

コナラの培養チロース発達にともなう柔細胞構造の変化

藤田 稔・加藤正明・佐伯 浩・原田 浩

Canges in parenchyma cell structure followed by incubated
tylosis developement in *Quercus serrata* Thunb.

Minoru FUJITA, Masaaki KATō, Hiroshi SAIKI,
and Hiroshi HARADA

目 次

要 旨	144	的経過について	
1 緒 言	145	3・2 道管周辺の柔細胞, とくに道	
2 材料と方法	145	管に接した放射柔細胞の変化	
3 観察結果と考察	146	引用文献	150
3・1 培養チロース発達過程の時間		Résumé	151

要 旨

培養によってチロースを発生させる Meyer¹⁾の方法をコナラ (*Quercus serrata* Thunb.) に応用して, チロース形成に伴って起る道管周辺の柔細胞の変化を観察した。実験は冬期に行い26°Cで培養してチロースの発生を導いた。観察対象は最新年輪部の孔圏道管周辺部分に限定した。

得られた結果は, 1) 培養24時間で道管に接した放射柔細胞からチロース芽が発生し (Fig. 1), 60時間でチロース芽は道管直径の約 $\frac{1}{2}$ に達し, 120時間で道管を完全に閉そくした。(Fig. 3.)。

2) 培養開始時には道管に接した放射柔細胞にはほとんど starch grain が存在しなかったが, それ以外の柔細胞は多量の starch grain を保有していた (Fig. 5)。また 道管に接した放射柔細胞の細胞質は他の柔細胞に比べて密であったが, その個々の細胞小器官は活動停止型を示していた (Figs. 6.7)。培養24時間では道管に接した放射柔細胞は Golgi apparatus, ER, mitochondria, vesicle を著しく増加し, Golgi apparatus や ER は活動型の形態を示すようになった (Figs. 8.9)。道管に接していない柔細胞ではこのような変化は観察されなかった。30時間後にはチロース芽の中に vacuole が発生し, この後のチロースの急速な発達はこの vacuole の膨大によった。60時間後にチロース内の細胞質はチロース壁と tonoplast にはさまれた狭い領域に限定され (Fig. 10), 道管周辺の柔細胞中に含まれている starch grain が道管に近い柔細胞から順に減少し, 同時に黒色沈着物がその vacuole 中に現れた (Fig. 11)。120 時間後には starch grain はさらに減少し, 黒色沈着物は柔細胞を満たし, またチロース内や柔細胞に隣接した仮道管内壁にも存在していた (Fig 3)。

チロースの生長が vacuole の膨大によることは Meyer¹⁾の見解と等しいが, チロースを発生す

る道管に接した放射柔細胞の細胞質がチロース芽形成に先立って培養により著しく変化することは彼の観察結果と異っている。また道管から離れた位置の柔細胞にも培養に伴う変化が観察されたことは、チロースの形成が道管周辺の広範囲の柔細胞の活動によっていることを示唆する。

1. 緒 言

チロースは広葉樹の道管中に発生するもので道管を閉そくする機能をもつ。このチロース形成の概略については、道管に接した柔細胞とくに放射柔細胞が道管との間の壁孔から膨れ出して拡大し、その時に形成されたチロース壁によって道管内を閉そくするとされている。^{2),3),4)}しかしチロース発達過程の微細レベルでの観察は2,3を除いてなく、細胞学的な検討を加えたものはさらに少ない。^{5),6),7)}このようにチロース形成に関する研究が数少ないのは、その発達が樹幹の深部で緩やかに進行しその過程を観察するのが技術的に困難なことによる。この点で Meyer¹⁾が white oak (*Quercus alba* L.) の樹幹から試料ブロックを切り出してこれを一定温湿度下で培養して人為的にチロースを発生させ、その形成について細胞学的なレベルまで観察を進めたことは先駆的な意義をもつ。彼はそこで、培養開始時の放射柔細胞中に含まれる細胞小器官は他の一般的な植物細胞に含まれるものと同じであり特異な形態や分布を示さないこと、放射柔細胞がチロースを発生させる時には vacuole の急激な膨張が進行しこれによってチロースの発達が導かれることを観察した。そしてこのチロース発達の過程に必然的に伴う plasma membrane と tonoplast の急速な増大以外には細胞質のいかなる増加も見出しえなかった。樹体に傷害や病菌を与えることにより人為的にチロースを発生させることはかなり以前より知られており、Meyer の方法はこの現象を巧みに利用したものである。もとよりこのような人為的チロースを天然チロースと直ちに同一視することはできないが、実験操作を任意の条件下に持ち込み得たことは興味深い。

