



Title	マツ属放射柔細胞成熟の経年的・季節的経過
Author(s)	山本, 幸一; YAMAMOTO, Koichi
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 39(2), 245-296
Issue Date	1982-09
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/21075">https://hdl.handle.net/2115/21075</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	39(2)_P245-296.pdf



# マツ属放射柔細胞成熟の 経年的・季節的経過\*

山本 幸一

## Yearly and Seasonal Process of Maturation of Ray Parenchyma Cells in Pinus Species\*

By

Koichi YAMAMOTO\*\*

### 目 次

I. 緒 言 .....	246
II. 実 験 方 法 .....	247
1. マツ属分類と供試木 .....	247
2. 研究の進め方 .....	248
1) 紫外線顕微鏡による放射柔細胞の肥厚木化の観察 .....	248
2) 放射柔細胞の細胞学的変化の観察 .....	248
3. 実 験 手 法 .....	249
1) 固 定 .....	249
2) 包 理 .....	249
3) 検鏡切片作成と染色及び検鏡装置 .....	250
III. 結 果 と 考 察 .....	251
1. 放射柔細胞の肥厚木化の経年的経過 .....	251
2. 仮道管有縁壁孔壁閉鎖の経年的経過 .....	258
3. 放射柔細胞の肥厚木化の季節的経過 .....	260
4. 放射柔細胞の貯蔵物質の季節変化 .....	264
5. ペルオキシダーゼ, リグニン前駆物質取り込み, 含水率の季節変化 .....	268
6. 放射柔細胞の生存率と死 .....	271
IV. 総合考察と結論 .....	273
1. 細胞壁成熟の経年的経過による放射柔細胞の分類 .....	273
2. 放射柔細胞成熟の季節的経過 .....	277
3. 放射柔細胞の細胞学的変化 .....	277
4. 心材化の季節 .....	278
文 献 .....	279

\* 1982年2月25日受理 Received February 25, 1982.

\*\* 北海道大学農学部林産学科木材理学教室

\*\* Laboratory of Wood Physics, Faculty of Agriculture, Hokkaido University.

Summary .....	284
写真説明 .....	289
Photos 1~84 (Plates 1~15)	

## I. 緒 言

樹木は、生長に従い年輪を重ね、その樹幹部は現存量の大部分を占めるようになる。樹幹は樹皮と材部からなり、有効に利用しうる太さの材部には、通常同心円状の辺・心材が色調の濃淡、水分の多少などにより肉眼的に認められる。辺材と心材の相違は単に外見だけでなく、その内部構造や性質にも認められ、両者の利用適性の違いとなり、用途によりそれぞれが利点とも欠点ともなる。例えば、木材を素材利用する際には心材は辺材に比べ色調や耐久性に優れているが、いっぽう化学的利用たとえばパルプ化に際しては、心材はその抽出成分により障害を受けることなどが広く知られている。それゆえ、木材の有効利用を進めるためには、辺材と心材の材質特性を良く理解することが重要である。

辺材が、ある年月を経て心材に移行する現象は心材化あるいは心材形成と呼ばれ、それには辺材中の放射柔細胞が主役をなしている<sup>41,45,58,94</sup>。辺材が心材に移行する際の具体的現象として、柔細胞の死、抽出成分の増加、材の着色、壁孔壁の閉鎖、チロース・チロソイドの発達、水分の減少などが移行材と呼ばれる部位で起る。

放射柔細胞は、木材の細胞構成要素として量的には少ないが、機能的には心材化への関与のみならず、養分貯蔵の組織としても重要な役割を果している。そして、放射柔細胞については、主に心材化へのかかわりという観点から研究がなされ、生化学的・細胞学的に多くの成果が得られている。

生化学的には、組織あるいは柔細胞の正常な生理活性は、辺材から心材に向って漸次低下してゆくという結果と<sup>8,27,40,60</sup>、辺材の内方で増大が見られるという結果とがある<sup>20,64,75,92,93,110</sup>。この相反する結果は、本来柔細胞の量が少ない、変化のおこる部位が狭い、生理活性の季節変動、などに基因すると考えられる。

細胞学的には、移行材でチロース形成・タンニン合成などに見られる急激な代謝の増大が起るという主張と<sup>15</sup>、移行材では放射柔細胞の核やミトコンドリアの変化からして、代謝の増大と言うよりむしろ半嫌気的狀態での代謝変動が起るという主張がある<sup>25</sup>。更に、心材化機構についても、①水分の減少<sup>36,89,111</sup>、②水ストレスによるエチレンの生成<sup>44</sup>、③酸素の欠乏<sup>13</sup>、④高濃度のCO<sub>2</sub><sup>12</sup>、⑤抽出物や有毒な老廃物の蓄積<sup>22,91,95</sup>、⑥枝の枯れ上りによる“パイプ”の切断<sup>80</sup>、⑦辺材量の適正化<sup>4</sup>、など種々の点に原因が求められている。

このように、様々な報告がなされているが、今日では移行材では心材化に関与した代謝活性の増大が起ることが認められている。しかし、これらを組織学的・細胞学的に細胞レベルで支持する知見は少ない。こうした理由から、本研究は放射柔細胞の成熟過程を組織学的・細胞

学的に明らかにすることを目的として計画された。マツ属は、この様な目的に好都合な研究材料である。まず第一に、マツ属放射柔細胞は亜属や節の樹種により多様な成熟過程を示し、それ自体マツ属分類の観点から興味深く、更にその成熟過程は広くマツ科全体の変異をも含むことから、放射柔細胞成熟の研究材料として好都合である。第二に、マツ属放射柔細胞のあるものは辺材中では未木化であり、心材化の際に壁発達がおこるといふ特徴を持つため、心材化に伴う木化過程をとらえるのに好都合である。

マツ属放射柔細胞の成熟の遅れが初めて知られたのは比較的最近のことである<sup>1)</sup>。この現象は木材研究者の関心を引き、その後幾つかの報告がなされている<sup>2,3,6)</sup>。しかし、マツ属放射柔細胞の樹種ごとの多様な成熟過程について正確な理解がなされている訳ではない。

以上の点に踏まえ、前述の目的を以下の3点について明らかにするよう研究を進めた。まず、①マツ属放射柔細胞の亜属及び節による樹種ごとに、肥厚・木化の経年的経過を組織学的に明らかにすること、その把握の上で、②肥厚・木化の季節的経過を明らかにすること、更に、③放射柔細胞の成熟と関連を持つ細胞学的現象の経年的・季節的变化を明らかにすることを目的とした。そして、これらは心材化研究に寄与することを目標としている。

本研究を進めるにあたり、終始懇切丁寧な御指導を頂き論文の作成を可能にした、林産学科木材理学教室の石田茂雄教授、深沢和三助教授に謹んで感謝の意を表します。また、論文のとりまとめに際し多くの御教示を頂いた木材化学教室の榊原彰教授、木材加工学教室の沢田稔教授に深謝します。また、本研究を進める過程で、終始適切な助言・指導を頂いた木材理学教室の今川一志助手、大谷諄助手に深く感謝します。また、試料の採取に御配慮を賜った苫小牧地方演習林の氏家雅男前林長、石城謙吉現林長、前田豊助手、和歌山地方演習林の今井義雄元林長、札幌市円山動物園の金森裕園長をはじめ、職員の方々に感謝の意を表します。

本報告の一部は、これまでに演習林研究報告に報告したものであり<sup>105-107)</sup>、日本木材学会大会(27~30回)及びIUFRO(1980, Oxford)の第5分科会にて口頭発表したものも含んでいる。本報告は、さらに、その後の研究を加え、「北海道大学審査学位論文」としてまとめたものである。

## II. 実験方法

### 1. マツ属分類と供試木

マツ属放射柔細胞の成熟過程は亜属や節により異なる<sup>1,3)</sup>。本研究ではHUDSON(1960)の分類に従い供試木を選んだ。Table 1は供試木の概要を表わしたものである。*Paracembra*のシロマツは枝材であり、*Parapinaster*からは試料を得ることができなかった。両節は*Haploxyylon*と*Diploxyylon*の特徴が交錯し、分類学的にも放射柔細胞の成熟過程は興味深く、今後の研究が望まれる。なお、マツ属分類の研究史は、MIROV(1967)の“Genus *Pinus*”に詳しい。

Table 1. Classification\* of specimens examined

Subgenus	Section Species	No.	Sampling Year	Age (Year)	Height (m)	B.H.D. (cm)	Location
<i>Haploxyton</i> <i>Cembra</i> <i>Pinus strobus</i> LINN.		1	1975	30	16	27	Tomakomai Exp. For., Hokkaido
		2	1976~1977	46	19	36	"
		3	1978~1980	48	19	35	"
		4	1977	12	5	8	Sapporo, Hokkaido
<i>Paracembra</i> <i>P. bungeana</i> ZUCC.		1	1978	Branch		Botanic Garden, Hokkaido Univ., Sapporo	
<i>Diploxyton</i> <i>Pinaster-Lariciones</i> <i>P. densiflora</i> SIEB. et ZUCC.		1	1973	50	18	28	Wakayama Exp. For., Honshu
		2	1974	34	12	15	"
		3	1975	47	12	15	Tomakomai Exp. For., Hokkaido
		4	1976~1977	48	10	35	"
		5	1978	50	11	21	"
		6	1974	58	18	28	Maruyama Zoo, Sapporo
		7	1979~1980	63	19	30	"
<i>Pinaster-Taedae</i> <i>P. banksiana</i> LAMB.		1	1975	52	15	17	Tomakomai Exp. For., Hokkaido
		2	1976~1977	53	17	27	"
		3	1978~1979	55	17	23	"
		4	1979~1980	56	17	24	"
<i>P. rigida</i> MILL.		1	1975	43	12	25	"

\* Botanical classification and nomenclature was made according to HUDSON (1960)

## 2. 研究の進め方

放射柔細胞の成熟過程を、柔細胞壁の発達及び種々の細胞学的変化の二つについて研究した。

1) 紫外線顕微鏡による放射柔細胞の肥厚木化過程の観察 木材三大成分の一つであるリグニンは、セルロース、ヘミセルロースが紫外線に透明であるのに対し、共役二重結合を有する芳香環を持つため紫外線を良く吸収する。この特長を利用し、紫外線顕微分光分析法により、木材の各種細胞壁中のリグニンの定量的・定性的研究が<sup>23,24,28)</sup>、紫外線顕微鏡写真像からは、リグニン沈着過程の研究がなされており<sup>51)</sup>、多くの知見が得られている。このように、紫外線顕微鏡法は、細胞レベルでのリグニン検出に有効な手段である。

本研究では、放射柔細胞の成熟過程におけるリグニン沈着過程の経年的・季節的経過を明らかにするため紫外線顕微鏡を用い、木化過程は紫外線顕微鏡写真像により、木化の性質はUV吸収スペクトルや吸光度の測定により観察を行った。

2) 放射柔細胞の細胞学的変化の観察 エイジングに伴う放射柔細胞の細胞学的変化に

については、これまでに核や細胞質オルガネラ、酵素活性などについて観察が行なわれている<sup>9)</sup> (10,15,22,25,39,77,80,81)。

本研究では、放射柔細胞壁の成熟と直接に関係するペルオキシダーゼ活性やリグニン前駆物質取り込み、及び、形成層活動のみならず心材成分合成にも利用される貯蔵物質の変動を、辺材を通し季節的に観察した。更に、心材化に際しての最も顕著な変化である放射柔細胞の死、及び心材化の具体的現象の一つである壁孔壁の閉鎖と含水率の変化との関係について観察した。これらの観察には、組織化学的手法を用いた。1), 2) から、放射柔細胞成熟の経年的・季節的経過を明らかにしようとした。

### 3. 実験手法

Table 2, は実験手法と目的を示したものである。

Table 2. Procedure of experiments

Material	Fixation	Embedding	Section ( $\mu\text{m}$ )	Staining	Microscope	Objective of Observation	
Increment cores	GA or FAA	Epon 812	0.5		Ultraviolet	Lignification Heartwood Substances	
		Methacrylate	1.0		Fluorescence		
	GA			25	IK	Light	Starch
				25	Sudan III	"	Lipid
				25	Methyl green· Pyronine	"	Nucleus
				Fresh Surface	Benzidine reagent	Stereo	Peroxidase
				Dried Surface	{Gold	SEM	Wall Thickening
GA and OsO <sub>4</sub>	Epon 812		0.5	Sudan Black B	Light	Lipid and Starch Cytoplasm	
			0.5		TEM		
	Incubation in <sup>3</sup> H-Phenylalanine, <sup>14</sup> C-Glucose, GA·OsO <sub>4</sub> , Epon 812		0.5	Nuclear Emulsion	Light	Autoradiog- raph	
						Moisture Content	

1) 固定 生長錐により採取したコアは、目的に応じ4系列の固定処理、①無固定、②FAA、③3% グルタルアルデヒド (GA と略す) pH 7.2, 0.2 M リン酸緩衝液、④3% GA·2% OsO<sub>4</sub> 水溶液二重固定を行った。FAA 固定はコアのまま1週間、GA 固定とOsO<sub>4</sub> 固定は約1 mm 角の試料をそれぞれ24時間、6時間処理した。

2) 包埋 固定に続き、水洗、脱水し定法によりメタクリレート包埋及びエポン812包埋を行った。

### 3) 検鏡切片作成と染色及び検鏡装置

以下の観察 i) から vii) は辺材から心材まで通して行った。

i) **肥厚と木化** FAA あるいは GA 固定の包埋ブロックから、約  $0.5 \mu\text{m}$  厚切片を得、定法により石英プレパラートを作成し、紫外線顕微鏡 (Carl Zeiss, Type MPM 01) 観察を行った<sup>28,51,105</sup>)。写真撮影は  $280 \text{ nm}$  の単波長で行った。また、切片をステージ上で移動させ、細胞壁を  $280 \text{ nm}$  の単波長で走査し、UV 透過率の波形曲線を作成した。更に、同一切片上の細胞壁について、 $0.63 \mu\text{m} \phi$  の測定視野を設け、 $240 \sim 320 \text{ nm}$  における吸光度を順次測定し UV 吸収スペクトル曲線を作成した。波長精度はスリットで制御され、波長帯幅  $5 \text{ nm}$  になるように調節した。吸光度  $A$  は、 $A = \log 1/T$  (記録計には透過率  $T$  として記録される) で計算した。また、FAA 固定ブロックの柁目面を安全カミソリで仕上げ、エタノールで溶媒乾燥し、スパッタリングイオンコーターで金蒸着して走査電顕 (JSM-2 型) により肥厚形態の観察を行った。

ii) **心材物質** UV 顕観察に加え、以下の観察を行った。

メタクリレート包埋ブロックより  $1 \mu\text{m}$  厚切片を得、蛍光メタクロマジー染色を行い蛍光顕によりルーメンに沈着している物質の観察を行った (エボン包埋は染料によってはエボンそのものが発色する)<sup>28</sup>)。染色は、 $0.5\%$  アクリジンオレンジ水溶液並びに、 $0.5\%$  アクリジンレッド水溶液に切片を 3 時間浮かせて行い、続いて蒸留水に浮かせ、余分の染色液を完全に除き定法によりプレパラートを作成した。

iii) **貯蔵物質** GA 固定の無包埋ブロックから凍結装置 (小松エレクトロニクス・EFM-A type 101) をつけたスライディングミクロトームで約  $25 \mu\text{m}$  厚柁目切片を得、以下の染色を行い光顕観察に供した。デンプンの染色は  $2\% \text{ KI} \cdot 0.2\% \text{ I}$  の混合水溶液に数分間、脂質の染色は  $70\%$  エタノール飽和スダン III 溶液に 15 分間行った。また、デンプンと脂質の染色を BRONNER (1975) の方法により行った。二重固定エボン包埋  $0.5 \mu\text{m}$  厚切片を  $70\%$  エタノール飽和スダンブラック B 溶液で 12 時間染色した。更に、同  $0.1 \mu\text{m}$  厚切片を無染色のまま、透過電顕 (JEM-6 AS) により観察し、好オスミウム物質である脂質の観察を行った。

iv) **核** 上記と同じ  $25 \mu\text{m}$  厚切片で、小川ら (1975) のテキストを参考にメチルグリーン・ピロニン染色とフォルゲン染色を行い光顕観察を行った。

v) **ペルオキシダーゼ** 無固定の新鮮なブロックのなめらかに仕上げた柁目面上でベンチジン反応を行い、ペルオキシダーゼ活性の局在性を観察した。武内ら (1967) のテキストを参考に、 $0.5\%$  ベンチジン水溶液  $50 \text{ ml}$  と  $1\%$   $\text{H}_2\text{O}_2$  水溶液  $1 \text{ ml}$  の混合溶液に 5 分間ブロックを浸漬し、余分な溶液をろ紙で除き、HARKIN と OBST (1973) の方法により実体顕微鏡観察を行った。

vi) **オートラジオグラフィー** 表面をなめらかに仕上げた新鮮な小片 ( $4 \times 4 \times 1 \text{ mm}$ ) を、以下の基質溶液に 2 日間インキュベートした。D-[ $^{14}\text{C}$ ]-Glucose (比放射能  $225 \text{ m Ci/mM}$ ) は  $10 \mu\text{Ci/ml}$ 、L-[ $^3\text{H}$  (G)]-Phenylalanine (比放射能  $5 \sim 15 \text{ Ci/mM}$ ) は  $50 \mu\text{Ci/ml}$  にして使用した。

次いで蒸留水で数回洗浄し、二重固定・エポン包埋を行った。0.5  $\mu\text{m}$  厚切片をスライドグラスに載せ、ディッピング法で原子核乳剤 (サクラ AR 10) を密着させた。2週間から1カ月露出し、コニドール X で現象し、無染色のまま顕微鏡観察した。

vii) 含水率 生長錐によるコアをパラフィルムに包み実験室に持ち帰り、辺材から心材まで約 4 mm ほどの小片に分割し、生材含水率を測定した。

### III. 結果と考察

#### 1. 放射柔細胞の肥厚木化の経年的経過

放射柔細胞は、栄養物質の貯蔵・移動などを行い、更にエイジングに伴い心材成分の合成を行うなど樹木にとって重要な生理的機能を果している。いっぽう放射柔細胞壁発達の段階も、エイジングに伴い変化することが知られている。

そのような例としては、広葉樹に見られるチロースの発達と針葉樹に見られるチロソイドの発達が顕著である。CHATTAWAY (1949) はチロース発達は心材化の特徴の一つであると述べた。JEFFREY (1917) は、心材では壁孔は閉鎖しチロソイドが樹脂道に広がることを示した。BANNAN (1936) は、マツ属の薄壁エピセリウム細胞は、辺心材境界でチロソイドとして発達し、肥厚・木化すると報告した。

BALATINECZ と KENNEDY (1967) は、マツ属の *Diploxylo* に属する樹種では、放射柔細胞の肥厚木化は辺材中で徐々に進み、辺心材境界で急激に起ることを示した。それまでは、放射柔細胞も仮道管など同じペースで成熟するものと考えられていたため、この現象は大いに興味を引いた。BAMBER と DAVIES (1969) は UV 顕を用い、ラジアータマツの柔細胞壁は辺材で未木化、心材で木化していることを確認した。その後、BAUCH ら (1974) は *Diploxylo pine* の柔細胞の木化は心材化の過程でおこることを、 $^{14}\text{C}$ -コニフェリン取り込みにより明らかにした。また、FUJIKAWA と ISHIDA (1975) は、コウヤマキの放射柔細胞も、辺材で未木化、心材で木化していることを認めた。いっぽう、針葉樹放射柔細胞壁の微細構造についても多くの知見が蓄積されている<sup>18,26,34,52</sup>。

以上のように、放射柔細胞壁のエイジングに伴う発達過程については、辺材と心材との比較研究により、かなりのことが明らかにされているが、肥厚木化の経過を形成層から心材まで連続して観察した研究は、BALATINECZ ら (1967) 以降見られず、その詳細はいまだ明らかではない。本項の目的は、多様な放射柔細胞の成熟過程を持つマツ属を対象に、肥厚木化の経年的経過を UV 顕で明らかにすることにある。

放射柔細胞の肥厚木化の経過は単列放射組織と水平樹脂道組織では異なるので両者を区別して観察を行った。以下、樹種ごとに結果を述べ、続いて考察を行う。ストロブマツの単列放射組織の柔細胞は形成層附近で肥厚木化を完了するが、年輪界附近の晩材部の柔細胞は薄壁未木化のまま越年し、翌年成熟する (Photo 1)。単壁孔は (Photo 2)、2次壁の肥厚木化と共に

木化するものと、未木化のまま残るものとがある (Photo 3)。未木化の単壁孔は年輪界附近の晩材に多く存在する。いっぽう、分野壁孔壁はすべて未木化である (Photo 4)。

辺材中では放射柔細胞壁に変化は認められない。辺心材境界に至り、辺材中では未木化であった分野壁孔壁や単壁孔壁に UV 吸収が起る (Photo 5)。

Fig. 1 は、放射柔細胞と仮道管の 2 次壁の UV 吸収スペクトル曲線である。いずれも、グアヤシルリグニンのスペクトルを示しており、放射柔細胞の吸光度は仮道管に比べ高い。

水平樹脂道の単列部の柔細胞は前述のように形成層附近で成熟するが、多列部は辺材中では未木化のままであり (Photo 6)、辺心材境界の約 1 年輪前で肥厚木化を行い、程なく死細胞となる (Photo 7)。

シロマツの放射柔細胞はストロブマツと同じく、形成層附近で肥厚木化を完了する。Photo 8 は、枝の辺材の柔細胞であり、凹凸に肥厚した壁は木化している。

アカマツの単列放射組織では、一部の柔細胞だけが形成層附近で肥厚木化を完了する。それは早材の放射仮道管に近接するものに限られ、離れたもの及び晩材の放射柔細胞は、辺材中では未木化のままである。

Fig. 2 は、早材部における肥厚した放射柔細胞のエイジングに伴う量的変化を現わしたものである。早材の柔細胞の約半数が形成層附近で成熟を完了する。そして、辺材中では放射柔細胞の肥厚がおこることはない。辺心材境界の約 2 年輪前に至ると、未木化であった早材柔細胞は肥厚木化を行い、晩材柔細胞は肥厚せず木化だけを行う (Photo 9)。次いで、辺心材境界で分野壁孔壁の木化が起る (Photo 10)。その時、木化した半径壁がルーメン側に落ち込んでいるのが時々見られる (Photo 11)。

一つの放射組織の UV 吸収の年輪内変動を知るため、早材の各部位について測定を行った。Fig. 3 は、早材前期と後期の柔細胞の UV 透過率波形曲線を示したものである。UV 吸収は、早材前期から後期に向けて減少している。更に、放射仮道管に近接する形成層附近で肥厚した柔細胞は、放射仮道管から離れた移行材部で肥厚した柔細胞に比較して UV 吸収が強い傾

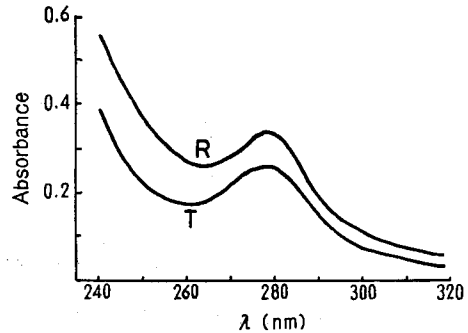


Fig. 1. UV spectral curves for the secondary wall of matured ray parenchyma (R) and tracheid (T) of *Pinus strobus*.

