

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：17601
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2019～2021
 課題番号：19K06172
 研究課題名(和文) エチレン前駆物質ACC量の組織ごとの分布解析による広葉樹あて材形成誘導の解明

 研究課題名(英文) Study on tension wood formation by the distribution analysis of the amount of ethylene precursor ACC in tissues around the cambium

 研究代表者
 雉子谷 佳男 (KIJIDANI, YOSHIO)

 宮崎大学・農学部・教授

 研究者番号：10295199
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではスダジイ、シラカシおよびユリノキのあて材形成における植物ホルモンの働きを調べた。あて材形成時にオーキシシン(IAA)、アブシシン酸の屈曲・傾斜樹幹上下での偏差分布が3樹種で確認された。エチレン前駆物質のアミノシクロプロパンカルボン酸(ACC)の偏差分布は、スダジイとシラカシで認められたものの、G層をつくらぬユリノキでは認められなかった。ACC投与であて材は形成されず、軸方向柔細胞とサイトカイニン前駆物質量の増加が認められた。あて材形成時のIAA移動量を調べたところ、屈曲樹幹下側のIAA移動速度の上昇が推測された。あて材形成誘導は、各種植物ホルモンの相互作用が想定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

あて材の細胞壁マイクロフィブリル傾角と細胞壁主成分の含有率は正常材に比べて大きく異なる。マイクロフィブリル傾角は、木材の物理的性質に影響をおよぼす重要な材質指標である。樹木がどのように細胞壁形成を制御しているのかを理解する上で、あて材形成は極めて興味深い研究対象である。また、針葉樹人工林のみでは、木材需要の変化に対応できず外国産材に国内需要を今以上に奪われる。近年、国産早生広葉樹による木材生産の可能性が注目されており、スダジイは日本の主要な広葉樹材資源である。広葉樹人工林導入には木部形成の基礎的知見が必要である。本研究で得られた成果は、木材材質の制御や広葉樹林業促進に貢献できる知見である。

研究成果の概要(英文)：We examined the role of plant hormones in tension wood formation in three hardwoods (*Castanopsis sieboldii*, *Quercus myrsinifolia*, *Liriodendron tulipifera*). The amounts of auxin (IAA) and abscisic acid were different between upper and lower part of bending stem during tension wood formation in three hardwoods. The amounts of ethylene precursor (ACC) were different between upper and lower part of bending stem during tension wood formation in the two hardwoods (G layer in tension wood), however the amounts of ACC had no difference in stem positions in *Liriodendron tulipifera* (no G layer in tension wood). The application of exogenous ACC to *Castanopsis sieboldii* could not induce tension wood formation, but differentiation of axial parenchyma cells and amounts of cytokinin precursors. IAA movements increased lower part of bending stem during tension wood formation in *Castanopsis sieboldii*. The interaction of plant hormones might induce tension wood formation.

研究分野：木材組織・材質

キーワード：引張あて材 植物ホルモン

1. 研究開始当初の背景

針葉樹人工林のみの森林資源では、木材需要の変化に対応できず外国産材に国内需要を今以上に奪われる。近年、国産早生広葉樹による木材生産の可能性が注目されているものの、広葉樹人工林導入には膨大な基礎的知見の蓄積が必要である。広葉樹材の材質に影響をおよぼす木部形成の知見蓄積は急務である。本研究では、木部形成の中でとくにあて材形成に注目した。あて材形成は植物における重力屈性に伴う反応であるものの、あて材の細胞壁マイクロフィブリル傾角と細胞壁主成分の含有率は正常材に比べて大きく異なる。マイクロフィブリル傾角は、木材の物理的性質に影響をおよぼす重要な材質指標である。樹木がどのように細胞壁マイクロフィブリル傾角の変動を制御しているのかを理解する上で、あて材形成は極めて興味深い研究対象である。

広葉樹あて材形成を誘導する情報伝達物質として、植物ホルモンの関与が報告されている¹。オーキシン投与で引張りあて材形成が誘導され、オーキシン極性輸送関連の遺伝子発現の促進が認められた²。しかし、樹幹屈曲によりあて材形成中の針葉樹と広葉樹で、屈曲上側(TW)と下側(OW)で内生オーキシン量の偏差分布は認められず、オーキシンの関与が否定された³。投与研究から、ジベレリンは引張りあて材形成誘導に重要な役割を担うとされている^{4,5}。引張り・圧縮あて材形成とエチレン生成量のTWとOWの偏差分布に対応関係が認められることから、エチレン生成とあて材形成との間に密接な関係があるとしている⁶。エチレンおよびエチレン前駆物質であるアミノシクロプロパンカルボン酸(ACC)の投与によって引張りあて材の特徴であるG層形成とマイクロフィブリル傾角の変化が認められた⁷。しかし、樹幹屈曲による引張りあて材形成中のACC量について、投与研究と矛盾する結果が報告されている⁸。このように、引張りあて材形成の誘導には未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

