

日本木材学会

北海道支部講演集

第51号

令和元年11月

日本木材学会北海道支部

札幌

日本木材学会北海道支部講演集

第 51 号

目次

<口頭発表> 12:30-16:33

- 1) -20℃と高濃度糖液を用いたシイタケ菌株の凍結保存ーグルコースおよびマルトースの保護効果ー ..... 1  
○梶暉、富樫巖（旭川高専）
- 2) -20℃と高濃度糖液を用いたシイタケ菌株の凍結保存ースクロース、トレハロース、フルクトースの保護効果ー ..... 5  
○横田喬央、富樫巖（旭川高専）
- 3) -20℃と-50℃を用いたシイタケ菌株とヒラタケ菌株の凍結保存 ..... 9  
○鬼柳春花、富樫巖（旭川高専）
- 4) 白色腐朽菌はリグニンを“食べる”のか？ ..... 13  
○永井翔龍、重富顕吾、生方信（北大院農）
- 5) カラマツを用いたトキイロヒラタケ栽培について ..... 15  
片桐琴羽、○玉井裕（北大院農）
- 6) 菌床シイタケの発生に及ぼすヤナギ由来成分の効果 ..... 16  
○原田陽、折橋健、檜山亮（道総研林産試）
- 7) きのこと菌株の高温培養を用いた再選抜と選抜株の生物学的特徴 ..... 19  
○齋藤沙弥佳、宜寿次盛生、米山彰造（道総研林産試）
- 8) アセチル化セルロースナノファイバーから作製した透明な紙 ..... 21  
○平良尚梧、幸田圭一、浦木康光（北大院農）、金野晴男（日本製紙）、  
島本周（ダイセル）
- 9) 樹木の葉を対象としたリグニン定量法の検討 ..... 22  
○富山脩太郎、幸田圭一、宮本敏澄、浦木康光、玉井裕（北大院農）
- 10) マツ科 3 種の樹皮組織における分泌性細胞間隙の解剖学的特徴 ..... 24  
○長澤愛美、金森勇樹、山岸祐介、佐野雄三（北大院農）

- 11) チドリノキとハウチワカエデの茎頂培養…………… 26  
○竹内信吾、佐野雄三、荒川圭太、山岸祐介（北大院農）
- 12) 木質バイオマス燃焼灰の活用に向けた検討（3）－農用地での用途に関する検討－… 29  
○折橋健、西宮耕栄、山田敦、安久津久、原田陽（道総研林産試）
- 13) 芦別産ドイツトウヒの材質試験 …………… 32  
○村上了、大崎久司（道総研林産試）
- 14) スパンを変えた道産 CLT の破壊性状と強度変化の検討…………… 36  
○川合慶拓、澤田圭、佐々木貴信、佐々木義久（北大院農）
- 15) CLT 同士のスカーフジョイントによる二次接合の曲げ性能…………… 39  
○小林玲陽(北大農)、佐々木貴信、澤田圭、佐々木義久（北大院農）、  
山内秀文(秋県大木高研)
- 16) 体育館床の木質フローリングにおける割れ発生要因の基礎的検討…………… 41  
○高山光子（道総研林産試）、小野昭則（サンポット（株））、浦弘達（空知単板工業（株））
- 17) 被覆処理による CLT の耐水性評価に関する実験的検討…………… 45  
○本宮由美子（北大農）、佐々木貴信、澤田圭、佐々木義久（北大院農）、  
山内秀文（秋県大木高研）
- 18) 30年間屋外使用された集成材の耐久性評価（第3報）曲げおよびせん断性能 ……… 47  
○中村神衣、古田直之、宮崎淳子、平林靖（道総研林産試）
- 19) The window renovation technique of historical building in cold area. < The renovation technique of timber windows for sustaining building design and original manufacturing technique as founding age and for long life utilizing, in this case we tried newest technologies of thermally modified wood. >…………… 49  
○Nobuo Iida, Hideharu Nakano, Sueji Toukairin, Takuya Okamura（IWS）、  
Kazuyuki Watanabe（Hokuden Engineering Design and Consulting Co.,Inc）

- 座長 1-5) 米山彰造（道総研林産試）  
6-9) 重富顕吾（北大院農）  
10-14) 関 一人（道総研林産試）  
15-19) 幸田圭一（北大院農）

## −20℃と高濃度糖液を用いたシイタケ菌株の凍結保存 - グルコースおよびマルトースの保護効果 -

○梶 暉, 富樫 巖 (旭川高専)

### 【緒言】

菌体ディスク法を用いた食用菌の凍結保存については、菌種や菌株および凍結保護液による差異があるものの、−20℃では−85℃や−196℃と比べて菌株の生存率が低いことが報告<sup>1)</sup>されている。一方、演者らは食用菌の凍結保存の低コスト化を狙い、家庭用冷凍庫の温度レベルの利用可能性を検討してきた<sup>2)</sup>。その結果、−20℃で凍結保存が難しいとされるシイタケ (*Lentinula edodes* (Berkeley) Pegler) 菌株<sup>1)</sup>において、グルコースやマルトースの高濃度糖液を凍結保護液とすると、10%(w/w)グリセリン水溶液と比較して生存率が改善することを見出した<sup>3)</sup>。

本研究では、凍結保護液として40%(w/w)のグルコース水溶液とマルトース水溶液を用い、−20℃凍結の前処理(7℃と25℃で24時間放置)が保存菌株の生存率に及ぼす影響、−20℃凍結で12~16週間保存した菌株の菌糸再生挙動(菌糸伸長量)を観察した。

### 【実験方法】

#### 供試菌株と保存用菌体ディスクの調製方法

供試菌株には、旭川高専保存株のANCT-05072とANCT-05152、コレクション株のNBRC 30877とNBRC 31864の合計4菌株を用いた。いずれもPDA培地(日水製薬製)で継代培養保存していたものである。各供試菌株を直径90mmのPDA平板培地に接種後、25℃で2週間培養したコロニーからコルクボーラーで培地ごと打ち抜くことで直径5mmの保存用菌体ディスクを得た。

#### 凍結保護液と−20℃での凍結保存方法

40%(w/w)のグルコース水溶液とマルトース水溶液を凍結保護液とし、高圧蒸気滅菌(121℃, 15分)後に供試した。1.5mlエッペンドルフチューブ(以下、チューブ)に菌体ディスクを5個入れ、約1mlの凍結保護液を満たした。7℃または25℃で24時間放置する前処理を施し、−20℃で最大16週間の保存(一部の試験区)を行った。なお、前処理なしの試験区も設けた。

#### 解凍方法、生存率の測定、および菌糸伸長量の測定

経時的にチューブをサンプリングし、30℃のアルミブロックに5分間投入して解凍を行った。1枚のPDA平板培地に解凍した5個の菌体ディスクを接種し、25℃で10日間培養した。接種した同ディスクから菌糸が再生し、PDA平板培地に菌糸が活着した時点で生存と判断して生存率を求めた。5個の菌体ディスクの活着で生存率100%となる。

菌糸伸長量については、PDA平板培地の中央に菌体ディスク1個を接種し(1組で5枚の平板培地使用)、25℃で10日間培養して生存率を求めると共に、各平板培地のシャーレ裏面に直交する直線を引き、菌体ディスクの縁から菌糸の先端までの4方向を継時的に測定した。継代培養株をコントロールとして同様に菌糸伸長量の測定を行った(反復数3)。

### 【結果および考察】

#### 40%グルコース水溶液を用いた−20℃凍結後の生存率に及ぼす前処理の影響

40%(w/w)グルコース水溶液を凍結保護液として−20℃凍結保存(9~12週間)したシイタケ4菌株の生存率を表1に示す。ANCT-05072とANCT-05152については現時点で9週間までの凍結保存であるが、いずれの試験区でも生存率100%となった。データは示していないが、9週間凍結後の菌体ディスクが生存率100%に達するまでの培養期間に注目すると、前処理なし区よりも前処理を施した試験区で短い傾向がみられた。NBRC 30877では、10週間凍結後のデータのみであるが、前処理なし区で生存率0%であるのに対して前処理を施した両試験区が生存率100%となった。NBRC 31864は4週間凍結後に前処理なし区で生存率0%となり、10週間凍結後に生存率100%を維持したのは25℃前処理区のみであった。12

週間凍結後でも 25℃前処理の生存率の高さが確認された（生存率 80%）。

供試菌株によって-20℃凍結期間と生存率の関係が異なるが、NBRC の 2 菌株の挙動から 40%(w/w) グルコース水溶液を凍結保護液とした場合の前処理の有効性が確認できる。

#### 40%マルトース水溶液を用いた-20℃凍結後の生存率に及ぼす前処理の影響

40%(w/w) マルトース水溶液を凍結保護液として-20℃凍結保存（10～16 週間）したシイタケ 4 菌株の生存率を表 2 に示す。ANCT-05072 の前処理なし区では、4 週間凍結後に生存率が大きく低下し、9 週間後に生存率の値が上昇したものの 16 週間後に生存率 0%となった。ANCT-05152 の前処理なし区では、16 週間後の生存率が 60%に低下した。一方、両 ANCT 菌株共に 25℃前処理区では 16 週間凍結後にも生存率 100%を維持し、7℃前処理区では生存率 80%であった。NBRC の 2 菌株では-20℃凍結・10 週間までの結果であるが、前処理なし区の生存率がいずれも 0%となったのに対し、NBRC 30877 の生存率は両前処理区で 80%、NBRC 31864 の生存率は 7℃前処理区 60%、25℃前処理区 100%となった。データは示していないが、凍結期間の長さと共に菌体ディスクが生存率 100%に達するまでの 25℃培養期間が長くなる傾向がみられた。

供試菌株によって差異があるが、40%(w/w)マルトース水溶液を凍結保護液とした場合には、顕著な前処理効果が確認され、10～16 週間凍結では 7℃よりも 25℃での前処理効果が期待できる。40%(w/w)グルコース水溶液の NBRC 31864 でも 10～12 週間凍結で 25℃前処理効果が優れており、-20℃凍結期間が長期になるほど 25℃前処理の有効性が期待できる。

#### -20℃凍結保存株の菌糸伸長量

-20℃凍結や凍結保護液の影響を把握するために、保存後の菌体ディスクから再生する菌糸体の菌糸伸長量を継時的に測定した（25℃・10 日間培養）。一例として、40%(w/w)マルトース水溶液で 16 週間保存した ANCT-05072 と ANCT-05152 の結果を図 1 と図 2 に示す。両菌株共に継代培養菌株のコントロールの菌糸再生が早く（培養 1～2 日以内に活着）、培養 10 日後の菌糸伸長量が最も大きくなった。以下に 25℃前処理区、そして 7℃前処理区と続いた（培養 3～4 日後に活着）。前処理なし区では、ANCT-05072 が生存率 0%のために菌糸伸長がみられず、ANCT-05152 では活着までに培養 5～6 日を要して菌糸伸長の遅れが顕著であった。前処理によって菌体ディスクの寒天培地と菌糸体に凍結保護液の糖分子が取り込まれることで、-20℃凍結のストレスが軽減された可能性がある<sup>4)</sup>。以上の菌糸伸長挙動からも、7℃よりも 25℃での前処理効果が優れると考えられる。

表 1. 40%(w/w)グルコース水溶液を凍結保護液とした-20℃凍結後の供試菌株の生存率

| 供試菌株       | 前処理       | 生存率 (%) |      |      |                 |       |
|------------|-----------|---------|------|------|-----------------|-------|
|            |           | 凍結期間    |      |      |                 |       |
|            |           | 1 週間    | 4 週間 | 9 週間 | 10 週間           | 12 週間 |
| ANCT-05072 | なし        | 100     | 100  | 100  | - <sup>a)</sup> | -     |
|            | 7℃・24 時間  | 100     | 100  | 100  | -               | -     |
|            | 25℃・24 時間 | 100     | 100  | 100  | -               | -     |
| ANCT-05152 | なし        | 100     | 100  | 100  | -               | -     |
|            | 7℃・24 時間  | 100     | 100  | 100  | -               | -     |
|            | 25℃・24 時間 | 100     | 100  | 100  | -               | -     |
| NBRC 30877 | なし        | -       | -    | -    | 0               | -     |
|            | 7℃・24 時間  | -       | -    | -    | 100             | -     |
|            | 25℃・24 時間 | -       | -    | -    | 100             | -     |
| NBRC 31864 | なし        | 100     | 0    | -    | 0               | 0     |
|            | 7℃・24 時間  | 100     | 100  | -    | 80              | 20    |
|            | 25℃・24 時間 | 100     | 100  | -    | 100             | 80    |

a) : 未測定（測定継続中）

表 2. 40%(w/w)マルトース水溶液を凍結保護液とした-20℃凍結後の供試菌株の生存率

| 供試菌株       | 前処理       | 生存率 (%) |      |      |                 |       |
|------------|-----------|---------|------|------|-----------------|-------|
|            |           | 凍結期間    |      |      |                 |       |
|            |           | 1 週間    | 4 週間 | 9 週間 | 10 週間           | 16 週間 |
| ANCT-05072 | なし        | 100     | 20   | 80   | - <sup>a)</sup> | 0     |
|            | 7℃・24 時間  | 100     | 100  | 100  | -               | 80    |
|            | 25℃・24 時間 | 100     | 100  | 100  | -               | 100   |
| ANCT-05152 | なし        | 100     | 100  | 100  | -               | 60    |
|            | 7℃・24 時間  | 100     | 100  | 100  | -               | 80    |
|            | 25℃・24 時間 | 100     | 100  | 100  | -               | 100   |
| NBRC 30877 | なし        | -       | -    | -    | 0               | -     |
|            | 7℃・24 時間  | -       | -    | -    | 80              | -     |
|            | 25℃・24 時間 | -       | -    | -    | 80              | -     |
| NBRC 31864 | なし        | 100     | 0    | -    | 0               | -     |
|            | 7℃・24 時間  | 100     | 100  | -    | 60              | -     |
|            | 25℃・24 時間 | 100     | 100  | -    | 100             | -     |

a) : 未測定 (測定継続中)

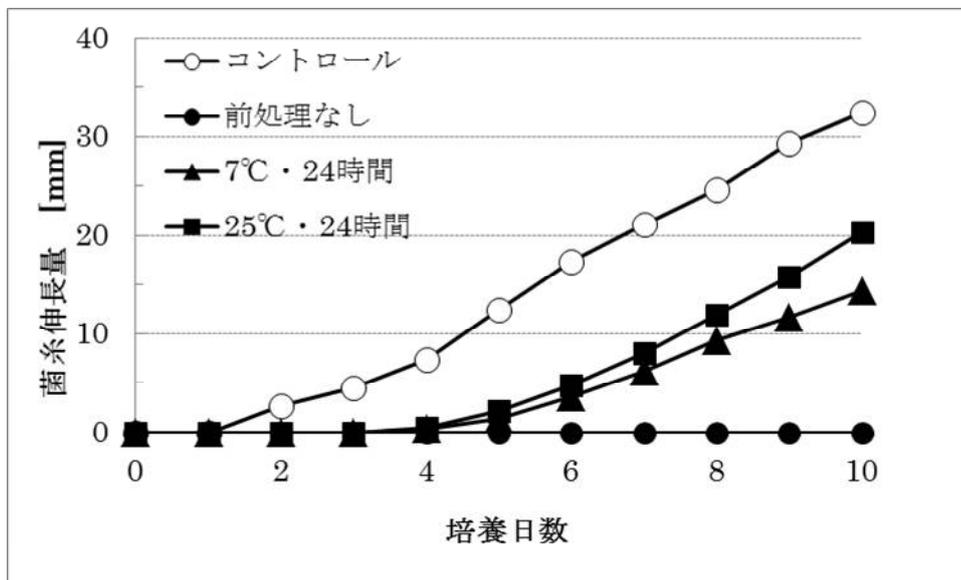


図 1. 40%(w/w)マルトース水溶液を用いた-20℃凍結・16 週間後の ANCT-05072 の菌糸伸長 (25℃培養)

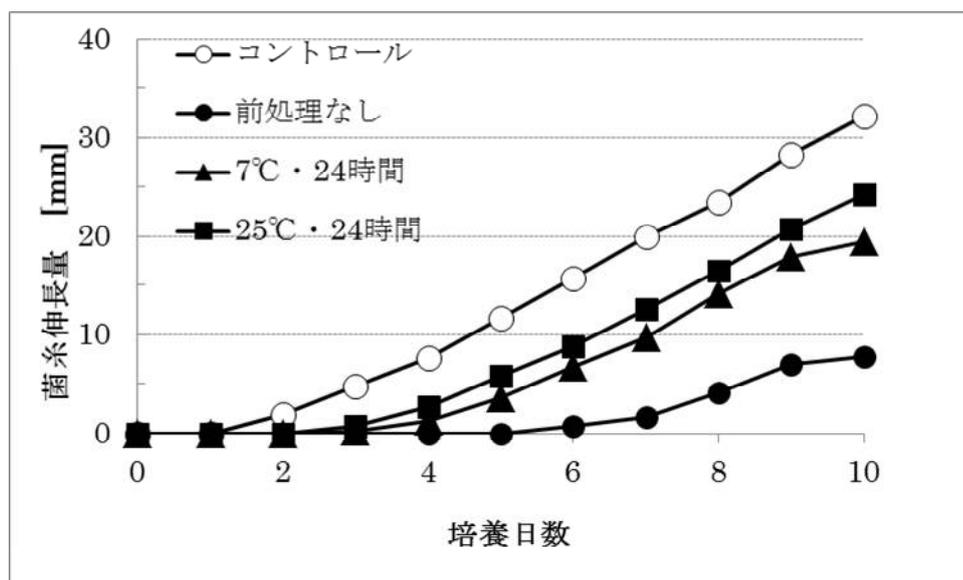


図2. 40%(w/w)マルトース水溶液を用いた $-20^{\circ}\text{C}$ 凍結・16週間後のANCT-05152の菌糸伸長 ( $25^{\circ}\text{C}$ )

#### 【参考文献】

- 1) Ohmasa M, Abe Y, Babasaki K, Hiraide M, Okabe K: Preservation of cultures of mushrooms by freezing. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, **33**(4), 467-479 (1992).
- 2) 富樫 巖, 幸田有以: 純水と $-20^{\circ}\text{C}$ を用いたエノキタケ菌株の凍結保存の試み. *New Food Industry*, **55**(1), 6-12 (2013).
- 3) 富樫 巖, 大谷和也, 安東敬史, 細川芽衣, 曾我 瞳 他: シイタケ菌糸体の $-20^{\circ}\text{C}$ 凍結保存における高濃度糖水溶液と寒天培地の影響. *日本菌学会会報*, **57**(2), 93-98 (2016).
- 4) 渡辺 信: 環境問題と微生物の保存. *環境技術*, **27**, 485-487 (1998).

## −20℃と高濃度糖液を用いたシイタケ菌株の凍結保存

### - スクロース, トレハロース, フルクトースの保護効果 -

○横田 喬央, 富樫 巖 (旭川高専)

#### 【緒言】

菌体ディスク法を用いた食用菌の凍結保存については、菌種や菌株および凍結保護液による差異があるものの、−20℃では−85℃や−196℃と比べて菌株の生存率が低いことが報告<sup>1)</sup>されている。一方、演者らは食用菌の凍結保存の低コスト化を狙い、家庭用冷凍庫の温度レベルの利用可能性を検討してきた<sup>2)</sup>。その結果、−20℃で凍結保存が難しいとされるシイタケ (*Lentinula edodes* (Berkeley) Pegler) 菌株<sup>1)</sup>において、グルコースやマルトースの高濃度糖液を凍結保護液とすると、10%(w/w)グリセリン水溶液の場合と比較して生存率が改善することを見出した<sup>3)</sup>。

本研究では、凍結保護液として40%(w/w)濃度のスクロース、トレハロース、およびフルクトースの各水溶液を用いて−20℃凍結の前処理(7℃と25℃で24時間放置)が保存菌株の生存率に及ぼす影響、−20℃凍結で12週間保存した菌株の菌糸再生挙動(菌糸伸長量)を観察した。

#### 【実験方法】

##### 供試菌株と保存用菌体ディスクの調製方法

供試菌株には、旭川高専保存株のANCT-05072とANCT-05152、コレクション株のNBRC 30877とNBRC 31864の合計4菌株を用いた。いずれもPDA培地(日水製薬製)で継代培養保存していたものである。各供試菌株を直径90mmのPDA平板培地に接種後、25℃で2週間培養したコロニーからコルクボーラーで培地ごと打ち抜くことで直径5mmの保存用菌体ディスクを得た。

##### 凍結保護液と−20℃での凍結保存方法

40%(w/w)のスクロース水溶液、トレハロース水溶液、およびフルクトース水溶液を凍結保護液とし、高圧蒸気滅菌(121℃, 15分)後に供試した。1.5mlエッペンドルフチューブ(以下、チューブ)に菌体ディスクを5個入れ、5分以内に約1mlの凍結保護液を満たした。7℃と25℃で24時間放置する前処理を施し、−20℃で最大12週間の凍結保存を行った。なお、前処理なしの試験区も設けた。

##### 解凍方法、生存率の測定、および菌糸伸長量の測定

経時的にチューブをサンプリングし、30℃のアルミブロックに5分間投入して解凍を行った。1枚のPDA平板培地に解凍後の菌体ディスク5個を接種し、25℃で10日間培養した。接種した同ディスクから菌糸が再生し、PDA平板培地に菌糸が活着した時点で生存と判断して生存率を求めた。5個の菌体ディスクの活着で生存率100%となる。

菌糸伸長量については(12週間保存した菌体ディスクを供試)、PDA平板培地の中央に菌体ディスク1個を接種し(1組で5枚の平板培地使用)、25℃で10日間培養して生存率を求めると共に各平板培地のシャーレ裏面に直交する直線を引き、菌体ディスクの縁から菌糸の先端までの4方向を継時的に測定した。継代培養株をコントロールとし、同様に菌糸伸長量の測定を行った(反復数3)。

#### 【結果および考察】

##### −20℃凍結保存後の生存率に及ぼす前処理の影響

供試4菌株と3種類の凍結保護液を用い、12週間まで凍結保存した各試験区の生存率を表1に示す。サンプリングは原則として凍結後1週間、4週間、8週間、12週間とした。ANCT-05072に注目すると、スクロース水溶液とトレハロース水溶液の両前処理区、そしてフルクトース水溶液の25℃前処理区で12

週間に渡って生存率 100%を維持した。しかし、全ての前処理なし区と 7℃前処理区のフルクトース水溶液では 12 週間後の生存率が 0~80%であった。フルクトース水溶液の前処理なし区は凍結 1 週間で生存率 20%となった。ANCT-05152 では前処理なし区を含め、12 週間までの全ての試験区で生存率 100%を維持した。NBRC の 2 菌株については未測定箇所が多いが（現在、測定継続中）、スクロース水溶液では NBRC 31864 の 12 週間凍結後の前処理なし区の生存率が 40%となった以外は 100%で、トレハロース水溶液では 8 週間凍結後まで前処理なしを含めて全試験区で生存率 100%となった。フルクトース水溶液では生存率が低く、8 週間凍結後に生存していたのは NBRC 30877 の 25℃前処理区のみであった。以上から、菌株による差異はあるものの、フルクトース水溶液よりもスクロースとトレハロースの両水溶液の凍結保護性能が優れ、かつ前処理なし区と比べて 7℃と 25℃の前処理区が同保護性能の向上に寄与する傾向がみられた。前処理によって菌体ディスクの寒天培地と菌糸体に凍結保護液の糖分子が取り込まれることで、-20℃凍結で生じる細胞内凍結が抑えられた可能性がある<sup>4)</sup>。

#### -20℃凍結保存株の菌糸伸長量

-20℃凍結や高濃度糖液の影響を把握するために、保存後の菌体ディスクから再生する菌糸体の菌糸伸長量を継時的に測定した（25℃・10 日間培養）。一例として、-20℃での凍結感受性が高い ANCT-05072 について 12 週間凍結の各試験区とコントロールの測定結果を凍結保護液ごとに図 1~3 に示す。図 1 のスクロース水溶液では、継代培養株のコントロール区と両前処理区（生存率 100%）の菌糸伸長量がほぼ同程度で、前処理なし区（同 20%）では菌糸伸長に遅延傾向がみられた。図 2 のトレハロース水溶液では、コントロール区と 25℃前処理区（生存率 100%）の菌糸伸長量がほぼ同程度で、7℃前処理区（同 100%）と前処理なし区（同 20%）の菌糸伸長に遅延傾向がみられた。図 3 のフルクトース水溶液では、コントロール区>25℃前処理区（生存率 100%）>7℃前処理区（同 80%）の順に菌糸伸長遅延が生じた。なお、前処理なし区は生存率 0%のために菌糸伸長が生じていない。

凍結保存後の食用菌株の菌糸伸長は継代培養株よりも遅延する例が報告されている<sup>1)</sup>。凍結中のストレスによって解凍後の菌糸の再生と伸長が負の影響を受けると解釈すると、コントロール並みの菌糸伸長量となった試験区は凍結中のストレスが前処理によって緩和されたと考えられる。緩和度合は糖の種類や前処理条件に左右され、スクロース水溶液や 25℃前処理が凍結保護性能に優れ、フルクトースの同性能が低い傾向が示された。糖の種類により生じる差異の原因は不明であり、その解明は今後の課題としたい。

#### 【参考文献】

- 1) Ohmasa M, Abe Y, Babasaki K, Hiraide M, Okabe K: Preservation of cultures of mushrooms by freezing. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, **33**(4), 467-479 (1992).
- 2) 富樫 巖, 幸田有以: 純水と-20℃を用いたエノキタケ菌株の凍結保存の試み. *New Food Industry*, **55**(1), 6-12 (2013).
- 3) 富樫 巖, 大谷和也, 安東敬史, 細川芽衣, 曾我 瞳 他: シイタケ菌糸体の-20℃凍結保存における高濃度糖水溶液と寒天培地の影響. *日本菌学会会報*, **57**(2), 93-98 (2016).
- 4) 渡辺 信: 環境問題と微生物の保存. *環境技術*, **27**, 485-487 (1998).

