

〔報 告〕

ナシ剪定枝堆肥化における木材腐朽菌処理効果について

Effect of treatment with wood-rotting fungi for composting of pruned pear tree branches

北尾 文人・角野 貴信・藤沼 康実・佐藤 伸

KITAO Fumio · KADONO Atsunobu · FUJINUMA Yasumi · SATO Shin

要旨：鳥取県内のナシ園では、毎年大量の廃棄枝が剪定によって発生する。本研究では木質資源の有効活用方法の一つとして、木材腐朽菌によるナシ剪定枝の堆肥化を試みた。実験では木材腐朽菌 *Trametes versicolor* (カワラタケ) TUES-036株、*Steccherium murashkinskyi* (ニセニクハリタケ) FK-T1株、並びに *Pleurotus ostreatus* (ヒラタケ) TUES-011株を用い、これらの菌糸をナシ剪定枝から調整した木粉培地に接種して、25℃、30～90日間培養を行った。そして培養後の菌処理した培地バイオマス全体の重量、木材成分、炭素原子、並びに窒素原子の含有量と、炭素と窒素の元素量比 (C/N 比) を調べた。その結果、*T. versicolor*、および *S. murashkinskyi* で処理したものでは60日間で40%以上のバイオマス量の減少、窒素量の増加に伴う C/N 比の著しい低下が認められた。パーク堆肥の完熟基準と比較して、両菌株で処理した木粉の C/N 比の値は一般的なパーク堆肥としてみなされるものであった。本研究によって、木材腐朽菌処理がナシ剪定枝の堆肥化に効果があることが明らかとなった。

【キーワード】 ナシ剪定枝、堆肥化、生物処理、木材腐朽菌

Abstract : Large amount of disposal branches of pear trees by pruning has produced in pear plantation of Tottori prefecture every year. As one of the effective utilization methods for the waste wood resource, we tested treatment with wood-rotting fungi for composting of the pruned pear tree branches. In this research, wood-rotting fungi, *Trametes versicolor* TUES-036, *Steccherium murashkinskyi* FK-T1, *Pleurotus ostreatus* TUES-011 were used. Those fungal mycelia were inoculated to wood culture prepared from pear tree branches, and incubated at 25°C for 30-90 days. After the incubation, total weight of culture biomass, component of the wood materials, relative content of carbon and nitrogen, and the ratio of carbon to nitrogen were analyzed. The results showed that over 40% weight loss of total wood biomass and significant reduction on C/N ratio associated with an increase in nitrogen content in the media after treatment with *T. versicolor* and *S. murashkinskyi* for 60 days. Comparing to a mature index of bark composts, the values of C/N ratio in the wood treated by these fungi were regarded as those of the general bark compost. In this study, we demonstrate that fungal treatments are effective for composting of pruned pear tree branches.

【Keyword】 Pruned pear tree branches, Composting, Biological treatment, Wood-rotting fungi

1. 緒言

鳥取県は二十一世紀梨をはじめとする日本ナシの代表的な産地であり、栽培が盛んである。そのナシ栽培における重要な作業として剪定がある。剪定は果樹の樹勢を

整え、花芽の着生と果実の着実向上を目的に行われる。

剪定作業によって、毎年ナシ園内では剪定廃棄枝が大量に発生する。

剪定廃棄枝は、園内にそのまま放置されると、果樹の

樹勢を弱める白紋羽病の温床となることから、かつては薪として燃料利用されていた。しかし時代とともに薪の利用機会が減り、園内で野焼きにより処理されてきたが、2002年の「廃棄物の処理および清掃に関する法律」の施行によって剪定枝の野焼きは原則禁止となり、剪定廃棄枝の処分は農家にとって大きな悩みとなっている。

果樹や街路樹などの剪定残材は主に、焼却、埋め立て、堆肥化によって処理されている。焼却や埋め立ては農地への還元効果が比較的小さい。一方、堆肥化し利用する方法は、その果樹園で発生する資源を果樹の養分として直接農地に還元する効果が高い。しかし、剪定枝の堆肥化には大きな問題がある。

