

論 文**シイタケ菌の生育におよぼす金属板の影響**

太田垣 崇志・岸本 潤・作野友康
古川郁夫

**On the Influence of Metal Plates on the
Growth of Shiitake Mycelium**

Takashi OHTAGAKI, Jun KISHIMOTO, Tomoyasu SAKUNO
and Ikuo FURUKAWA

Summary

The changes of pH in the medium resulting from the growth of Shiitake (*Lentinus edodes* (BERK.) SING.) mycelium and the relationship of its growth and ionization tendency of the metal plates were studied :

1. The initial pH of Konara (*Quercus serrata* THUMB.) and Kunugi (*Quercus acutissima* CARR.) wood medium were within the optimum range for growing Shiitake mycelium and fell to about 3.5 as the mycelium grew.
2. The pH of milled wood Sugi (*Cryptomeria japonica* D. DON) was more alkaline than Konara and Kunugi, and it dropped into the optimum pH as a result of the growth of the mycelium.
3. The metal plates gave peculiar pH changes on the agar medium. The metal plates may have promoted or controlled the pH adjustment/stabilization of Shiitake mycelium resulting in the stabilization of its growth.
4. The influence of the metal plates on the growth of Shiitake mycelium was made not only because of the changes in the pH of the medium but also due to other factors. Furthermore, the growth of the mycelium was stimulated by the plates.

I 緒 言

シイタケほど木栽培において、原木の選択は大きな問題である。現在常用されているのはコナラ、クヌギであるが、これらの原木資源の枯渇が危惧されており、新しいシイタケ原木の探索が行われている。原木代替樹種の適性判断には、水分保持力^{3,4)}、樹皮形態^{5,6)}、組織構造^{8,9)}および生育阻害物質を含む抽出成分⁹⁾等が挙げられているが、判断基準は明確にされていない。

シイタケ菌自体の生理的活動を考える場合、培地の水素イオン濃度(pH)および菌体周辺のpH変動は菌体活性や菌体外酵素活性に影響を与える重要な要因である^{1,7~10)}。

本報告では原木代替樹種の適性判断基準の1つの因子として原木自体のpHに着目した。さらに、培地のpH変動がシイタケ菌の生育におよぼす影響を観察するため、イオン化傾向の異なる二種の金属より作製した金属プレートを設置する方法で培地にpH変化を与え、培地pHとシイタケ菌糸の生育との関連性について検討した。

II 材料および方法

1. 供試菌および供試材

供試菌として、シイタケ菌 (*Lentinus edodes* (BERK.) SING.) 菌株514号より分離し、初期pH5.0に調整した平面寒天培地にて25°C、10日間培養したものを用いた。供試材として鳥取大学蒜山演習林産のコナラ (*Quercus serrata* THUNB.), クヌギ (*Quercus acutissima* CARR.), スギ (*Cryptomeria japonica* D. DON.) およびヒノキ (*Chamaecyparis obtusa* ENDL.) を用いた。

各樹種の辺材および心材部よりウイレーミルにて40~60meshの木粉を調整し、実験に供した。

2. 供試金属プレート

供試金属としてイオン化傾向の異なる銅(Cu)、亜鉛(Zn)およびアルミニウム(Al)の3種を用い、これから0.5×45×10mmの金属板を作製した。図1に示すように金属板の一端を90°折り曲げた培地接触脚とし、もう一端より切り込みを入れ他の金属板と組み合せ、金属プレートを作製した。金属プレートはCu, Zn, Al単独のものと、Cu-Zn, Cu-AlおよびZn-Alで構成したものの6種類を供試した。

