

研究資料 (Research record)

シカによる剥皮食害を受けたエゴノキ (*Styrax japonicus*) の 樹皮と木部の顕微鏡観察

藤井 智之^{1)*}

要旨

シカの剥皮食害の樹種による違いを扱った研究報告は多いが、樹皮が再生され易い樹種に関する報告は少ない。食害後に樹皮を再生しているエゴノキの幹の食害部位を顕微鏡観察し、その解剖学的特徴について考察した。剥皮食害を受けて間もない部位の最外層は木部分化帯で、一次壁帯はわずかに1~2細胞層であり、その外表面は半透明の物質に覆われていた。前年の剥皮食害後に再生した樹皮は、内樹皮と1層の周皮のみを含む外樹皮とで構成されていた。樹皮にも前年輪の木部にも面的な傷害組織は観察されなかった。一般的な巻込みによらず、傷害面全体でのカルス (surface callus) から形成層を再生する樹種が報告されている。エゴノキでは、剥皮食害で露出した木部分化帯が短期間に被覆・保護されて、分化中の木部細胞が剥皮食害の刺激を受けて脱分化・初期化されて、カルスを形成することなく、新たな形成層始原細胞になる可能性があると推測される。エゴノキを含め、樹皮が再生する可能性が高い樹種に共通した木材解剖学的特徴は、小径道管の散孔材で、短接線状ないし3細胞幅以下の狭い帯状の独立柔組織を持つことであり、そのような軸方向柔組織に分化中の細胞層から形成層が再生する可能性が示唆される。

キーワード：樹皮再生、木部柔細胞、形成層、カルス

1. 緒言

シカによる剥皮が原因と思われる枯死木が多くなった1980年代の大台ヶ原での調査で、特定の樹種が剥皮を多く受ける傾向が認められている(関根・佐藤1992)。シカの採食植物の多様性は、近年までの文献調査の結果、114科646種が採食植物と判断されている(橋本・藤木2014)。山中・林(2013)は、シカによる「剥皮害」の樹種別調査を行い、剥皮で枯死し易い樹種は「剥皮害」の割合が低くなる可能性を指摘し、さらに「出現本数と胸高断面積合計が高かった」樹種は「剥皮害を受けている割合も高かった」と考察しているが、剥皮食害後の生存については明述していない。

多くの樹種では剥皮食害による形成層の喪失が原因で枯死に至ると考えられるが、リョウブ (*Clethra barbinervis*) とナツツバキ (*Stewartia pseudocamellia*) は激しい剥皮食害の後もすぐには枯死せず、その要因は、外樹皮が剥がれ易く、内樹皮が残るためと考察されている(Akashi and Nakashizuka 1999)が、それは肉眼的観察に基づいている(明石 信廣, 私信)。特に、リョウブが剥皮されても樹皮を容易に再生することは、複数の観察結果で報告されている(Akashi and Nakashizuka 1999, 森林総合研究所四国支所 2006, 釜田ら 2008, 阪上ら 2021)。

樹木の傷害組織の形成に関しては、「樹幹木部の傷は、傷を受けたあとの形成層活動により被覆(巻き込み)あるいは充填されることによって治癒する」、「一般に外傷の近傍では、材形成が活発化し、新生組織が露出材部を

覆うように張り出し」、「外傷に面した部分には、不定形の柔細胞からなるカルスが形成される」と教科書(佐野2011)に記述されている。しかし、著者の観察では、著しい剥皮食害を受けたと見えるリョウブおよびエゴノキ (*Styrax japonicus*) の樹幹には傷害反応の巻込みがほとんど見られず、巻込みに依らないで樹皮を再生しているように見えた。

本研究の目的は、エゴノキの幹の剥皮食害部位を顕微鏡観察することにより、解剖学的に樹皮再生の要因を探ることである。

2. 試料と方法

試料採取地は京都府京都市左京区の滝谷山周辺(標高約800m)の広葉樹二次林で、この地域は2011年に実施された下層植生の衰退度の調査の結果、シカの採食があり、低木層の植被率が75.5%以上もしくは38%以上75.5%未満の林分に区分されている(芝原ら2014)。しかし、試料採取地の周辺では複数箇所植林スギ(樹齢約50年)が数本ずつシカによる剥皮食害を受けていた。また、広葉樹二次林の林内はディアラインがかなり明瞭で、林床にはアセビ (*Pieris japonica*) 等のシカが好まない植物のみが残っている状態であり(Fig. 1)、藤木(2012)が写真で示した下層植生衰退度2-3の林相例に相当するように見えた。

