

日本木材学会

北海道支部講演集

第52号

令和2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 52 号

目次

< 口頭発表 > 13:00-17:00

1. Dibenzodioxocin 型 triligol の合成研究……………1  
○阿二凜太郎、浦木康光、重富顕吾（北大院農）
2. Hinokitiol 耐性細菌における hinokitiol 代謝に関する研究……………2  
○町野健、榊原義道（北大院農）、長田晃汰（北大農）、  
浦木康光、重富顕吾（北大院農）
3. 広葉樹皮目における組織構造と菌糸体の SEM 観察 ……………4  
○関野一喜、山岸祐介、佐野雄三（北大院農）
4. シイタケ菌糸体の-20℃保存における凍結保護剤の性能評価 —単糖、二糖、  
多価アルコール類の比較— ……………6  
○西脇綾乃、梶暉、鬼柳春花、横田喬央、富樫巖（旭川高専）
5. 食用きのこの種菌劣化に対する蛍光イメージング解析\* ……………9  
○齋藤沙弥佳、宜寿次盛生、米山彰造（道総研林産試）
6. シイタケ菌床栽培における早生樹「ヤナギ」の利用 —ヤナギ由来抽出成分  
の効果—\* …………… 10  
○原田陽、折橋健、檜山亮（道総研林産試）
7. カラマツ・スギ材における油溶性薬剤の浸透性と壁孔閉塞率\* …………… 11  
○渋井宏美、宮内輝久（道総研林産試）
8. トドマツ生材丸太の曲げ強度特性 —林齢、直径との関係— …………… 13  
○藤原拓哉（道総研林産試）、阿部友幸（道総研林業試）
9. 広葉樹の根萌芽の組織構造と貯蔵養分の観察 …………… 16  
○鈴木廉、山岸祐介（北大院農）

10. シナノキの組織培養 ..... 19  
○竹内信吾(北大院農)、中田了五(森林総研林育セ北育)、  
山岸祐介(北大院農)
11. ブナ種子の乾燥耐性 ..... 22  
○米岡宏喜(北大院農)、花岡創(森林総研林育セ北育)、  
遠藤圭太(森林総研林育セ)、荒川圭太(北大院農)
12. 木材腐朽が釘接合部の繊維直交方向せん断性能に及ぼす影響 ..... 25  
○上田麟太郎、澤田圭、佐々木貴信、佐々木義久(北大院農)
13. 北海道における中間土場の分布と機能分類 ..... 29  
○酒井明香、石川佳生、古俣寛隆、前川洋平(道総研林産試)
14. 林産試験場 CLT 実験棟の気密性能の検証\* ..... 32  
○富高亮介、今井良、平間昭光、大橋義徳(道総研林産試)、  
森太郎(北大院工)
15. 林産試験場 CLT 実験棟における CLT 壁パネルの表面性状の経過観察 ..... 35  
○石原亘、川合慶拓、高梨隆也、大橋義徳(道総研林産試)
16. 林産試験場 CLT 実験棟における屋根パネルはね出し部の鉛直変位変化 ..... 39  
○高梨隆也、川合慶拓、石原亘、大橋義徳(道総研林産試)、  
植松武是(北海学園大)

\* 第 70 回日本木材学会大会 (2020 年 3 月、鳥取) の発表内容と同一

○阿二凜太郎, 浦木康光, 重富顕吾 (北大院農)

## 【緒言】

Dibenzodioxocin 構造は針葉樹ならびに広葉樹リグニンにおいて見られる 3 核性の縮合型部分構造である。3 つのフェニルプロパノイドユニットそれぞれから分子伸長が想定できることから、本構造はリグニン分子における分岐点の一つだと考えられている。Dibenzodioxocin 構造の生合成機構の一つとして、高分子鎖中の 5-5' ユニットがモノリグノールと結合する経路が挙げられるが、5-5' ユニットの酵素的酸化が困難であること、8 員環形成に要する配座の形成が側鎖に阻害されること、高分子量に成長した分子の運動性が低下することなど、この経路を否定する材料は多い。我々は、dibenzodioxocin 母格の trilignol (Figure) が形成された後に分子伸長が進む経路を想定し、その経路の妥当性を検証することとした。本発表では、ラジカルカップリングにおける反応性の検証に必要な dibenzodioxocin 型 trilignol の前駆体の合成について発表する。

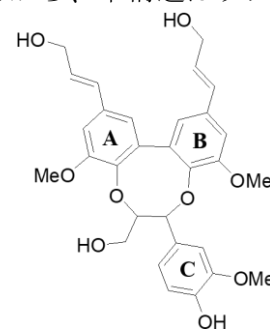


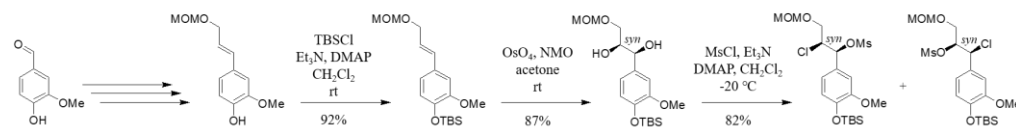
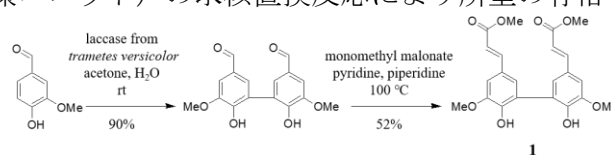
Figure. Dibenzodioxocin-type trilignol

## 【方法・結果】

**合成計画** : Biphenyl を含む 8 員環構造の歪みを考慮し、5-5' ユニット (以下 A-B 環ユニット) とフェノール性ユニット (以下 C 環ユニット) の求核置換反応により所望の骨格を構築することとした。

**A-B 環ユニットの合成 :**

Laccase from *Trametes versicolor* を用いた酵素的 A-B 環形成を検討した。最初に出発物質として用いた vanillyl alcohol の各種エステルは反応中に保護基の脱離を伴い、痕跡量の 2 量体



Scheme1. Synthesis of A-B and C units

与えるのみであった。一方、同条件に vanillin を供したところ、収率 90% で divanillin が得られた。

Divanillin には C 環ユニットとのカップリングにおいて求核性の不足が懸念されたため、次いでベンジル位の還元を試みたが、本化合物はピリジンや DMSO を除く多くの溶媒に不溶であった。このため、

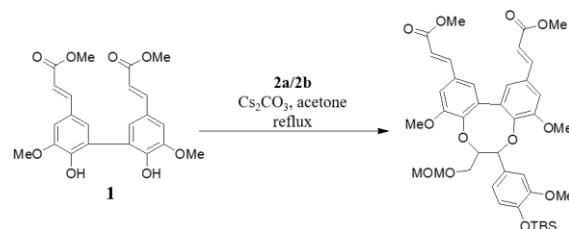
次いで Knoevenagel 反応による増炭を行い、A-B 環ユニットとして **1** を合成した(収率 52%)。C 環ユニットの合成 :

Vanillin を出発物質として増炭しフェニルプロパノイドユニットとした。フェノール性水酸基に *tert*-ブチルジメチルシリル (TBS) 保護基を導入

し、OsO<sub>4</sub> を用いて *syn* ジオール化した。収率はそれぞれ、92%、87% であった。続いて脱離基としてメシル基を二つ持つ bis-メシル化物の合成を検討した。検討したいずれの条件においても所望の Bis-メシル化体は得られず、MsCl 条件ではジオールがメシル化と塩素化を受けた **2a** と **2b** が合わせて 82% の収率で得られた。クロロ基も脱離基として働くことから、**2a/2b** の混合物を C 環ユニットとして用いる

こととした。**Dibenzodioxocin** ユニットの合成 :

Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を用いて A-B 環ユニット **1** と C 環ユニット **2a/2b** のカップリングを行った。温度条件を変えてカップリング実験を行い、acetone の reflux 条件において反応の進行が確認された。生成物を FD-MS で質量分析した結果、目的物の分子量である *m/z* 750 の分子イオンが観測された。得られた trilignol 前駆体の精製及び還元と脱保護を現在検討中である。



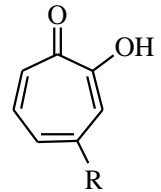
Scheme2. Synthesis of dibenzodioxocin skeleton



○町野 健, 榊原義道 (北大院農), 長田晃汰 (北大農), 浦木康光, 重富顕吾 (北大院農)

### 【緒言】

イネ苗立枯細菌病は、強毒性 *Burkholderia plantarii* が産生する tropolone (図) によって引き起こされる作物病である。Tropolone は一方で細菌類に対して生育阻害を示すため、当該病の防除に用いられる微生物農薬の定着のためには、用いられる微生物農薬自身が tropolone 類に対する耐性機構を持つことが重要であるとされている<sup>1)</sup>。我々は tropolone 類に対する耐性機構とその遺伝資源探索を目的に、hinokitiol (図) に着目した。Hinokitiol は、タイワンヒノキや青森ヒバの精油成分として天然に豊富に存在する tropolone 類のひとつである。我々は、青森ヒバ林の存在する環境に hinokitiol に対して耐性機構を持つ細菌



Tropolone : R=H

Hinokitiol : R=CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

図. Tropolone

類が存在すると予想しその探索を行った結果、耐性菌として *Pseudomonas bohemica* 近縁種である ins3 株、*Serratia* spp. である amh3 株、amh 4 株を発見した<sup>2)</sup>。本研究では、これらの菌株と非耐性菌との生育比較、培養液中における hinokitiol 量の評価と ins3 株による hinokitiol 代謝産物の同定を検討した。また、ins3 株と同属で芳香族化合物分解菌として知られる *Pseudomonas putida* NBRC109109 による hinokitiol 代謝産物の同定についても検討した。

### 【実験方法】

Hinokitiol 存在下での hinokitiol 耐性細菌の培養評価：青森ヒバ林より採取したヒメスギカミキリ抽出物より得られた細菌である ins3 株、土壌の抽出物より得られた細菌である amh3, 4 株、及び *P.putida* の CFU と OD<sub>595</sub> の相関を決定した。菌体数を揃えた各菌液を 35 °C、600 rpm で 16、40、64 時間培養した。それらの OD<sub>595</sub> により生育量を評価した。；重水素化 hinokitiol の調製：耐圧管に hinokitiol を 200 mg、D<sub>2</sub>O を 20 mL、*i*-PrOH を 18 mL、Pd/C を 9 mg 入れ、180 °C で 6 時間処理した。サンプルを GC-MS 分析し、重水素の導入を確認した。また、<sup>1</sup>H NMR スペクトルより、hinokitiol の各水素の重水素化率を算出した。；培養上清ならびに無細胞抽出物を用いた hinokitiol 減少量の評価：ins3 株、amh3, 4 株、*P.putida* を、0.8 mM の hinokitiol を含む Mueller-Hinton II (MH II) 培地 100 mL あるいは安息香酸培地で 5 日間振とう培養を行った。培養液を遠心分離後、上清を回収し培養上清(Sup.)とした。回収した菌体ペレットに lysis buffer を 5.0 mL 加え、超音波細胞破碎後、遠心分離後の上清を回収し cell free extract (CFE) とした。各細菌の培養物から得られた Sup. または CFE (500 μL) に hinokitiol もしくは重水素標識した hinokitiol (hinokitiol-*d*<sub>n</sub>) を 100 μg 加え、30 °C で 1 時間インキュベートした。反応後のサンプルを LC-MS 分析に供し、吸光度 (230 nm) を用いて hinokitiol 量を評価した。；ins3 株生細胞を用いた hinokitiol 代謝の評価：Hinokitiol-*d*<sub>n</sub> (0.8 mM) を含む MH II 培地に ins3 株を播種し、5 日間振とう培養を行った。12 時間毎に培養液を採取し、LC-MS 分析を行った。得られた各ピークの質量スペクトル (ESI<sup>+</sup>) を元に hinokitiol 代謝産物を探索した。

### 【結果および考察】

ins3 株、amh3, 4 株は 0.8 mM の hinokitiol 濃度でも生育を示した。一方、グラム陰性細菌である *E.coli* や真菌である *S.cerevisiae* は 0.08 mM 以上の hinokitiol 濃度で、グラム陽性細菌である *B.subtilis* は 0.8 mM 以上の hinokitiol 濃度で生育を示さなかった。培地中の hinokitiol の減少量を LC-MS で評価したところ、0.8 mM の hinokitiol 濃度で振とう培養した ins3 株の Sup. 及び *P.*

*putida* の Sup.のみにおいて hinokitiol の有意な減少が見られた。この結果は、これらの株が hinokitiol を分解あるいは修飾して別の物質に変換していることを示唆している。一方、*Serratia* spp. amh3 株ならびに amh4 株は hinokitiol 量に変化を与えなかったことから、薬剤排出ポンプにより hinokitiol 耐性を示していると考えられる。次いで ins3 株による hinokitiol 代謝産物の同定を目的に、hinokitiol の重水素化を行い、hinokitiol 一分子あたり重水素が 1-9 個置換された hionkitiol- $d_n$ を得た。調製した hinokitiol- $d_n$ を培地に加え ins3 株を振とう培養し、12 時間毎に回収したサンプルを LC-MS で分析した。培養開始前と培養開始後 96 時間の total ion chromatogram (TIC)及び吸光度 (230 nm)にはいくつかの相違点が見られ、そのうち保持時間 8.6 min のピークは  $m/z$  195-203 に分布を示す hinokitiol- $d_n$  由来のピークであると推定された。このことから hinokitiol に式量 30 が付加した代謝産物の生成が示唆された。また、当該のイオンピークは培養開始後 36 時間のサンプルから確認され、培養時間が経過するとともに増加していることが確認された。

#### 【参考文献】

- 1) 橋床泰之, “化学生態学に基づいた植物病原菌および脱窒細菌の代謝制御に関する研究”, *日本農薬学会誌*, **42**(2), 300-307 (2017)
- 2) 長田晃汰, “ヒノキチオール耐性菌における生分解性の検証”, 第 69 回日本木材学会大会発表

(北大農) ○関野一喜、山岸祐介、佐野雄三

**【緒言】**

細胞間隙に富む皮目は外部環境と内樹皮の間でのガス交換に寄与するが、その構造ゆえに病原体の侵入経路として利用され、保護組織である周皮の中で弱点になり得る。これまで皮目の解剖学的特徴について、断片的な記載例はあるものの、病原体の侵入に対するバリア機能に関連付けた研究は乏しい。

以上のことから、筆者らは様々な樹皮型をもつ北海道産の樹種を対象として、特に樹皮型の違いに着目し、皮目の解剖学的特徴と皮目の内部～近接組織における菌糸体の存否や存在状態について走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行ってきた。その成果の一部については既に報告したが、今回は前報の内容に加えて同報告後に得られた新たな知見を含めて報告する。

**【実験方法】**

**試料**：研究室に保管されていた出所の明らかな樹皮付きの広葉樹幹片液浸試料と、2018 年 7 月に北大苫小牧研究林、同年 12 月に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て FAA 固定の後に保存していた樹皮付きの広葉樹幹片液浸試料を使用した (計 16 種)。

**SEM 観察**：試料を水洗してトリミングの後、凍結ステージを設置した滑走式マイクロトームまたはローラーベアリング移動式マイクロトームで観察面 (木口、柾目、板目) を平滑に凍結切削した。エタノールシリーズで脱水を行い、臨界点乾燥の後、SEM 試料台に接着、金・パラジウムをコーティングし、SEM 観察を行った。

**【結果および考察】**

**解剖学的特徴**：皮目内に **filling tissue** と **closing layer** の積層による明瞭な成層構造をもつ樹種とまたない樹種、およびこれら二者の間接的な特徴の樹種が存在した。明瞭な成層構造をもつ樹種は、ハンノキ (Fig. 1) など 13 樹種であったが、**filling tissue** と **closing layer** の外観、両組織における放射方向の細胞の配列数、成層構造における両組織の繰り返し数は樹種間で異なっていた。13 種のうちイタヤカエデ、エゾヤマザクラ、シウリザクラでは周皮の皮目以外の領域でも成層構造が存在し、それと皮目の成層構造には連続性が見られた。残りの 3 種のうちホオノキとハリギリでは、皮目内に成層構造が見られなかった。このうちホオノキでは、皮目とそれ以外の領域ではコルク皮層の細胞壁の壁層構造が大きく異なった。ハシドイの皮目は、放射径の異なる細胞群が交互に配列するという特徴や、細胞間隙の大きな箇所皮目の中心から軸方向に発生した裂け目 (Fig. 2, 3) の存在が認められたが、**filling tissue** と **closing layer** の間で見られる壁厚の著しい違いなどの典型的特徴が不明瞭であったため、間接的な特徴の樹種とした。

**菌糸体の分布**：前報までの成果では、成層構造をもつ皮目では、最も内側の破断していない **closing layer** が菌糸体の侵入の境界であった。だが、新たに観察したアサダの皮目では、最内の **closing layer** よりも深い位置に菌糸体が侵入しているケースが見られた (Fig. 4)。観察面では菌糸体が侵入できるような破断等の損傷が観察できなかったため、このアサダにおける菌糸体は、観察面に現れなかった損傷箇所から侵入した可能性が考えられる。また、ハンノキでは、皮目近傍を含めた内樹皮の細胞間隙に菌糸体状の物体 (Fig. 5, 6) が存在していた。この物体は他の樹種で見られた菌糸体 (Fig. 7, 8) と形態が似ていたが、明らかに細かった。内樹皮中に見られ、周囲に組織の損傷や傷害組織が見られなかったことから、この菌糸体状の物体は内生菌である可能性も考えられる。

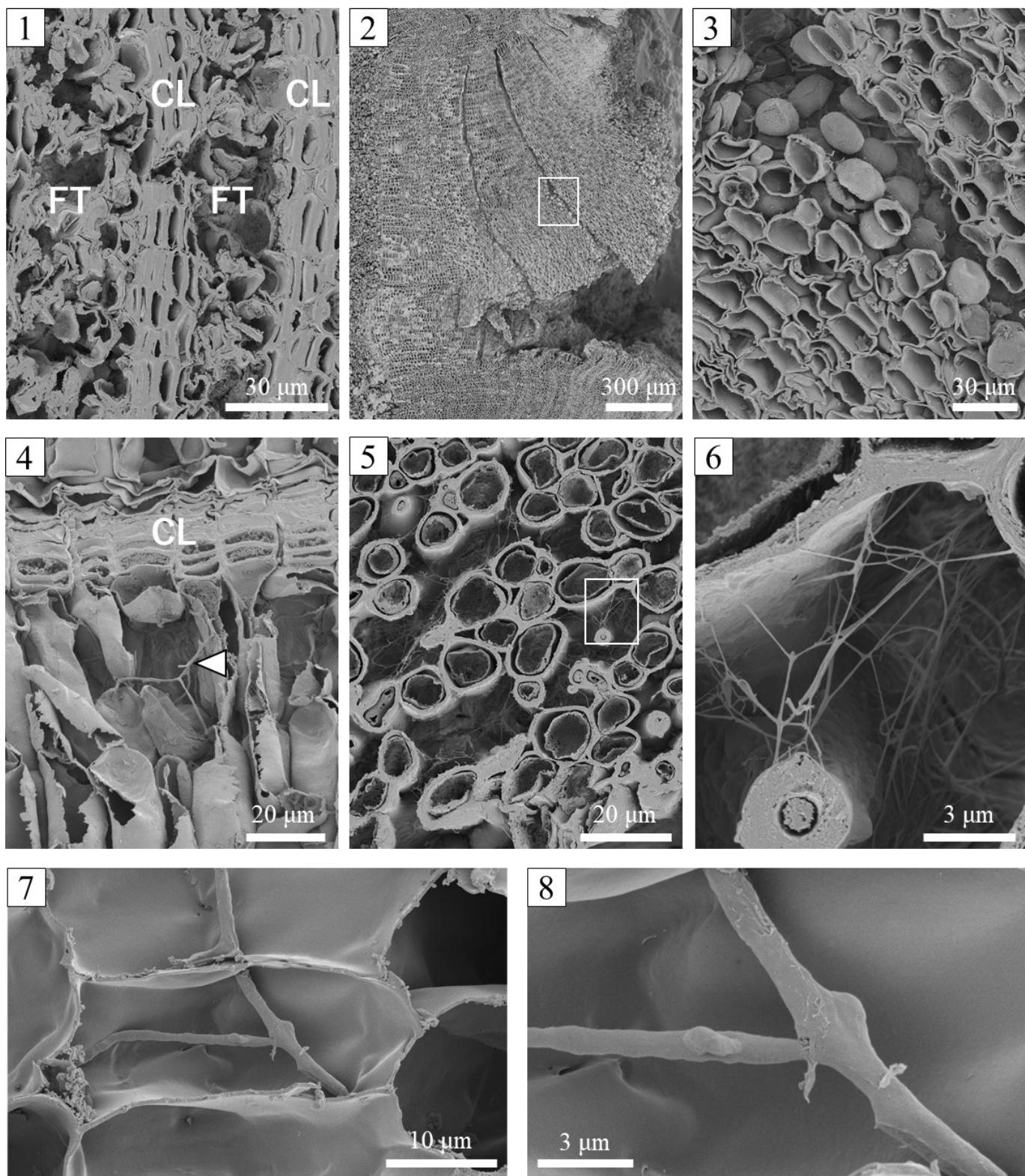


Fig. 1 filling tissue (FT) と closing layer (CL) が積層した成層構造をもつハンノキの皮目, 柢目面. Fig. 2 ハンドイの皮目において軸方向に発生した裂け目, 柢目面. Fig. 3 Fig. 2の白い枠内の拡大. Fig. 4 アサダの最内の closing layer (CL) の内側に侵入した菌糸体 (矢尻), 木口面. Fig. 5 ハンノキ皮目下の内樹皮, 柢目面. Fig. 6 Fig. 5の白い枠内の拡大, 菌糸体状の物体. Fig. 7 アサダのコルク細胞, 木口面. Fig. 8 Fig. 7の一部拡大, 菌糸体.