針葉樹と広葉樹のあて材形成に共通して関与する植物ホルモンは、オーキシンとエチレンである。気体であるエチレンの生成にはオーキシンとエチレン前駆物質ACCが関与する。木本植物におけるACCの研究例は少なく、内生ACC量の知見蓄積が必要である。研究方法として、師部から木部にかけて連続的に凍結切片を作成し、内生植物ホルモン量の組織ごとの分布に基づいて木部形成を議論することが最適と考える。この方法を開発したスウェーデンの研究グループは、HPLCでの分取による精製後にTMS化したのち、GC/MSによって植物ホルモンを分析する。この方法は分析手順が煩雑であり、そのために精度の低下が懸念される。実際に、ACC投与結果⁷と内生ACC量分析結果⁸について矛盾する報告がなされている。さらに、内生植物ホルモン量の研究では、1種の植物ホルモンに限られた研究が多いことも木部形成を理解する上で不十分と言わざるを得ない。したがって、広葉樹あて材形成の誘導の解明には、内生ACC量を含む各種植物ホルモン量の組織ごとの分布を効率的で精度良く分析できる方法を開発し、多様な広葉樹について新たな知見を蓄積する必要がある。

本研究の目的は、内生ACC量を含む各種植物ホルモン量の組織ごとの分布を明らかにし、多様な広葉樹について引張りあて材形成の新知見を蓄積することである。ACC量を含む各種植物ホルモンの組織ごとの分布が解析できれば、あて材形成と各種内生植物ホルモンの働きを関係付けることができる。既往研究で植物ホルモンおよび阻害剤投与によるあて材形成への影響が指摘されてきた。しかし、投与による内生植物ホルモン量の変化は明らかにされず、投与研究の結論の解釈には疑問が残る。投与によるACCを含む各種内生植物ホルモンの組織ごとの分布の変化が解析できれば、新たな知見を得ることができる。

3. 研究の方法

既に同一試料から凍結切片での各種植物ホルモンの同時分析方法を確立している。しかし、既往のACC分析方法⁸では信頼性の高い分析は難しい。逆相カラムで保持されにくいACCについて、ACCの精製方法とHILIC(親水性相互作用クロマトグラフィー)カラムによるLC/MS分析方法を確立しACC量を精度良く分析する。また、D2-IAAを投与しD5-IAAで定量することで、屈曲処理がオーキシンの極性輸送に及ぼす影響について情報を得る。

4. 研究成果

スダジイ、シラカシおよびユリノキについて、樹幹屈曲・傾斜処理を行い、引張りあて材形成の組織観察および各種植物ホルモンの組織内分布を明らかにした。

(1) ACC量の分析方法

ACCの精製は、Oasis.MCX(逆相-強陽イオン交換ポリマー、Waters)を用いた固相抽出を行った。ACCは塩基性化合物として精製された。すなわち、形成層試料からの抽出液は、固相

抽出によって、酸性化合物（オーキシシン (IAA)、アブシシン酸 (ABA)、ジベレリン) と塩基性化合物（サイトカイニン、ACC) に分離することができた。LC/MS での分析条件は、移動層を水とアセトニトリルのグラジエント分析で添加剤は 0.1%酢酸が最適であった。また、既往の研究ではイオン化モードがポジティブであったものの、ネガティブの方が S/N 比が向上し精度の高い分析が可能であった。

(2) スダジイとシラカシ (あて材に G 層あり)