一般的な剪定枝の堆肥化は、廃棄枝をチップで粉碎後、鶏糞などの窒素源を加えて混合し、そのまま野外で野積みにする方法で行われ、微生物の発酵促進のための定期的な切り返しと灌水作業を必要とする。この方法によって剪定枝は完熟堆肥として利用可能となるが、リンゴの場合では、堆肥として完熟するまでに200日を要することが報告されている¹⁾。剪定枝が分解完熟するまでに長期間を要する理由として、木材の化学成分とその立体的な構造が強く影響していると考えられる。

木材の成分は一般的に、セルロース、ヘミセルロース、リグニンからなり、その組織はセルロース分子の集合体であるセルロースマイクロフィブリルの隙間にヘミセルロースとリグニンが充填された形で構成される。セルロースは地球上最も大量に存在するバイオマスである。ヘミセルロースもまたセルロースの一部が枝分かれした構造からなる。どちらも多糖類であり、自然界の微生物によって分解され、生物のエネルギー代謝プロセスに取り込まれて利用される。一方、リグニンはフェニルプロパンユニット同士が、分子内でランダムに炭素-炭素結合やエーテル結合で結合して高次構造を形成している。このような不規則な結合を持った芳香族化合物である高分子リグニンは自然界では殆ど分解されない。

木材を堆肥化した場合、その成分に窒素が殆ど含まれていないため、必然的に極めて高い炭素/窒素比 (C/N比) となる。C/N比の高い肥料の施行は、土壤中の炭素量増加に伴って本来植物体に吸収されるべき窒素源が微生物によって消費され、植物の生育を阻害する窒素飢餓状態を引き起こす²⁾。さらに、未熟な木質堆肥から遊離するリグニン由来の水溶性フェノール類が、植物の生育を阻害することも知られている³⁾。これらのことから、剪定枝を堆肥化する場合には木材成分のうち、特に水溶性フェノール類のもととなるリグニンを除去しながら、C/N比を堆肥の目安となる値まで下げることが求めら

れる。

自然界には木材の分解に関与する微生物がわずかではあるが存在し、その多くは糸状菌に属する。糸状菌の中でもきのこなどの木材腐朽菌は、木材の主要3成分を同時に分解し、無機化する。特に材の白腐れを引き起こす白色腐朽菌は、難分解性のリグニンに対し強い分解能を持つことから、木材の糖質成分利用のための生物変換や、環境汚染物質である多環式芳香族化合物の分解に応用されている。これまでに街路樹や果樹剪定枝の堆肥化に白色腐朽菌を利用した研究もあるが^{4,5,6)}、実用化には至っていない。

本研究では、筆者らが自ら鳥取県東部で採取、分離した木材腐朽菌3菌株を用い、鳥取県内のナシ園で発生した剪定枝の分解、堆肥化を試みた。木材腐朽菌で処理したナシ材中の炭素と窒素の含有量、並びにC/N比を分析して、堆肥化における腐朽菌処理の効果を検証した。

2. 試験方法材料と方法

2-1 供試菌

本研究では、白色腐朽菌として知られる木材腐朽菌、*Trametes versicolor* (和名：カワラタケ) TUES-036株、*Steccherinum murashkinskyi* (和名：ニセニクハリタケ) FK-T1株、*Pleurotus ostreatus* (和名：ヒラタケ) TUES-011株を用いた。*T. versicolor*、および *S. murashkinskyi* は鳥取県東部で採取、分離したもの、*P. ostreatus* は大学キャンパスの雑木林で採取、分離したものである。いずれも子実体や胞子などの形態的特徴を統合して種を同定した。

2-2 培地の作成

材料として使用したナシ剪定枝は、鳥取市河原町小倉地区の果樹園から入手した。直径3cm程度の剪定枝をマルチチップ-KC40 (KIORITZ) で粉碎し、ふるいにかけ2~4mm²に揃えた小チップに近い木粉を調整した。

