



農学部生物環境科学科 目黒貞利

要旨

スギの香り成分によるシイタケ害菌の防除の可能性を明らかにする目的で、スギの葉から抽出した精油のトリコデルマ属菌に対する成長抑制効果を検討した。精油の添加により PDA 平板培地上のトリコデルマの菌糸成長が抑制された。0.3ml/culture では静菌効果が認められたが、これ以上添加しても死滅することはない。トリコデルマの菌糸が蔓延すると、コロニー中央部から輪状に緑色の分生子が形成された。しかし、精油添加地では菌糸が蔓延しても菌叢の緑色化は見られず、精油添加培地では分生子の形成が抑制されることが判明した。緑色化したトリコデルマの菌叢から採取した分生子を PDA 培地上にプレートしたところ、精油を添加した培地ではコントロールに比べて明らかに菌叢が薄く、トリコデルマの分生子の発芽が精油によって抑制されることも分かった。以上の検討により、スギの香り成分である精油を用いたシイタケ害菌防除の可能性が示唆された。

緒言

かつて宮崎県は原木栽培による乾シイタケの生産が盛んであったが、現在では鋸屑（木粉）を用いた生シイタケの菌床栽培へと移行している。シイタケの菌床栽培では多量の栄養成分を培地に添加するために、このことがトリコデルマ属菌などによる深刻な雑菌汚染を引き起こす原因ともなっている。その防除にはベンレートなどがしばしば用いられているが、シイタケを無農薬の自然有機食品として生産販売するためには、化学農薬にかわる天然の薬剤を早急に見いだす必要がある。

一方、本県はスギ材の有数な生産地でもあり、材のほかに毎年膨大な量のスギの枝葉、樹皮、鋸屑などが生み出されるが、それらにはフェルギノールを初めとする種々の抽出成分が含まれている。これら木材抽出成分のうち、森林浴効果で知られる揮発性の高い香気成分がダニやシロアリの繁殖を抑え、カビの成長を阻害することが報告されている。

そこで、本研究ではスギ材の香り成分によるシイタケ害菌の防除の可能性を明らかにする目的で、スギの葉から抽出した揮発性成分のトリコデルマ属菌に対する成長抑制効果を検討した。

2. 実験方法

2.1 供試菌

シイタケ菌は研究室保存の森 465 (森産業) を、シイタケ害菌は日本キノコセンター菌叢研究所より分譲を受けたトリコデルマ (*Trichoderma viride*, TMI60360) を用いた。

2.2 スギ精油の抽出

スギの葉は宮崎大学校内と田野演習林内で採取した。なお今回の実験では、スギの品種や樹齢などは考慮しなかった。粉碎したスギの葉を定法に従って水蒸気蒸留法し、得られた精油はさらに精製することなくそのまま実験に供試した。

2.3 培養方法

一定量のスギ精油をエタノールを溶媒にして PDA (ポテト・グルコース・寒天) 培地に添加した。これに供試菌またはトリコデルマの分生子を接種し、 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ のインキュベーター内で培養した。

2.4 分生子の採取

緑色化したトリコデルマの菌叢に滅菌水を加え、5~10 分間静置することで分生子を得た。得られた分生子の数をトーマ血球計測盤で計測した後、一定量の分生子を精油添加培地にプレートした。

3. 結果および考察

3.1 スギ葉の精油

精油の時間毎の留出量を図 1 に示す。5 時間目までは留出量の増加が見られたが、6 時間以降はほとんど増加せず、精油の大部分は蒸留 3 時間目までに留出することがわかった。精油の収量は生スギ葉 1 kg あたり約 6 ml、乾燥スギ葉では約 17ml であった。文献では、スギ葉からの精油の収量は 0.7% 前後と報告されており、今回の実験結果はこれよりもやや低かった¹⁾。

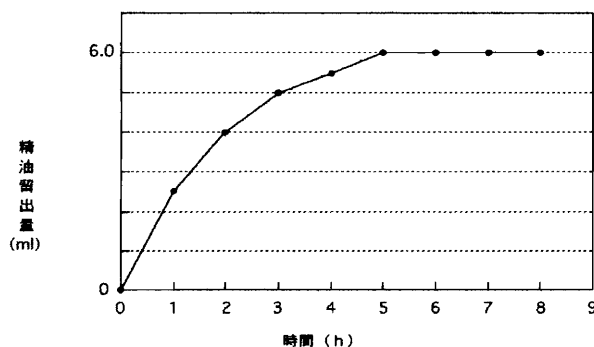


図1 精油留出量の変化 (生葉1kg当たり)

