

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660140

研究課題名(和文)新概念「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」の提唱

研究課題名(英文) Novel concept of 'gravitational reaction wood' and 'stress reaction wood'

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) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：幹は傾くと、重力と応力の2つの刺激を受けて、あて材が作られる。それぞれの刺激は、あて材の形成にどう作用しているのか？鉛直な幹に応力だけを加えて、形成された細胞壁の特徴を調べた。針葉樹スギでは、圧縮の応力負荷後には放射径が小さくなり、細胞壁厚が大きくなった。引張の応力負荷にも同様な応答を示した。広葉樹ブナでは、圧縮の応力負荷後には細胞壁厚の増加、S3の消失、木下度の減少、道管頻度の減少があった。引張ではG層の形成、道管頻度の減少が起こった。

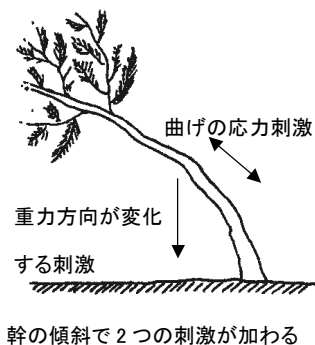
研究成果の概要(英文)：Reaction wood is formed in leaning stems as a response to 'gravity' and 'stress'. How does each stimulus act on the generation of reaction wood? We investigated the cells formed under only 'stress'-loaded condition in vertical stems. In Sugi, gymnosperm, compressive stresses made radial diameter of cells decrease; and cell wall thickness large. Similar changes were obtained in tensile-stress condition. In Buna, angiosperm, compressive stresses made cell wall thickness large; S3 layer disappeared; lignin less; and amount of vessel decrease. Tensile stress made G-layer and decrease of vessel number.

研究分野：木質科学

キーワード：あて材形成

### 1. 研究開始当初の背景

幹が傾くと、あて材が形成される。このとき幹には「重力方向が変化する刺激」と「曲げの応力が加わる刺激」の2つが加わっている。



それぞれの刺激は、あて材の形成にどのように作用しているのだろうか。国内外でさまざまな研究が行われているが、まだ結論は出していない。重力刺激が主要とする研究もあれば(木材研究 1949, AnnRevPlantPhysiol 1977)、応力刺激が主要とする研究もある(AmerJBot 1952)。

そのため、材形成や植物ホルモンの生成、遺伝子の発現らが重力に応答したのか、応力に  
応答したのか判断できない問題も生じている(PlantJ 2000)。

それぞれの刺激の作用が明らかになれば、問題解決の突破口になる。本研究の目的は、それぞれの刺激で作られるあて材の特徴を明らかにして、「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」という新しい概念を提唱することである。

### 2. 研究の目的

重力の刺激と応力の刺激をそれぞれ単独で加えて、あて材を形成させる。重力刺激だけを加えて「重力刺激あて材」を調べる手法は確立済である(萌芽研究 H14-16 年度)(Yoshida JWoodSci 2005)。応力の刺激だけを加えながら生育する機器を創製し、「応力刺激あて材」を調べる手法を確立する。

そして、重力刺激で変化する特徴と、応力刺激で変化する特徴を明らかにし、「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」の特徴を定義する。

本研究の特色は、あて材の特徴を、重力刺激によるものと応力刺激によるものに分けて検討することにある。「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」という新概念を提唱する本研究は、樹木のそれぞれの刺激への応答性を初めて明らかにする意義を持つ。あて材形成の引き金は何か、植物ホルモンや遺伝子は何の刺激に応答しているのか、あて材の特徴が一樣でないのはなぜか(Yoshida AnnForSci 2000, Yamashita & Yoshida AnnBot 2007)などの疑問を解決する糸口になる。

### 3. 研究の方法

あて材をつくる傾斜の刺激を、「重力方向が変化する刺激」と「曲げの応力が加わる刺激」に分けることが本研究の斬新なアイデアである。

「重力の刺激」と「応力の刺激」の2つが混じっているので、傾斜が同じでもあて材の特徴が一樣にならない(Yoshida AnnForSci 2000, Yamashita & Yoshida AnnBot 2007)。傾斜の刺激を受けてから、あて材の形成が開始されるまでの時間が数分から数日と幅広く報告されているのも、2つの刺激が混じっているからである。