傾斜および屈曲樹幹の TW および OW での各種内生植物ホルモンを定量したところ、IAA、ABA および ACC の偏差分布が確認され、これらが引張あて材形成に関与していることが示唆された (図 1 ~ 図 5)。このうち、IAA と ACC に着目し、IAA、IAA 極性輸送阻害剤 (N-1-ナフチルフタラミン酸, NPA) および ACC を直立木の樹幹にそれぞれ投与したものの、引張あて材形成は誘導されなかった。その一方で、ACC 投与部の反対側で軸方向柔細胞の分化促進が観察され、サイトカイニン前駆物質 (tZR, iPR) 量が有意に増加した。また、NPA 投与部下側の肥大成長において顕著な偏心成長が認められ、成長が抑制された部位で ABA 量が有意に増加した。NPA 投与実験の結果から、IAA 輸送阻害が他の植物ホルモンとの相互作用を誘導した可能性が示唆された。そこで、直立木、屈曲樹幹の TW および OW に D2-IAA を投与し、D5-IAA を内部標準として定量することで、投与処理 5 日後の IAA 輸送の挙動を調べた。その結果、OW に D2-IAA を投与した試験木でのみ、投与部 5 cm 下の OW において D2-IAA 量が増加し (図 6)、同時に、TW と OW における内生 IAA の偏差分布が確認された。すなわち、屈曲刺激によって IAA の輸送形式が変化し、OW の IAA 輸送が促進される可能性が示唆された。樹冠で合成される内生 IAA 量には限りがあるため、引張あて材形成時に OW の IAA 輸送速度が上昇することで、傾斜・屈曲下側の IAA 量が減少したのかもしれない。