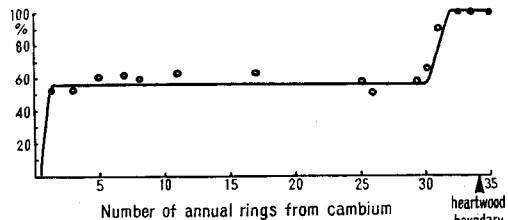


Fig. 2. Quantitative change of thickened earlywood ray parenchyma with aging of *Pinus densiflora* (tree No. 1)

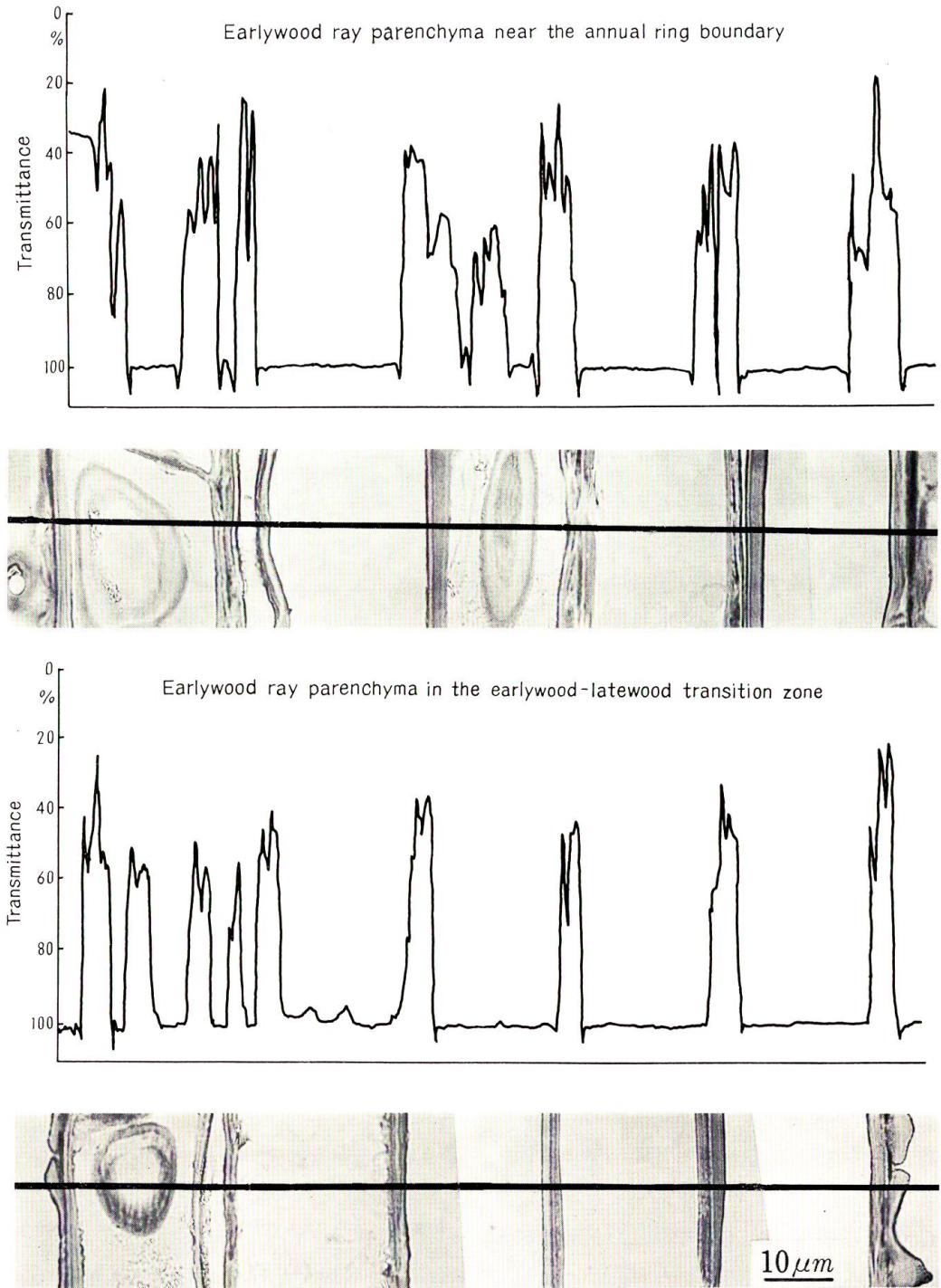


Fig. 3. Radial section of ray parenchyma of *Pinus densiflora*. UV transmittance curve was taken across the ray cells on the line.

向がある。Fig. 4は、放射柔細胞と仮道管の2次壁のUV吸収スペクトル曲線である。ともにグアヤシルリグニンのスペクトルを示しており、柔細胞の吸光度は仮道管に比べ高い。

水平樹脂道の単列部の一部の柔細胞は形成層附近で成熟する。エピセリウム細胞と放射柔細胞の間に存在するさや状の薄壁細胞の木化も形成層附近で完了し、直ちに細胞質を失う (Photo 12)。いっぽう、それら以外は辺材中では未木化のままであり (Photo 13)、辺心材境界の約1年輪前で成熟し死細胞となる (Photo 14)。この時、ほとんどの細胞は肥厚せず木化だけを行う。また、放射柔細胞のルーメンには、心材に限らず辺材においてもUV吸収を示す物質が認められる (Photos 15, 16, 17)。

バンクスマツの単列放射組織の柔細胞は、辺材中央部まですべて未木化である (Photo 18)。未木化の壁には、ところどころ薄い部分があり、壁孔のような形態を呈している。辺材中央部から肥厚木化し細胞質を失った柔細胞が出現する (Photo 19)。肥厚部は、うね状の肥厚線を形成している (Photo 20)。Fig. 5は、これら肥厚柔細胞の辺材中での増加の経過を示したものである。これら以外の薄壁柔細胞は、辺心材境界の数年輪前からコーナーの間層にUV吸収を示し始め、辺心材境界で壁全体に吸収を示し死ぬ (Photo 21)。また、心材では、Photo 21に見られる細胞質の残査状物質は、もはやほとんど認められない。

Fig. 6は、肥厚した放射柔細胞の2次壁と肥厚せず木化した柔細胞の1次壁のUV吸

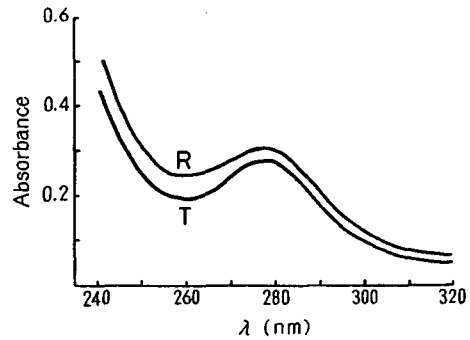


Fig. 4. UV spectral curves for the secondary wall of matured ray parenchyma (R) and tracheid (T) of *Pinus densiflora*.

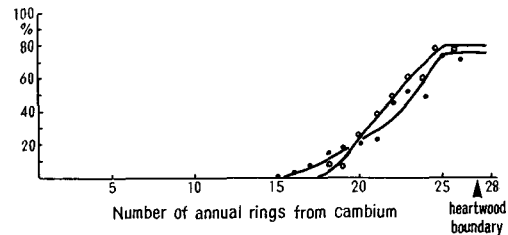


Fig. 5. Quantitative change of thickened ray parenchyma with aging of *Pinus banksiana* (tree No. 1).

Filled circles; latewood parenchyma, empty circles; earlywood parenchyma.

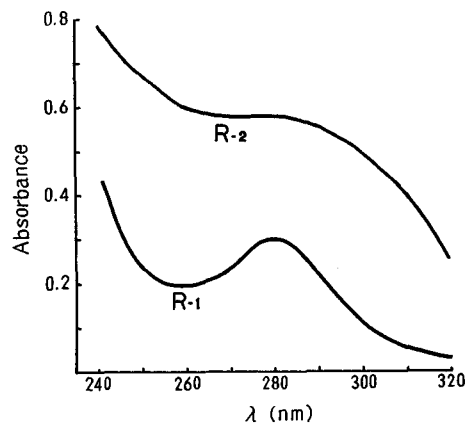


Fig. 6. UV spectral curves for the secondary wall of matured thick-walled parenchyma (R-1) and the primary wall of thin-walled parenchyma (R-2) of *Pinus banksiana*.

収スペクトル曲線である。前者はグアヤシルリグニンのスペクトルを示すが、後者はそれとは異なった特異なスペクトルである。

水平樹脂道の単列部は上述の成熟過程をたどる。多列部は辺材中では未木化のままであり (Photo 22), 辺心材境界の約1年輪前で成熟するが、肥厚せず木化するものが多く、とりわけエピセリウム細胞は肥厚しない (Photo 23)。

リギダマツもバンクスマツ同様、単列放射組織の柔細胞は辺材中央部までは未木化であり、辺材中央部から肥厚した柔細胞が徐々に増加し、辺心材境界では半数以上を占めるようになる。肥厚はバンクスマツに比べ著しい (Photo 24)。これら以外の薄壁柔細胞は、辺心材境界の3~4年輪前からコーナーの間層にUV吸収を示し始め (Photo 25), 辺心材境界で壁全体にUV吸収を示し死細胞となる。心材に限らず、肥厚した柔細胞のルーメンや生きている柔細胞の液胞中にUV吸収を示す物質が見られる (Photos 26, 27, 28)。

水平樹脂道も辺材中では未木化のままであるが (Photo 29), 辺心材境界の約1年輪前で肥厚木化を行う (Photo 30)。エピセリウム細胞の肥厚は著しく、チロソイドとして発達している。

放射柔細胞を肥厚木化の経年的経過により3タイプに分けた。すなわち、①形成層附近で肥厚木化、②辺材中央部から移行材にかけて、あるいは移行材で肥厚木化、③移行材で肥厚せず木化する3タイプである。それぞれをAタイプ、Bタイプ、Cタイプと呼んだ。

ストロブマツとシロマツでは単列放射組織のすべての柔細胞がAタイプであった。これは *Haploxyylon* の特徴と言える。*Paracembra* 節のシロマツは2葉松でピノイド型壁孔を持つなど *Diploxyylon* の特徴を持つが<sup>46)</sup>、放射柔細胞の成熟過程や放射仮道管が平滑である点では *Haploxyylon* の特徴が顕著である。いっぽう、*Diploxyylon* のアカマツでは、早材の放射仮道管に近接する柔細胞だけがAタイプである。

3樹種とも、放射柔細胞壁発達は仮道管や放射仮道管のそれに遅れることが確認された。柔細胞の木化の遅れは、今川ら (1976) により指摘されており、仮道管の木化とのかかわりについて注目されている。しかし、その季節性については MANN (1972) の報告があるに過ぎない。

放射柔細胞と仮道管の2次壁のUV吸収スペクトルは共にグアヤシルリグニンの特徴を示した。また放射柔細胞の木化度は仮道管に比べ若干高く、これらは既応の知見と同じである<sup>23)</sup>。更に、アカマツ放射柔細胞2次壁は、初期の早材から晩材に向い、UV吸収が低下する傾向が見られた。FERGUS ら (1969), FERGUS と GORING (1970) は、仮道管、木繊維、道管では早材は晩材に比べ木化度が高いが、放射組織では早晚材による木化度の違いは見られないと報告した。本研究の結果は数列だけのものであり、更に多くのデータが必要である。

Bタイプは観察したすべての樹種に見られることから、マツ属を特徴づける柔細胞と考えられよう。*Haploxyylon* では水平樹脂道にだけ存在するが、*Diploxyylon* では単列放射組織、水平樹脂道ともに存在する。

水平樹脂道組織は、辺材中ではすべて未木化であり、辺心材境界の約1年輪前で木化す

る。これはマツ属に共通した特徴である<sup>3,5)</sup>。*Haploxyton* では成熟の段階で常に2次壁の形成が見られるが、*Diploxyton* では2次壁の有無に変異が見られた。すなわち、アカマツとバンクスマツでは、ほとんど肥厚を伴わず木化だけが起るが、バンクスマツと同じ節に属するリギダマツでは肥厚が極めて顕著であった。BANNAN (1936) はエピセリウム細胞は、マツ属では辺材中未木化であり辺心材境界でチロソイドとして肥厚木化し、カラマツ、トガサワラ、トウヒ属では薄壁のものと同厚壁のものからなり、両者の比率は樹種・形成層の齢・年輪内位置などにより変化し、薄壁のものは主に辺心材境界でチロソイドとして発達することを示した。BAMBER (1976-a) は、マツ属の水平・垂直樹脂道は辺材では未木化で心材では木化していると報告した。また2次壁の有無については、*Haploxyton* の水平樹脂道では常に存在し、アカマツを含む*Diploxyton* の *Lariciones* 節では時々存在し、バンクスマツ、リギダマツを含む *Insignes* 節には存在しないとされた。以上の様に、樹脂道は樹種・樹齢・年輪内位置・生育環境などにより変化に富む組織であると言える。

水平樹脂道は、樹脂道を囲むエピセリウム細胞、それを取り囲むさや状の薄壁細胞、その外側の放射柔細胞の3種類の細胞から構成されている。3種類の細胞は研究者により、呼び方がそれぞれ異なる<sup>5,21,57)</sup>。さや状の薄壁細胞は、形成層附近で木化し直ちに細胞質を失うことが確認された。また、エピセリウム細胞の木化は、周囲の放射柔細胞に比べ半年輪程早く起る傾向があった。更に、エピセリウム細胞と周囲の柔細胞とで、デンプンの存在様式に違いが見られた (III-4 参照)。野淵ら (1976) は、エピセリウム細胞の脂質は放射柔細胞のそれより早く変質すると述べた。この様にこれら3種の細胞は構造的にも機能的にも異なると言える。ところが正式な名称はエピセリウム細胞だけであり<sup>49)</sup>、他の細胞の定義が望まれる。

単列放射組織にBタイプの柔細胞が存在するのは、アカマツ、バンクスマツ、リギダマツであり、*Diploxyton* に特徴的である。

アカマツでは、形成層附近で木化するAタイプ以外の早材の柔細胞は、辺材中では未木化であり、移行材でのみ肥厚木化することが確認された (Fig. 2)。BALATINECZ ら (1967) は、アカマツと同じ節のヨーロッパアカマツにおいて、成熟した放射柔細胞は辺材中で徐々にその数を増すと述べ、その結果はPANSIN と ZEEUW (1980) のテキストに載っている。この相違については確認する必要がある。いっぽう、バンクスマツ、リギダマツでは、肥厚木化は辺材中央部から移行材にかけておこり、肥厚した柔細胞は徐々に増加する。辺材外部では肥厚した柔細胞はまったく見られなかったが、MANN (1974) はバンクスマツ苗木の形成層附近で肥厚した柔細胞を観察している。これは、形成層の齢が若いいため放射仮道管と中間の柔細胞が形成されたのかも知れない<sup>101)</sup>。肥厚木化した柔細胞は辺材中にもかかわらず直ちに細胞質を失い死細胞となる。これら死細胞相互のダブルウォールの2次壁が単壁孔状の形態を示すことはまれであった (Photos 19, 25)。ところが肥厚する以前の未木化の1次壁には壁孔状のくぼみが存在した (Photo 18)。HOWARD と MANWILLER (1969) は、Southern pine の薄壁の放射柔細胞は壁孔を持

たず、肥厚した柔細胞は壁孔を持つと述べた。また、肥厚した柔細胞と薄壁の生細胞が隣接する場合、後者は依然未木化であり、両者の区別は明確であった (Photos 19, 55)。WARDROP (1976) は木化細胞が未木化細胞と隣接すると間層は未木化のままであることを示した。

Cタイプの放射柔細胞は *Diploxyylon* のアカマツ、バンクスマツ、リギダマツに見られた。*Diploxyylon* の他にはコウヤマキに知られているが<sup>26)</sup>、他の樹種にも存在する可能性がある。例えば GREGUSS (1955, 1970) は、*Agathis*, *Araucaria* 属の放射柔細胞には薄壁のものと厚壁のものがあると報告している。細胞壁の木化はコーナーの間層から始まった。この点では仮道管の木化と似ている<sup>51)</sup>。Cタイプ放射柔細胞1次壁のUV吸収スペクトルは、肥厚した柔細胞(Bタイプ)の2次壁のそれと異なっており (Fig. 6)、Cタイプの細胞壁に沈着したUV吸収物質はリグニンとは異なることを示している。

心材化現象の中で最も最後におこる現象の一つである分野壁孔壁へのUV吸収は、その放射柔細胞が死ぬ直前に起った。すなわち、分野壁孔は放射柔細胞と仮道管の連絡通路として最後まで機能しているのである。UV吸収物質が沈着する時、ピノイド型壁孔を持つものでは放射柔細胞半径壁はルーメン側に落ち込み (Photo 21)、反対に、窓状壁孔を持つものでは仮道管ルーメン側へ膨出する傾向がある (Photo 10)。後者の現象は、かつて針葉樹チロースと報告され、GERRY (1914) は大きな窓状壁孔を持つ樹種に特徴的であることを示した。また、UV吸収とともに壁孔壁の厚さが増加し、吸収の強さも細胞ごとに異なった (Photo 10)。壁厚の増加はリグニン様物質の浸み込みによると考えられる<sup>6,10,26,60)</sup>。分野壁孔に沈着するUV吸収物質の量や質は、それらを生合成する細胞個々の生理的狀態により影響されると考えられる。NELSON (1975) は心材抽出物の量は柔細胞の量よりも、柔細胞の生理的狀態により大きな影響を受けることを示した。

