

In vitro におけるカラマツ心材の抗菌性物質のカラマツ根株心腐病罹病木樹幹内に生息する菌類への影響

大澤 正嗣

Effect of antifungal substances contained in larch heartwood on the growth of fungi inhabiting larch trunks with butt-rot *in vitro*.

Masashi OHSAWA

Summary : The effect of antifungal substances contained in larch heartwood on the growth of fungi inhabiting larch trunks with butt-rot was investigated *in vitro*. Woodmeal medium [1l of 0.6% malt extract agar (MA) with an addition of 100g of air dried ground larch heartwood], and MA (0.5%) media containing 0.5% taxifolin or 0.05% quercetin were prepared. The media were each inoculated with nine kinds of fungi which inhabit larch trunks with butt-rot.

Woodmeal medium inhibited the growth of butt-rot basidiomycetous fungi, but non-basidiomycetous fungi grew well on the medium. All fungi tested were inhibited their growth on the medium containing taxifolin, especially the basidiomycetous fungi could not grow at all. Growth of all fungi tested, except for mycelium-1 (unidentified fungi), was inhibited with the medium containing quercetin. Butt-rot basidiomycetous fungi were also more inhibited than non-basidiomycetous fungi on this medium.

It has been concluded that non-basidiomycetous fungi occurring first in fungal succession associated with butt-rot in larch trunks are more tolerant to the antifungal substances than butt-rot basidiomycetous fungi which occur later.

要旨 : カラマツ心材に存在する抗菌性物質が、カラマツ根株心腐病罹病木樹幹内に生育する菌類の生育に与える影響について、*in vitro* で調査した。0.6% マルト培地(MA)1lにカラマツ心材木粉を100g添加した木粉培地、0.5%MAにタキシホリン0.5%またはケルセチン0.05%を添加した培地をそれぞれ準備した。これにカラマツ根株心腐病罹病木樹幹内に生息する菌類9種を接種し、その生育を調査した。

木粉培地上で根株心腐病菌は生育阻害を受けたが、遷移の前後に発生する非担子菌系糸状菌の生育は阻害されなかった。カラマツ心材には根株心腐病菌に対する抗菌性物質が含まれている。タキシホリン添加培地上では全ての供試菌が生育阻害を受けたが、根株心腐病菌では特に激しく、菌糸はまったく生育しなかった。ケルセチン添加培地では1種を除く全ての菌で生育阻害が認められた。この培地上でも、非担子菌系糸状菌より根株心腐病菌が強く生育阻害を受けた。

カラマツ根株心腐病に伴う遷移で、先に生息する非担子菌系糸状菌が、次に現れる根株心腐病菌より、カラマツ心材中の抗菌性物質に対し耐性があることが明らかとなった。

I はじめに

カラマツ根株心腐病は、その進展にともない、健全から僅かに変色した心材に生息する非担子菌系糸状菌類から、腐朽初期から中期にかけて生息する担子菌類(病原菌)、そして末期腐朽部に生息する非担子菌系糸状菌へと遷移する(大澤ら、1985)。これらの菌類間の相互作用については大澤ら(1987)の報告があるが、材の成分と菌類遷移の関係についてはまだ十分知られていない。ここではカラマツ[Larix leptolepis (Sieb. et Zucc) Gorden]心材に含まれる抗菌性物質についてカラマツ根株心腐病に関与する菌類への影響を調査したので報告する。

II 材料および方法

1) 供試菌

主にカラマツ健全から僅かに変色した心材に生息する非担子菌系糸状菌3種：*Coryne dubia* (Pers.) Gray, *Pezicula livida* (Berk. et Br.) Rehn, mycelium-1 (未同定)、初期～中期腐朽部に生息する根株心腐病菌4種：*Phaeolus schweinitzii* (Fr.) Pat., *Sparassis crispa* (Wulf. et Fr.) Fr., *Tyromyces balsameus* (Peck) Sack., basidiomycete-1 (未同定)、主に末期腐朽部に生息する非担子菌系糸状菌2種：*Paecilomyces variotii* Bain, *Scytalidium* sp. の計9種を供試した。