これらの課題を解決するために、重力刺激だけで形成したあて材と、応力刺激だけで形成したあて材の、それぞれの特徴を調べる。そして「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」という新しい概念を提唱するチャレンジ性を本研究は持つ。重力の刺激だけで生育する機器と手法は、萌芽研究 H14-16 で確立している。もう一方の応力の刺激だけを加える機器を創製し、生育法を確立するチャレンジ性もある。

あて材は、“正常材と違う木部”と定義されている。さまざまな特徴が入り混じり一樣な特徴を示さないため、具体的な記述ができないからである。申請者は、あて材の特徴を傾斜の大きさとの関係で表現した(Yoshida AnnForSci 2000, Yamashita & Yoshida AnnBot 2007)。その成果から、同じ傾斜でも樹木自身の重さが違うため、曲げの応力が一樣にならないことが分かった。そして、傾斜の刺激を重力と応力の刺激に分ける必要があると着想し、本研究の立案に至った。

期待される卓越した成果を以下にまとめる。

あて材は幹が傾いた刺激で形成される。このとき幹には「重力方向が変化する刺激」と「曲げの応力が加わる刺激」の2つが加わっている。それぞれの刺激に応答して変化したそれぞれの特徴が合わさって、あて材はできていると申請者は考えている。

それぞれの刺激だけによって形成されるあて材の特徴を明らかにして、あて材の新しい概念となる「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」を提案したい。

本研究は、重力刺激あて材と応力刺激あて材の両方に共通の特徴や、片方の刺激だけに特異な特徴を明らかにする。これは、あて材の本質を理解することにつながる。“正常材と違う木部”というあて材の定義に、新しい記述が加わる展開もありうる。本研究で、あて材の未解決課題に突破口を開きたい。

研究計画は3つからなる。①苗木に応力の刺激だけを加える機器を創製する。②重力の刺激で形成したあて材の特徴と、応力の刺激で形成したあて材の特徴を調べる。③「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」の新概念を提唱する。

平成 26 年度は、①を主に行い、②を並行

して行う。平成 27 年度以降は②に取り組み、重力刺激によるあて材と応力刺激によるあて材の特徴を調べて、それぞれの刺激によるあて材を定義する。そして、③あて材の新概念「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」を提唱する。

① 苗木に応力の刺激だけを与えながら生育する機器を創製する

(1) 高さ 100cm 程度、直径 1cm 程度の針葉樹の苗木と広葉樹の苗木を用いる。

どちらの苗木も典型的な針葉樹の圧縮あて材と広葉樹の引張あて材を形成する樹種を選択する。幹は真っすぐで曲がりの少ない樹種を選定する。

(2) 応力の刺激を加える次のような方法を試みる。

鉛直状態で生育し、幹の上部と下部をクランプで固定する。上と下のクランプを数本ロードでつないで、鉛直から傾かないようにする。上下のクランプ間を押し縮めることで、圧縮の応力刺激を加える。また、クランプ間を引き伸ばすことで引っ張りの応力刺激を加える。

針葉樹では圧縮の応力刺激であて材形成が期待でき、広葉樹では引張の応力刺激であて材形成が期待できる。幹が傾いたときに加わる応力の大きさを実際に測定して、加える刺激の大きさを設定する。

(3) クランプの形状と方法を工夫する。

クランプの固定によって健全な成長が阻害されないように、クランプの種類とクランプ固定の強さを検討する。全周から押さえて固定するのがよいか、数カ所をしっかりと押さえて固定するのがよいか、木部を貫通するピンで確実に固定するのがよいか、これらの方法を検討して研究目的に最適な手法を確立する。

(4) 応力による幹の変形を防ぐガイドを工夫する。

クランプ間を押し縮める場合に、幹が曲がって傾斜しないようにガイドを用いて変形を防ぐ工夫をする。

② 重力の刺激で形成したあて材の特徴と、応力の刺激で形成したあて材の特徴を調べる

(1) 重力刺激用の試料をつくる。

萌芽研究 H14-16 で確立した遠心過重力を使った方法で苗木を生育する。この機器サイズの制約上、背の低い実生の苗木や、接ぎ木用台木を用いる。試料は、実生が作りやすい樹種と台木の作成に適した樹種を選択する。