次に心材物質の存在について述べる。放射柔細胞には、心材に限らず辺材においてもUV吸収物質が認められ、それには液胞内に存在する場合と死細胞のルーメンに存在する場合とがある。これらの細胞は点々と現われることが多い。すなわち、特定の細胞にポリフェノールのようなUV吸収を示す物質が集積すると考えられる。深沢と今川 (1970) は心材物質を形成しうる放射柔細胞と、しえない柔細胞があると述べた。辺心材境界で壊死する柔細胞のルーメンにはUV吸収を示す細胞質の残査状の物質が観察されるが、心材に至るとそれらはほとんど認められない (Photos 21, 23, 30)。NEČESANÝ (1973) はポリフェノールは細胞の壊死する以前に合成され、死後に着色することを示した。甲斐ら (1979) はスギ心材中で、ハイドロキンスギレジノールなどの心材色素の重合が進むことを示した。BOSSHARD (1968) はタワ材において、正常な心材では心材物質が壁に浸み込むが、不規則な心材では浸み込まないことを報告した。移行材で見られる細胞質の残査状のフェノール性物質は、心材化の際に壁に沈着したり、他の細胞に移動することにより、心材ではルーメンに認められなくなるのであろう。更に、柔細胞ルーメンのフェノール性物質は強いUV吸収を示すが (Photos 17, 28)、仮道管ルーメンのそれ

は弱い傾向が認められる (Photo 35)。CÔTÉ と MARTON (1962) は、柔細胞から繊維などに移動した物質の電子密度が減少するのは、ソリッドな部分が柔細胞に沈着するためと考えた。

放射柔細胞成熟は主に形成層附近と移行材で起ることがわかった。これら部位については (III-3) で季節的経過を明らかにする。

## 2. 仮道管有縁壁孔壁閉鎖の経年的経過

仮道管は、樹体の機械的支持のほか、辺材中では蒸散流の通路として機能し、その有縁壁孔は仮道管相互の連絡通路として重要な役目を果している。有縁壁孔の機能・構造に関しては多くの研究がなされており、壁孔壁を構成するマルゴあるいはトールスの微細間隙が通路と考えられている<sup>76)</sup>。心材では、有縁壁孔壁への心材成分やリグニン様物質の沈着により、その透過性は著しく低下する<sup>60)</sup>。有縁壁孔壁に沈着するポリフェノール類は放射柔細胞に起源すると考えられている<sup>6,86)</sup>。また、有縁壁孔閉鎖の心材化に伴う変動や年輪内変動についての報告も見られる<sup>36,87)</sup>。有縁壁孔壁の閉鎖や心材成分沈着による構造の変化は、辺材の理学的性質を左右する要因の一つであり<sup>42,45)</sup>、木材の乾燥経過の相違や、木材への各種薬液注入の難易などとなって現われる。また、木材の透過性を向上させるための酵素や菌による壁孔壁の処理法も研究されている<sup>76)</sup>。壁孔壁の閉鎖や心材成分沈着のメカニズムの解明は、木材の合理的利用に寄与するものである。本項では、放射柔細胞に起源すると考えられる心材成分の有縁壁孔壁への沈着を、柔細胞のエイジングに伴う成熟過程と関連させて観察した。更に、有縁壁孔壁のペルオキシダーゼ活性をベンチジン反応により検出し、心材成分沈着の知見と対比させた。

Fig. 7 は早材仮道管有縁壁孔壁への UV 吸収物質の沈着を辺材から心材まで示したものである。すべての有縁壁孔は、辺材内部まで UV 吸収を示さずトールスは中央に位置しており、放射柔細胞の分野壁孔も UV 吸収を示さない (Photo 31)。辺材内部から移行材にかけて、急激に UV 吸収がおこり、トールス

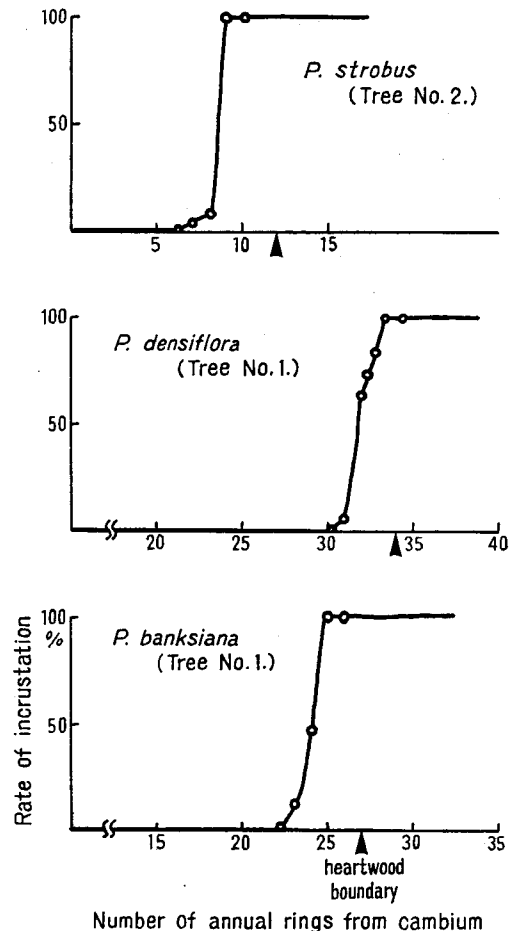


Fig. 7. The rate of incrustation of the bordered pit membranes in tracheids from sapwood to heartwood.

は強い吸収を示し閉鎖しているが、放射柔細胞の分野壁孔壁には、いまだUV吸収は認められない (Photo 32)。晩材仮道管や放射仮道管の有縁壁孔壁はUV吸収を示しても、トールスは中央に位置することが多い (Photo 33)。UV吸収の完了する辺材内位置は、辺心材境界のほぼ2~3年輪前である。移行材に相当する2~3年輪幅の部位では、放射柔細胞は生存しているが、含水率は辺材に比べ低下している (III-5 参照)。いっぽう、仮道管有縁壁孔壁のトールスのペルオキシダーゼ活性は辺材を通して変化なく認められ (Photo 36)、辺心材境界の約2年輪前で消失する。

次に、有縁壁孔壁に沈着する心材成分の放射柔細胞からの経路を示唆する2~3の現象を示す。有縁壁孔の閉鎖は仮道管ごとに異なり、ある仮道管の有縁壁孔はすべて閉鎖しており、近くの仮道管のそれはまったくしていないことがある (Photo 34)。また、Photo 33のように、生きている放射柔細胞に隣接する放射仮道管の有縁壁孔壁はUV吸収を示さず、その隣りの死んだ放射柔細胞に接する放射仮道管のそれはUV吸収を示している。更に、放射柔細胞附近の仮道管ルーメンには、UV吸収をほとんど示さないが (Photos 32, 35)、蛍光メタクロマジー染色で顕著に認められる沈着物質が多く存在する (Photos 79, 80)。

仮道管有縁壁孔壁のUV吸収は辺材中では認められず、辺心材境界の2~3年輪前で急激に起り、その前後で不連続性を示した。HARRIS (1953) はラジータマツにおいて、壁孔壁の閉鎖は辺材中で少しずつ起っており、辺心材境界で急に進むと述べた。これら辺材中で閉鎖した壁孔壁はUV吸収を示さないと考えられる。本研究においても、辺材で閉鎖している壁孔壁は幾らか認められたが、UV吸収はほとんど認められなかった。BAUCHら (1974) は *Juniperus virginiana* などでは辺材ですでにトールスにフェノールが見られるが、ヨーロッパアカマツのトールスには見られないことを示した。心材成分が沈着していない辺材中の有縁壁孔壁は、木部中の水分状態などによりトールスの位置が変化し、水分通導は可能と考えられる。THOMASとNICHOLAS (1968) は Southern yellow pine で、辺材で沈着している物質は酸性にした亜塩素酸ナトリウムで溶けるが心材では溶けず強固に沈着していることを示した。森川 (1974) はヒノキにおいて、樹液は辺材全体を流れ、流速は部位により変わらないことを報告した。

有縁壁孔壁が心材成分の沈着により閉鎖した移行材では、放射柔細胞はまだ生存しているが、含水率は辺材に比べ低くむしろ心材に近い値であった。含水率の低下はエチレン生産を促し<sup>65)</sup>、エチレンはポリフェノール合成を促すことが実験的に認められている<sup>44)</sup>。含水率の低下により柔細胞で合成されたポリフェノールが、以下に述べる経路を通り壁孔壁に沈着し、透過性を低下させ、含水率の低下を招くような機構が考えられよう。これらポリフェノールは放射柔細胞から分野壁孔を通して仮道管ルーメンに至り有縁壁孔壁に達すると考えられよう。なぜなら、分野壁孔附近の仮道管ルーメンに比較的多くの沈着物質が認められ、更に有縁壁孔にUV吸収が起る時点では、経路途中の分野壁孔壁にはいまだ吸収が認められないからである。更に、BAUCH (1975) は毛管水中にフェノール性物質を認めている。有縁壁孔壁のペルオキシ

ダーゼ活性は、辺心材境界の約2年輪前で消失し、あい前後して心材成分の沈着が起る。すると、それまで見られなかった分野壁孔壁にペルオキシダーゼ活性が認められるようになり(III-5参照)、その木化は辺心材境界で起る(III-1参照)。

放射仮道管有縁壁孔壁に沈着する心材成分は、Photo 33 に示されるように、隣接する放射柔細胞から、水平壁の半有縁壁孔を通して移動すると考えられる。また放射仮道管や晩材仮道管の有縁壁孔壁は、移行材でUV吸収を示しても、多くのトールスは中央に位置したままである。この現象は以前から報告されている<sup>25,87)</sup>。晩材仮道管のトールスには辺材中においても既に無定形物質の沈着が多いと報告されており、それが閉鎖を阻害する原因の一つであろう。更に、壁孔が小型なため、閉鎖するだけマルゴが伸長する余裕が無いことも考えられる。

木材の合理的利用がさげられる今日、材の性質に影響を及ぼす壁孔壁への心材成分沈着や閉鎖のメカニズムを解明することは重要である。組織化学的手法としては、柔細胞からの心材成分の経路をオートラジオグラフィで示すことや、心材成分の沈着と壁孔壁のペルオキシダーゼ活性の関連を電顕的に明らかにすることなどが必要である。

### 3. 放射柔細胞の肥厚木化の季節的経過

樹木は、光、水、温度など様々な環境要因に適応して生育しており、それらに規定される諸現象の季節性を解明してゆくことは、樹木の生活・機能ひいては木材の性質を理解する上で重要なことである。とりわけ、放射柔細胞は軸方向柔細胞と並び木部中で唯一生きている細胞要素であり、種々の生理的機能を果たしている。柔細胞の貯蔵物質の季節変化については古くから関心が持たれ、最近では酵素活性の変化についても研究が進められている。ところが、放射柔細胞壁発達の季節的経過については、研究も極めて少なく、仮道管などに比べて不明の点が多い。

MANN (1972) はストロブマツの放射柔細胞壁の発達は夏の終りから秋におこると報告した。今村ら (1974) はもみで、今川ら (1976) はカラマツで、放射柔細胞の成熟は仮道管に比べ遅れると述べた。いっぽう、BALATINECZ ら (1967) は *Larix decidua* など、放射柔細胞の成熟は仮道管と同じペースで起ると述べた。広葉樹については報告が見当たらない。このように、放射柔細胞壁発達の季節的経過という基本的な問題についても、いまだ正確な理解はなされていない。

本項の目的は放射柔細胞の肥厚木化の季節的経過を明らかにすることである。とくに、マツ属に特徴的である移行材での肥厚木化は、心材化との関連において注目される。観察にはUV顕を用い、細胞壁のUV吸収の状態から木化過程の季節的経過を明らかにした。

放射柔細胞の肥厚木化の季節を、(III-1) で分けた3タイプについて、樹種ごとに述べる。

Aタイプは形成層附近で肥厚木化を行う放射柔細胞である。季節的観察はストロブマツとアカマツについて行った。両樹種とも放射柔細胞は夏頃までは薄壁未木化のままである。春から順次形成されてきた放射柔細胞の肥厚木化は、ストロブマツでは9月から10月にかけて

て、アカマツでは8月から9月にかけて進行する。Photos 37~39はストローブマツの形成層附近の放射組織である。8月までは当年形成された柔細胞は、仮道管や放射仮道管と対照的にすべて未木化である(Photo 37)。9月には当年形成された柔細胞に肥厚木化が始まる(Photo 38)。11月には当年形成されたほとんどの柔細胞の肥厚木化は完了しているが、Photo 1でも述べたように形成層と接している若干の柔細胞は未木化の状態を越し翌年の夏から秋に成熟する(Photo 39)。Photos 40~42はアカマツの形成層附近の放射組織である。7月までは放射柔細胞はすべて未木化であり、放射仮道管の壁の発達と対照的である(Photo 40)。8月には放射仮道管に接した早材柔細胞から肥厚木化が始まっている(Photo 41)。9月には2次壁形成がほぼ完了した柔細胞が多く見られる(Photo 42)。そして10月には、これらの肥厚木化は完了した。肥厚木化は放射組織内では、樹心側から形成層側に向かって進む(Photo 41)。細胞内では、肥厚にすこし遅れて木化が進行する。Photo 43では1次壁の内側に2次壁の堆積が見られるが、UV吸収はまだ見られない。そしてPhoto 44のように、2次壁の堆積がほぼ完了するころリグニンが細胞間層側から内腔側に向かって順次沈着してゆく。2次壁が沈着した部分の1次壁に、UV吸収の弱い層が認められることがある(Photos 3, 49)。

Bタイプは辺材中央部から移行材にかけて、あるいは移行材で肥厚木化を行う放射柔細胞である。季節的観察はストローブマツ、アカマツ、バンクスマツについて行った。ストローブマツでは水平樹脂道にだけ見られ、肥厚木化は7月から9月にかけて行われた。すなわち、辺材境界の約1年輪前において、7月から9月には木化中のエピセリウム細胞や放射柔細胞が多数観察されるが、他の季節にはほとんど観察されない。Photos 45, 46は7月8月のものであり、肥厚した壁に木化の進行を示す弱いUV吸収が認められる。Photo 47は9月のもので、UV吸収を示している木化中のエピセリウム細胞が見られる。木化が完了すると、その細胞は細胞質を失い死細胞となる。これら以外の季節には、木化中の細胞は認められず、未木化の柔細胞と木化を完了した死細胞との境界が明確である(Photo 48)。

アカマツでは単列放射組織にも水平樹脂道にも見られる。単列のBタイプの放射柔細胞は、8月から9月に肥厚木化を行う。すなわち、辺材境界の2年輪程前で8月から主に9月にかけて木化中の細胞が観察され、他の季節にはされない。Photo 49は8月のもので、放射仮道管から離れた位置の柔細胞にUV吸収が始まっている。Photos 50, 51は9月のもので、同様に肥厚木化中の細胞が見られる。水平樹脂道はほとんどがCタイプの柔細胞であり、Bタイプは量的に少なく、肥厚木化中の細胞を観察できなかった。

バンクスマツでも単列放射組織と水平樹脂道に見られる。単列の放射柔細胞は、辺材中央部から移行材にかけて、8月から主に9月に肥厚木化を行う。Photos 52, 53, 55は9月の辺材内部の放射組織を示す。肥厚木化は半径方向に連続して進むことが多い(Photo 52)。しかし、1細胞だけが孤立して肥厚木化を行うこともある(Photo 55)。水平樹脂道の単列部は上述の経過をたどるが、多列部の柔細胞の多くとエピセリウム細胞はCタイプに属する。肥厚木化は、

放射組織内では樹心側から外に向って進む (Photo 52)。細胞内ではストロームマツ、アカマツでは A タイプの過程と同様であるが (Photos 45, 47)、バンクスマツではすこし異なる。まず未木化の 1 次壁に 2 次壁の堆積が起こり、肥厚がほぼ完了するころ、2 次壁が堆積した部位の間層でなく 1 次壁にリグニンの沈着が始まる (Photo 53)。そして 2 次壁の外側から内側に向けリグニン沈着が進み、ほぼ平行して 1 次壁全体に強い UV 吸収が起こり (Photo 55)、2 次壁の木化も完了する。

C タイプは移行材で肥厚せず木化を行う放射柔細胞である。季節的観察はアカマツ、バンクスマツについて行った。単列放射組織では両樹種とも、コーナーに UV 吸収を示す柔細胞が季節を問わず辺材内部から移行材にかけて観察された (Photos 9, 25, 32, 50)。UV 吸収が壁全体に広がり、まだ核を保持している放射柔細胞は木化中と考えられ、それは辺心材境界付近で 6 月から 10 月にかけて認められ、冬は認められない。Photo 54 はバンクスマツ 8 月のもので、柔細胞は壁全体に UV 吸収を示し、かつ核を保持している。水平樹脂道では、辺心材境界の 1 年輪程前で、アカマツは 7 月から 8 月に、バンクスマツでは 7 月から 10 月に木化が進んだ。Photo 56 はアカマツ 7 月のもので、エピセリウム細胞には核や細胞質が見られ、種々の強さの UV 吸収を示している。Photo 57 は 8 月のもので、エピセリウム細胞は木化し、柔細胞は未木化であり、樹脂道には UV 吸収物質が存在している。Photos 58~60 はバンクスマツである。Photo 58 は 7 月のもので、エピセリウム細胞は UV 吸収を示し、かつ核を持っており、木化中である。Photo 59 は 10 月のもので、一部の放射柔細胞は壁全体に UV 吸収を示し、かつ核を持っている。ところが、11 月には Photo 60 のように未木化のエピセリウム細胞と木化したエピセリウム細胞が隣り合っており、両者の区別が明確である。

A タイプの放射柔細胞の肥厚木化の進行する季節は、ストロームマツでは 9~10 月、アカマツでは 8~9 月であり、共に夏の終りから秋にかけてであった。MANN (1972) はストロームマツの放射柔細胞壁発達は夏から秋にかけておこると報告した。また今村ら (1974) と今川ら (1976) は、モミとカラマツで放射柔細胞の壁形成は仮道管のそれに遅れることを認めた。この種の報告は極めて少ないが、本研究の結果と合わせると、放射柔細胞の成熟が仮道管に遅れ夏から秋におこることは多くの温帯産針葉樹に共通の現象と考えられる。いっぽう、辺材外側で発達するチロースについて、MYERS (1924)、MEYER と CÔTÉ (1968)、石田ら (1976)、中川ら (1976) は、その季節はそれぞれ、12 月~翌 2 月、当年の終りから翌年の始め、8~9 月、9~10 月であると報告した。放射柔細胞が壁の面積生長完了後も夏までは未木化の状態で存在する意味として次の事が考えられる。分化中の仮道管形成に消費される光合成生産物やミネラルを樹液から供給する通路として放射柔細胞が十分機能を発揮するには<sup>97)</sup>、当年輪の柔細胞が形成層のように未木化の壁構造を維持することが合理的と考えられる。そして晩材形成時には、仮道管形成もほぼ完了することから、柔細胞も肥厚木化し生理的機能の他に強度的機能を獲得するものと考えられる。更に、分野壁孔は仮道管の中央部に集中しており<sup>98)</sup>、放射柔細胞と仮道管の

Table 3. Season of heartwood formation in literature

Phenomenon	Species, Literature	Location	Climate* W.I., C.I.	Season													
				4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
Appearance of Intermediate wood	<i>Fagus sylvatica</i> <sup>38)</sup>	Germany	68, -15						←————→								
"	<i>Taxus baccata</i> <sup>19)</sup>	England	67, -1.4						←————→								
"	<i>Pinus radiata</i> <sup>37)</sup>	New Zealand	69, 0	→									←————→				
"	<i>Pinus radiata</i> <sup>92,93)</sup>	Australia	92, 0	←————→													
Respiration	"	"	92, 0								←————→						
Malic dehydrogenase	"	"	92, 0								←————→						
Ethylene	"	"	92, 0										←————→				
Cytoplasm·Nucleus	<i>Cryptomeria japonica</i> <sup>80,81)</sup>	Kyoto Japan	117, -4.3						←————→								
Ethylene	<i>Juglans nigra</i> <sup>75)</sup>	U.S.A.	92, -25							←————→							
Peroxidase	"	"	92, -25						←————→								
Ethylene	<i>Prunus serotina</i> <sup>75)</sup>	"	92, -25					←————→									
Heartwood coloration	<i>Larix leptolepis</i> <sup>46)</sup>	Sapporo Japan	66, -35				←————→										
Wall development	<i>Pinus strobus</i> <sup>106)</sup>	Tomakomai Japan	64, -41				←————→										
"	<i>Pinus densiflora</i>	"	64, -41					←————→									
"	<i>Pinus banksiana</i> <sup>107)</sup>	"	64, -41					←————→									

\*56) W.I.; warmth index.  $WI (°C \cdot mo) = \sum_{n}^{n} (t-5)$

C.I.; coldness index.  $CI (°C \cdot mo) = - \sum_{12-n}^{12-n} (5-t)$

$n$ ; number of month above 5°C.  $t$ ; average temperature of month.