試料木は、エゴノキ (*Styrax japonicus*) 1個体を用いた。胸高直径は約10cmであった。2012年6月27日、シカ

原稿受付：令和3年12月22日 原稿受理：令和4年10月18日

¹⁾元森林総合研究所

* E-mail: tomoyuki63fujii@gmail.com



Fig. 1. 試料採取地近傍の広葉樹二次林と隣接のスギ人工林
A secondary broad-leaved forest near the sampling site and an adjacent sugi plantation

による剥皮食害を受けて間もないと思われるエゴノキの樹幹 (Fig. 2a) には、地際近くから胸高付近まで軸方向に長く伸びた有限長の不定形带状で淡く緑色を帯びた半透明の白色の領域と、同様に有限長の不定形带状であるが淡褐色で表面が比較的平坦な樹皮の領域があった。前者は、比較的新鮮な様相で、剥皮食害後間もない「剥皮食害面」と推察した (Fig. 2b)。後者は、外周で隣接する健全樹皮の端から小規模の巻込みがあり、前年の剥皮食害後に再生した樹皮「再生樹皮」と推察した (Fig. 2b)。

前年に剥皮食害を受けた後に樹皮が再生したと思われる「再生樹皮」の胸高部位 (試料 1: Fig. 2b and 2c) およびその近傍で剥皮食害後間もないと思われる部位「剥皮食害面」 (試料 2: Fig. 2b and 2d) を、レーザーパンチ (それぞれの内径 7 mm と 10 mm) を用いて、樹皮から木部までを打ち抜いた。試料 1 は、試料採取時に木部側 (試料 1-A) と樹皮側 (試料 1-B) とに分離してしまったため、採取を 3 回繰り返したが、樹皮から木部までが連続した状態を

