

# トリコデルマとシイタケの菌糸成長 に及ぼす高圧蒸気殺菌した ベノミル水和剤の影響

富樫 巖 宜寿次 盛生<sup>\*1</sup> 原田 陽<sup>\*1</sup>

## Effects of Benomyl Wettable Powder Autoclaved on the Mycelial Growth of Trichoderma spp. and Lentinula edodes

I wao TOGASHI Seiki GISUSI Akira HARADA

The effects of benomyl (BEN50% (W/W) wettable powder, Benlate<sup>R</sup>) on the mycelial growth of *Trichoderma* spp. (six strains) and *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (two strains) was investigated. The fungi were incubated on potato - dextrose - agar (PDA) plates with 0.01% (W/V) BEN. The fungicide was autoclaved with PDA, or was mixed with PDA autoclaved and cooled below 60°C. The mycelial growth on the former PDA plates with BEN was compared with that on the latter PDA ones with BEN. The growth of three strains of *Trichoderma* spp. on the former was inhibited more than that on the latter in the case of 10 - day incubation at 25°C with significance at the 1 or 5% level of probability. There was no difference in the growth of the other *Trichoderma* spp. on the two kinds of plates. On the other hand, the two strains of *L. edodes* grew only on the former plates in the case of 10 - day incubation at 25°C.

Keywords : benomyl, mycelial growth, inhibition, *Trichoderma* spp.,  
*Lentinula edodes*.  
ベノミル, 菌糸成長, 阻害, トリコデルマ, シイタケ

食用キノコの人工栽培において、防カビ剤として使用されるベノミル水和剤（ベノミル50%（W/W））が *Trichoderma* spp. とシイタケ（*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler）の菌糸成長に及ぼす影響を観察した。

培養基には、ベノミル（以下、BEN）濃度を0.01%（W/V）に調製したPDA平板培地を用いた。PDAにBENを添加した後に高圧蒸気殺菌して作製した平板培地、および高圧蒸気殺菌後に60°C以下に冷却したPDA培地にBENを添加して作製した平板培地における菌糸成長を比較した。温度25°Cの10日間の培養後において、供試した *Trichoderma* spp. 6菌株中、3菌株の菌糸成長については両平板培地で差異がなかった。しかし、残り3菌株の菌糸成長は前者の平板培地で有意に低くなった。また、供試したシイタケ2菌株の菌糸成長は前者の平板培地においてのみ観察された。

## 1. はじめに

シイタケ (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) を始めとする食用キノコの人工栽培では、ホダ木や菌床および栽培施設のカビ汚染防除を目的として、育成中のホダ木表面へのベノミル（以下BEN）水和剤の散布や栽培培地への添加<sup>1)</sup>、および栽培施設への散布または噴霧消毒を行なう<sup>2)</sup>。栽培培地への添加において、栽培培地の殺菌工程でBENは加熱処理されることになる。しかし、他の使用方法においてBENは水に分散されるのみで加熱処理されない。

一方、BENは生物の体内に取り込まれると、加水分解反応によってメチル2-ベンズイミダゾールカーバメイト（以下MBC、第1図参照）に変換され、かつその防カビ活性は親分子であるBENより高いと考えられている<sup>3)</sup>。また、栽培培地に添加されたBENは加熱処理により加水分解反応を受ける可能性が考えられる。そこで本研究では、食用キノコ栽培における代表的な害菌である *Trichoderma* spp. 6菌株と市販のシイタケ2菌株を供試して、高圧蒸気殺菌を施したBENと高圧蒸気殺菌を施さないBENが両菌種の菌糸成長に及ぼす影響を観察した。

## 2. 実験方法

### 2.1 供試菌株と供試薬剤

*Trichoderma* spp. としては、北海道内の菌床シイタケ栽培施設から分離した6菌株（91002Tr, 93130Tr, 93836Tr, 93156Tr, 94110Tr, 94120Tr）を用いた<sup>4)</sup>。シイタケとしては、（株）北研の北研600号と菌興椎茸協同組合の菌興115号の2菌株を用いた。以上の菌株は、いずれもポテトデキストロース寒天培地（以下PDA培地）を用いた継代培養により保存していたも