密接な関係を示している。

Bタイプの放射柔細胞の肥厚木化の進行する季節は単列放射組織ではアカマツ、バンクスマツとも8~9月であり、水平樹脂道ではストロブマツは7~9月であった(アカマツ、バンクスマツのエピセリウム細胞は、ほとんどがCタイプである)。すなわちBタイプの肥厚木化の季節はAタイプと同様、各樹種とも夏から秋にかけてであった。心材化の際の細胞壁発達の季節的経過に関する研究は極めて少ないが、最近、高原ら(1980)はドイツウヒのチロソイド発達は季節にかかわらず見られるが、主に秋に起ると報告した。心材化の際の細胞壁発達の季節が心材化の季節を現わしているかどうかは難しい問題である。そこで、心材化と関連した諸現象の季節についての報告と本研究での結果とを対比した<sup>19,37,38,46,75,80,81,92,93,106,107</sup>(Table 3)。心材化と関連する現象は形成層活動の活発な時期には見られず、低下した生長後期か休止期に見られることがわかる。心材化が生長後期に進行するか、休止期に進行するかの相違は、各地の冷量示数からして<sup>56)</sup>、冬期間の気温によると考えられる。いずれにせよ、心材化の際の細胞壁発達や酵素活性の高まりなどが、形成層活動の低下する時期に起ることに意味がある。その季節性は、樹木にとっての心材化の必然性と結び付けて考えられよう。すなわち、樹木の生長がほぼ終り光合成生産物が貯蔵に振り向けられる季節には<sup>73)</sup>、当年形成された柔細胞も成熟し(Aタイプ)、養分貯蔵の役目を果すようになる。それにつれ、一定量に達した光合成生産物に、それを貯蔵する放射柔細胞の量(辺材量)を見合うようにするため、辺材内部の放射柔細胞は順次貯蔵機能を失い死細胞となる。樹木は、ある年月を経ると光合成部分である樹冠量が一定となり<sup>56)</sup>、また光合成生産物を貯える場である辺材の量は樹冠量と比例することが知られている<sup>80)</sup>。BAMBER(1976)は、心材化とは辺材量を最適条件下に維持し続ける調節過程であると述べた。このように、心材化は光合成生産物が主に貯蔵に振り向けられる時期に進むと考えられる。

Cタイプの放射柔細胞ではUV吸収が細胞コーナーに始まっている状態が季節を問わず認められたが、木化が季節にかかわりなく始まるのか、あるいはBタイプ同様夏から秋に開始されるか明らかでない。その後、辺心材境界付近で壁全体にUV吸収を示すが、その時、核を保持している柔細胞は木化中と判断した。この様な放射柔細胞は、アカマツでは7~8月に、バンクスマツでは7~10月に多く観察され、木化はBタイプ同様主に夏から秋に進むと言える。木化中のCタイプの柔細胞は死細胞に近接して存在しており、分野壁孔の木化もほぼ同時におこり、壊死へ引き続く段階にある。

#### 4. 放射柔細胞の貯蔵物質の季節変化

放射柔細胞は、辺材中では種々の生理的機能を果しているが、最も重要な機能は栄養物質の貯蔵であろう。温帯以北の樹木には生長期と休止期の区別があり、生長期には光合成生産物を生長に利用する時期と、それを貯蔵に向ける時期とが認められる<sup>73)</sup>。貯蔵物質の季節変化についての研究は非常に多く、デンプンでは春先の大きなピークと秋または初冬の小さなピーク



という一般的傾向が知られている<sup>39,79,102</sup>。更に、心材化との関連で、樋口ら(1964)はデンプンは辺材から心材に向け減少するとし、野淵ら(1978-a)は辺材中での一般的な年内リズムを確認し辺材内部では季節的変動は少ないと報告した。脂質についても、冬最大、夏最少という季節変化が認められている。このように、貯蔵物質の季節変化の一般的傾向は明らかにされているが、辺材を通しての知見は少ない。本項の目的は、放射柔細胞に含まれる貯蔵物質の辺材中の季節変化を明らかにし、放射柔細胞の成熟過程との関連について考察することである。

Fig. 8 は、デンプン量の季節的変動を表わしたものである。ストロームツは木部師部とも、春に多く夏に減少し秋に再び増加し冬に消失するパターンであり、8月9月の減少が顕著である。アカマツでは幾つかの特徴が認められる。まず、辺材内部では秋にデンプンの増加が見られるが、外部ではデンプンは消失する。さらに、晩材は早材に比べデンプン量が多い傾向がある。Fig. 9 は、辺材内部の連続3年輪のデンプン量の変動を示したものである。デンプンは年輪界から早材にかけて減少し、晩材から年輪界に向けて増加する年輪内変動を示す。バンクスマツは、師部では春と秋のピークという普通の傾向を示すが、木部では、デンプンは8月以降辺材外部ではまったく消失し、辺材中央部で小さなピークを示した。

次に、移行材におけるデンプンの存在を見ると、3樹種とも辺心材境界の1年輪前では8~11月に、2年輪前では8~10月に比較的多く存在する傾向が認められた。

細胞内のデンプンの存在にも特徴が見られた。デンプン粒は生長期には細胞内にはほぼ均一に分布し(Photo 61)、秋の終りと春先には核の周辺に存在する傾向がある(Photo 62)。また、エピセリウム細胞にはデンプンは普通見られないが(Photo 63)、秋の終りから冬にかけて見られる(Photo 64)。

Fig. 10 は、放射柔細胞に含まれる脂質量の季節的変動を表わしたものである。3樹種とも、夏少なく春並びに秋から冬に多い。移行材部の脂質量は生長期には少なく休止期には豊富に存在する。そして、冬には脂質は辺心材境界まで細胞いっぱい存在する(Photo 65)。また、移行材の放射組織の細胞間隙には脂質と考えられる好オスミウム物質が認められる(Photo 66)。

デンプン量の季節変化は概略的には従来  
の知見と同傾向であったが、樹種による特徴

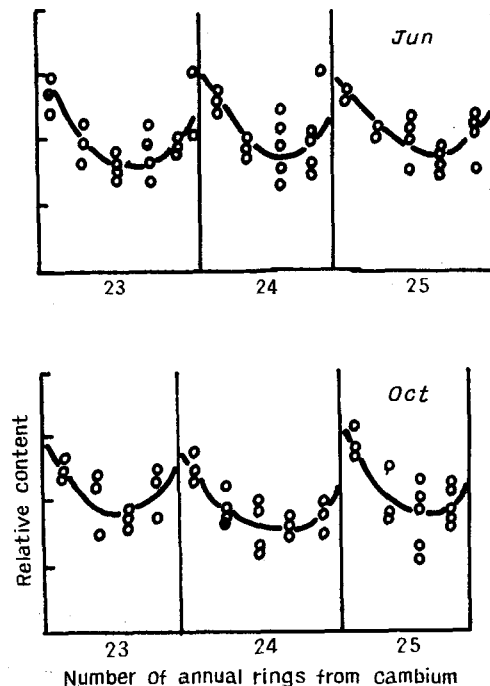


Fig. 9. Variation of starch content within annual rings of *Pinus densiflora*.

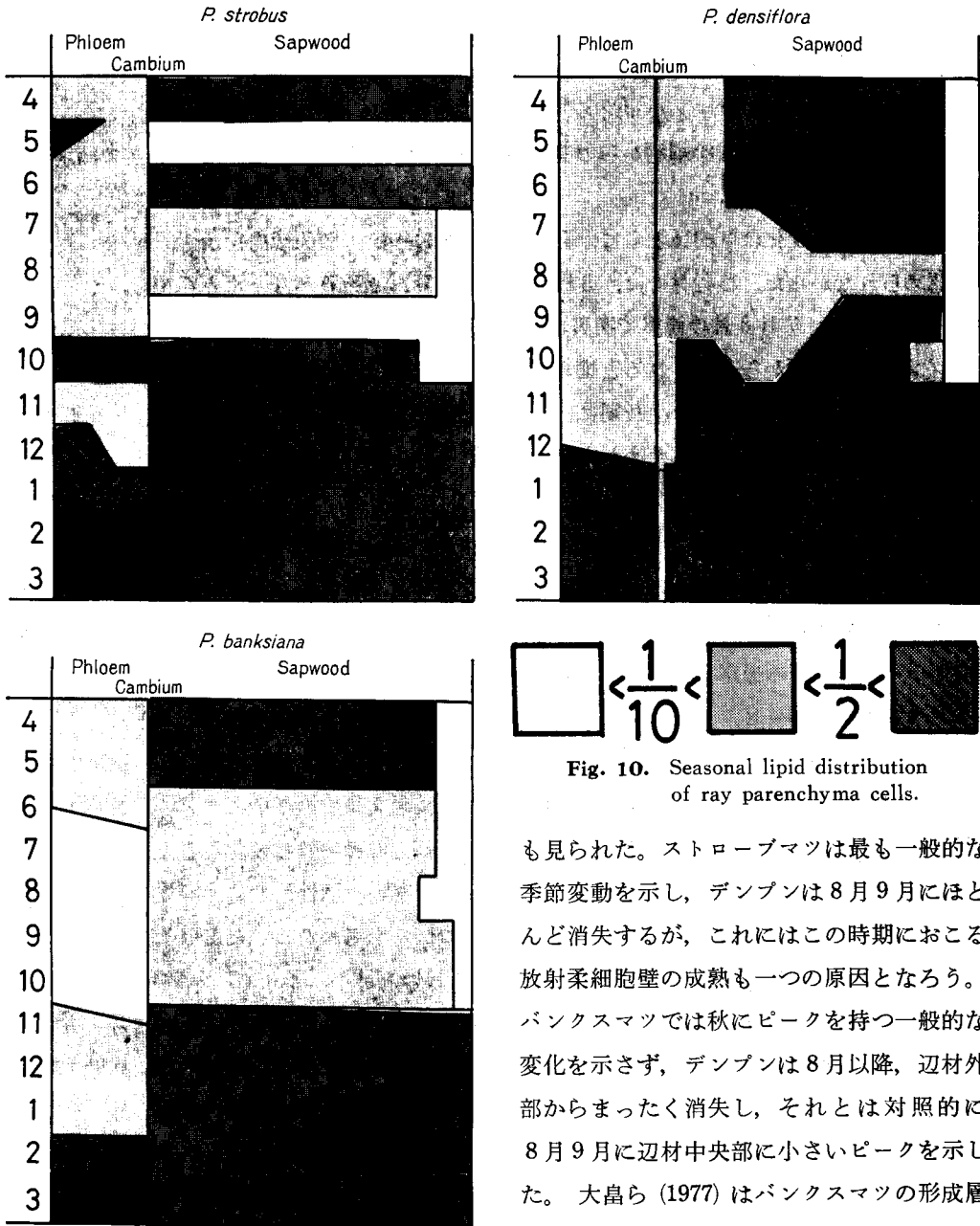


Fig. 10. Seasonal lipid distribution of ray parenchyma cells.

も見られた。ストロブマツは最も一般的な季節変動を示し、デンプンは8月9月にほとんど消失するが、これにはこの時期におこる放射柔細胞壁の成熟も一つの原因となろう。バンクスマツでは秋にピークを持つ一般的な変化を示さず、デンプンは8月以降、辺材外部からまったく消失し、それとは対照的に8月9月に辺材中央部に小さいピークを示した。大畠ら(1977)はバンクスマツの形成層活動は生長期を通してかなり一定の傾向であることを示した。辺材外部からのデンプンの消失は、春から引き続き活発な形成層活動に使われたためと考えられる。いっぽう、辺材中央へのデンプンの集中は、8月9日に放射柔細胞壁の成熟(Bタイプ)がおこることと関連があろう。アカマツでも、8月以降辺材外部のデンプンが減少し、逆に辺材内部では増加した。HILLISら(1962)はブドモモ科において、初秋に辺材内部のシヨ糖量が辺材外部の2倍になることを示し、これは秋に辺心材境界での糖の利用が

減少するためとした。秋の辺材内部へのデンプンの蓄積は、彼らの言う利用の減少によるよりも、むしろ、放射柔細胞の成熟に見られるように、利用の増加と関連があろう。移行材ではデンプンは減少するが、アカマツ、バンクスマツとも、夏から秋に比較的多く存在した。これは、辺材境界で壊死する柔細胞からの養分再利用によるデンプンの再生によるのかも知れない<sup>66)</sup>。

脂質量の季節変化は3樹種ともに、夏に少なく冬に多い一般的傾向を示し、樹種による特徴は認められなかった。移行材では、3樹種とも生長期には脂質がほとんど存在しなかった。樋口ら(1964)は、7月8月の観察で脂質は心材に近づくに従い増加し、それらは心材化に伴いデンプンや他の糖類から合成されると推定した。本研究では、心材に向って増加する傾向は認められず、むしろ移行材では、生長期にはほとんど存在しなかった。この減少は、生長期には脂質が心材物質に変化しているためかも知れない。

移行材で放射組織の細胞間隙に脂質と考えられる好オスミウム物質が認められた。PREUSSERら(1961)は、心材では細胞間隙がフェノールでみだされることを示した。FENGEL(1970)は好オスミウム物質が複合細胞間層から壁孔室を通して仮道管ルーメンに移動し、引き続いて心材物質に変化すると述べた。細胞間隙には空気流通の役目があるとされるが、放射柔細胞からの心材成分の通路としても機能していると考えられる。

##### 5. ペルオキシダーゼ、リグニン前駆物質取り込み、含水率の季節変化

移行材は、CHATTAWAY(1949)により心材化の舞台に引き出されて以来、心材化現象を解く鍵として常に注目されている。移行材を特徴づける放射柔細胞の挙動について、これまで心材化の際におこる放射柔細胞の肥厚木化、壁孔の閉鎖、貯蔵物質の変化を観察してきた。ここでは、これらに加え、移行材を特徴づけるペルオキシダーゼ活性、リグニン前駆物質の取り込み、含水率について観察を行い、移行材の性質についても考察を行った。

Table 4は移行材附近の放射柔細胞壁と仮道管有縁壁孔壁のペルオキシダーゼ活性の季節変化を示したものである。ストロブマツは辺材が色調によりはっきり区別される。辺材色の部位では放射柔細胞も有縁壁孔壁も反応を示す。心材色の部位では、5月7月に放射柔細胞に幾らか強い反応が見られる他は反応を示さない。アカマツとバンクスマツは辺材の色調の差は不明瞭であるが、辺材と移行材の境で含水率の明確な違いが認められる。辺材では放射柔細胞も有縁壁孔壁も反応を示す(Photo 67)。移行材では有縁壁孔壁の反応を消失する一方、放射柔細胞は4月あるいは5月から9月にかけて、辺材に比べ強いペルオキシダーゼ活性を示す(Photo 68)。

8月、9月におけるラベル物質の取り込みは、アカマツとバンクスマツでは顕著な取り込みが見られたが、ストロブマツでは形成層附近で少量取り込まれただけである。<sup>3</sup>H-フェニルアラニンは放射柔細胞の未木化の1次壁や仁に多く認められ(Photos 70, 72)、<sup>14</sup>C-グルコースは放射柔細胞の細胞質に多く取り込まれ、とくにデンプン粒に集中した(Photo 71)。両者と

**Table 4.** Relative in vivo peroxidase activities of ray parenchyma and bordered pits in intermediate wood by action on benzidine+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

<i>P. densiflora</i>						<i>P. banksiana</i>					
Month	Stem region*					Month	Stem region*				
	Inner sapwood		Intermediate wood		Heart-wood		Inner sapwood		Intermediate wood		Heart-wood
2	+	+	##	##	-	1	+	+	##	##	-
	+	+	-	-	-		+	+	-	-	-
4	+	###	###	###	-	3	+	+	##	##	-
	+	s	-	-	-		+	+	-	-	-
5	+	+	+	##	-	5	+	+	##	##	-
	+	+	s	-	-		+	s	-	-	-
6	+	+	##	##	-	7	+	+	##	##	-
	+	-	-	-	-		+	+	-	-	-
9	+	+	##	-	-	9	+	+	##	##	-
	+	+	-	-	-		+	+	-	-	-

\* A frame is one annual ring. Upper column indicates activity of ray parenchyma and lower column indicates activity of bordered pit membrane of tracheid. Peroxidase activities; ##, high (intense color); #, medium; +, low; s, slight; -, none.

も、辺材中では僅かに取り込まれるだけであるが、形成層附近や移行材では多量に取り込まれた。Photo 69 はアカマツ辺材内部に <sup>3</sup>H-フェニルアラニンを投与したものである。放射仮道管から離れた柔細胞の壁に近い細胞質に銀粒子が認められる。Photo 70 はアカマツ形成層附近に <sup>3</sup>H-フェニルアラニンを投与したものである。銀粒子は形成層や分化中の放射組織や仮道管の壁や核に認められる。Photo 71 はアカマツ移行材に <sup>14</sup>C-グルコースを投与したものである。放射活性は生きている柔細胞の細胞質中にかたまると認められ、既に壊死した柔細胞には認められない。Photo 72 はバンクスマツ辺材境界半年輪前の部位に <sup>3</sup>H-フェニルアラニンを投与したもので、銀粒子は主に未木化の1次壁と仁に認められる。Photo 73 は Photo 72 より約 300 μ 心材側の部位である。銀粒子は減少し、ついには認められなくなる。

Fig. 11 は含水率の辺材の部位ごとの季節変化を表したものである。ストロブマツの含水率は、ほとんど季節的变化せず、辺材外部から辺材内部に向け減少し、辺材境界で35%の最小値となり、心材では内方に向け増加する。アカマツは8月9月に低い含水率を示す。年間を通じ辺材内部は外部より高い。移行材は50%前後の含水率であり、8月9日には幾らか低下する。心材は年間を通じ30%程である。バンクスマツは6月から9月にかけて含水率が低下する。辺材では外部で高い月と内部で高い月がある。移行材は50~60%であり、8月9月には40%に低下する。

ペルオキシダーゼ活性は実体顕微鏡による観察では、辺材の未木化の放射柔細胞壁、放射

柔細胞の細胞質、仮道管有縁孔壁に見られた。GOFF (1975) は種々の細胞質オルガネラに見られることを示した。BAUCHら (1974) は辺材で未木化の有縁壁孔壁には活性があり、木化したものにはないことを示した。アカマツ、バンクスマツでは移行材で放射柔細胞全体とくに分野壁孔壁に強いペルオキシダーゼ活性が見られた。この反応は生長期には顕著であるが、休止期には目立たなかった。NELSON (1978) は辺心材境界附近でのペルオキシダーゼ活性は、*in vitro* では生長後期から休止前期に、*in vivo* では休止期に比較的高い活性を示すと報告した。本研究では休止期には高い活性は認められなかった。この相違は主に気候の違いによると考えられる (Table 3)。移行材での酵素活性の高まりは、いくつかの樹種で報告されている<sup>61,64,92)</sup>。

<sup>3</sup>H-フェニルアラニン、<sup>14</sup>C-グルコース共に、アカマツ及びバンクスマツの移行材の放射柔細胞は辺材に比べ極めて盛んな取り込みを示した。このことは移行材での代謝の増大を示唆している。とりわけ、リグニン前駆物質であるフェニルアラニンが、移行材の未木化の放射柔細胞壁に集中的に取り込まれたことは、リグニン合成が行なわれていることを示す。BAUCHら (1974) は、ヨーロッパアカマツにおいて、<sup>14</sup>C-コニフェリンの取り込みは形成層と移行材の1~2の放射柔細胞に限られることを示した。本研究では<sup>3</sup>H-フェニルアラニンは移行材中に広範に認められた。この相違は、コニフェリンはよりリグニンに近い前駆物質のためであろう。また、アミノ酸でもあるフェニルアラニンは仁にも良く取り込まれ、移行材の放射柔細胞がタンパク合成能力を持つことを示している。いっぽう<sup>14</sup>C-グルコースは壁にはほとんど取り込まれず、細胞質中のデンプンに集中した。グルコースが辺材に比べ、辺材内部から移行材で良く取り込まれたことは、栄養物質の消費が増加することを示している。このことは、心材化の際の放射柔細胞壁発達の季節に、デンプンが辺材内部で多く見られる事実からも示される (III-4 参照)。オートラジオグラフィは、放射柔細胞壁の成熟がおこる8月から11月にかけて行ったものであるが、月による相違ははっきりさせ得なかった。今後、引き続き

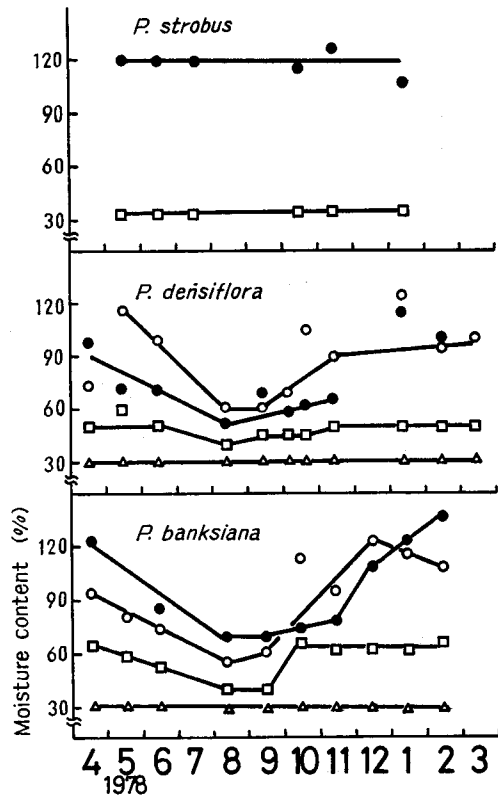


Fig. 11. Moisture content of different stem regions at 1.3 m height. Filled circles; outermost sapwood. Empty circles; inner sapwood. Squares; intermediate wood. Triangles; heartwood.

