

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19143

研究課題名（和文）圧縮刺激でセルロースが増える応答を手掛かりに細胞壁の新機能の発見をめざす

研究課題名（英文）Aiming to discover new functions of cell walls by using the response increasing cellulose to the compressive stimuli

研究代表者

吉田 正人（Yoshida, Masato）

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：30242845

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：短時間の圧縮刺激を繰り返し受けながら形成された広葉樹の細胞壁は通常よりもセルロースを多く含む。この刺激と応答の関係を詳しく調べ、細胞壁が有する機能の理解を深めた。この刺激応答は、水平にした幹では生じたが、鉛直な幹では生じなかった。刺激の頻度については、1週間に5秒間の圧縮刺激、ときには4週間に5秒間の圧縮刺激でも、この応答は生じた。遺伝子的距離が離れた多樹種で、刺激応答は生じていたが、変化の度合いや向きは樹種によって異なっていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

圧縮の刺激に対して引っぱり強いセルロースを増やす対応はこれまで知られていない刺激応答である。本研究によって細胞壁の未知の機能の一つを知ることができた。細胞壁はセルロース微小繊維束を骨格に、リグニンを充填物質に持つ。特に、樹木の巨体を支える発達した細胞壁は力学的に優れた機能を持っている。その構造は複合材料の手本であり、本研究成果も材料設計の新しい着想の端緒となった。

研究成果の概要（英文）：Cell walls of hardwoods formed under repeated short-term compressive stimulation contain more cellulose than normal. The relationship between this stimulus and response was examined in detail to better understand the function of the cell wall. The stimulus response occurred in horizontal trunks but not in vertical trunks. Regarding the frequency of stimulation, this response occurred with 5 seconds of compressive stimulation per week and sometimes even 5 seconds per 4 weeks.

Stimulus responses occurred in multiple tree species at genetic distances, but the degree and direction of change varied among species.

研究分野：木材物理学

キーワード：細胞壁 セルロース あて材

1. 研究開始当初の背景

細胞壁の骨格は、幅 3~5nm のセルロース微小繊維が複数本集合したセルロース微小繊維の束である。それらが多層に配向することで細胞壁を強靱にしている。骨格の隙間にはリグニンが緻密に充填されて細胞壁を強固にしている。樹木は力学刺激に対して細胞壁を変化させる応答で長大な体を支えている。

これまでに知られている刺激応答は、引張の力を受けると引張に強いセルロースが増え、圧縮の力を受けると圧縮に強いリグニンが増える応答である。これは繊維強化複合材料の設計理論そのものである。

申請者は近年、これとは真逆の応答を導くことに成功した。短時間の圧縮の力を繰り返し与えることで、引張に強いセルロースを増やせたのだ。複数の個体、複数の樹種でこの現象は再現できた(2020 竹内・吉田)。この応答には、細胞壁の新しい機能が隠れている可能性がある。

2. 研究の目的

なぜ短時間の圧縮の繰り返しでセルロースを増やすのだろうか？この応答でセルロースが増えた細胞壁は圧縮に強いのだろうか？セルロースで圧縮に強い秘密は何だろうか？

短時間の繰り返し圧縮が細胞壁のセルロースを増やすこの応答を明らかにし、細胞壁の新しい機能を探る。細胞壁の多層構造とセルロース微小繊維束の配置、セルロースの性質にその秘密があると考えている。

本研究は申請者が発見した新しい刺激応答を手掛かりに、細胞壁の新しい機能の発見につながる取り組みである。その成果は、複合材料の設計にも役立つかもしれない。

3. 研究の方法

セルロースを増やす応答を導く圧縮繰り返しの条件を明らかにする

圧縮の力の大きさ、負荷の継続時間、間隔、繰り返し数を変えて苗木を生育し、細胞壁がセルロース量を増やす条件を見つけて刺激の本質を知る。

本研究で引用する樹種 ・ブナ(*Fagus crenata*)

