



きのこ



いじめてみた。

ストレスがあたえるきのこのいのち

生物2班

班員 土田大智
小松田快
佐藤優衣
長坂和輝

指導者 岡本由佳子

1.はじめに

雷が落ちたところからは、きのこが良く生えるという言い伝えがある。このことから、私たちはいくつかの刺激ときのこの成長との関係を研究することにした。

2.研究の目的

きのこに雷などの刺激が加わることでどのような影響があるかを調査する。

3.先行研究からわかったこと

- ・菌糸に電気が流れ、菌糸が干切れることによって、きのこの成長が菌糸を伸ばす栄養成長から、子実体(きのこ)を伸ばす生殖成長へと変化する。子実体は、胞子を作り胞子が発芽することで増殖する(図1)。

研究当初はしいたけの菌床を用いたが、子実体の形成や、生育に時間がかかり、実験に適さないため、秋田県立大学からウシグソヒトヨタケ(図2)の菌糸のサンプルを提供していただき、今回の実験で使用した。

ウシグソヒトヨタケについて

- ・2003年にゲノム情報が全て解析される。
- ・モデル生物として世界中で研究に利用されている。
- ・子実体の発生が早い。
- ・**光の刺激**を与えると、子実体の元である原基が発生する。
- ・原基は刺激を加えてから**四日後**に発生する。
- ・**赤い光は刺激として効果がない。**

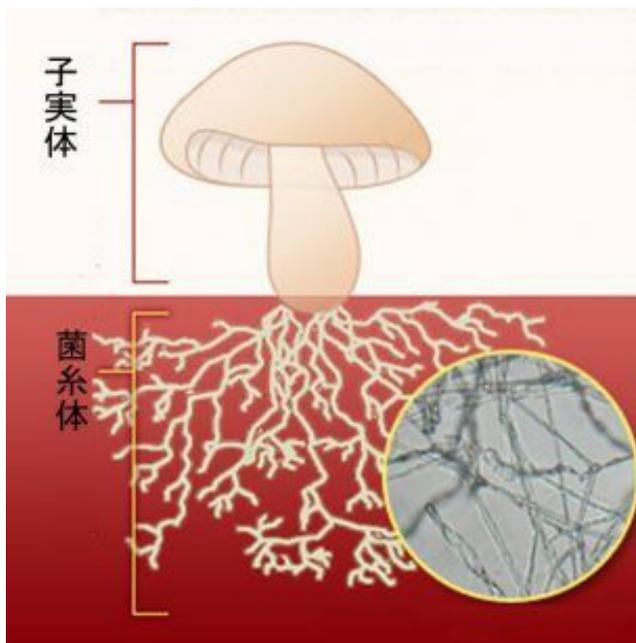


図1 子実体と菌糸



図2 自生するウシグソヒトヨタケ

4. 仮説

二つの仮説を立てた。

仮説①電気刺激が菌糸の成長を促進する。

仮説②電気刺激が原基の発生を促進する効果が高い。

この仮説について検証していく。

5. 実験

実験① 仮説①についての検証

実験手順

1. 培養したウシグソヒトヨタケ菌糸を培地に移植する。
電気を流すシャーレには両端に針金を取り付ける。
2. 2日後に電気刺激(図4のように誘導コイルを用いて約10万Vの電圧で10秒間)を与えるシャーレと与えないシャーレを各4個(図3)ずつ作り、恒温器(28℃一定)で保存する。
3. 3日後にシャーレ内の菌糸の成長を観察し、菌糸を移植した部分からの菌糸の成長を計測する。

培養に使用した培地の作り方

1. じゃがいも100gを1Lの水で煮て、ガーゼでろ過する。
2. 煮汁：100ml スクロース：2g 寒天：1.5g
を混ぜてオートクレーブを用いて加熱殺菌し、20mlに分けてシャーレに分注する。
以下すべての実験でこの方法で培地を作り実験をしていく。



図3 菌糸を移植したシャーレ



図4 誘導コイルを用いた電気刺激

実験①の結果

実験の結果は以下ようになった(図5,6)