年間を通しての観察が望まれる。

移行材の低い含水率 (40~60%) は、仮道管有縁壁孔の閉鎖 (Fig. 7) と対応している。アカマツ、バンクスマツでは8月9月に含水率が低下し、移行材の含水率も低くなる。8月9月は移行材における放射柔細胞の肥厚木化が進む時期であり、この時期の含水率低下は、心材化の進行と関連があろう。HILLIS (1978) は水分の減少と心材化の関連に注目している。田口 (1962) は、放射柔細胞は物質貯蔵のほか、水分の横方向の運搬機能を有していると述べている。HARRIS (1953) は心材化の際の水分減少は柔細胞によって行われると述べた。

一連の観察により、移行材の特徴をある程度明らかにできた。移行材では8月9月の含水率低下、生長期の放射柔細胞の強いペルオキシダーゼ活性、有縁壁孔壁のペルオキシダーゼ活性の消失、<sup>3</sup>H-フェニルアラニンの顕著な取り込みなど、辺材に比べての特徴が認められた。

## 6. 放射柔細胞の生存率と死

仮道管のように、樹体の機械的支持機能や水分通導機能を受け持つ細胞は、壁形成の完了と共に原形質を失い死細胞となり、はじめてその機能を果し得る。これに対し、放射柔細胞は生きていることにより栄養貯蔵などの機能を果すことができる。辺材中では生理的機能を持っている放射柔細胞も、エイジングに伴い順次死んでゆき<sup>82,110)</sup>、心材ではもはや生きている細胞は存在しない。更に言うと、辺心材境界での放射柔細胞の最後の壊死により、辺材から心材への変化が完了すると言える<sup>49)</sup>。このような放射柔細胞の生存年数により、辺材の幅や量が決まる。また、細胞の生死を判別することは、壊死の経過を明らかにするうえで重要である。辺材年輪数、辺材幅、辺材量については多くの研究がなされている<sup>16,50,90,108,109)</sup>。いっぽう、放射柔細胞の核の形態・構造の辺材から心材に至る変化についても多くの研究がある<sup>10,15,25,27,39,77)</sup>。辺心材についての測樹学的研究は、放射柔細胞の生存年数やそれを規定する要因など多くの情報をもたらすが、樹幹内でおこる個々の放射柔細胞の壊死の経過を明らかにし得ない。本項では、放射柔細胞のエイジングに伴う生存率の変化を明らかにし、更に、辺心材境界での壊死の季節的経過についての知見を得ることを目的とした。

Fig. 12 は、単列放射組織の柔細胞のエイジングに伴う生存率の変化を示したものである。ストローブマツ、アカマツともに辺材中ではすべての放射柔細胞は生きており、ストローブマツでは辺心材境界の3~4年輪前から、アカマツでは1~2年輪前から放射仮道管に接する柔細胞から壊死が起り (Photo 81)、心材に向け急激に生存率が低下する。これに対し、バンクスマツは、辺材外部ではすべての放射柔細胞は生きているが、中央部から徐々に死細胞が増えてゆく。ストローブマツの放射柔細胞の死は生長期を通して認められた。Photo 74 は7月の辺心材境界部であり、凝縮した核を持つ柔細胞と核を失った柔細胞とが隣り合っている。Photo 75 は6月のもので、核を持つ柔細胞と、核を失い弱いUV吸収を示す半徑壁を持つ細胞が隣接している。アカマツの死は、主に7月以降の生長期に認められた。Photo 76 は9月のもので、いろいろな様相の柔細胞が近接して存在している。Photo 77 は4月のもので、細胞質を有する柔

細胞と細胞質を失った細胞とが直接隣り合っている。Photo 76 のような細胞死が進んでいる状態は生長期を通して認められた。メチルグリーン・ピロニン染色によると、辺心材境界の1年輪あるいは半年輪前までは、核は楕円で緑色の正常な染色性を示すが、辺心材境界に近づくと丸みを帯び、更に凝縮し赤色の染色性を示し消失する (Photo 81)。7月8月には凝縮した核が、9月には丸みを帯びた核が多く認められた。バンクスマツの辺心材境界での死は、生長期のどくに9月以降多く認められた (辺材中央部から移行材にかけて成熟するBタイプ放射柔細胞の死は9月におこる)。Photo 78 は6月のもので、歪んだ核を持つ柔細胞と、弱いUV吸収を示す落ち込んだ半径壁を持つ柔細胞が隣り合っている。このように、細胞死が起っていると思われる状態は生長期を通して認められた。メチルグリーン・ピロニン染色によると、辺心材境界直前で染色性が緑から赤く変化した核が、9月から11月にかけて多く認められる (Photo 82)。これらについてはフォイルゲン染色も行ったが染色性の変化は見られなかった。

水平樹脂道組織は3樹種とも、辺材ではすべて生きており、エピセリウム細胞は辺心材境界の1年輪前で死細胞となり、それを囲む放射柔細胞は、半年輪程前で死細胞となる。UV顕観察では木化が完了すると程なく原形質を失う。それは、ストロームツでは7~9月、アカマツでは7~8月、バンクスマツでは7~10月に多く認められた (Photos 45, 56, 58)。メチルグリーン・ピロニン染色によると、3樹種ともエピセリウム細胞の核は辺材中では緑色であるが、辺心材境界で、9月から10月に赤い染色性を示す。例えば、Photo 83 は10月のストロームツであり、エピセリウム細胞は赤い染色性を示している。Photo 84 は11月のものであり、緑色の正常な染色性を示している。

放射柔細胞の生存率には、2タイプが見られた。1つは、辺材内部まですべての放射柔細胞が生存するタイプで、水平樹脂道及び、ストロームツとアカマツの単列放射組織に見られた。1つは、辺材中央部から放射柔細胞の壊死が始まるタイプで、バンクスマツ、リギダマツの単列放射組織に見られた。野淵ら (1979) は、針葉樹20種について細胞生存率を調べ、① 辺材のすべての放射柔細胞が生存、② 辺材内部で壊死し始める、③ 辺材外部で壊死し始める、

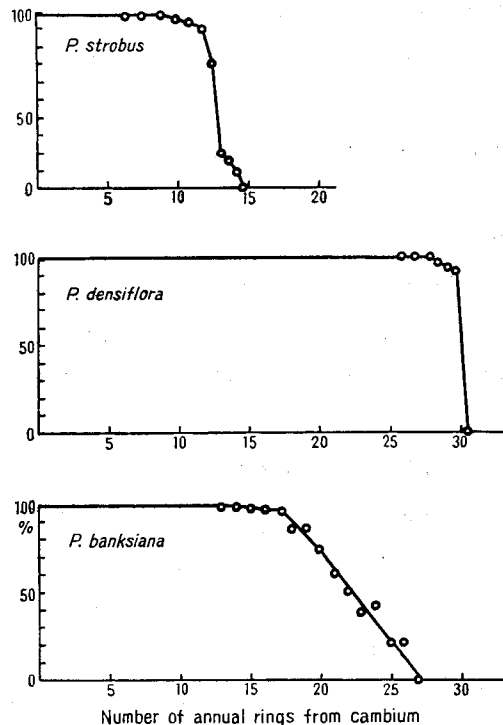


Fig. 12. The rate of survival of parenchyma cells in the uniseriate ray from cambium to heartwood.

3つの型に分けた。日本産マツ属はすべて①型であり、*Pinaster-Taedae* 節のパンクスマツ、リギタマツは②型である。また、放射柔細胞の細胞死は、生長期を通しておこり、とくに夏から秋にかけておこるものと推測された。野淵ら (1978) はスギの放射柔細胞は7月8月に液胞化が顕著となり壊死寸前の様相を示すと報告した。

辺心材境界における細胞死の過程は心材化のメカニズムを解明するうえで重要な問題である。組織化学的には、UV分光分析法 (260 nm) や<sup>3</sup>H-チミジンオートラジオグラフィーなどによる詳細な研究が期待される。

#### IV. 総合考察と結論

マツ属放射柔細胞の、①肥厚木化の経年的経過を明らかにすること、その把握の上で、②季節的経過を明らかにすること、更に貯蔵物質、核、ペルオキシダーゼ、リグニン前駆物質取り込み等の観察を加え、③放射柔細胞の細胞学的変化についての知見を得ることが本研究の目的であった。以下、得られた結果を項目ごとに考察してゆく。

##### 1. 細胞壁成熟の経年的経過による放射柔細胞の分類

〈放射柔細胞のタイプ分け〉 マツ属放射柔細胞は従来より、壁厚により thin-walled と thick-walled に分けられている<sup>5,18,32,47,48</sup>。本研究では壁厚に、エイジングという基準を加え、成熟過程により3タイプに分けることができた。すなわち、Aタイプ—形成層附近で肥厚木化を行うもの、Bタイプ—辺心材中央部から移行材にかけてあるいは移行材で肥厚木化を行うもの、Cタイプ—移行材で肥厚せず木化を行うものの3タイプである。

〈マツ属における3タイプの存在〉 Table 5 はマツ属の亜属と節における3タイプの放射柔細胞の存在を示したものである。Aタイプは *Haploxyton* の *Cembra* のストロブマツ、*Paracembra* のシロマツ、*Diploxyton* の *Pinaster-Lariciones* のアカマツに見られ、*Pinaster-Taedae* のパンクスマツ、リギタマツには見られない。Bタイプは観察したすべてに見られ、Cタイプは *Diploxyton* に限って見られる。

〈針葉樹における3タイプの存在〉 3タイプの存在を日本産針葉樹全体に当てはめてみ

Table 5. Types of ray parenchyma cells in genus *Pinus*

Subgenus	Section	Type of ray cells		
		A	B	C
<i>Haploxyton</i>	<i>Cembra</i>	+	+	-
	<i>Paracembra</i>	+	+	-
<i>Diploxyton</i>	<i>Parapinaster</i>	?	?	?
	<i>Pinaster-Lariciones</i>	+	+	+
	<i>Pinaster-Taedae</i>	-	+	+

+ and -; Present and Absent.

る。Table 6 は FUJIKAWA と ISHIDA (1975) とが行った壁層構造による放射柔細胞の分類に、エイジングの要素を加え再びタイプ分けを行ったものである。マツ属放射柔細胞の成熟過程は多様であり、*Cryptomeria* type (形成層附近で木化し厚い1次壁を持つことからAタイプに準ずる) 以外のすべてのタイプを含んでいる。Aタイプはほとんどすべての針葉樹に存在する基本的なタイプである。Bタイプはマツ属の他に、水平樹脂道を持つトガサワラ、トウヒ、カラマツ属のエピセリウム細胞の一部に存在する。Cタイプは *Diploxyylon* とコウヤマキ属だけに存在する。

Table 6. Types of ray parenchyma cells in softwoods

Maturing process	Type of maturation	Type of wall structure*	Species
1 Thickening and lignification in sapwood	A type	<i>Haploxyylon</i> type <i>Diploxyylon</i> type <i>Abies</i> type	<i>Haploxyylon</i> ( <i>Cembra</i> , <i>Paracembra</i> ) <i>Diploxyylon</i> ( <i>Pinaster-Lariciones</i> ) <i>Abies</i> , <i>Pseudotsuga</i> , <i>Tsuga</i> , <i>Picea</i> , <i>Larix</i>
2 Lignification in sapwood	(A type)	<i>Cryptomeria</i> type	<i>Cryptomeria</i> , <i>Chamaecyparis</i> , <i>Juniperus</i>
3 Thickening and lignification in intermediate wood	B type	<i>Diploxyylon</i> type Resin canal tissue	<i>Diploxyylon</i> ( <i>Pinaster-Lariciones</i> , <i>Pinaster-Taedae</i> ) <i>Pinus</i> , <i>Pseudotsuga</i> , <i>Picea</i> , <i>Larix</i>
4 Lignification in intermediate wood	C type	<i>Diploxyylon</i> type <i>Sciadopitys</i> type Resin canal tissue	<i>Diploxyylon</i> ( <i>Pinaster-Lariciones</i> , <i>Pinaster-Taedae</i> ) <i>Sciadopitys</i> <i>Diploxyylon</i> ( <i>Pinaster-Lariciones</i> , <i>Pinaster-Taedae</i> )

\* Ray parenchyma of softwood was classified into five types based on their wall ultra-structure by FUJIKAWA and ISHIDA (1975). Resin canal tissue is added in this table.

〈エイジングに伴う成熟過程の変化〉 Fig. 13 は、辺材中での3タイプの存在割合の変化を示したものである。ストロブマツでは、単列放射組織の年輪界附近の晩材部の一部の柔細胞が形成の翌年成熟する他は、すべて形成層附近で当年に成熟する(Aタイプ)。水平樹脂道の多列部はすべて移行材で成熟する(Bタイプ)。アカマツでは、早材部の約半数の単列放射柔細胞は形成層附近で当年に成熟するが(Aタイプ)、それ以外は辺材中では未木化のままであり、移行材で成熟する。この時、早材では肥厚し(Bタイプ)、晩材では肥厚しない(Cタイプ)。水平樹脂道の多列部はすべて移行材で成熟するが、肥厚しないものが多い(Bタイプ、Cタイプ)。バンクスマツでは、単列放射組織も辺材中央部まですべて未木化であり、辺材中央部から移行材にかけて成熟した放射柔細胞が徐々に増加する(Bタイプ)。これら以外の細胞は移行材で肥厚せず木化だけを行う(Cタイプ)。水平樹脂道の多列部はすべて移行材で成熟し、肥厚するものと(Bタイプ)、しないものがある(Cタイプ)。

〈組織による3タイプの存在〉 Fig. 14 は単列放射組織と水平樹脂道における3タイプ

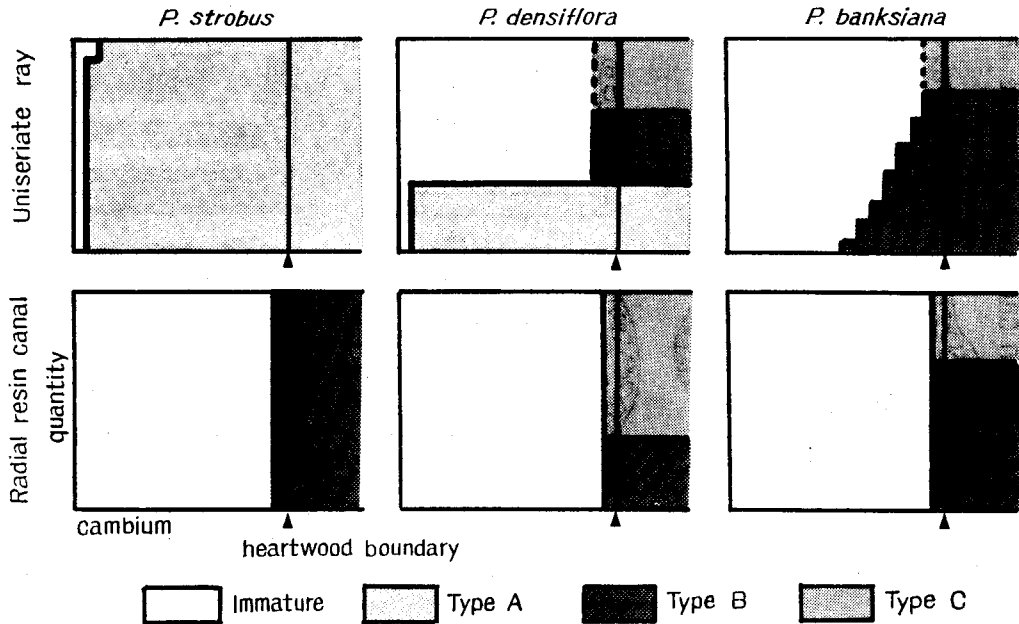


Fig. 13. Quantitative change of matured parenchyme cells with aging in *Pinus* species.

放射柔細胞の存在を示したものである。ストロブマツでは、単列放射組織はすべてAタイプから成る。水平樹脂道はBタイプであり単列部の一部にAタイプが存在する。アカマツでは、単列放射組織の早材部の放射仮道管に近接するものはAタイプ、それ以外はBタイプ、晩材部はCタイプである。水平樹脂道の多くはCタイプであり、単列部の一部にAタイプが、多列部の早材部の一部にBタイプが存在する。バンクスマツでは単列放射組織はBタイプとCタイプがそれぞれ半径方向に連なって存在する。水平樹脂道も同様であるが、エピセリウム細胞はすべてCタイプからなる。

〈肥厚木化の細胞内の経過〉 Aタイプ、Bタイプとも、肥厚木化の細胞内での経過は基本的には同様である。まず未木化の1次壁へ2次壁の堆積が起り、ほぼ完了する頃にリグニンの沈着が細胞間層に、隣接する細胞が未木化の時は1次壁に始まり、引き続き2次壁の外層から内層に向けて進行する。単壁孔へは普通リグニンの沈着がおこるが、分野壁孔にはこの時点ではおこらず、辺心材境界まで遅れる。放射柔細胞の木化は1次壁形成後、月(Aタイプ)あるいは年(Bタイプ、Cタイプ)という時間経過の後に初めて見られ、仮道管との著しい相違をなす。いずれにせよ、リグニンは仮道管、放射柔細胞を問わず2次壁の堆積を待って沈着すると理解される。Cタイプでは、木化はコーナーの間層に始まり、続いて末端壁や分野壁孔壁以外の細胞壁に進み、しばらく後に壁全体に進む。

放射柔細胞の2次壁のリグニンはAタイプBタイプともに、UV吸収スペクトル曲線から、グアヤシルタイプであることが認められた(Figs. 1, 4)。いっぽう、Cタイプの細胞壁は

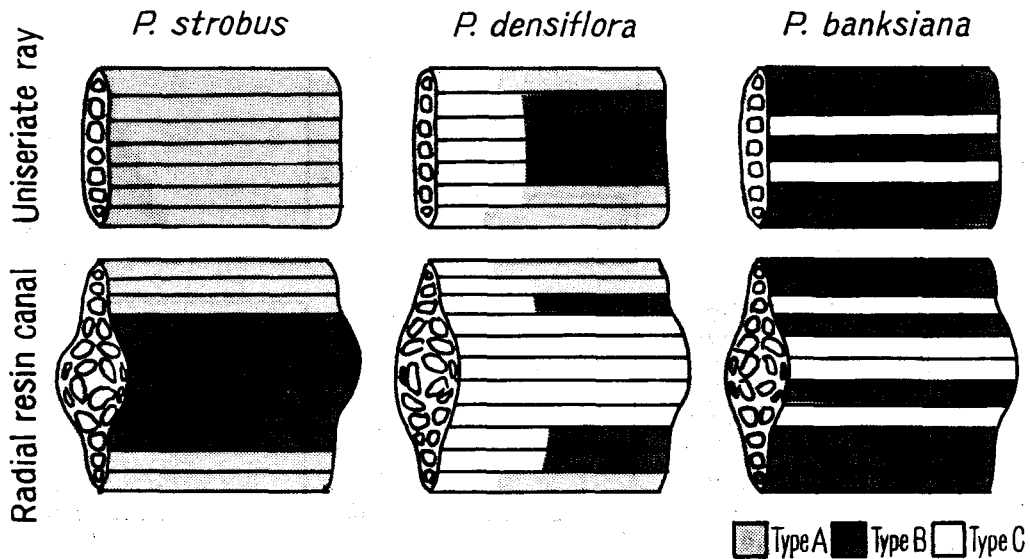


Fig. 14. Diagram of cell wall development of parenchyma cells in the uniseriate rays and radial resin canals in *Pinus* species.

