

令和 6 年 9 月 25 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02260

研究課題名(和文) イチョウの材形成及び木材組織構造の網羅的解析から迫る木本植物の進化と環境適応性

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of wood formation and wood tissue structure in ginkgo reveals evolution and environmental adaptability of woody plants

研究代表者

高田 克彦 (Takata, Katsuhiko)

秋田県立大学・木材高度加工研究所・教授

研究者番号：50264099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：形成層活動および二次木部形成を調査した結果、春先に師部形成が木部形成よりも優先し他の樹種に比べて形成層細胞の分裂が活発になるまでに長時間を要することが明らかになった。二次木部には分野壁孔以外の有縁壁孔を全く持たない細胞が存在しており、これらの細胞を新たにGinkgo-fiberと名付けた。二次木部における通水様式を調査した結果、通水に関与していない細胞は年輪内に散在し、通水細胞(仮道管)より小径であった。これらの細胞には有縁壁孔が認められなかったことから、Ginkgo-fiberであることが示唆された。また、イチョウでは針葉樹と比べて師部の転流速度が遅いことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は「生きた化石(living fossil)」と呼ばれるイチョウをはじめとする複数の木本植物の材形成及び木材組織構造の特徴を網羅的に解析することによって、イチョウの有する特殊性を明らかにするとともに、材形成・木材組織構造から見た木本植物の進化と環境適応性を明らかにすることである。得られた知見を総合的に検討した結果、原始の木本植物であるイチョウは独特の材形成様式、木材組織構造及び水分通道様式を有する樹種であり、これらの特徴からイチョウは独自の環境適応性を持って進化してきた樹種と考えることが妥当であり、植物全体の進化を考える上でも極めてユニークな存在であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：As a result of investigating cambium activity and secondary xylem formation, it was found that phloem formation takes precedence over xylem formation in early spring, and it takes a long time for cambium cell division to become active compared to other tree species. In the secondary xylem, there are cells that do not have any bordered pits other than the field pit. These cells were newly named Ginkgo-fiber. As a result of investigating the water transport pattern in the secondary xylem, cells that are not involved in water transport are scattered within the annual rings and are smaller in diameter than water transport cells (tracheids). As no bordered pits were observed in these cells, it was suggested that they are Ginkgo-fiber. It was also found that the translocation speed of phloem is slower in ginkgo compared to conifers.

研究分野：森林資源遺伝学

キーワード：イチョウ 木材組織構造 形成層 水分通道 植物ホルモン

1. 研究開始当初の背景

森林の主要な構成要素である木本植物は「木材」という長期にわたって生存できる構造的な特徴を有するとともに、「種分化」のきっかけにもなる優れた環境適応性を持つことが知られている。現在の森林は裸子植物の針葉樹及び被子植物中の木本植物の広葉樹が寡占状態にあり、イチヨウ等の原始的木本植物の天然分布域は極めて限定的である。これは地球環境の変化に伴う植物の進化の過程で原始的木本植物が針葉樹や広葉樹にその生存域を奪われてきた歴史と考えることができる。

原始的木本植物はその生殖機構や形態が針葉樹や広葉樹とそれとは大きく異なっていることが知られている。近年、代表的な原始的木本植物であるイチヨウにおいて、イチヨウ独自の材形成メカニズム(成長初期数ヶ月の細胞分化や二次木部細胞の成熟が極めて緩慢である)やイチヨウにのみ観察される軸方向細胞要素(年輪内に通水に全く関与しない細胞が多数の存在する)を有するという木本植物ではこれまでに報告されていない新たな知見が発見された。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「生きた化石(living fossil)」と呼ばれるイチヨウをはじめとする複数の木本植物の材形成及び木材組織構造の特徴を網羅的に解析することによって、イチヨウの有する特殊性を明らかにするとともに、木本植物という生命体の示す最も特徴的なプロセスである環境変化に対する細胞内の構造体(オルガネラ)分化・増殖、さらにそれらの相互作用とそれに基づいた植物個体レベルでの高次機能発現を再検証することで、材形成・木材組織構造から見た木本植物の進化と環境適応性を明らかにする。

