

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580249

研究課題名(和文) 針葉樹形成層に含まれる内生ジベレリンとその晩材形成に関する研究

研究課題名(英文) Study on endogenous gibberellic acid in cambial region tissues and latewood formation in conifers

研究代表者

雫子谷 佳男 (Kijidani, Yoshio)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：10295199

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：木部形成に特徴のある針葉樹について、オーキシンの量、ジベレリン量および木部形成の季節経過を明らかにした。その結果、雨量が少ない環境では、晩材形成が促進されるスギ品種があり、多量のジベレリンが形成層中に存在した。植栽密度が異なるスギ品種において、ジベレリン量と木部形成との間に因果関係は認められなかったものの、6月までに形成された仮道管数とオーキシンの量との間に正の相関関係が認められた。高い晩材率をもつスラッシュパインでは、11月においても活発な晩材形成が観察され、多量のオーキシンが形成層中に存在した。晩材形成中の細胞分裂の促進は、ジベレリンではなくオーキシンが関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the seasonal variations of IAA (indole acetic acid) amounts, GA4 (gibberellic acid) amounts in cambial region tissues and xylem formation in conifers with different characteristics of xylem formation. The obtained results were as follows; In the year with smaller precipitations, some sugi cultivar trees formed latewood actively, and had large GA4 amounts in cambial region tissues. There was significant positive correlation between IAA amounts and the number of tracheids formed until June, although GA4 amounts had no significant effects on xylem formation in sugi cultivar trees grown in different tree density. Slash pine, conifer with large latewood percentage, had large IAA amounts in cambial region tissues and actively formed latewood in November. It was assumed that large IAA amounts enhanced the activity of cambium during latewood formation.

研究分野：木材組織学

キーワード：ジベレリン オーキシン 晩材形成 針葉樹

1. 研究開始当初の背景

(1) 針葉樹の晩材形成

木材の力学的性能は密度と細胞壁の性質(セルロースマイクロフィブリル傾角)によってほぼ決まるとされている。針葉樹では、晩材率が高いほど密度は大きい。したがって、晩材形成の解明は重要である。

南九州に生育するサザンパイン (slash pine), スギおよびヒノキの2年間の木部形成を刺針法によって明らかにしたところ、スギおよびヒノキでは、早材形成時期に活発に細胞分裂するものの、高い晩材率(50-60%)が特徴である slash pine では、晩材形成時期により活発に細胞分裂をおこなうことがわかった(引用文献①)。これらの結果から、晩材形成促進物質の存在を想定した。晩材形成についての既往の考え方は、オーキシシン(IAA)量の低下で晩材形成を説明しようとした。しかし、IAA濃度の低下では、晩材形成中に細胞分裂頻度が活発になることを説明できない。多数の植物で茎の伸長成長へのジベレリンの影響が明らかにされている。伸長成長の旺盛な針葉樹は、それだけ強い樹幹が必要で、多くの晩材が必要であると考えた。

(2) 針葉樹形成層に含まれる植物ホルモン

標品として各種ジベレリン(GA1, GA3, GA4 および GA9)を準備して、高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計(LC/MS/MS)でのジベレリンの最適な分析条件を確立した。実際のスギ林木(品種不明, 30-40年生4本)の9月の形成層でジベレリンの同定をおこなったところ、晩材細胞数が少ないスギ3本でGA4がかなり大きなピークとして検出され、GA4の前駆物質であるGA9も確認できた。晩材細胞数が多いスギ1本では、GA4およびGA9のピークが小さく、GA1関連化合物の大きなピークが認められた。これらの結果から、晩材形成時期に活性型ジベレリン(GA4およびGA1)の合成が進むと考え、晩材形成との因果関係を推測した。

2. 研究の目的

高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計(LC/MS/MS)を用いた、針葉樹形成層に含まれるジベレリンとIAAの迅速な同時分析方法を確立しており、膨大なデータを得ることができ、それらを比較することで、これまで不明であった晩材形成を解明することが可能となる。木部形成および晩材形成に特徴のある試験木を用いて、木部形成の季節経過、木部の組織構造、内生ジベレリンおよび内生IAAの季節変動についての基礎データを収集し、針葉樹晩材形成への内生ジベレリンの影響を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 試験木

- ① スギ品種(密度の大きな品種, 小さな品種), 試験地: 宮崎大学田野フィールド

ルド

- ② 植栽密度の異なるスギ品種(トサアカ), 試験地: 国有林円形密度試験地(宮崎県田野町)