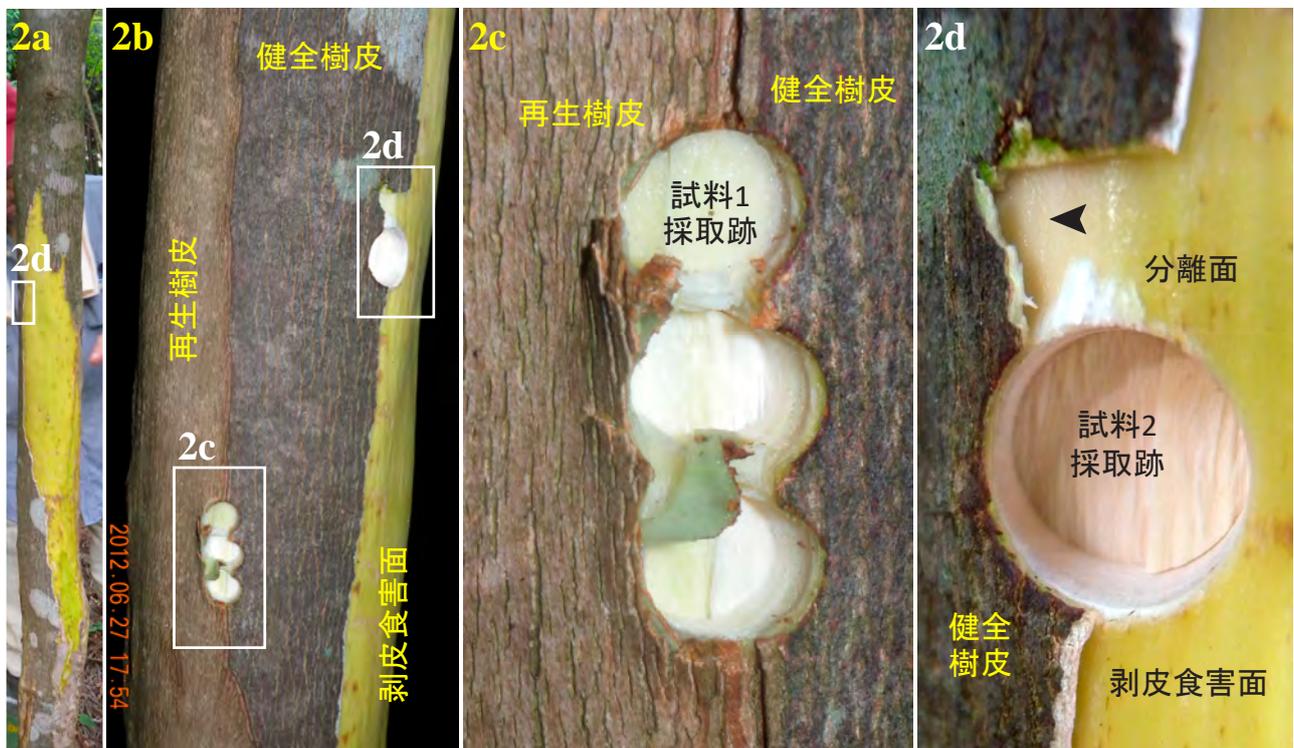


Fig. 2. 試料採取木

Sampling of an outer layer of Egonoki (*Styrax japonicus*) on June 27, 2012 in Kyoto

2a: 試料採取木の樹幹の剥皮食害部と試料 2 採取位置 (2d)。2b: 試料 1 (2c) および試料 2 (2d) の採取位置。2c: 試料 1: 前年中にシカ剥皮食害を受けた後に再生したと思われる樹皮「再生樹皮」と健全樹皮の境界、試料採取跡の直径: 7 mm。2d: 試料 2: シカ剥皮食害後間もない剥皮部位「剥皮食害面」と健全樹皮の境界、試料採取跡の左上は採取により樹皮が剥離した部分 (分離面)、試料採取跡の直径: 10 mm。

2a: Bark-stripped stem of the sampling tree and one of the sampling positions (2d: Sample-2).

2b: Sampling positions of Sample-1 (2c) and Sample-2 (2d).

2c: Sample-1 were punched (7 mm in diameter) out around the boundary between the intact bark (right) and the "regenerated bark" which seems to have been regenerated after bark-stripping in the previous year (left).

2d: Sample-2 was punched (10 mm in diameter) out around the boundary between the intact bark (left) and the "bark-stripping surface" seemingly soon after bark-stripping by sika deer (right). The "bark-stripping surface" is supposed to be covered with translucent material with whitish color and a light green tinge, considering a fresh peeled surface (▶) in the upper left of the sampling trace is almost pure white.

保持した試料片を採取することはできなかった。採取した試料片の全てを直ちに化学固定液 (2% グルタルアルデヒド/リン酸緩衝液) に浸漬して持ち帰り、冷蔵庫に保管した。

試料 1 の分離した樹皮側試料片 (試料 1-B) からは、前年の剥皮食害後に再生したと思われる樹皮「再生樹皮」と樹皮側分離面近傍の組織を観察するために、再生樹皮と健全樹皮の境界を含む小片 (軸方向および接線方向に一辺 2 ~ 3 mm 程度、放射方向は試料片全体) を切り出した。木部側試料片 (試料 1-A) からは、木部側分離面近傍の組織とともに、剥皮食害を受けたと思われる前年成長期に形成された前年輪の木部組織を観察するために、小片を切り出した。試料 2 からは、剥皮食害後間もない剥皮食害面を含む小片を切り出した。それらの小片はエタノール・シリーズで脱水した後、プロピレンオキサイドを経て、エポキシ樹脂 (Epok 812) に包埋した。試料の分類は下記の通りである。