1次壁からなり、そのUV吸収スペクトル曲線は前者の2次壁のそれと異なり (Fig. 6)、それはリグニンの他にリグニン様物質によるものと考えられる。Bタイプの木化が辺心材境界の2年輪前でおこるのに対し、Cタイプの木化が完了するのは辺心材境界である。この様な移行材における放射柔細胞の位置的な違い、すなわち生理的な相違が両者の木化の性質の違いの原因の一つとなっていよう。UV吸光度については、Bタイプの2次壁はAタイプのそれに比べ僅かに低く、更に、早材から晩材にゆくに従い低下する傾向が認められる (Fig. 3)。リグニン濃度は、その時々細胞の生理状態により影響されるのであろう。

〈薄壁未木化の放射柔細胞〉 ほとんどの針葉樹では放射柔細胞の成熟は形成層附近で完了するが (Aタイプ)、マツ属の *Diploxylo* 亜属とコウヤマキ属の放射柔細胞及びマツ科の薄壁エピセリウム細胞では成熟は移行材まで見られない (Bタイプ、Cタイプ)。未木化の柔細胞には、肥厚した柔細胞 (Aタイプ) に比べデンプン量が多いことから (Fig. 9)、未木化の壁構成は養分貯蔵に利点があると考えられる。また、形成層附近で成熟する放射柔細胞ですら (Aタイプ)、仮道管の壁形成がほぼ完了するまでの間は未木化なことから、この壁構造は放射柔細胞が、分化中の仮道管に樹液から養分を供給する通路として機能するための基本的な構造であると考えられる。GREGUSS (1970) は放射柔細胞は thin-walled から thick-walled という進化の段階を持つと述べている。辺材中では生理的機能だけを持つ未木化の放射柔細胞は、従来移行材で木化を行っていたが、進化に伴い形成層附近で肥厚木化を行うようになり、強度的機能をも持つようになったと考えられる。

## 2. 放射柔細胞成熟の季節的経過

Fig. 15 は放射柔細胞成熟の季節を示したものである。Aタイプは肥厚木化は、ストロブマツでは9月から10月に、アカマツでは8月から9月におこる。Bタイプは、アカマツの単列放射組織では8月から9月に、バンクスマツは8月から主に9月に、ストロブマツの水平樹脂道では7月から10月におこる（アカマツ、バンクスマツのそれはBタイプが少なく明確にしえなかった）。Cタイプの放射柔細胞の木化は生長期を通して見られるが、主にアカマツでは7月から8月に、バンクスマツでは7月から10月に見られる。

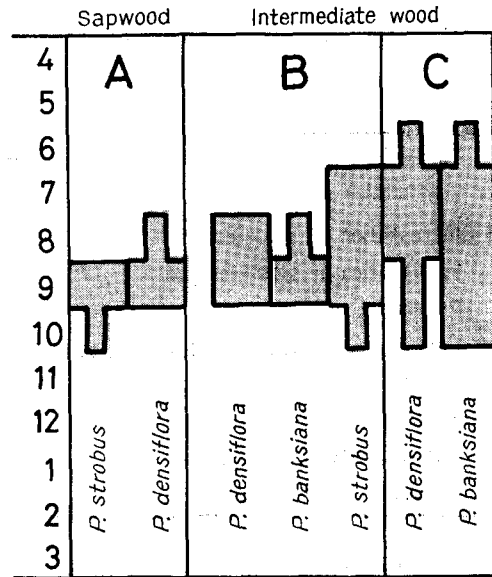


Fig. 15. The season of maturation of ray parenchyma cells in three types.

## 3. 放射柔細胞の細胞学的変化

〈放射柔細胞のエイジングに伴う細胞学的変化〉 放射柔細胞の種々の細胞学的変化は移行材で顕著な特徴を示した。ペルオキシダーゼ活性は辺材を通し有縁壁孔壁と放射柔細胞に見られ、有縁壁孔壁の活性は辺材と移行材の境で消失し、対照的に移行材で放射柔細胞の活性が高まり、それは生長期に顕著である。仮道管有縁壁孔壁へのポリフェノールの沈着は辺材と移行材の境を中心におこり、それに平行して含水率は移行材で低い値を示す。とくに、8月9月の移行材での含水率低下は、肥厚木化の季節と一致し、心材化の進行との関連が注目される。更に8月9月の<sup>3</sup>H-フェニルアラニンの取り込みは辺材中では僅かであるが、形成層及び移行材で盛んであり、とくに移行材では未成熟の放射柔細胞の1次壁に多量に認められる。これは移行材でのリグニン合成を示している。また、デンプン、脂質ともに、辺材内部や移行材において季節的な特徴ある変動を示した。8月9月の辺材内部へのデンプンの集中は、移行材における柔細胞成熟の季節と一致し、養分消費の増加を示唆している。逆に、生長期における移行材からの脂質の減少は、脂質の心材物質への変化によるものと考えられる。

〈移行材の性質〉 Table 7 は、心材化と関連した現象の移行材での特徴をアカマツを例として模式的に示したものである。これらの現象は、① 移行材の外側を中心に見られる現象と、② 移行材の最内部で見られる現象とに分けられる。①ではBタイプ放射柔細胞の肥厚木化、Cタイプの木化の開始、有縁壁孔壁のインクラストが起り、また豊富な貯蔵物質、高い含水率、高い細胞生存率などから、放射柔細胞の生理活性は辺材と比べ変化ないと推定される。これに対し、②ではCタイプ放射柔細胞の木化の完了、分野壁孔壁のインクラストなどが起

**Table 7.** Nature of intermediate wood of *P. densiflora*. Phenomenon during heartwood formation can be divided into two stages, ① early stage (pale shadow) and ② last stage (dark shadow)

Phenomenon	inner most sapwood	intermediate wood	heartwood
Thickening and lignification of parenchyma (B type)		①	②
Lignification of parenchyma (C type)		①	②
Incrustation of bordered pits		①	②
Incrustation of cross-field pits		①	②
Peroxidase activities of parenchyma		①	②
Peroxidase activities of bordered pits	①	②	
Amount of starch	①	②	
Amount of lipid	①	②	
Survival rate of parenchyma	①	②	
Moisture content (%)	①	②	

り、また放射柔細胞の強いペルオキシダーゼ活性、リグニン前駆物質の盛んな取り込み、貯蔵物質の減少、含水率の低下、細胞生存率の低下などから放射柔細胞の正常な生理活性は低下するが、心材化に関する活性は増加すると推定される。

〈放射柔細胞の壊死〉 放射柔細胞の生存率の変化を見ると、壊死は辺材中で一様におこるのではないことがわかる (Fig. 12)。放射柔細胞の壊死には2つの型が見られ、一つは辺材中央部から壊死が始まり、一つは辺心材境界で壊死するものである。前者は壁の成熟が完了すると程なく壊死し、その季節は9月である (バンクスマツ)。後者では、細胞壁のUV吸収の状態やメチルグリーンピロニン染色による核の染色性や形態の観察から、壊死は生長期を通しておこり、とくに7月から10月におこると推測された。

#### 4. 心材化の季節

辺材で最後まで生きていた柔細胞の壊死により、それらの部位は心材となる。放射柔細胞は死に至る前に、有縁壁孔・分野壁孔の閉鎖、チロース・チロソイドの発達等心材化の具体的現象を行う。そして、自らの壊死により、心材化は最終的に完了する。心材化の具体的現象の一つである移行材での放射柔細胞の肥厚木化という点から見ると (Table 7の①)でおこる現象の一つ)、マツ属の心材化は7月から10月に進むと言えよう。更に、放射柔細胞の壊死の季節性も同傾向を示した。平井 (1951) は心材部の増量からみた北海道産カラマツの心材化は7月下旬から11月にかけて進むことを示した。これらの事から、冷温帯に属する北海道における心材化は、主として夏から秋におこると言える。暖温帯では心材化は主として生長後期から休止期にかけて進行することが報告されているが、この相違は冬期間の気温の差に基づくものと考えられ、冷量示数から見ると、その限界平均気温は5°Cと考えられる<sup>56)</sup>。いずれにせよ、形成層活動の衰える季節に心材化が進行することは、樹木にとっての心材化の意義と関連があ

ろう。

心材化が形成層活動の衰える季節におこることから考えると、心材化とはある年月を経た樹木が、一定となった光合成生産物量(樹冠量)に、養分貯蔵の場である放射柔細胞量(辺材量)を平衡させる現象であると言えよう<sup>4)</sup>。すなわち、樹木の当年度の生長がほぼ終り、光合成生産物が主に貯蔵に向けられる季節には<sup>74)</sup>、当年形成された放射柔細胞も成熟し貯蔵機能を持つようになり(IV-1, 薄壁未木化の放射柔細胞の項参照)、かわりに辺材最内部の柔細胞は養分貯蔵の役目を終える。この際に放射柔細胞は種々の心材化現象を行う。すなわち死細胞だけになる心材を腐朽などの危害から保護するため<sup>94,103)</sup>、壁孔壁の閉鎖や、リグニン・ポリフェノールの沈着など具体的な心材化現象を行うのである。

心材化のメカニズムは、柔細胞の細胞学的研究と生化学的研究の有機的な結びつきにより初めて解明されるものである。今後、細胞学的側面からは心材成分合成に關与する諸酵素の組織化学、フェノール合成に關与するオルガネラの電顕観察、若齢木に心材が形成される樹種でのトレーサ実験やエチレン処理などにより、更に心材化研究を進めてゆくことが望まれる。

## 文 献

- 1) BALATINECZ, J. J. and KENNEDY, R. W.: "Maturation of ray parenchyma cells in pine" For. Product J., 17 (10), 57-64 (1967).
- 2) BAMBER, R. K. and DAVIES, G. W.: "Lignification of ray parenchyma cell walls in the wood of *Pinus radiata* D. DON." Holzforschung, 23, 83-84 (1969).
- 3) BAMBER, R. K.: "The occurrence of secondary walls in the resin canal tissue in genus *Pinus*" J. Inst. Wood Sci., 7 (4), 15-17 (1976-a).
- 4) BAMBER, R. K.: "Heartwood its function and formation" Wood Sci. Technol., 10, 1-8 (1976-b).
- 5) BANNAN, M. W.: "Vertical resin ducts in the secondary wood of the *Abietineae*" The New Phytologist, 35, 11-46 (1936).
- 6) BAUCH, J., SCHWEERS, W. and BERNDT, H.: "Lignification during heartwood formation: comparative study of rays and bordered pit membranes in coniferous woods" Holzforschung, 28, 86-91 (1974).
- 7) BAUCH, J., HÖLL, W. and ENDEWARD, R. "Some aspects of wetwood formation in fir" Holzforschung, 29, 198-205 (1975).
- 8) BECKER, G.: "On the albumin content of coniferous wood" Holz als Roh- und Werkstoff, 20, 368-375 (1962).
- 9) BOSSHARD, H. H.: "Aspects of the aging process in cambium and xylem" Holzforschung, 19, 65-69 (1965).
- 10) BOSSHARD, H. H.: "On the formation of facultatively colored heartwood in *Beilchmiedia tawa*" Wood Sci. Technol., 2, 1-12 (1968).
- 11) BRONNER, R.: "Simultaneous demonstration of lipids and starch in plant tissues" Stain Technol., 50 (1), 1-4 (1975).
- 12) CARRODUS, B. B.: "Carbon dioxide and the formation of heartwood" New Phytol., 70, 939-943 (1971).
- 13) CHASE, W. W.: "The composition, quantity and physiological significance of gases in tree stems" Minn., Agric. Exp. Stn., Tech. Bull., 99, (1934). (Quoted from No. 59).

- 14) CHATTAWAY, M. M.: "The development of tylosis and secretion of gum in heartwood formation" *Aust. J. Sci. Res.*, B. 227-240 (1949).
- 15) CHATTAWAY, M. M.: "The sapwood-heartwood transition" *Aust. For.*, 16, 25-34 (1952).
- 16) CHIBA, M.: "Studies on the heartwood-formation of the forest tree. 1. Being-state of heartwood of black pine (*Pinus thunbergii* PARL)" *Bull. Kyushu Univ. For.*, 18, 59-72 (1950).
- 17) CÔTÉ, W. A. and MARTON, R. N.: "Brightness of high yield pulps: electron microscopy of white birch heartwood" *Tappi*, 45, 46-53 (1962).
- 18) CÔTÉ, W. A. and DAY, A. C.: "Wood ultrastructure of the southern yellow pines" *Syracuse Univ. Tech. Pub.*, No. 95 (1969).
- 19) CRAIB, W. G.: *Roy Botan. Gardens Edinburgh Notes*, 54, 1- (1923). (Quoted from No. 42).
- 20) DIETRICH, H. H.: "Das Verhalten von Kohlenhydraten bei der Holzverkernung" *Holzfor-schung*, 18, 14-24 (1964).
- 21) FAHN, A.: *Plant anatomy*, Pergamon Press (1967).
- 22) FENGEL, D.: "Ultrastructural changes during aging of wood cells" *Wood Sci. Technol.*, 4, 176-188 (1970).
- 23) FERGUS, B. J., PROCTER, A. R., SCOTT, J. A. N. and GORING, D. A. I.: "The distribution of lignin in sprucewood as determined by ultraviolet microscopy" *Wood Sci., Technol.*, 3, 117-138 (1969).
- 24) FERGUS, B. J. and GORING, D. A. I.: "The distribution of lignin in birch wood as determined by ultraviolet microscopy" *Holzfor-schung*, 24, 118-124 (1970).
- 25) FREY-WYSSLING, A. and BOSSHARD, H. H.: "Cytology of ray cells in sapwood and heart-wood" *Holzfor-schung*, 13, 129-137 (1959).
- 26) FUJIKAWA, S. and ISHIDA, S.: "Ultrastructure of ray parenchyma cell wall of softwood" *Mokuzai Gakkaishi*, 21, 445-456 (1975).
- 27) FUKAZAWA, K. and HIGUCHI, T.: "Studies on the mechanism of heartwood formation. 2. Some observations on nucleus and DNA content in the ray parenchyma cell" *Mokuzai Gakkaishi*, 11, 196-201 (1965).
- 28) FUKAZAWA, K., IMAGAWA, H. and DOI, S.: "Histochemical observation of decayed cell wall using ultraviolet and fluorescence microscopy" *Res. Bull. Col. Exp. For., Hokkaido Univ.*, 33, 101-114 (1976).
- 29) FUKAZAWA, K. and IMAGAWA, H.: "Some preliminary observation of ray parenchyma cell by the scanning electron microscopy" *Res. Bull. Coll. Exp. For., Hokkaido Univ.*, 27, 79-90 (1970).
- 30) GERRY, E.: "Tyloses: their occurrence and practical significance in some American woods" *J. Agr. Res.*, 1, 445-469 (1914).
- 31) GOFF, C. W.: "A light and electron microscopic study of peroxidase localization in the onion root tip" *Amer. J. Bot.*, 62 (3) 280-291 (1975).
- 32) GREGUSS, P.: "Identification of the living gymnosperms on the basis of xylotomy." *Akademi Kiado*, Budapest (1955).
- 33) GREGUSS, P.: "Heterogeneous medullary rays in *Araucariaceae*" In: *New research in plant anatomy* (ROBSON, N. K. B., CUTLER, D. F. and GREGORY, M. ed.) pp. 83-96, Academic Press (1970).
- 34) HARADA, H., IMAMURA, Y. and SAIKI, H.: "The development and ultrastructure of pits of parenchyma cells in softwood" *Applied Polymer Symposium No. 28*, 1239-1253 (1976).
- 35) HARKIN, J. M. and OBST, J. R.: "Lignification in trees: indication of exclusive peroxidase participation" *Science*, 180, 296-298 (1973).
- 36) HARRIS, J. M.: "Heartwood formation in *Pinus radiata* D. DON" *New Phytol.*, 53, 517-

- 524 (1953).
- 37) HARRIS, J. M.: "Heartwood formation in *Pinus radiata* D. DON" For. Res. Inst. N. Z., For. Serv., Tech. Pap. 1 (1954).
  - 38) HARTIG, R.: Forstl. Naturwiss. Zschr., 3, 1- (1894). (Quoted from No. 42).
  - 39) HIGUCHI, T., FUKAZAWA, K. and NAKASHIMA, S.: "Study on the mechanism of heartwood formation. 1. Histochemistry of the wood tissue" Mokuzaï Gakkaishi, 10, 235-241 (1964).
  - 40) HIGUCHI, T., FUKAZAWA, K. and SHIMADA, M.: "Biochemical studies on the heartwood formation" Res Bull. Coll. Exp. For., Hokkaido Univ., 25 (1), 167-194 (1967).
  - 41) 樋口隆昌: "心材形成の機構" 木材誌, 16, 99-103 (1970).
  - 42) HILLIS, W. E.: Wood extractives. Academic Press (1962).
  - 43) HILLIS, W. E. et al.: "Factors influencing the formation of phloem and heartwood polyphenols" Holzforschung, 16, 114-121 (1962).
  - 44) HILLIS, W. E.: "Ethylene and extraneous material formation in woody tissue" Phytochemistry, 14, 2559-2562 (1975).
  - 45) HILLIS, W. E.: "Secondary changes in wood" In: Recent advances in phytochemistry vol. 11. The structure, biosynthesis and degradation of wood. (LOEWUS, F. A. and RONECKLES, V. C. ed.) pp. 247-309, Pienum Press (1977).
  - 46) HIRAI, S.: "Study on the process of heartwood-growth in the Japanese larch stem" Trans. 59th Meet. Jap. For. Soc., 231-234 (1951).
  - 47) HOWARD, E. T. and MANWILLER, F. G.: "Anatomical characteristic of southern pine stemwood" Wood Sci., 2, 77-86 (1969).
  - 48) HUDSON, R. H.: "The anatomy of the genus *Pinus* in relation to its classification" J. Inst. Wood Sci., 6, 26-46 (1960).
  - 49) I. A. W. A.: International glossary of terms used in wood anatomy. Mokuzaï gakkaishi, 10, 147-166 (1964).
  - 50) IHARA, N.: "A dendrometrical study on heartwood formation of forest trees" Bull. Kyushu Univ. For., 46, 1-129 (1972).
  - 51) IMAGAWA, H., FUKAZAWA, K. and ISHIDA, S.: "Study on the lignification in tracheids of Japanese larch, *Larix leptolepis* GORD." Res. Bull. Coll. Exp. For., Hokkaido Univ., 33, 127-138 (1976).
  - 52) 今村祐嗣, 原田 浩, 佐伯 浩: "針葉樹材放射柔細胞の膜孔の形成と構造" 第24回木材学会大会要旨集, p. 48 (1974).
  - 53) ISHIDA, S., OHTANI, J. and KAWARADA, T.: "Study of tyloses by the scanning electron microscopy (report 2). Yearly and seasonal development of tyloses in Harienju, *Robinia pseudo-acacia*" Proc. Hokkaido Branch Jap. Wood Res. Soc., No. 8, 6-9 (1976).
  - 54) JEFFREY, E. C.: The anatomy of woody plants, The Univ. of Chicago Press (1917).
  - 55) KAI, Y. and TERATANI, F.: "Studies on the color of the heartwood of Sugi (*Cryptomeria japonica* D. DON.). 2. Radial distribution of heartwood pigment" Mokuzaï gakkaishi, 25, 77-81 (1979).
  - 56) 吉良竜夫: 生態学講座2. 陸上生態系 一概论— 共立出版 (1976).
  - 57) KIBBLEWHITE, R. P. and THOMPSON, N. S.: "The ultrastructure of the middle lamella region in resin canal tissue isolated from Slash pine holocellulose" Wood Sci. Technol., 7, 112-126 (1973).
  - 58) 近藤民雄: "心材形成の化学" 化学と生物, 13, 691-697 (1975).
  - 59) KRAMER, P. J. and KOZŁOWSKI, T. T.: Physiology of woody plants. Academic Press (1974).
  - 60) KRAHMER, R. L. and CÔTÉ, W. A.: "Changes in coniferous wood cells associated with heartwood formation" Tappi, 46, 42-29 (1963).

