

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580223

研究課題名(和文) 広葉樹の道管相互壁孔に常在する抽出成分の同定と通水への影響解析

研究課題名(英文) Studies on extractives that are present in intervessel pits: characterization and its influence on water conduction

研究代表者

佐野 雄三 (Sano, Yuzou)

北海道大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：90226043

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：これまでごく一部の広葉樹において水分通導に寄与する辺材部の道管相互間の壁孔壁に常在することが確認されている抽出成分について知見を得ることを目的とした。11科13種について存否を調べた結果、3科3種で認められ、決して稀なものではないことが示された。また、その存否は科レベルではなく、もっと小さな分類単位ごとの特徴であることが示された。化学組成について組織化学的に調べた結果、糖類や脂質のような貯蔵物質ではないことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Recent studies have revealed that ethanol-soluble materials are present in intervessel pits in a limited angiospermous species. This study was aimed to reveal the nature of the extractive materials. The extractives were present in 3 species representing 3 families of a total of 13 species representing 11 families examined, an indication that the materials are not rare but widely appear in a variety of taxonomic groups. It was also apparent that the presence or absence is not a feature at the level of family. Histochemical examinations have revealed that the extractive materials are not polysaccharides and lipids.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・木質科学

キーワード：道管相互壁孔 通水 抽出成分

1. 研究開始当初の背景

筆者は、これまでに樹木の水分通導やキャビテーションによる通水障害について主に組織学的手法により研究を進めるとともに、水の流動に深く関係する壁孔の分布や基本構造について解明を進めてきた。これら一連の研究により、凍結に起因するキャビテーションの過程、通水障害の起こし易さを決定づける通水要素間の壁孔壁の基本構造、および広葉樹の水分通導における繊維細胞の寄与と同細胞間の壁孔の微細構造との関連について、新知見を明らかにしてきた。それと同時に、形成を完了した壁孔壁に生じる二次的な構造変化や新タイプの軸方向柔組織の存在など、想定外の木材組織学上の新知見も明らかにしてきた。

そうした研究の副産物として得られた想定外の新知見の中でも、カバノキ類やヤナギ類など一部の広葉樹において通水要素間の壁孔壁にエタノールで容易に溶出される抽出成分が常在する現象が見られたことは興味深い[Sano Y. (2005) *Amer. J. Bot.* 92, 1077-1084]。この抽出成分は、その存在部位・状態から通水要素の流動浸透性に著しい影響を及ぼすと考えられる。その実体や流動浸透への影響は、樹木の通水メカニズムや広葉樹材の液体流動機構を解明するために解明すべき重要な研究課題である。

通水要素間の壁孔の構造や機能に関する研究は、近年に大きな進展が見られた領域である。とりわけ米国 Harvard 大学の Holbrook 氏、米国 Utah 大学の Sperry 氏、豪州 National 大学の Choat 氏、ドイツ Ulm 大学の Jansen 氏らによる通水要素間壁孔の微細構造や通水制御に関する研究成果は特筆される。また広範な被子植物の通水組織間壁孔の構造について詳細に記載している米国 California 大学の Carlquist 氏らによる構造分類学的研究成果も注目される。しかし、これらいずれの研究においても抽出成分の存否やその通水への影響についてはまったく触れていない。ごく最近になってこの抽出成分に着目した研究報告が見られるようになってきているが、通水への影響はおろか、その化学組成や樹種(群)ごとの存否といった基本的なことさえ明らかになっていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、カバノキ類やヤナギ類に限らず多くの広葉樹の通水要素間の壁孔壁に存在すると推定される抽出成分の実体や通水への影響を解明することである。検討項目は大きく3点ある。第一に、この抽出成分を同定する。第二に、この抽出成分が広葉樹の通水システムにおける水の流動浸透にどれだけ影響を及ぼしているのかについて、顕微操作を応用して単一の通水組織レベルで透水性を実測することにより解析する。第三に、分類学的観点および木材利用学的観点に

立って様々な分類群より選んだ多くの樹種について、道管相互間の壁孔壁におけるこの抽出成分の有無を調べ、この抽出成分の存在が被子植物の大きな一団においてどれだけ普遍的なのかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 抽出成分が存在する樹種と植物群

11科13種について調べた(表1:このうちシラカンバ、イタヤカエデ、オノエヤナギ、ヤチダモを除く樹種)。

表1. 調べた樹種と抽出成分の有無.

