

平成22年 5月31日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19580313  
 研究課題名（和文）リグノセルロース材を飼料として利用するための白色腐朽性担子菌の培養条件の検討  
 研究課題名（英文）Study on culture condition of white-rot fungus to utilize lignocellulose materials as feed  
 研究代表者  
 岡野 寛治（OKANO KANJI）  
 滋賀県立大学・環境科学部・教授  
 研究者番号：90074088

研究成果の概要（和文）：サトウキビバガス、タケ、スギなどのリグノセルロース材の飼料価値を向上させるための担子菌の培養条件について検討した。コーンコブミール、サトウキビバガス・タケ・スギに米ぬかまたはフスマを加えた培地に *Ceriporiopsis subvermispota* を接種し、32℃で培養することで、それらの消化性は向上し、スギで TDN31.9%、サトウキビバガスで TDN61.9%の値が得られた。さらに、マンガンをとけ培地に添加することでリグニン分解が促進されることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The culture condition of basidiomycetes was examined to upgrade the feed value of lignocellulose materials as sugarcane bagasse, bamboo and cedar wood. The digestibility of corncob meal, sugarcane bagasse, bamboo and cedar wood was elevated by mixing rice bran or wheat bran with them and then culturing with *Ceriporiopsis subvermispota* at 32℃. The TDN of cedar wood and sugarcane bagasse was elevated to 31.9% and 61.9%, respectively, by culturing with *C. subvermispota*. It was also suggested that lignin degradation in bamboo was accelerated by the supplement of Manganese to bamboo substrate.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・畜産学・草地学

キーワード：畜産学・バイオマス・菌類・飼料・リグニン分解

## 1. 研究開始当初の背景

反芻家畜の粗飼料としては栄養価の低いワラ類および牧草類に、担子菌を培養（担子菌処理）して栄養価の向上を目指す研究が、国

内外で1990年代の中頃まで活発に行われた。しかしながら、動物への給与試験で栄養価の向上が明らかとならなかったため、この分野の研究は停滞した状況であった。一方、林産

科学の分野では担子菌処理によるリグニン分解に関する研究が着実に進んでいた。我々は動物による消化試験で担子菌処理により栄養価の向上が見られなかったのは、担子菌処理ワラと未処理ワラが同じ切断長で給与されたため、担子菌処理によって脆くなったワラの反芻胃内滞留時間が未処理ワラに比較して短くなったことが消化性の向上を明白にできなかった一因であると考えた。そこで、ワラ類より若干栄養価の高いコーンコブミールに米ぬかを混合した培地に *Pleurotus eryngii* (エリンギ) を栽培し、反芻胃内溶液を用いたインビトロ消化試験で廃培地の化学成分および消化性と培養期間および温度との関係を調査した。その結果、きのこを収穫した後、一定期間以上培養することで廃培地の消化性が著しく向上すること (岡野ら 日畜会報 2004 ; 三木と岡野 日畜会報 2005 ; 岡野ら 日畜会報 2006) が確認された。これらの研究結果から、担子菌処理によるリグノセルロース材の消化性改善効果を評価するには、インビトロ有機物よりガス生産量を測定することが望ましいと考えた。

さらに、我々は林産科学の研究者と共同して、スギ間伐材の飼料化を試み、それに *Ceriporiopsis subvermispota* を20週間培養した時に、インビトロ有機物消化率が44.6%にまで上昇することを見出した (Okanoら Anim. Feed Sci. Technol. 2005)。*C. subvermispota* を培養することで得られた値は、過去に検討されたスギを蒸煮または爆砕処理した値を上回った。一方、サトウキビバガスに各種の担子菌を培養した研究では、*C. subvermispota* よりシイタケの方が消化性改善効果は大きかった (Okanoら Anim. Sci. J. 2006) ことから、リグノセルロース材の種類によって消化改善効果の高い担子菌は異なる可能性がある。しかしながら、*C. subvermispota* はシイタケより高い温度での生育が可能であることから、熱帯および亜熱帯で栽培されるバガスを担子菌処理するには有利であるので、先の研究とは異なる培養条件で再度検討する必要があるものと考えられる。

## 2. 研究の目的

サトウキビバガス、タケ、スギなどは、わが国または世界中において大量に存在するにもかかわらず、リグニン含量が高いため、飼料には一部しか利用されておらず、有効な利用法が求められている。本研究は、これらのリグノセルロース材にリグニン分解能力が高いと考えられている担子菌 *C.*

*subvermispota* を培養し、それらの飼料価値を向上させるために最適な培養条件を探索する。さらに、それらの材料を担子菌処理し、ヒツジに給与して、栄養価を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) *C. subvermispota* の培養温度の検討

①培養温度が *C. subvermispota* の生育に及ぼす影響

*C. subvermispota* をPDA寒天培地で拡大培養し、8 mmのコルクポーターで切り取った培地を他のPDA寒天培地シャーレ上に静置し、温度勾配培養器で30、32、33、34および35°Cで培養して、菌糸の伸長速度を測定した。さらに32°Cで菌糸が蔓延した培地を34、36、38および40°Cで1週間培養した後、他のPDA寒天培地シャーレに一部を掻き取り、接種し、32°Cで培養し、菌糸の伸長速度を測定した。

