

Ultrastructure of *Lentinus edodes*

シイタケ (*Lentinus edodes*) の微細構造

MAIKA SATO¹, YUKA HONDA² & ASAHI KISHIMOTO³

佐藤舞果¹, 本田悠佳², 岸本あさひ³

¹Shitennoji High School, 1-11-73, Shitennoji, Tennoji-ku, Osaka 543-0051, Japan

²Tokyo Metropolitan Toyama High School, 3-19-1, Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-0052, Japan

³Tokushima Municipal High School, 1-15-60, Kitaokinosu, Tokushima 770-0872, Japan

¹四天王寺高等学校 (〒543-0051 大阪市天王寺区四天王寺1丁目11番73号)

²東京都立戸山高等学校 (〒162-0052 東京都新宿区戸山3-19-1)

³徳島市立高等学校 (〒770-0872 徳島市北沖洲一丁目15-60)

Abstract

Ultrastructure of stalk and cap in *Lentinus edodes* were observed under a light microscope, and scanning and transmission electron microscopes. The stalk was composed of highly oriented hyphae having a diameter of 2 to 7 micron meters. Vacuole was well developed in almost all of hyphae. The cap was composed of hyphae that were not highly oriented. The gills were also composed of hyphae oriented perpendicular to the surface of gills. Cell organelle such as nucleus, mitochondrion and rough-endoplasmic reticulum, were filled in the hyphae.

Key words: *Lentinus edodes*, Ultrastructure, Light microscope, Scanning electron microscope, Transmission electron microscope, Hyphae

要旨

シイタケ (*Lentinus edodes*) の柄と傘の微細構造を光学顕微鏡、走査電子顕微鏡、透過電子顕微鏡で観察した。柄では直径は2～7μmの菌糸が柄の長軸方向に配向していた。ほとんどの菌糸では、液胞が発達していた。傘では柄と同様な菌糸が観察されたが、柄ほど配向はよくなかった。ひだでは、菌糸はひだ表面に対し垂直に配向しており、細胞は液胞の発達が見られず、核やミトコンドリア、リボソーム、粗面小胞体などの細胞小器官が観察された。

重要語句: シイタケ、微細構造、光学顕微鏡、走査電子顕微鏡、透過電子顕微鏡、菌糸

序論

シイタケは担子菌の一種で、食用のシイタケは子実体である。一般にきのこは菌糸からできているということは広く知られているが、その詳細な知見は一般的ではない。例えば植物は、分裂組織から細胞分裂によって派生した細胞が管状要素や柔細胞などに分化し、組織化されて機能を果たしている。一方、シイタケは菌糸でできていると言われているが、菌糸は機能分化しているのか、菌糸はどのように組織化され子実体になっている

のかなど、疑問点が多い。本研究ではシイタケの微細な構造を知りたいとの思いから、光学顕微鏡、走査電子顕微鏡 (SEM)、透過電子顕微鏡 (TEM) を用いて、シイタケの柄、傘、ひだを観察し、どのような細胞がどのように組織化されているのかを調べた。

試料と方法

1 試料の固定

シイタケ栽培キットで生育させたシイタケ (*Lentinus edodes*) を採取し、傘と柄に分けた。カミソリを用いて傘と柄をそれぞれ細切し、3%グルタルアルデヒド・1/15Mリン酸緩衝液を用いて冷蔵庫中で1晩固定した。その後、氷冷した1/15Mリン酸緩衝液で試料を洗浄し、以下の実験に用いた。

2 光学顕微鏡用ならびにTEM用試料の作製と観察

3%グルタルアルデヒドで固定されリン酸緩衝液で洗浄された試料を、氷冷中で1%四酸化オスミウム・1/15Mリン酸緩衝液で2時間固定した。その後、1/15Mリン酸緩衝液で15分おきに6回洗浄し、エタノールシリーズで脱水した。プロピレンオキサライドで15分おきに3回置換し、プロピレンオキサライド:エポキシ樹脂=1:1の液を加えて1晩震盪した。その後、エポキシ樹脂に置き換えて硬化させた。