2) 生育調査

各供試菌を2%素寒天培地(Difco Bacto agar)で14日以上前培養し、そのコロニー周囲の新しく生育した部分より、直径3mmの円盤を切り取り、接種源とした。この接種源をそれぞれの調査培地の中央に接種後、シャーレ周囲をパラフィルムで封じ、25℃暗黒下に静置し、一定期間後にコロニー直径および生育状況を記録した。生育状況は次の6段階に区分した。0：生育は認められない；1：僅かに生育するか、途中で生育を停止する；2：非常に薄い、素寒天培地上での生育状況に匹敵；3：薄い；4：やや密；5：密、2%マルト培地(MA)上での生育に匹敵；6：5以上の密な生育。試験は3反復行った。生育への影響は生育状況とコロニー

直径の比較により判断した(生育状況重視)。

3) 健全心材添加培地上での生育

健全心材添加培地の作成はカラマツ心材を用い、Sterner (1974)の方法に従った。すなわち、カラマツ心材(26年生カラマツ、樹幹地上1mまでの部分)から作成した木粉100g、麦芽エキス(Difco)6gを蒸留水11に添加し、pHを5に調整した。これに寒天15g(Difco)を加え、121℃で20分間オートクレーブをかけた。シャーレ(直径9cm)に20mlずつ分注し、各菌を前述した方法により接種、培養した。7日、14日後にコロニー直径、生育状況を記録した。コントロールとして0.6%MA培地上での各菌の生育を同様に調査した。

4) タキシホリンおよびケルセチン添加培地上での生育

カラマツ心材に含まれる抗菌性物質：タキシホリン(カラマツ心材より作成したものを森林総合研究所抽出成分研究室より分譲)およびケルセチン(Sigma)をそれぞれ0.5%および0.05%となるよう0.5%麦芽寒天培地(寒天は2.0%、Difco)に添加し、pHは4.2に調整した。12分間、121℃で滅菌し、直径3.5cmのシャーレに1mlずつ分注した。各菌を前述した方法により接種、培養し、4日、10日、14日後にコロニー直径を計測した。コントロールとして0.5%MA培地上での各菌の生育を同様に調査した。

III 結果及び考察

1) 木粉添加培地上での生育

生育14日目の結果を表1に示した。健全～僅かに変色した部位に生息する非担子菌系糸状菌および末期腐朽部に生息する非担子菌系糸状菌は、木粉添加により生育はほとんど影響を受けないか(*C. dubia* および *Pe. livida*)、または僅かに促進された(mycelium-1, *Pa. variotii* および *Scytalidium* sp.)。初期～中期腐朽部に生息する担子菌は、木粉添加で生育がやや阻害される傾向が認められた(*T. balsameus* および basidiomycete-1)。Sterner (1974) はバルサムファー材(木粉)を培地に添加した所、腐朽菌を阻害する効果が認められたと報告している。本調査でも明瞭ではないが、ほぼ同様の

表-1 木粉添加0.6%MA倍地での生育

供 試 菌	0.6%MA		木粉添加	
	直径 ^{a)}	生育 ^{b)}	直径	生育
健全部位～僅かに変色した部位に生息する非担子菌系糸状菌				
<i>C. dubia</i>	44.5	5	47.0	5
<i>Pe. livida</i>	56.1	4	70.3	4
mycelim-1	35.9	4	29.1 ^{*c)}	6
初期～中期腐朽部位に生息する担子菌 (病原菌)				
<i>P. schweinitzii</i>	(24.3) ^{c)}	4	(+ α ^{f)}) [*]	3
<i>S. crispa</i>	- ^{d)}	-	-	-
<i>T. balsameus</i>	(23.9)	5	(19.3) [*]	3
basidiomycete-1	(11.0)	4	(7.2)	3
末期腐朽部位に生息する非担子菌系糸状菌				
<i>Pa. variotii</i>	(23.3)	4	(24.4)	5
<i>Scytalidium</i> sp.	(28.9)	4	(10.2)	5

