

コナラ属木材の道管放射組織間の壁孔対

杉岡津岐子・中村 具 見・佐 伯 浩・原 田 浩

Ray-Vessel Pit Pairs of Japanese *Quercus* wood

Tsukiko SUGIOKA, Tomomi NAKAMURA, Hiroshi SAIKI
and Hiroshi HARADA

目 次

要 旨	135	壁孔膜の隆起 (Protrusion)
1. 緒 言	136	と孔口周辺の壁の肥厚
2. 材料と方法	136	引用文献
3. 結果と考察	137	Summary
3.1 R-V pit の形態および配列		Explanation of photos
3.2 コナラにおける R-V pit の		141

要 旨

日本産コナラ属樹種（アベマキ、クヌギ、ミズナラ、コナラ、カシワ、ウバメガシ、アカガシ、シラカシ）の道管放射組織間の壁孔対（R-V pit）を走査電子顕微鏡で観察し、次にコナラの R-V pit について、壁孔膜の隆起と孔口周辺の壁の肥厚経過を4月から9月まで時期別に調べた。

1. 春材部道管における R-V pit の形態を走査電子顕微鏡で観察すると、(a)アベマキとクヌギは長楕円形、格子状、(b)ミズナラ・コナラならびにカシワは小円形、対列または交互状、(c)ウバメガシは長楕円形、格子状、(d)アカガシとシラカシは長楕円形、顕著な格子状を示した。

2. 壁孔対については、放射柔細胞の孔口の方が道管側の孔口より狭いもの (a, b) と等しいもの (c, d) にわかれた。前者では、道管側 R-V pit の孔口周辺に隆起があり、道管内腔から見るとドーナツ状の形態を示した。

3. コナラの生立木より試料を採取し、固定・脱水（アルコールシリーズ）後、臨界点乾燥して観察すると、ドーナツ状の形態は見られず、道管側へ壁孔膜がドーム状に隆起（protrusion）しているだけであった。よって樹木内で道管側に隆起していた壁孔膜が乾燥などにより落ち込むと考えられる。

4. 放射柔細胞の内腔側には、未木化（低電子密度）の層がある。この層は夏以降、特に R-V pit 周辺でより厚くなり、木化し、壁孔膜を道管側に押し出す。壁孔膜の隆起は5月頃より認められる。

1. 緒 言

道管と放射柔細胞との間の壁孔は、道管とその他の軸方向要素との間の壁孔とは形態・配列が異なり、研究者によって種々にタイプ分けがなされている。^{1,2)} 樹種によっては格子（柵）状・階段状などの特異な形態を示し、樹種の識別に役立っている。しかし、道管放射組織間の壁孔対（以下 R-V pit と略称）の構造については、bordered, half-bordered, simple などされているが、^{1,2)} 十分解明されているとはいえない。R-V pit およびその周辺の構造の解明には、光学顕微鏡観察では分解能の点で不十分であるので、走査電子顕微鏡による壁孔対の立体的観察、透過電子顕微鏡による断面観察などが必要と考えられる。

また、R-V pit の壁孔膜の変化は道管側と柔細胞側で非対称に起るとされ、³⁾ また、柔細胞側にはいわゆる protective layer ^{3,4)} が形成される。これらは道管と放射柔細胞の機能が異なることによるものであろう。それゆえ R-V pit の構造の研究においてはチロースの形成、心材化など放射柔細胞の生理的機能とその変化との関連に注目する必要があると思われる。

本研究でとり上げたコナラ属の樹種では、R-V pit の形態が樹種により異なり、また、チロースの発達の著しいものもある。それゆえ、R-V pit の構造研究の対象としては興味深いものである。本研究ではまず走査電子顕微鏡 (SEM) を用いて道管内腔側から R-V pit の形態・配列ならびに断面の観察を行ない、次に壁孔対の構造の特異な樹種のうちから、コナラを取り上げ、4月から9月まで時期別に試料を採取し、光学顕微鏡および透過電子顕微鏡 (TEM) による断面観察を行ない、壁孔膜の隆起 (protrusion) と孔口周辺の壁の肥厚を調べた。⁵⁾

2. 材 料 と 方 法

走査型電子顕微鏡 (SEM) による R-V pit の形態観察は、下記の日本産コナラ属樹種について行った。

アベマキ (*Quercus variabilis* BLUME)

クヌギ (*Quercus acutissima* CARRUTH.)