## 4

### シイタケ菌糸体の-20℃保存における凍結保護剤の性能評価

#### - 単糖, 二糖, 多価アルコール類の比較 -

○西脇綾乃, 梶 暉, 鬼柳春花, 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>2,5)</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などの高濃度水溶液を凍結保護液とすると、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、凍結保護液にグルコースなどの単糖、マルトースなどの二糖、エリスリトールなどの多価アルコール類の各水溶液を用いて-20℃で最大12週間凍結保存し、シイタケ菌糸体の生存率変化から単糖や二糖など物質群別の凍結保護性能の差異を比較した。

#### 【実験方法】

##### 供試菌株と保存用菌体ディスクの調製方法

試菌株には、ANCT-05072 (旭川高専保存株)、NBRC 30877, NBRC 31107, および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の保存用の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、フルクトース、キシロース、マルトース、スクロース、トレハロースおよびエリスリトールの各水溶液、そして10% (w/w) グリセリン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。25℃で24時間放置する前処理を施した後に-20℃で最大12週間の凍結保存を行った(一部の試験区では前処理無しで凍結保存を行った)。

##### 解凍方法と生存率の測定の測定

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5~7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。1組が5個の菌体ディスクの活着で生存率100%とし、同様の試験を2~3回繰り返した。

#### 【結果および考察】

供試4菌株と8種類の凍結保護液を用い、前処理後に12週間まで凍結保存した各試験区の生存率を表1の左側に示す(測定中/未測定あり)。サンプリングは原則として凍結後1~2週間、4週間、8週間、12週間とした。表中の『100』は複数回の測定で生存率100%のみ、『≤100』は生存率が0~100%で変動、『<100』は生存率が0~100%未満、『0』は生存率が0%のみをそれぞれ示している。

単糖の水溶液に注目すると、グルコースのみ4菌株共に生存率100%が12週間維持された。しかし、フルクトースではNBRC 31107とNBRC 31864, キシロースではANCT-05072を除く3菌株で生存率100%を12週間維持できなかった。二糖の水溶液ではスクロースのみ4菌株共に生存率100%が12週間維持され、マルトースとトレハロースでは100%を下回る場合もあった。多価アルコール類ではエリスリトールで4菌株共に生存率が低く、1週間凍結後でも100%維持が難しかった。グリセリンでは一部の供試菌株(NBRC 30877)で4~7週間後にも生存率100%が維持されたが、2週間程度の生存率100%維持が限界に近い様子がみられた。以上から、12週間までの-20℃凍結保存ではグルコースとスクロースの各40%

(w/w) 水溶液の凍結保存性能が優れ、単糖と二糖の区別での明確な差異は確認できなかった。エリスリトール水溶液の凍結保護性能は期待できず、菌株による差異はあったがグリセリン水溶液でもほぼ同様と考えられた。一方、表 1 の右側には前処理なしの $-20^{\circ}\text{C}$  凍結保存における生存率変化を示す。スクロース水溶液のみ 4 菌株共に 1 週間凍結後に生存率 100%が維持され、フルクトース水溶液では 4 菌株共に 1 週間後の生存率が 100%を下回った。

表 1 全体から、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus* (Jacquin.:Fries) Kummer) 菌株と 40% (w/w) グルコース水溶液の組合せの $-20^{\circ}\text{C}$  凍結保存と同様<sup>4)</sup>で、シイタケ菌株においても  $25^{\circ}\text{C} \cdot 24$  時間の前処理が高濃度の糖水溶液の凍結保護性能を改善することが明らかになった。前年度の本発表会における演者らの発表<sup>6,7)</sup>では、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などが取り込まれ、細胞内の凍結や氷晶成長が抑えられる<sup>8,9)</sup>可能性を示した。しかし、糖の種類によって生存率の変化が生じ、前処理後においてグルコース>スクロース>マルトース>トレハロース>フルクトース>キシロース>グリセリン $\geq$ エリスリトールの傾向が得られたことから、糖分子の取り込みによる細胞内凍結等の障害・遅延以外の要因も考えられた。例えば、各種糖類を安定化剤に用いたアルカリホスファターゼ水溶液の凍結乾燥後の残存酵素活性の傾向 (図 1 参照)<sup>10)</sup>と本研究の結果にある程度の類似性がみられる。具体的には、凍結乾燥後の残存酵素活性と $-20^{\circ}\text{C}$  凍結保存後の生存率はいずれもスクロース (二糖) で優れ、フルクトースとキシリトール (単糖) で低下し、エリスリトールやグリセリン (多価アルコール類) が低い。凍結乾燥におけるタンパク質変性 (分子構造の変化) を防ぐ安定化剤 (単糖より二糖が有効<sup>10)</sup>) と $-20^{\circ}\text{C}$  凍結時に生じるタンパク質など菌体成分の変性防止剤 (凍結保護物質) の機能は必ずしも一致しないと考えるが、スクロースの凍結保護性能に注視して更なる検討を進めたい。

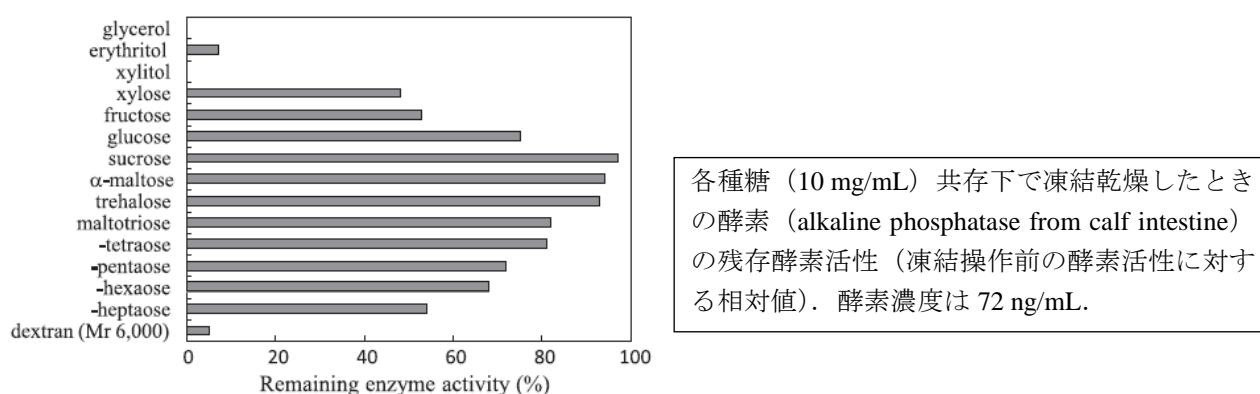


図 1. 各種糖類を安定化剤に用いたアルカリホスファターゼ水溶液の凍結乾燥後の残存酵素活性<sup>10)</sup>

### 【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) 富樫 巖, 新井 悠:  $-20^{\circ}\text{C}$  凍結保存におけるヒラタケ菌糸体に対する高濃度グルコース水溶液の保護効果. *日本菌学会会報*, **60** (2), 37-41 (2019).
- 5) 富樫 巖, 鬼柳春花:  $-20^{\circ}\text{C}$ と $-50^{\circ}\text{C}$ におけるシイタケ菌糸体とヒラタケ菌糸体の凍結保存. *New Food Industry*, **62**(6), 391-398 (2020).
- 6) 梶 暉, 富樫 巖:  $-20^{\circ}\text{C}$ 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. *日本木材学会北海道支部講演集*, No.51, 2019, pp. 1-4.
- 7) 横田喬央, 富樫 巖:  $-20^{\circ}\text{C}$ 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. *日本木材学会北海道支部講演集*, No.51, 2019, pp. 5-8.
- 8) 渡辺 信: 環境問題と微生物の保存. *環境技術*, **27**(7), 485-487 (1998).



- 9) 桑野和可：藻類の凍結保存. “日本藻類学会創立 50 周年記念出版・21 世紀初頭の藻学の現況”, 堀輝三・大野正夫・堀口健雄共編. 日本藻類学会, 山形, 2002, pp.108-111.
- 10) 今村維克：タンパク質水溶液の凍結乾燥. 生物工学会誌, **96**(3), 137-141 (2018).

表 1. 各種糖類などの水溶液を保護液としたシイタケ菌株の-20°C 凍結保存における生存率の変化

凍結保護液	供試菌株	前処理あり試験区の生存率 (%)				前処理なし試験区の生存率 (%)			
		凍結期間				凍結期間			
		1-2週間	4週間	8週間	12週間	1週間	4週間	8週間	12週間
40% (w/w) グルコース水溶液	ANCT-05072	100	100	100	100	100	100	≤ 100	≤ 100
	NBRC 30877	100	100	100	100	100	≤ 100	0	0
	NBRC 31107	100	—	100	100	< 100	0	0	0
	NBRC 31864	100	100	100	100	≤ 100	< 100	0	0
40% (w/w) フルクトース水溶液	ANCT-05072	100	100	100	100	< 100	< 100	0	0
	NBRC 30877	100	100	100	100	< 100	< 100	0	0
	NBRC 31107	100	100	100	0	< 100	0	0	0
	NBRC 31864	100	≤ 100	≤ 100	< 100	0	0	0	0
40% (w/w) キシロース水溶液	ANCT-05072	100	100	100	100	100	0	0	0
	NBRC 30877	100	100	100	< 100	100	< 100	0	0
	NBRC 31107	100	< 100	< 100	0	< 100	0	0	0
	NBRC 31864	100	100	< 100	0	< 100	0	0	0
40% (w/w) マルトース水溶液	ANCT-05072	100	100	100	100	100	100	< 100	< 100
	NBRC 30877	100	100	—	≤ 100	100	100	< 100	0
	NBRC 31107	100	—	—	< 100	< 100	0	0	0
	NBRC 31864	100	100	100	100	100	0	0	0
40% (w/w) スクロース水溶液	ANCT-05072	100	100	100	100	100	100	< 100	< 100
	NBRC 30877	100	100	100	100	100	≤ 100	≤ 100	≤ 100
	NBRC 31107	100	—	—	100	100	< 100	—	0
	NBRC 31864	100	100	100	100	100	≤ 100	≤ 100	< 100
40% (w/w) トレハロース水溶液	ANCT-05072	100	100	100	≤ 100	100	≤ 100	0	< 100
	NBRC 30877	100	100	100	≤ 100	100	≤ 100	≤ 100	0
	NBRC 31107	100	—	—	—	< 100	0	0	0
	NBRC 31864	100	100	100	100	≤ 100	≤ 100	≤ 100	≤ 100
エリスリトール凍結期間→		1週間	2週間	3週間	5週間	1週間	2週間	3週間	5週間
40% (w/w) エリスリトール水溶液	ANCT-05072	≤ 100	≤ 100	< 100	0	0	< 100	0	0
	NBRC 30877	≤ 100	< 100	0	0	≤ 100	0	0	0
	NBRC 31107	≤ 100	< 100	0	0	0	< 100	0	0
	NBRC 31864	< 100	0	0	0	0	0	0	0
グリセリン凍結期間→		1-2週間	4週間	7週間	10週間	1週間	2週間	3週間	5週間
10% (w/w) グリセリン水溶液	ANCT-05072	≤ 100	≤ 100	0	0	≤ 100	< 100	0	—
	NBRC 30877	100	100	100	< 100	100	< 100	0	—
	NBRC 31107	< 100	—	—	—	0	—	—	—
	NBRC 31864	≤ 100	—	—	—	0	—	—	—

注) 『100』: 複数回の測定で生存率 100%のみ, 『≤ 100』: 複数回の測定で生存率が 0~100%で変動, 『< 100』: 複数回の測定で生存率が 0~100%未満, 『0』: 複数回の測定で生存率が 0%のみ, 『—』: 測定中/未測定.

(道総研林産試) ○齋藤沙弥佳, 宜寿次盛生, 米山彰造

### 【緒言】

きのこ産業において、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”が潜在的な問題となっている。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影響を与える恐れがあるため、抜本的な対策が望まれている。そこで本研究では収量性の低下したきのこ種菌の特徴を細胞生物学の面から検証するため、蛍光プローブを用いた免疫染色による解析を試みた。特に蛍光免疫染色については食用きのこに対する報告例が希少なため、染色対象は細胞形態・細胞内輸送で機能する微小管の構成タンパク質であるチューブリンとし、染色前の透過化操作である細胞壁の消化処理についても詳細な検討を行った。

### 【実験方法】

林産試験場で保有している菌株の中から、マイタケ (*Grifola frondosa*) は HfpriGf08-2 (以降株名先頭の Hfpri を省略して表記)、ユキノシタ (野生型エノキタケ、*Flammulina velutipes*) は Fv84-2、Fv92-4、Fv09-1 および Fv13-3、タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*) は Pc98-3 を供試した。また同一菌株由来かつ収量性が異なる菌株群を得るために、Gf08-2、Fv92-4、Pc98-3 について既報の方法<sup>2</sup>により選抜した高収量性/低収量性の菌株を供試した。

蛍光免疫染色では菌糸を PDA 培地の小片に接種し 25℃で 3-4 日間湿箱内にて培養したのち、パラホルムアルデヒドにより固定した。0.1%/0.4% Lysing Enzyme (Sigma Aldrich) または 2% Yatalase (タカラバイオ株式会社) による細胞壁の消化処理を行った上で、細胞膜の透過化処理と抗チューブリン抗体による染色を行った。

### 【結果および考察】

マイタケ：Lysing Enzyme を用いて透過化すると内部の微小管が消化され細胞内に拡散している様子が見られ、2% Yatalase 処理区で良好な染色像が得られた。Gf08-2 高収量性株において、同低収量性株と比較して菌糸先端にチューブリンが強く集積する傾向がみられた。

ユキノシタ：細胞壁の消化処理の際に微小管分解の影響を受けやすく、0.1% Lysing Enzyme による処理で微小管構造を保持して染色することができた。高収量性を示す菌株(Fv84-2、Fv92-4、Fv92-4 高収量株)では微小管フィラメントは細胞内で波打つ構造を持っていたのに対し、低収量性を示す菌株(Fv09-1、Fv13-3、Fv92-4 低収量株)の微小管は直線的なフィラメント構造を示した。また Fv92-4 低収量性株は 2% Yatalase で処理した際に、同高収量性株に比べ微小管フィラメントが消化されやすい傾向がみられた。

タモギタケ：0.4% Lysing Enzyme 処理区で良好な染色像が得られ、他の条件ではプローブが菌糸内にアクセスできず細胞壁表面に滞留している様子が見られた。Pc98-3 高収量性株は同低収量性株と比較し顕著な構造の差異は認められなかったが、菌糸の中間部で染色不良が散見されたことから、細胞壁が消化されにくい状態であったと推察された。

以上の結果より、収量性の異なる菌株間では、マイタケとユキノシタにおいては微小管の構造に、タモギタケについては細胞壁の酵素消化耐性にそれぞれ差異が見られた。今後、これらの特徴は細胞生物学的にどのような意味を持つのか、また栽培時の栽培特性に影響を与えているかを検証する予定である。

【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】2) 齋藤沙弥佳, 宜寿次盛生, 米山彰造：北海道産食用きのこ菌株の高温培養を用いた再選抜、日本きのこ学会第 23 回大会講演要旨(2019)

<sup>1</sup> 本研究は第 70 回日本木材学会大会 (2020 年 3 月、鳥取) において発表した。



○原田 陽, 折橋 健, 檜山 亮 (道総研林産試)

## 【緒言】

早生樹のヤナギ類のうち、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の原料として、利用方法が検討されている。演者らは、シイタケ (*Lentinula edodes*) 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と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、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>、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<sup>2)</sup>を報告している。本研究では、培地基材へヤナギ由来の水抽出物を添加したり、抽出した後の残さを培地基材に用いたりすることで、ヤナギに含まれる成分がシイタケの子実体発生に及ぼす効果を評価した。

## 【実験方法】

栽培試験 1 として、シラカンバ (*Betula platyphylla var. japonica*) を基材とした培地に対して、所定の条件で製造したヤナギ由来水抽出物を 0.075~0.44% (乾物として) 添加した培地を調製した (N=6)。栽培試験 2 では、培地基材にヤナギおが粉 2 種類、ヤナギおが粉より水抽出した後の残さ (以下、抽出残さ) を用いた培地を調製した (N=10)。いずれも栄養材として市販栄養材 (デルトップ、森産業 (株) 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 充填してから高圧殺菌した。作製した培地に森 XR1 号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、サイズ毎に分別した上で子実体の個数および生重量を測定した。

次に、それぞれの培地基材の成分分析 (灰分、窒素、抽出物、リグニン、多糖類等) を既報<sup>1)</sup> に準じて行い、栽培試験の結果との関連性について検討した。

## 【結果および考察】

カンバを基材として、ヤナギ由来水抽出物を添加した培地による栽培試験 1 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収量が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。このことから、カンバを基材とした培地に対するヤナギ由来水抽出物の添加が有効で、ヤナギ由来の水溶性成分が収量増加へ寄与する可能性が示された。

栽培試験 2 では、ヤナギおが粉を用いた 2 試験区の収量は同程度であった。一方で、抽出残さを用いた場合、抽出前のおが粉を用いた場合よりも 10%以上の収量低下がみられたことから、水抽出物を取り除くことが収量にマイナスの影響を与えることが示され、水溶性成分の存在が収量増加に寄与する可能性が示唆された。

さらに、培地基材の成分分析を行い水抽出前後のヤナギおが粉の成分含量を比較した結果、水抽出物以外の項目では抽出前後の差異が小さいことから、水溶性成分の寄与が高いと考えられた。

## 【参考文献】

- 1) 原田陽・折橋健・檜山亮・宜寿次盛生・棚野孝夫：日本きのこ学会誌、**22**、24-29 (2014)
- 2) 折橋健・檜山亮・原田陽：日本きのこ学会誌、**26**、112-116 (2018)

<sup>1</sup> 本研究は第 70 回日本木材学会大会 (2020 年 3 月、鳥取) において発表した。

○渋井宏美（道総研林産試）、宮内輝久（道総研林産試）

### 【緒言】

北海道の主要な人工林材であるカラマツは、強度性能に優れる一方で、心材部における液体の浸透性が極めて低いため、JAS 等で求められる保存処理剤の浸潤度の基準を満たすことが困難であった。近年は、有機溶媒を溶剤とする油溶性薬剤を用いることで、カラマツ心材部でも JAS 等で求められる浸潤度の基準を満たす処理方法が実用化されている。しかし、油溶性薬剤による処理で高い浸潤度が得られる要因については未解明な点が多い。水溶性の液体では、仮道管間の壁孔の開閉が浸透性に大きく影響すると考えられていることから、本研究では油溶性薬剤の浸透メカニズムを解明するための検討の一環として、既に報告済みのカラマツ材<sup>1)</sup>に加えてスギ材の辺材と心材を用いて、油溶性薬剤の組織における浸透状況と各組織における壁孔閉塞率の関係性を調べることで、油溶性薬剤の高い浸透性に寄与する要因について検討を行った。

### 【実験方法】

北海道産のカラマツおよびスギの心材と辺材を用いた。カラマツは、蒸煮処理したのちに人工乾燥させた材（蒸煮材、心材・辺材それぞれ n=2）と蒸煮処理をせずにそのまま人工乾燥させた材（未蒸煮材、心材・辺材それぞれ n=2）を用い、スギは蒸煮処理をせずにそのまま人工乾燥させた材（心材・辺材それぞれ n=3）を用いた。1 cm×1 cm×2 cm [接線方向(T)×半径方向(R)×繊維方向(L)] の試験体を切り出し、浸透面の周囲をエポキシ樹脂でシーリングした。浸透させる溶液には、油溶性薬剤（サンプルザーOP エース、(株) ザイエンス）にズダンブラック B を 0.5% 溶かしたものをを用いた。片方の木口面を溶液に 10 秒間浸けた後、室温下で 1~2 時間養生させ、55°C のオーブン内に 24 時間置いた。柾目面が出るように試験体を切断し、切断面を実体顕微鏡で観察した。切断面をスキャナーで読み込み、早材・晩材における着色部の面積割合を測定した。仮道管間壁孔の閉塞率を算定するために、エポキシ樹脂包埋した小木片から滑走式マイクロトームを用いて 2.5 μm 厚の切片を作製し、光学顕微鏡で壁孔の状態を観察した。

