組織と材質研究会 2020秋の研究会 <若手研究者と学生によるオンライン研究発表会 >

# 発表プログラム

11月22日(日)9:00~12:45

# 組織と材質研究会 2020秋の研究会 <若手研究者と学生によるオンライン研究発表会 >

## 発表プログラム, 11月22日(日)

[9:00~9:10]

代表幹事挨拶:安江 恒(信州大学)

発表に関する諸注意:半 智史(東京農工大学)

#### 【研究発表】

座長:高田 直樹(森林総合研究所森林バイオ研究センター)

発表番号 01 [9:10~9:30]

高山に生育するダケカンバ、ブナ、ミズナラの年輪幅に影響する気候要因

沈昱東(秋田木高研),村岡裕由,斎藤琢(岐阜大流域圏),武津英太郎(森林総研育種セ),

平野優(信大院総合工学系),安江恒(信大山岳研)

発表番号 02 [ 9:30~9:50 ]

亜熱帯に生育するスギの肥大成長と気候要素との関係

森健吾(信大院),平野優(信大院),高嶋敦史(琉大農),安江恒(信大山岳研)

発表番号 03 [ 9:50~10:10 ]

DNA ミニバーコーディングによる古材樹種識別の試み

今井友也(京大生存研),田鶴寿弥子(京大生存研)

座長:堀川 祥生(東京農工大学)

発表番号 04 「10:10~10:30 ]

植物プロトプラストの環境ストレスに応答した細胞壁再生異常

田川聡美(農工大農),山岸祐介(北大農),渡邊宇外(千葉工大),半智史,船田良(農工大農),

近藤哲男(九大院農)

発表番号 05 「10:30~10:50]

モウソウチク当年稈におけるヘミセルロースおよびフェルラ酸の堆積過程

宗像典哲, ○津山濯(宮大農), 高部圭司(京大農), 亀井一郎, 雉子谷佳男(宮大農)

発表番号 06 「10:50~11:10]

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

富家梓(宮大院農),雉子谷佳男(宮大農)

~ 休憩 11:10~11:20 ~

座長:山岸 祐介(北海道大学) 発表番号 07 「11:20~11:40〕

イチョウにおける形成層活動の季節変化〜秋田市における2年間の観察から〜 工藤佳世(秋県大木高研),高田克彦(秋県大木高研)

## 発表番号 08 [ 11:40~12:00 ]

スギの樹幹内における当年周皮の形成のタイミングとその空間分布 飯塚悦司,船田良,半智史(農工大農)

#### 発表番号 09 「12:00~12:20 ]

乾燥材における内生脂質の木部細胞壁表面への拡散:一部の広葉樹の道管相互壁孔にみられる被覆物の分析から

山岸松平(北大農),重冨顕吾(北大農),藤安隼也(名大院生命農),青木弾(名大院生命農), 鵜野哲郎(北大農),福島和彦(名大院生命農),佐野雄三(北大農)

### 発表番号 10 [12:20~12:40]

柔細胞の種間多様性は木部の機能とどう関係しているか?:冷温帯林と亜熱帯林における検証河合清定(森林総研),石田厚(京大理),才木真太朗(森林総研),檀浦正子(京大農),中村友美(京大理),皆木寛司(京大理),矢崎健一(森林総研),吉川彬(インスブルック大)

[ 12:40~12:45 ]

閉会挨拶:安江 恒(信州大学)

# 発表 要旨

#### 高山に生育するダケカンバ、ブナ、ミズナラの年輪幅に影響する気候要因

沈昱東(秋田木高研),村岡裕由,斎藤琢(岐阜大流域圏),武津英太郎(森林総研育種センター),平野優(信 大院総合工学系),安江恒(信大山岳研)

近年、地球温暖化が進行しつつあり、生育環境の変化による現在生育する樹種の肥大成長の影響を把握することは重要である。本研究は高山試験地に生育する主要な広葉樹種ダケカンバ、ブナ、ミズナラを対象に、肥大成長への気候変動の影響を評価することを目的とし。 肥大成長フェノロジーの観察および樹木年輪幅の気候応答解析を行った。