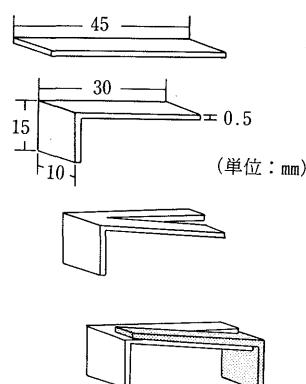


図1 供試金属プレート作製方法

3. 培地への金属プレートの設置および培地pHの測定方法

本実験は全て内径8.5cmのふた付シャーレに作製した平面培地で行い、供試金属プレートは培地の中心部に設置した。pH測定用のサンプルは金属プレートの培地接触脚を中心として培地を15×15mmのブロックで格子状に区分し、計24ブロックより採取した。各サンプルのpHはその重量に対して10倍量の蒸留水を添加し、10分間攪拌放置後、ガラス電極pHメータで測定した⁵⁾。

4. 木粉培地試験

培地を調整する前に、供試4樹種の辺材および心材の木粉懸濁液pHを測定した。コナラとスギの辺材および心材各木粉10gに蒸留水を添加し、含水率を100%に調整したものを木粉培地とした。培地は125°Cで20分間オートクレーブにて高圧滅菌した後、寒天培地上で培養したシイタケ菌をコルクボーラで打ち抜いたものを培地の中心部に接種した。接種培地は25°Cの恒温器内で3ヶ月間培養した後、培地に脱色の見られる部分（シイタケ菌生育部分）と、見られない部分（シイタケ菌未生育部分）のpHを測定した。

5. 寒天培地試験

本実験に用いたすべての寒天培地はマルトエキス一ペプトシーブドウ糖を主成分とし、リン酸第一カリウムでオートクレーブ高圧滅菌後のpHが5.0に安定するように調整した。この培地をオートクレーブで滅菌後25mlずつシャーレに分注して平面寒天培地とし、以下に述べる3種の実験に供した。

実験（A）

培地に金属プレートを設置し、25°Cの恒温器内に所定期間放置後、培地のpH分布を調べた。また、金属プレートの重量減少量も測定した。

実験（B）

培地に金属プレートを設置し、プレートの両接触脚から外側に5mm離れたところにコルクボーラで打ち抜いたシイタケ菌を接種し、25°Cの恒温器内で所定期間培養し、培養後のシイタケ菌糸伸長量および培地のpH分布を調べた。

実験（C）

培地の中心部にコルクボーラで打ち抜いたシイタケ菌を接種し、25°Cの恒温器内で10日間培養を行った。菌糸が十分蔓延した培地の中心部に金属プレートを設置して、再び所定期間培養した後、培地のpH分布を調べた。

III 結果および考察

1. 木粉培地試験

供試4樹種の辺材および心材のpHを表1に示す。

コナラ、クヌギにおいて、辺材のpHは4.55～5.04、心材のpHは4.93～5.11の範囲にあり、心材よりも辺材の方がpHは低く、辺材心材間の差はコナラが大であった。コナラ、クヌギと比較して、スギでは辺材、心材ともにpHが高く、ヒノキではこれらと近い値であったが、辺材よりも心材でpHは低かった。

シイタケ菌の生育最適pHは4.5～5.0であると報告⁹⁾されており、コナラ、クヌギのpHはその範囲内であった。スギは辺材、心材のpHが生育最適pHよりも高く、このpHの差がスギにおけるシイタケ菌生育阻害因子の一つではないかと考えられる。また、ヒノキはシイタケ菌の生育が悪いと報告^{8,9)}

されており、これはpHだけではなく、他の因子が関与しているものと考えられる。

表2にシイタケ菌を3ヶ月間培養した後のコナラとスギの辺材および心材のpHを示す。表1と比較して、両樹種ともシイタケ菌生育後のpHは低下しているのが特徴である。特にスギにおいては、辺材、心材とともにpHが培養前には生育最適pHより大きい値であったが、培養後には生育最適pH範囲内まで低下した。これはシイタケ菌の生育活動が木粉pHを菌糸の