コナラ (*Quercus serrata* THUNB.)

ミズナラ (*Quercus mongolica* Fisch. var. *grosseserrata* REHD. et WILS.)

カシワ (*Quercus dentata* THUNB.)

ウバメガシ (*Quercus phillyraeoides* A. GRAY)

アカガシ (*Quercus acuta* THUNB.)

シラカシ (*Quercus myrsinaefolia* BLUME)

試料としては木材構造学研究室所蔵の材鑑より小ブロックを取り出して用いたが、コナラとウバメガシについては、立木より採取したものも用いた。これらより①未処理のまま片刃の安全カミソリ刃で切り出す、②熱水抽出と軟化処理（水3：グリセリン1の混液）した後、スライディングミクロトームで切削する、などにより観察用試料を作った。その後、試料洗浄を目的として亜塩素酸ソーダ処理（50℃～90℃、0.5 h）を行ない、溶媒置換乾燥し、真空蒸着装置で C-Au coating して走査電子顕微鏡 JSM-U3 で観察した。

以上は主として R-V pit の形態を道管内腔側から見たものであった。この観察において後述するように樹種によって特異な形態が見られたので、その形態と R-V pit および pit 周辺の壁の構造との関連をコナラについて検討した。用いた試料は上賀茂試験地にて生育していた立木よ

り、4月26日、5月9日、5月30日、6月11日、9月26日、の計5回にわたって採取した。始めの4回の試料は17年生の幹から、9月の試料は、別の木の枝から採取した。採取後リン酸緩衝液 (PH 7.0) につけて持ち帰り、形成層を含んだ $r \times t \times l = 1 \text{ mm} \times 3 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ の小ブロックにトリミングし、グルタルアルデヒド固定後、そのままのものと、さらに3%過マンガン酸カリウム固定(2 h 処理)したものをアルコールシリーズで脱水後、LuFT 法によりエポン 812 に包埋した。この包埋試料よりガラスナイフで薄切片(1~3 μ)を作製、ヨウ素法により、光顕観察をした。透過電子顕微鏡 JE M-7 観察においては、ダイヤモンドナイフで超薄切片を作製、そのままのものと、脱包埋(今井らの方法)後、白金パラジウムシヤドウイングしたものについて行った。

3. 結果と考察

まず、コナラ属樹種(アベマキ、クヌギ、ミズナラ、コナラ、カシワ、ウバメガシ、アカガシ、シラカシ)の道管内腔側からみた R-V pit の形態観察について、次にコナラの壁孔膜の隆起と孔口周辺の壁の肥厚の経過について述べていく。

3.1 R-V pit の形態および配列

総ての樹種について、まさ目試片を用いて道管内腔側からの形態を観察し、さらに板目および木口試片を用いて断面の観察を行なった。

春材部道管における R-V pit の形態および配列には、樹種によって次のような違いがあった。

1. アベマキ、クヌギ 通常軸方向に長い長楕円形の壁孔が、格子状配列を呈する。ただし、これらの樹種でも R-V pit はすべてこのタイプを示すのではなく円形のものが点列状配列するものもみられる。Photo 1. はアベマキの格子状配列の例である。また Photo 1. で注目されるのは、1つの放射柔細胞に対応すると考えられる壁孔群が明瞭に見られることである。

2. ミズナラ、コナラ、カシワ：円形壁孔が対列状、あるいは、交互状に配列する。Photo 2. はコナラの例であるが、コナラは、変異が大きく階段状・格子状配列の出現することもある。カシワはチロースが多く十分に観察できなかったが、ミズナラに酷似する。

3. ウバメガシ：基本的には長楕円形壁孔が格子状配列を呈するが、変異が大きく斜状、あるいは階段状を呈することもある。Photo 3. にみられるように形態、配列ともに変化に富んでいる。

4. アカガシ、シラカシ 一般に長楕円形壁孔が顕著な格子状配列を呈する。小径の道管では配列が乱れ円形集合状に配列することが多い。Photo 4. は、アカガシの典型的格子状配列の例である。