表 1. -20°Cで凍結保存を試みたシイタケ供試菌株の生存率変化

| 供試菌株       | 凍結保護液  | 前処理        | 生存率 (%) |      |                 |       |
|------------|--------|------------|---------|------|-----------------|-------|
|            |        |            | 凍結期間    |      |                 |       |
|            |        |            | 1 週間    | 4 週間 | 8 週間            | 12 週間 |
| ANCT-05072 | スクロース  | なし         | 100     | 100  | - <sup>a)</sup> | 20    |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | -               | 100   |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | -               | 100   |
|            | トレハロース | なし         | 100     | 100  | -               | 20    |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | -               | 100   |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | -               | 100   |
|            | フルクトース | なし         | 20      | 20   | -               | 0     |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | -               | 80    |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | -               | 100   |
| ANCT-05152 | スクロース  | なし         | 100     | 100  | -               | 100   |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | -               | 100   |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | -               | 100   |
|            | トレハロース | なし         | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            | フルクトース | なし         | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | 100             | 100   |
| NBRC 30877 | スクロース  | なし         | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            | トレハロース | なし         | 100     | 100  | 100             | -     |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | 100             | -     |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | 100             | -     |
|            | フルクトース | なし         | 0       | -    | 0               | -     |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | -    | 0               | -     |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | -    | 100             | -     |
| NBRC 31864 | スクロース  | なし         | 100     | 100  | 100             | 40    |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | 100             | 100   |
|            | トレハロース | なし         | 100     | 100  | 100             | -     |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | 100  | 100             | -     |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | 100  | 100             | -     |
|            | フルクトース | なし         | 80      | -    | 0               | -     |
|            |        | 7°C・24 時間  | 100     | -    | 0               | -     |
|            |        | 25°C・24 時間 | 100     | -    | 0               | -     |

a) : 未測定 (測定継続中)

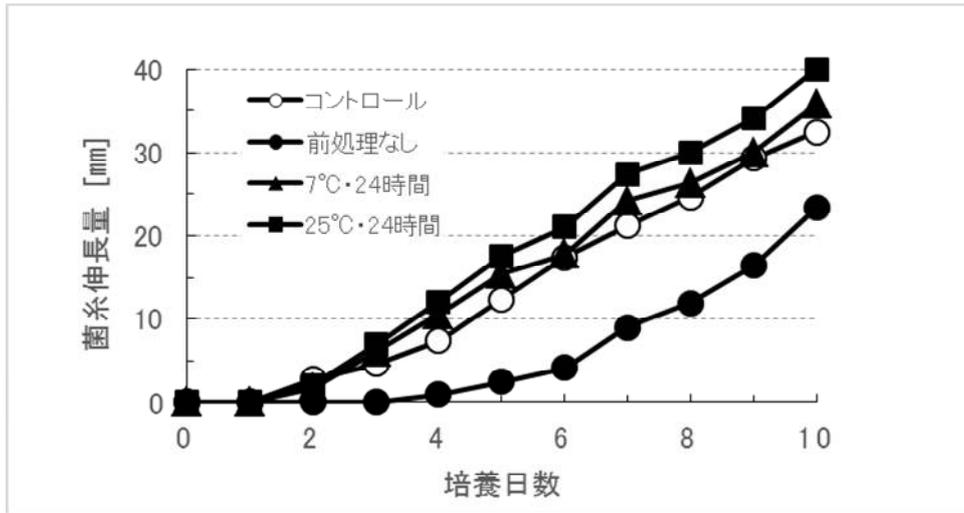


図1. 40%(w/w)スクロース水溶液を用いた-20°C凍結・12週間後のANCT-05072の菌糸伸長(25°C)

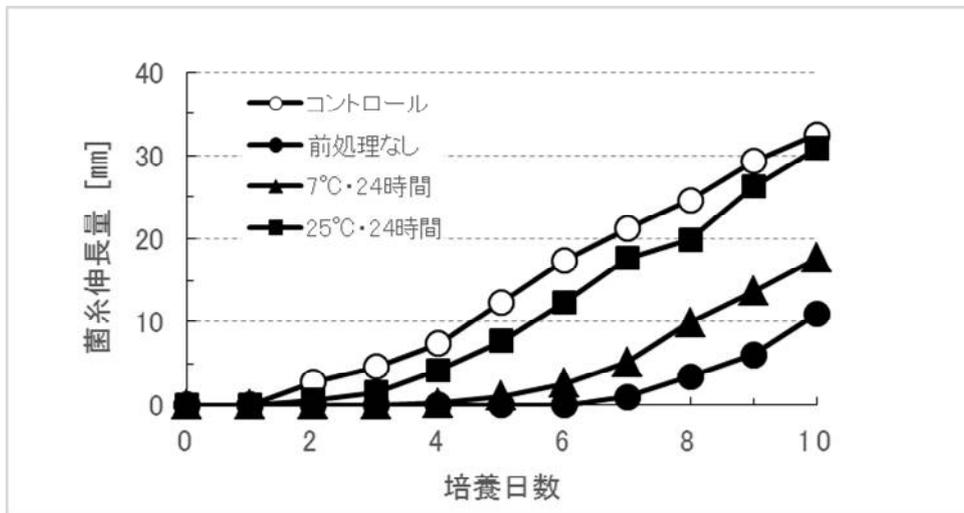


図2. 40%(w/w)トレハロース水溶液を用いた-20°C凍結・12週間後のANCT-05072の菌糸伸長(25°C)

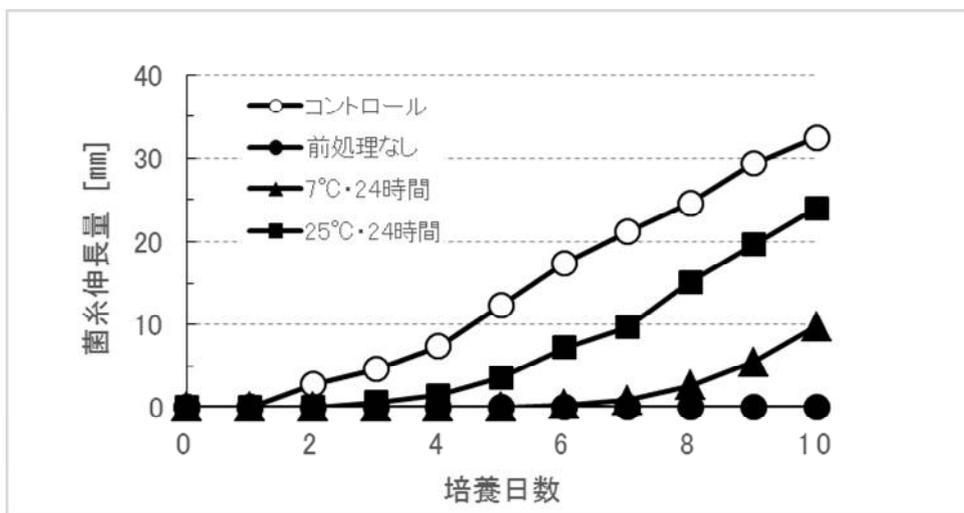


図3. 40%(w/w)フルクトース水溶液を用いた-20°C凍結・12週間後のANCT-05072の菌糸伸長(25°C)

# 3

## −20℃と−50℃を用いたシイタケ菌株とヒラタケ菌株の凍結保存

○鬼柳 春花, 富樫 巖 (旭川高専)

### 1. 緒言

食用菌の菌株保存としては継代培養法<sup>1)</sup>が汎用されていると考えられるが、菌株の変異リスクや長期的保存対策として−80℃以下の凍結保存法<sup>1-6)</sup>が併用される。しかし、−80℃以下のディープフリーザーや−196℃の液体窒素を用いる凍結保存では、初期設備と維持管理の負担が生じる。そこで演者らは、コスト低減を狙って−20℃凍結保存の利用可能性を検討してきた。凍結感受性が低いエノキタケ (*Flammulina velutipes* (Curt.:Fr.) Sing) では−20℃凍結保存に耐える<sup>7)</sup>が、凍結感受性の高いシイタケ (*Lentinula edodes* (Berkeley) Pegler) においては何らかの工夫が必要であり、その方策の一つとして40%(w/w)グルコース水溶液などの高濃度糖水溶液を凍結保護液とする利用可能性を示すと共に、保存用種菌となる菌体ディスクの寒天の有無が菌株の生存率に影響することを報告した<sup>8)</sup>。

本研究では、凍結感受性が高いと判断されるシイタケとヒラタケ (*Pleurotus ostreatus* (Jacquin.:Fries) Kummer) の各菌株を供試して、−20℃と−50℃での凍結保存における40%(w/w)グルコース水溶液と10%(w/w)グリセリン水溶液の保護性能の比較、加えて凍結保存の前処理として25℃・24時間放置を行った場合の影響を観察した。

### 2. 実験方法

#### 2.1 供試菌株と保存用菌体ディスクの調製方法

シイタケ菌株には旭川高専保存株の ANCT-05072 と NBRC 30877, ヒラタケ菌株には ANCT-15001 と NBRC 8444 の合計4菌株を供試した。いずれも PDA 培地 (日水製薬製) で継代培養保存していたものである。各試験に用いる際には、シイタケでは直径90 mm PDA 平板培地 (同), ヒラタケでは同90 mm の MA 平板培地 (オキソイド製麦芽エキス 2.0%(w/v), 同細菌培養用寒天 1.5%(w/v)) に接種後、25℃でシイタケは2週間、ヒラタケは9日間前培養した。成長した各コロニーから培地ごとコルクボーラーで打ち抜いて得た直径5 mm の菌体円盤を保存用菌体ディスクとした。

#### 2.2 凍結保護液

40%(w/w)グルコース水溶液と10%(w/w)グリセリン水溶液を調製後、高圧蒸気滅菌 (121℃・15分間) したものを凍結保護液として用いた

#### 2.3 凍結保存方法, 解凍方法および生存率の測定

1.5 ml のエッペンチューブ (以下, チューブ) に保存用菌体ディスクを各5個入れ, 5分以内に約1 ml の凍結保護液を満たして−20℃と−50℃に最大6週間凍結保存した。前処理を施す場合は, チューブを25℃で24時間放置した後に凍結保存した。所定期間経過後にサンプリングを行い, 30℃のアルミブロックに5分間投入して解凍した。PDA 平板培地1枚に5個の菌体ディスクを接種し, 25℃で10日間培養することで菌糸再生を実態顕微鏡観察した。同平板培地に再生菌糸が活着した時点を生存と判断して生存率を算出した。1組5個の菌体ディスクが全て活着することで生存率100%となる。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 −20℃凍結における凍結保護液の性能の比較 (前処理なし)

保存期間 (5~6週間) における生存率変化については同様の測定を2回繰返し, 生存率の平均値を算出した。40%(w/w)グルコース水溶液の結果を図1に, 10%(w/w)グリセリン水溶液の結果を図2に示す。シイタケ菌株はグルコースで4~5週間に渡って生存率100%を維持し, グリセリンでは ANCT-05072 の生存率100%は3週間後まで, NBRC 30877 は1週間後に生存率100%であったが4週間後以降0%となった。ヒラタケ菌株ではグルコースの0~1週間後に ANCT-15001 が生存率100%を示したのみで, NBRC 8444 は1週間後に生存率0%に至った。−20℃で4~5週間 (1か月程度) の保存であれば, シイタケ菌

株に対して 40%(w/w)グルコース水溶液の凍結保護性能が優位と考えられる。

### 3.2 -50℃凍結における凍結保護液の性能の比較（前処理なし）

3.1に示した-20℃凍結と同様、測定を2回繰返して生存率の平均値を算出した（保存期間:5~6週間）。40%(w/w)グルコース水溶液の結果を図3に、10%(w/w)グリセリン水溶液の結果を図4に示す。シイタケ菌株はグルコースでは5~6週間に渡って生存率100%を維持し、グリセリンではNBRC 30877が6週間に渡って生存率100%を維持したが、ANCT-05072の生存率は40%以下と低かった。ヒラタケ菌株ではグリセリンでNBRC 8444が6週間に渡り生存率100%を示したのみで、両凍結保護液でANCT-15001の凍結後の生存率は90%以下であった。-50℃で5~6週間の保存に限定すれば、両液の凍結保護性能は供試菌株により異なると考えられる。加えて図1~4の結果から、-20℃凍結と比べた-50℃凍結の優位性は不明瞭であった。

### 3.3 -20℃凍結と-50℃凍結における前処理（25℃・24時間放置）の影響

保存期間5週間後までについて、-20℃凍結と-50℃凍結の40%(w/w)グルコース水溶液における生存率の変化を図5と図7に、同様に10%(w/w)グリセリン水溶液における生存率の変化を図6と図8に示す。全体的に前処理による供試菌株の生存率向上がみられた。40%(w/w)グルコース水溶液では、両凍結温度においてヒラタケ菌株の生存率が向上したが、3~5週間後には生存率の低下がみられた。10%(w/w)グリセリン水溶液では、-20℃の5週間後に両ヒラタケ菌株の生存率が低下したが、-50℃では5週間に渡ってシイタケとヒラタケを含めた全供試菌株の生存率100%が維持された。

## 4. 結論

供試したシイタケ菌株とヒラタケ菌株の-20℃と-50℃の凍結保存において、40%(w/w)グルコース水溶液と10%(w/w)グリセリン水溶液共に前処理（25℃・24時間放置）による凍結保護効果の向上が確認された。シイタケ菌株とヒラタケ菌株の生存率100%維持には、10%(w/w)グリセリン水溶液を用いて前処理を行う-50℃凍結保存が最も期待できる。

### 【引用文献】

- 1) 横山竜夫：“9章 菌糸体保存. きのこ学”，古川久彦編，共立出版，1992，pp.230-237.
- 2) Ohmasa M, Abe Y, Babasaki K, Hiraide M, Okabe K：Preservation of cultures of mushrooms by freezing, *Transactions of the Mycological Society of Japan*, **33**(4), 467-479 (1992).
- 3) 前川二郎：きのこの菌糸を凍らせて保存する，*菌蕈* **45**(5), 39-43 (1999).
- 4) 岡根 泉：-80℃フリーザーによる糸状菌凍結保存株の管理体制について，*日本微生物資源学会誌*, **21**(2), 77-82 (2005).
- 5) 岡田 元：糸状菌類の簡便で安全な凍結保存法，*日本微生物資源学会誌*, **22**(2), 105-110 (2006).
- 6) 中桐 昭：菌類培養株の凍結保存法の改良，*日本微生物資源学会誌*, **30**(2), 51-63 (2014).
- 7) 富樫 巖, 幸田有以：純水と-20℃を用いたエノキタケ菌株の凍結保存の試み, *New Food Industry*, **55**(1), 6-11 (2013).
- 8) 富樫 巖, 大谷和也, 安東敬史, 細川芽衣, 曾我 瞳 他：シイタケ菌糸体の-20℃凍結保存における高濃度糖水溶液と寒天培地の影響. *日本菌学会会報*, **57**(2), 93-98 (2016).

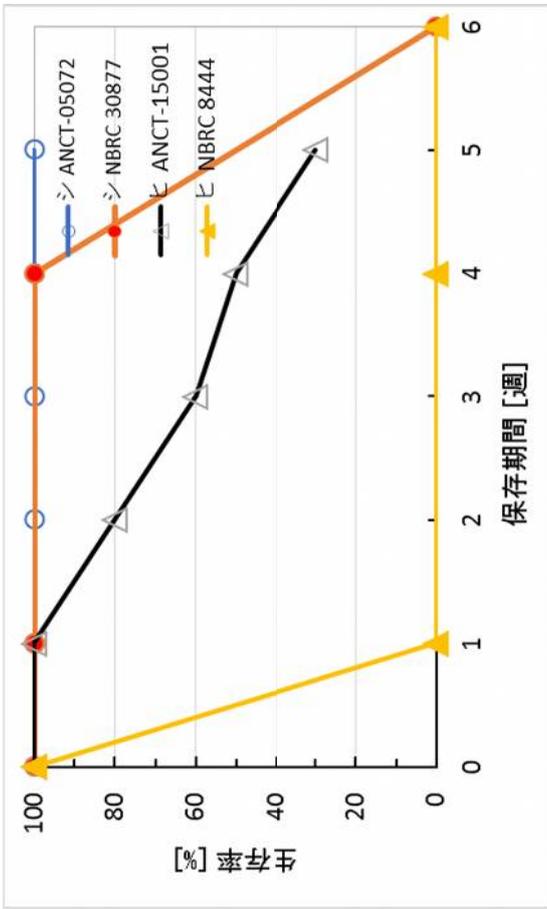


図1. 40%(w/w)グルコース水溶液を凍結保護液とした  
-20°C凍結保存での生存率 (前処理なし)

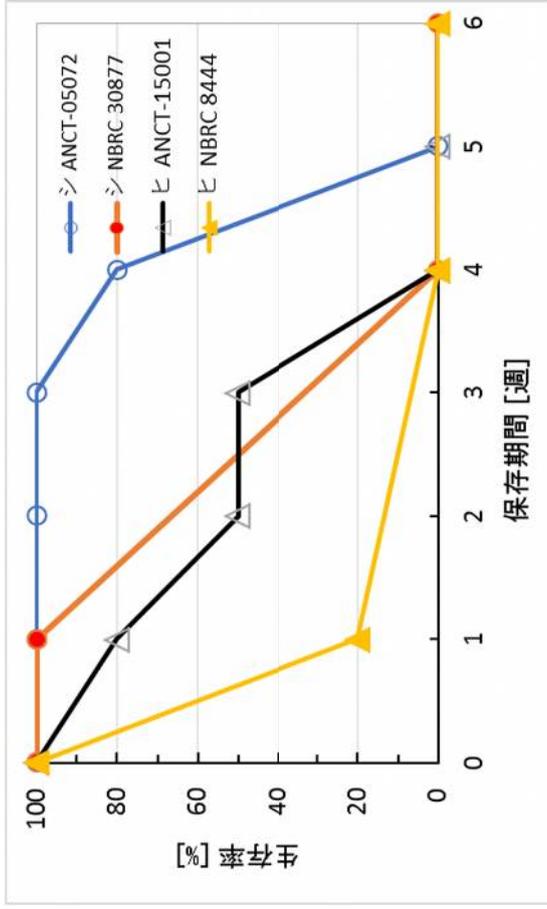


図2. 10%(w/w)グリセリン水溶液を凍結保護液とした  
-20°C凍結保存での生存率 (前処理なし)

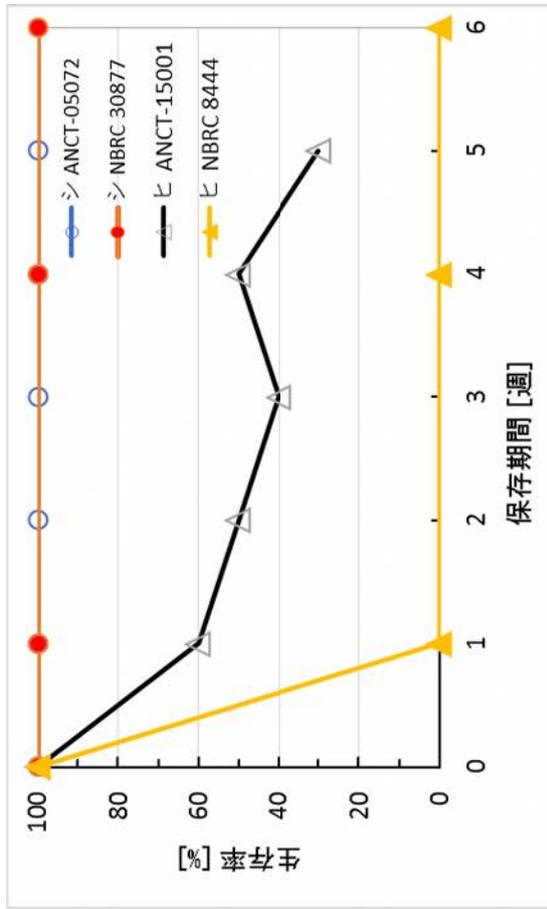


図3. 40%(w/w)グルコース水溶液を凍結保護液とした  
-50°C凍結保存での生存率 (前処理なし)

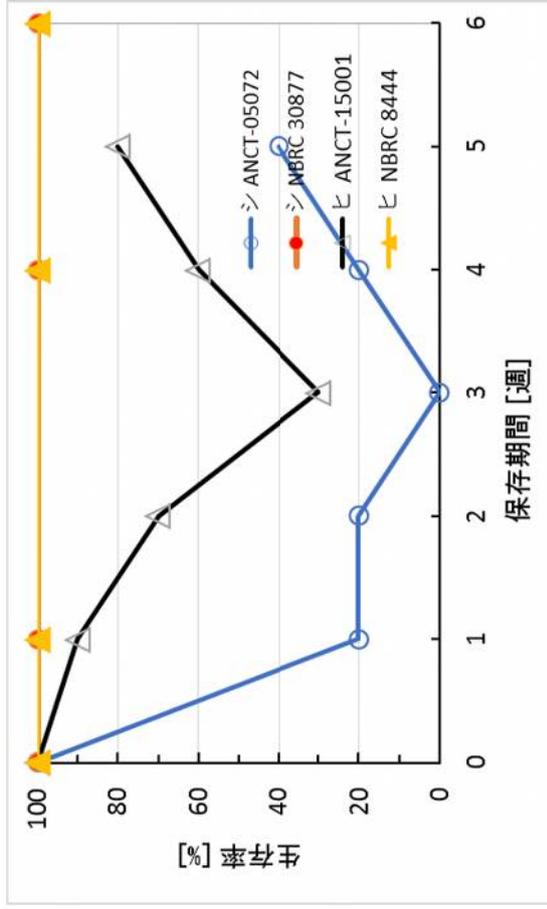


図4. 10%(w/w)グリセリン水溶液を凍結保護液とした  
-50°C凍結保存での生存率 (前処理なし)

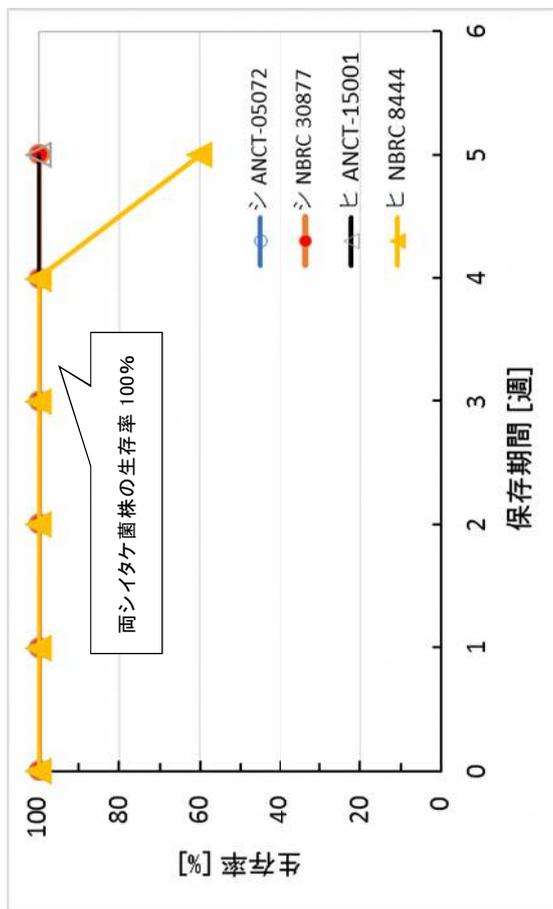


図 5. 40%(w/w)グルコース水溶液を凍結保護液とした  
-20℃凍結保存での生存率 (前処理あり)

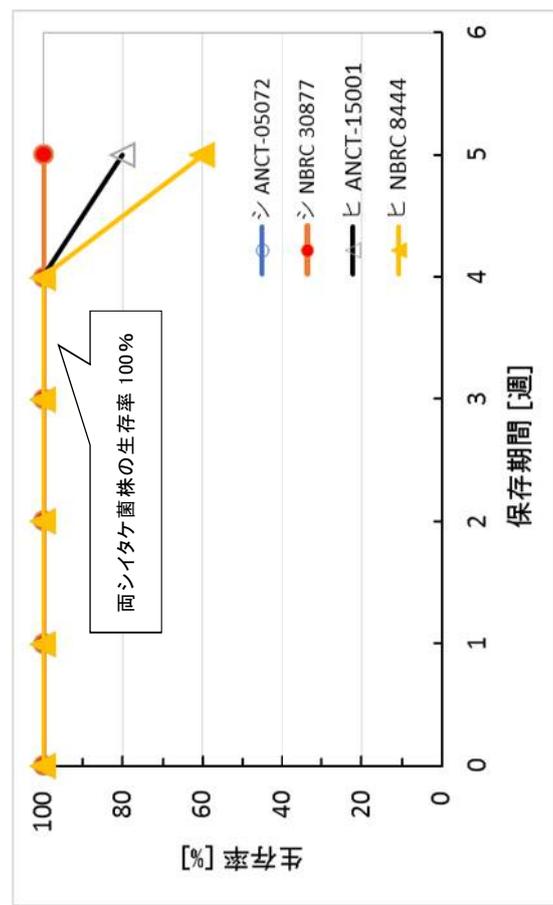


図 6. 10%(w/w)グリセリン水溶液を凍結保護液とした  
-20℃凍結保存での生存率 (前処理あり)