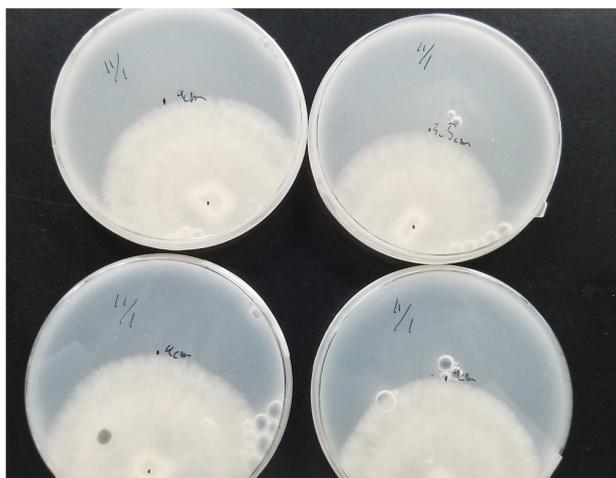


図5 電気刺激なし
菌糸の成長 平均3.9cm



図6 電気刺激あり
菌糸の成長 平均3.6cm

考察

- ・電気刺激ありが電気刺激なしに比べ、菌糸の成長が早いという結果は得られなかった。
- ・電気刺激が菌糸の成長を促進する効果はない。

この結果より、仮説①「電気刺激が菌糸の成長を促進する。」は否定された。

実験② 仮説②についての検証

実験手順

- 1.菌糸を移植し、シャーレに光刺激を遮断するため、赤いセロハンでシャーレを覆い恒温器で28°Cの環境で保存する(図7)。
- 2.菌糸を移植した4日後に刺激を与える。
- 3.刺激を与えた2日後に原基の発生数を調べ、スケッチする。



