オオウズラタケによる木造物の腐朽 一種の同定と分離菌株の培養特性一

酒井 温子^{*1}, 服部 力^{*2}, 和田 朋子^{*3*4}, 鮫島 正浩^{*3}

1. はじめに

日本工業規格 JIS Z 2101:2011「木材の試験方法」26耐朽性試験や, JIS K 1571:2010「木材保存剤－性能基準及びその試験方法－」5.2防腐性能5.2.1室内試験等において, 供試菌と定められているのは, オオウズラタケ (*Fomitopsis palustris* (Berk. et Curt.) Gilbn. & Ryv. FFPRI 0507, 以降 FFPRI 0507株と呼ぶ) およびカワラタケ (*Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát FFPRI 1030) である。カワラタケの子実体は, 屋外に置かれた丸太や切り株等でしばしば目撃されることから, カワラタケは日本における代表的な木材腐朽菌の1つと考えられている。しかし, もう一方のオオウズラタケについては, 木造物の腐朽事例の報告が少なく, 自然界における生態や分布等にも不明な点が多い。JIS規格で供試菌と指定されている FFPRI 0507株は, 1928年に東京の目白付近の電柱から分離された菌株であり (http://www.geneaffrc.go.jp/databases-micro_search.php), 現在, 農業生物資源データベースにおいて保有されているオオウズラタケはこの菌株のみである。

そこで, 近年のオオウズラタケによる腐朽事例を紹介し, オオウズラタケと同定した根拠を示すと共に, 分離した菌株について生育適温と木材腐朽力を調査したので報告する。なお, 本報の一部は, 公益社団法人日本木材保存協会第28回年次大会(東京, 2012)において口頭発表を行った。

2. 材料および方法

2.1 子実体および腐朽木材の採集

2.1.1 木橋

2010年12月, 鹿児島県内の木橋において, 床板の上面および下面に形成された白色の子実体を採集した。この木橋は, 長さ69.2m, 幅5mで, 1990年に架設されたものである。橋の下には川が流れており, 採集時は水面から床板までは4～5mの距離があった。床板は, アルキルアンモニウム系木材保存剤が加圧注入されたサザニエローパイン材で, 部分的に腐朽も観察された。

床板の下面では, 図1aに示すように, 板と板の隙間から子実体が数体発生しており, このうちの1体を採集した。採集した子実体は, 直径が約80mmの円形で多汁で強靱な肉質であった。子実体の上面には同心円状の環溝があり, 下面には微細な孔口が形成されていた。採集した翌日に分離作業を行ったが, この時には子実体はすでに茶色を帯び始めていた。この子実体組織を, 以後, 試料Aと呼ぶ。

一方, 床板の上面では, 図1bに示すように, ビスで固定されたスギ板との隙間から, 不定形な子実体が発生していた。長さ69.2mのこの木橋上に, 10体程度の子実体が点在しており, このうちの3体を採集したが, いずれもやや乾燥していて硬かった。床板の上面で採取された子実体組織を, 以後, 試料B～Dと呼ぶ。

*1 奈良県森林技術センター

*2 独立行政法人森林総合研究所

*3 東京大学

*4 現, 東京文化財研究所

Corresponding author: Haruko Sakai (sakai-haruko@office.pref.nara.lg.jp)

図1 木橋の床板で発生した子実体
Fig. 1 Fruit bodies produced on the floor boards at the bridge.

a: 床板の下側 The bottom of the boards
b: 床板の上側 The top of the boards
矢印は子実体を示す。Arrows show fruit bodies.

2.1.2 一般住宅の風呂

2008年11月、宮城県内の一般住宅（温泉つきの別荘）の風呂において、浴槽の外枠部分のヒノキ辺材が腐朽し、板と板の隙間から白色の子実体が発生した。図2にその様子を示す。類似の子実体は、浴槽の外枠部分において、4, 5体発見された。以後、この子実体組織と腐朽木材をそれぞれ試料E, Fと呼ぶ。

この浴槽には24時間源泉からお湯が流れ込み、さらに、排水管の不具合により排水の滞留も生じていたことから、浴室内は高温多湿な環境であった。

2.1.3 遊具の木柱¹⁾

2007年4月、岐阜県内で遊具の木柱が腐朽により破損した。この木柱はバイマツで電柱の再利用材であった。腐朽を引き起こした原因菌を調べるために、木柱の外表面6カ所と破断面4カ所で木

図2 浴槽の外枠で発生した子実体
Fig. 2 Fruit body produced on the frame of the bathtub.

a: 浴槽の外枠部分 The frame of the bathtub
b: 採集された子実体 The fruit body collected
矢印は子実体を示す。Arrow shows fruit body.