道管内腔側からみた R-V pit の形態と配列は以上の通りであるが、これらの観察で注目されたのは、孔口周辺の形態で、アベマキ(Photo 1. の矢印)、クヌギ、ミズナラ、コナラ(Photo 2. の矢印)、カシワでは、壁孔膜が孔口周辺部で盛り上ったドーナツ状の形態を示したことである。板目試片および木口試片において断面を観察すると、放射柔細胞側の孔口が狭くなっている、しかも道管側に押し出しているのがみられた(Photo 5.)。これに対して、ウバメガシ、アカガシ、シラカシでは、道管側の孔口と放射柔細胞側の孔口が、ほぼ等しく一致している。ゆえに、コナラ属樹種は、壁孔対の構造に関して、2つのグループ、すなわち、放射柔細胞側の孔口より道管側の孔口の方が大きいものと、両者が等しいものとがあると言える。

3.2 コナラにおける R-V pit の壁孔膜の隆起 (protrusion) と孔口周辺の壁の肥厚

前項でのべた、放射柔細胞側の孔口が狭く、かつ、押し出している現象について、コナラを用いてさらに、検討を行なった。すなわちコナラの R-V pit の発達経過を4月から9月まで時期別に試料を採取して調べるとともに、生立木からの試料を取り出して後の乾燥法にも留意した。

Photo 6. は、コナラの前年形成の孔圏道管を臨界点乾燥法を用いて道管内腔側からみたものである。これでは、臨界点乾燥法によらないで、気乾 (Photo 2.), あるいは、アセトン置換後風乾したもので観察されたようなドーナツ状の形態はほとんどみられなかった。このことより、樹木中では、壁孔膜は道管側に膨れでている、すなわち隆起 (protrusion) してはいるが、ドーナツ状の形態は示していなかったものと思われる。従って Photo 2. にみられたような顕著なドーナツ状の形態は、Photo 6. のようにドーム状に隆起していた壁孔膜が試料作製時の乾燥によって落ち込んだ、あるいは、樹木中で水分減少などで多少落ち込んでいたものが試料作製時の乾燥によりさらに著しく落ち込んだのではないと思われる。しかしまた、ドーナツ状の形態が生ずるためには、放射柔細胞側の孔口が道管側の孔口よりかなり狭く、かつ放射柔細胞側の孔口周辺が道管側へ押し出していなければならない。

上記のような壁孔膜の隆起 (Protrusion) と孔口周辺の壁の発達経過について以下にのべる。

4月26日 (Photo 7-1): 壁孔膜は平らで隆起していない。放射柔細胞側の孔口は道管側の孔口より狭いが、柔細胞側の孔口周辺の壁は壁孔膜と離れている。このとき、アセトン置換後風乾したものでドーナツ状の形態はみられない。

5月9日: まだ壁孔膜の大部分は平らで隆起していない。しかし壁孔膜が多少緩んでいるように見られ、中には隆起しているものもみられた。柔細胞側の孔口周辺の壁はあまり変化がみられない。

5月30日 (Photo 7-2): 隆起した壁孔膜が多くみられるようになる。しかし放射柔細胞側の孔口周辺の壁はまだあまり変化がない。

6月11日 (Photo 7-3): 全体的に隆起した壁孔膜が多くなる。また放射柔細胞側の孔口周辺の壁の肥厚が進んで壁孔膜と接するようになる。しかしドーナツ状の形態は依然としてほとんど見られなかった。

9月26日 (Photo 7-4): 壁孔膜の多くは隆起している。また壁孔周辺の壁の肥厚は、壁孔膜と融合したような形で押し出しているように見える。そしてアセトン置換後風乾したものを SEM で観察した際、初めてドーナツ状の形態が認められた。

