糸状菌の液内培養における物理的諸因子の影響について (第 4 報)*

菌糸群の状態に及ぼす培地粘度の影響について

高橋穰二, 小佐野吉泰, 山田浩一 (東京大学農学部農芸化学科)

昭和 35 年 1 月 19 日 受 理

I 緒 言

吾々は糸状菌の液内培養における菌糸群の種々の状態, 特に所謂 pellet について, その形成過程を検討した結果, 糸状菌の孢子乃至菌糸は“凝集型”及び“非凝集型”の 2 種に分けられることを見出し, 凝集性の有無は培養系内における菌糸群の状態に著しい影響を及ぼすことをすでに報告した⁽¹⁾。

これら菌株自身の特性の他に, 各種の物理的及び化学的培養条件も亦菌糸群の状態に著しい影響を及ぼすはずであり, 更に培養条件の如何によっては凝集性そのものへの影響も考えられる。

吾々はかような見地から, 各種の物理的培養条件のうち菌糸群の状態に対して比較的支配的であろうと考えられるものの一つである培養液の粘度の影響について検討したので, その結果をここに報告する次第である。

II 実験方法

使用菌株: 第 2 報⁽¹⁾で述べた如く“凝集型”の代表的菌株として *Asp. niger* NRRL-337 を, “非凝集型”菌株として *Pen. chrysogenum* Q-176 を使用した。

培養液: 基本培地としてペプトン-グルコース⁽²⁾及び Czapek 培地を使用し, これらに増粘剤としてアルギン酸ソーダ或はデキストランの適量を加えた (これらの増粘剤については菌の生長に化学的な影響を及ぼさないこと, 及び培養期間中に分解その他により粘度の変化がおこることが無いことを確めてある)。これら増粘剤の添加量とそれに対応する培養液の粘度とは第 1 表に示す通りである (粘度の測定は 30° において Ostwald 粘度計によって行った)。

第 1 表 粘性剤の添加量と培養液の粘度との関係

基本培地	粘 性 剤		粘 度 (c. p.)	略 号
	種 類	添加量 (%)		
ペプトン- グルコース	デキスト ラン	0	0.9	P (0)
		0.5	2.5	P (D, 0.5)
		1.0	4.0	P (D, 1.0)
	アルギン 酸ソーダ	3.0	58.0	P (D, 3.0)
		0	0.9	P (0)
		0.3	2.5	P (A, 0.3)
Czapek	アルギン 酸ソーダ	0.8	12.0	P (A, 0.8)
		1.5	38.0	P (A, 1.5)
		0	0.8	C (0)
	アルギン 酸ソーダ	1.0	23.3	C (A, 1.0)
		1.3	77.6	C (A, 1.3)

培養方法: reciprocal shaker (130 往復/分, 振幅 70 mm のものに, 液量 100 ml の 500 ml 容肩つきフラスコをかける) 及び jar fermentor (全容 15 l, 仕込液量 8 l, 攪拌器, 直径 75 mm の disk turbine, 回転数 200 r. p. m.) を使用し, 培養温度は *Asp. niger* の場合は 30°, *Pen. chrysogenum* では 28° とした。

接種: 孢子懸濁液の調製は第 1 報⁽²⁾と同様にして行い, 接種量は *Asp. niger* の場合は 1.5×10^5 conidia/ml of culture fluid とし, *Pen. chrysogenum* では 2×10^4 /ml とした。第 2 報⁽¹⁾で述べた如く, 接種量が過大 (10^6 /ml 以上) 又は過小 (10^3 /ml 以下) であること

は, それ自身すでに菌糸群の形態に対して支配的であることが多いので, 接種量以外の条件の影響を検討するには, 上述の程度の接種量が最も適当である。

菌糸群の状態の表示: 前報⁽³⁾でのべた如く, 洗滌菌糸を 15% 可溶性澱粉溶液に懸垂し, 回転円筒型粘度計によってその懸垂液の粘度を測定し, 菌体濃度 0.5 g/100 ml の場合の粘度計のよみの大小によってその状態を表示した。すなわち, 懸垂液の粘度が大きいく程, 菌糸群の所謂 pulp 的性状がそれだけ著しくなることを示す。

III 実験結果及び考察

a. 凝集型の場合 凝集型 (この型では, pellet 形成の主因は, 培養初期における孢子乃至は菌糸の凝集である) の代表的菌株である *Asp. niger* NRRL-337 を, 第 1 表に示した如き種々な粘度のペプトン培地及び Czapek 培地に培養し, 培養終期 (残糖が殆んど零となった時) における菌糸群の状態を, それらの懸垂液の粘度の大小に

* Studies on the Effects of Some Physical Conditions on the Submerged Mold Culture. Part IV.