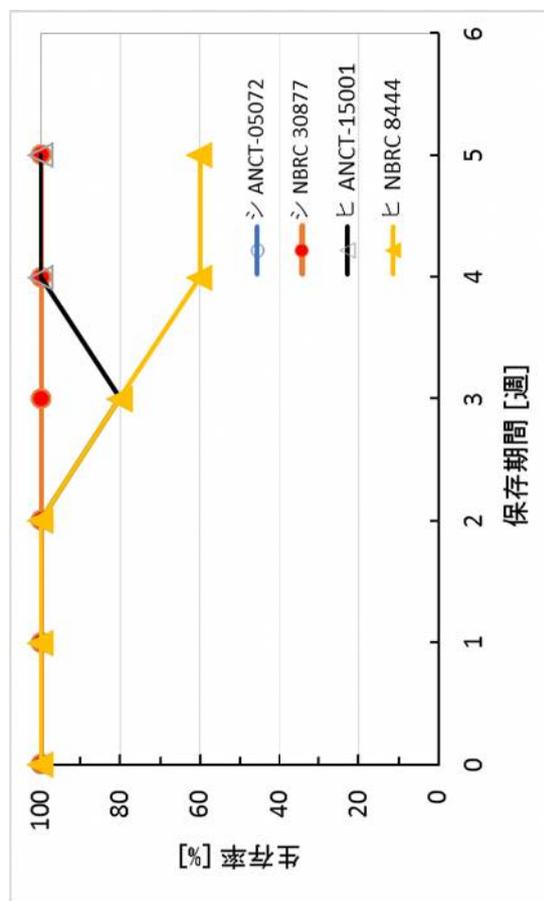


図 7. 40%(w/w)グルコース水溶液を凍結保護液とした  
-50℃凍結保存での生存率 (前処理あり)

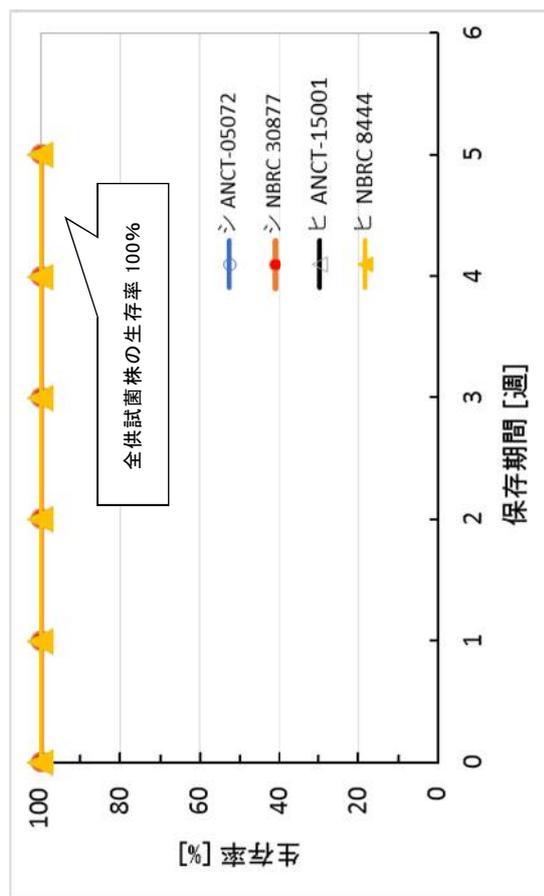


図 8. 10%(w/w)グリセリン水溶液を凍結保護液とした  
-50℃凍結保存での生存率 (前処理あり)

## 白色腐朽菌はリグニンを“食べる”のか？

○永井 翔龍、重富 顕吾、生方 信（北大院農）

### 【緒言】

白色腐朽菌はリグニンを分解できる唯一の微生物であるが、時にリグニンを“食べる”とも形容される。しかしながら、リグニン、もしくは、リグニン分解により生じた低分子芳香族化合物を白色腐朽菌が“食べる”かについては、Kirkらの予備的な結果があるのみで、実態は明らかにされていない<sup>1)</sup>。本研究では、白色腐朽菌がリグニン分解によって生じる低分子芳香族化合物を資化するかについて検証することを目的とし、低分子芳香族化合物を単一炭素源とした条件下での白色腐朽菌の生育評価、バクテリア型の芳香族化合物資化の鍵酵素 catechol dioxygenase (CO) 遺伝子の探索、ならびに当該遺伝子のリアルタイム PCR による発現量解析について検討した。

<sup>1)</sup>Kirk, TK and Farrell, RL, *Annu. Rev. Microbiol.*, **41**, 465 (1987)

### 【実験方法】

#### 低分子芳香族を単一炭素源とした条件における白色腐朽菌の生育評価

*Trametes versicolor* (ATCC 42462)、*Pleurotus eryngii* (NBRC 32798)、*Pleurotus ostreatus* (NBRC 30776)、*Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 20696) を前培養後、菌体を洗浄し炭素源(3.0 g/L)と minimum salt を含む培地にて 30 日間培養した。単一炭素源として芳香族化合物である veratryl alcohol(VA)、benzoic acid、guaiacol、vanillic acid、ならびに芳香環開裂産物である *cis,cis*-muconic acid の 5 種を用いた。炭素源は、5 日ごと 6 回(0,5,10,15,20,25 日目)に分けて間欠的に投与した。また control として minimum salt のみの培地での培養も行った。本培養後、遠心分離に供し純水で 2 度洗浄した。得られたサンプルを -20 °C にて予備凍結した後、凍結乾燥機に付し一晩乾燥した。その後、Yatalase™ 処理と続く KOH/MeOH(80 g/L) 処理によって菌糸を分解した。得られた懸濁液を hexane で 3 回洗浄し、溶媒留去と再溶解によりサンプルを調製した。サンプルを内部標準物質に cholesterol を用いた GC-MS 分析に供し、検出される ergosterol 量を内部標準に対する相対値で評価した。

#### Catechol dioxygenase(CO)遺伝子の探索

上記の白色腐朽菌の内、ゲノム配列が入手可能な株を用いて、catechol dioxygenase をコードする遺伝子を探索した。Catechol 1,2-dioxygenase(C12O)遺伝子のアノテーション配列は、Ensemble fungi もしくは NCBI 上で探索した。NCBI 上の白色腐朽菌 *T. versicolor* (ATCC 42462)、*P. ostreatus* (CECT 20312) のアミノ酸配列、*P. eryngii* (ATCC 90797)、*P. chrysosporium* (ATCC 20696) の核酸配列を対象に BLAST 解析を行った。バクテリアにおける芳香族資化経路の鍵酵素である C12O 遺伝子に着目し、Ensemble Fungi、NCBI 上でアノテーションの付いた配列をクエリとして、相同性を示す領域を探索した。

#### Catechol 1,2-dioxygenase(C12O)遺伝子の発現比較

*Trametes versicolor* (ATCC 42462) を前培養後、PD 培地とトドマツ木片を添加した PD 培地にて 30 日間培養した。得られたサンプルに対して、RNA 抽出、DNase 処理、逆転写を行い、目的とする cDNA ライブラリーを調製した。遺伝子探索で得られた C12O 相同性領域をターゲット遺伝子として、得られた cDNA ライブラリーをリアルタイム PCR による発現量解析に供した。参照遺伝子に  $\alpha$ -tubulin1 と  $\alpha$ -tubulin2 を用いて、その発現量を比較した。

## 【結果および考察】

### 低分子芳香族を単一炭素源とした条件における白色腐朽菌の生育評価

被検菌の内、*P. eryngii* を除く 3 種において、*cis,cis*-muconic acid を単一炭素源とした培地での明確な生育が確認された(Fig. 1)。一方で、benzoic acid、guaiacol、vanillic acid を単一炭素源とした培地においては、すべての菌種が増殖を示さず、培地の褐変が見られたのみであった。興味深いことに、白色腐朽菌自身の二次代謝産物である VA を単一炭素源とした培地においても、*P. eryngii* を除く 3 種において生育が確認された。この結果から、一部の白色腐朽菌が少なくとも *cis,cis*-muconic acid から下流の資化機構を有していること、フェノール性の化合物を資化できない一方、非フェノール性の VA を資化しうることが示された。

### Catechol 1,2-dioxygenase 遺伝子の探索

BLAST 解析の結果、NCBI 上で真菌の C12O 推定配列と類似の部分配列が subject としてすべての菌種の配列に認められた。*T. versicolor* ATCC42462 の 3 配列と *P. ostreatus* CECT20312 の 1 配列がクエリとした *Trametes pubescens* C12O と高い相同性を示した (Table 1.)。特に *T. versicolor* においてヒットした配列の内、XP\_008036115.1 と XP\_008034211.1 は顕著な identity と E-value (98 %; 0.0、82 %;

Table 1. *T. pubescens* C12O に対する *T. versicolor* と *P. ostreatus* の相同性配列

| Query      | Hit sequences  | Identity (%) | E-value |
|------------|----------------|--------------|---------|
| OJT10774.1 | XP_008034211.1 | 98           | 0.0     |
|            | XP_008036115.1 | 46           | 4e-74   |
| OJT15500.1 | XP_008035458.1 | 82           | 2e-135  |
| OJT10774.1 | KDQ32085.1     | 45           | 9e-63   |

2e-135) を示した。これらの結果から、*T. versicolor* ATCC42462 は低分子芳香族化合物を muconic acid 類へと変換する機構を有していることが示唆された。一方で、ターゲット配列は *P. eryngii* ATCC90797 においてもヒットしたが、一つの挿入配列と 2 つのストップコドンを含んでいた。*P. chrysosporium* ATCC20696 のヒット配列は、バクテリア C12O の活性部位として不可欠である Trp 残基と Tyr 残基が保存されていなかった(Fig. 2)。また、catechol 2,3-dioxygenase 遺伝子は、探索した腐朽菌において発見されなかった。

この結果から、*T. versicolor*、*P. ostreatus* において C12O 遺伝子の存在が示唆された。一方、*P. eryngii*、*P. chrysosporium* では、C12O 遺伝子と相同性の高い配列において配列上の不完全性が示唆された。しかし、*P. eryngii* においては、Fe<sup>3+</sup>原子に配位するアミノ酸を指定する塩基対について存在が確認されており、スプライシングにより停止コドンを含む挿入配列やフレームシフトが解消される可能性がある。

### Catechol 1,2-dioxygenase(C12O)遺伝子の発現比較

リアルタイム PCR により、C12O 相同性遺伝子の発現量解析を行った結果、トドマツ木片の存在下で培養した *T. versicolor* の XP\_008034211.1 遺伝子の高い発現が示された。

## 【結論】

生育評価の結果から、一部の白色腐朽菌が少なくとも *cis,cis*-muconic acid から下流の資化機構を有していること、フェノール性の化合物を資化できない一方、非フェノール性の VA を資化しうることが示された。VA 資化においては、リグニンペルオキシターゼ (LiP) 活性により生じるムコン酸類縁体が寄与していると予想される。一方で、遺伝子解析ならびに発現比較の結果から、一部の白色腐朽菌においてバクテリア型資化の鍵酵素である C12O 遺伝子が存在し、当該遺伝子が木片の存在下で発現誘導されることが示された。結論として、白色腐朽菌はリグニン分解産物であるムコン酸を“食べる”能力を有しており、低分子芳香族化合物からムコン酸への分解には LiP もしくは C12O の両者が関与していると予想される。現在、RNA-Seq を用いて、ムコン酸から下流の代謝経路に関わる遺伝子の発現変動比較を検討している。

謝辞：本研究は JSPS 科研費 19K06161 の助成を受けたものです。

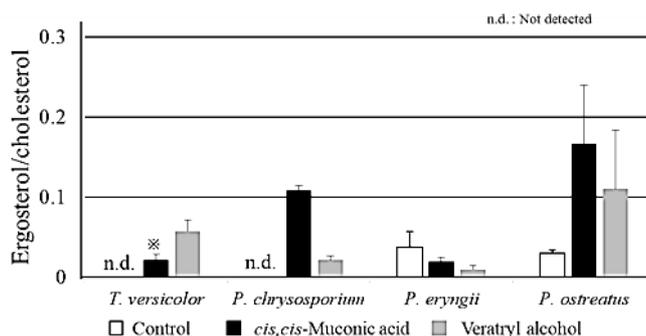


Fig. 1 生育量評価

## カラマツを用いたトキイロヒラタケ栽培について

片桐琴羽, ○玉井 裕 (北大農)

### 【緒言】

きのこ栽培において、針葉樹おが粉は菌糸成長を阻害する成分を含んでいることから一般的に培地には不適とされてきた。しかし近年、タモギタケ栽培においてカラマツおが粉が十分に適用可能であり、さらに消石灰の添加により収量増加が見込まれることが報告されている。北海道において、カラマツは全国1位となる年間160万m<sup>3</sup>が生産されており、間伐材や端材が豊富に入手できる状況にある。以上のことから、カラマツおが粉は広葉樹に代わる培地基材としてのさらなる利用が期待される。本研究ではトキイロヒラタケ(*Pleurotus djamor*)に着目し、カラマツおが粉を用いた栽培の可能性を検討することを目的とした。

### 【実験方法】

供試菌株はトキイロヒラタケ PSF 株を用いた。培地基材にカラマツおが粉(10 mesh pass)を使用し、栄養補助資材として米ヌカ (20 mesh pass)、小麦フスマ、消石灰、スキムミルク、ホエイ粉末、餡殻、カラマツ微粉末 (秋田木材高度加工研究所) を用いた。850mL 容の PP 製栽培瓶に培地を約 510g 充填し、高压滅菌(121 °C、60 分)を行った。自然冷却後、おが種菌または液体種菌を接種し、温度 21 °C、湿度 70 % の暗所で培養した。栽培瓶全体に菌糸が蔓延した後、菌かき及び注水処理を行い、芽出しの確認を経て、温度 23 °C、湿度 90 % で生育させた。菌周り日数及び収量を記録し、子実体の形状を観察した。

食味試験:栽培条件の異なるトキイロヒラタケ (真空パックにて冷凍保存)、を家庭用低温調理器 (富士商) で 80°C、30 分間加熱したものを試料として適量ずつパネラーに分配した。対照として市販の 5 種 (シイタケ、ブナシメジ、エノキタケ、マイタケ、エリンギ) を適宜利用し、食味について評価を行った。

### 【結果および考察】

カラマツおが粉を培地基材に使用した際に、米ヌカ、小麦フスマ、米ヌカ+ホエイ、小麦フスマ+ホエイの4種類の培地で広葉樹おが粉と同様の菌周り日数、収量を得た(下図・表参照)。米ヌカ、フスマを使用した培地では子実体色の濃淡に差はあるものの、トキイロヒラタケらしいピンク色を呈し、ホエイを添加した場合はやや退色した。また、米ヌカ、小麦フスマを栄養剤とした2種の培地(培地基材:カラマツおが粉)に対して、ホエイ、消石灰、カラマツ微粉末をそれぞれ添加した場合、米ヌカ+ホエイ培地以外の全ての培地で対照培地よりも菌糸成長速度が増加した。



図 栄養剤別トキイロヒラタケ子実体

左上: 米ヌカ、右上: 小麦フスマ、

左下: ホエイ+小麦フスマ、右下: ホエイ+米ヌカ

表 菌周り日数及び収量

|         | 栄養剤の種類            | 平均菌周り日数(日) | 子実体平均収量(g/本)* |
|---------|-------------------|------------|---------------|
| カラマツおが粉 | 米ヌカ               | 16         | 47.7±12       |
|         | 小麦フスマ             | 16         | 47.0±13       |
|         | スキムミルク            | 35         | 30±0.0        |
|         | ホエイ+小麦フスマ         | 15         | 57.0±19       |
|         | ホエイ+米ヌカ           | 16         | 40.4±0.55     |
|         | ホエイ <sup>1)</sup> | 42         | 3.7±0.10      |
|         | 餡殻                | 17         | 1.5±0.0       |
| おが粉     | 米ヌカ               | 14         | 58.8±4.2      |
|         | 小麦フスマ             | 14         | 46.2±5.9      |

1)原基形成までの日数

\* 平均値±SE

## 菌床シイタケの発生に及ぼすヤナギ由来成分の効果

○原田 陽, 折橋 健, 檜山 亮 (道総研林産試)

## 【はじめに】

シイタケ菌床栽培の培地基材に用いるおが粉は、主に広葉樹のおが粉であり、全国的にはナラ類やブナ等を、北海道ではナラ類やカンバ類を原料としている。しかし、栽培に適した良質な広葉樹おが粉の供給不足や価格高騰が懸念されており、代替材料が求められている。一方北海道では、早生樹であるヤナギ類に着目し、オノエヤナギ (*Salix udensis*) とエゾノキヌヤナギ (*Salix schwerinii*) はバイオマスの生産効率面から有望視されており、エネルギーをはじめ家畜敷料や粗飼料等の原料として、利用方法の検討が進んでいる。

そこで、シイタケ菌床栽培における広葉樹おが粉の供給源としてオノエヤナギやエゾノキヌヤナギに着目し、ヤナギおが粉の利用可能性について検討し、早生樹であるオノエヤナギやエゾノキヌヤナギのおが粉がシイタケ菌床栽培における培地基材として有望であること<sup>1)</sup>を報告してきた。本研究では、ヤナギに含まれる成分の効果を評価する目的で、培地基材の置換による栽培試験および培地基材へのヤナギ由来抽出物添加による栽培試験を行った。

## 【実験方法】

## (栽培試験 1)

シイタケ栽培試験における培地基材として、シラカンバ (以下、カンバ) のおが粉に対して、0~100%の範囲でオノエヤナギまたはエゾノキヌヤナギのおが粉 (樹皮を含む) に置換した培地を調製した (表 1)。いずれも栄養材として市販栄養材 (デルトップ, 森産業製) を用い、培地組成は培地基材 30%, 栄養材 10%, 培地水分 60%とした。各試験区の培地を栽培袋に 1kg 充填してから高压殺菌した。森 XR1 号 (森産業製) の種菌を接種して所定条件で培養した後に、全面栽培により子実体発生を行った。発生終了後の菌床は浸水による発生操作を行い、3 回収穫した。収穫後、サイズ毎 (LL, L, M, S, SS) に分別した上で子実体の個数および生重量を測定した。

表 1 栽培試験 1 の培地組成

| 材料              | g/kg培地               |     |     |     |     |     | g/kg培地                 |     |     |     |     |     |
|-----------------|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                 | カンバからオノエヤナギへの置換率 (%) |     |     |     |     |     | カンバからエゾノキヌヤナギへの置換率 (%) |     |     |     |     |     |
|                 | 0                    | 20  | 40  | 60  | 80  | 100 | 0                      | 20  | 40  | 60  | 80  | 100 |
| カンバ<br>おが粉      | 300                  | 240 | 180 | 120 | 60  | 0   | 300                    | 240 | 180 | 120 | 60  | 0   |
| オノエヤナギ<br>おが粉   | 0                    | 60  | 120 | 180 | 240 | 300 |                        |     |     |     |     |     |
| エゾノキヌヤナギ<br>おが粉 |                      |     |     |     |     |     | 0                      | 60  | 120 | 180 | 240 | 300 |
| デルトップ           | 100                  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100                    | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 水               | 600                  | 600 | 600 | 600 | 600 | 600 | 600                    | 600 | 600 | 600 | 600 | 600 |
| N               | 10                   | 10  | 10  | 10  | 10  | 10  | 10                     | 10  | 10  | 10  | 10  | 10  |

## (栽培試験 2)

所定の条件で製造したヤナギ由来水抽出物<sup>2)</sup>をカンバ培地に対して 0.075~0.44% (乾物として) 添加

した培地を調製した（表2）。以下は栽培試験1と同様である。

（栽培試験3）<sup>3)</sup>

カンバのおが粉に対して、0～40%の範囲でオノエヤナギの樹皮に置換した培地を調製した（表3）。以下は栽培試験1と同様である。

表2 栽培試験2の培地組成

| 材料       | 抽出物添加量(%) |       |      |     |      |
|----------|-----------|-------|------|-----|------|
|          | 0         | 0.075 | 0.15 | 0.3 | 0.44 |
| カンバおが粉   | 300       | 300   | 300  | 300 | 300  |
| ヤナギ水抽出液* | 0         | 77    | 154  | 308 | 462  |
| デルトップ    | 100       | 100   | 100  | 100 | 100  |
| 水        | 600       | 523   | 446  | 292 | 138  |
| N        | 6         | 6     | 6    | 6   | 6    |

\*: ヤナギ水抽出液中の固形分は0.974%。

表3 栽培試験3の培地組成

| 材料     | カンバおが粉からヤナギ樹皮への置換率(%) |     |     |     |     |
|--------|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
|        | 0                     | 10  | 20  | 30  | 40  |
| カンバおが粉 | 300                   | 270 | 240 | 210 | 180 |
| ヤナギ樹皮  | 0                     | 30  | 60  | 90  | 120 |
| デルトップ  | 100                   | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 水      | 600                   | 600 | 600 | 600 | 600 |
| N      | 6                     | 6   | 6   | 6   | 6   |

### 【結果および考察】

（栽培試験1）

基材のおが粉をカンバからオノエヤナギに置換した場合の子実体収量は、置換率の高まりとともに増加傾向を示し、置換率0%を基準とする各試験区の収量比は0.97～1.24で、最大24%の増加（図1）、エゾノキヌヤナギに置換した場合の各試験区の収量比は1.13～1.33となった。また、Mサイズ以上の収量も増加傾向を示し、子実体の大型化が示唆されたことから、カンバからヤナギおが粉への置換の有効性が示された。

（栽培試験2）

カンバを基材として、ヤナギから得た水抽出物を添加した培地を用いた栽培試験において、抽出物添加量0%を基準とする各試験区の収量比は0.99～1.23で最大23%の増加となった。特に、培地当たり0.15～0.44%の水抽出物を添加した場合に増加傾向を示すとともに、水抽出物添加量が多いほど、一次発生における収量の増加傾向を示し、子実体の発生促進効果を見出した（図2）。このことから、カンバを基材とした培地における水抽出物の有効性ととともに、ヤナギ由来の水溶性成分が試験1における収量増加へ寄与することが示された。

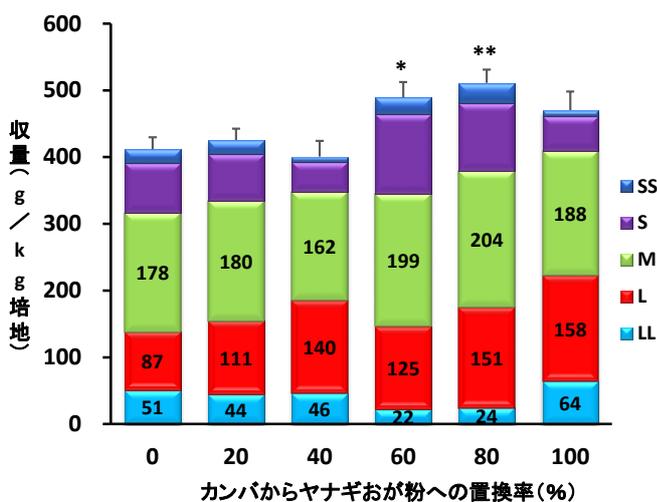


図1 栽培試験1におけるサイズ別収量

値は平均値±標準誤差 (N=10)。

\*, \*\*: Dunnett の多重比較により、0%区と有意差あり (それぞれ  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )。

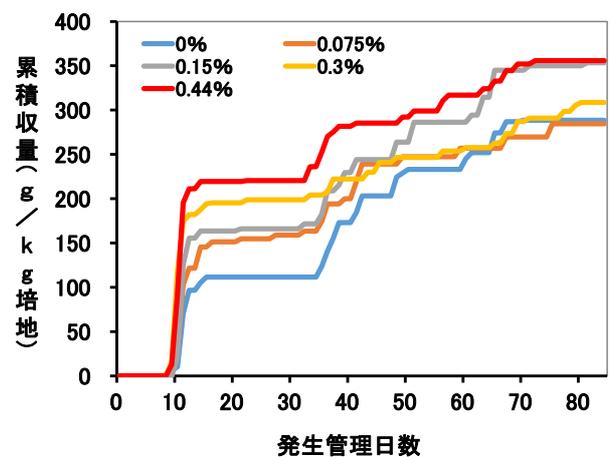


図2 栽培試験2における累積収量

値は平均値 (N=6)。

### (栽培試験 3)

基材のおが粉をカンバからオノエヤナギの樹皮に置換した培地を用いた栽培試験において、樹皮置換率 0% を基準とする各試験区の収量比は 1.16~1.33 で最大 33% の増加となった。特に、20%置換区と 0%置換区の間で有意差が認められた。また、樹皮置換率が高くなると、一次発生における収量の増加傾向を示し、20%置換区をピークに子実体の発生促進効果を見出した (図 3)。このことから、菌床シイタケの発生に対してヤナギ樹皮の添加が有効であることが示され、樹皮に含まれる成分が収量増加へ寄与する可能性が示唆された。

