

論文

針葉樹における形成層および木部分化の再活動に関する研究

織部雄一朗⁽¹⁾Yuichiro Oribe⁽¹⁾

Studies on the Reactivation of the Cambium and Xylem Differentiation in Conifers

要旨：本研究では、針葉樹について、休眠期から再活動時期にかけて冬期に休止している形成層帯細胞の分裂活動と木部分化活動の再開を制御している機構を解明することを目的として、温帯性の常緑性樹種であるスギ (*Cryptomeria japonica*)、冷温帯性の常緑性樹種であるトドマツ (*Abies sachalinensis*) と落葉性樹種であるカラマツ (*Larix kaempferi*) を用いて、(1) 形成層帯細胞の分裂・木部分化の再開と貯蔵デンプン、(2) 休眠期に加温した樹幹部における形成層活動と貯蔵デンプン、(3) トドマツとカラマツにおける形成層活動再開の制御機構、(4) 形成層帯細胞の分裂再開とデンプンの動態について実験をおこなった。

樹幹内において形成層帯細胞の分裂の再開やその後の木部分化活動は、樹種によって特異的な出現様式を示した。その原因として落葉性と常緑性の違いのほかに、形成層帯付近の貯蔵組織内に貯蔵されているデンプンが密接に関係していることを明らかにした。さらに、休眠状態にある形成層の活動を促すために樹幹を局部的に2週間加温し、落葉性樹種 (カラマツ)、常緑性の温帯性樹種 (スギ) と冷温帯性樹種 (トドマツ) では、加温処理に対する反応性が異なる傾向を示すことを見出した。すなわち、常緑性の温帯性樹種 (スギ) では、加温によって形成層帯細胞が活発に分裂し、形成層派生物が木部へと分化するのに対して、常緑性の冷温帯性樹種 (トドマツ) では、細胞分裂は比較的活発であるが、形成層派生物の木部分化はほとんど起こらなかった。落葉性樹種 (カラマツ) では、細胞分裂が起こるものの、その活性は著しく低く、木部分化はほとんど起こらないことを明らかにした。それぞれの樹種について、休眠期に形成層帯付近の柔細胞内に貯蔵されているデンプンの挙動を調べたところ、貯蔵デンプンの量は気温が低下すると減少し、上昇すると増加する傾向を示した。また、休眠期の加温処理によって師部柔細胞内の貯蔵デンプンの量は、カラマツとスギでは増加し、トドマツでは減少することを確認した。休眠期に柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は、気温に応じて変動しており、加温すると基本的には増加するが、再開した形成層活動による消費と光合成産物の供給のバランスによってきまっていることが示された。そこで、休眠状態にあるカラマツとトドマツの樹幹を長期にわたって局部的に加温し、その過程における形成層活動の変化と貯蔵デンプンの動態を追跡した。その結果、カラマツでは、貯蔵デンプンを代謝して分裂を継続するための条件が揃っていないことが、休眠期に形成層帯細胞の分裂活動と木部分化活動の細胞を制御する要因であると考えた。一方、トドマツでは、生育地の冬期の気温が氷点よりもかなり低くなることによって形成層活動に必要な物質の旧葉における生産と樹幹内における移動が抑制されていることが、再活動を制御する要因であると推察した。さらに、局部加温の手法を用いることによって、紡錘形形成層帯細胞の放射列内では最初に師部側で細胞分裂が再開すること、また、この再開と貯蔵デンプンから供給される養分の動態が密接に関係していること、そして、形成層再活動に伴って微細管、すなわち前期前微細管束、紡錘体微細管とフラグモプラスト微細管が、特異的に局在することを明らかにした。

結論として、針葉樹では、休眠期には形成層活動に必要な内部因子については既に条件が満たされているが、冬期の低温によって活動が抑制されているために、春期に気温が上昇するとシュートや針葉の成長開始とは無関係に形成層活動が再開する。休眠期に細胞分裂と木部分化を制御する要因は、樹種、落葉性と常緑性、生育地によって異なる。

(1) 林木育種センター関西育種場

〒709-4335 岡山県勝田郡勝央町植月中1043

Kansai Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center

1043 Uetsukinaka, Shoo, Katsuta, Okayama 709-4335 Japan

本論文は東京農工大学博士号 (農学) 請求論文である。

はじめに

わが国には、世界的に見て貴重な大規模の歴史的木造建築物が数多く現存している。このことから、われわれの祖先は古くから木材を有効に利用してきたことが伺える。2000年の統計（林野庁 2002）によると、わが国では、年間に約1億100万 m^3 の木材が消費されており、一戸建て住宅の木造率は8割を上回っている。このように、現在でも木材に対する需要は高い。一方、木材は生物材料であるために永久的に再生産が可能である。わが国の森林は、国土の約7割を占め、1年間に消費される木材の材積を毎年蓄積できる能力をもっている（林野庁 2002）。したがって、木材は資源の少ないわが国にとって持続的に自給が可能で貴重な生物資源であるといえる。

近年、わが国では外国から輸入される木材の消費が増加する傾向にあり、2000年の木材自給率は18%と2割を下回った（林野庁 2002）。木材輸入量増加の原因としては、第1に輸入木材が価格の面で国産材よりも優れていることが挙げられる。しかしながら、輸入木材の輸送に消費されるエネルギーは国産材の10~40倍かかるとの試算がある（藤原 2000）。また、世界的に省エネルギーや化石燃料の消費による環境への負荷に対して関心が高まっている。さらに、国産材価格の低迷などによる採算性の低下から林業経営離れが進んだ結果、保育管理がなされなくなった人工造林地が増加し続けており、わが国の森林荒廃は深刻化しつつある（林野庁 2002）。このような現状を踏まえて、国土の大半が森林に覆われ森林資源が豊富なわが国においては、経済的な視点だけでなく、エネルギー対策と環境問題に加えて、森林の公益的機能の発揮と森林資源の活用という視点からも国産材利用をさらに推進することが急務である。

外国から輸入される木材は、価格が低だけでなく品質と性能も安定している。このような外材に対して国産材が競争力をつけるためには、育林、伐採と搬出作業の機械化による生産経費削減に加えて品質と性能が優れた木材の安定供給が望まれる。近年、構造用製材の等級区分に許容応力度などの力学的性質が評価基準として導入され、構造計算に基づいた大規模な木造構造物が多く建築されるなど、わが国の主要造林樹種である針葉樹については木材の力学的性質が重要視される傾向にある。このような状況下では、力学的性質が優れた木材への要求度はますます増加する可能性がある。

木材は生物材料であるために、力学的性質が個体間と個体内で著しく変動する。一般に、力学的性質の変動は木材を利用する上では大きな欠点と見なされており、林木の生育条件の管理による改善や育種による改良が試みられている（Panshin and de Zeeuw 1980；Zobel and van Buijtenen 1989；Zobel and Jett 1995）。いずれにせよ、木材の力学的性質の変動を少なくするためには、これらの性質が個体間と個体内で変動する仕組みを明らかにする必要がある。

密度は木材の力学的性質に影響する最も重要な因子の1つである（伏谷ら 1985）。針葉樹材では、一年輪内における密度の変動には、年輪幅、晩材率、早材および晩材の密度が関与している（久保 1985）。このうち年輪幅と晩材率に影響する因子としては、(1) 冬期の休眠状態にあった形成層帯が細胞分裂を再開する時期、(2) 早材形成期間の細胞分裂速度、(3) 木部形成活動によって生産される仮道管が早材から晩材へ移行する時期が挙げられる。木材の密度の変動を小さくするためには、これらの因子についてその制御機構を明らかにする必要がある。そこで、まず、針葉樹について冬期の休眠状態にあった形成層帯細胞の分裂再開の制御に関する過去の研究経過を調べた。

(1) 樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開

冬期に分裂を休止していた形成層帯細胞の接線面分裂の再開と、その後の木部形成が樹木全体においてどのように制御されているのかについては、多くの研究者達によって議論されてきた。樹木全体においてこれらの活動が最初に始まる部位と時期についての詳細な観察は、形成層帯細胞の分裂再開と木部形成にそれぞれ関係している因子を特定するために有効な手段であり (Denne 1979; Knudson 1913)、これまでに、いくつかの樹種についておこなわれている (Savidge and Wareing 1981a)。

初期の研究では、春期に新たに木部へと分化を始めた細胞がはじめて確認される時期や樹幹の直径または周囲長が増加し始める時期、あるいは樹皮が剥離し易くなる時期を基準として形成層帯細胞の分裂再開時期を推定していた (Savidge and Wareing 1981a)。しかしながら、木部分化は形成層帯細胞の分裂再開時期よりも数週間遅れて始まること (Alfieri and Evert 1968; Brown 1970; Kutscha et al. 1975)、さらには、樹皮の剥離と深く係わっている師部分化や樹幹の直径と周囲長の増加が形成層帯細胞の分裂再開に先行して起こるとの報告 (Alfieri and Evert 1968; Brown 1912, 1915; Grillos and Smith 1959; Knudson 1913; Kutscha et al. 1975) があることを考慮すると、従来の基準をもとに得られた知見の信憑性には疑問が残る。したがって、形成層帯細胞の分裂や木部分化の再開時期を直接捉えることができる方法によって再度評価し直す必要がある。

形成層帯と分化中の細胞の顕微鏡観察は、硬さが著しく異なる木部と師部とに挟まれたこれらの軟弱な組織から切片を切削するために高度な技術を必要とするが、形成層帯細胞の分裂活動と形成層派生物の分化の状況を正確に把握することができる唯一の方法である。針葉樹では、いくつかの樹種で樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期の出現様式が光学顕微鏡を用いて調べられている。Priestley (1930) は、樹種を問わず形成層帯細胞の分裂は開序した芽の基部で最初に起こり、その後は主幹と枝において極めて求基的に広がっていくと結論している。一方、船田ら (1987) は、スギ (*Cryptomeria japonica*) とアカマツ (*Pinus densiflora*) の樹幹内では、形成層帯における細胞生産が一斉に起こることを示唆している。さらに、Brown (1912, 1915) は、肥大成長量が大きく異なるマツ (*Pinus*) 属 2 種について、形成層帯細胞の分裂が樹幹の頂端から少し下方に離れた部位で最初に始まり、そこから上下方向へ伝わって行くことを報告している。このような出現様式は、同じマツ属の *Pinus sitchensis* でも観察されている (Denne 1979)。Savidge and Wareing (1981a) は、*Pinus contorta* var. *latifolia* について木部形成の出現性を詳細に調べた結果、形成層帯細胞の分裂と同様に木部分化がシュートからいくらか下方の部位で最初に始まることを観察している。以上の報告を見る限り、針葉樹の樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の出現様式については一定の見解を得るに至っていない。さらに、木部形成の開始時期には、樹齢、形成層帯の年齢、樹高、樹皮の厚さ、日当たりの状況 (Brown 1912) や生育地の気温 (Priestley 1930) などが影響を及ぼすことが示唆されている。したがって、樹種はもとより、同じ樹種でも個体の性状、形態や生育環境についても考慮しながら、樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期の出現様式について、これからも詳細な観察を継続していく必要がある。

(2) シュートおよび針葉と形成層活動

樹冠の量や位置が樹木の肥大成長に影響を及ぼすことは経験的に知られており、実験的にも確かめられている (Denne 1979; 船田ら 1987; Funada et al. 1990)。針葉樹ではシュートが木部の形成過程と同調して成長することから (Denne 1976)、樹冠を構成する器官の中では、ことに芽と新葉が樹木の肥大成長において重要な働きを

していると考えられている。さらに、マツ属では、摘芽や摘葉処理を施すと肥大成長が著しく抑制され、その程度は樹幹の下方の部位ほど著しいことから、旧葉にも芽や新葉と同じ働きがあり、形成層活動に必要な物質がこれらの器官で生成されて樹幹内を求基的に移動していることが示唆されている (Savidge and Wareing 1981a; 尾中 1950a, b)。

針葉樹には常緑性と落葉性の樹種があり、両者の違いは冬期における旧葉の存否である。常緑針葉樹では、一年を通じて形成層活動に必要な物質が旧葉で生成されて形成層帯へと供給されており、形成層帯の細胞が休眠状態にある冬期でも形成層帯が活動できる内的条件が揃っている可能性は高い。一方、冬期には針葉を持たない落葉針葉樹においては、休眠状態にある形成層帯では形成層活動に必要な内的条件が揃っているとは考え難い。したがって、常緑針葉樹と落葉針葉樹では、樹幹内において形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期は異なった出現様式を示すと考える。常緑針葉樹と落葉針葉樹を比較することは、針葉樹の樹幹内において形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期を決定している機構を明らかにする上で有効である。

(3) 形成層活動に係わる内部因子

春期に起こる形成層帯細胞の分裂再開は、樹木に内生している化学物質 (内部因子) と環境要因 (外部因子) によって誘導されていると考えられてきた (Savidge and Wareing 1981a)。形成層活動を制御する内部因子の 1 つとしてインドール酢酸 (IAA) が注目されている (Wareing et al. 1964; Larson 1969; Brown 1970; Savidge and Wareing 1981a; Little and Savidge 1987; Lachaud 1989; Aloni 1991; Little and Pharis 1995)。成長している芽は維管束内で極めて求基的な移動特性を示す IAA の重要な供給源であるという知見と、IAA は休眠状態にある形成層帯には存在せず、形成層帯に内生する IAA の量は形成層帯の活動期に最大になるという考え (Larson 1962) から、木部形成の樹幹内変動と季節変化はすべて IAA によって制御されているという仮説が立てられ、この仮説は現在でも支持されている (Sundberg et al. 2000)。しかしながら、形成層帯に内生する IAA の量と形成層活動の間には明確な関係は示されておらず、形成層活動における IAA の役割については統一した見解が得られていない (Sundberg et al. 2000)。さらに、形成層帯が休眠状態にある時期でも、¹⁴C で標識した外生 IAA はシュート内と樹幹内を求基的に移動し (Little 1981; Savidge and Wareing 1982; Odani 1985)、形成層帯には比較的高レベルの IAA が内生している (Sundberg et al. 1991; Uggla et al. 1996; Funada et al. 2001, 2002) ことが報告されている。これらの結果からは、休眠状態にある形成層帯では、IAA の欠乏が原因で細胞分裂が停止していることや、IAA が供給されるために細胞分裂が再開していることは考え難い。したがって、IAA 以外の内部因子が形成層活動を制御している可能性がある。

針葉で生成された光合成産物は、ショ糖などの可溶性成分として樹幹内を移動して形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンとして蓄えられる (Zimmermann 1971; Blechschmidt-Schneider 1990)。貯蔵デンプンは、細胞生産に必要な物質とエネルギーの供給源であり (Kramer and Kozlowski 1960; Krabel 2000)、細胞・組織培養系における維管束の分化の制御に IAA とともに深く関わっているショ糖 (Wetmore and Rier 1963; Warren Wilson et al. 1994) を形成層帯に供給していることが示されている (Zimmermann 1971; Blechschmidt-Schneider 1990)。さらに、形成層帯細胞の休眠期から分裂再開時期にかけて、デンプンとショ糖の相互間の変換が起こる (Krabel et al. 1994) ことや、ショ糖がソースとシンクの代謝を調整する遺伝子の発現を制御できることから、ショ糖は形成層帯細胞の分裂再開において最も重要な因子であることが示唆されている (Lachaud et al. 1999)。

形成層帯細胞が休眠状態にある時期から活動を再開する時期にかけて形成層帯付近における貯蔵デンプンの局在性を観察することによって、光合成産物と貯蔵デンプンから派生するショ糖などの可溶性成分の充足状況を把握することができる。また、デンプンは切片上でヨウ素-デンプン反応によって感度良く検出できる（長倉ら 1998）ので、顕微鏡観察によってその局在性を容易に調べることができる。しかしながら、デンプンなどの貯蔵物質に注目し、針葉樹について樹幹内における形成層帯細胞の分裂・木部分化の再開と内部因子の充足状況との関係を調べた報告は少ない（Gordon and Larson 1968；Parkerson and Whitmore 1972；Savidge 1991；Sundberg et al. 1993）。

(4) 形成層活動に係わる外部因子

春期に気温が上昇すると形成層帯細胞は分裂を再開することから、温度は形成層帯における細胞分裂の再開を誘導する外部因子の1つであると考えられる。温帯に生育している常緑針葉樹である *Pinus contorta* var. *latifolia* と *Picea sitchensis* については、形成層帯が休眠状態にある時期に樹幹を局部的に温めると、加温処理を施した部位において形成層帯細胞が分裂を再開することが報告されている（Savidge and Wareing 1981a；Barnett and Miller 1994）ことから、常緑針葉樹については形成層の再活動の誘導因子が温度である可能性は高い。しかしながら、*Pinus contorta* var. *latifolia* では、加温処理によって誘導された形成層帯細胞の分裂は活発ではなく、形成層派生物の木部分化は誘導されていない（Savidge and Wareing 1981a）ことから、温度以外にも形成層活動の再開に係わっている因子があるかもしれない。また、落葉針葉樹や寒冷な地域に生育している常緑針葉樹については形成層活動の再開と温度の係わりは調べられていない。さらに、形成層帯が休眠状態にある時期に形成層活動に必要な外部因子についてだけ条件を満たすことは、形成層帯細胞の分裂再開に必要な内部因子の充足状況を調べるために有効である。形成層休眠期に形成層活動を制御している因子を明らかにするためには、様々な気候のもとで生育している常緑針葉樹と落葉針葉樹についても加温処理に対する形成層活動の反応性を調べる必要がある。

(5) 形成層活動の再開に関する研究と実験モデル系

形成層活動の再開に関する一般的な概念は、温帯に生育するさまざまな樹種から得られた知見に基づいている（Catesson 1994；Farrar and Evert 1997a）。形成層活動の再開と関係がある現象を詳しく調べるためには、例えば、*Aesculus hippocastanum*（Barnett 1992）と *Robinia pseudoacacia*（Farrar and Evert 1997a, b）についておこなわれた詳細な研究に見られるように、長期間にわたり短い間隔で試料を頻繁に採取しなければならず、多大な時間と労力を必要とする。近年、ヒヤクニチソウ（*Zinnia elegans*）の葉肉細胞の培養系とシロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）に代表される草本植物から得られた実験モデル系は、植物学の研究において多大な成果をもたらしている。しかしながら、これらの草本植物由来の実験モデル系は、樹木の二次維管束組織を対象にした研究には適していない（Chaffey 1999）。したがって、樹木の形成層活動の再開に係わる現象を経時的に調べるためには新たな実験モデル系が必要である。

形成層帯が休眠状態にある時期にシュートや幹から採取した形成層帯を含む試料を、形成層活動に適した生育条件下に置くことで形成層帯を休眠から再活動までの色々な状態にすることができる。例えば、*Abies balsamea* では、このような実験モデル系を用いた研究から、休眠の異なる2つの段階、すなわち休眠が内部因子によって

維持されているRest期と外部因子によって維持されているQuiescent期に見られる形成層帯の組織化学・構造的特徴とこれらの休眠状態にある形成層帯の外部因子に対する反応性について多くの知見が得られている (Little and Bonga 1974; Riding and Little 1984, 1986; Sundberg et al. 1987; Mellerowicz et al. 1992)。さらに, Rest期からQuiescent期への移行およびQuiescent期から再活動期への移行と関係がある現象についても報告されている (Little and Bonga 1974; Riding and Little 1984, 1986)。しかしながら, シュートや幹から切り取った形成層帯を含む試料が, 完全な植物体を反映した実験モデル系としての条件を十分に満たしているかという点については疑問が残る。

形成層帯が休眠状態にある時期に局部的に温めた常緑針葉樹の樹幹部では形成層帯細胞の分裂が再開する (Savidge and Wareing 1981a; Barnett and Miller 1994)。このような局部的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部は, 形成層活動の再開に係わる現象を研究する上で, 有効で完全な植物体由来の実験モデル系となる可能性がある。そこで, 実験モデル系としての有用性を検討するためには, 局部的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部について, 形成層活動の再開と関係がある現象を詳しく調べる必要がある。

本研究においては, 針葉樹について冬期の休眠状態にあった形成層帯細胞の分裂再開の制御に関する過去の研究における問題を解決するために, 次の4つの項目について実験をおこなった。

第1章 形成層帯細胞の分裂・木部分化の再開と貯蔵デンプン

第2章 休眠期に加温した樹幹部における形成層活動と貯蔵デンプン

第3章 トドマツとカラマツにおける形成層活動再開の制御機構

第4章 形成層帯細胞の分裂再開とデンプンの動態

第1章では, 形成層帯細胞の分裂および木部分化の再開時期・活動状況の樹幹内における変動と形成層休眠期における針葉の存否ならびにシュートの成長との関係を明らかにする。さらに, 形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期・活動状況と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係について調べる。第2章では, 形成層休眠期に局部的な加温処理を施した樹幹部における形成層帯の活動状況を調べる。また, 形成層休眠期における針葉の存否と生育地の気候による加温処理に対する形成層活動の反応性の違いについて調べる。さらに, 加温処理に対する形成層帯細胞と形成層派生物の反応性と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係について調べる。第3章では, 形成層休眠期に加温処理を施した落葉針葉樹と寒冷な地域に生育している常緑針葉樹において, 形成層帯細胞の分裂と木部分化を制御している機構を明らかにする。第4章では, 形成層休眠期に局部的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部の形成層帯付近における貯蔵デンプンの動態と形成層帯において細胞分裂が再開する位置の変遷を経時的に観察し, 温度および貯蔵デンプンと形成層帯における細胞分裂の再開との関係について調べる。さらに, 形成層休眠期に局部的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹について, 形成層帯細胞の分裂再開に係わる現象を研究するための完全な植物体実験モデルとしての有用性を評価する。

第1章 形成層帯細胞の分裂・木部分化の再開と貯蔵デンプン

第1節 形成層帯細胞の分裂・木部分化の再開時期と活動状況

1.1 緒言

針葉樹については、樹幹内における形成層帯細胞の分裂開始時期が詳しく調べられてきたが、一定の見解を得るに至っていない。一方、分裂を再開した形成層帯から派生した形成層派生物の木部分化が、樹幹内において再開する時期についてはあまり調べられていない (Savidge and Wareing 1981a)。樹幹内において形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の再開を制御している機構を明らかにするためには、いろいろな樹種や同じ樹種でも生育条件や施業が異なる林分の個体について詳細な観察をおこなっていく必要がある。

本節では、落葉針葉樹としてカラマツと常緑針葉樹としてスギを用いて、形成層帯細胞の分裂および木部分化の再開時期・活動状況の樹幹内における変動と形成層休眠期における針葉の存否ならびにシュートの成長との関係を調べた。

1.2 材料および実験方法

1.2.1 供試木

供試木には、山梨県東山梨郡牧丘町小檜山山麓の民有林内の35年生カラマツ (*Larix kaempferi* Carr.) 林分と26年生スギ (*Cryptomeria japonica* D.Don) 林分から成長が良好で樹形の類似する個体を10本ずつ選定した (Table 1-1)。明らかに形成層帯の細胞が休眠状態にあると思われる1989年3月9日からほぼ10日間隔で各林分から1本ずつ供試木を伐採した。

Table 1-1. Mensurational characteristics of the sample trees.

Collection date	<i>Larix kaempferi</i> (n=10)		<i>Cryptomeria japonica</i> (n=10)	
	Height (m)	Crown ratio (%)	Height (m)	Crown ratio (%)
1989				
March 9	18	28	16	44
March 19	18	30	14	35
March 28	20	35	18	46
April 7	19	30	15	36
April 18	20	23	17	38
April 28	19	29	15	37
May 9	17	37	14	37
May 18	18	39	15	23
May 27	20	25	16	45
June 15	19	33	15	30

1.2.2 試料採取および観察試料の作製

伐採した個体の樹幹から、地上高0.2mの部位を起点として1ないし2m間隔で15個の円盤を採取した。各円盤の同一方向に位置する部位から形成層帯と若干の師部および木部を含み放射方向と接線方向および軸方向の長さが10mmの大ブロックまたは1mmの小ブロックを切り出した。

大ブロックはFAA (ホルムアルデヒド: 酢酸: 70%エタノール=5:5:90) に3日間浸漬して組織を固定した後、一晚流水で洗浄した。固定したブロックは50, 70, 90, 100, 100%のエタノールシリーズに順次3日間ずつ

浸漬して脱水した後、ジエチルエーテル・エタノール等量液に3日間浸漬した。セロイジンを組織中に十分浸透させるために、50°Cの湯浴中でブロックをジエチルエーテル・エタノール等量液に対する濃度が2, 4, 6, 8, 10%のセロイジンシリーズにおおの3日間浸漬した。ブロックを紙製の包埋箱に入れ10%セロイジンを注ぎ、クロロホルム中でセロイジンを適当な硬さに硬化させた。セロイジン包埋したブロックを台木に取り付けた後、70%エタノールに2日間浸漬した。調整した試料から、THOMA・JUNG型マイクロトーム ((株)大和光機工業, 埼玉) で10 μ m厚の木口切片を切削した。

10 μ m厚の木口切片には、サフラニン-ファストグリーンFCF二重染色を施した。まず、リグニンを染色するために切片を0.5%サフラニン・50%エタノール溶液に4時間浸漬した後、50, 70, 90%のエタノールシリーズに順次5分ずつ浸漬した。次に、セルロース等の多糖類を染色するために切片を0.5%ファストグリーンFCF・エタノール溶液に15分浸漬した。二重染色した木口切片は、アセトンで脱セロイジン処理を施した後、キシレンに浸漬してからスライドガラスに載せてカナダバルサムで封入した。

円盤から採取した小ブロックは、前固定として0.1Mリン酸緩衝溶液で5%に希釈したグルタルアルデヒドで12時間浸漬処理を施した後、0.1Mリン酸緩衝溶液による1時間の洗浄を3回施した。次に、後固定液として0.1Mリン酸緩衝溶液で2%に希釈した四酸化オスミウムに15時間浸漬した。組織を二重固定した小ブロックは、0.1Mリン酸緩衝溶液で15分、蒸留水で10分洗浄した後、脱水するために30, 50, 70, 80, 90, 95, 100, 100%のアセトンシリーズに順次30分ずつ浸漬した。以上の処理はすべて4°Cでおこなった。脱水処理を施した小ブロックをアセトン・プロピレンオキシド等量液に20分、プロピレンオキシドに30分、プロピレンオキシドとSpurr樹脂 (Spurr 1969) を2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4の割合で混合したシリーズのうち2:1の混合液には30分、そのほかの混合液には順次1時間ずつ浸漬した後、Spurr樹脂に12時間浸漬した。以上の処理はすべて室温でおこなった。樹脂を浸透させた小ブロックをSpurr樹脂用の包埋板に入れ、Spurr樹脂を注いだ後、70°Cに調節した恒温器の中で8時間かけて樹脂を重合させた。Spurr樹脂で包埋した試料から、ガラスナイフを使ってウルトラマイクロトーム (ULTRACUT N; Reichert, Vienna, Austria) で1 μ m厚の木口切片を切削した。

1 μ m厚の木口切片をスライドガラスに載せ、10%アセトンを滴下し、加熱して切片をスライドガラスに張り付けた。切片の上に炭酸水素ナトリウムでpH9.0に調整した0.2%アズルB水溶液を滴下し、加熱して切片を染色した。スライドガラスの裏面に流水をかけて切片を洗浄し、乾燥させた後、Entellan (MERCK Ltd., Darmstadt, Germany) で封入した。

1.2.3 形成層帯細胞の分裂再開時期の判定

細胞分裂が再開した形成層帯では、接線面分裂によって新生した2つの娘細胞の間に新たに接線壁が形成されていく。形成途中の隔壁は母細胞の接線壁に比べて著しく薄いので、光学顕微鏡でも容易に識別することができる (Fig. 1-1b, d)。そこで、光学顕微鏡下で薄い接線壁が認められた形成層帯細胞は既に分裂を再開していたと判定した。この基準をもとに、樹幹内の各部位における形成層帯細胞の分裂再開時期を調べた。調べた部位の位置は、地際からの距離の樹高に対する百分率で示した (Fig. 1-2)。

1.2.4 形成層帯細胞と新生木部細胞の計数

冬期の休眠期には、形成層帯は前の成長期の終わりに形成された放射径が小さく細胞壁が厚い晩材仮道管に隣

接している (Fig. 1-1 a, c)。したがって、形成層帯細胞の分裂が再開した後に形成された細胞は、形成層帯と晩材仮道管の間に蓄積されていく。そこで、形成層帯細胞の分裂の活動状況を評価するために、供試木から採取したブロックについて形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞と形成層帯細胞について30放射列あたりの平均細胞数を算出した。

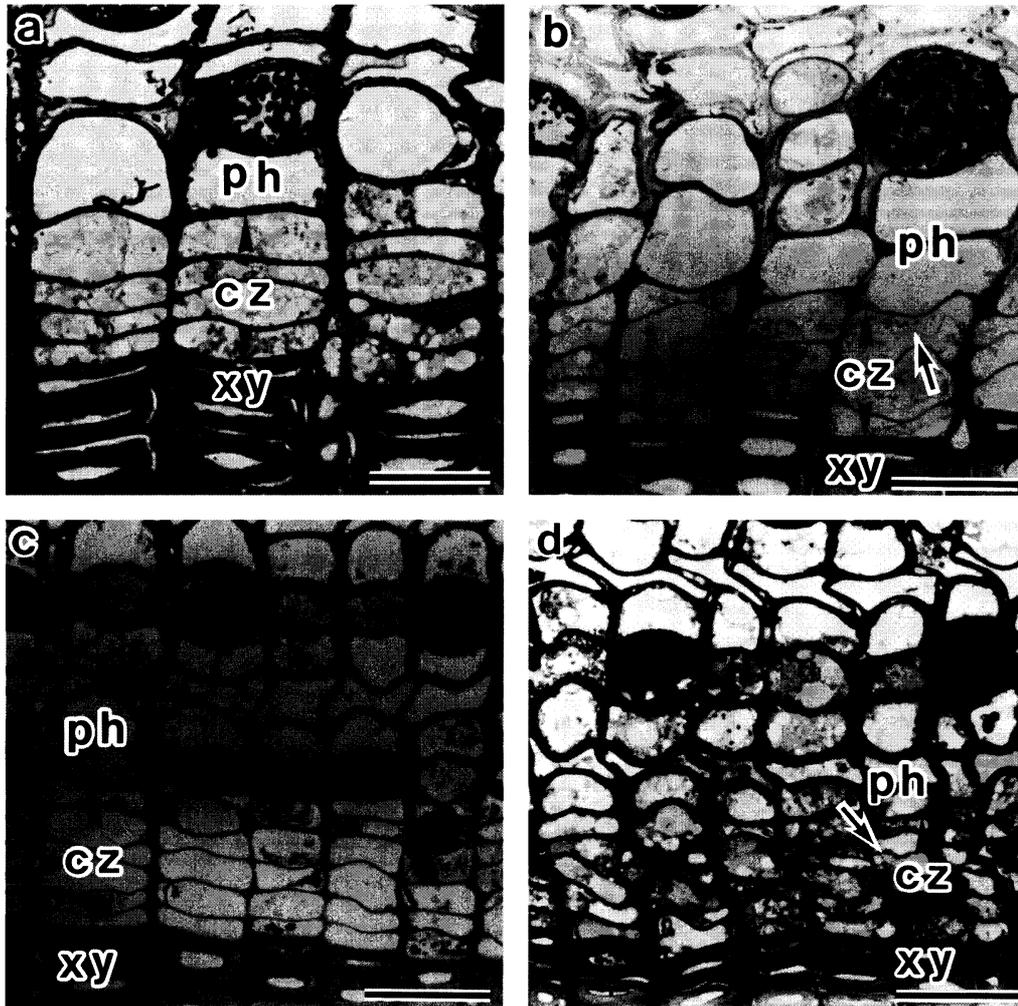


Fig. 1-1. Transverse view of the cambial zone in samples collected from stem portions of *Larix kaempferi* and *Cryptomeria japonica*, as viewed under a light microscope. a Dormant cambium in *L. kaempferi* collected on March 28 1989. The cambial zone was located between a tier of thick-walled xylem cells and phloem cells and was 4 to 5 cells wide during dormancy. b Re-initiation of cell division in the cambial zone in *L. kaempferi* collected on April 7 1989. Newly formed cambial zone cells with thin cell walls (e.g., arrow) were observed in the cambial zone. c Dormant cambium in *C. japonica* collected on March 19 1989. The cambial zone was located between a tier of thick-walled xylem cells and phloem cells and was 5 to 6 cells wide during dormancy. d Re-initiation of cell division in the cambial zone in *C. japonica* collected on March 28 1989. Newly formed cambial zone cells with thin cell walls (e.g., arrow) were observed in the cambial zone. cz, Cambial zone; ph, phloem; xy, xylem. Bars = 30 μ m

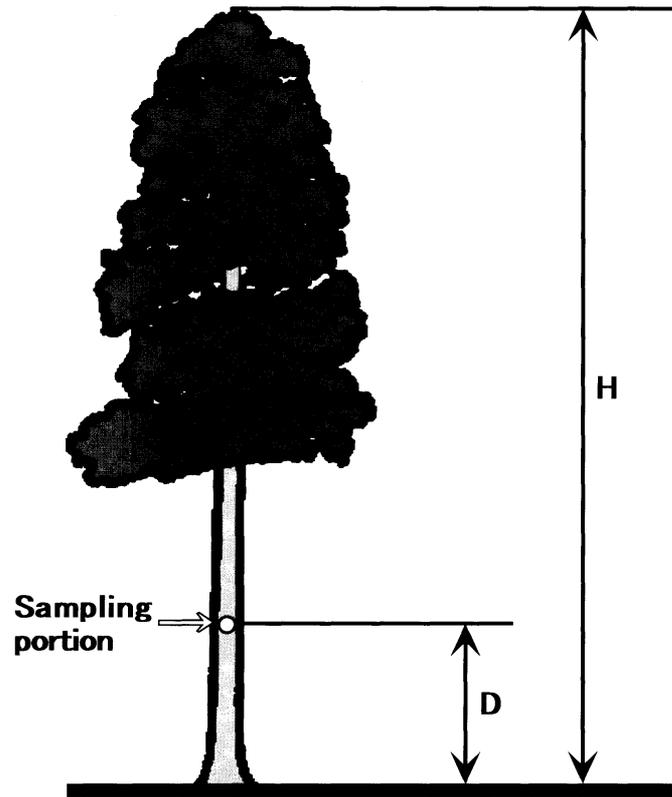


Fig. 1-2. Relative position of the sampling portion (R_p). $R_p = D/H \times 100(\%)$, where D is the distance from the ground level to the sampling portion and H is tree height.

