

日本木材学会

北海道支部講演集

第53号

令和3年10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 53 号

目次

<口頭発表> 13:10-15:30

【座長】澤田 圭（北大院農）

1. 大径ビスを用いたカラマツ CLT 金物接合部の性能評価およびデータシート化の取組み……………1
○富高亮介, 今井 良, 戸田正彦, 大橋義徳（道総研林産試）
2. 乾燥割れが生じにくいカラマツ集成材の試作……………5
○石原 亘（道総研林産試, 北大院農）, 伊佐治信一, 土橋英亮, 川合慶拓, 宮崎淳子, 澤田哲則, 高梨隆也, 大橋義徳（道総研林産試）
（休憩 13:40～13:50）

【座長】幸田圭一（北大院農）

3. Kraft lignin-based materials for electric double layer capacitor……………9
○Nuthira Pakkang, Kengo Shigetomi, Yasumitsu Uraki（北大院農）
4. 家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍室（約-18℃）を用いたシイタケ菌株の凍結保存の試み…………… 10
○富樫 巖, 内海早智（旭川高専）
5. カツラ樹皮に検出された氷核活性の性質…………… 14
○古賀泰雅, 鉄穴口 晃（北大院農）, 鈴木伸吾（北大院農, 北大院歯）, 重富顕吾, 荒川圭太（北大院農）
（休憩 14:35～14:45）

【座長】原田 陽

6. イチイの腐朽被害木の木部組織における水分分布と細胞内容物、菌糸体の観察…………… 16
○金子遥香, 佐野雄三（北大院農）
7. カラマツおが粉を用いたヌメリスギタケ菌床栽培…………… 19
○石黒蓮観, 幸田圭一, 玉井 裕（北大院農）
8. 酒粕を用いた菌根菌の培養
○若林璃玖, 幸田圭一, 玉井 裕（北大院農）…………… 20

大径ビスを用いたカラマツ CLT 金物接合部の性能評価 およびデータシート化の取組み

○富高亮介, 今井良, 戸田正彦, 大橋義徳 (道総研林産試)

1. 緒言

CLT パネル工法は、RC 造よりも軽量で、工期短縮や現場作業軽減も可能とされ、北海道内でも建築関係者の関心が高まっている。とくに、高強度・高密度なカラマツ CLT を適切に活用することができれば、効率的な構造設計や、建物のさらなる高層化を実現できる可能性がある。一方、CLT パネル工法の鍵となる接合技術においては、現在主流である呼び径 6.5mm 程度の比較的小径なビスを接合に用いると、ビスが破断し急激に耐力を失う場合があることが課題とされていた¹⁾。本発表では、ビスの破断を抑制するために大径ビスを用いた鋼板添え板ビス接合形式のカラマツ CLT 金物接合部について、その強度性能を評価した結果を報告する。

また、性能評価を行った接合部について、実務における接合部設計に利用することを想定したデータシートを作成した。データシート化の取組みについても併せて報告する。

2. 実験方法

試験体は、カラマツ CLT パネル(層構成 5 層 5 プライ, JAS 等級 Mx90, 平均気乾密度 501kg/m³, 平均含水率 9.76%) を用いた。接合に用いたビスは、シネジック株式会社製パネリード鋼 PK8-60 (呼び径 8 mm, 首下長 60 mm) および PK8-90 (呼び径 8 mm, 首下長 90 mm) の 2 種類とした。接合金物は、引張金物, せん断金物, L 型せん断金物の 3 種類とした。金物の形状は、CLT パネル工法用接合金物 χ マーク表示金物に準拠した。また、接合金物の種類ごとに相当する χ マーク表示金物の設計許容耐力を目標耐力とし、過去に実施した要素試験²⁾の結果をもとにビス本数を設定した。なお、準拠した χ マーク表示金物は、呼び径 6.5mm のビスの使用を前提としたビス配置となっているため、試験用接合金物は呼び径 8mm のビスに対応したビス間隔や縁端距離とした。ビスの仕様を図 1, 接合金物の仕様を図 2, 試験体の仕様を図 3 に示す。

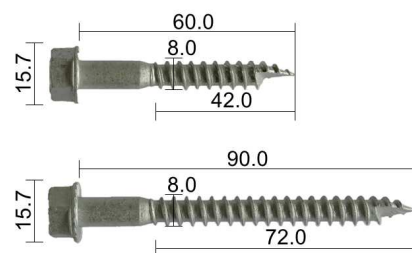


図 1 ビスの仕様
(上 : PK8-60, 下 : PK8-90,
単位 : mm)

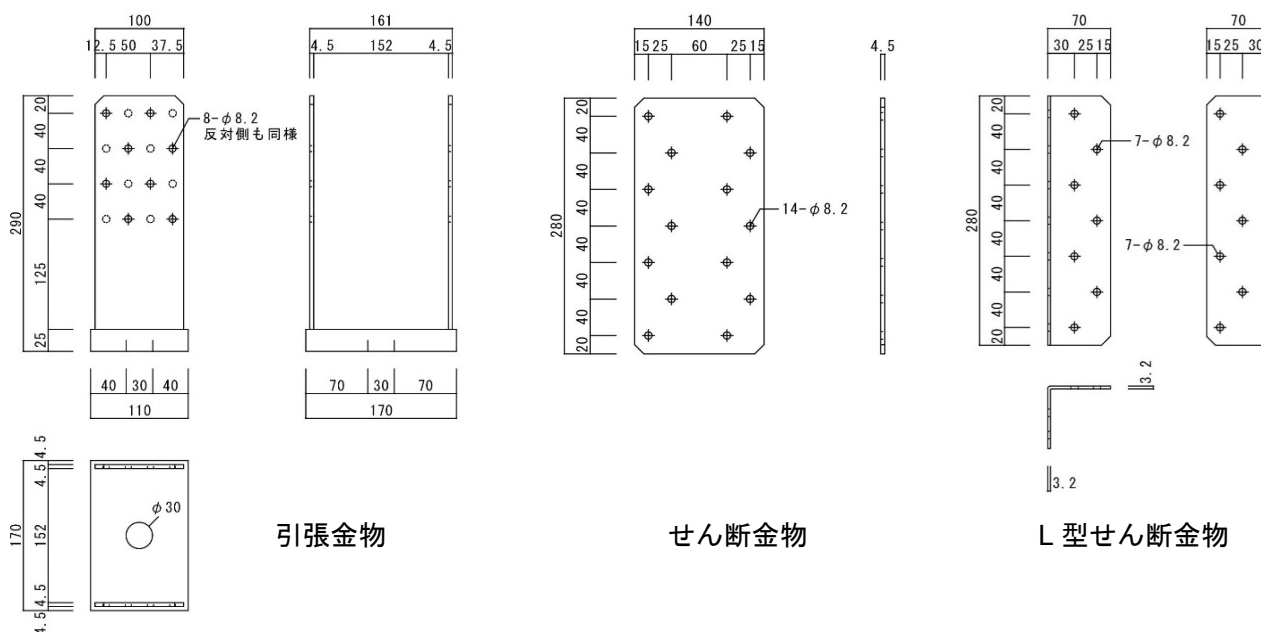


図 2 接合金物仕様 (単位 : mm)

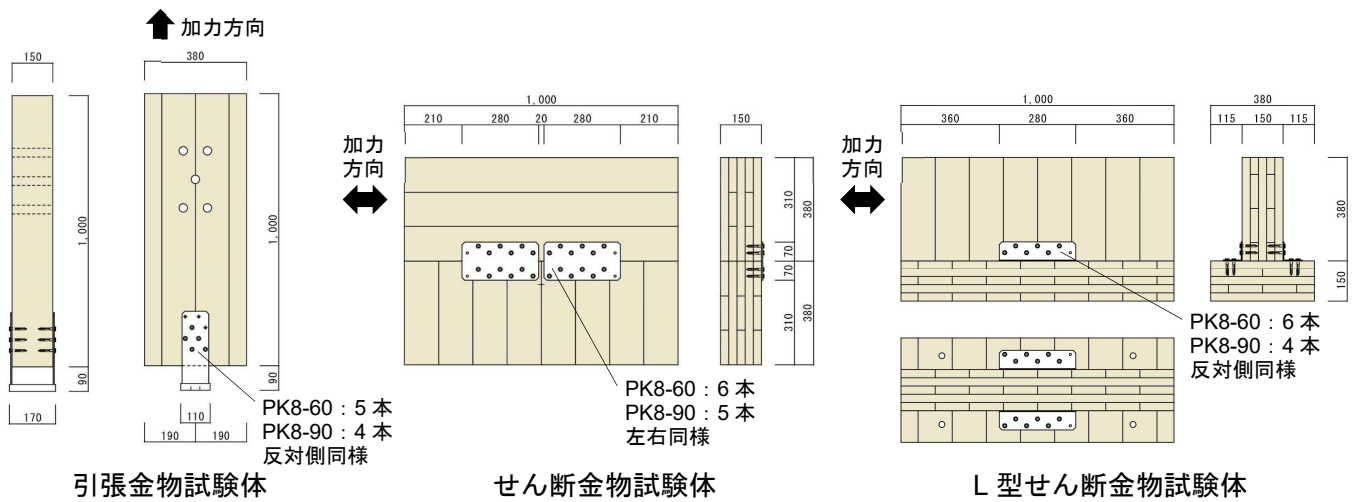


図 3 試験体仕様 (図は PK8-60 の場合, 単位 : mm)



引張金物試験体



せん断金物試験体



L型せん断金物試験体

図 4 試験状況

実験方法は、「2016 年版 CLT を用いた建築物の設計施工マニュアル」に記載の接合試験に準じた³⁾。加力方法は、引張金物は一方向繰返し加力、せん断金物および L 型せん断金物は正負交番繰返し加力とした。接合部の変位は、引張金物を用いた試験においては接合金物と CLT の相対変位とし、せん断金物および L 型せん断金物を用いた試験においては CLT の絶対変位とした。繰返し履歴は、単調加力による予備試験で得られた降伏変位の 1/2, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16 倍を各 1 回ずつとし、最大荷重の 80%以下に荷重が低下するか、変位が 30mm に達するまで加力を続けた。試験体数は 1 仕様あたり 5~6 体とした。試験の状況を図 4 に示す。

3. 結果および考察

試験終了後の代表的な試験体接合部の状況を図 5 に示す。全ての試験体仕様 (金物種類およびビス種類) において、終局変位到達前のビスの破断は認められず、接合金物添え板部分の曲げ変形を伴うビスの引き抜けにより終局に至った。試験終了後のビスの外観を図 6 に示す。PK8-60 においては、試験体仕様によらず過半の試験体でビスの変形は認められなかったが、PK8-90 においては、首下またはラミナ 1 層分の深さに相当するビス首下から 30mm 程度の位置の計 1~2 箇所まで曲げ変形が生じており、ビス長さが破壊モードに影響を与えることが確認された。



引張金物
(PK8-60)



せん断金物
(PK8-90)



L型せん断金物
(PK8-90)

図 5 試験終了後の代表的な接合部外観



引張金物のビス
(PK8-60)



引張金物のビス
(PK8-90)