### 【結果および考察】

油溶性薬剤の浸透性は両樹種ともに早材よりも晩材で高い傾向にあり、カラマツでは蒸煮材、未蒸煮材ともに心材よりも辺材で高く<sup>1)</sup>、スギでは心材と辺材ではほぼ同等であった（図 1、図 2）。カラマツ心材では蒸煮材と未蒸煮材の間で大きな浸透性の変化はなかったが、辺材では早材・晩材ともに蒸煮処理によって浸透性が向上した<sup>1)</sup>（図 1）。実体顕微鏡観察の結果、両樹種のすべての試料で仮道管、放射組織、樹脂道内（カラマツに限定）に油溶性薬剤が通った痕跡が認められた。両樹種ともに、辺材では心材よりも放射組織を浸透経路としている様子が多く観察された。特にカラマツでは、同じ辺材でも蒸煮材において未蒸煮材よりもその様子が著しく多く観察された<sup>1)</sup>。仮道管間壁孔の閉塞率は、カラマツにおいては蒸煮の有無や辺心の差にかかわらず、早材が高く（86~99%）、晩材では早材よりも大幅に低い（心材 26~57%、辺材 9~35%）傾向にあった<sup>1)</sup>（図 3）。スギの壁孔閉塞率は個体差が大きいものの、心材（25~77%）よりも辺材（48~94%）で高く、早材よりも晩材で低い傾向にあったが、早晩材の差は小さく、辺材では晩材よりも早材の方が低い個体もあった（図 4）。以上のことから、油溶性薬剤の浸透性が早材よりも晩材で高いのは、晩材の壁孔閉塞率が低いことが要因の 1 つと考えられる。しかしながら、人工乾燥されたカラマツおよびスギの辺材では、壁孔閉塞率が高いにもかかわらず高い浸透性が得られているため、油溶性薬剤の浸透には壁孔の開閉以外の要素も影響している可能性が示唆された。

<sup>1)</sup> 本研究の一部は第 70 回日本木材学会大会（2020 年 3 月、鳥取）において発表した。

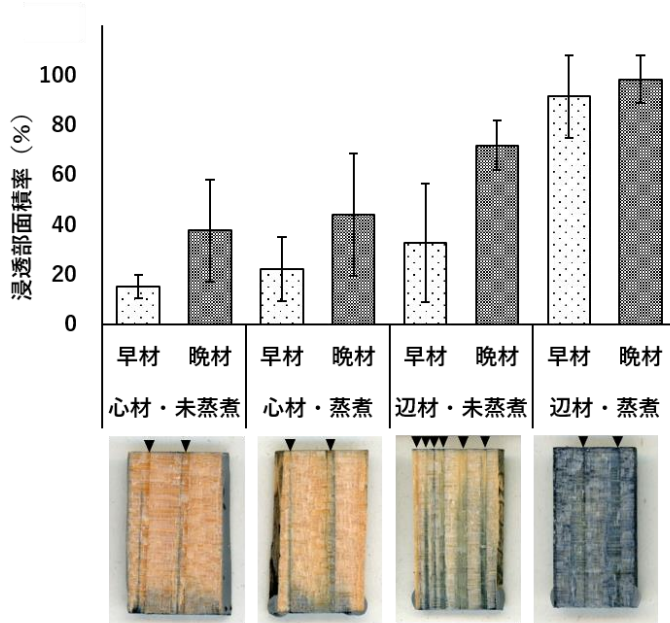


図1. カラマツ辺材・心材における浸透部面積率と縦断面。  
エラーバー：SD. n=33~53(心材)、54~130(辺材).  
矢尻：晩材部。

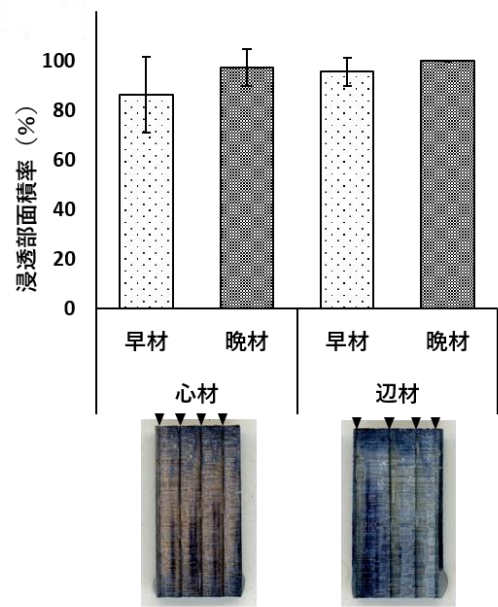


図2. スギ辺材・心材における浸透部面積率と縦断面。  
エラーバー：SD. n=105(心材早材部)、77(心材晩材部)、127(辺材早材部)、111(辺材晩材部). 矢尻：晩材部。

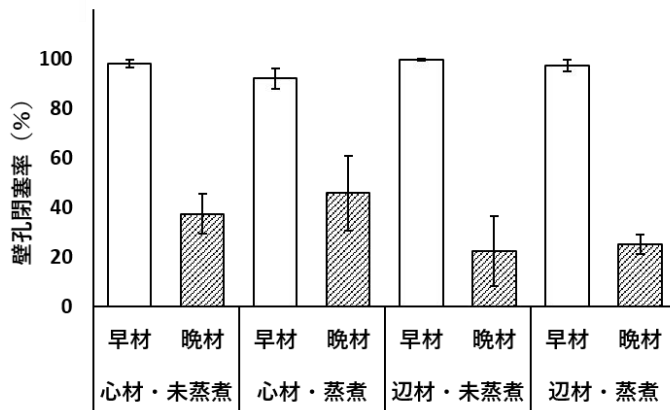


図3. カラマツ辺材・心材における壁孔閉塞率。  
エラーバー：SD. n=4~8(測定壁孔数：早材 130~400/n、  
晩材 10~40/n).

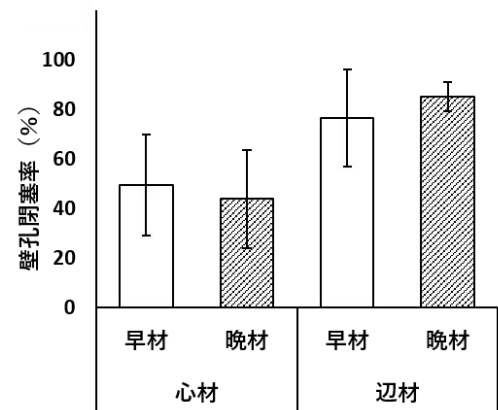
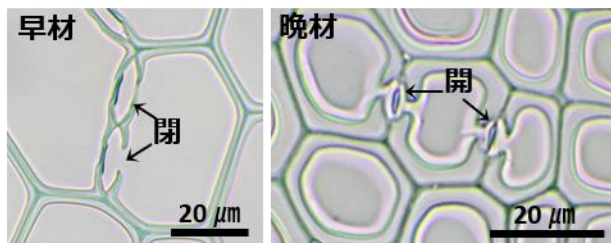


図4. スギ辺材・心材における壁孔閉塞率。  
エラーバー：SD. n=4(測定壁孔数：早材 138~471/n、晩材 47~138/n).



補足資料. カラマツ心材の早材部・晩材部  
における壁孔の開閉の様子。

### 【謝辞】

本研究を進めるにあたり、ご協力いただいた、株式会社ザイエンス 茂山知己氏、同 池田学氏に感謝の意を表す。

### 【引用文献】

- 1) 洪井宏美、宮内輝久 (2020) カラマツ材における油溶性保存処理剤の浸透と壁孔閉塞率. 第70回日本木材学会大会 研究発表要旨集.

○藤原拓哉（道総研林産試）、阿部友幸（道総研林業試）

## 【緒言】

近年は台風が弱体化することなく北海道に上陸する頻度が増加しており、森林においても風倒木の発生等、甚大な被害が発生する。風倒害は風の強さだけでなく、樹木の幹折れや根返りの発生しやすさも関係していることから、風倒害に強い森づくりを進めるための対策手法の構築が求められている。その際、森林基本情報から被害が発生しない風速の上限（限界風速）を推定する力学モデルを構築する必要がある。トドマツについていえば、被害形態としては幹折れが多いことから、森林基本情報と樹幹の強度との関係を明らかにすることが主となるが、過去のトドマツ生材丸太の強度試験の事例<sup>1-3)</sup>は立木時の情報が残されていなかったり、バリエーションが乏しいものに限られるため、種々の林齢、直径のトドマツ生材丸太の曲げ強度試験を行った。

## 【実験方法】

供試木の産地は美唄市、幕別町、大樹町、および旭川市で、各林分において直径がばらつくように選木した。供試木の概要を表1に示す。曲げ強度試験は1番玉で行い、加力条件は中央集中荷重、もしくは内側荷重点距離を限界まで小さくした2点荷重方式により行った。スパンは直径の約14倍とし、直径に応じて随時変更するとともに(360~3,900mm)、胸高部位がスパン中央と支点の間に配置されるようにした。使用試験機は東京衡機製造所製実大木材強度試験機 WU-1000(曲げ容量 200kN)、およびオリエンテック社製精密万能試験機 RTD-2410(容量 100kN)で、スパン中央のたわみはステンレスワイヤーを介して測定した。曲げ強さと曲げヤング係数の算出にあたり、すべて中央集中荷重条件とみなすとともに、試験体の形状についても細りのない通直な円柱を仮定し、直径はスパン中央の値とした。試験終了後、試験体から胸高に相当する部位の円板を採取し、これを用いて平均年輪幅および容積密度数を測定した。

表1 供試木の概要

林分番号	本数 (本)	産地	林齢 (年)	胸高直径(cm)			樹高(m) 平均値
				最小値	平均値	最大値	
1	20	美唄市	44	19.1	26.6	34.3	21.4
2	3	幕別町	11	6.0	7.9	10.3	5.6
3	3	幕別町	23	11.8	16.0	19.7	12.9
4	3	大樹町	41	22.5	26.5	30.9	-
5	6	旭川市	10	2.6	4.5	6.1	4.1
6	7	旭川市	15	4.0	8.5	13.5	6.5
7	3	旭川市	22	11.8	15.0	19.4	9.2

## 【結果および考察】

典型的な破壊の過程は最大荷重の60~70%で比例限度に達し、80%を超えたあたりからもめが肉眼で確認できるようになり、引張側の破断で最大荷重となるものであったが、圧縮破壊で最大荷重を示すものも見られた。破壊状況の例を写真1に示す。伐採から強度試験まではややタイムラグがあったが、含水率はすべて繊維飽和点以上であり、生材状態の値が得られたことになる。曲げ強度試験の結果を表2に示す。曲げ強さの値をみると、林分2を除き、既往の報告と大差はない。林分2は曲げヤング係数や容積密度数が低い値となっており、逆に平均年輪幅が他よりも大きな値である



写真1 破壊状況の例

ことから、成長の違いが影響したものと考えられる。曲げヤング係数の値は林分 2 だけではなく、林齢が 20 年以下である林分 5、6 で既往の値を下回っていた。

表 2 曲げ試験の結果

林分番号		1	2	3	4	5	6	7	山本 <sup>1)</sup>	小泉 <sup>2)</sup>	米田 <sup>3)</sup>
林齢		44	11	23	41	10	15	22		52	
試験体数		20	3	3	3	6	7	3	5	20	10
曲げ強さ(N/mm <sup>2</sup> )	最小値	27.4	19.2	31.7	36.9	32.1	29.8	30.9	35.5		36.3
	平均値	35.5	21.4	33.5	38.5	36.6	33.7	35.4	38.9	38.8	45.1
	最大値	41.4	25.5	34.5	39.6	41.2	39.4	39.1	42.6		53.9
曲げヤング係数 (kN/mm <sup>2</sup> )	最小値	6.3	2.5	5.8	8.0	3.3	3.9	6.0	5.2		5.8
	平均値	7.8	3.1	6.7	8.3	4.5	5.3	6.4	6.7	9.9**	8.0
	最大値	9.7	4.0	7.2	8.5	6.6	7.3	7.1	7.8		9.3
年輪数	平均値	35.6	5.3	17.0	34.7	4.3	8.0	15.3	40*	25*	15.4
平均年輪幅(mm)	平均値	3.6	5.8	4.2	3.5	3.5	4.4	4.3		3.5	5.2
容積密度数(kg/m <sup>3</sup> )	平均値	338	262	302	336	295	293	310		316	

\*末口での値

\*\*純曲げヤング係数の値

表 3 に曲げ強度試験で得られた相関係数を示す。曲げ強さに関しては曲げヤング係数が最良の推定因子となり得るが、林分の基本的な情報としては整理されておらず、必要に応じて測定しなければならない。林齢や年輪数の相関係数は有意ではあったが、林分 2 には良く適合しなかった。平均年輪幅との相関係数も高度に有意であったが、対象が立木では測定に問題がある。そこで、胸高直径と胸高で採取した樹皮なし円板の直径の関係、ならびに林齢と円板の年輪数の関係を用いて、林齢と胸高直径から平均年輪幅を推定し、これを曲げ強さの推定に適用したところ、同一林齢では胸高直径の増加に伴って曲げ強さが低下する傾向を示し、林分 2 にも適合した良好な結果が得られた (図 1)。

表 3 相関係数

	林齢	胸高直径	年輪数	平均年輪幅	容積密度数	曲げヤング係数
曲げ強さ	0.308*	0.153	0.306*	-0.603**	0.557**	0.621**
曲げヤング係数	0.826**	0.752**	0.833**	-0.305*	0.725**	

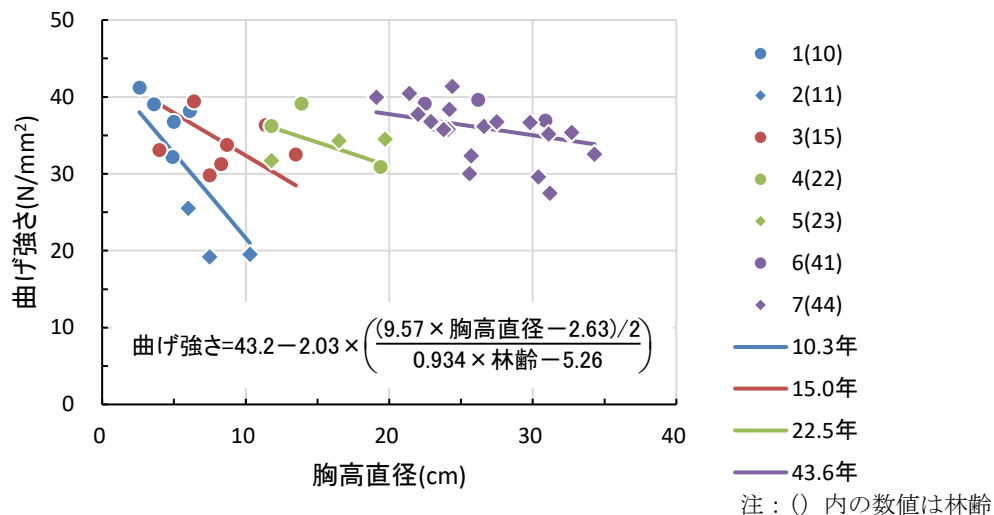


図 1 胸高直径、林齢と曲げ強さの関係

一方、曲げヤング係数については林齢、年輪数との相関が強く、平均年輪幅が示す成長の違いの影響は小さいこともあって、11年生への十分な適合は得られなかった（図2）。

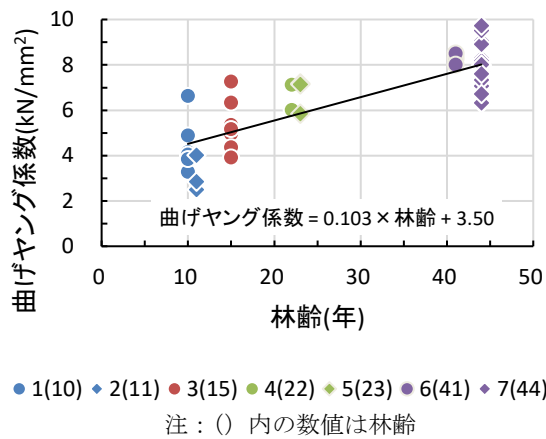


図2 林齢と曲げヤング係数の関係

#### 【謝辞】

供試木の調達にあたり、(一社)北海道林業機械化協会、十勝総合振興局森林室、上川総合振興局南部森林室にご協力を頂きました。ここに感謝の意を表します。

#### 【参考文献】

- 1) 山本宏ほか3名: 針葉樹中小径丸太の強度性能, 林産試月報, 333, 7-10 (1979).
- 2) 小泉章夫, 上田恒司: 丸太材の曲げおよび振り性能, 北大演研報, 44 (1), 355-380 (1987).
- 3) 米田昌世: 針葉樹中小径丸太・タイコ材の強度試験, 1 (4), 1-11 (1987).



○鈴木廉（北大院農），山岸祐介（北大院農）

### 【緒言】

樹木が損傷などを受けて頂芽付近の当年成長とは別に新たに形成するシュートを萌芽と呼ぶ。萌芽を形成する能力、すなわち萌芽性には樹種によって差があるとされている。萌芽は一般的に、親木に貯蔵された養分や親木の発達した通水系を活用することができるため、実生と比べて初期成長が早く、生存率も高い。そのため、萌芽性を持つ樹種は攪乱後速やかに再生することが可能である。萌芽性の高い樹種ではこの性質を利用し、伐採、萌芽更新を繰り返すことで、更新の確実性が高く、コストを抑えた小径木材の生産が行われており、シイタケ原木、薪炭材、チップ用材に利用されている。また、根からの萌芽は分根による育苗や土壌攪乱からの修復に利用されている。

これまで萌芽の研究は幹萌芽や株萌芽を対象としたものを中心に多くなされており、根萌芽の形態についての詳細な観察例は限られる。

本研究では、萌芽性に関係していると考えられる解剖学的特徴として、根のデンプン貯蔵と萌芽形成部の組織構造に着目した。根はデンプンの貯蔵器官として知られており、根萌芽は根に貯蔵された炭水化物を消費して形成されるとされている(Wachowski et al. 2014)。このことから、萌芽性の異なる樹種間におけるデンプン貯蔵量や貯蔵場所、貯蔵量の季節差を比較することで萌芽性との関係を検討した。また、地上部の萌芽における先行研究(Meier et al. 2012)において、潜伏芽由来の萌芽の形成部には **bud trace** と呼ばれる、髓から萌芽までつながる放射方向の組織が多く観察されている。そこで、根萌芽の形成が報告されている樹種の水平根において萌芽形成部の組織構造の観察を行った。

### 【実験方法】

#### 1. 4 樹種の水平根におけるデンプン貯蔵比較

水平根の組織を顕微鏡観察することからデンプンの貯蔵量とデンプン粒の分布、およびその季節変化を調べることで萌芽性との関係を検討した。供試材料として、水平根からの萌芽で栄養更新を行うとされる *Populus tremula* の交雑種である交雑ポプラ(*Populus tremula* × *P. alba*)、同じく水平根に萌芽を形成するイタヤカエデ(*Acer mono*)、また、幹の基底部の根系が露出するとそこから萌芽を形成するカツラ(*Cercidiphyllum japoninum*)、幹からからの萌芽は形成されるが水平根からの萌芽は形成されないシラカンバ(*Betula platyphylla*)、以上の水平根からの萌芽性が異なる4種の水平根を用いた。採取は北海道大学札幌演習林において行った。試料は夏(2019年6月)と冬(2019年12月)に採取し、滑走式マイクロームを用いて厚さ20~25 μmの切片を作成した。作成した切片はヨウ素ヨウ化カリウム溶液で染色し、光学顕微鏡で観察した。

#### 2. 萌芽形成部の組織構造観察

水平根の表面の特徴から潜伏芽が形成されていると思われる部分、および萌芽が形成されている部分(図1)の詳細な組織構造を観察した。供試材料として交雑ポプラ、イタヤカエデに加え、同じく水平根に萌芽を形成することが報告されているニセアカシア(*Robinia pseudoacacia*)の、地表付近の直径約1 cmの水平根を試料として採取した。試料は2019年2月から2020年1月の器官に数回採取し、滑走式マイクロームを用いて厚さ20~25 μmの切片を作成した。作成した切片はデンプン粒の分布を観察するためにヨウ素ヨウ化カリウム溶液染色、細胞の形や細胞壁成分を調べるためにトルイジンブルー染色を行い、染色した切片は光学顕微鏡で観察した。ま