1. 2. 5 木部分化帯細胞の区分と計数

接線面分裂を再開した形成層帯から派生した細胞の一部は、分裂機能を失って仮道管に分化する。形成層派生物の仮道管への分化過程は、細胞の放射径拡大に始まり、二次壁肥厚と木化を経て原形質が消失して完了する(島地ら 1976)。そこで、形成層帯と前の成長期の終わりに形成された晩材仮道管に挟まれた細胞を以下の基準に従って区分した。細胞の接線径に対する放射径の比が、最近接線面分裂した娘細胞の対の値よりも大きい細胞は放射径の拡大が起こっている拡大帯細胞とした(Uggla 1998, Fig. 1-3b)。二次壁はセルロースマイクロフィブリルが一定の方向に整然と配列するいくつかの層から構成されているので、偏光顕微鏡の十字ニコル下では光って見える(島地ら 1976)。そこで、偏光顕微鏡で観察したときに明るく輝いている細胞を二次壁肥厚帯細胞とした(Fig. 1-3a, b)。サフラニンによって細胞壁中のリグニンが赤く染まり原形質が消失している細胞は成熟仮道管とした(Fig. 1-3c)。以上の基準をもとに、樹幹内の各部位における形成層派生物の木部分化の再開時期を調べた。さらに、木部分化の活動状況を評価するために、拡大帯細胞、二次壁肥厚帯細胞と成熟仮道管について30放射列あたりの平均細胞数を算出した。調べた部位の位置は、地際からの距離の樹高に対する百分率で示した(Fig. 1-2)。

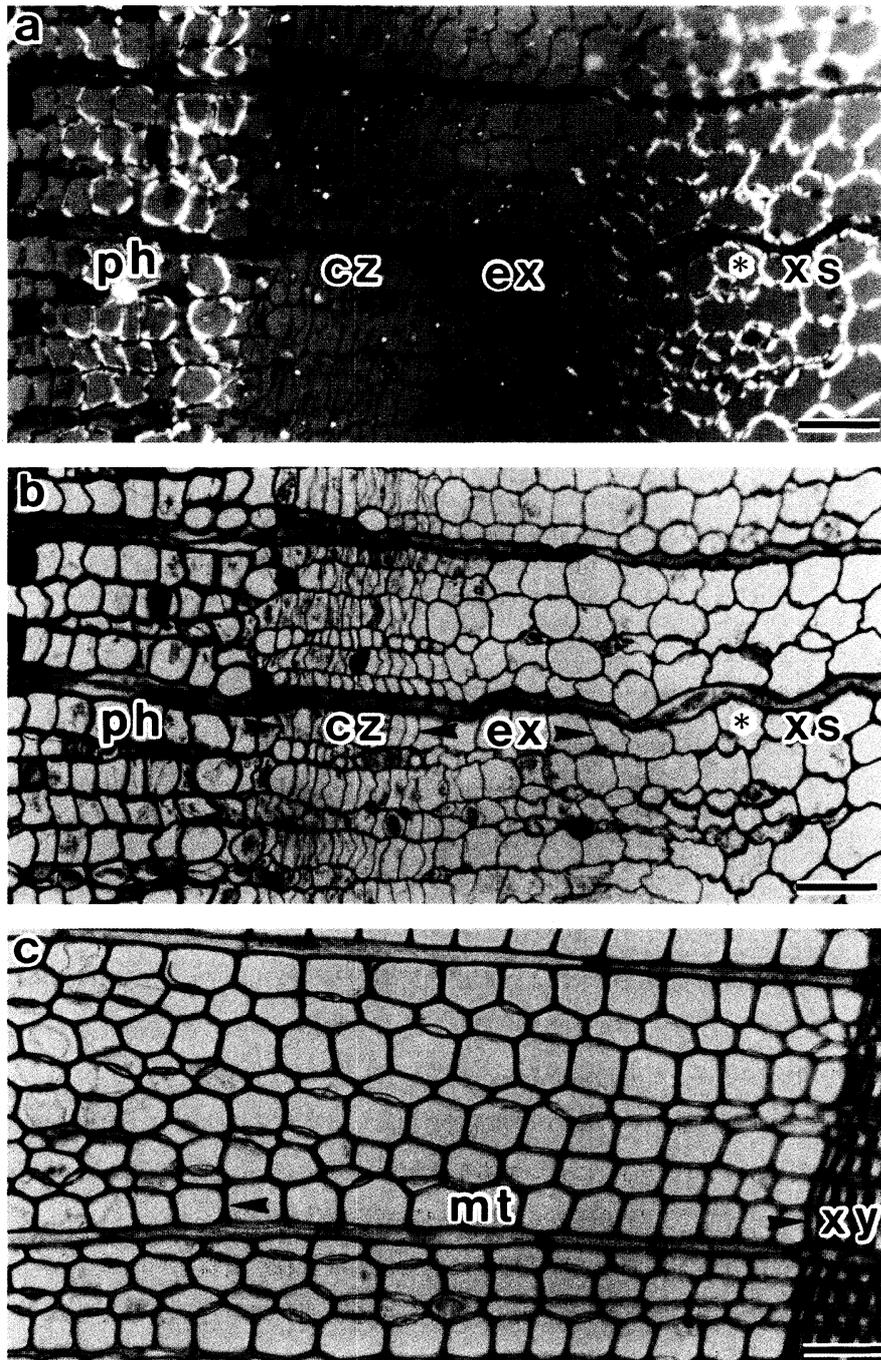


Fig. 1-3. Transverse view of the cambial zone, differentiating tracheids and matured tracheids in stem portions of *Cryptomeria japonica*. a A zone of cambial zone cells (cz), radially enlarging xylem cells (ex) and xylem cells with secondary walls (xs). Differentiating tracheids undergoing secondary wall thickening (asterisk) were glowing, as observed by polarized light microscopy. b The same region as in Fig. 1-3a, as viewed under a light microscope. c A zone of newly formed earlywood tracheids (mt), as viewed under a light microscope. The right-hand side of each photograph corresponds to the xylem side. ph, Phloem; xy, xylem. Bars = 60 μ m

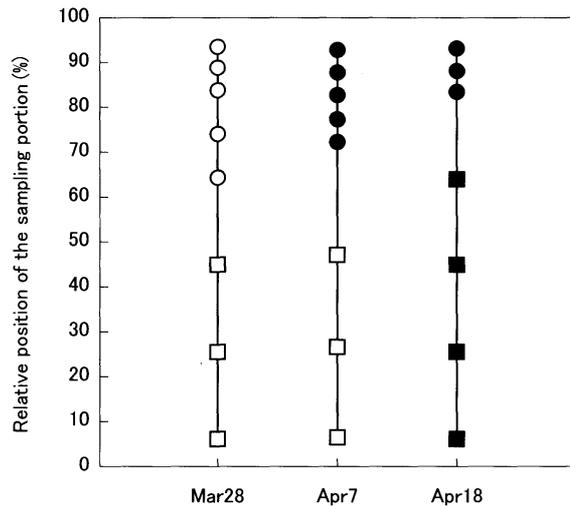


Fig. 1-4. Variations of cambial reactivation within stems of *Larix kaempferi* in 1989. Open and filled symbols indicate the dormant and reactivated cambia, respectively. (circles : in the crown, squares : under the crown)

1.3 結果および考察

1.3.1 形成層帯における細胞分裂の再開時期

カラマツの樹幹内における形成層帯細胞の分裂の再開時期をFig. 1-4に示す。カラマツでは観察を開始した3月9日から3月28日までは、樹幹内のいずれの部位においても形成層帯細胞に新たに形成された薄い接線壁が認められなかった (Fig. 1-1a)。したがって、3月28日までは形成層帯細胞は休眠状態にあったと判断した。3月28日から10日後の4月7日には樹冠内のほぼ全域で (Fig. 1-1b)、さらに11日後の4月18日には枝下部でも形成層帯細胞に新たに形成された接線壁が観察された。形成層帯細胞が分裂を再開する時期は、樹冠内部と枝下部とでは見かけ上11日間のずれがあった。実際には、3月28日から4月18日の間に形成層帯細胞は樹幹の上方部から下方部へと漸次分裂を開始していった可能性がある。

スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂の再開時期をFig. 1-5に示す。スギでは観察を開始した3月9日から3月19日までは、樹幹内のいずれの部位においても形成層帯細胞に新たに形成された薄い接線壁は認められなかった (Fig. 1-1c)。したがって、3月19日までは形成層帯細胞は休眠状態にあったと判断した。3月19日から9日後の3月28日には頂端に近い部位でのみ形成層帯に新たに形成された接線壁が認められ (Fig. 1-1d)、さらに10日後の4月7日には樹幹全域で形成層帯細胞が接線面分裂を再開していた。スギにおいては、形成層帯細胞の分裂再開がカラマツのように樹幹の上方部から求基的に起こったのか、一斉的あるいは偶発的に起こったのかを判断することは難しい。しかしながら、スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開が求基的であるならば、4月7日の時点でより顕著な傾向を示すと考える。船田ら (1987) は、スギについて形成層活動の経過を刺針法で推定し、形成層帯細胞の分裂再開時期は、樹幹上部と下部との間に大きな差がないことを示している。したがって、スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開が求基的というより一斉的あるいは偶発的に起こったと判断した。カラマツとスギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開時期を明らかにするためには、10日より短い間隔で観察をおこなう必要がある。

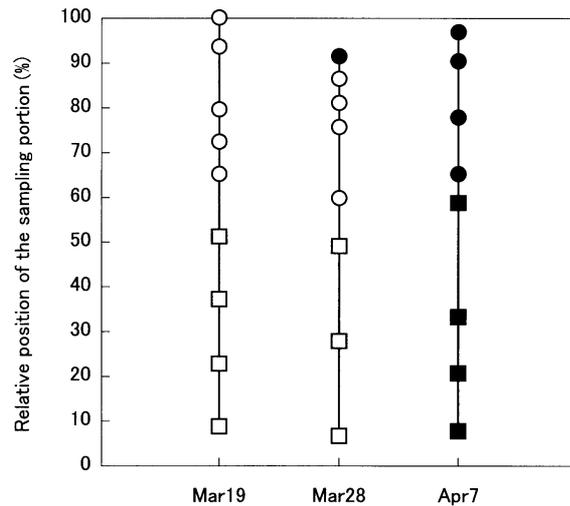


Fig. 1-5. Variations of cambial reactivation within stems of *Cryptomeria japonica* in 1989. Open and filled symbols indicate the dormant and reactivated cambia, respectively. (circles : in the crown, squares : under the crown)

1. 3. 2 芽の開序時期

カラマツでは観察を開始した3月9日には芽は開序していなかったが、10日後の3月19日には芽吹きを確認した。一方、スギでは観察を始めた3月9日から4月7日までは芽は開序していなかったが、4月18日には芽吹きを確認した。したがって、芽の開序時期は、カラマツでは形成層帯細胞の分裂がはじめて観察された4月7日より早く3月9日から3月19日の間であり、スギでは形成層帯細胞の分裂の再開が樹幹全域で確認された4月7日より遅く4月7日から4月18日の間であったと考える。Ladefoged (1952) は、いくつかの樹種について芽の開序時期と樹幹の胸高部における形成層帯細胞の分裂再開時期を調べている。落葉針葉樹については、カラマツと同じカラマツ (*Larix*) 属では芽が先に開序し、スギと同じ常緑針葉樹については、モミ (*Abies*) 属とマツ属ではカラマツ属と同様に芽の開序が先に起こるが、トウヒ (*Picea*) 属とトガサワラ (*Pseudotsuga*) 属では形成層帯細胞の分裂再開が先行すると報告している。これらの結果から、落葉針葉樹では形成層帯細胞が分裂を再開するためには芽が開序する必要があり、常緑針葉樹では形成層帯細胞の分裂再開と芽の開序には必ずしも関係はないと考える。

数種類の針葉樹では、伸長成長を始めたシュートの基部で最初に形成層帯細胞が接線面分裂を開始することが観察されており、芽や新葉の成長と形成層帯細胞の分裂再開には密接な関係があると考えられてきた (Priestley 1930)。さらに、形成層帯細胞の分裂再開は樹幹の頂端に近い部位で最初に始まり、以後順次下方部で起こること (Priestley 1930)、そして、摘芽や摘葉処理を施した針葉樹では樹幹の肥大成長が抑制されることから (Savidge and Wareing 1981a; 尾中 1950a, b)、形成層帯細胞の分裂再開を誘導する物質は成長しているシュートや新葉で生成されており、樹幹内を求基的に移動して形成層帯へと供給されていることが示唆されてきた。天然オーキシンであるIAAは、伸長成長しているシュートで生成されること、また、樹幹内において極めて求基的な移動特性を示すこと、さらに、摘芽や摘葉処理を施した後にIAAを外生的に与えると形成層帯細胞の分裂と木部形成活動の活性が高まることから形成層活動を制御する因子の1つとして注目されている (Sundberg et al. 2000)。一方、

針葉で生成された光合成産物から派生し、樹幹内を求基的に転流し形成層帯付近の貯蔵組織内にデンプンとして蓄えられる (Zimmermann 1971; Blechschmidt-Schneider 1990) 光合成産物の可溶性成分も形成層活動に深く関わっていると考えられている (Krabel 2000)。

カラマツの樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開時期は、Ladefoged (1952) がカラマツ属について報告しているようにシュートが伸長成長を開始した後に起った。また、その出現様式は、求基的な傾向を示した。カラマツでは、樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開時期の出現様式が光合成産物の可溶性成分と IAA の移動特性と同じく求基的であり、形成層帯細胞の分裂再開時期が IAA のおもな生成器官であるシュートと同化器官である針葉の成長開始時期よりも後であることから、光合成産物の可溶性成分と IAA が形成層帯細胞の分裂再開と深く関わっている可能性がある。

冬期には針葉が着生していない落葉針葉樹では、休眠期には樹冠における光合成と IAA の生成がおこなわれている可能性は低く、形成層帯に供給されている光合成産物の可溶性成分と IAA の量はかなり少ないと考える。したがって、落葉針葉樹では、芽が開序して成長を開始したシュートからそれぞれ形成層帯へ新たに供給される光合成産物の可溶性成分と IAA によって、形成層帯細胞の分裂再開に必要なレベルに光合成産物の可溶性成分と IAA の量が達した部位から順次形成層帯細胞が分裂を開始する。

スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開は、求基的な傾向を示さず、シュートが伸長成長を再開する時期よりも早く始まった。スギでは、樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開時期が光合成産物の可溶性成分と IAA の移動特性とは異なる出現様式を示し、IAA のおもな生成器官であるシュートと同化器官である針葉の成長開始時期よりも前に起こることから、形成層帯細胞の分裂再開に光合成産物の可溶性成分と IAA が深く関わっている可能性は低い。

成熟葉は成長中のシュートと同じく樹幹の肥大成長を促進する働きを持っていることが示されている (Savidge and Wareing 1981a ; 尾中 1950a, b)。常緑針葉樹であるスギでは、休眠期でも成熟葉において生成された光合成産物の可溶性成分と IAA が形成層帯へと供給されている可能性がある。したがって、スギでは、休眠期でも形成層帯に内生している光合成産物の可溶性成分と IAA の量は形成層帯の分裂機能を維持するために必要なレベルに達していると考えられる。形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な光合成産物の可溶性成分や IAA などの内部因子について樹幹全域で条件が満たされている状況では、例えば、気温のように樹幹全体に作用する外部因子が引き金となって形成層帯細胞の分裂が再開すると考える。

1. 3. 3 形成層帯における細胞分裂の活動状況

カラマツの樹幹内における形成層帯細胞と新生細胞の総数を Fig. 1-6 に示す。冬期の休眠期にはカラマツの形成層帯は 3~5 個の細胞で構成されていた。4 月 7 日には樹冠内部でのみ形成層帯細胞の分裂再開が確認されたが、新生細胞の数は少なく、樹幹内においてはっきりした変動性は認められなかった。枝下部でも形成層帯細胞の分裂が確認された 5 月 9 日になると、樹幹内における形成層帯細胞の分裂の活動状況に顕著な違いが認められた。すなわち、細胞数は樹冠の中央部よりもやや上方部で最大となり、そこから下方部では急激に減少した。この傾向は時間の経過とともに顕著になった。

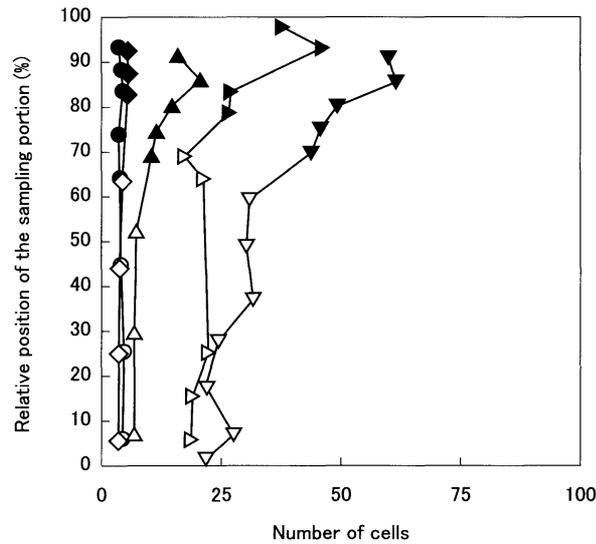


Fig. 1-6. Variations of the number of cambial zone cells and cambial derivatives within stems in *Larix kaempferi*. (○ : March 28, ◇ : April 18, △ : May 9, ▷ : May 27, ▽ : June 15) Filled and open symbols indicate the samples collected from the portions located in the crown and under the crown, respectively.

スギの樹幹内における形成層帯細胞と新生細胞の総数をFig. 1-7に示す。冬期の休眠期にはスギの形成層帯は3～7個の細胞で構成されていた。スギでは、形成層帯細胞の分裂再開後の分裂活性は時間の経過とともに樹幹内で特徴的な変動性を示した。樹幹全域で細胞分裂が確認された4月7日には、はっきりとした傾向は見られなかった。しかしながら、芽吹きが観察された4月18日になると細胞分裂は枝下部より樹冠内部で活発であった。この傾向は時間の経過とともにより顕著になった。常緑針葉樹である*Picea sitchensis* (Denne 1979) と*Pinus ridiga* (Brown 1912) では、樹幹内における新生木部細胞の総数について季節変動が調べられている。いずれの報告でも、形成層帯細胞の分裂活性は枝下部よりも樹冠内部で高くなる傾向が示されている。

形成層帯細胞が分裂機能を維持するためにはIAAとショ糖などの光合成産物の可溶性成分が必要であると考えられている (Savidge and Wareing 1981a; Krabel 2000)。カラマツでは、形成層帯細胞の分裂活性は枝下部よりも樹冠内部で高かった (Fig. 1-6)。冬期の休眠期には針葉が着生していない落葉針葉樹では、芽が開序すると伸長成長を再開したシュートと新たに形成された針葉がそれぞれIAAと光合成産物の新たな供給源になる。したがって、形成層帯細胞の分裂活性はシュートと新葉の成長および光合成産物の可溶性成分とIAAの求基的な移動特性と深く係わっており、シュートに近い樹冠内部ほど細胞分裂は活発になると考える。一方、スギでは、芽吹きの前に樹幹全域で形成層帯細胞が分裂を開始することから、休眠期にも成熟葉で光合成とIAAの生成がおこなわれており光合成産物の可溶性成分とIAAが樹幹部の形成層帯に供給されている可能性がある。しかしながら、芽が開序してシュートの成長が始まると、樹冠内部では形成層帯細胞の分裂活性が急激に高くなり、枝下部における分裂活性との間に著しい差が認められた。したがって、芽が開序した後は、成長しているシュートがIAAと光合成産物の新たな供給源となり、この供給源に近い部位において形成層帯細胞の分裂は高くなると思う。

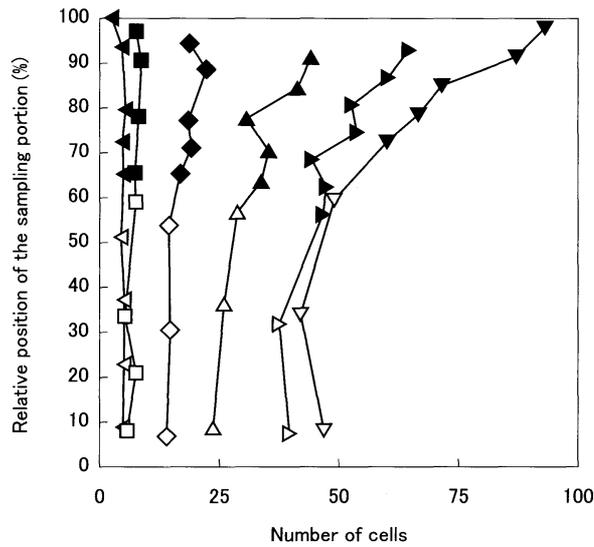


Fig. 1-7. Variations of the number of cambial zone cells and cambial derivatives within stems of *Cryptomeria japonica*. (◁ : March 19, □ : April 7, ◇ : April 18, △ : May 9, ▷ : May 27, ▽ : June 15) Filled and open symbols indicate the samples collected from the portions located in the crown and under the crown, respectively.

1. 3. 4 木部分化の再開時期と活動状況

カラマツの樹幹内における木部分化の再開時期と活動状況をFig. 1-8に示す。カラマツでは4月28日にはじめて拡大帯細胞が観察された。拡大帯細胞はこの時期には既に樹幹全域で見られたので、形成層派生物の放射径拡大の再開時期については樹幹内における違いは確認できなかった。拡大帯細胞の数は樹冠内の上方部で多くなる傾向が見られた。この傾向は4月28日から11日後の5月9日にはさらに顕著になった。二次壁肥厚帯細胞がはじめて観察されたのは、5月9日であった。この時期には二次壁肥厚帯細胞は樹冠内の上方部でのみ観察され、樹冠内の下方部と枝下部では確認されなかった。枝下部では5月9日から9日後の5月18日に二次壁肥厚帯細胞が観察されたが、その数は樹冠内部に比べて少なかった。成熟仮道管は5月18日にはじめて出現し、樹冠の中央部でのみ観察された。5月18日から9日後の5月27日には枝下部でも成熟仮道管が観察されたが、その数は樹冠内部に比べて著しく少なかった。

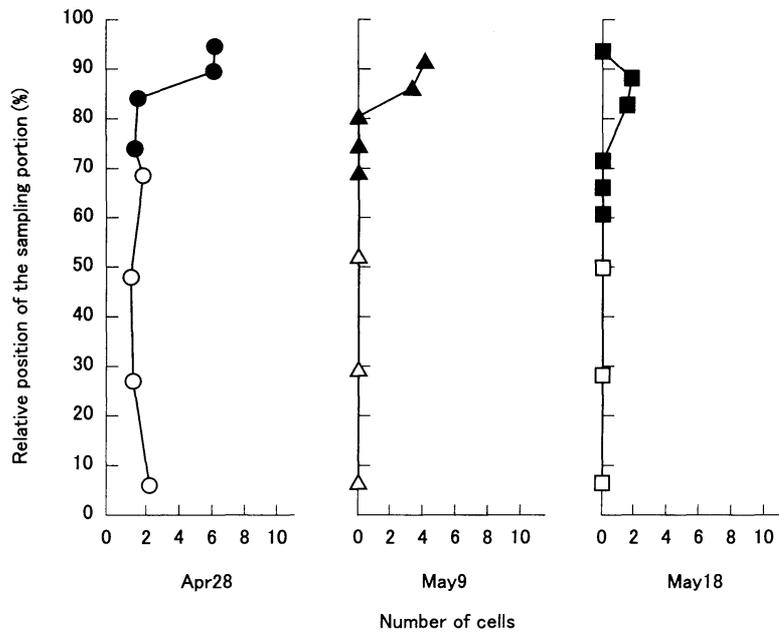


Fig. 1-8. The appearance of radially enlarging cells (○), secondary wall thickening cells (△) and mature tracheids (□) within stems of *Larix kaempferi*. Filled and open symbols indicate the samples collected from the portions located in the crown and under the crown, respectively.

スギの樹幹内における木部分化の再開時期と活動状況をFig. 1-9に示す。スギでは4月18日には拡大帯細胞が、4月28日には二次壁肥厚帯細胞が、5月9日には成熟仮道管がはじめて確認された。スギでも樹幹内における拡大帯細胞および二次壁肥厚帯細胞と成熟仮道管の出現様式は、カラマツとほぼ同じ傾向を示した。すなわち、木部分化帯細胞と成熟仮道管は枝下部に比べて樹冠内部において早く出現し、それらの細胞数は多かった。

落葉針葉樹である*Larix laricina* (Knudson 1913)、常緑針葉樹である*Picea sitchensis* (Denne 1979) と *Pinus contorta* var. *latifolia* (Savidge and Wareing 1981a) では、樹幹内における木部分化帯細胞の出現様式が調べられている。これらの樹種では、いずれの木部分化帯細胞も枝下部よりも樹冠内部で早く出現する傾向を示しており、カラマツとスギの結果と一致している。カラマツとスギでは、拡大帯細胞および二次壁肥厚帯細胞と成熟仮道管は芽が開序した後に出現し、枝下部よりも樹冠内部で早く現れた。さらに、いずれの木部分化の過程も枝下部に比べると樹冠内部で活発であった。したがって、常緑針葉樹と落葉針葉樹の樹幹内における木部分化の再開時期と活動状況は、シュートや新葉の成長と密接に関係しており、これらの器官で生成されて樹幹内を求基的に移動する特性を持った内部因子によって制御されていると考える。形成層派生物の分化にはIAA (Savidge and Wareing 1981a; Savidge 1983; Sundberg et al. 2000) とショ糖などの光合成産物の可溶性成分 (Wetmore and Rier 1963; Warren Wilson et al. 1994; Krabel 2000) が係わっていることが示唆されている。

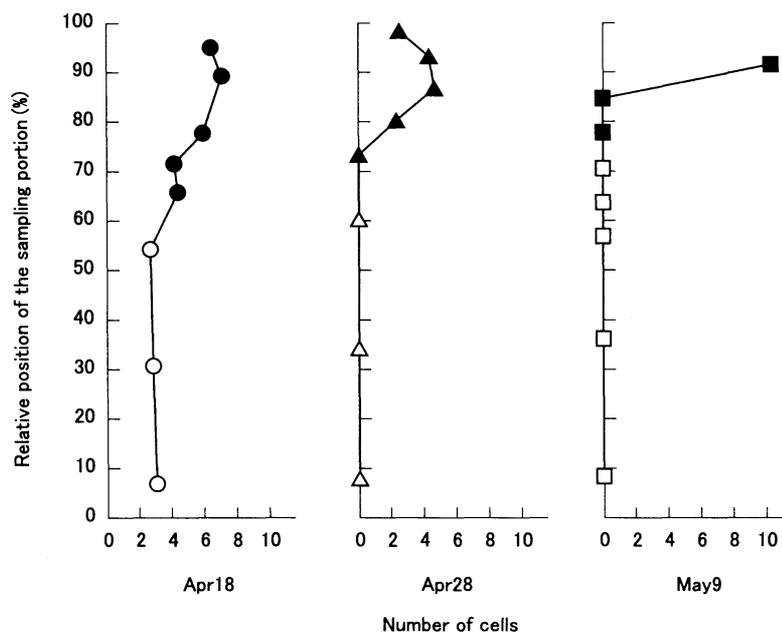


Fig. 1-9. The appearance of radially enlarging cells (○), secondary wall thickening cells (△) and mature tracheids (□) within stems of *Cryptomeria japonica*. Filled and open symbols indicate the samples collected from the portions located in the crown and under the crown, respectively.

1.4 結論

落葉針葉樹としてカラマツと常緑針葉樹としてスギを用いて、形成層帯細胞の分裂および木部分化の再開時期・活動状況の樹幹内における変動と形成層休眠期における針葉の存否ならびにシュートの成長との関係を調べた。

- (1) 落葉針葉樹では形成層帯細胞が分裂を再開するためには芽が開序する必要があり、常緑針葉樹では形成層帯細胞の分裂再開と芽の開序には必ずしも関係がないことが示された。
- (2) 形成層帯において細胞分裂を再開させる直接の引き金の候補として、落葉針葉樹では伸長成長しているシュートで生成され樹幹内を求基的に移動して形成層帯に供給される内部因子、常緑針葉樹では樹幹全体に作用する外部因子が挙げられた。
- (3) 常緑針葉樹では芽が開序した後は、形成層帯細胞が分裂するために必要な内部因子の供給は成熟葉ではなくおもに成長中のシュートに依存していることが示唆された。
- (4) 落葉針葉樹でも常緑針葉樹でも、樹幹内における木部分化の再開時期と活動状況は、シュートの成長と深く係わっており、これらの器官で生成され樹幹内を求基的に移動する特性を持った内部因子によって制御されていることが示唆された。

第2節 形成層帯付近に貯蔵されているデンプン

2.1 緒言

第1章第1節では、針葉樹の樹幹内における形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の再開時期と活動状況が、細胞分裂や木部分化に必要な物質（内部因子）の樹幹内における充足状況を反映していることが示唆された。針葉で生成された光合成産物は、ショ糖などの可溶性成分として樹幹内を移動して形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンとして蓄えられる（Zimmermann 1971；Blechsmidt-Schneider 1990）。これらの貯蔵デンプンからは、細胞生産のエネルギー源として不可欠な物質であり、IAAとともに形成層帯細胞の分裂や形成層派生物の分化に深く係わっていると考えられているショ糖（Wetmore and Rier 1963；Warren Wilson et al. 1994）が形成層帯に供給されていることが示唆されている（Zimmermann 1971；Blechsmidt-Schneider 1990）。したがって、形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンが貯蔵されていれば形成層帯へのショ糖の供給ができる条件が揃っている可能性は高いと考える。

本節では、形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化に必要な内部因子の1つと考えられるショ糖の供給源である貯蔵デンプンに注目し、落葉針葉樹としてカラマツ、常緑針葉樹としてスギとトドマツを用いて、樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期・活動状況と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係について調べた。

2.2 材料および実験方法

2.2.1 供試木

供試木には、群馬県の東京農工大学附属草木演習林内の35年生カラマツ林分と45年生スギ林分より2個体ずつ、独立行政法人林木育種センター北海道育種場内の30年生トドマツ（*Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters）林分より4個体を選定した。個々の供試木の伐採時期と概要をTable 1-2に示した。

2.2.2 試料採取および観察試料の作製

伐採した供試木の樹幹からは、地上高0.2mの部位を起点として1ないし2m間隔で円盤を採取した。各円盤の同一方向に位置する部位から形成層帯と若干の師部および木部を含み放射方向と接線方向および軸方向の長さが10mmのブロックを切り出した。

ブロックは第1章1.2.2で用いた方法に従ってFAAで固定して、セデュコールで包埋した。包埋した試料から20~30 μ m厚の木口およびまさ目切片を切削した。常法に従ってサフラニン-ファストグリーンFCFで染色した切片または無染色切片を用いて組織観察をおこなった。貯蔵デンプンを観察するための切片はヨウ素-ヨウ化カリウム水溶液で染色し、光学顕微鏡を用いて観察した。

2.2.3 細胞分裂・木部分化の活動状況の評価

第1章1.2.3, 1.2.4および1.2.5で説明した基準に従って、形成層帯細胞の分裂と木部分化の活動状況の評価した。調べた部位の位置は、地際からの距離の樹高に対する百分率で示した（Fig. 1-2）。

Table 1-2. Mensurational characteristics of the sample trees.

Collection date	Height(m)	Crown ratio(%)	Height(m)	Crown ratio(%)
2001	<i>Larix kaempferi</i> (n=2)		<i>Cryptomeria japonica</i> (n=2)	
April 6	21	42	23	22
April 24	22	18	24	22
2001	<i>Abies sachalinensis</i> (n=4)			
April 12	14	80		
April 19	13	75		
April 26	16	50		
May 9	13	45		

2.3 結果および考察

2.3.1 形成層帯細胞の分裂・木部分化の再開時期と活動状況

カラマツの樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の活動状況をFig. 1-10に示す。カラマツでは観察を始めた4月6日には、樹幹内のいずれの部位においても形成層帯細胞に新たに形成されたと思われる薄い接線壁は認められなかった。したがって、4月6日には形成層帯細胞は休眠状態にあったと判断した。4月24日には地際を除く枝下部と樹冠内部で形成層帯細胞の分裂が再開していた。形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の数は、枝下部よりも樹冠内部で多かった。これらの結果は、第1章第1節で観察されたカラマツの樹幹内における形成層帯細胞の分裂の再開時期および活動状況と一致する。カラマツの樹幹内における形成層帯細胞の分裂の再開時期は求基的であり、分裂の活動状況は枝下部よりも樹冠内部で活発であると考えられる。

スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の活動状況をFig. 1-11に示す。スギでは、観察を始めた4月6日には、枝下部では形成層帯細胞に新たに形成された薄い接線壁は認められず形成層帯が休眠状態にあったが、樹冠内部では形成層帯細胞の分裂が再開していた。第1章第1節の観察結果と船田ら(1987)の報告から、スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開時期は求基的ではないと判断したが、今回の結果は求基的な傾向を示している。4月24日には、枝下部でも形成層帯細胞の分裂が再開しており、樹冠内の下方部では拡大帯細胞が、上方部では二次壁肥厚帯細胞が観察された。形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の数は、樹幹内では上方部ほど多くなる傾向を示した。これらの結果は、第1章第1節の観察結果と一致しており、スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化は樹幹内の下方部より上方部で活発であると考えられる。

トドマツの樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の活動状況をFig. 1-12に示す。トドマツでは観察を始めた4月12日には、樹幹全域で形成層帯細胞が接線面分裂を再開しており、樹冠内の上方部では拡大帯細胞が観察された。形成層派生物の木部分化は時間の経過とともに進行し、樹幹内では下方部よりも上方部で分化過程が進んでいた。5月9日には枝下部では形成層派生物の木部分化は細胞の放射径が拡大する段階であったが、樹幹内の上方部では二次壁肥厚帯細胞が観察された。形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の数は、4月12日から4月26日までは樹幹内での変動は少なく一定の割合で増加していたが、4月26日から5月9日にかけては樹幹内では上方部ほど増加量は大きく、ことに樹冠内の部位では急激に増加した。トドマツでは、樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化は樹幹内の下方部よりも上方部で活発であると考えられる。

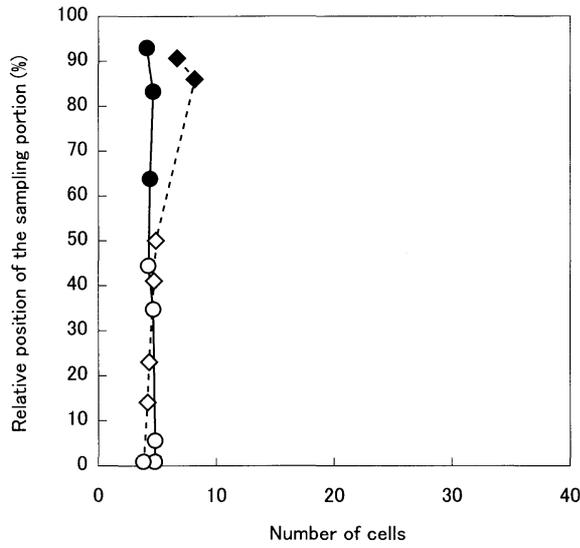


Fig. 1-10. Variations of the number of cambial zone cells and cambial derivatives within stems of *Larix kaempferi*. ○ and ◇ indicate dormancy and cell division, respectively. (solid line : 6 April 2001, broken line : 24 April 2001) Filled and open symbols indicate the samples collected from the portions located in the crown and under the crown, respectively.

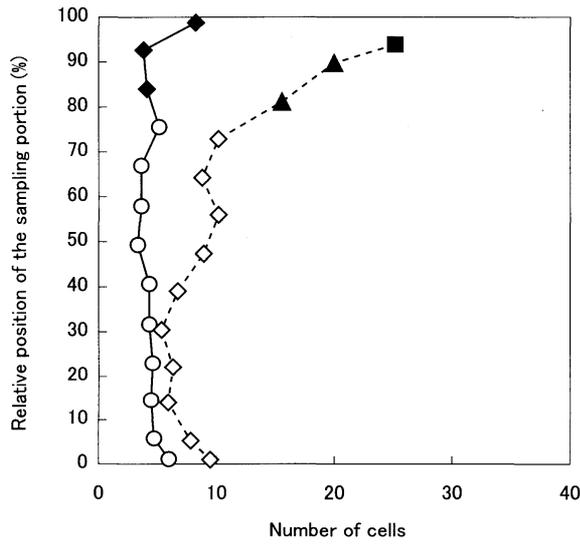


Fig. 1-11. Variations of the number of cambial zone cells and cambial derivatives within stems in *Cryptomeria japonica*. ○, ◇, △ and □ indicate dormancy, cell division, radial enlargement and secondary wall thickening, respectively. (solid line : 6 April 2001, broken line : 24 April 2001) Filled and open symbols indicate the samples collected from the portions located in the crown and under the crown, respectively.

2. 3. 2 形成層帯付近に貯蔵されているデンプン

カラマツでは、樹幹内のいずれの部位においても形成層帯が休眠状態にあった4月6日には、形成層帯付近の貯蔵組織である放射組織と師部柔細胞に、樹冠内部ではデンプンが貯蔵されていたが (Fig. 1-13a), 枝下部では貯蔵デンプンは認められなかった (Fig. 1-13c)。樹幹内のいずれの部位においても形成層帯細胞の分裂が再開していた4月24日には、形成層帯付近の放射組織と師部柔細胞に貯蔵デンプンが観察された (Fig. 1-13c, d)。スギでは、休眠状態にあった枝下部の形成層帯の付近には、放射組織と師部柔細胞にデンプンが貯蔵されていた (Fig. 1-14a)。細胞分裂や木部分化が再開していた部位では、形成層帯付近の放射組織と師部柔細胞に貯蔵デンプンが観察された (Fig. 1-14b, c, d)。林木育種センター北海道育種場内に植栽されていた45年生トドマツの樹幹胸高部から3月30日に採取した試料の形成層帯付近の様子をFig. 1-15aに示す。形成層帯細胞に新たに形成された薄い接線壁が認められなかったので、この時期の樹幹胸高部の形成層帯は休眠状態にあったと判断した。トド

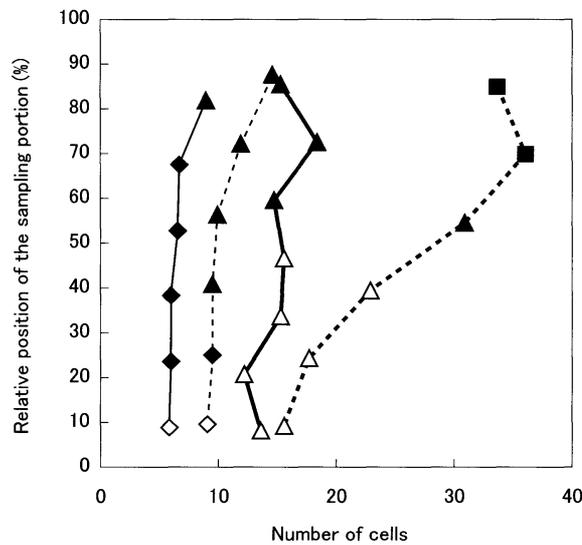


Fig. 1-12. Variations of the number of cambial zone cells and cambial derivatives within stems in *Abies sachalinensis*. ◇, △ and □ indicate cell division, radial enlargement and secondary wall thickening, respectively. (solid line : 12 April 2001, broken line : 19 April 2001, bold solid line : 26 April 2001, bold broken line : 9 May) Filled and open symbols indicate the samples collected from the portions located in the crown and under the crown, respectively.

