光刺激による茸（マイタケ）の生体電位反応(第4報) —子実体および培地内部のリズム変動特性—

柳橋秀幸¹・松田真人¹・平間淳司¹・宮本紀男¹・西堀耕三²・大平安夫²

¹ 金沢工業大学工学部 光電磁場科学応用研究所 921-8501 石川県石川郡野々市町扇が丘 7-1

² (KK) 雪国まいたけ 949-6695 新潟県南魚沼郡六日町大字余川 89

Bio-Electric Potential of *Grifola frondosa* under Light Stimuli. (Part 4) —Characteristics of Rhythmic Fluctuation of the Fruit Body and the Primordium—

Hideyuki YANAGIBASHI¹, Masato MATSUDA¹, Junji HIRAMA¹, Toshio MIYAMOTO¹,
Kouzou NISHIBORI² and Yasuo OHDAIRA²

¹ Kanazawa Institute of Technology, Advanced Optical Electro Magnetic Field Science Laboratory,
7-1, Ohgigaoka, Nonoichimachi, Ishikawa 921-8501, Japan

² Co., Ltd. Yukiguni Maitake, 89, Yokawa, Muikamachi, Niigata, 949-6695, Japan

Abstract

In our previous study of measurements of bio-electric potential of *Grifola frondosa*, a rhythmic fluctuation was often observed in the bio-electric potential reaction, even when light stimuli were applied at regular intervals. If there is any relationship between the duration of light/dark and the rhythmic fluctuation of bio-electric potential, it could be worthwhile to investigate any corresponding relationship to the growth control of mushroom. In this study, the characteristics of rhythmic fluctuations, both for the fruit body and the primordium of *Grifola frondosa* were investigated, focusing on the reaction of the bio-electric potential when light stimuli were applied to the mushroom on a regular cycle of light/dark conditions for many hours. As a result, rhythmic fluctuation characteristics in the bio-electric potential of the fruit body were confirmed. An approximate cycle was noted between 13 to 64 hours, which tends towards a $1/f^2$ characteristic fluctuation. On the other hand, although the dependence of bio-electric potential changes on the light stimuli was not observed in the primordium, a bio-rhythm was noted, with an approximate periodic characteristic between 14 to 68 hours, tending towards a $1/f^2$ fluctuation as in the fruit body.

Keywords : bio-electric potential, FFT, *Grifola frondosa*, light stimuli, rhythmic fluctuation

緒 言

近年では人工栽培による茸生産が盛んに行われるようになり、その至適生育環境条件の探求が望まれているが

諸条件は現場の経験に基づくことも未だに多く、科学的な探求は遅れている。我々はこれらの至適生育環境条件について、工学の見地から科学的に解明することを目的としており、すでに光刺激の種類（波長や放射束密度）や周囲環境温度が生体電位に与える影響や、生体電位がマイタケの生長に深く関与していることなど新たな知見を見出した¹⁻³⁾。

これまで我々が実施してきたマイタケの生体電位計測において、明暗の光刺激間隔を規則的に設定した場合であっても、生体電位変化には時折「リズム変動」が観測

2004年 6月 3日受付

2004年 9月 1日受理

Corresponding author : Hideyuki Yanagibashi
(yanagibashi@venus.kanazawa-it.ac.jp)

図1 生体電位の基本計測システム

Fig. 1 The basic measurement system for observation of the bio-electric potential.

されてきたり、通常の茸工場の栽培現場では生長促進のために蛍光灯などの人工照明を用いている場合も多く、聴き取り調査によると人工照明の明暗間隔を12L12D (12 h Light-12 h Dark) に設定しているところがある。この明暗間隔と茸の生体電位の「リズム変動」について、もし生長制御において因果関係があるとすれば「リズム変動」を検討するには意義があると考えている。

そこで今回は、マイタケの上部から長時間一定周期で光刺激状態と暗状態とを交互に与えた場合における、子実体および培地内部の生体電位反応に着目し、マイタケの「リズム変動」特性について検討したので報告する。

実験方法

図1は試作した生体電位の基本計測システムを示す。本システムは室温約20°Cに設定された閉鎖系簡易環境制御ブース（床面積15m²程度の暗室）内に設置した。生体電位計測系は、シールドボックスの内側に供試体を入れるアクリル製の計測ボックスを配置して2重構造とした。なお、供試体としたマイタケ (*Grifola frondosa* (Dicks. Fr.). S. F. Gray) は (KK) 雪国まいたけの菌床タイプの培地で、原基形成から5日経過したものを計測の対象とした。生体電位は微小（数mV）であるので、外来雑音成分を取り除くため、シールドボックスと計測ボックスには第一種接地工事を施した。計測ボックス内の温度と湿度は、PCを用いてペルチェ素子と超音波型加湿器とを連動させて制御し、温度20°C、湿度95%一

