

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658137

研究課題名(和文) バイオインサイジング可能な微生物の探索

研究課題名(英文) Discovering fungi for bioincising treatment

研究代表者

阪上 宏樹 (sakagami, hiroki)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：40604822

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では微生物を意図的に操作し、直接壁孔に穴をあけるバイオインサイジング技術に着目し、スギ心材の壁孔に限定して、最も効果の期待できる微生物を発見することである。全国各地から採取したスギの落枝およびスギ心材をスギ人工林内に設置して微生物を採取した結果、木材腐朽菌10種類、変色菌29種類、その他腐生菌65種類を得ることができた。木材腐朽菌10種類のうち6種類をスギの辺材、赤心心材、黒心心材の小試験片に1ヶ月間の接種試験を行ったところ、黒心材で2種類の微生物が木口面から15mm部位まで侵入していることがわかり、それらは壁孔を通過していることがわかった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is discovering the fungi which can selectively pass through encrusted bordered pits at tracheid of heartwood in Sugi. Broken bordered pits by fungi are expected to contribute the improvement of liquid permeability. Fungi were collected from Sugi fallen branches from all over Japan. Sugi traps for collecting fungi were also used in Okinawa and Hokkaido prefecture. 10 kinds of wood decay fungi, 29 kinds of stain fungi and 65 other kinds of fungi were isolated. 6 kinds of wood decay fungi were inoculated to sapwood, black-colored heartwood and red-colored heartwood of Sugi. The results were that only 2 kinds of decay fungi could pass through 15mm depth from transverse surface and fungi were detected at bordered pits in black-colored heartwood which possessed highest durability.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：バイオインサイジング ピットイーター 微生物 腐朽 スギ 赤心 黒心

## 1. 研究開始当初の背景

木材はサステナブル資源として地球温暖化問題を解決するために非常に注目されている材料である。しかし、木材は変形する、腐る、燃える、弱い等の欠点がある一方で、空隙を多く含み、構造が複雑かつ密度の割には強固な比強度が高い特徴もある。この特徴に着目し、様々な機能を有した液体、例えば木材保存剤や不燃剤、樹脂等を空隙に充填し、木材本来の性能を飛躍的に向上させた新機能を有する木質材料の開発が進んでいる。

しかし、一方で壁孔の存在が薬液の注入性を妨げているのが現状である。壁孔とは樹木が生きるために必要な水の流動を大きく制御している、弁のような役割を果たす組織であるが、木材として利用する際には大きな障害となる。木材利用には乾燥が必須だが、乾燥過程で壁孔が閉鎖し、本来可逆的に移動すると考えられている壁孔が固着して閉鎖してしまう。この閉鎖した壁孔が障害となり、透過能が極めて低下する。これに加え、心材化に伴う心材物質が細胞内壁に沈着し、開放されている壁孔さえも透過能を失ってしまう。

爆砕処理、化学処理、微生物処理、圧縮処理等で壁孔を破壊し、透過性を向上させる方法がこれまで検討されているが、実用化は難しい。現在、日本では針等で材に穿孔処理し、薬液を注入するインサイジング処理が主に使用されている。一方、ヨーロッパでは近年、白色腐朽菌(*P.vitreus*)を利用したバイオインサイジング処理(Schwarze ら,2006)が開発され、特許化されておりその技術が発展すれば木材表面付近のみならず内部の壁孔も破壊できる可能性がある。日本では主にスギ材が使用されているが、薬液の注入不良が非常に問題となっており、スギの壁孔を破壊できる微生物が発見できれば、スギ材内部まで薬液を充填できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

木材利用の促進には、木材内腔に様々な機能を有する液体を充填させて木材の性能を向上させる必要がある。そのためには液体浸透性能を著しく阻害する壁孔を破壊しなくては十分な効果が得られない。

本研究の目的は微生物を意図的に操作し、直接壁孔に孔を開けるバイオインサイジング技術に着目し、スギ心材の壁孔に限定して、最も効果の期待できる微生物を発見することである。最適な微生物が発見できれば、最適処理法の検討とその効果を評価することで、ある程度濃度の高い薬液でも木材に注入することができ、様々な新規性能を付与することで低迷する国産材スギの用途を拡大することが可能となる。

## 3. 研究の方法

### 1. 微生物の採取

微生物の採取方法はスギ人工林から落枝を採取して微生物を分離する方法とあらかじめスギ心材をトラップとして人工林に設

置した後に回収、分離する2通りの方法で微生物を採取した。落枝の採取地は、沖縄県、鹿児島県、宮崎県、大分県、福岡県、愛媛県、高知県、徳島県、島根県、鳥取県、広島県、新潟県、富山県、千葉県、秋田県、北海道のスギ人工林とした。採取した落枝表面を殺菌後、鉋で分割し、中心部分から小片を切り出して1% Malt 平板寒天培地上に設置した。培養した菌糸を2% Malt 平板寒天培地に移して純粋培養菌株を作製した。トラップによる採取方法は、琉球大学与那フィールド(沖縄県)に2012年4月から2013年12月まで、九州大学足寄演習林(北海道)内では2012年4月から2013年8月まで設置した3cm角のスギ心材(赤心および黒心)を落枝による採取と同様に表面を殺菌後、内部から小片を切り出して純粋培養した。

微生物の同定は光学顕微鏡による形態観察およびrDNAのLSU, D1/D2およびITS領域の塩基配列の相同性解析に基づき行った。

### 2. 微生物接種試験

採取した微生物がスギ材に与える影響を検討するため、まず、千葉県で採取した以下3種類の微生物を寒天培地上に培養した上に、一辺7mmのスギ辺材、赤心心材、黒心心材を1ヶ月間設置後、木材組織に与える影響を検討するため光学顕微鏡および電子顕微鏡にて木材内部を観察し、微生物の進入経路および組織構造の形態観察を行った。

*Fomitiporia torreyae*

*Botryosphaeria* sp.