②コーンコブミールの消化性改善に及ぼす培養温度の影響

2mm目の篩を通るように粉砕したコーンコブミールとフスマを19:1の割合で混合し、水分含量を65%に調整した。その80gを300mlのエレンマイヤーフラスコに入れ、殺菌し、放冷後、*C. subvermispota* を接種し、28°Cで1週間ついで7週間または11週間培養した。培養後の培地の水分、セルロース、ヘミセルロース、リグニンおよび灰分含量、インビトロ有機物およびNDF消化率とガス生産量を測定した。

③タケの消化性改善に及ぼす培養温度の影響

タケ粉末と米ぬかを9:1の割合で混合し、水分65%に調整したものを殺菌し、放冷後 *C. subvermispota* を接種し、32、34、36、38および40°Cで4週間培養した。培養による化学成分の変化、乾物の損失率および消化性を検討した。

④タケの消化性改善効果に及ぼす培養温度と米ぬかの添加割合の影響

タケ粉末に米ぬかを19:1または9:1の割合で混合し、*C. subvermispota* または *L. edodes* を接種し、28°Cまたは32°Cで培養した。培養前後の培地の化学成分組成および消化性を測定した。

⑤スギの消化性改善効果に及ぼす培養温度と米ぬかの添加割合の影響

スギと米ぬかを19:1または9:1の割合で混合し、*C. subvermispota* を接種し、28°Cまたは32°Cで培養した。培養前後の培地の化学成分組成および消化性を測定した。

(2) *C. subvermispota* を培養したスギおよびサトウキビバガスのインビトロ消化試験

スギおよびサトウキビバガスを米ぬかまたはフスマと9:1の割合で混合し、水分65%に調整後、ポリプロピレンシートを敷いたプラスチック箱に4 kg入れ、大型殺菌釜で殺菌後*C. subvermipora*を接種し、32°Cの培養室で培養した。培養後、乾燥したものを消化試験に用いた。消化試験にはヒツジ4頭を用い、1期14日間、後半の7日間に全糞を採取する反転試験法で行った。

(3) *C. subvermipora*のリグニン分解酵素発現促進のための添加物の検討

タケ粉末にマンガンまたはチアミンを混合した米ぬかを9:1の割合で混合し、殺菌後*C. subvermipora*を接種し、32°Cで8週間培養後、培地の化学成分と消化性を測定した。

#### 4. 研究成果

(1) *C. subvermipora*の培養温度の検討

*C. subvermipora*の生育には、これまでの知見と同様に32°Cが菌の成長が最大であった。一方、40°Cで1週間培養した菌糸も、他のPDA寒天培地シャーレに接種し、32°Cで培養すると、他の低い温度で1週間培養したものと同様の菌糸成長が見られた。このことはわが国の夏季の高温時にも野外でこの菌を用いて担子菌処理が可能であることを示している。

コーンコブミール培地の場合、培地の残存量とその消化性から、8週間の培養で可消化有機物およびNDFの残存量が最大であったことから、コーンコブミールの栄養価を改善するのに望ましい期間と考えられた。また、32°Cという高温の培養によって、消化性向上のための培養期間が短縮した。

サトウキビバガス、タケおよびスギにおいても*C. subvermipora*を28°Cより32°Cで培養することで、消化性向上のための培養期間が短縮した。また、米ぬかまたはフスマの添加がリグニン分解の促進に有効であることが示された。

(2) *C. subvermipora*を培養したスギおよびサトウキビバガスのインビボ消化試験

スギに米ぬかを10%し、20週間培養した培地のTDNは31.9%であった。インビトロ発酵法で得られた値から消化試験に用いられたスギ培地は、10週間培養したものと同じ値であった。したがって、フラスコでの培養と同様の発酵がプラスチック箱培養では行えていなかったこと示していた。フラスコで20週間培養したスギ培地のインビトロ有機物消化率およびガス生産量はイナワラのそれらの値より大きかったので、スギも20週間培養すればイナワラ以上の消化性が得られ

る可能性が示唆された。サトウキビバガスにフスマを10%添加し、8週間培養した時の培地では、そのTDNは61.9%であった。この値は中程度の牧草と同様の値であった。以上の結果から、担子菌処理により最大の可消化有機物量を得るにはコーンコブミール、サトウキビバガスでは8週間、タケでは10週間、スギでは20週間の培養期間が必要であった。これらの違いは、それぞれのリグノセルロース材のリグニンの含量および分解され難さによるものと考えられる。