試料 1: 前年度の剥皮食害を受けた後に樹皮が再生したと思われる部位

試料 1-A: 分離した木部側

試料 1-B: 分離した再生樹皮側

試料 2: 剥皮食害後間もないと思われる部位

樹脂包埋試料から、厚さ 3 μm の木口面の薄切片を切り出した。切片切削には、ガラスナイフ (ガラスナイフメーカー EM-25 型, 日新 EM で作製) を装着した回転式マイクロトーム (ヤマト PR-50) を用いた。薄切片は、スライドガラス上で 1% サフラニン -0.5% ゲンチャンバイオレット混合液で二重染色し、エタノールで洗浄・脱水し、キシレンを経て、カナダバルサムで封入した。プレパラートを偏光顕微鏡 (Nikon Eclipse E600 POL) で観察し、アナライザーを出し入れして、普通光学顕微鏡像 (染色像) と偏光顕微鏡像 (偏光像) を同一視野で撮影した。偏光像では、二次壁は結晶構造を持つセルロースを構成要素とするマイクロフィブリルが密でかつ配列の平行性が高いため、マイクロフィブリル傾角が大きな二次壁外層 (S_1 層) は顕著に明るく見えるが、一次壁はマイクロフィブリルの密度が疎であるために明るく見えない (原田 1985)。染色像と偏光像ともに不明瞭な極めて薄壁の細胞は、暗視野像で確認し、微分干渉顕微鏡 (Zeiss AXIO) で微分干渉像を、位相差顕微鏡 (位相差装置を装備した Nikon Eclipse E200) で位相差像を、それぞれ観察・撮影した。

3. 観察結果

3.1. 人為的剥皮による分離面の組織 (試料 1)

試料 1-A (分離木部) (Fig. 2c) では、当年輪には既に完成された木部があり、その外側に偏光像で細胞壁が明るく見える二次壁形成帯があり、そこには染色像では薄壁で不明瞭で偏光像で明るく見える、二次壁形成初期の数

細胞層が含まれていた (Fig. 3a and 3b、以下、光学顕微鏡画像では、放射方向を上下方向とし、上方向を樹幹の外方向に設定した)。さらにその外側の分離面に面した最外層は、細胞壁が染色されず、偏光像でも明るくない、極めて薄壁の細胞で構成されていた。この部分は一次壁帯で、直径拡大途中の道管要素も含まれ、道管要素を含まない放射方向列で数えると 15 細胞層程度であった (Fig. 3c)。しかし、そこには形成層帯と考えるべき薄壁で極めて扁平な細胞の層は観察されなかった。

試料 1-B (分離再生樹皮) (Fig. 2c) では、染色像 (Fig. 4a) では二次師部を構成する薄壁の細胞の細胞壁がよく染色され、偏光像 (Fig. 4b) ではそれらの細胞壁が明るく見える二次壁を持つことが観察された。その内側 (顕微鏡像の下方向) に染色像でも偏光像でも観察が困難な非常

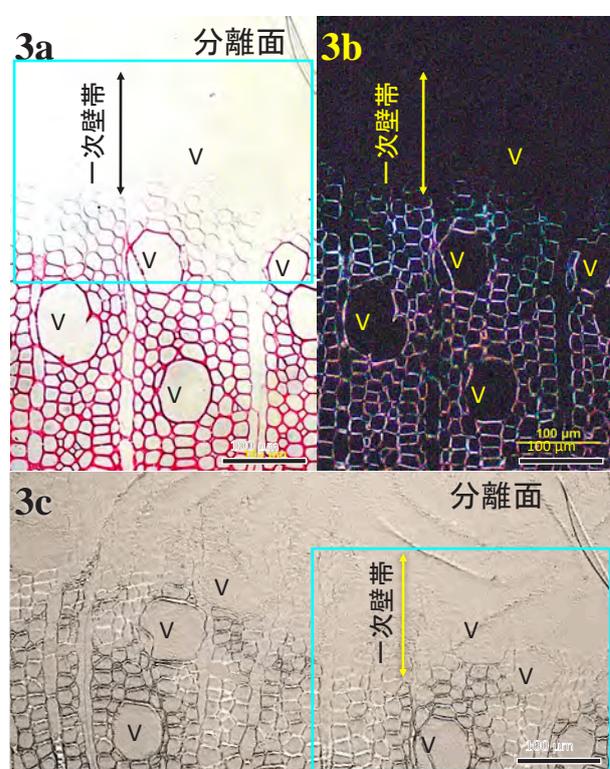


Fig. 3. 試料 1-A: 分離試料の木部側の木口面切片
Micrographs of xylem side of separated Sample-1-A in cross section