被子植物真正双子葉類ブナ目ブナ科ブナ属 ・ハナミズキ(*Cornus florida*)

被子植物真正双子葉類ミズキ目ミズキ科ミズキ属 ・ヤマザクラ(*Prunus jamasakura*)

被子植物真正双子葉類バラ目バラ科サクラ属 ・カツラ(*Cercidiphyllum japonicum*)

被子植物真正双子葉類ユキノシタ目カツラ科カツラ属 ・オニグルミ(*Juglans mandshurica* var. *sachalinensis*)

被子植物真正双子葉類ブナ目クルミ科クルミ属 ・ユーカリ(*Eucalyptus*)(先行研究)

被子植物真正双子葉類フトモモ目ユーカリ属

本実験では、すべて苗木の樹幹が地面と平行になるようにして生育させた。(水平条件) また、曲げ操作として負荷した刺激は、苗木の樹幹を水平面で曲げる操作によるものである。

試料採取

・曲げ刺激を負荷させない個体では基部から 10cm 程度の部分から、曲げ刺激を負荷させた個体では曲げ刺激を負荷させた部分から、それぞれ樹幹円盤を採取した。

試料作製 ・円盤を採取した後、凍結式マイクローム(リサーチ用高性能凍結マイクローム(独国ライカ マイクロシステムズ社製))または大型滑走式マイクローム(リトラーム REM-710(大和光 機工業(株)))を用いてスライスし、 $1\mu\text{m} \sim 30\mu\text{m}$ 厚の切片を作製した。

・得られた切片を 0.1% トルイジンブルーリン酸緩衝液で染色した。

試料観察

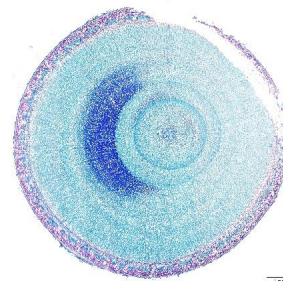
・得られた切片を、光学顕微鏡(OLYMPUS BX60)により観察し、観察画像を撮影した。

画像解析

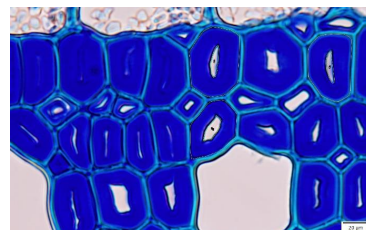
・光学顕微鏡観察画像をもとに、画像編集ソフト ImageJ を用いて、あて材率、G 層(ゼラチン層)厚さ、道管頻度、道管直径、道管面積率の 5 項目のうち、任意の項目について、画像解析を行った。

あて材率

右図の様に得られた樹幹円盤写真から、木部全体の面積、あて材を形成した(G 層を形成し、画像中で濃い青色に染まっている)領域の面積を計測した。あて材率= $\frac{\text{あて材を形成した領域の面積}}{\text{木部全体の面積}} \times 100(\%)$ として算出した。



右図の様に得られた顕微鏡写真から、G 層内腔の面積、G 層内腔の周囲長、G 層外腔の面積、G 層外腔の周囲長を計測した。
 G 層厚さ(μm)= $\{(G$ 層外腔の面積 $-G$ 層内腔の面積) $/(G$ 層外腔の周囲長 $+G$ 層内腔の周囲長) $\}$ として算出した。
 得られた顕微鏡写真から、道管の個数を計測した。
 道管頻度(個/ m^2)=(道管の個数) $/($ 観察した部分の面積 $)$ として算出した。
 道管の直径を計測した。
 道管面積を決定した。道管面積率(%)= $\{($ 画像領域中の道管の総面積 $)/($ 観察した部分の面積 $\}) \times 100$ (%)として算出した。



