

## 樹木組織中における標識モノリグノール類の同位体顕微鏡観察

環境資源学専攻 森林資源科学講座 森林化学 小川 真由

### 1. 緒言

リグニンの生合成は、前駆物質であるモノリグノール類の細胞質での生合成、細胞壁への移動、重合の3段階で起こることが知られているが、モノリグノール類の移動に関しては未だ不明な点が多い。これは、モノリグノール類の移動を可視化する方法が確立されていないことに起因する。そこで、私は同位体顕微鏡に注目した。本研究では、安定同位体標識したモノリグノールを樹木に投与することによって、その分布を同位体顕微鏡で観察し、モノリグノール類の移動を解明することにした。

### 2. 方法

標識モノリグノールにconiferyl alcohol- $d_3$  (CA- $d_3$ )を用いた。供試木には、ニオイヒバ (*Thuja occidentalis*)を用い、①2015年8月21日と②2016年7月25日に実験を行った。①幹に対し円周方向に幅2 cm, 形成層近くの師部まで切り込みを入れ、ガラスウールを挟み、0.55 MのCA- $d_3$ 水分散液を100  $\mu$ L投与した。3時間後、投与口を含むように樹幹切片を切り出し、自然乾燥させた。カミソリで厚さ3 mmの切削柁目面試料を作製し、金を蒸着後、同位体顕微鏡で観察した。②円周方向に幅2 cm, 形成層を超えて木部細胞数列分にまで達する切り込みを入れ、ガラスウールを挟み、1.65 MのCA- $d_3$ 水分散液を100  $\mu$ L投与した。4時間後、投与口を含むように樹幹切片を切り出し、液体窒素で凍結後、凍結マイクロトーム (ライカCM3050S) で厚さ20  $\mu$ mの柁目面切片を作製した。シリコンウエハにSEM用カーボンテープで切片を貼り付け、金を蒸着後、同位体顕微鏡で観察した。

### 3. 結果と考察

①師部から形成層付近の木部にかけて重水素 (D) の分布が見られた。これより、投与した CA- $d_3$  が師部から木部に向かって移動していることが確認された。また、切り口から樹幹軸下方向に 150  $\mu$ m ほど離れた形成層付近の師部で最も多くの D が観測され、天然存在比 (D/H  $1.2 \times 10^{-4}$ ) の約 30 倍の存在を示した。さらに、D が軸方向の細胞列に分布していることが確認された。以上の結果から、CA- $d_3$  はシンプラストである放射組織で師部から木部に移動し、木部放射組織から仮道管に達したのではないかと考察した。しかし、木部深くまで CA- $d_3$  が観察されなかった。これは、CA- $d_3$  の樹木への取り込み量が少ないことに起因すると考えた。そこで、新たな投与条件を検討し、再度実験を行った。

②師部から年輪境界近くの木部まで D の分布が見られた。投与口から離れた木部ほど多くの D が観測され、最大で天然存在比の約 830 倍の存在を示した。よって、新たな投与条件により CA- $d_3$  の取り込み量が増えたことを確認した。また、D が仮道管の有縁壁孔の壁孔縁に局在していた。別途光学顕微鏡観察を行うと、この細胞は細胞壁形成完了後、細胞質が抜け落ち、自由水が存在する状態であることが考えられた。これより、アポプラスト経路で成熟細胞の壁孔に CA- $d_3$  が移動したと考察した。また、投与した CA- $d_3$  が壁孔縁の木化に使われた可能性を示した。

### 4. まとめ

投与した CA- $d_3$  はシンプラストである放射組織を通して師部から木部へ移動し、放射組織から軸方向仮道管に移動した後、アポプラストである細胞内腔中の自由水を使って拡散すると考察した。