図7 赤いフィルムで覆ったシャーレ

刺激の種類と結果

スケッチのシャーレ下方の大きい点が菌糸を移植した場所、点が原基、「コ」が他の菌類が混入している場所、細長いものが子実体

温度刺激

- ・ 28℃に設定した恒温器から約6℃の冷蔵庫に2時間放置し温度刺激を与える(図8,9)。



図8 冷蔵庫内のシャーレ

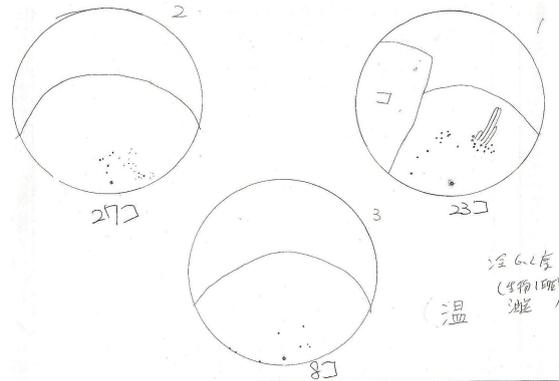


図9 温度刺激

光刺激

- ・ 赤いセロハンを外し光源に2時間あて光刺激を与える(図10,11)。

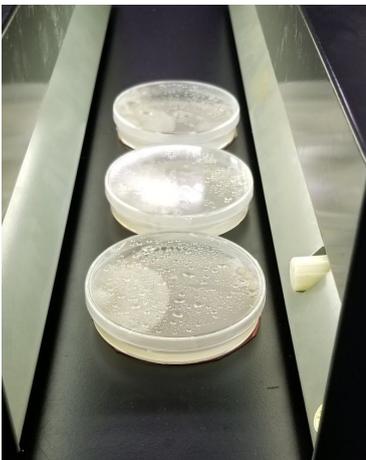


図10 光を当てているシャーレ

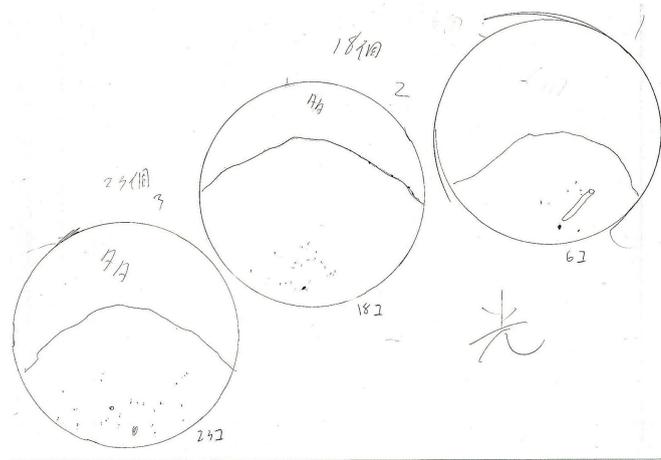


図11 光刺激のスケッチ

電気刺激

- ・ 実験①と同様にシャーレの端につけた針金から約10万Vの電気を流し電気刺激を与える(図12,13)。



図12 誘導コイルを用いた電気刺激

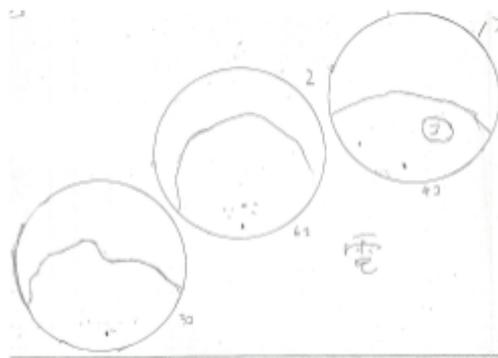


図13 電気刺激のスケッチ

振動刺激

- ・ボルテックスミキサーで1分間の回転数3000rpmの振動刺激を与える(図14,15)。



図14 振動刺激

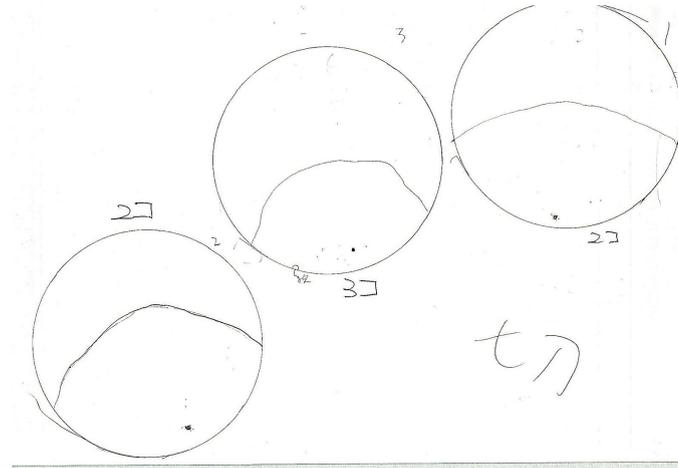


図15 振動刺激のスケッチ

切断刺激

- ・格子状になるようにカミソリで切り切断刺激を与える(図16,17)。



図16 切断刺激

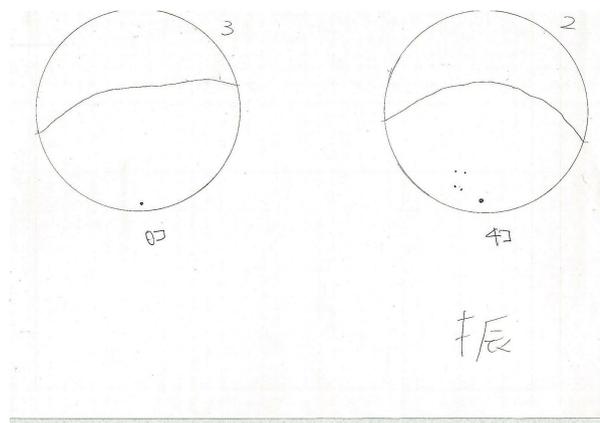


図17 切断刺激のスケッチ

刺激なし

- ・様々な刺激の比較の対象とするため刺激を与えないサンプルも用意した。(図18)