エポキシ樹脂に包埋された試料より、ガラスナイフを用いて1μm厚さの切片を作製し、1%トルイジンブルーO水溶液で染色した。切片を水洗後、スライドガラスに載せ、カナダバルサムで封入して光学顕微鏡観察に供した。

エポキシ樹脂に包埋された試料よりダイヤモンドナイフを用いて0.1μm厚さの超薄切片を作製し、銅グリッドに載せた。その後、酢酸ウラニル、クエン酸鉛染色してTEM観察に供した。

3 SEM用試料の作製と観察

3%グルタルアルデヒドで固定されリン酸緩衝液で洗浄された試料を、アルコールシリーズで脱水した。その後、t-ブタンオールで置換し、液体窒素で凍結させた。試料は凍結乾燥機

内容に関する連絡先:

高部圭司 (京都大学農学研究科森林科学専攻生物材料機能学講座)

kjtakabe@kais.kyoto-u.ac.jp

Correspondence Researcher:

Takabe, K. (kjtakabe@kais.kyoto-u.ac.jp)

Graduate School of Agriculture, Kyoto University

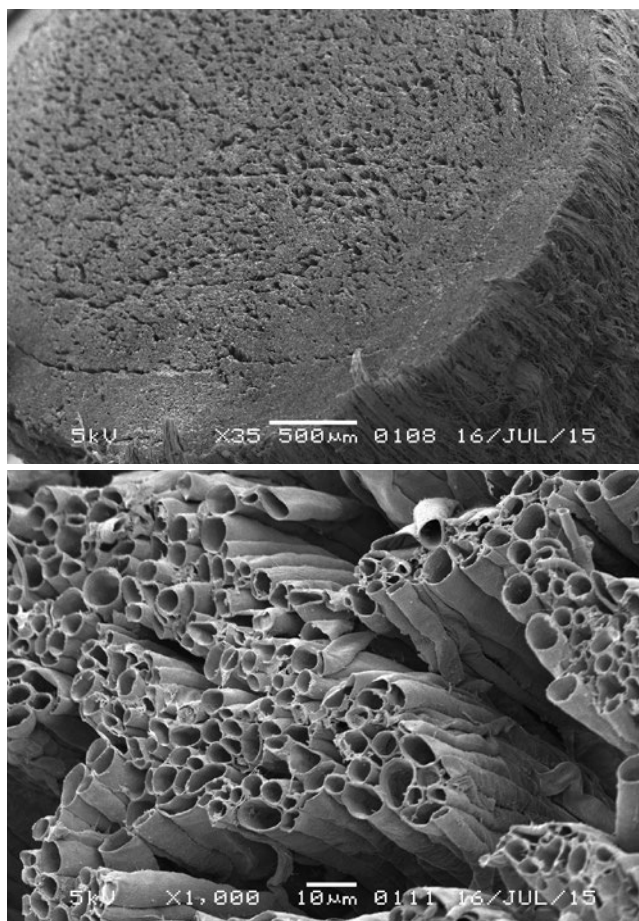


Fig. 1. シイタケ柄の横断面のSEM像.