定とした。生体電位の計測箇所は供試体の子実体および培地内部とし、微小な生体電位の増幅には自作の差動型生体電位アンプ (CMRR: 120 dB 以上, S/N 比: 約80 dB) を使用した。誘導電極には塩化銀膜を生成したφ0.5mmの銀針電極を用い、子実体の生体電位の計測においては正極をマイタケの上部に、負極をその下約1cmの部位にそれぞれ1cmの深さで挿入した。一方、培地内部の電位計測では、菌床側面のほぼ中央部にφ3mm程度の穴を1cm間隔で開けた後、正極および負極をそれぞれ中心部まで挿入した。

光刺激照射装置としては、超高輝度タイプの青色LED（中心発光波長470nm）を複数個取り付け付けたパネルを、計測ボックス上部に配置してマイタケに光を照射した。なお、照射時の放射束密度は6W/m²とした。刺激のON/OFFインターバルは30分とし、1回の実験につき72時間の計測を行い、計8個体について実験を行った。実験中の計測ボックス内の温度および湿度、マイタケの生体電位は、PCとペンレコーダで同時に記録した。

結果および考察

1. 子実体の生体電位変化

図2は光刺激に対する代表的な子実体の生体電位波形を示す。縦軸は生体電位の相対値（ただし、差動型増幅器を使用のため）、横軸は時間を示す。生体電位は30分ごとの明暗刺激に追従してゆらぎを伴いながら顕著に変

図2 代表的な子実体の生体電位波形

Fig. 2 Typical waveform of the bio-electric potential of the fruit body.

化する場合とそうでない場合とが観測できる。また、図中の点線で示すように15～18時間を1周期とする大まかな変動周期も観測できる。この大まかな変動周期は、おそらくはマイタケの自発性の電位変動によるもので、バイオリズムに相当すると考えられる。なお、予備的ではあるが長時間暗状態下で子実体の生体電位を計測した結果、30分ごとの明暗刺激を与えた場合とほぼ同様に15～18時間を1周期とするリズム変動が観測された。このことから、大まかな変動周期は光刺激には無関係な自発性の電位変動によるものと推定できる。

30分ごとの明暗刺激に対する生体電位反応の強弱の変動周期を解析するため、光刺激のON/OFFそれぞれの場合に分けて30分の分析区間長ごとに生体電位変化の平均値 ($V_{ON} \cdot V_{OFF}$) を計算し、計64個 (64時間に相当) の生体電位のゆらぎの時系列を求めた。ちなみに、電位変化の平均値は以下の式によって求めた。

$$V_{ON} = \frac{1}{T} \int_{t_1}^{t_2} V(t) dt \quad (1)$$

$$V_{OFF} = \frac{1}{T} \int_{t_2}^{t_3} V(t) dt \quad (2)$$

図3は生体電位のゆらぎの時系列を示す。 V_{ON} と V_{OFF} に共通して、細かな変動を伴いながら大まかにいくつかの周期性が観測できる。そこでこのリズムの変動特性について、ゆらぎのパワースペクトルで解析した。図4はその解析結果を示す。縦軸はPower [dB]、横軸は基準化周波数 f_n を示す。今回の場合、のべ64個分のゆらぎの時系列は64時間の分析区間長に相当し、スペクトル上の基準化周波数 $f_n=1$ は変動周期で64時間に換算できる。すなわち、変動周期 $T[h]=64/f_n$ で表され、 $f_n=10$ ならば変動周期は6.4時間となる。この結果より以下のことがわかる。

$f_n=1\sim9$ 近傍でパワーが大きくなっていることから、

図3 子実体における生体電位のゆらぎの時系列

Fig. 3 Time series of the fluctuation of the bio-electric potential of the fruit body.

図4 子実体における生体電位のゆらぎのパワースペクトル特性

Fig. 4 Power spectrum characteristic of the fluctuation of the bio-electric potential of the fruit body.

約64～7時間が1周期に相当するリズムの変動成分を多く含むことがわかる。また、 $f_n=3$ や $f_n=5$ でピークを示すことから、21時間や13時間を1周期とするリズムの変動成分を最大に含むこともわかる。一方で、 $f_n > 10$ (約6時間以下の変動周期) のスペクトルの傾斜特性に着目すると、 $1/f^2$ ゆらぎに近い傾斜特性を示しており、これは変動の不規則性を示すいわゆるブラウンノイズ⁴⁾に相当し、ゆっくりした不規則な変動の中に細かな変動成分を含むことがわかる。以上の結果については8個体による20回の実験全てで、ほぼ同様の特徴を示した。

2. 培地内部の生体電位変化

図5は光刺激に対する代表的な培地内部の電位波形を示す。縦軸は電位、横軸は時間を示す。子実体の場合と異なり、30分ごとの明暗刺激に追従した電位変化は全く観測されないが、20～25時間を1周期とする大まかな概周期的な自発性の変動が観測できる。ただし、一部の電位波形において、外来電気ノイズの侵入に起因すると推定されるアーチファクト (図中A) が観測されて

図6 培地内部のMRI画像(coronal plane)

Fig. 6 An MRI image inside the primordium (coronal plane).