打ち抜き法およびマーキング法の併用によって肥大成長のフェノロジーを観察した。形成層活動の開始は環孔材であるミズナラでは散孔材樹種であるダケカンバ,ブナより2週間早く,4月下旬に観察された。休止についてダケカンバでは8月初期に確認され,ブナ,ミズナラより約1か月早かった。年輪年代学的手法を用いて肥大成長を制限する気候要素を明らかにした。3樹種の年輪幅クロノロジーを構築した。気候との関係は、31日間1日間隔の移動平均に変換された気象データとクロノロジーの間で単相関分析を行った。肥大成長のフェノロジーによって有意な相関を示した期間は1)前年の形成層の活動期、2)前年肥大成長の終了の直後、3)前年肥大成長終了後、4)形成層細胞の分裂の直前、5)当年形成層の活動中の5段階に分けられた。前年10月には3樹種に共通して年輪幅と平均、最低気温との間に負の相関が認められた。肥大成長のフェノロジーおよび葉のフェノロジーより、該当の時期では肥大成長が終了し、黄葉となっている時期であることが確認された。前年の形成層の活動期、前年肥大成長の終了の直後、形成層細胞の分裂の直前、当年形成層の活動中の4つの段階では樹種に共通する気候要素との相関が認められなかった。気候要素に対する肥大成長の応答は樹種によって大きく異なることが明らかとなった。

#### 発表番号 02

亜熱帯に生育するスギの肥大成長と気候要素との関係 森 健吾(信大院)、平野 優(信大院)、高嶋 敦史(琉大農)、安江 恒(信大山岳研)

気候変動後の高温条件における肥大成長量の変化の予測のため、沖縄および奄美大島に 植林されたスギ(Cryptomeria japonica)について、年輪幅、年輪内平均密度、年輪重量成長 量、早材幅、晩材幅のクロノロジーを作成し、気候要素との関係を調べた。各生育地につき 40 個体から 2 方向のコア試料を採取し、軟 X 線デンシトメトリーにより年輪要素を計測し た。年輪要素間における相関解析から、早材幅が年輪幅、年輪重量成長量、年輪内平均密度 に対して高い相関を持っていることが明らかになった。気候要素と年輪要素との単相関分 析の結果、早材幅および年輪幅と当年 1 月の気温との間に負の相関が認められた。年輪重 量成長量と前年12月の気温の間にも負の相関が認められた。年輪幅および年輪重量成長 量と前年夏季の気温との間に負の相関が認められた。一方で、年輪幅および年輪重量成長量 と前年夏季の降水量との間では正の相関が認められた。また、クロスデイティングの結果、 2019年4月中旬の採取時において、奄美では82%の個体で新規木部形成が確認され、沖縄 では 17%の個体でしか確認されなかった。より年平均気温の高い沖縄での木部形成の開始 が遅いことが明らかになった。これらの結果から、奄美・沖縄に生育するスギでは、冬季の 気温上昇により形成層の休眠打破が遅れ、早材幅が狭くなる可能性が示唆された。加えて、 夏期における乾燥や日照不足が早材および晩材幅に対して抑制的な影響を与えていると考 えられた。2020年には、成長期を通じて、打ち抜き方およびナイフマーキングによる木部 形成過程の観察を行っている。

DNA ミニバーコーディングによる古材樹種識別の試み

(京大生存研) 〇今井友也、田鶴寿弥子

木材の識別は解剖学的特徴に基づく手法が主流であり、経験が必要ではあるものの、 $\mu$ -X線 CT など新しい技術も投入しながら精力的に進められている。しかし熟練の技をもってしてもその同定が難しい場合もしばしば見られる。そこで解剖学的特徴だけで樹種識別をすることが難しいケースの補助手段として、短い DNA 断片に狙いを絞ってマーカー遺伝子の配列解析を行う「DNA ミニバーコーディング」を使った解析で、伐採後 200 年近く経過した木材について、遺伝子配列に基づく識別が可能かを試みた。

【試料】京都市の知恩院本堂の建築部材二点を試料木材として利用した。いずれも顕微鏡による解剖学的特徴からアスナロ属と識別されたものである。また標準試料として立木より葉を採取した。ヒノキは宇治市内、アスナロとヒノキアスナロは石川県林業試験場の輪島試験林で採取した。