図 6 試験終了後の代表的なビス外観

表 1 特性値一覧

金物種類	ビス種類	最大耐力		降伏耐力		終局耐力	初期剛性	短期基準耐力		目標短期基準耐力		試験体 ビス本数 (d8.0) (A)	χマーク 表示金物 ビス本数 (d6.5) (B)	A / B
		P_{max} (kN)	$2/3P_{max}$ (kN)	P_y (kN)	P_u (kN)	K (kN/mm)	P_{y0} $=\min(2/3P_{max}, P_y)$ (kN)	P_{u0} (kN)	P_{y0} (kN)	P_{u0} (kN)				
引張金物	PK8-60	平均値	116.3	77.6	68.9	108.2	66.9	-	-	-	-	10	18	0.56
		変動係数	0.06	0.06	0.13	0.07	0.09	-	-	-	-			
		5%下限値	99.0	66.0	48.7	91.7	-	-	91.7	-	86.0			
引張金物	PK8-90	平均値	127.9	85.3	72.9	118.8	50.0	-	-	-	-	8	18	0.44
		変動係数	0.08	0.08	0.08	0.08	0.13	-	-	-	-			
		5%下限値	104.3	69.5	59.8	95.8	-	-	95.8	-	86.0			
せん断金物	PK8-60	平均値	126.3	84.2	71.8	115.7	20.3	-	-	-	-	12×2	18×2	0.67
		変動係数	0.04	0.04	0.06	0.05	0.10	-	-	-	-			
		5%下限値	114.1	76.1	62.4	102.8	-	62.4	-	52.0	-			
せん断金物	PK8-90	平均値	148.2	98.8	82.9	134.3	13.6	-	-	-	-	10×2	18×2	0.56
		変動係数	0.04	0.04	0.05	0.04	0.08	-	-	-	-			
		5%下限値	135.6	90.4	73.7	121.4	-	73.7	-	52.0	-			
L型せん断金物	PK8-60	平均値	133.4	88.9	77.0	120.3	31.6	-	-	-	-	12×2	18×2	0.67
		変動係数	0.04	0.04	0.03	0.04	0.06	-	-	-	-			
		5%下限値	120.9	80.6	71.6	107.9	-	71.6	-	54.0	-			
L型せん断金物	PK8-90	平均値	136.7	91.2	72.5	115.6	15.0	-	-	-	-	8×2	18×2	0.44
		変動係数	0.05	0.05	0.08	0.08	0.17	-	-	-	-			
		5%下限値	118.2	78.8	57.5	93.9	-	57.5	-	54.0	-			

PickPoint⁴⁾を用いて荷重変位曲線の完全弾塑性モデル化による特性値の抽出を行った。評価した特性値を表 1 に示す。全ての試験体仕様で目標耐力を満足した。準拠したχマーク表示金物のビス本数に対する試験体仕様のビス本数の比は、PK8-60 で 0.55~0.67, PK8-90 で 0.44~0.56 となり、呼び径 8mm のビスを用いることで、呼び径 6.5mm を用いる場合と比較して平均 44%削減することができた。以上の結果より、ビスの破断が課題であったカラマツ CLT パネルの鋼板添え板ビス接合において、ビスを大径化することにより接合性能の向上を見込めると考えられる。また、今回の検証では、χマーク表示金物の許容耐力を目標耐力とし必要ビス本数の削減を目的としたが、例えば、呼び径 8mm のビスをχマーク表示金物と同じ本数用いることで、より高耐力な接合部を実現できると考えられる。今後は、大径化した場合のビス本数と各種接合性能との間の線形性等について、さらなる検証が必要であると考えられる。

4. データシート化の取り組み

実験で得られたカラマツ CLT パネルの金物接合部の強度データについて、実務での接合部設計等で利用することを想定したデータシートを作成した。データシートの一例を図 7 に示す。データシートの書式は、「2016 年版 CLT を用いた建築物の設計施工マニュアル」掲載の接合部データ資料を参考にした⁵⁾。作成したデータシートには、下記項目を掲載した。

- ・ 接合部を構成する部材 (CLT パネル, 接合金物, 接合具等) の詳細
- ・ 試験体, 金物等の図面
- ・ 試験個体別の各種特性値と平均値・標準偏差・5%下限値等の統計情報
- ・ 荷重-変位曲線および特性値から得られる骨格曲線
- ・ 試験後の試験体写真

作成したデータシートは、構造設計者やビス, 接合金物, CLT 等のメーカー等の建築業界関係者に道産 CLT の普及を図る際の技術資料として活用する予定である。

また、林産試験場はこれまで、様々な木質構造接合部について実験を行ってきた。例えば、接合する部材として製材, 集成材, LVL, CLT 等, 接合形式として鋼板添え板ビス接合, 引きボルト接合, ドリフトピン接合等が挙げられる。蓄積された多岐にわたる木質構造接合部の強度データについても、今後、データシート化や情報にアクセスできるシステムの整備に取り組んでいきたいと考えている。

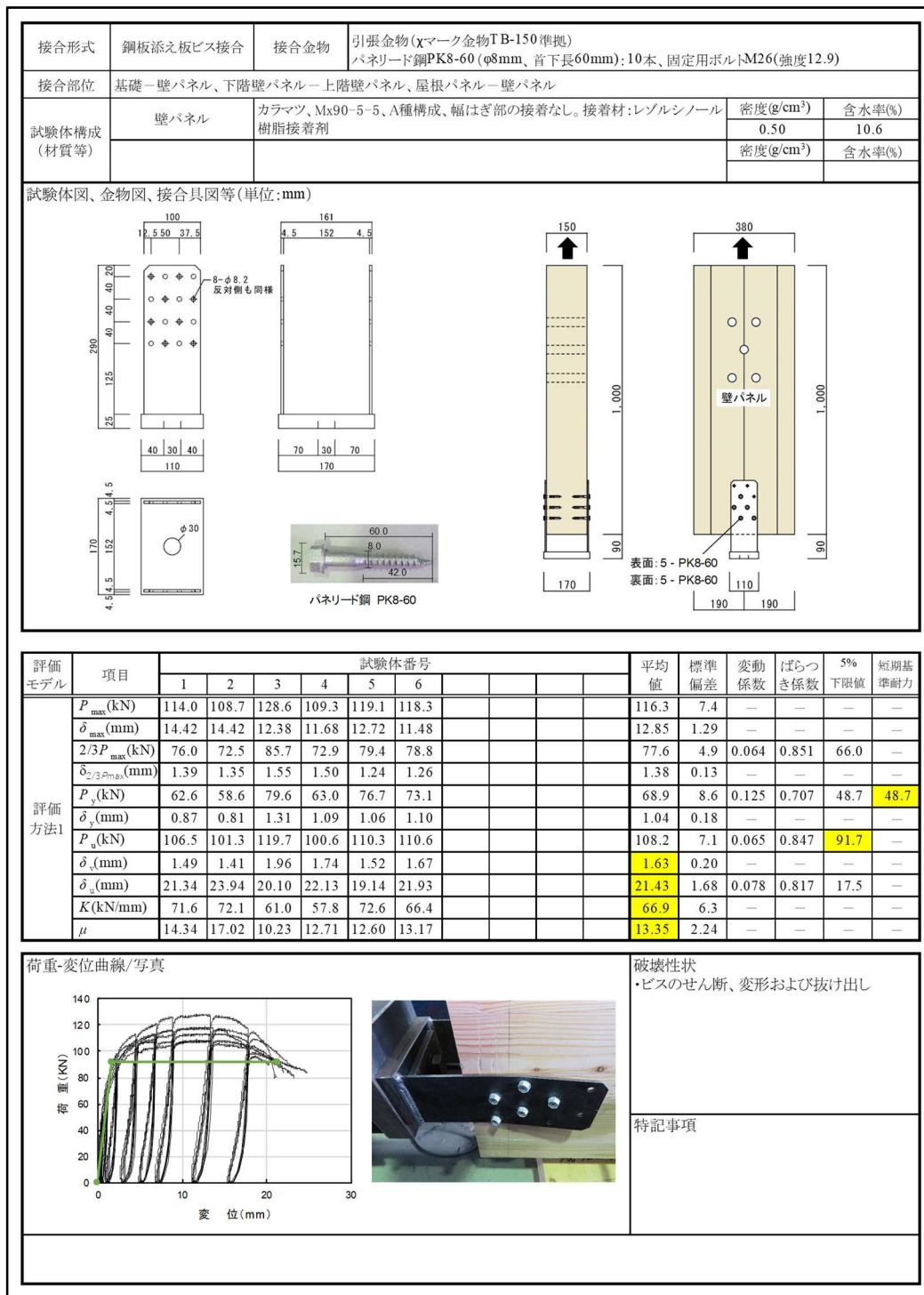


図7 データシートの一例

参考文献

- 戸田正彦ほか：北海道産カラマツを用いた CLT の製造と性能評価 その4 木ねじ留め引張金物およびせん断金物の性能，第 64 回日本木材学会大会研究発表要旨集，CD-ROM，2014.
- 富高亮介ほか：大径ビスを用いたカラマツ CLT 接合部のせん断性能の検討，木材加工技術協会第 38 回年次大会要旨集，pp.58-59，2020.
- 公益財団法人日本住宅・木材技術センター：2016 年版 CLT を用いた建築物の設計施工マニュアル，pp.146-163，2016
- 軽部正彦，原田真樹，林 知行：荷重変形曲線のモデル化とその問題点共有のための提案：特徴点抽出の自動化ツールについて，日本建築学会学術講演梗概集 C-1 構造Ⅲ，pp.215-216，2001
- 公益財団法人日本住宅・木材技術センター：2016 年版 CLT を用いた建築物の設計施工マニュアル，付属 DVD，2016

付記. 本研究は，平成 30 年度戦略的基盤技術高度化支援事業（補助事業期間：平成 30 年～令和 2 年）により実施した。

乾燥割れが生じにくいカラマツ集成材の試作

○石原 亘（道総研林産試，北大院農），伊佐治信一，土橋英亮，川合慶拓，
宮崎淳子，澤田哲則，高梨隆也，大橋義徳（道総研林産試）

【緒言】

現在，カラマツ集成材をはじめとした道産集成材が中大規模建築物に数多く使用されており，内装現し仕様として使用される例も多い。しかし，北海道のような寒冷地においては，暖房により冷たい空気が急激に温められるため相対湿度（RH）が低下し，冬期の室内環境が著しい乾燥状態（低湿度環境）になる¹⁾。このため，集成材の表面に乾燥割れが生じる例も多い（写真1）。

本報では，集成材の製造時と製造後の2つの状況を想定し，前者については，ラミナの乾燥条件と貼り合わせの方向（以下，仕組みパターン）を工夫することで，後者については塗装や部分表層熱圧縮（以下，表層圧縮）などの表面処理を行うことで，低湿度環境下においても乾燥割れが生じにくい集成材が製造可能か検証した。

【試験体の作製】

本報では，①製造条件の異なる集成材，②塗装や部分表層圧縮を行った集成材（以下，試験体）を作製した。以下，それぞれの試験体の作製方法について記す。

① 製造条件の異なる集成材の作製方法

3つの条件で乾燥させたカラマツのラミナを用い，7パターンの仕組みの試験体を作製した（製造条件=3条件×7パターン=21条件）。試験体は，4プライ，幅105mm×厚さ105mm，長さ400mmで，試験体数は各条件につき3体とした。ラミナのヤング率は10~14kN/mm²の範囲とし，心持ち材は使用しなかった。ラミナの乾燥条件は表1に概要を示すI~IIIの3条件とした。ラミナの乾燥前の寸法は幅119mm×厚さ37mm×長さ1000mmで，乾燥後に幅108mm×厚さ30mmに仕上げ，長さ400mmにカ

ットした。カット時に，節等の欠点ができる限り含まれないように留意した。接着直前に厚さを27mmに仕上げ，接着後，幅105mm×厚さ105mm（105角）に仕上げた。接着剤は水性高分子ーイソシアネート系接着剤を用い，接着剤塗布量250g/m²，圧縮圧力1.0N/mm²，圧縮時間60分の条件で接着した。接着作業の様子を写真2に，作製した試験体の例を写真3に示す。仕組みパターンは図2に示す①~⑦の



写真1 乾燥による割れが生じた集成材の例

表1 乾燥条件I~IIIの概要

乾燥条件	乾燥時間 ^{*1} (h)	目標含水率 ^{*2} (%)	含水率 ^{*3} (%)
乾燥条件I	84.5	8→10	10.8
乾燥条件II	100.5	6→8	8.0
乾燥条件III	128.5	4→8	6.1