- ③ 晩材形成が旺盛な針葉樹(slash pine), 対照の針葉樹(スギおよびヒノキ), 試験地: 宮崎大学田野フィールド

すべての試験木の胸高直径、樹高および枝下高を測定した。樹高と枝下高は超音波樹高測定器(バーテックス)でおこなった。

(2) 試料採取および形成層への刺針

早材形成時期から晩材形成時期そして休眠期にかけて、植物ホルモン定量用の試料を、胸高部から定期的に採取するとともに、採取部位付近の形成層へ刺針によってマーキングを定期的におこなった。植物ホルモン定量用の試料は、定量実験に用いるまで、液体窒素中で凍結保存する。形成層活動の停止後、形成層への刺針をおこなった部位から木部形成経過の観察用試料を採取した。

(3) 植物ホルモンの同定・定量

- ① メタノールで抽出(抗酸化剤, 内部標準: 重水素で標識したIAA, GA4を含むメタノール)。

- ② Sep-Pak カートリッジ(C18 waters)を用いて、酸性抽出物を溶出させる。

- ③ LC/MS/MSで内生ジベレリンおよび内生IAAの同定および定量。第1MSで目的の分子量に磁場を固定しジベレリンおよびIAAだけを通過させ、コリジョンセルでフラグメントイオンを発生させ、第2MSで代表的なフラグメントイオンのみを通過させ、検出器で分析した。内生ジベレリンおよび内生IAAと内部標準である重水素で標識したジベレリンおよびIAAとのピーク強度比を求めた。

- ④ 内生ジベレリンおよび内生IAAと重水素で標識したジベレリンおよびIAA(内部標準)の混合物を、その比率を様々に変えて分析して作成した検量線を用いて、内生ジベレリンおよび内生IAA量を定量した。

4. 研究成果

(1) 密度の異なるスギ品種の植物ホルモン量と晩材形成

予備実験の結果から、形成層に含まれる主要なジベレリンはGA4であることがわかった。木材の密度が異なるスギ品種(クモトオシとオビアカ)について、形成層に含まれるIAA, GA4量および木部形成の季節変動を明らかにした(図1, 2)。4月にIAA量が多い試験木では、細胞分裂が活発で放射径の大きな仮道管の分化が認められ、4月のIAA量と早材形成との関連性が推測された。他の試験木よりも晩材率が極めて大きかった