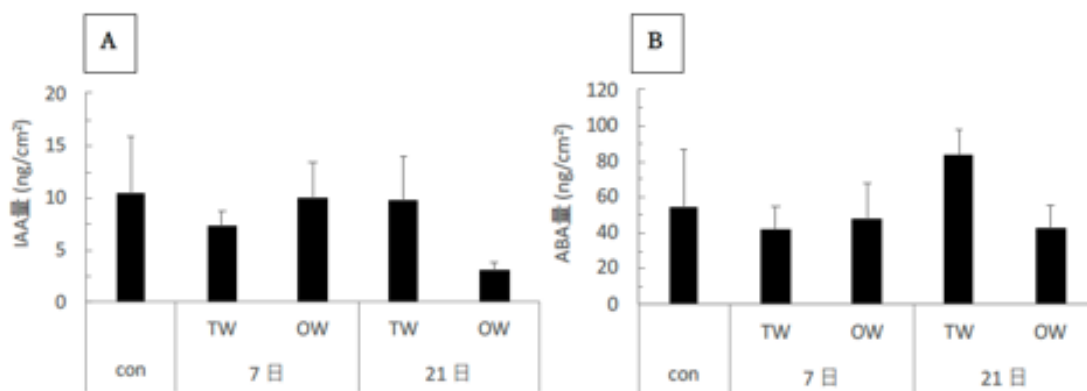


図 1 屈曲処理の IAA と ABA

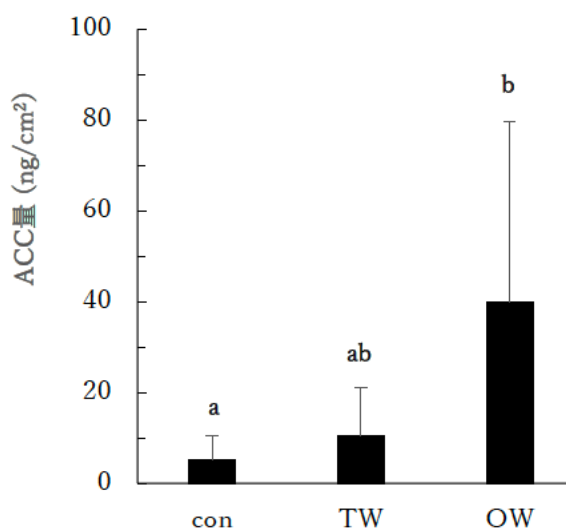


図 2 屈曲処理の ACC

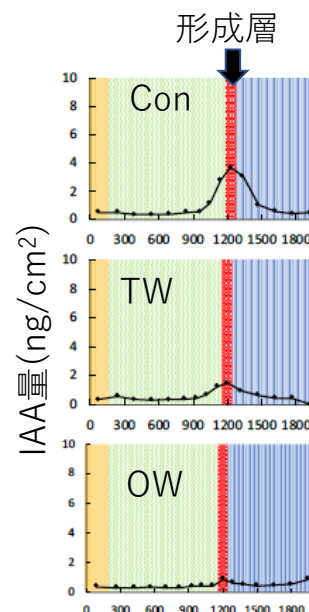


図 3 IAA の組織内分布

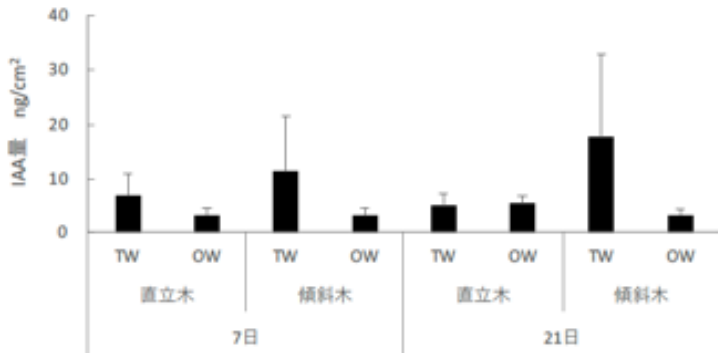


図4 傾斜処理のIAA

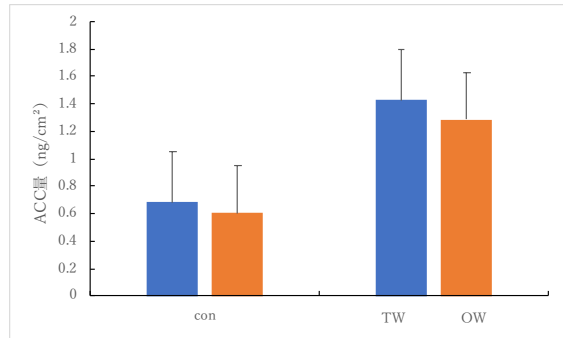


図7 ユリノキ屈曲木のACC量

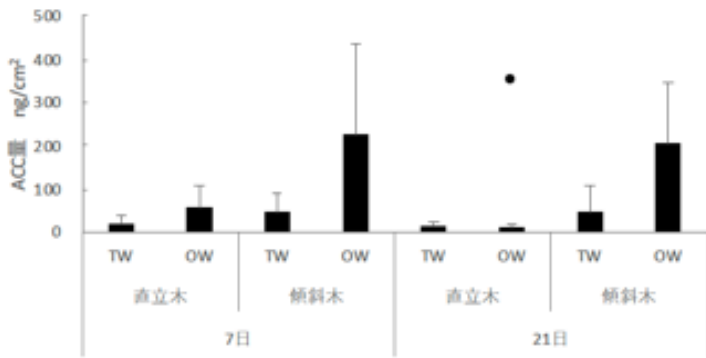


図5 傾斜処理のACC

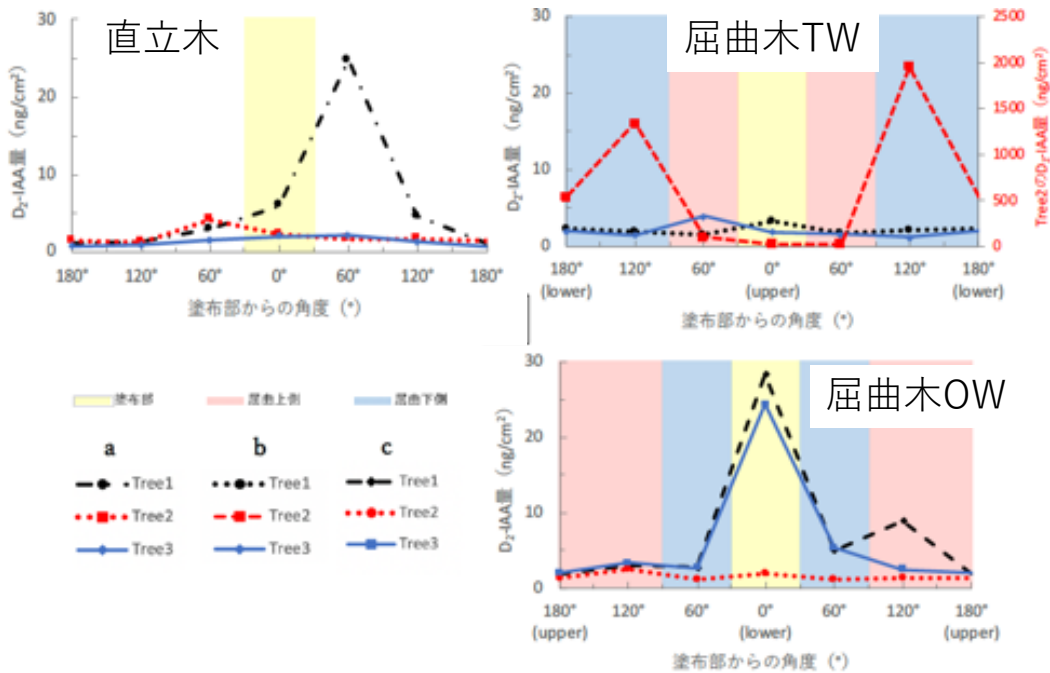


図6 屈曲処理がIAAの極性輸送に及ぼす影響

(3) ユリノキ (あて材にG層なし)