本研究の遂行によって得られる知見は、木本植物の「表現型形質の進化」と「環境適応性」の科学分野において新規性の高い知見を提供するとともに今後のこれらの研究領域における新たな方向性を提示するものである。

3. 研究の方法

本研究では「A. 発生/生理解析チーム」、「B. 構造/機能解析チーム」、「C. ゲノム解析チーム」の3つの研究チームを設定する。

A. 発生/生理解析チーム

「A. 発生/生理解析チーム」では、形成層における材形成のダイナミクスを明らかにする目的で、「(1)形成層活動・細胞分化」、「(2)形成層帯の植物ホルモン分布」、「(3)光合成同化産物の樹幹内配分」に関する研究課題に取り組む。

(1)形成層活動・細胞分化(主担当:工藤(秋田県立大学))

年間を通じた形成層活動と細胞分化の詳細を明らかにする目的で、イチヨウ及び針葉樹、広葉樹を対象に実験を行う。2022年以降の実験試料は後述する「2.形成層帯の植物ホルモン分布」及び「7.木部水分通道機能」と共用することで形成層活動/細胞分化と植物ホルモン及び水分通道との関連を明らかにする。

(2)形成層帯の植物ホルモン分布(主担当:雉子谷(宮崎大学))

木本植物の形成層帯の植物ホルモンの分布状況やその季節性等に関する知見を得る目的で、イチヨウ及び針葉樹、広葉樹を対象に実験を行う。2021年度は既に開発した組織ごと植物ホルモン量を分析する方法の改良を行い、2022年度及び2023年度は季節ごとの形成層周辺の植物ホルモン量分布を解明する。

(3)光合成同化産物の樹幹内配分(主担当:安江(信州大学))

本研究課題では、イチヨウ及び針葉樹、広葉樹における異なる季節の光合成産物の木部形成過程ごとの配分を定量的に明らかにするとともに樹体内の器官別配分割合を明らかにする。¹³C₂パルスラベリングは、展葉直後（5月）、展葉終了後（7月）或いは肥大成長が活発になった時期、落葉前或いは肥大成長が落ち着いてきた時期の3回実施する。

B. 形態/構造解析チーム

「B. 構造/機能解析チーム」では、「(4)細胞壁層・微細構造」、「(5)細胞壁成分分布」、「(6)柔細胞構造・機能」、「(7)木部水分通道機能」に関する研究課題に取り組む。

(4)細胞壁層・微細構造（主担当：佐野（北海道大学））

木部構成細胞の機能発揮に強く関連する細胞壁の壁層構成に着目し、イチヨウと他の植物群の比較解剖学的解析を微細構造レベルで行うことでその差異を明らかにする。2022年以降の実験試料は後述する「5. 細胞壁成分分布」及び「6. 柔細胞構造・機能」と共用することで異なる木材組織との関連性と多様性について明らかにする。

(5)細胞壁成分分布（主担当：吉永（京都大学））

イチヨウ及び針葉樹、広葉樹の細胞壁に分布する成分の特徴を明らかにする目的で、最新の免疫抗体法によってリグニン、ヘミセルロース等の細胞壁の壁成分分布を調査する。実験では、光学顕微鏡下でリグニン中のシリリングル核を観察する他、分担者が独自に作製したリグニンの部分構造（8-5'型、8-8'型、8-0-4'型構造）に特異的に反応するモノクローナル抗体、市販のキシラン、グルコマンナンに対するモノクローナル抗体を反応させ、蛍光色素標識二次抗体を反応させて蛍光顕微鏡下で観察する。

(6)柔細胞構造・機能（主担当：船田・半（東京農工大学））

落葉の裸子植物であるイチヨウと常緑の裸子植物数種における柔細胞の構造や機能の違いについて新たなイメージング技術を用いて解析するとともに、形成層活動や細胞分化と貯蔵物質の量的変動の関連性について明らかにする。

(7)木部水分通道機能（主担当：内海（九州大学））

木部の水分通道機能及び生理特性に関する樹種特性を明らかにする。イチヨウおよび針葉樹、広葉樹の苗木を同一環境で生育させた後、人為的な水ストレス処理や凍結気象イベント前後での通水様式の変化を樹液流量計測や立木染色法で評価し、既存の他樹種の知見との比較を通してイチヨウの木部の水分生理特性を明らかにする。

