



Title	ブナ木部細胞の傷害に対する反応
Author(s)	猪股, 書恵; INOMATA, Fumie; 深沢, 和三 他
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 47(2), 389-413
Issue Date	1990-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/21327
Type	departmental bulletin paper
File Information	47(2)_P389-413.pdf



ブナ木部細胞の傷害に対する反応

猪股 書恵* 深沢 和三* 高部 圭司**

Wound effects in Secondary Xylem Cells of *Fagus crenata*

By

Fumie INOMATA*, Kazumi FUKAZAWA* and Keiji TAKABE**

要 旨

傷害に対する樹木の反応の方向性を細胞レベルでとらえるためブナ樹幹に釘を打ち、その後起こる木部の変化を種々の顕微鏡を利用して調べた。

枯死した傷害部はその脇に増殖するカルス状の細胞でふさがれつつあった。その周辺部、すなわち釘打ちの刺激を受けた木部では、まず傷害チロースの形成や木繊維内腔の充填物の出現といった「人工心材化」が起こった。これは傷害部からの菌の感染や材の乾燥化への抵抗に有効であろう。また傷害時に形成中だった木部では、傷害の刺激によって細胞分化の方向転換（柔細胞化）が見られたが、これはいわば「脱分化」に近い反応と言えるであろう。また細胞の周囲長増加や壁形成の異常、新生木部における軸方向要素の配向の乱れや階段状の道管相互壁孔や階段せん孔といった比較的原始的といわれる細胞形態の発現、等が起こった。これらの結果から、傷害に対する反応は全体として生長や分化を停止する方向、あるいは進化に逆行するような方向に進んでいると言えるであろう。

キーワード： ブナ、傷害、人工心材化、分化。

目 次

1. 緒 言	390
2. 材料と方法	392
2.1 材 料	392
2.2 傷害の付け方	392

1990年3月31日受理 Received March 31, 1990.

* 北海道大学農学部林産学科木材理学講座

Laboratory of Wood Physics, Dept. of Forest Products, Faculty of Agriculture, Hokkaido University.

** 京都大学農学部林産工学科

Department of Wood Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kyoto University.

2.3 試料の採取	392
2.4 観察方法	392
3. 結果と考察	394
3.1 試料片の状態, 及び低倍率での観察	394
3.2 成熟木部の傷害に対する反応	394
3.3 傷害時の分化段階と反応	395
3.3.1 二次壁形成中の木部	396
3.3.2 一次壁形成中の木部	397
3.3.3 形成層帯	397
3.4 傷害後の新生木部	398
3.5 傷害を与えた時期による反応の違い	398
3.5.1 道管の発達	399
3.5.2 道管壁の厚さ	399
3.5.3 デンプン粒の量	399
4. 結 論	400
文 献	402
Summary	402
Explanation of photographs	403

1. 結 言

気象などの自然現象や他の生物から,あるいは枝打ちのような作業によって樹木は何度となく傷害を受け続けて生きている。傷害は木材に乾燥や菌の感染を招き,変色を起こし,強度の低下をきたす。傷害の大きさによっては木材としての価値が損ねられ,ひどい場合は樹そのものの生命にもかかわってくる。

傷害の刺激に対し樹木は様々の変化を示す。それらの変化とは,傷害によって引き起こされる感染や乾燥から樹体を保護して健全な状態に戻ろうとするための反応でもあると考えられる。

傷害を受けた樹木に起こる変化を観察した例は多い。矢沢ら(1967)は立木に穿孔し,その後生ずる人工心材について報告した。また石上(1981),伊東(1983)は穿孔虫による傷害組織であるピスフレックの成因や組織について報告した。

傷害に対する樹木の反応について,SHIGO(1986)は「CODITのモデル」を使って興味深い説明をしている。CODITとはCompartmentalization Of Decay In Treesの略である。かれらによれば,樹木は動物と異なり傷害部を再生・修復することはできず,傷害部を隔絶(compartmentalization)してしまうことによって病原体の感染から身を守っている,とされている。この隔絶は傷害部周囲の四方の4つの障壁(wall 1~4)によってなされる。wall 1は軸方向の感染の拡がりに対して抵抗するもので,各種の木部細胞がこれに対応する。wall 2は放射方向(髓側)への感染の拡がり抵抗するもので,軸方向柔細胞や晩材が対応する。wall 3は接線方向への感染の拡がり抵抗するもので,放射柔細胞が対応する。これらは傷害を受けた時

点ですでに存在していた部分であり、まとめて part 1 (reaction zone) とされる。それに対して wall 4 は傷害後に形成される保護境界であり、part 2 (barrier zone) とされる。wall 4 は感染の拡がりに対する抵抗が最も強く、傷害後に形成される新しい形成層を保護するうえで重要である。

wall 4 については SHIGO (1986) によって、また RADEMACHER ら (1984), SMITH (1980), そのほか多くの研究者によって報告されている。彼らによれば、wall 4 には

軸方向柔細胞及び放射柔細胞が多く出現し、道管や木繊維の出現は減少する。

柔細胞の内容物は抗病原菌性の物質に転換する。

細胞壁のリグニン量は減少し、シリリングリグニンの割合が高くなる。

道管はチロースやガム状物質などで閉塞される。

wall 4 は感染には強いが構造的には弱く、乾燥などによってこの barrier zone にそって割れが生じやすい。

といった特徴があるとされている。

さらに、感染をすばやく効果的に隔絶する能力は樹種によっても異なるが遺伝的な性質にも左右されるとしており、これが将来育種に適用される可能性も示唆している。

傷害に対する木部の反応は、木部肥大生長を追跡するためのマーキングにも利用されている。今川 (1985) は物理的傷害である電気的刺激を利用して、また黒田ら (1984) はポプラとニセアカシアの木部にピンを打ち、それによって形成される異常組織を利用してマーキングをおこなった。傷害の刺激に対する木部の反応は、マーキングに利用できる可能性をもつものが多いと考えられる。