表1 供試材の辺材および心材のpH値

供 試 樹 種	辺材pH値	心材pH値
コナラ (<i>Quercus serrata</i>)	4.58 (4.55～4.61)	5.05 (4.97～5.11)
クヌギ (<i>Quercus acutissima</i>)	4.91 (4.87～5.04)	5.03 (4.93～5.17)
スギ (<i>Cryptomeria japonica</i>)	5.38 (5.29～5.41)	6.35 (6.27～6.49)
ヒノキ (<i>Chamaecyparis obtusa</i>)	4.88 (4.72～4.91)	4.55 (4.43～4.61)

(注) () 内は最大最小値を示す

表2 シイタケ菌培養による木粉培地のpH値

供 試 樹 種	初期 pH 値	シイタケ菌植菌3ヶ月後の pH 値	
		未生育部分	生育部分
コナラ (<i>Quercus serrata</i>)	辺材木粉 (4.55～4.61)	4.58 (4.09～4.21)	3.52 (3.48～3.52)
	心材木粉 (4.97～5.11)	5.05 (4.50～4.61)	3.68 (3.61～3.72)
スギ (<i>Cryptomeria japonica</i>)	辺材木粉 (5.29～5.41)	5.38 (4.89～4.96)	4.26 (4.21～4.29)
	心材木粉 (6.27～6.49)	6.35 (5.99～6.10)	4.95 (4.87～5.01)

(注) () 内は最大最小値を示す

生育最適pHに移行させる現象であり、その一因はシイタケ菌の分泌する菌体外酵素であろうと考えられる。^{1,7~10)} シイタケ菌生育部分においてのpH移行現象は、菌体外酵素により分解された木材構成成分および菌の代謝によって菌体外に分泌された有機酸等の培地中への蓄積が原因と考えられる。⁹⁾

一方、シイタケ菌未生育部分におけるpHの低下は、この菌体外酵素が培地全体にわたって影響をおよぼしていることを示唆している。すなわち、シイタケ菌の分泌する菌体外酵素は菌糸未生育部分に作用して、菌糸の生育前に培地のpHを生育最適pH附近にまで低下させることによって、菌糸の蔓延を補助しているものと考えられる。

以上のことより、原木自体のpHがシイタケ菌生育最適pH範囲外の樹種においては、予め木粉のpHを生育最適pH範囲附近に安定させるような人為的な処理を行うことで、シイタケ菌の生育を順調に進行させることができるのでないかと推定される。

2. 寒天培地試験

(1) 実験 (A)

図2にCu-Zn, Cu-AlおよびZn-Al金属プレートを設置した培地のpHの経時的変動を示す。どの組み合せの場合も金属板接触脚附近で特異的なpH変動が認められた。

Cu-Zn金属プレートの設置培地では、Cu板側でアルカリ性へ、Zn板側で酸性へと変動した。Cu

板に重量減少は認められなかったが、Zn板では経時に重量が減少し、培地中に溶出していることがわかる。また、Cu板接触脚を中心として培地が白濁した。この白濁部分は培地のpH変動につれて拡大した(写真1)。Cu-Al金属プレートの設置培地においても培地pHは、Cu板側で中性へ、Al板側で酸性へと変動し、Al板でのみ重量減少が認められた。Zn-Al金属プレートの設置培地では両金