【方法】市販のキットを使い上記試料から DNA を抽出し、PCR により rbcL 遺伝子、matK 遺伝子の増幅を試みた。プライマーは第70回日本木材学会大会で発表したものを利用した。 得られた PCR 産物は精製の上、サンガー法によるシークエンス解析を行った。

【結果】古材からでも DNA を増幅し、配列解析を行うことは、遺伝子上の短い領域であれば可能であることが判明した。しかし配列データが乱れる傾向が葉試料からの DNA 分析と比較して強く、慎重な解析が必要であることも分かった。

【謝辞】石川県農林総合研究センター林業試験場の小谷二郎博士のご協力でアスナロおよびヒノキアスナロの葉試料採取を行いました。深く感謝いたします。

#### 植物プロトプラストの環境ストレスに応答した細胞壁再生異常

〇田川 聡美(農工大農), 山岸 祐介(北大農), 渡邊 宇外(千葉工大), 半 智史, 船田 良 (農工大農), 近藤 哲男(九大院農)

木材は、何層にもわたって細胞が集合し組織を形成している。そのため、一般に樹木細胞を観察する場合は、ミクロトームを用いて段階的に組織切片を作製し観察を行う。このように、既に形成された樹木組織を分解してトップダウン的に研究する方法がある一方で、培養細胞に組織形成を促し、その形成過程をモニタリングするようなボトムアップ的な研究方法も存在する。培養細胞を用いた実験系は、実験環境のコントロール、生きたままの細胞の可視化、化学成分の抽出において有用な手段の一つであると考えられる。その中でもプロトプラストを用いた培養系は、一度細胞壁を除去する、すなわち、壁形成を一旦リセットした系であり、細胞壁形成の研究において有力なツールである。また、プロトプラストは周りの環境に敏感に応答するため、環境ストレス応答の研究手段としても有効であると考えられる。著者らはこれまで、植物培養細胞、とくにシラカバ(Betula Platyphylla)由来の培養細胞のプロトプラストを用いて、カロース( $\beta$ -1,3-glucan)中空繊維の産生というストレス応答現象に関する研究を行ってきた。本発表では、細胞壁再生を軸に、植物プロトプラストからのカロース中空繊維の産生について、著者らのこれまで検討してきた知見を紹介する。(参考文献)

Tagawa S., Kondo T.: J. Wood Sci., 64, 467-476 (2018).

Tagawa S., Yamagishi Y., Watanabe U., Funada R., Kondo T.: J. Wood Sci., 65,47 (2019)

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 (宮大院農)○富家梓、(宮大農)雉子谷佳男

引張あて材形成の研究において、各種植物ホルモンや阻害剤の投与実験に加え、樹幹傾斜や屈曲に伴う内生植物ホルモン量の定量および関連遺伝子発現解析が行われてきた。しかし、引張あて材形成における各種植物ホルモンの役割は未だ解明されていない。発表者らは、2週間樹幹屈曲処理を行ったシラカシとスダジイにおける各種内生植物ホルモン量を定量し、オーキシン(IAA)、アブシシン酸(ABA)、アミノシクロプロパンカルボン酸(ACC)の偏差分布を明らかにした(第70回日本木材学会大会)。本研究では、明らかとなった内生植物ホルモン偏差分布について確証を得るため、シラカシおよびスダジイ屈曲処理の追加試料とスダジイ傾斜試料を用いて解析を行った。さらに、数多くの既往研究で実施されてきた投与実験について、内生植物ホルモンのクロストークの可能性について明らかにするため、IAA、IAA 極性移動阻害剤(N-1-ナフチルフタラミン酸(NPA))および ACC の樹幹投与を行い、内生植物ホルモンや組織構造への影響を調べた。

傾斜・屈曲試験では以下の3点を明らかにした。(1)2週間樹幹屈曲処理後のスダジイとシラカシにおけるIAAの組織内分布、(2)1,3週間樹幹屈曲処理後のシラカシにおけるIAA,ABA,ACCの偏差分布、(3)1,3週間傾斜処理後のスダジイ苗木におけるIAA,ABA,ACCの偏差分布。その結果、IAAおよびABA量は傾斜・屈曲下側で上側より少なく、ACC量は傾斜・屈曲下側で上側より多い傾向があり、先行研究の結果をより強固にした。