傷害に対していかに反応するかは、樹木の傷害に対する抵抗力と関係する。ブナは腐朽や変色のしやすい樹種である。傷害を受けると偽心材を形成することはよく知られている。このような性質は、傷害に対する木部の挙動とも関連があると考えられる。

本研究は釘を使って傷害をブナの樹幹に与え、その後どのような木部細胞の変化が起こるかを観察したものである。傷害は形成層の活動状態にあわせて3回に分けて与えた。

傷害による木部細胞の変化は組織構造的変化と成分化学的変化の二つに大別される。今回は特に組織構造的変化に重点をおき、光学顕微鏡、紫外線顕微鏡、電子顕微鏡などを用いて観察した。本研究では、木部の反応と傷害を受けた時点での細胞の分化段階とが密接に関係していることが明らかとなった。つまり傷害を与えた時期 (季節) にはよらず、傷害を与えたときにそれぞれ細胞がどのような分化段階にあったのかということが反応に大きく影響するのである。これは本研究で最も注目された点であった。

また、傷害を与えた時期によって木部細胞の反応にいくつかの差異が認められたので、この原因についても考察してみた。

樹木の傷害に対する反応には大きな方向性が存在すると考えられる。もちろんその方向性

とは、結果として樹体の保護に向かっているはずである。SHIGO (1986) は、動物とは異なる樹木の傷害に対する反応の機構を CODIT のモデルによって説明した。これはこの大きな方向性の一つの重要な側面であろう。しかしこの他にも様々な側面があると考えられる。本研究は傷害に対する反応の方向性というものを特に細胞レベルでとらえようとしたものである。

2. 材料と方法

2.1 材 料

北海道大学農学部附属檜山地方演習林7林班(台帳番号48号)のヒバ造林地に自生するブナ (*Fagus crenata* BLUME) から、比較的幹が真っすぐで欠点が少ないと思われるものを2本選び、供試木とした。いずれも樹高は約12m・樹齢約45年で、胸高直径は27cm及び30cmであった。

2.2 傷害の付け方

早材形成期、晩材形成期など形成層の活動状態に併せて3回傷害を与えた。樹幹に釘(直径1.93mm)を一回につき三箇所、樹皮から形成層を通るように挿入した。他の釘の影響がないように、少なくとも互いに斜めに約15cm程離して打った。

2.3 試料の採取

釘を打ち付けてから1~2カ月後、この傷害部の試料片(釘を挿入した点を中心に2cm四方・前年輪ターミナルを含む)をノミで採取した。試料片は直ちに3%グルタルアルデヒド(GA)で一昼夜以上、固定をした。コントロールとして傷害を与えていない正常部からも同様に試料片を採取し、同じく3%GAで固定をした。

試料の採取日はTable 1に示す。

Table 1. Dates for wounding and harvesting

Date	3/9	5/23	7/8	8/22	11/1
Sample		× → ○	× → ○	× → ○	
Control	○	○	○	○	○

○; harvesting ×; wounding

2.4 観察方法

試料片は傷害部の変色の状態を観察し(Photos 1, 2), 以下に示す(1)~(5)の方法で処理した。

(1) 光学顕微鏡観察

3% GA 固定後の試料片を傷害部を含む5mm角のブロックに切った。このブロックを水道水で一昼夜水洗し、アルコールシリーズ脱水を経てプロピレンオキシドに置換した。これ

をエポキシ樹脂に包埋し、スライディングマイクロームで $20\ \mu\text{m}$ 厚の放射面及び横断面切片を作製した。

切片は脱包埋をせずにサフラニンで染色、ビオライトで封入し、光学顕微鏡で傷害組織とその周辺部の形態を観察した。

(2) 光学顕微鏡, 偏光顕微鏡観察

3% GA 固定した試料を Fig. 1 のように 12 個に細切した。Fig. 1 に示すように、そのうち半分はさらに 1% 四酸化オスmium (OsO_4) で 2 重固定をした。傷害部を直接観察するのではなく、釘をさした点から数 mm の範囲の木部 (Fig. 1 * 印) すなわち傷害の刺激を受けた木部

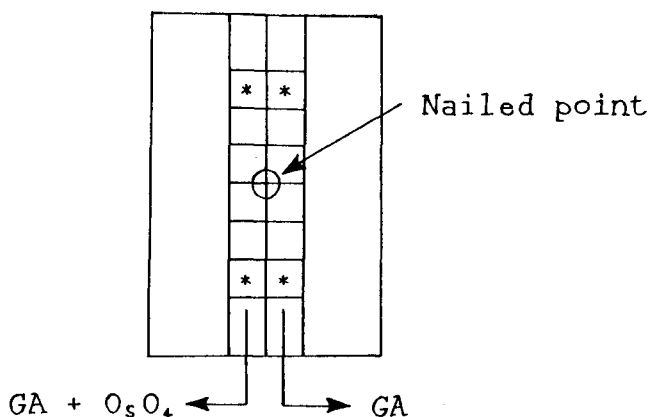


Fig. 1. Dissection of samples

を中心に観察した。固定後の試料はリン酸バッファーで洗浄しアルコールシリーズで脱水した。さらにプロピレンオキシドへ置換してからエポキシ樹脂に包埋した。包埋した試料からガラスナイフまたはダイヤモンドナイフを装着した LKB ウルトラマイクロームで $1\ \mu\text{m}$ 厚さの薄切片を作製し、サフラニンで染色後ビオライトで封入して光学顕微鏡で観察した。壁層構造や結晶の存在は偏光顕微鏡を用いて十字ニコル下で調べた。