3.2 精油のトリコデルマの菌糸成長に及ぼす影響

精油添加量のトリコデルマ菌糸成長に及ぼす影響を図 2, および写真 1 に示した。精油を添加せず, 溶媒のエタノールのみを添加した PDA 平板培地 (コントロール) では, トリコデルマは培養 3 日間で蔓延した。精油 0.1ml を添加した培地では菌糸蔓延に約 5 日間を, 0.3 ml では約 7 日間を要すなど, スギ葉の精油の添加によりトリコデルマの菌糸成長が著しく抑制されることが明らかとなった。また 0.3 ml の精油を添加した場合には約 1 日間の静菌効果が認められたが, これ以上添加量を増加しても死滅するまでには至らなかった。

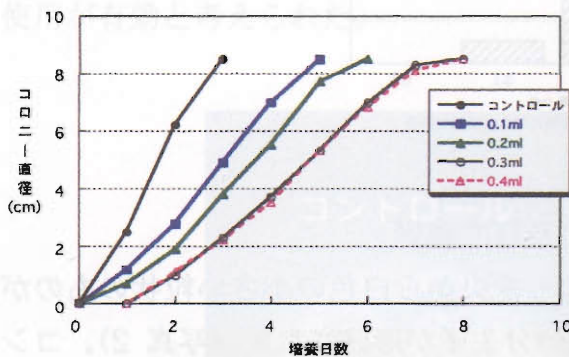


図2 精油のトリコデルマの菌糸成長に及ぼす影響

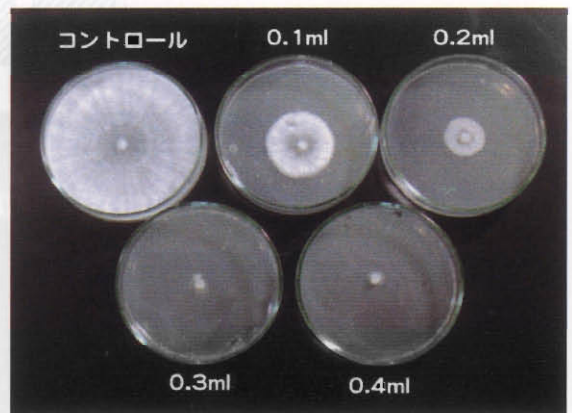


写真 1

3.3 精油のシイタケの菌糸成長に及ぼす影響

シイタケは精油を添加しない場合には蔓延に 12 日間を要し, シイタケ害菌のトリコデルマと比較してその成長が非常に遅いことが分る。このコントロールでの菌糸成長を 100 とした場合の各精油添加培地でのシイタケの菌糸成長を図 3 に示す。精油の添加量を増すごとにシイタケの成長が抑制され, 0.3ml 添加では全く成が見られなかった。このように, スギ葉の精油はトリコデルマよりもシイタケの菌糸成長をより強く阻害することが分かった。

我々は先に, 木材の炭化の際に得られる木酢液をシイタケ害菌の防除に使用する目的で, 木酢液のシイタケおよびトリコデルマの菌糸成長に及ぼす影響を検討した²⁾。その結果, PDA 平板培地では木酢液はトリコデルマよりもむしろシイタケの菌糸成長を著しく抑制した。しかし, 木粉培地でのシイタケ子実体 (いわゆるキノコ) の形成に対してはまったく抑制しなかった。したがって, 木酢液はシイタケの菌糸成長段階には用いることはできないが, その後の子実体形成から収穫までの害菌防除にはきわめて有効なことが判明した。

2) 日黒貞利, 河内進策, 田中長可, 木酢液の菌糸成長, 38, 1057-1062, 1999

一般的に菌床栽培では、完全に滅菌された培地中で純粋培養される菌糸成長期間よりも菌糸が蔓延した後のシイタケ発生から収穫までの期間の害菌防除が必要とされる。本実験においては、精油のシイタケ子実体形成時に及ぼす影響は未検討であるが、シイタケ菌床栽培における害菌防除薬剤としての利用の可能性は高いと考えられる。

