

液体培地でのシイタケ子実体形成に及ぼす光の影響

—原基形成に対する光の作用スペクトル—

宮大農 アブ・バカール モハメド
日高 紀寿・目黒 貞利・河内 進策

1. はじめに

我々は液体培地におけるシイタケ子実体形成に及ぼす光の効果を青色光を用いて検討してきた。その結果、シイタケは青色光の作用により子実体を形成するが、その作用は原基形成と子実体形成の2つの段階からなることを明らかにした。しかし、シイタケのどのような色素が光受容体として働いているかは不明である。

一般に光形態形成において、光受容色素を明らかにする重要な手段として作用スペクトルが用いられる。作用スペクトルとは一定量の反応（原基形成あるいは子実体形成を引き起こす）に必要な光子数子の逆数を波長にプロットしたものと定義される。従って、得られた作用スペクトルのピークの波長と吸収スペクトルのピークの波長を比較することにより、光受容色素を同定することが可能となる。北本ら¹⁾はアミスギタケについて、熊谷ら²⁾は *Trichoderma viride* について、それぞれ光の作用スペクトルを検討している。得られたピークの波長から両者とも光受容色素としてカロチノイドとリボフラビンの可能性が示唆されたが、各種の代謝阻害剤および菌体ホモゲネートの吸収スペクトルの検討などにより否定された。

そこで本研究では入射光子数を各波長ごとに一定にしたときの各波長における反応量をプロットする便法を用いて作用スペクトルを求め、シイタケの原基形成に対する光受容色素を明らかにしようとした。

2. 材料および方法

(1) 種菌および培養方法

シイタケは森465号菌を用い、酵母抽出物を添加したペプトン・グルコース液体培地で培養した。培養条件は25℃、湿度60%とした。

(2) 作用スペクトルの測定

スペクトルメイト (SPG-100ST・島津) を単色光源として用いた。照射スケジュール: 培養開始後14日目までは暗黒下で培養し、15日目に色々な波長で照射した。その後暗黒に戻し、22日目から42日目までは青色光連続照射下 (155erg/cm²・sec) で静置培養した。

(3) 阻害剤の添加

培養7日目(照射前)、15日目(照射直前)および21日目(照射後)に、10⁻⁶mol/lの濃度で阻害剤である

キナクリン及びジフェニルアミンを培地に添加した。

(4) カロチノイドおよびリボフラビンの抽出

カロチノイド: 常法に従い、14日間暗黒下で培養した菌体をエタノール性水酸化カリウムで処理後、石油エーテルで抽出した。抽出液を定容後450nmで比色定量した。

リボフラビン: 14日間暗黒下で培養した菌体20gをホモゲナイズし、水を加えて加熱抽出した。抽出液をジアスターゼ処理し、1N-NaOHを加えて1時間光分解した。これに酢酸を添加後クロロホルムで抽出した。クロロホルム抽出液の蛍光強度(励起波長445nm, 蛍光波長530nm)から定量した。

3. 結果および考察

(1) 原基形成に対するスペクトルの測定

用いた青色のビニールシートは図1に示すように、360nmから550nmの波長域の光を透過し、450nm付近の光を最も良く透過する。従って原基形成に対する光の作用スペクトルは360から560nmの範囲内で検討した。

総照射光量を7.56X10⁶erg/cm²と各波長ごとに一定にした時の原基形成率を図2に示す。今回検討した範囲内ではいずれの波長においても70%以上と比較的高い原基形成率を示したが、480nm付近と400nm付近の波長の光の効果が高いことが分かった。15日目に各波長ごとに単色光源を照射した後に22日目から青色光を連続照射して子実体を形成させた結果を図3に示す。シイタケ子実体発生率で見ると、15日目に400nmおよび460nmの光を照射した場合の結果が高かった。原基形成とその後の子実体形成の結果を合わせて考えるとシイタケ原基形成に効果の高いのは400nmおよび460~480nmの波長の光と思われた。

β -カロチンとリボフラビンの吸収スペクトルを図4に示す。 β -カロチンは448と477nmに、リボフラビンは373と445nmにそれぞれ吸収極大値を示し、これらは得られた作用スペクトルで比較的高い効果の高かった波長域にほぼ含まれることから、カロチノイドおよびリボフラビンがシイタケの原基形成および子実体形成に対する光受容色素に含まれる可能性が示唆された。

そこで次に、カロチノイドおよびリボフラビンの生合成阻害剤を培地に添加し、シイタケの原基形成およ

び子実体形成に及ぼす影響を検討した。

(2) 原基形成に及ぼす阻害剤添加の影響

カロチノイドおよびリボフラビンの生合成阻害剤としてそれぞれジフェニルアミンおよびキナクリンを 10^{-5} mol/lとなるように培地に添加した。なおこの濃度では両者ともシイタケ菌糸成長はほとんど阻害しなかった。表1に示したように、ジフェニルアミンは照射前および照射直前に添加すると原基形成および実体形成を著しく阻害したが、照射後に添加しても全く阻害しなかった。一方、キナクリンは照射前に添加するとジフェニルアミンと同様原基形成を著しく阻害した。