4. 研究成果 ブナ 測定結果

	供試個体数	あて材率 (%)	あて材率 標準偏差	G層厚さ (μm)	G層厚さ 標準偏差	平均道管直径 (μm)	平均道管直径 標準偏差	道管頻度 (個/ mm^2)	道管頻度 標準偏差	道管面積率 (%)	道管面積率
水平常時曲げ	n=2	17.6	10.9	4.1	0.2	24.6	0.1	45.9	31.7	2.5	1.9
水平 半週ごと	n=3	22.5	9.1	4.5	0.3	23.7	1.9	28.7	2.0	2.2	0.7
水平 1週ごと	n=3	19.0	10.5	5.0	1.1	26.3	0.9	47.2	22.2	3.8	2.0
水平 2週ごと	n=3	16.3	9.2	4.7	0.2	24.7	1.8	35.7	14.1	2.0	0.9
水平 4週ごと	n=3	26.5	0.7	5.0	0.2	25.0	1.7	17.3	5.0	1.1	0.6
水平コントロール	n=2	23.6	8.4	5.1	0.2	28.4	0.7	23.3	8.0	2.1	0.3

▶あて材率:曲げ負荷条件の違いによる変化の傾向は見られなかった。▶G 層厚さ:曲げ負荷頻度が小さいほど厚い G 層を作る傾向が見られた。▶道管直径:水平コントロールに比べ、曲げ負荷個体は道管直径が小さくなる傾向。▶道管頻度:曲げ負荷条件の違いによる変化の傾向は見られなかった。▶道管面積率:曲げ負荷条件の違いによる変化の傾向は見られなかった。

カツラ 測定結果

	供試個体数	あて材率 (%)	あて材率 標準偏差	G層厚さ (μm)	G層厚さ 標準偏差	平均道管直径 (μm)	平均道管直径 標準偏差	道管頻度 (個/ mm^2)	道管頻度 標準偏差	道管面積率 (%)	道管面積率 標準偏差
水平常時曲げ(2021)	n=3	14.5	4.3	3.85	0.27	20.98	0.92	241.18	113.55	7.45	3.43
水平週1曲げ(2021)	n=3	14.8	2.9	5.00	0.37	24.70	2.04	185.64	28.56	10.48	3.43
水平週1曲げ(2020)	n=3	34.5	1.7	5.90	1.19	27.59	3.04	150.19	55.87	10.92	4.32
水平コントロール(2020)	n=3	17.6	6.8	4.60	0.91	28.11	2.57	209.31	58.39	13.46	3.17

	供試個体数	あて材率 (%)	あて材率 標準偏差	G層厚さ (μm)	G層厚さ 標準偏差	平均道管直径 (μm)	平均道管直径 標準偏差	道管頻度 (個/ mm^2)	道管頻度 標準偏差	道管面積率 (%)	道管面積率 標準偏差
水平常時曲げ	n=3	14.5	4.3	3.85	0.27	20.98	0.92	241.18	113.55	7.45	3.43
水平週1曲げ	n=6	24.7	10.1	5.45	0.99	26.15	2.96	167.91	47.78	10.70	3.91
水平コントロール	n=3	17.6	6.8	4.60	0.91	28.11	2.57	209.31	58.39	13.46	3.17

▶あて材率:水平コントロールに比べ、曲げ負荷個体ではあて材率が高くなる傾向。ただし、水平常時曲げと水平週 1 曲げに値の違いは見られなかった。▶G 層厚さ:水平週 1 曲げは、水平コントロールと水平常時曲げに比べ、値が大きくなった。▶道管直径:水平週 1 曲げは、水平常時曲げに比べ、値が大きくなった。▶道管頻度:条件間で差はなかった。▶道管面積率:条件間で差はなかった。ただし、水平週 1 曲げは水平常時曲げに比べて値が大きくなる傾向があった。

オニグルミ 測定結果

	供試個体数	平均道管直径 (μm)	平均道管直径 標準偏差	道管頻度 (個/ mm^2)	道管頻度 標準偏差	道管面積率 (%)	道管面積率 標準偏差
水平常時曲げ	n=2	37.10	4.05	67.96	33.05	6.67	0.58
水平週1曲げ	n=1	37.55	0.00	51.40	0.00	5.97	0.00
水平コントロール	n=3	46.73	7.44	43.19	3.65	6.31	0.45

