

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580200

研究課題名（和文）腐朽材に対するシロアリの摂食忌避行動の解明とその現象の利用の可能性
 研究課題名（英文）Elucidation of termite-feeding deterrent action against decayed wood and the possibility to utilize the phenomenon for termite-damage prevention

研究代表者

土居 修一（DOI SHUICHI）

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：20279508

研究成果の概要（和文）：腐朽した野外暴露木杭から試料を調製して、そのままの状態あるいは乾燥した状態でヤマトシロアリの摂食忌避の有無を調べた結果、そのままの状態では明確な忌避が認められたが、乾燥後にはこの活性はほとんど消失した。この杭から分離した腐朽菌を同定した結果 *Fibroporia radiculosa* であった。この菌を純粋培養してアカマツ材を人工的に腐朽させ、上記同様の現象が再現されることを確認した。この現象を引き起こす物質は、有機溶媒による逐次抽出で *n*-ノルマルヘキサン画分に存在することが明らかになった。乾燥に伴って活性が低下するのは、この物質が揮発性を持つためと推定された。今後、この物質の詳細な分画を行って構造を確定し、その実用性について検討する予定である。

研究成果の概要（英文）：Wet and dried samples prepared from stakes decayed in the field were subjected to the termite feeding bioassay using *Reticulitermes speratus*. Termite-feeding deterrence was clearly observed on the wet sample but not on the dried sample. The fungus isolated from the stake was identified as *Fibroporia radiculosa*. The phenomenon mentioned above was also observed on Japanese red pine wood samples decayed by the fungus in a laboratory scale test. The active substances causing termite-feeding deterrence were contained in *n*-hexane fraction and possibly volatiles. In future, the extended fractionation will be conducted to clarify chemical structures of the feeding deterrents.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総 計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・木質科学

キーワード：保存・木質文化

1. 研究開始当初の背景

(1) 森林内で枯枝や切株中のシロアリを探索すると、ある種の腐朽材にほとんどシロアリが営巣・摂食していないことがある。

(2) これまでのシロアリと腐朽材の相互作用に関する研究では、褐色腐朽材が好んでシロアリに摂食されることが知られている。

例えばキチリメンタケが道しるベフェロモンとして働く代謝産物(Z, Z, E)-3, 6, 8 トリデカリエン 1-オールを作ることが知られており、これらがシロアリの営巣や摂食を促すと考えられている。しかしながら、腐朽材とシロアリの食性との関係について検討した例はほとんど見あたらず、白色腐朽菌ファネロカエテクリソスポリウムで腐朽させた材についてイエシロアリによる摂食促進効果を調べているに過ぎず、忌避効果の検証はされていない。

(3)シロアリが腐朽材を好まない原因として、腐朽材に含まれる木材の腐朽過程で生成した代謝産物あるいは腐朽材内で生育している菌糸そのものによる作用などが考えられる。

2. 研究の目的

(1)そこで、本研究では、腐朽材中で摂食忌避を引き起こす物質を探索する。

(2)この忌避現象をシロアリ被害防止に使える可能性があるか検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)ヤマトシロアリ摂食忌避行動に対する木材腐朽菌の役割を、腐朽の結果できた代謝産物の分画と生物検定などによって明らかにし、忌避物質の化学構造を推定する。

(2)その結果に基づいて、建築物の防蟻にこの摂食忌避現象が応用可能か検討した。

4. 研究成果

(1)鹿児島県日置市にある京都大学生存圏研究所の野外試験地で、トランセクト法によって枯枝や木杭のシロアリ食害と腐朽との関係を 45 試料で観察し、健全材で被害のないものは存在しないが、腐朽材では被害のないものが 26 試料で存在することを明らかにした。

(2)上記の 26 試料から小試験片を調製し、実験室的にヤマトシロアリ (*Reticulitermes speratus*) を用いて摂食試験を行った。その結果、3 試料で健全材と比較して明らかに摂食忌避効果を持つことが明らかとなった。

(3)このうち、同じ外観の腐朽菌菌糸で腐朽されたと思われる杭試料で行った選択摂食試験で、シロアリ投入から 2-3 日間は腐朽材に選択的にシロアリが集合するが、その後は健全材に移行し定着した。同じ試料を用いて強制摂食試験を行った結果、腐朽材の摂食忌避効果が明らかに示された(図 1)。