以上の結果より、ジフェニルアミンおよびキナクリンは照射前に添加することにより原基形成および子実体形成を著しく阻害することから、カロチノイドおよびリボフラビンがシイタケ原基形成に対する青色光受容色素系に含まれる可能性が示唆された。

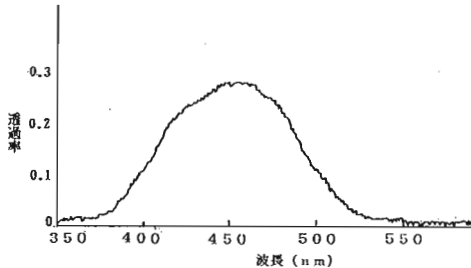


図1 青色シートの透過スペクトル

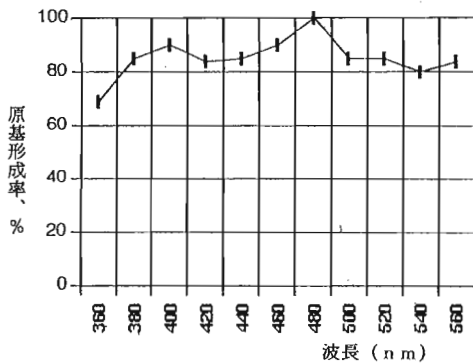


図2 原基形成に対する作用スペクトル

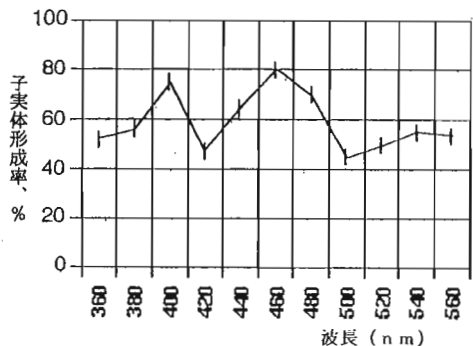


図3 子実体形成に対する作用スペクトル

(3) カロチノイドとリボフラビンの抽出

まず、シイタケ菌体のホモゲネートを用いて、その吸収スペクトルおよび反射スペクトルの測定を試みたが、明確な結果は得られなかった。そこで菌体からのカロチノイドとリボフラビンの抽出を検討した。照射直前の14日間暗黒下で培養したシイタケ菌体を用いカロチノイドについては菌体量を43g(フラスコ62本分)まで増加して検討したが、検出されなかった。従って、14日目の菌体にカロチノイドは含まれないか、含まれていたとしても、ごく微量であろうと思われた。

一方、リボフラビンは14日目の菌体中に、生重量1gあたり0.437 μ g存在することが明らかとなった。

以上の作用スペクトル、阻害剤および菌体から抽出の結果、シイタケの原基形成に対する青光受容色素としてリボフラビンの存在が示唆された。しかし、今回の検討では青色光受容色素を同定するまでにはいならず、今後さらに詳細な検討が必要である。

引用文献

- (1) KITAMOTO, Y., SUZUKI, A., FURUKAWA, S.: Plant Physiol. 50, 338~340, 1972
- (2) KUMAGAI, T., ODA, Y.: Plant and Cell Physiol. 10, 387~392, 1969

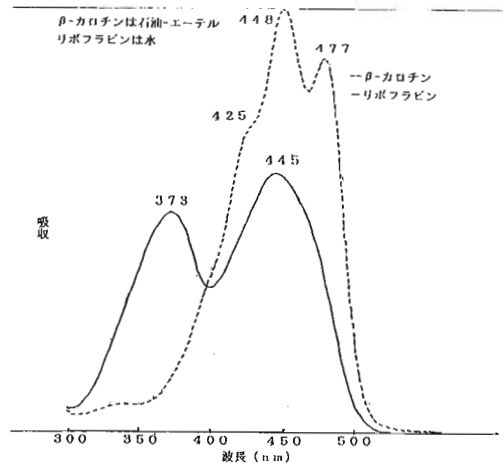


図4 β -カロチンおよびリボフラビンの吸収スペクトル

表1 シイタケ子実体および原基形成に及ぼす阻害剤の影響

阻害剤の種類	ジフェニルアミン		キナクリン	
	原基形成率 (%)	子実体形成率 (%)	原基形成率 (%)	子実体形成率 (%)
照射前 (7日目)	56	52	60	50
照射直前 (15日目)	67	47	90	70
照射後 (21日目)	100	80	90	80

注) ジフェニルアミンはカロチノイドの、キナクリンはリボフラビンの生合成阻害剤である。