のである（保存温度：*Trichoderma* spp. 5.0℃、シイタケ1.5℃）。

また、BENとしてはペンレート<sup>®</sup>水和物（BEN50%（w/w）、デュポン ジャパン リミテッド、東京）を用いた。

### 2.2 BENの生育阻害効果の観察

高圧蒸気殺菌（121℃、20分間）したPDA培地（コントロール培地）、0.01%（W/V）になるようにBENをPDA培地に添加した後に高圧蒸気殺菌した培地、および高圧蒸気殺菌後60分以下に冷却したPDA培地に0.01%（W/V）になるようにBENを添加した3種類の培地を調製し、それらを用いて直径90mmの平板培地を作製した。この3種類の平板培地の中央に、PDA平板培地を用いて温度25℃で4および14日間培養した *Trichoderma* spp. およびシイタケの供試菌株の菌体（同培地ごと打ち抜いた直径5mmの円盤）を接種後、温度25℃、照度200～350lxの環境下で10日間培養して菌糸成長量を測定した。なお、各試験区の平板培地の供試枚数は3とした。

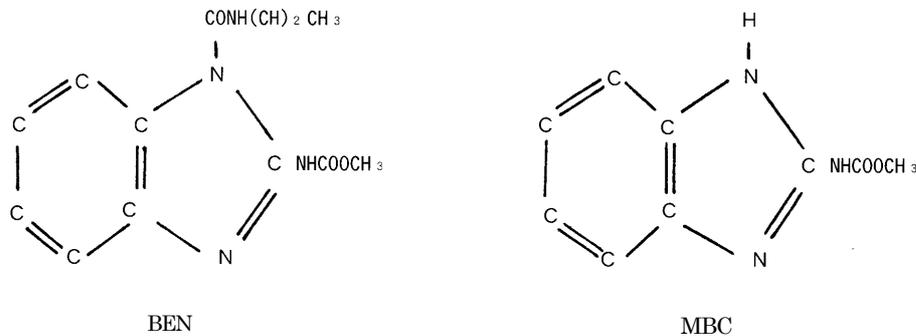
### 2.3 培地pHの測定

PDA培地のpHは、加熱溶解した後にpH電極を用いて測定した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 *Trichoderma* spp. の菌糸成長に及ぼすBENの影響

BENの高圧蒸気殺菌の有無が *Trichoderma* spp. の菌糸成長に及ぼす影響を第1表に示した。BENの0.01%（W/V）は、シイタケの菌床栽培において、栽培培



第1図 ベノミル(BEN)とメチル2-ベンズイミダゾールカーバメイト(MBC)の構造式

Fig. 1. Structural formula of benomyl(BEN) and methyl-2-benzimidazolecarbamate(MBC)

第1表 BENの高圧蒸気殺菌の有無が *Trichoderma* spp.の菌糸成長に及ぼす影響  
 Table 1. Effects of BEN autoclaved or not autoclaved on mycelial growth of *Trichoderma* spp..

条件 Treatment	培養日数 days of incubation	菌糸成長量 Mycelial growth (mm)					
		<i>Trichoderma</i> spp. の菌株番号 Strains of <i>Trichoderma</i> spp.					
		91002Tr	93130Tr	93136Tr	93156Tr	94110Tr	94120Tr
対照区 controls	1d	3.9 ± 0.33 <sup>a)</sup>	7.7 ± 0.34	5.5 ± 0.27	9.4 ± 0.31	8.0 ± 0.21	8.3 ± 0.31
	2d	12.5 ± 0.19	30.8 ± 0.33	24.4 ± 0.97	33.1 ± 0.62	26.1 ± 0.90	16.9 ± 0.27
	3d	21.3 ± 0.54	F <sup>b)</sup>	F	F	F	24.8 ± 0.23
	5d	37.5 ± 1.15	F	F	F	F	F
	7d	F	F	F	F	F	F
	10d	F	F	F	F	F	F
0.01%(w/v)BEN 高圧蒸気殺菌 処理有 autoclaved	1d	0 <sup>c)</sup>	0	0	0	6.3 ± 0.19 <sup>d)</sup>	0
	2d	0	— <sup>e)</sup>	—	0	17.7 ± 0.27 <sup>d)</sup>	0
	3d	0	2.0 ± 0.25 <sup>d)</sup>	1.7 ± 0.08 <sup>d)</sup>	0.8 ± 0.19	33.0 ± 0.44 <sup>d)</sup>	1.2 ± 0.11 <sup>d)</sup>
	5d	0	2.7 ± 0.27 <sup>d)</sup>	2.5 ± 0.15 <sup>d)</sup>	0.8 ± 0.19	F	2.9 ± 0.08 <sup>d)</sup>
	7d	0	3.0 ± 0.22 <sup>d)</sup>	2.9 ± 0.13	0.8 ± 0.19	F	4.3 ± 0.19 <sup>d)</sup>
	10d	0	3.8 ± 0.27 <sup>f)</sup>	3.8 ± 0.11 <sup>d)</sup>	0.8 ± 0.19	F	6.5 ± 0.02 <sup>d)</sup>
0.01%(w/v)BEN 高圧蒸気殺菌 処理無 not autoclaved	1d	0	1.5 ± 0.00	1.2 ± 0.15	0	7.7 ± 0.19 <sup>d)</sup>	0
	2d	0	—	—	0	21.7 ± 0.44 <sup>d)</sup>	2.5 ± 0.13
	3d	0	3.5 ± 0.08 <sup>d)</sup>	3.0 ± 0.13 <sup>d)</sup>	0.6 ± 0.26	37.8 ± 0.18 <sup>d)</sup>	2.9 ± 0.04 <sup>d)</sup>
	5d	0	4.2 ± 0.15 <sup>d)</sup>	3.8 ± 0.04 <sup>d)</sup>	0.6 ± 0.26	F	4.6 ± 0.07 <sup>d)</sup>
	7d	0	4.6 ± 0.06 <sup>d)</sup>	4.3 ± 0.00	0.8 ± 0.29	F	6.1 ± 0.11 <sup>d)</sup>
	10d	0	5.1 ± 0.05 <sup>f)</sup>	4.9 ± 0.07 <sup>d)</sup>	0.8 ± 0.29	F	8.3 ± 0.04 <sup>d)</sup>

