

# 食用菌培地から分離した Trichoderma 代謝産物の木材腐朽菌に対する抗菌活性

土 居 修 一                      森      満 範

Antifungal Properties of Metabolites Produced by Trichoderma Isolates from Sawdust Media of Edible Fungi Against Wood Decay Fungi

Shuichi DOI                      Mitsunori MORI

Trichoderma isolated from a sawdust medium of pholiota nameko produced filtrates which had antifungal activities to four wood decay fungi tested by shake culture with a malt extract-peptone medium. Filtrates produced from another isolate, from a sawdust medium of Lentinus edodes, had antifungal activities only to the white rot fungi, Coriolus versicolor and Pycnoporus coccineus. These results did not agree with those from earlier decay tests using wood blocks pretreated with the isolates. These differences of antagonistic potential were possibly due to the different conditions of the incubation procedure.

Keywords : Trichoderma isolate, wood decay fungus, metabolites, antifungal property, sawdust medium

トリコデルマ分離株, 木材腐朽菌, 代謝産物, 抗菌活性, のこくず培地

ナメコのこくず培地から分離した Trichoderma は, malt ext.-peptone 培地を用いた振とう培養で, 供試した4種の木材腐朽菌に対して抗菌活性を持つ代謝産物を生成した。シイタケの培地から分離した Trichoderma は, 白色腐朽菌に対してのみ抗菌活性を示した。これらの結果は, 以前に木材ブロックを用いて行った試験の結果とは異なっていた。この抗菌活性の違いは, 培養条件の違いに起因すると考えられた。

## 1. はじめに

既報<sup>1)</sup>において, 食用菌培地から雑菌として分離した Trichoderma で前処理した木材が, 担子菌に対して耐朽性を得ることを報告した。また, 無殺菌土壌にあらかじめ Trichoderma を混合しておく, ナミダタケの菌糸生長を阻止できることも示した<sup>2)</sup>。これらの効果の一部は Trichoderma が生成した代謝産物によると推定された。そこで本報告では, その代謝産物の抗菌活性を利用することを目的として, 液体培養ろ液の

木材腐朽菌の生育に及ぼす影響を検討した結果を報告する。なお, 本要旨の詳細は, Material und Organismen 誌に投稿中である。

## 2. 実験法

用いた Trichoderma は, 種名の不明な2菌株 (S-613および Tr2) であり, それぞれシイタケおよびナメコ栽培中ののこ屑培地表面から分離したものである。供試担子菌は, 褐色腐朽菌としてオオウズラタケ,

*Tyromyces palustris* FFPRI 0507 とナミダタケ *Serpula lacrymans* FFPRI 0739, 白色腐朽菌としてカワラタケ, *Coriolus versicolor* FFPRI 1030 とヒイロタケ *Pycnoporus coccineus* FFPRI Ps1h である。

代謝産物の抗菌活性の測定は次の2方法によった。

- (1) あらかじめ *Trichoderma* の十分生育した寒天平板と, 所定の大きさの担子菌プラグを接種した寒天平板を, 孔径0.45  $\mu\text{m}$  のろ紙を挟んで対峙培養して, 担子菌の生長速度を測定した。
- (2) マルトエキス・ペプトン液体培地を用いて *Trichoderma* を振とう培養した後, その除菌培養ろ

液を寒天培地に混釈 (培地100mlに10ml) して得た平板培地上での担子菌の生長速度を測定した。

### 3. 結果と考察

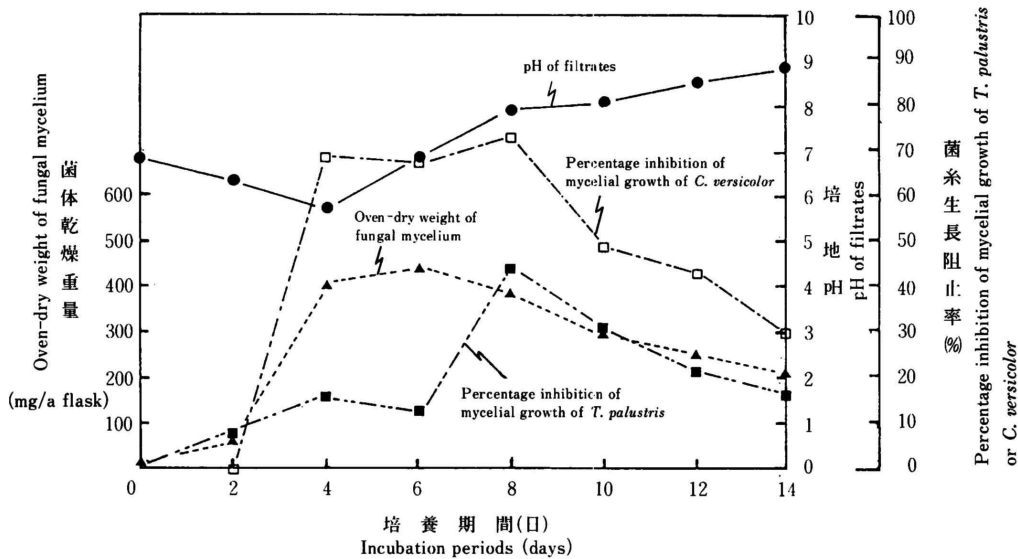
実験法(1)で行った結果を第1表に示す。両菌株とも全供試担子菌に対して全く抗菌活性を持たないことが明らかである。*Trichoderma* が担子菌に対して抗菌活性を持つ揮発性代謝産物を持つことは, これまでにもいくつか報告<sup>3,4)</sup>されている。しかし菌株の違いや培地成分が影響することも指摘<sup>5)</sup>されており, 今後, 栄養条件との関係を追求しなければならない。