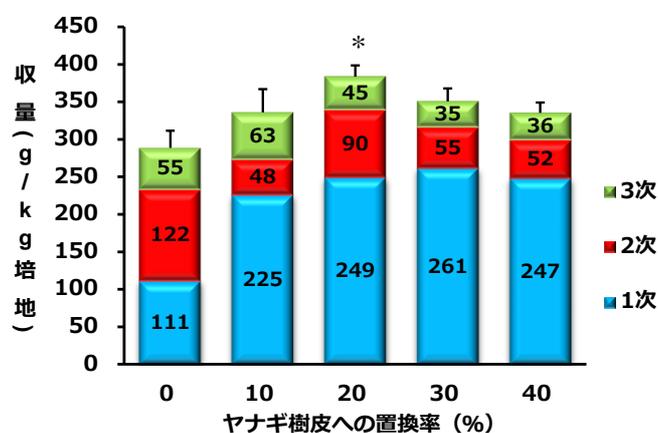


図 3 栽培試験 3 における発生次別収量

値は平均値±標準誤差 (N=6)。

\* : Dunnett の多重比較により、0%区と有意差あり ( $p < 0.05$ )。

### 【おわりに】

ヤナギおが粉をシイタケ菌床栽培に用いることが、発生収量増加と子実体の大型化に寄与する可能性が高い。このうち発生収量増加に対しては、ヤナギ材に含まれる水溶性成分が大きく寄与し、活性成分が樹皮に局在している可能性が示唆された。きのこの菌床栽培で使用されるおが粉は、樹皮を取り除くことが多いが、ヤナギを原料としたおが粉を製造する際には、樹皮は有用であるため除去が不要となることから、おが粉製造工程での省力化にもつながる。

### 【文献】

- 1) 原田陽・折橋健・檜山亮・宜寿次盛生・棚野孝夫：シイタケ菌床栽培における早生樹「ヤナギ」の利用，日本きのこ学会誌，22，24-29 (2014)
- 2) 地方独立行政法人北海道立総合研究機構：キノコ栽培用培地添加剤，キノコ栽培用培地，及び同培地を用いたキノコの栽培方法，公開特許公報，特開 2019-165675 (2019.10)
- 3) 折橋健・檜山亮・原田陽：シイタケ菌床栽培における早生樹「ヤナギ」の利用：子実体収量に及ぼすヤナギ樹皮の影響，日本きのこ学会誌，26，112-116 (2018)

## きのこ菌株の高温培養を用いた再選抜と選抜株の生物学的特徴

○齋藤沙弥佳, 宜寿次盛生, 米山彰造 (道総研林産試)

## 【緒言】

きのこ産業では、品種改良により開発された種菌の優良形質が、継代を重ねるうちに減弱していく“種菌劣化”が問題とされている。種菌劣化が起きたきのこを生産現場で栽培すると、収量減少や形態不良により経営に打撃を与える恐れがあるため、抜本的な対策が望まれている (図 1)。

ナメコを対象とした先行研究において、劣化種菌の菌糸を破碎した断片を高温培養処理すると、まだ形質が劣化していない状態の菌糸を選抜できることが報告されている (参考文献 1) および図 2)。

本研究では菌糸片の培養温度による選抜が、ナメコ以外の菌種 (マイタケ、野生型エノキタケ [以下ユキノシタ]、タモギタケ) に適応できるか検討するとともに、処理後の菌糸の解析を行った。

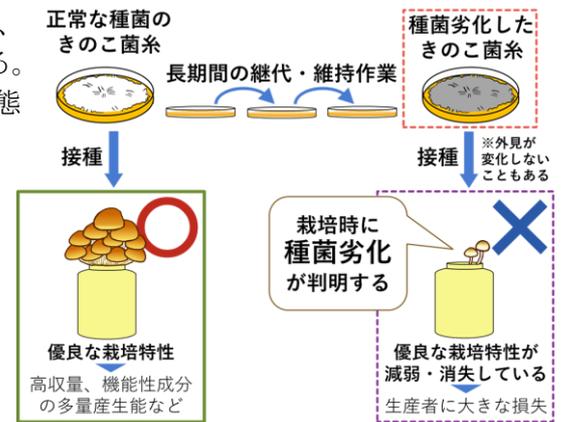


図 1: 種菌劣化の特徴と問題

## 【実験方法】

## ◆使用菌株

林産試験場で継代維持している以下 3 種を供試した。

マイタケ (*Grifola frondosa*) : HfpriGf08-2

ユキノシタ (*Flammulina velutipes*) : HfpriFv92-4

タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*) : HfpriPc98-3

## ◆手順

## (1) 菌糸体の破碎と高温選抜処理

菌糸を液体培地で 15 日間培養し、ホモジェナイザーで破碎した。破碎条件は以下の 2 条件を試行した。

① 静置培養後にすり潰し式ホモジェナイザー (井内製) 10,000 rpm, 80 sec 処理

② 振盪培養後に羽根式ホモジェナイザー (日本精機製) 10,000 rpm, 15 sec 処理

破碎した菌糸片は血球計算盤にて菌糸片数を計測し、所定の菌糸片数 ( $1.0 \times 10^1$ ,  $1.0 \times 10^2$ ,  $1.0 \times 10^3$  個) になるようプレートに播種 (マイタケ: MYG 培地、ユキノシタ・タモギタケ: PDA 培地) したのち、各選抜温度 (25, 30, 32, 34, 36°C) で 7 日間培養した (図 3)。その後各温度処理区につき 3 コロニーずつピックアップし、種菌を調製後に各菌株を栽培試験 (n=3) および菌糸伸長さの測定に供試した。

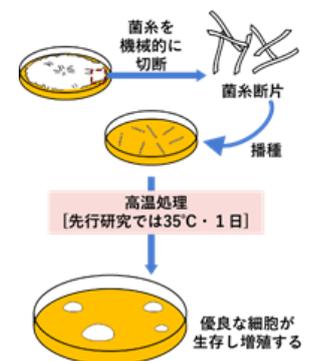


図 2: 高温選抜の概略図

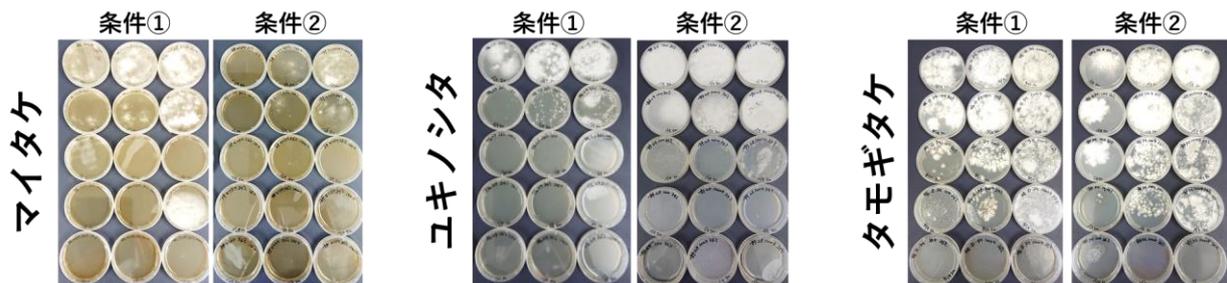


図 3: 高温処理 7 日目のプレート

各条件につき、上から選抜温度 25, 30, 32, 34, 36°C、左から播種菌糸片数  $1.0 \times 10^1$ ,  $1.0 \times 10^2$ ,  $1.0 \times 10^3$  個のものを示す

(2)NBT (nitroblue tetrazolium)アッセイ

細胞のストレス指標の一つである活性酸素種の局在を検証するために行った。NBT はスーパーオキシドアニオン (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)と反応し、吸収極大 560 nm (青色)のホルマザン沈殿を生じることから、活性酸素の検出や定量に用いられる。

アッセイ条件は参考文献<sup>2)</sup>に準じて実施した。試験片は PDA 片に接種後 3-4 日経過後の菌糸体を使用した。染色時間はマイタケ 35 min、ユキノシタ 20 min、タモギタケ 45 min とし、参考文献<sup>3)</sup>に準じてメタノール固定を行い観察した。

【結果および考察】

高温選抜処理を施した菌株を用いて栽培試験を行った結果、3 菌種すべての選抜株群は多様な収量性を示し、通常より高い温度で培養した選抜株から比較的高収量を示す菌株が分離された(図 4)。またマイタケとタモギタケについては、高温選抜により開発時に近い収量性の菌株を分離することができた。

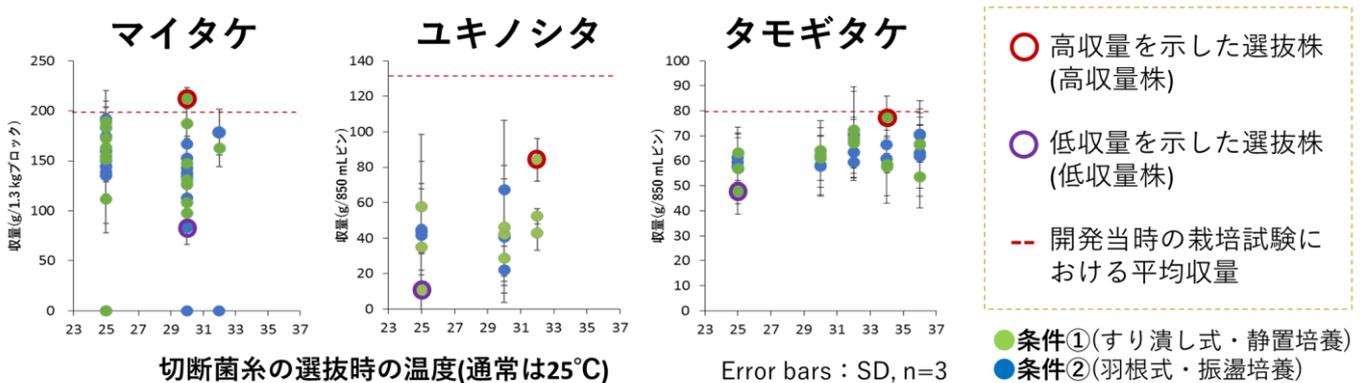


図 4: 選抜後分離したコロニー由来種菌の子実体収量

※ユキノシタのデータは北海道胆振・東部地震による停電のため調温・調湿停止の影響を受けている。

高温選抜で得られた高収量株と低収量株 (図 4、丸印) の間にどのような性質の差異があるのかを検証するため、高温選抜を行った菌株を PDA 培地 (高栄養) および Malt 培地 (低栄養) 上で各々培養した。菌糸伸長速度を比較したところ、マイタケ・ユキノシタでは高収量性の菌株、タモギタケでは低収量性の菌株において、菌糸伸長速度が大きくなっていった。また、PDA 培地上で培養した際と比較して、Malt 培地上で培養した際には高収量性/低収量性株間での菌糸伸長速度の差が大きくなっており、その変化はタモギタケで大きく、ユキノシタでは小さかった。

また、高収量性と低収量性株の菌糸に対し NBT による染色を行った。その結果、マイタケでは高収量株でより強いホルマザン集積が見られ、その集積は一部の菌糸頂端に強い偏りが見られた。他方、ユキノシタでは低収量株でホルマザン集積が強く見られ、ホルマザン顆粒は菌糸体内の広い範囲に分布していた。タモギタケにおいては低収量株にてホルマザン顆粒が強く集積し、隔壁近傍に集積する傾向が見られた。

以上の結果より、高収量性と低収量性の菌株の性質を比較すると、低栄養条件での菌糸伸長速度や活性酸素種の蓄積状態に差異があり、その動態はきのこ種ごとに異なっていることが明らかとなった。さらに同じ品種でも収量性が異なる菌株間では、菌糸の段階で形質に差異が生じており、きのこを発生させることなく未劣化の菌糸を予測・選抜できる可能性が示唆された。

【謝辞】

本研究は科研費若手研究(課題番号 18K14382)および道総研職員研究奨励事業の一環として実施した。

【参考文献】

- 1) 竹原太賀司・熊田 淳 : シイタケ、ナメコ等の品種選抜、育種—細胞選抜による育種法の研究—。福島県林業研究センター研究報告 35 : 1-41 (2002)。
- 2) Lin L., Xiao H., Yongliang X, Guohua X., Peng Z., Chengshu W. : Linkage of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunctions to Spontaneous Culture Degeneration in *Aspergillus nidulans*. Mol Cell Proteomics. Feb ; 13 (2) : 449-61 (2014)。
- 3) Kawakami H., Shinohara N., Sakai M., Kihara H., Yamashita H. : Injected with a Lipopolysaccharide-mixed Chloroform-Killed Cell (LPS-CKC) Vaccine Prepared from *Pasteurella piscicida*. SUISANZOSHOKU. 46 (2), 287-292 (1998)。

## アセチル化セルロースナノファイバーから作製した透明な紙

○平良尚梧, 幸田圭一, 浦木康光 (北大院農),  
金野晴男 (日本製紙), 島本周 (ダイセル)

### 【緒言】

セルロースナノファイバー (CNF) は軽量、高強度、低線熱膨張等の特徴を示すことから樹脂の補強材料として注目されている。しかし、CNF は親水性であるため、疎水性樹脂との混和性が重要な課題となっている。そこで、我々は混和性の向上を目指して、アセチル化 CNF (Ac-CNF) の開発に取り組んでいる<sup>1)</sup>。この開発研究では、天然セルロースと同様に平行鎖の分子配向 (CTA-I 型) をもつ Ac-CNF の調製を目的として、種々のセルロース材料に対し不均一系アセチル化を試み、その後のホモジザイザーを用いた解繊によるナノファイバー化を行っている。最近、この Ac-CNF から透明な紙を作製することに成功したので、その概要を報告する。

### 【実験方法】

**不均一系アセチル化**：粉末セルロース (KC フロック W-50GK; 日本製紙) を水中で一晩攪拌し、ろ過により脱水した。その後、この含水セルロースを酢酸に浸漬、ろ過を 3 回繰り返した。酢酸含有セルロースをトルエン、酢酸混合溶媒に浸漬し、無水酢酸、触媒の硫酸を加え 25°C で 3 時間攪拌した。得られたセルロースアセテート (CA) を高圧ホモジザイザー処理 (解繊処理) に供した。

**脱硫酸エステル化処理 (脱硫処理)**：解繊処理後の Ac-CNF 水分散液に、pH が 2.5 になるように 0.5 M 硫酸を滴下し、その後、加熱攪拌した (90°C, 6 h)。反応懸濁液は、炭酸水素ナトリウム水溶液で pH6 まで中和し、蒸留水に対して 3 日間の透析を行った。

**透明な紙の作製**：透析処理後の水分散液を遠心分離 (2500 g, 20 min) し、得られた上澄みをエバポレーターで 1.0 wt% まで濃縮した。これをテフロン製の鋳型に入れ、五酸化二リン上で真空乾燥 (3 days) した。形成したシートを鋳型から取り出して、可視紫外線分光法測定、接触角試験に供した。

### 【結果および考察】

1929 年に Hess が報告した不均一系アセチル化反応は、硫酸を酸触媒として用いているので、我々もこれを踏襲して反応を行った。しかし、硫酸の使用によって導入される硫酸エステル基が原因で、得られた Ac-CNF の熱安定性は著しく低かった。この硫酸エステルを除去する方法 (脱硫処理) を昨年報告したが<sup>2)</sup>、脱硫 CA の解繊性が悪く、直径 20 nm 以下の微細繊維は得られなかった。そこで、この解決法として、硫酸エステルが存在する試料に対して、解繊処理を行うことにした。これは、TEMPO 酸化セルロースがカルボキシ基の影響により容易に解繊できるという現象に基づいている。実際は、不均一系アセチル化 → 解繊処理 → 脱硫処理の順で Ac-CNF の調製を行い、脱硫処理後の水分散液を中和、透析することで、脱塩等の精製を行った。さらに微細繊維の回収を目的として、透析後の分散液を遠心分離した。得られた上澄み液は透明であったが、透過型電子顕微鏡観察により直径 10 nm 程度の Ac-CNF が多数存在することが確認された。このことは、調製工程の変更が、解繊性の向上に寄与したことを示している。

この上澄みを濃縮後、テフロン製の鋳型の中で緩やかに乾燥させると透明なシートが得られた。この Ac-CNF シートは、溶解過程を経ないことからフィルムではなく「紙」に分類できる。従って、本研究により、「透明な紙」が製造できたことになる。このシートの可視光領域における透過率は 80% を超えており、加えて、可視紫外スペクトルの干渉パターンから、シートの平滑性も明らかとなった。さらに、接触角試験からは Ac-CNF シートが TEMPO 酸化 CNF シートよりも疎水性の表面を持つことが示された。

【参考文献】 1) Uraki et al., In: Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Cellulose Conference, Fukuoka, pp 52, (2017).  
2) 齋藤ら, セルロース学会第 25 回年次大会講演要旨集, 京都, pp 95, (2018).

## 樹木の葉を対象としたリグニン定量法の検討

○富山脩太朗, 幸田圭一, 宮本敏澄,  
浦木康光, 玉井裕 (北大院農)

## 【緒言】

リグニンは地球上での賦存量が最も多い天然芳香族高分子であり、自然界では難分解性物質の一つとされ、森林生態系での炭素循環に重要な役割を果たしている<sup>1)</sup>。それゆえ、リグニンの環境中での動態を追跡する研究もおこなわれており<sup>2)</sup>、そうした研究の中でリグニン定量法の適否は重要な要素である。しかし、木材の場合とは異なり、樹木の葉や草本類中のリグニンの定量には注意が必要である。葉に木材のリグニン定量法であるクラソン法やアセチルブロミド法（以下、従来法）を適用した場合、葉に含まれるフェノール性成分やクチン質、タンパクの影響でリグニン量が過大評価される可能性が指摘されている<sup>3-6)</sup>。当研究室では、リグニンに特徴的なメトキシ基の定量値とニトロベンゼン酸化生成物に関する情報とを組み合わせることで、葉に含まれる定量妨害物質に影響されにくい新規定量法を提案してきた（以下、組み合わせ法）。今回は、北海道で代表的な4樹種を対象に、まず、木材中のリグニンの定量に用いられる従来法と組み合わせ法とで結果を比較し、組み合わせ法の有効性を確認するとともに、緑葉に対してそれぞれの方法を用いてその結果を検証した。

## 【実験方法】

**試料の調製**：採取したカラマツ、トドマツ、ミズナラおよびシラカンバの材と緑葉を風乾した後、ワーリングブレンダーで粉砕して60メッシュスルーの木粉、及び緑葉粉を得た。その後、エタノール・ベンゼン（1：2 v/v）でソックスレー抽出器により脱脂した（アルベン抽出）。

**メトキシ基の定量及びニトロベンゼン酸化**：試料50mgを57%ヨウ化水素酸で処理し、メトキシ基を全てヨウ化メチルに変換し、必要な抽出操作を経た後、GCで定量した<sup>7)</sup>。また別途、試料50mgをアルカリ性ニトロベンゼン酸化処理し、抽出操作とリグニン由来生成物の誘導体化を経た後、GCで定量した<sup>8)</sup>。

## 【結果および考察】

木材試料に対して3種の方法でリグニンを定量した結果を図1に示す。リグニン定量法で代表的なクラソン法やアセチルブロミド法といった従来法と比べると、組み合わせ法ではほぼ同等、または若干小さい値を示した。組み合わせ法は原理的に、リグニンの分子構造に特徴的なメトキシ基の量から、試料中の全フェニルプロパンユニット数を計算することで、試料のリグニン含有率を求める方法である。そのため、木材試料に対しては予想通り、従来法と比べ、定量結果に著しい差が出ないことが示された。ただし、今回の実験で用いたヨウ化水素酸の量は、木材試料中のメトキシ基量に対して必要な化学量論量から言えばやや不足している可能性があり、これが従来法に比べて組み合わせ法が若干小さい定量値を与えた要因と考えられるため、この点を精査しているところである。

一方、緑葉試料に対しては樹種を問わず、組み合わせ法によるリグニン定量値は従来法と比べ、極めて小さな値を示した（図2）。組み合わせ法はリグニンの構造情報を直接反映し、妨害物質の影響を受けにくいと考えている。その一方で、木材試料を対象とした場合とは異なり、従来法では葉に含まれる妨害物質の影響を大きく受け、アルベン抽出を履歴してもなお、リグニン定量値を過大に見積もってしまうこ

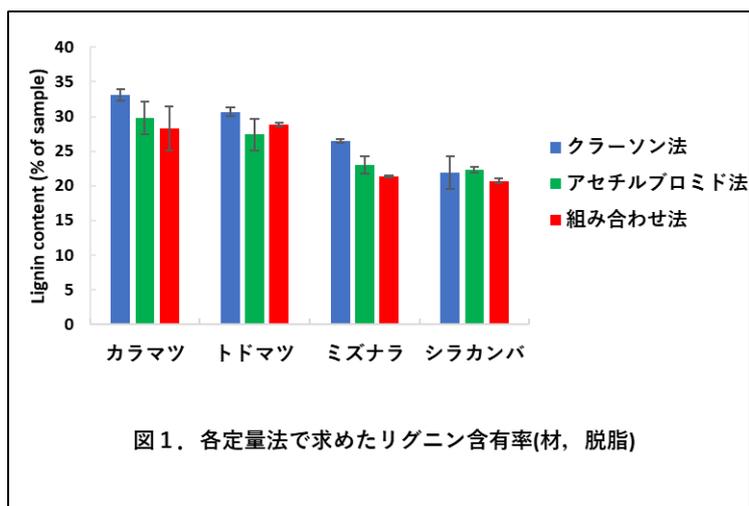


図1. 各定量法で求めたリグニン含有率(材, 脱脂)

とをこの図は示している。この結果は、葉のリグニンを対象とした過去の研究論文で繰り返されてきた指摘<sup>5-7)</sup>を、実験的に裏付けるものである。

また、組み合わせ法で定量された緑葉のリグニン量は、樹種を問わず、アルベン抽出前後で差がみられた（図2および図3）。この実験事実から、これらの樹種の緑葉にはメトキシ基を有する抽出成分が、無視できない割合で含まれることが示唆された。ゆえに、組み合わせ法の適用においても、試料のアルベン抽出は最低限必要であることがわかった。緑葉試料中にアルベン抽出でも除去できないメトキシ含有化合物が存在するか否かについては不明であるが、現段階では、存在しても無視できる量だと想定している。従って、従来法と比べると、組み合わせ法はリグニンの定量妨害物質の影響を受けにくく、葉の脱脂試料に対してより信頼性が高いリグニン定量値を与えると考えられる。このように本研究で提案したリグニン定量法は、抽出条件等の必要な検討を行えば、非木材試料に対しても幅広く適用できる可能性があり、今後はさらに試料の対象を広げて検証を行っていく予定である。

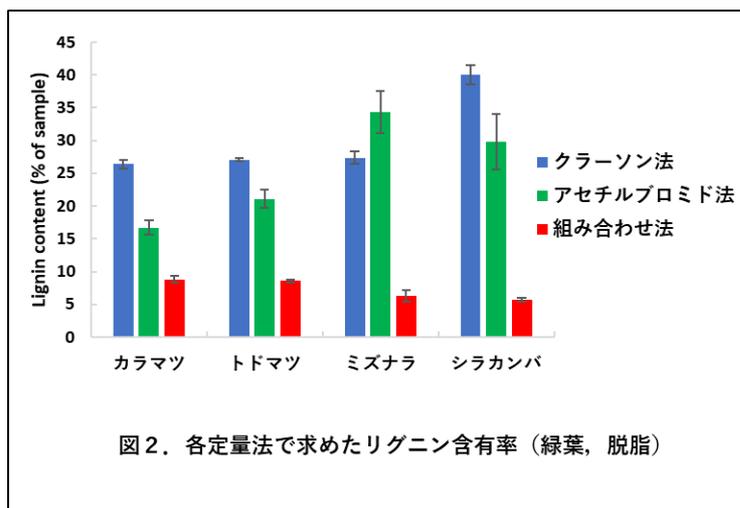


図2. 各定量法で求めたリグニン含有率（緑葉，脱脂）

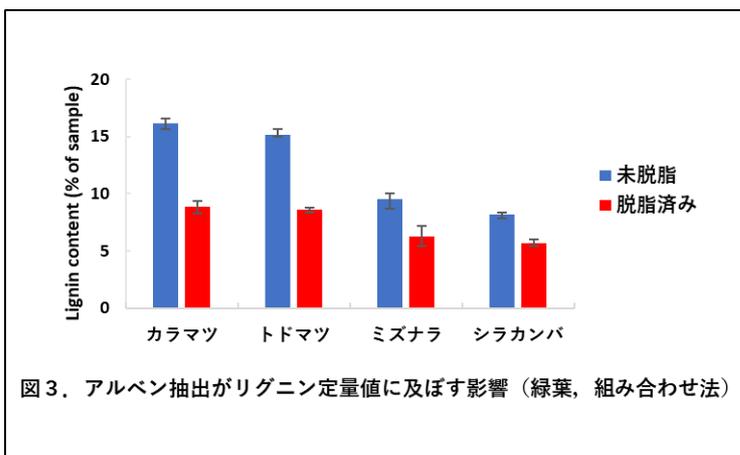


図3. アルベン抽出がリグニン定量値に及ぼす影響（緑葉，組み合わせ法）

#### 【引用文献】

- 1) Berendse *et al.* *Can. J. Bot.* 65(6), 1116-1120 (1987)
- 2) Miyamoto *et al.* *Microb. Ecol.* 74(2), 322-331, (2017)
- 3) Toda *et al.* *Bioresources* 10(2), 2328-2337 (2015)
- 4) Jin *et al.* *Phytochemistry* 64(5), 1023-1031, (2003)
- 5) Jin *et al.* *Bull. Tokyo Univ. For.*, 115, 51-64, (2006)
- 6) 川上日出國ら：スギ落葉有機成分特にクチン質の生分解について *Bull. Nagoya Univ. For.*, 115, 51-64, (2006)
- 7) Goto *et al.* *J. Wood Sci.*, 51(3), 312-314, (2005)
- 8) Yamamura *et al.* *Plant Biotechnology*, 27(4), 305-310, (2010)