C. ゲノム解析チーム

(8)ゲノム情報を利用した系統樹作成・材形成/組織構造に関する新規知見の統合（主担当：高田（秋田県立大学））

本研究に供する木本植物を対象に既存及び新規のゲノム情報から推定される系統進化を構築する。既存の塩基配列データベース（DDBJ、GenBank、EMBL）を利用して、塩基配列情報を入力する。得られた塩基配列データを基に異なるアルゴリズムによる複数の分子系統樹を作成し、系統関係を明らかにする

4. 研究成果

A. 発生/生理解析チーム

(1)形成層活動・細胞分化（主担当：工藤（秋田県立大学））

イチヨウ樹幹における形成層活動および二次木部形成および葉のフェノロジーの関連性を明らかにするために、3年間にわたって胸高部における形成層活動および葉のフェノロジーのモニタリングを行い、両者を同一時系列内で比較した。イチヨウでは、春先に師部形成が木部形成よりも優先することが明らかになった。また、芽の成長開始時期に形成層活動が再開してから当年

木部形成が始まるまで、また形成層細胞の分裂が活発になるまでに、他の樹種に比べ長時間を要することが明らかになった。当年葉展開時には、まだ当年木部は形成されていなかったことから、当年葉の展葉に必要な水は前年以前の木部を通して供給されると考えられる。

イチヨウ二次木部細胞の形態を明らかにすることを目的とし、解繊処理を行い、細胞の形態を光学顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡で観察した。イチヨウ二次木部には、分野壁孔以外の有縁壁孔を全く持たない細胞が存在しており、これらの細胞を新たに Ginkgo-fiber と名付けた。Ginkgo-fiber は、仮道管とは形態的にも機能的にも異なるイチヨウに特徴的な細胞である。

(2)形成層帯の植物ホルモン分布(主担当: 雉子谷(宮崎大学))

イチヨウ、カラマツ、スダジイを試験木として、形成層の植物ホルモン量(オーキシシン(IAA)、アブシシン酸(ABA)およびサイトカイニン(ゼアチン;tZ))と木部形成の季節変動(4、6、8、10、12月)を明らかにした。試料を樹脂包埋後に観察し、LC/MSで植物ホルモンを定量した。イチヨウの木部形成は開始が遅く6月に活発に行われ木部形成期間も短いことが確認された。イチヨウの植物ホルモンは、IAA量の季節変動が小さく、ABA量が6月から8月にかけて上昇し12月で有意に大きく、tZ量は6・8月にピークに達し、その後12月にかけて減少した。他樹種とは異なり、木部形成にtZ量の関与が推測された。

(3)光合成同化産物の樹幹内配分(主担当: 安江(信州大学))

2022年の展葉終了時、黄葉の開始時にそれぞれ¹³C₂パルスラベリングを行った供試木を伐採し、ラベリングの前年、当年および翌年の年輪および翌年の葉を対象に炭素安定同位体比を測定した。光合成産物は季節にかかわらず、ラベリング時以降に分裂分化した木部細胞に配分された。展葉期の光合成産物は当年年輪を通して配分された。季節にかかわらず光合成産物は翌年の樹幹木部にはほとんど配分されなかった。これらの結果から、イチヨウでは針葉樹と較べて師部の転流速度が遅いこと、展葉期に光合成産物の貯蔵も並行して行われること、季節にかかわらず光合成産物は翌年の樹幹木部にはほとんど配分されないことが示唆された。

B. 形態/構造解析チーム

(4)細胞壁層・微細構造(主担当: 佐野(北海道大学))