腐朽菌による菌処理では、300mL容三角フラスコに乾燥重量10gのナシ木粉と18.8mLの蒸留水のみを加え、オートクレーブ処理をした。このフラスコに、25℃、7日間ポテトデキストロース寒天 (Difco) 上で前培養した *T. versicolor* TUES-036、*S. murashkinskyi* FK-T1、*P. ostreatus* TUES-011をφ7mmコルクボーラーで打ち抜き、菌糸の付着した寒天ディスクを1つのフラスコに対して5つずつ植菌した。このフラスコをそれぞれの菌株ごとに3本ずつ作成し、25℃で、30、60、90日間静置培養した。培養後、木粉培地を菌糸が付着したままフラスコから回収し、培地バイオマス全体の重量測定と木質成分の化学分析に供した。

2-3 ナシ材成分組成分析

菌処理後の木粉全体の重量測定と、成分の化学分析を行った。まず、菌処理したナシ木粉を培養フラスコから回収し、85℃、48時間乾燥させた。その後、菌処理していないナシ木粉をコントロールとして木粉全体の重量減少量を測定した。菌処理した木粉培地をカッターミル(ミルサーIFM-800DG, IWATANI)で粉碎し、微粉状の木粉を組成分析に用いた。木粉成分のうち、リグニンの定量はクラークソン法に従って行った。絶乾木粉0.3gを50mL容ガラスバイアルに加え、72%(v/v)硫酸4.5mLをガラス瓶の中に少しずつ加え、氷水浴中で2.5時間攪拌しながら反応させた。その後、171mLの蒸留水を加えながら300 mL容フラスコに移し、121℃、1時間オートクレープした。室温まで冷ました後にガラスフィルター(GA100)を用いて吸引ろ過し、ガラスフィルターごと85℃、48時間乾燥させ、フィルター上の残渣重量(酸不溶性画分)を測定した。

次にセルロースとヘミセルロースを含むホロセルロースの定量では、50mL容ガラスバイアルに菌処理した梨木粉0.25gを加え、そのバイアルに次亜塩素酸ナトリウム0.1g、酢酸20 μ L、蒸留水15mLを加え、80℃の温浴中で静置で反応させた。そして、1時間ごとに等量の次亜塩素酸ナトリウムと酢酸を3回添加した。この溶液をガラスフィルターで吸引ろ過し、フィルターごと85℃、48時間乾燥させ、フィルター残渣の重量を測定した。

2-4 炭素、および窒素含有率の定量

菌処理した木粉に含まれる炭素元素と窒素元素の含有

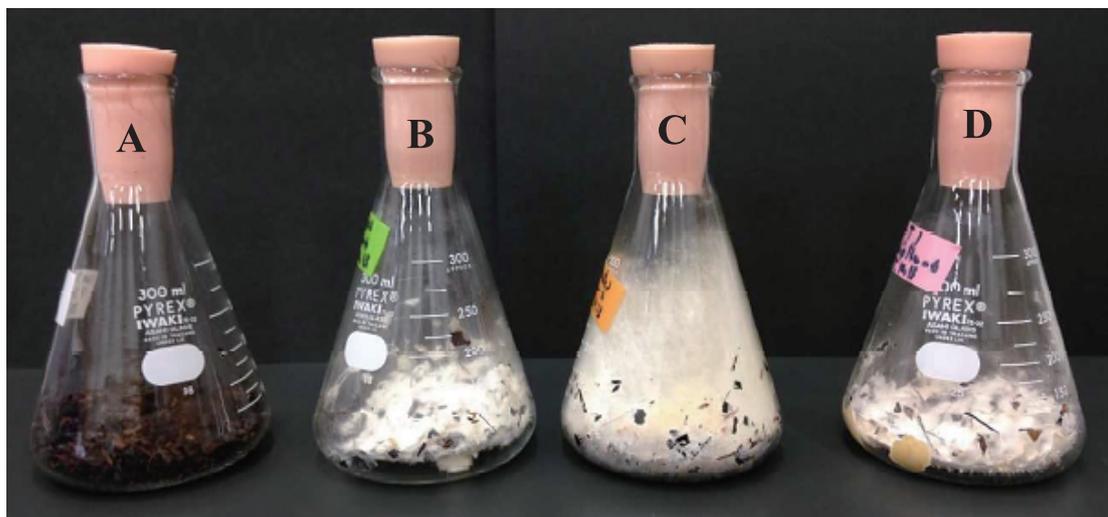
率について、C/Nコーダー(Yanaco MT-700Mark2)を用いて乾式燃焼法にて測定した。1分析につき100mgの木粉を使用し、試料を装置内で950℃で加熱した時に生成するCO₂とN₂の質量から炭素、窒素含有率と、炭素と窒素の重量含有比(C/N比)を求めた。