- 3a: 染色像。3b: 3a と同一視野の偏光像。3c: 微分干渉像、枠は 3a の枠と同一視野。V: 道管要素
- 3a: Ordinary light micrograph. The outermost layer on the separated xylem-side of Sample-1-A is a developing-xylem-tissue with a wider primary-wall-zone (range of double-headed arrow) and without a cambial zone.
- 3b: Polarized-light micrograph of the same field as 3a showing bright xylem elements with secondary wall development and a dark primary wall zone (range of double-headed arrow).
- 3c: Phase-contrast micrograph including the same frame as 3a showing extremely thin-walled xylem elements in the primary wall zone (range of double-headed arrow).
- V: Vessel.

に薄壁の細胞が放射方向に配列した細胞層があった。位相差像 (Fig. 4c) で観察可能な一次壁帯である。一次壁帯の内、二次師部に隣接して、やや扁平な外形の 2~3 細胞層、部位によっては 5~6 細胞層の分化過程の師部細胞があった。次に 2~4 細胞層の顕著に扁平な細胞と、それらと混在して放射組織の放射径が最も小径 (最も扁平な外形) の細胞があり、この細胞層が形成層帯と考えられる。さらにその木部側では放射径がやや大きな、一

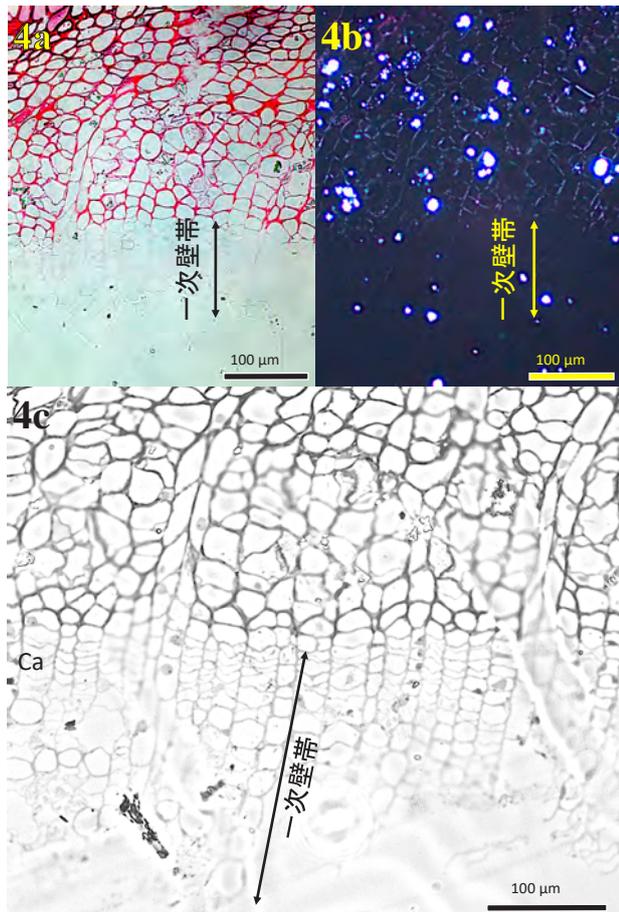


Fig. 4. 試料 1-B: 分離試料の樹皮側木口面切片
Micrographs of bark side of separated Sample-1-B in cross section

4a: 染色像。4b: 4a と同一視野の偏光像。4c: 位相差像。
Ca: 形成層帯

4a: Ordinary light micrograph. The innermost surface on the separated bark-side of Sample-1-B was a rather wider layer of thin-walled-cells, presumably composed of a cambial zone and a developing phloem.

4b: Polarized-light micrograph of the same field as 4a, showing weakly birefringent phloem elements including some elements with secondary wall development and a dark primary wall zone (range of double-headed arrow).

4c: Phase-contrast micrograph, showing thin-walled phloem elements and developing phloem and xylem elements in the primary wall zone with a cambial zone between them (range of double-headed arrow).

Ca: cambial zone.