(3) 紫外線顕微鏡観察

GA 固定した試料から(2)と同様の手順で作製した $1\ \mu\text{m}$ 厚の無染色切片を石英スライドにのせてグリセリン封入し、紫外線顕微鏡 Zeiss 社製 UMSP-80 を用い波長 $280\ \text{nm}$ で写真撮影した。

(4) SEM 観察

GA 固定後の試料を水道水で一昼夜水洗した後 $5\ \text{mm}$ 角に切り、観察面(柁目面)を片刃カミソリで仕上げしてから $2\ \text{mm}$ 程の厚さにスライスした。これをアルコールシリーズ脱水をへて酢酸イソアミルに置換し、JCPD-5 臨界点乾燥装置を使って臨界点乾燥した。乾燥の終了した試

料をスタッフの上に導電性接着剤で接着し、JEE-5 B型真空蒸着装置を使用して真空中で炭素・金の二重蒸着をした。観察はJSM-35 CF IIを使い、加速電圧15 KV、ワーキングディスタンス39 mm、試料台の傾斜角度20°の条件で行った。

(5) TEM 観察

上記(2)の二重固定(GA+O₅O₄)後エポキシ樹脂包埋した試料より、ダイヤモンドナイフを装着したLKBウルトラミクロトームで0.07-0.1 μm厚の超薄切片を作成して銅グリッドに載せた。切片はまず2%酢酸ウラニルで染色(45°C, 30分間)し、次にReynoldsのクエン酸鉛で後染色(室温, 2分間)した。観察はJEOL-100 Cで100 KVで行った。

3. 結果と考察

3.1 試料片の肉眼による観察, および低倍率での観察

採取した試料片を肉眼により観察した。Photo 1は、採取した試料片を髓側から撮影したものである。釘を打った点(矢印)から軸方向に広く変色が観察された。変色域は接線方向にはほとんど広がっておらず、上下を比べると、上方向にやや広がった。

Photo 2は、Photo 1の試料を中央で切った放射断面である。傷害部の形成層帯は木部側へ幾らか落ち込んでいた。Photo 1で見ると下方向に変色が広がっていることがわかった。試料片は2 cm四方程の大きさのため、この変色がどこまで広がっているかは判断できなかった。

傷害部とその周辺の概観を低倍率の光学顕微鏡で観察した。Photo 3は、5月に釘を打ち7月に採取した試料から作製した厚さ20 μmの放射面切片である。

Photo 3上部右の木部が欠けているところが、直接釘が打たれた部分である。この部分は枯死しており内側の木部が露出している。しかしこの傷害部分の脇にはカルス状の細胞(矢印)が増殖し、この部分をふさぎつつあった。

その周辺の、釘打ちの刺激を受けた部分でも広い範囲に渡って明らかに正常と異なる木部組織が見られた。まず新生の木部(右側)は道管の発達が極端に悪く、放射組織が多かった。その内側の木部、すなわち傷害を受けたとき成熟していた木部では、木繊維内腔にサフラニンでよく染色される充填物が多量に見られた。道管にはおびただしい数の傷害チロースや、チロースパッドが形成されていた。傷害チロースは傷害部分のすぐ内側(Photo 3上部)にはあまり形成されず、そこから幾らか上下に離れた場所で多数形成された。この傷害チロースの形成部位は柴田(1984)による報告と一致した。試料片が小さいため、傷害チロースがどこまで形成されているか、その範囲は確認できなかった。

3.2 成熟木部の傷害に対する反応

低倍率で観察したとき、傷害を受けたときすでに成熟していた木部でおこった変化は全体的に心材化と類似していた。すなわち道管における傷害チロースの形成や、木繊維内腔中の充填物の出現である。これをさらに高倍率の光学顕微鏡、偏光顕微鏡、紫外線顕微鏡および電子

顕微鏡 (SEM, TEM) で観察した。

傷害チロースや木繊維内腔の充填物は、傷害を受けてから間もなく成熟した部分、つまり傷害を受けたとき二次壁形成の後期にあった部分でもいくらか見られた。試料の採取時期を遅らせれば、さらに新しい木部でもこのような変化が現れてくるものと考えられる。

3.2.1 傷害チロース

3.1 で、傷害による多数の傷害チロース形成が認められたことを述べた。ここではその傷害チロースの特徴について述べる。

比較のために 11 月の最終のサンプリング時に成長錐を使って心材部を採取し、心材部のチロースを観察しようとした。観察方法は 2.4 (2) に拠った。約 30 年前の年輪部分を観察した (樹齢は約 45 年) のだが、心材部のチロースはまったく確認できなかった。島地 (1952) はブナ心材部のチロースについて、大部分が薄壁で軸方向に一列に並び、上下のチロース壁が接して“はしご状”をなしている、と報告している。しかし本研究で観察された傷害チロースは非常にバラエティーに富んでおり、島地 (1952) の報告した心材チロースとは異なる特徴をもっていた。