○長澤愛美、金森勇樹、山岸祐介、佐野雄三（北大院農）

## 1 緒言

樹皮とは維管束形成層より外側の全組織である。刃物を痛める結晶細胞を多く含むことや樹脂が難浸透であることなど、解剖学的研究の試料として扱いつらい特徴もあり、木部と比較して組織構造の解明は進んでいない<sup>1)</sup>。そのような背景から筆者らは、道内に生育する針葉樹樹皮組織の解剖学的性質を調べてきた<sup>2)</sup>。

一部の分類群の樹皮組織には、特殊化した分泌性のエピセリウム細胞に囲まれた分泌性細胞間隙 *secretory intercellular spaces* と総称される構造が形成される<sup>1)</sup>。この細胞間隙には樹脂や精油、ゴム質等を蓄積し、その多様な含有物質は様々な用途に利用されてきた。マツ科の樹皮組織には樹脂道および樹脂嚢と呼ばれる分泌性細胞間隙が発達し、他の生物侵入に対する防御機能に関する報告がある<sup>3)</sup>。道内生育のマツ科樹木では、カラマツ類の樹皮組織における分泌性細胞間隙に関する研究があり、テルペノイドの含有量との関連性について詳しい知見が得られている<sup>4,5)</sup>。しかし、カラマツ類を含めて、マツ科樹木の樹皮組織に生じる樹脂道や樹脂嚢の基本構造や形成機構、構造的な多様性については分からない点が多い。そこでマツ科3種（トドマツ *Abies sachalinensis*、アカエゾマツ *Picea glehnii*、カラマツ *Larix kaempferi*）で観察される分泌性細胞間隙について解剖学的特徴を調べたところ、各細胞間隙の存否や形態の種間差について知見が得られたので報告する。

## 2 方法

**2.1 試料** 北海道大学苫小牧研究林および森林総合研究所林木育種センター北海道育種場で採取したトドマツとアカエゾマツ、九州大学北海道演習林で採取したカラマツの液浸試料を使用した。各樹種とも外樹皮が未発達な枝と、外樹皮が十分に発達した幹の胸高部より試料を採取した。

**2.2 観察** 光学顕微鏡（光顕）観察：試料を剃刀などでトリミングし、エポキシ樹脂（Epon812）で包埋を行った。包埋試料より滑走式マイクロトームで10～15 μm厚の木口、柾目、板目の各切片を切削し、無染色のまま、あるいはサフラニンまたはトルイジンブルーにより染色した後に永久プレパラートを作製し、光顕で観察した。走査電子顕微鏡（SEM）観察：トリミングの後、凍結状態で滑走式マイクロトームにより観察面を平滑に切削した。臨界点乾燥後、試料台に接着して金・パラジウムをコーティングし、SEMで観察した。

## 3 結果と考察

観察された分泌性細胞間隙は、軸方向樹脂道 *axial resin canal*（管状で長く、樹軸に対して平行～斜めに配列する細胞間隙）、放射樹脂道 *radial resin canal*（放射組織内に存在する細胞間隙）、樹脂嚢 *resin cyst/cavity*（球形～長球形の細胞間隙）の3種に大別された。これら3種の分泌性細胞間隙の存否、分布、相互の連続性には種間差が見られた。

**トドマツ**：[枝] 一次組織（皮層）と考えられる部分に多数の軸方向樹脂道が観察された。放射樹脂道や樹脂嚢は観察されなかった。[幹] 球形～長球形の樹脂嚢が観察された（図1）。まれに軸方向樹脂道が観察された。

**アカエゾマツ**：[枝] トドマツ同様に一次組織（皮層）と考えられる部分に多数の軸方向樹脂道が観察された。放射樹脂道や樹脂嚢は観察されなかった。[幹] 師部の外層では球形～長球形の樹脂嚢および蛇行している軸方向樹脂道が観察された（図2）。師部の紡錘形放射組織に放射樹脂道が存在した（図3）。

**カラマツ**：[枝] 放射樹脂道と樹脂嚢が観察された。放射樹脂嚢の外端が大きく膨れて樹脂嚢状の形態を呈しているものも認められた（図4）。樹脂嚢の形成機構については不明な点が多いが<sup>1)</sup>、カラマツでは放射組織から樹脂嚢が発達する場合があると考えられる。[幹] 検討中である。

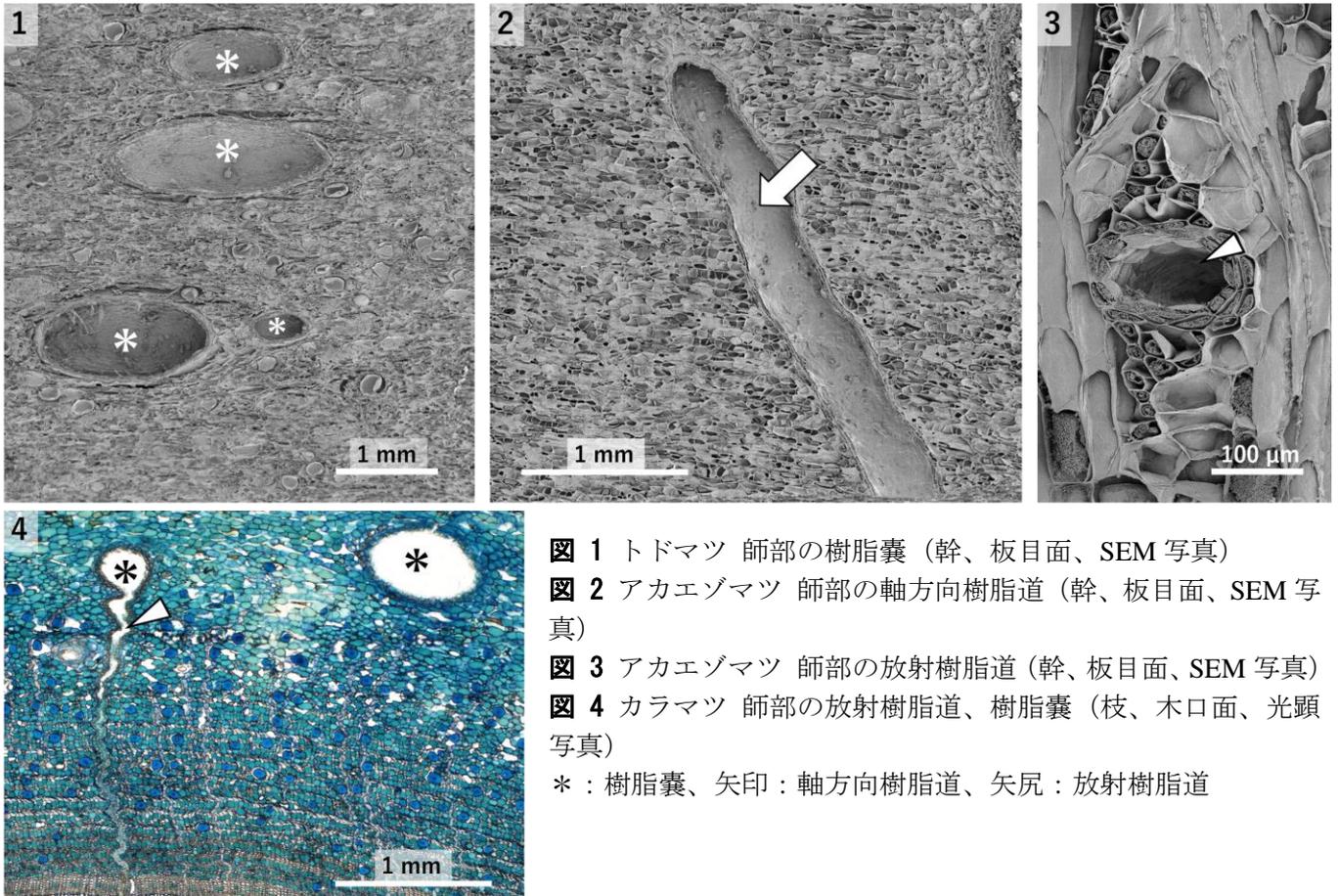


図 1 トドマツ 師部の樹脂嚢 (幹、板目面、SEM 写真)  
 図 2 アカエゾマツ 師部の軸方向樹脂道 (幹、板目面、SEM 写真)  
 図 3 アカエゾマツ 師部の放射樹脂道 (幹、板目面、SEM 写真)  
 図 4 カラマツ 師部の放射樹脂道、樹脂嚢 (枝、木口面、光顕写真)  
 \* : 樹脂嚢、矢印 : 軸方向樹脂道、矢尻 : 放射樹脂道

## 5 謝辞

試料採取にあたりご協力いただきました、森林総研林木育種センター北海道育種場 中田了五博士、九州大学北海道演習林 内海泰弘博士に感謝いたします。

## 引用文献

- 1) Angyalossy V et al. 2016. IAWA list of microscopic bark features. IAWA Journal 37: 517-615.
- 2) 長澤愛美、山岸祐介、佐野雄三. 2019. 道産針葉樹 3 種の樹皮組織の解剖学的特徴. 第 69 回日本木材学会大会 研究発表要旨集.
- 3) Seki K, Orihashi K, Sato M, Kishino M, Saito N . 2012. Accumulation of constitutive diterpenoids in the rhytidome and secondary phloem of the branch bark of *Larix gmelinii* var. *japonica*. Journal of Wood Science 58: 437-445.
- 4) Franceschi VR et al. 2005. Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. New Phytologist 167: 353-375.
- 5) 関一人、折橋健. 2014. カラマツ類の枝樹皮組織におけるテルペノイドと内分泌構造. 日本木材学会北海道支部講演集第 46 号.

## チドリノキとハウチワカエデの茎頂培養

○竹内信吾、佐野雄三、荒川圭太、山岸祐介（北大農）

## 【緒言】

カエデ属樹木は材が硬く緻密なことから、家具材や床材としての需要がある<sup>1)</sup>。また、鳥眼杻や縮み杻のような特徴的な杻が見られることから、化粧用としての需要もある<sup>1)</sup>。木材としての利用の他にも、街路樹や庭園木などの観賞用途、樹液からのシロップ生産、洗眼液など幅広い用途がある。

遺伝子型の変化を経ずに母樹の有用形質を受け継ぐことが可能な増殖法として挿し木や接ぎ木が行われるが、カエデ属の多くはこれらの増殖法が困難である<sup>2)</sup>。そこで、クローン個体を作成できる別の手段として、組織培養技術の一つである茎頂培養に注目した。

茎頂とは、茎先端にある頂端分裂組織とそこから分化した数枚の葉原基から構成され(図1)、その茎頂を培地上で培養する方法を茎頂培養と呼ぶ。茎頂培養によりクローン個体の作出ができるほか、種子の豊凶に左右されずに増殖できる、ウイルスフリーの植物体を得られる、などの利点がある。この際、1つの茎頂から複数の芽が伸長した多芽体を得られれば、より効率良くクローン個体数を増やせる。また、これまでに挿し木が困難とされている樹種において茎頂培養が成功した樹種もある。シラカンバやユリノキは挿し木が困難である<sup>3)</sup>が、どちらも茎頂培養によって大量増殖が可能となり、シラカンバの増殖技術は民間企業への技術移転が行われた<sup>4)</sup>。このように、樹木の増殖や保存という観点から、茎頂培養は有効な手段である。

本研究では、鹿児島県などの4県でレッドデータブックに指定されているチドリノキ(*Acer carpinifolium*)と、街路樹としてもよく用いられ、園芸用品種が多く作出されているハウチワカエデ(*A. japonicum*)を実験対象とし、増殖技術の確立を目指して、対象樹種の茎頂培養において有効な植物ホルモンの種類や添加量、茎頂の採取時期について検討した。

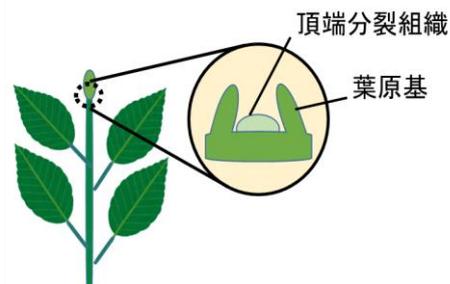


図1 茎頂の概略図

## 【実験方法】

チドリノキは北海道大学植物園内に生育する個体を、ハウチワカエデは北海道大学構内に生育する個体を供試木とした。チドリノキは2018/11/1、12/13に、ハウチワカエデは2018/9/25、2019/2/15に冬芽を採取した。採取後、流水と中性洗剤を用いて汚れを落とし、流水に30分間さらした。流水洗浄後、70%イソプロピルアルコールで1分間、界面活性剤tween20を加えた1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に15分間浸漬することで滅菌を行った。その後、クリーンベンチ内で滅菌水を用いて芽を5回洗浄した。そして、メスとピンセットを用いて芽を切り開き、中にあった1~2mmの茎頂を摘出し、培地へ植え付けた。培地にはWPM<sup>5)</sup>培地の無機塩類及びビタミンに、糖としてスクロース20g/L、固化剤としてگرانガム3g/Lを添加したものをを用いた。植物ホルモンとしてサイトカイニンであるベンジルアミノプリン(BAP)とホルクロルフェニユロン(CPPU)を各1または2μM単独で添加した条件と植物ホルモン無添加の計5条件を検討した。いずれも25℃、16時間日長で培養し、1~2ヶ月ごとに継代を行った。

発根した個体は、滅菌したバーミキュライトを入れたポットへ移植し、培養瓶内の高湿度環境から培養瓶外の湿度に慣らしていくための順化を行った。順化の初期段階では湿度を高く維持するためにポットをポリ袋で覆い、ポリ袋の口を輪ゴムで縛った。その後、ポリ袋内の湿度

を徐々に下げるために穴をあけ、段階的に穴を広げ、最終的にポリ袋を外した。

## 【結果および考察】

### 1. チドリノキ

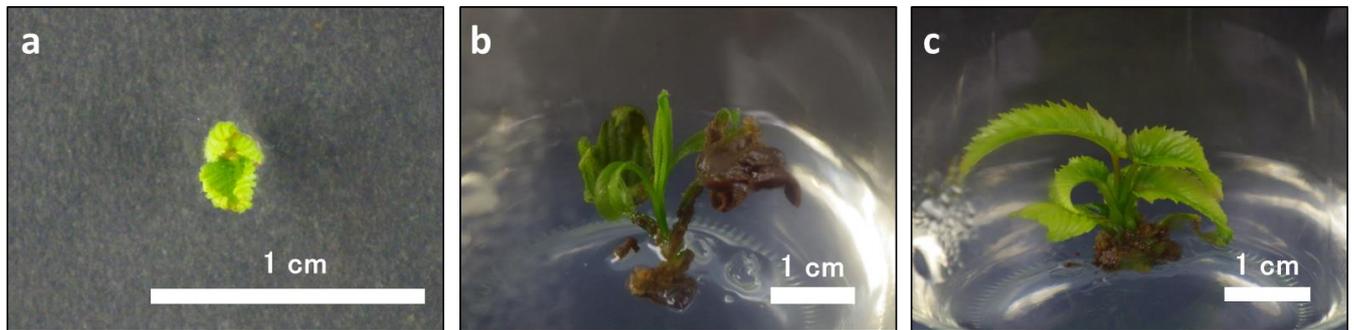


図2 BAP、CPPU 添加によるチドリノキ茎頂のシュート誘導（11/1 採取、培養開始 78 日後）  
(a)植物ホルモン無添加、(b)BAP 1  $\mu$ M、(c)CPPU 1  $\mu$ M

11/1、12/13 のどちらに採取した茎頂においても、植物ホルモン無添加培地ではシュート伸長せず（図 2a）、BAP または CPPU を添加した培地のみでシュート伸長が見られた（図 2b, c）。このとき、各ホルモンの 1  $\mu$ M と 2  $\mu$ M ではシュート伸長の違いは見られなかった。BAP 添加培地で生育した個体の葉は萎縮したままで、3 ヶ月後には全て枯死した。一方、CPPU 添加培地に植え付けた茎頂はシュート伸長や展葉するだけでなく、一部の茎頂からは多芽体が 2 ヶ月後に誘導された（図 3a）。植え付けた茎頂のうち、約 6 割が多芽体へ誘導され、1 つの茎頂から 2~6 本の芽が得られた。培養開始 7 ヶ月後の芽の総本数は、植え付け時の 2.7 倍となった。

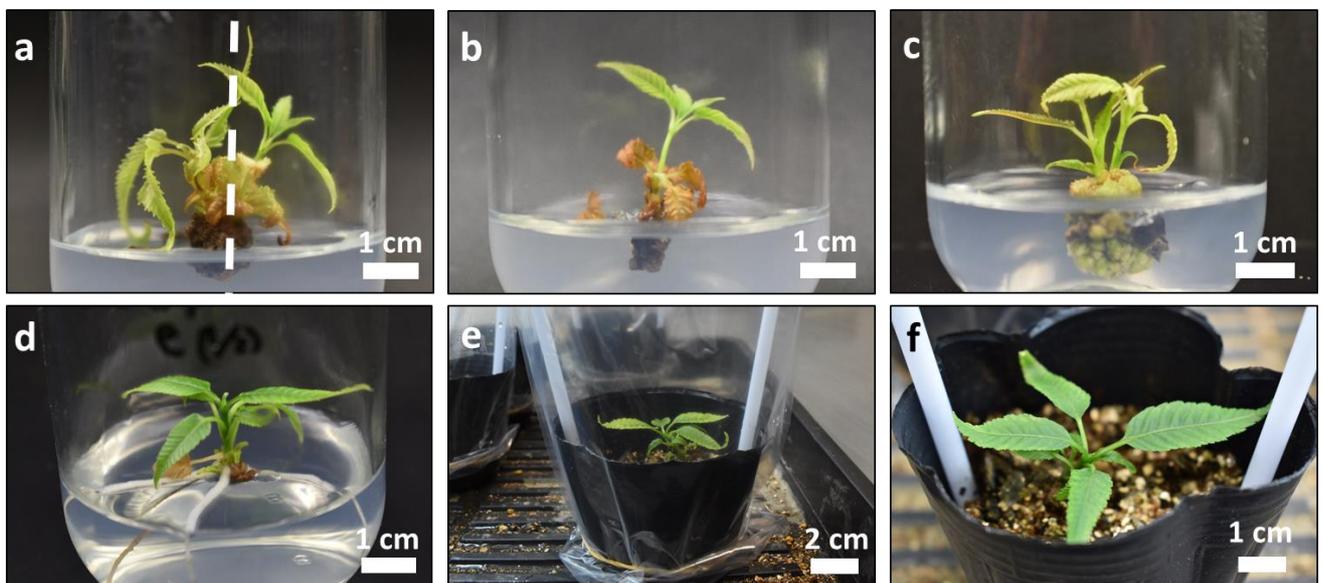


図3 (a)誘導された多芽体（培養開始 163 日後）、(b)(a)の点線に沿って多芽体を 2 分割して植物ホルモン無添加培地へ継代した個体（培養開始 167 日後）、(c)切り分けた後に誘導された多芽体（培養開始 301 日後）、(d)発根した個体（培養開始 181 日後）、(e)順化した個体（培養開始 265 日後）、(f)順化開始 66 日後の様子（培養開始 331 日後）

CPPU 添加培地で培養を続けたところ、基部に未分化細胞の塊であるカルスが形成、拡大した。培地内の水や糖などの吸収の妨げになる恐れがあったため、培養開始 3 ヶ月後に植物ホルモン無添加培地へ移した。11 月採取の個体は植物ホルモン無添加培地へ移してから 4 ヶ月後に、12 月採取の個体は 2 ヶ月後に、多芽体を 1 本ずつの芽に切り分けた（図 3b）。切り分けた芽を茎頂植え付け時と同じ濃度の CPPU 添加培地へ継代した個体では発根が見られなかったが、多

芽体が再び誘導された(図 3c)。一方、切り分けた芽を植物ホルモン無添加培地へ継代すると、48%で発根が見られた(図 3d)。順化を開始してから2ヶ月の間で、新たに展葉が見られるなど、順化に移した個体の全てが枯死することなく成長した(図 3e, f)。

## 2. ハウチワカエデ

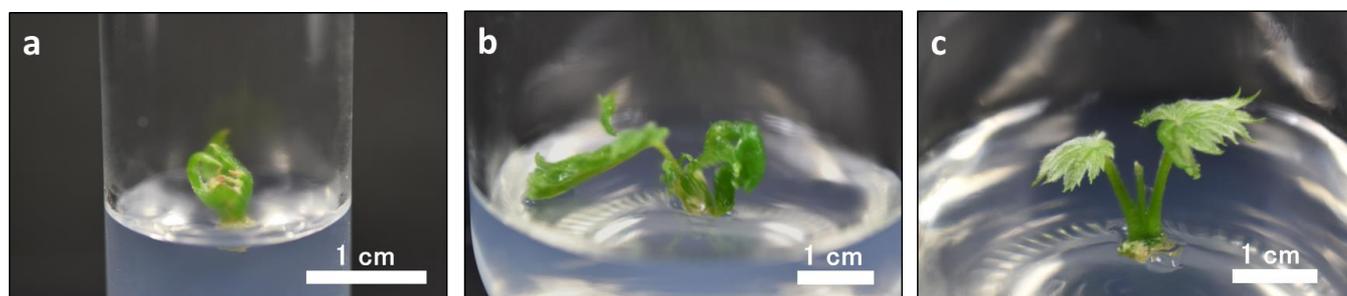


図 4 BAP、CPPU 添加によるハウチワカエデ茎頂のシュート誘導 (2/15 採取、培養開始 31 日後)  
(a)植物ホルモン無添加、(b)BAP 2 μM、(c)CPPU 2 μM

9/25 に採取した茎頂を BAP 添加培地に植え付けると、シュート伸長が見られた割合は 0%、CPPU 添加培地に植え付けると 50%であった。一方、2/15 に採取した茎頂は、BAP 添加培地では 39%、CPPU 添加培地では 85%であった。このように、同じ培地条件においても、採取時期によってシュート伸長が見られる割合が異なるということが分かった。

植物ホルモン無添加培地ではシュート伸長が見られなかった(図 4a)。BAP 添加培地ではシュート伸長したが、葉は萎縮したままであった(図 4b)。また、CPPU 添加培地では展葉した一方で(図 4c)、多芽体が誘導されたり、発根したりすることなく半年後には全て枯死した。

### 【まとめ】

チドリノキの茎頂は、CPPU 添加培地へ植え付けることによって2ヶ月後に多芽体が誘導された。培養して得られた多芽体を切り分け、CPPU 添加培地へ継代すると多芽体が再び誘導された。多芽体を切り分けて植物ホルモン無添加培地へ継代すると1~2ヶ月で発根した。さらに培養瓶外の環境への順化にも成功したため、チドリノキの培養系の確立に至ったと言える。

ハウチワカエデの茎頂は、CPPU 添加培地へ植え付けることによってシュート伸長し、展葉が見られた。また、2/15 に採取した茎頂は、9/25 に採取した茎頂よりもシュート伸長した割合が高くなり、採取時期の影響を受けることが分かった。一方、多芽体や発根した個体は見られず、ハウチワカエデの培養系の確立には至っていない。今後は、長期的な培養の維持や多芽体の誘導を目指すために、CPPU の添加濃度を高めたり、他の植物ホルモンを添加したりなど、培地条件の再検討が必要であると考えられる。

### 【引用文献】

- 1) 安部久 (2011) 「カエデ」 伊東隆夫、佐野雄三、安部久、内海泰弘、山口和穂(著) 「カラー版日本有用樹木誌」 初版第1刷 海青社 : pp 54-57
- 2) Van Gelderen, D. M. (1994) Chapter 2 : Propagation of Maples. In:Van Gelderen, D. M., De Jong, P. C., Oterdoom, H. J. (eds) Maples of the World. Timber Press, UK, :pp 27-36
- 3) 杉浦孝蔵 (1959) 「発根とさしつけ季節との関係」 日本林学会誌 41(9) : pp 356-359
- 4) 佐藤孝夫、脇田陽一、錦織正智 (2012) 「北海道総合研究機構林業試験場における組織培養のとりまとめ」 北海道立総合研究機構林業試験場緑化樹センター
- 5) Lloyd, G. and McCown, B. (1981) Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. Proceedings of the International Plant Propagator's Society, 30:pp 421-427

## 木質バイオマス燃焼灰の活用に向けた検討（3） －農用地での用途に関する検討－

○折橋 健、西宮耕栄、山田 敦、安久津 久、原田 陽（道総研林産試）

### 【はじめに】

近年、木質バイオマスの地域エネルギー利用が拡大しており、それに伴って発生する燃焼灰の有効活用が求められている。そこで筆者らは、化学物質（塗料や防腐剤等）を含まない材を専焼ボイラーで燃焼した時に得られる灰を対象に活用法の検討を行っており、農用地での用途として融雪資材、pH 矯正資材の可能性を調べている。