また、前年形成の孔圏道管における壁孔膜は、この時期のものとはほぼ変わらない。しかし前年形成孔圏道管の R-V pit には、チロースの発生したのも認められた。

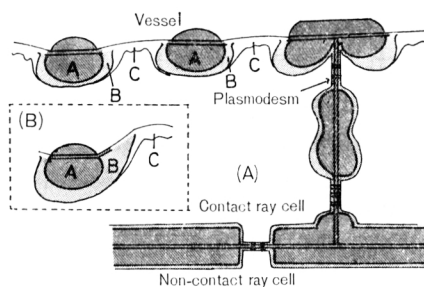
以上の観察を、まとめると、放射柔細胞側の孔口は4月下旬においてすでに道管側の孔口よりは若干狭い。しかしその孔口周辺の壁が壁孔膜と接するようになるまで肥厚するのは6月中旬であり、それがさらに肥厚し、そのうえ壁孔膜を押し出すのは、夏以降と考えられる。また、壁孔膜の隆起はそれより早く5月初旬において若干みられ、5月下旬において多く見られるようになる。SEM 観察においてドーナツ状にみえた R-V pit は、放射柔細胞側の孔口周辺の壁が、隆起した膜を後ろからさらに押し出すように、もしくは支えるように肥厚し、そしてその隆起した壁孔膜が乾燥などにより、放射柔細胞側に落ち込んで生ずると考えられる。この孔口周辺の壁の肥厚を透過電顕により観察した結果を以下にのべる。

Photo 8. は4月26日採取の試料であるが、道管に接した放射柔細胞側の壁を見ると、高電子密度ですでに木化したと思われる壁 (A) の内側に低電子密度 (未木化と思われる) の層 (B) が

認められる。そしてまた壁孔膜の内側にも1層(C)が存在する。また未木化の層は放射柔細胞の内側全体にみられるが、その層の厚さは、道管側において厚く、道管と接していない柔細胞壁において薄くなっている。Photo 9. は9月26日の試料である。放射柔細胞の内側に推積した層(B)が木化しているのが認められる(過マンガン酸カリウムの染色性より)。ところが、壁孔膜および壁孔膜の放射柔細胞側をおおっている層(C)は、依然として未木化のままである。そして、この放射柔細胞の内側の層(B)は孔口周辺に著しく肥厚しており、壁孔膜を押し上げているように見えるものもあった。またこの層は孔口周辺のみならず、放射柔細胞の道管側の壁においては全体にかなり厚く、その反対側および放射柔細胞相互間の壁の内腔側においても変異はあるが、かなりの厚さをもっていた。しかし放射柔細胞相互間の壁孔膜上においては薄く、原形質連絡がこの層を貫いて通っているのが観察された。また、道管に接していない放射柔細胞においても薄層ではあるが同様と考えられる層が存在していた。模式図で示すと、Fig. (A) のようになる。図中の破線内 Fig. (B) は、押し出しの著しい場合で、斜線および点をうった部分は木化していると考えられる部分である。

以上より、コナラの孔頸部道管は早く分化を完了し木化する(4月下旬)が、その頃、道管に接した放射柔細胞においても、すでに壁は木化していることが認められる(フロログルシン塩酸反応および過マンガン酸カリウムの染色性より)。その壁(放射柔細胞)の内側および R-V pit の壁孔膜の内側に未木化の層が認められる。そして、この層がその後肥厚し夏以降になると孔口周辺で特に肥厚して、隆起していた壁孔膜をさらに押し出すようにもしくは支えるように発達し、木化する(しかし R-V pit の壁孔膜及びその壁孔膜の内側の層は木化していない)。そしてこの層が発達した後、隆起した壁孔膜が、乾燥などで放射柔細胞側へ落ち込む時、R-V pit は、ドーナツ状の特異な形態を示すこととなる。

道管に接した放射柔細胞(contact ray cells)の特異性は、チロースの形成および protective layer の存在など多く報告されている。protective layer については、SCHMID³⁾ が R-V pit の壁孔膜と壁孔周辺の放射柔細胞壁の一部をおおう“loose, vesiculated texture”な層を観察し、その層が隣接している死んだ道管要素から生きている柔細胞を保護するのであらうと考えたことから発している。この報告におけるこの層は低電子密度でしかも、その厚さは壁孔膜の厚さと同じくらいで壁孔から遠ざかるにつれて薄くなるとされていた。その後 MEYER と CÔTÉ⁴⁾ は、white oak において、壁孔膜上の薄い層と壁孔周辺の放射柔細胞壁の内側に厚く堆積し、かつ木化した層と観察し、両者を含めて protective layer としている(本研究の photos 8, 9 や Fig. (A)(B) 中の C, B に対応すると考えられる)。これに対して、CHAFE⁸⁾ は、trembling aspen において、壁孔膜を裏うちするように堆積する層を観察し、この層がいわゆる protective layer であらうとしている。そしてこの protective layer は、心材化するまで木化しないと報告している。以上のように、protective layer と考えられている層には、研究者によって相違があるように思われる。photo 8. においては、B と C はともに未木化であるが、photo 9. においては、B は木化されており、C は未木化である。また脱包埋シャドウイングをしてみると、B にははっきりと密なフィ