- a) 平均コロニー直径 (mm)
 b) 生育状態 (材料と方法を参照)
 c) (): 生息7日目の平均コロニー直径 (mm)
 d) - : 調査せず
 e) ※ : 0.6%MA倍地と比較し、コロニー直径に有意差が認められるもの
 f) + α : シャレー (直径90mm) いっぱいに生育し、計測不能のもの

表2 タキシホリン (0.5%) およびケルセチン (0.5%) 添加0.5%MA倍地上での生育

供 試 菌	0.5% MA		タキシホリン添加		ケルセチン添加	
	直径 ^{a)}	生育 ^{b)}	直径	生育	直径	生育
健全部位～僅かに変色した部位に生息する非担子菌系糸状菌						
<i>C. dubia</i>	28.4	4	6.5 ^{*c)}	3	18.8 [*]	4
<i>Pe. livida</i>	29.2	4	13.8 [*]	4	12.2 [*]	3
mycelium-1	27.1	4	13.5 [*]	4	17.5	4
初期～中期腐朽部位に生息する担子菌 (病原菌)						
<i>P. schweinitzii</i>	+ α ^{c)}	4	0.0 [*]	0	14.7	2
<i>S. crispa</i>	11.9	3	0.0 [*]	0	3.2 [*]	2
<i>T. balsameus</i>	+ α	4	0.0 [*]	0	10.2 [*]	3
basidiomycete-1	+ α	4	0.0 [*]	0	0.0 [*]	0
末期腐朽部位に生息する非担子菌系糸状菌						
<i>Pa. variotii</i>	+ α	4	5.8 [*]	1	8.3 [*]	3
<i>Scytalidim</i> sp.	(21.6) ^{d)}	4	(4.5) [*]	2	(4.9) [*]	4

- a) 平均コロニー直径 (mm)
 b) 生育状態 (材料と方法を参照)
 c) + α : シャレー (直径35mm) いっぱいに生育し、計測不能のもの
 d) (); 生育4日目の平均コロニー直径 (mm)
 e) ※ : 0.5%MA倍地と比較し、コロニー直径に有意差が認められるもの

結果が得られ、カラマツ心材中に抗菌性の物質の存在が示唆される。また、これらが非担子菌系糸状菌の生育を抑制しなかったことは、菌類遷移との関連で興味深い。

2) タキシホリンおよびケルセチン添加培地上での生育

タキシホリンおよびケルセチン添加培地上での生育14日目の結果を表2に示した。タキシホリン添加培地上ですべての菌で生育阻害が認められた。特に病原菌で激しく阻害作用が現れ、全ての菌で生育が認められなかった。ケルセチン添加培地では mycelium-1を除く全ての菌で生育阻害が認められた。ここでも病原菌に強く生育阻害作用が現れている。病原菌は他の非担子菌系糸状菌よりこれらの成分に対し耐性が小さいものと思われる。

西田ら(1951)はタキシホリン(0.0-0.6%)およびケルセチン(0.05%)を培地に添加し、ワタグサレタケ[*Antrodia sinuosa*(Fr.) Karst]および[Pycnoporus coccineus(Fr.) Bond. et Sing.]の生育について調査しているが、タキシホリンは濃度の増加と共に、腐朽菌に対し生長抑制作用を示し(調査範囲では両菌とも生育可)、ケルセチンはヒイロタケでは生育促進作用を、ワタグサレタケでは特に効果を示さないことを明らかにしている。カラマツ根株心腐病菌はタキシホリン0.5%では全く生育せず、ケルセチンでも生育阻害が認められ、これらの物質に対しより感受性が高いことが明らかとなった。実際にカラマツ林内に生息している病原菌が、ヒイロタケやワタグサレタケという一般的な腐朽菌より感受性が高いことは興味深い。