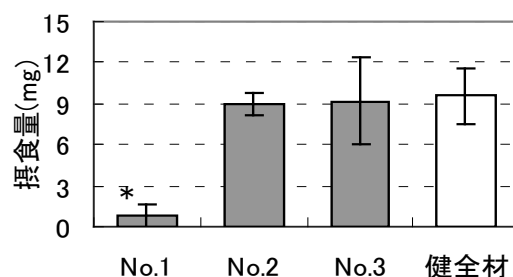


図 1 生材（そのままの状態）の強制摂食試験における摂食量

No. 1 ~3 は杭番号、それぞれが異なる杭であることを意味する。エラーバーは標準偏差を、*は健全材に対し 5%水準で有意差があることを示す。

(4)しかしながら、この腐朽材試料を風乾してからシロアリに暴露すると、選択および強制摂食試験の両方で、腐朽材の摂食量が増加することが明らかとなった(図 2)。

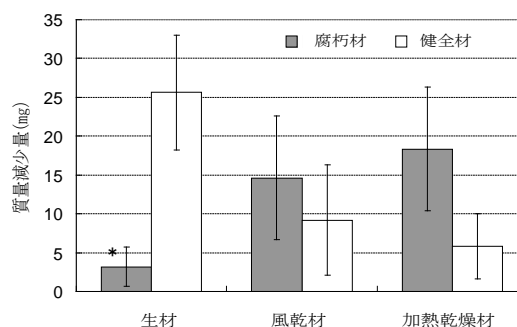


図 2 生材、風乾材、加熱乾燥材の選択摂食における摂食量、白色カラムは健全材

(5)この腐朽木杭から PDA 選択培地 (PDA+アクリロマイシン塩酸塩、ベンレート各 100ppm 含有)を用いて腐朽菌を分離し、ITS 領域のゲノム配列に依拠して同定した結果、この菌は、*Fibroporia radiculosa* であることが明らかとなった。なお、同定結果は既往の文献の記述内容とも良く一致した。

(6)*F. radiculosa*の成長に適する培地を選択するために、PDA+木粉、木粉+ペプトン、サブロー培地、麦芽エキス+グルコース、エビオス+ペプトン、PDA+エビオス、麦芽エキス、エビオス、エビオス+木粉およびPDA+木粉などの平板培地を調製して菌糸成長量を測定し、最終的にエビオス+木粉+PDA培地を選択した。(7)選択した培地を用いて、アカマツ辺材の小試験片を *F. radiculosa* の純粋培養下で腐朽させた。腐朽させたアカマツ辺材をさらに分割し、その一部をヤマトシロアリによる強

制摂食試験に供試した。腐朽操作終了後に取り出して直ちに暴露した場合には、杭と同様にシロアリの摂食が忌避されたが、乾燥後にはその活性は失われた。

(8) *F. radiculosa* は、木材を腐朽する過程で多量のシュウ酸を蓄積することが知られていることや乾燥操作によってこの一部が失われる可能性が考えられることから、摂食忌避効果はシュウ酸に依存しているのではないかと考えた。シュウ酸を浸透させたアカマツ辺材での摂食試験の結果、3000ppmになると摂食が抑制されることが明らかとなった。しかしながら、実験室的に腐朽させたアカマツ辺材のシュウ酸を定量すると共に同じ試料の一部を用いて強制摂食試験を行った。その結果、摂食忌避効果の消失は蓚酸の濃度には依存しないことが示された (図3)。