図5 代表的な培地内部の生体電位波形

Fig. 5 Typical waveform of the bio-electric potential inside the primordium.

図7 培地内部における生体電位の
パワースペクトル特性

Fig. 7 Power spectrum characteristic of the bio-electric potential inside the primordium.

いる。これは、計測対象である生体電位が非常に微弱であり、シールドにて除去できなかったわずかなノイズが、生体電位に影響を及ぼしたと考えられる。

今回計測した培地内部の電位については、菌糸からの発生電位、あるいは培地内部の媒質が導電性を持つために、菌糸からの電位伝播が計測されたものと推測される。図6は別個体であるが、原基形成後の培地内部における菌糸の発達をMRI画像⁹⁾によって観察した結果を示し、画像中の白い筋は菌糸を示すことがこれまでの研究より明らかとなっている。この画像から類推すると、今回のように培地内部に電極を挿入した場合、上述のように菌糸からの電位を直接、あるいは媒質を介して計測しているとも考えられる。なお、菌糸自体からの直接の電位計測方法については、今後検討する予定である。

図7は図5に示したゆらぎの時系列に対する、ゆらぎのパワースペクトルの解析結果を示す。なお、計測した電位データのサンプリング周期は60秒とし、4096個のデータ(68時間分に相当)を分析対象とした。この結果より以下のことがわかる。

$fn=1\sim 5$ 近傍でパワーが大きくなっていることから、

約68~14時間が1周期に相当するリズムの変動成分を多く含むことがわかる。また、 $fn=2$ で最大ピークを示すことから、約34時間を1周期とするリズムの変動成分を最大に含むこともわかる。また、 $fn>10$ のスペクトルの傾斜特性に着目すると、子実体の場合とほぼ同様に $1/f^2$ ゆらぎの特性を示している。以上の結果は2個体による5回の実験全てで、ほぼ同様に確認できた。

ところで、前述したように茸の栽培現場での聞き取りによれば、原基形成後の子実体の生長促進には光照射と暗状態とのインターバルを12L12Dとしているところがある。至適生育に関して、このような条件が適切なのかは現場の経験に頼られている。マイタケ自身の生体電位のバイオリズム特性に基づき、光照射と暗状態との時間構造の相関を高めることで、生長促進の効果、いわゆる非線形振動による「引き込み現象」⁹⁾が茸にも適用できるならば、バイオリズムと生長制御との因果関係を解明するには価値があると考えている。今後の課題として、栽培現場での光照射と暗状態とのインターバルが生長の促進には適切なのか、今回得られた自発性の生体電位の

変動特性を踏まえて、形態形成に関する実験を併用して検討する予定である。

摘 要

マイタケの上部から長時間一定の周期で光刺激状態と暗状態とを交互に与えた場合の、子実体および培地内部の生体電位反応に着目して、マイタケの「リズム変動」特性について調べた。

マイタケに周期的な光刺激を与えた場合であっても、発生する子実体の生体電位反応の強弱にはリズムの存在が確認された。このリズム周期はゆらぎを伴いながら、約64～13時間の概周期性を示し、 $1/f^2$ ゆらぎに近い傾斜特性を示した。一方、培地内部の電位変化には光刺激に対する追従性は観測されなかったものの、バイオリズムも存在し、約68～14時間の概周期性を持ち、子実体と同様に $1/f^2$ ゆらぎに近い傾斜特性を示した。

今後はこれらの傾向について一般性の検証や発生規序の特定を行い、バイオリズム特性から推定される茸栽培の至適光刺激照射間隔について、形態形成に関する実験によって検討する予定である。

参考文献

- 1) 平間淳司, 柳橋秀幸, 松田真人, 石田 良, 宮本紀男: 光刺激による舞茸の子実体の生体電位反応と形態形成との関係, 電気学会論文誌, Vol. 122-C, No. 9: 1679-1685(2002)
- 2) 平間淳司, 宮本紀男, 関 宏明, 高橋直樹, 西堀耕三, 大平安夫: 舞茸の形態形成へ与える光質の影響(第1報)―照射方法(連続・ $1/f$ ゆらぎ)と照射光波長特性の比較―, 植物工場学会誌, 12(3): 190-194(2000)
- 3) 柳橋秀幸, 松田真人, 原田健一, 平間淳司, 宮本紀男, 西堀耕三, 大平安夫: 光刺激による茸(舞茸)の生体電位反応(第3報)―周囲温度と生体電位との関係―, 植物工場学会誌, 15(2): 94-97(2003)
- 4) 竹迫一雄訳: フラクタル・カオス・パワー則, 森北出版, pp. 127-128(1997)
- 5) 平間淳司, 宮本紀男, 石田 良, 鈴木亮一, 西堀耕三, 大平安夫: MRIを用いた舞茸培地内部における菌糸の発達の観測, 植物工場学会誌, 13(3): 167-173(2001)
- 6) 吉川研一: 非線形科学―分子集合のリズムとカタチ―, 学会出版センター, pp. 15-22(1992)