ここで、木粉添加試験とタキシホリンおよびケルセチン添加試験のコントロール(それぞれ0.6%MA、0.5%MA培地使用)間には各菌で生育に差が認められるが、これは木粉添加試験ではMA培地を20ml分注(直径9cmシャーレ)したのに対し、タキシホリンおよびケルセチン添加調査では1ml分注(直径3.5cmシャーレ)し、培地が非常に薄かったためと思われる。

以上より、カラマツ心材中にはカラマツ根株心腐病菌に対する抗菌物質があり、現在までに報告のある抗菌物質タキシホリンおよびケルセ

チンを用い、調査したところどちらも本病原菌に対し、抗菌性を示すことが明らかとなった。特にキシホリンは0.5%の濃度で病原菌をまったく生育させなかった。Gardnerら(1960)は、アメリカ西部カラマツ(*Larix occidentalis* Nutt.)心材には約0-1.8%のタキシホリンが含まれており、個体および心材部位によりかなり異なることを報告している。近藤ら(1954)は、日本カラマツ(*L. leptolepis*)心材中のタキシホリン量を調査し、4%であることを報告している。また笹谷ら(1970)は、日本カラマツのフラボノール(タキシホリンが主要成分の1つ)およびフラバノール(ケルセチンが主要成分の1つ)含量はそれぞれ約3.0-7.0%および0.15-2.5%程であり、材中心部では低く、辺材に近づくにつれて濃度が高くなることを報告している。これと比較すると、本調査で用いたタキシホリン濃度0.5%、ケルセチン濃度0.05%は決して高くはない。しかし、これらの物質は材内および細胞内に均一に分布しているわけではないので、培地の場合と材内との濃度の比較は簡単にはできない。

また、根株心腐病に係わる菌類遷移で、病原菌の前に生息する非担子菌系糸状菌がタキシホリンやケルセチンに対して、病原菌より耐性があるのは興味深い。始めに侵入する非担子菌系糸状菌がこれらの抗菌性物質を分解、変性した後には病原菌が侵入してくる可能性も考えられる。

謝 辞

本研究を行うに当たり、筑波大学勝屋敬三教授よりご指導を頂きました。また、森林総合研究所林良興博士より並々ならぬ御助言を頂き、また試薬を分譲して頂きました。両氏に心から感謝いたします。また、本報をまとめるに当たり、山梨県林業技術センター馬場勝馬主任研究員より御助言を頂きました。深く感謝いたします。

引用文献

- Gardner, J. A. F. and Barton, G. M. : The distribution of dihydroquercetin in douglas-fir and western larch. Forest Products J. 10 : 171-173, 1960
- 近藤民雄・古沢亘江 : カラマツの化学的研究(Ⅱ) 抽出成分について(2) ジステイリンの定量法検討. 日林誌 36 : 16-22 1954
- 西田屹二・近藤民雄・船岡洪二 : 心材色素の木材腐朽菌生長抑制作用——主として Distylin の木材中に於ける 1 意義について——. 日林誌 33 : 390-393, 1951
- 大澤正嗣・勝屋敬三 : 長野県八ヶ岳東山麓におけるカラマツ造林木の根株心腐病罹病木
- および健全木の樹幹内菌類フロラ. 96回日林論 : 489-490, 1985
- Ohsawa, M. and Katsuya, K. : The effect of non-basidiomycetes on the progress of larch wood decay caused by butt-rot basidiomycetes. Trans. mycol. Soc. Japan 28 : 257-265, 1987
- Sterner, T. E. : Inhibition of root-and butt-decay fungi by extractives of balsam fir root wood. Can. J. For. Res. 4 : 213-221, 1974
- Sasaya, T., Demachi, S. and Terasawa, M. : Studies on the extractives of larch, Report 11 : Determination of flavonoids in Larix leptolepis. Res. Bull. College Experi. forests, College of Agri., Hokkaido Univ. 27 : 429-443, 1970