今回の研究はこの Meyer の方法を原則的に踏襲した。そして sampling の時期や観察対象に考慮を加えて実験室内で培養したチロースの発達過程とそれに伴う道管周辺の柔細胞群、とくに道管に接してチロースを発生させる放射柔細胞の細胞構造の変化を観察した。

なおこの研究を進めるにあたり御助力、御助言をいただいた木材構造学研究室の諸兄、とくに昭和47年度の林産工学課題研究でコナラのチロース研究に先鞭をつけられた大串博行氏と走査電顕写真を撮影して頂いた古川郁夫氏に深謝の意を表する。またこの報告の一部は第24回日本木材学会大会（昭和49年4月於東京）で口頭発表した。

2. 材 料 と 方 法

京大演習林上賀茂試験地に自生の10年輪以上の幹をもつコナラ (*Quercus serrata* Thunb.) を1973年の11, 12月に伐木し、幹から直ちに師部、形成層および木部を含む角型の試料ブロック（軸方向3 cm, 接線および半径方向2~3 cm）を多数切り出し、これらを26°Cの恒温器中で培養した。¹⁾培養方法の概要は Meyer の方法に準拠しその詳細は共同して実験を進めている柴田の報告⁸⁾に記した。なお培養は伐木後2時間後に開始した。伐木時、培養開始時、および培養開始後6時間ごとに試料ブロックを取り出して観察に供した。

観察方法は、1)ブロック木口面の実体顕微鏡による観察、2)常法によるグルタルアルデヒド—四酸化オスミウム固定、エポン包埋後の電顕および光顕観察、3)臨界点乾燥法を用いた走査型電顕観察、の3種の観察法を併用した。なお今回は最新年輪部の孔圏道管周辺部分に観察を限定した。

3. 観察結果と考察

3-1 培養チロース発達過程の時間的経過について

培養24時間後に多くの道管にチロース芽が発生しているのが確認された (Fig. 1)。培養30時間後にはほとんど全ての道管-放射組織間壁孔からチロース芽が発生し完全な球形を示すようになった (Fig. 2)。その後チロース芽は細長く伸長して培養60時間後には道管直径の約 $\frac{1}{2}$ 程度まで生長し、120時間後には道管を閉そくするに至った (Fig. 3)。この一連の過程を Fig. 4 に模式的に示す。このように多数のチロース芽が一斉に発生しその後の発達過程も非常に揃っていたのは、その形成過程のより詳細な観察に好都合であった。このチロース発達の時間的経過は今回の2度の実験ならびに共同研究を進めている柴田の実験から再現性の高いことが解った。Meyerの研究ではチロース芽の発生時期が培養18時間後から75時間後の間に拡がっている。このようにチロースの発達過程が不均一なのは彼が *white oak* の生育期(春もしくは夏)に実験を行ったことを推定させる。樹木は生育期にはその生理状態が一定せず、環境条件にも影響されやすいと考えられるが、我々が実験を行った冬期には樹木の生理状態がより安定化していて、試料を一定温度に人為的に高めることによってこれに含まれる細胞の活性を均一にコントロールできたのであろう。

