シイタケ菌床栽培に関する研究（Ⅲ）

― 培地から生産されるエチレンについて ―

九州大学農学部　大賀　祥治

1．はじめに

エチレンは大部分の高等植物で生成され，植物ホルモンの一つとして茎，根の伸長阻害，肥大成長促進，さらに果実の成熟を促進する作用が知られている。また，栄養組織に接触，病傷害，薬物処理等の各種ストレスが与えられるとその生成量は激増する[5]。

菌類でもエチレンを生成していることが報告され，食用担子菌についてはツクリタケ[4]，ヒラタケ[6]の菌床からの例が挙げられている。シイタケに関しても培地から生成されていることが見出されている[1]，これらによれば，エチレン生成は栄養生長から生殖生長へ相が切り替わる時点の子実体発生期あるいはそれ以降に特に高くなっている傾向が認められ，子実体発生との深い相関関係が予想できる。

ここでは，シイタケ菌について培地組成の違い，栄養分添加の影響，あるいは培地中への溶質添加による水ポテンシャルの低下に伴う水ストレス等を主因子としてエチレン生成を検討するとともに菌床培地から生成されるエチレンの経時変化を菌糸蔓延から子実体生長にいたるまで測定した。さらに，高等植物においてその作用が報告されているエチレン発生促進剤あるいは阻害剤を培地に添加し，シイタケ菌蔓延時のエチレン生成量に及ぼす影響を試験した。

2．実験方法

(1) 供試菌　シイタケ菌 IFO 7123

(2) エチレン発生促進ならびに阻害剤

促進剤：1－aminocyolopropanecarboxylic acid (ACC)

阻害剤：aminoethoxyvinylglycine (AVG)

(3) 培養条件

(a) 寒天培地

表－1に示すように，2種の合成培地と3種の天然培地を用いた。さらに，酵母エキスを用い添加率を因子とし，同様の試験を行った。

(b) 木粉培地

表－2のように，ブナ木粉（20～48mesh）を主体に，栄養分として米ヌカ，フスマ，トウモロコシ粉を各々の割合で混合し，蒸留水を加え含水率を60％に調整したものを三角フラスコに詰め試験に供した。

なお，(a)，(b) においてのシイタケ菌の接種，培養は常法[2]に従った。そして，エチレン生成量の測定は (a) では14日目，(b) では20日目の培地表面に菌そうがほぼ全面蔓延する対数期の時期に行った。

(4) ガスの採取とエチレン分析

測定開始時に三角フラスコをシリコンダブルキャップで密閉し，1時間培養した後ガスタイトシリンジで1mlのヘッドスペースガスを採取し，ただちにガスクロマトグラフィーを行った。

日立163型ガスクロマトグラフ及び水素炎イオン検出器を用い，ピーク面積は島津クロマトパックで求めた。カラムはガスクロ工業製ユニビーズ1S，80～100meshで1m×3mmのガラスカラムに充填した。キャリヤガスはHeで30ml／minの流速において40℃→160℃（10℃／min昇温）で分析した。エチレンピークの同定及び定量，その他の揮発性成分の分析はガスクロ工業製標準ガスとの比較により行った。

(5) 水ポテンシャルの測定

既報[3]に準じ，WESCOR社のサイクロメーターHR－33TにサンプルチャンバーC－52SFを接続し測定した。表－3に示すような3種の溶質を用い，寒天培地において異なる水ポテンシャルでのエチレン生成について検討した。

3．結果および考察

合成培地上で生育したシイタケ菌そうはわずかしかエチレンを生成していないが天然培地では生成量が高くなり，特に酵母エキスを添加した場合の生成量が増していることが分る（表－1）。菌そう直径はそれほど

Shoji OHGA (Fac. of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka 812)
Studies of shiitake mushroom cultivation on sawdust substrate (Ⅲ) Evidence for production of ethylene by mycelium and its relationship to sorocarp development

差はみられないが菌糸密度が高くなり，かつ代謝が活発になっているものと思われる。

木粉培地においても同様の傾向が見られた（表－2)。木粉のみ，あるいはHENNEBERG溶液を加えたものに比べ，天然物由来の米ヌカ等の添加によりエチレン生成量はかなり高くなった。菌糸蔓延の段階については培養基中の栄養分がシイタケ菌糸にとって好ましいほどエチレン生成量は高くなるものと考えられる。

続いて，先で最もエチレン生成に影響をおよぼした酵母エキスをとり上げ，その添加率を因子として生成量を測定した。添加率0.1～1.0％までほぼ比例的にエチレン生成量が増加し，それ以上の濃度ではほぼ一定値を示した（図は省略)。菌そう直径は0.1～0.5％添加で極大値がみられ，添加率上昇につれしだいに生育率が低くなった。菌そう直径とエチレン生成との間で必ずしも正の相関がみられるわけではないことが明らかになった。