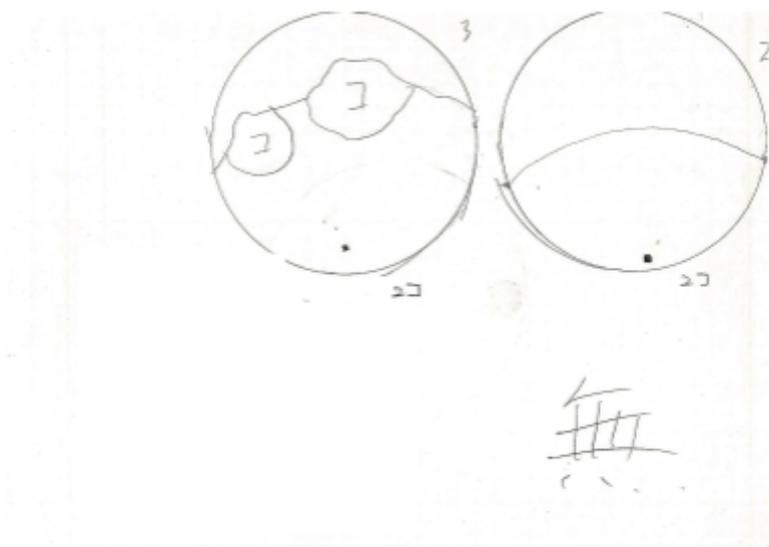


図18 刺激なしのスケッチ

与えた刺激と原基の発生数の結果を表(図19)にまとめた。

	サン プル1	サン プル2	サン プル3	
刺激 なし	*	2	2	
温度	8	23	27	効果大
光	6	18	23	効果大
電気	*	4	6	やや効果あり
振動	*	4	0	効果不明
切断	2	2	3	効果なし

図19 発生した刺激と原基の発生数の表

* 他の菌の混入などで培地の観察が不可能だったもの

考察

- ・ 電気刺激に比べ、温度変化や光量の変化の刺激の方が効果が高い。
- ・ 通常的环境中で機能する刺激は、昼夜の気温、光量の変化による刺激である。
- ・ 通常的刺激に加え、雷などの一時的な強い刺激によってより多くの原基が発生する。

この結果より仮説②「電気刺激が原基の発生を促進する効果が高い。」

は否定された。

次に、実験②より環境で機能する刺激のうち最も効果のあった、「温度」に注目し、これについて新しい仮説を立て、実験③を行った。

仮説③:きのこに与える温度刺激の温度差が大きいほど原基の発生を促進する効果が高い。

実験③ 仮説③についての検証

- 1.菌糸を移植し、光刺激を遮断するため、シャーレをアルミ箔(*)で覆い恒温器を用いて28℃の環境で保存する。
 - 2.菌糸を移植した3日後に様々な温度刺激を与える。
 - 3.刺激を与えた2日後に原基の発生数を調べ、スケッチする。
 - 4.シャーレを再び恒温器に戻す。
- * 今回は光を遮断するためにアルミ箔で覆った。(図20)