A : ordinary secondary wall of ray parenchyma cell
B : lignified layer of lumen side of ray parenchyma cell
C : unlignified layer over the pit membrane of ray parenchyma cell
Fig. (A) Schematic diagram of ray-vessel pit pairs of *Q. serrata* in September.
(B) is the case that the layer of B pushed the pit membrane into vessel extremely.

ブリルがみえるが、C 付近にはまばらなフィブリルが観察されるだけであった。

これらコナラにおける B, C 両層は, MEYER と CÔTÉ の white oak における protective layer にほぼ類似している。よってこの両層を protective layer と呼ぶことにすれば, protective layer は(1)通常の二次壁と異なり, R-V pit の壁孔膜上および柔細胞間壁孔対(R-R pit)の壁孔膜上にも存在する, (2)1 生長期間中で, R-V pit の壁孔膜の中央部以外では木化する, (3) R-V pit の周辺部において肥厚, 木化が著しい, などの特徴を持つことになる。しかし, R-R pit の壁孔膜上にあるこの層を貫ぬいて原形質連絡が通っていることが観察されたので, この層があることによって, この細胞が隣接の放射柔細胞から隔離されることはない。また, この層が R-V pit の壁孔膜の中央部で未木化のこと (R-V pit の壁孔膜も未木化) から, 実際に “protective” といえるかどうか疑問となってくる。

また SAUTER⁹⁾ は contact cells の道管への糖分泌の研究から, contact cells は transfer cells に近い機能を持っているのではないかと考えており, CHAFE⁸⁾ は, この考えと protective layer を結びつけ, protective layer はむしろ “protective” というより “transport” の役割を果たしているのではないかと考えている。もし, contact cells が, “transport” の役割を果たしているとするれば, 物質の移動は, 木化された壁や細胞質中を通るよりは未木化の層を通るほうがより容易であろうと考えられるから, B が木化されるまでの間, B, C 両層が物質移動の通路となっていたかもしれない。これら物質移動の問題や壁孔周辺における顕著な肥厚について, また protective layer の構造や機能などについての問題は, 今後検討を進めていく。

また, 壁孔膜の隆起 (protrusion) は, チロース形成の初期とされているが, これについても検討の余地があると考えられる。^{8,10)}

引用文献

- 1) FROST, F. H. : Histology of the wood of angiosperms I. The nature of the pitting between tracheary and parenchymatous elements, *Bulletin Torrey Club* **56**, 259—265 (1929)
- 2) PANSIN, A. J. et al. : *Textbook of Wood Technology* 2nd ed. Vol. 1. p. 134—161 McGraw-Hill. N. Y. (1964)
- 3) SCHMID, R. : The fine structure of pits in hardwoods, in *Cellular ultrastructure of woody plants*. W. A. Côté, Jr. ed. Syracuse University Press p. 291—304 (1965)
- 4) MEYER, R. W. and CÔTÉ, W. A. Jr. : Formation of the protective layer and its role in tylosis development, *Wood Science and Technology* **2**, 84—94 (1964)
- 5) SHIMAJI, K. : Anatomical studies on the phylogenetic interrelationship of the genera in the Fagaceae. *Bull. Tokyo Univ. Forests* **57**, 1—65 (1962)
- 6) 藤田 稔・佐伯 浩・原田 浩 : ヨウ素染色によるエポキシ包埋切片の光学顕微鏡的観察法, 京都大学農学部附属演習林報告第43号, 294—298 (1972)
- 7) IMAI, Y., A. SUE and A. YAMAGUCHI : A removing of the resin from epoxy-embedded sections for light microscopy, *J. Electron microscopy* **17**, 84—85 (1968)
- 8) CHAFE, S. C. : Cell wall formation and “protective layer” development in the xylem parenchyma of trembling aspen, *Protoplasma* **80**, 335—354 (1974)
- 9) SAUTER, J. J. : Respiratory and phosphatase activities in contact cells of wood rays and their possible role in sugar secretion. *Z. Pflanzenphysiol.* **67**, 135—145 (1972)
- 10) FOSTER, R. C. : Fine structure of tyloses in three species of the Myrtaceae, *Aust. J. Bot.*, **15**, 25—34 (1967)