*1：イコライジング時間除く

*2：イコライジング前の目標含水率→最終的な目標含水率

*3：乾燥後のラミナより全乾法により求めた実測値



写真2 実験室での試験体の作製
① 製造条件の異なる集成材



写真3 作製した試験体
① 製造条件の異なる集成材

7パターンとした。なお、国内では慣例的に木表が表面側となるように貼り合わせられることが多いが（パターン①など）、欧州規格²⁾では、本報におけるパターン④および⑥が仕組みパターンとして規定されている。試験体は作製後、木口面をエポキシ樹脂で被覆し、20°C65%RH環境下で20~25日間養生、調湿した。



図1 仕組みパターン①~⑦の模式図

② -1 塗装および表層圧縮を行った集成材の作製方法

集成材工場にて4プライ（ラミナ厚≒30mm）、幅120×厚さ120mm、長さ3650mmのカラマツ集成材を製造し、これより試験体を採取した。ラミナのヤング率は10~13kN/mm²の範囲とし、心持ち材は使用しなかった。試験体をエンドマッチングさせることを目的に、縦継ぎは行わなかったため、反りが小さいラミナを使用した。接着剤は水性高分子ーイソシアネート系接着剤を用いた。集成材の製造時の様子を写真4に示す。集成材の仕組みパターンは図1における①および⑤とし、各パターンにつき3本製造した。各集成材は図2に示すように500mmにカットし、エンドマッチさせた試験体を各7体採取し、コントロールを除いて以下に示す(a)~(f)の表面処理を行った。また、カット時に集成材の中央部より含水率測定用の試験片を採取し、全乾法によって各処理前の集成材の含水率を測定した。ここで得られた平均含水率は11.3%であった。



写真4 工場での集成材の製造

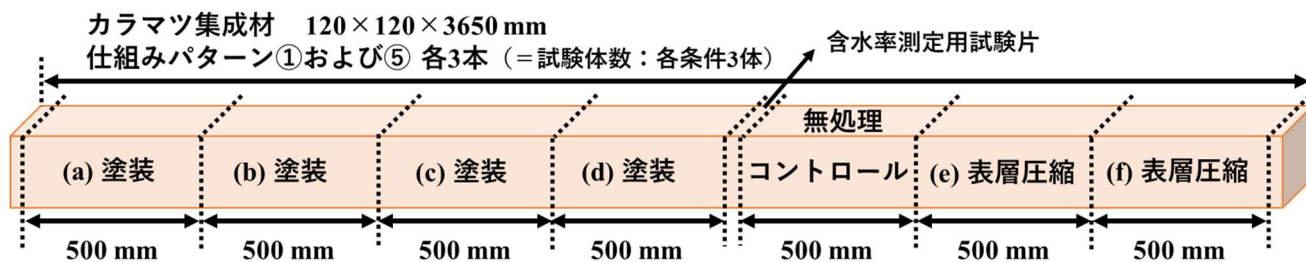


図2 塗装・表層圧縮試験体の作製方法

② -2 塗装

塗装処理は、木部用ウレタン艶消し塗料による塗装(a)~(c)およびポリエチレングリコール（以下、PEG）60%溶液の塗布(d)により行った。塗料による塗装は3条件を設定し、(a)は上塗りのみ、(b)は水性シーラーによる下塗りを、(d)は溶剤系ヤニ止めシーラーによる下塗りを行った。

② -3 表層圧縮

表層圧縮は小型のホットプレスを用い、集成材表面を選択的に熱圧縮することで行った。加熱および圧縮（熱圧）は1面ずつ実施した。加熱温度は(e)180°Cまたは(f)160°Cとした。プレスは、試験体に120秒間加熱を行った後、20秒かけて1mm圧縮し、その後15分間かけてセットを行った。また、圧縮後の隅角部の仕上がりを考慮して、圧縮前に2mmの面取り加工を行った。表層圧縮の概要を図3に示す。

以上に示した処理条件(a)~(f)を表2に整理する。試験体は塗装および表層圧縮を行った後、コントロールを含めて木口面をエポキシ樹脂で被覆し、20°C65%RH環境下で10日間以上養生、調湿した。

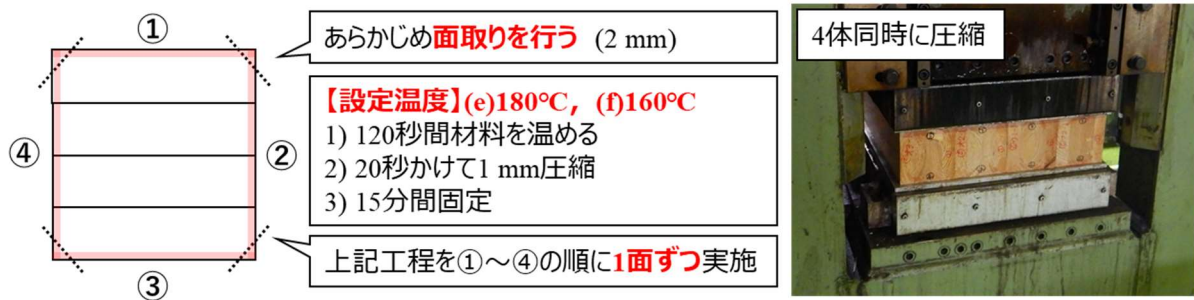


図3 表層圧縮の概要

【試験方法】

作製した試験体は、低湿度環境に設定した蒸気式乾燥機内で暴露を行った。暴露は、乾球温度 70℃・湿球温度 37~40℃ 環境 (≒13.0%RH~17.2%RH) で 14 日間行った。暴露試験の様子を写真5に示す。

暴露終了直後、各試験体の4側面に生じた割れの長さを測定した。割れは、最大幅が 0.05 mm 以上 (シクネスゲージに

より測定) のものを測定の対象とし、生節に生じた割れは対象外とした。なお、試験体両端部 50 mm に生じた割れは測定の対象から除外し、測定範囲は①の試験体については 300 mm, ②の試験体については 400 mm とした。割れについては複数現れることも多かったが、本報ではこれららを累計して評価した。割れの長さは幅面と厚さ面を別に集計した。図4に生じた割れの例および測定方法を示す。

条件ごとに、割れの長さの累計値を測定対象長さ(図4)の合計長さで除し、「割れの長さの割合」として評価した。

表2 実施した表面処理(塗装・表層圧縮)の一覧

塗装	(a)	上塗りのみ (ウレタン艶消し塗料)
	(b)	水性シーラー+上塗り (ウレタン艶消し塗料)
	(c)	溶剤系ヤニ止めシーラー+上塗り (ウレタン艶消し塗料)
	(d)	PEG 60%水溶液
表層圧縮	(e)	加熱温度160℃, 1面あたり1 mm圧縮
	(f)	加熱温度180℃, 1面あたり1 mm圧縮



写真5 暴露試験の様子

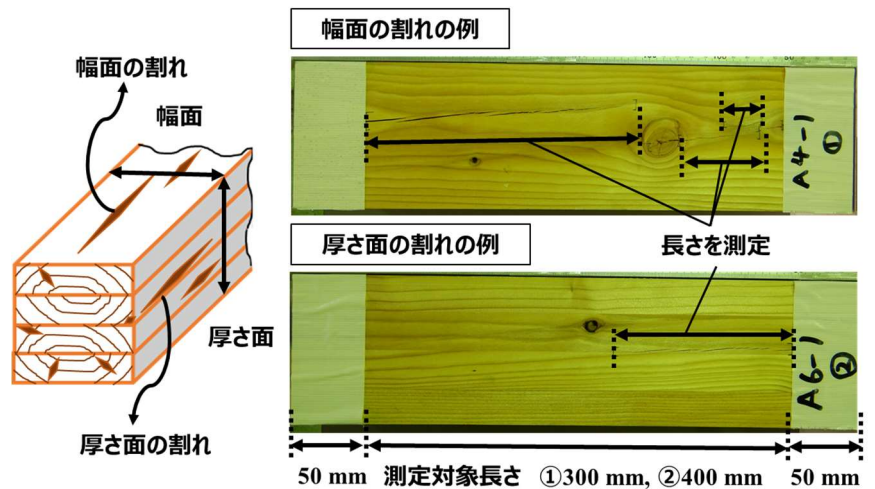


図4 各方向における割れの例と測定方法

【結果と考察】

① 製造条件の異なる集成材

幅面における測定結果を図5に示す。幅面では、目標含水率を通常(乾燥条件I)よりも低めに設定した条件(乾燥条件IIおよびIII)で乾燥させることにより、割れを大きく抑えられることが示された。また、いずれの乾燥条件であっても、最外層の表面を木裏(張り合わせパターン⑤~⑦)とすることで、割れは大幅に抑えられることが示された。ただし、この場合、一部の試験体で幅方向の面(木裏)において、目離れによるささくれが生じた(写真6)。

厚さ面における測定結果を図6に示す。幅面の割れに比べると、厚さ面の割れは小さかった。しかし、乾燥条件によらず一部の試験体で割れがみられた。

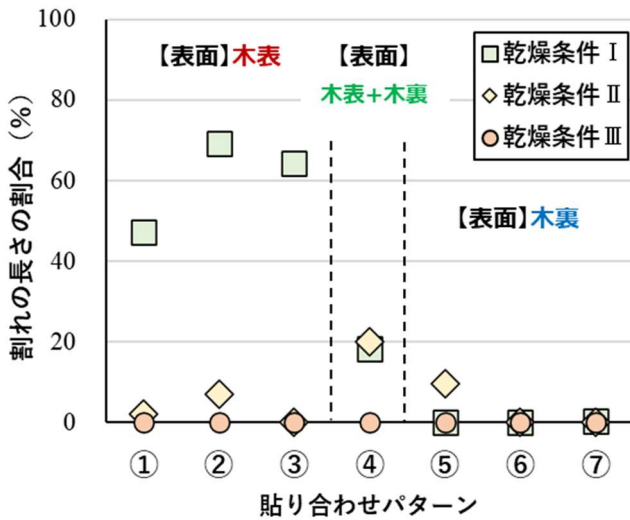


図5 幅面の割れの結果
(①製造条件の異なる集成材)

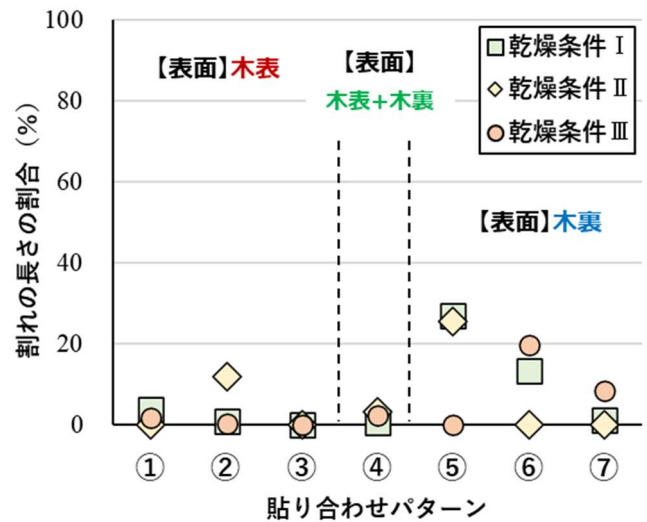


図6 厚さ面の割れの結果
(①製造条件の異なる集成材)

② 塗装および表層圧縮を行った集成材

幅方向における測定結果を図7に示す。いずれの条件においても、多少の抑止効果が示された。

厚さ面における測定結果を図8に示す。厚さ面においては、塗装による割れの抑止効果はみられなかったが、表層圧縮については効果が看取された。ただし、表層圧縮の実用を想定した場合、長大なホットプレスが必要となる。