片を採取した。このうち、破断面の1カ所で腐朽が進行した心材部分を試料Gと呼ぶ。

2.2 分離および種の同定

滅菌したカミソリ刃やピンセットを使って、試料A～Gの子実体および腐朽木材から掻き取った小片を、グルコース1%, ペプトン0.3%およびマルトエキス1%を添加した寒天培地に植え付けた。25℃下に置き、生育してきた微生物を顕微鏡で観察し、菌糸がクランプを有する等、担子菌の特徴が確認された部位をすくい取り、新しい寒天培地に植え付ける作業を繰り返して菌株を分離した。以降、試料A～Gから分離された菌株を、それぞれ分離菌株A～Gと呼ぶ。

分離された担子菌の種の同定は、ITS-5.8S rDNA塩基配列により行った。相同性検索および系統樹の作成は、国際塩基配列データベース (GenBank/DDBJ/EMBL) およびアポロン DB-FU (ITS) データベースにより実施した。

2.3 分離菌株の伸長速度の測定

2.2と同じ組成の寒天培地に、分離菌株A, C, EおよびGを移植し、3日間25℃下に置き生育を確認した後、20, 25, 30, 35および40℃のイン

キューベーター内で培養した。培養を開始した翌日のコロニーの先端を基点とし、数日間、1条件あたり4本の基準線上で、コロニーの伸長量を0.5mm単位で測定した。また、比較のために、FFPRI 0507株に対しても同様の測定を行った。

2.4 分離菌株の木材腐朽力の測定と培養中に発生した子実体の観察

JIS Z 2101を参考に、分離菌株 A, E および G を用いて腐朽試験を行った。すなわち、900ml 容のガラス製の培養ビンに、珪砂とプラスチック製のネットおよびグルコース、ペプトン、マルトエキスを含む培養液を入れ、オートクレーブで殺菌した後、各菌の液体培養液を約10ml 加え、27℃下で培養した。ビン内に菌そうが広がった時に、木材試験体を各ビンに3体ずつ入れて、27℃、相対湿度75%で培養した。このときに使用した木材試験体は、20×20×10mm のスギ辺材とブナ辺材で、1菌株あたり36体ずつを用いた。腐朽期間は6, 12, 18および24週間とした。腐朽期間ごとにスギ辺材およびブナ辺材試験体を9体ずつ取り出し、腐朽による質量減少率を求めた。また、比較のために、FFPRI 0507株を用いて同様の試験を

行った。

さらに、これとは別に、分離菌株 A～E および G を用いて同様の培養試験を実施し、培養ビン内あるいはふたの隙間に形成された子実体とそこから放出された胞子を、実体顕微鏡および光学顕微鏡で観察した。

3. 結果と考察

3.1 DNA による種の同定

分離菌株 A～G の ITS-5.8S rDNA 塩基配列についてデータベースに基づき相同性検索を行ったところ、いずれの分離菌株においても、95%以上の高い相同率を示したのは、オオウズラタケ (*Fomitopsis palustris*) とカキガラタケ (*Fomitopsis ostreiformis*) であった。

図3に、分離菌株 B について分子系統樹を示した。この系統樹において、分離菌株 B は、オオウズラタケと同一クレードに属し、カキガラタケとは別のクレードとなっているが、両者はきわめて近い位置にある。また、分離菌株 D や F においては、分離菌株とオオウズラタケとカキガラタケが同一クレードに属していた。このため、少

図3 ITS-5.8S rDNA の塩基配列を元にした分離菌株 B に関する分子系統樹

Fig. 3 Phylogenetic tree showing the relationships of isolate B inferred from ITS-5.8S rDNA sequences.

表 1 ITS-5.8S rDNA 塩基配列による種の同定結果

Table 1 Results of identification based on ITS-5.8S rDNA sequences.

番号 Isolate no.	採集場所と年 Location and year	分離源 Origin of isolates	菌名 Fungal species	FFPRI 0507株との相対率 Homology with FFPRI 0507
A	鹿児島県 Kagoshima ; 2010	橋の床板下面の子実体 Fruit body produced on the bottom of the floor boards at the bridge	オオウズラタケ <i>F. palustris</i>	585/589 (99.3%)
B	鹿児島県 Kagoshima ; 2010	橋の床板上面の子実体 Fruit body produced on the top of the floor boards at the bridge	オオウズラタケ <i>F. palustris</i>	588/589 (99.8%)
C	鹿児島県 Kagoshima ; 2010	B に同じ The same as B	オオウズラタケ <i>F. palustris</i>	573/575 (99.7%)
D	鹿児島県 Kagoshima ; 2010	B に同じ The same as B	オオウズラタケ <i>F. palustris</i>	585/590 (99.2%)
E	宮城県 Miyagi ; 2008	浴槽の枠の子実体 Fruit body produced on the frame of bathtub	オオウズラタケ <i>F. palustris</i>	582/589 (98.8%)
F	宮城県 Miyagi ; 2008	浴槽の腐朽した枠材 Decayed frame of bathtub	オオウズラタケ <i>F. palustris</i>	582/589 (98.8%)
G	岐阜県 Gifu ; 2007	木柱の腐朽部分 Decayed part of the pole	オオウズラタケ <i>F. palustris</i>	586/589 (99.5%)