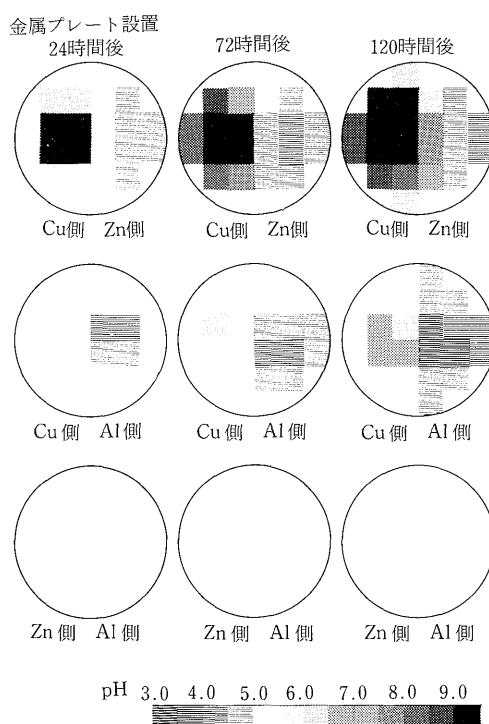


図2 未植菌寒天培地におけるpH変動

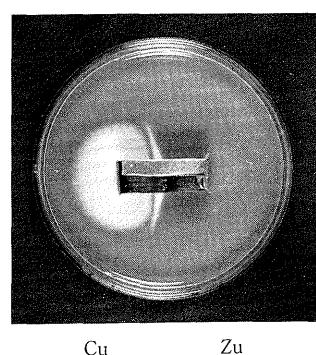


写真1 Cu-Zn金属プレート設置培地における白濁現象

属の培地中への溶出が認められたにもかかわらず、pHの変動は上記2種に比べてわずかであった。Cu, ZnおよびAl単独で作製した金属プレートを培地に設置した場合、培地pHは中心部で初期pHよりわずかに上昇した。

実験(A)においてCu-ZnおよびCu-Al金属プレートの設置培地のCu板側で認められた培地pHの上昇は、イオン化傾向の異なる両金属間に生じる電子の流れに起因するものと考えられる²⁾。寒天培地に設置した両金属間の電圧を測定したところ、Cu-Zn金属板間で0.35v, Cu-Al金属板間で0.27vの電位差が確認された。

(2) 実験(B)

金属プレート設置培地でのシイタケ菌糸の伸長量を図3に示す。Cu-Zn金属プレートを設置した培地では、シイタケ菌糸の伸長は全く認められなかった。これは培地pHが生育可能範囲外まで変動したため、その急激なpH変動にシイタケ菌が適応できなかったものと考えられる。Cu-Al金属プレート設置培地での菌糸伸長量と、金属プレートを設置しない培地のものを比較すると、Cu板側では伸長量が少なく、Al板側では伸長が促進された。Zn-Al金属プレート設置培地では、どちらの金属脚側でもコントロール培地と比較してほとんど差がみられなかった。Cu, ZnおよびAl単独金属プ

