

Trichodermaによる木材腐朽防止

土 居 修 一 山 田 敦

Preventing Wood Decay with Trichoderma spp .

Shuichi DOI Atsushi YAMADA

Trichoderma spp . isolated from decayed wood or sawdust media of Pholiota nameko were examined in the soil-block test method as their abilities to prevent or arrest attack of *Ezomatsu* , *Picea jezoensis* , and *Buna* , *Fagus crenata* , by Basidiomycetes .

T. koningii , S-613 strain , one of the fungi isolated from the sawdust media , was able to completely prevent decay caused by *Tyromyces palustris* and *Serpula lacrymans* when the wood was inoculated first with Trichoderma and then with Basidiomycete. The fungus , even when sterilized with ethylene oxide , was also found to be able to prevent decay by *S. lacrymans* . However , when the wood was inoculated with Basidiomycetes before it was inoculated with Trichoderma , no effect of Trichoderma upon preventing decay was recognized .

腐朽材やなめこの菌床栽培培地から純粋分離した3菌株のTrichoderma類を供試して木材の腐朽防止作用を検討した。

いずれのTrichodermaでも先に木材に侵入して生息している場合にはオオウズラタケとナミダタケによる腐朽を完全に阻止することが明らかになった。白色腐朽菌であるヒイロタケにも比較的強い阻害効果を示したがカワラタケには効果を示さなかった。また、ナミダタケに対してはTrichodermaをエチレンオキサイドで殺菌してもその腐朽阻止効果が残されている菌株があった。ただし、先に担子菌が侵入しているとTrichodermaが生育していても腐朽防止効果は全く認められなかった。

1. 緒 言

Trichodermaは、子囊菌のHypocrea属およびPodostroma属に属するカビの無性生殖つまり不完全世代のグループである。このカビが、土壤中に多数認められることは1794年にPersoonによって報告され、その後これが他の微生物に対して拮抗作用を持つことが知られるようになった。1988年にはRhizoctonia

solaniに対して拮抗的な作用を示すことが明らかにされた¹⁾。このカビの木材への適用はイギリスにおいてRicardら²⁾がクレオソート油処理電柱の芯腐れ防止のために利用する試みをしたのがきっかけで本格的になった。最近では実際に供用中の電柱に処理を施してその経時的効果を観察している³⁾。これらの報告によれば、相手とする菌によって効果が異なり、また菌株

や温度あるいは培養条件によっても効果が異なってくるなどが明らかにされている。

そこで本研究では、いくつかのTrichoderma類の担子菌に対する拮抗作用を検討し、木材の腐朽防止に利用できるかどうかの検討を行った。本論文は第41回日本木材学会で発表したものの一部である。

2. 実験

2.1 寒天培地での一次対峙培養

第1表に示すTrichoderma菌株を供試して、オオウズラタケ *T. Palustris* FFPRI 0507, カワラタケ *C. versicolor* FFPRI 1030およびナミダタケ *S. laceymans* FFPRI 0739に対する拮抗作用を調べた。担子菌を寒天培地地の一端に接種しその4日後にTrichoderma菌株を接種し、10日間培養して拮抗作用を観察した。培養温度はナミダタケが20℃で、他は26℃である。培地として、ナミダタケの前培養およびスクリーニングにはグルコース-酵母エキス (GYA) 培地を用いた。他の菌については、馬鈴薯寒天 (PDA) 培養を用いた。

