

あて材形成のメカニズム*

馬 場 啓 一**

Approaches to the Mechanisms of Reaction Wood Formation

Kei'ichi BABA

(平成10年9月16日受理)

1. はじめに

あて材に関する研究の歴史は古く、また当木質科学研究所においても伝統的な学問分野の一つであり、古くは本研究所発行の「木材研究 第1号 (1949)」に尾中文彦先生¹⁾が、新しくは1983年発行の「木材研究・資料 第18号」に島地 謙先生²⁾が総説を書いておられる。日本語における「あて材とは」の詳説は、両先生の著述に十二分に記されており、不詳私がここで拙い文章をこねまわすよりも両著を読んで頂いた方が、読者の皆さんにはよほどわかりやすく造詣の深い知識が得られるのではないかと、この原稿を書きながら身の縮む思いがしている。また英文にも秀逸な総説がいくつもあるのでたとえば6, 7, 22³⁾、あて材とはどういうものなのかという詳細はそれらで学ばれることをお勧めする。ともあれ、概略的に「あて材とは何か」ということについて触れてから、それら総説以降のあて材研究の動向について述べる。

2. あて材とは

国際木材解剖学者連合 (International Association of Wood Anatomists) の定義によれば、あて材とは「幹や枝を元来の正しい位置に保持しようとするために、その正しい位置が乱された場合に、傾斜あるいは湾曲した幹および枝の部分にできる多少とも特異な解剖学的性質を示す木部」であるらしい²⁾。図1に示したような湾曲した部位には自然とあて材ができていくことは十分に考えられる。ともあれ、この定義に基づくと、

- 1) 枝や幹が動く (曲がる) ための成長応力を生じること
- 2) 通常材とは何らかの解剖学的に異なる性質があること

の2点が満たされる材は「あて材」と呼んで差し支えないということになる。あて材はその性質によって2種類に大別される。圧縮あて材と引張あて材である。

針葉樹の場合、例外無く傾斜下側または湾曲外側への偏心成長が著しく、その部分に圧縮あて材が生じる (図2)。圧縮あて材はリグニンが多くセルロースが少なく、圧縮の成長応力を生じ、あて材のできた側が伸びようとする³⁾。その結果、枝や幹は圧縮あて材ができた側とは反対側に曲がろうとする。その

* 第53回木研公開講演 (平成10年5月22日, 宇治) において「あて材形成のメカニズム」と題して講演。

** 木質生命科学部門細胞構造・機能分野 (Laboratory of Cell Structure and Function, Division of Wood Bioscience)

Keywords : cDNA, compression wood, reaction wood, tension wood, xylem formation



図1 あて材が形成されていると思われるクロマツ（左）とサクラ（右）の湾曲した幹。

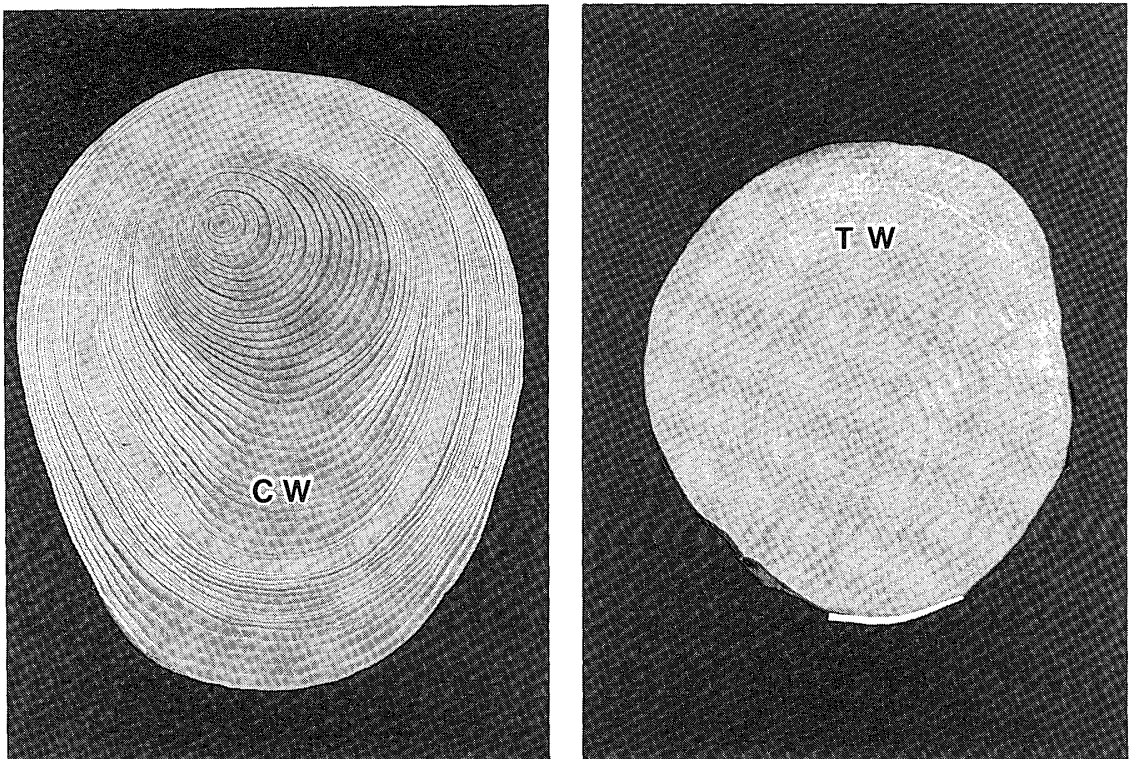


図2 圧縮あて材（アカマツ，左，CW）と引張あて材（リョウブ，右，TW）

解剖学的特徴は、仮道管の形状が丸みを帯びセルロースマイクロフィブリル傾角が大きいこと（細胞長軸に対して約45°）が代表的である。

広葉樹の場合、最も多くみられるあて材として「引張あて材」がある。引張あて材は、圧縮あて材とは逆にセルロースが多くリグニンが少なく、引張の成長応力を強く生じることにより縮もうとする⁴⁾。その結果、枝や幹は引張あて材ができた側に曲がろうとする。広葉樹の場合、傾斜や湾曲と偏心成長やあて材形成の関係は樹種によって異なり、例外が多くみられる。傾斜や湾曲と偏心成長の関係では、傾斜上側または湾曲内側に偏心成長のみられるものが圧倒的に多いが、偏心成長がみられないものも少なく、逆に針葉樹と同じ側に偏心成長するものもある¹⁾。広葉樹で偏心成長がみられるものでは、あて材は偏心側にみられる(図2)。偏心成長のみられないものでは、あて材があるとしたら、ほとんどが傾斜上側にみられる。広葉樹であっても傾斜下側に生じるあて材は針葉樹の圧縮あて材と似通った特徴を呈する^{1,5)}。一般的には、偏心成長や引張あて材の形成がはっきりしているものは高木に多く、はっきりしないものは灌木・つる性のものに多い傾向がある。引張あて材の解剖学的特徴は必ずしも全ての樹種で共通ではないが、リグニン含量の低い（あるいはまったく含まない）二次壁の層においてマイクロフィブリル傾角が通常の材よりも小さいことがあげられる。この特徴の出方の違いによって尾中はI型、II型、III型に類別している。典型的なものはII型、III型で、その二次壁の層をゼラチン層（G層）と呼ぶ^{1,6)}。針葉樹の圧縮あて材は濃褐色を呈し、肉眼でも容易に通常の材と区別がつくが、広葉樹引張あて材は白っぽく、肉眼で区別のつきやすいものとそうでないものがある（図2）。

3. あて材形成の要因

あて材形成の要因は、枝や幹の軸と重力の方向が本来あるべき向き（主幹であれば、軸と重力の向きが平行、枝であればある角度をもっていること）からずれることが、第一義的要因となっている^{1,2,7)}。枝や幹が傾斜された場合には、外的に引張や圧縮の応力がかかることになるが、こちらの方は現在のところ主要な要因ではないとされている。鉛直方向への傾斜や曲げが行われた場合には確かに重力のみによって制御されている。しかし、マツの枝を重力の向きと直角に（すなわち地面と平行に）ループを作って固定した場合に、ループの内側だけにあて材ができたという報告⁸⁾もある。重力による制御が第一義的であることは否定されないが、横方向へは引張や圧縮の応力も枝や幹が感知して、あて材形成をおこなうことができるようである。また、鉛直方向にループを作って固定したあとに根を切り離して水耕栽培したところ、あて材形成がまったくみられなかったという報告があり⁹⁾、根の存在もあて材形成に重要な位置を占めていることが示されている。

重力方向と枝や幹の軸のずれを感知してから材形成にいたる過程において、植物ホルモンによる制御がおこなわれているのではないかと考えられ、あて材形成と植物ホルモンに関する種々の研究がおこなわれた。

針葉樹における圧縮あて材については、人為的にオーキシンを与えたり、アンチオーキシシンやオーキシシン輸送阻害剤を塗布することによって、オーキシシン濃度の高い部分で形成されるということが状況証拠的にはあるが証明されており、同様の処理においてあて材が形成されなかった例は未だ報告されていない。このことから、針葉樹圧縮あて材は、単純にオーキシシンが通常よりも高い濃度になることによるのみ誘発されるものと考えて差し支えなからう²⁾。オーキシシン受容体やオーキシシンで発現が制御される遺伝子等の研究例は、植物生理学分野で扱いやすく解析の早い材料、すなわち培養細胞や実生、ライフサイクルの早いアラビドプシスなどの草本植物ですでに多く報告されている。これら多くの知見を針葉樹形成層付近あるいは木部分化帯で検証することによって、針葉樹圧縮あて材の形成に関するメカニズムは早晩解決されるものと思われる。

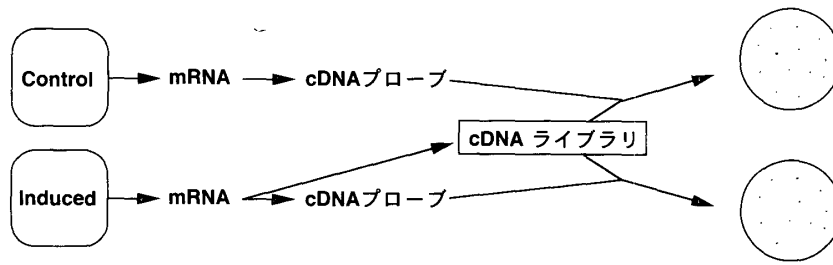
広葉樹における引張あて材については、針葉樹圧縮あて材にみられるようなオーキシシン濃度との単純

な関係はみられない。アンチオーキシンを塗布した部分であて材と同じ特徴をもつ材の形成がみられたことから¹⁰⁾、相対的にオーキシン濃度の低いところで形成されるという仮説が証明されたかに見えたが、樹種によっては必ずしもそうではないという結果も報告されており^{11,12)}、未だにその関連性についてははっきりしていない。ジベレリンについては、長い間、材の形成量は左右するがあて材形成には関与していない¹³⁾と考えられていた。ところが近年、シダレザクラの当年枝にジベレリンのうちの GA₃ を投与し続けて成長させると、本来あて材を形成しない当年枝中の上側に引張あて材が形成されてしだれなくなることや¹⁴⁾、数種の広葉樹樹幹に外樹皮を除去して GA₃ を塗布してやることにより引張あて材が形成されることが報告されている^{15,16)}。エチレンについては、引張あて材形成中の部分で、そうでない部分よりも多く検出されている¹⁷⁾。しかし、エチレンの投与によってあて材形成を誘導した例はみられない。引張あて材形成と植物ホルモンの関係には、これといった決め手がないまま現在に至っている。

4. あて材形成のメカニズムへの分子生物学的アプローチ

1960年代末から1980年代初頭の頃にかけて植物ホルモンとあて材形成に関する研究が盛んに行われていたが、それ以後、あて材形成のメカニズム解明を目指した研究はすっかり姿を見せなくなってしまった。島地は「現在一つの壁にぶつかっているものと思われる」と表現した²⁾。恐らくは、あて材形成のメカニズムをさらに深く追求することに適した実験手法が見いだされなかったためと思われる。その間、分子生物学が著しく進展し、また実験手法としても洗練され、格別のエキスパートでなくとも遺伝子レベルでのアプローチが可能になり、生物学のあらゆる分野で利用されるようになった。こういった背景から、樹木生理学分野の諸問題にも分子生物学的手法が多く取り入れられるようになったのは、1980年代半ば以降のことである。分子生物学的手法で当初からよく行われていた手法としては、ある特定のタンパク質の N 末端アミノ酸配列を読み、それに相当する標識オリゴ DNA の配列を人工的に合成し、目的の遺伝子をつり上げる方法であった。こういった方法でリグニン生合成系の酵素タンパク質をコードしている遺伝子がいろいろクローニングされている¹⁸⁾。

その後、条件の異なる複数の試料を比較して遺伝子を拾い上げる方法が開発された。この方法を用いると、遺伝子産物であるタンパク質をとらえることなく、ある現象や何らかの誘因々子を作用させた時に発現する遺伝子を無作為に多数クローニングすることが可能である。生体内では全ての組織で全ての遺伝子が発現しているわけではない。どの細胞にも共通して発現する遺伝子の他に、それぞれの組織や状態によって特異的な遺伝子が発現している。発現の違いは転写産物である mRNA にまず現れる。非常に似通ったある材料間で一方にだけ存在している mRNA を検出すれば、組織特異的であったり、ある誘因々子に特有な現象に関与する遺伝子をつかまえることができる。当初、ディファレンシャル・スクリーニングと呼ばれる方法が用いられた(図3)。この方法ではまずネガティブ・コントロールの試料と何らかの誘導をかけた試料の両方から mRNA を抽出してくる。この両方の mRNA をそれぞれ鋳型として標識 cDNA を合成してプローブとし、誘導のかかった試料から調製した cDNA ライブラリをスクリーニングする方法である。これは、cDNA ライブラリを展開したプレートから2枚ずつ写し取ったシートをそれぞれのプローブで処理して一方のプローブとだけ反応しているクローンを探し出す方法で、非常に手間がかかった。というのも、どちらの試料にも発現が共通している遺伝子の方が差のある遺伝子よりも圧倒的に多いので、かなりの数のクローンを播いてもほとんどのスポット(大腸菌などの場合のコロニーまたはファージなどの場合のプラーク)が両方ともに反応してしまう。その中から一方にだけ反応のあるスポットを探し出すために根気よく丁寧に点検しなければならなかったからである。それ以後、cDNA の塩基配列が mRNA と相補的で2本鎖を形成することを利用して、共通に発現している遺伝子を除去し、発現に差のある遺伝子を濃縮する方法が開発された。この方法をサブトラクション法という(図4)。サブトラクション法が開発されてから、現象面から cDNA をクローニングすることが容易に



比較してスクリーニング

図3 発現に差のある遺伝子をクローニングする方法1 ディファレンシャル・スクリーニング

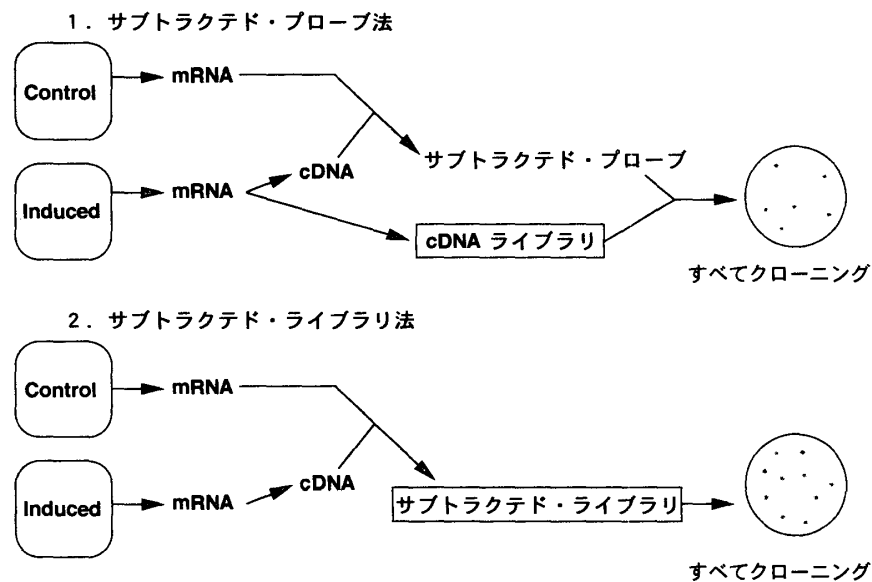


図4 発現に差のある遺伝子をクローニングする方法2 サブトラクション法

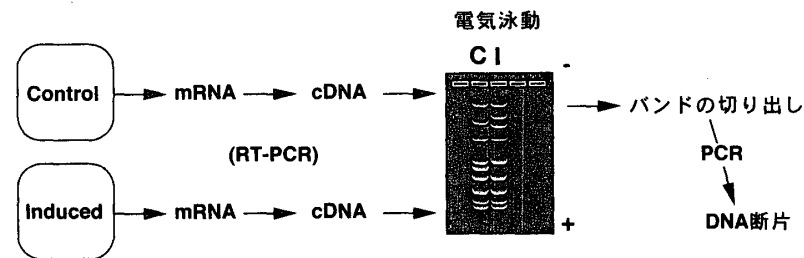


図5 発現に差のある遺伝子をクローニングする方法3 ディファレンシャル・ディスプレイ

なり、いろいろな分野で応用されている。この方法ならば、ディファレンシャル・クローニングのように良く似たシートをいちいち時間をかけて見比べる必要がないからだ。近年、ライブラリを介さないで、発現に差のある遺伝子のcDNAをクローニングする方法としてディファレンシャル・ディスプレイ法が開発された(図5)。この方法は、RT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)法を応用しており、うまく行けば非常に速く発現に差のある遺伝子を特定することができる。しかし、擬陽性クローンも多数拾われてくるために、クローニング後の確認作業に注意が必要である¹⁹⁾。

こういった手法の発達によって、つい最近、テーダマツを用いて圧縮あて材と傾斜させた横の材、通

常材を形成中の木部分化帯で発現に差のある遺伝子の cDNA がクローニングされた²⁰⁾。残念ながら、あて材だけで特異的に発現している遺伝子はまだ見つかっていないが、傾斜横で最も発現が強いもの、鉛直な幹では発現が見られず傾斜横とあて材形成部で発現が強いものが見いだされている。それらクローンの塩基配列もすでに読まれており、既知遺伝子との相同性検索の結果、傾斜横で発現の強いもののうち2つは、キシログルカン転移酵素 (XET: xyloglucan endotransglycosidase)、他の2つはそれぞれ Glycine-rich cell wall protein, proline-rich cell wall protein に対して高い相同性を示したという。鉛直部で発現が見られず、傾斜木の横と圧縮あて部で同程度の発現が見られる遺伝子は、calreticulin と呼ばれるカルシウム調節に関連のあるタンパク質と相同性がみられている。

引張あて材について、筆者らはユーカリ (*Eucalyptus camaldulensis* L.) を用いて通常材と引張あて材を形成中の木部分化帯で発現に差のある遺伝子を探索してきた。これらの結果、あて材形成部位だけで発現がみられるもの2種、傾斜木全体で発現がみられるものあて材形成部で発現の強いもの3種、鉛直木と傾斜下側(あて形成の反対側)で同程度の発現がみられ引張あて材部で発現の強いもの8種をクローニングした²¹⁾。現在、これらクローンの塩基配列を決定中で、引張あて材形成のメカニズムの解明に大きな進展があることを期待している。

引用文献

- 1) 尾中文彦: 木材研究, No. 1, 1 (1949)
- 2) 島地 謙: 木材研究・資料, No. 18, 1 (1983)
- 3) 山本浩之, 奥山 剛: 木材工業, 48 (6), 270 (1993)
- 4) 山本浩之, 奥山 剛: 木材工業, 49 (1), 20 (1994)
- 5) N. YOSIZAWA, et al.: Wood. Sci. Technol., 27, 1 (1993)
- 6) W. A. CÔTÉ, A. C. DAY: Cellular ultrastructure of woody plants, Syracuse University Press, p. 391 (1965)
- 7) B. F. WILSON, R. R. ARCHER: Ann. Rev. Plant Physiol., 28, 23 (1977)
- 8) E. W. SINNOT: Amer. J. Bot., 39, 69 (1952)
- 9) S. LACHAUD: Can. J. Bot., 65, 1253 (1986)
- 10) R. W. KENNEDY, J. L. FARRER: Nature 208, 406 (1965)
- 11) P. R. MOREY, J. CRONSHAW: Protoplasma, 65, 287 (1968)
- 12) W. E. ROBNETT, P. R. MOREY: Amer. J. Bot., 60, 745 (1973)
- 13) J. CRONSHAW, P. R. MOREY: Protoplasma, 65, 379 (1968)
- 14) K. BABA, et al.: Plant Cell Physiol., 36, 983 (1995)
- 15) 清水庸介ほか: 第47回日本木材学会大会発表要旨集 29 (1997)
- 16) 清水庸介, 久保隆文: 第48回日本木材学会大会発表要旨集 542 (1998)
- 17) N. D. NELSON, W. E. HILLIS: Wood Sci. Technol., 12, 309 (1978)
- 18) 黒田宏之, 樋口隆昌: 木質分子生物学, 文永堂出版, p. 109 (1994)
- 19) 吉田良恵ほか: PCR Tips, 秀潤社, p. 119 (1997)
- 20) I. ALLONA, et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 9693 (1998)
- 21) J. TOYOTA, et al.: Wood Res. No. 84, 31 (1997)
- 22) T. E. Timell: Compression wood in gymnosperm, Springer-Verlag (1986)