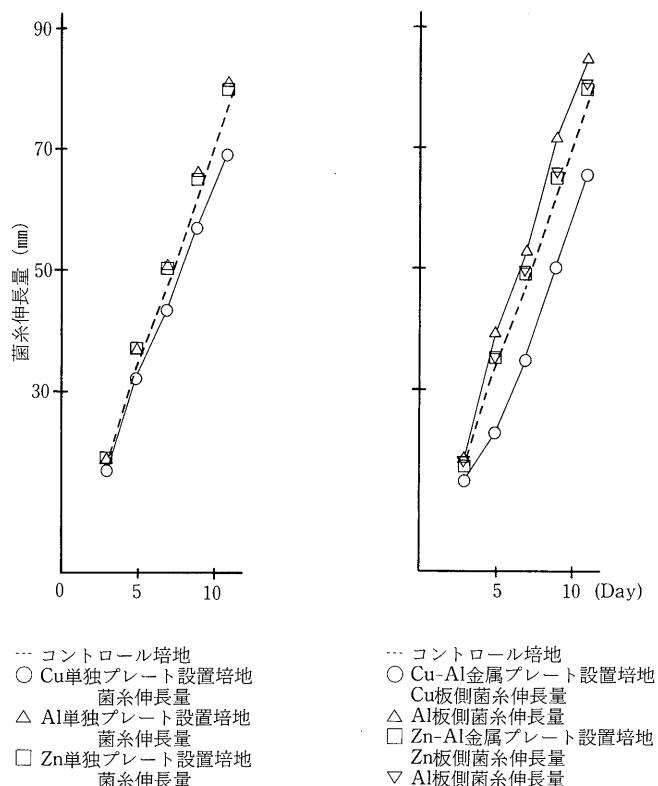


図3 各供試金属プレート設置培地におけるシイタケ菌糸伸長量

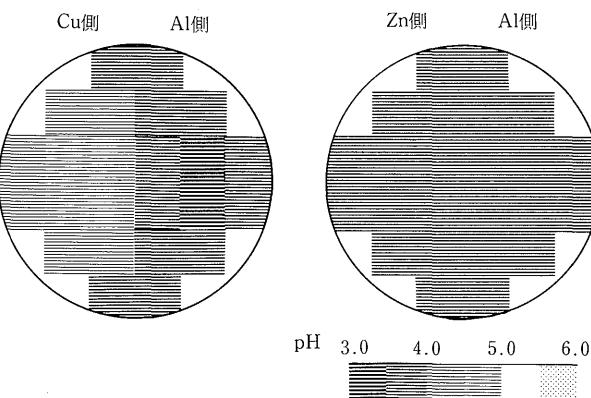


図4 金属プレートを設置し、シイタケ菌を植菌した
寒天培地のpH変動

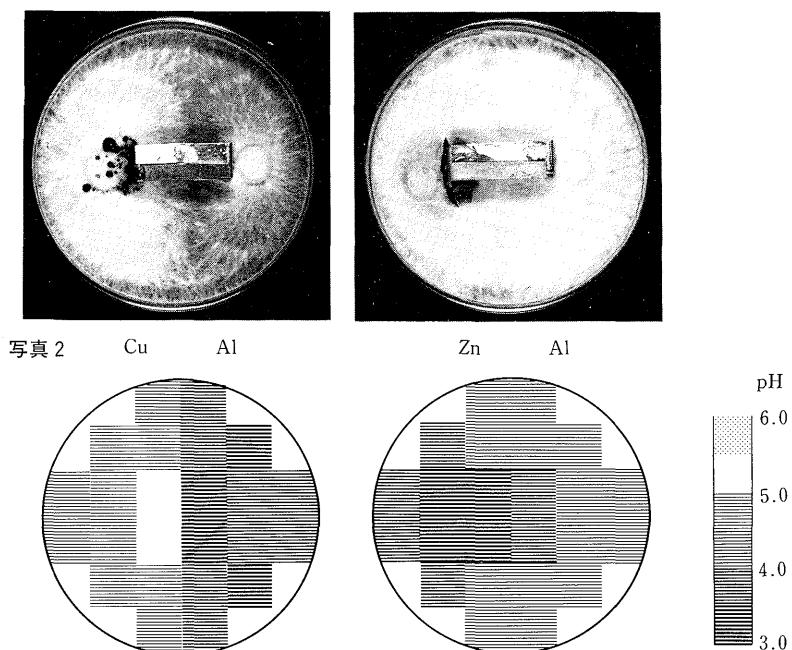


図5 金属プレートを設置し、シイタケ菌を植菌した寒天培地のpH変動(1ヶ月後)

レート設置培地の菌糸伸長量とコントロールのそれとを比較すると、Cuプレートを設置したものでのみ生育が劣っていた。設置培養後、これら3種の金属プレート全てにおいて重量減少が認められることにより、Cuプレート設置培地における伸長量の抑制は流出したCuイオンの影響と考えられる。

培養14日後には各金属プレートを設置した培地全面にシイタケ菌糸が蔓延した。この時点の培地のpHを測定すると、図4に示すように、Cu-Al金属プレートの設置培地のCu板側で約pH5.0を示したもの、いずれの培地でもpHは3.5~4.0の範囲内にあった。また、シイタケ菌糸が蔓延した時

点のコントロール培地のpHは3.8であった。

写真2は1ヶ月間培養したCu-AlおよびZn-Al金属プレート設置培地を、また図5はそのpH分布を示したものである。1ヶ月間培養したコントロール培地のpHは3.5であった。これらを比較すると金属プレートを設置した培地において菌糸密度の高い箇所が認められ、その箇所の培地pHはコントロールのpHより高い値を示した。

以上、3つの実験からシイタケ菌の生育とpHの関係について考察すると次のようにになる。すなわち、シイタケ菌の生育活動は培地pHがシイタケ菌の生育最適pHでない場合には、菌が生育する過程でpH調整を行い生育最適pHに近づけ、やがて培地pHは生育最適pHより少し下降して安定する。このpHの安定現象は菌類が環境に対して自らの恒常性を維持しようとする生理的現象であると考えられる。菌糸が培地上に蔓延した時点では培地pHが低下し、シイタケ菌の生育は緩やかになる。培地への金属プレートの設置は、その組み合せによっては、培地pHをシイタケ菌の生育最適pH附近に安定させることがあり、その場合は菌糸の伸長が良好となる。シイタケ菌の培地蔓延後は菌による培地pHの低下は金属プレートにより常時阻止される形となり、この刺激は菌糸密度を高めるものとしてはたらくと推定される。

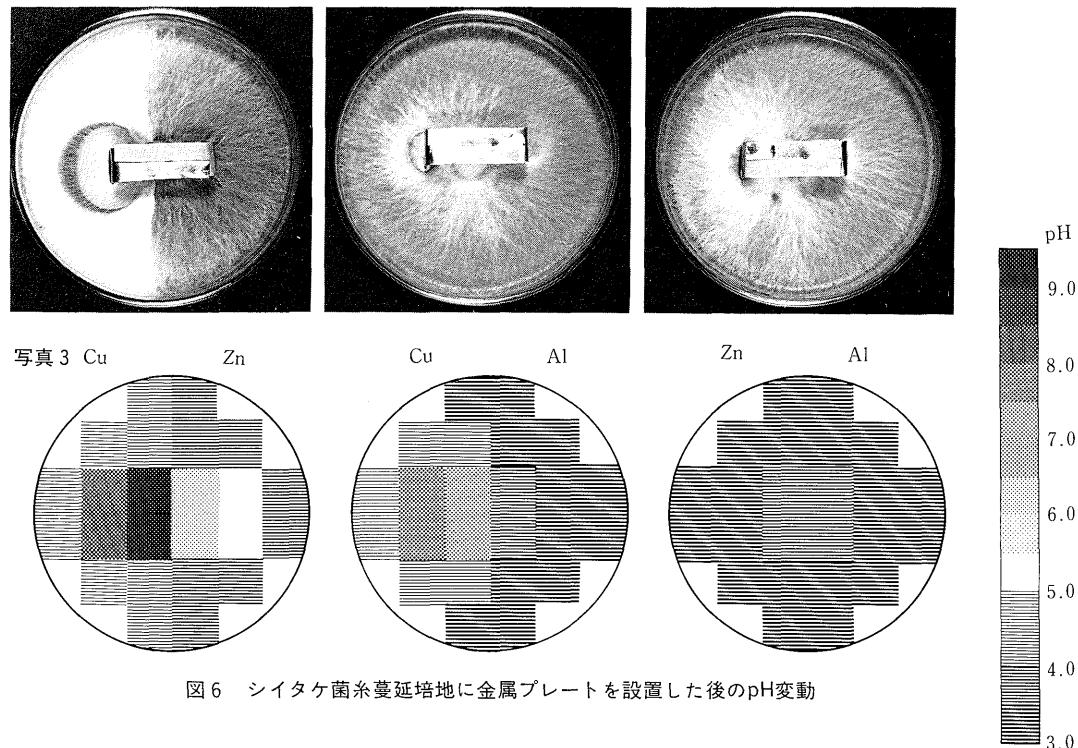


図6 シイタケ菌糸蔓延培地に金属プレートを設置した後のpH変動

(3) 実験 (C)