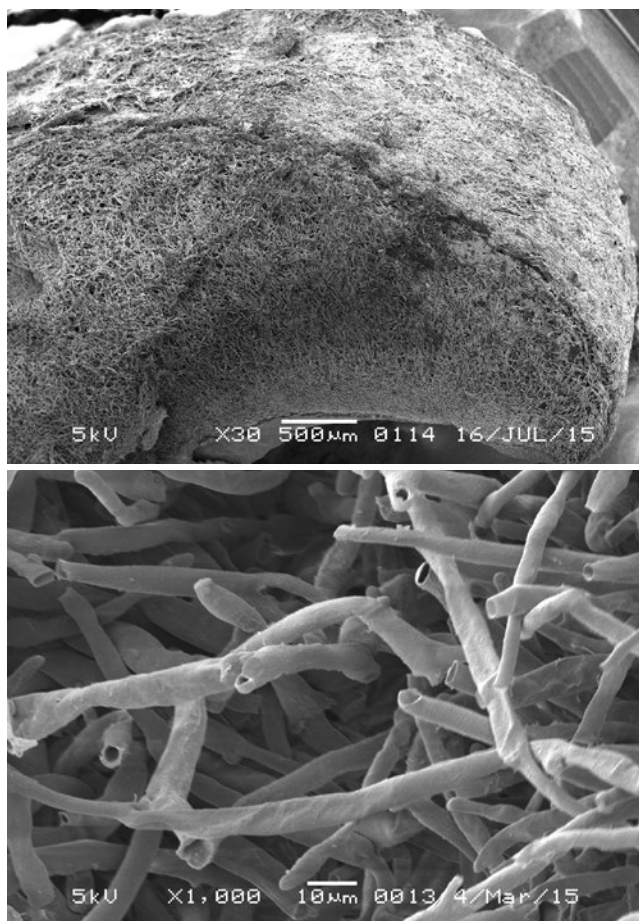


Fig. 2. シイタケ傘のSEM像.

を用いて乾燥させた後、導電テープと導電ペーストを用いてSEM用試料台（スタブ）に載せた。イオンスパッタリング装置で金コーティングし、SEM観察に供した。

結果

1 SEMで見たシイタケの構造

Fig. 1はシイタケ柄の横断面のSEM像である。柄は無数の菌糸が集合して形成されていることが分かる。菌糸の直径は $2\mu\text{m}$ から $7\mu\text{m}$ で柄の長さ方向に配向し、数十から数百の菌糸が集合して束を形成していた。

Fig. 2はシイタケ傘のSEM像である。菌糸は比較的ランダムに配向していた。そのため、柄のように菌糸が集合して束を形成する様子は観察されなかった。

Fig. 3はシイタケのひだのSEM像である。ひだは傘の下面に放射状に形成されている。ひだも菌糸によって構成されており、その表面は僅かに菌糸が確認されるものの、多数の直径が $2\sim 4\mu\text{m}$ の顆粒状構造物が観察された。これらが胞子なのかは確認できなかった。

2 光学顕微鏡で見たシイタケの構造

Fig. 4は、柄や傘では、チューブ状の菌糸の断面が観察される。柄では扁平になった菌糸の断面も観察されたことから、このような細胞はすでに死んでいる可能性が示された。一方、ひだでは柄や傘とはまったく異なり、中心部では菌糸がやや疎に分布し、ひだ先端に向かって配向しているように見えるが、表面近くでは菌糸は密に分布し表面に対して垂直に配向しているように見えた。SEM観察で見た顆粒状の構造物は菌糸の先

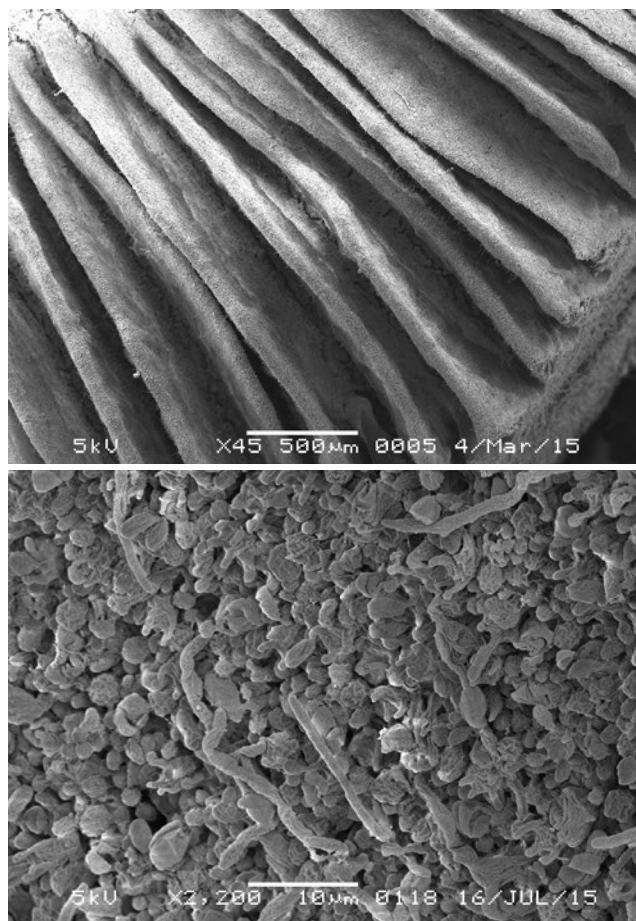


Fig. 3. シイタケひだのSEM像.