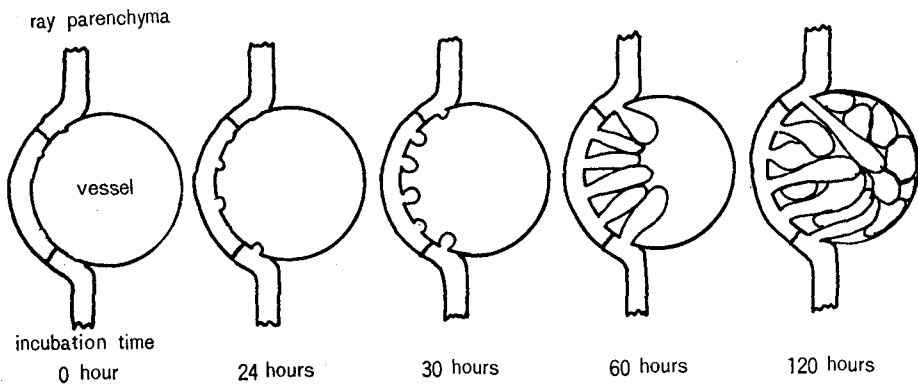


Fig. 4 Schematic representations of tyloses development from ray parenchyma cells.

3-2 道管周辺の柔細胞、とくに道管に接した放射柔細胞の変化

道管周辺には種々の柔細胞が存在していたがチロースを発生していたのは道管に接した単列の放射柔細胞だけであった。伐木時と培養開始時の柔細胞の構造には何らかの変化もなく、これら柔細胞群中には多量の starch grain が保有されていた (Fig. 5)。しかしこの starch grain の保有量は道管周辺で一様でなく、道管から離れた位置の柔細胞は5~10 μ の大径のものを数多く、道管に近いものではより小径のものを、そして道管に接した柔細胞では約1~2 μ の微細なものを少量含むだけとなった (Fig. 6)。柔細胞は nucleus, mitochondria, Golgi apparatus, ER, vesicle, plastid, ribosome 等の通常の細胞小器官を持っていたが、道管に接した放射柔細胞 (Fig. 6) を除いて vacuole の発達が著しく細胞質は疎な状態を呈していた (Fig. 5)。道管に接した放射柔細胞では細胞質は比較的密な状態であったが (Fig. 6) Golgi apparatus は少数でかつ cisternae のみからなり (Fig. 7), ER も発達していなかった。

培養24時間後には道管に接した放射柔細胞に顕著な変化が認められた。すなわち Golgi apparatus が著しく増加しかつ極めて多数の vesicle を伴ない、ER も増加し明瞭な r-ER の形態

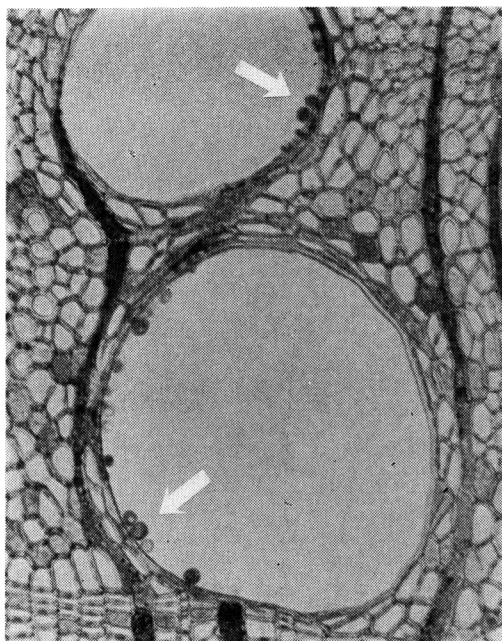


Fig.1 Incubation time 24 hours. Tylosis buds are generating from ray parenchyma cells contacted with vessels (see arrows). $\times 200$

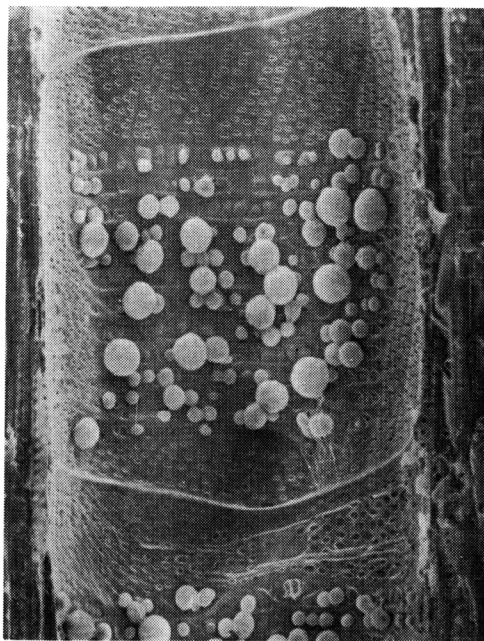


Fig.2 Incubation time 30 hours. A scanning electron micrograph observed from lumen side of vessel. Tylosis buds are ballooned spherically from the great part of ray-vessel pittings. $\times 200$