3. 結果および考察

3-1 木材腐朽菌によるナシ木粉の腐朽

本研究では木材腐朽菌3菌株を用いてナシ剪定枝由来の木粉を処理し、腐朽後の木材培地が堆肥としての性質を持つかどうかを調べた。図1は培養開始から90日目の培養フラスコ中で成長した菌体の様子である。菌体量はそれぞれの菌株で大きく異なり、見た目の菌体量は*P. ostreatus*が最も多かった。図2は培養フラスコに含まれる全培地バイオマスの重量の時間に対する推移を表している。

図2の結果から、*T. versicolor*と*S. murashkinskyi*で処理した培地の総重量は、培養時間の経過とともに徐々に減少し、培養90日目には60%以下にまで減少した。このことは*T. versicolor*と*S. murashkinskyi*の両菌がナシ剪定枝木粉をCO₂にまで分解し、フラスコ外部にその気体が放出されたことを示している。*P. ostreatus*を植菌した試験区についても、上記2菌株と同様に分解が見られ、培養30日目で22%の重量が減少したが、その後変化が認められなかった。*P. ostreatus*で培養30日以降重量変化が認められなかった理由として、*P. ostreatus*の菌体重量の増加分が影響しているものと推察される。



A; コントロール (未植菌), B; *T. versicolor*, C; *P. ostreatus*, D; *S. murashkinskyi*.