▶道管直径:水平コントロールに比べ、曲げ負荷個体では平均道管直径が小さくなる 傾向。
 ▶道管頻度:条件間に違いは見られなかった。▶道管面積率:条件間に違いは見られなかった。

ヤマザクラ 測定結果

	供試個体数	あて材率 (%)	あて材率 標準偏差	G層厚さ (μm)	G層厚さ 標準偏差	平均道管直径 (μm)	平均道管直径 標準偏差	道管頻度 (個/ mm^2)	道管頻度 標準偏差	道管面積率 (%)	道管面積率 標準偏差
水平常時曲げ	n=3	22.5	13.6	2.48	0.38	20.84	0.78	73.72	14.39	4.69	1.53
水平週1曲げ	n=2	5.0	0.0	2.31	0.14	16.63	0.56	160.33	8.20	5.69	0.97
水平コントロール	n=3	28.5	14.3	3.04	0.28	24.57	3.12	54.35	8.41	5.25	0.64

あて材率：水平週1曲げは、水平コントロールに比べてあて材率が減少した。▶G層厚さ
水平コントロールと比較すると、曲げ負荷個体(常時曲げと週1曲げ)で値が減少
した。▶道管直径・水平週1曲げ個体は、水平コントロールに比べ、あて材形成領域における
道管直径が縮小した。・水平常時曲げは、水平コントロールに比べ、あて材形成領域における道
管直径が拡大した。
▶道管頻度・水平週1曲げは、水平コントロールや水平時常時曲げに比べて単位面積当たりの
道管の数が増加した。▶道管面積率・どの条件間でも差がなく、平均値にも大きな違いはなか
った。

本研究では広葉樹を数種類用い、それぞれの樹種に対して、断続的な曲げを負荷した。
まず、本研究の実験結果から得られた個体において、あて材形成領域を観察すると、すべて斜
面上側にあて材が形成されていた。この結果は、あて材形成においては重力方向の変化、すな
わち重力刺激が応力刺激より優先される物理的刺激であるという説 (Wilson and Archer, 1977)
に矛盾しない結果である。
一方で、あて材率、G層厚さ、斜面上側における道管頻度や道管直径を観察すると、断続的
応力刺激の有無に違いによる値の増減を確認した。これにより、継続的応力刺激の存在条件下
において、断続的応力刺激は個体の形成に対して影響を与えることが示唆された。
また、本研究において、断続的応力刺激に対し、個体の応答の仕方にはあての程度を強くする
ものと弱くするものの両者の傾向がみられた。斜面に生育する個体に対し、断続的応力刺激が
あて材の形成を促す樹種もあれば、あて材形成を抑制させる方向へ誘導される樹種も存在する
ことになる。

本研究は、継続的応力刺激と断続的応力刺激の関係性を探ることをテーマとして扱ったもので
ある。本研究の結果、継続的応力刺激の存在条件下において、樹木は断続的応力刺激に応答す
ることが分かった。また、継続的応力刺激の存在条件下において、断続的応力刺激に対する個
体の応答の仕方は、樹種によって異なることが示唆された。
今後、樹種を変えて実験を行っていく必要があると考える。また、苗木の生育は天気や降水量
などの生育環境に大きく左右され、個体数の確保が難しい。本研究と同様の樹種で実験を行う
ことで個体数を増やし、さらに考察する余地があると考ええる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹内瑞希、吉田正人、松尾美幸、山本浩之
2. 発表標題 断続的な応力刺激による広葉樹あて材形成II
3. 学会等名 日本木材学会中部支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉村悠輔、吉田正人、山本浩之
2. 発表標題 あて材形成における傾斜刺激と応力刺激の影響
3. 学会等名 日本木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉村悠輔、吉田正人、山本浩之
2. 発表標題 細胞壁形成における応力刺激と応答
3. 学会等名 日本木材学会中部支部大会
4. 発表年 2021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
---------	---------