本研究では、燃焼灰の融雪効果について農用地向けに市販されている融雪資材（炭酸カルシウム、石炭灰）と比較を行ったので報告する。我々がこれまでに採取した燃焼灰については、見た目の色合いが黒に近いものから白に近いものまで様々であったことから、融雪試験では明度が異なる3種類の燃焼灰を供試し、明度によって融雪効果に違いが生じるのかについても調査した。

また道内では、農用地の酸性化に対して炭酸カルシウム等の石灰質資材が施用され、土壌の pH 矯正が行われているが、燃焼灰はカルシウムやカリウム等の無機塩を多く含み、アルカリ性を呈することから、石灰質資材と同様に活用できる可能性がある。そこで、燃焼灰の pH 矯正力について測定を行っているところであり、今回は途中経過を報告する。

### 【実験方法】

#### 1) 融雪試験

供試燃焼灰は、道内でチップ（針葉樹）を燃料とするボイラー（350～1200kW）から採取した主灰（ボイラー燃焼室の底部から得られる灰）5試料の中から選定した。5試料の明度（L\*）を測色色差計（日本電色工業製、ZE6000）にて測定したところ 31.8～55.9 であった。そこで、手持ちの灰量も考慮して、燃焼灰 A（明度 31.8）、燃焼灰 B（40.0）、燃焼灰 C（55.4）を供試した（図 1）。また、融雪効果の比較に用いた炭酸カルシウム（商品名：防散融雪タンカル）、石炭灰（商品名：融雪アッシュ）は旭川市内の JA より購入した。このうち、炭酸カルシウムは粒状物であったが、他材料が粉末であったことから、条件を揃えるために目の開きが 2mm のふるいを通るように粉砕して使用した。

試験地は、林産試験場内の日当たりが良い場所に設けた。各材料について 1m×1m の区画を 5 つ設け、区画あたり 20g（20g/m<sup>2</sup>）を散布した。散布は 2019 年の 2 月下旬に行った。散布時の積雪は 70cm 前後であった。各区画の中央部に積雪測定点を 2 点設け、積雪減少量（2 点平均）の推移を調べた。



図 1 融雪試験に供試した燃焼灰  
\* 明度 : A 31.8、B 40.0、C 55.4

#### 2) pH 矯正力の測定

供試燃焼灰は、道内でチップ（針葉樹）を燃料とするボイラー（50～1200kW）から採取した主灰 7 試料である。また炭酸カルシウムについては、粉末試薬（富士フィルム和光純薬製、特級）を用いた。供試土壌は上川管内で採取された酸性土壌を用いた。

pH 矯正力の測定は、資材添加・通気法<sup>1)</sup>により行った。100mL 容三角フラスコに乾物相当で土壌 20g、試料 100～500mg を入れ、液量が 50mL になるように水を加えて攪拌した。その後 24 時間静置し、さらに 5 時間水平振とう（150rpm）した。そして得られた土壌溶液に毎分 2L の割合で 2 分間通気を行った後、速やかに

土壌溶液の pH を測定した。以上の操作は 20~22°C の環境下で行った。pH 矯正力は、本測定において土壌溶液の pH を 6.5 にするのに要した試料添加量より判断した。

【結果および考察】

1) 融雪効果の比較

融雪試験における積雪減少量の推移を図 2 に示す。各試料の散布区における積雪減少量は、対照区（無散布）よりも常時大きかった。また、散布区間ではほぼ同様の推移を示した。図 3 に試験終了時（散布から 27 日後）の積雪減少量を示す。燃焼灰 A~C の散布区間では積雪減少量は同等で、炭酸カルシウム、石炭灰の散布区ともほぼ同等であった。以上のことから、農用地向けに市販されている融雪資材（炭酸カルシウム、石炭灰）と同様の散布量で燃焼灰は融雪資材として使用できると考えられた。また、燃焼灰の見た目の色合いの違いについては、本試験の結果を見る限り融雪効果に大きく影響しないと考えられる。

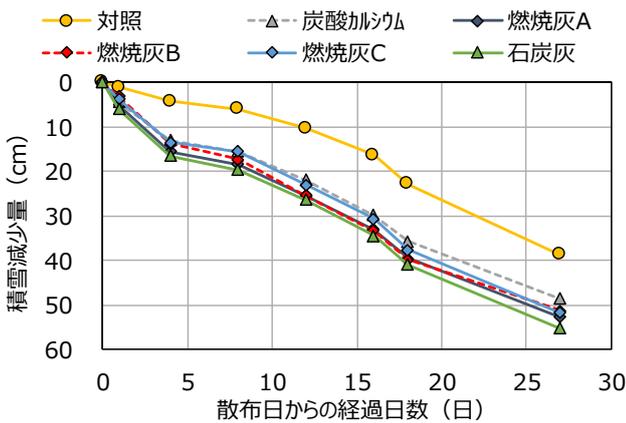


図 2 融雪試験における積雪減少量の推移

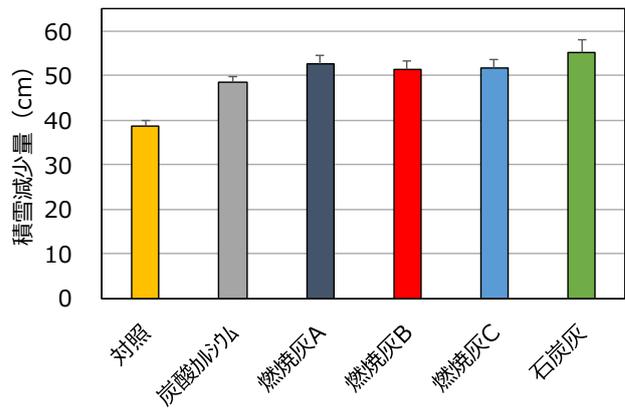


図 3 試験終了時における積雪減少量

2) pH 矯正力

試料の添加量と土壌溶液 pH の関係の一例を図 4 に示す。添加なしの場合の土壌溶液 pH は 3.5 であるが、試料を添加することにより pH が S 字を書くように上昇する傾向が認められた。試料添加量と土壌溶液 pH の関係を 3 次曲線（図 4 中の点線部分）で近似し、その近似式から土壌溶液の pH が 6.5 となる試料添加量を求めた結果を図 5 に示す。土壌溶液の pH を 6.5 とするのに必要な燃焼灰の添加量は、炭酸カルシウムの 1.3~2.0 倍量と計算され、炭酸カルシウムと比べて燃焼灰の pH 矯正力は 5~8 割程度であることが示唆された。

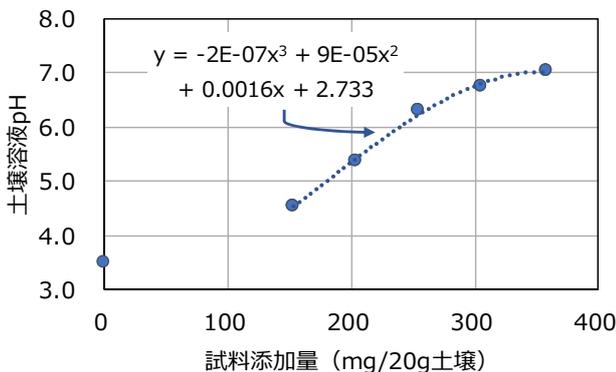


図 4 試料の添加量と土壌溶液 pH の関係（一例）

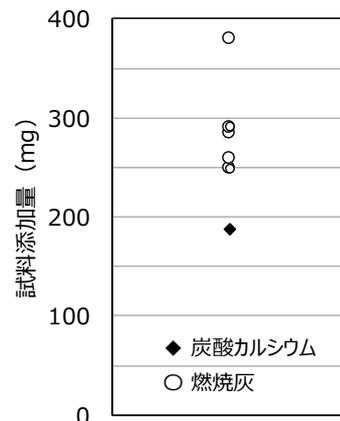


図 5 土壌溶液 pH を 6.5 とするのに要する試料の添加量

【おわりに】

燃焼灰の融雪効果については、上記の炭酸カルシウム、石炭灰の他、木炭やもみ殻炭ともほぼ同等であることが分かっており<sup>2)</sup>、これら既存の融雪資材と同様の散布量で燃焼灰は使用できると判断している。また我々

は、燃焼灰の安全性の観点からも検討を行い、これらを総合して融雪資材としての利用法を取りまとめた<sup>3)</sup>。今後は、利用者に向けての普及に努めたいと考えている。

一方、燃焼灰の pH 矯正力に関しては、今後も測定を継続する予定である。それとともに、供試燃焼灰の化学的性状も分析し、その性状と pH 矯正力の変動との関連性を調べていきたい。

#### 【謝辞】

本研究の実施にあたり、燃焼灰および土壌のご提供元、ならびに分析に関してご指導、ご協力いただいた皆様にこの場を借りて厚くお礼申し上げます。

#### 【引用文献】

- 1) 北海道立総合研究機構農業研究本部: 土壌・作物栄養診断のための分析法 2012.  
<https://www.hro.or.jp/list/agricultural/center/bunseki2012/index.html>, 2012
- 2) 折橋ら: 木質バイオマス燃焼灰の活用に向けた検討. 日本木材学会北海道支部講演集 49, 61-64, 2017
- 3) 北海道立総合研究機構林産試験場・同環境科学研究センター: 木質バイオマス燃焼灰の融雪資材としての利用法. <https://www.hro.or.jp/list/forest/research/fpri/manual/default.htm>, 2019

## 芦別産ヨーロッパトウヒの材質試験

○村上了, 大崎久司(道総研林産試)

### 【緒言】

ヨーロッパトウヒ(ドイツトウヒ、*Picea abies* K.)は明治後期に北海道へ導入された<sup>1)</sup>。その後、トドマツ、カラマツの造林が軌道に乗りヨーロッパトウヒの植栽量は減ったものの、現在、昭和初期にかけて植栽されたヨーロッパトウヒは大径化しており、その利用方法が課題となっている。

これまで道産のヨーロッパトウヒに関する材質の調査は北海道森林管理局が管理する外国樹種見本林(旭川産)から伐採された原木のデータ(林齢79年、立木3本)<sup>2)</sup>と東京大学北海道演習林(富良野産)から伐採された原木のデータ(林齢58年、立木30本)<sup>3)</sup>に限られる。

本研究では、芦別産ヨーロッパトウヒの各種材質試験を行い、基礎データの拡充を図った。

### 【供試材と実験方法】

#### 1) 供試材

試験体は、北海道森林管理局空知森林管理署辺溪森林事務所3185ほ林小班(芦別市)で平成29年2月に伐採したヨーロッパトウヒの原木(林齢92年、1番玉5本、原木長さ3.65m)から採取した。製材前に打撃法により原木の動的ヤング率を測定した(表1)。

表1 供試木の径と動的ヤング率

| 供試木<br>番号 | 元口径<br>(mm) | 末口径<br>(mm) | 動的ヤング率<br>(kN/mm <sup>2</sup> ) | 備考<br>Remarks |
|-----------|-------------|-------------|---------------------------------|---------------|
| 1         | 489         | 478         | 10.14                           |               |
| 2         | 532         | 472         | 11.60                           |               |
| 3         | 451         | 488         | 12.12                           |               |
| 4         | 540         | 465         | 11.80                           |               |
| 5         | 502         | 447         | 7.80                            | 一部腐朽          |

#### 2) 試験方法

材質試験は軟X線デンシトメトリ法による年輪解析、割裂法による繊維傾斜度計測、無欠点小試験体での強度試験を行った。

各供試木の偏心のない方向から、髄を含む厚さ50mmの柁目板を製材し、髄を中心に相対する2方向から年輪解析用試料、繊維傾斜度測定用試料、及び強さ試験用試料を原木の末口に近い箇所から得た。

年輪解析用試料は厚さ(繊維方向)2mmに切削加工し、アルコールベンゼンで脱脂後、恒温恒湿環境下(温度20℃、湿度65%)で含水率12%に調整した。軟X線撮影にはソフテックス(株)製軟X線撮影装置CMB2型を用い、撮影条件を電圧19kV、電流2.5mAで照射時間39秒とした。フィルムの濃度測定はコニカメディカル(株)製マイクロフォトメータ2111型で行った。

繊維傾斜度測定用試料は繊維方向の高さを30mmとし、相対する2方向について割裂法で繊維傾斜度を測定した。なお、髄から同一年輪上に現れる2つの傾斜度の平均値をその年輪の代表値とした。

強度試験は、曲げ試験と圧縮試験をJIS Z2101に準拠して行った。

### 【結果および考察】

#### 1) 年輪解析

図1と図2に年輪幅と年輪密度の半径方向の変動を示す。供試木は同一の小班から切り出したにもかかわらず、年輪幅、年輪密度の個体差は大きかった。年輪幅は30年以降3mmから2mmと緩やかに狭く

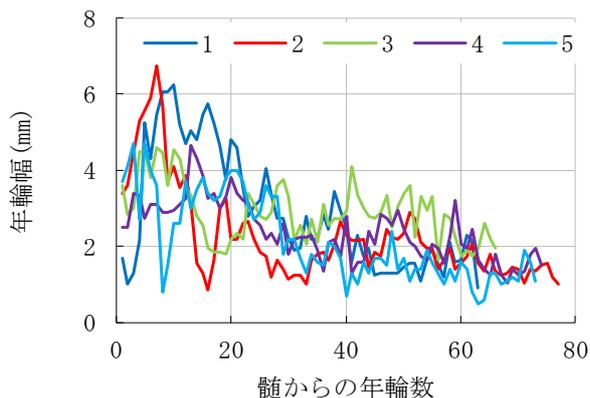


図1 年輪幅の変動

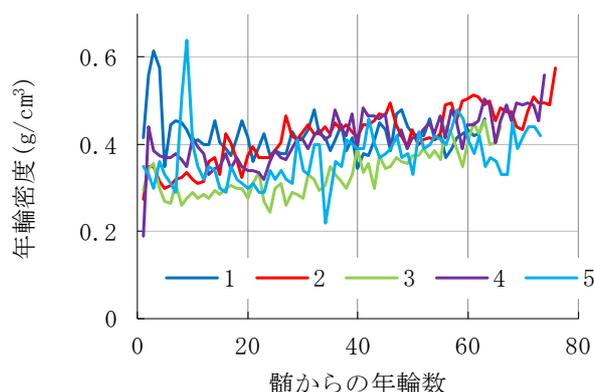


図2 年輪密度の変動

表2 軟X線デンストメトリ法による年輪解析結果

| 供試木番号 | 年輪幅 (mm) | 晩材幅 (mm) | 年輪密度 (g/cm <sup>3</sup> ) | 早材密度 (g/cm <sup>3</sup> ) | 晩材密度 (g/cm <sup>3</sup> ) |
|-------|----------|----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1     | 2.03     | 0.45     | 0.43                      | 0.33                      | 0.69                      |
| 2     | 2.09     | 0.63     | 0.50                      | 0.36                      | 0.76                      |
| 3     | 3.18     | 0.61     | 0.40                      | 0.31                      | 0.73                      |
| 4     | 2.45     | 0.69     | 0.46                      | 0.32                      | 0.77                      |
| 5     | 1.73     | 0.49     | 0.41                      | 0.31                      | 0.62                      |

\*外側の20年輪分

なっていく一方、年輪密度は徐々に高くなる傾向にあった。

各供試木の年輪解析結果を表2に示す。図2に示したように、髄から外側に向けて年輪密度は線形に上がっていくため、各値は外側の20年輪を平均した値を示す。

## 2) 繊維傾斜度

図3に割裂法により求めた繊維傾斜度の半径方向の変動を示す。原木5本中4本で繊維傾斜度は髄からの年輪数が10年くらいまではS旋回しているが、徐々にその値は低下しZ旋回に移行するねじれ返しが起こっていた。年輪幅や年輪密度と同様に、繊維傾斜度の個体差は大きかった。このねじれ返しが起こる傾向は、ヨーロッパトウヒの原産地での傾向と同様である<sup>4)</sup>。

## 3) 強度試験

髄からの距離に伴う圧縮強さ、曲げ強さ、曲げヤング率の変動を図4～図6に示す。圧縮強さ、曲げ強さ、曲げヤング率は髄から外側に向かって微増している。これは図2で示した年輪密度の結果と一致す

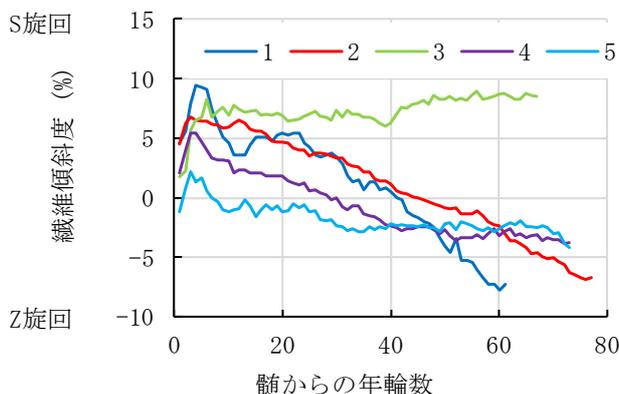


図3 繊維傾斜度の変動

る。

強さ試験の結果を表3に一括して示す。今回の芦別産ヨーロッパトウヒは、文献値<sup>2)</sup>の旭川産ヨーロッパトウヒと年輪幅、気乾密度において近い値を示している。圧縮強さ、曲げ強さは芦別産の方が、旭川産より低い、曲げヤング率はほぼ同じであった。また、芦別産は富良野産<sup>3)</sup>に比べて年輪幅が狭く、それに伴い密度、強さ、ヤング率が高かった。

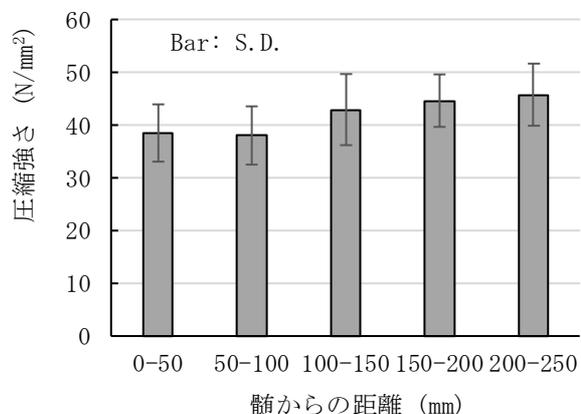


図4 圧縮強さの変動

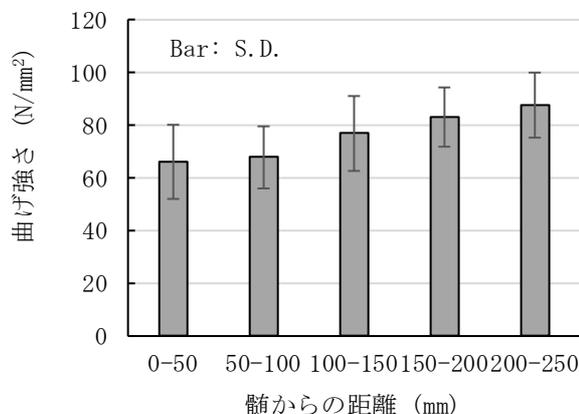


図5 曲げ強さの変動

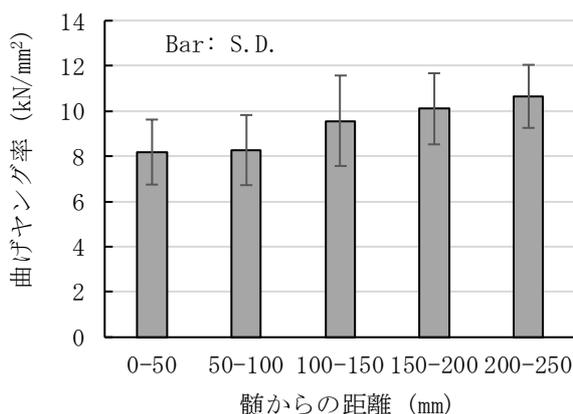


図6 曲げヤング率の変動

表3 強度試験結果

| 供試木番号  | 試験体数 | 年輪幅 (mm)       | 気乾密度 (g/cm³)   | 圧縮強さ (N/mm²)  | 曲げ強さ (N/mm²)   | 曲げヤング率 (kN/mm²) |
|--|------|----------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|
| 1  | 11   | 3.03<br>(1.21) | 0.43<br>(0.03) | 43.1<br>(3.4) | 77.7<br>(6.3)  | 9.3<br>(1.2)    |
| 2  | 11   | 2.57<br>(0.70) | 0.48<br>(0.02) | 48.2<br>(3.9) | 91.7<br>(7.0)  | 11.2<br>(0.9)   |
| 3  | 10   | 3.22<br>(0.32) | 0.41<br>(0.02) | 39.4<br>(2.5) | 70.1<br>(6.5)  | 8.6<br>(0.6)    |
| 4  | 10   | 2.79<br>(0.53) | 0.51<br>(0.02) | 49.6<br>(4.0) | 95.4<br>(7.5)  | 12.2<br>(0.8)   |
| 5  | 9    | 2.53<br>(0.93) | 0.41<br>(0.03) | 39.0<br>(6.0) | 68.4<br>(10.0) | 8.3<br>(1.1)    |
| 平均   | 51   | 2.83<br>(0.85) | 0.45<br>(0.05) | 44.0<br>(5.9) | 81.1<br>(13.2) | 10.0<br>(1.8)   |
| 旭川産 <sup>2)</sup>                                |      | 3.0            | 0.46           | 37.2          | 73.4           | 9.9             |
| 富良野産 <sup>3)</sup>                               |      | 5.4            | 0.39           | 41.5          | 66.3           | 8.9             |
| トドマツ <sup>5)</sup><br><i>Abies sachalinensis</i> |      |                | 0.40           | 34.3          | 63.7           | 7.8             |

\*表中の()内は標準偏差を示す。

### 【謝辞】

この研究は北海道森林管理局より供試木の提供を受けて行いました。ここに感謝の意を表します。

### 【参考文献】

- 1) 梅木清：ヨーロッパトウヒ間伐試験地の林分成長と間伐の個体成長・形態に対する影響、北海道林業試験場研究報告 (38)、37-46、2001
- 2) 川口信隆、高橋政治：旭川営林支局神楽見本林の外国産樹種の材質試験、日本木材学会北海道支部講演集(14)、16-20、1982
- 3) 高橋政治、滝沢忠昭、大久保勲、川口信隆：トドマツおよびヨーロッパトウヒ人工林材の材質、林産試験場場報(8)、No.1、14-20、1994
- 4) J. M. Harris: “Spiral Grain and Wave Phenomena in Wood Formation”, Springer Series in Wood Science, 1989
- 5) (社)日本木材加工技術協会：日本の木材、1989

## スパンを変えた道産 CLT の破壊性状と強度変化の検討

○川合慶拓、澤田 圭、佐々木貴信、佐々木義久(北大院農)

### 【緒言】

新しい木質材料として欧州で開発された CLT(Cross-Laminated Timber)は、鉄骨・鉄筋コンクリートに代わる建築材料として欧米諸国を中心に中高層程度の木造ビルが建設されており、今後も集合住宅、事務所、商業施設など様々な用途における用途が予想される。一方国内では 2011 年頃から研究開発が始まり、規格整備も整えられている。国内事例も、ここ数年間で 2,3 階層程度の集合住宅・施設を中心として徐々に拡大している。一方、CLT を柱、壁材或いは床材などの建築材料として利用した際には、積載荷重や固定荷重により曲げ応力とせん断応力が部材に働くが、部材の支点間距離によってせん断破壊する場合と曲げ破壊する場合が考えられる。CLT のせん断破壊は、直交層には木質繊維を回転させる方向に働く力、いわゆるローリングシアーによって急激な耐力低下、脆性破壊の恐れがある。よって CLT を建築部材として利用した際は極力せん断破壊を避けることが望まれるが、せん断又は曲げのいずれで終局するかは部材の規模、支点間距離、樹種によっても異なる報告<sup>1,2)</sup>が挙がっており、不明な点が多い。そこで今回の研究では、トドマツ・カラマツ材の CLT を作成し、支点間距離に条件を付加して 3 点曲げ破壊試験を実施し、破壊性状と得られた強度との関係性を比較した。

### 【実験方法】

試験体は図 1 に示すように、幅 105mm、厚さ 90mm、長さ 1800mm の CLT を作り、そこから表 1 のように条件に合わせて長さを調整した 3 層 3 プライの試験体を作成した。樹種はトドマツ、カラマツとした。本研究では強度試験のマニュアル<sup>3)</sup>におけるせん断破壊試験の A 法の、試験体スパンを材せい(h)の 6 倍を参考にしながら、全部で 6~18 倍の 6 種類の異なるスパンを条件として破壊性状と強度の変化を把握できるようにした。なお、試験体の密度はカラマツで 479kg/m<sup>3</sup> で標準偏差は 32.13 kg/m<sup>3</sup>、トドマツは 444 kg/m<sup>3</sup> で標準偏差は 36.15 kg/m<sup>3</sup> だった。また、本研究では CLT 直交層の幅はぎ接着は実施せず、外層ラミナの繊維方向が長さ方向と平行な強軸試験体構成とした。接着剤は水性高分子イソシアネート系<sup>4)</sup>を使用した。せん断破壊試験は中央載荷方式を利用した。なおカラマツ CLT の全 16 体の縦振動法を用いたヤング率は平均 9.63MPa で標準偏差は 1.25MPa、トドマツ CLT のヤング率は平均 11.6MPa で標準偏差は 1.59MPa だった。含水率は全乾法で測定し、カラマツ CLT は 11.0%、トドマツ CLT は 11.8% だった。