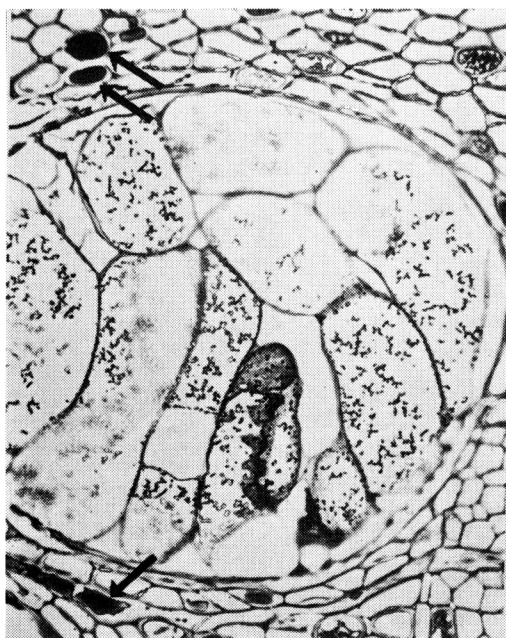


Fig.3 Incubation time 120 hours. Tyloses plug a vessel. Dark precipitates fill parenchyma cells (see arrows) and disperse in tyloses. $\times 200$

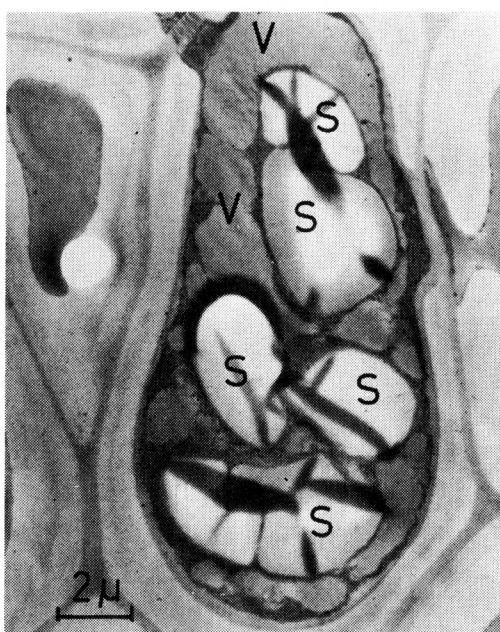


Fig.5 Incubation time 0 hour. A non-contact cell has a large number of starch grains(S) and vacuoles(V), while the cytoplasm is poor.