チロースの形態には心材に見られるようなはしご状はもちろんのこと、もっとこまかい室に分かれたものや、球形のものもあった (Photos 4, 6, 7)。球状のチロース (Photo 6) は、チロース壁が偏光顕微鏡で復屈折性を示し二次壁が形成されていると認められたので、チロースバッド (Photo 5) とは区別された。

チロース壁は薄壁のもの (Photo 4) が多いが、多層構造をなす厚壁のものもあった (Photos 6, 7)。一見柔細胞と思われるほど、著しく厚壁で内容物をたくさん含んだチロースも見られた (Photo 7)。これは SEM で倍率を上げて観察すると道管壁が確認されたので、チロースであると判断した (Photo 8)。

チロース壁と道管壁の間に、あるいはチロース壁の内側に紫外線吸収が強くサフラニンによく染まる層がみられる場合もあった (Photo 9)。TEM で観察すると道管壁とチロース壁の間にはいぼを覆うように薄い層が存在したり、またチロース壁の内側に電子密度の高い細胞質や、中に電子密度の高い物質を含む液胞が存在した (Photo 11)。

3.2.2 木繊維内腔の充填物

3.1 で述べたように木繊維内腔にはサフラニンによく染まる充填物が多数現れていた。これを紫外線顕微鏡で撮影したのが、Photo 12 である。強い紫外線吸収を示す物質を内腔に充填している木繊維が多数あった。この充填物は紫外線吸光度がかなり高いものからさほどでもないものまで色々ある。このような物質が木繊維内腔をぎっしりと充填していたり、内壁に層状に堆積していた。チロースの形成していない道管でも内表面に薄くコーティングするような層が見られる場合があった (Photo 10)。

3.3 分化中木部の傷害に対する反応

傷害を受けたとき分化中であった木部の傷害に対する反応を、主に厚さ $1\mu\text{m}$ の薄切片で

光学顕微鏡、偏光顕微鏡、紫外線顕微鏡を使って詳細に観察をした。また電子顕微鏡 (SEM, TEM) による観察も行った。

Photo 14 は 5 月に傷害を与えて 7 月に採取した試料の紫外線顕微鏡写真である。Photo 20 は同じく 7 月に採取した正常材部である。この 2 枚を比較すると様々な組織構造的違いが明瞭である。さらに 5 月に採取した正常部のもの (Photo 13) と比較して、次のことが推察された。

「傷害を受けたときに木部がどの程度分化していたのか」は、その傷害に対する反応と密接につながっている。

これを説明するためにここでは傷害を受けた時点での木部を次のように区分した。

- A. 傷害を受けたときに二次壁を形成していた木部
- B. " 一次壁を形成していた木部
- C. " 形成層帯にあった木部

さらに傷害後に新生された木部を D. と区分した。これについては 3.4 で述べる。

ただしこのような分化段階の間には様々の移行的な状態が存在するから、先に示したような区分で容易に線を引いてしまえるものではない。あくまでも一つのめやすとしての、便宜的な区分である。

Photo 14 はターミナルを基準にできるので、傷害を与えた時点 (Photo 13) での分化段階との比較が最もしやすかった。8 月に採取した試料 (Photos 15, 16) や 11 月に採取した試料 (Photo 17) は傷害を受けたときの形成層の活動状態や未成熟木部細胞の幅がそれぞれに違っていたが、これらを比較することで分化段階と反応の関係はかえってはっきりと浮き彫りにされた。これは傷害の時期を違えて比較することなしには裏付けられないと思われた。

以下、各分化段階に分けて、その傷害による変化の特徴を挙げる。

3.3.1 二次壁形成中の木部 (Photos 14~17 の A 域)

道管や木繊維で二次壁の構造に様々の異常が起こった部分があった。これは傷害を受けたとき二次壁を形成していた木部であると考えられる。

道管は全体に二次壁が厚くなった (Photo 19)。その厚さは正常なもの (Photo 20) の 2 倍から、場合によっては 3 倍に達した。二次壁の壁層は正常と変わらず 3 層構造であった。

木繊維でも同様に壁が厚くなったものがあったが、薄くなったものもあった (Photo 21)。偏光顕微鏡で観察すると壁層構造に異常のある木繊維が多数存在した。Photo 22 には木繊維壁が 5 層か 6 層に見えるもの、 S_2 層のフィブリル配向が比較的フラットであると考えられるものなどがあった。その現れ方はまちまちで規則性はなかった。紫外線顕微鏡で観察すると木繊維壁に紫外線吸収の異なる層がリング状に現れる場合もあった (Photo 21)。

傷害の刺激は二次壁の形成に何らかの影響を及ぼしたと考えられるが、その影響の仕方は様々である。しかし傷害を受けたときに S_1 を形成していたのか、それとも S_2 , S_3 を形成していたのか識別できればその変化の傾向が把握できるのかもしれない。

3.3.2 一次壁形成中の木部 (Photos 14~17 の B 域)

傷害を受けた時点で一次壁を形成をしていた細胞は周囲長増加や長さの増加に異常を起こした。そのような一次壁形成の異常にもなって二次壁の形成にも異常があった。また本来木繊維や道管になるはずの細胞が正常な分化を示さずに柔細胞になった場合もみられた。この付近では道管の拡大生長が悪く、小径のものが多数現れた。早材部であっても晩材部の道管ほどの直径のものが現れた。やはり壁の厚いものが多かった。