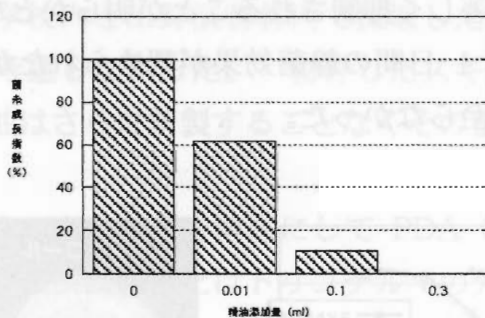


図3 精油のシイタケの菌糸成長に及ぼす影響

3.4 精油のトリコデルマ分生子の形成に及ぼす影響

トリコデルマ菌糸が蔓延するとコロニー中央から白色の小さい粒状のものが輪状に形成され、それが徐々に色付いて緑色の分生子が形成された（写真 2）。コントロールではトリコデルマ菌糸が蔓延した翌日には粒状のものができ始め、その2日後である培養6日目には緑色化が始まった。それに対して、精油添加培地では菌糸が蔓延してから2～3日後にようやく粒状のものができ始めたが、その後も緑色化は見られなかった。

菌糸の蔓延したトリコデルマの菌叢に滅菌水を加えて分生子を採取し、得られた分生子の数を計測した。その結果、精油を添加していない培地の菌叢から採取された分生子は平均 150×10^6 個であったのに対して、精油を 0.1 ml 添加した培地の菌叢から採取された分生子はごくわずかであり、計測ができない程であった。したがって、スギ葉の精油によってトリコデルマの分生子の形成が著しく抑制されることが分かった。

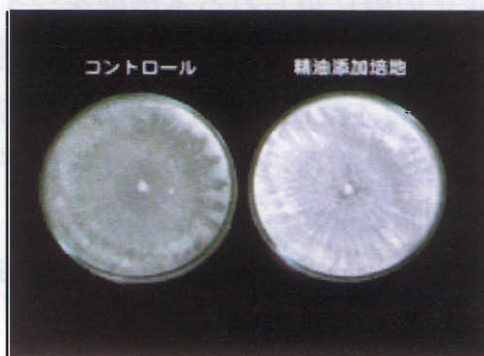


写真 2

3.5 精油のトリコデルマ分生子の発芽に及ぼす影響

上記の実験で、無添加の培地上で緑色化したトリコデルマの菌叢から得られた分生子約100万個を精油0.1 ml 添加したPDA平板培地にプレートした。写真3に示すように、精油を添加した培地ではコントロールに比べ明らかに菌叢が薄く、トリコデルマの分生子の発芽が精油によって抑制されることが分かった。

シイタケの菌床に害菌が感染する際、害菌の菌糸が直接菌床に接触する可能性は低く、有性生殖により生じた孢子や無性生殖による分生子が空気や水を介して菌床に付着し、その後発芽成長するのが一般的と考えられる。したがって、スギ葉の精油がトリコデルマの菌糸成長を阻害するだけでなく、分生子の形成や発芽を強く抑制することは、シイタケ害菌による感染の予防や感染の拡大阻止に対しても精油の使用が有効と考えられた。

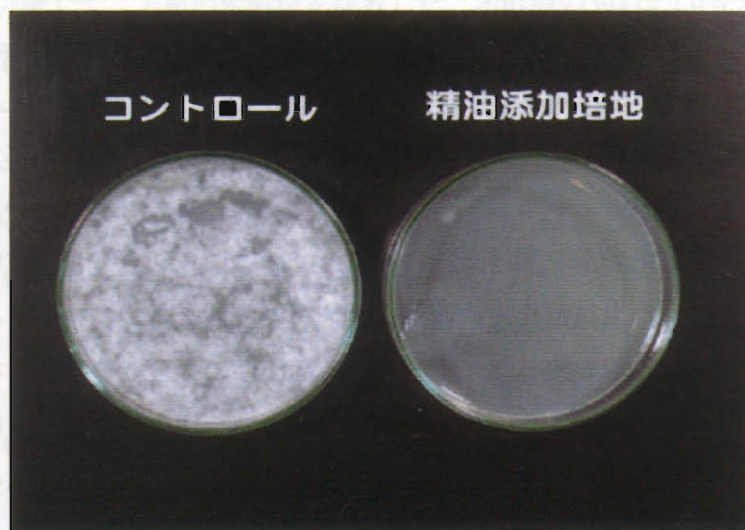


写真3

4.まとめ

本研究ではスギの葉から抽出した精油のシイタケ害菌に対する成長抑制効果を検討した。その結果、スギ葉の精油はトリコデルマの菌糸成長を阻害するだけでなく、分生子の形成および発芽をも強く抑制することが判明し、スギの香り成分によるシイタケ害菌の防除の可能性が示唆された。今後は、精油のシイタケ子実体形成に及ぼす影響についても検討する必要がある。

引用文献

- 1) 本精油科学, 平尾子之吉著, p404, 裳華房発行, 1932.
- 2) 目黒貞利, 河内進策, 田中貴司; 木材学会誌, 38, 1057-1062 1992.