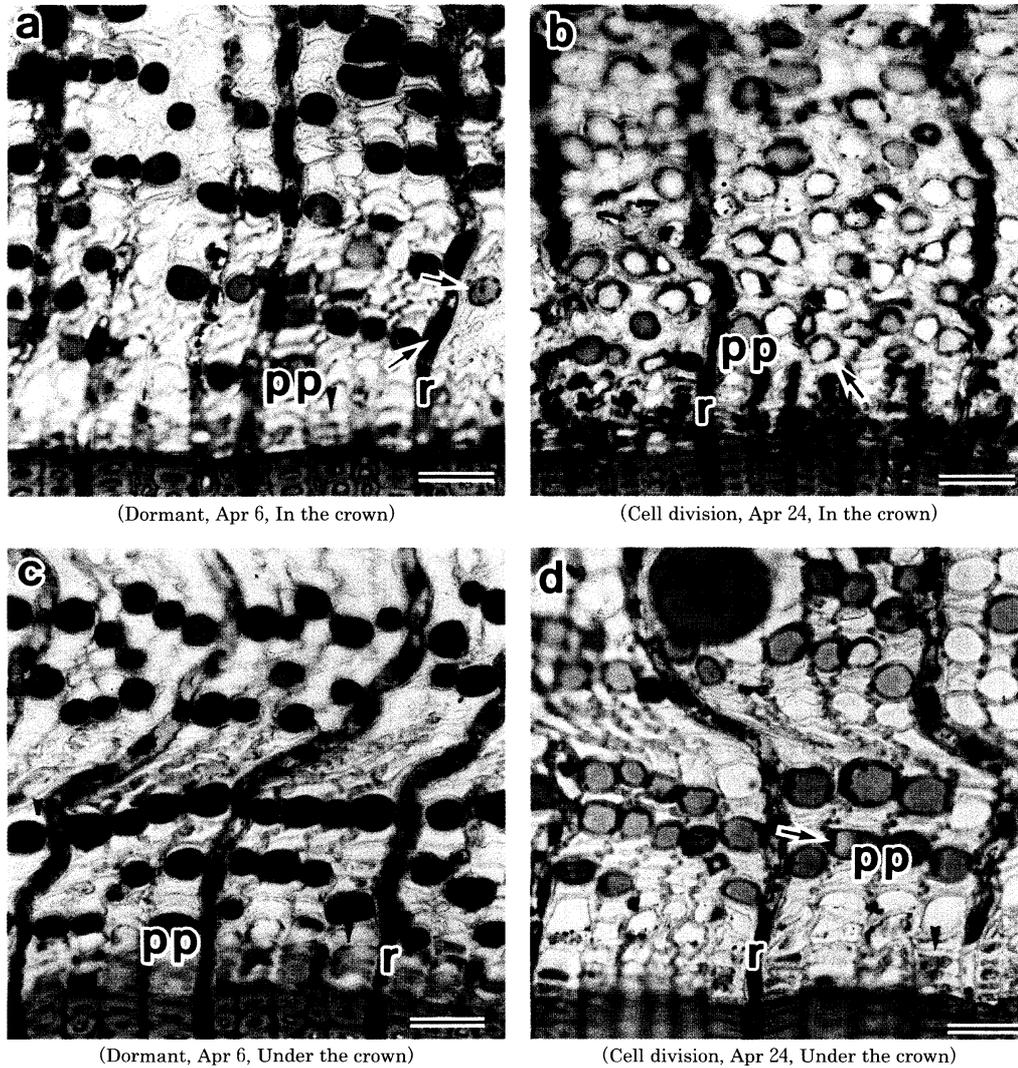


Fig. 1-13. Localization of storage starch (arrows) around the cambial zone (between arrowheads) in *Larix kaempferi*, as viewed transversally under a light microscope. a A sample obtained from stem portion in the crown on April 6 2001, in which the cambium was dormant. b A sample obtained from stem portion in the crown on April 24 2001, in which the cambium re-initiated cell division. c A sample obtained from stem portion under the crown on April 6 2001, in which the cambium was dormant. d A sample obtained from stem portion under the crown on April 24 2001, in which the cambium re-initiated cell division. The bottom of each photograph corresponds to the xylem side. pp, Phloem parenchyma; r, ray. Bars = 30 μm

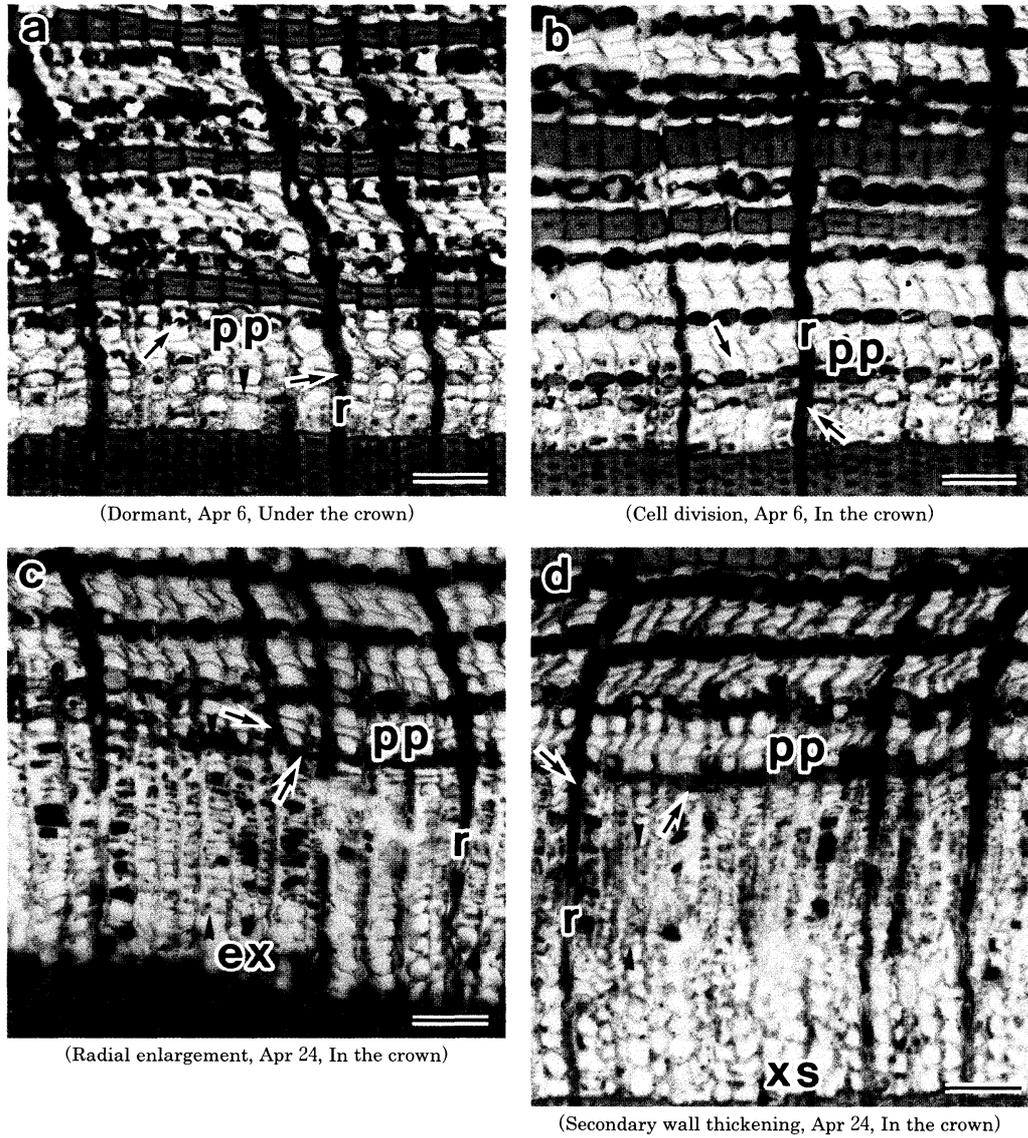


Fig. 1-14. Localization of storage starch (arrows) around the cambial zone (between arrowheads) in *Cryptomeria japonica*, as viewed transversally under a light microscope. a A sample obtained from stem portion under the crown on April 6 2001, in which the cambium was dormant. b A sample obtained from stem portion in the crown on April 6 2001, in which the cambium re-initiated cell division. c A sample obtained from stem portion in the crown on April 24 2001, in which radially enlarging xylem cells (*ex*) were observed. d A sample obtained from stem portion in the crown on April 24 2001, in which xylem cells with secondary walls (*xs*) were observed. The bottom of each photograph corresponds to the xylem side. *pp*, Phloem parenchyma; *r*, ray. Bars = 30 μ m

マツでは休眠状態にある形成層帯の付近には放射組織と師部柔細胞にデンプンが貯蔵されていた。細胞分裂や木部分化が再開していた部位では、形成層帯付近の放射組織と師部柔細胞に貯蔵デンプンが観察された (Fig. 1-15 b, c, d)。

形成層帯細胞の分裂と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの存否には関係がある。形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンが貯蔵されていない部位では (Fig. 1-13c), 形成層帯は休眠状態にあった。一方, 形成層帯細胞の分裂活動 (Fig. 1-13b, d, 14b, 15b) や木部分化 (Fig. 1-14c, d, 15c, d) が再開していた部位では, 形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンが観察された。形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化が再開するためには, 形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンが貯蔵されている必要があると考える。

樹幹内において, 形成層帯細胞の分裂開始時期が求基的であるカラマツでは, 形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量も分裂が再開する少し前には求基的な出現様式を示した (Fig. 1-13a, c)。落葉針葉樹であるカラマツでは, 冬期の休眠期には針葉が着生していないので光合成が停止しているために, 形成層帯付近の貯蔵組織に供給される光合成産物の可溶性成分の量はかなり少ない可能性がある。したがって, カラマツの形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量は, 芽が開序して成長を開始したシュートから新たに供給される光合成産物の可溶性成分によって徐々に増加し, 樹幹内において極めて求基的なパターンを示すと考える。4月6日に観察された樹幹内の形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量は (Fig. 1-13a, c), カラマツでは, 形成層帯細胞の分裂再開に先行して内部因子の条件が樹幹内で求基的に満たされていく状況を示していると考えられる。

4月6日には, カラマツの樹冠の上方部では形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンが貯蔵されていたが, 形成層帯は休眠状態であった (Fig. 1-13a)。この部位では, 形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量は形成層帯細胞が分裂を再開するために十分なレベルには達しておらず, さらに光合成産物の可溶性成分の供給が必要であるか, あるいは, 形成層帯細胞が分裂するための温度条件が満たされておらず, さらに気温が上昇する必要がある可能性もある。

常緑針葉樹であるスギとトドマツでは, 休眠状態にある形成層帯付近にも, 活動状態にある形成層帯付近にもデンプンが貯蔵されていた (Fig. 1-14a, 15a)。常緑針葉樹では, 冬期にも成熟葉において光合成がおこなわれており, 形成層帯付近の貯蔵組織に光合成産物の可溶性成分が供給されていると考える。したがって, 休眠期でも常緑針葉樹の形成層帯付近には形成層帯細胞が分裂機能を維持するために十分な量のデンプンが貯蔵されている可能性が高い。スギでは4月6日に, トドマツでは3月30日に枝下部の形成層帯付近に貯蔵されていたデンプンは, 休眠状態にある常緑針葉樹の形成層帯においては細胞分裂に必要な内部因子に関する条件が既に満たされていることを示している。

樹幹全域で形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な内部因子について条件が満たされている状況では, 気温のように樹幹全体に作用する外部因子が引き金となって形成層帯細胞の分裂再開が起こる可能性がある。スギの樹幹内における形成層帯細胞の分裂再開時期は, 第1章第1節の観察結果と船田ら (1987) の報告から, 求基的ではないと判断したが, 今回の結果は求基的な傾向を示していた。気温が引き金であっても, 形成層帯の温度に対する反応性に個体内変異があれば, 形成層帯細胞の分裂は, シュート付近で始まったり, 樹幹の中央部で最初に起こったり, 場合によっては一斉的に, あるいは地際で始まる可能性もある。したがって, 常緑針葉樹の樹幹内では, 形成層帯細胞の分裂はかなり偶発的に起こり, その部位は個体によって異なると思われる。

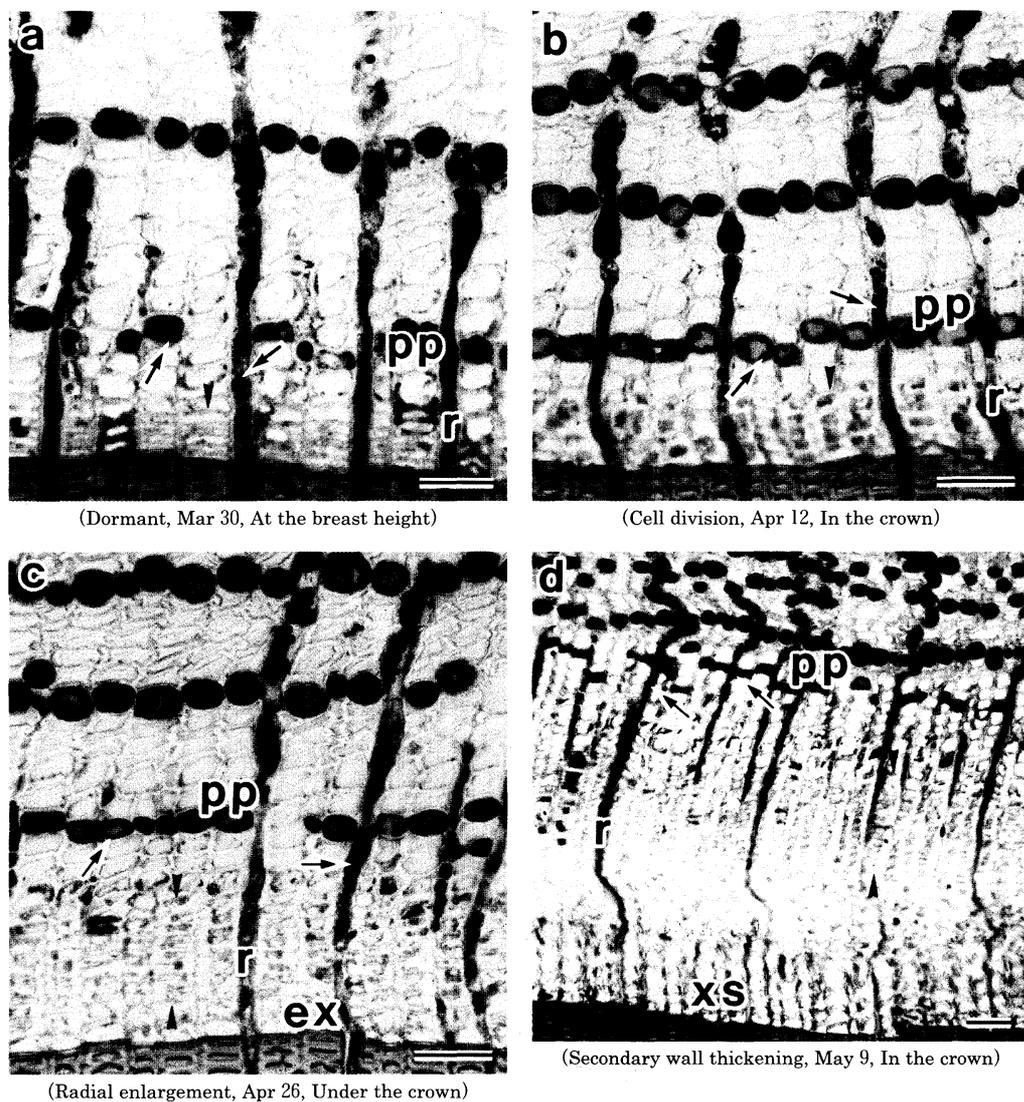


Fig. 1-15. Localization of storage starch (arrows) around the cambial zone (between arrowheads) in *Abies sachalinensis*, as viewed transversally under a light microscope. a A sample obtained from stem portion at the breast height on March 30 2001, in which the cambium was dormant. b A sample obtained from stem portion in the crown on April 12 2001, in which the cambium re-initiated cell division. c A sample obtained from stem portion under the crown on April 26 2001, in which radially enlarging xylem cells (ex) were observed. d A sample obtained from stem portion in the crown on May 9 2001, in which xylem cells with secondary walls (xs) were observed. The bottom of each photograph corresponds to the xylem side. pp, Phloem parenchyma; r, ray. Bars = 30 μ m

2.4 結論

落葉針葉樹としてカラマツ、常緑針葉樹としてスギとトドマツを用いて、樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期・活動状況と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係について調べた。

- (1) 形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化が再開するためには、形成層帯付近にデンプンが貯蔵されている必要があることが示された。
- (2) 落葉針葉樹では形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な内部因子の条件は、形成層帯細胞の分裂再開に先立って樹幹内で求基的に満たされていくことが示唆された。
- (3) 常緑針葉樹では、休眠期には既に形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な内部因子についての条件は樹幹全域で満たされていることが示された。

第1章総括

落葉針葉樹としてカラマツと常緑針葉樹としてスギを用いて、形成層帯細胞の分裂および木部分化の再開時期・活動状況の樹幹内における変動と形成層休眠期における針葉の存否ならびにシュートの成長との関係を調べた。さらに、落葉針葉樹としてカラマツ、常緑針葉樹としてスギとトドマツを用いて、樹幹内における形成層帯細胞の分裂と木部分化の再開時期・活動状況と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係について調べた。樹幹内における形成層帯細胞の分裂の再開時期は、形成層休眠期における針葉の存否によって異なった。形成層帯細胞の分裂再開は、カラマツでは芽が開序した後に樹幹の頂端部から基部にかけて求基的に開始し、スギの樹幹内では芽の開序よりも早く偶発的に起こった。したがって、落葉針葉樹では伸長成長しているシュートで生成され樹幹内を求基的に移動して形成層帯に供給されるショ糖などの光合成産物の可溶性成分やIAAなどの内部因子が、常緑針葉樹では樹幹全体に作用する気温などの外部因子が、形成層帯における細胞分裂を再開させる直接の引き金であると考えた。一方、芽が開序した後には、落葉針葉樹でも常緑針葉樹でも細胞分裂は枝下部よりも樹冠内部で活発になることから、形成層帯細胞が分裂するために必要なショ糖などの光合成産物の可溶性成分やIAAの供給は成熟葉ではなくおもに成長中のシュートに依存していると考えた。形成層派生物の木部への分化は、芽が開序した後に起こり、樹幹の上方部ほど早く始まり、活発であった。したがって、形成層休眠期における針葉の存否にかかわらず、樹幹内における木部分化の再開時期と活動状況はシュートの成長と深く係わっており、これらの器官で生成され樹幹内を求基的に移動する特性を持った内部因子によって制御されていると考えた。形成層帯付近にデンプンが貯蔵されていない部位では、形成層帯は休眠状態にあり、形成層帯細胞の分裂活動や木部分化が再開していた部位では、形成層帯付近にデンプンが貯蔵されていた。これらの結果から、形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化が再開するためには、形成層帯付近にデンプンが貯蔵されている必要があることが示された。落葉針葉樹では、樹幹内において形成層帯細胞の分裂開始時期が求基的であり、形成層帯付近に貯蔵されているデンプンも分裂が再開する少し前には求基的な出現様式を示した。一方、常緑針葉樹では、休眠状態にある形成層帯の付近にもデンプンが貯蔵されていた。したがって、形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な内部因子の条件は、落葉針葉樹では形成層帯細胞の分裂再開に先立って樹幹内で求基的に満たされていき、常緑針葉樹では冬期休眠期には既に満たされていると考えた。

第 2 章 休眠期に加温した樹幹部における形成層活動と貯蔵デンプン

第 1 節 加温処理による形成層活動の誘導

1.1 緒言

春期に起こる形成層帯細胞の分裂再開は、樹木に内生している化学物質（内部因子）と環境要因（外部因子）によって誘導されていると考えられている (Savidge and Wareing 1981a)。第 1 章では、落葉針葉樹については伸長成長しているシュートで生成され樹幹内を求基的に移動して形成層帯に供給されるショ糖などの光合成産物の可溶性成分や IAA などの内部因子が、常緑針葉樹については樹幹全体に作用する気温などの外部因子が、形成層帯における細胞分裂を再開させる直接の引き金の候補として挙げられた。

Savidge and Wareing (1981a) は、常緑針葉樹である *Pinus contorta* var. *latifolia* について、形成層帯が休眠状態にある時期に樹幹を局部的に温めると、加温した部位において形成層帯細胞が分裂を再開すると報告している。このように、休眠期に局部的な加温処理を樹幹部に施すことは、形成層活動の再開と温度の係わりに加えて、形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な内部因子の充足状況を調べるためにも有効な手段である。

本節では、落葉針葉樹としてカラマツ、常緑針葉樹としてスギとトドマツを用いて、形成層休眠期に局部的な加温処理を 2 週間施した樹幹部における形成層帯の活動状況を調べ、さらに、形成層休眠期における針葉の存否と生育地の気候による加温処理に対する形成層活動の反応性の違いを調べた。

1.2 材料および実験方法

1.2.1 供試木

供試木としては、カラマツについては山梨県東山梨郡牧丘町小檜山山麓の民有林の 27 年生林分から 3 個体、茨城県の独立行政法人森林総合研究所千代田試験地の 19 年生林分から 3 個体、北海道大学農学部附属演習林札幌実験苗畑の 23 年生林分から 1 個体、スギについては栃木県の東京農工大学附属唐沢山演習林に植栽されていた 14 年生林分から 3 個体、トドマツについては独立行政法人林木育種センター北海道育種場内の 42 年生トドマツ採種園に植栽されていた接木クローン「下川 125 号」から 2 個体を選定した (Table 2-1)。

1.2.2 加温処理

カラマツでは、1990 年 12 月から 1991 年 3 月までの期間と 1995 年 12 月から 1996 年 3 月までの期間に 3 回ずつと 1999 年 2 月に 1 回、スギでは、1990 年 12 月から 1991 年 3 月までの期間に 3 回、トドマツでは、1998 年 3 月と 1999 年 2 月から 3 月までの期間に 1 回ずつ、樹幹に局部的な加温処理をおよそ 2 週間施した (Table 2-1)。茨城県の独立行政法人森林総合研究所千代田試験地においてカラマツの樹幹の胸高部に局部的な加温処理を施している様子を Fig. 2-1 に示す。樹幹の加温する部位 (Table 2-1) に電気抵抗発熱式加温テープ (シリコンラバーヒーター; (株)オーエムヒーター, 名古屋) を巻き、その上からポリエチレン製布を巻いた。変圧器で電圧を調節するか、あるいはサーモスタットを用いて加温部の樹皮表面温度が日中に 20~30°C になるようにした。この加温条件は針葉樹において仮道管の生産が最も盛んになる夏期の気温を基準にして設定した。

Table 2-1. Mensurational characteristics of the sample trees.

Heating period	Tree height(m)	Crown height(m)	Height at heated portion(m)		
			Upper	Middle	Lower
<i>Larix kaempferi</i>					
Yamanashi, 90-91					
Dec 12-Dec 26	18.4	8.5	7.5	4.5	1.4
Jan 18-Feb 2	19.5	7.8	8.2	5.3	2.2
Feb 26-Mar 12	17.9	7.7	7.8	4.7	2.1
Ibaraki, 95-96					
Dec 27-Jan 10	13.8	3.7	4.4	nt	1.2
Jan 24-Feb 7	13.4	4.0	5.1	nt	1.3
Feb 27-Mar 12	13.2	4.4	5.0	nt	1.2
Hokkaido, 99					
Feb 8-Feb 22	14.0	4.6	nt	nt	1.3
<i>Cryptomeria japonica</i>					
Tochigi, 90-91					
Dec 14-Dec 27	13.8	7.2	8.2	5.1	1.9
Jan 18-Feb 3	13.0	7.3	7.4	4.2	1.6
Feb 27-Mar 13	14.3	5.9	nm	nm	1.2
<i>Abies sachalinensis</i>					
Hokkaido, 98					
Mar 10-Mar 25	13.0	lower than 2.6	nt	nt	1.3
Hokkaido, 99					
Feb 22-Mar 8	13.0	lower than 2.6	nt	nt	1.3

nm, Not measured; nt, no sample were taken.

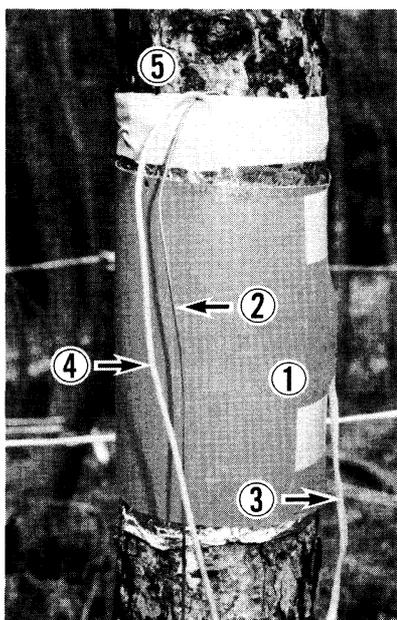


Fig. 2-1. Localized heating treatment on the main stem of *Larix kaempferi* in Ibaraki. ①, Pliable silicone-rubber electric heating tape, ②, thermocouple, ③, electric cable, ④, cable from thermostat, ⑤, main stem. An alternating current of 100 V was passed through the tape to heat the surface of the stem. The temperature between the outer bark and the heating tape was adjusted to 20-30°C.

1. 2. 3 試料採取および観察試料の作製

樹幹に局部的な加温処理をおよそ2週間施した後、ただちに加温部と対照部として加温部の1m上方に位置する部位から形成層帯と若干の師部および木部を含むブロックを採取した。ブロックは、固定処理を施した後、セデュコールまたはエポキシ樹脂であるAraldite, Epon812, あるいはSpurr樹脂で包埋した。セデュコールによる包埋は第1章1.2.2で用いた方法に従っておこなった。

エポキシ樹脂で包埋した試料から、ガラスナイフを使ってウルトラマイクロトーム (ULTRACUT J, ULTRACUT N, ULTRACUT OmU3; Reichert, Vienna, Austria) で厚さ1 μ mの木口またはまき目の薄切片を切削した。セデュコールで包埋した試料から、厚さ20~30 μ mの木口またはまき目の厚い切片を切削した。第1章1.2.2で用いた方法に従って、薄切片には0.2%アズルB水溶液で、厚い切片にはサフランインーファストグリーンFCFで染色を施して光学顕微鏡で観察した。

さらに、エポキシ樹脂で包埋した試料から、ガラスナイフまたはダイヤモンドナイフ (DiATOME Normal 45°, DiATOME, Biel, Switzerland) を使ってウルトラマイクロトームで90nm厚の木口切片を切削し、ホルムバル膜を張った銅製グリッドに切片を載せて乾燥させた。切片には2%酢酸ウラニル水溶液で7分間、クエン酸鉛 (Raynolds 1963) で5分間染色処理を施した。二重染色した切片を加速電圧80kVにおいて透過型電子顕微鏡 (JEM-100C; (株)日本電子, 東京) で観察した。

1. 2. 4 Araldite樹脂包埋

小ブロックは前固定液として0.1Mカコジル酸緩衝液で4%に希釈したグルタルアルデヒドを入れたサンプル瓶に入れ、減圧下で15分間放置してブロック中の組織内に固定液をよく浸透させた。沈んでいる小ブロックだけを新しい固定液に90分間浸漬した後、0.1Mカコジル酸緩衝液で洗浄した。小ブロックをスライドガラス上に移し、余分な師部および木部をできるだけ切り取って、2 (放射方向) \times 1 (接線方向) \times 3 (軸方向) mm³のブロックに整形した。次に、後固定液として0.1Mカコジル酸緩衝液で1%に希釈した四酸化オスミウムに1時間浸漬した。組織を二重固定したブロックは0.1Mカコジル酸緩衝液で30分間、蒸留水で5分間洗浄した後、脱水するために25, 50, 70, 95, 100, 100, 100%のエタノールシリーズのうち25, 50%には30分間、70%には冷蔵庫内で一晩、そのほかの液には1時間ずつ浸漬した。脱水処理を施したブロックをエタノール・プロピレンオキシド等量液に5分間、プロピレンオキシドに30分間、プロピレンオキシドとAralditeを3:1, 1:1, 1:3の割合で混合したシリーズのうち3:1の混合液には1時間、1:1の混合液には2時間、1:3の混合液には冷蔵庫に入れたデシケーター内で一晩浸漬した。冷蔵庫内でおこなった処理以外はすべて室温でおこなった。ブロックを48°Cに調節した恒温器の中でAralditeに50分間浸透させた。この処理をもう一度繰り返した後、Aralditeを浸透させたブロックを包埋板に入れ、Aralditeを注いだ後、48°Cに調節した恒温器の中で4日間かけて樹脂を重合させた。

1. 2. 5 Epon812樹脂包埋

小ブロックは前固定液として0.05Mリン酸緩衝液で5%に希釈したグルタルアルデヒドを入れたサンプル瓶に入れ、減圧下で15分間放置してブロック中の組織内に固定液をよく浸透させた。新たに固定液を入れ替えて小ブロックを一晩浸漬した後、0.1Mリン酸緩衝液で洗浄した。小ブロックをスライドガラス上に移し、余分な師部および木部をできるだけ切り取って、2 (放射方向) \times 1 (接線方向) \times 3 (軸方向) mm³のブロックに整形した。

次に、後固定液として0.05Mリン酸緩衝液で1%に希釈した四酸化オスミウムに6時間浸漬した。組織を二重固定したブロックは0.1Mリン酸緩衝液で30分間、蒸留水で10分間洗浄した後、脱水するために30, 50, 70, 80, 90, 95, 100, 100, 100%のエタノールシリーズのうち70%には一晩、100%には1時間、そのほかの液には30分間ずつ浸漬した。脱水処理を施したブロックをエタノール・QY1等量液に5分間、QY1に30分間、QY1とEpon812を3:1, 1:1, 1:3の割合で混合したシリーズに順次4時間ずつ浸漬した。最後にEpon812に4時間浸漬した。以上の処理はすべて室温でおこなった。Epon812を浸透させた小ブロックを包埋板に入れ、Epon812を注いだ後、35°Cと45°Cで1日ずつ、60°Cで3日間かけて樹脂を重合させた。

1.2.6 Spurr樹脂包埋

第2章1.2.5で用いた方法に従って、小ブロックに固定と脱水処理を施した。脱水処理を施したブロックをエタノール・QY2等量液に30分間、QY2に30分間、QY2とSpurr樹脂を2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4の割合で混合したシリーズのうち2:1の混合液には30分間、そのほかの液には順次1時間ずつ浸漬した。最後にSpurr樹脂に一晩浸漬した。以上の処理はすべて室温でおこなった。Spurr樹脂を浸透させた小ブロックをSpurr樹脂用の包埋板に入れ、Spurr樹脂を注いだ後、70°Cに調節した恒温器の中で8時間かけて樹脂を重合させた。

1.2.7 形成層帯細胞の分裂・木部分化の活動状況の評価

第1章1.2.3, 1.2.4および1.2.5で説明した基準に従って形成層帯細胞の分裂と木部分化の活動状況の評価した。

1.3 結果および考察

1.3.1 休眠期の形成層帯細胞の組織構造的特徴

カラマツ、スギ、トドマツにおいて、対照部の形成層帯では新生した接線壁は観察されなかった(Fig. 2-2, Tables 2-2, 3)。したがって、加温処理をおこなった期間には、カラマツ、スギ、トドマツともに形成層帯は休眠状態にあったと判断した。休眠状態にある形成層帯細胞では、接線壁が比較的厚く、液胞が細分化していた(Fig. 2-2)。スギ、マツ属(Itoh 1971)、ヤナギ(*Salix*)属(Murmanis 1971; Lisbeth 1986)でも観察されているこれらの構造は、休眠期状態にある形成層帯細胞の特徴である(Tsuda 1975; Catesson 1994; Farrar and Evert 1997a, b)。

1.3.2 形成層帯における細胞分裂の活動状況

カラマツでは、加温処理が休眠状態にある形成層帯細胞に及ぼす影響は、供試木の植栽地によって異なった(Table 2-2)。山梨県の27年生林分では、12月、1月、2月から始めた加温処理によって温められた樹幹内のいずれの部位においても形成層帯細胞の分裂再開は誘導されなかった。北海道の23年生林分に植栽されていた供試木でも、2月に加温処理を施した樹幹部の形成層帯では細胞分裂は観察されなかった。一方、茨城県の19年生林分では、加温処理によってしばしば形成層帯細胞の分裂が再開した(Fig. 2-3a)。12月27日から1月10日までの加温処理によっては、樹幹の下方部では形成層帯における細胞分裂の再開は誘導されなかった。しかしながら、樹幹の上方部では形成層帯細胞の分裂が再開した。2月と3月に加温処理を施した樹幹部の形成層帯では、細胞分裂の再開が観察された。形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の総数については、加温処理に

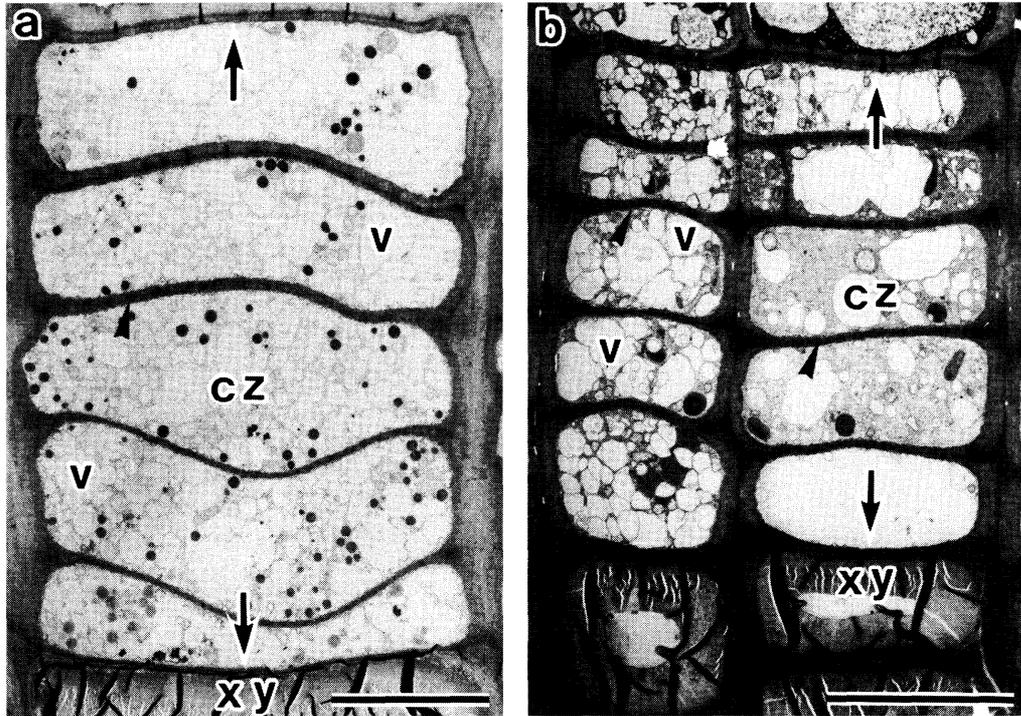


Fig. 2-2. Transverse view of cambial zone in the untreated portion of *Larix kaempferi* and *Cryptomeria japonica*, as viewed under a TEM. Cambial zone cells have numerous small vacuoles (v) and thick tangential cell walls (arrowheads). a Dormant cambium collected on February 3 1991 from an untreated upper stem portion of *L. kaempferi*. The cambial zone (between arrows) was located between a tier of thick-walled xylem cells and phloem cells and was 4 to 5 cells wide. b Dormant cambium collected on March 12 1991 from an untreated middle stem portion of *C. japonica*. The cambial zone (between arrows) was located between a tier of thick-walled xylem cells and phloem cells and was 5 to 6 cells wide. cz, Cambial zone; xy, xylem. Bars = 10 μm

Table 2-2. The extent of cambial activity in both untreated and 2-week-heated stem portions of deciduous conifer stems.

Larix kaempferi Collection date	Lower portion						Middle portion						Upper portion						
	Untreated			Heated			Untreated			Heated			Untreated			Heated			
	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	
Yamanashi																			
December 26, 90	5.3	0	0	4.6	0	0	4.8	0	0	3.7	0	0	4.8	0	0	4.8	0	0	
February 2, 91	5.2	0	0	4.1	0	0	5.0	0	0	3.9	0	0	4.3	0	0	5.4	0	0	
March 12, 91	4.7	0	0	3.6	0	0	4.7	0	0	4.4	0	0	4.0	0	0	4.1	0	0	
Ibaraki																			
January 10, 96	5.4	0	0	5.8	0	0							5.3	0	0	5.3*	0	0	
February 7, 96	4.7	0	0	4.6*	0	0							5.4	0	0	4.3*	0	0	
March 12, 96	3.8	0	0	4.9*	0	0							3.2	0	0	4.7*	0.2	0	
Hokkaido																			
February 22, 99	5.7	0	0	4.4	0	0													

Ca, Cambial zone cell; Ex, radially enlarging xylem cell; Xs, xylem cell with secondary walls; nm, not measured; *, cambium re-initiated cell division. Number of cells shown is the average of 10 radial files.