この領域には非常に大きな細胞間隙のような部分がしばしば現れた (Photo 15 *印)。TEM で観察すると、この空隙と思われた部分の縁には薄い壁と細胞内容物が確認され (Photo 23)、これは一つの細胞であることが分かった。この細胞の壁は偏光顕微鏡では複屈折性は示さず、一次壁であると判断された。すなわちこの細胞間隙のような部分は一次壁だけからなる細胞であった。このような一次壁からなる細胞は、大きいものでは早材道管程の直径があった。これは本来道管になるはずの細胞が、傷害の刺激によって二次壁形成を止めてしまったものであろう。

またこの付近では正常な木部に比べ柔細胞の出現する割合が高くなった。その中にはリピングウッドファイバーと思われるものもあった。このことは本来木繊維となるべき細胞が形成初期の段階で傷害の刺激を受けると、分化の方向を柔細胞に近い方向へと転換させる場合があることを示している。

3.3.3 形成層帯 (Photos 14~17 の C 域)

傷害の刺激を受けたとき形成層帯にあった細胞では著しく分化に異常が起こった。木繊維や道管になるべき細胞はほとんどすべて軸方向柔細胞になっていた。これらの柔細胞は形成層帯そのままのきれいなラディアルファイルを維持していた。これは、細胞が伸長せず滑り生長や割り込み生長が起こらなかったためであると思われる。またこれらの軸方向柔細胞は短くストランド化しているものが多かった。

軸方向柔細胞中には内容物が豊富で、とくに粒状の内容物が顕著に見られた。TEM で観察すると明らかにアミロプラスト中にデンプン粒が蓄えられていた (Photo 24)。これは季節によって量の変化が見られた (3.5 参照)。SHIGO によれば、傷害後に様々な防御のためのプロセスが働くには多くのエネルギーが必要であり、例えば抗微生物性の物質の生成には炭水化物が使われる、とされている。今回柔細胞中に現れた多量のデンプン粒は、このように傷害後の防御反応のエネルギーとして使用されてゆくものであろう。

島地 (1952) によれば、ブナでは放射柔細胞には結晶があるが軸方向柔細胞中には存在しない。彼はこれをブナ属識別の観点の一つに挙げている。しかしここでは結晶を含む軸方向柔細胞が多数あった (Photo 25)。結晶は一つの軸方向柔細胞中のストランドに現れる場合が多かった。また放射柔細胞中にもしばしば結晶が現れたが、これは一つの列の放射柔細胞に並んで現れることが多かった (Photo 26)。木材中の結晶はシュウ酸カルシウムか炭酸カルシウムであ

ると言われるが、今回は結晶の同定はしなかった。

この形成層細胞が柔細胞化した部分には細胞間隙が多く現れた。この細胞間隙は、柔細胞が丸みをおびたために本来密着していた細胞が離される、いわば離生によって生じたものと考えられる。このような細胞間隙中には紫外線吸収が強くサフランニによく染まる小さな粒が多数存在した(Photo 14 矢印)。これは細胞間隙が大きいために本来細胞間層に沈着するはずのリグニンが小さな粒になったものと考えられる。Photo 27はこの小粒をTEMで撮影したものである。

放射柔細胞は徐々に長さが短く幅の広いずんぐりとした形になった。放射面で見るとき、このようにずんぐりとした放射柔細胞はストランド化した軸方向柔細胞と形態的に似ていた(Photo 28)。放射柔細胞壁は正常なものよりも厚かった。デンプン粒その他の内容物も多く見られた。

3.4 傷害後に新生された木部の特徴 (Photos 14~17のD域)

この部分の顕著な変化は、道管や木繊維といった軸方向要素の配向が大変に乱れている点であった。配向の乱れた組織を構成する各々の要素の形態にも変異が見られた。

Photo 29の右側が傷害後の形成層分裂によって新たに形成した木部である。道管や木繊維が横方向に向いていたり、曲がっていた。これらの細胞には著しく短いと考えられるものもあった。せん孔が道管要素の途中に現れるなど、道管要素相互の連結の仕方も通常に比べて非常に複雑であった。配向の乱れについて今回は特に規則性を見いだすことは出来なかった。このように道管の配向が乱れることは、傷害によって切断された通水系を修復するうえで都合の良い反応であると考えられる。

形態の変異は特に道管で目立った。道管は壁が厚くて径の小さいものが2~数個複合している場合が多かった。さらに、SEMで観察すると(Photos 30, 31)正常なブナの道管相互壁孔は小さくて交互状ないしは対列状をなすが、これらの道管では大きな階段状の壁孔が頻繁に出現した。さらにブナの道管は正常材では早材部において単せん孔をなすが、傷害材では早材部であっても階段せん孔が現れた。また正常と異なるせん孔板も見られた(Photo 31 矢印)。階段状の壁孔や階段せん孔をもつ道管要素は、系統発生的に見ると原始的な形態であると言われている。傷害の刺激によって道管要素が原始的な形態に逆戻りしたと考えられる。

3.5 傷害を与えた時期の違いによる反応の違い

形成層帯の分裂活動は四季の変化に対応し、これを木部組織の中に年輪として反映している。また新生木部細胞の拡大や二次壁肥厚、そして木化の速度も季節によって大きく変わっており、形成層を含めた分化中の木部細胞の幅も季節によって著しく変化する。傷害を与えた時点での分化中の木部の状態の違い、そして試料を採取した時期の違いを考えると、傷害によって生ずる変化は季節によっても異なると予想される。