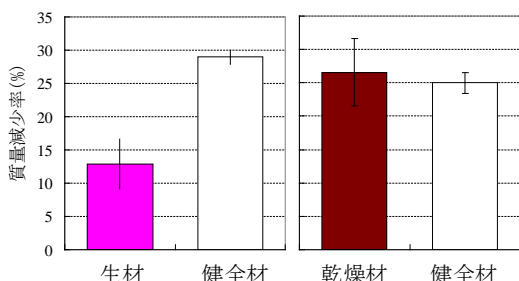


図3 木材を実験的に腐朽させ、そのままの状態(生材)あるいは乾燥後に強制摂食させた時の質量減少率

シュウ酸濃度は生材で1300ppm、乾燥材で1130ppmであり、いずれも摂食忌避を起こす濃度ではない。

(9) 次に、乾燥に伴って活性を失う物質であるという事実から、極性の低い溶媒で抽出される物質であろうという推測から、腐朽材から *n*-ヘキサン抽出物を得て、その摂食忌避効果をペーパーディスク法で検討した。その結果、腐朽材中の *n*-ヘキサン抽出物には、明確な摂食忌避活性が存在することが示された。なお、この抽出物には蓚酸のコンタミが全く存在しないことが確認された。*n*-ヘキサン抽出物を、展開溶媒に *n*-ヘキサン:酢酸エチル(1:3)を用いたペーパークロマトグラフィーによって分画し、それを等間隔に切断してシロアリによる強制摂食試験に供試した結果、図4に示すように、先端部分に活性が集中することが明らかとなった。今後、この画分につき化学成分を確定する予定である。

(10) 上記のように、腐朽材の生産する摂食忌避効果を持つ物質は、乾燥に伴って失われる極性の低いものであることが明らかとなった。この物質を蟻害防止に使用するためには、その構造を確定し、その後できるだけ忌避効

果が持続するような製剤化や誘導体の調製などが必要になると考えられる。

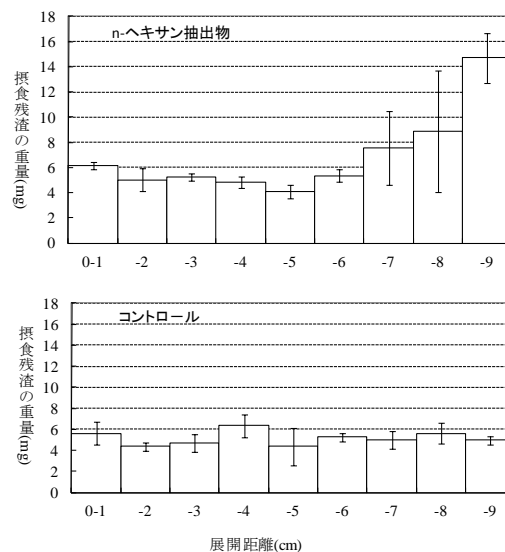


図4 腐朽材の *n*-ヘキサン抽出物をペーパークロマトグラフィーで展開した後に、10mm 間隔で裁断し、強制摂食させた後の摂食残渣質量

上図：腐朽材の抽出物、下図：健全材の抽出物をそれぞれ展開した濾紙のデータ

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計9件)

- ① R. Kaneko, K. Ohkubo, A. Nakagawa-Izumi, and S. Doi, Composition of intake sugars and emission of gases from paper sludges by *Coptotermes formosanus* Shiraki Environmental Technology, 査読有, DOI 10.1080/09593330903453269, 2012
- ② R. Kaneko, A. Nakagawa-Izumi, M. Kajiyama and S. Doi, Effects of aromatic monomers in cellulose on hydrogen emission by the termite *Coptotermes formosanus* Sociobiology, 査読有, 58(2), 2011, 367-378
- ③ A. Yanagawa, T. Yoshimura, T. Yanagawa, F. Yokohari, Detection of a humidity difference by antennae in the termite *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae), Sociobiology, 査読有, 56(1), 2011, 255-269
- ④ M. Adfa, T. Yoshimura, K. Komura, M. Koketsu, Antitermite activities of coumarin derivative and scopoletin from *Protium javanicum*, Burm. f. J. Chem. Ecol., 査読有, 36, 2010, 720-726