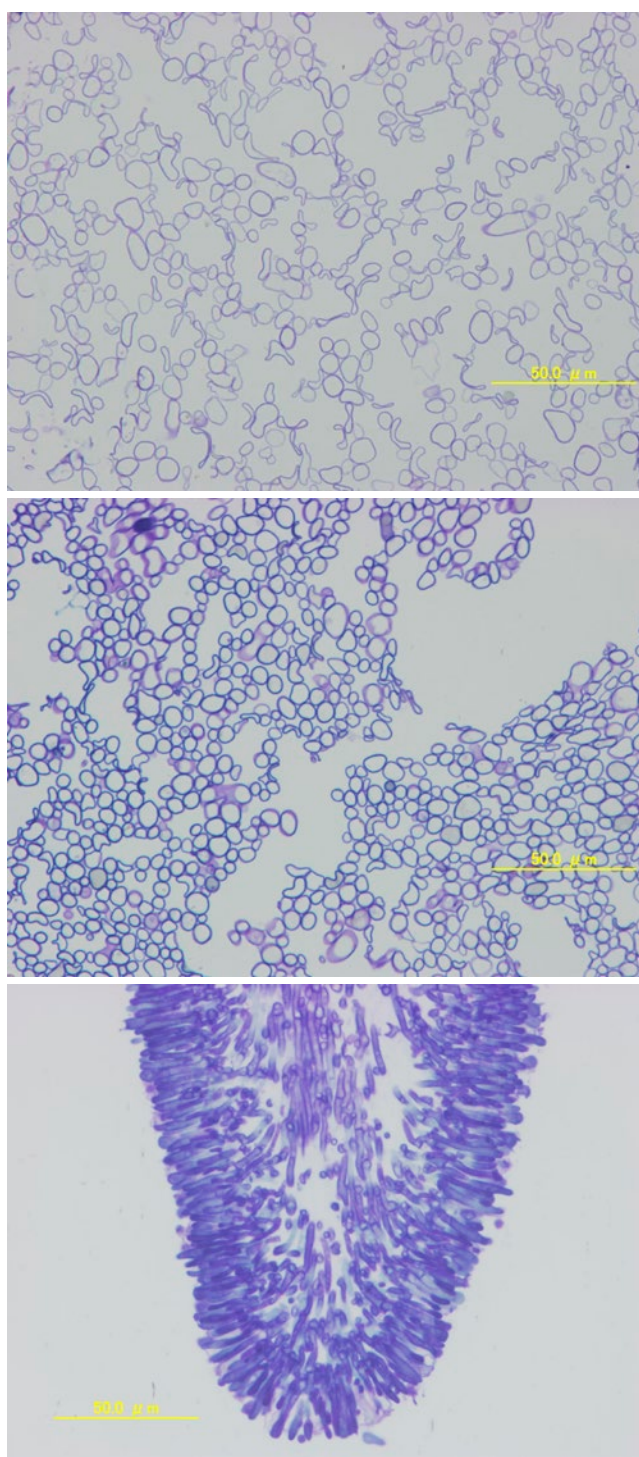


Fig. 4. シイタケ柄、傘、ひだの光学顕微鏡像。

端部と思われる。また、菌糸の染色性が柄や傘と異なり、菌糸内部も良く染色されていた。

3 TEMで見たシイタケの構造

Figs. 5, 6 はシイタケの柄とひだの TEM 像である。柄では、菌糸の横断面が観察され、液胞が発達して細胞質基質は菌糸の細胞壁側に押しやられていた。傘においても同様の構造が観察された。一方、ひだでは液胞が観察されず、細胞質に富み、核やミトコンドリア、リボソーム、粗面小胞体が観察された。