塩化亜鉛・ヨウ素反応による染色では、TW では木繊維において紫色の呈色を示さず、広葉樹のあて材の特徴である G 層の形成がないことを確認した。モイレ反応による染色の結果は、TW では二次壁が染色されず、リグニンをほとんど含んでいないことが分かった。また、LC/MS による分析では、ユリノキ TW、OW における IAA 量および ABA 量にスダジイおよびシラカシと同じ偏差分布の傾向が認められたものの、有意な差ではなかった。ユリノキの ACC 量は通直木に比べて TW と OW の両方で顕著な増加が見られ、スダジイ、シラカシおよび既報のポプラとは異なる結果となった (図 7)。

以上の結果から、IAA や ACC は単独で引張あて材形成を誘導する直接的な引き金ではないと考えられるが、これらの偏差分布や他の植物ホルモンのクロストークが引張あて材形成に関与している可能性がある。

引用文献

1. 船田良 (2016) : 第5章 あて材形成と植物ホルモン. “あて材の科学”, 日本木材学会組織と材質研究会編, 海青社, pp.267-308.
2. Yu M, Liu K, Liu S, Chen H, Zhou L, Liu Y (2017) Effect of exogenous IAA on tension wood formation by facilitating polar auxin transport and cellulose biosynthesis in hybrid poplar (*Populus deltoids* × *Populus nigra*) wood. *Holzforschung* 71: 179-188
3. Hellgren JM, Olofsson K, Sundberg B. (2004) Patterns of auxin distribution during gravitational induction of reaction wood in poplar and pine. *Plant Physiol.* 135: 212-220
4. Nugroho WD, Yamagishi Y, Nakaba S, Fukuhara S, Begum S, Marsoem SN, Ko JH, Jin HO, Funada R. (2012) Gibberellin is required for the formation of tension wood and stem gravitropism in *Acacia mangium* seedlings. *Annals of Botany* 110: 887-895
5. Nugroho WD, Nakaba S, Yamagishi Y, Begum S, Marsoem SN, Ko JH, Jin HO, Funada R (2013) Gibberellin mediates the development of gelatinous fibers in the tension wood of inclined *Acacia mangium* seedlings. *Ann. Bot.* 112:1321-1329
6. Du S, Yamamoto F (2003) Ethylene evolution changes in the stems of *Metasequoia glyptostroboides* and *Aesculus turbinata* seedlings in relation to gravity-induced reaction wood formation. *Trees* 17: 522-528
7. Felten J, Vahala J, Love J, Gorzsás A, Rüggeberg M, Delhomme N, Lesniewska J, Kangasjärvi J, Hvidsten TR, Mellerowicz EJ, Sundberg B (2018) Ethylene signaling induces gelatinous layers with typical features of tension wood in hybrid aspen. *New Phytol.* 218: 999-1014
8. Andersson-Gunnerås S, Hellgren JM, Björklund S, Regan S, Moritz T, Sundberg B. (2003) Asymmetric expression of a poplar ACC oxidase controls ethylene production during gravitational induction of tension wood. *Plant J.* 34: 339-349

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 富家梓, 雉子谷佳男
2. 発表標題 引張あて材形成と樹幹内部における内生植物ホルモンの偏差分布について
3. 学会等名 組織と材質研究会 2020 秋の研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富家 梓、雉子谷佳男、津山 濯
2. 発表標題 屈曲処理したスダジイ樹幹のTW側およびOW側における オークシン極性輸送について -投与および内生IAAの分布解析-
3. 学会等名 第71回日本木材学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富家梓、雉子谷佳男
2. 発表標題 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸（ACC）の分析方法検討と屈曲処理2週間後のスダジイとシラカシにおける内生ACCレベルについて
3. 学会等名 第26回日本木材学会九州支部大会（宮崎大会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富家梓、雉子谷佳男、津山濯
2. 発表標題 樹幹傾斜処理および屈曲処理によるスダジイとシラカシの内生IAA量について
3. 学会等名 第70回日本木材学会大会（鳥取大会）
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------