次に，シイタケ菌床栽培を行い菌床からのエチレン発生量を90日間にわたって経時的に測定した（図－1)。菌糸が培地全面に蔓延する30日目で一つの極大値に達した。栄養生長での誘導期，対数期にほぼ対応してエチレンが生成されている。その後の定常期では生成量がしだいに減少する傾向がみられた。そして，60日目に低温処理として15℃で2日間培養したが，子実体原基が認められるとほぼ同時に，エチレン生成量の急激なピークが出現した。子実体の肥大生長期ではほぼ一定の高レベルを維持し，その後しだいに減少していった。子実体を発生しないものではピークはみられなかった。

水分ストレスの影響について検討したが，水ポテンシャルの低下が－0.5MPa位で菌糸が活性化され，生育率が高くなりエチレン生成がわずかに増加しているが，それほど顕著でなく，むしろ，溶質濃度の上昇による水ストレスの増加でエチレン生成は抑制されるという結果が得られた（表－3)。

高等植物におけるエチレン生成促進剤のACCと阻害剤AVGの添加はかなり明確に寒天培地でのシイタケ菌そうからのエチレン生成に影響力をおよぼすことが明らかになった（図－2)。

引用文献

(1) 中沢敬止ほか：日菌講，pp.25，1979

(2) 大賀祥治：九大演報，61，1～90，1989

(3) OHGA, S.：J. Fac. Agr., Kyushu Univ., 34, 413～420，1990

(4) WARD, T.,TURNER,E.M., OSBORNE,D.J.：J.Gen. Microbiol., 104，23～30，1978

(5) WSRNER, H.L., LEOPOLD, A.C.：Plant Physiol., 44，156～158，1969

(6) 山中勝次：奈良県林試研報，11，1～6，1982

表－1 寒天培地からのエチレン生成量

培地組成	エチレン生成量(pl/h)	菌そう直径(cm)
HENNEBERG	2	6.8
YOSHIHARA	5	7.3
ジャガイモ・グルコース	30	8.5
麦芽エキス・グルコース	28	8.5
酵母エキス・グルコース	36	8.5

培養14日目に測定

表－2 木粉培地からのエチレン生成量

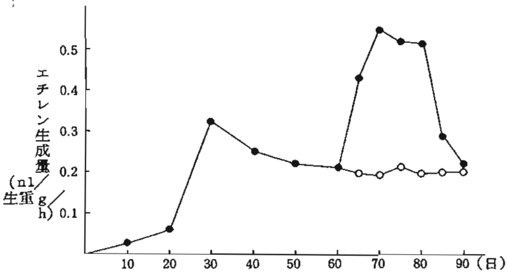
培地組成	エチレン生成量(pl/fresh wt/h)
木粉	35.6
木粉＋HENNEBERG	98.2
木粉＋米ヌカ（4：1）	280.2
木粉＋フスマ（4：1）	302.6
木粉＋トウモロコシ粉（4：1）	275.5
木粉＋米ヌカ＋フスマ ＋トウモロコシ粉（4：1：1：1）	360.5

培養20日目に測定
培地の含水率は63.0％

表－3 エチレン生成に及ぼす培地水ポテンシャルの影響（ジャガイモ・グルコース寒天：PDA培地）

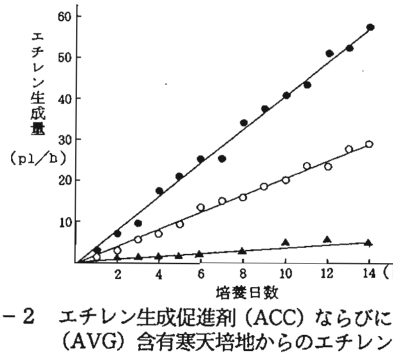
添加溶質	水ポテンシャル (-MPa)	エチレン生成量 (pl/h)	菌そう直径) (cm)
対照区（PDA）	0.28	32	5.50
0.1Mショ糖	0.52	34	6.77
0.5Mショ糖	1.68	17	5.08
0.1M塩化カリウム	0.92	15	4.90
0.5M塩化カリウム	3.07	8	1.83
0.1Mグリセリン	0.36	31	6.02
0.5Mグリセリン	1.36	23	5.12

培養10日目に測定



●－●；60日目に15℃で2日間低温処理（子実体発生），
○－○；無処理（子実体未発生）

図－1 木粉培地からのエチレン生成量の経時変化



図－2 エチレン生成促進剤（ACC）ならびに阻害剤（AVG）含有寒天培地からのエチレン生成量

●－●；Acc（1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid）100μM,
▲－▲；AVG（amino ethoxyvinylglycine）20μM,
○－○；control