よって細胞分裂が再開した部位とその対照部との間に大きな差は認められなかった。

スギでは、加温処理によってしばしば形成層帯細胞の分裂が再開した (Table 2-3)。12月14日から27日までの加温処理によって、樹幹の下方部では形成層帯における細胞分裂の再開は誘導されなかったが、上方部と中間部

Table 2-3. The extent of cambial activity in both untreated and 2-week-heated stem portions of evergreen conifer stems.

Collection date	Lower portion						Middle portion						Upper portion					
	Untreated			Heated			Untreated			Heated			Untreated			Heated		
	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs
<i>Cryptomeria japonica</i>																		
Tochigi																		
December 27, 90	7.1	0	0	6.4	0	0	4.7	0	0	6.1*	0	0	5.0	0	0	6.3*	0	0
February 3, 91	5.0	0	0	6.8*	0.5	0	4.7	0	0	6.7*	5.5	2.9	4.6	0	0	7.9*	1.7	0
March 13, 91	4.5	0	0	8.9*	4.1	4.7	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm
<i>Abies sachalinensis</i>																		
Hokkaido																		
March 25, 98	5.0	0	0	9.5*	0.2	0												
March 8, 99	5.6	0	0	9.8*	0	0												

Ca, Cambial zone cell; Ex, radially enlarging xylem cell; Xs, xylem cell with secondary walls; nm, not measured; *, cambium re-initiated cell division. Number of cells shown is the average of 10 radial files.

では形成層帯細胞の分裂が再開した。1月18日から2月3日までと2月27日から3月13日までの加温処理によって、樹幹のいずれの加温部においても形成層帯細胞の分裂が観察された。形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の総数については、加温処理によって細胞分裂が再開した部位とその対照部との間に大きな差が認められ、この差は、加温処理期間が遅くなるほど大きくなった。

トドマツでは、2月と3月に施した加温処理によって形成層帯細胞の分裂が再開した (Table 2-3, Fig. 2-3b)。形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の総数については、加温処理によって細胞分裂が再開した部位とその対照部との間に大きな差が認められた。

形成層帯が休眠状態にある時期に局部的に温められた部位において、スギとトドマツでは、しばしば形成層帯細胞の分裂が再開し (Table 2-3)、カラマツでも形成層帯において細胞分裂が観察されることがあった (Table 2-2)。加温処理によって形成層帯細胞の分裂再開が誘導されることは、常緑針葉樹である *Pinus contorta* var. *latifolia* で確認されている (Savidge and Wareing 1981a)。これらの結果は、常緑針葉樹に加えて落葉針葉樹でも、冬期には低温によって形成層帯細胞の分裂が抑制されており、春期における気温の上昇が直接の引き金となって細胞分裂が再開することを示している。さらに、形成層帯細胞が分裂するために必要な内部因子の条件は、樹幹内においては休眠期にも既に揃っている可能性がある。したがって、落葉針葉樹の形成層帯における細胞分裂も、常緑針葉樹のように新たなシュートや針葉の成長開始とは無関係に再開していると考えられる。

休眠期に温められた形成層帯における細胞分裂の活動状況には、樹種、休眠期における旧葉の存否、生育地、加温処理を施した時期によって違いが認められた。これらの結果は、冬期の低温以外にも休眠期に形成層帯細胞の分裂を抑制している因子があることを示唆している。

休眠期における加温処理に対する形成層帯細胞の反応性の違いは、細胞分裂に必要な内部因子の形成層帯における充足状況を反映している可能性がある。スギでは、加温処理によって誘導された細胞分裂の活動状況に季節変動が認められ、1月中旬以降の処理では加温処理を始める時期が遅くなるほど分裂が徐々に活発になった。細胞分裂に必要な内部因子としては、IAAとショ糖が挙げられる。しかしながら、形成層休眠期にも、¹⁴Cで標識した外生IAAがシュートや樹幹内を求基的に移動する (Little 1981; Savidge and Wareing 1982; Odani 1985) ことと、形成層帯には比較的高いレベルのIAAが内生している (Sundberg et al. 1991; Ugglä et al. 1996; Funada et al. 2001, 2002) ことが報告されており、冬期にもIAAが形成層帯に供給されている可能性がある。さらに、IAAは紡錘

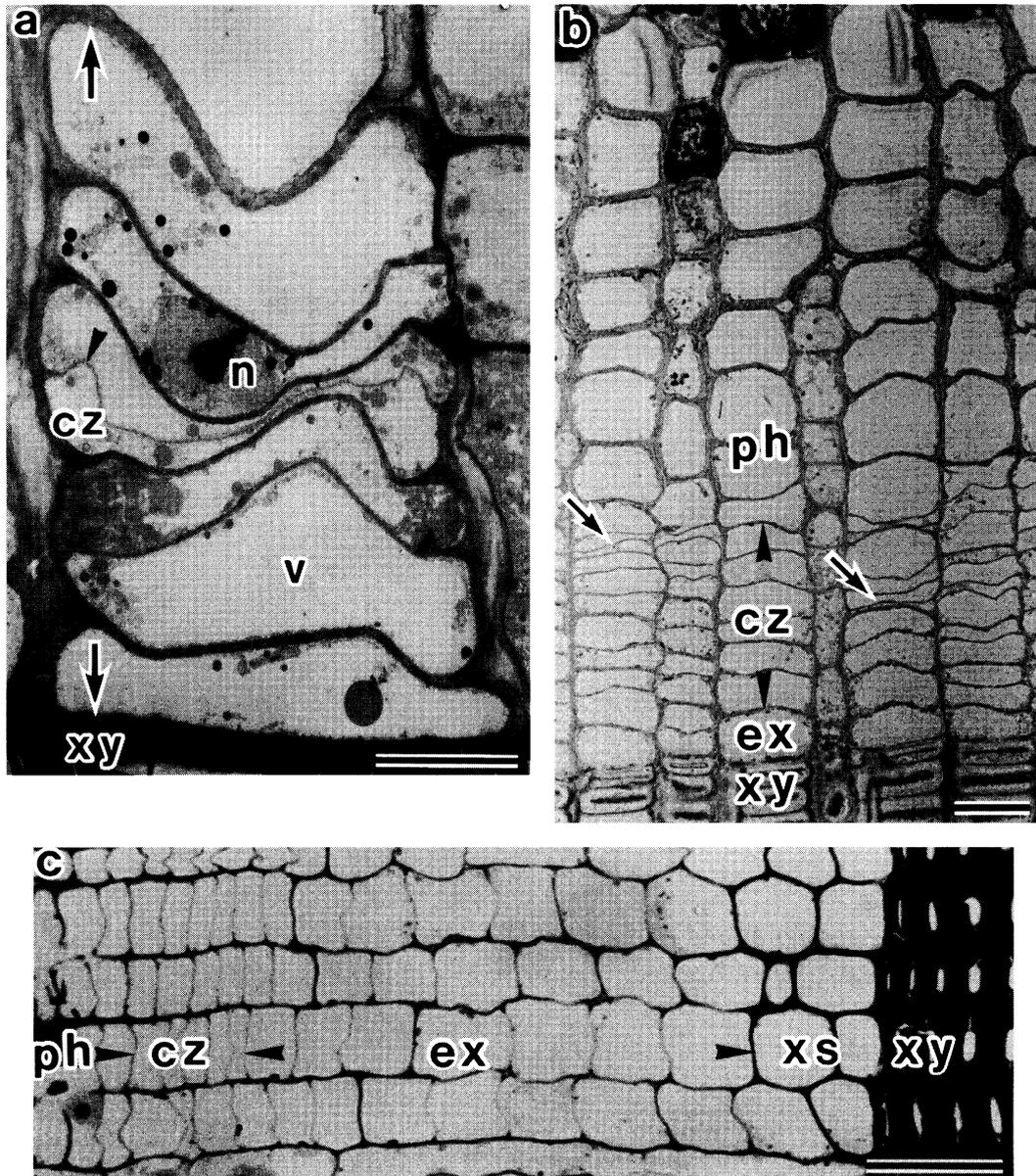


Fig. 2-3. The extent of cambial growth in 2-week-heated portions of *Larix kaempferi*, *Cryptomeria japonica* and *Abies sachalinensis*, as viewed transversally. a The upper stem portion of *L. kaempferi* collected on January 10 1996, as viewed under a TEM. The newly formed cell wall (arrowhead) is visible in cambial zone (between arrows). Bar = 10 μ m. b The stem portion at breast height of *A. sachalinensis* collected on March 25 1998, as viewed under a light microscope. Newly formed cell walls (arrows) can be seen in the cambial zone (between arrowheads). However, a few radially enlarging xylem cells (*ex*) are also visible, their radial diameters are markedly smaller than the typical diameters of earlywood traheids of *A. sachalinensis*. Bar = 10 μ m. c The middle stem portion of *C. japonica* collected on February 3 1991, as viewed under a light microscope. Radially enlarging xylem cells and xylem cells with secondary walls (*xs*) can be seen. Bar = 30 μ m. *cz*, Cambial zone; *n*, nucleus; *ph*, phloem; *v*, vacuole; *xy*, xylem

形形成層細胞が形状を維持するために不可欠な物質であることが提唱されている (Savidge and Wareing 1981a; Savidge 1983; Sundberg et al. 2000) ので、休眠期の形成層帯においてIAAが欠乏しているとは考えにくい。

一方、針葉においては、低温下でも光合成はおこなわれているが、気温が氷点下になると呼吸が光合成を上回る (Kramer and Kozlowski 1960)。

したがって、針葉から形成層帯付近の貯蔵組織への光合成産物の可溶性成分の供給は気温に依存して変動し、厳冬期には停止している可能性がある。スギについては、1月中旬以降は気温が上昇するにつれて (Fig. 2-4) 加温処理を施した形成層帯では細胞分裂が活発になることから、加温処理に対する形成層帯細胞の反応性の違いは、細胞分裂に必要な内部因子、ことにショ糖の形成層帯における充足状況を反映していると考えられる。

12月14日から27日まで加温したスギの樹幹の下方部と、加温処理によって細胞分裂の再開が確認された茨城県の19年生林分のカラマツについては、12月27日から1月10日まで加温処理を施した樹幹の下方部では、形成層帯細胞の分裂は全く起こらなかった。スギで細胞分裂が全く観察されなかった12月14日から27日までの加温期間の気温は、細胞分裂が誘導された1月の加温期間の気温よりも高かった (Fig. 2-4)。さらに、冬期には、針葉が着生していないために光合成がおこなわれていないカラマツでも、休眠の初期と後期では加温処理に対する反応性が異なることから、細胞分裂に必要な内部因子以外にも休眠期に形成層帯細胞の分裂を抑制している因子が存在すると考える。

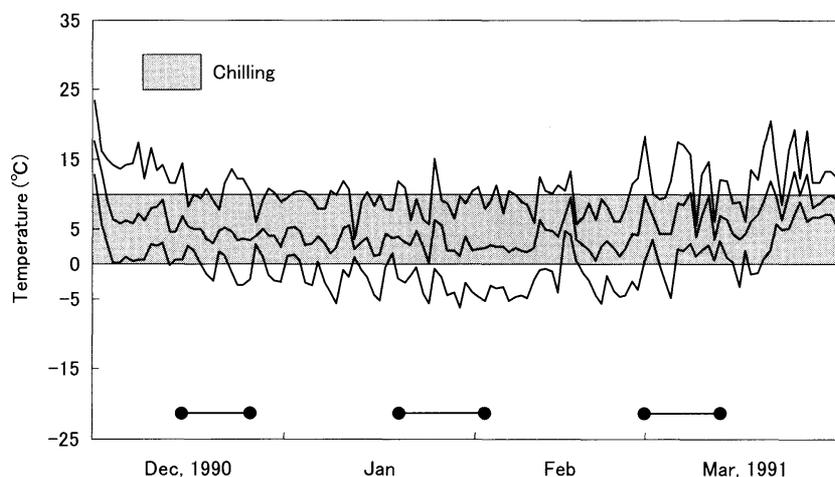


Fig. 2-4. Maximum, average and minimum air temperatures at Sano, 5 km from Karasawa, during the experiments. The bar with dots (●-●) indicates the time during which the experiment was performed.

休眠期には加温処理に対する形成層帯細胞自身の反応性が変動している可能性がある。*Abies balsamea*の形成層休眠については、温度、日長、成長制御物質などの樹木の成長に影響を及ぼす因子を形成層活動に適した条件に調整した生育環境下においても打破されないRest期と、外的な因子によって形成層活動が抑制されているQuiescence期があり、形成層帯を一定期間低温に曝露すること、すなわち、ChillingによってRest期からQuiescence期へ移行することが知られている (Mellerowicz et al. 1992)。スギとカラマツについても、休眠初期の12月から1月初旬には、加温処理を施しても形成層帯細胞の分裂が全く起こらないRest期が認められた。さらに、休眠期に施した加温処理に対する形成層帯細胞の反応性は、休眠の段階を反映していると考えられる。供試木が

植栽されていた試験地では12月以降の平均気温がChillingに有効な温度 (Mellerowicz et al. 1992) にまで低下していた (Fig. 2-4, 5)。しばらく低温に曝された形成層帯では休眠状態がRestからQuiescenceへ移行するにつれ、ことにスギで顕著であったように、加温処理に対する形成層帯細胞の反応性が徐々に高くなると考える。

カラマツでは、加温処理が休眠状態にある形成層帯細胞に及ぼす影響は、供試木の植栽地によって異なった (Table 2-2)。加温処理に対する形成層帯細胞の反応性には、休眠期の気温が関与している可能性がある。しかしながら、山梨県と茨城県の試験地の気温の間にはあまり違いはなかった (Fig. 2-5, 6)。一方、カラマツでは、ほぼ同じ時期に温めたスギと比べると加温処理によって誘導される形成層帯細胞の分裂の活動状況は極めて低かった。したがって、落葉針葉樹では、形成層帯細胞の加温処理に対する反応性は著しく低く、形成層帯の細胞が分裂を再開するために必要な加温期間が常緑針葉樹よりも長いと考える。

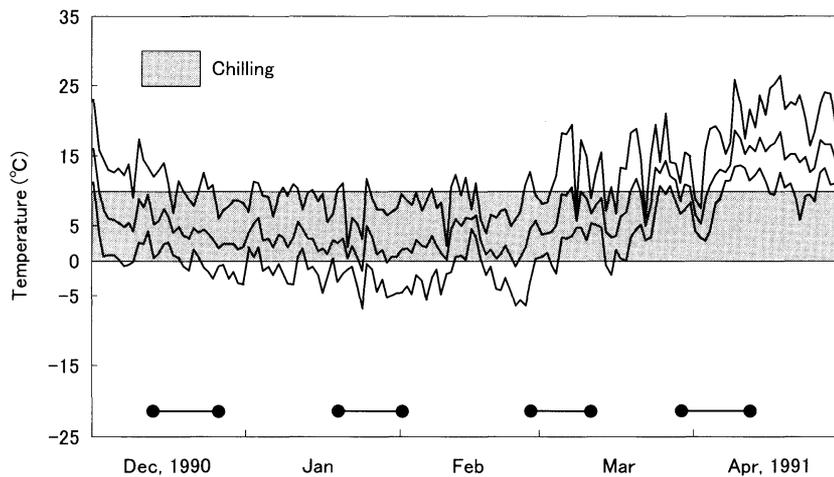


Fig. 2-5. Maximum, average and minimum air temperatures at Katsunuma, 10 km from Konarayama, during the experiments. The bar with dots (●-●) indicates the time during which the experiment was performed.

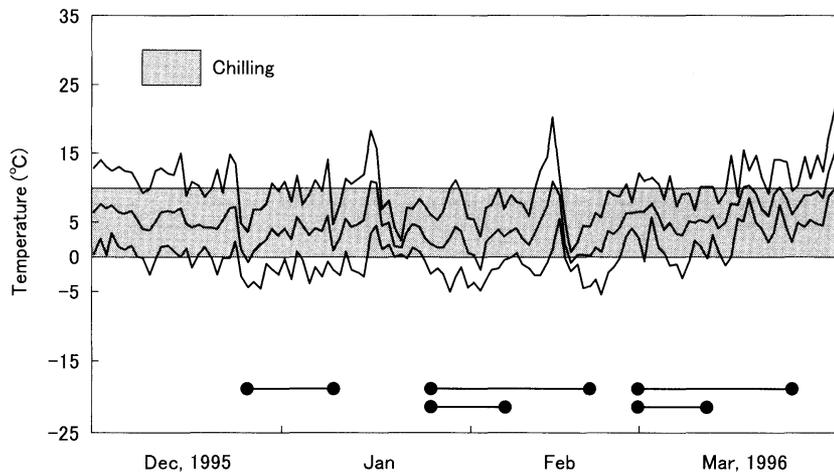


Fig. 2-6. Maximum, average and minimum air temperatures at Tsuchiura, 8 km from Chiyoda, during the experiments. The bar with dots (●-●) indicates the time during which the experiment was performed.

さらに、形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の総数については、2週間の加温処理によって細胞分裂が再開した部位とその対照部との間に大きな差が認められなかったことから、加温部の形成層帯は分裂を再開した直後であった可能性がある。形成層帯の細胞が分裂を再開するために必要な加温期間が2週間前後であれば、2週間の加温処理では形成層帯細胞の分裂が誘導される場合とされない場合が起こり得る。したがって、カラマツでは加温処理期間をさらに延長すれば、形成層帯における細胞分裂の活動状態は活発になる可能性がある。

1.3.3 木部分化の活動状況

休眠状態にある形成層帯に加温処理を施したときに誘導される木部分化の活動状況は樹種によって大きく異なった (Tables 2-2, 3)。カラマツとトドマツでは、加温処理によって形成層派生物の木部分化はほとんど誘導されなかった。茨城県の19年生林分に植栽されていたカラマツでは、2月27日から3月12日まで加温処理を施した樹幹の上方部において放射径が拡大した形成層派生物が僅かに観察された。トドマツでも3月10日から3月25日まで加温処理を施した樹幹の胸高部において放射径が拡大した形成層派生物が僅かに観察された。しかしながら、これらの形成層派生物は早材仮道管のように放射径が大きく拡大していなかった (Fig. 2-3b)。スギでは、加温処理によってしばしば木部分化が再開した (Table 2-3)。12月14日から27日までの加温処理を施した部位では形成層派生物の木部分化は誘導されなかった。1月18日から2月3日までの加温処理によって、形成層派生物の放射径拡大が起こり、中間部では形成層派生物の二次壁肥厚も誘導された (Fig. 2-3c)。2月27日から3月13日まで加温処理を施した樹幹では、下方部でも二次壁が肥厚した形成層派生物が観察された。

常緑針葉樹であるスギでは、形成層帯が休眠状態にある時期でも加温処理によって形成層派生物の放射径拡大や二次壁肥厚を誘導することができた (Table 2-3)。スギと同じ常緑針葉樹である *Pinus contorta* var. *latifolia* では、休眠期に加温処理を施した樹幹部において形成層派生物が木部へと分化することが確認されている (Savidge and Wareing 1981a)。これらの結果は、常緑針葉樹では、冬期には低温によって木部分化が抑制されており、春期における気温の上昇が直接の引き金となって木部分化が誘導されることを示している。さらに、形成層派生物の木部分化に必要な内部因子については、休眠期にも樹幹内において条件が既に揃っている可能性がある。しかしながら、スギでは加温処理によって誘導される形成層派生物の木部分化の活動状況に季節変動が認められた。加温処理を施した樹幹の下方部については、1月中旬の処理では放射径が拡大した形成層派生物だけが観察されたが、2月下旬の処理では二次壁肥厚も確認されており (Table 2-3)、処理開始時期が遅くなるほど誘導される木部分化の段階が進んでいた。これらの結果は、冬期の低温以外にも休眠期に木部分化を抑制している因子が存在することを示している。

休眠期に樹幹部を局部的に加温することによって誘導される形成層派生物の分化活動の状況は、木部分化に必要な内部因子の形成層帯における充足状況を反映している可能性がある。形成層派生物の分化には IAA (Savidge and Wareing 1981a; Savidge 1983; Sundberg et al. 2000) と光合成産物 (Wetmore and Rier 1963; Warren Wilson et al. 1994; Krabel 2000) が深く関わっていると考えられている。IAAは紡錘形形成層帯細胞が形状を維持するために不可欠な物質であり (Savidge and Wareing 1981a; Savidge 1983; Sundberg et al. 2000)、形成層休眠期にも形成層帯には比較的高いレベルの IAA が内生していることが示されている (Sundberg et al. 1991; Uggla et al. 1996; Funada et al. 2001, 2002)。したがって、休眠期の加温処理によって細胞分裂を再開した形成

層帯から派生した細胞は、休眠期の比較的早い時期に放射径を拡大することができたと考える。一方、針葉で生成されて形成層帯付近の貯蔵組織へ供給されるショ糖などの光合成産物の可溶性成分の量は気温に依存して変動しており、厳冬期には供給が停止している可能性がある (Kramer and Kozlowski 1960)。スギの樹幹の下方部においては、厳冬期にあたる 1 月 18 日から 2 月 7 日にかけておこなった加温処理では形成層派生物の二次壁肥厚は誘導されなかったが、気温が上昇して比較的温暖になった 2 月 27 日から 3 月 13 日に施した加温処理によっては二次壁が堆積した仮道管が形成された (Fig. 2-4, Table 2-3) ことから、形成層派生物の二次壁肥厚は光合成産物の可溶性成分の供給状況を反映して起こると考えられる。さらに、針葉からの光合成産物の可溶性成分の供給量が停止している可能性がある厳冬期にあたる 1 月 18 日から 2 月 7 日 (Fig. 2-4) に加温処理を施した部位でも二次壁が堆積した形成層派生物が観察された (Table 2-3) ことから、形成層帯付近に貯蔵されているデンプンも二次壁肥厚に係わっていると考える。

落葉針葉樹であるカラマツでは、形成層帯が休眠状態にある時期に局部加温処理を施した部位においては、放射径が拡大した形成層派生物はほとんど観察されず、二次壁肥厚はまったく起こらなかった (Table 2-2)。カラマツでは、針葉が着生していない冬期には低温ではなく、形成層派生物が木部へと分化するために必要な内部因子によって木部分化が抑制されている可能性がある。しかしながら、放射径の拡大に関与していると考えられている IAA の形成層帯における内生量は形成層休眠期でも比較的高いことが示されている (Funada et al. 2002)。第 2 章 1. 3. 2 では、カラマツの形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な加温期間は、常緑針葉樹よりも長く、2 週間前後であることを示唆した。したがって、加温処理期間を 2 週間よりもさらに延長すれば、放射径が大きく拡大した形成層派生物が形成される可能性がある。一方、カラマツでは、針葉が着生していない冬期には光合成がおこなわれておらず、二次壁の肥厚に必要な光合成産物の可溶性成分の供給が停止している可能性は高い。したがって、休眠期に加温処理を施しても形成層派生物には二次壁が堆積されない可能性もある。

トドマツでは、形成層帯が休眠状態にある時期に局部加温処理を施した部位においては、放射径が拡大した形成層派生物はほとんど観察されず、二次壁肥厚はまったく起こらなかった (Table 2-3)。寒冷的な地域 (Fig. 2-7) に植栽されていたトドマツは、同じ常緑針葉樹でも比較的温暖的な地域 (Fig. 2-4) に植栽されていたスギとは異なり、むしろ落葉針葉樹であるカラマツと同じく、冬期には低温ではなく形成層派生物が木部へと分化するために必要な内部因子によって木部分化が抑制されている可能性がある。

トドマツでもカラマツと同様に放射径の拡大が起こるためには 2 週間以上の加温処理が必要である可能性がある。2 月と 3 月に加温処理を施したトドマツの加温部と 1 月 18 日から 2 月 3 日まで温められたスギの樹幹の上方部については、形成層帯細胞および形成層帯と晩材仮道管に挟まれた細胞の数がほぼ等しい (Table 2-3) ことから、形成層活動の状況はほぼ同じであると考えられる。2 週間加温処理を施したスギの樹幹の上方部では、しばしば早材仮道管のように放射径が著しく拡大した形成層派生物 (Fig. 2-3, Table 2-3) が認められた。スギと形成層活動の状況がほぼ同じトドマツの加温部についても、2 週間の加温処理によって形成層派生物の放射径拡大が誘導されると考えたが、放射径が僅かに拡大した形成層派生物がいくつか観察されただけであった (Fig. 2-3, Table 2-3)。形成層派生物の放射径の拡大との係わりが注目されている IAA (Sundberg et al. 2000) の形成層帯における内生量は、形成層休眠期でも比較的高い (Sundberg et al. 1991; Ugglä et al. 1996; Funada et al. 2001, 2002)。しかしながら、寒冷的な地域 (Fig. 2-7) に植栽されているトドマツでは、比較的温暖的な地域 (Fig. 2-4) に植栽されているスギに比べると、低温によって冬期の樹冠における IAA の生成や樹幹内における IAA の移動は

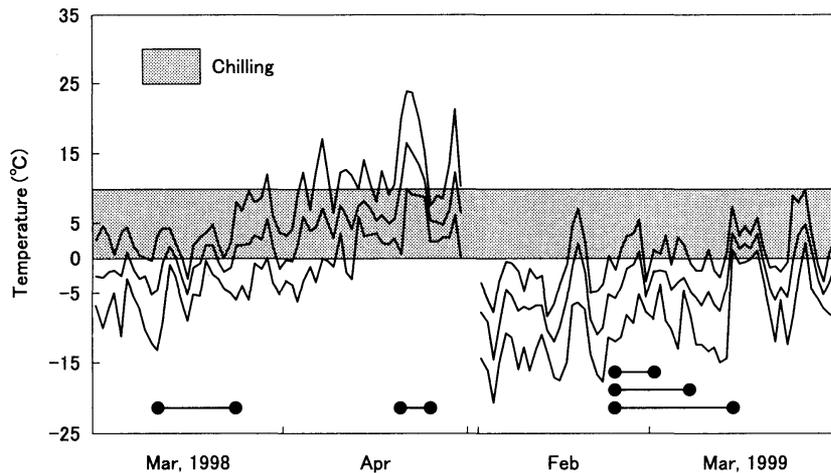


Fig. 2-7. Maximum, average and minimum air temperatures at Nishi-nopporo, 14 km from the Hokkaido Breeding Office, during the experiments in 1998 and 1999. The bar with dots (●-●) indicates the time during which the experiment was performed.

かなり抑制されている可能性がある。

トドマツについては、加温期間を2週間よりもさらに延長することによって、休眠状態にある形成層帯における形成層派生物が放射径を拡大するために必要な内部因子の充足状況を調べることができると考える。

二次壁肥厚に必要な光合成産物の可溶性成分 (Krabel 2000) については、針葉から形成層帯付近の貯蔵組織への供給は気温に依存して変動しており、気温が氷点下になると停止している可能性がある (Kramer and Kozlowski 1960)。寒冷な地域に植栽されていたトドマツでは、加温処理を施した2月下旬から3月にかけては、平均気温が氷点下である日が多く (Fig. 2-7)、光合成産物の可溶性成分の供給が停止しているために、加温処理を施しても形成層派生物には二次壁が堆積しないと考える。

1.4 結論

落葉針葉樹としてカラマツ、常緑針葉樹としてスギとトドマツを用いて、形成層休眠期に局所的な加温処理を2週間施した樹幹部における形成層帯の活動状況を調べ、さらに、形成層休眠期における針葉の存否と生育地の気候による加温処理に対する形成層活動の反応性の違いを調べた。

- (1) 常緑・落葉針葉樹の樹幹内においては、休眠期には形成層帯細胞が分裂するために必要な内部因子については既に条件が揃っているが、低温によって細胞分裂が抑制されているために、春期に気温が上昇することが直接の引き金となって、新たなシュートや針葉の成長開始とは無関係に細胞分裂が再開することが明らかになった。
- (2) 休眠期に細胞分裂と木部分化を制御している因子は、冬期の低温以外にも存在し、これらの因子は、樹種、休眠期における旧葉の存否、生育地、加温処理を施した時期によって異なることが示された。
- (3) 常緑・落葉針葉樹の形成層休眠には、樹木自身によって休眠状態が維持されているRest期と、環境因子によって形成層活動が抑制されているQuiescence期が存在することが示された。
- (4) カラマツとトドマツについては、休眠期に形成層帯細胞の分裂活動と形成層派生物の木部分化を制御している因子を明らかにするために加温期間を2週間よりもさらに延長する必要があることが示された。

第 2 節 形成層帯付近の貯蔵デンプン量の変動

2.1 緒言

第 2 章第 1 節では、休眠期に局所的な加温処理を 2 週間施した常緑・落葉針葉樹の樹幹部について形成層帯の活動状況を調べた結果、加温部における形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況は、形成層帯付近におけるショ糖などの光合成産物の可溶性成分の充足状況を反映している可能性が示唆された。針葉から供給された光合成産物の可溶性成分は貯蔵組織内にデンプンとして蓄えられ、貯蔵デンプンからは形成層帯へショ糖が供給されていることが示されている (Zimmermann 1971; Blechschmidt-Schneider 1990)。したがって、形成層帯付近の貯蔵組織に貯蔵されているデンプンの量を調べることによって、形成層帯付近におけるショ糖などの光合成産物の可溶性成分の充足状況を把握できると考える。

本節では、第 2 章第 1 節で休眠期に 2 週間の加温処理を施したカラマツ、スギ、トドマツを用いて、加温処理に対する形成層帯細胞と形成層派生物の反応性と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係を調べた。

2.2 材料および実験方法

2.2.1 供試木、試料採取と加温処理

第 2 章第 1 節でおよそ 2 週間樹幹を局所的に加温した供試木の加温部と対照部から形成層帯を含むブロックを採取した (Table 2-1)。

2.2.2 観察試料の作製と検鏡

第 2 章第 1 節で用いた方法に従ってブロックからエポキシ樹脂で包埋した試料を作製した。エポキシ樹脂で包埋した試料から、ガラスナイフを使ってウルトラミクロームで厚さ 1 μm の木口切片を切削した。組織観察には 0.2% アズル B 水溶液で、貯蔵デンプン観察にはヨウ素-ヨウ化カリウム水溶液または PAS 反応によって染色を施した切片を光学顕微鏡下で観察した。

2.2.3 形成層帯付近の貯蔵デンプン量の評価

形成層帯付近の貯蔵デンプン量を調べるために、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織に貯蔵されているデンプンの量を 3 段階で評価した。貯蔵デンプンが全くない場合は - (Fig. 2-8a: 師部柔細胞), ほとんどない場合は \pm (Fig. 2-8b: 師部柔細胞と放射組織), 大量にある場合は + (Fig. 2-8a: 放射組織, c: 師部柔細胞と放射組織) とした。

2.3 結果および考察

2.3.1 休眠期の貯蔵デンプン量

形成層帯細胞が休眠状態にある時期でも、対照部においては形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量が時期的に変動した。カラマツでは (Table 2-4), 12 月と 1 月には形成層帯付近の師部柔細胞に大量のデンプンが貯蔵されていた。2 月には、形成層帯付近の師部柔細胞にデンプンはほとんど貯蔵されておらず、北海道に植栽されていた供試木ではまったく観察されなかった。3 月には、形成層帯付近の師部柔細胞に大量のデンプンが貯蔵されていた。スギでは (Table 2-5), 12 月, 2 月および 3 月には形成層帯付近の師部柔細胞に大量

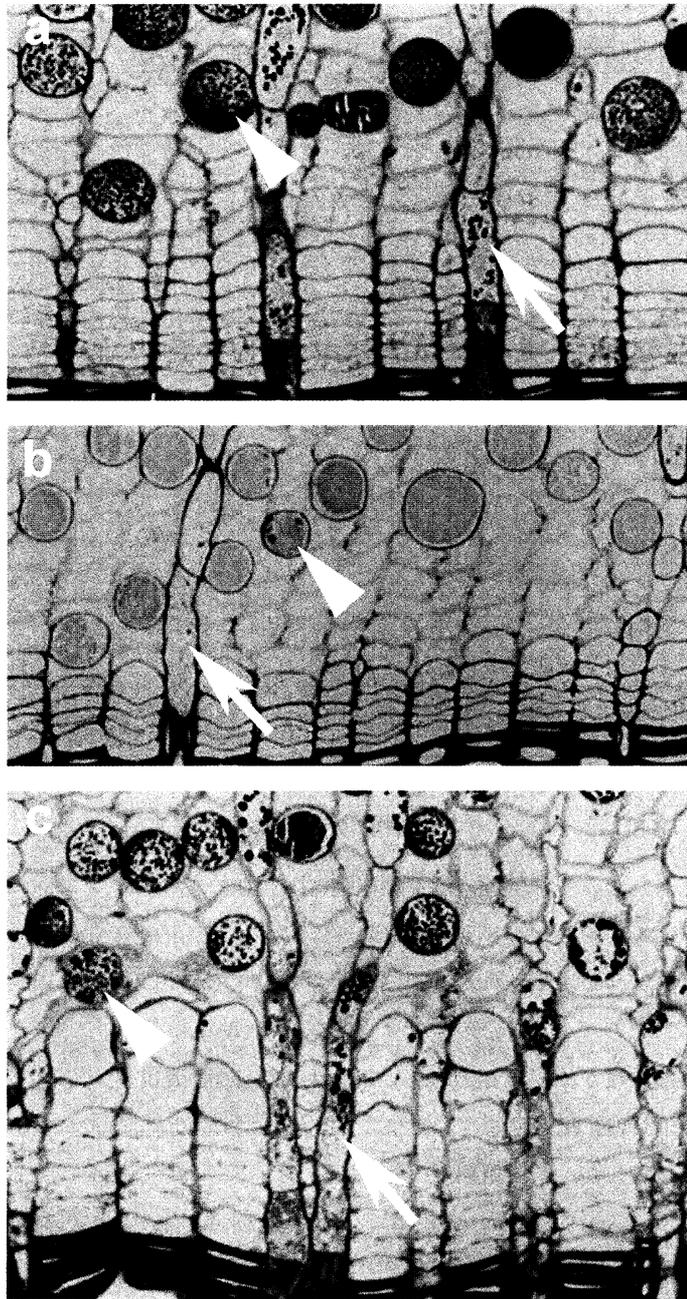


Fig. 2-8. Evaluation of the amount of storage starch in phloem parenchyma (*arrowheads*) and ray (*arrows*) around the cambium. Sections of *Larix kaempferi* stained with PAS method, as viewed transversely under a light microscope.
 a Phloem parenchyma: no starch, -; ray: starch rich, +. b Phloem parenchyma: little starch, ±; ray: little starch, ±. c Phloem parenchyma: starch rich, +; ray: starch rich, +. The bottom of each photograph corresponds to the xylem side. Bars = 30 μm

Table 2-4. Changes in amount of starch in storage tissues around the cambium in both untreated and 2-week-heated stem portions of deciduous conifer stems.

<i>Larix kaempferi</i>	Lower portion		Middle portion		Upper portion	
	Untreated	Heated	Untreated	Heated	Untreated	Heated
Phloem parenchyma						
Yamanashi, 90-91						
Dec 12-Dec 26	+	+	+	+	+	+
Jan 18-Feb 2	±	+	±	±	±	+
Feb 26-Mar 12	+	+	+	*	+	+
Ibaraki, 95-96						
Dec 27-Jan 10	+	+			+	+
Jan 24-Feb 7	±	+			+	+
Feb 27-Mar 12	+	+			+	+
Hokkaido, 99						
Feb 8-Feb 22	-	+				
Ray						
Yamanashi, 90-91						
Dec 12-Dec 26	+	+	+	+	+	+
Jan 18-Feb 2	+	+	+	+	+	+
Feb 26-Mar 12	±	+	±	-	+	+
Ibaraki, 95-96						
Dec 27-Jan 10	+	+			+	+
Jan 24-Feb 7	+	+			+	+
Feb 27-Mar 12	+	+			+	+
Hokkaido, 99						
Feb 8-Feb 22	+	+				

-, No starch; ±, little starch; +, starch rich; *, not measured.

のデンプンが貯蔵されていた。形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は、12月から2月にかけて減少した後、3月にかけて増加した。トドマツでは (Table 2-5), 1998年3月と1999年2月には形成層帯付近の師部柔細胞に大量のデンプンが観察された。師部柔細胞中の貯蔵デンプン量は1999年2月よりも1998年3月の方が多かった。

形成層帯付近の放射組織に貯蔵されているデンプンの量は、師部柔細胞に比べると大きく変動しなかった。カラマツでは (Table 2-4), 山梨県に植栽されていた供試木から3月に採取した試料を除くと形成層帯付近の放射組織に大量のデンプンが観察された。放射組織中の貯蔵デンプン量は変動したが、師部柔細胞で認められたような顕著な傾向は示さなかった。スギでは (Table 2-5), 常に形成層帯付近の放射組織には大量のデンプンが貯蔵されており、デンプン量は変動しなかった。トドマツでは (Table 2-5), 1998年3月と1999年2月には形成層帯付近の放射組織に大量のデンプンが観察された。放射組織中の貯蔵デンプン量は1999年2月よりも1998年3月の方が多かった。

供試木が植栽されていた地域の気温は、12月から2月にかけて低下した後3月にかけては上昇しており、形成層帯付近の師部柔細胞内の貯蔵デンプン量と同じ傾向を示して変動していた (Fig. 2-4, 5, 6, 7)。したがって、形成層帯付近の師部柔細胞内の貯蔵デンプン量は気温に応じて増減している可能性がある。植物については、冬の寒冷な生育条件に適応するために、細胞質基質に溶解している溶質の濃度が上昇することが知られている (酒井 1982)。凍害防御効果は溶質の種類によって異なり、ショ糖には高い効果が認められている (酒井 1982)。

Table 2-5. Changes in amount of starch in storage tissues around the cambium in both untreated and 2-week-heated stem portions of evergreen conifer stems.