た、無染色の切片を偏光下で観察し、細胞壁の二次壁肥厚の有無を判断した。さらに、自家蛍光物質の局在を調べるため蛍光顕微鏡を用い、励起光 385±30 nm、吸収フィルタ 450±40 nm で観察した。

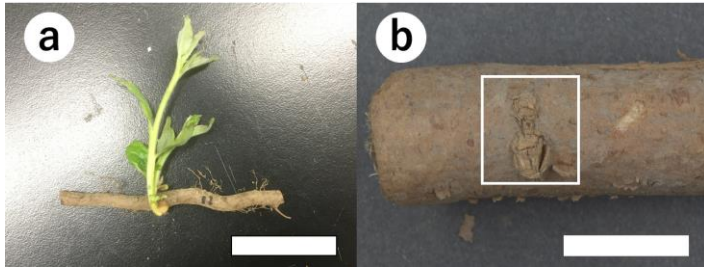


図1 観察試料

a:交雑ポプラ当年生萌芽 Bar = 50 mm

b:ニセアカシア水平根 Bar = 10 mm

白枠:表面の特徴から潜伏芽を形成していると考えられる部分

### 【結果および考察】

#### 1.4 樹種の水平根におけるデンプン貯蔵比較

4 樹種のデンプン量を比較すると、交雑ポプラ、カツラ、イタヤカエデで特に多くデンプンが貯蔵されていた。3 樹種に共通する貯蔵場所は、木部においては放射柔細胞及び軸方向柔細胞であり、師部における貯蔵場所は師部柔細胞および師部放射組織であった。いずれの樹種においても夏と比べて冬に多くデンプンを貯蔵しており、特に師部のデンプン貯蔵は冬に多くなっていた。夏から冬にかけての増加量やデンプンの貯蔵場所には樹種間で違いが見られた。特に水平根からの萌芽が報告されている交雑ポプラ、イタヤカエデでは放射柔細胞、軸方向柔細胞、師部柔細胞、師部放射柔細胞において夏から冬にかけてのデンプンの増加が顕著であった。また、イタヤカエデでは冬にのみ living wood fiber における貯蔵が見られた。

以上の結果から、水平根からの萌芽による栄養更新が報告されている種である交雑ポプラとイタヤカエデはともに、観察した 4 樹種の中で夏と冬のデンプン貯蔵量の差が大きい傾向が見られ(図 2)、根における貯蔵デンプン量の季節差が萌芽性と関連している可能性が考えられた。また、これらの種では周辺の放射組織と比べて顕著に太い放射方向の組織が観察された。この組織は根の表面の外観から潜伏芽が形成されていると思われる部分から根の中心部まで連続しており、根における bud trace であると考えられる。Bud trace では木材内のデンプン貯蔵量が低下している季節においても周辺の柔細胞より多くデンプンを貯蔵していた。

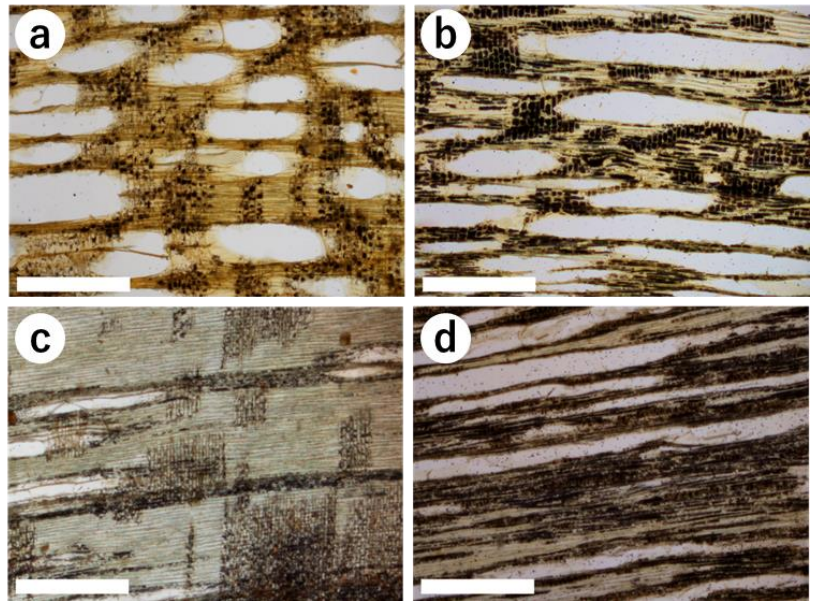


図2 水平根の木部におけるデンプン貯蔵  
 柁目面、ヨウ素ヨウ化カリウム溶液染色

Bars = 500 μm

a:交雑ポプラ(6月) b:交雑ポプラ(12月)

c:イタヤカエデ(6月) b:イタヤカエデ(12月)

#### 2. 萌芽形成部の組織構造観察

##### Bud trace の解剖学的特徴

Bud trace は大きく分けて 2 種類の細胞群から構成されていた。これらの細胞群はこれ以降「中心軸」、「外側の細胞群」と呼称する。以下にそれぞれの特徴について示す。



## 2.1. 中心軸

Bud trace はデンプンを貯蔵していない中心軸をもっていた。中心軸は bud trace の方向に長軸が配向する、紡錘形で薄壁の細胞の束で主に構成されていた。また、中心軸の中には同様の方向に配向する原生木部道管が散在している様子が見られ、一部の原生木部道管は親根の二次木部の道管とつながっているように見えた。

## 2.2. 外側の細胞群

Bud trace では中心軸の外側を筒状に囲むように分布した細胞群にデンプンが貯蔵されており、中心軸の外側のデンプン貯蔵は bud trace から離れた部分と比較すると顕著に多かった。中心軸の外側の細胞は中心軸の細胞と輪郭や大きさは類似していたが、中心軸の細胞と比較して細胞壁の二次壁が肥厚しており、自家蛍光物質の沈着も見られた。この自家蛍光物質はトルイジンブルーやフルオロロイエローの染色性から、リグニンである可能性が高い。さらに、外側の細胞は単壁孔などの特徴から、放射柔細胞と類似していた。この細胞は親根の形成層より外樹皮側では見られなかった。

## 2.3. 当年生萌芽の基部の解剖学的特徴

根の中心部から萌芽までつながる bud trace が見られた(図 3)。Bud trace の構成細胞に明確な変化は見られなかったが、親根の師部の範囲では bud trace の中心軸の外側にあたる部分に萌芽の二次木部が形成されていた。親根の木部の範囲で bud trace を観察すると bud trace の周りには萌芽二次木部の形成は見られなかった。

## 2.4. 萌芽形成部の組織構造

観察結果をまとめると bud trace の構造は図 4 のようであると考えられる。この観察結果の特に新しい点として、デンプンを貯蔵しない中心軸の存在がある。中心軸はデンプンを貯蔵する外側の細胞群のものと比較すると非常に薄壁の細胞で主に構成されていた。また、中心軸には親根の木部につながるように分布する原生木部道管の存在も確認できた。このような道管要素の分布と親根との接続は *Sassafras Albidum* の根萌芽を対象とした先行研究でも見られており、萌芽と親根の通水を萌芽形成以前から可能にしているものと考えられるが、実際の機能を確認するにはさらなる検証が必要である。

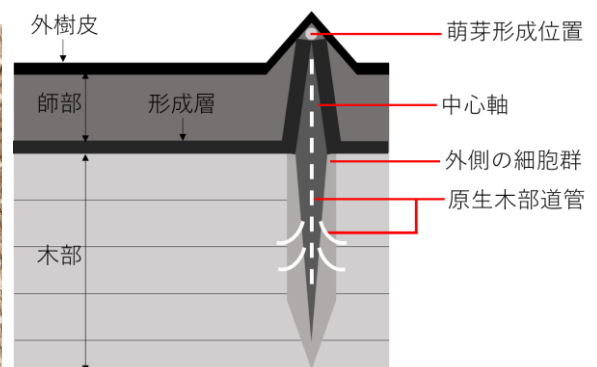
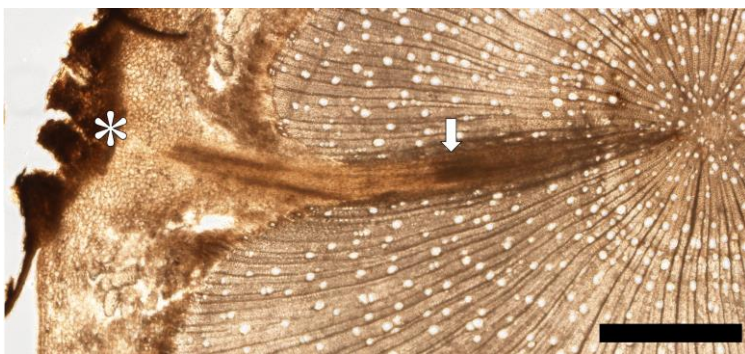


図 3 交雑ポプラ当年生萌芽形成位置の縦断面

Bar = 500  $\mu$ m 矢印: Bud trace

\*: 萌芽形成位置

図 4 Bud trace 模式図

○竹内信吾（北大院農）、中田了五（森林総研林育セ北育）、山岸祐介（北大院農）

### 【緒言】

シナノキ (*Tilia japonica*) は軟質の材で、加工のしやすさから合板や器具材などに利用される<sup>1)</sup>。また、ハチミツの蜜源としての需要もある。

遺伝子型の変化を経ずに、母樹の有用形質を受け継いだクローンを増殖させる方法として、従来から多くの樹種で挿し木が行われてきた。しかし、シナノキは挿し木が困難である<sup>2)</sup>。

また、シナノキは発芽まで2年以上要するほど種子の休眠性が高く<sup>3)</sup>、隔年結実である<sup>4)</sup>など、種子を用いた苗の安定生産にも課題がある。

そこで本研究では、シナノキの効率的な増殖技術の確立を目的とし、母樹のクローン獲得を可能にする茎頂培養と、種子胚の培養における有効な培地条件を検討した。

### 【実験方法】

#### 1. 茎頂培養

森林総合研究所林木育種センター北海道育種場に生育する精英樹つぎ木クローン津別 201 号と津別 203 号を供試木とし、2019/4/17、2019/11/25、2020/1/28 に芽を採取した。流水洗浄後、70%イソプロピルアルコール (IPA) 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。メスとピンセットを用いて、長さ1~2 mm の茎頂を摘出し、培地へ植え付けた。培地には WPM 培地<sup>5)</sup>の無機塩類及びビタミンに、糖としてスクロース 20 g/L、固化剤としてゲランガム 3 g/L を添加したものをを用いた。4月と11月の実験では、植物ホルモンとして、サイトカニンであるベンジルアミノプリン (BAP) とホルクロルフエニユロンを各 1, 3, 10  $\mu\text{M}$  単独で添加した条件と植物ホルモン無添加の計7条件を検討した。1月の実験では、BAP を 1, 3, 10  $\mu\text{M}$  単独添加、およびジベレリン酸 1  $\mu\text{M}$ 、またはナフタレン酢酸 1  $\mu\text{M}$  と組み合わせた計9条件を検討した。いずれも 25°C、16時間日長で培養し、1~2ヶ月ごとに継代を行った。

#### 2. 種子胚培養

(1) 同育種場に生育する精英樹つぎ木クローン津別 201 号と津別 202 号を供試木とし、2019/9/9、2019/10/1 に果実を採取した。種子を果実から取り出し、流水洗浄後、70% IPA で3分間、Tween20 を加えた 3%次亜塩素酸ナトリウム溶液に30分間浸漬することで滅菌を行った。滅菌水による洗浄後、種子から胚を摘出し、培地へ植え付けた (図 A)。茎頂培養と同様の培地を用い、植物ホルモンとして、BAP 1  $\mu\text{M}$  単独添加および植物ホルモン無添加の2条件で検討した。

(2) 胚培養によって得た植物体を節ごとに切り分け、(1) と同条件の培地へ植え付けた。

(3) 胚培養によって得た植物体の茎頂を (1) と同条件の培地へ植え付けた。

(4) 果実の採取後乾燥ののち約1年間室温で保存した種子から胚を摘出し、(1) と同条件の培地へ植え付けた。用いた果実の採取日は、2019/8/15、2019/9/24、2019/10/1 である。

いずれも、25°C、16時間日長で培養し、1~2ヶ月ごとに継代した。

## 【結果および考察】

### 1. 茎頂培養

採取時期や培地条件に関わらず、全ての茎頂でシュート伸長が見られることなく枯死した。基本培地として WPM 培地が適切でなかった可能性や、滅菌時の薬液濃度や浸漬時間が適切でなかった可能性が考えられる。

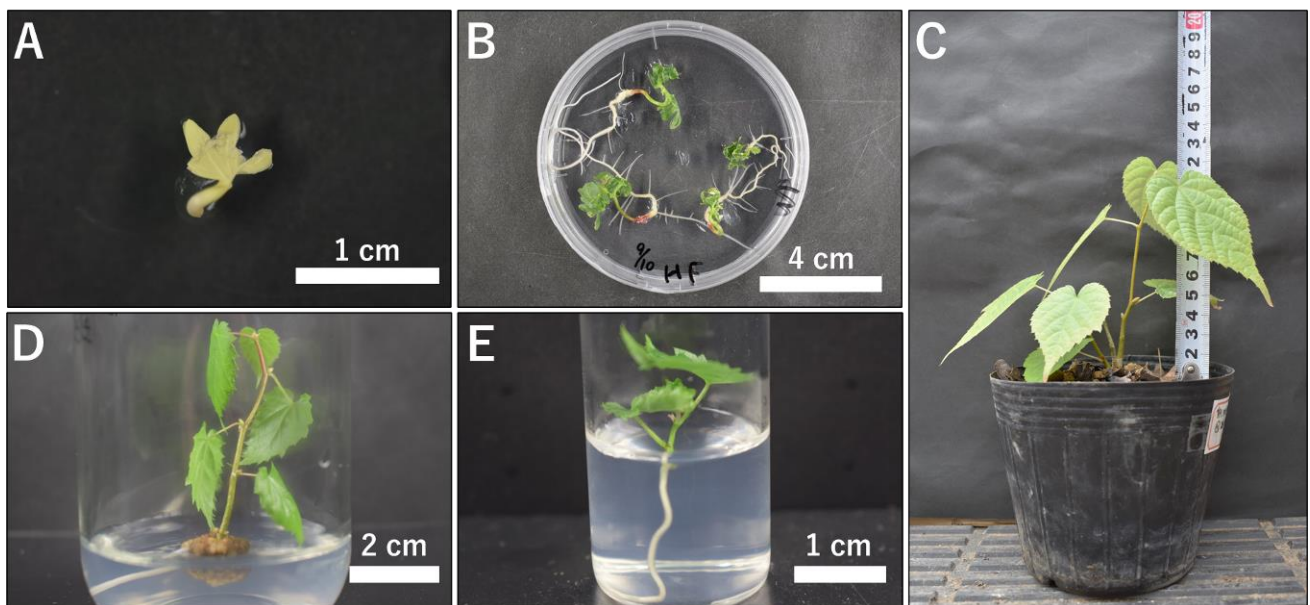
### 2. 種子胚培養

(1) どちらの採取日も、胚は 2 週間ほどで成長した (図 B)。母樹や培地条件に関わらず、成長した胚の割合は 79~100%と高かった。BAP 添加培地で成長した植物体の基部では、カルスが形成された。基部にカルスが形成されると、水や養分の吸収を妨げる可能性もあることから、得られた植物体の生育には植物ホルモン無添加培地が適している。培養して得られた植物体は順化後、温室内でも生育した (図 C)。

(2) 切り分けた節の腋芽からもシュートが伸長した (図 D)。シュート伸長した腋芽の割合は、植物ホルモン無添加培地で 46%、BAP 添加培地で 67%だった。シュート伸長した腋芽のうち、さらに発根したものの割合は、植物ホルモン無添加培地で 45%、BAP 添加培地で 13%となった。

(3) 茎頂からもシュートの伸長が見られた (図 E)。シュート伸長した茎頂の割合は、植物ホルモン無添加培地で 38%、BAP 1  $\mu\text{M}$  添加培地で 40%だった。今回 1. 母樹の茎頂からの培養ではシュート伸長が認められていなかった。この差が生じた理由として、一般に樹木の組織培養では樹齢が高くなるにしたがって増殖が困難になることが多い<sup>9)</sup>とされている点や、(3) の茎頂は IPA や次亜塩素酸ナトリウム溶液による滅菌過程を経ずに培地へ植えているため、滅菌操作が影響した可能性が考えられる。

(4) 9/24、10/1 に採取した果実の胚は (1) と同じく 2 週間ほどで成長し、成長した胚の割合は 70~100%だった。一方、8/15 に採取した果実の胚は成長しなかった。予備実験として、2019/8/26 に採取した直後の果実の胚を植え付けた際には、成長が見られていた。これらのことから、長期保存後の培養の可否に、胚の成熟度合が関係する可能性が考えられる。



(A)2019/9/9 に採取した果実の胚 (植物ホルモン無添加培地へ植え付け後 5 日)

(B)2019/9/9 に採取した果実の胚が成長した様子 (植物ホルモン無添加培地へ植え付け後 17 日)

(C)胚培養で得た植物体を順化後、温室で生育している様子 (果実採取後 372 日)

(D)胚培養で得た植物体の腋芽から得られたシュート (BAP 1  $\mu\text{M}$  添加培地へ植え付け後 57 日)

(E)胚培養で得た植物体由来の茎頂から得られたシュート (植物ホルモン無添加培地へ植え付け後 53 日)

## 【まとめ】

本研究では、休眠性が高いシナノキの種子であっても、種子胚培養によって2週間で成長することが分かった。成長した胚の割合は79~100%だった。植物体を得られるまでの期間の短縮と成長した胚の割合の高さは、苗の大量生産に貢献できる可能性がある。また、2019/9/24、2019/10/1に採取した果実では、約1年間室温で保存した種子の胚からでも70~100%の割合で成長が見られた。採取日から時間が経過しても胚培養が可能となると、隔年結実による大きな影響を受けることなく、苗を安定的に供給できる。

また、胚培養で得られた植物体の腋芽を用いた培養にも成功した。茎頂摘出のような繊細な作業もないため、作業効率も高い。そして、1つの植物体に複数の腋芽が付いていれば、クローン個体を多く作出できる利点もある。

2019/9/9と2019/10/1に採取した果実は、果実そのままあるいは種子としてプランターへの取りまきも行った。これらの一部は2020年春から夏にかけて発芽し、発芽率はそれぞれ40%と13%であった。また、2019年秋の様々な時期に採取し、低温または室温に保存した果実と種子を2020年春にまきつけたものは、2020年秋現在全く発芽していない。これらのことから、採取時期または採取後の保存条件でシナノキ種子は深い休眠に入り、これまで指摘されている通り発芽には長期間を要すると考えられる。一方、本研究で示した通り、種子胚培養によりシナノキ種子の深い休眠を打破することができると考えられる。

これらの結果より、胚培養で植物体を得た後に節培養を組み合わせることで、シナノキの増殖効率の更なる向上が期待できる。

## 【謝辞】

本研究は、林野庁補助金「エリートツリー等の原種増産技術の開発事業」によるものです。厚く御礼申し上げます。

## 【引用文献】

- 1)安部久(2011)「シナノキ」伊藤隆夫、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 126-127
- 2)小松誠(1993)「オオバボダイジュおよびシナノキの実生および挿し木による養苗」山形県林業試験場研究報告 22: 39-43
- 3)久保田泰則(1979)「広葉樹のたねと発芽」北海道の林木育種 23: 22-27
- 4)佐々木忠兵衛(1985)「道央自生広葉樹の着果の周期性」日本林学会北海道支部論文集 34: 130-133
- 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: 421-427
- 6)井出雄二(1989)「組織培養によるクローン増殖上の問題点と留意点」最新バイオテクノロジー全書編集委員会(編)「木本植物の増殖と育種」初版第1刷 農業図書: p 43

○米岡宏喜（北大院農）、花岡創（森林総研林育セ北育）、  
遠藤圭太（森林総研林育セ）、荒川圭太（北大院農）

### 【緒言】

植物の種子は含水率によって保存性が大きく異なることが知られている。例えば、リカルシトラント種子は乾燥耐性が低く、30%程度の含水率でも生存できなくなる。一方、オーソドックス種子は乾燥耐性が高く、5%近くまで含水率が低下しても生存可能なものがある。ブナ (*Fagus crenata*) の種子は従来ではリカルシトラント種子に分類され、長期保存に不向きとされていたが、人為的に乾燥処理することによってさらに保存性が高まり、発芽能力が数年保たれることが報告されている(Endoh et al., 2017)。また、近縁種のヨーロッパブナ(*F. sylvatica*)の研究事例においても乾燥処理することによって冷蔵・冷凍保存した場合に発芽能力が数年間保持された事例が報告されている(Gosling, 1991)。さらに、ヨーロッパブナ種子の登熟過程におけるLEA タンパク質(Late Embryogenesis Abundant proteins)の蓄積が乾燥耐性上昇の一要因だと示唆されている。一方、ブナ種子では、LEA タンパク質と乾燥耐性との関連性についての検証は十分に行われていないようである。