表面を木裏とした仕組み（パターン⑤）においては、両面とも割れの発生が少なく、本報においては塗装および表層圧縮の効果を確認することができなかった。

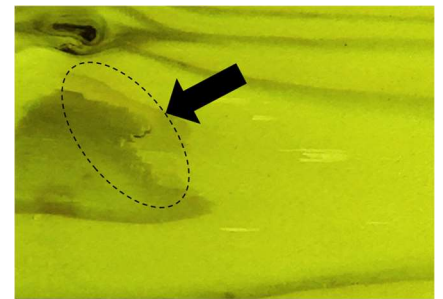


写真6 木裏に生じた目離れ

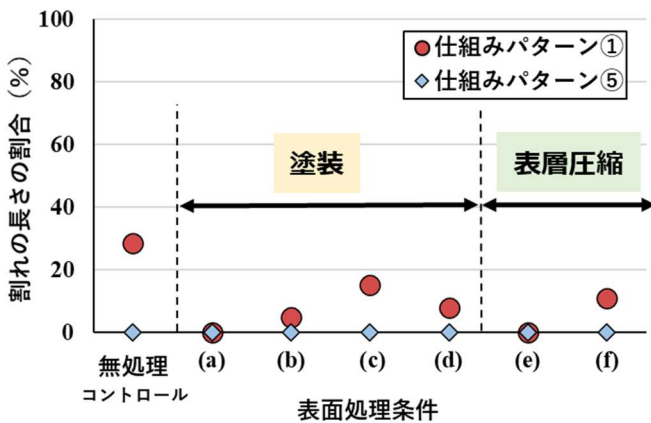


図7 幅面の割れの結果
(②塗装および表層圧縮を行った集成材)

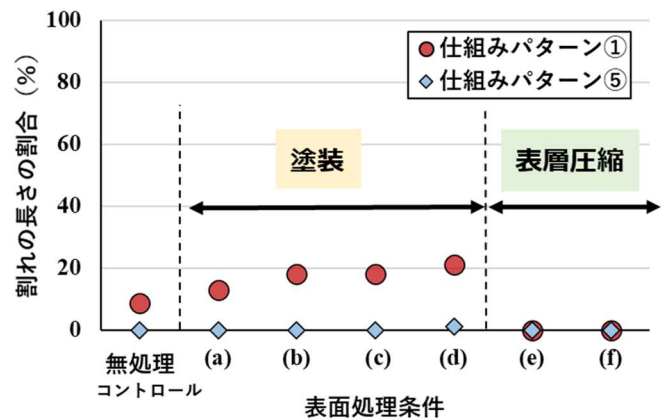


図8 厚さ面の割れの結果
(②塗装および表層圧縮を行った集成材)

なお、本報では 20%RH を下回る過酷な低湿度環境に長期間暴露したにも関わらず、①②いずれの試験体においても、厚さ面の割れの発生は少なかった。これは、芯持ち材を用いず、比較的高強度のラミナ、すなわち芯より離れた位置から採材した、年輪曲率が小さいラミナを用いたためと考えられる。今後は、実大サイズの試験体での検討に加え、使用するラミナの採取位置に着目した検証が必要であると考えられる。

【参考文献】

- 1) たとえば、森太郎ほか：日本建築学会技術報告集 24 (58) 1107-1112 (2018)
- 2) EN 14080: Timber structures -Glued laminated timber and glued solid timber-Requirements (2013)

Kraft lignin-based materials for electric double layer capacitor

○Nutthira Pakkang, Kengo Shigetomi, Yasumitsu Uraki (北大院農)

【Introduction】

Kraft lignin (KL) can be easily obtained from Kraft pulping process, which is the most popular pulping process all over the world. KL is mainly burned for energy recovery, which is considered as underutilization. Therefore, the development of value-added material from lignin is an essential topic for accelerating lignin utilization. This study aims to use hardwood kraft lignin (HKL) as a main feedstock to produce component parts of electric double layer capacitor (EDLC). EDLC is an electricity storage device, which is composed of electrode, separator, and electrolyte. In this study, the electrode and separator of EDLC was attempted to be prepared from HKL. HKL was converted to activated carbon fibers (ACFs) and used as an electrode material. For the separator, HKL was converted to a fiber sheet via electrospinning and thermostabilization. The HKL-based electrode and separator were assembled with ionic liquid (IL) electrolyte to EDLC, and an electrochemical performance of the resultant EDLC was investigated with respect to electrostatic capacitance, energy and power densities.

【Experimental】

Preparation of electrode from HKL: HKL dope was prepared by blending HKL with polyethylene glycol (PEG) with 500 kDa in binary solvents of dimethyl formamide and acetic acid solution (6:4). The dope was subjected to electrospinning to prepare a fiber sheet. Conductive carbon black (CB) suspended in acetone was sprayed during electrospinning. The prepared fiber sheet was thermostabilized, carbonized, and steam-activated to get ACFs mat. The resultant ACF mat was ground and mixed with carboxymethyl cellulose as a binder, then casted on aluminum sheet. The casted sheet was cut as circular shape and use as electrode.

Preparation of separator from HKL: HKL-based separator was prepared from the electrospun fiber sheet as described above, where the CB spraying step was omitted. The fiber sheet was subjected to thermostabilization. The thermostabilized sheet was cut into circular shape to use it as a separator.

EDLC assembly: Two pieces of the prepared electrode and the prepared separator were assembled as sandwich-like structure in EDLC cell, and several drops of IL (1-Ethyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate) electrolyte were placed on the top of piled sheets.

Electrochemical analysis: Electrostatic capacitance of the assembled EDLC was obtained from cyclic voltammetry (CV) and galvanostatic charge discharge (GCD). Intrinsic and charge transfer resistances were measured by means of Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). Energy and power densities was calculated from capacitance of GCD. Cyclic stability was evaluated from the capacitance for 100 cycles of GCD measurement.

【Results and Discussion】

An electrochemical performance of EDLC prepared from HKL-based electrode and separator exhibited be 91 and 114 F g⁻¹ of specific capacitance in CV and GCD, respectively, 49 Wh kg⁻¹ of energy density, and 178 kW kg⁻¹ of power density. The electrochemical performance EDLC from HKL-based electrode and commercially available separator (cellulosic separator) as a positive control was also investigated to compare with the HKL-based separator. The EDLC with cellulosic separator showed 88 and 105 F g⁻¹ of specific capacitance in CV and GCD, respectively, 45 Wh kg⁻¹ of energy density, and 42 kW kg⁻¹ of power density. Based on these results, EDLC prepared from HKL-based electrode and separator had higher electrochemical performance, especially in power density. This could be because electrolyte transportation through the HKL-based fiber sheet was easier than through the cellulosic separator due to the HKL fiber sheet had bigger vacant gap between fibers than that of cellulose separator. Thus, I successfully demonstrated EDLC assembly with HKL-based electrode and separator with high energy and power densities.

家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍室（約-18℃）を用いた シイタケ菌株の凍結保存の試み

○富樫 巖, 内海早智 (旭川高専)

【緒言】

食用菌・菌株の凍結保存では菌種・菌株・凍結保護液の組合せによる差異があるが、-20℃では超低温や液体窒素での保存と比べて生存率が低く、特にシイタケ (*Lentinula edodes*) とヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) は死滅し易い¹⁾。一方、演者らは食用菌・菌株の凍結保存の低コスト化から-20℃（定温制御の実験用冷凍庫）の利用可能性を検討²⁻⁸⁾してきた。その結果、シイタケとヒラタケの菌株においてグルコース、スクロース、マルトースなどの40%水溶液を凍結保護液に用いると10%グリセリン水溶液よりも生存率の改善が見込めること、凍結前に菌体ディスクを凍結保護液と共に25℃で24時間放置すると生存率が改善することを明らかにした⁵⁻⁸⁾。

本研究では、更なるコスト低減を図るために庫内温度に変動が生じる家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍室でシイタケ菌株の凍結保存の可能性を検討した。凍結保護液にはグルコースとスクロースの両水溶液および塩化ナトリウム水溶液を用い、前処理なしで約半年間凍結した場合の生存率を経時的に観察した。

【実験方法】

供試菌株と保存用菌体ディスクの調製方法

シイタケ菌株には旭川高専保存株のANCT-05072, ANCT-05152, ANCT-09005 および ANCT-12001 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14日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

グルコースとスクロースの10~40% (w/w) 水溶液、塩化ナトリウムの1~4% (w/w) 水溶液および純水を121℃・15分間の高圧蒸気滅菌後に凍結保護液として供試した。同保護液のpH (25℃) はニッコー・ハンセン社製pH計、Aw (25℃) はアイネクス社製Pawkitで測定した。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。前処理なしで家庭用冷凍冷蔵庫（401L, 日立製作所製）の冷凍室（24時間平均温度：-18.6℃, 温度幅：-20.1~-12.3℃；図1参照：アズワン製簡易データロガーDL171での測定）へ最大180日間投入した。

解凍方法と生存率の測定

経時的にチューブをサンプリングし、30℃のインキュベーターに20分間投入して解凍した。1枚のPDA平板培地に解凍後の菌体ディスク5個を接種して25℃で10日間培養した。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%となる。

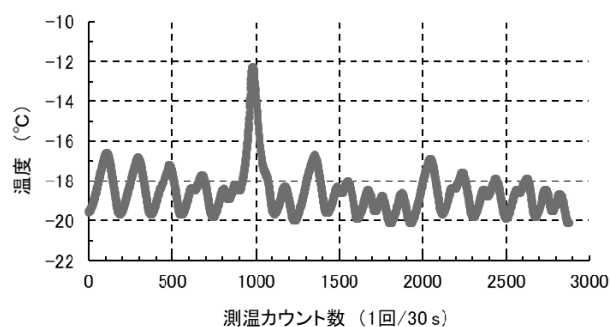


図1. 供試した家庭用冷蔵冷凍庫の冷凍室における
24時間の温度変化

注) 横軸は30秒間毎に温度測定したカウント数を示す(24時間で2880回)；24時間クローズ状態での平均温度：-18.6℃, 同変温値：-20.1~-12.3℃, 同-17.0℃以上の時間：51分間

【結果および考察】

10~40% グルコース水溶液を用いてシイタケ 4 株の凍結保存を 120 日間試み、菌体ディスクの菌糸再生挙動（生存率変化）を観察した。同様に 10~40% スクロース水溶液を用いて凍結保存を 180 日間試みた。菌糸再生挙動例として 40% スクロース水溶液と ANCT-12001 の組合せを図 2 示す。グルコースやスクロースの濃度と菌株の組合せによって結果は異なるが、全体的には凍結期間が延びることで菌株の生存率 100% 維持が難しくなり、菌体ディスクからの菌糸再生が遅くなる傾向がみられた。

図 3 と図 4 には 4 株の凍結期間と生存率 100% 到達に要した培養日数との関係を、それぞれグルコース濃度とスクロース濃度ごとに示す。両図中に棒グラフが示されていない試験区の生存率は 0~80% である。全体的には糖濃度上昇と共に生存率の改善傾向がみられる。図 4 の ANCT-05072 ではスクロース濃度に関わらず凍結 7 日間で生存率 100% 未満のため、図に棒グラフが示されていない（図 3 のグルコース水溶液では凍結 28~35 日間まで生存率 100% が維持された）。残り 3 株ではスクロース濃度の上昇と共に生存率 100% 維持期間が延びた。生存率 100% 維持期間の長さなどからグルコース水溶液よりスクロース水溶液の凍結保存性能が優れる傾向がみられた。