科(a)	和名(a)	学名(a)	抽出成分
カバノキ科	アサダ	<i>Ostrya japonica</i>	無
	シラカンバ	<i>Betula platyphylla</i>	有(b)
カエデ科	イタヤカエデ	<i>Acer pictum</i>	無(b)
バラ科	オオヤマザクラ	<i>Cerasus sargentii</i>	無
	ナナカマド	<i>Sorbus commixta</i>	無
クルミ科	オニグルミ	<i>Juglans mandshurica</i> var. <i>sachalinensis</i>	有
カツラ科	カツラ	<i>Cercidiphyllum japonicum</i>	無
ウコギ科	コシアブラ	<i>Chengiopanax sciadophylloides</i>	無
	ハリギリ	<i>Kalopanax septemlobus</i>	無
シナノキ科	シナノキ	<i>Tilia japonica</i>	有
ヤナギ科	ドロノキ	<i>Populus maximowiczii</i>	有
	オノエヤナギ	<i>Salix udensis</i>	有(b)
マメ科	ハリエンジュ	<i>Robinia pseudoacacia</i>	無
ニレ科	ハルニレ	<i>Ulmus davidian</i> var. <i>japonica</i>	無
ミズキ科	ミズキ	<i>Cornus controversa</i>	無
ブナ科	ミズナラ	<i>Quercus crispula</i>	無
モクセイ科	ヤチダモ	<i>Fraxinus mandshurica</i>	無(b)

(a) 分類学的内容は米倉と梶田「[BG Plants 和名-学名インデックス] (YList), http://bean.bio.chiba-u.jp/bgplants/ylist_main.html (2014年5月20日)」による。

(b) これらの結果は、既報[Sano Y. (2005) *Amer. J. Bot.* 92, 1077-1084]による。

供試木には北海道大学研究林札幌実験苗畑または同大学苫小牧研究林の天然木または植栽木を使用した。試料として、供試木の樹幹から打ち撃で小材片を削り抜くか、または供試木の枝や萌芽枝条から小片を採取した。採取後、試料を直ちに水で濡らしたペーパータオルに包み、アルミ箔で遮光した状態でポリ袋に密封した。実験室に搬送後、1辺5mm程度の立方体に細切・成形した。一部はそのまま生材状態から直接的に凍結乾燥し、残りはエタノールシリーズで完全に脱水のうえ気乾した。接線断面または放射断面で割断し、導電性接着剤で走査型電子顕微鏡(SEM)用の試料台に接着した。真空蒸着により白金をコーティングし、電界放射型(FE)SEMにより加速電圧2.5kVで検鏡および写真撮影を行った。

(2) 抽出成分の化学的性質

既報も含めて計5種で抽出成分の存在が確認されたが、組織化学的に検討するのに好都合な特徴（道管相互壁孔が頻出、道管相互壁孔の孔径が比較的大きい）をもつことから、この解析にはオニグルミとシナノキを用いた。採取して間もないフレッシュな生材片から滑走式マイクロトームにより厚さ10~15 μmの切片を作製した。過ヨウ素酸-シッフ試薬（PAS）染色（糖染色）、アルシアンブルー染色（ムコ多糖染色）、ナイルブルー染色（中性脂質染色）を行い、光学顕微鏡（光顕）で観察した。また、ポリフェノールを検出するために、無染色の同様な切片を石英のスライドガラスとカバーガラスにグリセリンで封入し、顕微分光光度計により道管相互間の壁孔壁の紫外線（UV）吸収スペクトル測定も行った。