イチヨウの narrow tracheid と呼ばれる特異な仮道管の構造と機能について知見を得ることを目的として、とくに narrow tracheid に頻出する微細な突起に着目して電界放出型走査電子顕微鏡により微細構造を調べた。この微細な突起は放射組織および軸方向柔組織の異形細胞の周辺に頻出していた。突起の先端付近では、内腔から先端に向かって一旦ボトルネック状に狭まった後に、有縁壁孔の壁孔室状に扁平な空隙が拡大し、先端は密で平坦な壁面で閉じている様子が観察された。イチヨウは樹幹に乳と呼ばれる突起が頻出するが、細胞レベルでもその形質を残しているといえる。樹幹の乳とのアナロジーから、この微細な突起は"micro-chi-chi"と呼ぶことを提案したい。通常型の仮道管に見られる針葉樹材全般と同様な有縁壁孔を形成する代わりに、この突起の先端に壁孔様の構造を形成して narrow tracheid 内外の物質移動をおこなっていると推察される。

(5)細胞壁成分分布(主担当: 吉永(京都大学))

酸性フクシンを吸させたイチヨウおよびクロマツ、対照試料としてスギとイヌマキを用いた。包埋試料より厚さ 0.5 μm の横断面切片を作製し、抗キシラン抗体、抗マンナン抗体を用いて標識後、蛍光標識二次抗体を反応させ、蛍光顕微鏡で同一部位について酸性フクシンの分布と抗体による標識の分布を比較した。その結果、イチヨウの非通水細胞と通水細胞では、抗マンナン抗体の標識に大きな違いは見られなかったが、抗キシラン抗体の標識のパターンが異なっていた。さらに、イチヨウの非通水細胞における抗キシラン抗体、抗マンナン抗体の標識はクロマツの晩

材仮道管と類似していた。イチヨウにおける抗マンナン抗体の標識はスギやイヌマキの早材仮道管と違いがあることが明らかになった。以上より、イチヨウでは通水細胞と非通水細胞におけるキシランの分布が異なること、スギやイヌマキと比較してグルコマンナンの分布が異なることが示唆された。

(6)柔細胞構造・機能(主担当:船田・半(東京農工大学))

イチヨウ二次木部における分野壁孔の形態学的特徴と軸方向要素の細胞死の出現パターンについて明らかにすることを目的とし、共焦点レーザー走査顕微鏡により二次木部の構造を観察するとともに核の有無により軸方向要素の細胞の生死を判断した。大径の軸方向要素と放射柔細胞との間にはすべての分野に壁孔が観察されたのに対し、小径の軸方向要素と放射柔細胞の間にはサイズの小さい分野壁孔が観察されるものに加えて、壁孔が観察されない分野が存在した。したがって、細胞径が異なる軸方向要素には、放射柔細胞との間の物質の移動速度や量に違いが存在する可能性がある。加えて、軸方向要素の細胞死のタイミングについて解析した結果、小径の軸方向要素は大径の軸方向要素と比べて細胞死のタイミングが遅いといえる。以上の結果より、イチヨウ二次木部には細胞径の違いや有縁壁孔の有無だけではなく、分野壁孔の分布やサイズ、細胞死のタイミングが異なる細胞が含まれていることが明らかとなった。

(7)木部水分通道機能(主担当:内海(九州大学))

イチヨウ樹幹の二次木部における通水様式の解明を目的とした。まず、立木染色法と蛍光顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡を用いて、樹幹の通水経路を細胞レベルで三次元的に可視化する方法を確立した。また、立木染色による染料分布と低温走査電子顕微鏡下で観察した水分分布を同一断面で比較・観察する方法を開発し、樹幹における通水様式を解析する手法を確立した。これらの方法を用いて観察した結果、すべての年輪において、染料が分布せず、内腔が水で満たされていない細胞が認められた。これらの通水に関与していない細胞は、年輪内に散在し、通水細胞(仮道管)より小径であった。また、染色されていない細胞には、有縁壁孔が認められなかったことから、通水に寄与しない細胞は、Ginkgo-fiber であることが示唆された。年輪内に散在する Ginkgo-fiber の分布がイチヨウ樹幹二次木部の通水様式を特徴づけているといえる。また、Ginkgo-fiber は、通水機能を持たないことから、樹幹支持機能を担うと考えられる。従って、イチヨウ二次木部では、細胞の機能分化が起こっていることが示唆された。

C. ゲノム解析チーム

(8)ゲノム情報を利用した系統樹作成・材形成/組織構造に関する新規知見の統合(主担当:高田(秋田県立大学))