第1表 担子菌との対峙培養に用いたTrichoderma菌株の由来

Table 1. Trichoderma spp. tested against 3 Basidiomycetes in dual culture

	菌株番号 Isolate No.	分離源 Source
A. <i>Trichoderma</i> sp.	0060	シナノキ変色材 Shinanoki (<i>Magnolia obobata</i>) stained wood.
B. <i>Trichoderma</i> sp.	M3-158a *	土壌中に埋めてあったスギ材 Sugi (<i>Cryptomeria japonica</i>) buried wood in soil.
C. <i>Trichoderma</i> sp.	P3-136*	同上 Sugi buried wood in soil.
D. <i>Trichoderma</i> sp.	S-631	ナミダタケで腐朽した製材 Lumber decayed by <i>Serpula</i> <i>laceymans</i> .
E. <i>T. viride</i>	S-611	ナメコ菌屑培地 A sawdust medium of <i>Pholiota</i> <i>nameko</i> .
F. <i>T. harzianum</i>	S-612	同上 A sawdust medium of <i>Pholiota</i> <i>nameko</i> .
G. <i>T. koningii</i>	S-613	同上 A sawdust medium of <i>Pholiota</i> <i>nameko</i> .

*近畿大学、田中氏から寄贈していただいたものである。

* Kindly donated from Dr.H.Tanaka, Kinki Univ, Osaka, Japan.

た。

2.2 寒天培養での二次対峙培養

一次対峙培養の結果拮抗作用が強いものだけを選択して、2回目のスクリーニングを行った。方法は2.1と同様であるが、供試担子菌としては上記3種の他にイドタケ *C. puteana* IF0 6275, ハダイロアナタケモドキ *P. nigrescens* Pa91aを追加した。また、対峙培養終了後に担子菌接種側, Trichoderma接種側, および接触部からそれぞれペレットを打ち抜き、それらを新しいPDA培地とペンレートを50ppm含むPDA培地に接種し、26℃で10日間培養してそれぞれの菌の生死を調べた。

2.3 木材腐朽試験

最終的に選択されたTrichoderma菌株を用いて、木材上での拮抗作用を調べた。PDA培地上にあらかじめ十分生育しているTrichoderma菌叢上に、エゾマツおよびブナ辺材を木口を接触させておき26℃で培養し、30日後に取り出してそれをそのまま担子菌の生育している培地上に移した。60日間担子菌の生育適温で培養してから、それぞれの木材をとりだして重量減少率を測定した。供試したTrichoderma菌株はM3-158a, S-613およびS-631であり、担子菌としてはオオウズラタケ, カワラタケ, ヒイロタケ *Pycnoporus coccineus* Pshおよびナミダタケを用いた。また、上記同様の方法でS-613およびM3-158aに暴露した木材試験片を一旦オートクレーブあるいはエチレンオキシドガス滅菌にかけてから担子菌に暴露した時の重量減少率も測定した。

3. 結果と考察

3.1 スクリーニングの結果

最初のスクリーニングでは、所定期間培養後の担子菌とTrichodermaの対峙の状態を観察した。

M3-158aとP3-136は、田中氏が住宅床下に埋めておいたスギ材から分離した菌株⁴⁾であり、オオウズラタケに対する拮抗作用が強いことを報告しているものである。またS-611~3はナメコの菌床栽培においてナメコの菌糸生長を阻害するもので担子菌に対する生

長阻害効力を期待して用いた。

第2表によればオオウズラタケがいずれのTrichodermaに対しても比較的強く、A, C, FのTrichoderma菌株の菌叢を被覆するように生長してしまう。バイオロジカルコントロールに用いられる拮抗微生物は、できるだけ多くの担子菌に対して拮抗作用を持つものが望ましい。したがって、これらの菌株は2回目のスクリーニングでは除外してB, D, E, Gの4菌株を供試菌とした。

第2表 担子菌とTrichodermaの対峙培養の結果
Table 2. Hyphal interaction of 7 Trichoderma isolates against 3 Basidiomycetes on agar media incubated at 20°C or 26°C

菌株番号 Trichoderma isolate No.	拮抗の状態* Antagonism *		
	<i>T. palustris</i>	<i>S. lacrymans</i>	<i>C. versicolor</i>
A 0060	-	+-	+
B M3-158a	+-	+-**	+
C P3-136	-	+-	+-
D S-631	+-	+-**	+
E S-611	+-	+-	+
F S-612	-	+-	+
G S-613	+-	+-**	+

*+= Trichoderma が担子菌を覆って生長, +- =拮抗, -=担子菌がTrichodermaを覆って生長。

**ナミダタケの菌糸は対峙培養を始めて4日後に黄色に変色した。

*+= Trichoderma overgrew Basidiomycete, +- = antagonistic, -= Basidiomycete overgrew Trichoderma.