### 【結果および考察】

各条件の強度と破壊性状を表 2,3 に示す。全体としてせん断強度、曲げ強度共にカラマツの方がトドマツより高い結果となった。破壊性状については図 2,3 に示す通り、スパンが長くなるにつれて試験体のせん断破壊が曲げ破壊に遷移する傾向が見られ、特に 18h では全試験体が曲げで終局する結果となった。従って、カラマツ CLT の一部の試験体で引張側外層ラミナの節部の割裂による曲げ破壊を除くと、概ね 7h~10h の短スパンではせん断破壊で終局し、15h 以上では曲げで破壊するという傾向が考えられ、本研

表 1 条件と試験体数

| スパン(L) | トドマツ | カラマツ |
|--------|------|------|
| 6h     | 6 体  | 6 体  |
| 7h     | 6 体  | 6 体  |
| 10h    | 6 体  | 6 体  |
| 15h    | 5 体  | 6 体  |
| 18h    | -    | 6 体  |

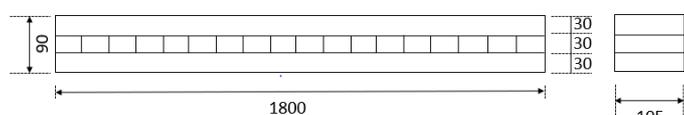


図 1 試験体の寸法

究で実施できなかったトドマツ CLT の 18h においても同様の結果となることが予想される。モーメントと変位の関係については図 4.5 の通り、せん断破壊と曲げ破壊で試験体の変位の違いも明瞭に発現され、特に曲げで終局した 15h、18h では破壊までに試験体が 30mm も変形するという、せん断破壊とは大きな違いが見られた結果となった。従って、本研究で作成した 3 層 3 プライの CLT では、せん断破壊から曲げ破壊に移行するスパンは 10h から 15h の間に存在するということになり、より詳細な破壊性状の変化を把握するには、さらなる条件設定と強度の測定が必要になると考えられる。

表 2 試験結果(カラマツ)

| スパン(L) |          | せん断強度(MPa) | 曲げ強度(MPa)  | 破壊形態<br>せん断破壊/曲げ破壊 |
|--------|----------|------------|------------|--------------------|
| 6h     | 最大値      | 2.32       | 29.1       | 5/1                |
|        | 平均値(S.D) | 2.21(0.18) |            |                    |
|        | 最低値      | 1.98       |            |                    |
| 7h     | 最大値      | 2.33       | 34.6       | 5/1                |
|        | 平均値(S.D) | 2.06(0.25) |            |                    |
|        | 最低値      | 1.74       |            |                    |
| 10h    | 最大値      | 1.82       | 30.9       | 5/1                |
|        | 平均値(S.D) | 1.74(0.07) |            |                    |
|        | 最低値      | 1.64       |            |                    |
| 15h    | 最大値      | 1.43       | 54.6       | 1/5                |
|        | 平均値(S.D) |            | 43.6(8.80) |                    |
|        | 最低値      |            | 33.5       |                    |
| 18h    | 最大値      | -          | 51.7       | 0/6                |
|        | 平均値(S.D) |            | 45.8(5.20) |                    |
|        | 最低値      |            | 38.1       |                    |

表 3 試験結果(トドマツ)

| スパン(L) |          | せん断強度(MPa) | 曲げ強度(MPa)  | 破壊形態<br>せん断破壊/曲げ破壊 |
|--------|----------|------------|------------|--------------------|
| 6h     | 最大値      | 2.64       | -          | 6/0                |
|        | 平均値(S.D) | 2.00(0.34) |            |                    |
|        | 最低値      | 1.72       |            |                    |
| 7h     | 最大値      | 2.30       | -          | 6/0                |
|        | 平均値(S.D) | 1.79(0.31) |            |                    |
|        | 最低値      | 1.41       |            |                    |
| 10h    | 最大値      | 1.87       | 28.7       | 5/1                |
|        | 平均値(S.D) | 1.53(0.20) |            |                    |
|        | 最低値      | 1.34       |            |                    |
| 15h    | 最大値      | 1.20       | 53.9       | 1/4                |
|        | 平均値(S.D) |            | 43.9(13.6) |                    |
|        | 最低値      |            | 23.9       |                    |

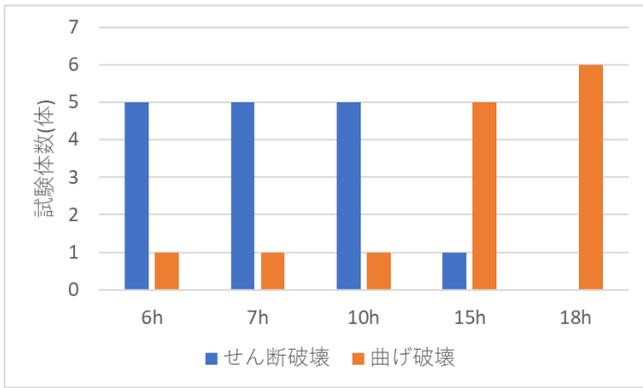


図2 試験体の破壊性状(カラマツ)

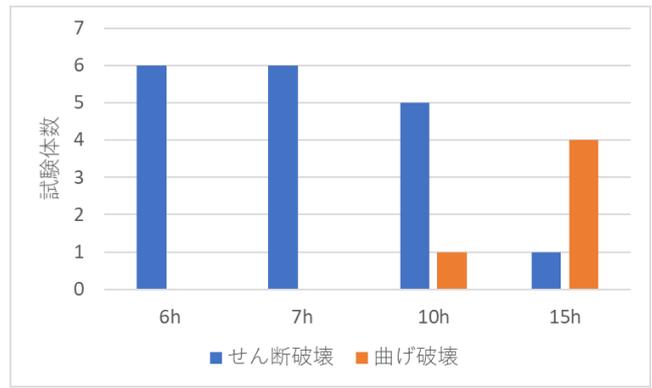


図3 試験体の破壊性状(トドマツ)

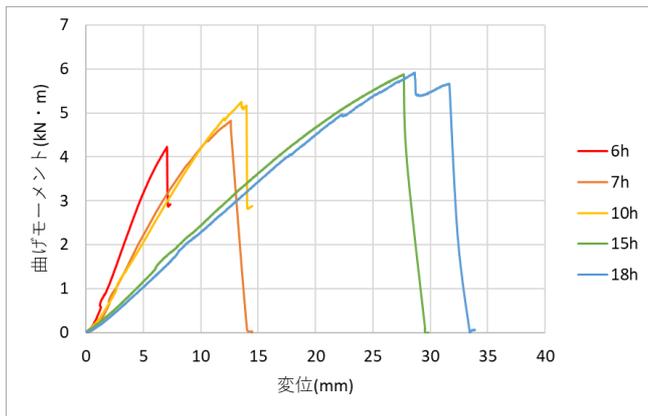


図4 モーメント変位曲線(カラマツ)

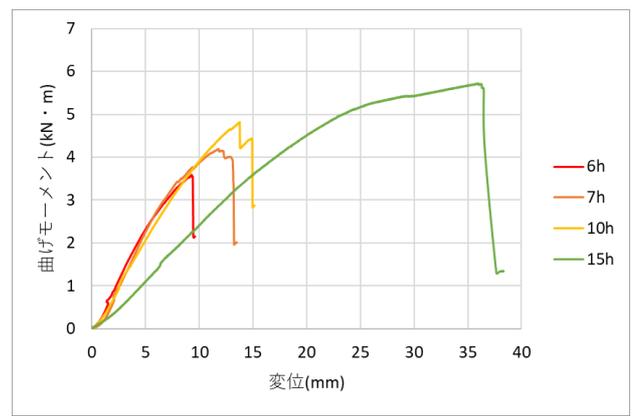


図5 モーメント変位曲線(トドマツ)

文献

- 1) 石原 亘, 大橋義徳, 松本和茂, 高梨隆也, 植松武是: 北海道産 CLT の面外せん断性能-荷重方式とスパン条件による影響-. 第 67 回日本木材学会要旨集, 福岡, 2015, D17-07-1715
- 2) 新藤健太, 右京齊一郎, 宮武 敦, 藤田和彦, 野沢浩二, 玉置教司: CLT の面外せん断性能, その 1 層構成とラミナ等級の影響. 日本建築学会大会学術講演梗概集(関東), 2015 年 9 月
- 3) (公財) 日本住宅・木材技術センター: 構造用木材の強度試験マニュアル-第一部 構造用木材の強度試験法(2011)
- 4) JIS K 6806: 水性高分子-イソシアネート系木材接着剤. 日本規格協会(2003)

○小林玲陽, 佐々木貴信, 澤田圭, 佐々木義久(北大農), 山内秀文(秋県大木高研)

### 【緒言】

各工場における CLT の製造サイズは様々であるが最大サイズが幅 1m 程度の工場も多い。また、輸送条件によってサイズが制限されることもある。小幅のパネルでも施工現場で二次接合し、十分な強度を確保できれば製造、運搬サイズの制限を受けずに大板の CLT を利用でき、これにより CLT の用途の拡大が期待できる。

CLT の二次接合に関しては CLT 同士をフィンガージョイントした場合の面内曲げおよび面内せん断性能に関する報告がある<sup>1)</sup>。

本研究では、CLT の現場接合を視野に入れ、実大 CLT 同士をスカーフジョイントで接合した時の面外曲げ性能を評価することを目的として、4 点曲げ試験を行った。

### 【実験方法】

試験に使用した CLT は 3 層 3 プライのスギ CLT である。各 CLT のラミナのヤング率が均等になるように配置した。試験体は二次接合のないコントロールと二次接合のあるスカーフジョイント、バットジョイントの CLT を作成した。材幅 400mm、材せい 60mm、材長約 910mm の CLT を製造し、スカーフ比を変化させ（スカーフ比 1:1, 1:2, 1:3, 1:4）、これらの CLT を二次接合した。その後、材幅約 105mm、材せい 60mm、材長 1,820mm（1:4 のスカーフジョイントのみ 1,750mm）を採材した。

CLT 作成時の積層接着には水性ビニルウレタン系樹脂接着剤（光洋産業株式会社 KR-134 に架橋剤 AJ-1 を 100:15 で混合）を用いて 30 分間 1MPa の加圧を行い圧縮し、二次接合時には 1 液湿気硬化型ポリウレタン系樹脂接着剤（サンスター技研株式会社 ペンギンセメント 930）を用いて接着した。

試験は 4 点曲げ試験を行った。支点間距離は 1,600mm 荷重点間距離は 500mm とした。各条件 4 体ずつ試験を行った（バットジョイントのみ 3 体）。



写真 1. 接合形状  
バットジョイント



写真 2. 接合形状  
スカーフジョイント 1:1



写真 3. 接合形状  
スカーフ 1:3

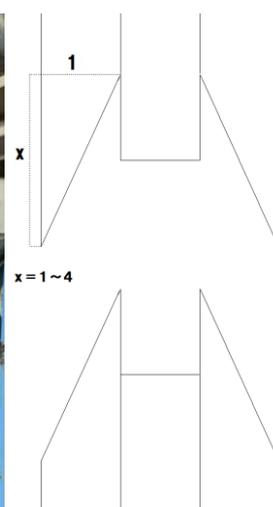


図 1. 概略図



写真4. コントロール  
破壊性状



写真5. バットジョイント  
破壊性状



写真6. スカーフジョイント  
破壊性状

### 【結果および考察】

曲げ破壊性状を写真4,5,6に示す。コントロールは水平せん断破壊が見られたが、その他の条件では曲げ破壊をした。バットジョイント、スカーフジョイントともに引張側の接着層での破壊にともなって、中間層の曲げ破壊が起きた。バットジョイントは圧縮側も完全に分離した。

曲げ強度試験結果を図2と表1に示す。曲げ強度はスカーフ比が大きくなるにつれて大きくなる傾向がみられる。コントロールは2体のみ破壊ができた。破壊できた2体のコントロールの曲げ強度に対する接合効率、スカーフ比1:4のスカーフジョイントが最大で19.2%であった。

曲げヤング係数は全条件で平均値が6.37~6.76N/mm<sup>2</sup>の範囲内にあり、差は見られない。

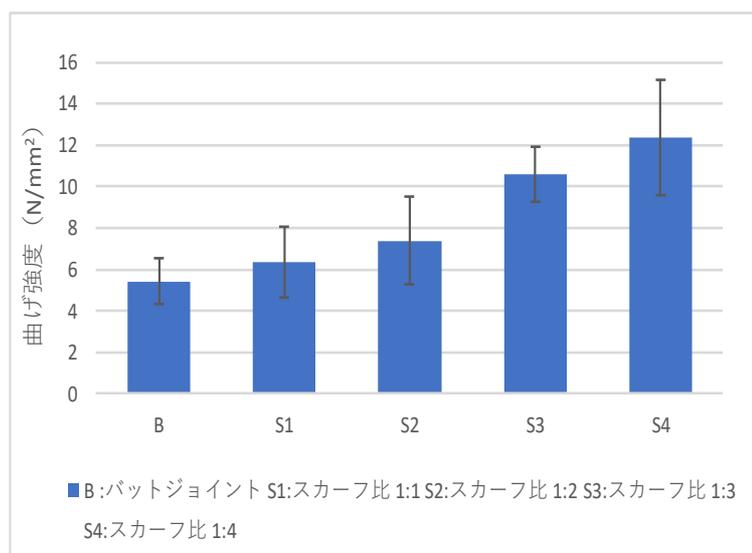


図2. 二次接合部の曲げ強度

表1. 二次接合部の曲げ試験結果

|    | 曲げ強度(N/mm <sup>2</sup> ) |      | 曲げヤング係数(kN/mm <sup>2</sup> ) |       |
|----|--------------------------|------|------------------------------|-------|
|    | 平均                       | 標準偏差 | 平均                           | 標準偏差  |
| C  | 59.1                     | 6.72 | 6.76                         | 0.607 |
| B  | 5.4                      | 1.12 | 6.68                         | 0.591 |
| S1 | 6.4                      | 1.73 | 6.37                         | 0.439 |
| S2 | 7.4                      | 2.11 | 6.44                         | 0.487 |
| S3 | 10.6                     | 1.33 | 6.63                         | 0.820 |
| S4 | 12.4                     | 2.78 | 6.65                         | 0.728 |

### 【まとめ】

スカーフジョイントで接合したCLTの曲げ性能を実験的に検証した。CLT同士の二次接合はスカーフジョイント部はガイドになって作業が容易であったので、実用化の可能性が見出せた。しかし、接合効率が低いいため更なる接合性能を発揮するため改良の必要がある。

### 【謝辞】

本研究はJSPS 科研費 JP18K05769の助成を受けたものです。

### 【参考文献】

- 1) 野田康信ほか：日本建築学会大会学術講演梗概集(東北)2018年9月, P325-326, 2018

## 体育館床の木質フローリングにおける割れ発生要因の基礎的検討

○高山光子（道総研林産試），小野昭則（サンポット（株）），浦 弘達（空知単板工業（株））

### 【はじめに】

体育館の床仕上げ材には木質フローリング（以下、フローリング）が一般的に広く使用されている。近年、フローリングから剥がれた木片が利用者に突き刺さる事故が続き問題となっており、消費者安全調査委員会の調査報告では木片はく離の要因として床板劣化、過度な水分による収縮膨張、塗装による目地の固着などが挙げられているが、原因の究明には至っていない。

林産試験場ではこれまで既存体育館床の調査とモデル実験等によりフローリングの損傷発生実態の把握と発生原因の解明に取り組んできた。フローリングの割れの発生は主にフローリングの吸放湿に伴う寸法変化に起因すると考えられるが、床下地と組み合わせた床組の状態での寸法変化を試験した事例は少ない。本報告では、体育館用大型積層フローリングを対象に、小型床モデルの加湿・乾燥試験により、床構成材の含水率変動とそれに伴う伸縮挙動を確認し、割れの発生との関係を検討した。また、フローリングの表面仕上げに使用されているひき板の収縮率と割れに及ぼす影響を確認するため、表面材の材質試験を行った。

### 【供試材料】

試験には、市販の体育館用大型積層フローリング（A社、ラワン合板台板、床暖用、厚さ18mm、幅450mm、長さ1800mmおよび、同、カラマツ合板台板、厚さ18mm、幅135mm、長さ1800mm）を使用した。フローリングの概要を図1に示す。カバ材のひき板を長さ方向に縦継ぎした表面材ピースを幅方向に並べ、合板台板と積層接着した複合フローリングで、隣り合うピースの側面は接着されていない。

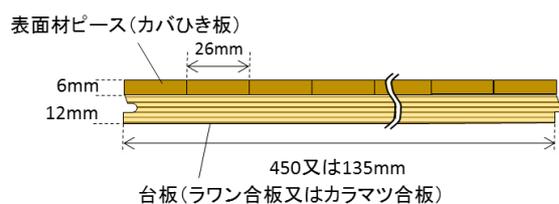


図1 大型積層フローリングの側面図  
(短辺側)

### 【試験方法】

#### (1) 表面材の材質試験

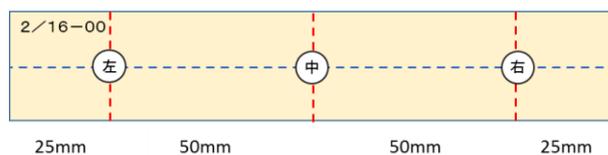
表面材ピース2本について、端から50mmの位置から長さ150mmの試験片を連続して11枚採取した。供試した表面材ピースは2本とも5箇所縦継ぎされていた。

各試験片について重量および厚さ、幅、長さを測定した。測定は試験前（以下、気乾）と、20℃80%RHの恒温恒湿室に7日間静置後（以下、加湿後）および45℃40%RHの恒温恒湿室に7日間静置後（以下、乾燥後）に行い、最後に105℃の送風乾燥機で恒量に達するまで乾燥し、全乾状態の重量と寸法を測定した。寸法測定箇所は図2のとおりである。厚さと幅は、元の表面材ピースを50mmごとに連続して測定することになる。

測定した重量および寸法から含水率と密度を算出した。また、各温湿度条件間の寸法変化と含水率の変化から含水率1%あたりの変化量を求めるとともに、平均収縮率を算出した。

#### (2) 小型床モデル試験体の加湿乾燥試験

##### ① 試験体



○：厚さ測定箇所  
赤破線：幅測定箇所、青破線：長さ測定箇所

図2 寸法測定箇所

大引鋼、根太鋼、下地合板（トドマツ 5ply 構造用合板 JAS 特類 2 級）、ゴムチップパネル、フローリングからなる図 3 に示す試験体を、表 1 に示す構成で各 1 体ずつ作製した。フローリングは試験体中央で左側雄実、右側雌実となるよう配置した。塗装は水性 2 液ウレタン塗料（大東ペイント（株）ウレタイト水性 2 液）を標準塗装仕様書に従い 4 回塗り、10 日間程度屋内で養生した。

表 1 試験体の構成

|      | 下地合板 | ゴムチップパネル | フローリング | 塗装 |
|------|------|----------|--------|----|
| NO.1 | ○    | ×        | ○      | ×  |
| NO.2 | ○    | ×        | ○      | ○  |
| NO.3 | ○    | ○        | ○      | ×  |
| NO.4 | ○    | ○        | ○      | ○  |

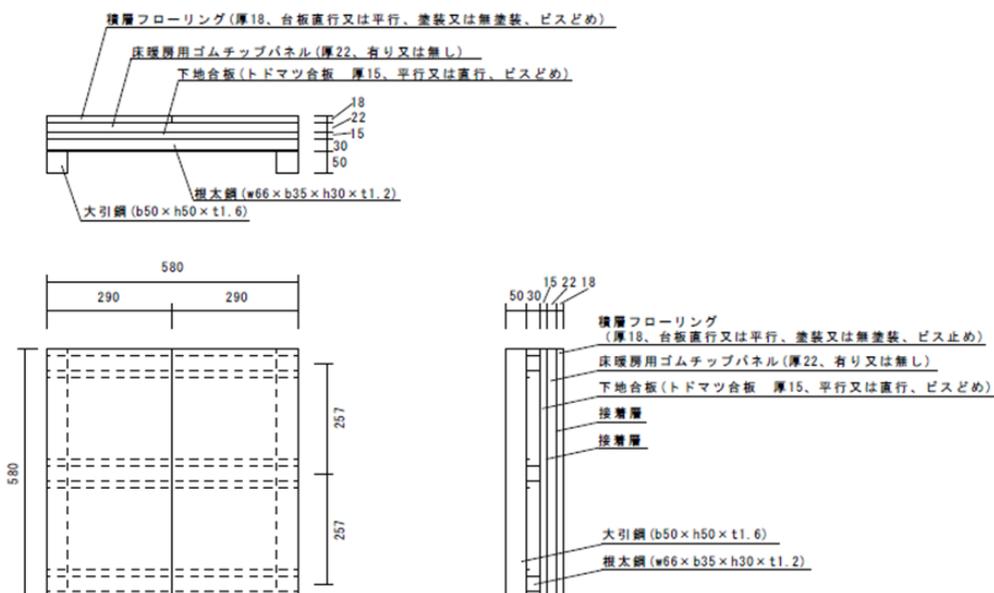


図 3 試験体の仕様

## ② 試験方法

温風乾燥機庫内に高さ約 25cm の台を置き、台の上に試験体を設置することで簡易的に床上、床下空間をつくり、床下から加湿（7 日間：床下部での湿気の滞留を想定）、乾燥（6 日間：床暖房等を想定）を行い、最後に温風乾燥機で 24 時間強制乾燥した。加湿は床下スペースに融雪ゴムマット（52℃程度）と熱湯を入れた洗面器を配置し（写真 1）、乾燥は洗面器を除き、融雪ゴムマットのみで加熱した。強制乾燥は融雪ゴムマットに加え、温風乾燥機を庫内温度 60℃で稼働し、送風ファンの温風が試験体裏面のみに回るよう仕切りで調節した。以上を 1 サイクルとし、試験体 NO.2 については 3 サイクル実施した。

試験中は床上、床下および乾燥機庫外の温湿度を温湿度データロガー（T&D 社 TR-72Ui、TR-72nw、エスペック社 RT-12）で計測し、試験前および各条件の終了時に以下の測定を行った。①含水率：フローリング、下地合板の各中央付近 1 カ所を高周波木材水分計（MERLIN HM8-WS13 型）で測定、②ピース間すき間：試験体の上下 4 等分線、3 本について、線上のピース間のすき間を全てすき間ゲージで測定、③外観の目視観察



写真 1 加湿中の試験体

## (3) 側面からの吸放湿を遮断した加湿乾燥試験

### ① 試験体

大型積層フローリングを図 4 に示す木取りで組み合わせ、下地合板（15mm 厚カラマツ構造用合板）にフローリング専用接着剤とタッカーで留め付けた試験体を作製し、水性 2 液ウレタン塗料（大東ペイント（株）ウレタイト水性 2 液）を 4 回塗装した後、4 側面にシリコン系シーリング材（コニシ（株）ボンドシリコンコーク）を塗布し側面からの吸放湿を遮断した。

### ② 試験方法

恒温恒湿室内に試験体を静置し、温湿度条件①温度 20℃・相対湿度 85%RH と、②温度 40℃・相対湿度 45%RH とを 1 週間ずつ 9 サイクルまで繰り返し、含水率を 1 日毎に、

寸法と目すきを1週間毎に測定するとともに外観を観

察した。含水率は高周波木材水分計（MERLIN HM8-WS5 型）でフローリング A～D の各中央を、寸法はフローリング側、下地合板側 の幅、長さの中央各1箇所をデジタルノギスで測定し、目すきはフローリング A-D間のタッカー留め付け位置をすき間ゲージで測定した。

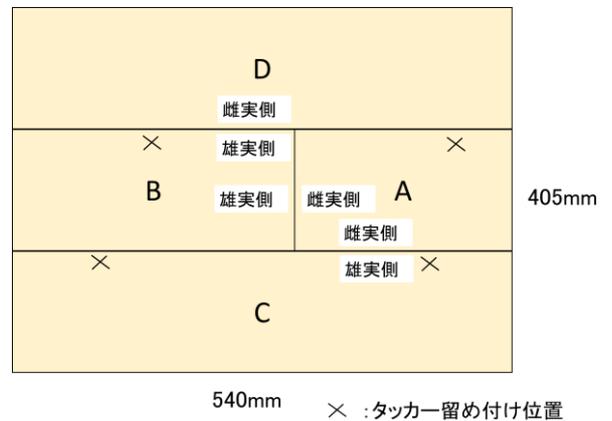


図4 試験体

【結果および考察】

(1) 表面材の材質試験

図5に表面材ピース1の幅の平均収縮率と全乾密度の試験結果と測定位置との関係を示す。密度、収縮率とも表面材ピースの縦継ぎされた部材ごとに変化が見られた。幅の平均収縮率は板目で大きく、節の付近では小さい傾向が見られたが、全体として部材の密度に応じて変動すると考えられた。平均収縮率は最小0.21～最大0.31%、平均0.26%で、ピース幅に換算すると、仮に含水率が5%変化した場合0.27～0.40mmの幅変化となり、フローリングの中で収縮率が大きい表面材が隣合った場合、部分的な材の圧着や目すきが起こる可能性が考えられる。