LEA タンパク質は、元来、ワタ種子の胚形成後期に蓄積する種子タンパク質として同定され、乾燥耐性に関与する因子と考えられていたが(Close, 1997)、その後、栄養組織でも乾燥・塩・脱水や低温、凍結、アブシジン酸処理に応答して発現し、植物の乾燥耐性や凍結耐性の向上に関与することが明らかになった(Kleinwächter et al., 2014)。例えば、ヨーロッパブナ種子では、LEA タンパク質のひとつであるデハイドリンが子葉や胚軸に蓄積し、種子の乾燥耐性の上昇に関与していると考えられている(Kalemba et al., 2009)。

そこで本研究では、ブナ種子の乾燥耐性の仕組みを明らかにする一環として、種子タンパク質、なかでもLEA タンパク質のような高親水性タンパク質の組成や生理活性について調べることにした。

### 【実験方法】

#### 1. 実験材料

材料として、国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター北海道育種場（北海道江別市）に保存されているブナ成木1個体から成熟種子を2018年10月に採取し、実験に供試した。

#### 2. タンパク質試料の調製

成熟種子から種皮を除去して胚軸と子葉に分離した後、子葉と胚軸をそれぞれ生重量の5倍容の抽出緩衝液中で磨砕および抽出した。得られた抽出液を10,000xgで10分間の遠心分離を行った後、さらに上清を15,000xgで10分間の遠心分離を行って上清を回収した。この上清を便宜的に可溶性画分とした。次に、可溶性画分を少量分取して、100°Cの沸騰水中で20分間の加熱処理を行った後、急冷した。これを10,000xgで10分間の遠心分離にかけて、熱変性して不溶化したタンパク質を除いて得られた上清を熱可溶性画分とした。

#### 3. 電気泳動によるタンパク質組成の解析

Laemmli (1970) に準じて SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) を行い、ブナ種



子タンパク質組成の解析を行った。SDS-PAGE 後の分離ゲルを CBB 染色液に浸漬し、1 時間振とうした。染色したゲルは脱色液に浸し、振とうしながら脱色し、タンパク質バンドを検出した。

また、SDS-PAGE によって分離したタンパク質からデハイドリン様タンパク質を検出するため、カラマツデハイドリンの K セグメントに対する特異抗体を一次抗体に用いて、イムノブロッキングをおこなった (Harlow and Lane, 1988)。

#### 4. 凍害保護活性の測定

凍結感受性の高いリンゴ酸脱水素酵素 (MDH) をモデルタンパク質として用いて、凍結融解による MDH の失活を種子タンパク質の添加でどの程度まで防ぐことができるかを調べることにした。まず、終濃度 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の MDH (Sigma-Aldrich) に対して、終濃度がそれぞれ 0, 10, 40, 70, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  となるよう種子タンパク質溶液を添加した。この混合溶液を 20  $\mu\text{L}$  分取し、これを 1 mL の反応基質溶液 [100 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 7.5), 0.25 mM オキサロ酢酸, 0.13 mM NADH] と石英キュベット内で混合し、直ちに分光光度計にセットして 340 nm の波長における吸光度を測定し、凍結融解前の MDH 活性を求めた。次に、この混合溶液をマイクロチューブに分取し、 $-20^\circ\text{C}$  のフリーザーに入れて 24 時間凍結させた後、室温で 1 時間おいて試料を融解させた。この混合溶液を用いて凍結融解後の MDH 活性を測定した。そして、凍結融解前後での MDH 活性を比較し、添加した種子タンパク質による凍害保護活性を算出した。なお、保護活性に劣るネガティブコントロールとして、種子タンパク質の代わりにリゾチーム (Wako) を用いて凍害保護活性を求めた。

### 【結果および考察】

#### 1. LEA タンパク質の検出

SDS-PAGE に供してブナ種子のタンパク質組成を比較したところ、子葉と胚軸の可溶性画分では主要なタンパク質バンドパターンは類似していたが、子葉では 50kDa や 14kDa のようなタンパク質バンドがより多く検出された。

ブナ種子の乾燥耐性への関与が考えられる LEA タンパク質は高親水性熱可溶性画分を調製したところ、子葉では可溶性画分の 40%、胚軸では可溶性画分の 50% 程度のタンパク質が回収できた。次に、これらのタンパク質組成を SDS-PAGE で分析したところ、子葉と胚軸の熱可溶性画分ではタンパク質組成が類似しており、32.5、29、27、23 kDa などの主要タンパク質が検出された。これを可溶性画分のタンパク質組成と比較すると、子葉では熱処理によって 50、14kDa などの主要なタンパク質バンドが消失したものの胚軸ではこれらは消失しなかったため、50kDa や 14kDa のタンパク質は子葉と胚軸では異なるタンパク質であると考えられた。

ヨーロッパブナ種子の乾燥耐性の主要な要因のひとつとしてデハイドリンの蓄積が挙げられているので、ブナ種子でもデハイドリンの検出を試みるため、カラマツ木部のデハイドリンの K セグメントに対する特異抗体を用いてイムノブロッキングを行った。その結果、胚軸では 44、23、16 kDa 付近の、また子葉では 44 kDa 付近のタンパク質バンドが検出されたため、これらがデハイドリン候補 (デハイドリン様タンパク質) として考えられた。しかし、イムノブロッキングで検出されたバンドパターンと CBB 染色したものとを比較すると、デハイドリン様タンパク質は必ずしも熱可溶性画分における主要なタンパク質ではないことが予想された。

#### 2. 凍害保護活性の検出

さらに、LEA タンパク質の典型的な機能として知られている凍結感受性タンパク質に対する保護効果、すなわち凍害保護活性、の有無について検証するため、可溶性画分ならびに熱可溶性画分の双方を凍害保護実験に供試した。凍害保護活性を示さない一般的なタンパク質としてリゾチームを用いて活性を比較すると、子葉と胚軸において、可溶性画分および熱可溶性画分

の双方とも高い凍害保護活性を示すことが明らかになった。

### 3. まとめ

本研究を通じて、ブナ種子でも LEA タンパク質に代表される高親水性タンパク質が比較的豊富に蓄積していることが明らかになった。また、LEA タンパク質の特徴のひとつである凍害保護活性も検出された。これらのことから、成熟種子に LEA タンパク質が蓄積している可能性が強く示唆された。しかし、イムノブロットィングの結果から、ブナ種子では、ヨーロッパブナで報告されてきたデハイドリンとは別の LEA タンパク質が多く蓄積していることが予想され、ヨーロッパブナとは異なる耐乾燥性機構を示すことが考えられた。

### 【文献】

- Close TJ: Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiol. Plant.*, 100: 291-296 (1997)
- Endoh K, Matsushita M, Kimura M, Hanaoka S, Kurita Y, Hanawa E, Kinoshita S, Abe N, Yamada H, Ubukata M: Cryopreservation of *Fagus crenata* seeds: estimation of optimum moisture content for maintenance of seed viability by Bayesian modeling. *Can. J. For. Res.*, 48: 192-196 (2017)
- Gosling PG: Beechnut storage: A review and practical interpretation of the scientific literature. *Forestry (Lond)*, 64: 51-59 (1991)
- Harlow E, Lane D: *Antibodies, A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory (USA), (1988)
- Kalemba EM, Janowiak F, Pukacka S: Desiccation tolerance acquisition in developing beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds: the contribution of dehydrin-like protein. *Trees (Berl. West)*, 23: 305-315 (2009)
- Kleinwächter M, Radwan A, Hara M, Selmar D: Dehydrin expression in seeds: an issue of maturation drying. *Front. Plant Sci.*, 5: 402 (2014)
- Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685 (1970)

○上田麟太郎, 澤田圭, 佐々木貴信, 佐々木義久 (北大院農)

## 【緒言】

近年、SDGs や循環型社会の形成の達成目標の一つとして、木質構造物の長寿命化が以前以上に注目を受けている。その達成には長期的な構造安全性の担保が必要であるが、木質構造物は使用期間中、木材腐朽害などの生物劣化が構造部材に発生して部材性能や接合部性能が損なわれ、大きな耐力低下を生じる場合がある。

木材腐朽菌は木材の繊維に沿って進展するため、腐朽部は部材の繊維方向にわたり分布しやすい。したがって部材に腐朽が生じた接合部では繊維直交方向に荷重を受けた場合、部材が割裂する脆性破壊の発生が促進され、繊維方向に比べ大規模に破壊し大幅な強度低下が生じる恐れがある。いっぽう腐朽の生じた木質構造接合部のせん断性能変化に関する既往研究はいずれも部材の繊維方向を加力方向として検討を行っており、繊維直交方向加力に関する検討例は不足している。繊維直交方向加力については健全材に対しても検討例は僅か<sup>たとえぱ</sup>であり、データの蓄積が急務である。

そこで本研究では、合板張り耐力壁にみられるような合板と軸材の釘接合部について、軸材の繊維直交方向に荷重を受ける場合に軸材の腐朽劣化が破壊性状や強度性能へ及ぼす影響の評価を目的とし、強制腐朽処理を施した主材に合板を釘接合した接合部に対し繊維直交方向および繊維方向についてせん断加力試験を実施した。

## 【実験方法】

## (1) 試験体の調製

試験体にはトドマツ(*Abies sachalinensis*)およびホワイトウッド(オウシュウトウヒ, *Picea abies*)製材を用い、寸法は断面 105×105 mm、長さ 180~200 mm とした。試験体数はトドマツ、ホワイトウッドとも腐朽試験体 12 体、コントロール 6 体である。腐朽試験体には JIS2101:2009<sup>2)</sup>において共試菌と定められた褐色腐朽菌のオオウズラタケ(*Fomitopsis palustris*)を用いた強制腐朽処理を行った。腐朽処理方法には腐朽源ユニット法<sup>3)</sup>を用いた。ポテトデキストロース寒天培地を充填したポリプロピレン容器上にオオウズラタケを培養した腐朽源ユニットを作成し、菌糸が試験体表面に接するよう取り付け、梱包用ラップで固定し、PP テープで密封した。腐朽処理期間は 20 週間以上とし、その間、試験体を温度 28 度、相対湿度 75% 環境下に静置した。腐朽処理期間が終了後、試験体から腐朽源ユニットを取り外して温湿度無調整の室温環境下で 2 週間以上静置し、気乾した。

## (2) 釘接合部のせん断試験

釘接合部のせん断試験(図 1)は接合具を CN50 釘(釘径 2.87 mm、首下長さ 50 mm)、側材を 7 プライ 12 mm 厚のカラマツ合板(寸法 70×200 mm、平均密度 707 kg/m<sup>3</sup>)として実施した。なお釘表面の塗膜による引き抜き耐力への影響を考慮し、共試した CN50 釘はすべて予め、アセトンで塗膜を除去した。まず繊維直交方向加力せん断試験を行うため、各試験体に先穴を設けず、せん断試験の直前に側材を CN50 釘で留め付けた。主材、側材の端距離は主材厚さ(105 mm)の約 1/4 である 26.0 mm とした(図 2)。なお『木質構造設計規準』<sup>4)</sup>は釘接合部について、繊維直交方向に荷重を受ける場合は端距離を釘径の 8 倍以上とするよう定めているが、26.0 mm という端距離は釘径 2.87 mm の 9.1 倍であり、規準を満たしている。一面せん断試験は一方向繰り返し加力方式とし、繰り返し設定変位を 0.5, 1.2, 4.6 mm とした一方向繰り返し加力を行った後、荷重が最大荷重の 50% まで低下するか、変位が 30 mm に達するまで単調加力を行った。繰り返し設定変位はトドマツ、ホワイトウッドの健全材に対して行った予備試験(単調引張加力)の結果から最大荷重の 10, 40, 90% 点を用いた完全弾塑性モデル化による評価方法により求めた降伏変位の値(1.0 mm)

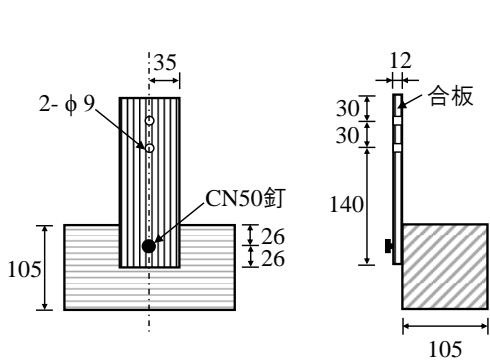


図 1. 繊維直交方向加力試験



の0.5,1,2,4,6倍から決定した。繊維直交方向加力試験の後、繊維方向加力せん断試験のため、各試験体に繊維直交方向加力試験時と同様に側材をCN50釘で留め付けた。釘の留め付け位置と変形予定域は繊維直交方向加力試験により変形の生じた範囲から離し、先の試験による結果への影響を排除した。なお主材の端距離は80mm、側材の端距離は先の試験と同じく26mmとした。

【繊維直交方向加力試験】



【繊維方向加力試験】

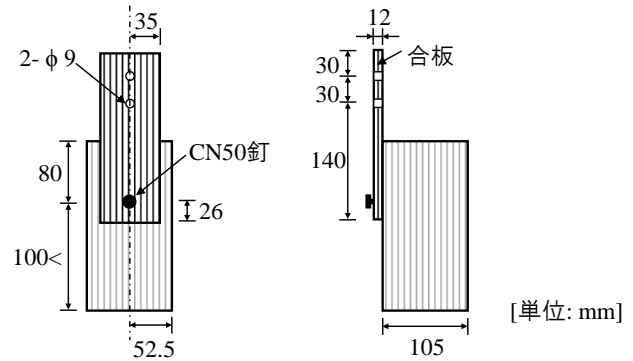


図2. 試験体の寸法

【結果と考察】

(1)接合部の破壊形態

(a)繊維直交方向加力

破壊形態は、コントロールではトドマツ,ホワイトウッドとも全て釘の引き抜けであった。腐朽試験体ではトドマツ12体中5体とホワイトウッド全12体が釘の引き抜けであったが、残るトドマツ7体では釘の打ち込み位置を起点として、主材に繊維方向に割裂を生じた(図3)。主材の割裂はコントロールでは確認されなかったことから、腐朽による主材の強度低下が脆性破壊(割裂破壊)を促進したと考えられた。釘の引き抜けに伴う主材の変形は、コントロールではいずれも釘の打ち込み位置から大きく拡大しなかったが、腐朽試験体では釘の打ち込み位置から扇状に変形が拡大し、端部での割れに繋がる場合が多く見られた(図4)。釘の降伏モードは釘に生じた塑性ヒンジの数からEYTに基づきモードIII(1つ)とモードIV(2つ)の2つの降伏モードに分けられた。コントロールではトドマツ,ホワイトウッドとも全てがモードIVであり、腐朽試験体でもモードIVが優勢で、トドマツ,ホワイトウッド各2体ずつのみモードIIIであった。



図3. トドマツ腐朽試験体の主材割裂



図4. ホワイトウッド腐朽試験体の変形性状

(b)繊維方向加力

破壊形態は、コントロールではトドマツ,ホワイトウッドとも全て釘の引き抜けであった。腐朽試験体ではホワイトウッド1体が主材の割裂を伴ったほかは全て釘の引き抜けであった。主材の変形性状にはコントロール,腐朽試験体の間で明らかな違いは観察されなかった(図5)。釘の降伏モードはコントロールではトドマツ,ホワイトウッドとも全てモードIV、腐朽試験体ではトドマツ12体中6体のみがモードIIIであり、他は全てモードIVであった。



図 5. トドマツ試験体の変形性状

(2)接合部性能の評価

接合部性能の評価には最大荷重  $P_{max}$  の 10,40,90%点を用いた完全弾塑性モデル化による評価方法<sup>6)</sup>を用い、降伏点を決定して初期剛性  $K_s$ 、降伏荷重  $P_y$ 、終局荷重  $P_u$ を求めた。

(a)繊維直交方向加力

荷重変位曲線より求めた  $P_{max}, K_s, P_y, P_u$ を図6に示す。なお、ホワイトウツドのコントロール1体は急激な荷重の立ち上がりにより  $K_s, P_y, P_u$ を算出できなかったため、 $P_{max}$ のみ評価した。トドマツ, ホワイトウツドとも、 $P_{max}, K_s, P_y, P_u$ の全てについてコントロールと腐朽試験体の間に有意水準5%において有意差が認められ、腐朽によりせん断性能全般に有意な低下が生じたと結論付けられた。トドマツでは釘の打ち込み位置からの割裂破壊の発生が大きな強度低下につながったと考えられるが、ホワイトウツドでは主材の割裂には至らずに有意な強度低下を生じた。このことから繊維直交方向加力の場合、腐朽によるせん断性能への影響は大きく、主材の割裂を伴わずとも明らかな強度低下が生じると考えられた。

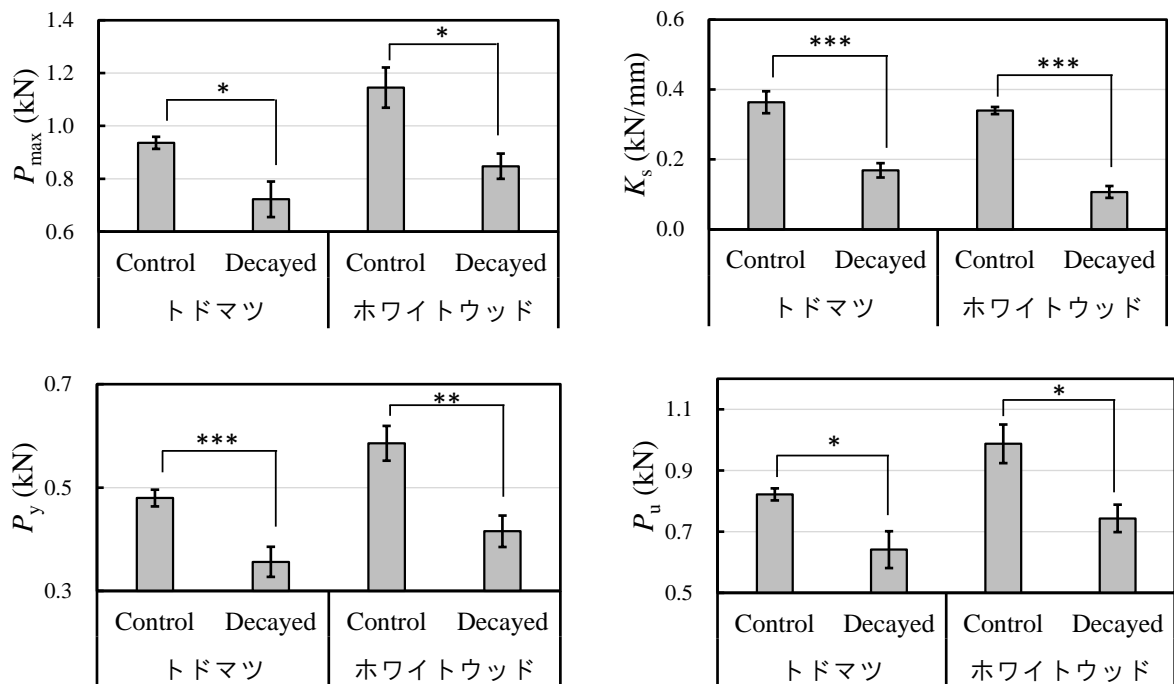


図 6. 繊維直交方向加力における  $P_{max}, K_s, P_y, P_u$ (\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.005$ )

(b)繊維方向加力

荷重変位曲線より求めた  $P_{max}, K_s, P_y, P_u$ を図に示す。トドマツでは  $K_s$ と  $P_y$ 、ホワイトウツドでは  $P_y$ のみについてコントロールと腐朽試験体の間に有意水準5%において有意差が認められた。トドマツ材で腐朽により釘接合部の  $K_s$ が有意に低下したという本研究の結果は、腐朽が生じた釘およびビス接合部に対し繊維方向加力を行った研究について、初期剛性に低下が認められなかったとする Kent et al.の報告例<sup>7)</sup>と一致しない。Kent et al.は径 2.87 mm、長さ 60.3 mm の釘を共試しており、本研究で使用する CN50

釘 (径 2.87 mm、長さ 50 mm)より接合具の有効長さが長い。このことから、接合具の有効長さが短い場合、繊維方向加力でも腐朽により初期剛性が低下する可能性があると考えられる。