** Hyphae of *S. lacrymans* discolored to yellow in 4 d incubation after inoculation.

第3表 Trichodermaとの対峙培養後の担子菌の生存
Table 3. Fungal survival of 5 Basidiomycetes after dual culture with 4 Trichoderma isolates on agar media

担子菌種類 Basidiomycete	菌株番号 Trichoderma isolate			
	S-611	S-613	S-631	M3-158a
<i>T. palustris</i>	A	A	A	A
<i>C. versicolor</i>	A	O	O	O
<i>S. lacrymans</i>	O	A	O & K	O & K
<i>C. puteana</i>	A	O	O & K	O
<i>P. nigrescens</i>	A	A	O & K	O

A = 拮抗状態, O = Trichoderma が担子菌を覆って生長

O & K = Trichoderma が担子菌を覆って生長し, 殺す。

A = Antagonistic, O = Trichoderma overgrew Basidiomycete,

K = Trichoderma killed Basidiomycete.

このスクリーニングでは、対峙培養を終了後担子菌を接種してTrichodermaに接触するまでの領域、つまり担子菌生長領域とTrichoderma生長領域および接触領域の三点から寒天培地ごと採取したペレットからそれぞれの菌を再分離して、生存の有無を調べた。その結果を第3表に示す。この表でAは拮抗関係つまり両者が互いに生長して接触した状態のままで互いが生長せずに抑制された状態であったことを示し、OはTrichodermaが担子菌の既に生長していた領域へ侵入するが、両者が共存していたことを示す。また、O & KはTrichodermaの侵入によって担子菌が死滅したことを意味する。

オオウズラタケは4菌株のTrichodermaに対して完全な拮抗状態にあったことが明らかである。また、カワラタケに対してはS-611以外の菌株が優勢的に生長していた。ただしいずれの場合も、カワラタケは死滅せずに静菌状態であったことが明らかである。ナミダタケ、イダタケおよびハダイロアナタケモドキに対しては、特にS-631が殺菌作用を示した。全体としてみるとS-611の殺菌作用がもっとも弱かった。

以上のことから、木材腐朽試験ではS-613, S-631およびM3-158aを用いることとした。

3.2 木材腐朽試験の結果

Trichodermaを先に接種した場合の結果を第4表に示す。オオウズラタケとナミダタケによる腐朽は完全に阻止されることが明らかであるが、カワラタケには全く効果を示さなかった。寒天培地上で、Trichodermaによって静菌作用を受けていたことと矛盾するが、この原因は不明である。この菌に対してのTrichodermaの腐朽抑制力が弱いことはHighleyら⁵⁾によっても指摘されており、今後その原因を検討する必要がある。ただしカワラタケと同じ白色腐朽菌であるヒイロタケにはある程度の効果を示しているの、Trichodermaが白色腐朽菌一般に拮抗作用を示さない⁶⁾とは結論出来ない。

一方、Trichodermaに先行してオオウズラタケとナミダタケが材中に侵入すると腐朽抑制作用を示さないことが明らかである(第5表)。オオウズラタケに対

第4表 *Trichoderma* による木材腐朽の阻止効果
(*Trichoderma* に暴露後そのまま
担子菌に暴露した場合)

Table 4. Inhibitory effect of 3 *Trichoderma* isolates on decay ability of 4 Basidiomycetes on Ezomatsu and Buna sapwood blocks (Inoculation sequence was *Trichoderma* first, followed by Basidiomycete)