Summary

Ray-vessel pit pairs of the Japanese *Quercus* wood were observed by a scanning electron

microscope. After that, the protrusion of the pit membranes and cell wall thickening around the pit pairs were investigated using samples taken from living trees of the *Q. serrata* during the time period from April to September.

1. In early wood vessels the shape and arrangement of R-V pits when viewed from vessel lumen were elongated elliptic, palisade-like arranged in (a) *Q. variabilis* and *Q. acutissima*, small circular, opposite to alternate in (b) *Q. serrata* and *Q. mongolica* var. *grosseserrata*, variable but mostly elongated elliptic, palisade-like arranged in (c) *Q. phillyraeoides*, and elongated, distinctly palisade-like arranged in (d) *Q. acuta* and *Q. myrsinaefolia*.

2. Ray-vessel pit pairs of wood (a) and (b) had smaller pit apertures on the ray cell wall than on the vessel wall, but those of wood (c) and (d) had nearly the same aperture width on both walls. In the former wood a circular protrusion of the pit membrane occurred around the pit aperture of the vessel wall, having a doughnut-like appearance in the vessel side view (Photo 2).

3. When wood samples taken from living trees of *Q. serrata* were investigated after fixation, alcohol series dehydration and critical point drying, R-V pit membranes protruding toward vessel lumen appeared as circular domes.

Their doughnut-like protrusions were considered to be formed due to a sinking back of the dome of the protruded membrane during the seasoning of the wood.

4. A low electron dense layer (or protective layer) was observed on the lumen surface of the ray parenchyma cell. After summer, the layer was thickened and lignified especially where the wall touched the adjacent vessel wall. Around the R-V pit pair the thickened and lignified layer decreased the pit aperture width of the ray cell side and pushed the pit membrane into the vessel lumen. After May, protrusion of the membrane was observed.

Explanation of photos

Photo 1. Vessel side view of ray-vessel pitting of *Q. variabilis*, showing elongated elliptic pits in a palisade-like arrangement. Note a group of pits which belong to an adjacent ray parenchyma cell (the area encircled). The arrow indicates a circular protrusion of the pit membrane.

Photo 2. *Q. serrata*, showing elongated elliptic pits in an opposite to alternate arrangement. The arrow indicates a circular protrusion of the pit membrane.

Photo 3. *Q. phillyraeoides*, showing elongated elliptic pits in a palisade-like arrangement.

Photo 4. *Q. acuta*, showing elongated elliptic pits in a distinct palisade-like arrangement.

Photo 5. Sectional view of a ray-vessel pit pair in *Q. mongolica* var. *grosseserrata*. Note smaller width of pit aperture of ray parenchyma cell than that of vessel.

Photo 6. Ray-vessel pits of *Q. serrata* when the sample was dried in critical point drying method. Pit membranes protruding into vessel lumen appeared as circular domes (cf. Photo 2.).

Photo 7. Transverse section of ray-vessel pit pairs in *Q. serrata*. Note the changes in pit membranes and borders inside the ray parenchyma cell. Samples were collected on (1) April 26, (2) May 30, (3) June 11 and (4) September 26.

Photo 8. Transverse section of a ray-vessel pit pair of *Q. serrata* in April (KNO₃ stained). A thin layer of low electron density (B, C; so-called protective layer) was observed on the lumen surface of ray parenchyma cell.