Heat period	Lower portion		Middle portion		Upper portion	
	Untreated	Heated	Untreated	Heated	Untreated	Heated
Phloem parenchyma						
<i>Cryptomeria japonica</i>						
Tochigi, 90-91						
Dec 14-Dec 27	+	±	+	*	+	+
Jan 18-Feb 3	+	+	+	+	+	+
Feb 27-Mar 13	+	+				
<i>Abies sachalinensis</i>						
Hokkaido, 98						
Mar 10-Mar 25	+	±				
Hokkaido, 99						
Feb 22-Mar 8	+	±				
Ray						
<i>Cryptomeria japonica</i>						
Tochigi, 90-91						
Dec 14-Dec 27	+	+	+	*	+	+
Jan 18-Feb 3	+	+	+	+	+	+
Feb 27-Mar 13	+	+				
<i>Abies sachalinensis</i>						
Hokkaido, 98						
Mar 10-Mar 25	+	±				
Hokkaido, 99						
Feb 22-Mar 8	+	±				

-, No starch; ±, little starch; +, starch rich; *, not measured.

休眠状態にある形成層帯細胞では、光合成産物の貯蔵体であるデンプンは認められず (Larson 1994)、細胞質基質が不透明なゲル状である (島地ら 1976) ことから、細胞質基質に溶解しているショ糖の濃度が高くなっていることが示唆される。形成層帯付近の師部柔細胞と形成層帯細胞の間では放射組織を介してショ糖などの光合成産物の可溶性成分が可逆的に移動している (Zimmermann 1971)。休眠状態にある形成層帯細胞は、師部柔細胞との間でショ糖の受け渡しをすることによって、細胞質基質のショ糖濃度を気温に応じたレベルに調節して、冬期の寒冷な生育条件に適応していると考えられる。したがって、ショ糖の供給源であり貯蔵体である師部柔細胞内のデンプン (Kraebel 2000) の量は気温と同じ傾向を示して変動する。

放射組織は、師部柔細胞と同じくショ糖などの光合成産物の可溶性成分を貯蔵する器官であり、形成層帯細胞におけるショ糖濃度の調節にも関与している可能性がある。しかしながら、放射組織に貯蔵されているデンプン量の変動様式には、師部柔細胞内の貯蔵デンプン量や気温と同じ傾向は認められなかった。したがって、形成層帯細胞におけるショ糖濃度の調節は、おもに師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量を増減することによっておこなわれていると考えられる。一方、放射組織は、形成層帯細胞と師部柔細胞との間の物質の受け渡しを仲介する役割も果たしている (Sauter 2000)。放射組織は師部柔細胞を補足する貯蔵組織であり、デンプンはショ糖の流入量と流出量に応じて一時的に貯蔵されていると考えられる。

2. 3. 2 細胞分裂の活動状況と貯蔵デンプン量との関連性

加温処理を施したカラマツの樹幹では、形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量が対照部と比べるとしばしば増加した。加温処理によって形成層帯細胞が分裂を再開した部位では、形成層帯付近の師部柔細胞に大量のデンプンが貯蔵されていた (Table 2-4)。これらの部位では形成層帯細胞の分裂活動は活発ではなかった (Table 2-2)。形成層帯の休眠状態がRestと判断された部位を除くと、加温処理によって形成層帯細胞の分裂が誘導され、分裂再開後も活発に細胞が生産されていたスギでは (Table 2-3)、形成層帯付近の師部柔細胞には大量の貯蔵デンプンが観察された (Table 2-5)。形成層帯細胞の分裂活動が再開し、その後の細胞分裂も比較的活発であったトドマツの加温部では、形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプン量は対照部よりも少なく、僅かであった (Table 2-5)。

カラマツとスギについては、休眠期に施した加温処理によって形成層帯細胞の分裂が再開した部位では、これらの対照部の師部柔細胞に貯蔵されていたデンプンの量にかかわらず、師部柔細胞に大量の貯蔵デンプンが認められたことから、形成層帯細胞が分裂を再開するためには、師部柔細胞にデンプンが貯蔵されている必要があると考える。第2章2.3.1では、師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量が気温に応じて増減している可能性を示した。休眠期に温めた部位では、加温処理によって温度が高くなるために師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は基本的には増加すると考える。一方、師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量には、針葉からの光合成産物の可溶性成分の供給と形成層帯細胞の分裂活動によるショ糖の消費が影響している可能性がある (Fig. 2-9)。

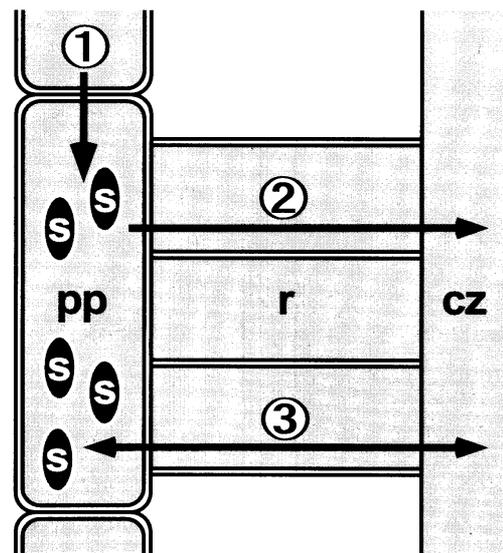


Fig. 2-9. Factors affecting on the amount of storage starch in phloem parenchyma. ①, Translocation; ②, the influx of soluble substances derived from storage starch in phloem parenchyma; ③, sucrose allocation between cambial zone cells and phloem parenchyma; cz, cambial zone cells; pp, phloem parenchyma; r, ray; s, storage starch.

スギのように温暖な地域に植栽されている常緑針葉樹では、冬期の休眠期にも針葉から師部柔細胞へ光合成産物の可溶性成分が供給されている (Savidge and Wareing 1982; Blechschmidt-Schneider 1990)。2週間加温処理を施したスギの樹幹部では、活発な形成層帯細胞の分裂活動によって師部柔細胞の貯蔵デンプンから供給されるショ糖が消費されるが、針葉から師部柔細胞へ供給される光合成産物の可溶性成分の量も多いと考える。したがって、加温処理によって形成層帯細胞の分裂が再開した部位では、師部柔細胞にデンプンが大量に貯蔵されていた可能性がある。一方、加温処理を施した時期に形成層帯がRestの状態にあった部位では、師部柔細胞内にデンプンがほとんど認められなかった。Rest期には樹木自身によって休眠状態が維持されており、成長に影響を及ぼす温度、日長、成長制御物質などの因子を形成層活動に適した条件に調整した生育環境下においても形成層帯細胞は分裂活動を再開しない。Restの段階にある形成層帯細胞では、寒冷適応に係わる細胞質基質であるショ糖の濃度などの内部因子が、温度などの環境因子の変化とは無関係に変化している可能性がある。

落葉針葉樹であるカラマツでは、針葉が着生していない冬期には、光合成がおこなわれないために針葉から師部柔細胞への光合成産物の可溶性成分の供給は停止している。しかしながら、休眠期に2週間加温処理を施した樹幹部では、形成層帯細胞の分裂活動が穏やかに消費されるショ糖の量が少ないために、師部柔細胞に大量のデンプンが貯蔵されていたと考える。一方、第2章1.3.2において、落葉針葉樹では、形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な加温期間が常緑針葉樹よりも長く、カラマツでは2週間前後であることを示唆した。したがって、2週間加温処理を施したカラマツの樹幹部をさらに温め続ければ、形成層帯細胞が分裂を繰り返すとともに師部柔細胞の貯蔵デンプンが減少する可能性がある。

寒冷な地域に植栽されている常緑針葉樹であるトドマツについては、第2章1.3.3において、加温処理を施した冬期には光合成産物の可溶性成分の供給が低温によって停止している可能性を示唆した。トドマツでは、2月下旬と3月には、対照部の師部柔細胞にデンプンが大量に貯蔵されていたが、2週間加温処理を施した部位では貯蔵デンプンはほとんど消失していた。これらの結果から、休眠期に師部柔細胞中に大量に貯蔵されていたデンプンから供給されるショ糖を使って、加温部では形成層帯細胞が分裂を再開したと考える。また、再開後の形成層帯細胞の分裂が比較的活発で、ショ糖の消費量が多いために、師部柔細胞にはほとんど貯蔵デンプンが認められなかったと考える。さらに、2週間加温処理を施したトドマツの樹幹部を温め続ければ、師部柔細胞に貯蔵されているデンプンは使い果たされて形成層帯細胞の分裂が停止する可能性がある。

2.3.3 木部分化の活動状況と貯蔵デンプン量との関連性

スギでは、形成層派生物の放射径拡大や二次壁肥厚が観察された部位では (Table 2-3)、形成層帯付近の師部柔細胞に大量のデンプンが貯蔵されていた (Table 2-5)。トドマツでは、加温処理を施した樹幹の形成層帯付近の師部柔細胞にはデンプンはほとんど貯蔵されておらず (Table 2-5)、木部分化はほとんど起こらなかった (Table 2-3)。カラマツでは、加温処理を施した樹幹の形成層帯付近の師部柔細胞には大量の貯蔵デンプンが観察されたが (Table 2-4)、木部分化はほとんど起こらなかった (Table 2-2)。

ショ糖などの光合成産物の可溶性成分は形成層派生物の分化と深く関わっていると考えられている (Krabel 2000)。また、第2章1.3.3では、形成層帯付近に貯蔵されているデンプンが二次壁肥厚に関与していることを示唆した。二次壁が堆積した形成層派生物が観察されたスギの加温部位では、師部柔細胞に大量の貯蔵デンプンが認められたことから、形成層派生物が二次壁を堆積するためには、師部柔細胞にデンプンが貯蔵されている必

要があると考ええる。

休眠期に加温処理を施しても形成層派生物の二次壁肥厚が認められないトドマツとカラマツでは、師部柔細胞の貯蔵デンプン量は、樹種、ことに旧葉の存否によって異なった。かなり寒冷的な地域に植栽されていた常緑針葉樹であるトドマツについては、2月下旬と3月に加温処理を施した部位では、師部柔細胞にデンプンがほとんど貯蔵されていなかった。トドマツについては、第2章2.3.2において、2月下旬から3月にかけては低温によって光合成産物の可溶性成分の供給が停止している上に、加温処理によって再開した形成層帯細胞の分裂活動が比較的活発であり、ショ糖の消費量が多いために、師部柔細胞にはほとんどデンプンが貯蔵されていないことを示唆している。デンプンが貯蔵されていない師部柔細胞からは、形成層派生物が二次壁を堆積するために必要なショ糖などの物質をさらに供給することができず、トドマツでは二次壁肥厚が起こらなかったと考える。一方、落葉針葉樹であるカラマツでは師部柔細胞に貯蔵デンプンが大量に観察された。第2章1.3.2において、カラマツの形成層帯細胞が分裂を再開するためには2週間前後の加温処理が必要であることが示されている。したがって、2週間加温処理を施したカラマツの樹幹部をさらに温め続ければ、形成層派生物は師部柔細胞に大量に貯蔵されているデンプンから供給されるショ糖などの物質を使って二次壁を堆積する可能性がある。

トドマツとカラマツについては、2週間よりも長く加温処理を施した樹幹部における形成層派生物の木部分化の活動状況と師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量を調べることによって、形成層派生物の木部分化におけるデンプンの役割を明確にできると考える。

2.4 結 論

落葉針葉樹としてカラマツ、常緑針葉樹としてスギとトドマツについて、加温処理に対する形成層帯細胞と形成層派生物の反応性と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係を調べた。

- (1) 常緑・落葉針葉樹では、師部柔細胞の貯蔵デンプン量を増減させることによって、休眠状態にある形成層帯細胞は、その細胞質基質のショ糖濃度を気温に応じたレベルに調節して冬期の寒冷的な生育条件に順応していることが示唆された。
- (2) 形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の二次壁肥厚が再開するためには、師部柔細胞にデンプンが貯蔵されている必要があることが示された。
- (3) 休眠期に加温処理を施した部位の形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は、樹種、旧葉の存否、生育地および形成層帯における細胞分裂の活動状況によって異なることが明らかになった。
- (4) 休眠期に温めた部位の形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は、加温処理によって温度が高くなるために基本的には増加するが、針葉からの光合成産物の可溶性成分の供給と形成層帯細胞の分裂活動によるショ糖の消費によって影響を受けている可能性が示された。
- (5) カラマツとトドマツについては、加温期間を2週間よりもさらに延長することによって、休眠期に施した加温処理に対する形成層帯細胞と形成層派生物の反応性と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係をより明確にできることが示された。

第2章総括

形成層休眠期に局所的な加温処理を2週間施した常緑および落葉針葉樹の樹幹部について、形成層帯の活動状

況と休眠期における針葉の存否や生育地の気候による加温処理に対する形成層活動の反応性の違いを調べた。さらに、加温処理に対する形成層帯細胞と形成層派生物の反応性と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係を調べた。休眠期に加温した常緑・落葉針葉樹の樹幹部では形成層帯細胞が分裂を再開した。したがって、形成層帯細胞が分裂するために必要な内部因子の条件は、樹幹内においては休眠期にも既に揃っているが、冬期には低温によって細胞分裂が抑制されているために、春期に気温が上昇することが直接の引き金となって、新たなシュートや針葉の成長開始とは無関係に形成層活動が再開していると考えた。一方、加温処理によって誘導される形成層帯細胞の分裂・木部分化の活動状況には、樹種、休眠期における旧葉の存否、生育地、加温処理を施す時期によって違いが認められることから、冬期の低温以外にも休眠期に細胞分裂と木部分化を制御している因子が存在することが示された。休眠期には、加温処理に対する形成層帯細胞自身の反応性が変動しており、樹木自身によって休眠状態が維持されているRest期と環境要因によって形成層活動が抑制されているQuiescence期が存在した。休眠期に形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は、気温と同じ傾向を示して変動することから、師部柔細胞の貯蔵デンプン量を増減させることによって、休眠状態にある形成層帯細胞は、その細胞質基質のショ糖濃度を気温に応じたレベルに調節して冬期の寒冷な生育条件に順応していると考えた。休眠期にも針葉から師部柔細胞へ光合成産物の可溶性成分が供給されていると考えられる温暖な地域に植栽されている常緑針葉樹（スギ）では、加温部の師部柔細胞にはデンプンが大量に貯蔵され、形成層帯細胞の分裂活動は活発で早材仮道管が形成された。冬期には針葉が着生していないために光合成ができず、針葉から師部柔細胞への光合成産物の可溶性成分の供給が停止していると考えられる落葉針葉樹（カラマツ）では、加温部の形成層帯細胞の分裂活動は穏やかで師部柔細胞にデンプンが大量に貯蔵されていた。休眠期には低温によって針葉から師部柔細胞への光合成産物の可溶性成分の供給が停止している可能性がある寒冷な地域に植栽されている常緑針葉樹（トドマツ）では、加温処理によって再開した形成層帯細胞の分裂活動が比較的活発であり、師部柔細胞に貯蔵されているデンプンはほとんどなかった。これらの結果から、形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の二次壁肥厚が再開するためには、師部柔細胞にデンプンが貯蔵されている必要があることが示された。また、休眠期に温めた部位の形成層帯付近の師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は、加温処理によって温度が高くなるために基本的には増加するが、針葉からの光合成産物の可溶性成分の供給と形成層帯細胞の分裂活動によるショ糖の消費によって影響を受けるために、樹種、旧葉の存否、生育地および形成層帯細胞の分裂・木部分化の活動状況によって異なることが示唆された。カラマツとトドマツについては、2週間よりも長く加温処理を施すことによって、休眠期に施した加温処理に対する形成層帯細胞と形成層派生物の反応性と形成層帯付近に貯蔵されているデンプンとの関係をより明確にすることができると考えた。

第 3 章 トドマツとカラマツにおける形成層活動再開の制御機構

第 1 節 トドマツにおける形成層活動再開の制御機構

1. 1 緒 言

第 2 章では、常緑針葉樹でも寒冷な地域に植栽されているトドマツでは、2 週間の加温処理に対する形成層帯細胞の反応性は温暖な地域に植栽されているスギよりも著しく低く、師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量はスギと比べて極めて少ないことから、スギに比べると穏やかなトドマツの加温部における形成層帯の活動状況は、師部柔細胞の貯蔵デンプンの量に起因していると考えた。さらに、トドマツでは、加温処理期間を延長すれば師部柔細胞の貯蔵デンプンが消費し尽くされて形成層帯細胞の分裂が停止する可能性を示した。トドマツについては、2 週間よりも長く加温処理を施した樹幹部における形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況ならびに師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量を調べることによって、冬期に形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化を制御している因子をより明確にすることができると考える。

本節では、トドマツについて、冬期に 2～3 週間局所的な加温処理を施した樹幹部と形成層帯細胞が自然に分裂を再開した直後に加温した樹幹部における形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況ならびに形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量を調べた。

1. 2 材料および実験方法

1. 2. 1 供試木

トドマツとして独立行政法人林木育種センター北海道育種場内の 42 年生トドマツ採種園に植栽されていた接木クローン「下川 125 号」の 3 個体を実験に供した (Table 3-1)。

1. 2. 2 加温処理

1998 年 3 月 10 日から 25 日 (1 回目)、4 月 20 日から 27 日 (2 回目) と 1999 年 2 月 22 日から 3 月 15 日 (3 回目) までの期間に樹幹の胸高部に局所的な加温処理を施した。加温処理は第 2 章 1. 2. 2 で用いた方法に従っておこなった。

1. 2. 3 試料採取および観察試料の作製

局所的に加温処理を施した樹幹については、加温部と対照部として加温部の 1 m 上方に位置する部位から形成層帯と若干の師部および木部を含むブロックを採取した。1 回目と 2 回目の加温処理では毎日、3 回目の加温処理では毎週加温部からブロックを採取した。ブロックは、固定処理を施した後、第 1 章および第 2 章で用いた方法に従って、セデュコールまたはエポキシ樹脂である Epon812 または Spurr 樹脂で包埋した。セデュコールで包埋した試料から、厚さ 20～30 μm の木口またはまさ目の厚い切片を切削した。エポキシ樹脂で包埋した試料から、ガラスナイフを使ってウルトラミクロトームで厚さ 1 μm の木口またはまさ目の薄切片を切削した。厚い切片にはサフラニン-ファストグリーン FCF で、薄切片にはアズル B で染色して光学顕微鏡下で組織観察をおこなった。週毎に採取した試料については、ヨウ素-ヨウ化カリウム水溶液で染色した切片を光学顕微鏡下で観察して貯蔵デンプン量を調べた。

Table 3-1. Mensurational characteristics of the sample trees.

Heating period	Tree height(m)	Crown height(m)	Height at heated portion(m)		
			Upper	Middle	Lower
<i>Abies sachalinensis</i>					
Hokkaido, 98					
Mar 10-Mar 25*	13.0	lower than 2.6	nt	nt	1.3
Apr 20-Apr 27	13.0	lower than 2.6	nt	nt	1.3
Hokkaido, 99					
Feb 22-Mar 15*	13.0	lower than 2.6	nt	nt	1.3
<i>Larix kaempferi</i>					
Yamanashi, 91					
Mar 28-Apr 13	15.6	6.7	7.8	4.7	1.8
Ibaraki, 96					
Jan 24-Feb 21*	13.4	4.0	5.1	nt	1.3
Feb 27-Mar 26*	13.2	4.4	5.0	nt	1.2
Hokkaido, 99					
Feb 8-Mar 8*	14.0	4.6	nt	nt	1.3

nt, No sample were taken. Asterisks indicate sample trees used in the experiments in chapter 2.

1.2.4 形成層帯における細胞生産と形成層派生物の分化活動の評価

冬季の休眠期には、トドマツの形成層帯は前の成長期の終わりに形成された放射径が小さく細胞壁が厚い晩材仮道管と前年に形成された潰れた師細胞に隣接している (Fig. 3-1a)。形成層帯において細胞分裂が再開すると、新生木部細胞は前年に形成された晩材仮道管と形成層帯の間に、新生師部細胞は潰れた師細胞と形成層帯の間に溜まっていく (Fig. 3-2a)。そこで、形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の分化の活動状況を評価するために、前年に形成された晩材仮道管と潰れた師細胞との間に観察される細胞を、第1章で説明した基準に従って区分した。1998年3月23日に採取した13日間加温処理を施した試料には傷害組織が形成されていたので、この試料については形成層帯の活動状況を調べなかった。

1.2.5 形成層帯付近の貯蔵デンプン量の評価

形成層帯付近の貯蔵デンプンの量を調べるために、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織に貯蔵されているデンプンの量を、第2章2.2.3で説明した基準に従って評価した。

1.3 結果および考察

1.3.1 形成層帯の細胞分裂の制御機構

1回目の加温処理を開始した1998年3月10日と3回目の加温処理を開始した1999年2月22日に対照部から採取した試料では細胞分裂は観察されなかった (Fig. 3-1a) ので、これらの時期には形成層帯は休眠状態にあったと判断した。2回目の加温処理を開始した1998年4月20日に対照部から採取した試料では、形成層帯細胞は既に分裂を再開しており、新しい細胞がいくつか観察された (Fig. 3-2b) ので、この時期には形成層帯は活動状態にあったと判断した。したがって、1回目と3回目の加温処理では休眠状態にある形成層帯を温め、2回目の加温処理では活動を再開した形成層帯を温めたことになる。

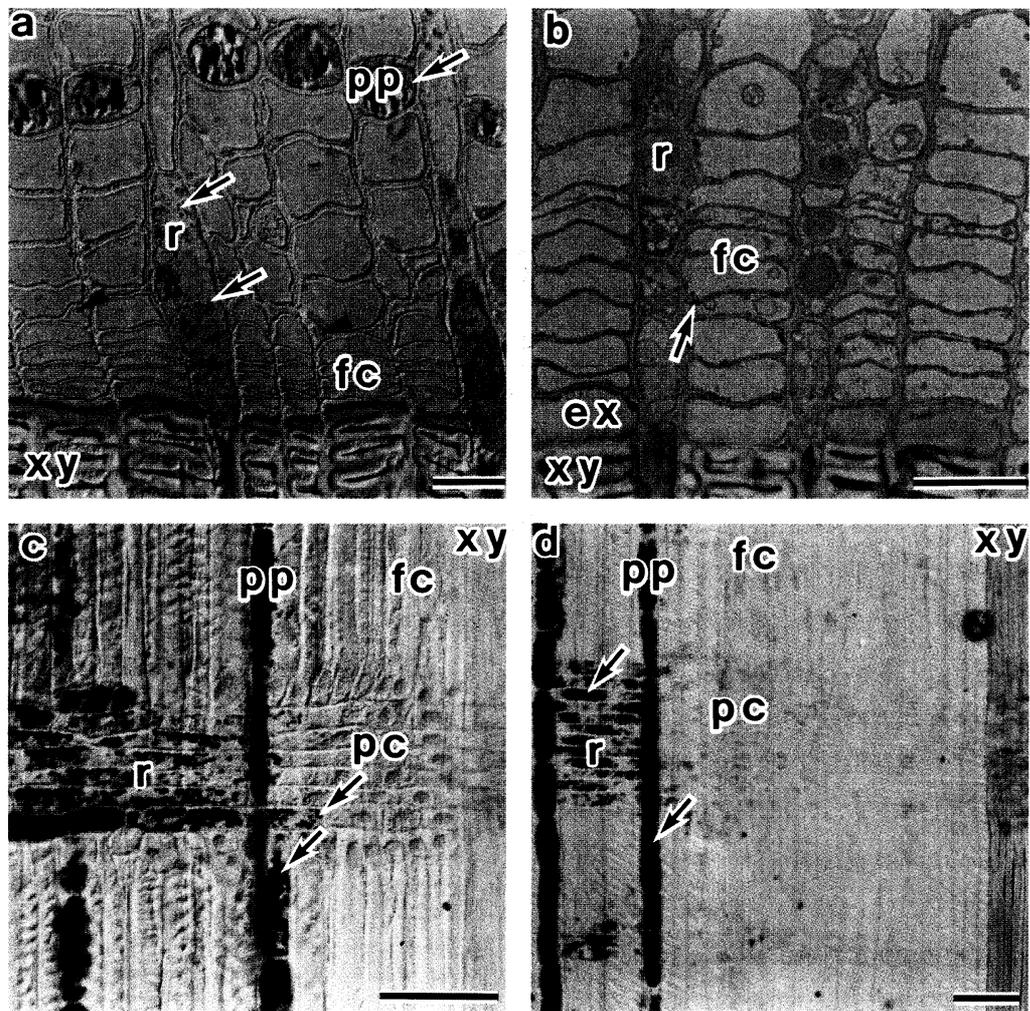


Fig. 3-1. Localization of storage starch (arrows) around the cambial zone in a series of non-heated and heated samples of *Abies sachalinensis*, as viewed under a Nomarski differential interference contrast microscope (a) and a light microscope (b, c, d). a A transverse section of a non-heated sample collected on 22 February 1999. The previous year's sieve cells that had been crushed to some extent (arrowheads) are visible. Bar = 30 μ m. b A transverse section of a 15-d-heated sample collected on 25 March 1998. Bar = 30 μ m. c A radial section of a non-heated sample collected on 20 April 1998. Bar = 100 μ m. d A radial section of a 7-d-heated sample collected on 27 April 1998. Bar = 100 μ m. ex, Radially enlarging xylem cells; fc, fusiform cambial cells; pc, procumbent ray cambial cells; pp, phloem parenchyma cells; r, ray cells; xy, xylem

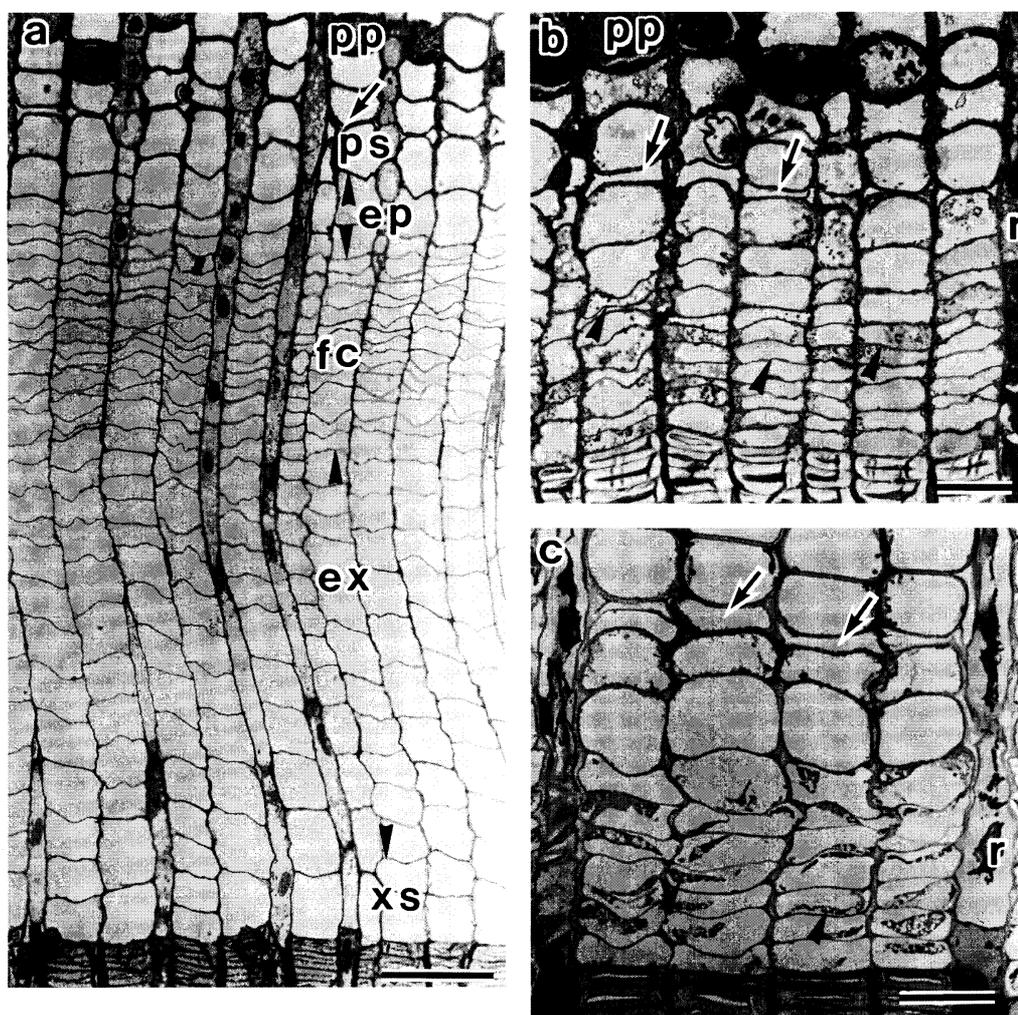


Fig. 3-2. The extent of cambial growth in a series of heated samples of *Abies sachalinensis*, as viewed transversally under a light microscope. a A 7-d-heated sample collected on 27 April 1998. Phloem cells with secondary walls (*ps*), radially enlarging phloem cells (*ep*), fusiform cambial cells (*fc*), radially enlarging xylem cells (*ex*) and xylem cells with secondary walls (*xs*) can be seen. Bar = 60 μ m. b A non-heated sample collected on 20 April 1998. Newly formed cell walls (*arrowheads*) can be seen in the cambium. Bar = 30 μ m. c A 21-d-heated sample collected on 15 March 1999. Some fusiform cambial cells show signs of autolysis (*arrowheads*). Bar = 30 μ m. The bottom of each photograph corresponds to the xylem side. Arrows indicate the previous year's sieve cells that had been crushed to some extent. *pp*, Phloem parenchyma cells; *r*, ray cells

それぞれの加温処理期間中に採取した試料の潰れた師細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれた細胞の数をFig. 3-3に示した。1回目の加温処理を開始した1998年3月10日に採取した試料では、これらの細胞は休眠状態にある5個の形成層帯細胞から構成されていた。1998年3月11日から15日の間に採取した1日間から5日間加温処理を施した試料では、形成層帯細胞の分裂再開を示す兆候は観察されなかった。1998年3月16日に採取した6日間加温処理を施した試料では形成層帯細胞の分裂が再開していた。

潰れた師細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれた細胞の数は、1回目の加温処理で1998年3月18日に採取した8日間加温処理を施した試料では10個であり、2回目の加温処理で1998年4月20日に対照部から採取した試料でも10個であった (Fig. 3-3a, b)。これらの結果から、二つの試料では形成層帯細胞の分裂の活動状態はほぼ同じであったと判断した。そこで、1回目の加温処理で8日間から15日間温めた試料と2回目の加温処理で4月20日から4月27日までに採取した試料について形成層帯における細胞分裂の活動状況を比較することによって、7日間の加温処理が、人為的に温められて細胞分裂を再開した形成層帯と自然に細胞分裂を再開した形成層帯における分裂活動に及ぼす影響を明らかにすることができると考えた。7日間加温した形成層帯は、1998年3月18日から3月25日の間には4個、4月20日から4月27の間には17個の細胞を生産した。加温処理が形成層帯における細胞分裂に及ぼす効果は、人為的に温められて細胞分裂を再開した形成層帯よりも自然に細胞分裂を再開した形成層帯で顕著であった。

3回目の加温処理を開始した1999年2月22日に対照部から採取した試料では、潰れた師細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれた細胞は休眠状態にある6個の形成層帯細胞から構成されていた。1999年3月2日から15日の間に採取した8日間から21日間加温した試料では、潰れた師細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれた細胞の数はほとんど変動しなかった (Fig. 3-3c)。1999年3月15日に採取した21日間加温した試料では、形成層帯において細胞分裂は観察されず、細胞が自己分解する兆候が見られた (Fig. 3-2c)。したがって、3回目の加温処理の終わりまでには形成層帯細胞は分裂を既に停止しており、さらに、細胞自身を保持することができない状況にあったと判断した。

形成層帯付近における貯蔵デンプンの局在をTable 3-2に示した。休眠期には形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織中にデンプンが貯蔵されていた (Fig. 3-1a)。1回目の加温処理では、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織中に貯蔵されているデンプンの量は加温期間が長くなるにつれて減少した (Fig. 3-1b)。3回目の加温処理では、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織中に貯蔵されているデンプンの量は一度増加した後に減少し、3月15日に採取した21日間温めた試料では形成層帯付近には貯蔵デンプンが観察されなかった。2回目の加温処理期間中に採取したすべての試料 (Fig. 3-1c, d) では、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織内にデンプンが大量に貯蔵されていた。

人為的に温められて細胞分裂を再開した形成層帯と自然に細胞分裂を再開した形成層帯では、局所的な加温処理が細胞分裂の活動状況に及ぼす影響は異なった。自然に細胞分裂を再開した形成層帯では細胞分裂が継続したが (Fig. 3-3b)、人為的に温められて細胞分裂を再開した形成層帯は、細胞をいくつか生産した後すぐに細胞分裂を停止した (Fig. 3-2c)。これらの結果から、細胞分裂が継続するために必要な条件が自然に細胞分裂を再開した形成層帯では揃っているが、人為的に温められて細胞分裂を再開した形成層帯においては満たされていないと考える。

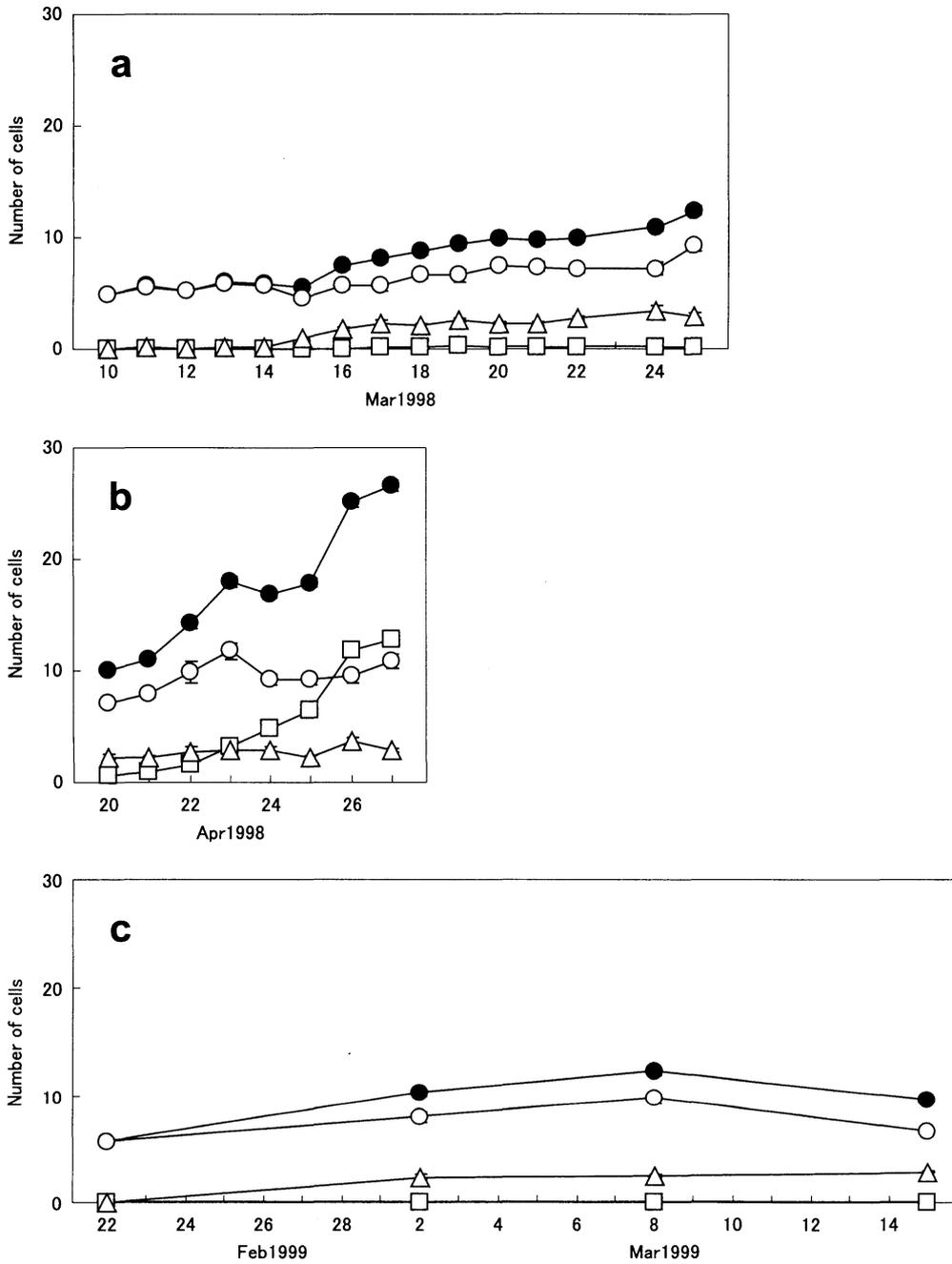


Fig. 3-3. The number of phloem cells(Δ), cambial zone cells(\circ) and xylem cells(\square) between the previous year's latewood tracheids and the crushed sieve cells, and the total number of cells (\bullet) in samples that were collected from stems of *Abies sachalinensis* during the first (a), second (b) and third (c) experiments. Vertical bars indicate the standard errors. A 13-d-heated sample that was collected on 23 March 1998 during the first experiment was not examined because some damaged tissues had been formed in the cambial region.