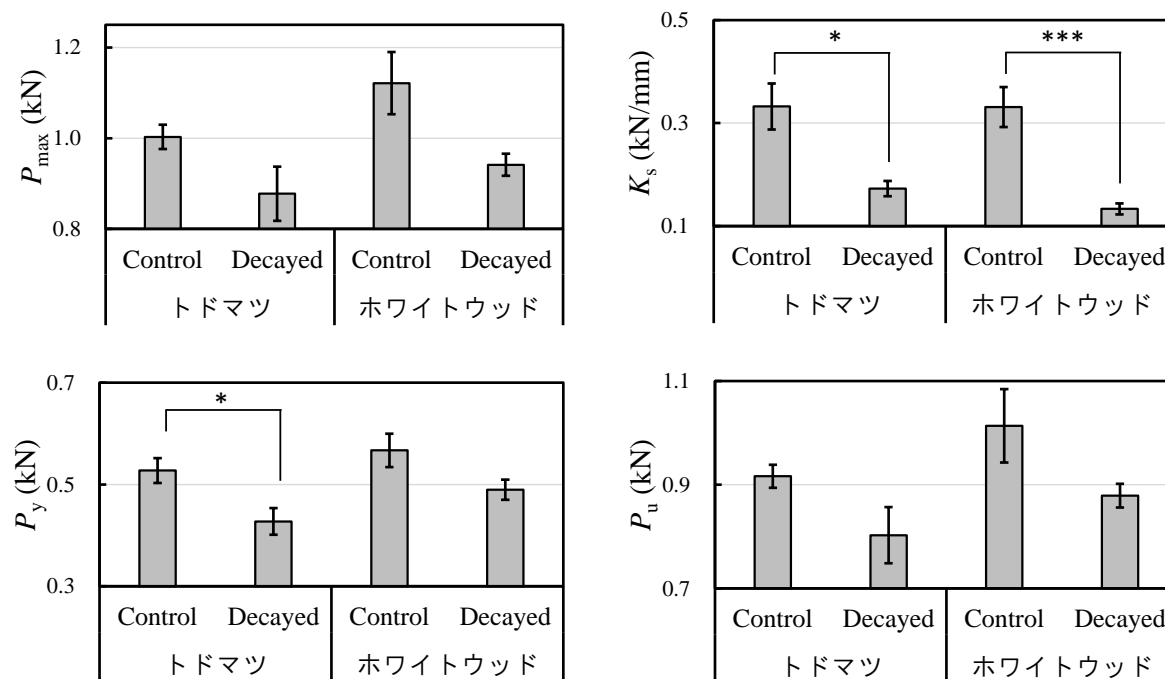


図7. 繊維直交方向加力における  $P_{max}, K_s, P_y, P_u$  (\* :  $p < 0.05$ , \*\*\* :  $p < 0.005$ )

#### 【まとめ】

釘接合部のせん断性能を比較すると繊維直交方向加力ではトドマツ、ホワイトウッドとも  $P_{max}, K_s, P_y, P_u$  のすべてに有意な低下がみられたが、繊維方向加力ではトドマツの  $K_s$  と  $P_y$ 、ホワイトウッドの  $P_y$  のみに有意な低下がみられた。このことから、腐朽による釘接合部のせん断性能の低下は繊維方向に比べ繊維直交方向で大きくなると考えられた。変形性状を比較すると、繊維方向加力では腐朽の有無により主材の変形性状に明らかな違いがみられない一方、繊維直交方向加力では腐朽試験体において特徴的に繊維方向にわたる割裂や、端部での割れにつながる扇状の変形拡大など変形性状の変化がみられ、脆性破壊の促進も生じていたと考えられた。腐朽による変形性状の変化は繊維方向より繊維直交方向で大きく生じやすく、そのため繊維直交方向では繊維方向に比べ釘接合部のせん断性能低下が明らかであったと考えられる。

#### 【参考文献】

- 1) Sawata K., Shigemoto Y., Hirai T., Koizumi A., Sasaki Y. : Shear resistance and failure modes of nailed joints loaded perpendicular to the grain. J. Wood Sci. **59**, pp.255-261 (2013).
- 2) JIS Z 2101,木材の試験方法26 耐朽性試験 (2009).
- 3) 野田康信, 森満範, 戸田正彦, 森拓郎 : 強制腐朽処理による柱脚接合部の評価. 日本建築学会学術講演梗概集 C-1 構造 III, pp.277-278 (2011).
- 4) 木質構造設計規準・同解説—許容応力度・許容耐力設計法—, 日本建築学会, pp.266-271 (2006).
- 5) 木質構造設計規準・同解説—許容応力度・許容耐力設計法—, 日本建築学会, pp.26-71 (2006).
- 6) 木造軸組工法住宅の許容応力度設計(2017年版), (公財)日本住宅・木造技術センター, pp.300-301 (2017).
- 7) Kent, S., Leichti, J., Rosowsky, D., Morrell, J. : Effect of decay on the cyclic properties of nailed connections. J. Mater. Civil Eng. **17**(5), pp.579-585 (2005).

○酒井明香（道総研林産試）, 石川佳生（同）, 古俣寛隆（同）, 前川洋平（同）

### 【緒言】

“中間土場”は森林・林業再生プラン(2009-)の具体化に向けた検討の過程で施策のキーワードとして登場した「山から原木市場・工場の中間地点に作られた土場」のことである。施策上は原木市場を通らない“市場外流通”の拠点とされ、流通コスト削減効果が期待された。2000年以降に実在の中間土場を扱った学術論文は全国で20本ほど存在するが、北海道をフィールドとした知見は極めて乏しい<sup>1)</sup>。もともと直送方式での原木取引が主流の北海道においては、中間土場の必要性は薄いとされてきた。一方で5,000kW～50,000kW級の木質バイオマス発電所（以下「発電所」と略す）の稼働や東北地方の合板・LVL工場向け原木の需要増などの需給構造の大きな変化が、道内の従来の原木流通に変化をもたらしている可能性は大きい。

そこで本稿では、北海道における中間土場の実態把握を目的に、全道で稼働中の中間土場の成立時期と管理主体を調査し、分布や立地をふまえて出荷形態による機能分類(2020年3月末現在)を行った。その上で遠藤らの報告<sup>2)</sup>など道外の先行研究との比較を行った。

### 【調査方法】

①2019年7月に北海道水産林務部を通じ全道14振興局から提供された貯木場の情報（約150箇所）をGoogle Earth<sup>®</sup>で確認し、森林内に一時的に設けられた集中土場および工場や発電所等の最終加工場に隣接するものを除く、“針葉樹の伐採地から最終消費地の中間地点に作られた恒久的な土場（本稿の定義における中間土場）”（図1）と思われる85か所を抽出した。

②85か所のうち管理者・土地所有者・利用者のいずれかに確認が取れ、調査に同意が得られた77か所について2019年8月～2020年3月に面接や電話による調査を行った。

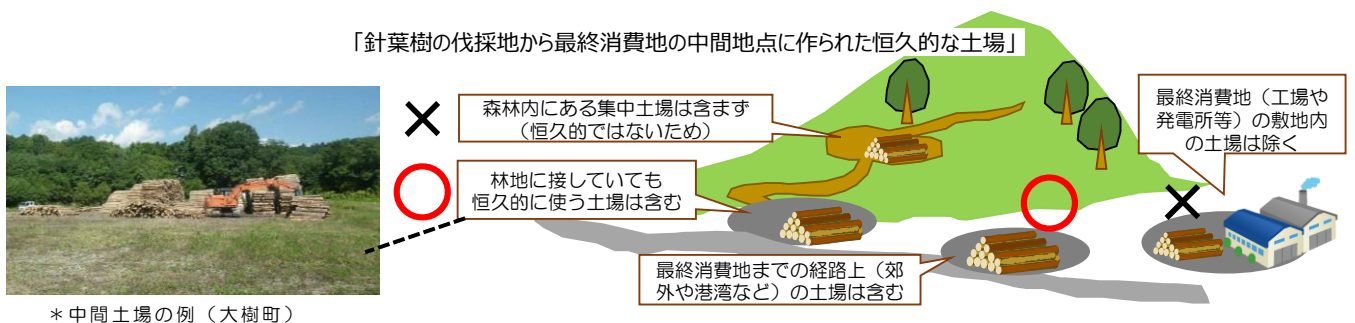


図1 本稿の定義における中間土場

### 【結果】

#### (1) 中間土場の成立時期と管理主体

道内における中間土場の成立時期を図2に示す。今回確認された中で最も古いものは1990年代から稼働していたが、全体の傾向としては2012年以降に増加し、特に発電所の稼働が相次いだ2016年以降に顕著な増加となっていた。また管理主体は市町村や北海道森林管理局などの官公庁の管理によるものが31%、残り69%は民間の事業者によるもので、後者の割合が高かった（図3）。民間事業者の内訳としては素材生産者の管理によるものが27%、発電所の管理によるものが25%、工場の管理によるものが13%であった。

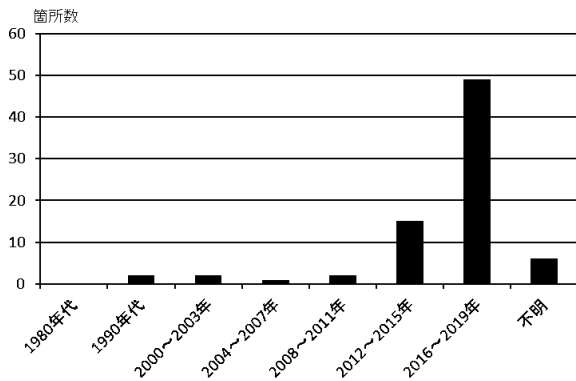


図2 北海道における中間土場の成立時期 (n=77)

図3 管理主体による分類 (n=77)

## (2)民間事業者が管理する中間土場の分布と立地

民間事業者による中間土場 (n=53) は、ほぼ全道に存在しており、稼働が確認されたのは 47 市町村となった (図4)。また、53 か所の中間土場のうち工場や発電所などの最終加工地 (消費地) が明らかでない 34 か所について寒地土木研究所(2015)の距離検索システムを用いて、消費地の市町村までの最短経路から片道運送距離を推計した (図5)。平均距離は約 158km (中央値 170km) となった。なお工場向けの中間土場と発電所向けの中間土場の片道運送距離の平均はそれぞれ 152km, 160km で統計的に有意な差は確認されなかった。

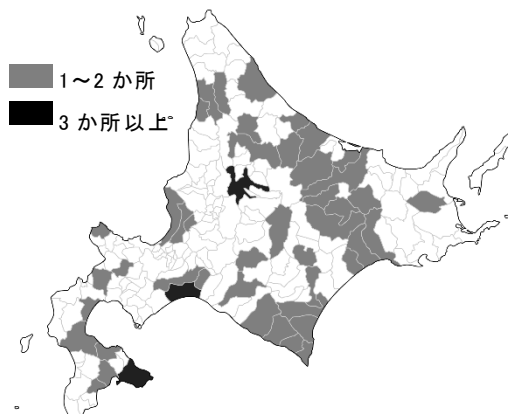


図4 民間事業者の管理する中間土場のある市町村 (2020年3月現在)

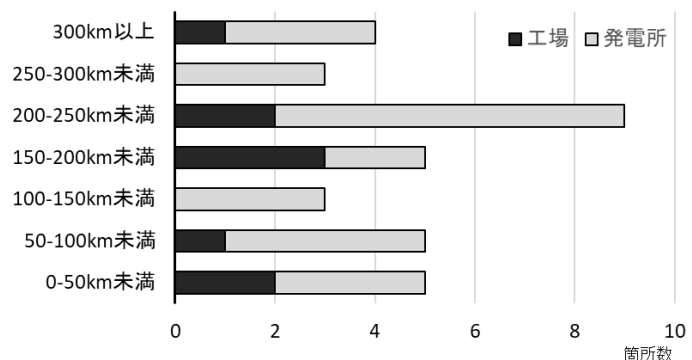


図5 中間土場から最終加工地までの片道運送距離 (n=34)

## (3)出荷形態と機能分類

中間土場の利用状況について、「誰にどのような目的で使用されているか」「使用者は単独か複数か」「出荷先はどこか」という視点から、民間事業者による中間土場を分類した (図6)。

その結果、単独の生産者が発電所へ、次いで複数の生産者が発電所へ燃料材を出荷する目的の中間土場の割合が大きく、それぞれ 34% と 17%、合計で 51% となった。これに単独の工場が自家消費の原木を集荷・一時保管する目的の中間土場 13% を加えた 64% は、出荷先がほぼ一社に固定されているのが特徴で、原木や燃料材の集荷・ストック機能が重視されている中間土場であることが示唆された。

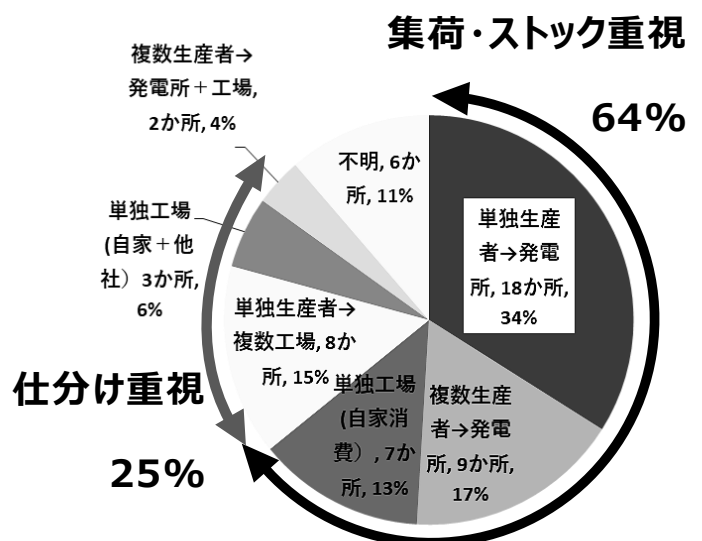


図6 民間事業者の管理する中間土場の出荷形態と機能 (n=53)



一方で、単独の生産者が複数の工場向け原木を仕分ける、単独工場が原木を仕分ける、複数の生産者が共同で選木し、工場や発電所へ出荷するなど「選木」が重視される中間土場は  $15\% + 6\% + 4\% = 25\%$  となった。これらは出荷先が固定されていない、あるいは複数社であることが特徴で、原木の仕分け機能が重視されている中間土場であることが示唆された。

### 【考察】

以上の結果から、北海道においては 2016 年以降に発電所の増加とともに常設の中間土場が全道に設置され、確認された 77 か所のうちの約半数が発電所向けの燃料材（林地未利用材を含む）の一時保管・乾燥・加工に活用されていることが明らかになった。

従来は北海道の直送方式には馴染まないと言われていた中間土場が、発電所向け燃料材の需要拡大を背景の一つとして拡大したことが示唆された。中間土場で所有権の移転が行われる「中間土場渡し」の流通形態も 7 か所で確認された。中間土場は、一般の製材向け原木に比べて低価格で「運賃負け」（＝原木価格よりも運材費が高くなるような遠方取引）の起きやすい燃料材の新たな集荷拠点であり、発電所側から見ると乾燥化を進めチップ加工し容積密度を減らす機能、山側から見ると運材距離が短くなることで、費用負担が低減し出荷インセンティブが増加するような機能を果たしていると考えられる。

一方で製材工場や合板工場は、拠点の近隣に原木のストックヤードを設置し冬山造材時など原木在庫量が大きい時期の保管等に利用してきた。今回の調査では、それとは異なる目的で、工場から 100km 以上離れた場所に中間土場を設置し、原木の広域集荷の拠点として活用されるケースが確認できた。ただし整地されたヤードや選木機を有する事例は稀であり、2016 年以降の急激な需要構造の変化に対する応急処置的な対応として中間土場が活用されていると考えられる。

遠藤ら<sup>2)</sup>および井戸ら<sup>3)</sup>の先行研究では、中間土場の主な機能として「造材」「仕分け」「配給」「ストック」「価格交渉」「与信」「情報共有」「在庫調整」「リードタイム短縮」の 9 つを挙げているが、このうち北海道で確認されたのは「仕分け」「配給」「ストック」「在庫調整」の 4 つ、加えて燃料材の乾燥・加工であった。発電所の稼働を契機に増加した道内の中間土場は、大型工場の稼働とともに増加した道外の中間土場と機能（設置目的）が異なっていることが考えられた。

なお北海道では仕分け目的の中間土場は 25% と今のところ少ない。道内の製材・合板工場等既存需要と、道外工場移向きの需要、発電所向けの需要が並存している中で、仕分けを徹底する中間土場が今後増加すれば“適木”が需要者に渡りやすくなり、原木の競合状態をある程度緩和させる機能（従来の原木市場の機能の一端）を果たすと考えられる。

今後は実在の中間土場での実証試験を通して、中間土場を経由した場合と直送の場合の運材費の比較、中間土場の運営費などを試算し、中間土場を設置することによる総合的なメリットやデメリットを検証していく予定である。

### 【引用文献】

- 1) 酒井明香・石川佳生・古俣寛隆・渡辺誠二・津田高明・小山内裕司(2019) 原木流通における中間土場の稼働状況：府県と北海道の比較（第一報）. 第 68 回北方森林学会発表要旨.
- 2) 遠藤日雄・酒井秀夫・長谷川尚史・速水亨・田中忠・小林耕二郎・岐阜県森連(2015) 中間土場の役割と機能, 林業改良普及双書 No.180, pp22-35
- 3) 井戸結貴・浅野良春・高村秀紀・早川慶朗(2014) 日本中部山岳域における岐阜県産材と長野県産材の比較: 地場産材を使用した住宅における木材のライフサイクルアセスメントに関する基礎調査その 3, 日本建築学会環境系論文集第 79 巻, 第 698 号, pp357-364

○富高亮介，今井良，平間昭光，大橋義徳（道総研林産試），森太郎（北大院工）

### 【緒言】

北海道立総合研究機構林産試験場（以下、林産試験場）は、2014年から北海道産木材を用いた CLT の様々な研究開発に取り組んでおり、2017年には国土交通省サステナブル建築物等先導事業（木造先導型）により CLT モデル実験棟「Hokkaido CLT Pavilion」（以下、CLT 実験棟）を林産試験場敷地内に建設した（写真 1）。多雪寒冷地における CLT 建築物の構造性能や居住性能の実証を目的とした実験を通年で実施しており、本報では実験棟の気密性能を検証することを目的とした気密測定の結果を報告する。



写真 1 CLT 実験棟外観

### 【測定概要】

測定対象は、旭川市に立地する 2019 年 7 月に竣工した CLT 実験棟とした。建物概要を表 1 に示す。

気密施工の仕様として、壁パネルと屋根パネルの取り合いは気密パッキンにより気密化が図られている（写真 2）。また、壁パネルと床パネルの取り合いは外壁外周部の床テラスに敷設された防水シートを壁パネル下部に立ち上げることで気密施工されている（写真 3）。また、壁パネル間は、断熱材（グラスウール）を充填した枠材および気密シートが設置されている（写真 4）。開口部は、躯体 CLT の切り欠きにペアガラスが直接はめ込まれ、コーキングによりシールされている（写真 5）。

気密測定は、JIS A2201「送風機による住宅等の気密性能試験方法」に準じ、出入口に設置した送風機から室内空気を排出することで室内を減圧し、建物外皮（床、壁、屋根、開口部）の隙間の通気量と室内外の圧力差の関係から、建物全体の隙間に相当する開口面積である総相当隙間面積（ $\alpha A$ ）を推定した。送風機の設置位置等を示した平面概要図を図 1 に示す。

表 1 建物概要

竣工	2019年7月	最高軒高	3.650m
建築面積	115.36m <sup>2</sup>	最高高さ	4.802m
延べ床面積	83.44m <sup>2</sup>	設計ルート	CLT構造ルート1
階数	地上1階	CLT利用部分	壁、床、屋根



写真 2 壁-屋根取り合い



写真 3 床-壁取り合い（外周）



写真 4 壁パネル間



写真 5 開口部-床取り合い  
（フローリング施工前）

<sup>1</sup> 本研究は第 70 回日本木材学会大会（2020 年 3 月，鳥取）において発表した。

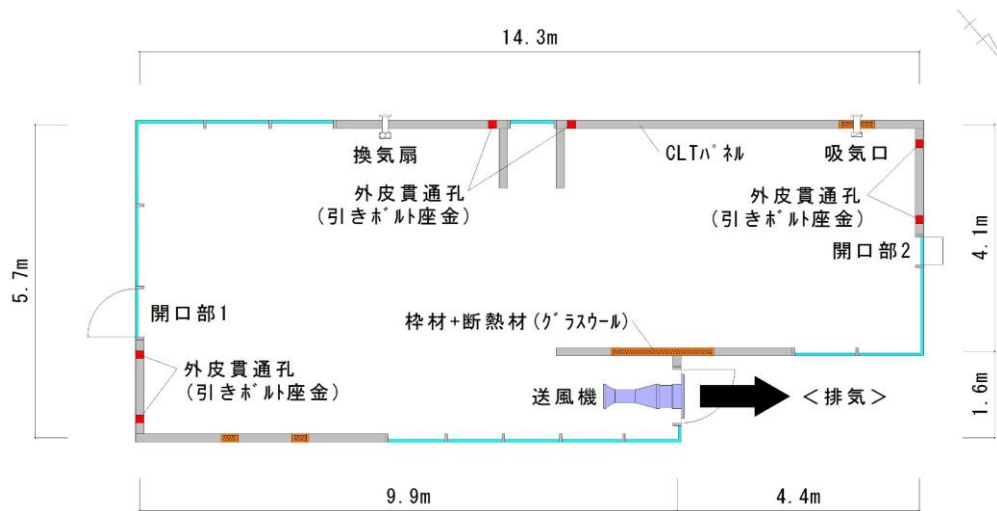


図 1 CLT 実験棟平面概要図

表 2 測定条件

測定条件	目張り処理箇所	詳細	測定日	測定機器
条件1 (対照区)	換気設備	換気設備のみ目張り処理	2019年6月12日	コーナー札幌製 KNS-4000 II
条件2	換気設備 開口部1・2	測定条件1の処理に加え、施錠した状態で、室外側から開口部四周を目張り処理		
条件3	換気設備 開口部1・2 外皮貫通孔	条件1・2の処理に加え、壁パネル外皮貫通孔(120×105mm, 引きボルト端部の座金・ナットの留め付け用)12箇所を室内側から目張り処理		
条件4	換気設備	フローリング仕上げ工事後に実施	2019年7月10日	