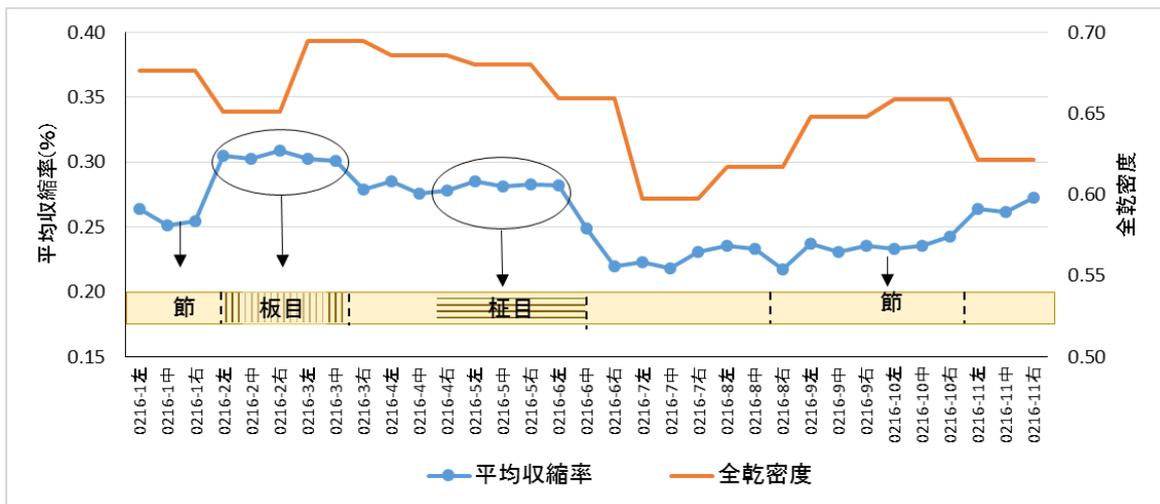


図5 表面材ピース1における幅の平均収縮率、全乾密度と測定位置 (ピース材の破線は縦継ぎ箇所を示す)

(2) 小型床モデル試験体による加湿乾燥試験

試験前の試験体には目視ではピース間にすき間は見られなかった。写真2に試験体 NO.1、2の加湿後と強制乾燥後の様子を示す。加湿後(含水率13～15%)にはピース間が密着し、塗装試験体ではピース間で塗膜の盛り上がりが見られた。乾燥後はピース間にすき間が開き、強制乾燥後の無塗装試験体ではすき間の最大値はNO.1が0.65mm、NO.3は0.50mmで、ゴムチップパネルを入れたNO.3は入れていないNO.1に比べ全体に平均的にすき間が開いた。塗装した試験体は無塗装の試験体に比べ含水率変化が小さく、1サイクル終了後にすき間はほとんど観察されなかったが、2サイクル目に木口付近の塗膜割れと無塗装の試験体では発生しなかった木部の亀裂やササクレ状の割れが発生し、3サイクル目でさらに進行した。また、強制乾燥後の試験体で加湿膨張時の圧力によると思われる部分的なピースの圧着が見られた(写真3)。

(3) 側面からの吸放湿を遮断した  
加湿乾燥試験

含水率の測定結果を図6に示す。加湿乾燥に伴う含水率変動が下地合板側の8%に対し、フローリング側では1%程度であることから、塗装したフローリング側よりも下地合板側が温湿度変化の影響を受けやすいと考えられた。また、フローリング側の幅方向伸縮量は長さ方向の2~8倍、下地合板側の幅方向の伸縮量の1.5~2倍と大きく、フローリング側と下地合板側とでは同じ温湿度変化に対する幅方向、長さ方向の伸縮が異なることがわかった。このことは、床面においてフローリングの伸縮挙動には体育館内の温湿度環境だけでなく、下地合板の含水率や伸縮挙動の影響が作用する可能性を示唆している。また、目すきは加湿後と乾燥後(平均含水率9.3→8.0%)で平均0.15mm変化した。



写真2 加湿後および強制乾燥後の試験体

上段左: NO.1 加湿後、同右: NO.2 加湿後

下段左: NO.1 強制乾燥後、同右: NO.2 強制乾燥2サイクル後

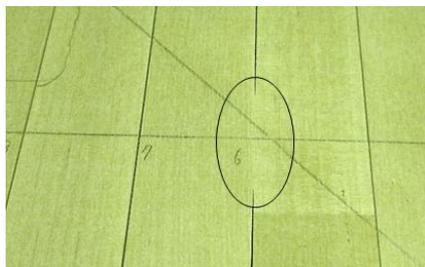
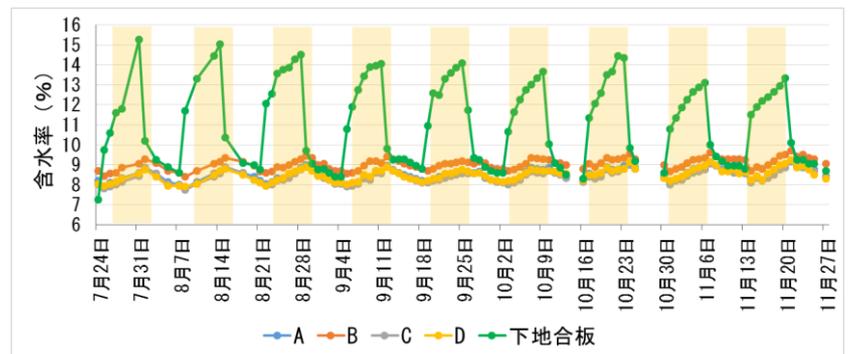


写真3 強制乾燥後の圧着



※ ■ : 20°C85%RH、□ : 45°C40%RHの温湿度条件に静置

図6 フローリングと下地合板の含水率変動

【まとめ】

体育館のフローリングの割れの発生要因を探るため、大型積層フローリングを対象に表面材ピースおよび小型床モデルの加湿・乾燥試験を行い、床構成材の含水率変動と伸縮挙動を確認し、割れの発生への影響を検討した。

- ・表面材ピースは縦継ぎされた材ごとに比重が異なり、比重の変動に伴い平均収縮率が異なった。フローリングの中で収縮率が大きい材が隣り合った場合、部分的に大きな目すきや材の突き上げが発生し、割れや材の破損に繋がる可能性が考えられる。
- ・塗装したフローリングは吸放湿しにくくなるが、乾湿の繰り返しによりすき間や亀裂が発生し、塗料で目地やピース間が固着されている場合、乾燥収縮時に木部の割れに至った。
- ・温湿度変化に対する下地合板側の含水率変動は塗装したフローリング側よりも大きく、また、フローリング側と下地合板側とでは幅、長さ方向の伸縮挙動が異なることから、フローリングの伸縮挙動は下地合板の含水率や伸縮挙動の影響を受ける可能性が考えられた。

今後はさらに条件を変えた床モデル試験によりフローリングと下地合板の挙動の把握と割れの発生要因の検討を行い、割れ発生過程の解明を目指す。

## 被覆処理による CLT の耐水性評価に関する実験的検討

本宮由美子、佐々木貴信、澤田圭、佐々木義久（北大農）、山内秀文（秋県大木高研）

## 【背景と目的】

CLT（直交集成板）の特長のひとつは軽さであり、輸送面や施工面での優位性から土木分野での需要も期待される。土木分野における CLT の用途としては、秋田県において橋梁の床版用途に着目し、ラッピング処理等によるスギ CLT の高耐久化の検討がなされている<sup>1)</sup>。本研究では道内で主流となるカラマツやトドマツの CLT の土木分野での用途拡大を目的として、各種の被覆処理による CLT の耐水性評価に関する実験的検討を行う。

## 【研究概要】

土木分野で CLT を利用する上で最も懸念されるのは、屋外環境下における寸法変化や腐朽劣化である。ここでは予備試験として、被覆処理等を施さないトドマツ CLT の小試験体を用いた、乾湿繰り返し試験及び浸漬試験における試験体寸法及び含水率の変化について報告する。

## 【試験方法】

乾湿繰り返し試験および浸漬試験には、トドマツ CLT を用いた。CLT は 3 層 3 プライとし、幅 300mm、長さ 300mm、厚さ 60mm で製作し、表 1 に示す各試験体を切り出した。ラミナの積層接着には水性高分子イソシアネート系樹脂接着剤を用い、圧縮圧力は 0.8MPa とした。なお、75×300×20mm のラミナ間の幅はぎ接着はしていない。

乾湿繰り返し試験では、恒温恒湿器内の温湿度を 50℃40% および 40℃95% の条件を約 1 か月ごとに繰り返し、試験体の寸法、重量を定期的に測定した。また、浸漬試験では、試験体を水槽内に浸漬し定期的に重量を測定した。

表 1 試験体寸法

|                  | No. | 幅   | 長さ  | 厚さ |
|------------------|-----|-----|-----|----|
| 乾湿<br>繰り返し<br>試験 | 1   | 144 | 150 | 60 |
|                  | 2   | 146 | 67  | 60 |
|                  | 3   | 146 | 72  | 60 |
| 浸漬試験             | A   | 76  | 60  | 68 |
|                  | B   | 68  | 73  | 70 |

## 【結果および考察】

試験開始時の初期含水率は 12.3% であった。これより、各試験体の推定絶乾重量  $W_0$  を推定し、各試験で測定した重量  $W$  を用いて(1)式より推定含水率 (MC) を求めた。

$$MC = \frac{W - W_0}{W_0} \times 100 \quad (\%) \quad (1)$$



写真1 乾燥時の試験体



写真2 湿潤時の試験体

写真1および写真2に乾湿繰り返し試験における試験体を示す。乾燥時には外層ラミナの収縮により、ラミナ間に隙間ができ、湿潤には膨潤していることが分かる。図1に乾湿繰り返し試験における試験体の推定含水率の変動、図2に寸法変化率の変動をそれぞれ示す。試験体の含水率及び寸法ともに温湿度変化に応じて変動していることが分かる。図3に浸漬試験における試験体の推定含水率の変動を示す。2か月間浸漬した状態で推定含水率は約120%を超えていることが分かる。これらの結果よりCLTの被覆処理の必要性が明らかになった。今後、被覆処理を行い、同様の耐久試験を実施する計画である。

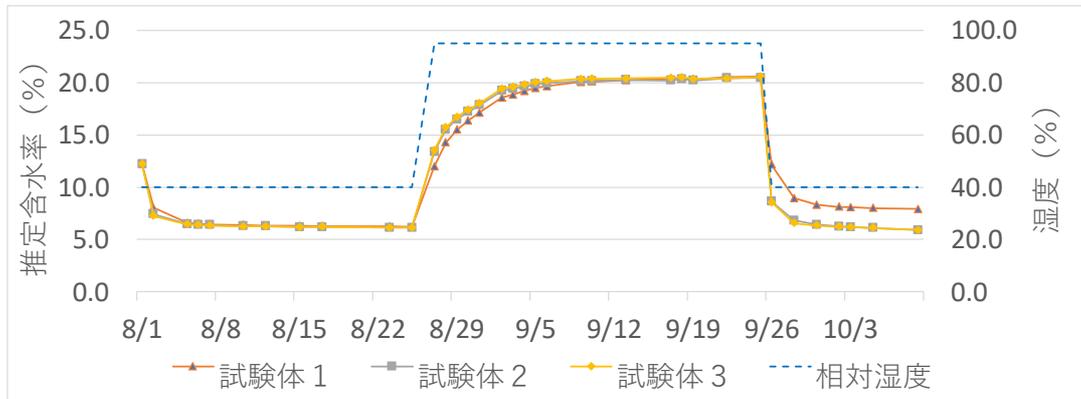


図1 乾湿繰り返し試験における推定含水率変化

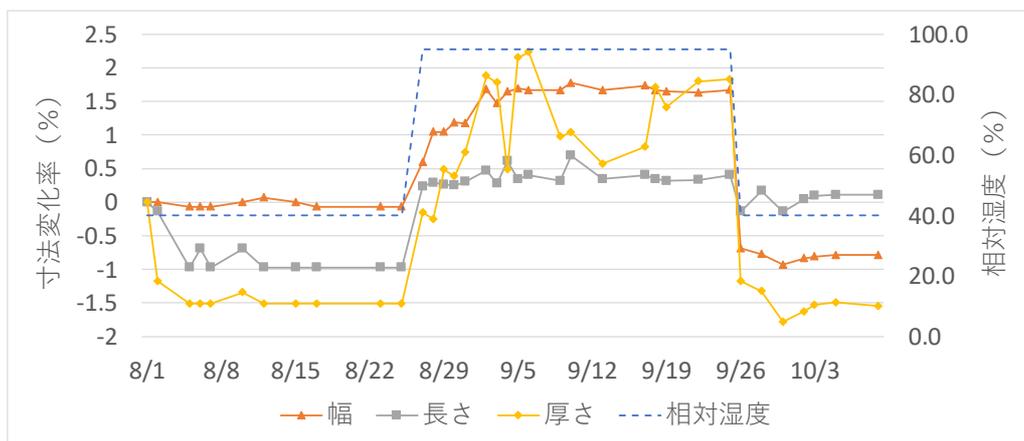


図2 乾湿繰り返し試験における寸法変化率

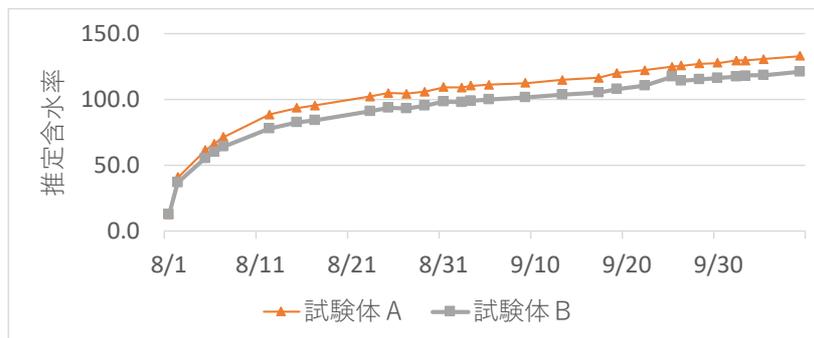


図3 浸漬試験における推定含水率変化

【謝辞】本研究はJSPS 科研費 JP 17K06514 の助成を受けたものです。

【参考文献】

1) 佐々木貴信, 山内秀文, 足立幸司, 林 知行: ラッピング等で処理した CLT の耐水性評価, 木材保存協会, 第 35 回年次大会研究発表論文集, p.136-137, 2018.

## 30 年間屋外使用された集成材の耐久性評価（第 3 報） 曲げおよびせん断性能

○中村神衣、古田直之、宮崎淳子、平林靖（道総研林産試）

### 【緒言】

著者らは、実際に長期間使用された集成材からのデータ取得を目的に、30 年間屋外使用された構造用湾曲集成材の評価を行ってきた。既報<sup>1,2)</sup>では、採取部位ごとの腐朽の発生状況およびせん断強さ、またこれらと密度との関係を報告した。本報では、同試験体の曲げ性能および水平せん断試験によるせん断性能について報告する。

### 【実験方法】

30 年間屋外にモニュメントとして設置されていた湾曲集成材（樹種：エゾマツ、接着剤：レゾルシノール樹脂接着剤、ラミナ厚：20mm）の解体部材を供試した。使用期間中は、塗装などの補修は定期的に行われていた。東・南東・南西・西・北西・北東を向いた集成材の上部・中部・下部から試験体を採取し、以下の試験に供した。

(1)曲げ試験：集成材の腐朽箇所を除いた部分から 40×20×500mm の接着層を含む試験体（接着層が中立軸にくるように採取）を作製し、スパン 420mm とした 3 等分点 4 点曲げ試験を行い、曲げヤング係数および曲げ強さを算出した。

(2)水平せん断試験：集成材の接着層（接着層が中立軸にくるように採取）および木部のみの部分から 10×20×120mm の寸法の試験体を作製し、スパン 80mm とした中央集中荷重方式の曲げ試験を行い、せん断強さを算出した。なお、両試験ともに  $n=72$ 、20°C65%R.H.の恒温恒湿室で 1 カ月以上養生後、試験に供した。

### 【結果および考察】

曲げおよび水平せん断試験結果を表 1 に示す。両試験とも、方位による差が見られなかったため区別せずに表示した。平均値では、十分な強度性能を有することが示された。また、曲げヤング係数および曲げ強度の密度との関係を上中下部ごとに図 1 に示す。上中下部の採取部位ごとでも差はなく、密度に比例して各値も高くなる傾向であったが、曲げ強さは、値が低いものがみられた。この傾向は、既報<sup>2)</sup>で報告したブロックせん断試験のうち接着層にせん断力をかけた場合と類似していた。また、接着層に沿ってせん断破壊した試験体もあったことから、接着層に起因する強度低下と考えられる。

水平せん断試験は、せん断破壊したものが全体で 10%程度と少なく、曲げ破壊やめり込みによる破壊が大半を占めた。また接着層の試験体では、荷重中に支点外の接着層がワニ口状に割裂する破壊が多かった。せん断破壊以外で破壊するケースが多かったため、今回得た値は正確なせん断強さよりも低い値であると考えられる<sup>3)</sup>。なお、既報のブロックせん断試験によるせん断強さでは木部>接着層であったが、今回行った水平せん断試験では、僅かに木部の方が大きいがほぼ同等の値となった。

表 1. 曲げおよびせん断試験結果

|    |      | 曲げ<br>ヤング係数<br>kN/mm <sup>2</sup> | 曲げ強さ<br>N/mm <sup>2</sup> | せん断強さ                   |                          |
|----|------|-----------------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
|    |      |                                   |                           | 木部<br>N/mm <sup>2</sup> | 接着層<br>N/mm <sup>2</sup> |
| 上部 | 平均   | 10.6                              | 61.4                      | 6.6                     | 6.5                      |
|    | 標準偏差 | 1.9                               | 13.7                      | 1.4                     | 1.0                      |
| 中部 | 平均   | 11.1                              | 62.3                      | 6.0                     | 5.7                      |
|    | 標準偏差 | 2.3                               | 17.0                      | 1.1                     | 1.4                      |
| 下部 | 平均   | 10.1                              | 56.1                      | 5.9                     | 5.8                      |
|    | 標準偏差 | 1.9                               | 14.0                      | 1.0                     | 1.0                      |

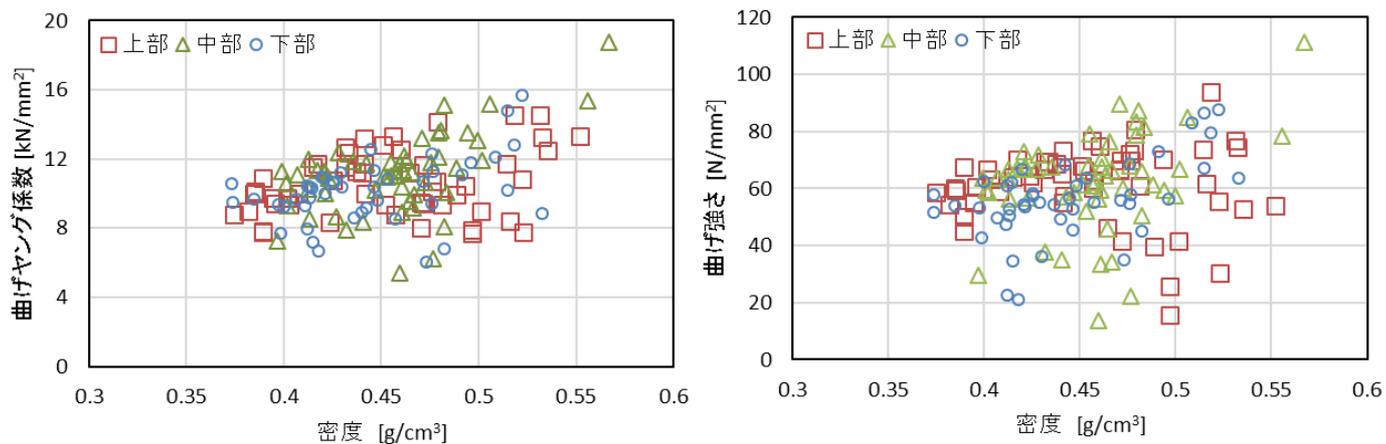


図1. 密度と曲げヤング係数および曲げ強さの関係

【参考文献】

- 1) 中村神衣, 古田直之, 宮崎淳子, 平林 靖 : 30年間屋外使用された集成材の耐久性評価 (第1報) 採取部位ごとのせん断強さの比較, 日本木材学会北海道支部講演集第50号, p25-28 (2018)
- 2) 中村神衣, 古田直之, 宮崎淳子, 平林 靖 : 30年間屋外使用された集成材の耐久性評価 (第2報) 密度とせん断強さの関係, 第69回日本木材学会函館大会研究発表要旨集, J14-03-1100 (2018)
- 3) 構造用木材の強度試験マニュアル, (公財) 日本住宅・木材技術センター, p.9 (2011)

Title

The window renovation technique of historical building in cold area  
 < The renovation technique of timber windows for sustaining building design and original manufacturing technique as founding age and for long life utilizing, in this case we tried newest technologies of thermally modified wood >

○Nobuo Iida, Hideharu Nakano, Sueji Toukairin, Takuya Okamura (IWS)、  
 Kazuyuki Watanabe (Hokuden Engineering Design and Consulting Co., Inc)

## 1. Abstract



Figure 1. After renovation of old Mitsubishi kougyou dormitory and old Nagayama house.



Figure 2. The double hang windows after renovation

Our company IWS co., Ltd. is producing timber windows, doors and curtain wall. Windows are very important parts on the building, especially on the historical building producing fine old atmosphere. In Sapporo there is an old wooden building called “old Mitsubishi kougyou dormitory and old Nagayama house” which was built in 1,880’ s and extend in 1937. We had a chance to produce our windows for the authentic renovation of this historical building. In this case we’ ve used thermally modified wood (TMW) for renovation of the window in this building aim for longer life span (Figure 1.2.).

Usually timber windows will decay more easy than other parts of building like wood siding because window has many joints that will easy to absorb water. Before the appearance of TMW, we use aluminum parts on window surface against decay, but no aluminum windows at that age. It’ s impossible to use aluminum parts for old building renovation, we had to keep original design and the manufacturing



Figure 3 Decayed window frame

technic at that time.

Then we've had an idea to use TMW for window and tested TMW on our factory or office windows for several years. In this paper we'd like to report why we've used TMW for this building renovation from our test result.

## 2. What is the thermally modified wood (TMW)?

The studies of TMW had been started from Finish countries about 1990's. Now a day there are many studies\*1 about TMW all over the world. About the mechanical and chemical properties, it's written in Thermowood handbook published from international Thermowood association.

In this handbook some mechanical properties of TMW would decrease slightly and shape stability of TMW increase about third times from non-treated wood and biological durability of TMW is better than non-treated one by far.

By the way, ancient people knew thermal treatment like to put timber in fire and roast them to make timber good preservation on their surface certainly (figure.4)

Now a day modern people know how to produce better preservative timber more reasonably and larger quantities than ancient people.



Figure 4 "Yaki Sugi" Roasted wood with modern gas burner

## 3. How to use TMW for timber window?



Figure.5  
TMW window just installation on the building

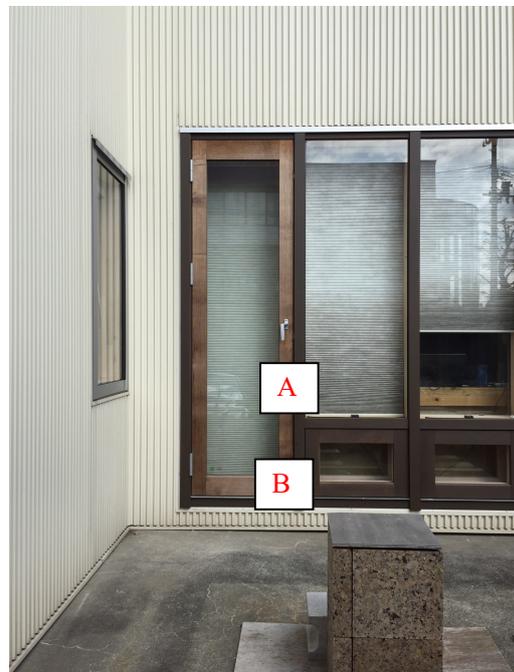


Figure.6  
Same TMW window five years later



with fine hand drawings. The ideas are mainly for very exclusive building for exclusive people.

We found the drawing of drain route through timber window frame in this book (figer.9\*2). From this drawing some wood worker who pursue a creative work and creative designer at that age recognized the need for drain route already. The good wood worker at that age knew the mechanism that absorbing water in wood would be the cause of decay already. Their spirit is very similar to ancient people to put timber in fire to prevent wood from decay. They would like for people to use their timber products without decay for longer time.

In this way we' ve made efforts to keep original window design with longer life span without any decay.

This is the way how to use TMW on our window products in this traditional building.

It' s very important to ensure the survival of skills and technique of timber for the present generation. We' ve designed and manufactured our window product out of respects for the ancient people.

This is the reason how to use TMW.

## 5. Refarece

- 1) Wood modification technologies—a review i forest, vol 10, pp895–908
- 2) Mokuzou kenntiku kouzou zukai, by Siga kamenosuke(1924)
- 3) The wood Carbonization Research Society, vol 2, Number 1/2 1 (2006)

日本木材学会 北海道支部講演集 第 51 号

---

令和元年 10 月 21 日 発行

編集人 澤田 圭, 今井 良, 伊佐治 信一

発行人 佐野 雄三

発行所 日本木材学会 北海道支部

〒060-8589 札幌市北区北 9 条西 9 丁目

北海道大学農学部内

---