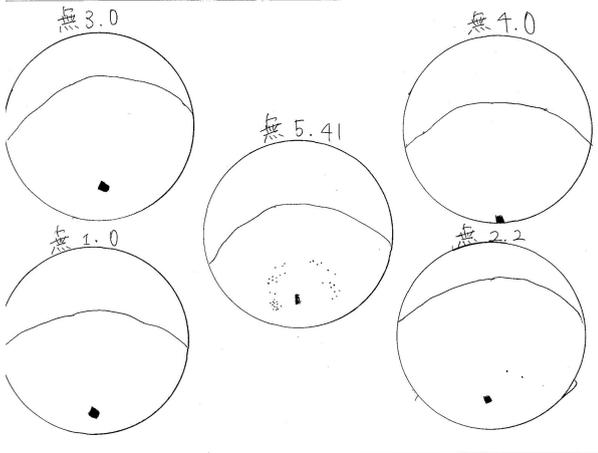


図20 アルミ箔で覆ったシャーレ

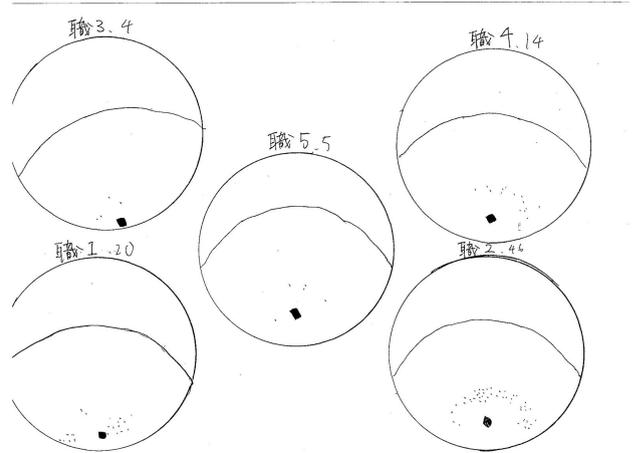
温度刺激の種類

職員室(約22°C)、生物室(約15°C)、屋外(約5°C)、冷蔵庫(約6°C)、に移動し2時間放置して温度刺激を与えた。その後恒温器(28°C)に戻した。刺激を与えないサンプルも用意した。刺激を与えてから二日後のシャーレ内の様子のスケッチを下記に掲載した。(図21)

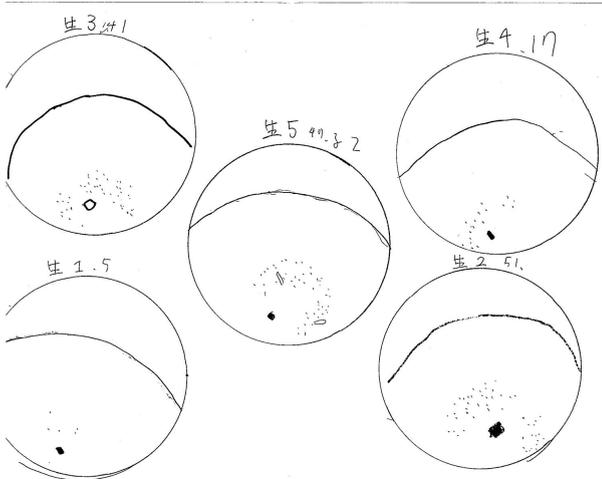
刺激なし



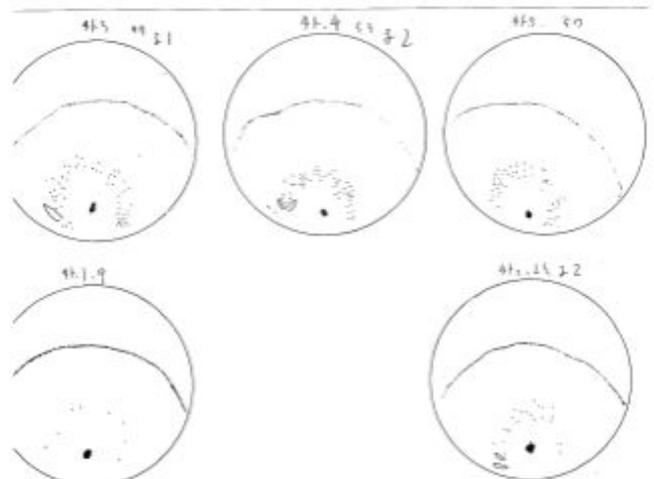
職員室 6°C差



生物室 13°C差



野外 23°C差



冷蔵庫 22°C差

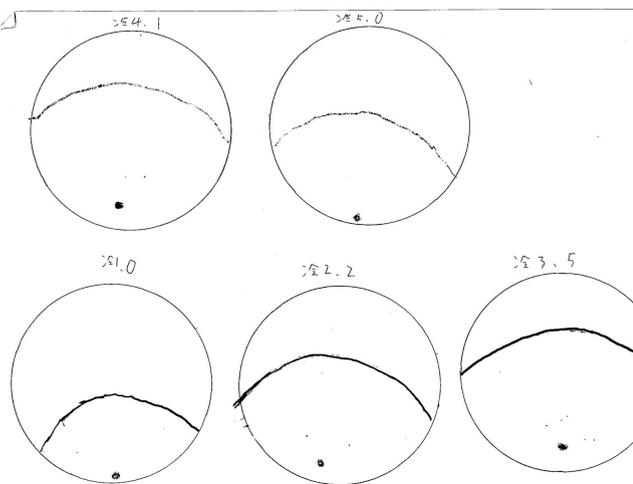


図21 各観察場所のシャーレのスケッチ

実験の結果

結果を表とグラフにまとめ下記に掲載した(図22,23)。

	サン プル1	サン プル2	サン プル3	サン プル4	サン プル5	平均
刺激なし	0	2	0	0	41	8.6
職員室 (6℃差)	20	46	4	14	5	17.8
生物室 (13℃差)	5	51	41	17	47	32.2
屋外 (23℃差)	9	23	47	53	57	37.8
冷蔵庫 (22℃差)	0	2	5	1	0	1.6