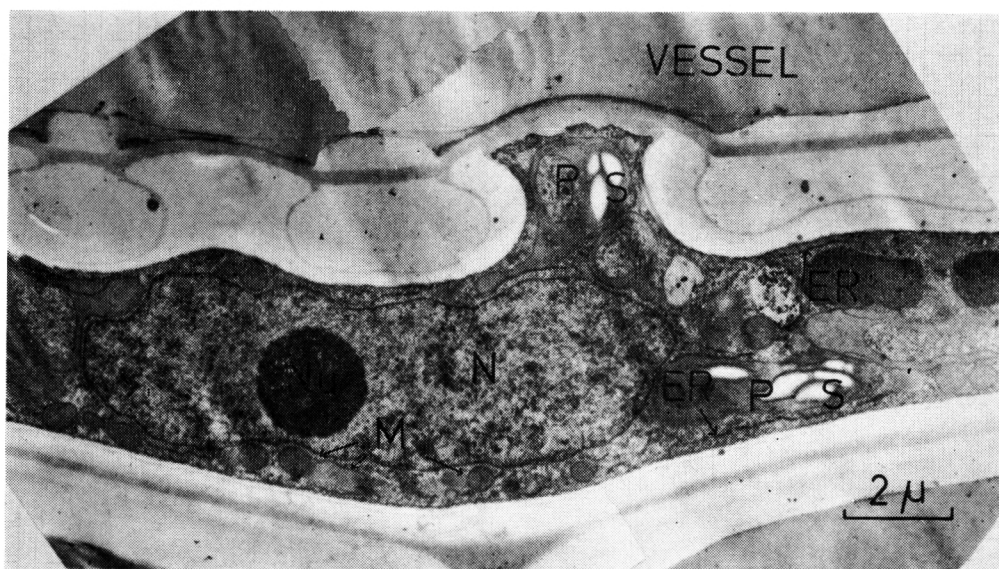


Fig.6 Incubation time 0 hour. A contact cell has rarely starch grains(S) and dense cytoplasm. N: nucleus. Nu. nucleolus. M: mitochondrion. P: plastid.

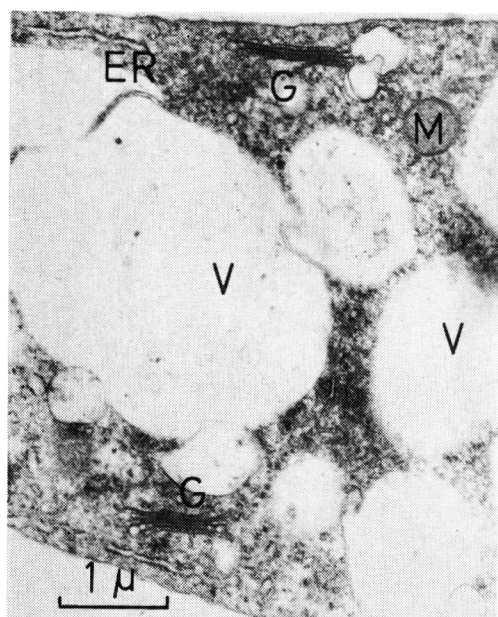


Fig.7 Incubation time 0 hour. Golgi apparatus(G) existed occasionally possess only a little vesicles. V: vacuole. M: mitochondrion.

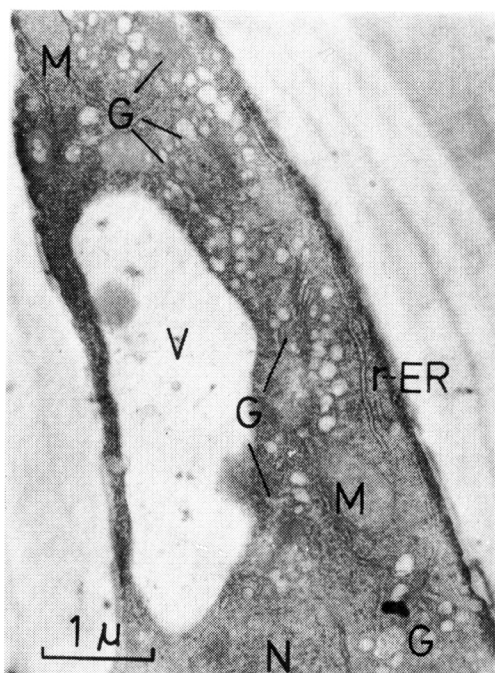


Fig.8 Incubation time 24 hours. Golgi apparatus(G) abundantly distribute in the contact cell and are accompanied with a great number of vesicles. Rough ER(r-ER) and mitochondrion(M) are also developed. N: Nucleus. V: vacuole.