投与実験では G 層は観察されなかったものの、IAA および NPA 片側投与によって顕著な偏心成長が誘導され、NPA 投与反対側で ABA 量の有意な増加が認められた。偏心成長の誘導について、IAA の働きに加えて ABA による成長阻害が生じたことが推測される。また、ACC 片側投与では円周方向への師部の肥大と軸方向柔細胞の分化促進が観察された。投与の反対側で有意なサイトカイニン前駆物質(tZR, iPR)量の増加が認められたが、これらの関与により軸方向柔細胞の分化が促進された可能性がある。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、各種植物ホルモンの偏差分布およびクロストークが引張あて材形成に関与しているのかもしれない。

#### イチョウにおける形成層活動の季節変化~秋田市における2年間の観察から~

○工藤佳世、高田克彦(秋県大木高県)

イチョウ類は、中生代に繁栄し、非常に多様性が高く、地球上に広く分布していたと考えられている。現在は、イチョウ(Ginkgo biloba)のみが認められているが、世界中の様々な気候帯に人為的に植栽されている。イチョウの進化と環境適応機構を木部形成の視点から理解することを最終ゴールとし、本研究では、イチョウの形成層活動の季節変化を明らかにすることを目的とした。秋田県秋田市(秋田県立大学秋田キャンパス)に生育するイチョウ3個体を対象に、2018年3月~2019年12月にかけてイチョウの形成層活動と木部形成および葉のフェノロジーのモニタリングを行った。形成層細胞の分裂再開は、開芽前の4月上旬に認められた。当年最初の仮道管の完成(内容物の消失)は、6月中~下旬において認められた。一方、開葉は5月上旬に認められ、その後、葉の展開・成熟、長枝の伸長が認められた。当年芽の伸長開始から開葉・葉の展開の期間には、通水可能な当年仮道管が形成されていなかったことから、イチョウの当年葉の展開・成熟および当年長枝の伸長に必要な水は前年以前の木部を通って供給されているといえる。7~8月にかけて木部生産量が増加し、落葉前の10月に形成層細胞の分裂休止が認められた。これらの結果から、イチョウの形成層活動には、形成層活動が再開した後、形成層細胞の分裂が活発化するまでに長時間を要するという特徴があることが明らかになった。

#### スギの樹幹内における当年周皮の形成のタイミングとその空間分布

飯塚悦司,船田良,半智史(農工大農)

複数の周皮から構成される外樹皮を形成する樹木において、新しい周皮の空間分布がどのように決定されるのかを理解することは、保護層である樹皮が維持されるメカニズムを明らかにする上で重要である。そこで、新しい周皮の形成に関与しうる制御因子を明らかにすることを目的として、地上高別に新しい周皮の有無および形成位置を解析した。

2019年6月4日に樹高19~23 mのスギの3個体から地上高1 mから2 m おきに円盤を作製した. 軸方向に同一の方向になるように円盤の4か所からブロックを採取し,形成中周皮の組織構造の顕微鏡観察を行った. 形成中周皮の有無の観察と内樹皮の幅として最も内側の師部繊維から前年のコルク組織まで,新しい周皮の形成位置として,前年のコルク組織から形成中周皮までの幅および,周年構造である師部繊維の繰り返しの数を測定した.

同じ円盤内で必ずしも新しいコルク形成層は観察されず,また円盤内の同じ方向でも新しいコルク形成層は一様に観察されることはなかった.これらの結果は,新しい周皮の形成は樹幹内において同時に起こらず局地的に開始することを示唆している.