- 61) LAIRAND, D. B.: "About the cytochemistry of wood elements" *Drev. Výsk.*, **1**, 1-11 (1963).
- 62) MANN, P. T.: "Ray parenchyma cell wall ultrastructure and formation in *Pinus banksiana* and *Pinus strobus*" Dissertation Abstract. *Agi., Wood Technol.*, 1890-B (1972).
- 63) MANN, P. T.: "Ray parenchyma cell wall ultrastructure and formation in *Pinus banksiana*" *Wood and Fiber*, **6**, 18-25 (1974).
- 64) MATSUKURA, N. et al.: "Studies on the intermediate zone of Sugi wood. Some physiological activities of the xylem tissue" *Mokuzai gakkaiishi*, **11**, 227-231 (1965).
- 65) MCMICHAEL, B. L., JORDAN, W. R. and POWELL, R. D.: "An effect of water stress on ethylene production by intact cotton petioles" *Plant Physiol.*, **49**, 658-660 (1972).
- 66) MERRILL, W. and COWLING, E. B.: "Role of nitrogen in wood deterioration: amounts and distribution of nitrogen in tree stems" *Can. J. Bot.*, **44**, 1555-1580 (1966).
- 67) MEYER, R. W. and CÔTÉ, W. A.: "Formation of the protective layer and its role in tylosis development" *Wood Sci. Technol.*, **2**, 84-94 (1968).
- 68) MIROV, N. T.: *The genus Pinus*. Ronald Press (1967).
- 69) MORIKAWA, Y.: "Sap flow in *Chamaecyparis obtusa* in relation to water economy of woody plants" *Bull. Tokyo Univ. For.*, **66**, 251-297 (1974).
- 70) MYERS, L.: "Tyloses in menispermum" *Bot. Gaz.*, **78**, 453-457 (1924).
- 71) 中川啓子, 藤田 稔, 原田 浩: "ハリエンジュ道管におけるチロースの発生と通導機能" 第26回木材学会大会要旨集, p. 290 (1976).
- 72) NECESANŤ, V.: "Kinetics of secondary changes living xylem. Pt. 1. Time development formation of tyloses and polyphenolic substances" *Holzforschung*, **27**, 73-79 (1973).
- 73) 根岸賢一郎: "物質の動き—炭水化物" 樹木 (佐藤大七郎, 堤利夫編), pp. 113-145, 文永堂 (1978).
- 74) NELSON, N. D.: Extractives produced during heartwood formation in relation to amounts of parenchyma in *Juglans nigra* and *Quercus rubra*" *Can. J. For. Res.*, **5**, 291-301 (1975).
- 75) NELSON, N. D.: "Xylem ethylene, phenol-oxidizing enzyme, and nitrogen and heartwood formation in walnut and cherry" *Can. J. Bot.*, **56**, 626-634 (1978).
- 76) NICHOLAS, D. D.: "Chemical methods of improving the permeability of wood" In: *Wood technology: Chemical aspects* (GOLDSTEIN, I. S. ed.) pp. 33-46 American Chemical Society (1977).
- 77) NOBUCHI, T. and HARADA, H.: "Electron microscopy of the cytological structure of the ray parenchyma cells associated with heartwood formation of Sugi (*Cryptomeria japonica* D. DON.)" *Mokuzai gakkaiishi*, **14**, 197-202 (1968).
- 78) NOBUCHI, T., KAMIZONO, Y. and HARADA, H.: "Cytological changes of parenchyma cells associated with heartwood formation. On three soft wood species, Sugi, Momi and Akamatsu" *Bull. Kyoto Univ. For.*, **48**, 178-186 (1976).
- 79) 野淵 正, 仲上 誠, 原田 浩: "辺材部柔細胞内貯蔵物質の季節的变化。—スギ・モミ・アカマツ・ヤマザクラについて—" 第28回木材学会大会要旨集, p. 153 (1978-a).
- 80) 野淵 正, 岩田隆太郎, 原田 浩: "スギの心材形成の季節に関する細胞学的検討" 第28回木材学会大会要旨集, p. 152 (1978-b).
- 81) 野淵 正, 原田 浩, 吉村慶子: "スギの心材形成の季節に関する細胞学的検討 (II)" 第29回木材学会大会要旨集, p. 220 (1979-a).
- 82) NOBUCHI, T., TAKAHARA, S. and HARADA, H.: "Studies on the survival rate of ray parenchyma cells with aging process in coniferous secondary xylem" *Bull. Kyoto Univ. For.*, **51**, 239-246 (1979-b).
- 83) 小川和朗, 武内忠男, 森 富: *新組織化学*, 朝倉書店 (1975).
- 84) OOHATA, S. et al.: "Seasonal changes of cambial growth and leader elongation in pines" *Bull. Kyoto Univ. For.*, **49**, 20-29 (1977).
- 85) PANSHIN, A. J. and ZEEUW, C.: *Textbook of wood technology*. Fourth edition. McGraw-

Hill Book Company (1980).

- 86) PARAMESWARAN, N. and BAUCH, J.: "On the origin of phenolic compounds in the wood rays of *Abies alba*" Wood Sci. Technol., 9, 165-173 (1975).
- 87) PHILLIPS, E. W. J.: "Movement of the pit membrane in coniferous woods, with special reference to preservative treatment" Forestry, 7, 109-120 (1933).
- 88) PREUSSER, H. J., DIETRICH, H. H. and GOTTWALD, H.: "Electronenmikroskopische Untersuchungen an Ultradünnschnitten des Markstrahlparenchyma der Rotbuche *Fagus sylvatica* L" Holzforschung, 15, 65-75 (1961).
- 89) PRIESTRY, J. H.: "The growing tree" Forestry, 6, 105-112 (1932).
- 90) RECORD, J. S.: Identification of the economic woods of the U.S., John Wiley and Sons, Inc. (1919).
- 91) RUDMAN, P.: "Heartwood formation in trees" Nature, 210, 608-610 (1966).
- 92) SHAIN, L. and MACKAY, J. F. G.: "Seasonal fluctuation in respiration of aging of xylem in relation to heartwood formation in *Pinus radiata*" Can. J. Bot., 51, 737-741 (1973).
- 93) SHAIN, L. and HILLIS, W. E.: "Ethylene production in xylem of *Pinus radiata* in relation to heartwood formation" Can. J. Bot., 51, 1331-1335 (1973).
- 94) SHIGO, A. L.: "Heartwood, discolored wood, and microorganisms in living trees" Ann. Rev. Phytopathol., 11, 197-222 (1973).
- 95) STEWART, C. M.: "Excretion and heartwood formation in living trees" Science, 153, 1068-1074 (1966).
- 96) 武内忠男, 清水信夫, 小川和朗: 酵素組織化学, 朝倉書店 (1967).
- 97) 田口亮平: 作物生理学, 養賢堂 (1962).
- 98) 高原 繁, 野淵 正, 原田 浩, 佐伯 浩: "ドイツツウヒにおけるチロソイドの形成" 第30回木材学会大会要旨集, p. 57 (1980).
- 99) TAKIZAWA, T.: "The distribution of pits on one tracheid of Kara-Matsu (*Larix leptolepis* GORD.)" Res. Bull. Coll. Exp. For., Hokkaido Univ., 31, 581-600 (1974).
- 100) THOMAS, R. J. and NICHOLAS, D. D.: "The ultrastructure of the pinoid pit in southern yellow pine" Tappi, 51, 84-88 (1968).
- 101) THOMPSON, W. P.: "Ray tracheids in *Abies*" Bot. Gaz., 53, 331-338 (1912).
- 102) TSUDA, M. and SHIMAJI, K.: "Seasonal changes of cambial activity and starch content in *Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC." J. Jap. Soc. For., 53, 103-107 (1971).
- 103) VANCE, C. P., KIRK, T. K. and SHERWOOD, R. T.: "Lignification as a mechanism of disease resistance" Ann. Rev. Phytopathol., 18, 259-288 (1980).
- 104) WARDROP, A. B.: "Lignification of the plant cell wall" Applied Polymer Symposium No. 28, 1041-1063 (1976).
- 105) YAMAMOTO, K., FUKAZAWA, K. and ISHIDA, S.: "Study on the cell wall development of ray parenchyma in genus *Pinus* using ultraviolet microscopy" Res. Bull. Coll. Exp. For., Hokkaido Univ., 34, 79-96 (1977).
- 106) YAMAMOTO, K., FUKAZAWA, K. and ISHIDA, S.: "Study on the cell wall development of ray parenchyma in genus *Pinus*. 2. Seasonal changes of cell wall thickening and lignification in *Pinus strobus*" Res. Bull. Coll. Exp. For., Hokkaido Univ., 35, 99-108 (1978).
- 107) YAMAMOTO, K., FUKAZAWA, K. and ISHIDA, S.: "Study on the cell wall development of ray parenchyma in genus *Pinus*. 3. Seasonal changes of cell wall thickening and lignification in *Pinus banksiana*" Res. Bull. Coll. Exp. For., Hokkaido Univ., 36, 451-458 (1959).
- 108) YAZAWA, K.: "On the relation between the heartwood formation and the heartwood percentage of the trunk" Res. Bull. Fac. Agr., Gifu Univ., 1, 44-54 (1951).
- 109) YAZAWA, K.: "Researches on the relation of heartwood diameter and percentage sapwood to log-diameter for Nezuko (*Thuja standishii* CARR.) and Momi (*Abies firma* SIEB. et

- ZUCC." Res. Bull. Fac. Agr., Gifu Univ., 5, 37-45 (1955).
- 110) ZIEGLER, H.: "Biologische Aspekte der Kernholzbildung" Holz als Roh- und Werkstoff, 26, 61-68 (1968).
- 111) ZYCHA, H. and HANN-MÜNDE: "Über die Kernbildung und verwandte Vorgänge im Holz der Rotbuche" Forstwiss. Center, 67, 80-109 (1948).

### Summary

The objective of this study is to make clear 1) the aging process of cell wall thickening and lignification of ray parenchyma and 2) the seasonal process of them, in *Pinus* species and is to obtain 3) the fundamental information on the nature of intermediate wood and 4) that on the necrobiosis of parenchyma, and is to estimate 5) the season of heartwood formation. And genus *Pinus* is believed to be a favorable material for the study of maturation of ray parenchyma cells in relation to heartwood formation, because *Pinus* species are notable for diversity of the maturing process of ray parenchyma in connection with the mechanism of heartwood formation, which can contain the diversity of them in many coniferous species<sup>1, 3, 106</sup>.

The materials and methods are summarized in Table 1 and 2. Five *Pinus* species, *P. strobus*, *P. bungeana*, *P. densiflora*, *P. banksiana* and *P. rigida* were chosen in this study by reason of the difference of the maturing process of ray parenchyma. Thickening and lignification of parenchyma were examined under ultraviolet (UV) microscope (Carl Zeiss, Type MPM 01) at a wavelength of 280 nm. And cytological observation was undertaken by various staining methods.

#### 1) Aging process of cell wall development of ray parenchyma cells

The ray parenchyma cells of genus *Pinus* had been divided into the thick-walled and thin-walled ones on their wall thickness<sup>5, 18, 35, 47, 48</sup>, and recently were classified into the *haploxyton* type and *diploxyton* type based on their wall ultrastructure<sup>20</sup>. In this study the ray parenchyma cells of *Pinus* species can be classified into three types found on their maturing process of walls; 1) parenchyma thickened and lignified in the outermost sapwood (A type), 2) parenchyma thickened and lignified in intermediate wood (B type) and 3) parenchyma lignified without thickening in intermediate wood (C type). A type cells exist in the uniseriate rays of *P. strobus*, *P. bungeana* and *P. densiflora*. B type cells exist in the uniseriate rays of *P. densiflora*, *P. banksiana* and *P. rigida* and in the radial resin canals of *P. strobus* and *P. bungeana*. C type cells exist in the uniseriate rays and resin canals of *P. densiflora*, *P. banksiana* and *P. rigida*.

Fig. 13 shows the quantitative change of three type of parenchyma in *Pinus* species. In *P. strobus*, parenchyma cells in the uniseriate rays are thickened and lignified near the cambium, while a part of the latewood ones near the annual ring boundary remains immature till next year (A type). The cells of radial resin canal are thickened and lignified in one outer ring of the sapwood-heartwood boundary (B type). In *P. densiflora*, a half earlywood parenchyma in the uniseriate rays is thickened and lignified near the cambium as shown in Fig. 2 (A type), while the other cells are immature through sapwood and mature only in intermediate wood. Remained earlywood parenchyma are thickened and lignified in two outer rings of the sapwood-heartwood boundary (B type), and latewood ones are lignified without thickening in

the sapwood-heartwood boundary (C type). The cells of radial resin canal mature in one outer ring of the sapwood-heartwood boundary, and most of them are lignified without thickening (C type) and the rest is B type. In *P. banksiana*, parenchyma cells in the uniseriate rays are immature till the central sapwood and are thickened and lignified from central sapwood toward intermediate wood (B type). The thickened parenchyma cells amount to more than one half (Fig. 5). The remained thin-walled parenchyma are lignified without thickening in the sapwood-heartwood boundary (C type). The cells of resin canals mature in one outer ring of the sapwood-heartwood boundary, and all the epitherial cells are lignified without thickening (C type) and parenchyma cells are composed of thickened ones (B type) and unthickened ones (C type).

Fig. 14 shows the presence of three types of parenchyma in the uniseriate rays and radial resin canal tissue. A type of *P. densiflora* is found in the marginal parenchyma cells contiguous to ray tracheids (Photo 41). B type cells of *P. banksiana* are found in a radial line regardless of their position (Photo 52).

The presence of three types parenchyma in genus *Pinus* is shown in Table 5. *Pinaster-Lariciones* section containing *P. densiflora* has every types of parenchyma, and *Cembra* section and *Paracembra* section have A type and B type, and *Pinaster-Taeda* section has B type and C type.

Secondly, three types of ray parenchyma are applied to the other coniferous species which were classified into five types based on wall structure by FUJIKAWA and ISHIDAA (1975). These cell wall types are rearranged in accordance with the maturing process of ray parenchyma in Table 6. The maturing process 1 corresponding to A type is expanded into *Abies*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*, *Picea* and *Larix* species. The maturing process 2 having a thick and lignified primary wall in sapwood is exists in *Cryptomeria*, *Chamaecyparis* and *Juniperus* species, but is not seen in *Pinus* species. Maturing process 3 corresponding to B type exists in the thin-walled epitherial cells of radial resin canals in *Pseudotsuga*, *Picea*, *Larix* and *Pinus*. The maturing process 4 corresponding to C type is expanded into *Sciadopitys*. It is possible to say that *diploxylon* pine is distinguishable species having diversity in respect to the way of maturation of ray parenchyma.

The thickening and lignification within individual cell progress in the same manner in both A type and B type. The first material in the secondary walls is laid down in the unligified walls, and the apposition of wall material continues for some time. When the deposition of material almost ends, lignification begins at the middle lamella or primary wall, and lignification progresses inward with the wall development (Photos 43, 44, 53, 55). In the ray paraenchyma cells, lignification beginning at the cell corners can not be recognized. In isolated cell, it is clear that lignification does not extend beyond the primary wall (Photos 19, 55). Lignification in the thin-walled parenchyma (C type) begins at the middle lamella of cell corners (Photos 9, 50), and progresses in the end wall (Photo 25), and then spreads over whole primary wall (Photo 21).

The deposition of lignin occurs in a long time after the completion of primary wall formation. The time lag is a few months in A type parenchyma, and is years in B type and C type parenchyma. The process of lignification in parenchyma is quite different from that of tracheids in this point. Thin and unligified parenchyma cell wall is supposed to be the advantage wall structure in functioning as the way of materials to differentiating tracheids.

Moreover, a higher starch concentration is found in the thin-walled parenchyma cells of latewood than in the thick-walled ones of earlywood in *P. densiflora* (Fig. 9).

The UV-absorption spectra of the parenchyma secondary wall, tracheid secondary wall and thin-walled parenchyma wall are shown in Figs. 1, 4 and 6. Lignin concentrations are considerable higher in the secondary wall of parenchyma than that of tracheid as stated.<sup>29</sup> The parenchyma wall (A type and B type) and tracheid wall lignin spectra are those of guaiacyl lignin, however thin-walled parenchyma spectra (C type) differ markedly. UV-absorption of C type parenchyma occurring in the sapwood-heartwood boundary may be due to the deposition of heartwood extractives and of lignin-like substances, as mentioned in the mechanism for pit closure by KLAHMER and CÔTÉ (1963).

There is a constant decrease in the UV-absorption of ray parenchyma walls from earlywood toward latewood (Fig. 3). FERGUS et al. (1969) and FERGUS and GORING (1970) stated UV-absorbance of ray cell walls did not change from earlywood to latewood, while there was a steady decrease in the UV-absorbance of the tracheid secondary wall in the transition earlywood to latewood.

### 2) Seasonal process of cell wall development of ray parenchyma cells

The season of cell wall maturation of ray parenchyma is shown in Fig. 15

Thickening and lignification of A type parenchyma progress in the periods of August to October at the outermost sapwood, (Photos 37~44), and continue to live through sapwood storing the reserve substances. Maturation of B type parenchyma of *P. densiflora* and *P. banksiana* occurs during August to September in intermediate wood or in the inner sapwood respectively. Afterwhile the cells come to die within a few years or soon. In the radial resin canal tissue of *P. strobus*, maturation takes place during July to October (Photos 45~53, 55). Lignification of C type parenchyma occurs during June to October (Photos 54, 56~60).

### 3) The nature of the intermediate wood

The intermediate wood is characterized by some cytological phenomena such as the incorporation of lignin precursor, peroxidase activities, reserve substances and moisture contents.

Incorporation of <sup>3</sup>H-phenylalanine into the ray parenchyma in August is remarkable both in cambial zone and intermediate wood, while is more little in sapwood regions (Photos 69, 70). In intermediate wood appreciable amount of radioactivities are widely detected in the primary walls of immature parenchyma cells (Photo 72). BAUCH et al. (1974) indicated incorporation of <sup>14</sup>C-coniferin takes place in the walls of nonlignified ray parenchyma cells within a width of only one or two cells at the sapwood heartwood boundary in *P. sylvestris*. Coniferin is a more immediate lignin precursor than phenylalanine, thus the response of ray cells for lignin precursors is possibly different among the positions within intermediate wood. And a considerable amount of the incorporation of phenylalanine in intermediate wood as compared with adjacent sapwood suggests the vitality of ray cells concerning to biosynthesis of aromatic compounds is higher in intermediate wood than in sapwood. On the other hand, radioactivities detected in the nucleolus suggest higher activities of protein synthesis in intermediate wood (Photo 72). <sup>14</sup>C-glucose is incorporated into ray cells through sapwood, and starch grains can be heavily labelled even in the inner sapwood, indicates the vitality of parenchyma cells do not decrease in this region (Photo 71).

Peroxidase activities in cell walls are found in the bordered pit membranes of tracheids

and nonlignified parenchyma cell walls through sapwood (Photo 67). In intermediate wood, increased activities of ray parenchyma cells are seen as many workers reported<sup>61,64,75,92</sup> (Photo 68), and they are notable only in the growing period (Table 4).

Seasonal distribution of starch is shown in Fig. 8. In *P. strobus* starch is a marked decrease between August and September in xylem rays. This decrease may be related to the maturation of ray cells in the outermost sapwood and the formation of heartwood substances in intermediate wood. *P. banksiana* shows noticeable peaks of starch contents in the central sapwood from August to September, and in the late growth season there is no starch in the outer sapwood. A seasonal variation is conspicuous even in the place far way from cambium. *P. densiflora* also has a clear peak of starch in the inner sapwood from September to October. The concentration of starch into the inner sapwood has some connection with the wall development parenchyma occurring in intermediate wood during this period. Fluctuation within one annual ring is outstanding in *P. densiflora*, starch contents in latewood ray cells are always much more than those in earlywood ones (Fig. 9). It may be due to the difference of wall structure of parenchyma between earlywood and latewood, namely latewood parenchyma cell is not subjected to the lignification in sapwood while earlywood parenchyma has secondary wall thickening (Photo 9).

Seasonal lipid contents are shown in Fig. 10. Three species observed have a general seasonal tendency of lipid contents which is minimum in summer and maximum in winter. The constance decrease of lipid is observed through the growth season in intermediate wood. It indicates the possibility that necrobiosis of parenchyma occurs in the growth season and reserved lipid is converted into the heartwood substances. FENGEL (1970) stated phenolic substances can diffuse from ray parenchyma cells into cell wall and into tracheid lumen in *P. sylvestris*. The phenolic substances are considered to be lipid droplets (Photos 61, 62, 66).

Seasonal changes of moisture contents are shown in Fig. 11. Both in *P. densiflora* and *P. banksiana* belonging to *diploxylon* pine, moisture contents are lower values from summer to autumn both in sapwood and intermediate wood. The lower moisture contents in the intermediate wood as compared with the adjacent sapwood relate to the aspiration of the bordered pits of tracheids (Photos 31, 32 and Fig. 7). A drop in August and September is possible to be connected with progression of heartwood formation.

Two stages are recognized about the phenomena during heartwood formation (Table 7). The nature of ray parenchyma cells apparently differs by their positions within intermediate wood zone, that is, in the outer part and the inner part. The early stage of heartwood formation occurring in the outer part of intermediate wood is characterized by the wall development of B type parenchyma, the beginning of lignification of C type parenchyma, incrustation of bordered pits with polyphenols and normal cytological phenomena. The last stage of heartwood formation is characterized by the completion of lignification of C type parenchyma, the final incrustation of cross-field pits, higher peroxidase activities, heavy incorporation of lignin precursor, the decrease of food reserves, the lowering of moisture content and the degradation of nucleus.

#### 4) The necrobiosis of ray parenchyma cells

The changes of survival rate of ray parenchyma from cambium to heartwood are shown in Fig. 12. In *P. strobus* and *P. densiflora*, all the parenchyma are living through sapwood,

and the dying of them occurs in the transition zone. While in *P. banksiana*, the dying of parenchyma begins in the central sapwood, and the number of dead of cells increases toward the heartwood. The necrobiosis of parenchyma in the uniseriate ray is supposed to occur through the growth season in *P. strobus* (Photos 74, 75), mainly during July to September in *P. densiflora* (Photos 76, 77) and mainly September to November in *P. banksiana* (Photos 54, 78). In the radial resin canal tissue, when cell wall maturation is completed during July to September, soon they die (Photos 46, 48, 58, 60, 83, 84).