第1表 *Trichoderma* と木材腐朽菌の非接触対峙培養の結果

Table 1. Hyphal extension of wood decay fungi on agar plate in Petri dishes inverted over the plates inoculated with *Trichoderma* isolates

木材腐朽菌 Wood decay fungus	各条件における菌糸生長 <sup>a)</sup>		
	Hyphal extension(mm) on agar plate of the combination with <sup>a)</sup>		
	Control	S-613	Tr 2
<i>T. palustris</i>	25.5 (1.2)	26.7 (1.4)	26.7 (1.8)
<i>S. lacrymans</i>	29.7 (1.8)	28.0 (1.7)	28.7 (0.8)
<i>C. versicolor</i>	29.8 (1.6)	29.8 (1.6)	30.5 (0.8)
<i>P. coccineus</i>	25.8 (1.3)	27.2 (1.8)	25.2 (1.2)

a) 培養期間は6日間である。数値は6回繰り返しの平均値である。( )内は標準偏差を示す。  
Values represent means of 6 replicates. Duration of experiments was 6 d. Numbers in parentheses represent standard deviation.



第1図 *Trichoderma* S-613の培養経過と除菌ろ液の腐朽菌に対する抗菌活性

Fig. 1. Changes of pH of filtrates and oven-dry weight of fungal mycelium on the incubation of *Trichoderma* isolate S-613, and inhibition of hyphal growth of *T. palustris* and *C. versicolor* on PDA media by addition of the filtrates

第2表 木材腐朽菌の菌糸生長が30mmになるまでの日数  
Table 2. Time for target fungi to produce linear radial extension of 30mm

木材腐朽菌 Wood decay fungus	Control	S-613	Tr 2
<i>T. palustris</i>	4	9	4
<i>S. lacrymans</i>	6	8	6
<i>C. versicolor</i>	3	13	9
<i>P. coccineus</i>	4	17	12

実験法(2)では、まずS-613株を供試して培養期間と菌糸生長量、代謝産物の活性およびpHとの関係を調べた。その結果が第1図である。菌体量が最大に達するのは、培養開始後6日目であり、その後直ちに菌体の自己消化が始まることをpH上昇が示している。代謝産物のカワラタケとオオウズラタケに対する抗菌活性も、この付近で最大になることが明らかである。

この結果から、振とう培養の期間を7日間として *Trichoderma* 2菌株を培養し、前記同様に全供試担子菌に対する抗菌活性を調べた。この際、培養ろ液を混入しても培地のpHはほとんど変わらず、担子菌の生長に全く影響を及ぼさないと推定された。その結果を第2表に示す。この表では、担子菌の菌糸生長量が30mmになる日数で抗菌活性を比較したが、いずれの *Trichoderma* も担子菌の生長を完全に抑制することはできなかった。しかし、S-613株では、いずれの担子菌に対しても菌糸生長を $1/2$ から $1/4$ まで減少させた。また、Tr2株は白色腐朽菌の菌糸生長を $1/3$ に抑制した。

木材ブロック表面に *Trichoderma* を繁殖させて、そのまま木材腐朽菌に暴露した時<sup>1)</sup>、カワラタケ以外の菌に対しては、 *Trichoderma* 両菌株が木材の腐朽を完全あるいは強く抑えることが明らかになっている。一方、エチレンオキサイドで *Trichoderma* S-613を滅菌した後、同様に褐色腐朽菌に暴露した時は、ナミダタケによる腐朽のみを完全に抑えるにとどまった。

本報告の代謝産物による抗菌活性の測定結果とこの木材ブロックによる腐朽試験結果を比較すると、担子菌に対する抗菌活性に矛盾する結果が認められる。すなわち、寒天培地上でカワラタケに対する代謝産物の抗菌活性が認められるのに、生菌による木材ブロック

の前処理ではこの菌による腐朽を全く抑えられなかった。カワラタケおよびナミダタケに対する抗菌活性を比較すると、むしろ前者に対してのほうが強いのに、腐朽試験ではナミダタケによる腐朽が代謝産物によって完全に抑制されている。これらの矛盾は、実験に用いた培地が違うことや、木材ブロック上での *Trichoderma* の代謝と液体振とう培養でのそれとの違いによって、代謝産物に量あるいは質的な違いを生じた結果と思われる。

本報告および既報<sup>1,2)</sup>の結果から考えると、拮抗微生物のスクリーニングを実施する際に、用いる培地の種類、培養条件などを幅広く検討しなければならない。このことは、代謝産物を分離して用いる場合だけでなく、生菌で菌糸干渉をも利用して防腐効果を達成する場合にも必要不可欠である。

## 文 献

- 1) S. Doi and A. Yamada: *Material u. Organismen*, in press (1994)
- 2) 土居修一, 山田 敦: 防菌防黴, 20, 345-349 (1992)
- 3) A. Bruce and T.L. Highley: *Forest Prod. J.*, 41, 63-67 (1991)
- 4) A. Bruce, C. Johnstone and J. A. P. McVey: Internal. Res. Group on Wood Pres. Doc. No.: IRG/WP/1316, 1987, 13PP.
- 5) U. Srinivasan, H. Staines and A. Bruce: *Material u. Organismen*, 27, 301-321 (1992)

—性能部 耐久性能科—  
(原稿受理 H 6. 3. 7)