(2) 重力の刺激を遠心荷重力で与えながら生育する。

申請者が創製した遠心過重力育成装置を用いる。この装置は、遠心力で重力刺激の大きさを調整する。重力方向を変化させ、曲げ応力なしに重力刺激だけを加えて生育する。

(3) 応力の刺激を与えながら試料を生育する。

①の実験で確立した生育機器と手法で、苗木を生育してあて材を形成させる。

(4) 重力刺激で形成したあて材の特徴と、応力刺激で形成したあて材の特徴を調べる。

あて材の特徴を組織学と遺伝子発現解析、物性、化学成分の見地から調べる。

組織では光顕・電顕によって形状的な特徴、UV 顕でリグニンの堆積状況、免染レーザー顕でヘミセルロースの堆積状況、エックス線回折でマイクロフィブリルの配向と結晶性を調べる。

遺伝子発現解析は次世代シーケンサーによる RNA-Seq 法を用いる。

物性では、強度とヤング率、密度、収縮率、色を調べる。

化学成分では、セルロース量とヘミセルロース量、リグニン量、それら組成と種類を調べる。

平成 27 年度

② 重力刺激で形成したあて材の特徴と、応力刺激で形成したあて材の特徴を調べる

(1) 前年度の実験を引き続き行い、それぞれの特徴を明らかにする。

(2) それぞれのあて材で明らかになった特徴を解析する。

多変量解析の主成分分析により「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」を最もよく表現する 2 つの主成分指標をつくる。両あて材に交絡はあるかを検討する。

(3) それぞれのあて材で共通な特徴を探し出す。

因子分析により、重力刺激のあて材と応力刺激のあて材の、どちらにも共通する因子を解析する。この共通因子こそが、あて材の本質となる。

③ あて材の新概念「重力刺激あて材」と「応力刺激あて材」を提唱する

#### 4. 研究成果

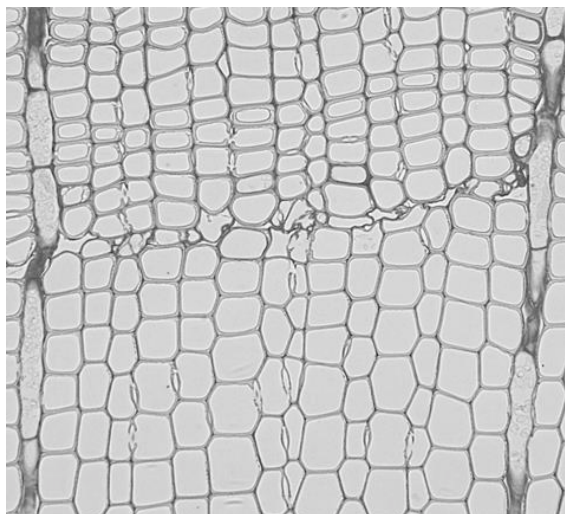
応力負荷の方法は、フックを幹表面に接着して、ターンバックルを設置することで行うことができた。

4 月下旬に、樹幹を鉛直に保ったスギ (*Cryptomeria japonica*) の苗木を準備した。6 月上旬から、樹幹の 2 点間を押し縮める方法で圧縮応力を 5 か月間加え続けて生育させた。11 月上旬に伐採後、2 点間の木口切片の組織観察をして、応力負荷による組織の変化を調べた。その後、顕微鏡画像の解析によって、形成された細胞壁の特徴を力の負荷前後で比較した。

樹幹の木口面の顕微鏡写真を示す。写真中央横方向には、ゆがんだ細胞がみられたため、応力を負荷した時のものと考えた。ゆがんだ細胞より上側(樹皮側)が応力の負荷後の細胞であり、ゆがんだ細胞より下側(髄側)が応力の負荷前の細胞である。応力負荷後、しばらく経つと応力緩和が生じた。今回は応力負荷前の十分発達した細胞と、負荷後の応力緩和が生じていない段階の細胞とを比較した。

解析の結果、応力負荷後の細胞の細胞壁の

平均厚さは負荷前より有意に厚くなった(負荷前:  $0.96 \pm 0.05 \mu\text{m}$ , 負荷後:  $1.74 \pm 0.16 \mu\text{m}$ ,  $n=25$ ,  $p<0.001$ )。応力負荷後の細胞の平均直径は、負荷前より有意に小さくなった



た(負荷前:  $29.4 \pm 0.9 \mu\text{m}$ , 負荷後:  $20.9 \pm 0.7 \mu\text{m}$ ,  $n=25$ ,  $p<0.001$ )。