今回は5月と7月、8月に釘を打ち、それぞれ7月、8月、11月に試料片を採取した。コ

ントロールで観察したこれらの時期の正常な木部の状態は次の通りであった。

5月 形成層が活動を開始して間もなかった。イニシャル部付近で二次壁の肥厚が開始され、細胞間層の木化が始まっていた。

7月 早材形成期。分化中木部の幅は非常に広がった。イニシャル部から、形成の完了した木部がかなり広がっていた。

8月 早材部の形成はほとんど終了し、晩材が形成されていた。いばをもった晩材道管が形成されていた。分化中の木部はかなり狭い範囲であった。

11月 ターミナル細胞が既に形成されていた。形成層帯は3～4細胞で、形成層活動は休止期に入っていた。

つまり5月に傷害を与えて7月に採取した試料では、傷害の刺激を受けたときも試料を採取したときも早材を形成していた。8月に採取した試料では、7月に傷害を与えた時点では早材を形成していたが、試料を採取した時点では晩材を形成していた。11月に採取した試料は、8月に傷害を与えたときにすでに晩材を形成していた。3.3で分化段階の違いによる反応の違いについて述べたが、一つの分化段階にある領域の広さ、例えば一次壁を形成している領域や二次壁を形成している領域は季節によって違うため、それぞれの領域に特徴的な変化が現れる範囲も当然異なっていた。それが全体としての季節による違いのように見える。しかしさらに詳細に観察すると、道管の現れ方や道管壁の厚さ、デンプン粒の量に変化が認められた。

3.5.1 道管の発達

傷害を受けた後で形成された道管要素の多くは径が小さくなった。また傷害部での組織全体における道管の出現率は、正常材のそれより低かった。すなわち傷害組織では、通水組織の発達が悪くなるといえる。この傾向は8月に傷害を与えて11月に採取した試料に最も顕著に現れ、傷害後に形成されたターミナル部付近には全く道管が現れていなかった(Photos 14, 15, 16, 17 D域)。5月に傷害を与え7月に採取した試料が、最も傷害後の道管形成を回復していた(Photo 14 D域)。これらは通水機能の重要性が季節により異なるためではないかと思われる。

3.5.2 道管壁の厚さ

3.3に述べたとおり、傷害時に形成中だった木部や傷害後に新たに形成された木部で道管壁の異常な肥厚が見られた(Photo 19)。このような道管の厚壁化は特に早材で著しく、晩材ではそれほどでもなかった(Photo 17)。また壁の厚くなった道管は、正常な木部の道管(年輪内で相当する位置にあるもの)に比べると径が小さくなる傾向にあった。つまり、早材部の道管は傷害の刺激によって本来の直径よりもかなり小さくなり道管壁も相当に厚くなるが、晩材部道管の傷害による小径化は本来の直径から考えるとごくわずかで、道管壁もさほど厚くならないといえる。

3.5.3 デンプン粒の量

山本(1982)はマツ属放射柔細胞の貯蔵物質の季節変化について調査した。野淵ら(1986)

は、ブナを含めたいくつかの樹種を使って放射柔細胞中のデンプン貯蔵について報告した。それらによるとデンプン粒は春に多く夏に減少し秋に再び増加する。そして冬には最少になるとされている。

今回観察した試料では、放射柔細胞中にも異常に増加した軸方向柔細胞の中にも、多数のデンプン粒が認められた。このデンプン粒の量は試料の採取時期によりかなり違っていた。すなわち11月に採取した試料が圧倒的に多数のデンプン粒を柔細胞中にもっていた(Photo 17)。残りの試料はそれほど差はないが、7月に採取した試料の方がやや多く(Photo 14)、最も少なかったのは8月に採取した試料であった(Photos 15, 16)。

このようなデンプン粒の量の変化は一般的な傾向と一致したものであった。傷害により増加したデンプン粒の量は、傷害を付けた時期ではなく試料の採取時期に影響されるといえる。

いずれの時期でもこれらデンプン粒の絶対量は正常な木部に比べはるかに多かった。これは傷害による苛酷な条件下にある木部にとっては重要なエネルギー源となるのであろう。

4. 結 論

傷害に対するブナ木部細胞の反応の特徴は全体として次のようにまとめられる。

- 傷 害 部 の 癒 合 → カルス状の細胞
- 感 染, 乾 燥 の 防 止 → 傷害チロース, 木繊維中の充填物, 増加した柔細胞
- 新 た な 通 導 系 の 確 保 → ネットワーク状に配列した道管
- 刺 激 に よ る 壁 形 成 の 変 化 → リグニン沈着, 壁厚, 壁層構造の変化
- 原 始 的 な 形 態 の 発 現 → 階段壁孔, 階段せん孔

傷害によって生ずる変化には、結果的に樹体の保護に役立つと考えられるものが多数あった。たとえば、傷害部の周辺ではカルス状の細胞が発達して、釘によって傷付けられ露出した部分を覆いつつあった。また傷害チロースが多数形成され、木繊維中には多量の充填物がつくられた。これらは道管や木繊維の内腔を通じての感染を防ぎ、道管からの水分の消失を防ぐだろう。また多数の柔細胞が形成されたが、これらの内容物中には感染の防止に役立つ成分が存在すると考えられるし、数多くのデンプン粒は傷害後の反応における重要なエネルギー源となるであろう。傷害後に形成した木部では軸方向要素の配向が非常に乱れていたが、これは傷害部分を避けるように新たに道管を形成し傷害によって切断された通導系を修復するうえで都合の良い反応であるといえよう。

3.3において傷害時の分化段階別に変化の特徴を述べた。特に広葉樹の主要な構成要素である道管と木繊維では、分化・成熟段階と変化の特徴とをおよそ次のようにまとめることができる。