内樹皮の幅に含まれる師部繊維の繰り返し構造の数と地上高は負の相関を示し、地上高が高いほどに、新しい周皮を形成する柔細胞の細胞齢が低いことを示唆していた。地上高の変化に伴い周皮を形成する柔細胞の細胞齢および樹幹の周囲長が変化していたにも関わらず、新しい周皮の形成位置の幅および含まれる師部繊維の繰り返しの数と地上高は相関を示さなかった。したがって、周皮を形成する細胞齢や樹幹の周囲長では新しい周皮の形成のタイミングおよび形成位置を説明できず、他の因子が形成位置に重要である可能性と周皮が形成されるまでに複雑なプロセスを介する可能性が示唆された。

# 乾燥材における内生脂質の木部細胞壁表面への拡散: 一部の広葉樹の道管相互壁孔にみられる被覆物の分析から

山岸松平(北大農),重富顕吾(北大農),藤安隼也(名大院生命農),青木弾(名大院生命農), 鵜野哲郎(北大農),福島和彦(名大院生命農),佐野雄三(北大農)

多くの広葉樹の木部通水は、道管相互壁孔で盛んに連絡した道管ネットワークでなされる。一部の樹種の辺材外層を凍結乾燥して走査電子顕微鏡で観察すると、道管壁や道管相互間の壁孔壁を含む木部細胞壁に広く有機溶媒に可溶な被覆物がみられる。通水の効率・安定性は通水要素の細胞壁の表面物性に大きく左右されるため、その存在は該当樹種の通水に多大な影響を及ぼすと予想される。そこで、我々はこの被覆物の成分や特性を明らかにすることを目的に研究をおこなってきた。

広葉樹 40 種(22 科 34 属)を電界放出型走査電子顕微鏡(FE-SEM)で観察した結果、被覆物は 11 種(7 科 9 属)で観察された。これらの多くは柔組織に多量の脂質(脂肪酸エステル)を貯蔵 する fat trees と称される樹種群に類したため、被覆物に脂質が含まれる可能性が見いだされた。 実際に、被覆物を持つシナノキの辺材から多量の脂肪酸が抽出され、また飛行時間型二次イオン質量分析(TOF-SIMS)によるその脂肪酸分布は、FE-SEM 下での被覆物の分布と一致した。一方、採取から凍結状態を維持して試料を作製し、cryo-FE-SEM 観察と cryo-TOF-SIMS をおこなったところ、被覆物と脂質の分布が柔細胞内に限られていた。この分布の一致から被覆物の主成分が脂質であることが強く証拠づけられたが、従来法で観察されてきた被覆物が、試料の乾燥と室温下での処理によるアーティファクトであることも明らかとなった。凍結させた乾燥材の cryo-FE-SEM 観察から、我々は被覆物(脂質)の拡散が室温保存下の乾燥材内部で徐々に進行していることも見出しており、木部細胞壁の表面観察・分析の際の注意点として提示したい。

#### 発表番号10

柔細胞の種間多様性は木部の機能とどう関係しているか?: 冷温帯林と亜熱帯林における検証

○河合清定(森林総研),石田厚(京大理),才木真太朗(森林総研),檀浦正子(京大農),中村友美(京大理),皆木寛司(京大理),矢崎健一(森林総研),吉川彬(インスブルック大)

二次木部における柔細胞の割合は種や環境によって著しい変異を示し、樹木の成長特性や環境適応を理解する上で重要な形質だと考えられるが、その機能的意義はよくわかっていない。本研究では、柔細胞の割合が木部の主要な機能(水分通導、非構造性炭素・栄養塩の貯蔵、呼吸)と種間でどのように関係するかを、冷温帯林(芦生研究林)と亜熱帯林(小笠原諸島父島)に生育する計 29 樹種において検討した。冷温帯林では柔細胞割合と枝の肥大成長速度、葉の水分生理特性との関係も検討した。

木口面における柔細胞の割合は、軸方向柔細胞の割合と強い正の相関を示す一方、放射柔細胞の割合とは関係が見られなかった。冷温帯林において、木口面における軸方向柔細胞の割合は、窒素・リン濃度、呼吸速度、理論的通水性、肥大成長速度と正の相関を示した。また、軸方向柔細胞が多い枝は光合成能力及び乾燥耐性が高い葉と結びついていた。亜熱帯林において、軸方向柔細胞の割合は乾燥下での水切れの度合いと正の相関を示し、放射柔細胞が多い枝ではデンプン濃度が高い傾向が見られた。以上から、木部における柔細胞の割合が炭素・水・栄養塩の利用戦略を介し樹木種の成長特性と結びつくことが示唆された。