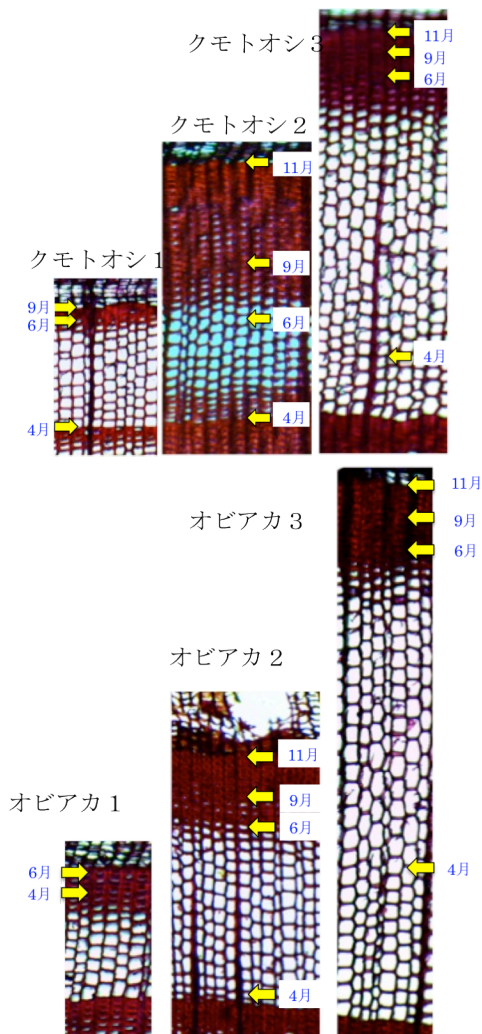


図1 スギ品種の木部形成

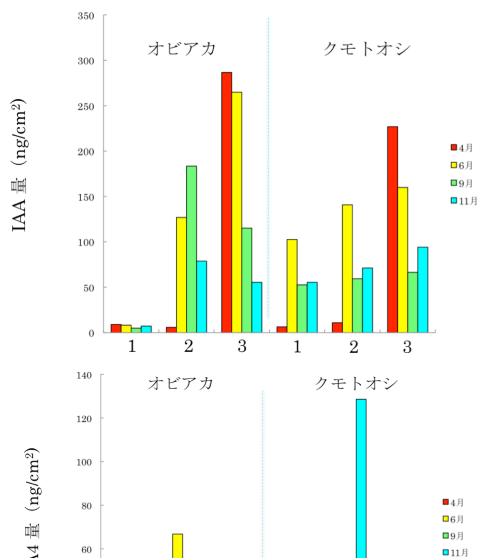


図2 植物ホルモン量

クモトオシ試験木では、GA4量が6月から11月にかけて増加し、晩材形成促進との関係性が推測された。しかし、この年の早材

形成期間の雨量は極めて少なく、当年輪の始めに晩材状の仮道管が形成されていた。図2の結果は、特殊な生育環境に起因するものかもしれない。また、晩材幅が狭い試験木では、GA4のピークが確認できなかった。今回使用したLC/MS/MS (Q-micro, Waters) は、プラスイオンに比べて、マイナスイオンの検出感度が低い特徴がある。イオン化の際にIAAはプラスイオンになるが、GA4はマイナスイオンであるため、検出できなかった可能性が高い。

(2) 植物ホルモン定量方法の改善

新規導入のイオンサイクロトン型質量分析計 (Q-FTMS, Q-Exactive, Thermo Scientific) は、従来のLC/MS/MSに比べて、マイナスイオンのイオン化効率が優れているとともに、極めて優れた質量分解能 (質量精度 3ppm) を持つ。Q-FTMSでのGA4定量方法を確立し、すべてのサンプルについて含有量が極めて少ないGA4の定量に成功した。

(3) 植栽密度が異なるスギ品種 (トサアカ) の植物ホルモン量と晩材形成

植栽密度の異なるスギ品種 (トサアカ) (D:4823本/ha, E:3349本/ha, G:1615本/ha, H:1122本/ha および J:541本/ha) について、木部形成季節経過を調べるとともに、IAA量およびGA4量の季節変動を調べた。植栽密度が小さい林木ほど、胸高直径と樹冠長が大きかった。木部形成開始から6月にかけて最も活発に細胞分裂がおこなわれ、6月~8月で分裂頻度が低下し、8月~10月で再度高まり、それ以後また低下するものがほとんどであった。植栽密度の影響は木部形成開始から6月にかけての細胞分裂で顕著に認められた。6月のIAA量は密度区分間で有意差が認められ、密度区分541本/haで多く、密度区分4823本/haで少なかった (図3)。図4に示すように、木部形成開始から6月までに形成された木部細胞数と6月のIAA量との間に正の相関関係が認められた ($r=0.75$, $p<0.01$)。8月で弱い相関 ($r=0.55$, $p<0.05$)、10月および12月では相関関係は認められず、季節が経過するに従って、相関係数が小さくなる傾向が認められた。樹冠長と6月IAA量との間に密接な関係が認められた。第4表に示すように、植栽密度は樹形に影響し、低植栽密度では枝下高が小さくなり、樹冠長率が大きくなり、その結果、多量のIAAが形成層へ供給され細胞分裂が促進されたと推測される。GA4量と晩材形成中の細胞分裂頻度との関係は認められなかった。今回の試験木は、早材形成に違いがみられる林木であったため、GA4量の影響が小さかったと推察した。仮道管の断面形状および細胞壁率とIAA量およびGA4量との関係を調べた。6月から8月に形成された木部の細胞壁率は、植栽密度区分間で有意差が認められた。しかし、8

月から10月に形成された木部の細胞壁率では、植栽密度区分間で有意差は認められなかった。6月から8月において、植栽密度区分間で有意差が認められた原因は、晩材形成開始時期の違いによると考えられた。IAA量およびGA4量と細胞壁率および仮道管断面形状との有意な関係は認められなかった。

IAAが細胞分裂を促進することは、これまでも報告されているものの、IAA投与実験によるものがほとんどであり、内生IAA量と細胞分裂頻度との正の相関関係が示されたことは、重要な研究成果である。また、早材形成期間（木部形成開始から6月まで）だけでなく、晩材形成期間（6月から8月）においても、IAA量と細胞分裂との間に正の相関関係が認められたことは貴重な成果であ