図1 90日間ナシ木粉培地上で生育した菌体の様子

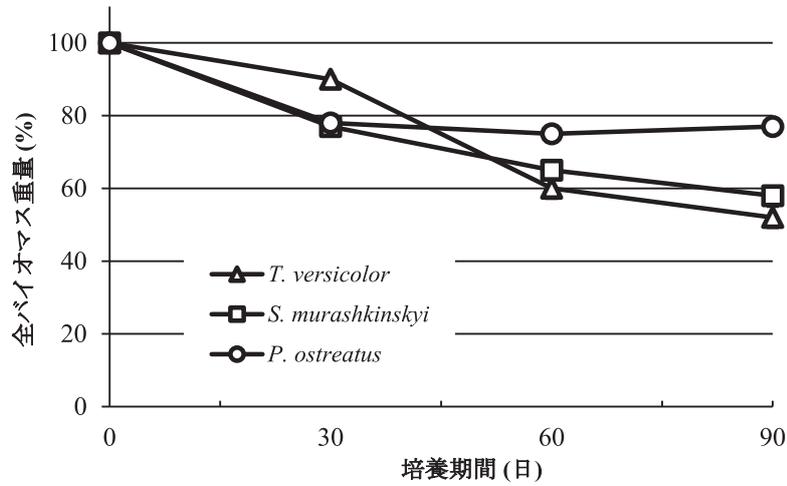


図2 フラスコに含まれる全バイオマス重量の経時的な減少推移

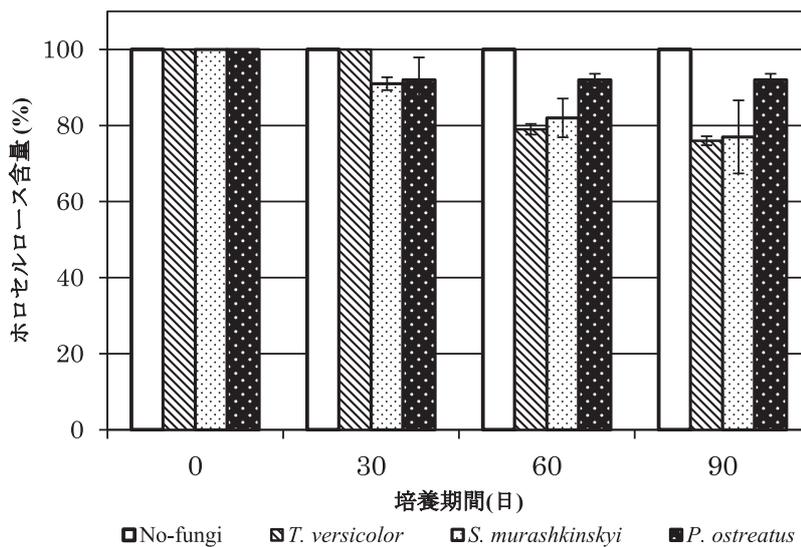


図3 菌処理後に見られたナシ木粉中のホロセルロース含量の変化

3-2 菌処理による木材成分の変化

菌処理がナシ木粉の化学組成に及ぼす影響を調べた。図3はホロセルロース含量の経時変化を表したものである。この結果から *T. versicolor* と *S. murashkinskyi* を植菌したものは培養とともに重量が減少し、90日目では20%以上の減少となった。*P. ostreatus* を植菌したものは、培養30日目まで10%減少し、それ以降は変化しないという結果であった。

次にリグニン含量の変化について図4に示す。*T. versicolor* と *S. murashkinskyi* については培養30日目から90日目までリグニン含量は大きく変化しなかった。一方で、*P. ostreatus* では培養60日目で大幅なりグニン量の減少が見

られ、培養90日目では17%の減少率となった。

図3、4の結果から、それぞれの菌によってナシ木粉を分解する形態が異なることが明らかとなった。*T. versicolor* と *S. murashkinskyi* は木粉中のセルロースを主に分解したことが起因の培地の重量減少であったと考えられる。この結果は *T. versicolor* と *S. murashkinskyi* はエネルギー代謝と菌体成長の栄養源となるグルコースをまず獲得するため、培養期間中にリグニン分解よりも糖質分解機構が強く働いたことを示唆している。両菌はもともとリグニンを分解する機構を備えていることから、培養を90日以上に続けることでリグニン分解が進行することが予想される。一方、*P. ostreatus* では培養始めの30日間

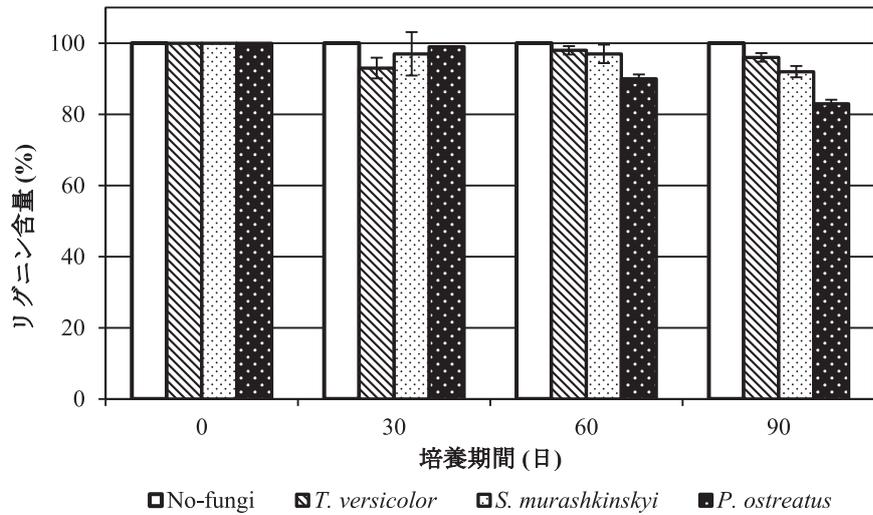


図4 菌処理後に見られたナシ木粉中の酸不溶性リグニン量の変化

表1 菌処理によって見られたナシ木粉中の全炭素、および窒素量の経時変化

培養 (日)	コントロール		<i>T. versicolor</i>		<i>S. murashkinskyi</i>		<i>P. ostreatus</i>	
	C (%)	N (%)	C (%)	N (%)	C (%)	N (%)	C (%)	N (%)
30	47.3 ± 2.7	0.9 ± 0.1	48.4 ± 0.7	1.1	48.1 ± 0.7	1.2	48.7 ± 0.4	1.2
60	48.7 ± 1.5	1.1	45.2 ± 1.8	1.6 ± 0.1	45.9 ± 2.9	1.5 ± 0.1	48.1 ± 1.8	1.2
90	46.7 ± 0.3	1	46.4 ± 0.4	1.8	47.1 ± 0.6	1.7	45.8 ± 1.2	1.3