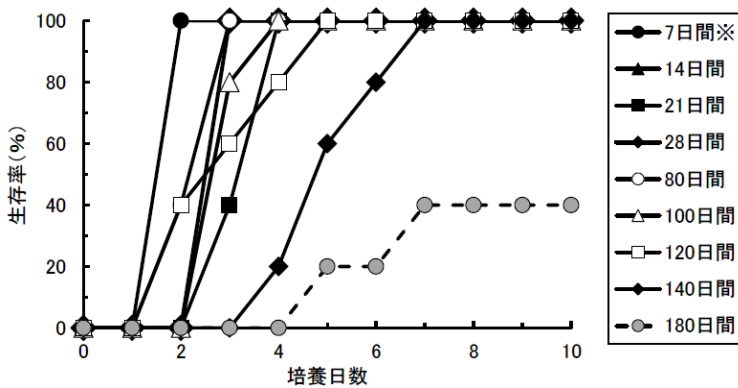


図 2. 40% (w/w) スクロース水溶液で凍結保存した ANCT-12001 の菌糸再生挙動 (25°C)
 ※ : 35 日間, 42 日間, 49 日間, 56 日間, 63 日間および 70 日間が同じ挙動

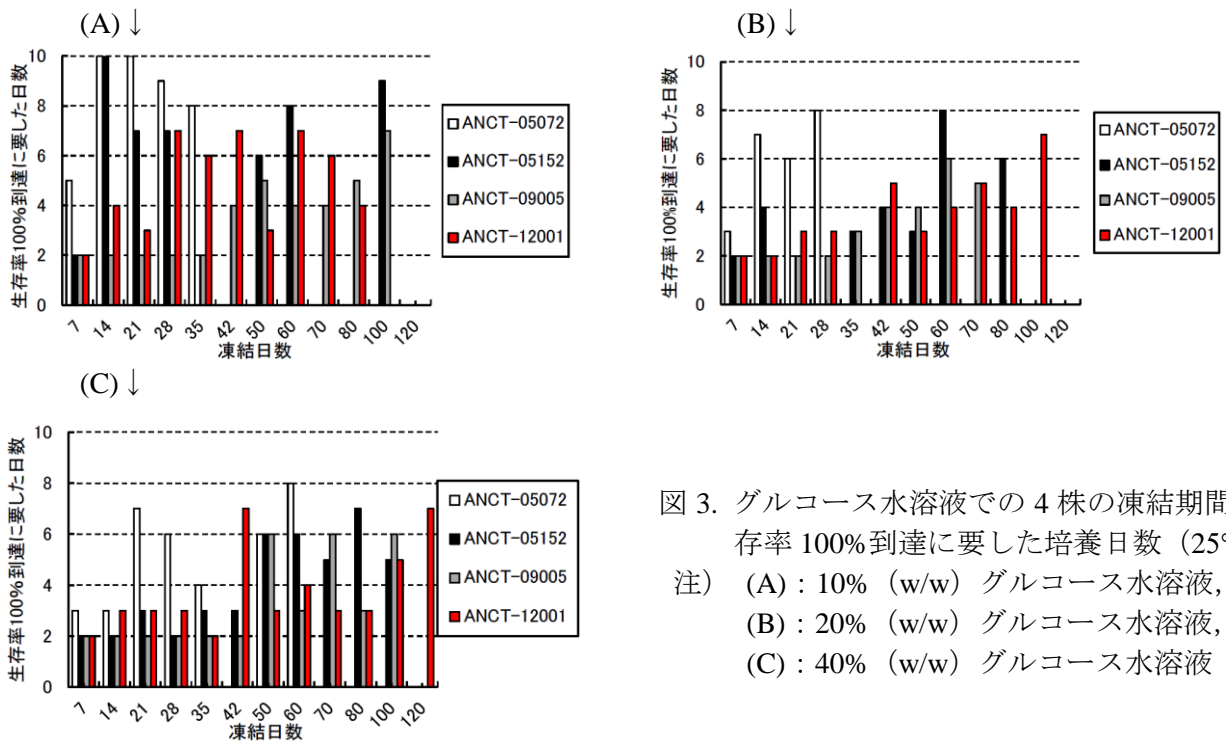


図 3. グルコース水溶液での 4 株の凍結期間と生存率 100% 到達に要した培養日数 (25°C)
 注) (A) : 10% (w/w) グルコース水溶液,
 (B) : 20% (w/w) グルコース水溶液,
 (C) : 40% (w/w) グルコース水溶液

1~4% 塩化ナトリウム水溶液での結果を表 1 に示す。菌株によって生存率挙動は異なるが、塩化ナトリウムの濃度上昇により生存率 100% 維持期間の短縮や生存率の低下傾向がみられた。両糖類水溶液よりも生存率 100% 維持期間が短く、ANCT-09005 の 1~2% (w/w) を除くと 7 日間以内であった。データは

示していないが、純水を用いた場合には ANCT-05072 の生存率 100%維持期間は 7 日間未満、その他 3 株の生存率 100%維持期間は 7 日間と短く、塩化ナトリウム水溶液と同程度かそれ以下の凍結保護性能であった。

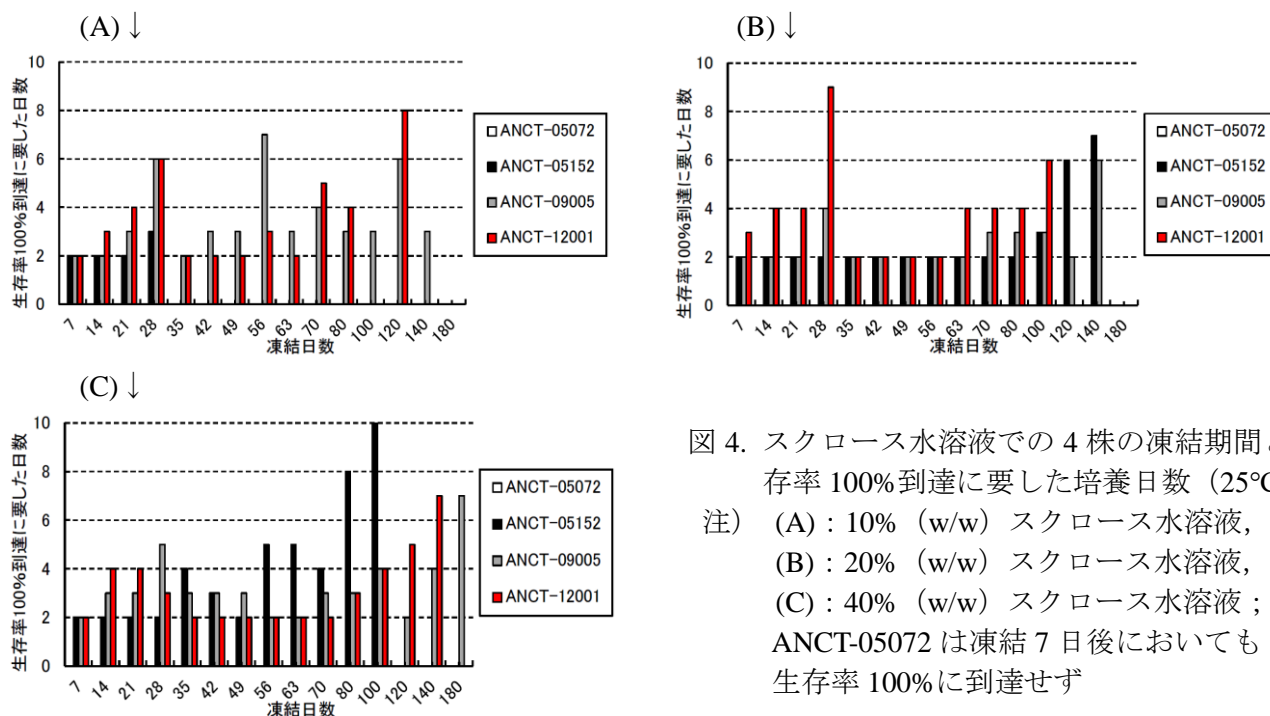


図 4. スクロース水溶液での 4 株の凍結期間と生存率 100% 到達に要した培養日数 (25°C)
 注) (A) : 10% (w/w) スクロース水溶液,
 (B) : 20% (w/w) スクロース水溶液,
 (C) : 40% (w/w) スクロース水溶液 ;
 ANCT-05072 は凍結 7 日後においても生存率 100% に到達せず

表 1. 塩化ナトリウム水溶液を用いた凍結期間と 4 株の生存率 (25°C)

供試菌株	NaCl 水溶液濃度 (% (w/w))	家庭用冷凍庫での生存率 (%) ^{a)}							
		凍結期間 (日)							
		3	5	7	14	21	28	42	60
ANCT-05072	1	100	100	100	20	0	0		
	2	100	100	100	60	0	0		
	4	100	100	100	0	0	0		
ANCT-05152	1	100	100	100	80	60	20		
	2	100	100	100	60	0	0		
	4	100	100	60	20	0	0		
ANCT-09005	1	100	100	100	100	100	100	100	80
	2	100	100	100	100	40	40	40	80
	4	100	100	100	80	100	40	0	0
ANCT-12001	1	100	100	100	40	0			
	2	100	100	80	20	0			
	4	60	40	20	0	0			

a) : 平板培地へ接種した 1 組 5 個の菌体ディスクの全てに菌糸活着が生じると生存率=100%
 注) 生存率の記載がないものは未測定

表 2 には各凍結保護液の pH と Aw を示す。いずれの水溶液も溶質の濃度上昇に伴って pH (25°C) と Aw (25°C) が低下した。塩化ナトリウム水溶液は両糖類水溶液と比較して pH が高めで、Aw は同程度であった。-20°C でシイタケなど食用菌の菌糸体が死滅し易い主要因としては、凍結により菌糸体の細胞の内外に氷の核が形成し、それが結晶成長し易い温度であるために物理的な細胞損傷に至る⁹⁾と考えられる。凍結保護液に高濃度糖水溶液 (Aw 値が低い) を用いると菌体ディスク (寒天ゲルと菌糸細胞) への各糖分子の取り込みが生じ、特に凍結中の高い浸透圧によって菌糸細胞の脱水が生じ、細胞内のガラス

化や細胞内の水分子の結合水化が促進される可能性^{10,11)}が考えられる。寒天ゲル内の氷晶成長の抑制も生じることで細胞外部からの物理的なダメージも減少し⁵⁾、菌糸体の生存率が改善すると推察する。しかし、塩化ナトリウム水溶液では純水とほぼ同様にシイタケの生存率が低かったことから、Aw や浸透圧の物性以外に塩化ナトリウムそのものの影響があると考察する。

表 2. 各凍結保護液の pH と Aw

凍結保護液 (濃度 : % (w/w))	pH (25°C)	Aw(25°C)
グルコース水溶液	(10)	4.4
	(20)	4.2
	(40)	4.0
スクロース水溶液	(10)	4.8
	(20)	4.7
	(40)	4.7
NaCl 水溶液	(1)	5.7
	(2)	5.4
	(4)	5.2
純 水	6.0	1.00

本研究で用いた 2 株 (ANCT-05072, ANCT-05152) と 40% の両糖類水溶液の組合せ (前処理なしの試験区) は、これまでに報告した -20°C 定温制御の冷凍庫での凍結保存データがある^{6,7)}。ANCT-05072 の 40% グルコース水溶液では 28~35 日間を超える凍結で生存率 100% 維持が難しくなる共通点、ANCT-05152 の 40% グルコース水溶液では 100 日間を超える凍結で生存率 100% 維持が難しくなる共通点がそれぞれみられた。ANCT-05152 の 40% スクロース水溶液の比較ではいずれも凍結 80 日間程度まで生存率 100% 維持された。今回の ANCT-05072 とスクロース水溶液の組合せの生存率の低さから菌株によって挙動が異なる可能性は無視できないが、シイタケ菌株の半年程度の凍結保存では家庭用冷凍庫と -20°C 定温制御の冷凍庫の生存率間に極端な差異は生じなかったと判断する。

【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°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, 幸田有以 : シイタケ菌糸体の -20°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°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°C と -50°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) 富樫 巖, 梶 暉, 横田喬央 : シイタケ菌糸体の -20°C 凍結保存における前処理の効果. *New Food Industry*, **63**(3), 177-184 (2021).
- 7) 富樫 巖, 西脇綾乃, 村上希生, 梶 暉, 鬼柳春花, 横田喬央 : シイタケ菌糸体の -20°C 凍結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～. *New Food Industry*, **63**(5), 360-366 (2021).
- 8) 富樫 巖, 村上希生, 川島 萌 : シイタケ菌株とヒラタケ菌株の -20°C 凍結保存における前処理時間の影響. *New Food Industry*, **63**(8), 555-564 (2021).
- 9) 白樫 了 : 糖類 (トレハロース) の細胞内凍結抑制? . *生産研究*, **55**(2), 150-152 (2003).
- 10) 渡辺 信 : 環境問題と微生物の保存. *環境技術*, **27**(7), 485-487 (1998).
- 11) 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.