応力負荷後に、細胞の直径は小さくなったが、細胞壁は厚くなったので、1つの細胞における細胞壁の占める割合が大きくなった。以上のことから、圧縮の応力負荷により、針葉樹では細胞壁が厚く、細胞に占める割合が増えるという圧縮あて材形成に似た変化が生じる。

成長開始後の5月中旬に、ブナ(*Fagus crenata* Blume)の苗木のまっすぐな樹幹に、引張・圧縮応力を負荷した。樹幹の全周に継続的に応力負荷をかけるためにセメントをおもりとして用い、重力方向は鉛直に保ったまま生育した。

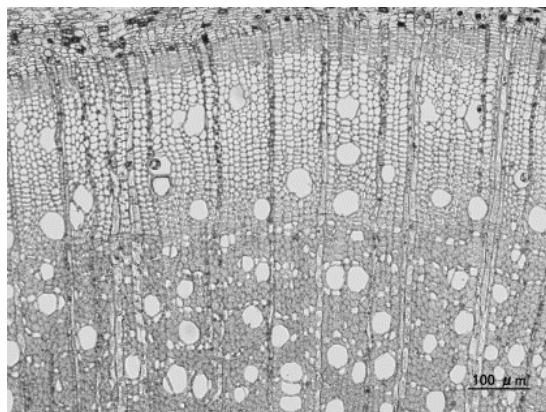
晩材形成が完了する頃に試料採取を行い、光学顕微鏡を用いて切片の組織観察を行った。細胞壁のリグニンやセルロースの堆積量を測定するために蛍光観察も、二次壁の有無を確認するために偏光観察もあわせて行った。

引張応力負荷個体: 引張応力負荷をかけた部分の細胞で、全周のおよそ半分にG層の形成が確認された。G層の形成がみられた部分の顕微鏡観察を行ったところ、道管径および道管頻度の減少が確認された。また蛍光観察では、G層の形成が見られた部分でセルロース量が多くなっていることが確認された。これらの結果は、一般的な引張あて材の特徴と一致する。

圧縮応力負荷個体: 圧縮応力を負荷した部分で、負荷をかけていない部分と比べて壁厚および道管頻度の減少が確認された(図)。蛍光観察では、細胞壁のリグニン量の減少が確認された。これは、細胞壁がほとんど木化していないことを示している。また、偏光観察では圧縮応力負荷後に形成された細胞で、正常材では確認出来るはずの二次壁内層(S3層)の偏光が確認出来なかった。このことか

ら、圧縮応力負荷により二次壁の一部が欠損したことが示唆される。

以上の結果から、樹幹の全周への継続的な引張応力負荷により引張あて材が形成される。また、圧縮応力負荷では壁厚および道管



頻度が減少し、木化が抑制される。壁厚の減少に関しては二次壁の一部が欠損して生じた現象であることが示唆された。

## 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)

[学会発表] (計 3件)

1. 葛原弘毅, 吉田正人, 佐藤彩織, 松尾美幸, 山本浩之 (2016/3/27-29) 針葉樹における細胞壁形成の応力応答, 日本木材学会, 名古屋
2. 葛原弘毅, 吉田正人, 佐藤彩織, 松尾美幸, 山本浩之 (2015/10/30) 針葉樹における細胞壁形成の応力応答, 日本木材学会中部支部大会, 高山 (ポスター)
3. 葛原弘毅, 吉田正人, 佐藤彩織, 松尾美幸, 山本浩之 (2015/8/10) 細胞壁形成の応力応答, 名古屋大学若手女性研究者サイエンスフォーラム, 名古屋 (ポスター)

[その他]

ホームページ等

<https://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~butsuri/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉田 正人 (YOSHIDA, Masato)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授  
研究者番号: 30242845

### (2) 研究協力者

山本 浩之 (YAYAMOTO, Hiroyuki)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授  
研究者番号: 50210555

松尾 美幸 (MATSUO, Miyuki)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教

研究者番号 : 70631597

佐藤 彩織 (SATO, Saori)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・特任  
助教 (平成 27 年 7 月より同研究員)  
研究者番号 : 60641058

葛原 弘毅 (KATSURAHARA, Hiroki)

小杉 真之介 (KOSUGI, Shinnosuke)