Table 3-2. Changes in amount of starch in storage tissues around the cambium in both untreated and heated stem portions of conifers.

Collection date	Treatment	Phloem parenchyma			Ray		
		Lower	Middle	Upper	Lower	Middle	Upper
<i>Abies sachalinensis</i>							
Hokkaido, 98							
March 10	Untreated	+			±		
March 17	7-d-heated	±			±		
March 25	15-d-heated	±			±		
Hokkaido, 98							
April 20	Untreated	+			+		
April 27	7-d-heated	+			+		
Hokkaido, 99							
February 22	Untreated	+			+		
March 2	8-d-heated	+			+		
March 8	14-d-heated	±			±		
March 15	21-d-heated	-			-		
<i>Larix kaempferi</i>							
Yamanashi, 91							
April 13	Untreated		+	+		+	+
	14-d-heated	*	+	+	*	+	+
Ibaraki, 96							
February 21	Untreated	±		±	+		+
	28-d-heated	+		+	+		+
March 26	Untreated	+		+	+		+
	28-d-heated	+		+	+		+
Hokkaido, 99							
February 8	Untreated	-			+		
February 15	7-d-heated	±			+		
February 22	14-d-heated	+			+		
March 2	22-d-heated	+			+		
March 8	28-d-heated	+			+		

- , No starch; ±, little starch; +, starch rich; *, not measured.

光合成産物はおもにショ糖として植物のソースシンク系内を移動している (Shiroya et al. 1962 ; Zimmermann 1971 ; Giaquinta 1980 ; Kozlowski and Pallardy 1997)。樹幹部へ輸送されてきたショ糖の一部は放射柔組織や師部柔組織などの貯蔵組織内にデンプンとして蓄えられる (Zimmermann 1971 ; Blechschmidt-Schneider 1990)。一方、形成層帯はショ糖の重要なシンクの1つである (Krabel 2000)。冬期に温められた *Picea abies* の枝において、 ^{14}C で標識した光合成産物由来の可溶性成分が樹皮側から樹心側へと放射方向に移動することが報告されている (Blechschmidt-Schneider 1990)。人為的に温めたトドマツの樹幹部については、加温処理によって形成層帯細胞の分裂が再開した部位では、形成層帯付近の師部柔細胞から貯蔵デンプンが消失すると細胞分裂が停止し、自然に形成層帯細胞の分裂が再開していた部位では、形成層帯付近の師部柔細胞にデンプンが大量に貯蔵されており、形成層帯細胞は分裂を継続していた。これらの結果から、細胞分裂を再開した形成層帯が分裂を続けるためには、ショ糖の供給が継続していることが必要であると考えられる。

針葉で生成された光合成産物から派生したショ糖などの可溶性成分は、樹幹内の師部を通して樹幹部の貯蔵組織に輸送される。温暖な地域に植栽されている常緑針葉樹では、見かけ上は冬期にも光合成がおこなわれている (Fry and Phillips 1977)。さらに、*Pinus contorta* var. *latifolia* (Savidge and Wareing 1982) の樹幹や温められた *Picea abies* の枝 (Blechschmidt-Schneider 1990) では、冬期にも外生的に与えた ^{14}C で標識されたショ糖や光合成産物の可溶性成分が求基的に移動することが報告されている。これらの結果から、常緑針葉樹では光合成とショ糖などの光合成産物の可溶性成分の師部輸送が冬期にも起こっている可能性がある。一方、氷点下では呼吸量が真の光合成量を越える (Kramer and Kozlowski 1960) ことがある。寒冷な地域に植栽されている常緑針葉樹については、氷点下のかかなり低い気温に曝されているために、真の光合成量と呼吸量の差である見かけの光合成量はほとんど0に等しく、ときにはマイナスになることもある (Troeng and Linder 1982)。寒冷な地域に植栽されていたトドマツでは、冬期には最低気温が氷点下になる温度条件 (Fig. 2-7) によって見かけ上は光合成が停止しており、結果として形成層帯付近の貯蔵組織へのショ糖などの光合成産物の可溶性成分の供給が抑制されている可能性がある。冬期に加温処理を施した樹幹部ではショ糖などの光合成産物の可溶性成分の供給停止が原因となってデンプンが形成層帯付近の貯蔵組織から消失したと考える。

ショ糖のほかにも形成層帯における細胞分裂の活動状況に影響を及ぼす内部因子が存在する可能性がある。紡錘形形成層帯細胞がその軸方向に伸びた形状を保持し、分裂機能を維持するためには IAA が必要であると考えられている (Savidge and Wareing 1981a ; Savidge 1983 ; Sundberg et al. 2000)。形成層休眠期でも、外生的に与えられた ^{14}C で標識された IAA がシュートや樹幹内を求基的に移動すること (Little 1981 ; Savidge and Wareing 1982 ; Odani 1985) と比較的高いレベルの IAA が形成層帯に内生していること (Sundberg et al. 1991 ; Uggla et al. 1996 ; Funada et al. 2001, 2002) が報告されている。これらの結果は、針葉樹では IAA が冬期にも形成層帯に供給されていることを示している。しかしながら、寒冷な地域に植栽されていたトドマツでは、冬期に局部的な加温処理を施した形成層帯において、細胞がいくつか生産された直後に細胞分裂が停止し、自己分解した形成層帯細胞が観察されたことから、IAA が欠乏していた可能性がある。冬期に人為的に温められて細胞分裂を再開したトドマツの形成層帯では、細胞分裂と新たに形成された紡錘形形成層帯細胞の軸方向に伸びた形状を保持し、分裂機能を維持するためには、通常冬期に供給されている量よりも多くの IAA が必要であると考えられる。一方、自然に細胞分裂を再開した形成層帯では、IAA の主要な供給源である伸長成長を始めたシュートから大量の IAA が供給されるために、活発な細胞分裂を維持することができると思われる。

1. 3. 2 木部分化の制御機構

1 回目の加温処理で1998年3月11日から15日の間に採取した1日間から5日間加温した試料では、前年に形成された晩材仮道管と潰れた師細胞との間に細胞の放射径が拡大したり、二次壁が堆積して師部へと分化している細胞が観察されたりしたが、木部分化が再開した兆候は認められなかった (Fig. 3-3a)。第3章1.3.1において、1回目の加温処理では1998年3月16日に採取した6日間温めた試料で形成層帯細胞の分裂再開が確認されている。したがって、形成層帯が休眠状態にある時期に加温処理を施した部位では、形成層帯細胞の分裂再開よりも早い時期に師部分化が再開していた。

潰れた師細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれた細胞は、1回目の加温処理で1998年3月18日に採取した8日間加温処理を施した試料では、二次壁が堆積した師部細胞1個、放射径が拡大した師部細胞1個、形成層帯細胞7個と放射径が拡大した木部細胞1個からなり、2回目の加温処理で1998年4月20日に対照部から採取した試料では、放射径が拡大した師部細胞2個、形成層帯細胞7個と放射径が拡大した木部細胞1個から構成されていた。これらの結果から、二つの試料では形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の分化の活動状態がほぼ同じであると判断した (Fig. 3-3a, b)。1回目の加温処理で8日間から15日間温めた試料と2回目の加温処理で4月20日から4月27日までに採取した試料について形成層派生物の分化の活動状況を比較することによって、7日間の加温処理が、人為的に温められて形成層帯が細胞分裂を再開した部位と自然に形成層帯が細胞分裂を再開した部位における形成層派生物の分化に及ぼす影響を明らかにできると考えた。1回目の加温処理の1998年3月18日から3月25日までの期間と2回目の加温処理期間に採取した加温部の試料では、潰れた師細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれた細胞帯中の師部細胞の数は3個で一定していたが (Fig. 3-3a, b)、二次壁が堆積した師部細胞の数は加温処理期間中に徐々に増加した。1回目の加温処理で8日間から15日間温めた部位では、放射径が拡大した木部細胞はほとんど観察されず (Fig. 3-1b, 3a)、拡大した木部細胞の放射径は8~15 μm であり、30~60 μm ある正常なトドマツ早材仮道管の放射径 (日本木材加工技術協会 1989) と比べると著しく小さかった。2回目の加温処理において、1998年4月27日に採取した7日間加温処理を施した試料では12個の木部細胞が形成され (Fig. 3-3b)、放射径が大きく拡大し二次壁が堆積した早材仮道管も観察された (Fig. 3-2a)。

3回目の加温処理では、第3章1.3.1で形成層帯細胞の分裂再開が確認されている8日間加温処理を施した部位において放射径が拡大した師部細胞が3個観察された。1回目、2回目の加温処理と同様に、処理期間中には潰れた師細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれた細胞帯中の師部細胞の数は3個で一定していたが (Fig. 3-3c)、二次壁が堆積した師部細胞の数は徐々に増加した。加温処理期間中は木部へと分化している形成層派生物は観察されなかった (Fig. 3-3c)。

形成層派生物の木部分化がほとんど起こっていなかった1回目の加温処理期間中に採取した加温部の試料では、形成層帯付近の貯蔵組織内にデンプンはほとんどなかった (Fig. 3-1b)。2回目の加温処理で早材仮道管が形成されていた試料では、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織にデンプンが大量に貯蔵されていた (Fig. 3-1d)。形成層派生物の木部分化が誘導されなかった3回目の加温処理期間中に採取した加温部の試料では、形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンは認められなかった。

形成層帯の休眠期に局所的な加温処理を施したトドマツの樹幹部では、師部分化は形成層帯において細胞が分裂を再開する前に始まり、木部分化は形成層帯細胞の分裂再開よりも後に起こった。この結果は、針葉樹では師部分化が木部分化よりも先に起こるとする報告 (Wilson 1966; Alfieri and Evert 1968, 1973) と一致している。

カラマツでは、形成層帯の師部側に位置している前年の成長期の終わりに形成されたいくつかの紡錘形細胞が未分化の状態越冬し、形成層帯細胞が分裂を再開する前に師部細胞へと分化することが報告されている (Imagawa 1981)。このような越冬細胞はトドマツと同じモミ属の *Abies balsamea* (Kutscha et al. 1975; Riding and Little 1984) を含むほかの樹種 (Esau 1969; Alfieri and Evert 1968, 1973) でも確認されている。したがって、針葉樹では、形成層帯細胞の分裂再開や木部形成には新たに形成された師部が必要であり、越冬細胞が形成層帯における細胞分裂と木部分化に先行して起こる師部形成を可能にしていると考えられる。

寒冷な地域に植栽されているトドマツについては、形成層帯が休眠状態にある時期には幹を局部的に温めても形成層派生物の木部分化を起こさせることはできなかった。しかしながら、形成層帯が自然に細胞分裂を再開した直後には樹幹部に局部的な加温処理を施すと放射径が大きく拡大し二次壁が堆積した早材仮道管が形成された。第2章では、温暖な地域に植栽されているスギについては、形成層帯の休眠期に加温処理を施した樹幹部では放射径が大きく拡大し二次壁が堆積した早材仮道管の形成が誘導された。トドマツが植栽されていた地域では、2月下旬から3月下旬までの気温は、4月下旬の気温 (Fig. 2-7) とスギが植栽されていた地域の冬期の気温 (Fig. 2-4) よりもかなり低かった。したがって、樹幹部への局部的な加温処理が形成層派生物の木部分化の活動状況に及ぼす影響は、樹種によって特異的であるが、加温処理を施した時期の気温にも依存している可能性がある。

形成層派生物の木部分化は、形成層帯細胞の分裂と同様に内部因子によって制御されている可能性がある。第2章1.3.3では、形成層帯付近に貯蔵されているデンプンが形成層派生物の二次壁肥厚に関与していること、また、第3章1.3.1では、寒冷な地域に植栽されているトドマツでは、冬期には低い気温によって見かけ上は光合成が停止しており、結果として形成層帯付近の貯蔵組織への光合成産物の可溶性成分の供給が抑制されていることを示唆した。加温処理を施したトドマツでは、形成層派生物の二次壁肥厚が誘導されなかった休眠期に加温した部位の形成層帯付近の貯蔵組織にはデンプンがほとんどあるいは全く貯蔵されておらず、二次壁が肥厚した早材仮道管が形成された形成層帯が自然に細胞分裂を再開した直後に加温した部位の形成層帯付近にはデンプンが大量に貯蔵されていた。冬期に局部的な加温処理を施したトドマツの樹幹部では、再開した分裂活動がしばらく続くとショ糖の供給が停止している形成層帯付近の貯蔵組織中の貯蔵デンプンが使い果たされるために、形成層派生物の二次壁肥厚が起こらなかったと考える。

細胞・組織培養系では、ショ糖の添加濃度が低いと木部が形成され高いと師部が形成される (Wetmore and Rier 1963; Warren Wilson et al. 1994)。さらに、ショ糖とIAAについては形成層帯付近において鋭いピークを持つ勾配分布が確認されており (Uggla et al. 1996; Tuominen et al. 1997; Uggla et al. 1998; Tuominen et al. 2000)、この勾配分布が形成層派生物に位置情報因子として作用することによって師部分化と木部分化が制御されていることが提唱されている (Sundberg et al. 2000)。冬期に加温処理を施したトドマツは、形成層帯が自然に細胞分裂を再開した直後に加温処理を施したトドマツならびに冬期に加温処理を施したスギとは、形成層派生物の分化の活動状況が異なっていたことから、形成層帯付近におけるショ糖やIAAの勾配分布も異なっている可能性がある。

1.4 結論

トドマツについて、冬期に2~3週間局部的な加温処理を施した樹幹部と形成層帯細胞が自然に分裂を再開した直後に加温した樹幹部における形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況ならびに形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量を調べた。

- (1) 細胞分裂が継続するためと木部分化が起こるために必要な条件は、自然に細胞分裂を再開した形成層帯では揃っているが、人為的に温められて細胞分裂が再開した形成層帯においては満たされていないことが明らかになった。
- (2) 細胞分裂を再開した形成層帯が分裂を継続するためには、貯蔵組織内のデンプンから形成層帯へショ糖が供給され続けている必要があることが示された。
- (3) 冬期に温められたトドマツの樹幹部では、ショ糖などの光合成産物の可溶性成分の供給停止と再開した細胞分裂によるショ糖の消費が原因となって形成層帯付近の貯蔵組織からデンプンが消失し、その結果として、形成層派生物の二次壁肥厚が起こらないことが示唆された。

第 2 節 カラマツにおける形成層活動再開の制御機構

2.1 緒言

第 2 章で休眠期に局所的な加温処理を 2 週間施したカラマツでは、形成層帯細胞の加温処理に対する反応性は温暖な地域に植栽されている常緑針葉樹であるスギよりも著しく低く、師部柔細胞には大量のデンプンが貯蔵されていた。落葉針葉樹では、針葉が着生していない冬期には、光合成がおこなえないために針葉から師部柔細胞への光合成産物の可溶性成分の供給が停止している可能性があるが、2 週間温めたカラマツの樹幹部では、形成層帯細胞の分裂活動が穏やかであったために、消費されるショ糖の量が少なく、師部柔細胞に大量のデンプンが貯蔵されていたと考えた。また、カラマツの形成層帯細胞が分裂を再開するために必要な加温期間が 2 週間前後であることを示した。さらに、カラマツでは、加温処理期間を延長すれば、形成層帯細胞の分裂が起こらなかった部位でも分裂が再開し、木部分化も起こるとともに師部柔細胞の貯蔵デンプンが減少する可能性を示した。これらの結果から、カラマツについては、2 週間よりも長く加温処理を施した樹幹部における形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況ならびに師部柔細胞に貯蔵されているデンプンの量を調べることによって、冬期に形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化を制御している因子をより明確にすることができると考える。

本節では、冬期に 4 週間および形成層帯細胞が自然に分裂を再開した直後に局所的な加温処理を施したカラマツの樹幹部について、形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況ならびに形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量を調べた。

2.2 材料および実験方法

2.2.1 供試木

カラマツとして山梨県東山梨郡牧丘町小橋山山麓の 27 年生林分に植栽されていた 1 個体、独立行政法人森林総合研究所千代田試験地の 19 年生林分に植栽されていた 2 個体、北海道大学農学部附属演習林札幌実験苗畑の 23 年生林分に植栽されていた 1 個体を実験に供した (Table 3-1)。

2.2.2 加温処理

山梨県においては 1991 年 3 月 28 日から 4 月 13 日、茨城県においては 1996 年 1 月 24 日から 2 月 21 日と 2 月 27 日から 3 月 26 日、北海道においては 1999 年 2 月 8 日から 3 月 8 日までの期間に樹幹に局所的な加温処理を施した。山

梨県で加温処理を施した個体では4月13日の時点で、茨城県で加温処理を施した個体では3月26日の時点で既に芽吹きが始まっていた。加温する部位は基本的には幹の胸高部としたが、山梨県、茨城県では樹冠部や樹幹の中間部にも処理を施した。加温処理は第2章1.2.2で用いた方法に従っておこなった。

2.2.3 試料採取および観察試料の作製

局部的に加温処理を施した樹幹については、加温部と対照部として加温部の1m上方に位置する部位から形成層帯と若干の師部および木部を含むブロックを採取した。1991年3月28日から4月13日までと1996年1月24日から2月21日までと2月27日から3月26日までの加温処理では最終日に、1999年2月8日から3月8日までの加温処理では毎週加温部からブロックを採取した。採取したブロックからは、第3章1.2.3と同じ方法で観察試料を作製した。

2.2.4 形成層帯における細胞生産と形成層派生物の分化活動の評価

第1章で説明した基準に従って形成層帯における細胞分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況の評価した。

2.2.5 形成層帯付近の貯蔵デンプン量の評価

形成層帯付近の貯蔵デンプンの量を調べるために、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織に貯蔵されているデンプンの量を、第2章2.2.3で説明した基準に従って評価した。

2.3 結果および考察

2.3.1 形成層帯の細胞分裂の制御機構

山梨県で加温処理を終了した1991年4月13日に対照部から採取した試料では、形成層帯細胞において新たに形成された接線壁が観察されたので (Table 3-3), 加温処理を開始する前あるいは加温処理期間中に形成層帯細胞

Table 3-3. The extent of cambial activity in both untreated and heated stem portions of *Larix kaempferi*.

Collection date	Treatment	Lower portion			Middle portion			Upper portion			
		Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	Ca	Ex	Xs	
Yamanashi, 91 March 13	Untreated	nm	nm	nm	4.4*	0	0	5.5*	0.2	0	
	14-d-heated	9.7*	1.7	0	6.7*	3.5	0	6.9*	2.1	0	
Ibaraki, 96 February 21	Untreated	4.3	0	0				4.8	0	0	
	28-d-heated	4.7*	0	0				5*	0.2	0	
	March 12	Untreated	3.8	0	0				3.2	0	0
	March 26	Untreated	3.7*	0	0				4.4*	0	0
	28-d-heated	6.3*	4.6	0				6.9*	3.3	0	
Hokkaido, 99 February 8	Untreated	5.7	0	0							
	February 15	7-d-heated	5.4	0	0						
	February 22	14-d-heated	4.4	0	0						
	March 2	22-d-heated	5.7*	0	0						
	March 8	28-d-heated	4.9*	0	0						

Ca, Cambial zone cell; Ex, radially enlarging xylem cell; Xs, xylem cell with secondary walls; nm, not measured; *, cambium re-initiated cell division. Number of cells shown is the average of 10 radial files.

が分裂を再開していたと判断した。茨城県で加温処理を施した供試木の対照部から1996年2月21日と3月12日に採取した試料では、分裂している細胞は観察されなかったが、3月26日に採取した試料では形成層帯細胞が既に分裂を再開していた (Table 3-3)。したがって、形成層帯は1996年1月24日から3月12日までの期間には休眠状態にあり、3月12日から3月26日の間に分裂を再開していたと判断した。北海道で加温処理を開始した1999年2月8日に対照部から採取した試料では、形成層帯において細胞分裂が観察されなかった (Table 3-3) ので形成層帯は休眠状態にあったと判断した。北海道でおこなった加温処理と茨城県で1996年1月24日から2月21日までおこなった加温処理では休眠状態にある形成層帯に加温処理を施し、山梨県でおこなった加温処理と茨城県で1996年2月27日から3月26日までおこなった加温処理では活動状態にある形成層帯に加温処理を施したことになる。

山梨県でおこなった2週間の加温処理と茨城県でおこなった4週間の加温処理では、いずれの加温部でも形成層帯細胞の分裂が観察された (Table 3-3)。北海道では、1週間および2週間加温処理を施した部位では形成層帯における細胞分裂は観察されなかったが、3週間および4週間加温処理を施した部位では形成層帯細胞が分裂を再開していた (Table 3-3)。

形成層帯が休眠状態にある時期に加温処理を施した部位では、形成層帯における細胞分裂は活発ではなかった。茨城県では、1996年1月24日から2月21日まで4週間加温処理を施した部位で観察された形成層帯細胞と形成層派生物の総数は (Table 3-3)、対照部 (Table 3-3) および第2章で1996年1月24日から2月7日まで2週間加温処理を施した部位の細胞数 (Table 2-2) とほぼ同じであった。北海道でおこなった加温処理では、形成層帯細胞の分裂が確認された3週間および4週間加温処理を施した部位で観察された形成層帯細胞と形成層派生物の総数は、対照部の細胞数とほぼ同じであった (Table 3-3)。加温処理を施した部位では自己分解した形成層帯細胞は観察されなかった。

形成層帯細胞が分裂を再開した後に加温処理を施した場合には、加温部の形成層帯における細胞分裂は活発であった。山梨県で2週間加温処理を施した部位では、形成層帯細胞と形成層派生物の総数は対照部の細胞数のおよそ2倍であった (Table 3-3)。茨城県では、1996年2月27日から3月26日まで4週間加温処理を施した部位で観察された形成層帯細胞と形成層派生物の総数は、対照部の細胞数よりも多く (Table 3-3)、第2章で1996年2月27日から3月12日まで2週間加温処理を施した部位の細胞数 (Table 2-2) のおよそ2倍であった。

加温処理期間中に採取した試料の形成層帯付近に貯蔵されているデンプン量の変化をTable 3-2に示した。形成層帯が休眠状態にある時期に加温処理を施した部位では、形成層帯付近の師部柔細胞と放射組織において、貯蔵されているデンプンの量は時間の経過とともに増加し、大量のデンプンが観察された。一方、形成層帯細胞が分裂を再開した後に加温処理を施した場合には、形成層帯付近の貯蔵組織には大量のデンプンが貯蔵されており、師部柔細胞中の貯蔵デンプン量は山梨では増加したが茨城では変化しなかった。放射組織に貯蔵されているデンプン量の変化には一定の傾向は認められなかった。

第2章1.3.2では、茨城県、山梨県と北海道に植栽されていたカラマツについて形成層帯が休眠状態にある時期に樹幹部を20~25℃で局部的に2週間温めた結果、形成層帯細胞の分裂は、茨城県では再開したが、山梨県と北海道では誘導されなかった。今回は、第2章1.3.2で加温処理をおこなった地域の中で最も寒冷な北海道に植栽されていたカラマツにおいて、樹幹部に3週間加温処理を施すことによって加温部では形成層帯細胞の分裂を再開することができた。これらの結果から、カラマツでは形成層帯の休眠期に樹幹部を20~25℃で局所的に温めた場合、形成層帯細胞の分裂が再開するためには2~3週間かかり、所要日数は生育地の気温に依存してい

と考える。第2章1.3.2では、加温期間を2週間としていたために、比較的温暖な地域では形成層帯において細胞分裂が再開し、寒冷な地域では形成層帯細胞の分裂再開は誘導されなかった。

本研究では、これまでの結果から、形成層帯における細胞分裂の活動状況は、貯蔵組織内のデンプンから形成層帯へのショ糖の供給に依存していることを示唆した。形成層帯が休眠状態にある時期に局所的な加温処理を施したカラマツの樹幹部では、形成層帯付近の貯蔵組織に大量のデンプンが観察された (Table 3-2)。しかしながら、形成層帯において細胞分裂が再開した後の分裂活動の状況は穏やかであり、形成層帯細胞の数は2週間、3週間および4週間加温した部位ではほぼ同じであった。これらの結果から、休眠期に加温処理を施したカラマツでは、形成層帯が細胞分裂を再開した後は、貯蔵組織内のデンプンを代謝して形成層帯細胞の分裂を継続するために必要な条件が揃っていないと考える。

落葉針葉樹であるカラマツでは、冬期には針葉が着生していないためにIAAが生成されている可能性は低いが、休眠期にも形成層帯付近にはIAAが存在していることが示されている (Funada et al. 2002)。一方、休眠期に加温処理を施したカラマツの樹幹部では、貯蔵組織内のデンプンを代謝して分裂活動を継続するために必要な条件が揃っていないことを示唆した。このような状況では、形成層帯細胞の分裂活動によってIAAが使い果たされる可能性は低く、形成層帯休眠期に温めたトドマツの樹幹部で観察されたIAAの欠乏が原因と思われる紡錘形形成層帯細胞の自己分解は起こらないと考える。

2.3.2 木部分化の制御機構

形成層帯が休眠状態にある時期に加温処理を施した部位では、形成層派生物の木部分化はほとんど起こらなかった。北海道では、形成層帯細胞の分裂が確認された3週間および4週間加温処理を施した部位においては木部へと分化している形成層派生物は観察されなかった (Table 3-3)。茨城県で1996年1月24日から2月21日まで4週間加温処理を施した部位においては、放射径が拡大した木部細胞はほとんど観察されず (Table 3-3)、さらに、観察された木部細胞は正常なカラマツ早材仮道管 (日本木材加工技術協会 1989) と比べると放射径が著しく小さかった。

形成層帯細胞が分裂を再開した後に加温処理を施した場合には、加温部における形成層派生物の木部分化の活動状況は、休眠状態にある形成層帯に加温処理を施した場合とは異なった。山梨県で2週間加温処理を施した部位と茨城県で1996年2月27日から3月26日まで4週間加温処理を施した部位では、2~5個の形成層派生物が木部へと分化していた (Table 3-3)。これらの木部へと分化している形成層派生物の中には放射径が大きく拡大した細胞もあった。しかしながら、二次壁が堆積した早材仮道管は観察されなかった。

樹幹への局所的な加温処理によって、放射径が早材仮道管のように大きく拡大した形成層派生物が観察された部位では、形成層帯付近の貯蔵組織にはデンプンが大量に貯蔵されていた (Table 3-2)。一方、形成層派生物の木部分化が起こらなかった部位でも、形成層帯付近の貯蔵組織には大量のデンプンが観察された (Table 3-2)。

落葉針葉樹であるカラマツについては、形成層帯が休眠状態にある時期には幹を局所的に温めても形成層派生物の木部分化を起こさせることはできなかった。しかしながら、芽が開序して形成層帯が自然に細胞分裂を再開した後は、樹幹部に局所的な加温処理を施すと早材仮道管のように放射径が大きく拡大した形成層派生物が形成された。第3章2.3.1において、休眠期のカラマツの樹幹部では加温処理によって形成層が再活動した後も引き続き貯蔵組織内のデンプンを代謝するための条件が揃っていないことを示唆した。このような状況下では、

形成層派生物の木部分化は起こらないと考える。摘葉処理を施したマツ属の枝では、形成層派生物の仮道管への分化が阻害されることから、形成層派生物が仮道管に分化するためには針葉が必要であり、木部分化に必要な物質 (tracheid-differentiation factor: TDF) が針葉から派生していることが示唆されている (Savidge and Wareing 1981b)。加温処理を施した樹幹部における木部分化の活動状況は、形成層帯が休眠状態にある時期の針葉の存否によって異なると思われる。

2.4 結論

冬期に 4 週間および形成層帯細胞が自然に分裂を再開した直後に局所的な加温処理を施したカラマツの樹幹部について、形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況ならびに形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量を調べた。

- (1) 落葉針葉樹でも、形成層休眠期に樹幹を局所的に温めると、加温部では形成層帯細胞が分裂を再開することが明らかになった。しかしながら、形成層が再活動するための所要日数は、生育地の気温によって異なることが示された。
- (2) 細胞分裂が継続するためと木部分化が起こるために必要な条件は、自然に細胞分裂を再開した形成層帯では揃っているが、人為的に温められて細胞分裂が再開した形成層帯においては満たされていないことが明らかになった。
- (3) 形成層休眠期に加温処理を施した部位では、貯蔵組織内のデンプンを代謝して形成層帯細胞の分裂を継続するために必要な条件が揃っていないことが示された。

第 3 章総括

落葉針葉樹であるカラマツと寒冷な地域に生育している常緑針葉樹であるトドマツについて、加温期間を 2～4 週間に延長して冬期に温めた樹幹部と形成層帯細胞が自然に分裂を再開した直後に加温した樹幹部について形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況ならびに形成層帯付近に貯蔵されているデンプンの量を調べた。トドマツについては、休眠期に加温処理を施した部位では、細胞分裂を再開した形成層帯はすぐに分裂活動を停止し、木部分化は起こらず、形成層帯付近の篩部柔細胞からは貯蔵デンプンが消失した。一方、自然に形成層帯細胞の分裂が再開した後に加温した部位では、形成層帯細胞は分裂を継続し、早材仮道管が形成され、形成層帯付近の篩部柔細胞にはデンプンが大量に貯蔵されていた。これらの結果から、細胞分裂が継続するためと木部分化が起こるために必要な条件は、自然に細胞分裂を再開した形成層帯では揃っているが、人為的に温められて細胞分裂が再開した形成層帯においては満たされておらず、細胞分裂を再開した形成層帯が分裂を継続するためには、貯蔵組織内のデンプンから形成層帯へショ糖が供給され続けている必要があると考えた。また、寒冷な地域に生育している常緑針葉樹では、冬期には低温によって針葉から篩部柔細胞への光合成産物の可溶性成分の供給が停止している可能性があるために、休眠期に温められたトドマツの樹幹部では、ショ糖などの光合成産物の可溶性成分の供給停止と再開した細胞分裂によるショ糖の消費が原因となって形成層帯付近の貯蔵組織からデンプンが消失することが示された。さらに、再開した分裂活動がしばらく続くとショ糖の供給が停止している形成層帯付近の貯蔵組織に貯蔵されているデンプンが使い果たされるために、形成層派生物の二次壁肥厚が起こらないことが示唆された。カラマツについては、休眠期に樹幹を局所的に温めると、所要日数は生育地の気温

によって異なるが、加温部では形成層帯細胞が分裂を再開することが明らかになった。細胞分裂を再開した形成層帯の分裂活動は穏やかで、木部分化はほとんど起こらず、形成層帯付近の師部柔細胞にはデンプンが大量に貯蔵されていた。一方、自然に形成層帯細胞の分裂が再開した後に加温した部位では、形成層帯細胞は分裂を継続し、形成層派生物の放射径が大きく拡大し、形成層帯付近の師部柔細胞には大量のデンプンが貯蔵されていた。これらの結果から、細胞分裂が継続するためと木部分化が起こるために必要な条件は、自然に細胞分裂を再開した形成層帯では揃っているが、人為的に温められて細胞分裂が再開した形成層帯においては満たされていないことが明らかになった。さらに、休眠期に加温した部位では、形成層帯付近の貯蔵組織にデンプンが大量に貯蔵されているにもかかわらず、再開した後の形成層帯細胞の活動状況がほとんど変わらないことから、貯蔵デンプンを代謝して形成層帯細胞の分裂を継続するために必要な条件が揃っていないことが示された。

第 4 章 形成層帯細胞の分裂再開とデンプンの動態

第 1 節 形成層帯におけるデンプンの動態と細胞分裂の再開順序

1. 1 緒 言

第 2 章と第 3 章では、休眠期に局所的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部について、形成層帯細胞の分裂と形成層派生物の木部分化の活動状況と形成層帯付近の貯蔵組織に貯蔵されているデンプンの量を調べた。その結果、形成層帯細胞は気温の上昇が直接の引き金となって分裂を再開することが明らかになった。また、このとき形成層帯細胞は、師部柔細胞内の貯蔵デンプンから供給されるショ糖を利用していることを示唆した。休眠期に局所的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部を用いて、形成層帯付近の貯蔵組織に加えて形成層帯細胞におけるデンプンの動態と複数の細胞層から構成されている形成層帯において細胞分裂が再開する位置の変遷を経時的に観察することによって、温度、ショ糖、貯蔵デンプンと形成層帯における細胞分裂の再開との係わりについてさらに詳しく調べることができると考える。

本節では、冬期に加温処理を施したトドマツの樹幹部について、形成層帯付近の貯蔵組織ならびに形成層帯におけるデンプンの動態と形成層帯において細胞分裂が再開する位置の変遷との関係を調べた。

1. 2 材料および実験方法

1. 2. 1 供試木

第 2 章で 1998 年 3 月 10 日から 25 日までの期間に樹幹に局所的な加温処理を施したトドマツ接木クローン「下川 125 号」の 1 個体を実験に供した (Table 2-1)。

1. 2. 2 加温処理

1998 年 3 月 10 日から 25 日までの期間に樹幹に局所的な加温処理を施した。加温する部位は幹の胸高部とした。加温処理は第 2 章 1. 2. 2 で用いた方法に従っておこなった。

1. 2. 3 試料採取および観察試料の作製

第 3 章で 1998 年 3 月 10 日から 16 日にかけて対照部と加温部から毎日採取した試料から作製したセデュコールまたは Spurr 樹脂包埋試料を供試した。

セデュコール包埋試料から、厚さ 20~30 μm の木口またはまさ目の厚い切片を切削した。Spurr 樹脂包埋試料から、ガラスナイフを使ってウルトラミクロトームで厚さ 1 μm の木口またはまさ目の薄切片を切削した。薄切片はアズル B で、厚い切片はサフランin-ファストグリーン FCF で染色し、貯蔵デンプンを観察するための薄切片にはヨウ素-ヨウ化カリウム水溶液で染色を施して光学顕微鏡下で観察した。また、形成層帯における細胞分裂のようすを調べるために、染色を施さずにまさ目面の厚い切片を微分干渉顕微鏡で観察した。

色素体に貯蔵されているデンプンを観察するために、Spurr 樹脂包埋試料からダイヤモンドナイフを使ってウルトラミクロトームで 90nm 厚の木口またはまさ目の超薄切片を切削し、ホルムバル膜を張った銅製グリッドに切片を載せて乾燥させた。切片には酢酸ウラニル-クエン酸鉛二重染色を施し、加速電圧 80kV において切片を透過型電子顕微鏡で観察した。

1.3 結果および考察

1.3.1 トドマツの形成層帯を構成する細胞

加温処理を開始した1998年3月10日には形成層帯が休眠状態にあったことが第2章で確認されている。トドマツの休眠状態にある形成層帯は、紡錘形形成層帯細胞、平伏型形成層帯放射組織細胞と形成層放射組織の端に見られる直立型形成層帯放射組織細胞の3種類の細胞から構成されていた (Fig. 4-1a)。休眠中には形成層帯は4~5個の紡錘形形成層帯細胞からなり、師部細胞と前年に形成された晩材仮道管とに挟まれていた (Fig. 4-1b)。

1.3.2 形成層帯細胞の種類による分裂再開時期の違い

局所的な加温処理を1~4日間施した樹幹部では、細胞分裂を再開した形成層帯細胞は観察されなかった。5日間温めた部位では、直立型形成層帯放射組織細胞で最初の細胞分裂が起こり、これらの細胞内には前期 (Fig. 4-2a)、中期、後期および終期の核が観察された。一方、平伏型形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞では、細胞分裂が再開した兆候は認められなかった。

6日間温めた部位では、平伏型形成層帯放射組織細胞 (Fig. 4-2b) と紡錘形形成層帯細胞 (Fig. 4-2c) が細胞分裂を再開していた。これらの細胞の分裂再開は直立型形成層帯放射組織細胞よりも1日遅かった。平伏型形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞では有糸分裂の様々な過程が観察された。