カツラ樹皮に検出された氷核活性の性質

○古賀泰雅¹, 鉄穴口晃¹, 鈴木伸吾^{1,2}, 重富顕吾¹, 荒川圭太¹ (¹北大院農, ²北大院歯)

【緒言】

樹木は氷点下温度に適応するために細胞外凍結や器官外凍結という凍結挙動を示すことが広く知られている。これらの凍結挙動では、細胞内より先に細胞外の水が凍結する。細胞外で水の凍結が始まると、細胞外の氷晶と細胞内の過冷却水の間蒸気圧差が生じるため、細胞内から細胞外へと脱水が起こる⁽¹⁾。その結果、細胞質は濃縮され溶質濃度が増加し、植物にとって致命的な細胞内の凍結は抑制されると考えられている。

これらの凍結挙動の初発要因は細胞外で凍結が生じることである。細胞外の凍結を誘導する因子の1つとして、細胞外に水の凍結を促進する活性(氷核活性)の存在することが挙げられる⁽²⁾。植物の凍結に関わるものとして、着生氷核細菌に由来する氷核タンパク質が広く研究されており、その構造的特徴や関連する遺伝子が明らかにされてきた。一方、植物自体も内的な氷核活性を持つと考えられているが、それに関する研究例は未だ少なく、植物由来の氷核活性物質の特定に至った例はさらに少ない⁽³⁾。本研究は、過去の報告⁽⁴⁾でカツラ(*Cercidiphyllum japonicum*)の樹皮に検出された氷核活性について、この活性に關与する物質の精製を試み、同じ化合物群に類する物質と活性を比較した。

【実験方法】

氷核活性の測定

氷核活性は熱分析法によって評価した。0.2 mL マイクロチューブに分注した試料を0.2°C/分の速度で冷却し、温度変化を熱電対で経時的に記録した。潜熱の放出による昇温を検出しはじめた瞬間を凍結開始とみなし、凍結温度と表した。凍結温度を試料と対照区で比較し、対照区よりも試料の凍結温度が高かった場合、その温度差を氷核活性とみなした。

試料の調製

試料の調製は鉄穴口⁽⁴⁾の手法を一部改変して行った。2019年に採取したカツラ樹皮を液体窒素下で磨砕し、ポリビニルピロリドンを追加した。これに対して抽出バッファー[50 mM MOPS-NaOH (pH 7.0), 0.5 M ソルビトール, 0.15 M NaCl, 5 mM EDTA, 5 mM K₂S₂O₅]を加えて細胞内容物等を抽出した後、遠心分離(4°C, 12,000 ×g, 20分間)して上清と沈殿に分画した。上清は再度遠心分離(4°C, 15,000 ×g, 20分間)して不溶物を除き、細胞内容物を主に含む可溶性画分とした。沈殿は十分量の超純水で洗浄することで細胞壁を含む不溶性画分とした。さらに不溶性画分を超純水で抽出することで得た抽出液を0.2 μm フィルターで濾過し、水抽出画分とした。

氷核活性の性質評価

水抽出画分に検出された氷核活性の性質を調べるために、水抽出画分に対して分子量分画、熱処理、酵素処理、酸・塩基処理、過ヨウ素酸ナトリウム処理を行った。分子量による分画には限外濾過装置(Microcon® UltracelYM-100 [分画分子量 100,000], Nanosep with 300K Omega [分画分子量 300,000], VIVASPIN 500 [分画分子量 1,000,000])を用いた。熱処理の条件は95°C、15分とした。酵素処理にはプロテアーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼを用いた。酸・塩基処理には塩酸、水酸化ナトリウムを用い、高温条件(80°C)および常温条件(23°C)で処理した。各処理による氷核活性の変化を測定し、氷核活性が有意に低下した場合、その処理に対して感受性であると評価した。

氷核活性物質の精製および精製物の活性評価

冬季のカツラ樹皮 100 g を用いて氷核活性物質の精製を試みた。先述の方法に準じて、水抽出画分 800 mL を調製した。これに対して、分子量分画、熱処理、酵素処理を順次行った (Fig.1)。すなわち、分子量分画によって、主に活性に関与しないと考えられる低分子化合物を除いた。次に、熱処理によって変性して不溶化するようなタンパク質を除いた。さらに、酵素処理によって、微量に含まれる可能性のあるセルロースやペクチンを除いた。

精製物は様々な濃度で超純水に溶解させ、氷核活性を測定した。さらに、いくつかの多糖類と氷核活性を比較した。多糖類には、樹木の主要成分であるセルロースやヘミセルロースに類するキシランとアラビノガラクトマンナン、増粘多糖類であるグアーガムとキサンタンガム、真菌類の細胞壁構成要素であるキチンを用いた。各多糖類を 1.0 mg/mL の濃度で超純水に溶解または攪拌させ、氷核活性を測定した。

【結果および考察】

カツラ樹皮から調製した 3 つ画分のうち、水抽出画分に最も高い氷核活性が検出された。この結果は鉄穴口ら⁽⁴⁾の報告と一致するものであった。

次に、水抽出画分に検出された氷核活性の性質を評価した。この氷核活性はプロテアーゼ処理や熱処理によって活性が低下しなかったため、タンパク質とは異なる物質が活性に関与すると考えられた。また、常温での塩酸処理による活性の低下は確認されなかった。この結果は、植物由来の氷核活性物質として特定されているシュウ酸カルシウム水和物⁽²⁾とも異なる物質がこの活性に関与することを示唆した。一方、高温条件下での塩酸処理による活性の低下や、塩基処理による活性の低下が確認された。さらに、過ヨウ素酸ナトリウム処理に対しても感受性を示した。これらの処理に対する感受性は氷核活性物質が糖類であることを示唆した。加えて、分子量分画を行ったところ、分子量 300,000~1,000,000 の画分に活性が検出されたことから、氷核活性物質が分子量 300,000~1,000,000 の高分子であることが示唆された。なお、セルラーゼ、ペクチナーゼ処理には非感受性であったことから、この氷核活性物質はセルロースやペクチンと異なるものであると思われた。以上から、セルロースやペクチンと異なる多糖類(分子量 300,000~1,000,000)が氷核活性に関与していると考えられた。

これらの性質を踏まえ、氷核活性物質の精製を試みた。精製過程で得られた画分のうち、高分子画分、熱可溶性画分、精製画分の 3 つに水抽出画分の氷核活性は維持されたため、目的物質の精製にできたと考えられた。なお、2019 年の試料からは 3.73 mg、2020 年の試料からは 4.01 mg の精製画分を回収した。この精製物は 0.1 µg/mL 以上の濃度で 15°C 前後の氷核活性を維持し、それ以下では活性が低下した。

他の多糖類の氷核活性を測定したところ、精製物のような氷核活性は現在のところ検出されていない。セルロースやヘミセルロースのような樹木の主要成分よりも精製物は有意に高い氷核活性を示すことから、この精製物が樹体内での凍結開始に寄与する可能性は十分に考えられる。加えて、カツラ樹皮由来の精製物が他の多糖類と異なり氷核活性を示すことは、化合物の構造と機能の関係の観点から興味深く、現在、この精製物の構造的特徴を明らかにするために研究を進めている。

【引用文献】

- (1) Fujikawa S: Plant responses to freezing, eLS Wiley, Chichester, 1-9 (2016)
- (2) Sakai A, Larcher W: Frost survival of plants: responses and adaptation to freezing stress, ecological studies, Vol. 62, Springer-Verlag, Berlin (1987)
- (3) 石川雅也、野村孝之、槌谷明日香: シュウ酸カルシウムを含む氷核活性剤, 特許第 6029058 号 (2016)
- (4) 鉄穴口晃、鈴木伸吾、荒川圭太: カツラ樹皮から検出された氷核活性に関する基礎研究, 日本木材学会, 第 68 回日本木材学会大会(京都大会)要旨 (2018)

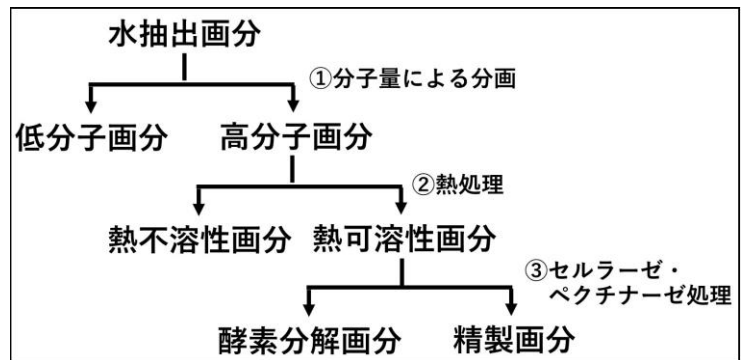


Fig. 1. 氷核活性物質の精製手順

イチイの腐朽被害木の木部組織における水分分布と細胞内容物、菌糸体の観察

○金子遥香, 佐野雄三 (北大農)

【緒言】

樹木は、木部に達する傷害や木材腐朽菌の侵入を受けると、これら傷害や腐朽の拡大を阻止して形成層活動や通水機能を維持する必要がある。木部における防御は CODIT モデルや反応帯モデルを用いて一般化されるが、防御力の強さの樹種間差が生じる要因などの詳しいことは明らかになっていない。

これまで演者らは、高い防御機能を持つことが示唆されたがその機能発揮メカニズムについては未解明である樹種としてイチイ (*Taxus cuspidata*) を取り上げ、イチイの腐朽被害木を用いて、光学顕微鏡による木部組織や菌糸分布の観察、軟 X 線写真法や全乾法による水分分布観察を行ってきた。そして、露出木部周辺に帯線が存在し、帯線を境にして、木部が露出している側の材部は乾燥している一方で、反対側の材部は多湿化していたこと、この乾燥材部側では菌糸が見られるのに対し、多湿材側では菌糸が見られなかったこと、傷の巻き込み部分などに不整年輪が頻出し、その年輪界に沿って並ぶ傷害性の軸方向柔細胞とみなされる細胞群が存在していたことを報告している¹⁾。そのほか、帯線の乾燥材部側に、内容物の詰まった仮道管も多数観察された。

本研究では新たに、電界放出型走査型電子顕微鏡 (FE-SEM) を用いて木部組織や菌糸分布のより詳細な観察を行ったほか、顕微分光法を用いて細胞内容物の性状を調べたところ、より詳しい知見が得られたため、前報¹⁾の内容をまじえながら報告する。

【実験方法】

試料：北海道大学札幌キャンパスに植栽された、腐朽した木部の露出が顕著であるイチイ立木 2 本から採取し、FAA で固定後に保存していた液浸試料を用いた。

FE-SEM 観察：試料を水洗いしてトリミングをした後、凍結ステージを設置した滑走式マイクロトームによってそれぞれの観察面を平滑に凍結切削した。エタノールシリーズでの脱水後、臨界点乾燥を行い、SEM 試料台に接着、金・パラジウムコーティングし、観察を行った。

顕微分光法・紫外線 (UV) 顕微鏡写真撮影：試料を水洗いしてトリミングと面出しを行った後、樹脂 (Epon812) で包埋した。ウルトラマイクロトームで準超薄切片を切削し、石英ガラス上にグリセリンで封入して細胞内容物の吸光度の計測 (波長 250~400nm) と UV 顕写真撮影 (波長 280nm) を行った。また、比較のために、トルイジンブルー O で染色した準超薄切片を光学顕微鏡で観察した。

