

## ノート

## バイオルミネッセンス法による腐朽木材中の担子菌の検出

飯田 孝彦\*<sup>1)</sup> 小沼 ルミ\*<sup>1)</sup> 浜野 智子\*<sup>1)</sup> 田中 真美\*<sup>1)</sup> 瓦田 研介\*<sup>2)</sup>

## Detection of basidiomycetes in decayed wood specimens using bioluminescence assay

Takahiko Iida\*<sup>1)</sup>, Rumi Konuma\*<sup>1)</sup>, Tomoko Hamano\*<sup>1)</sup>, Mami Tanaka\*<sup>1)</sup>, Kensuke Kawarada\*<sup>1)</sup>

キーワード: 木材腐朽, アデノシン三リン酸 (ATP), 質量減少率

Keywords: Wood decay, Adenosine triphosphate (ATP), Mass loss

## 1. はじめに

木造住宅は適切な維持管理により長い耐用年数を示す一方、維持管理が不十分だと躯体の構成成分が天然高分子であることから、担子菌などによる腐朽を受け短期間で強度低下を生じることがある。阪神淡路大震災後の被害調査結果から、倒壊した木造住宅の多くに腐朽被害が確認された。国内の戸建住宅の 90%以上が木造構造物であることから、倒壊リスク評価に有効な木材の腐朽診断技術の開発は、都市直下型地震などの発生が懸念される中急務である。

腐朽診断は感覚的な手法による一次診断（目視、触診、打診）および機器類を用いた二次診断（ピロディン穿孔深度、貫入抵抗測定など）がある。これらの既存診断技術は、習得に長年の経験が必要とし、節穴など木材の有する不均一構造から誤診も多い。また、既存診断技術は、強度低下が生じる腐朽段階まで進行しないと検知できないことが多く、初期の腐朽検出が難しい。近年、分子生物学的手法による腐朽菌検出の報告例<sup>(1)~(3)</sup>があるが、同法は遺伝子解析用機器と高度な操作技術を必要とするため、簡易で迅速な診断技術としての利用は難しい。

一方、腐朽菌が木材を腐朽する過程でアデノシン三リン酸 (ATP) を代謝する。ATP は木材細胞の生分解に伴う菌体増殖などの腐朽過程で、代謝される高エネルギー物質である。そこで本研究では、バイオルミネッセンス法を用いて、木材腐朽の進行に伴い腐朽菌が代謝する木材内部の ATP の相対発光量を測定し、質量減少率測定法およびピロディン穿孔深度測定法と比較して、腐朽診断技術としての利用可能性を検討した。

## 2. 実験方法

**2.1 腐朽処理** JIS Z 2101<sup>-2009</sup> 木材の試験方法(耐朽性試験)を参考にして、供試菌として担子菌オオウズラタケ (*Fomitopsis palustris* (Berk.et Curt.) Gilbn.& Ryv.,FFPRI 0507) およびカワラタケ (*Trametes versicolor*(L.:Fr.) Pilat FFPRI

1030)を用いて、26±2°C、70%RH 以上の条件で腐朽操作を行った。

なお、試験片は、スギ (*Cryptomeria japonica* D.Don) 辺材の二方柱木取りとし、試験片形状は、質量減少率測定用には、20 mm(T)×20 mm(R)×10 mm(L)、ピロディン穿孔深度測定用には、30 mm(T)×30 mm(R)×30 mm(L)のものを用いた。また、培養基には、プラスチック製角型培養瓶(柴田科学機器(株)製、内容量約 500 ml)に、ポテトデキストロース寒天(PDA)培地を 100 ml 分注し高圧蒸気滅菌したものを用いた。1 培養基上に静置する試験片数は、質量減少率測定用では 5 個、ピロディン穿孔深度測定用では 2 個とし、それぞれ同じ培養基を 4 組用意した。