Effects of the Culture Fluid Viscosity on the Mycelial Forms of Molds.

By Jōji TAKAHASHI, Yoshiyasu KOSANO and Kōichi YAMADA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

第 2 表 *Asp. niger* の菌糸群の状態に及ぼす粘度の影響

培 養 液	培養装置	培養液の粘度 (c. p.)	菌糸懸垂液の粘度 (粘度計のよみ)
P (0)	shaker	0.9	21.5
P (D, 0.5)	"	2.5	102.0
P (D, 1.0)	"	4.0	136.0
P (D, 3.0)	"	58.0	245.0
C (0)	"	0.8	60.0
C (A, 1.0)	"	23.3	390.0
C (A, 1.3)	"	77.6	540.0
P (0)	jar fermentor	0.9	18.5
P (A, 0.8)	"	12.0	262.0

よって示せば第 2 表の如き結果が得られる。

これらの結果は菌糸群の状態に対して、培養液の粘度が著しい影響を及ぼすことを示すものであり、培養液の粘度が高くなるにつれて pellet の形成は認められなくなり、菌糸群は液中に均一に分散し、所謂 pulp 状の生育状態を呈するようになることを示すものである。

この傾向を図示すれば第 1 図の如き曲線となる。即ち、培地粘度の増加に伴う菌糸懸垂液の

粘度の増加率は、培地粘度が高くなるに従って減少し、懸垂液の粘度は或る極限值に次第に近ずいて行く（この極限值は pulp 状といわれる菌糸群の分散状態のうち、最も理想的な状態に対応するものと考えられる）。

上述の如く、“凝集型”菌株の菌糸群の状態に対して培地粘度が著しい影響を及ぼす原因については、種々の因子が考えられるが、その主なものは、次の 2 つであるとえられる。

(1) “凝集型”に特有な現象である孢子乃至は菌糸の凝集が粘度の増加によって妨げられる。すなわち、第 2 図 (1) [P(0) の場合] 及び第 2 図 (2) [P(A, 0.8) の場合] を比較すれば、前者においては、多数の菌糸が凝集しているのに対し、後者では個々の菌糸がそれぞれ独立して分散しているので、粘度の増加によって凝集が妨げられることは明らかである。

(2) 培養液の運動状態が菌糸群の状態に及ぼす影響についてはまだ不明の点が多いが（現在検討中である）、少なくとも本実験の範囲内では、菌糸を球状にまらめようとする液の運動は、粘度の増加によって弱められる傾向がある。この事実は、次に述べる“非凝集型”の場合の実験結果によって知ることが出来る。

b. 非凝集型の場合 第 3 表には、この型の代表的菌株である *Pen. chrysogenum* Q-176 を、種々な粘度の

第 1 図 菌糸群の状態と培地粘度との関係（ペプトン培地の場合）

第 2 図 菌糸の凝集に及ぼす粘度の影響
(1) 増粘剤無添加 (P(0)) (2) アルギン酸ソーダ 0.8% 添加 (P(A, 0.8))第 3 表 *Pen. chrysogenum* の菌糸群の状態に及ぼす粘度の影響

培 養 液	培養装置	粘度 (c. p.)	懸垂液の粘度 (粘度計のよみ)
P (0)	shaker	0.9	21.5
P (A, 0.3)	"	2.5	33.0
P (A, 0.8)	"	12.0	37.5
P (A, 1.5)	"	38.0	97.5