本研究に使用した樹種を含む複数の木本植物を対象に、既存の塩基配列データベース(DDBJ、GenBank、EMBL)を利用して、塩基配列情報を入手し、ゲノム情報から推定される系統進化を構築した。得られた塩基配列データを基に異なるアルゴリズムによる複数の分子系統樹を作成した結果、イチヨウ(イチヨウ科イチヨウ属)は裸子植物(クロマツ(マツ科マツ属)、カラマツ(マツ科カラマツ属)、スギ(広義ヒノキ科スギ属)、イヌマキ(マキ科マキ属))及び被子植物(スダジイ(ブナ科シイ属)、ブナ(ブナ科ブナ属)、シラカンバ(カバノキ科カバノキ属))の分岐群(クレード)には属しておらず、独自の進化を経て現存している樹種であることが確認された。

得られた知見を総合的に検討した結果、原始の木本植物であるイチヨウは独特の木材組織構造及び水分通道様式を有する樹種であり、これらの特徴からイチヨウは独自の環境適応性を持っていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 工藤佳世、Rahman Mrd Hasnat、佐野雄三、雉子谷佳男、安江恒、高部圭司、半智史、船田良、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウ樹幹における形成層活動および木部形成
3. 学会等名 第73回日本木材学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rahman Mrd Hasnat、Satoshi Nakaba、Kayo Kudo、Katsuhiko Takata、Ryo Funada
2. 発表標題 Cambial response on the stem of deciduous Ginkgo biloba to increasing ambient air temperatures from late winter to spring
3. 学会等名 第73回日本木材学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 雉子谷佳男、野村駿介、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウにおける木部形成と形成層周辺組織の内生植物ホルモン量の季節変化
3. 学会等名 第73回日本木材学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 荒川泉、津本宗哉、Rahman Mrd Hasnat、工藤佳世、高田克彦、船田良、半智史
2. 発表標題 イチヨウ二次木部における分野壁孔の形態学的特徴と軸方向要素の細胞死
3. 学会等名 第73回日本木材学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安江恒、工藤佳世、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウにおける樹幹木部肥大成長への光合成産物配分の季節変動
3. 学会等名 第73回日本木材学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 工藤佳世、内海泰弘、永井智、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウの二次木部における通水様式
3. 学会等名 第134回日本森林学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 工藤佳世、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウにおける形成層活動および二次木部形成の季節性
3. 学会等名 第133回日本森林学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 工藤佳世、内海泰弘、永井智、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウ樹幹における通水様式
3. 学会等名 第72回日本木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rahman Md Hasnat、Satoshi Nakaba、Katsuhiko Takata、Kayo Kudo、Ryo Funada
2. 発表標題 Temperature responses of cambial activity cessation and leaf color changes in Ginkgo biloba trees during the autumn and winter
3. 学会等名 第72回日本木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野村駿介、雉子谷佳男、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウ、カラマツおよびスダジイにおける形成層周辺組織の内生植物ホルモン量の季節変動
3. 学会等名 第72回日本木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安江 恒、工藤佳世、高田克彦
2. 発表標題 イチヨウにおける幹、葉、根への光合成産物配分の季節変動
3. 学会等名 第74回日本木材学会大会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	安江 恒 (Yasue Koh) (00324236)	信州大学・学術研究院農学系・准教授 (13601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	雉子谷 佳男 (Kijidani Yoshio) (10295199)	宮崎大学・農学部・教授 (17601)	
研究分担者	工藤 佳世 (Kudo Kayo) (10757983)	秋田県立大学・木材高度加工研究所・助教 (21401)	
研究分担者	船田 良 (Funada Ryo) (20192734)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授 (12605)	
研究分担者	半 智史 (Nakaba Satoshi) (40627709)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授 (12605)	
研究分担者	内海 泰弘 (Utsumi Yasuhiro) (50346839)	九州大学・農学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	吉永 新 (Yoshinaga Arata) (60273489)	京都大学・農学研究科・准教授 (14301)	
研究分担者	佐野 雄三 (Sano Yuzo) (90226043)	北海道大学・農学研究院・教授 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------