(3) *C. subvermipora*のリグニン分解酵素発現促進のための添加物の検討

タケと米ぬかを混合した培地へのマンガンの添加では、リグニン分解を促進する効果が見られたが、チアミンの添加では効果が見られなかった。マンガンでは、添加量が増加するとリグニン分解はいったん最大値を示した後低下したことから、適切な添加量についてさらなる検討が必要である。一方、チアミンではわずかながらリグニン分解促進の効果が見られたので、本研究の添加レベルが低すぎたため効果が現れなかったのかもしれない。両物質以外にもリグニン分解を促進させる物質があると思われるので検討を進める必要があると考える。

(4) 本課題を遂行することで、インビトロNDF消化率ならびにガス生産量の測定がよりインビボ消化率を推定できる方法であると考えられた。これまでの担子菌処理リグノセルロース材の消化性評価方法であった主に反すう動物の第1胃液を用いたインビトロ発酵法またはセルラーゼ処理による乾物または有機物消化率の測定する方法は、可溶性画分はエネルギーを有する画分とされていた。しかしながら、リグノセルロース材を担子菌処理することにより可溶性画分は増加するが、担子菌はセルロースより糖類、デンプンおよびヘミセルロースを優先して異化することから、可溶性画分にはエネルギーを有する糖類はほとんど含まれていないものと考えられる。その点、インビトロNDF消化率は繊維の消化性の指標となり、またガス生産量はエネルギー含量の指標となることから、インビトロ乾物または有機物消化率の値より重要と考えても妥当であろう。

また、これまでのリグノセルロース材への担子菌処理には食用担子菌を用いた研究が多かった。本課題では、近年の林産科学分野でリグニン分解力が強く、セルロースをほとんど分解しないことから選択的的白色腐朽菌と呼ばれている担子菌*C. subvermipora*を用いたことにも特色があった。この菌を用い

ることで、リグニン含量が低く、分解されやすいリグニンを含むコーンコブミールから、リグニン含量が高く、他の担子菌では分解されにくいリグニンを含むスギまで反すう家畜の飼料として利用できるという成果が得られた。また、スギでは *C. subvermispora* が現在のところ最も優れている菌であるが、コーンコブミール、サトウキビバガスおよびタケでは *C. subvert-mispora* の代わりに *L. edodes* のような他の担子菌でも消化性改善に有効であり、この点に関してはさらなる検討が必要である。

さらに、これまでリグノセルロース材を担子菌処理して、動物を用いた試験で消化率が向上したという文献は少なく、得られた栄養価も低いものであった。我々はコーンコブミールおよびサトウキビバガスでは中程度の牧草と同程度のエネルギーを有するものに変換できた。さらに、タケではイナワラ以上の栄養価に改善でき、スギではイナワラと同程度の栄養価となることを提示できた。

将来の展望として、培養期間の更なる短縮化とリグニン分解率の向上を目指す必要がある。本課題の最終年にマンガンを追加することによってタケのリグニンの分解が促進できることが示されたことは、いっそう適した培養条件を明らかにできれば、リグノセルロース材をより栄養価の高い飼料に変換できる可能性があることを示すものである。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3件)

- ① 岡野寛治、森田真未、足立吉数、相坂 樹、稲富 聡、宇佐川智也、エリンギ (*Pleurotus eryngii*) 栽培後のコーンコブミール廃培地の *in vivo* 消化性、関西畜産学会報、2010、166、査読有、11-18.
- ② 岡野寛治、西本有紀子、宇佐川智也、シイタケ (*Lentinus edodes*) 培養によるバガスの消化性改善に及ぼす菌株と培養条件の影響、日本畜産学会報、2008、79巻、査読有、483-490

[学会発表] (計 6件)

- ① 高津文香、大岡和弘、宇佐川智也、岡野寛治、タケの消化性改善のための *Ceriporiopsis subvermispora* の培養温度の決定ならびに年齢・部位の異なるタケの消化性改善効果、第 59 回関西畜産学会大会、2009 年 8 月 27 日、鳥取大学.

- ② 岡野寛治、木村知史、塩谷智洋、北川政幸、宇佐川智也、*Ceriporiopsis subvermispora* を培養したスギのインビトロおよびインビボ消化性、日本畜産学会 110 回大会、2009 年 3 月 27 日、日本大学
- ③ K.Okano, Effect of two fungi, *C. subvermispora* and shiitake (*L. edodes*), on shortening culture length for improving bamboo digestibility. Proceeding of the 13th Animal Science Congress of the Asian - Australasian Association of Animal Production Societies. 2008. 407. Hanoi, Vietnam.
- ④ 岡野寛治、西本有紀子、宇佐川智也、シイタケの菌株および培養条件の違いがサトウキビバガスの消化性改善に及ぼす影響、日本畜産学会第 109 大会、2008 年 3 月 27 日、常盤大学
- ⑤ 岡野寛治、森田真未、宇佐川智也、*Ceriporiopsis subvermispora* 培養によるコーンコブミール培地の消化性改善、第 57 回関西畜産学会、2007 年 8 月 30 日、高知大学

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

岡野 寛治 (OKANO KANJI)  
滋賀県立大学・環境科学部・教授  
研究者番号：90074088

##### (2) 研究分担者

なし