図 4 培養ビンの内部 (a; 分離菌株 A) と蓋の隙間 (b; 分離菌株 B) で発生した子実体

Fig. 4 Fruit bodies growing in the glass jar (a; Isolate A) and at the space of the cap (b; Isolate B).

矢印は子実体を示す。Arrows show fruit bodies.

図5 図4bに示した子実体の管孔（分離菌株B）
Fig. 5 Pores of the fruit body (Isolate B) shown at fig.4b.

黒矢印は大型の管孔を示す。
Black arrow shows a wide pore.

なくとも ITS-5.8S rDNA 塩基配列から、今回得られた各分離菌株が、オオウズラタケかカキガラタケかの判定は困難であった。しかし、生息分布の違いを考慮して、すなわち、カキガラタケは熱帯地方に分布する菌であることから、日本国内で採集されたこれらの分離菌株はいずれもオオウズラタケと同定するのが適当と判断した。各分離菌株と FFPRI 0507株との相同率は、表1に示したように、いずれも98%以上の値であった。

3.2 子実体と胞子の形態観察

培養試験で形成された子実体を図4に示した。すべての分離菌株において、培養開始後2カ月経過時には、図4aのように培養瓶の内部で子実体が形成された。また、今回の培養条件は、酸素要求度の高い分離菌株にとって通気が不足していたため、菌は培養ビンの内壁を上り、分離菌株A以外の菌株においては、図4bのように、ねじ蓋の隙間から子実体を形成した。子実体は発生時には白色であったが、1～2週間後には薄茶色に変化した。また、培養ビンの外壁面には放出された白色の胞子が付着した。

図5に子実体の管孔部分の実体顕微鏡写真を示した。孔口サイズはおおむね3～4個/mmで、孔口内径は約0.3mmであったが、中には内径が約1mmの大型のものも含まれていた。

図6に子実体の傘肉を形成する菌糸、図7に胞子の光学顕微鏡写真を示した。傘肉の菌糸型は2菌糸型で、原菌糸および骨格菌糸から形成されていた。骨格菌糸の直径は約5μm、原菌糸にはク

図6 図4bに示した子実体傘肉を形成する菌糸（分離菌株B）
Fig. 6 Hyphae of the fruit body (Isolate B) shown at fig.4b.

黒矢印は骨格菌糸、白矢印は原菌糸を示す。
Black and white arrows show skeletal and generative hyphae, respectively.

ランプがあり、直径は3～5μmであった。また、胞子は長さが約8μm、幅が約3μmで、先端がややS字状に曲がった円筒形であった。図5～図7では分離菌株Bについて示したが、以上の観察結果は他の分離菌株と共通しており、さらに、文献²⁾に示されたオオウズラタケの特徴と一致した。

3.3 分離菌株の生育適温

図8では、シャーレ内の寒天培地上における菌糸の伸長速度を温度ごとに示した。FFPRI 0507株については、「培養適温30℃」との記載があるが (http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_search.php), 今回設定した温度範囲では、いずれの菌株も35℃の時がもっとも成長が速かつ

図7 図4bに示された子実体の胞子（分離菌株B）
Fig. 7 Basidiospores (Isolate B) shown at fig.4b.

図8 培養温度と菌糸伸長速度の関係

Fig. 8 Relationship between temperature and growth rate.

た。

一般に日本に生息する木材腐朽菌では、24～32℃に生育適温を持つ好中温菌が多いが³⁾、分離菌株はいずれも好高温菌に区分された。

3.4 分離菌株の木材腐朽力

図9⁴⁾に供試木材がスギ辺材およびブナ辺材の

図9 腐朽による質量減少率 (27℃)⁴⁾

Fig. 9 Mass loss by decay.