(3) 道管相互壁孔を介した透水への影響

試験体を装着した配管内に重力を利用して圧力差を与えて透水度を計測する実験装置を新たにカスタムメイドで組み上げ、抽出処理の前後間での透水度の比較を行った。

4. 研究成果

(1) 抽出成分が存在する樹種と植物群

本課題研究で調べた13種のうち3種で新たに道管相互壁孔に抽出成分が存在することが確認された（表1、図1）。既報の4種も含めると、調べた13科17樹種中、4科5種で存在が確認されたことになる。この抽出成分の存在は、決して例外的なものではなく、身近な多くの樹木において普遍的に存在するものと考えられる。

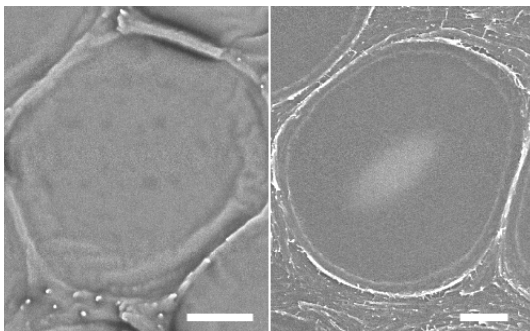


図1. シナノキの道管相互間の壁孔壁のFESEM写真。左=凍結乾燥試料、右=エタノール処理試料。スケールバー=1 μm。

複数の樹種について調べた4科のうち、バラ科、ウコギ科、ヤナギ科では存否が科内で一致したが、カバノキ科では種間で存否が異なった。このことから、当抽出成分の存否は少なくとも科レベルで共通する特徴ではないことは明らかである。この特徴が属内で一致するののかについては、さらに対象樹種を拡げて検討する必要がある。

(2) 抽出成分の化学的性質

PAS染色では、木部繊維、放射柔細胞、軸方向柔細胞の細胞壁が全体に強く染色され、放射柔細胞および軸方向柔細胞に含まれるアミロプラストにも明瞭な染色が認められた。しかし、道管相互間の共通壁を含め、道管壁には染色は認められなかった。アルシアンブルー染色では、放射柔細胞および軸方向柔細胞の内容物、それら柔細胞と道管との間の壁孔が強く染色されたが、道管相互壁孔は染色されなかった（図2）。これらの結果から、当の抽出成分が糖類であることは考え難い。