写真3はシイタケ菌蔓延培地に金属プレートを設置した後の状態を、また図6はそのpH分布を示す。初期pH5.0に調整した寒天培地にシイタケ菌を蔓延させたところ、培地のpHは約3.8まで低下

した。この状態の培地に金属プレートを設置すると、シイタケ菌の菌糸密度に特異的な変化が生じた。すなわち、Cu-Zn金属プレートの設置培地では、Cu板接触脚を中心として培地の白濁化と菌糸の自己分解が確認され、その周辺で菌糸密度が高くなっていた。Cu板側で培地が白濁化している箇所でのpHは8~9と非常に高く、菌糸の自己分解の原因と考えられる。ところが、Cu板側でも菌糸密度の高い箇所では、pH4~5と生育最適pH附近にまでpHがもどっていた。しかし、Zn板側ではCu板側と同様なpH変動が確認されているにもかかわらず菌糸の密度に変化はなく、かえって抑制されていた。

Cu-Al金属プレートを設置した培地においても、Cu板側の培地pHは4~8に上昇し、その周辺で菌糸密度が高くなっていた。Zn-Al金属プレートを設置した培地においても、菌糸密度の高い箇所が認められ、その培地pHはわずかではあるが上昇していた。

IV 結 論

- (1) コナラ、クヌギ自体のpHはシイタケ菌の生育最適pH(4.5~5.0)の範囲内にあり、シイタケ菌が蔓延するとpHは3.5附近まで低下した。
- (2) スギにおいてはコナラ、クヌギより高いpH値を示すが、シイタケ菌の生育によりpHは経時に低下し、生育最適pH範囲内となる。
- (3) イオン化傾向の異なる2種の金属板より作製した金属プレートを寒天培地に設置することにより、培地のpHは人為的に変えることができる。これを利用してシイタケ菌による培地pHの低下を促進したり、菌糸の生育活動に刺激を与えるなど金属板の選択によってはシイタケ菌の生育をコントロールすることもある程度可能であろう。
- (4) 培地中に溶出した各金属イオンおよびイオン化傾向の異なる金属板間に発生する電位差がシイタケ菌糸の生育におよぼす影響については明らかにすることができなかった。

文 献

- 1) 青島清雄・椿 啓介・三浦宏一郎：菌類研究法。共立出版、東京, pp. 39~45 (1983)
- 2) 電気化学協会：若い技術者のための電気化学。丸善、東京, pp. 61~86 (1983)
- 3) 本田耕吉：シイタケほど木の水分管理に関する基礎的研究。修士論文。鳥取大学, pp. 1~94 (1982)
- 4) 本田耕吉・古川郁夫・作野友康・岸本 潤：シイタケ菌の生育に及ぼす培地含水率の影響。広葉樹研究. 2 pp. 135~141 (1983)
- 5) 今村博之・岡本 一・後藤輝男・安江保民・横田徳郎・善本知孝：木材利用の化学。共立出版、東京, pp. 440~415 (1983)
- 6) 岸本 潤・古川郁夫・作野友康：コナラ、クヌギほど木におけるシイタケ発生の比較。広葉樹研究. 3 pp. 121~131 (1985)
- 7) 越島哲夫・杉原彦一・浜田良三・福山万治郎・布施五郎：新訂基礎木材工学。フタバ書店、大

阪, pp. 232~234 (1979)

- 8) 日本きのこセンター: 図解やさしいきのこ栽培. 家の光協会, 東京, pp. 36~39 (1985)
- 9) 中村克哉: キノコの事典. 朝倉書店, 東京, pp. 58~62, 78~80, 205~307 (1982)
- 10) 坂崎利一: 新細菌培地学講座・上. 近代出版, 東京, pp. 97~111, 179~190 (1978)