凡例：BEN：ベノミル

Legend：BEN：benomyl

注：a)：平均±標準誤差，b)：菌糸が直径90mmの平板地の縁まで達したために測定不能。c)：菌糸成長なし，d)：同一菌株の同一培養日数において危険率1%で有意差が認められた。e)：未測定，f)：同一菌株の同一培養日数において危険率5%で有意差が認められた。

6菌株の菌糸成長は、BENを添加したPDA平板培地と添加していないコントロールの平板培地を用いて25°Cで測定した。なお、各試験区における平板培地の供試枚数は3とした。

Notes：a)：Av. ± SEM；b)：mycelial growth exceed the edge of the plate (90 mm in diameter) and was not measured；c)：no growth；d)：significance at 1% level of probability for the same strain and the same days；e)：not measured；f)：significance at 5% level of probability for the same strain and the same days.

Mycelial growth of 6 strains (three replicates per strain) at 25°C on PDA (potato-dextrose-agar) plates amended with BEN and not amended as controls.

地に添加できるBEN水和剤の最大許容濃度<sup>1)</sup>に相当する。

コントロール培地では、いずれの供試菌株においても3～6日の培養期間で平板培地全体に菌糸が蔓延した。BENを添加した2種類の培地では、94110Trにおいて4日の培養期間で平板培地全体に菌糸が成

長したが、その他の5菌株の菌糸成長は阻害され、10日の培養期間において8.3mm以下の菌糸成長量であった。91002Trについては全く菌糸成長がみられなかった。供試した *Trichoderma* spp.6菌株中、93130Tr、93136Trおよび94120Trの3菌株について、同一の培養期間における菌糸成長量は、高圧蒸気殺

第2表 BENの高圧蒸気殺菌の有無がシイタケの菌糸成長に及ぼす影響

Table 2. Effects of BEN autoclaved or not autoclaved on mycelial growth of *Lentinula edodes*.

条件 Treatment	培養日数 days of incubation	菌糸成長量 Mycelial growth (mm)			
		シイタケの菌株番号 Strains of <i>L. edodes</i>			
		北研 Hokken-600 (Growth index <sup>a)</sup> )	菌興 Kinkoh-115 (Growth index)		
対照区 controls	1d	0 <sup>b)</sup>			0
	2d	3.7 ± 0.08 <sup>c)</sup>	(100)		0
	3d	8.4 ± 0.00	(100)		5.4 ± 0.07 (100)
	5d	16.0 ± 0.22	(100)		12.8 ± 0.11 (100)
	7d	25.7 ± 0.04	(100)		18.8 ± 0.53 (100)
	10d	37.8 ± 0.23	(100)		28.0 ± 0.56 (100)
0.01%(w/v)BEN 高圧蒸気殺菌 処理有 autoclaved	1d	0			0
	2d	2.8 ± 0.04	(75.7)		0
	3d	5.9 ± 0.07	(70.2)		4.3 ± 0.07 (79.6)
	5d	10.3 ± 0.15	(64.4)		10.0 ± 0.12 (78.1)
	7d	15.9 ± 0.19	(61.9)		15.6 ± 0.19 (83.0)
	10d	24.0 ± 0.36	(63.5)		24.9 ± 0.55 (88.9)
0.01%(w/v)BEN 高圧蒸気殺菌 処理無 not autoclaved	1d	0			0
	2d	0			0
	3d	0			0
	5d	0			0
	7d	0			0
	10d	0			0