【結果および考察】

帯線周辺の木部組織・菌糸分布：帯線を境界に水分分布の異なる領域の木口面と板目面を FE-SEM で観察した結果、菌糸が充満している様子は乾燥材部側のみで観察され、多湿材部側には菌糸がほとんど存在しなかった (図 1, 2)。これは光学顕微鏡での観察結果¹⁾と一致している。乾燥材部側では、細胞壁が分解され、穴が開いている様子や、菌糸が内容物を含む放射柔細胞を貫通している様子も見られた。一方で、多湿材部側では細胞壁が分解されている様子は見られなかった。

乾燥材部側において、内容物の詰まった仮道管が多数存在し、その内容物は密に蓄積しているものと粒状の物質が疎らに蓄積しているものとがあった (図 3)。これらは、菌糸が仮道管内腔を通過して伸長していくことを防ぐために、仮道管を閉塞させることを目的に蓄積された物質であるとも考えられる。しかし、内容物の詰まった仮道管の内腔にも菌糸が多く観察され、周辺の仮道管にも菌糸が充満していたことから、帯線周辺における菌糸分布の制限は、これら仮道管の閉塞によるもの

ではなく、材の多湿化によるものである可能性が高い。また、これら仮道管の内容物は、光学顕微鏡で観察した場合、傷害性の軸方向柔組織の細胞内容物と形態や色が類似していた（図4~6）。

傷害性の軸方向柔組織の細胞内容物：不整年輪の年輪界に沿って並ぶ軸方向柔組織の細胞内には、無染色で褐色に見える内容物が一部もしくは全体的に蓄積していた（図5, 6）。また、仮道管の内容物と同様に、細胞内容物は密に蓄積したものと疎らに蓄積したものとがあった。それら傷害性の軸方向柔組織の細胞内容物について吸光度を測定した結果、どちらも波長280nm付近に吸収極大を持ち、吸収スペクトルが類似していた（グラフ1, 2）ことから、芳香族化合物であると考えられる。

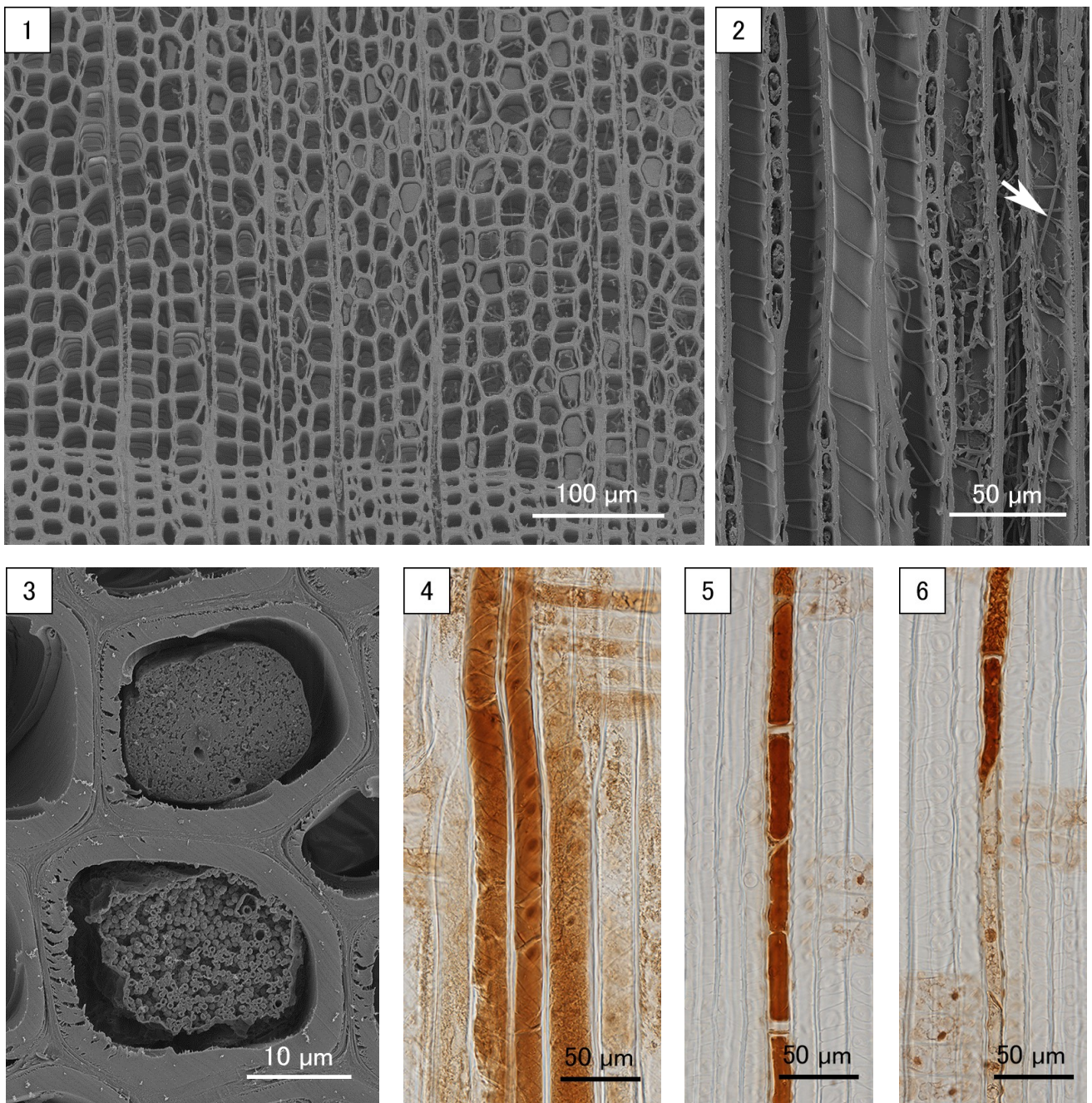


図 1, 2：帯線周辺の菌糸分布（FE-SEM 写真）。乾燥材部（右）には菌糸（矢印）が充満している一方で多湿材部（左）には菌糸が見られない。図1は木口面。図2は板目面。**図 3**：内容物の詰まった仮道管（FE-SEM 写真）。内容物は密に蓄積している場合（上）と粒状の物質が疎らに蓄積している場合（下）とがある。木口面。**図 4**：内容物の詰まった仮道管（光顕写真）無染色。柁目面。**図 5, 6**：傷害性の軸方向柔組織（光顕写真）無染色。柁目面。

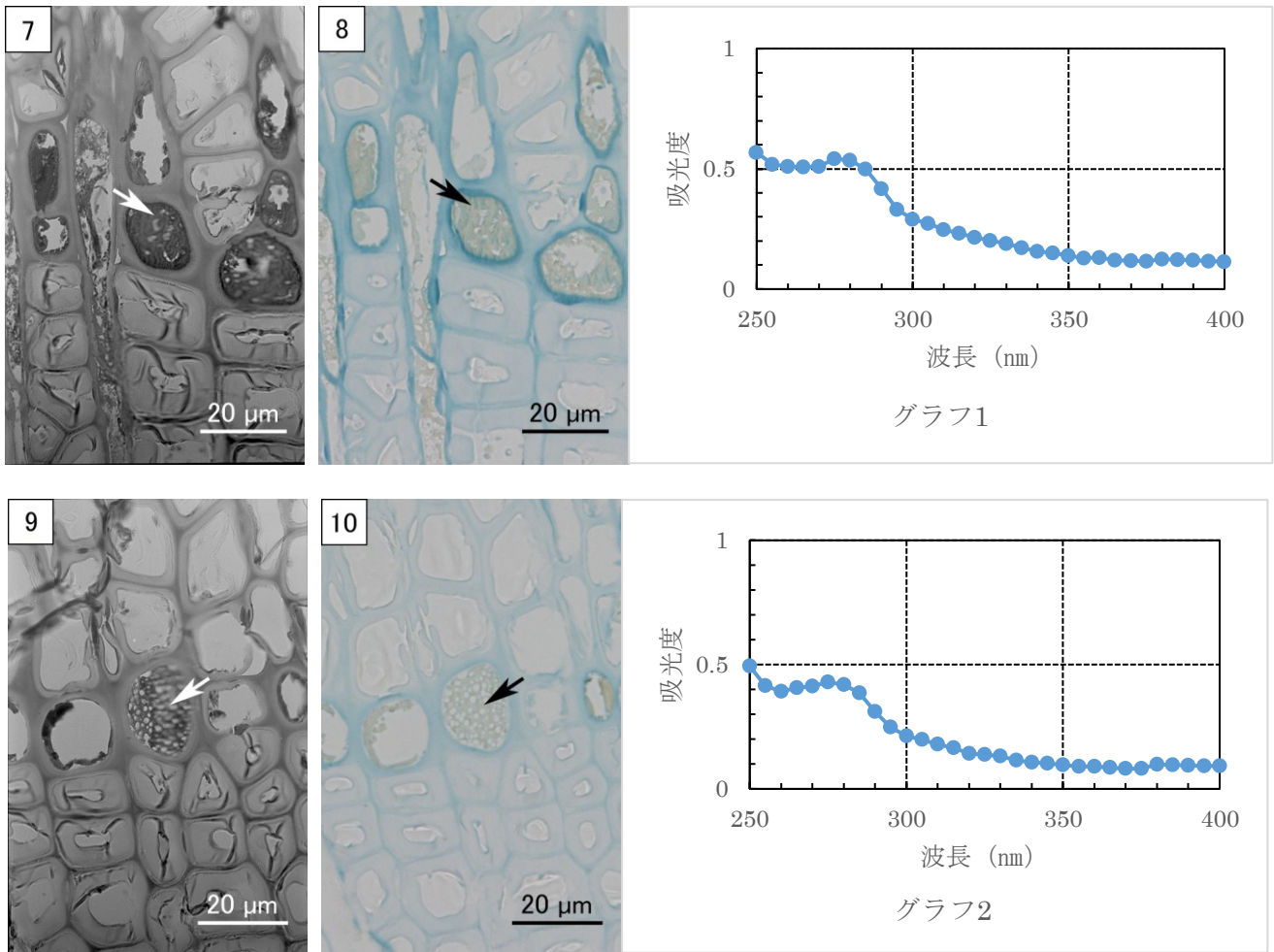


図 7, 8 : 傷害性の軸方向柔細胞の密に蓄積した内容物 (矢印). 図 7 は UV 顕写真. 図 8 は光顕写真でトルイジンブルー-O 染色. どちらも木口面. **図 9, 10** : 傷害性の軸方向柔細胞の疎らに蓄積している内容物 (矢印). 図 9 は UV 顕写真. 図 10 は光顕写真でトルイジンブルー-O 染色. どちらも木口面. **グラフ 1** : 図 7, 8 の細胞内容物 (矢印) の吸光スペクトル. **グラフ 2** : 図 9, 10 の細胞内容物 (矢印) の吸光スペクトル.

【引用文献】

- 1) 金子遥香, 佐野雄三 (2021) イチイの腐朽被害木における木部組織の解剖学的特徴と水分分布の観察. 第 71 回日本木材学会大会 研究発表要旨集.