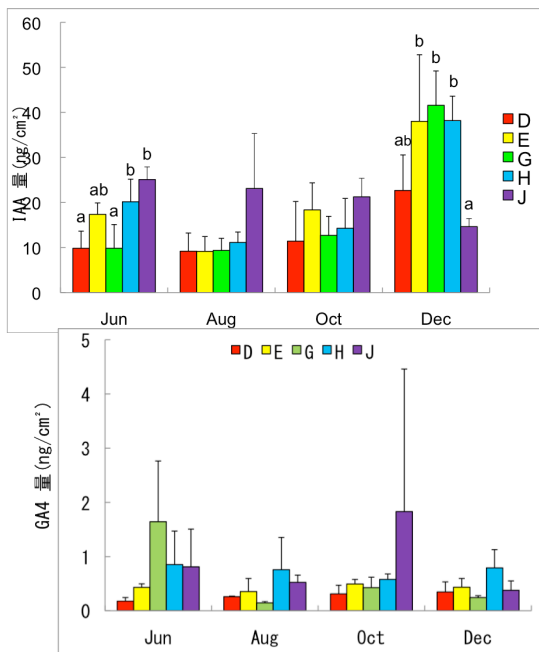


図3 植物ホルモン量

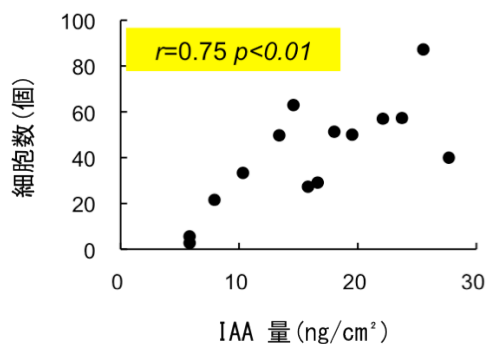


図4 IAA量と6月までの細胞数

る。

(4) 晩材形成が旺盛な針葉樹 (slash pine) の植物ホルモン量と晩材形成

スラッシュパインは晩材形成が旺盛な樹種であり、夏以降（晩材形成時期）に細胞分裂のピークがあることを既に報告している（引用文献①）。樹種特性として晩材率が小さなスギおよびヒノキと晩材率が大きなスラッシュパインについて、木部形成の季節経

過を明らかにした。すべての樹種で7月に晩材形成の開始が認められ晩材形成開始時期に違いがなかったものの、その後の細胞分裂頻度には大きな違いが認められた。スギおよびヒノキでは7月以降の細胞分裂頻度が著しく以下するものの、スラッシュパインでは9月から11月で活発な細胞分裂が認められ、11月以降でも活発に細胞分裂していた（図5）。樹種特性として晩材率が大きなスラッシュパインと晩材率が小さなスギおよびヒノキについて、IAA量およびGA4量の季節変動を明らかにした。その結果、IAA量のピークはスギとスラッシュパインで同じ（4月）であったものの、GA4量のピークはスギで5月、スラッシュパインで7月であり、大きな違いが認められた（図6）。スラッシュパインのIAA量はスギおよびヒノキに比べて有意に大きく、旺盛な晩材形成がおこなわれた9月および11月のIAA量は、顕著に増大した。スラッシュパインの旺盛な晩材形成を説明で