○ : FFPRI 0507

● : 分離菌株 A Isolate A

■ : 分離菌株 E Isolate E

▲ : 分離菌株 G Isolate G

場合について、27℃下での分離菌株 A, E, G および FFPRI 0507 株による質量減少率を示した。

分離菌株 A, E および G は、JIS 規格で供試菌に指定された FFPRI 0507 株と同様に腐朽の進行が速やかで、12週間経過時のスギ辺材の質量減少率は45～65%、ブナ辺材のそれは60～70%であった。18週間経過時では供試した分離菌株による質量減少率は、いずれも、スギ辺材で60～65%、ブナ辺材で約70～75%に達し、それ以降は質量減少率が大きく増加しないことから、供試した木材試験体は、12～18週間で分解可能な成分の分解は終了したと推定された。既報によると、スギのリグニン含有率は32.8%、ブナのそれは24.0%であり⁵⁾、オオウズラタケはリグニン分解酵素を持たないことから、腐朽後の試験体の主成分はリグニンと考えられた。

さらに、3.3で示したように、分離菌株にとって成長が最も速くなるのは35℃付近であること、今回の培養条件では、酸素要求度が高い菌にとって、通気が不足していた可能性があることを考えあわせると、生育に適した環境下では、分離菌株 A, E および G による腐朽は図9よりもさらに速やかに進行すると予想される。これらの菌による木橋や風呂の腐朽も、比較的短期間に起こった可能性が考えられる。

4. まとめ

木橋、風呂および遊具の木柱で採集された子実体および腐朽木材から分離された菌株は、ITS-5.8S rDNA の塩基配列および採集地より、オオ

ウズラタケと同定された。また、培養試験で得られた子実体の特徴も、オオウズラタケに一致した。

ここ数年の国内でのオオウズラタケによる木造物の腐朽事例が、北は宮城県、南は鹿児島県であったことから、オオウズラタケは現在の日本において広範囲に分布し木造物の腐朽に関与していると推定された。また、風呂での腐朽事例から、建築物の腐朽菌であることも確認された。

さらに、分離菌株を寒天培地上で生育させたところ、生育適温は35℃で、好高温菌であった。分離菌株 A、E および G のスギ辺材およびブナ辺材の腐朽速度は、JIS 規格で供試菌として指定されている FFPRI 0507 株と同程度に速いことも明らかになった。

なお、今回報告した分離菌株の中に同一株が含まれるか否かは、現段階では不明である。遺伝子レベルでの詳細な検討が必要である。

謝辞

木橋での子実体の採集にご協力いただきました

鹿児島県工業技術センター 日高富男氏、奈良県森林技術センター 伊藤貴文氏、増田勝則氏、田中陽子氏（現、奈良県南部農林振興事務所）に対し、また DNA による種の同定にご協力をいただいた株式会社テクノスルガ・ラボに対し、感謝いたします。

引用文献

- 1) 酒井温子, 小原光博, 村上茂之, 和田朋子, 鮫島正浩: 腐朽による木柱の破損—岐阜県大垣市の事例—, 第62回日本木材学会大会研究発表要旨集, 札幌, 2012, pp.72.
- 2) R. L. Gilbertson, L. Ryvarden: “North American Polypores”, 1986, pp.278-281.
- 3) (社)日本木材保存協会編: “木材保存学”, 1982, pp.35-36.
- 4) 酒井温子: 非接地環境で木材を腐朽していた担子菌の性質. 奈良県森技セ研報, **42**, 53-61 (2013).
- 5) 日本材料学会木質材料部門委員会編: “木材工学辞典”, 1982, pp.775-786.

(2013.8.5 受付)

和文要旨

日本国内の木橋、風呂および遊具の木柱で採集された子実体および腐朽木材から分離された菌株は、ITS-5.8S rDNA の塩基配列よりオオウズラタケと同定された。また、培養ビン内で形成された子実体の特徴も、オオウズラタケに一致した。これらの分離菌株の生育適温は35℃であった。また、スギ辺材およびブナ辺材の腐朽速度は、JIS Z 2101や K 1571で供試菌と指定されている FFPRI 0507 株と同程度に速かった。

英文要旨

Fungi isolated from fruit bodies and decayed woods were determined as *Fomitopsis palustris* on the base of ITS-5.8S rDNA sequences, which were collected at the bridge in Kagoshima pref., the frame of the bathtub in Miyagi pref. and the pole in Gifu pref. in Japan. Microscopical characteristics of fruit bodies produced in glass jars were identical with those of *F. palustris*. Optimal growth temperatures of these isolates were 35℃. Decay rates of Sugi and Buna sapwood by these isolates and FFPRI 0507 were equally fast, which is designated as a test fungi on JIS Z 2101 and K 1571.

Keywords : *Fomitopsis palustris*, fruit body, isolate, identification, decay of wood