ペプトン-グルコース培地に培養した場合の菌糸群の状態を, その懸垂液の粘度によって示した。

この結果から“非凝集型”の場合にも培養液の粘度が増加すると, 菌糸群の状態は, pellet 状から次第に pulp 状になってゆくが, 粘度の影響は, “凝集型”の場合程著しくないことが知られる。すなわち“非凝集型”の場合には, 孢子乃至菌糸には凝集性はなく, 個々の孢子はそれぞれ独立して発芽し, 菌糸が分岐伸長を重ねる間に, 培養液の適当な往復又は回転運動 (最も pellet を形成しやすい運動状態は如何なるものであるかはまだ不明であるが) によって, 次第に密な球状にまとめられることによって pellet が形成されるのであるが, 培養液の粘度の増加は, この pellet 形成作用を弱めるように働くものであると考えられる。

IV 結 論

以上の結果に基づき, 次のことが結論される。

(1) 糸状菌の液内培養に際し, 培養系内における菌糸群の状態は培養液の粘度によって著しく影響される。すなわち, 低粘度の場合には所謂 pellet 状となる菌糸群も, 増粘剤を添加して培地の粘度を高めると所謂 pulp 状を呈する。

(2) このような粘度の影響は, “凝集型”の菌株において特に著しくみとめられる。すなわち, “凝集型”の pellet 形成の主因である孢子乃至菌糸の凝集が, 培養液の粘度の増加によって妨げられるためであると考えられる。

(1) 高橋穰二, 山田浩一: 本誌, 33, 707(1959).

501 (1959).

(2) 高橋穰二, 山田浩一, 朝井勇宣: 本誌, 32,

(3) 高橋穰二, 山田浩一: 本誌, 34, 100(1960).

糸状菌の液内培養における物理的諸因子の影響について (第 5 報)*

Asp. niger NRRL-337 の生育及びアミラーゼ

生産に及ぼす培地粘度の影響について

高橋穰二, 町田晴夫, 山田浩一 (東京大学農学部農芸化学科)

昭和 35 年 1 月 19 日 受 理

I 緒 言

我々は前報⁽¹⁾において *Asp. niger* NRRL-337 の液内培養に際し, 培養液の粘度を高めることにより, 孢子乃至は菌糸の凝集性が弱まり, 凝集性に基づく pellet の形成が妨げられて, いわゆる pulp 状の菌糸群が得られることを明らかにした。このような菌体の状態の変化は, 菌の生育及び生産物にかなりの影響を及ぼすことが予想されるので, 本報では培地粘度を種々に変化させ, 菌の生育及び液化アミラーゼ生産に及ぼす影響を検討した。

II 実 験 方 法

使用菌株: *Asp. niger* NRRL-337.

使用培地: 基礎培地としてペプトン培地⁽²⁾を使用した (但し, 炭素源として可溶性澱粉 2% を用い, pH 調節

第 1 表 増粘剤の添加量と粘度との関係

増 粘 剤	添加量 (%)	粘度 (c. p.)
無 添 加	0	1.0
デキストラン	0.8	4.1
"	2.0	20.2
"	3.0	50.3
C. M. C.	1.0	28.4
メチルセルロース	0.7	3.3
"	1.8	13.0

の為 CaCO_3 0.8 g を添加した). これに増粘剤として, 主としてデキストランを添加し, 時にメチルセルロース (marpolose), C. M. C. 等も用いた。増粘剤の添加量と培地粘度との関係は第 1 表に示す通りである。

培養条件: 500 ml 肩つきフラスコに液量 100 ml を入れ, 30°にて 130 oscills/min の reciprocal shaker を用いて培養した。

孢子懸濁液の調製及び接種法: 第 1 報⁽²⁾と同様に行い, 接種量は全実験を通じて 1.5×10^5 conidia/ml of medium とした。

液化アミラーゼ測定法: Sandstadt 改良法による富金原法⁽³⁾を用

* Studies on the Effects of Some Physical Conditions on the Submerged Mold Culture. Part V. Effects of the Culture Fluid Viscosity on the Growth and the Amylase Production of *Asp. niger* NRRL-337.

By Jōji TAKAHASHI, Haruo MACHIDA and Kōichi YAMADA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tokyo)