凡例：BEN：ベノミル

Legend: BEN: benomyl

注：a): コントロールに対する成長指数, b): 菌糸成長なし, c): 平均±標準誤差

2菌株の菌糸成長は、BENを添加したPDA平板培地と添加していないコントロールの平板培地を用いて25℃で測定した。

なお、各試験区における平板培地の供試枚数は3とした。

Notes : a): Growth index to control; b): no growth; c): Av. ± SEM

Mycelial growth of 2 strains (three replicates per strain) at 25°C on PDA plates amended with BEN and not amended as controls.

菌していないBENに対して、高圧蒸気殺菌したBENにおいて危険率1または5%で有意に低かった。また、培養開始後3日までの94110Trにおいても同様の傾向が観察された。この原因としては、BENが高圧蒸気殺菌により加水分解を受けて、より抗カビ活性の高いMBCに変換された可能性が示唆される。

一方、田畑らはBENを添加し、高圧蒸気殺菌したポテトシュークローズ寒天培地（以下PSA培地）と高圧蒸気殺菌後にBENを添加したPSA培地における*T. harzianum* Rifaiの菌糸成長を比較し、前者の防カビ活性は後者より低下することを報告してい

る<sup>9)</sup>。これは、BENの濃度や培地組成が本研究と異なるためと推察される。

なお、高圧蒸気殺菌後の培地pHは、コントロール培地が5.4、BENを添加した後に高圧蒸気殺菌したPDA培地が5.5、高圧蒸気殺菌し60℃以下に冷却した後にBENを添加したPDA培地が5.4となった。したがって、*Trichoderma* spp.の菌糸成長に及ぼす培地pHの影響は非常に低いと考えられる。

### 3.2 シイタケの菌糸成長に及ぼすBENの影響

BENの高圧蒸気殺菌処理の有無がシイタケの菌糸

成長に及ぼす影響を第2表に示した。その結果、高圧蒸気殺菌を施していないPDA平板培地では、両供試菌株ともに10日の培養期間において菌糸成長が全くみられなかった。しかし、BENの高圧蒸気殺菌を施したPDA平板培地では、いずれのシイタケ菌株においても菌糸成長がみられた。同一の培養期間における菌糸成長量は、コントロール培地を100とすると、北研600号で62～76、菌興115号で78～89となった。この結果から、シイタケの菌糸成長については *Trichoderma* spp. の菌糸成長と異なり、高圧蒸気殺菌を施していないBENによる阻害が大きいことが分かる。また、0.01% (W/W) 濃度になるようにBENを添加した後に高圧蒸気殺菌したダケカンバ (*Betula ermanii* Cham.) のオガコとフスマを混合した培地において、北研600号の菌糸成長速度はコントロールと差異が観察されなかった<sup>6)</sup>。

以上の結果に加えて、BENはMBCと比較してシイタケの菌糸成長を強く阻害することから、高圧蒸気殺菌時に加水分解が生じてBENの一部または多くがMBCに変換された可能性が高いと推察される。

なお、BENの同反応に及ぼす温度、圧力および培地組成の影響等については今後の検討が必要である。

## 文 献

- 1) きのごガイドブック編集部：“‘97版きのごガイドブック”，農村文化社，1996，p.44-47.
- 2) 山際 功：特産情報，No.83，61-62 (1986).
- 3) J.W.ディーコン(山口英世，河合康雄訳)：“真菌学入門”，培風館，1982，p.218-223.
- 4) 富樫 巖 ほか3名：木材学会誌，42(12)，1258-1263 (1996).
- 5) 田端武夫，近藤民雄：木材学会誌，24(7)，502-506 (1978).
- 6) 富樫 巖：未発表.
- 7) 田端武夫，近藤民雄，加藤安彦：木材学会誌，28(10)，644-648 (1982).

- 企画指導部 普及課 -

- \* 1 : きのご部 生産技術科 -

(原稿受理 98.7.14)