カラマツおが粉を用いたヌメリスギタケ菌床栽培

○石黒蓮観, 幸田圭一, 玉井裕 (北大院農)

【緒言】

食用キノコの菌床栽培では一般に広葉樹のおが粉が用いられるが、入手難が懸念されているため代替材料の検討が必要である。針葉樹は抗菌性物質を多く含むため培地基材に適さないとされてきたが、ヌメリスギタケ(*Pholiota adiposa*)についてはスギでの栽培例があるため、北海道の主要造林樹種の一つであるカラマツにも利用できる可能性があると考えた。

また、ヤナギ由来水抽出物を培地に添加することでシイタケ菌の子実体収量が増加したという報告¹⁾や、ブナ木粉から抽出したジオキサリグニンにはシイタケ菌の栄養成長を促進する効果があるという報告²⁾があることから、広葉樹成分を培地に添加することでヌメリスギタケについても同様の効果が期待される。そこで、本研究ではカラマツおが粉を用いたヌメリスギタケ栽培に際し、広葉樹成分の添加効果を検討した。

【実験方法】

供試菌株はヌメリスギタケ KM-31 号(加川椎茸株式会社)を用いた。培地基材としてカラマツおが粉(10 mesh pass)を使用し、栄養材として小麦フスマ、ヤナギ微粉末およびカンバ微粉末(秋田木材高度加工研究所より提供)を補助的に添加した。850 mL 容の PP 製栽培瓶に培地を充填し、高圧滅菌(121°C、90 分)を行った。一晩放冷した後種菌を接種し、温度 20°C の暗所で 60 日間培養した。その後、菌掻き及び注水処理を行い、温度 15°C、湿度 90%、8 時間日長 (200 lx) で生育させた。栽培瓶毎の菌回り日数、原基形成日数および収量を記録した。

【結果および考察】

微粉末置換区では菌回り日数が短縮された(Table 1)。原基形成日数はカンバ 20%置換区では未置換区と同等であったが、それ以外の置換区では短縮された。収量はヤナギ 30%置換区では未置換区よりも減少したが、それ以外の置換区では増加した。ヤナギ 20%置換区及びカンバ 30%置換区の収量はヤナギ 30%置換区の収量と比べて有意に増加した。最適置換率は微粉末の樹種毎に異なった。微粉末置換区では未置換区よりも培地に含まれる栄養材が少ないものの収量が増加したことから、ヌメリスギタケは広葉樹成分の存在下でカラマツおが粉をより多く分解、利用したと考えられた。カラマツを培地基材とした場合の収量は 50 g 程度ではあるが、微粉末の効果によりさらなる増収が見込めることからカラマツはヌメリスギタケの培地基材として有望と結論付けた。

Table 1 Effect of replacement rate with fine wood powder on cultivation of *Pholiota adiposa*.

Fine powder	Replacement rate(%)	Spawn running period(day)	Primordia formation period(day)	Fruit-body yield (g/bottle)
—	—	30.0±0.9	9.2±0.9	53.4±3.4 ab
Willow	20	26.4±0.9	7.4±0.2	62.2±1.5 a
	30	27.6±1.3	6.8±0.6	50.8±2.4 b
Birch	20	26.6±0.7	8.8±0.7	61.1±2.3 ab
	30	26.2±0.5	8.2±1.6	63.3±1.6 a

【引用文献】

- 1) 原田陽・折橋健・檜山亮：日本きのこ学会第 23 回大会講演要旨集, 兵庫, 43 (2019)
- 2) 河村のり子・後藤正夫・中村嘉宏：日本菌学会会報, 24(2), 213-222 (1983)

酒粕を用いた菌根菌の培養

○若林璃玖, 幸田圭一, 玉井裕 (北大院農)

【緒言】

菌根菌は種々の樹木と共生する真菌類であり、宿主樹木による光合成の同化産物を栄養源としている。菌根菌の人工栽培へのアプローチとして、樹木の実生に培養した種菌を接種する試みがなされており、菌根菌を効率的に培養するためには、培養基の最適化が不可欠である¹⁾。酒粕は清酒の製造の副産物として得られる白色の固形物であり、非常に栄養価が高い。これまでに木材腐朽菌であるヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) の菌床栽培において、酒粕を添加することにより子実体収量が改善されたと報告されており²⁾、酒粕は真菌の良好な栄養源となりうる。そこで本研究では、菌根菌の純粋培養における栄養源としての酒粕の有効性について検討を行った。

【実験方法】

菌株はアカネショウロ (*Rhizopogon pseudoroseolus*) の RR 株を使用した。菌糸成長試験：水道水 1 L に対し酒粕 25 g、寒天 15 g を添加し、121°C で 15 分間、オートクレーブによる滅菌を行った後、70 mm シャーレに分注し酒粕寒天培地を調製した。浜田寒天培地を対照として、菌糸片を接種し、25°C、暗所で培養した。培養期間中は 5 日毎に 30 日まで菌叢直径を測定し、菌糸の成長量 (mm) 及び平均成長速度 (mm/day) を算出した。接種用培土の調製：酒粕液体培地で RR 株を約 2 ヶ月間前培養した。日向土を基盤とし、酒粕とカラマツ木炭粉を加えた培土を PP 製栽培袋に詰め、121°C で 40 分間、オートクレーブによる滅菌を行った。培土には RR 株を液体培地ごと接種した。実生への菌根菌接種：アカエゾマツ (*Picea glehnii*) の種子に浸漬処理を行い、発芽床において約 1 ヶ月育成したものを水耕栽培に移した。その水耕実生を種菌培土と共に、不織布育苗ポットに移植した。接種から 7 週後、実体顕微鏡により実生の根端を観察した。根毛が消失し、根の表面に菌糸の層 (マントル) が発達したものを外生菌根 (ECM) とみなし、発達段階のものを含めてカウントして菌根形成率を算出した。また、ECM を形成した根端から DNA の抽出を行い、rDNA の ITS 領域を PCR によって増幅し、塩基配列解析を行った。

【結果および考察】

アカネショウロ RR 株の菌糸成長の結果を Fig.1 に示した。培養中期 (10-15 days) では浜田寒天培地での成長速度は 1.2 mm/day であった一方、酒粕寒天培地においては 2.3 mm/day と 2 倍近い値を示していた。その後も酒粕寒天培地上で RR 株は安定した菌糸成長を示し、30 日目の成長量は酒粕で 64 mm、浜田で 42 mm となった。

RR 株を接種した培土は、顕微鏡観察によって白色の菌糸が定着していることが確認された。また、培土粒子から酒粕寒天培地へ再分離して形成された菌叢は RR 株のものであることが塩基配列からも確認された。

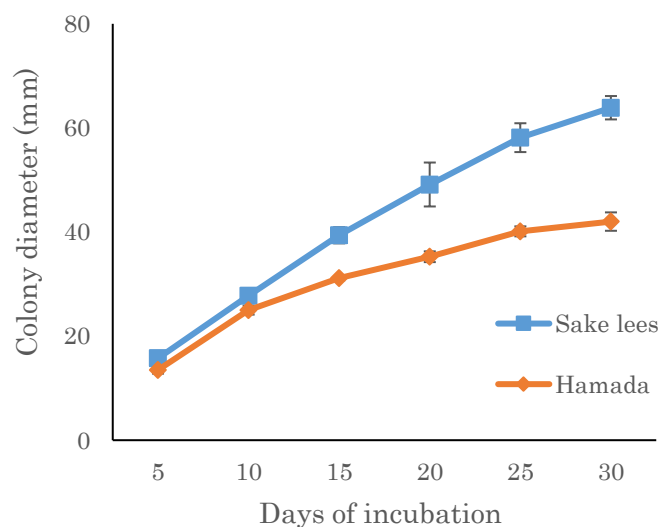


Fig.1 Mycelial growth of RR strain on two agar media (n=4).

アカエゾマツ実生への菌糸接種後 7 週目の根端の様子を Fig.2 に示した。根端は ECM 形成段階別に 4 つのタイプに大別された。各根端タイプの割合を Fig.3 に示した。完成した ECM の割合が 16.5% であり、発達段階のものも含めた形成率は 79.1% にも及んだ。また菌根の ITS 領域のシーケンスは BLAST 検索の結果、相同性 99.83% で *Rhizopogon pseudorozeolus* (Accession no.:MG773823) と一致し、本菌による菌根合成が確認された。

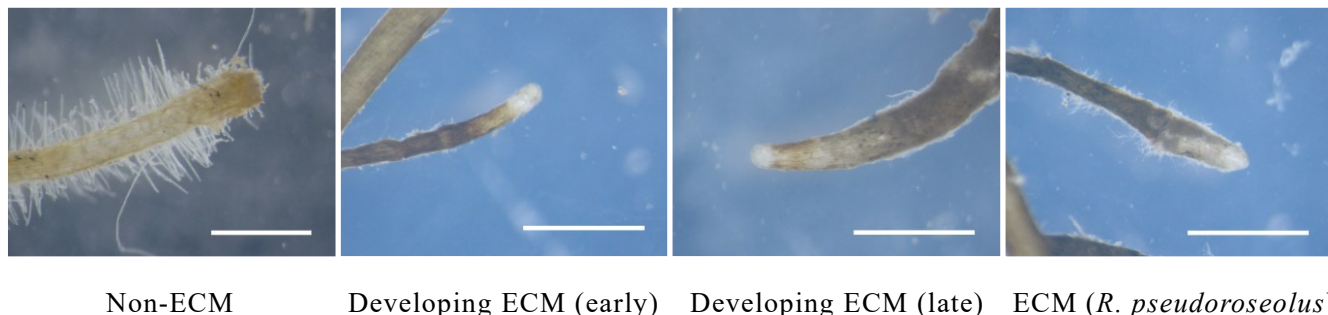


Fig.2 Root tips of *Picea glehnii* inoculated with *Rhizopogon pseudorozeolus* (bar = 1 mm).

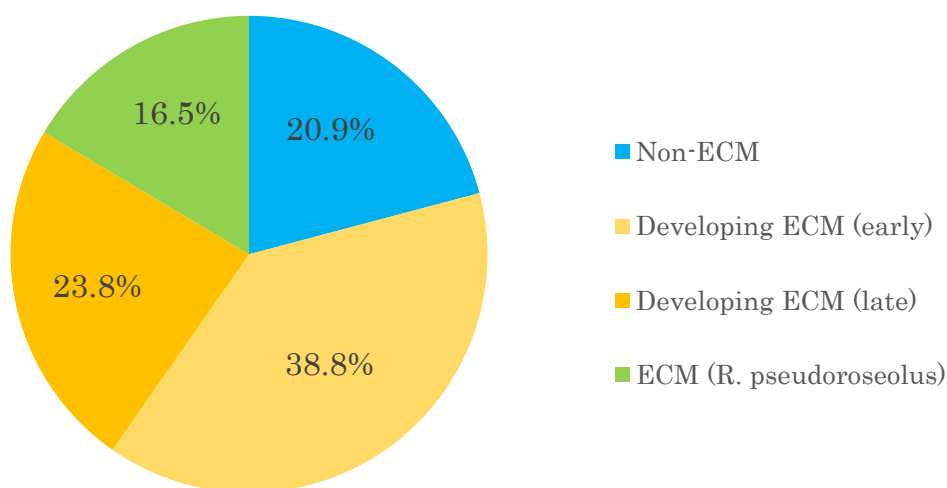


Fig.3 ECM formation rate of *Picea glehnii*.

以上より、アカネショウロ RR 株について、酒粕は良好な栄養源であることが判明し、菌根合成に使用する種菌の生産にも酒粕が有効であることが示された。今後は他の菌根菌種に対して同様に検証を行い、酒粕利用の幅を広げるとともに、最適な培地条件等を検討する必要がある。

引用文献

- 1) Vuorinen I., Hamberg L., Müller M., Seiskari P., Pennanen T. (2015) Development of growth media for solid substrate propagation of ectomycorrhizal fungi for inoculation of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings. *Mycorrhiza* 25: 311-324
- 2) 岡村徳光・野田裕子・星野由紀子・寒川恵美・上杉哲子・毛利明子・大杉匡弘 (1996) *Pleurotus ostreatus* 人工栽培における酒粕の利用. *日本食品科学工学会誌* 43: 333-335

日本木材学会 北海道支部講演集 第53号

令和3年10月19日 発行

編集人 幸田 圭一，北橋 善範，村上 了

発行人 平間 昭光

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