図22 加えた温度刺激と発生した原基の数の表

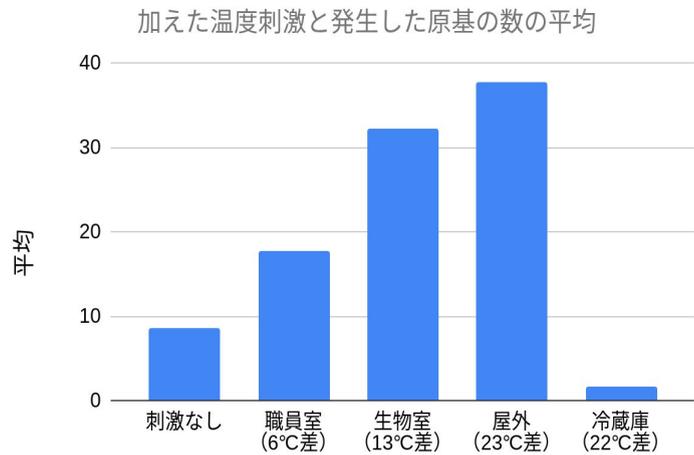


図23 加えた温度刺激と発生した原基の数のグラフ

考察

- ・発生した原基の数の平均を見ると与える刺激の温度差が大きいほど原基の数が多い。
- ・発生した原基の最大値はどの刺激を与えても40~50個ほどとなりあまり差がない。



- ・発生する原基の数には上限がある。

これらのことより仮説③「きのこに与える温度刺激の温度差が大きいほど原基の発生を促進する効果が高い」は正しいといえる。

実験③の謎

- ・冷蔵庫、屋外の温度刺激はほぼ同じ温度差であるにも関わらず、冷蔵庫での原基の発生数は圧倒的に少なかった。
- ・シャーレは密封状態であり温度の変化以外の刺激は加わらないと考えられる。



なぜこのような差が見られるのか？

すべてのシャーレについて同じように言えるため偶然とは考えにくい。

考えられる理由

- ・シャーレ内の養分の偏り
- ・冷蔵庫内は音の刺激が一番加わりにくい環境であった可能性。
- ・22~23℃付近に刺激にならない温度があったとも考えられる。

この部分については不明瞭な点が多く、温度刺激以外の部分で問題があると考え、考察では結果から除外して考えている。

6.研究のまとめ

- ・電気刺激は菌糸の成長を促進しない。
- ・原基の発生は雷のような特異的な刺激より、光や温度変化のような環境的な刺激によって促進される。
- ・刺激の温度差が大きいほど発生する原基の数が多い。

7.研究の展望

- ・雷の刺激から始まった研究であったが、電気刺激について踏み込んで調べることができなかった。電気刺激については加える電流の強さなど様々な方法で追加検証していく必要がある。
- ・実験③の謎や、個々の原基の発生数のばらつきなどが大きかったことから、厳密な条件の統一ができなかったといえる。より細かな刺激の差を扱う実験をするためにサンプル数を増やすなど、誤差の影響を減らすための工夫が必要である。

サンプル・論文提供、実験指導

秋田県立大学 村口元先生

指導者 岡本由佳子先生

参考文献

ウシグソヒトヨタケの子実体発生の鎖特異的RNA-Seq分析 PROSONEより

ウシグソヒトヨタケ子実体未成熟突然変異体の遺伝学的・組織学的解析

秋田県立大学ウェブジャーナルより

研究にご協力頂いた方々に

心より感謝を申し上げます。

出典

図1<https://joshi-spa.jp/75451>

図2<http://mikawanoyasou.org/kinoko/usigusohitoyotake.htm>

図3から図23までは校内で撮影