Photo 9. Transverse section of a ray-vessel pit pair of *Q. serrata* in September. A: ordinary secondary wall, B: thickened and lignified layer pushing the pit membrane into vessel lumen, C: unlignified layer covering the pit membrane, V: vacuole.

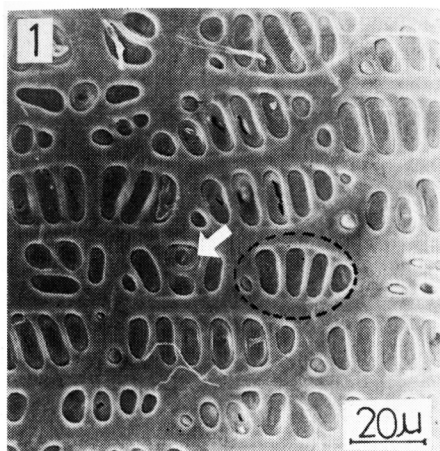


photo. 1

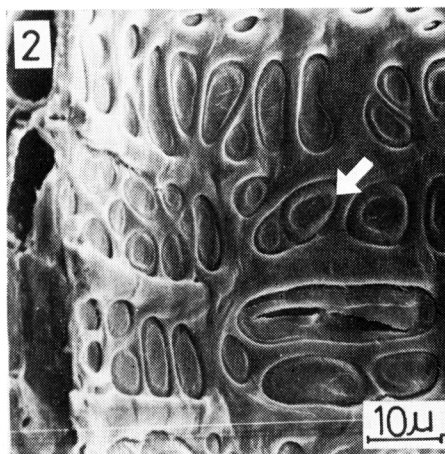


photo. 2