- ⑤ H. Hauserud, I. Bjorvandsvegarden, G-P Satre, H. Kunudsen, O. Stenstrud, O. Schmidt, S. Doi, N. Hogberg、Molecular Ecology, 査読有, 19, 2010, 706-715
- ⑥ A. Toyoumi, S. Horisawa T. Yoshimura, S. Doi, Y. Imamura, The effect of different foundation systems on the fungal flora in the crawl space of a new wooden Japanese house, Building and Environment, 査読有, 45, 2010, 1054-1060
- ⑦ S. Horisawa, Y. Sakuma, S. Doi, Qualitative and quantitative PCR methods using species-specific primer for detection and Identification of wood rot fungi, Journal of Wood Science, 査読有, 55, 2009, 133-138
- ⑧ K. Nakai, T. Mitani, T. Yoshimura, N. Shinohara, K. Tsunoda and Y. Imamura, Effects of microwave irradiation on the drywood termite *Incisitermes minor* (Hagen)、Jpn. J. Environ. Entomol. Zool., 査読有, 20(4), 2009, 179-148
- ⑨ K. Kuroda, A. Nakagawa-izumi, T. Ashitani and K. Fujita, Tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis of 2-aryl coumaran lignin model compounds, J. Analytical and Applied Pyrolysis, 査読有, 86(1), 2009, 185-191

〔学会発表〕(計 11 件)

- ① S. Nishizawa, A. Nakagawa-Izumi, S. Horisawa, T. Yoshimura, S. Doi, Feeding deterrence of *Reticulitermes speratus* on the Wood decayed by a brown rot fungus *Fibroporia radiculosa*, 2011 年 4 月 21 日、韓国、光州市
- ② S. Doi, Current technology aspects on highly durable wooden houses, 韓国木材工学会 11 回大会、2011 年 4 月 21 日、韓国、光州市
- ③ 丸尚孝、角田邦夫、吉村剛、誘引・滞留液剤によるシロアリ管理法としてのベイト工法効果発現促進、第 61 回日本木材学会大会、2011 年 03 月 20 日、京都市
- ④ 田坂太一、斉藤宏昭、土居修一、榎本敬太、非定常条件下における木材腐朽菌の菌糸定着時間に関する検討、第 61 回日本木材学会大会、2011 年 03 月 18 日、京都市
- ⑤ 中川明子、土居修一、分析的熱分解法による木材残存薬剤濃度の検出法の開発、第 61 回日本木材学会大会、2011 年 03

月 18 日、京都市

- ⑥ A. Nakagawa-izumi, M. Kishino, H. Ohi, Characteristics of regenerated cellulose and lignin from woody biomass treated in ionic liquid. PACIFICHEM 2010, 2010 年 12 月 16 日、アメリカ ハワイ州
- ⑦ 丸 尚孝、角田邦夫、吉村 剛、「ベイト工法における誘引・滞留物質の検討ーろ紙選択試験による評価ー」、日本環境動物昆虫学会第 22 回年次大会、2010 年 11 月 24 日、彦根
- ⑧ S. Nishizawa, A. Nakagawa-Izumi, T. Horisawa, T. Yoshimura, S. Doi, Feeding deterrence of *Reticulitermes speratus* on wood decayed by a brown rot fungus *Fibroporia radiculosa*, The 2nd Internal Symposium of Indonesian Wood Research Society, 2010 年 11 月 13 日、インドネシア、バリ
- ⑨ 西澤 翔太、福永 安佑子、中川 明子、土居 修一 吉村 剛 堀沢 栄、ヤマトシロアリの摂食行動に対する木材腐朽菌の影響ー*Fibroporia radiculosa*による摂食抑制効果ー、第 60 回日本木材学会大会、2010 年 03 月 18 日、宮崎市
- ⑩ 豊海 彩、吉村 剛、今村祐嗣、堀沢 栄、土居修一：担子菌の床下侵入経路と窒素源が木材腐朽菌に与える影響、第 60 回日本木材学会大会、2010 年 3 月 18 日、宮崎
- ⑪ 堀沢 栄 花田健介、土居修一、DNA 融解温度による木材腐朽菌種の識別 第 60 回日本木材学会大会、2010 年 03 月 18 日、宮崎市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土居 修一 (DOI SHUICHI)
筑波大学・大学院生命環境系・教授
研究者番号：20279508

(2) 研究分担者

中川 明子 (NAKAGAWA AKIKO)
筑波大学・大学院生命環境系・助教
研究者番号：30323249
吉村 剛 (YOSHIMURA TSUYOSHI)
京都大学・生存圏研究所・教授
研究者番号：40230809
堀沢 栄 (HORISAWA SAKAE)
高知工科大学・工学部・准教授
研究者番号：20368856

(3) 連携研究者

なし