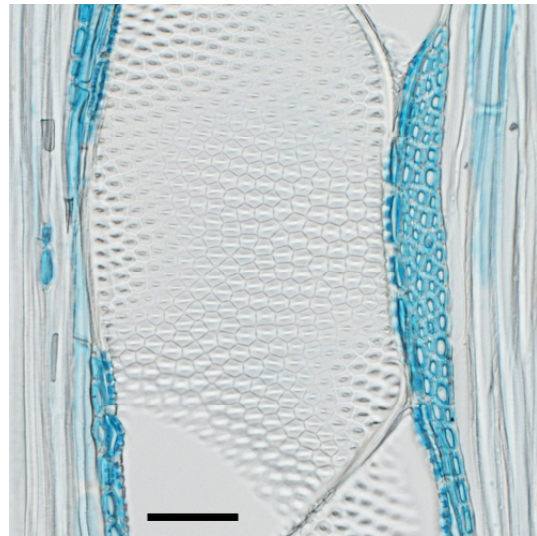


図2. アルシアンブルーで染色したオニグルミ板目切片の光顕写真。スケールバー=50 μm。

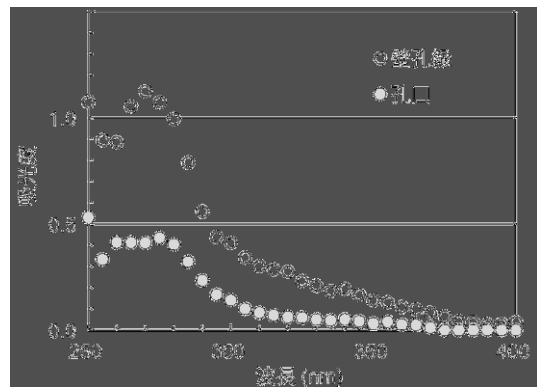


図3. シナノキ板目切片において道管相互間の共通壁で測定したUV吸収スペクトル。

顕微分光光度計による測定では、壁孔壁に限定して選択的に測定するため、板目切片を用いて、道管相互間の共通壁の中でも道管相互壁孔が完全に含まれる部位を選び、それら壁孔の孔径よりも小さい測光スポット径0.5 μmまたは1 μmに設定し、壁孔対の両孔口を通してUV吸収スペクトルを測定した。この測定を未抽出切片、抽出処理切片について行い、比較したが、両樹種（オニグルミ、シナノキ）とも抽出処理に拘わらず同様に280nm付近に吸収極大をもつUV吸収が認められた（図3）。このような結果が得られた原因として、調べた2樹種では道管相互間の壁孔壁が木化していること、および測光スポット

が道管相互壁孔の壁孔縁を完全に避けることができなかつたことが考えられる。既往の報告によると、本研究で用いたのと同じ辺材の外層部では、通水要素間の壁孔壁は木化していないことが示されている。従って、測定技術上の問題により壁孔壁に限定して測定することができなかつた可能性が高い。

ナイルブルー染色では、放射柔細胞および軸方向柔細胞の内容物の一部、それら柔細胞の壁孔（柔細胞相互間の壁孔対および道管・柔細胞間壁孔の柔細胞側）に明瞭な赤紫の染色が認められた。しかし、道管相互壁孔には脂質の存在を示す赤紫の染色は認められなかつた。このことから、当の抽出成分は脂質ではないと考えられる。

存在が確認された樹種では、いずれも道管相互壁孔に限らず、当の抽出成分は生きた放射柔細胞内や道管壁表面にも認められた。また、本来の表面ではなく試料作製により露出した細胞壁の断面も覆っていた（図1）。切断により木化した細胞壁中の微細空隙から電子顕微鏡的に容易に確認できるほどの成分が滲み出すことは考えがたい。それら断面を覆う抽出物質は、切断後に二次的に移動した可能性が高い。このことから、この抽出成分は流動性に富み、拡散しやすい性質を備えていると考えられる。今後、組成については化学分析によりさらに詳しく検討する必要がある。

(3) 道管相互壁孔を介した透水への影響

直径5~8 mmの茎片レベルの透湿度測定では抽出成分の存否による有意な差は認められなかつた。"single vessel 法[Zwieniecki *et al.* (2001) *J. Exp. Bot.* 52, 257-264]"による単一道管レベルの測定では、測定値のバラツキが大きく、抽出処理による有意な差は認められなかつた。

(4) 付記

以上の成果のうち(1)と(2)については、卒業研究として取り組んだ鶴野哲郎氏に負うところが大きい。ここに記して謝意を表する次第である。

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1件)

1) Sano Y., Utsumi Y., Nakada R.: Homoplastic occurrence of perforated pit membranes and torus-bearing pit membranes in ancestral angiosperms as observed by field-emission scanning electron microscopy. *Journal of Wood Science* 59, 95-103 (2013) (査読有り)

[学会発表] (計3件)

1) Sano Y., Utsumi Y., Nakada R.:

Occurrence of perforated pit membranes and torus-bearing pit membranes in ancestral angiosperms. The 8th Pacific Regional Wood Anatomy Conference, 2013年10月17~21日, International Conference Hotel Nanjing, 南京, 中国

2) 野末尚希, 佐野雄三: 日本産トネリコ属木材の解剖学的特徴の種間差. 第63回日本木材学会大会, 2013年3月27~29日, 岩手大学・盛岡市民文化ホール, 盛岡

3) 佐野雄三, 幸田圭一: 広葉樹の道管相互壁孔に存在する抽出成分に関する研究. 第62回日本木材学会大会, 2012年3月16~18日, 北海道大学, 札幌

[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

佐野 雄三 (SANO Yuzou)
北海道大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号: 90226043

(2) 研究分担者

幸田 圭一 (KODA Keiichi)
北海道大学・大学院農学研究院・講師
研究者番号: 80322840

(3) 連携研究者

()

研究者番号: