

学 位 論 文 題 名

針葉樹材仮道管壁に堆積するマイクロフィブリルの
配向に関する研究

学位論文内容の要旨

針葉樹材仮道管壁におけるセルロースマイクロフィブリル（以下MFと略記）の配列状態は針葉樹材の物理的な諸性質を左右するため、木材を有効に利用する上でMFの配列状態を正確に把握することは必要不可欠である。本論文は、細胞壁形成中の仮道管に堆積するMFの配向制御機構を解明することを最終目的とし、堆積するMFの配向変化および堆積様式の規則性、仮道管径の拡大とMFの配向との関係、表層微小管（以下微小管と略記）とMFとの関係について検討したものである。内容の要旨は以下のとおりである。

第1章は研究史であるが、現在までの電子顕微鏡によるMFの観察方法の限界、MF配向の支配要因、仮道管壁におけるMF配向のモデルの不一致性、MFと微小管の関係について論じ、それに基づいて本研究の目的と内容を明らかにし、さらに本論文の構成について記述している。

第2章では、電界放射型走査電子顕微鏡（以下FE-SEMと略記）を用いて、仮道管壁に堆積するMFの配向を、仮道管の形成過程を追って連続的に観察するための方法を述べており、そのための最適な試料作製条件および観察条件を確立した。試料作製については、3%グルタルアルデヒド固定後、凍結ミクロトームで試料表面を仕上げ、次亜塩素酸ナトリウムで原形質を除去し、1%四酸化オスmiumで後固定し、エタノールシリーズによって脱水し、t-ブタノールにより凍結乾燥し、白金または白金と炭素を真空蒸着する方法で最も良い試料を得た。また、軟弱な分化中仮道管の観察には、加速電圧を3~10kVに設定し、観察部位によって適宜変えることにより高倍率の鮮明な像を得ることができた。

第3章では、拡大中の仮道管壁に堆積しているMFの配向を、FE-SEMを用いて観察し、仮道管の拡大と一次壁のMF配向との関係を明らかにしている。

拡大中の仮道管に堆積するMFはランダムに配列しているが、拡大期の前半では全体的に仮道管軸方向に平行、拡大期の後半では全体的に仮道管軸方向に垂直に配向していた。一方、拡大停止後の仮道管の放射径は、木部と師部の境界部付近の仮道管の放射径に比べて約3~4倍に拡大していた。従って、仮道管の拡大方向が、堆積するMFの配向変化によって制御されている可能性が示唆された。すなわち、拡大期前半の仮道管に堆積するMFは全体的に仮道管軸方向に平行に配向しているため、仮道管は仮道管軸に対して垂直方向に拡大しやすくなる。また、拡大期後半の仮道管では、堆積するMFは全体的に仮道管軸方向に垂直に配向しているため、仮道管の拡大を抑制していると考えられた。また、拡大停止期の仮道管において、初めて二次壁のMFの堆積が認められた。これらの結果から、形成層から派生したばかりの仮道管の拡大しやすい構造と、その後の拡大しにくい構造への変化は堆積するMFの配向に支配されることが明らかにされた。

第4章では、一次壁から二次壁形成への移行段階の仮道管に堆積するMFを、FE-SEMを用いて観察し、二次壁の堆積開始と仮道管の拡大停止との関係を明らかにしている。二次壁のMFは、一次壁のMFと比べ個々のMFは直線的に存在し、またMF同士の平行性が良く、整然と密に堆積し、二次壁形成開始段階において堆積するMFの配向はSらせんであった。また、光学顕微鏡、偏光顕微鏡と画像解析を併用して調べた結果、二次壁形成開始が認められた仮道管では拡大が停止していることを見出している。さらに、偏光顕微鏡によって二次壁の堆積開始段階と判断されるより前段階で、二次壁を形成するMFが堆積することがFE-SEM観察によって明らかになった。このことから、仮道管が拡大を停止する以前に二次壁のMFは堆積を開始すると判断され、仮道管の拡大は、二次壁が堆積し、細胞壁が強固になることで、停止することが示唆された。

第5章では、二次壁形成中の仮道管に堆積するMFの配向を、形成段階の順を追って観察し、仮道管二次壁におけるMF配向の詳細を明らかにしている。二次壁におけるMFの配向変化は、仮道管壁の外層（以下S₁と略記）の最外部から中層（以下S₂と略記）の最外部にかけては、内こう側から観察して時計方向、S₂の最内部から内層（以下S₃と略記）の最内部に至る部分では反時計方向に変化していた。それぞれのMF配向の変化は連続的に起こるため、従来移行層と呼ばれていたS₁₂およびS₂₃を、それぞれS₁およびS₃から区別することは困難であり、それらはS₁およびS₃に帰属すると結論づけた。一方、S₂内ではMF配向に明確な変化が見られなかった。また、S₁およびS₃ではMFが配向を変えて堆積する場合、バンド状に束になって堆積しているMFが多く観察された。S₁では、

バンド状のほか壁全面に堆積している同配向のMFが観察され、バンドの幅は、 S_3 と比較すると広がった。また、 S_1 では S_3 と比べて配向変化の速度が遅いことが、1 仮道管列における各々の仮道管数の違いから推測された。以上のことから、仮道管壁におけるMFの堆積状態は、MFの堆積速度と配向変化の速度とによって決定されることが示唆された。

第6章では、FE-SEM、免疫蛍光抗体法を用いて、細胞壁形成中の仮道管における微小管の配向を形成段階を追って連続的に観察し、堆積するMFの配向制御への微小管の関与について明らかにしている。免疫蛍光抗体法による観察では、従来用いられている蛍光顕微鏡に加え、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いた。細胞壁形成中の仮道管における微小管の配向変化のパターンは、堆積するMFの配向変化のパターンと一致していた。また、共焦点レーザー走査顕微鏡による方法は微小管の配向変化の連続観察には極めて有効であった。FE-SEMによる観察では、微小管と堆積中のMFの配向との一致性が示され、また、微小管は堆積中のMFの状態と同様な配列を示した。これらの結果から、微小管の配向は堆積するMFの配向と常に一致しており、微小管はMFの配向および堆積場所を制御していることが示唆された。

第7章では、第2章から第6章までの結果を総合的に考察し、針葉樹材仮道管壁におけるMF配向のモデルを構築した。また、堆積するMFと微小管との関係から、微小管は配向変化する際消失することなく、微小管群全体で配向変化すると結論した。さらに堆積するMFの配向と仮道管の拡大方向および拡大停止との関係について、樹木細胞の形態形成の面から考察し、仮道管の形態は分化中仮道管の二次壁形成開始時期に決定されると推察している。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	深 澤	和 三
副 査	教 授	佐 野	嘉 拓
副 査	教 授	平 井	卓 郎
副 査	助教授	大 谷	諄

学 位 論 文 題 名

針葉樹材仮道管壁に堆積するマイクロフィブリルの 配向に関する研究

本論文は7章に区分されて記載され、図14、写真55を含む155頁の和文論文である。引用文献は118であり、参考論文6編が添えられている。本論文は針葉樹材仮道管壁に堆積するセルロースマイクロフィブリル（以下MFと略記）の配向変化、堆積様式の規則性、仮道管径の拡大とMF配向変化との関係、表層微小管（以下微小管と略記）とMFとの関係について検討したものである。

第1章では、針葉樹材仮道管のMF配向に関するこれまでの研究から、手法による限界、さらにMF配向モデルの不一致性などの問題点を指摘し、本研究の目的と内容を明らかにしている。

第2章では、電界放射型走査電子顕微鏡（以下FE-SEMと略記）を用いて、仮道管壁に堆積するMFの配向を、仮道管の形成過程を追って連続的に観察するための試料作製・観察条件について検討し、その手法を確立している。

第3章では、拡大中の仮道管壁に堆積するMFの配向を、FE-SEMを用いて観察し、仮道管の拡大と一次壁のMF配向との関係を明らかにしている。拡大中の仮道管に堆積するMFはランダムに配列しているが、拡大期前半では全体的に仮道管軸方向に平行に、拡大期後半では仮道管軸方向に垂直に配向し、拡大停止期の仮道管において初めて二次壁のMFが堆積することを見出している。このことから、拡大期前半の仮道管は仮道管軸に対して垂直方向に拡大しやすい構造であり、拡大期後半の仮道管では、拡大を抑制する構造であることを明らかにしている。

第4章では、一次壁から二次壁形成への移行段階の仮道管に堆積するMFをFE-

SEMを用いて観察し、二次壁のMFは、一次壁のMFと比べ個々のMFは直線的で平行性が良く、整然と密に堆積していること、また二次壁形成開始段階ではMFはSらせん方向に堆積していることを認めている。また、光学顕微鏡、偏光顕微鏡、画像解析、FE-SEMを併用して、二次壁堆積開始と仮道管の拡大停止との関係について調べ、仮道管の拡大が停止する以前に二次壁堆積が開始していることを認め、二次壁が堆積して細胞壁がより強固になることで、仮道管の拡大が停止すると結論している。

第5章では、二次壁形成中の仮道管に堆積するMFの配向をFE-SEMを用いて観察し、二次壁におけるMFの配向変化の連続性を示している。MFの配向変化の方向は、仮道管壁の外層（以下 S_1 と略記）の最外部から中層（以下 S_2 と略記）の最外部に至る部分では内こう側から観察して時計方向に、 S_2 の最内部から内層（以下 S_3 と略記）の最内部に至る部分では反時計方向であり、それぞれのMF配向の変化は連続的に起こるため、従来移行層と呼ばれていた S_{12} および S_{23} はそれぞれ S_1 、 S_3 に帰属すると結論している。一方、 S_2 内ではMF配向に明確な変化はないことを確認している。また、 S_1 、 S_3 ではMFが配向を変えて堆積する場合、バンド状に束になって堆積しているMFが多く観察され、MFの集合したバンドの幅の違いや、1仮道管列における細胞壁の各層を形成している仮道管数の違いから、 S_1 では S_3 と比べてMFの配向変化の速度が遅く、MFの堆積状態は、MFの堆積速度と配向変化の速度とによって決定されると結論している。

第6章では、FE-SEM、免疫蛍光抗体法を用いて、MF堆積開始から終了までの分化中仮道管における微小管の配向を形成の段階を追って連続的に観察し、微小管と堆積するMFの配向変化のパターンとが同じであることを示した。さらに配向・配列状態が一致することを見出している。これらの結果から、微小管の配向は堆積するMFの配向と常に一致しており、微小管はMFの配向および堆積場所を制御していると結論している。

第7章では、第2章から第6章までの結果から、針葉樹材仮道管壁におけるMF配向のモデルを構築し、堆積するMFの配向と仮道管の拡大方向および拡大停止との関係や、MF配向の制御機構について総合的に考察している。

本論文はMFの配向に関して新しいモデルと考え方を提案しており、その成果は国際学会でも高く評価されている。よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者安部久は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。