写真 6 換気装置目張り処理  
(右：吸気口部分拡大)

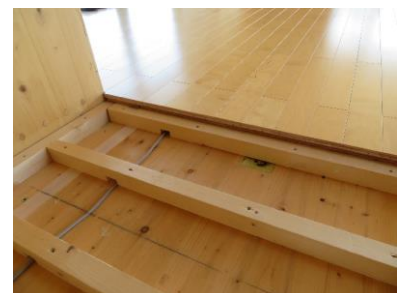


写真 7 フローリング仕上げ施工

測定条件を表 2 に示す。当該建物は南西面に換気設備（排気ファン，吸気口）が設置されているため，測定前にこれらに対して屋外側から目張り処理を施した（写真 6）。なお，条件 4 での測定は，条件 1～3 の測定後に実施されたフローリング仕上げ工事の完了後に実施した。フローリング仕上げ施工の工事内容は，床下の断熱材敷き込み，床下のフローリング敷設，床パネル間取り合いの気密テープ貼り，壁パネル-床パネル取り合いのコーキング処理である（写真 7）。測定実施状況を写真 8 に示す。



写真 8 測定実施状況  
(左：屋内側，右：屋外側)



表 3 測定条件ごとの気密性能値

測定条件	条件1	条件2	条件3	条件4
実質延べ床面積 (m <sup>2</sup> )	74.43			
総相当隙間面積 $\alpha A$ (cm <sup>2</sup> )	25.12	22.72	19.20	21.65
相当隙間面積 C値 (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	0.34	0.31	0.26	0.29
測定条件1と比較した総相当隙間面積の変化量 $\Delta\alpha A$ (cm <sup>2</sup> )	—	-2.40	-5.92	-3.47

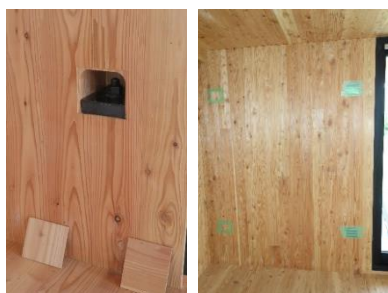


写真9 外皮貫通孔  
(左: 目張り処理前, 右: 処理後)



写真10 床・屋根パネル間取り合い

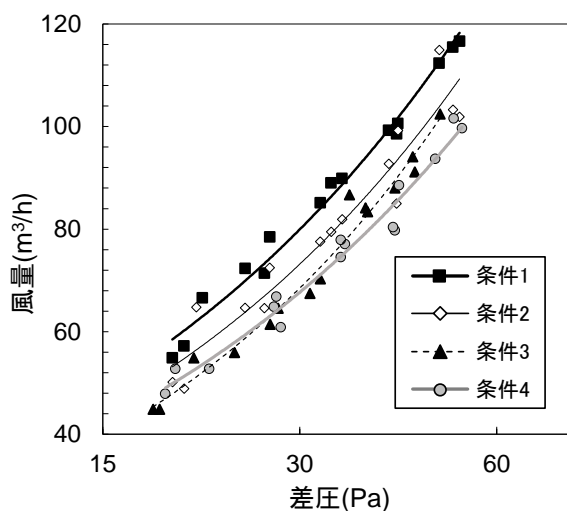


図2 測定条件ごとの測定結果



写真11 半ネジ仕様ビスの外観

【結果および考察】

気密測定の実測値および最小二乗法による回帰曲線を図2に示す。同一日に測定した条件1~3で比較すると、同じ差圧の時に条件1>条件2>条件3と風量が減少していることがわかる。外皮貫通孔(写真9)が漏気の経路となっていると考えられ、このことから、例えば、外皮貫通孔における接合金物の断熱気密施工を適切に実施しないと外皮貫通孔で結露が生じることが示唆される。

測定結果から推定した総相当隙間面積 ( $\alpha A$ ) と相当隙間面積 (C値) を表3に示す。なお相当隙間面積の算出に必要な実質延べ床面積は、CLT 実験棟の壁面の半分程度を占めるカーテンウォールの壁芯を設定することが困難であったため、内法面積を用いて評価した。

相当隙間面積は条件1~4で0.26~0.34cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>と推定され、いずれの測定条件でも北海道が定める北方型住宅ECO規準(C値1.0cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>以下)を満たしたり。気密性能を確保できた要因として、幅2.1~2.3m×長さ7.4~9.7mの大判パネルを床面に使用したことで合板敷き仕様等と比較してジョイント部の全長が減少した点や、写真10に示すように床および屋根のパネル間の取り合いを相欠き加工とし、パネル同士を引き寄せる効果の高い半ネジ仕様のビス(写真11)をパネル間の接合に用いたことが寄与していると考えられる。

【参考文献】

- 1) 北海道：新しい北方型住宅のつくり方—北方型住宅技術解説書一, pp.91, 2010.

石原 亘, 川合慶拓, 高梨隆也, 大橋義徳 (道総研林産試)

【緒言】

直交集成板 (Cross Laminated Timber, 以下 CLT) を用いた建築では、室内空間において木材の質感を演出するために、天井や壁に内装材等を張らずに“現し (あらわし)”仕様とする例が多い。しかし、冬期の室内外の気温差が大きい寒冷地においては、暖房により冬期の室内環境が著しい乾燥状態になるため、CLT 表面に“目隙き”や“干割れ”が生じやすい (写真 1)。そこで、筆者らは既報<sup>1)</sup>にて、低湿度環境下においても目隙き・干割れが生じにくい CLT の製造条件の検討を行い、①ラミナの含水率を内装材と同程度の 8~9% に抑え、②幅はぎ接着を行い、③木裏を表面側に向けることで、目隙きと干割れの双方が生じにくい CLT が製造できることを示した。

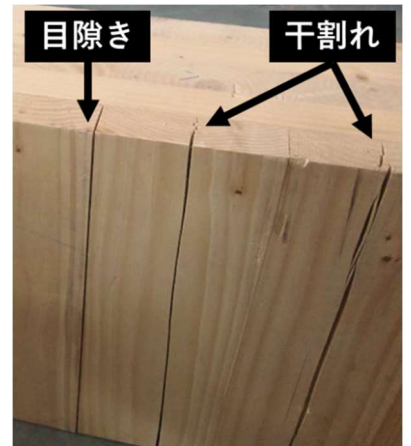


写真 1 CLT の表面劣化 (目隙き・干割れ)

しかし、既報<sup>1)</sup>における検証試験は、実験室内での測定に合わせた小型サイズの CLT パネルを用いて実施しており、実大サイズの CLT における検証は行っていない。また、既報<sup>1)</sup>の実験では放湿による表層ラミナの乾燥収縮にのみ着目しているが、実際の温湿度変動環境下においてはラミナが膨潤と収縮を繰り返すことが予想され、この際目の隙きや干割れの発生状況がどのように変化するか経時的に観察した記録はない。



写真 2 内装現し仕様とした CLT 実験棟

そこで、多雪寒冷地での道産 CLT パネルの材料・構造・環境性能の実証を目的とした実験棟 (CLT 性能評価実験棟「Hokkaido CLT Pavilion」, 以下、CLT 実験棟) を林産試験場内に建設するのに際し、壁パネルの CLT を内装現し仕様とすることとし (写真 2)、竣工後から長期間にわたって、温湿度変動環境下における CLT 表面の劣化状況を経時観察することとした。本発表では、2019 年 5 月より 2020 年 9 月の間に収集したデータについて報告する。

【試験方法】

CLT 実験棟内における 10 枚の CLT 壁パネル (5 層 5 プライ, カラマツ・トドマツ CLT 各 5 枚) を測定対象とした。なお、壁パネルについては、内外ともに断熱材は貼っていない。測定対象とした CLT パネルの製造条件および配置状況を図 1 に示す。パネルの含水率条件は、製造工場によって異なる。M 社

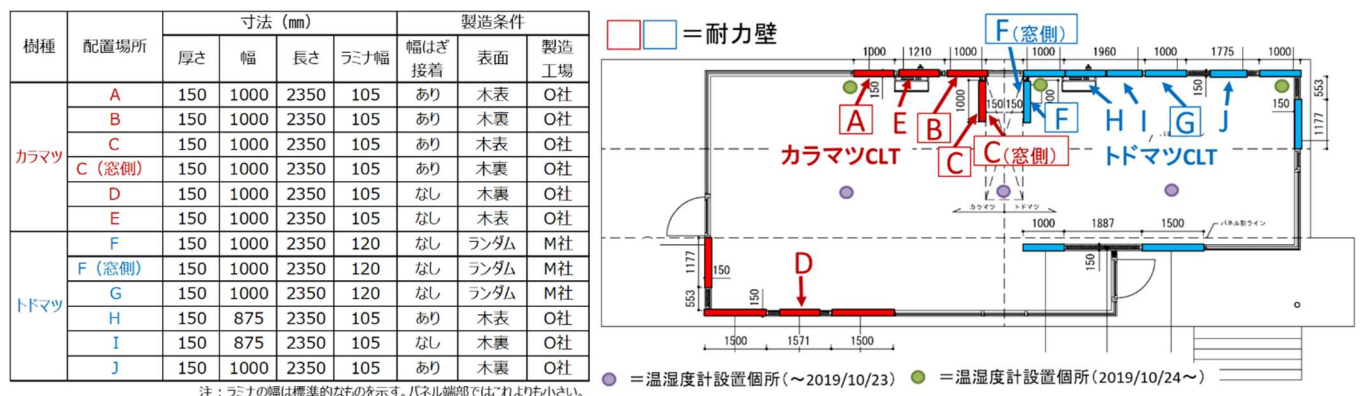


図 1 CLT パネルの製造条件と各パネルの配置状況

については、標準よりも低含水率（8%目標）のラミナを使用したが、ラミナの乾燥からプレスまでに期間が空いたため、出荷時の含水率はそれよりもやや高い水準であると考えられる。なお、同時期に同一工場で製造された床および屋根パネルの端材より全乾法で求めた含水率は9.1%であった。O社については、製造時に含水率の指定はしていない。ただし、住設機器設置時（コア抜き工事、2019年7月実施）にパネルEおよびHに生じた端材より、全乾法で求めたパネル内部（3層目）の含水率は9~10%程度であった（カラマツ：9.9%、トドマツ：9.4%）。また、室内の温湿度の測定を、温湿度データロガー（おんどとり TR72U（㈱ティアンドデイ））により建物内の3か所で行った。温湿度計の設置場所を図1に示す。

各パネルは、高さ方向の500mm（概ね高さ寸法の1/4）ごとに区画を設定し、表面の劣化状況（目隙き、干割れ）評価および含水率の測定を行った。含水率の計測は高周波容量式含水率計（HM8-WS1型、HM8-WS13型、及びHM8-WS25型（キクカワエンタープライズ㈱））により行い、CLT表面より1mm、13mm、25mmの深さの含水率を計測した。目隙きは、各測定箇所において、最大となるラミナ間の目隙き幅をシクネスゲージにより0.05mm単位で測定した。干割れの測定及び評価方法は既報<sup>1)</sup>に準じて行った。各測定項目における測定方法および測定箇所の概要を図2に示す。

これらの測定は竣工後の5月15日より開始し、1~1.5ヵ月ごとに行った。なお、測定開始後の2019年6月18~20日に塗装試験のための塗装を行っており、この際は設定した区画に合わせて、横（弱軸）方向に塗分けを行った。

【結果と考察】

含水率および温湿度の推移を図3に示す。含水率は樹種毎の全測定箇所の平均値を、温湿度は3地点の平均値を示した。なお、冬期に気温が高い状態が続いているのは、断熱性能測定試験<sup>2)</sup>のため断熱材を壁面や窓に貼っていたためである。冬期には相対湿度が10%（平衡含水率≒2.5%）を下回る程度まで低下しており、著しい乾燥環境下に曝露されていることが示された。この期間は湿度の低下に伴い、CLTのごく表面（測定深さ1mm）において含水率が4~5%低下していた。一方で、測定深さ25mmにおいては1%程度しか低下しておらず、この期間はCLT内部で水分勾配が拡大していることが示唆された。

各パネルにおける目隙き幅の平均値の推移を図4に示す。室内環境および含水率の変動に関連して、目隙き幅が増減（冬期に拡大、夏期に縮小）する傾向がみられた。なお、2019年7月31日の測定において、目隙き幅が減少しているのは、塗装作業

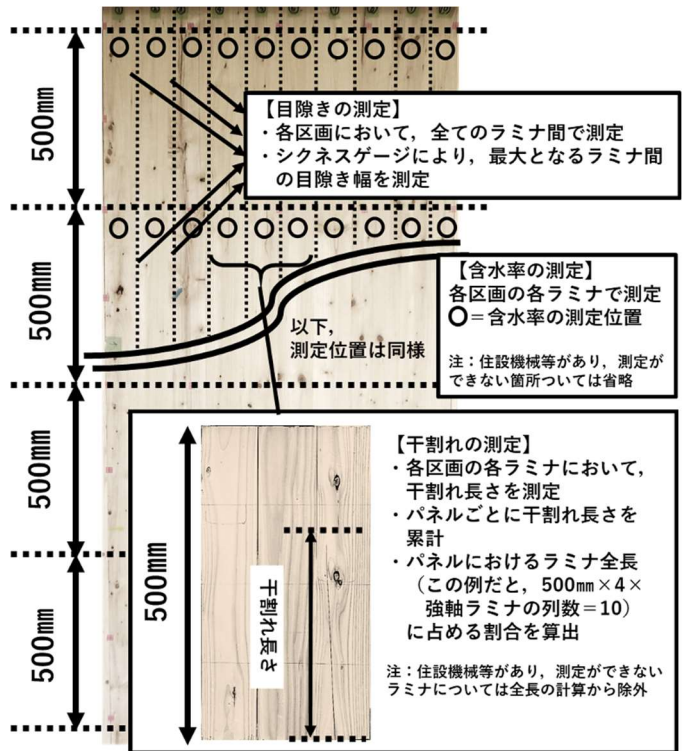


図2 目隙き・干割れの測定方法および測定箇所

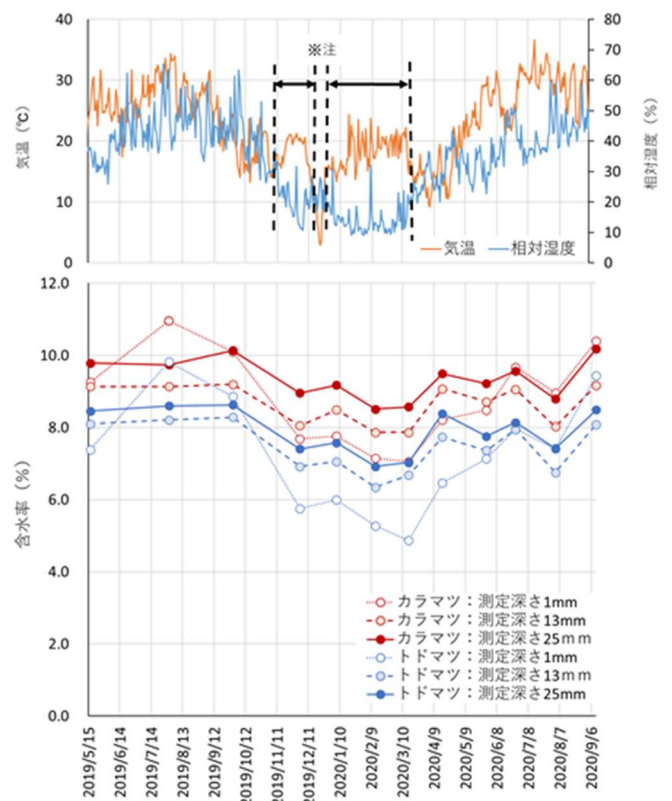


図3 室内温湿度とz CLTパネルの含水率の推移

※注：断熱材を窓等に貼っていた期間



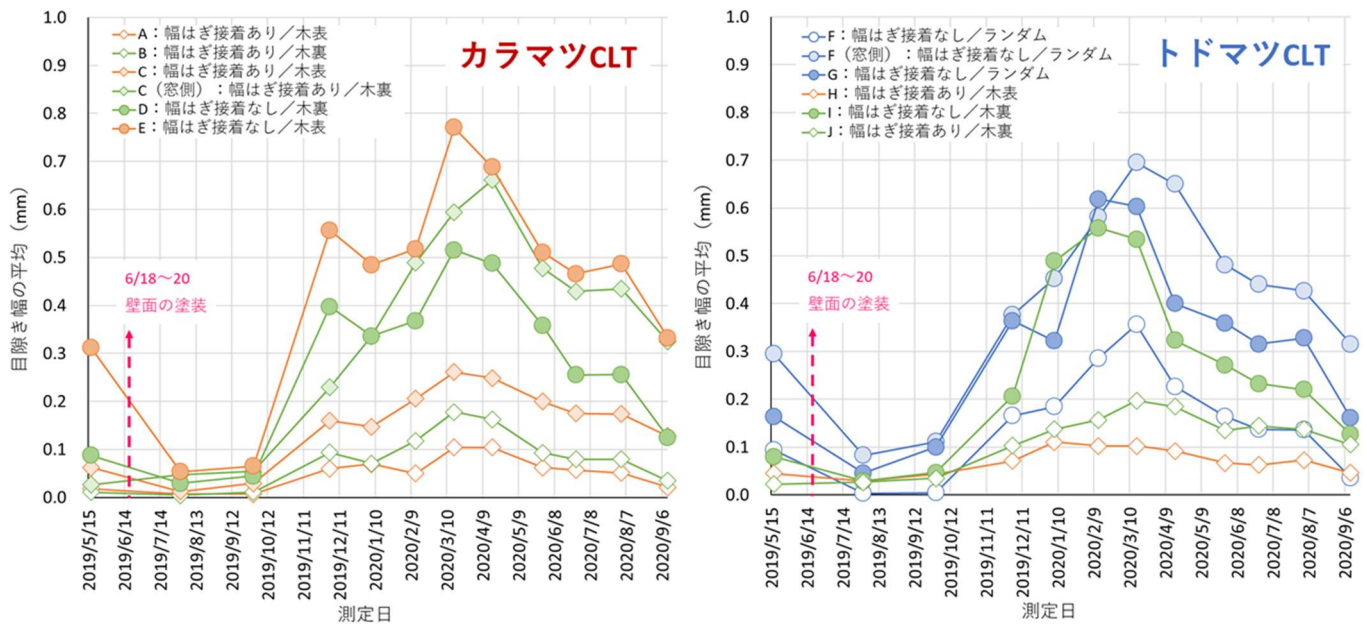


図4 各パネルにおける目隙きの推移

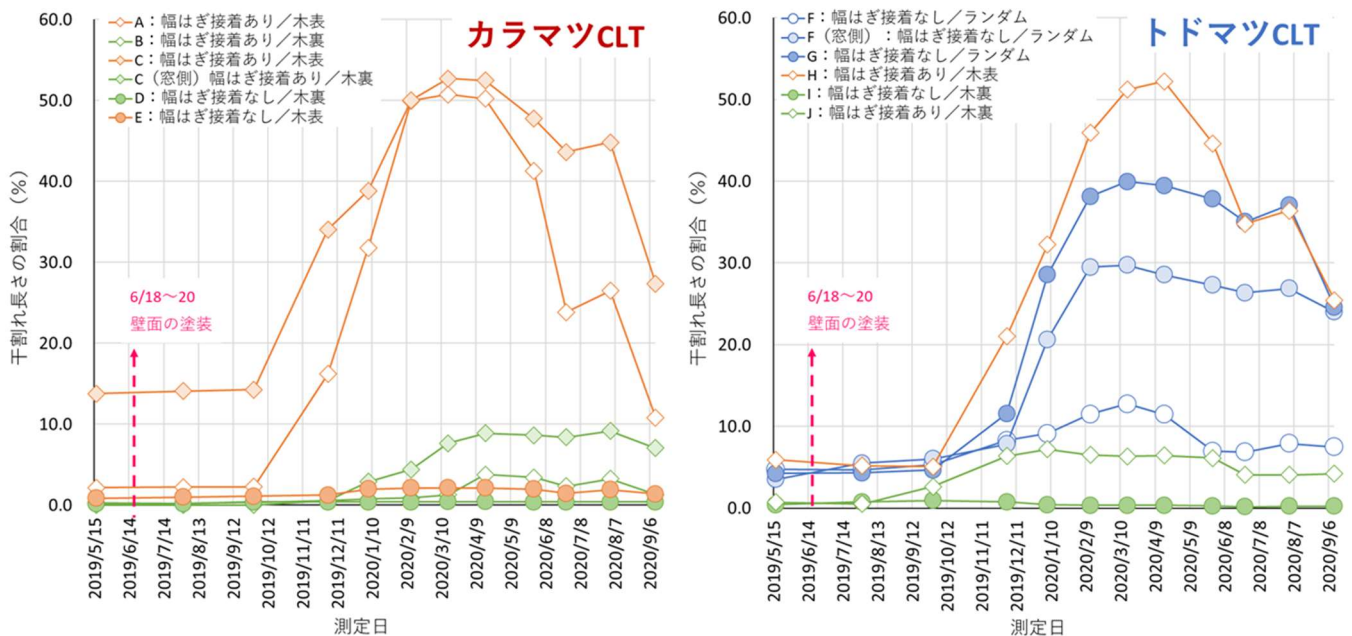


図5 各パネルにおける干割れの推移

によりラミナ間に塗料が充填されたためと考えられる。幅はぎ接着を行うことで、目隙きは抑えられる傾向がみられ、これは既報<sup>1)</sup>と一致した。目隙きの顕著な例を写真3に示す。ただし、幅はぎ接着を行ったにもかかわらず、目隙きが顕著に生じたパネル(C(窓側))もみられた。このパネル(C(窓側))を観察すると、幅はぎ接着部分に剝離や幅はぎ部分近傍における割れが多数見られた(写真4)。