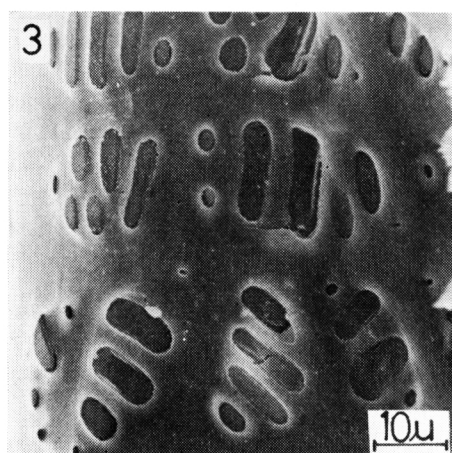


photo. 3

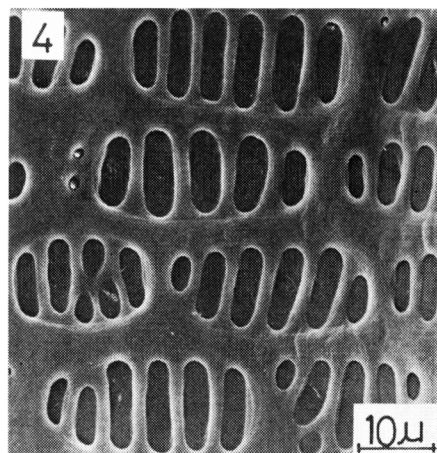


photo. 4

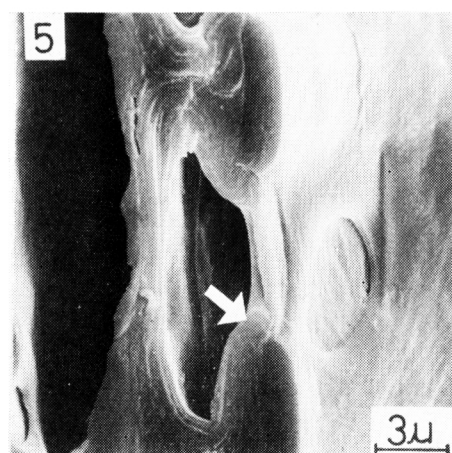


photo. 5

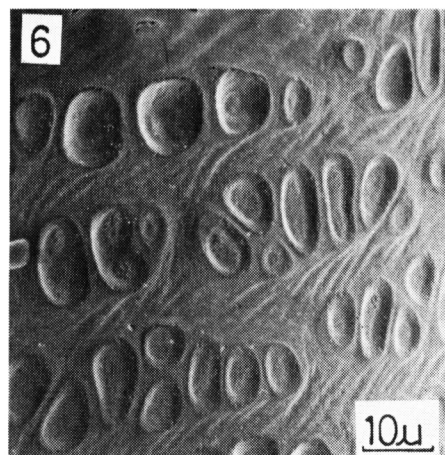


photo. 6

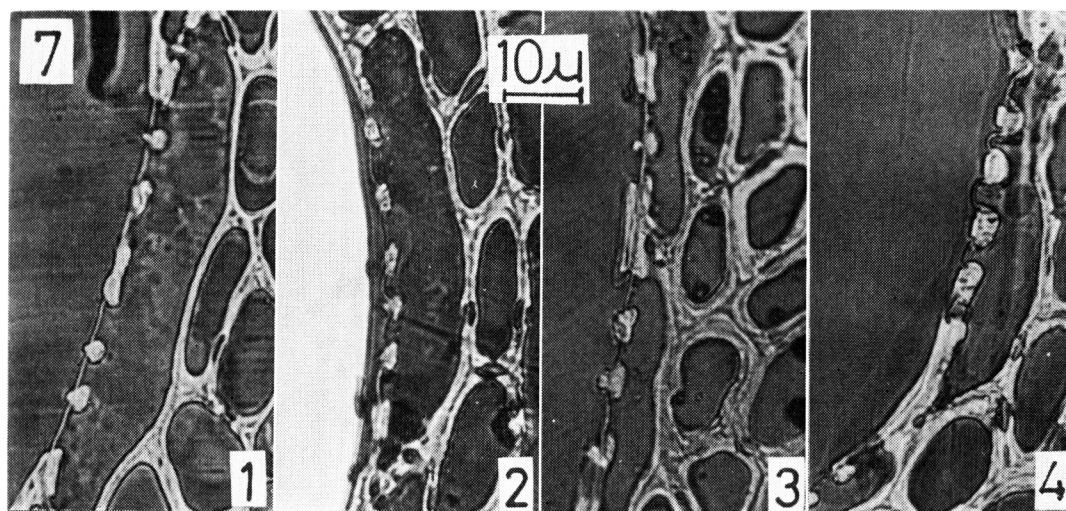


photo. 7

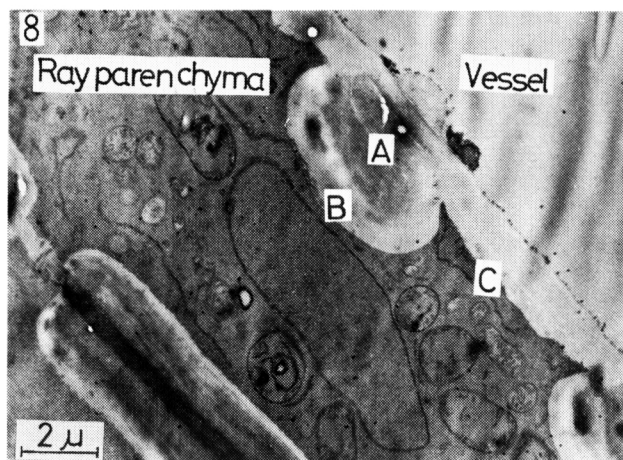


photo. 8

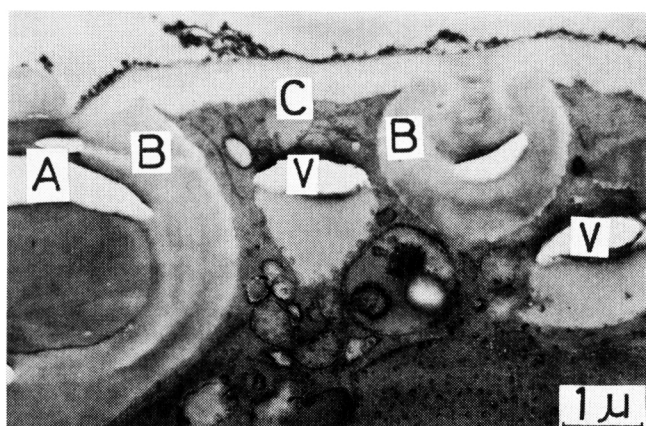


Photo. 9