*コントロールは菌未処理のナシ木粉の含有量を示す。C：炭素量、N：窒素量

で糖質分解が停滞し、その後リグニン分解のみが進行した。*P. ostreatus* は他の2菌株と比較して培養の早い段階からリグニンを優先的に分解し、利用しているものと推察される。

3-3 菌処理が及ぼす木粉培地の炭素、窒素含有量とその重量比の変化

菌処理したナシ木粉に含まれる炭素、および窒素含有量と、炭素/窒素含有比 (C/N比) をCNコーダーにより分析した。表1は菌処理後の木粉培地に占める炭素、および窒素含有率を表している。まず炭素 (C) 含有率について、菌を植菌していないコントロールでは培養30日から90日にかけて47.3%から46.7%にわずかに減少していた。菌処理したものでは、コントロールよりも若干の減少が見られたものの、大きな違いは認められなかった。

一方、窒素含有量については菌処理したもの全てにおいて、コントロールと比較して明らかな増加が認められた。特に *T. versicolor* と *S. murashkinskyi* では培養60日を

経過すると菌未処理区と比べて1.5倍以上の高い値を示した。これらの増加した窒素量は、成長した菌体や、菌体から細胞外に分泌された酵素や有機酸などに由来すると考えられる。

図5は木粉試料に占める炭素含有率と窒素含有率の相対比 (C/N比) を表している。*T. versicolor* で処理したナシ木粉では、培養30日から60日にかけてC/N比が急激に減少し、培養90日間では菌未処理区の約半分まで低下した。また、*S. murashkinskyi* で処理した木粉も、培養90日間では28.3にまで低下した。*P. ostreatus* で処理したものは培養90日目で36であり、減少率は他の2菌株と比較して緩やかであった。

日本パーク協会の定めるパーク堆肥の完熟基準は、バイオマスに占める全窒素含有率が1.2、C/N比は30としている⁷⁾。本研究の *T. versicolor* と *S. murashkinskyi* で処理したナシ木粉は培養60日目以降で窒素含有率、C/N比ともにパーク堆肥の完熟条件を満たしていることが示された。また、*P. ostreatus* で処理した木粉も培養60日目以

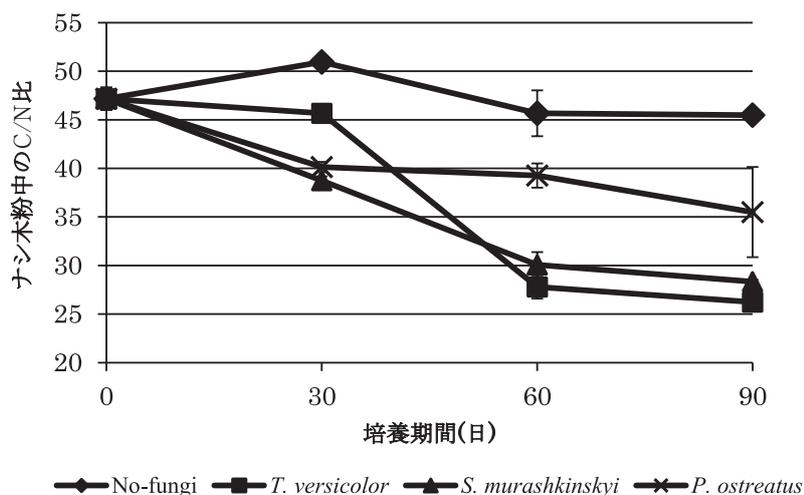


図5 菌処理後のナシ木粉に含まれる窒素に対する炭素の含有率の相対比(C/N比)