**2.2 質量減少率測定** 腐朽操作中の培養基から、1 週目、3 週目、6 週目、8 週目および 10 週目まで、1 培養基から試験片 1 個ずつ合計 4 個を取り出し、試験片表面に付着した菌糸を丁寧に除去した。最初に、試験片の中央部で均等に切断し、切断面の中心部 5 mm×5 mm を専用スワブ (クリーントレース™衛生モニタリング製品 ATP 測定用 UXL100) を用いて、10 往復拭き取り、直ちに、ルミノメーター (住友スリーエム(株)製、ルミノメーター UNG3 型) を用いて相対発光量を測定した。次に、切断後の試験片を合わせ秤量びんに入れ、JIS Z 2101<sup>-2009</sup> 木材の試験方法 4.含水率の測定方法を参考にして、60°C で恒量になるまで乾燥し質量減少率を求めた。

**2.3 ピロディン穿孔深度測定** 腐朽操作中の培養基から、2 週間ごとに 4 週目まで、1 培養基から試験片 1 個ずつ合計 4 個を取り出し、試験片表面に付着した菌糸を丁寧に除去した。取り出した試験片から 2 個を用いて、2.2 と同様に質量減少率を求めた。次に、質量減少率測定後の試験片について、ピロディン測定器 (プロセク社製、型番 6J) を用いて、ピロディン穿孔深度を測定した。残りの試験片 2 個については、2.2 と同様に中央部で切断し相対発光量を測定した。

事業名 平成 25 年度 基盤研究

\*<sup>1)</sup> 環境技術グループ\*<sup>2)</sup> ロボット事業推進部

### 3. 結果と考察

オオウズラタケおよびカワラタケによるスギ辺材試験片の腐朽期間と試験片の質量減少率の関係を図 1 に示す。腐朽の進行にともないセルロース、ヘミセルロースおよびリグニンなどの木材細胞構成成分の生分解が進むと考えられるが、オオウズラタケおよびカワラタケいずれの菌種も、腐朽開始後 1 週間までは試験片に質量減少が生じなかった。いずれの菌種も 3 週目以降は急速に木材の分解が進み、10 週目の質量減少率は、オオウズラタケで 42.4%、カワラタケで 30.7%を示した。

次に、オオウズラタケおよびカワラタケによるスギ辺材試験片の腐朽期間と試験片内部の相対発光量の関係を図 2 に示す。腐朽開始 1 週間後の試験片内部の相対発光量は、オオウズラタケ処理試験片で  $2.0 \times 10^4$  RLU、カワラタケ処理試験片で  $7.4 \times 10^4$  RLU を示した。いずれの菌種も腐朽開始後 1 週間で高い値を示し、その後は大きな増加は見られなかった。