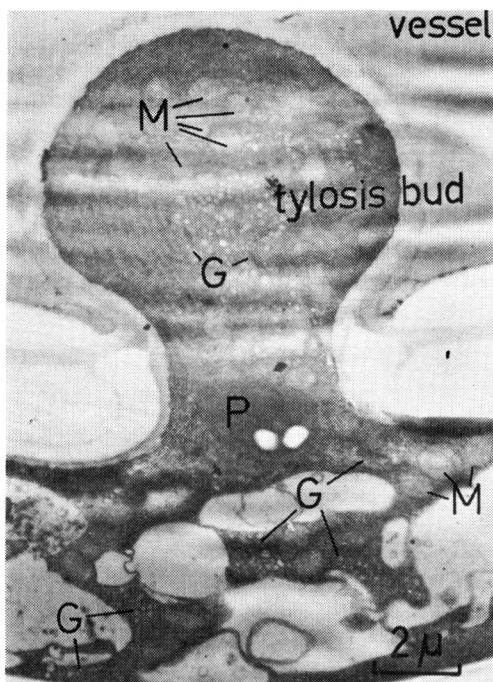


Fig. 9A Incubation time 24 hours. A contact cell and tylosis bud are packed with Golgi apparatus(G). r-ER, mitochondria(M), vesicles, etc.. P: plastid.

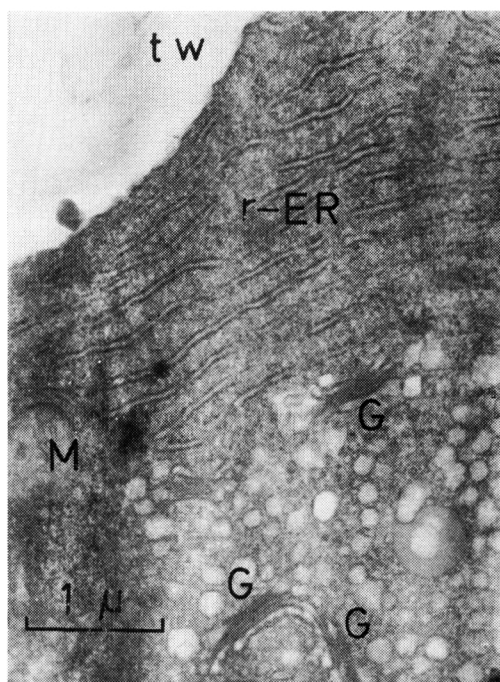


Fig. 9B A portion of tylosis bud of Photo A. Rough ER(r-ER) are multi-lamellated near the tylosis wall(tw).

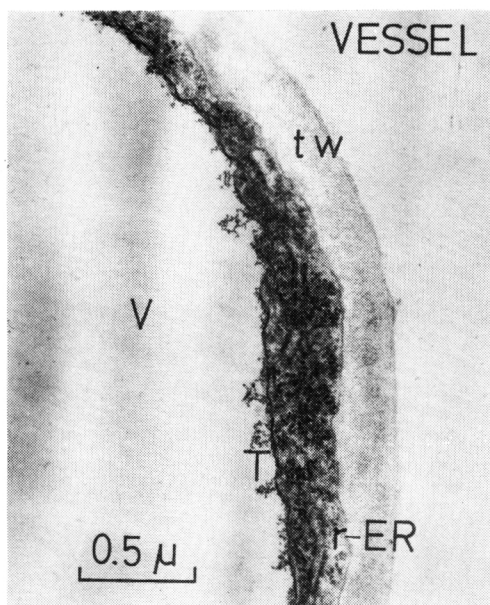


Fig. 10 Incubation time 60 hours. Cytoplasm exists in the narrow region between tylosis wall(tw) and tonoplast(T). V: vacuole.

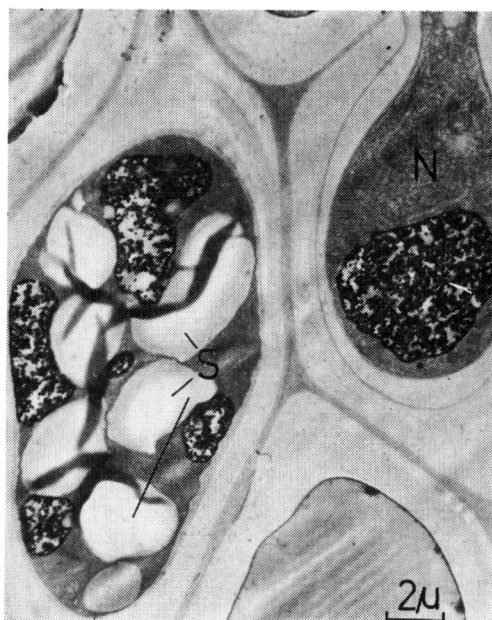


Fig. 11 Incubation time 60 hours. Dark precipitates disperse in vacuoles of non-contact cells. S: starch grain. N: nucleus.