降の全窒素含有率が1.2を超え、窒素量だけに注目すると堆肥としての基準を満たしていることから、さらに培養期間を長くすることで堆肥の基準を満たす可能性が高い。藤原らは街路樹剪定枝を4ヶ月間野外に野積みで堆肥化した結果、炭素含有率43.5%、窒素含有率1.63%、C/N比は26.7となり、腐熟は進んだ一方で、堆肥中のリグニン含有率に変化がなかったことを報告している⁸⁾。本研究では、C/N比の低下と同時に木材成分のリグニンも分解されている。さらに菌処理期間を長くすれば、果樹の根を枯らす病気である白紋羽病の発生が抑えられるとされる20以下にまでC/N比が低下し、リグニン分解もさらに進むことが期待される。

本研究では、身近な環境で採取し単離した木材腐朽菌を使い、3菌株中2菌株で処理した剪定枝がパーク堆肥の完熟基準を満たすC/N比を60日間で達成した。カラタケのような極めて一般的な木材腐朽菌で十分に堆肥の基準を満たす処理ができたことから、自然界には短期間にナシ剪定枝を腐熟させる菌が他にも多く存在することが予想される。

また、本実験で使用したナシ剪定枝そのものも材料として堆肥化しやすいものであったことも考えられる。一般的に、広葉樹は針葉樹や常緑樹に比べて木材腐朽菌による作用を受けやすいことから、落葉広葉樹であるナシ材は菌処理の影響が顕著に現れた可能性が高い。

今回の実験では、培地中に木粉と水のみ添加した培地で菌糸成長が見られ、木材の分解と腐熟が進むことが示された。通常、木材は窒素を殆ど含まないことから、図1で見られたような菌体量の著しい増加が起きた理由について、再現性も含めて今後の研究課題としたい。

4. まとめ

本研究では、ナシ剪定枝堆肥化のための木材腐朽菌処理の効果について検討を行った。その結果、木材腐朽菌 *T. versicolor* と *S. murashkinskyi* で60日間以上処理したナシ木粉は菌未処理のものと比較してC/N比の著しい低下が認められ、このC/N比の値は一般的なパーク堆肥の基準値と比較して、堆肥とみなされるものであったことから、ナシ剪定枝の堆肥化には木材腐朽菌処理が有効であることが示された。

謝辞

本研究で使用した木材腐朽菌 *S. murashkinskyi* (ニセクハリタケ) の種の同定は、鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源センターの牛島秀爾助教に協力いただきました。

また、ナシ木粉中の炭素、および窒素含有量の分析では鳥取県農業試験場・環境研究室の坂東悟博士、丸山礼博士にご指導いただきました。本研究にご協力いただきました方々には、深く感謝の意を表します。

なお、本研究は平成26年度公立鳥取環境大学学内特別研究費助成を受けて行われたものである。

参考文献

- 1) 坂本清・青山正和 (2004) 「リンゴ剪定枝の堆肥化においてチップ粒度が腐熟に及ぼす影響」, 日本土壌肥料学会誌, 75(5) pp. 583-591.
- 2) 西尾道徳 (2007) 「堆肥・有機質肥料の基礎知識」, 農山漁村文化協会.
- 3) 吉田重方 (1975) 「オガクズに含まれるフェノール

- 性酸の分離とその生長阻害活性について」, 日本草地学会誌, 21(4)pp. 327-330.
- 4) 及川直子・岩城未佳・押田敏雄 (2008) 「白色腐朽菌を利用した剪定枝チップの分解-樹木種および菌種による分解様式の比較」, 家畜衛生学雑誌, 34(2) pp. 61-68.
- 5) 上田恵子・亀井一郎・金子周平・荒木雅登・兼子明・水海吉太郎・田中研実・近藤隆一郎 (2013) 「製剤化ヒイロタケ (*Pycnoporus coccineus*) による果樹剪定枝残さ迅速分解」, 木材学会誌, 59(5)pp. 261-268.
- 6) 横山とも子・吉井幸子 (2006) 「ナシ樹木廃材分解剤及びナシ樹木廃材分解方法」.[特許:2006-272114 (P2006-272114A)]
- 7) 藤原俊六郎 (1993) 「有機物の腐熟度判定法」, 有機質資源化推進会議編, 有機廃棄物資源化大辞典, 農山漁村文化協会, pp. 41-49.
- 8) 石原達夫 (1988) 「木材成分の酵素分解について」, 木材保存, 14(1)pp. 2-7.
- (受付日2015年9月1日 受理日2015年11月11日)