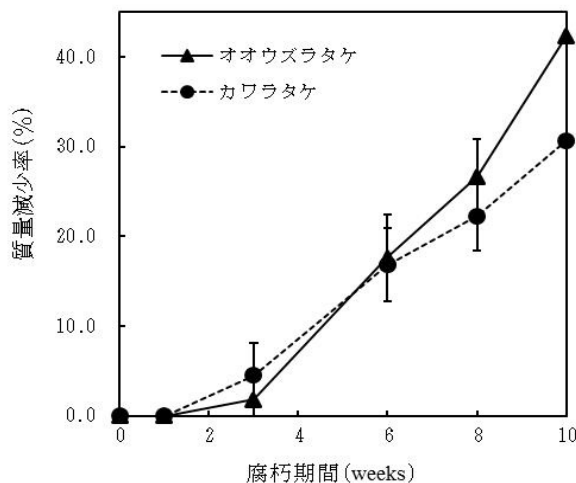


図 1. 腐朽期間と質量減少率の関係

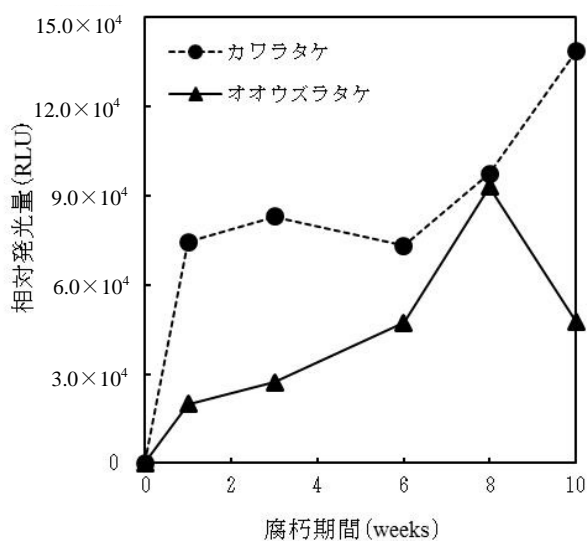


図 2. 腐朽期間と相対発光量の関係

これらの結果から、腐朽開始後 1 週間程度は、菌糸は木材細胞内に侵入し細胞内で成長するが、木材細胞構成成分の生分解がこの段階では生じていないことがわかった。バイオルミネッセンス法では、腐朽による質量減少が生じる前から、高感度に担子菌を検出できることがわかった。一方、他の腐朽診断法では、質量減少が生じる段階にならないと腐朽を確認できないことから、バイオルミネッセンス法は初期の腐朽段階で担子菌を検出できる優位性があることがわかった。

次に、オオウズラタケによるスギ辺材試験片の腐朽期間と試験片のピロディン穿孔深度の関係を表 1 に示す。腐朽を開始してから 2 週間後において、ピロディン穿孔深度は未腐朽試験片（健全材）と比べてほとんど変化が見られなかった。一方、腐朽開始 2 週間後の相対発光量は高い値を示した。このことから、バイオルミネッセンス法は木材劣化が生じない初期腐朽の段階で、高感度に担子菌を検出できることがわかった。

表 1. 腐朽初期のピロディン穿孔深度（オオウズラタケ）

腐朽期間 (weeks)	質量減少率 (%)	ピロディン穿孔深度 (mm)	相対発光量 (RLU)
0	—	22	—
2	1.4	24	$3.5 \times 10^4$
4	17.7	貫通	$2.5 \times 10^4$

### 4. まとめ

木材腐朽の進行過程の検出を、バイオルミネッセンス法による相対発光量により試みた。その結果、木材腐朽の指標である質量減少率およびピロディン穿孔深度が、ほとんど健全材と変わらない腐朽の初期段階で、高感度に担子菌を検出することができた。これは、木材細胞内に侵入した菌糸が、細胞構成成分を分解する前に細胞内で成長する段階を検出したためと考えられた。腐朽診断は、総合診断技術であり、バイオルミネッセンス法と既存診断技術の相補的利用が期待される。

本研究では、供試菌としてオオウズラタケおよびカワラタケを用いたが、実環境の住宅土台材などでは、供試菌以外の担子菌、糸状菌、細菌、藻類およびシロアリなど多様な微生物相がかかわっている。糸状菌、細菌および藻類の多くは木材腐朽を起こさないことから、今後これらの微生物が代謝する ATP の影響を調べ、バイオルミネッセンス法による腐朽診断技術の開発を継続していく予定である。

(平成 28 年 7 月 7 日受付, 平成 28 年 7 月 27 日再受付)

### 文 献

- (1) 北海道立北方建築総合研究所：「既存木造住宅の生物劣化診断手法の開発」, 平成 19 年度年報, p.9 (2007)
- (2) 吉田 誠：「遺伝子解析を木材保存学にいかす(1)-腐朽菌の検出技術を中心として-」, 木材保存, Vol.37, No.4, pp.158-164 (2011)
- (3) 吉田 誠：「遺伝子解析を木材保存学にいかす(2)-腐朽菌検出の原理とその具体例-」, 木材保存, Vol.37, No.5, pp.204-212 (2011)