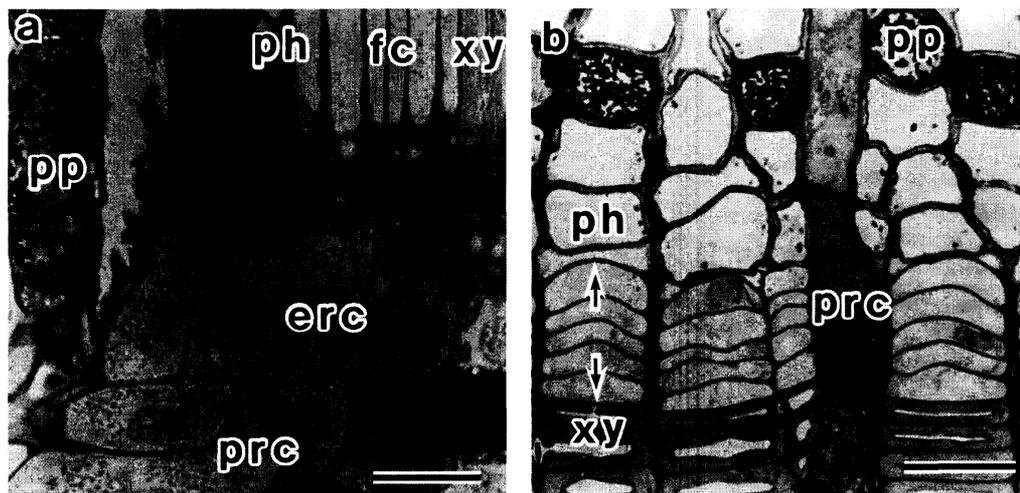


Fig. 4-1. Light micrographs of cambium in *Abies sachalinensis* sampled on March 10 1998. No dividing cambial cells were observed in the sample, indicating that the cambium was dormant. a A radial section. The cambium consisted of erect ray cambial cells (*erc*), fusiform cambial cells (*fc*) and procumbent ray cambial cells (*prc*). b A transverse section. A zone of fusiform cambial cells (*between arrows*) was located between a tier of thick-walled xylem cells and phloem cells and was 4 to 5 cells wide during dormancy. *ph*, Phloem; *pp*, phloem parenchyma cell; *xy*, xylem. Bars = 30 μ m

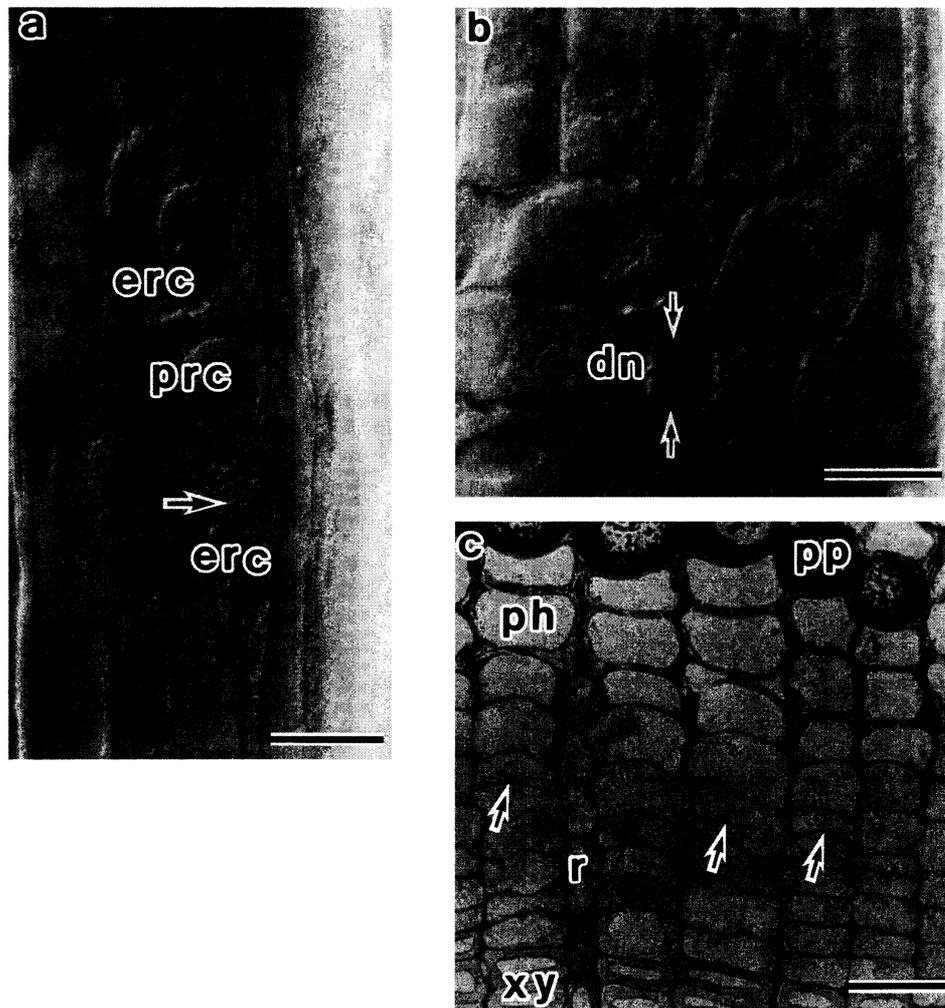


Fig. 4-2. The re-initiation of cell division in the cambial zone of *Abies sachalinensis*. a Radial view of an erect ray cambial cell (*erc*) with a prophase nucleus (*arrow*) in a 5-d-heated sample, as observed by Nomarski differential interference contrast microscopy. The right side of the photograph corresponds to the xylem side. b Radial view of procumbent ray cambial cells at anaphase with the cell plate (*between arrows*) and newly formed daughter nuclei (*dn*) in a 6-d-heated sample, as viewed by Nomarski differential interference contrast microscopy. The right side of the photograph corresponds to the xylem side. c Transverse view of an array of fusiform cambial cells with newly formed cell walls (*arrows*) on the phloem side of the cambium in a 6-d-heated sample, as viewed under a light microscope. *ph*, Phloem; *pp*, phloem parenchyma cells; *erc*, procumbent ray cambial cells; *r*, ray cells; *xy*, xylem. Bars = 30 μ m

局所的な加温処理を施した樹幹部において、直立型形成層放射組織細胞は紡錘形形成層帯細胞よりも1日早く細胞分裂を再開した。したがって、形成層放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞との間には加温処理に対する反応性に違いがあると考えられる。形成層放射組織細胞には、紡錘形形成層帯細胞とは異なる加温処理に対する迅速な反応性と関連した特徴が観察される可能性がある。

1.3.3 紡錘形形成層帯細胞の放射列内における分裂再開時期の変動

紡錘形形成層帯細胞の分裂が最初に確認された6日間加温処理を施した部位では、観察した紡錘形形成層帯細胞の68放射列の中で62列において細胞分裂が確認された。これらの細胞放射列のうち43列では分裂した細胞が1個、残りの19列では2~3個観察された。細胞分裂が確認されたすべての細胞放射列では、師部側に位置する細胞で必ず分裂が起っていたので、形成層帯の師部付近には新たに形成された薄い接線壁が円弧状に連なって観察された (Fig. 4-2c)。

形成層休眠期に局所的な加温処理を施したトドマツの樹幹部では、紡錘形形成層帯細胞の分裂再開は形成層帯の師部側で最初に起こった (Fig. 4-2c)。この結果は、針葉樹と広葉樹では、師部形成の再開が木部形成の再開よりも早く起こるとする最近の一般的な知見と一致している (Larson 1994)。トドマツと同じモミ属の *Abies balsamea* については、紡錘形形成層帯細胞の分裂再開に関して2つの報告がある。Riding and Little (1984) は、形成層帯細胞の分裂が常に木部形成と関連していると報告している。一方、Kutscha et al. (1975) は、新しい木部細胞は新しい師部細胞よりも1週間早く形成されると報告している。しかしながら、彼ら (Riding and Little 1984; Kutscha et al. 1975) は、形成層帯において細胞分裂が最初に起こる位置については言及していない。今回の結果は、休眠期に局所的な加温処理を施した樹幹部では、紡錘形形成層帯細胞の分裂再開は最初に形成層帯の師部側で起こることを明確に示している。

形成層休眠期に局所的な加温処理を施したトドマツの樹幹部では、紡錘形形成層帯細胞の放射列において最初に分裂を再開する細胞は師部側の同じ場所に位置していた。したがって、6日間温められた試料の木口面 (Fig. 4-2c) で観察されるように、新たに接線壁が形成された細胞は円弧状に連なって並んでいた。この結果から、師部側に位置する紡錘形形成層帯細胞は木部側に位置する紡錘形形成層帯細胞よりも加温処理に対する反応が早いと考える。師部側に位置する紡錘形形成層帯細胞は、加温処理に対する迅速な反応性と関連した特徴を持ち、これらの特徴は木部側に位置する紡錘形形成層帯細胞とは異なっている可能性がある。

1.3.4 形成層帯細胞の分裂の再開順序とデンプンの動態との関連性

第2章で1998年3月10日の対照部では形成層帯が休眠状態にあったことが確認されている。光学顕微鏡下では、休眠期には貯蔵デンプンは、平伏型形成層放射組織細胞と形成層帯に最も近い師部柔細胞で観察されたが、紡錘形形成層帯細胞には認められなかった (Fig. 4-3a)。直立型形成層放射組織細胞については、いくつかの細胞はデンプンを貯蔵していた。しかしながら、ほかの細胞では全くあるいはほとんど貯蔵デンプンは観察されなかった。電子顕微鏡下では、平伏型形成層放射組織細胞には大型のデンプン粒を含有した色素体がたくさん認められた (Fig. 4-5a)、直立型形成層放射組織細胞にも大型のデンプン粒を含む色素体が観察された (Fig. 4-5b)。一方、紡錘形形成層帯細胞では、ほとんどの色素体はデンプンを貯蔵していなかった。木部あるいは師部の近くにある細胞には、デンプンを貯蔵している色素体が観察されたが、デンプン粒の大きさはかなり小さかった (Fig. 4-4b)。

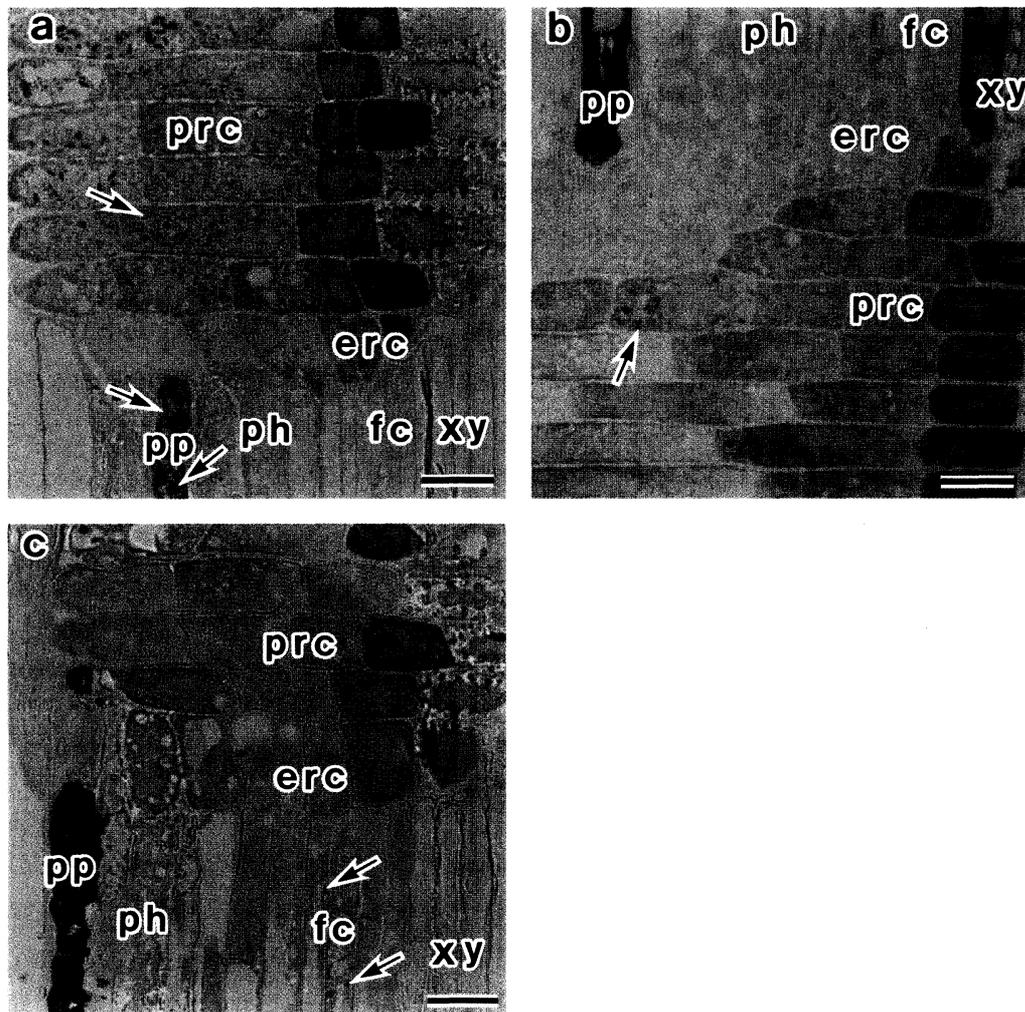


Fig. 4-3. Localization of storage starch (arrows) around the cambium in a series of non-heated and heated samples of *Abies sachalinensis*, as viewed radially under a light microscope. a A non-heated sample collected on March 10 1998. b A 4-d-heated sample. c A 6-d-heated sample. *erc*, Erect ray cambial cells; *fc*, fusiform cambial cells; *ph*, phloem; *pp*, phloem parenchyma cell; *prc*, procambial ray cambial cells; *xy*, xylem. Bars = 30 μm

1～6日間温めた試料については、加温期間が長くなるに従って、貯蔵デンプンの量が平伏型形成層放射組織細胞と師部柔細胞においては減少したが、紡錘形形成層帯細胞においては増加した (Fig. 4-3)。一方、直立型形成層放射組織細胞の貯蔵デンプン量には変化は見られなかった。電子顕微鏡下では、形成層帯細胞の色素体が含有しているデンプン粒の大きさに変化が見られた。加温期間が長くなるに従って、平伏型形成層放射組織細胞では色素体に貯蔵されていたデンプンが消失し (Fig. 4-6a)、紡錘形形成層帯細胞では大型のデンプン粒を含んだ色素体がたくさん観察されるようになった (Fig. 4-6c)。直立型形成層放射組織細胞については、大型のデンプン粒を含んだ色素体が数多く認められる細胞 (Fig. 4-6b) と色素体にデンプンがほとんど貯蔵されていない細胞が観察された。

休眠期でも木部あるいは師部近くにある紡錘形形成層帯細胞には、電子顕微鏡下で確認できる程度のかかなり小さなデンプン粒を含有している色素体が観察された (Fig. 4-4b)。木部に隣接する紡錘形形成層帯細胞の色素体はしばしばデンプン粒を含有しており、これらの細胞は木部へと直接分化することが *Aesculus hippocastanum* (Barnett 1992)、*Fraxinus excelsior* と *Acer pseudoplatanus* (Catesson 1994) で報告されている。休眠期に加温処理を施したトドマツの形成層帯では細胞分裂が再開する前に師部近くの細胞が師部へと直接分化している (Fig. 3-3)。したがって、休眠期にデンプンを貯蔵している紡錘形形成層帯細胞は、細胞分裂を再開することなく分化する可能性がある。

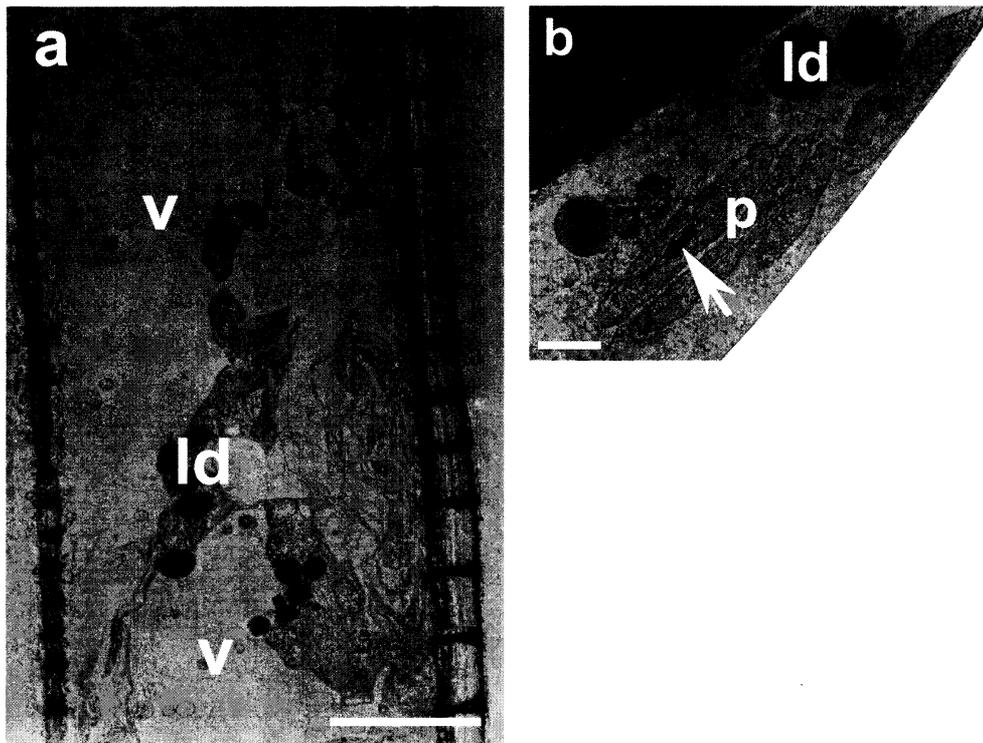


Fig. 4-4. TEM micrographs of dormant fusiform cambial cells in *Abies sachalinensis* sampled on March 10 1998. a Radial view of fragmented vacuoles (v). Bar = 5 μ m. b Transverse view of plastids (p) with a small starch grain (arrow). Bar = 1 μ m. ld, Lipid droplet

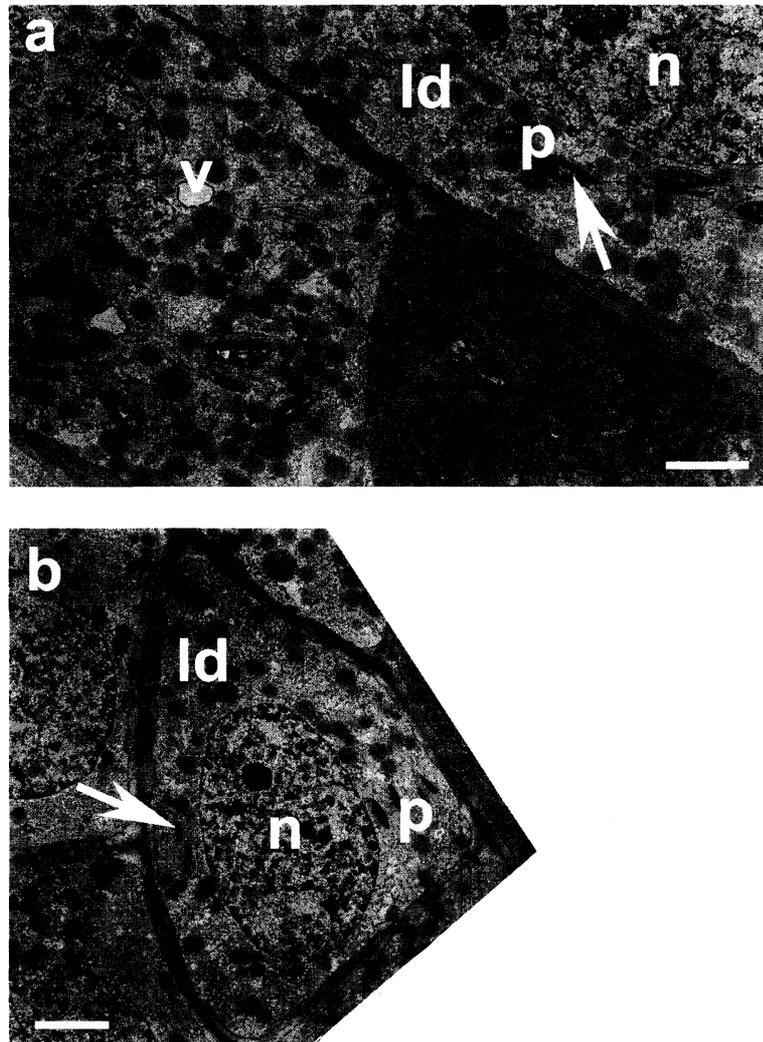


Fig. 4-5. Dormant ray cambial cells in *Abies sachalinensis* sampled on March 10 1998, as viewed radially under a TEM. a Procumbent ray cambial cells. b An erect ray cambial cell. *ld*, Lipid droplet; *n*, nucleus; *p*, plastid with a starch grain (*arrow*); *v*, small vacuole. Bars = 5 μ m

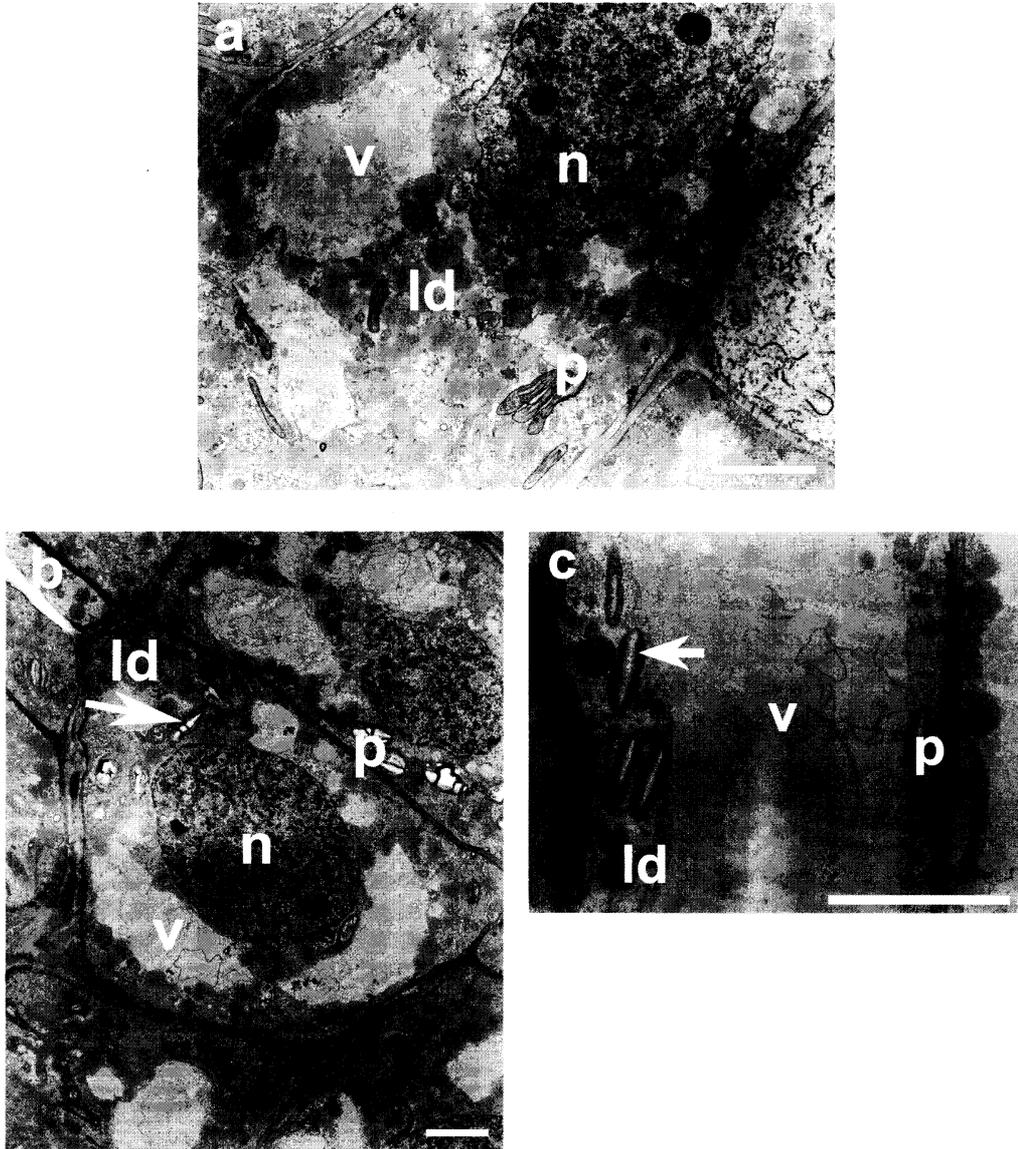


Fig. 4-6. TEM micrographs of cambial cells in a 5-d-heated sample (a) and in a 6-d-heated sample (b, c) of *Abies sachalinensis*. a Radial view of procumbent ray cambial cells. b Radial view of an erect ray cambial cell. c Transverse view of a fusiform cambial cell. Plastids with big starch grains (arrows) were observed in an erect ray cambial cell and a fusiform cambial cell. *ld*, Lipid droplet; *n*, nucleus; *p*, plastid.; *v*, vacuole. Bars = 5 μ m

第 4 章 1.3.3 では、師部側に位置する紡錘形形成層帯細胞は、加温処理に対する迅速な反応性と関連した特徴を持ち、これらの特徴は木部側に位置する紡錘形形成層帯細胞とは異なっていると考えた。加温期間中には時間の経過とともに、平伏型形成層帯放射組織細胞と師部柔細胞では貯蔵デンプンが減少し、最終的には消失したが、紡錘形形成層帯細胞ではデンプンが貯蔵されていった (Figs. 4-3, 6a, c)。針葉樹では、休眠期から活動期にかけて貯蔵物質の量が、形成層帯放射組織細胞では減少するが、紡錘形形成層帯細胞では増加することが知られている (Larson 1994)。これらの変化は、貯蔵デンプンから派生したショ糖が、二つの経路を通過して放射列状に並んでいる紡錘形形成層帯細胞に供給されていることを示している。一方は師部柔細胞から紡錘形形成層帯細胞への放射方向の経路、他方は平伏型形成層帯放射組織細胞から紡錘形形成層帯細胞への接線方向の経路である。これらの二つの経路を通過してショ糖が紡錘形形成層帯細胞へ供給されることによって、師部に隣接した紡錘形形成層帯細胞と、平伏型形成層帯放射組織細胞と直接連絡している紡錘形形成層帯細胞にはより多くのショ糖が供給されると考える。結果として、紡錘形形成層帯細胞の放射列においては、師部側に位置する細胞が最初に細胞分裂を再開する。

第 4 章 1.3.2 では、直立型形成層帯放射組織細胞は、加温処理に対する迅速な反応性と関連した特徴を持ち、これらの特徴は紡錘形形成層帯細胞と異なっている可能性を示唆した。加温期間中には直立型形成層帯放射組織細胞に貯蔵されているデンプンの量には顕著な変化が認められていない。したがって、直立型形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞の間に見られる分裂再開時期の違いは貯蔵デンプンと直接関係がないと考える。

1.4 結論

冬期に加温処理を施したトドマツの樹幹部について、形成層帯付近の貯蔵組織ならびに形成層帯におけるデンプンの動態と形成層帯において細胞分裂が再開する位置の変遷との関係を調べた。

- (1) 形成層帯を構成する細胞の中でも、形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞の間には加温処理に対する反応性に違いがあることが示された。
- (2) 紡錘形形成層帯細胞の分裂再開は、形成層帯の師部側で最初に起こることが明らかになった。
- (3) 休眠期に加温処理を施した樹幹部では、形成層帯付近の貯蔵組織内のデンプンから派生したショ糖は、師部柔細胞から紡錘形形成層帯細胞への放射方向の経路と平伏型形成層帯放射組織細胞から紡錘形形成層帯細胞への接線方向の経路を通過して形成層帯へ供給されるために、紡錘形形成層帯細胞の放射列においては、より多くのショ糖が供給される師部側に位置する細胞が最初に分裂を再開することが示された。

第 2 節 形成層帯細胞の分裂再開に先行して起こる組織構造的変化

2.1 緒言

形成層再活動に関する一般的な概念は、さまざまな樹種から得られた知見に基づいている (Catesson 1994; Farrar and Evert 1997a)。形成層再活動と関係がある現象を詳しく調べるためには、例えば、*Aesculus hippocastanum* (Barnett 1992) と *Robinia pseudoacacia* (Farrar and Evert 1997a, b) について最近おこなわれた詳細な研究に見られるように、長期間にわたり短い間隔で試料を頻繁に採取しなければならず、多大な時間と労力を必要とする。

Savidge and Wareing (1981a) と Barnett and Miller (1994) の研究と第 2 章と第 3 章の結果から、常緑針葉

樹については、形成層帯が休眠状態にある時期に局部的に温めた樹幹部では、比較的短い時間で形成層帯細胞の分裂が再開することが明らかになった。さらに、第4章第1節の結果から、局部的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部には、形成層再活動に係わる現象を研究するために有効で完全な植物体由来の実験モデル系となる可能性がある。

本節では、形成層帯が休眠状態にある時期に局部的に温めたトドマツの樹幹部について、形成層帯が細胞分裂を再開する時期までに形成層帯付近で起こる組織構造の変化を調べ、形成層帯細胞の分裂再開に伴う現象を研究するための完全な植物体実験モデルとしての有用性を評価した。

2.2 材料および実験方法

2.2.1 供試木

トドマツとしてトドマツ接木クローン「下川125号」を用いた。第2章で1998年3月10日から25日までの期間に樹幹に局部的な加温処理を施した個体 (Table 2-1) に加えて、1個体 (Table 4-1) を実験に供した。

2.2.2 加温処理

1998年3月10日から25日と1999年3月16日から23日までの期間に樹幹の胸高部に局部的な加温処理を施した。加温処理は第2章で用いた方法に従っておこなった。

2.2.3 試料採取および観察試料の作製

第3章で1998年3月10日から16日にかけて対照部と加温部から採取した試料から作製したSpurr樹脂包埋試料を供試した。Spurr樹脂包埋試料からガラスナイフを使ってウルトラミクロトームで厚さ1 μ mの木口またはまさ目の薄切片を切削した。組織観察用の薄切片にはアズルBで染色して光学顕微鏡下で観察した。さらに、Spurr樹脂包埋試料からダイヤモンドナイフを使ってウルトラミクロトームで90nm厚の木口またはまさ目の超薄切片を切削し、ホルムバル膜を張った銅製グリッドに切片を載せて乾燥させた。切片には酢酸ウラニル-クエン酸鉛二重染色を施し、加速電圧80kVにおいて切片を透過型電子顕微鏡で観察した。

2.2.4 微小管の観察

形成層帯細胞の微小管の観察は、1999年3月16日から23日までの期間に対照部と加温部から採取した試料についておこなった。微小管は間接蛍光免疫染色法で染色した (Abe et al. 1995; Funada et al. 1997; Furusawa et al. 1998)。

Table 4-1. Mensurational characteristics of the sample tree.

Heating period	Tree height (m)	Crown height (m)	Height at heated portion (m)		
<i>Abies sachalinensis</i>					
Hokkaido, 99					
Mar 16-Mar 23	13.0	lower than 2.6	nt	nt	1.3

nt, No sample were taken.

対照部と加温部から形成層帯と若干の節部および木部を含む10 (放射方向)×10 (接線方向)×10 (軸方向) mm³のブロックを切り出した。Dimethylsulfoxideを10%とNonidet P-40を0.1%含有し、EGTAとMgSO₄をおのおの5 mM添加した50mMのPIPES緩衝液 (pH7.0) で3.6%に希釈したパラホルムアルデヒドと0.2%に希釈したグルタルアルデヒドの混合液にブロックを室温で一昼夜浸漬して組織を固定した。凍結ステージ (MA-101; (株)小松エレクトロニクス, 神奈川) の上で凍らせたブロックからTHOMA・JUNG型マイクロトームで50μm厚のまま目切片を切削した。切片はpH7.3に調整したリン酸緩衝生理食塩水 (PBS: 137mM NaCl, 2.7mM KCl, 1.5mM KH₂PO₄, 8.0mM Na₂HPO₄)で洗浄後, 0.1%の窒化ナトリウムと1 mg ml⁻¹のウシ血清アルブミンを含有するPBS (PBSB) で500倍に希釈したニワトリの脳α-tubulinに対するマウスの一次抗体 (アマシャム・ジャパン, 東京) で処理した。抗体処理した切片はPBSで洗浄後, PBSBで10倍に希釈したマウスのIgGに対するFITC (fluorescein isothiocyanate-conjugated) 標識したヒツジの抗体 (アマシャム・ジャパン, 東京) を用いて30°Cで60分間処理した。免疫染色を施した切片はスライドガラスに載せて共焦点レーザー顕微鏡 (LSM-310; Carl Zeiss Co., Oberkochen, Germany) で観察した。アルゴンイオンレーザーから出る488nmの励起光照射によってFITCから発せられる蛍光を検知した。得られた一連の共焦点像から1つの像を合成し、合成像はデジタルカラープリンターで印刷した (UP-D8800; ソニー, 東京)。

2. 3 結果および考察

2. 3. 1 液胞化とゴルジ体の変化

休眠状態にある形成層帯においては、紡錘形形成層帯細胞では液胞がいくつか分割されており (Fig. 4-4a), 細胞質と細胞内小器官は細胞内に広く分散していた。ゴルジ体の周囲には、小型の小胞がいくつか観察された (Fig. 4-7a)。平伏型形成層帯放射組織細胞と直立型形成層帯放射組織細胞でも、細胞質と細胞内小器官が細胞内に広く分散しており細分化した液胞が観察された (Fig. 4-5a, b)。

加温処理を施した形成層帯においては、休眠期には細分化されていた液胞 (Figs. 4-4a, 5) は加温期間が長くなるにしたがって融合して大きくなった (Fig. 4-6)。ことに、紡錘形形成層帯細胞では、分裂を再開する直前には放射方向への膨張が起こり、分裂再開直後には巨大な液胞によって細胞質と細胞内小器官が細胞膜の近くに押しやられていた (Fig. 4-6c)。ゴルジ体の周囲には、休眠期のゴルジ体の周囲に見られた小胞よりも大型の小胞が数多く観察された (Fig. 4-7b)。これらの結果から、ゴルジ体の活動は加温処理によって活発になったと考えた。休眠期から再活動時期にかけて起こる形成層帯細胞の細胞内構造の変化は、おもに温帯に生育するさまざまな針葉樹と広葉樹を対象として調べられてきた。詳細な点については樹種によって違いが認められるが、これらの樹種から得られた観察結果に基づいて形成層活動の季節変動に伴う細胞内構造の変化に関する概念が構築されている (Catesson 1994; Lachaud et al. 1999)。最も顕著に変化する細胞内構造としては液胞が知られている。形成層帯の休眠がQuiescenceの段階では、液胞は細分化している (Catesson 1994; Lachaud et al. 1999; Tsuda 1975)。冬期の低温に馴化するために、形成層帯細胞は液胞の体積を減少させることによって細胞質の体積を増加させて細胞内凍結を防いでいると考えられている (Wisniewski and Ashworth 1986; Sagisaka et al. 1990; Kuroda and Sagisaka 1993)。

春期に気温が十分に上昇すると休眠状態にあった形成層帯細胞では、細分化していた液胞が互いに融合し合っ

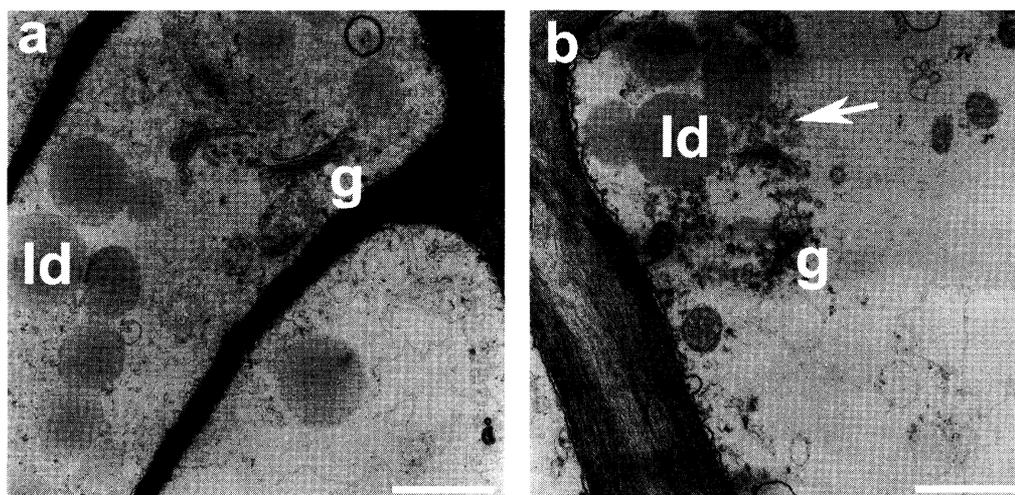


Fig. 4-7. Fusiform cambial cell in a non-heated sample (a) and in a 5-d-heated sample (b) of *Abies sachalinensis*, as viewed transversally under a TEM. a Inactive Golgi bodies (g) with few small vesicles. b Active Golgi bodies producing many large vesicles (arrow). ld, Lipid droplet. Bars = 1 μ m

は、液胞化と放射方向への膨張に加えて、活発に活動するゴルジ体 (Fig. 4-7b) が認められた。これらの観察結果から、休眠状態がQuiescenceの段階にある形成層帯細胞では、温度の条件が満たされると分裂活動を再開するために細胞内構造が活発に変化していると考えられる。