各パネルにおける干割れ長さの割合の推移を図5に示す。干割れも目隙きと同様に、増減(冬期に拡大、夏期に縮小)する傾向がみられた。干割れについても既報<sup>1)</sup>の傾向と同様に、幅はぎ接着を行い、表面を木表としたパネル(A, C, H)に集中して生じた。顕著な干割れの例を写真5に示す。カラマツにおいては、幅はぎ接着を行っていないパネルではほとんど干割れが生じなかったが(D, E)、トドマツにおいては、幅はぎ接着を行っていないパネルであっても、干割れが多く生じた例があった(F(窓側), G)。また、縦継(フィンガージョイント)部分では複数の細かい干割れが生じる例がみられた(写真6)。

幅はぎ接着を行った場合でも、表面を木裏とすることで干割れは大きく減少することが示唆された(B, J)。ただし、表面を木裏側としたパネルにおいても、多少の割れが生じた例(C(窓側))もあった。先に示したように(写真4), C(窓側)においては、幅はぎ部分近傍における割れが多数見られた。また、B



写真3 目隙きの例 (左: E, 右: G)

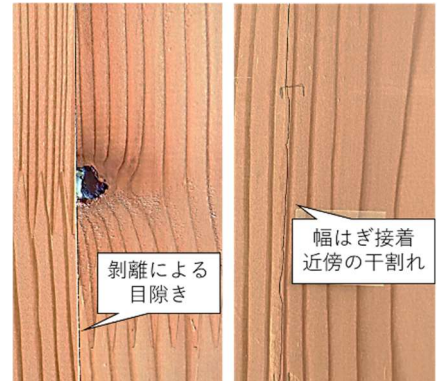


写真4 幅はぎ接着部の劣化 (C (窓側))



写真5 干割れの例 (左: C, 右: G)



写真6 フィンガージョイント周辺に多数生じる細かい干割れの例



写真7 髓周辺の干割れの例 (J)

写真8 目違いの例 (F (窓側))

と同様の製造条件であるJについては、髓を含むラミナがあり、髓付近に割れが集中して生じていたが(写真7)、それ以外の部分には干割れはほとんど生じなかった。

目隙きと干割れの生じにくいCLTパネルの製造条件<sup>1)</sup>に対応するパネル(B, C(窓側), J)のうち、BとJは目隙きと干割れの双方が生じにくい傾向が認められたが、C(窓側)については、目隙き幅も大きく、多少の干割れが見られた。このパネルと対称位置にあるパネル(F(窓側))に着目すると、同一パネルで同様の仕組み(ランダム)であるにも関わらず、パネルの反対側(F)に比べて目隙き幅が大きく、割れも生じやすい傾向がみられた。また、木目が凹凸に浮き上がる現象(目違い)も見られた(写真8)。C(窓側)およびF(窓側)は、縦長の開口部(はめ殺し窓)に隣接しており、他のパネルと異なり太陽光を受ける時間が長く、こうした環境が影響しているものと考えられる(写真9)。

なお、本報では塗装の影響について考慮していないが、塗料によってはCLTの吸放湿とそれに伴う形状変化に影響を及ぼしているとの報告もあるため<sup>3)</sup>、データの蓄積が進み次第、塗装区画ごとの比較も行う予定である。

【参考文献】

- 1) 石原亘ほか, 木材工業 75 (1), 10-15 (2020)
- 2) 富高亮介ほか, 林産試だより 2020年6月号, 4 (2020)
- 3) 中島史郎ほか, 日本建築学会大会梗概集, 北陸, 構造Ⅲ, pp.9-10 (2019)



写真9 パネルCおよびFに隣接する開口部



## 林産試験場 CLT 実験棟における 屋根パネルはね出し部の鉛直変位変化

○高梨隆也, 川合慶拓, 大橋義徳, 石原亘 (道総研林産試), 植松武是 (北海学園大)

### 【緒言】

北海道立総合研究機構林産試験場では、北海道産 CLT の普及促進を目的とし、製造技術・材料強度・接合性能・経済性評価などについて、多角的・総合的な視点を持って研究を行っている。2019 年には、多雪寒冷の環境が CLT 建築物の材料・構造・環境性能に及ぼす影響を多年にわたり検証することを目的とし、CLT 実験棟を構内に建設した(写真 1)<sup>1)</sup>。本報では、その一環として実施している、強軸・弱軸の 2 方向にはね出した屋根 CLT パネルの冬季を含む竣工後 1 年間の鉛直変位の変動記録を報告する。

### 【建物および屋根パネルの概要】

本実験棟は、鋼管杭とその上の鉄骨梁を基礎として、その上に床・壁・屋根 CLT パネルを配置した CLT パネル工法である。建物の桁行方向中央を境界として、南側にカラマツ CLT、北側にトドマツ CLT をほぼ対称になるように配置してある。屋根パネルと壁パネルは長ビス (直径 8 mm, 長さ 230 mm) を斜めに打ち込むことで緊結し、屋根パネル同士は相欠き加工を長ビス (直径 8 mm, 長さ 140 mm) により接合してある。屋根パネル上には幅 925 mm または 850 mm の CLT パネルおよび幅 150 mm の集成材を屋根パネルの弱軸方向に高力ボルト (M12, SS400) で固定し、逆梁として屋根パネルの弱軸方向の補強を施してある。これにより、2 方向への底のはね出し (強軸方向には約 2.4 m, 弱軸方向には約 1.7 m) を実現している。CLT の層構成は床および逆梁パネルで 5 層 7 プライ、壁および屋根パネルで 5 層 5 プライ、強度等級は床および逆梁パネルで Mx90, 壁および屋根パネルで S90 である。



写真 1 林産試験場 CLT 実験棟外観

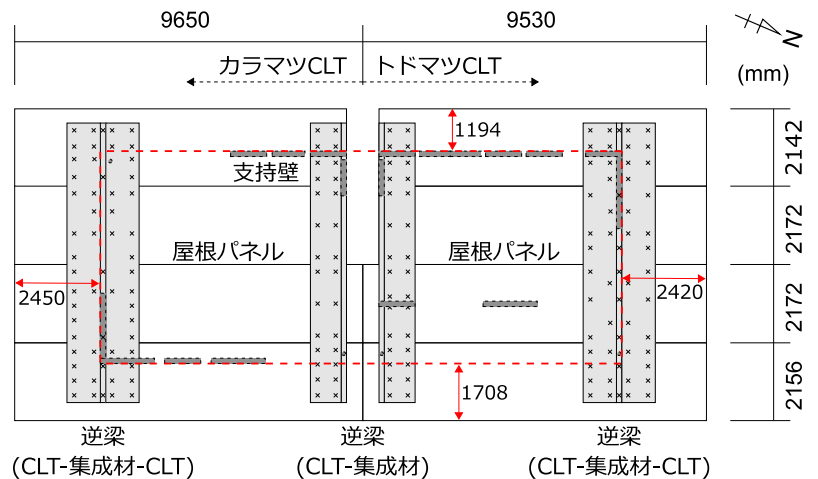


図 1 屋根パネルの支持状況

### 【実験方法】

オートレベル (シンワ測定株式会社 SA-32A) を用いて、屋根パネルはね出し部先端のたわみ量を測定した。たわみの測定箇所とそれぞれの基準点を図 2 に示す。測定点は、いずれも屋根パネル先端部下縁としており、基準点は屋根パネルを支持する壁面の外側壁面線上にとった。測定期間は 2019 年 7 月 71 日から 2020 年 9 月 29 日である。無積雪期間にはおおむね 1 か月おき、積雪期間にはおおむね 10 日おきに測定した。測定回数は 22 回である。測定状況を写真 2 に示す。



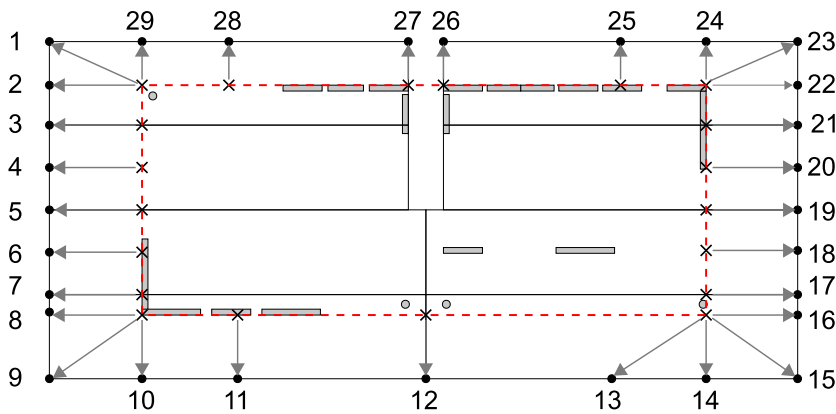


図2 たわみの測点番号と基準点



写真2 たわみ測定の様子

【結果および考察】

図3に東西南北方向別に各測定点のたわみの変動を示す。南北方向は強軸方向（長辺方向）のたわみ、東西方向は弱軸方向（短辺方向）のたわみある。グラフ中の凡例番号は図2の測点番号に対応する。併せて示した積雪深はアメダス旭川（CLT実験棟からの直線距離：約6.6km）のデータである。また、図4に2019年の長期積雪（根雪）初日であった2019年11月14日より前の直近測定日である2019年11月11日、日最深積雪の最大を記録した2020年2月21日、最新の測定2020年9月29日の測定値を示す。

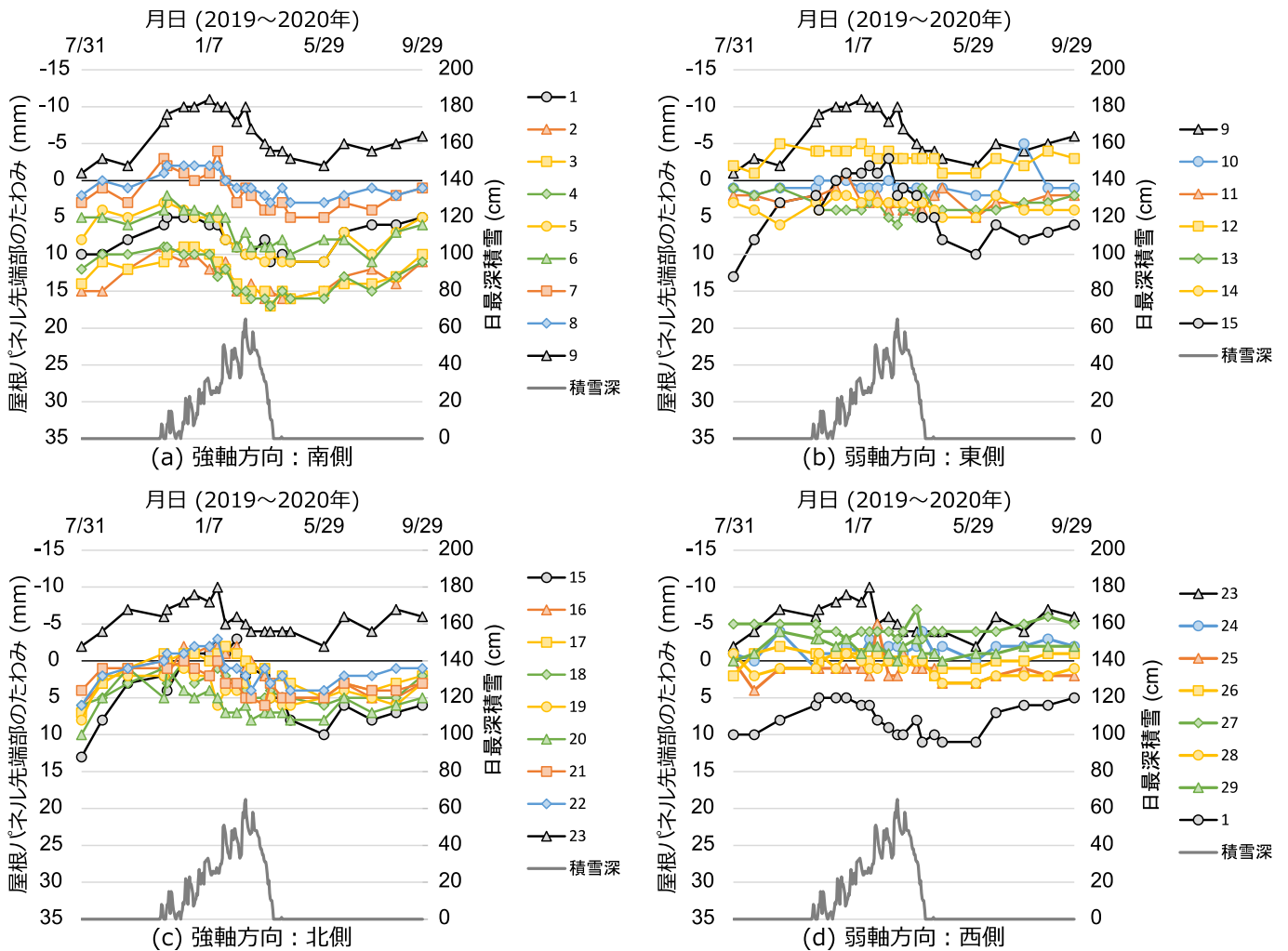


図3 測定点のたわみの推移（日最深積雪はアメダス旭川のデータ）

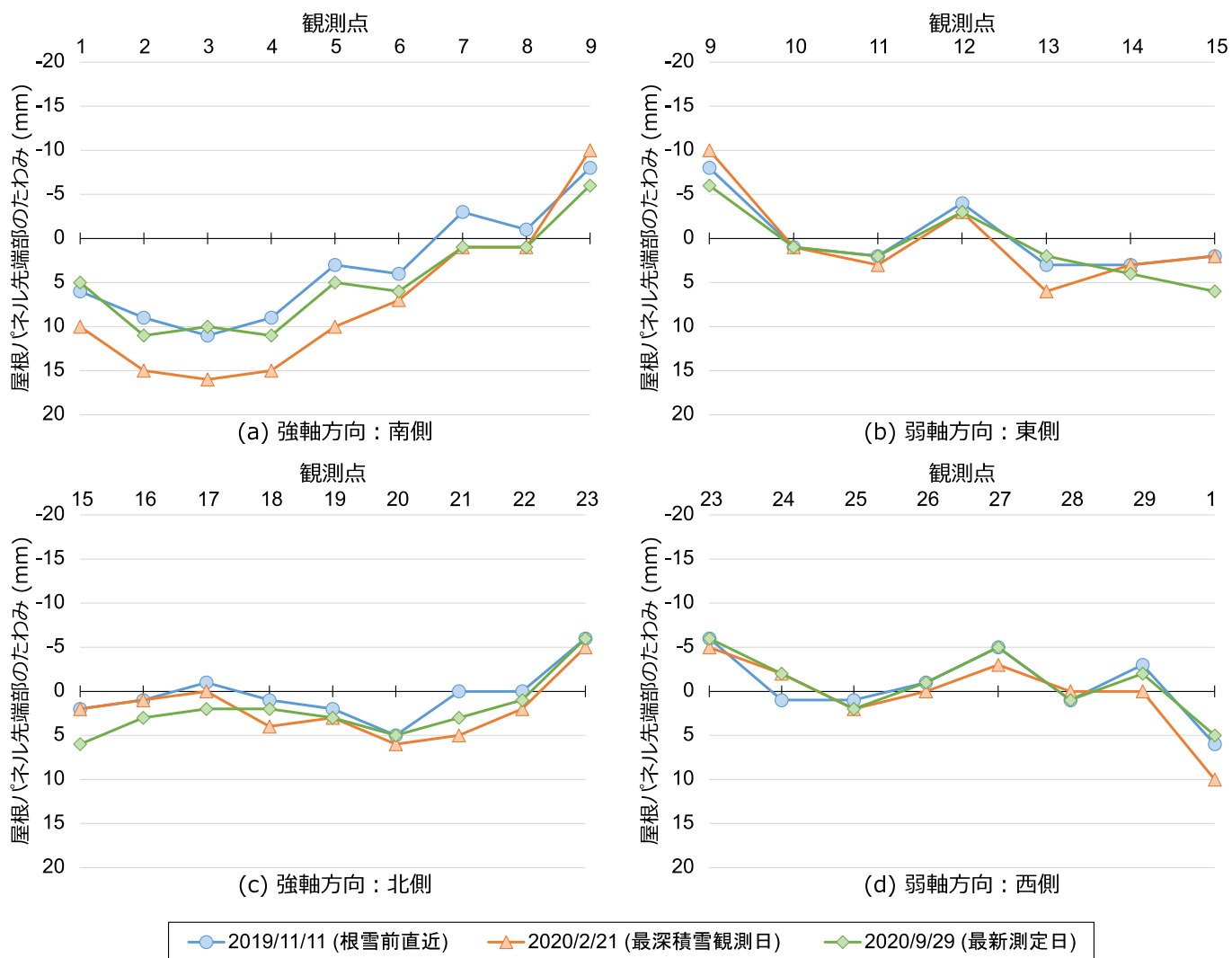


図4 最大積雪観測時およびその前後の変形状況の比較

強軸方向では、施工直後に自重によるたわみが観察された。特に測点1~4のたわみが大きく、これはこの区間には屋根パネルを支える構造壁がないため(図2)と考えられる。冬季積雪時には多くの観測点において積雪荷重によるたわみの増大が見られ、その増大量は南側の観測点で大きくなった。その後、春季を迎え積雪荷重がなくなるとたわみは減少に転じ、最新の測定では、積雪前とほぼ同等のたわみ量にまで回復していた。

弱軸方向では年間を通してたわみの増減がほとんど観察されなかった。積雪期には東側で著しい雪庇が形成されたが(写真3)、目立った変形増大は確認されず、逆梁による変形拘束の効果が大いものと考えられる。

**【結論】**

CLT 実験棟において、屋根パネルはね出し部の鉛直変位の経時的変化を測定した。強軸方向では自重および積雪荷重によるたわみの増大、積雪荷重がなくなった後の変形回復が観察された。弱軸方向では逆梁による変形拘束によって、積雪荷重による変形増大がほとんど観察されなかった。今季は少雪傾向であり、変形増大が小さかった可能性があるため、今後も測定を継続し傾向を観察する必要がある。



写真3 東側で形成された雪庇  
(2020年1月27日撮影)

**【参考文献】**

- 1) 大橋義徳 (ほか 6 名): 北海道産 CLT を用いた実験棟の建設と実験計画. 第 70 回 日本木材学会大会 (鳥取), Y18-10-1100, 2020, 鳥取県 (現地開催中止)

日本木材学会 北海道支部講演集 第 52 号

---

令和 2 年 10 月 26 日 発行

編集人 澤田 圭, 伊佐治 信一, 北橋 善範

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

---