	道 管	木 繊 維
傷害時に成熟木部	傷害チロース形成	内腔に充填物

傷害時に形成中木部	厚壁化, 小径化 二次壁肥厚の停止 分化の停止	リグニン沈着の異常 壁肥厚, 壁層構造の異常 分化の停止 (柔細胞化)
傷害後の新生木部	複合化 形態の変異 (原始化) 配向の乱れ	配向の乱れ

これらの特徴から次のように考えることができる。

傷害を受けたとき既に完成していた木部では心材化と似た変化が起こる。矢沢ら (1967) は立木樹幹に穿孔をおこなって着色状況を観察し, 心材化についての知見を得ようとした。彼らはせん孔によって生じた着色部分について「人工心材」という語を用いている。今回, 傷害を与えたときに成熟していた木部では傷害チロースの形成や木繊維内腔の充填物が見られたが, これは心材化とよく似た変化であり, 傷害に伴って人工心材化が起こったものであると考えられる。これは傷害からの感染や乾燥を防ぐうえで合理的な反応であるといえる。今回の観察では主に傷害を受けたときに形成完了していた木部でこのような反応が見られたが, さらに時間が経過すればより新しい木部にも人工心材化は進んで行くものと思われた。

傷害時に形成層帯にあった木部では本来木繊維や道管になるべき細胞がすべて軸方向柔細胞になっていた。柔細胞は細胞環境の変化が起こったときに細胞分裂の能力を取り戻す能力が比較的良好に保持されている。そのため細胞の中では最も分化の程度が低いものであるとされている。したがって本来木繊維や道管になるべき細胞が柔細胞になるということは, 脱分化に近い変化であると考えられる。またこれらの柔細胞は伸長生長が起こらず整然としたラディアルファイルを維持していた。傷害時に一次壁形成中か, それより若い段階にあった細胞では柔細胞への分化の方向転換が見られた。二次壁の形成を停止した道管も現れた。傷害時に二次壁を形成中だった細胞は壁の形成にのみ異常をきたした。柔細胞に変化する可能性は, 傷害を受けたときに形成層に近い細胞ほど大きいであろう。ある程度分化の進んだ細胞はもはや分化の方向転換はできず, 壁形成に変化を起こしたと考えられる。これらの変化から, 傷害を与えたときに細胞壁を形成中だった木部では全体として生長 (周囲長増加, 長さの増加) や分化を停止する方向, あるいは脱分化に近い方向に細胞は変化すると言えるであろう。

傷害を受けたのちに形成層分裂によって新たに形成した木部では, 軸方向要素の方向性が非常に乱れる。また道管要素に階段状の道管相互壁孔や階段せん孔をもったものが現れた。これは正常なブナの道管要素に比べて原始的な形態であるといわれる。すなわち傷害の刺激が道管に原始的な形態を発現させたと考えられる。

文 献

- FROST, F.H.: Specialization in secondary xylem of dicotyledons II, *Botanical Gazette* **90**, 198-212 (1930).
- FROST, F.H.: Specialization in secondary xylem of dicotyledons III, *Botanical Gazette* **91**, 88-96 (1931).
- 原 襄: 基礎生物学選書3 “植物の形態”, 裳華房 (1972) 29-46.
- 今川一志: 木部形成研究のための電氣的刺激によるマーキング法 (第4報) 押しつぶされた仮道管の出現域, 北大演習林報告 **42**, 585-594 (1985).
- 石上博國: ビスフレックの形成とその原因となる形成層穿孔虫について, 北海道大学農学部卒業論文 (1981).
- 伊東拓也: ビスフレックの成因および組織, 北海道大学農学部卒業論文 (1983).
- 黒田慶子; 島地 謙: The pinning method for marking xylem growth in hardwood species, *Forest Sci.* **30**, 548-554 (1984).
- 野淵 正; 赤松やすみ; 佐藤憲一; 原田 浩: 傷害に対するスギ木部放射柔細胞の初期の反応—変色と細胞内容物の季節的変化—, 京大農演習林報告 **57**, 290-299 (1986).
- 野淵 正; 仲上 誠; 原田 浩; 佐伯 浩: テンブシ貯蔵における広葉樹放射柔細胞の組織化学的特徴, 京大農演習林報告 **58**, 232-240 (1986).
- 大谷 諄; 石田茂雄: 走査型電子顕微鏡によるブナせん孔板の分化についての観察, 北大農演習林報告 **33**, 115-126 (1976).
- RADEMACHER, P.; BAUCH, J.; SHIGO, A.L.: Characteristics of xylem formed after wounding in *Acer*, *Betula* and *Fagus*, *IAWA BULLETIN* **50**, 141-151 (1984).
- 李 起泳: ドロノキ材の結晶とその成長, 北大農演習林報告 **45**, 717-788 (1988).
- 柴田直明: チロースの発達と構造に関する研究, 京都大学農学部学位論文 (1984).
- SHIGO, A.L.: “A new tree biology”, *Shigo and Trees Associates* (1986), p 19-52.
- 島地 謙: ブナ属木材の解剖学的性質, 東大農演習林報告 **42**, 182-195 (1952).
- 島地 謙; 須藤彰司; 原田 浩: “木材の組織”, 森林出版株式会社 (1976)
- SMITH, D.E.: Abnormal wood formation following fall and spring injuries in Black walnut, *Wood Sci.* **12**, 243-251 (1980).
- 山本幸一: マツ属放射柔組織成熟の経年的・季節的経過, 北大農演習林報告 **39**, 245-296 (1982).
- 矢沢亀吉; 石田茂雄; 大谷 諄: 心材の人工形成に関する研究, 北大農演習林報告 **25**: 9-34 (1967).