菌株番号 <i>Trichoderma</i> isolate No.	担子菌の種類 Basidiomycete	腐朽阻止率 Inhibition ratio (%)*
Ezomatsu		
M3-158a	<i>T. palustris</i>	100
	<i>S. lacrymans</i>	100
S-613	<i>T. palustris</i>	100
	<i>S. lacrymans</i>	100
S-631	<i>T. palustris</i>	100
	<i>S. lacrymans</i>	100
コントロールの重量減少率 Control, percentage weight losses (SD) of wood blocks **		
	<i>T. palustris</i>	39.6(15.3)
	<i>S. lacrymans</i>	26.9(4.65)
Buna		
M3-158a	<i>C. versicolor</i>	1.19
	<i>P. coccineus</i>	55.2
S-613	<i>C. versicolor</i>	-22.0
	<i>P. coccineus</i>	94.6
S-631	<i>C. versicolor</i>	-3.58
	<i>P. coccineus</i>	86.6
コントロールの重量減少率 Control, percentage weight losses (SD) of wood blocks **		
	<i>C. versicolor</i>	41.9(4.54)
	<i>P. coccineus</i>	67.2(7.45)

* 腐朽阻止率 = 担子菌のみに暴露した材の重量減少率 - *Trichoderma* に暴露後担子菌の暴露した材の重量減少率 / 担子菌のみに暴露した材の重量減少率 × 100 (%)

** 担子菌のみに暴露した材の重量減少率, 9個の平均値 (標準偏差) を示した。なお, *Trichoderma* による重量減少率は認められなかった。

* Inhibition ratio =

$$\frac{[(\text{WL of wood blocks exposed to Basidiomycete alone}) - (\text{WL of wood blocks exposed to Basidiomycete through to } Trichoderma)]}{(\text{Average weight loss (WL) of wood blocks exposed to Basidiomycete alone})} \times 100 (\%)$$

** Soil or agar block test with Basidiomycete alone Values represent the means of nine replicates SD means standard deviation.

Note : No weight loss of wood blocks was shown on agar block tests with *Trichoderma* spp.

第5表 *Trichoderma* による木材腐朽の阻止効果
(担子菌に暴露後そのまま
Trichoderma に暴露した場合)

Table 5. Inhibitory effect of 3 *Trichoderma* isolates on decay ability of 2 Basidiomycetes on Ezomatsu sapwood blocks (Inoculation sequence was Basidiomycete first, followed by *Trichoderma*)

菌株番号 <i>Trichoderma</i> isolate No.	担子菌の種類 Basidiomycete	腐朽阻止率 Inhibition ratio (%)*
M3-158a	<i>T. palustris</i>	-16.0
	<i>S. lacrymans</i>	-15.5
S-613	<i>T. palustris</i>	-19.2
	<i>S. lacrymans</i>	-3.31
S-631	<i>T. palustris</i>	-17.0
	<i>S. lacrymans</i>	-24.9
コントロールの重量減少率 Control, percentage weight losses (SD) of wood blocks exposed to Basidiomycete alone **		
	<i>T. palustris</i>	55.0(1.17)
	<i>S. lacrymans</i>	36.2(2.72)

* 第4表参照

** 6個のサンプルの平均値 (標準偏差) である

* See Table 4

** Values represent the means of six replicates

する挙動は、寒天培地上でいずれの菌株もこの担子菌に対して拮抗するが、それ以上に攻撃的な作用を示していないことと合致する。ナミダタケに対しては寒天培地での結果から考えて、材中への*Trichoderma*の侵入が可能と思われるが、そうならないのは栄養条件の相違に基づくものと推定される。すなわち、*Trichoderma*は寒天培地上では養分を十分に摂取できるのに対し、材中では利用可能な低分子の糖類などを先にナミダタケに消費されているため栄養的に不利な状況にあり、その結果として材中への菌糸侵入ができなかったと考えられる。