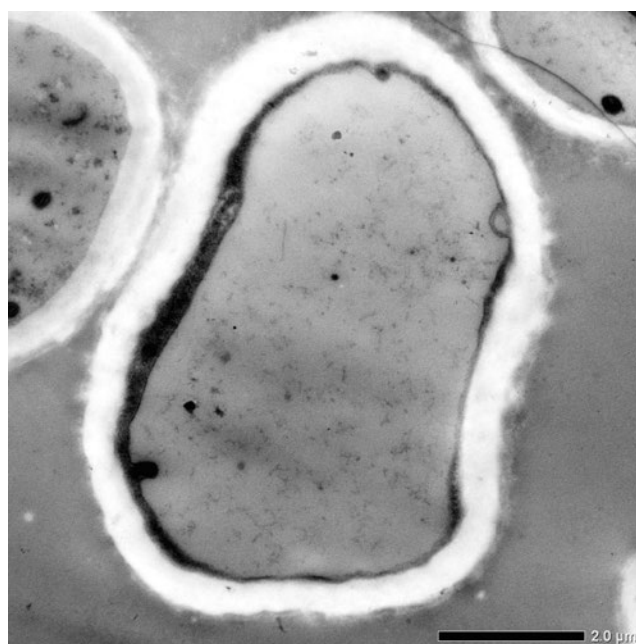


Fig. 5. シイタケ柄の TEM 像。

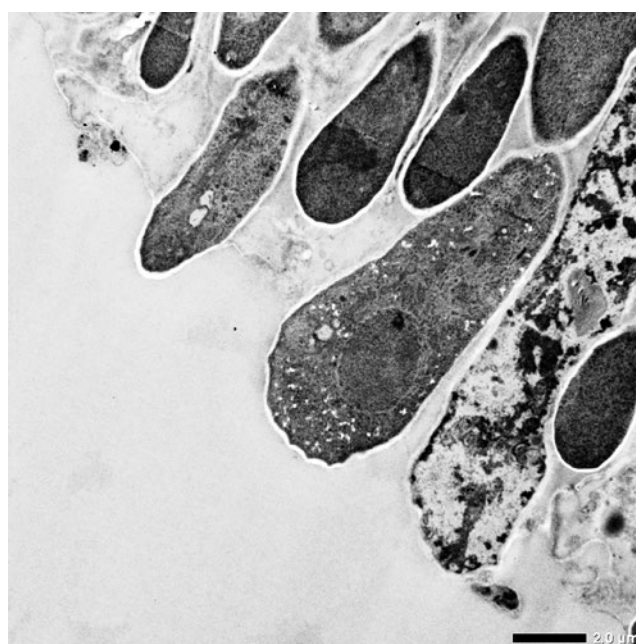


Fig. 6. シイタケひだの TEM 像。

考察

柄、笠、ひだに共通してチューブ状の菌糸でできていることが分かった。また、柄の液胞が他より大きかったことから、柄が先にでき、その次に傘とひだという順で成長しているものと思われた。光学顕微鏡での観察の結果、ひだにおいてトルイジンブルーにより菌糸内部も濃い青に染まったことから、細胞質に富んでいることが推察された。TEM で観察すると、液胞が観察されず、かわりに核やミトコンドリア、リボソーム、粗面小胞体が観察されたことから、光学顕微鏡観察結果を裏付けるものとなった。

菌糸は柄では柄の長軸方向に配向し、傘では全体的にみると中心から外側に向かって伸びているように見えたが、エポキシ樹脂に包埋した試料の場所と切った向きが正確には分からず、

今回は菌糸の方向を断定しなかった。シイタケの様々な部分を観察してより正確な構造を解明することが今後の課題である。

謝辞

本研究を進めるにあたり、樹木細胞学分野の高部圭司教授、院生の皆さんにご指導をいただきました。ありがとうございました。