Summary

We discussed the response of Buna (*Fagus crenata* BLUME) trees following wounding with histological and cytological points of view in this paper. Wound tissues induced by driving a nail into the wood were examined by optical microscopies with polarized, transmitted and ultraviolet (UV) light and by both scanning and transmission electron microscopies.

The discolored area from the point the nail was driven into spread more along the longitudinal direction than the transverse.

The tissues of the area where the nail entered were crushed and dead, and the hole by the nail came to be covered with callus. The xylem adjacent to the nailed area changed remarkably. It contained more ray parenchyma cells and less vessels than those in normal xylem.

Though common tyloses in the heartwood of Buna are reported to have thin wall and to arrange in a ladder-like series, we observed some different kinds of traumatic tyloses in the xylem which was mature at the time of wounding, that is, sclerotic tyloses, globe-shaped tyloses with thick secondary walls, and thin-walled tyloses arranged in a ladder-like series. UV-absorptive substances often filled in the fiber lumens, and they also were deposited on the inner

surface of fibers, vessels and traumatic tyloses. These modifications are quite similar to the "artificial heartwood formation" induced by boring stems, and they would be effective against pathogens or dryness.

Cambial zone received stimulation from wounding differentiated parenchymatous cells abundant in amyloplast. Cambial cells retained their radial file, indicating that they ceased incrementally increasing in their length. It is generally accepted that parenchyma cells are more primitive in their differentiation than vessels and fiber cells, because they keep an ability to redifferentiate into various kinds of wood components. The results obtained in this study show that the stimulation from wounding induces cambial cells to differentiate into primitive cells or retards their differentiation. Wound response may be likened to "dedifferentiation".

Vessels which had formed their primary walls at the time of wounding were found to be small in diameter or to have had ceased their secondary wall formation, vessels which had formed their secondary walls at the time of wounding were found to have unusually thickened walls and fibers having abnormal cell wall layers. These results suggest that the stimulation from wounding induces the differentiating cells to form abnormal cell walls.

The axial elements, vessels and fibers newly formed after wounding were extremely disoriented. This phenomenon may be necessary in reconstructing the conducting system injured by nailing. Vessels having scalariform perforation plates and/or scalariform pittings were observed frequently. Dicotyledons having scalariform pitting and/or scalariform perforation plates are thought of as the primitive one in terms of evolutionary development. Therefore, the stimulation from wounding can be said to lead to the formation of "primitive vessels".

Explanation of photos.

- Photo 1.** Tangential view of a sample block. Arrow shows the nailed point.
- Photo 2.** A radial split section through the wound.
- Photo 3.** A 20- μ m-thick radial section of wound tissue. Note the callus-like cells which is forming over the wound.
- Photo 4.** Radial section of traumatic tyloses arranged in a ladder-like series.
- Photo 5.** Scanning electron microscope view of tyloses buds.
- Photo 6.** Radial section of globe-shaped tylosis with thick wall.
- Photo 7.** Scanning electron microscope view of sclerotic tyloses.
- Photo 8.** An enlarged photo of the sclerotic tyloses. Note double wall (arrow).
- Photo 9.** Cross section. Note substances deposited between vessel and tyloses and adhered to the inner surface of tyloses walls.
- Photo 10.** Cross section. Note substances layered on the inner surface of vessel wall(*).
- Photo 11.** Transmission electron microscope view. Note a thin layer (arrow) between the vessel wall and the tylosis wall.
- Photo 12.** UV microscope view of a cross section. Note gums and other deposits in wood fibers.
- Photo 13.** Cross section of normal xylem harvested in May 1989.
- Photo 14~19.** UV microscope view of a cross section. Area A shows the secondary wall forming zone when xylem wounded. Area B shows the primary wall forming zone when xylem wounded. Area C shows the cambial zone when xylem wounded. Area D shows the xylem formed newly after wounding.

Photo 14. Xylem wounded in May 1989 and harvested in July 1989. There are some granules in intercellular space (arrow).

Photo 15, 16. Xylem wounded in July 1989 and harvested in August 1989. There is a cell without secondary wall (*).

Photo 17. Xylem wounded in August 1989 and harvested in November 1989.

Photo 18. Normal xylem harvested in July 1989.

Photo 19. UV microscope view of cross section of abnormal vessel. Note thickened cell wall.

Photo 20. UV microscope view of cross section of normal vessel.

Photo 21. UV microscope view of cross section. Note uneven UV absorption in fiber wall.

Photo 22. Polarized light microscope view of cross section. There are many abnormal wood fibers of which walls are not in three layers.

Photo 23. Transmission electron microscope view of the vessel without secondary wall formation. Note a thin wall (primary wall) and cytoplasm.

Photo 24. Transmission electron microscope view of an axial parenchyma cell increased abnormally.

Photo 25. Scanning electron microscope view of radial section. Note crystals in axial parenchyma cells.

Photo 26. Radial section of ray. Note crystals appeared in line.

Photo 27. Transmission microscope view of granules appeared in intercellular space.

Photo 28. Radial section. Axial parenchyma cells are divided into strands, and ray parenchyma cells are short in radial direction.

Photo 29. Radial section. Note disorientation of axial elements formed newly after wounding (right).

Photo 30. Scanning electron microscope view of vessels formed after wounding. Arrows show scalariform intervessel pits and a bar of scalariform perforation.

Photo 31. Scanning electron microscope view of vessel formed after wounding. Arrows shows abnormal perforation plates.

