酵素量に及ぼす接種方法、カラマツ水抽出物（KWE）添加の影響
接種方法 A：供試培地表面に均一にエノキタケ Fv-1 を接種し、その上に放線菌 St-5 を接種する。
B：供試培地表面に均一に放線菌 St-5 を接種し、その上にエノキタケ Fv-1 を接種する。
C：供試培地、エノキタケ Fv-1、放線菌 St-5 を均一に混合してビン詰めを行う。

エノキタケ無殺菌培養における最適培養条件を見出しました。培養期間は 8 週間、接種方法はエノキタケ Fv-1、放線菌 S-5 を均一に混合 してビン詰めを行う方法（C）、KWE を 1% 添加で培養したところ、培養基中の酵素量は 17.65mg/g となり、必要酵素量 10mg/g バイオマスの目標値を越えました。

■農研機構 食品総合研究所
金子　哲（生物利用機能ユニット）
■ C012 担子菌による Whole crop 直接エタノール発酵技術の開発（糖質加水分解酵素を蓄積するエノキタケの菌床培養法の開発）
高畠幸司　富山県農林水産総合技術センター森林研究所
■ TEL：029-838-8063　■ E-mail：sakaneko@nfri.affrc.go.jp