一旦、木材上に*Trichoderma*を生育させ、オートクレーブやE0ガスで菌体を殺してから担子菌に暴露した結果を第6表に示す。オートクレーブ滅菌ではいずれの菌に対しても腐朽抑制作用を失うが、E0ガス滅菌ではナミダタケに対するその作用が残されている。したがって、この作用に寄与する成分は120℃で揮発あるいは熱分解を受けるものと考えられる。この結果から判断するとナミダタケに対する腐朽抑制効果

第6表 *Trichoderma*による木材腐朽の阻止効果
(*Trichoderma*に暴露後
滅菌してから担子菌に暴露した場合)

Table 6. Inhibitory effect of 2 *Trichoderma* isolate on decay ability of 2 Basidiomycetes on Ezomatsu sapwood blocks through autoclaving or ethylene oxide sterilization (Inoculation sequence was *Trichoderma* first, followed by Basidiomycete)

菌株番号 <i>Trichoderma</i> isolate No.	滅菌方法 Kind of sterilization	腐朽阻止率 Inhibition ratio	
		<i>T. palustris</i>	<i>S. lacrymans</i>
<i>T. koningii</i>	Autoclave	0.60	2.1
S-613	Ethylene oxide	0.85	100
<i>Trichoderma</i> sp. M3-158a	Autoclave	0.22	19.0
	Ethylene oxide	0.01	100
コントロールの重量減少率 Control, percentage weight losses (S D) of wood blocks exposed to Basidiomycete alone *			
	Autoclave	66.7(0.40)	56.5(2.91)
	Ethylene oxide	65.9(0.82)	54.5(7.03)

* 6個の平均値 (標準偏差)

注) この実験ではS-631に暴露した木材ブロックに関するデータのバラツキが大きかった (標準偏差が平均値より大きい) ため、ここには示さなかった。

* Values represent the means of six replicates.

Data on S-613 isolate were not shown because standard deviations of the percentage weight losses of wood blocks were bigger than average of them

は、菌糸干渉による拮抗作用と代謝産物による抗生作用の2つの要因が寄与しているといえる。

以上のように、ここで供試した*Trichoderma*の担子菌による木材腐朽阻止力は対象とする腐朽菌や木材によって異なることが明らかになったので、多数の腐朽菌に対する防腐を想定した土台の処理などにそのまま適用することは困難である。したがって、薬剤処理

の補助的手段として位置づけるか、あるいは担子菌スペクトルの広い菌株を探索する必要がある。また、生菌を木材の表面に生育させるという方法は電柱や杭のような接地型の木材など限られた条件下しか使用できないので、代謝産物つまり抗生作用を持つ物質^{7,8)}の利用を検討する必要があるだろう。

文 献

- 1) J.L. Ricard and T.L. Highley: "Biocontrol of decay or pathogenic fungi in wood and trees" in *Trichoderma News letter* No. 4, ed: G. Alan 9-15 (1988)
- 2) J.L. Ricard: *J. Inst. Wood Sci.*, 7 (4), 6-9 (1976) など
- 3) A. Bruce and B. King: *Materials u. Organismen*, 21, 1-14および165-176 (1986) など
- 4) H. Tanaka, A. Enoki, G. Fuse and K. Nishimoto: *Holzforchung*, 42, 29-35 (1988)
- 5) T.L. Highley and J.L. Ricard: *Materials u. Organismen*, 23, 157-169 (1988)
- 6) A. Bruce, B. King and T.L. Highley: *Holzforchung*, 45, 307-311 (1991)
- 7) C. T. Hou, A. Ciegler and C. W. Hesseltine: *Appl. Microbiol.*, 23, 183-185 (1972)
- 8) T. Ooka et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 30, 700-702 (1966)

—性能部 耐久性能科—
(原稿受理 平4・1・20)