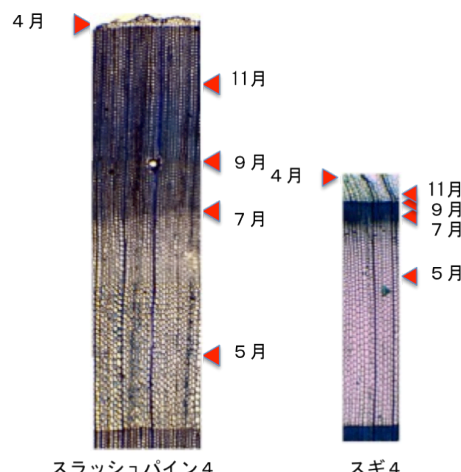


図5 スラッシュパインの木部形成

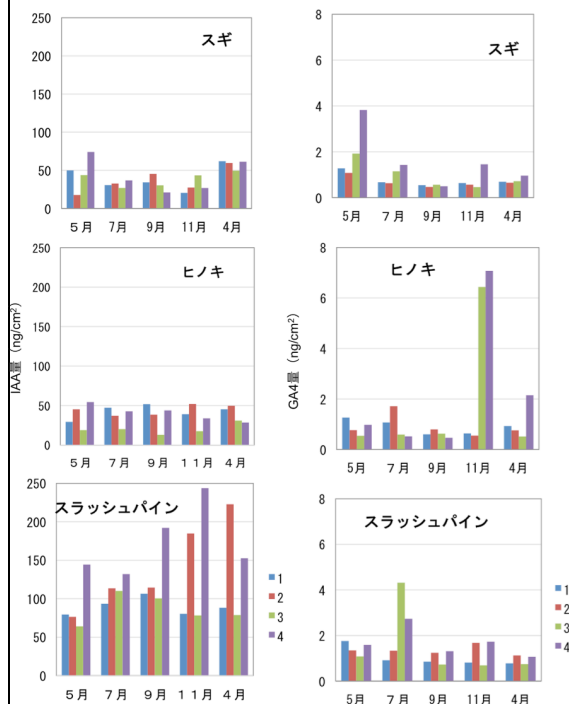


図6 植物ホルモン量

きる GA4 量の変動は認められず、IAA 量で認められた。

<引用文献>

① 雉子谷佳男、高田克彦、伊藤哲、小川雅子、永峰正教、久保田要、坪村美代子、北原龍士、南九州で生育した slash pine の年輪形成と木材材質、木材学会誌、査読あり、57 巻 6 号、2011、340-349

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 3 件)

① Yoshio Kijidani ・ Naoki Ohshiro ・ Daisuke Iwata ・ Masanori Nagamine ・ Taiga Nishiyama ・ Junji Matsumura ・ Shinya Koga, Variation of indole acetic acid (IAA) amounts in cambial-region tissues in 7- and 24-year-old sugi (*Cryptomeria japonica*) trees, Journal of wood science, 査読あり, 60 巻 3 号, 2014, 177-185, DOI 10.1007/s10086-014-1394-2

② Yoshio Kijidani ・ Naoki Ohshiro ・ Junji Matsumura ・ Shinya Koga, Effects of crown length on indole acetic acid (IAA) amounts in cambial region tissues in lower and upper trunks of sugi cultivars (*Cryptomeria japonica*) in September Journal of wood science, 査読あり, 60 巻 4 号, 2014, 235-242, DOI 10.1007/s10086-014-1400-8

③ 雉子谷佳男、森田秀樹、白惠琇、スギとヒノキの材質変動のしくみを考える-材質向上を目指して-, 木材工業、査読なし、70 巻、2015、200-205

[学会発表] (計 8 件)

① 武田幸大、吉良美穂、雉子谷佳男、晩材形成中のスギ形成層に含まれる ジベレリンとオーキシンについて、第 19 回日本木材学会九州支部大会、2012 年 08 月 24 日、宮崎市

② 武田幸大、永井堯大、吉良美穂、雉子谷佳男、スギ品種の木部形成と形成層に含まれるオーキシンおよびジベレリン量について、第 63 回日本木材学会大会、2013 年 03 月 27-29 日、盛岡市

③ 永井堯大、諏訪下智彦、雉子谷佳男、植栽密度が異なるスギ品種 (トサアカ) の木部形成と形成層に含まれるオーキシン量に

ついて、第 20 回日本木材学会九州支部大会、2013 年 08 月 2 日、福岡市

④ 永井堯大、雉子谷佳男、植栽密度が異なるスギ品種 (トサアカ) の木部形成と植物ホルモン量について-IAA 量の季節変動-, 第 64 回日本木材学会大会、2014 年 3 月 15 日、松山市

⑤ 永井堯大、雉子谷佳男、植栽密度が異なるスギ品種 (トサアカ) の木部形成と植物ホルモン量について-Q-FTMS を用いたジベレリンの定量-, 第 64 回日本木材学会大会、2014 年 3 月 15 日、松山市

⑥ 永井堯大、雉子谷佳男、植栽密度が異なるスギ品種の木部形成と植物ホルモン量について-細胞壁率と仮道管寸法への植栽密度の影響-, 第 21 回日本木材学会九州支部大会、2014 年 9 月 12 日、熊本市

⑦ 高橋知宏、雉子谷佳男、小田久人、植栽密度が異なるスギ品種 (トサアカ) の木材材質-軟 X 線デンストメトリーによる成長錐コア試料の分析-, 第 65 回日本木材学会大会、2015 年 3 月 18 日、東京都

⑧ 武田幸大、永井堯大、雉子谷佳男、針葉樹 3 樹種の形成層に含まれるジベレリン量の季節変化、第 65 回日本木材学会大会、2015 年 3 月 17 日、東京都

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

雉子谷 佳男 (KIJIDANI YOSHIO)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：10295199