を示した (Fig. 8)。細胞質は培養開始時よりもさらに密になり、Golgi apparatus, vesicle, ER, mitochondria, ribosome で充満していた (Fig. 9 A)。この段階で形成されたチロース芽の部分でも上述した細胞小器官で満たされ、層状の r-ER がチロース芽の縁辺部に、中央部には vesicle が多く見られた (Fig. 9 B)。

この時すでにチロース芽内に小さい vacuole が発生している場合もあった。一方道管に接していない柔細胞ではこのような顕著な変化は認められなかった。培養30時間後には道管に接した放射柔細胞の液胞化が進行し、チロース芽内でも巨大な vacuole が発生していた。培養60時間後にはチロース芽は急速に拡大していたが、この中では細胞質はチロース壁と巨大な vacuole の tonoplast とにはさまれた狭い領域に限定され、ここには r-ER と ribosome が普通に観察された (Fig. 10)。この時期から道管に接していない柔細胞にも変化が生じ、その starch grain が道管に近い領域の柔細胞から順に消失し始め、同時にその vacuole 中に黒色の沈着物が観察されるようになった (Fig. 11)。培養120時間で starch grain の消失はさらに進行し黒色の沈着物は柔細胞を満たしていた。この沈着物はチロース内にも (Fig. 3)、また柔細胞に隣接した仮道管の内壁上にも存在していた。しかしこの段階でチロースの褐色化やしばみといったチロースの壊変を示す徴候が認められたので培養をこの時点で打切った。

以上の観察結果の中でつぎの2点が注目される。すなわち、1) 道管に接した放射柔細胞は他の柔細胞に比べて細胞質が密であり、さらに培養することによりその Golgi apparatus や ER の形態が変化し数も増大する。これに対し他の柔細胞ではこのような細胞小器官の著しい変化は認められない。2) 道管に接していない柔細胞は多量の starch grain を保有していたが、これらはチロースの発達とともに消失し、かわって黒色の沈着物が vacuole 中に現れる、の2点である。1) については、培養開始時には道管に接した柔細胞の個々の細胞小器官は活動停止型を示しており、培養によって24時間後にはその形態を活動型に変え、その数も増大させると同時にチロース芽の発生が開始されることは、これらの細胞小器官がチロース形成に直接的に関与していることを示唆する。なぜならもしこれら細胞小器官の変化が単に培養時の温度上昇による活性化の結果とするならば、同じ条件下にある他の柔細胞にも同様の変化が現れると考えられるからである。この観察結果は培養チロースの形成に伴う細胞質の変化が無いとする Meyer の観察と明らかに相違する。この差異は当研究がコナラの落葉後の休止期にサンプリングし、前項で推定したように Meyer は生育期にサンプリングしたことによるのであろうか。2) についてはこれら starch grain は新生されるチロース壁の成分として、またその形成に必要な代謝活動のエネルギー源として消費されたのであろう。そしてこれら starch grain の消失と逆比例的に現われる黒色の沈着物は四酸化オスミウムとの反応性からみてタンニン系もしくはフェノール系の代謝産物であろう。いずれにしてもチロースの発達がそれを発生させる放射柔細胞だけの働きによるのではなく道管周辺の柔細胞群全体の活動によって進行することは興味深い。今回の研究は培養チロースの形成という短期間に生じるダイナミックな観察対象について2, 3の問題点を指摘したが、今後さらに詳細に観察を進めるならば興味深い事実が多く示されるであろう。

引用文献

- 1) MEYER, R. W. : Tyloses development in white oak. *Forest Prod. J.* **17** (12), 50—56 (1967).
- 2) GERRY, E. J. : Tyloses : Their occurrence and practical significance in some American woods. *J. Agric. Res.* **1**, 445—469 (1941).
- 3) CHATTAWAY, M. M. : The development of tyloses and secretion of gum in heartwood formation. *Aust. J. Sci. Res.* **B** (2), 227—240 (1949).