*Fusarium* sp.

次に、千葉県以外で採取した微生物のうち、木材腐朽菌である以下の6種類の微生物を寒天培地上に培養した上に、木口面7mm×7mm、繊維方向30mmの細長いスギ辺材、赤心心材、黒心心材を1ヶ月間設置後、千葉県で採取した微生物と同様に木材光学顕微鏡および電子顕微鏡にて木材内部を観察し、木材組織に与える影響を観察した。

*Xylaria* sp.

*Amylostereum laevigatum*

*Bjerkandera adusta*

*Sistotrema brinkmannii*

*Dichomitus squalens*

*Hexagonia* sp.

## 4. 研究成果

### 1. 微生物の採取

沖縄県、鹿児島県、宮崎県、熊本県、大分県、福岡県、愛媛県、高知県、徳島県、島根県、鳥取県、広島県、新潟県、富山県、千葉県、秋田県、北海道のスギ人工林から採取した落枝のうち沖縄県、鹿児島県、宮崎県、大分県、福岡県、富山県、千葉県、北海道および琉球大学与那フィールド、九州大学足寄演

習林で設置したスギ心材から微生物の分離を行った結果、木材腐朽菌 10 種類、変色菌 29 種類、その他腐生菌 65 種類が同定できた。なお、残りの愛媛県、高知県、徳島県、島根県、鳥取県、広島県、新潟県、秋田県で採取した落枝については、分離・培養中であり、今後 rDNA により同定を行う予定である。

## 2. 微生物接種試験結果

千葉県で採取した微生物 3 種類を一辺 7mm のスギ辺材、赤心心材、黒心心材へ接種した結果、いずれの微生物においても辺材、赤心心材、黒心心材の中心部で菌糸を観察することができた。また、微生物の主な進入経路は木口面からであり、仮道管内腔を伝って木材内部に進入していることが分かった(図 1)。また、*Fomitiporia torreyae* のみ壁孔を通過している菌糸を観察することができた(図 2)。従って 3 種類の微生物のうちでは *Fomitiporia torreyae* がバイオインサイジング処理の可能性があることがわかった。また、微生物の種類によって進入経路や木材組織へ与える影響が異なることが分かった。

次に、千葉県以外で採取して同定できた木材腐朽菌 10 種類のうち 6 種類をスギの辺材および赤心心材、黒心心材の小試験片に 1 ヶ月間の接種試験を行った後、微生物の侵入深さを光学顕微鏡および電子顕微鏡で観察したところ、辺材では 5 種類、赤心心材では 3 種類、黒心心材では 2 種類の微生物が木口面から 15mm 部位まで侵入していることがわかった。更には、壁孔に存在する菌糸も観察できたことから仮道管一本あたりの長さを考慮すると、菌糸は壁孔を通過して木材内部へ進入している可能性があると考えられる。従って、微生物が進入した経路で薬液が浸透すると考えると、黒心材に侵入

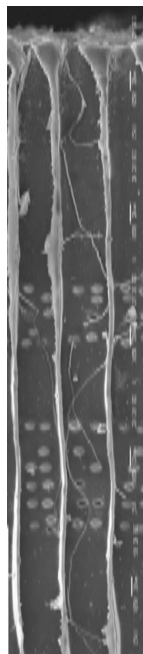


図 1. 木口面から侵入する *Botryosphaeria* の菌糸

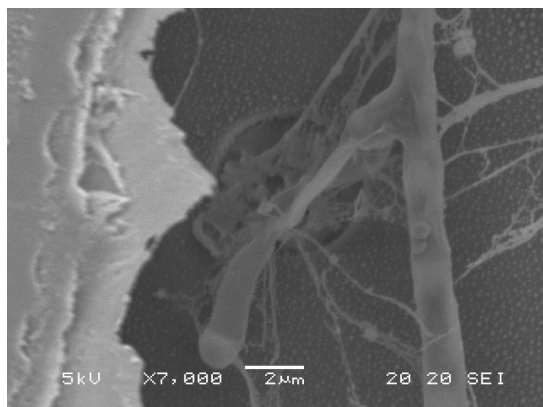


図 2. スギ心材の壁孔に存在する *Fomitiporia torreyae*

できた 2 種類の腐朽菌は薬液の浸透性向上に寄与する可能性が高いと考えられる。

今後は微生物の進入経路をより詳細に観察するとともに残りの 4 種類の腐朽菌、および分離培養中の微生物を対象に、スギの黒心材に接種し、心材のピットを破壊する微生物を探索するとともに、実際の木材を使用してバイオインサイジング処理し、薬液の注入性を評価する予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

日暮早希, 阪上宏樹, 藤本登留, 吉田茂二郎, 久米篤, 高嶋敦史, 升屋勇人. スギ心材への薬液浸透性に寄与する微生物の探索. 日本木材学会九州支部大会(福岡). 2013 年 9 月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

阪上 宏樹 (SAKAGAMI, Hiroki)

研究者番号: 40604822

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

升屋 勇人 (MASUYA, Hayato)

研究者番号：70391183