形成層再活動に関連する現象を詳しく調べるためには、長期間にわたり短い間隔で試料を頻繁に採取しなければならなかった (Barnett 1992; Farrar and Evert 1997a, b)。一方、スギでは、形成層休眠がQuiescenceの段階にある時期であればいつでも、樹幹部を局部的に温めることによって形成層帯細胞の分裂活動を再開させることができる (Table 2-3)。さらに、スギと同じ常緑針葉樹であるトドマツについては、形成層休眠がQuiescenceの段階にある時期に局部的に温めた樹幹部において、およそ1週間で形成層帯細胞の分裂活動を再開させることができ (Fig. 4-2)、休眠期から再活動時期に起こる細胞内構造の変化を経時的に観察することができた。このように、Quiescence期に局部的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部を利用することによって、形成層帯細胞が分裂を再開するまでにおこる形成層帯における組織化学や細胞内構造の変化などの一連の現象を繰り返して調べることができる。

2.3.2 微小管の局在性と出現性

1999年3月16日から開始した加温処理では、1998年に処理を施した場合と比べると1~2日早く、4日目には形成層帯細胞の分裂が再開した。1999年の処理では、3月20日に採取した4日間温めた試料の形成層帯細胞において微小管について一連の変化が観察された。表層微小管は、平伏型形成層帯放射組織細胞、直立型形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞で常に観察された。平伏型形成層帯放射組織細胞と直立型形成層帯放射組織細胞では、有糸分裂が始まる前に出現し、将来細胞板が形成される位置を正確に示す前期前微小管束 (Wick 1991) と紡錘体微小管およびフラグモプラスト微小管が観察された (Fig. 4-8)。しかしながら、紡錘形形成層帯細胞では前期前微小管束は認められなかった。

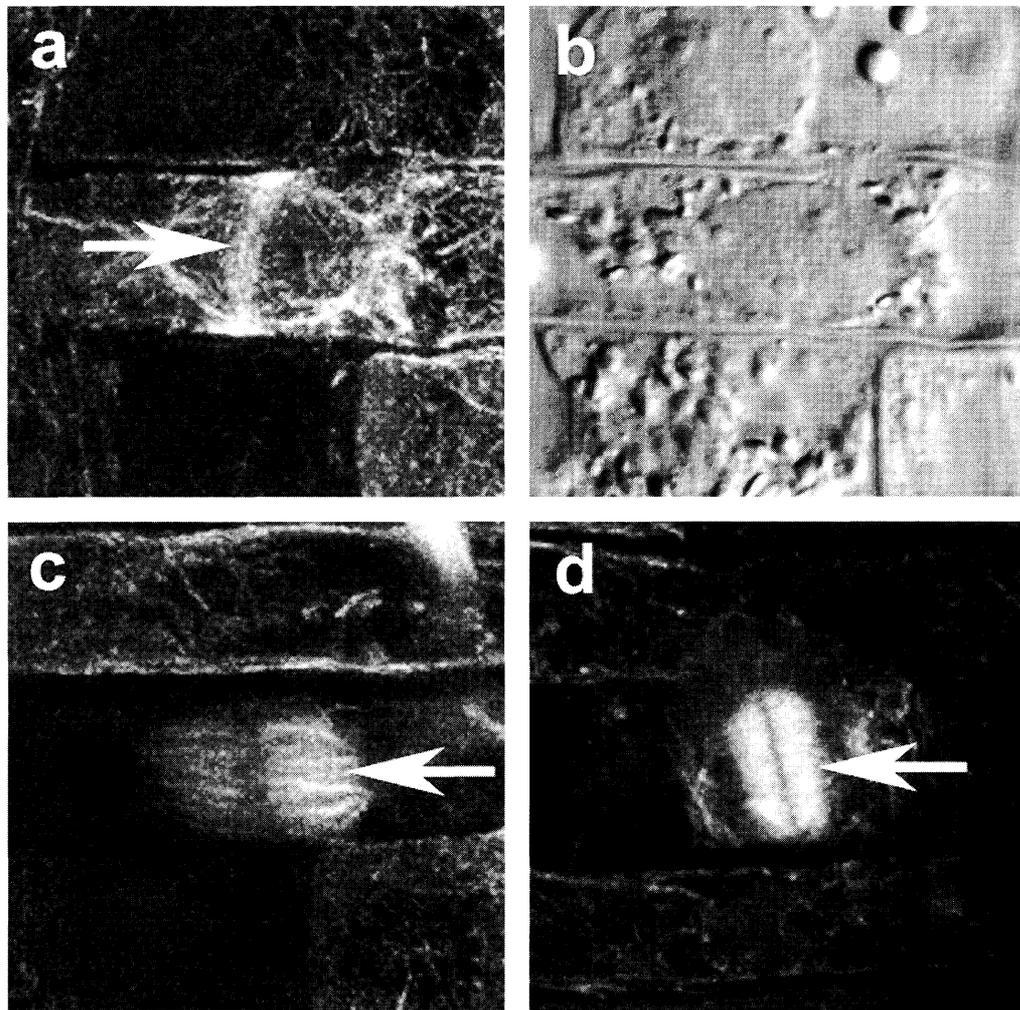


Fig. 4-8. Images obtained by confocal laser scanning microscopy of sequential arrangements of microtubules in procumbent ray cambial cells in a 4-d-heated sample of *Abies sachalinensis* collected in March 1999. a Preprophase band of microtubules (*arrow*). b The same region as in a, showing the nucleus, as viewed by Nomarski differential interference contrast microscopy. c Spindle microtubules (*arrow*). d Phragmoplast microtubules (*arrow*). The right-hand side of each photograph corresponds to the xylem side. Bar = 25 μ m

トドマツの形成層放射組織細胞で観察された前期前微小管束は、将来細胞板が形成される位置の決定において重要な役割を果たしており (Wick 1991), 広葉樹である *Ulmus americana* (Evert and Deshpande 1970) でも確認されている。しかしながら、トドマツの紡錘形形成層帯細胞では、前期前微小管束は認められなかった。Goosen-de Roo et al. (1980) は、*Fraxinus excelsior*の紡錘形形成層帯細胞において微小管の比較的小さな集団を確認し、これらの微小管が前期前微小管束と関係がある可能性を示している。しかしながら、*Ulmus americana* (Evert and Deshpande 1970) と *Robinia pseudoacacia* (Farrar and Evert 1997b) といったほかの広葉樹 2 種では、前期前微小管束の明白な存在証拠は見つかっていない。Farrar and Evert (1997b) は、紡錘形形成層帯細胞では前期前微小管束の存在に関する決定的な証拠は示されていないと結論付けている。内乳の形成と減数分裂 (Schmit et al. 1983; Brown and Lemmon 1988) で観察されているように、紡錘形形成層帯細胞の分裂では前期前微小管束が形成されないのかもしれない。

休眠期に局所的な加温処理を施したトドマツの樹幹部では、形成層帯細胞において前期前微小管束、紡錘体微小管とフラグモプラスト微小管 (Fig. 4-8) が観察された。このように、微小管の局在性と出現性が観察できることも、この実験モデル系の特徴である。

2.4 結論

形成層帯が休眠状態にある時期に局所的に温めたトドマツの樹幹部について、形成層帯が細胞分裂を再開する時期までに形成層帯付近で起こる組織構造の変化を調べ、形成層帯細胞の分裂再開に伴う現象を研究するための完全な植物体実験モデルとしての有用性を評価した。

- (1) 休眠がQuiescenceの段階にある形成層帯細胞では、温度の条件が満たされると分裂活動を再開するために、液胞、ゴルジ体などの細胞内構造が活発に変化し、放射方向への膨張が起こることが示された。
- (2) 形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞では、紡錘体微小管とフラグモプラスト微小管が観察されたが、有糸分裂が始まる前に出現し、将来細胞板が形成される位置を正確に示す前期前微小管束は、紡錘形形成層帯細胞では認められなかった。
- (3) Quiescence期に局所的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部は、形成層再活動に係わる現象を研究するために有効で完全な植物体由来の実験モデル系として十分利用できることが示された。

第4章総括

形成層帯が休眠状態にある時期に局所的に温めたトドマツの樹幹部について、形成層帯付近の貯蔵組織ならびに形成層帯におけるデンプンの動態と形成層帯において細胞分裂が再開する位置の変遷との関係を調べた。さらに、形成層帯が細胞分裂を再開する時期までに形成層帯付近で起こる組織構造の変化を調べ、形成層帯細胞の分裂再開に伴う現象を研究するための完全な植物体実験モデルとしての有用性を評価した。形成層帯を構成する細胞の中では、直立型形成層帯放射組織細胞が平伏型形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞よりも早く細胞分裂を再開した。また、紡錘形形成層帯細胞の放射列の中では、師部側に位置する細胞が最初に分裂を再開した。貯蔵デンプンの量は、加温期間が長くなるに従って平伏型形成層帯放射組織細胞と師部柔細胞では減少し、紡錘形形成層帯細胞では増加した。これらの結果から、師部柔細胞に貯蔵されているデンプンから派生したショ糖が、師部柔細胞から紡錘形形成層帯細胞への放射方向の経路と平伏型形成層帯放射組織細胞から紡錘形形成層帯細胞

への接線方向の経路を通して放射列状に並んでいる紡錘形形成層帯細胞へ供給されていることが示された。さらに、紡錘形形成層帯細胞の放射列においては、これらの二つの経路を通じてより多くのショ糖が供給される師部側に位置する細胞が最初に細胞分裂を再開すると考えた。一方、加温期間中には直立型形成層帯放射組織細胞に貯蔵されているデンプンの量には顕著な変化が認められなかった。したがって、直立型形成層帯放射組織細胞と紡錘形形成層帯細胞の間に見られる分裂再開時期の違いは貯蔵デンプンと直接関係がないと考えた。形成層休眠がQuiescenceの段階にある時期に加温処理を施した形成層帯の細胞では、液胞化、周囲に大型の小胞をたくさん伴ったゴルジ体、液胞によって細胞質と細胞内小器官が細胞膜の近くに押しやられる過程や分裂再開直前に起こる放射方向への膨張が観察された。このように、休眠状態がQuiescenceの段階にある形成層帯細胞では、温度の条件が満たされると分裂活動を再開するために細胞内構造が活発に変化することが示された。これらの現象は、おもに温帯に生育するさまざまな針葉樹と広葉樹から得られた観察結果に基づいて構築された休眠期から再活動時期にかけて起こる形成層帯細胞の構造的変化に関する概念とほぼ一致していた。さらに、休眠期に加温処理を施した形成層帯では微小管について一連の変化が観察された。これらの結果から、形成層休眠のQuiescence期に局所的な加温処理を施した常緑針葉樹の樹幹部については、短期間で形成層帯細胞の分裂活動が再開し、微小管の局在性と出現性も含めて休眠期から再活動時期にかけて起こる細胞内構造の変化を経時的に観察できることから、形成層の再活動に係わる現象を研究するために有効で完全な植物体由来の実験モデル系として十分に利用できることと評価した。

摘 要

本研究では、針葉樹について、休眠期から再活動時期にかけて冬期に休止している形成層帯細胞の分裂活動と木部分化活動の再開を制御している機構を解明することを目的として、温帯性の常緑性樹種であるスギ (*Cryptomeria japonica*)、冷温帯性の常緑性樹種であるトドマツ (*Abies sachalinensis*) と落葉性樹種であるカラマツ (*Larix kaempferi*) を用いて、(1) 形成層帯細胞の分裂・木部分化の再開と貯蔵デンプン、(2) 休眠期に加温した樹幹部における形成層活動と貯蔵デンプン、(3) トドマツとカラマツにおける形成層活動再開の制御機構、(4) 形成層帯細胞の分裂再開とデンプンの動態について実験をおこなった。

樹幹内において形成層帯細胞の分裂の再開やその後の木部分化活動は、樹種によって特異的な出現様式を示した。その原因として落葉性と常緑性の違いのほかに、形成層帯付近の貯蔵組織内に貯蔵されているデンプンが密接に関係していることを明らかにした。さらに、休眠状態にある形成層の活動を促すために樹幹を局部的に2週間加温し、落葉性樹種 (カラマツ)、常緑性の温帯性樹種 (スギ) と冷温帯性樹種 (トドマツ) では、加温処理に対する反応性が異なる傾向を示すことを見出した。すなわち、常緑性の温帯性樹種 (スギ) では、加温によって形成層帯細胞が活発に分裂し、形成層派生物が木部へと分化するのに対して、常緑性の冷温帯性樹種 (トドマツ) では、細胞分裂は比較的活発であるが、形成層派生物の木部分化はほとんど起こらなかった。落葉性樹種 (カラマツ) では、細胞分裂が起こるものの、その活性は著しく低く、木部分化はほとんど起こらないことを明らかにした。それぞれの樹種について、休眠期に形成層帯付近の柔細胞内に貯蔵されているデンプンの挙動を調べたところ、貯蔵デンプンの量は気温が低下すると減少し、上昇すると増加する傾向を示した。また、休眠期の加温処理によって師部柔細胞内の貯蔵デンプンの量は、カラマツとスギでは増加し、トドマツでは減少すること

を確認した。休眠期に柔細胞に貯蔵されているデンプンの量は、気温に応じて変動しており、加温すると基本的には増加するが、再開した形成層活動による消費と光合成産物の供給のバランスによってきままっていることが示された。そこで、休眠状態にあるカラマツとトドマツの樹幹を長期にわたって局部的に加温し、その過程における形成層活動の変化と貯蔵デンプンの動態を追跡した。その結果、カラマツでは、貯蔵デンプンを代謝して分裂を継続するための条件が揃っていないことが、休眠期に形成層帯細胞の分裂活動と木部分化活動の細胞を制御する要因であると考えた。一方、トドマツでは、生育地の冬期の気温が氷点よりもかなり低くなることによって形成層活動に必要な物質の旧葉における生産と樹幹内における移動が抑制されていることが、再活動を制御する要因であると推察した。さらに、局部加温の手法を用いることによって、紡錘形形成層帯細胞の放射列内では最初に師部側で細胞分裂が再開すること、また、この再開と貯蔵デンプンから供給される養分の動態が密接に関係していること、そして、形成層再活動に伴って微小管、すなわち前期前微小管束、紡錘体微小管とフラグモプラスト微小管が、特異的に局在することを明らかにした。

結論として、針葉樹では、休眠期には形成層活動に必要な内部因子については既に条件が満たされているが、冬期の低温によって活動が抑制されているために、春期に気温が上昇するとシュートや針葉の成長開始とは無関係に形成層活動が再開する。休眠期に細胞分裂と木部分化を制御する要因は、樹種、落葉性と常緑性、生育地によって異なる。

Summary : The present study was designed to identify the factors or conditions that regulate the reactivation of the cambium and xylem differentiation in conifers, namely *Cryptomeria japonica*, a temperate evergreen conifer, *Abies sachalinensis*, a cool-temperate evergreen conifer, and *Larix kaempferi*, a deciduous conifer. I (1) examined the pattern of cambial reactivation, re-initiation of xylem differentiation, and localization of storage starch around the cambium within stems in spring, (2) applied heat to portions of the stem during winter dormancy and examined the extent of cambial activity and the localization of storage starch around the cambium of the heated region, (3) compared the regulation of cambial reactivation between *A. sachalinensis* and *L. kaempferi*, and (4) examined the relationships between cambial reactivation and translocation of nutrients, derived from storage starch.

The position in the stem where cambial reactivation and xylem differentiation first occur in the spring varied among species. The specific pattern was related not only to the difference between evergreen and deciduous habit but also to the amount of starch in phloem parenchyma around the cambium. When stem portions were locally heated for 2 weeks during cambial dormancy, heating induced cambial reactivation. However, there were some differences in cambial response to heat treatment among species. In an evergreen conifer growing in the temperate zone, *C. japonica*, cell division continued in the cambium and earlywood tracheids were formed. In contrast, in an evergreen conifer growing in the cool-temperate zone, *A. sachalinensis*, a few cells were produced but no differentiating xylem cells were observed. In a deciduous conifer, *L. kaempferi*, only a few cells were generated and no xylem differentiation occurred. During winter dormancy, the amount of starch in phloem parenchyma appeared to depend on changes in air temperature. However, in regions of the stem those were heated during cambial dormancy, the amount of starch in the

parenchyma increased in *L. kaempferi* and *C. japonica*, but decreased in *A. sachalinensis*. Therefore, the amount of starch in phloem parenchyma in heated regions of the stem seemed to depend on the supply of assimilate and the uptake of sucrose into the reactivated cambium. In *L. kaempferi*, suppression of starch metabolism may limit the reactivation of the cambium and xylem differentiation, whereas in *A. sachalinensis*, short supply of assimilate due to low air temperatures in winter may be the limiting factor. The microscopic observation of locally heated stems of the evergreen conifer *A. sachalinensis* during cambial dormancy indicated that 1) re-initiation of cell division first occurs on the phloem side of the radial array of fusiform cambial cells, 2) localization of starch around the cambium is related HOW to the above?, and 3) localization and occurrence of microtubules, namely the preprophase band of microtubules, spindle microtubules and phragmoplast microtubules in the cambial cells.

In conclusion, the quiescent stage of cambial dormancy is imposed by low air temperature in winter. Therefore, the cambium of stems in the dormancy stage can reinitiate cell division independently of new shoot growth and the development of buds in spring when the temperature rises. During the quiescence period of cambial dormancy, the cambial growth potential varies with species, evergreen and deciduous habit, and habitat of conifers.

謝 辞

研究ならびに本論文の取りまとめにあたり、終始熱心に懇切でかつ適切なお指導を頂いた東京農工大学農学部教授 久保隆文博士に深謝致します。学位論文審査委員として本論文の内容について貴重なご意見を頂くとともに論文の取りまとめについてもご指導頂いた茨城大学農学部長 松田智明博士、宇都宮大学農学部教授 吉澤伸夫博士、東京農工大学農学部教授 福田清春博士、東京農工大学農学部助教授 戸田浩人博士ならびに東京農工大学農学部助教授 富永洋司博士に深く感謝致します。在学中、研究の遂行に際して適切なお助言を賜りました東京農工大学名誉教授 伏谷賢美博士と東京農工大学農学部助教授 佐藤敬一博士に感謝致します。独立行政法人林木育種センター育種部長 田島正啓博士、探索収集課長 丹藤修氏、保存評価課長 星比呂志博士、元北海道育種場育種課長 河野耕藏氏、北海道育種場育種課長 半田孝俊氏、関西育種場長 西原賢吾氏、前関西育種場育種課長 西村慶二氏、関西育種場育種課長 板鼻直榮氏ならびに北海道育種場と関西育種場の各位に深く御礼申し上げます。論文作成において多大なるご協力を頂いた宇都宮大学農学部附属演習林助教授 飯塚和也博士と神戸大学大学院自然科学研究科助手 石井弘明博士に心から感謝致します。

最後に、研究に対して多くのご助言とご協力を頂いた北海道大学大学院農学研究科助教授（現在、東京農工大学農学部助教授）船田良博士に心より御礼申し上げます。

引用文献

- 藤原敬 (2000) 循環社会と輸入木材の輸送過程消費エネルギー - 地域材利用促進の一側面 -。木材工業 55 : 251-253
- 船田良, 久保隆文, 伏谷賢美 (1987) スギ樹幹内の晩材出現様式と内生オーキシン濃度との関連性。木材学会誌 33 : 253-260
- 伏谷賢美, 木方洋二, 岡野健, 佐道健, 竹村富男, 則元京, 有馬孝禮, 堤壽一, 平井信之 (1985) 木材の物理。文永堂, 東京
- 久保隆文 (1985) 針葉樹の年輪構造とその形成に関する基礎的研究。東京農工大学演習林 報告 21 : 1-70
- 長倉三郎, 井口洋夫, 江沢洋, 岩村秀, 佐藤文隆, 久保亮五 (1998) 岩波理化学辞典第5版。岩波書店, 東京
- 日本木材加工技術協会 (1989) 日本の木材。日本木材加工技術協会, 東京
- 尾中文彦 (1950a) 樹木の肥大成長の縦断的配分。京都大学演習林報告 18 : 1-53
- 尾中文彦 (1950b) 摘葉, 摘芽, 輪栽, 光の遮断等の処理が常緑針葉樹の成長特に肥大成長に及ぼす影響。京都大学演習林報告 18 : 55-93
- 林野庁 (2002) 図説 森林・林業白書 平成13年度 森林と国民の新たな関係の創造に向けて。農林統計協会, 東京
- 酒井昭 (1982) 植物の耐凍性と寒冷適応 - 冬の生理・生態学 -。学会出版センター, 東京
- 島地謙, 須藤彰司, 原田浩 (1976) 木材の組織。森北出版, 東京
- Abe H, Funada R, Imaizumi H, Ohtani J, Fukazawa K (1995) Dynamic changes in the arrangement of cortical microtubules in conifer tracheids during differentiation. *Planta* 197 : 418-421
- Alfieri FJ, Evert RF (1968) Seasonal development of the secondary phloem in *Pinus*. *American Journal of Botany* 55 : 518-528
- Alfieri FJ, Evert RF (1973) Structure and seasonal development of the secondary phloem in the Pinaceae. *Botanical Gazette* 134 : 17-25
- Aloni R (1991) Wood formation in deciduous hardwood trees. In: Raghavendra AS (ed) *Physiology of trees*. John and Wiley & Sons, Inc, New York, pp 175-197
- Barnett JR, Miller H (1994) The effect of applied heat on graft union formation in dormant *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. *Journal of Experimental Botany* 45 : 135-143
- Barnett JR (1992) Reactivation of the cambium in *Aesculus hippocastanum* L.: a transmission electron microscope study. *Annals of Botany* 70 : 169-177
- Blechsmidt-Schneider S (1990) Phloem transport in *Picea abies* (L.) Karst. in mid-winter. I. Microautoradiographic studies on ¹⁴C-assimilate translocation in shoots. *Trees* 4 : 179-186
- Brown CL (1970) Physiology of wood formation in conifers. *Wood Science* 3 : 8-22
- Brown HP (1912) Growth studies in forest trees. I. *Pinus rigida* Mill. *Botanical Gazette* 54 : 386-403
- Brown HP (1915) Growth studies in forest trees. II. *Pinus strobus* L. *Botanical Gazette* 59 : 197-241
- Brown RC, Lemmon BE (1988) Microtubules associated with simultaneous cytokinesis of coenocytic

- microsporocytes. *American Journal of Botany* 75 : 1848-1856
- Catesson AM (1994) Cambial ultrastructure and biochemistry: changes in relation to vascular tissue differentiation and the seasonal cycle. *International Journal of Plant Sciences* 155 : 251-261
- Chaffey N (1999) Cambium: old challenges-new opportunities. *Trees* 13 : 138-151
- Denne MP (1976) Wood production and structure in relation to bud activity in some softwood and hardwood species. *Leiden Botanical Series* 3 : 204-211
- Denne MP (1979) Wood structure and production within the trunk and branches of *Picea sitchensis* in relation to canopy formation. *Canadian Journal of Forest Research* 9 : 406-427
- Esau K (1969) *The phloem*. Gebrüder Borntraeger, Berlin
- Evert RF, Deshpande BP (1970) An ultrastructural study of cell division in the cambium. *American Journal of Botany* 57 : 942-961
- Farrar JJ, Evert RF (1997a) Seasonal changes in the ultrastructure of the vascular cambium of *Robinia pseudoacacia*. *Trees* 11 : 191-202
- Farrar JJ, Evert RF (1997b) Ultrastructure of cell division in the fusiform cells of the vascular cambium of *Robinia pseudoacacia*. *Trees* 11 : 203-215
- Fry DJ, Phillips IDJ (1977) Photosynthesis of conifers in relation to annual growth cycles and dry matter production. II. Seasonal photosynthetic capacity and mesophyll ultrastructure in *Abies grandis*, *Picea sitchensis*, *Tsuga heterophylla* and *Larix leptolepis* growing in S.W. England. *Physiologia Plantarum* 40: 300-306
- Funada R, Kubo T, Fushitani M (1990) Early- and latewood formation in *Pinus densiflora* trees with different amounts of crown. *IAWA Bulletin n. s.* 11 : 281-288
- Funada R, Abe H, Furusawa O, Imaizumi H, Fukazawa K, Ohtani J (1997) The orientation and localization of cortical microtubules in differentiating conifer tracheids during cell expansion. *Plant Cell Physiology* 38 : 210-212
- Funada R, Kubo T, Tabuchi M, Sugiyama T, Fushitani M (2001) Seasonal variations in endogenous indole-3-acetic acid and abscisic acid in the cambial region of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. stems in relation to earlywood-latewood transition and cessation of tracheid production. *Holzforschung* 55 : 128-134
- Funada R, Kubo T, Sugiyama T, Fushitani M (2002) Changes in levels of endogenous plant hormones in cambial regions of stems of *Larix kaempferi* at the onset of cambial activity in springtime. *Journal of Wood Science* 48 : 75-80
- Furusawa O, Funada R, Murakami Y, Ohtani J (1998) Arrangement of cortical microtubules in compression wood tracheids of *Taxus cuspidata* visualized by confocal laser microscopy. *Journal of Wood Science* 44: 230-233
- Giaquinta RT (1980) Translocation of sucrose and oligosaccharides. In: Preiss J (ed) *The biochemistry of plants*, Vol. 3. Academic Press, New York, pp 271-320
- Goosen-de Roo L, Venverloo CJ, Burggraaf PD (1980) Cell division in highly vacuolated plant cells. In:

- Brederoo P, de Priester W (eds) Electron microscopy, Vol. 2. Institute of Physics, London, pp 232-233
- Gordon JC, Larson PR (1968) Seasonal course of photosynthesis, respiration, and distribution of ^{14}C in young *Pinus resinosa* trees as related to wood formation. *Plant Physiology* 43 : 1617-1624
- Grillos SJ, Smith FH (1959) The secondary phloem of Douglas-fir. *Forest Science* 5 : 377-388
- Imagawa H (1981) Study on the seasonal development of the secondary phloem in *Larix leptolepis*. *Research Bulletins of the College Experiment Forests Hokkaido University* 38 : 31-44
- Itoh T (1971) On the ultrastructure of dormant and active cambium of conifers. *Wood Research* 51 : 33-45
- Kozłowski TT, Pallardy SG (1997) *Physiology of woody plants*, 2nd edn. Academic Press, San Diego
- Krabel D, Bodson M, Eschrich W (1994) Seasonal changes in the cambium of trees. I. Sucrose content in *Thuja occidentalis*. *Botanica Acta* 107 : 54-59
- Krabel D (2000) Influence of sucrose on cambial activity. In: Savidge RA, Barnett JR, Napier R (eds) *Cell and molecular biology of wood formation*. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, pp 113-125
- Kramer PJ, Kozłowski TT (1960) *Physiology of trees*. McGraw-Hill, New York
- Knudson L (1913) Observations on the inception, season, and duration of cambium development in the American larch [*Larix laricina* (Du Roi) Koch.]. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 40 : 271-293
- Kuroda H, Sagisaka S (1993) Ultrastructural changes in cortical cells of apple (*Malus pumila* Mill.) associated with cold hardiness. *Plant Cell Physiology* 34 : 357-365
- Kutscha NP, Hyland F, Schwarzmann JM (1975) Certain seasonal changes in balsam fir cambium and its derivatives. *Wood Science and Technology* 9 : 175-188
- Lachaud S (1989) Participation of auxin and abscisic acid in the regulation of seasonal variations in cambial activity and xylogenesis. *Trees* 3 : 125-137
- Lachaud S, Catesson AM, Bonnemain JL (1999) Structure and functions of the vascular cambium. *Life Sciences* 332 : 633-650
- Ladefoged K (1952) The periodicity of wood formation. *Biologiske Skrifter* 7 : 1-98
- Larson PR (1962) Auxin gradients and the regulation of cambial activity. In: Kozłowski TT (ed) *Tree growth*. The Ronald Press Company, New York, pp 97-117
- Larson PR (1969) Wood formation and the concept of wood quality. *Bulletin / Yale University, School of Forestry* 74 : 1-54
- Larson PR (1994) *The vascular cambium: Development and structure*. Springer, Berlin
- Lisbeth SF (1986) Seasonal variation in the ultrastructure of the cambium in young stems of willow (*Salix viminalis*) in relation to phenology. *Physiologia Plantarum* 67 : 529-537
- Little CHA, Bonga JM (1974) Rest in the cambium of *Abies balsamea*. *Canadian Journal of Botany* 52:1723-1730
- Little CHA (1981) Effect of cambial dormancy state on the transport of [$1-^{14}\text{C}$] indol-3-ylacetic acid in *Abies balsamea* shoots. *Canadian Journal of Botany* 59 : 342-348
- Little CHA, Savidge RA (1987) The role of plant growth regulators in forest tree cambial growth. *Plant*

- Growth Regulation 6 : 137-169
- Little CHA, Pharis RP (1995) Hormonal control of radial and longitudinal growth in the tree stem. In: Gartner B (ed) Plant stems: Physiology and functional morphology. Academic Press, San Diego, pp 281-319
- Murmanis L (1971) Structural changes in the vascular cambium of *Pinus strobus* L. during an annual cycle. Annals of Botany 35 : 133-141
- Mellerowicz EJ, Coleman WK, Riding RT, Little CHA (1992) Periodicity of cambial activity in *Abies balsamea*. I. Effects of temperature and photoperiod on cambial dormancy and frost hardiness. Physiologia Plantarum 85 : 515-525
- Niki T, Sakai A (1981) Ultrastructural changes related to frost hardiness in the cortical parenchyma cells from mulberry twigs. Plant and Cell Physiology 22 : 171-183
- Odani K (1985) Indole-3-acetic acid transport in pine shoots under the stage of true dormancy. Journal of the Japanese Forestry Society 67 : 332-334
- Panshin AJ, de Zeeuw C (1980) Textbook of wood technology, 4th edn. MacGraw-Hill, New York
- Parkerson RH, Whitmore FW (1972) A correlation of stem sugars, starch, and lipid with wood formation in eastern white pine. Forest Science 18 : 178-183
- Priestley JH (1930) Studies in the physiology of cambial activity. III. The seasonal activity of the cambium. New Phytologist 29 : 316-354
- Raynolds ES (1963) The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. Cell Biology 19 : 208-213
- Riding RT, Little CHA (1984) Anatomy and histochemistry of *Abies balsamea* cambial zone cells during the onset and breaking of dormancy. Canadian Journal of Botany 62 : 2570-2579
- Riding RT, Little CHA (1986) Histochemistry of the dormant vascular cambium of *Abies balsamea*: changes associated with tree age and crown position. Canadian Journal of Botany 64 : 2082-2087
- Sagisaka S, Asada M, Ahn YH (1990) Ultrastructure of poplar cortical cells during the transition from growing to wintering stages and vice versa. Trees 4 : 120-127
- Sauter JJ (2000) Photosynthate allocation to the vascular cambium: facts and problems. In: Savidge RA, Barnett JR, Napier R (eds) Cell and molecular biology of wood formation. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, pp 71-83
- Savidge RA, Wareing PF (1981a) Plant-growth regulators and the differentiation of vascular elements. In: Barnett JR (ed) Xylem cell development. Castle House, London, pp 192-235
- Savidge RA, Wareing PF (1981b) A tracheid-differentiation factor from pine needles. Planta 153 : 395-404
- Savidge RA, Wareing PF (1982) Apparent auxin production and transport during winter in the nongrowing pine tree. Canadian Journal of Botany 60 : 681-691
- Savidge RA (1983) The role of plant hormones in higher plant cellular differentiation. II. Experiments with the vascular cambium, and sclereid and tracheid differentiation in the pine, *Pinus contorta*.

Histochemical Journal 15: 447-466

- Savidge RA (1991) Seasonal cambial activity in *Larix laricina* saplings in relation to endogenous indole-3-acetic acid, sucrose, and coniferin. *Forest Science* 37: 953-958
- Schmit AC, Vantard M, de May J, Lambert AM (1983) Aster-like microtubule centers establish spindle polarity during interphase-mitosis transition in higher plant cells. *Plant Cell Reports* 2 : 285-288
- Shiroya T, Lister GR, Slankis V, Krotkov G, Nelson CD (1962) Translocation of the products of photosynthesis to roots of pine seedlings. *Canadian Journal of Botany* 40 : 1125-1135
- Spurr AR (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research* 26 : 31-43
- Sundberg B, Little CHA, Riding RT, Sandberg G (1987) Levels of endogenous indole-3-acetic acid in the vascular cambium region of *Abies balsamea* trees during the activity-rest-quiescence transition. *Physiologia Plantarum* 71 : 163-170
- Sundberg B, Little CHA, Cui K, Sandberg G (1991) Level of endogenous indole-3-acetic acid in the stem of *Pinus sylvestris* in relation to the seasonal variation of cambial activity. *Plant, Cell and Environment* 14 : 241-246
- Sundberg B, Ericsson A, Little CHA, Näsholm T, Gref R (1993) The relationship between crown size and ring width in *Pinus sylvestris* L. stems: dependence on indole-3-acetic acid, carbohydrates and nitrogen in the cambial region. *Tree Physiology* 12 : 347-362
- Sundberg B, Ugglä C, Tuominen H (2000) Cambial growth and auxin gradients. In: Savidge RA, Barnett JR, Napier R (eds) *Cell and molecular biology of wood formation*. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, pp 169-188
- Troeng E, Linder S (1982) Gas exchange in a 20-year-old stand of Scots pine. I. Net photosynthesis of current and one-year-old shoots within and between seasons. *Physiologia Plantarum* 54 : 7-14
- Tsuda M (1975) The ultrastructure of the vascular cambium and its derivatives in coniferous species. I. Cambial cells. *Bulletin of the Tokyo University Forests* 67 : 158-226
- Tuominen H, Puech L, Fink S, Sundberg B (1997) A radial concentration gradient of indole-3-acetic acid is related to secondary xylem development in hybrid aspen. *Plant Physiology* 115 : 577-585
- Tuominen H, Puech L, Regan S, Fink S, Olsson O, Sundberg B (2000) Cambial-region-specific expression of the *Agrobacterium iaa* genes in transgenic aspen visualized by a linked *uidA* reporter gene. *Plant Physiology* 123 : 531-541
- Ugglä C (1998) New perspectives on the role of auxin in wood formation. Ph. D. thesis. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Silvestria* 58, Umeå
- Ugglä C, Moritz T, Sandberg G, Sundberg B (1996) Auxin as a positional signal in pattern formation in plants. *Proceedings of National Academy of Sciences U.S.A.* 93 : 9282-9286
- Ugglä C, Mellerowicz EJ, Sundberg B (1998) Indole-3-acetic acid controls cambial growth in Scots pine by positional signaling. *Plant Physiology* 117 : 113-121

- Wareing PF, Hanney CEA, Digby J (1964) The role of endogenous hormones in cambial activity and xylem differentiation. In: Zimmermann MH (ed) The formation of wood in forest trees. Academic Press, New York, pp 323-344
- Warren Wilson J, Roberts LW, Warren Wilson PM, Gresshoff PM (1994) Stimulatory and inhibitory effects of sucrose concentration on xylogenesis in lettuce pith explants; possible mediation by ethylene biosynthesis. *Annals of Botany* 73 : 65-73
- Wetmore RH, Rier JP (1963) Experimental induction of vascular tissues in callus of angiosperms. *American Journal of Botany* 50 : 418-430
- Wick SM (1991) The preprophase band. In: Lloyd CW (eds) The Cytoskeletal basis of plant growth and form. Academic Press, London, pp 231-244
- Wilson BF (1966) Mitotic activity in the cambial zone of *Pinus strobus*. *American Journal of Botany* 53: 364-372
- Wisniewski M, Ashworth EN (1986) A comparison of seasonal ultrastructural changes in stem tissues of peach (*Prunus persica*) that exhibit contrasting mechanisms of cold hardiness. *Botanical Gazette* 147 : 407-417
- Zimmermann MH (1971) Storage, mobilization and circulation of assimilates. In: Zimmermann MH, Brown CL (eds) *Trees: structure and function*. Springer, Berlin, pp 307-322
- Zobel BJ, van Buijtenen JP (1989) *Wood variation: Its causes and control*. Springer, Berlin
- Zobel BJ, Jett JB (1995) *Genetics of wood production*. Springer, Berlin

「林木育種センター研究報告 No.22」正誤表

ページ	行	誤	正
目次	12	渡辺 敦史	渡邊 敦史
	35	戸田忠雄 ⁽¹⁾	戸田忠雄 ⁽²⁾
	35	Yoshitake Fujisawa and Tadao Toda	Yoshitake Fujisawa ⁽¹⁾ and Tadao Toda ⁽²⁾
	35	欄外 (未記入)	(2)日中協力林木育種科学技術センター計画 (安徽省松材線虫抵抗性育種センター担当) <u>The Japan-China Cooperation and Technology Center forest Tree Improvement Project</u>
	51	3 渡辺敦史	渡邊敦史
	60	下から6 渡辺敦史	渡邊敦史
	214	下から5 河野楯蔵	河野楯蔵
巻末「論文審査者」	2	宇都宮大学農学部 附属演習林	宇都宮大学農学部附属演習林助教授
	同上	6 北海道立林業試験場林業経営部	北海道立林業試験場 林業経営部 主任研究員
	同上	6 Makoto Kuromaru	Dr.Makoto Kuromaru
	同上	9~10 東北大学大学院農学研究科附属 複合生態フィールド教育研究センター	東北大学大学院農学研究科 附属複合生態フィールド教育研究センター
	同上	13 (未記入)	生物共生科学研究室助教授
	同上	13 Tsugio Ohshima	日本森林技術協会 北海道事務所 主任研究員 Mr.Tsugio Ohshima