##### 5) The season of heartwood formation

The thickening and lignification of ray parenchyma in the sapwood heartwood transition being one of the phenomenon during the formation of heartwood occur during July to September in Hokkaido district whose climate belongs to the cold temperate zone. And necrobiosis of ray parenchyma in the sapwood heartwood boundary also occurs mainly July to October. HIRAI (1951) produced evidence that heartwood formation takes place mainly from late July till early November in *Larix leptolepis* in Hokkaido. However, in the warm temperate zone trees, heartwood formation has been reported to proceed mainly during dormant periods (Table 3)<sup>10, 37, 80, 81, 92, 99</sup>. Ray parenchyma cells in the warm temperate zone may have enough activity even in winter to produce the heartwood substances, and the limited winter temperature of tree growth is supposed to be about 5°C.<sup>60</sup> It is common characteristic to both temperate zone trees that the season of heartwood formation is not the period when cambial growth is vigorous but is the period when cambial activity declines.

At present the mechanism of heartwood formation has not been established, however, heartwood formation is considered to be a positive phenomenon which regulates the volume of increasing sapwood to an optimum level by the necrosis of the storage tissue. And heartwood formation is accompanied with the incrustation of the dead xylem with lignin and polyphenolic substances to protect them from microorganisms.<sup>44, 100</sup> HILLIS (1975) suggested that a change in the balance between crown size, transpirational capacity, and diameter of the tree may initiate changes leading to heartwood formation. BAMBER (1976) stated heartwood formation acts as a regulatory mechanism for controlling the amount of sapwood. As newly xylem is continually laid down year after year, lignification of the bordered pit membranes and parenchyma cells themselves in an corresponding amount of the innermost sapwood to the newly xylem occurs to cope with the forthcoming death of parenchyma for maintaining an optimum level of living cells. It is reasonable that the lignification and the final death of parenchyma occur in the sapwood heartwood transition zone in the late growth season, because the newly formed parenchyma cells mature and get the function of food reserve.

## 写真説明

## Explanation of photographs

**Note:** The photographs without notice are radial view in ultraviolet microscope at a wavelength of 280 nm. RP, ray parenchyma cell. RT, ray tracheid. E, epithelial cell. T, tracheid. Ca, cambium.

**Photos 1-7.** *Pinus strobus* LINN.

**Photo 1.** Latewood ray near the cambium. Maturation of some ray parenchyma cells contiguous to the annual ring boundary delay till next year (arrow).

**Photo 2.** A scanning electron micrograph of a radial surface in the inner-latewood shows the horizontal walls of parenchyma with many simple pits which are found as a rough surface of wall in the radial sections (arrow). The nodular thickening of end wall leads to the thickening of radial wall (small arrow).

**Photo 3.** Latewood parenchyma in the outer sapwood. Ray cells have rough secondary walls like the knobs (arrow). In the majority of cases the simple pits in latewood near the annual ring boundary tend to be unlignified through sapwood.

**Photo 4.** Tangential section of ray in the outer sapwood. All the window-like pit membranes are not lignified. Nodular thickening in end wall is lignified (arrow).

**Photo 5.** Tangential section of ray near the sapwood-heartwood boundary. The window-like pits of parenchyma without protoplasm show strong UV-absorption (arrow) but no UV-absorption is revealed in the window-like pit of parenchyma having protoplasm (small arrow).

**Photo 6.** Tangential section of radial resin canal tissue in the inner sapwood. All the epithelial cells and ray parenchyma cells in the multiseriate portion have unlignified immature walls through sapwood. "Sheath-like cells" drawing a distinction between epithelial cells and surrounding ray parenchyma cells were already lignified and died in the outermost sapwood (arrow).

**Photo 7.** Tangential section of radial resin canal in the sapwood-heartwood boundary. All the epithelial cells have thin secondary walls and develop as tylosoid. Ray parenchyma cells have the rough secondary walls.

**Photo 8.** *Pinus bungeana* ZUCC. Ray parenchyma cells in the outermost sapwood are thickened and lignified. Simple pits are also lignified (Wood samples were taken from branches).

**Photos 9-17.** *Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC.

**Photo 9.** Ray in the annual ring boundary in intermediate wood. Earlywood parenchyma have secondary walls but latewood cells have only thin walls with UV-absorption starting from the cell corners (arrow).

- Photo 10.** Tangential section of earlywood ray in heartwood. Window-like pit membranes indicate UV-absorption during heartwood formation. The strength of them is different among individual ray cells. Pit membranes showing UV-absorption are thicker than unlignified ones in sapwood.
- Photo 11.** Earlywood ray in heartwood. Caved window-like pit membranes seen in the cell lumen show UV-absorption in different strength among each cells (arrows).
- Photo 12.** Radial resin canal tissue near the cambium. "Sheath-like cells" are lignified without thickening in the outermost sapwood, and soon die (arrow).
- Photo 13.** Tangential section of resin canal in the inner sapwood. All the epithelial cells and ray parenchyma cells show lack of lignification through sapwood.
- Photo 14.** Tangential section of resin canal in intermediate wood. Epithelial cells and near by parenchyma cells are lignified without thickening, but marginal parenchyma cells have thin secondary walls (arrow). Lignification of epithelial cells occur earlier than that of surrounding ray parenchyma.
- Photo 15.** Longitudinal resin canal in the central sapwood. Only a parenchyma has a developed vacuole containing UV-absorbing substances, but their walls are not lignified.
- Photo 16.** Radial resin canal in intermediate wood. Resin duct is full of UV-absorbing substances (arrow).
- Photo 17.** Ray in heartwood. Heartwood substances showing strong UV-absorption deposit on the lumen surface like thin layer (arrow).
- Photos 18-23.** *Pinus banksiana* LAMB.
- Photo 18.** Ray in the central sapwood. All the parenchyma cells both in earlywood and latewood show lack of lignification. Thinner regions such as simple pits are recognized in the unlignified thin walls here and there (arrow).
- Photo 19.** Ray in the central sapwood. Thickened and lignified parenchyma appear suddenly in the central sapwood. A border between lignified dead parenchyma cell walls and unlignified living parenchyma walls are very clear (arrow).
- Photo 20.** A scanning electron micrograph of a radial surface in the thickened parenchyma in heartwood. Deposition of the secondary wall forms thickening line surrounding the pinoid pits.
- Photo 21.** Ray in the sapwood-heartwood boundary. All the thin-walled parenchyma cells are lignified. Primary walls indicate weak UV-absorption as compared with middle lamella. Radial walls are caved into cell lumen (arrow), and cytoplasmic residue is observed in every parenchyma.
- Photo 22.** Tangential section of radial resin canal in the inner sapwood. All the epithelial cells and ray parenchyma in the multiseriate portion are immature.
- Photo 23.** Radial resin canal in intermediate wood. Epithelial cells are lignified without thickening.

**Photos 24-30.** *Pinus rigida* MILL.

- Photo 24.** A scanning electron micrograph of radial surface in heartwood. Rough secondary walls are heavily thickened and form thickening lines.
- Photo 25.** Ray in the inner sapwood. Lignification of remained thin-walled parenchyma is detected in the middle lamella of cell corners and end wall (arrow). Adjacent dead parenchyma cells show two different strength of UV-absorption in the secondary walls, suggesting there are two stages in secondary wall deposition (small arrow).
- Photo 26.** Ray in the central sapwood. Some parenchyma cells containing UV-absorbing substances in vacuoles also indicate UV-absorption in the primary walls (arrow). Starch grains are found near the substances (small arrow).
- Photo 27.** Tangential section of ray in the outer sapwood. A parenchyma cells contains UV-absorbing substances in the developed vacuole show UV-absorption slightly in the primary walls (arrow). The other cells have thin unligified walls.
- Photo 28.** Tangential section of ray in intermediate wood. The marginal parenchyma cells contiguous to ray tracheids are thickened lignified, and one of them contains heartwood substances in the lumen. The parenchyma cells in no contact with ray tracheids remain immature, but lignification starts from the middle lamella of cell corners (arrow).
- Photo 29.** Tangential section of radial resin canal tissue in sapwood. All the epithelial cells and parenchyma cells show lack of lignification. In the photograph, "sheath-like cells" are conspicuous (arrow).
- Photo 30.** Tangential section of resin canal in heartwood. All epithelial cells and parenchyma cells are thickened and lignified heavily. Developed tylosoid has rough secondary wall. The "sheath-like cells" are pressed and distorted by developed parenchyma (arrow).
- Photo 31.** Tangential section of ray and bordered pits in the inner sapwood of *Pinus rigida*. Both bordered pit membranes of tracheids and pinoid pit membranes of parenchyma do not show UV-absorption (arrows). A ray parenchyma next to ray tracheid has lignified secondary wall.
- Photo 32.** Tangential section of ray and bordered pits in intermediate wood of *P. rigida*. Bordered pit membranes in tracheids and ray tracheids absorb UV light strongly and aspirate, while pinoid pit membranes do not show any UV-absorption (small arrow). Lignification of thin-walled parenchyma starts from the cells corners. Uncertain substances are recognized in the lumen of tracheid (arrow).
- Photo 33.** Ray in intermediate wood of *P. rigida*. The bordered pit membrane of ray tracheid contiguous to the living parenchyma cell shows lack of lignification (arrow). On the other hand, the bordered pit membranes of ray tracheid next to the dead parenchyma indicates UV-absorption (arrow).

**Photo 34.** Light micrograph stained with basic fuchsin and methylenblue. Tangential section in intermediate wood of *P. densiflora*. All the bordered pits of one tracheid are not aspirated, while those of the other tracheid are aspirated (arrows).

**Photo 35.** Tangential section of ray and tracheid in heartwood of *P. rigida*. Extraneous materials showing weak UV-absorption are found in the lumen of tracheid between ray parenchyma and bordered pit (arrow).

**Photo 36.** Stereo micrograph of a radial surface in the inner sapwood of *P. densiflora* stained with benzidine and  $H_2O_2$ . Peroxidase activities in the bordered pit membranes are recognized through sapwood except for the intermediate wood (arrow).

**Photos 37-39.** *Pinus strobus*.

**Photo 37.** Ray near the cambium in August. Newly formed ray parenchyma cells are all immature, while ray tracheids are thickened lignified.

**Photo 38.** Ray near the cambium in September. Only a few parenchyma formed in the current year have thickening and lignifying secondary walls, but the other parenchyma connected to a longitudinal resin canal remain unthickened in their walls (arrow).

**Photo 39.** Ray near the cambium in November. Cell wall development is almost completed. Ray parenchyma in the outer-latewood have rough secondary wall(s), and those in the annual ring boundary have unligified thin walls.

**Photos 40-42.** *Pinus densiflora*.

**Photo 40.** Ray near the cambium in July. Newly formed parenchyma cells show lack of secondary thickening, which is in contrast to the secondary wall thickening of the ray tracheids. Lignification of ray tracheids is in progress (arrow).

**Photo 41.** Ray near the cambium in August. The wall thickening and lignification first occurs in the newly formed parenchyma cells adjacent to ray tracheids in earlywood near the annual ring boundary (arrows). Cell wall development proceeds centrifugally from the earlywood in the annual ring boundary. Cytoplasm containing abundant RNA shows UV-absorption as the sample was fixed in glutaraldehyde (small arrow).

**Photo 42.** Ray near the cambium in August. Secondary wall thickening and lignification of parenchyma are proceeding. The stages of lignification are different among individual ray cells.

**Photos 43-48.** *Pinus strobus*.

**Photo 43.** Ray near the cambium in September. The secondary wall thickening occurs in the unligified primary walls, but lignification of parenchyma walls is not recognized in any places (arrow).

**Photo 44.** Ray near the cambium in September. Various wall developmental stages are found. When secondary wall thickening is almost completed, deposition of lignin proceeds from the middle lamella to secondary wall centripetally.

**Photo 45.** Tangential section of radial resin canal tissue in intermediate wood in July. Secondary wall of parenchyma shows weak UV-absorption compared with matured parenchyma, suggesting that lignification is in progress (arrow).

**Photo 46.** Resin canal in intermediate wood in August. Various developmental stages of parenchyma walls are found in a wide area.

**Photo 47.** Tangential section of resin canal in intermediate wood in September. Heavy thickened epithelial cells still have nucleus. Maturation of resin canal tissue occurs during July to September.

**Photo 48.** Resin canal in intermediate wood in November. All the unlignified epithelial cells and parenchyma cells are directly adjacent to thickened lignified cells. The boundary line between living cells and dead ones is very distinct.

**Photos 49-51.** *Pinus densiflora*.

**Photo 49.** Tangential section of ray in intermediate wood in August. Earlywood parenchyma next to ray tracheids had finished secondary wall formation in the outermost sapwood. But non UV-absorbing layers are detected within the primary walls even in the intermediate wood (small arrow). In a central parenchyma cell, thickening and lignification begin in the cell corner (arrow). All window-like pit membranes do not absorb UV light.

**Photo 50.** Earlywood ray near the earlywood-latewood transition in intermediate wood in September. Some ray parenchyma disconnected with ray tracheids have thickening secondary walls showing weak UV absorption (arrow). On the other hand, unthickened parenchyma shows UV-absorption in the cell corners (small arrow).

**Photo 51.** Almost the same position as Photo 64. Ray parenchyma detached from ray tracheid is slightly thickened and lignified (arrow), and remained thin-walled parenchyma shows UV-absorption in the cell corners and the end wall (small arrow).

**Photos 52-55.** *Pinus banksiana*.

**Photo 52.** Ray in the inner sapwood in September. Cell wall development proceeds in a line centrifugally.

**Photo 53.** Ray in the inner sapwood in September. Lignification of thickening walls progresses inward from the middle lamella to developing secondary wall. UV-absorption of these walls is rather weak in comparison with that of ray tracheid (arrow).

**Photo 54.** Ray in intermediate wood in August. Remained thin-walled parenchyma showing UV-absorption in the whole wall have nucleus.

**Photo 55.** Ray in the inner sapwood in September. Only one parenchyma has thickening wall. The stage of wall formation is an advance of that of parenchyma in Photo. 67.

**Photos 56-57.** *Pinus densiflora.*

**Photo 56.** Radial resin canal tissue in intermediate wood in July. Living epithelial cells show UV-absorption with various strengths (arrows), suggesting that lignification is progressing. Neighboring parenchyma show lack of lignification.

**Photo 57.** Tangential section of radial resin canal in intermediate wood in August. Epithelial cells are lignified without thickening, and resin duct is filled with UV-absorbing substances. Surrounding ray parenchyma have unlig-nified thin walls.

**Photos 58-60.** *Pinus banksiana.*

**Photo 58.** Radial resin canal in intermediate wood in July. Thin-walled epithelial cells showing UV-absorption possess nucleus, suggesting that lignification is in progress.

**Photo 59.** Resin canal in intermediate wood in October. Thin-walled living parenchyma in the multiseriate portion indicate UV-absorption in the whole wall (arrow).

**Photo 60.** Resin canal in intermediate wood in November. Living epithelial cells are directly adjacent to dead ones. Lignification of thin-walled parenchyma and epithelial cells of radial resin canal take place during July to October in intermediate wood.

**Photos 61-64.** *Pinus densiflora.*

**Photo 61.** Light micrograph stained with Sudan black B. Ray in the inner sapwood in September. Starch grains are distributed uniformly among cytoplasm in the growing season. Starch is shown as white grains contrasting with black lipid.

**Photo 62.** Light micrograph stained with Sudan black B. Ray in the inner sapwood in October. Starch grains are concentrated around nucleus in early autumn and early spring.

**Photo 63.** Light micrograph stained with I and IK. Radial resin canal tissue in the outer sapwood in August. Ray parenchyma cells have great amount of starch grains, but in epithelial cells starch grain is not recognized. Starch appears blue to black.

**Photo 64.** Light micrograph stained with I and IK. Radial resin canal in the outer sapwood in October. In epithelial cells starch grains are revealed only during late autumn to early winter.

**Photo 65.** Light micrograph stained with Sudan black B. Ray in the sapwood-heartwood boundary in January in *P. banksiana*. In winter ray parenchyma cells filled with lipids exist over just before the heartwood, therefore the transition between living cells containing many lipids and dead cells without cytoplasm can be recognized distinctly (arrow).

**Photo 66.** Electron micrograph of ray parenchyma cells in intermediate wood in June in *P. densiflora*. Lipid can be seen in the intercellular spaces (arrow).

- Photo 67.** Stereo micrograph of a radial surface stained with benzidine and  $H_2O_2$ . Ray and tracheid in the inner sapwood in May in *P. densiflora*. Peroxydase activities are seen mainly in the end wall of parenchyma (arrow), and in the bordered pits.
- Photo 68.** Stereo micrograph of a radial surface stained with benzidine and  $H_2O_2$  in intermediate wood in May in *P. densiflora*. Increased peroxydase activities of ray parenchyma are found in the regions of two rings width out of the heartwood boundary, and they are notable only in the growing season and inconspicuous in the dormant season.
- Photo 69.** Autoradiograph ( $^3H$ -phenylalanine). Ray in the inner sapwood in August in *P. densiflora*. Radioactivities are detected over mainly unthickened ray cells remote from ray tracheids, and their silver grains are observed in the cytoplasm near the cell walls (arrow).
- Photo 70.** Autoradiograph ( $^3H$ -phenylalanine). Ray in the cambial zone in August in *P. densiflora*. Tritiated phenylalanine is taken up into unlignified parenchyma walls, nuclei and cytoplasm in the cambial zone, and quantity of silver grains in ray is much more than that in tracheid (arrows).
- Photo 71.** Autoradiograph ( $^{14}C$ -glucose). Ray in intermediate wood in September in *P. densiflora*. In the intermediate wood, silver grains are seen mainly in starch grains, which is more abundant than in sapwood.
- Photo 72.** Autoradiograph ( $^3H$ -phenylalanine). Ray in the half annual ring outer of sapwood-heartwood boundary in September in *P. banksiana*. Radioactivities are detected in appreciable amount in the primary walls of immature parenchyma cells (arrow), and fewer amount of the cytoplasmic labelling are observed in nucleolus (small arrow) and cytoplasm except lipid droplets.
- Photo 73.** Autoradiograph ( $^3H$ -phenylalanine). About 300  $\mu m$  inside from Photo 72. To pay attention to the sapwood-heartwood transition zone, it is significant number of silver grains of  $^3H$ -phenylalanine in the sapwood parenchyma walls (arrow) decreases gradually toward heartwood and then disappears in the senescent cells in the heartwood periphery (arrow).
- Photo 74.** Ray in the sapwood-heartwood boundary in July in *P. strobus*. A ray parenchyma possessing pycnotic nucleus is adjacent to dead parenchyma (arrow).
- Photo 75.** Ray in the sapwood-heartwood boundary in June in *P. strobus*. Living parenchyma and dead parenchyma showing weak UV-absorption in the caved radial wall (arrow) are found closely.
- Photo 76.** Ray in the sapwood-heartwood boundary in September in *P. densiflora*. Various necrotic stages of parenchyma are recognized. Dead parenchyma cells indicate UV-absorption in the window-like pit membranes in different strength (arrows).
- Photo 77.** Ray in the sapwood-heartwood boundary in April in *P. densiflora*. Transition between living parenchyma and dead parenchyma is clear.

- Photo 78.** Ray in the sapwood-heartwood boundary in July in *P. banksiana*. Living parenchyma cell is situated adjacent to the parenchyma showing UV-absorption in the caved radial wall in different strength (arrows).
- Photo 79.** Fluorescence micrograph stained with acridine red. Transverse section of tracheids in heartwood of *P. densiflora*. A lumen of tracheid and pit chamber are full of the extraneous materials (arrows).
- Photo 80.** Fluorescence micrograph stained with acridine red. Tangential section in heartwood of *P. densiflora*. A lumen of tracheid adjacent to radial resin canal tissue contains the extraneous materials (arrow).
- Photos 81-84.** Light micrograph stained with methylgreen and pyronine.
- Photo 81.** Ray in the sapwood-heartwood boundary in September in *P. densiflora*. Nucleus stained blue becomes from an ellipse towards circular configuration in one or half outer ring of the heartwood boundary, and then becomes pycnotic and finally disappears. Pycnotic nucleus is stained red (arrow), and they are observed mainly during July to August.
- Photo 82.** Ray in the sapwood-heartwood boundary in September in *P. banksiana*. Active nucleus stained blue changes their coloration into red in the sapwood-heartwood boundary (arrows). They are observed from September to November.
- Photo 83.** Radial resin canal tissue in the sapwood-heartwood in October in *P. strobus*. Nuclei of epithelial cells in the heartwood transition show red coloration mainly during September to October (arrow). Necrotic stage is the same as Photo 46.
- Photo 84.** Radial resin canal in the sapwood-heartwood boundary in December in *P. strobus*. Nuclei of epithelial cells show blue coloration in the other month (arrow). Necrotic stage is the same as Photo 48.