- 4) JURÁŠEK, L. : The origin of tyloses in beech wood. *Drev. Vyskum*, **1**, 7—15 (1956).
- 5) FOSTER, R. C. : Fine structure of tyloses, *Nature*, **204**, 494—495 (1964).
- 6) SCHMID, R. : The fine structure of pits in hardwoods. In "Cellular Ultrastructure of woody plants", W. A. CÔTÉ, Jr. ed. Syracuse Univ. Press, Syracuse, N. Y., 1965.
- 7) KORAN, Z. and W. A. CÔTÉ : The Ultrastructure of tyloses, *ibid.*
- 8) 大串博行 : コナラの孔圏道管におけるチロースの発生, 京大農学部林産工学科課題研究論文 (1973)
- 9) 柴田直明 : 種々の条件下におけるコナラの人工チロースの観察, 京大農学部林産工学科課題研究論文 (1975)

Résumé

The parenchyma cells surrounding the earlywood vessel in the current year of *Quercus serrata* Thunb. were studied in relation to the tylosis formation. Specimen blocks were incubated by the method of MEYER¹⁾ at 26°C during the winter. Various stages of tylosis development were examined with a binocular or a scanning electron microscope every six hours, and then small blocks were fixed by a glutaraldehyde-osmium tetroxide combination and embedded in epoxy resin for a light and a transmission electron microscopies.

Results obtained were as follows: (1) Tylosis buds were generated from ray parenchyma cells contacted with vessel (contact cells) during the 24 hours of incubation (Fig. 1), ballooned spherically from the greater part of the ray-vessel pittings throughout a period of 30 hours (Fig. 2), extended cylindrically to half of the vessel diameter during a period of 60 hours, and plugged vessels during a period of 120 hours (Fig. 3). This process is illustrated in Fig. 4.

(2) The parenchyma cells which were not contacted with the vessel (non-contact cells) possessed a large number of starch grains and also poor cytoplasm (Fig. 5), but the contact cells possessed a more dense cytoplasm and rarely starch grains in the incubation time of 0 hour (Fig. 6). However, it is suggested that these contact cells, to say nothing of the non-contact cells, showed a dormant cell structure, judging from the features of individual organelles (Fig. 6, 7). During the 24 hr. time period, the cytoplasmic features were changed in the contact cells. Golgi apparatus, ER, mitochondria and vesicles increased remarkably (Fig. 9). Golgi apparatus were accompanied by many vesicles, and ER showed rough type (Fig. 8). The non-contact cells, however, showed little change. During the 30 hr. time period, large vacuoles were developed in the contact cells and in the tylosis buds. The tyloses possessed huge vacuoles during the 60 hr. time period, and the cytoplasm was limited in the narrow region between the tylosis walls and the tonoplasts (Fig. 10). Ribosomes and r-ER were often observed in this region. Starch grains contained in the non-contact cells were beginning to decrease and dark precipitates appeared in the vacuoles (Fig. 11). During the 120 hr. time period, starch grains disappeared and dark precipitates filled the parenchyma cells, coating the wall surface of the neighboring tracheids, and were subsequently dispersed in the tyloses (Fig. 3).

MEYER has shown that the enlargement of the tylosis buds depends upon vacuolation. However the increases and transformations of golgi apparatus, ER, etc. of contact cells after incubation are contrary to MEYER's observation. Such changes which occurred during the 24 hours incubation time followed by tylosis formation, while little change in the non-contact cells, suggest that these organelles must be concerned in tylosis formation. Non-contact cells may also have part in tylosis development, because they lose their starch grains. These starch grains may be utilized for newly formed tylosis walls and their metabolism. The dark precipitates may thus be a metabolite.