次壁帯の 7~10 細胞層があり、部分的にはさらに木部側の細胞が幅広く続く部位もあり、細胞径を拡大途中の一次壁帯の道管要素も含まれていることもあった。エゴノキでも、人為的な剥皮では、形成層帯近傍は木部分化帯の一次壁帯で分断され、形成層帯は木部側に残存しないことを示している。

3.2. 剥皮食害面の木部組織 (試料2)

剥皮食害後間もない比較的新鮮な剥皮食害面 (Fig. 2d) は、淡く緑色を帯びた半透明の層で覆われている様に見えた。樹脂包埋試料をルーペで観察した結果、エポキシ樹脂に浮かぶ様に不均一に分布する帯緑淡褐色の不定形物を木部試料片の外に確認することができた。しかし、切片の光学顕微鏡観察では実体は明らかではなく、そこには形成層帯の細胞残渣のような極薄壁の細胞の残骸も検出できなかった。一方、試料採取で人為的に剥皮した直後の木部側の分離面は「試料 2 採取跡」の左上に見えているように無色の濡れ色で (Fig. 2d ▶)、その材色は試料採取跡の底面に見える新鮮木部と同じで (Fig. 2d 試料 2 採取跡)、白色ないし淡い紅褐色を帯びた白色であった。

試料 2 (剥皮食害部木部) では、当年輪の年輪当初領域の木繊維は、染色像では細胞壁厚がほぼ均一で (Fig. 5a)、偏光像では二次壁外層 (S_1 層) が明確に明るく観察され (Fig. 5b)、二次壁が完成されていた。その外側は二次壁形成帯で、木繊維壁は形成層に向かって徐々に薄くなっていて、その最外部では、2~3 層の木繊維壁は顕著に薄くて染色像で不明瞭で、 S_1 層のみが偏光像で検出された。道管要素の二次壁の肥厚過程も同様であった。これらの二次壁堆積過程にある木部細胞は、位相差像 (Fig. 5c) で見られるように、原形質分離した原形質を持っていた。

それらの二次壁堆積過程にある木繊維の外側に、剥皮食害面に面して、染色されず偏光像でも明るくない細胞の層が暗視野観察で検出され、微分干渉像および位相差像では、極めて薄壁の一次壁のみの比較的小径の細胞が 1~2 層、まれに 4 層が観察できた (Fig. 5c)。一部の道管要素では、外周の外側部分の細胞壁が破断されている様に見えた。3.1. で人為的な剥皮による樹皮と木部の分離面の観察結果で示したように、分離面が形成層帯の木部側一次壁帯であることを考慮すると、剥皮食害では、機械的分離で残存した木部分化帯の一次壁帯までもそのほとんどが喪失していることを示唆している。

また、Fig. 2b に示したように試料 1 と試料 2 は同一樹幹の比較的近接した部位であったが、Fig. 5 と Fig. 7 の比較で明らかのように、当年度の木部形成量は、試料 1-A (分離木部) に比べて、当年度に剥皮食害を受けた試料 2 (剥皮食害部木部) で明らかに狭かった。このことは試料 2 では、形成層活動期の比較的早期に剥皮食害部で剥皮され、その後の木部分化帯での細胞壁形成が滞滞したことを示唆している。

3.3. 前年の剥皮食害後に再生した樹皮の組織と構造 (試料 1-B)

Fig. 6a は試料 1-B (分離再生樹皮) の再生樹皮と健全樹皮の境界を含む木口面切片の染色像である。画像の大半は、試料採取時に肉眼的には前年の剥皮食害後に再生したと思われた樹皮 (再生樹皮) であり、右端に隣接の健全樹皮の端から張り出した小規模な巻込みの樹皮組織が見られる。

再生樹皮は、接線帯状の周皮によって明確に内樹皮と外樹皮が区切られていた (Fig. 6)。周皮の中央には、濃色に染色される内容物で充填され、著しく扁平で、偏光像では暗く見える細胞の層があり (Fig. 6b and 6c)、これがコルク形成層帯と考えられる。その内側には 2~3 細胞層のコルク皮層があり、外側には、著しく扁平で、やや

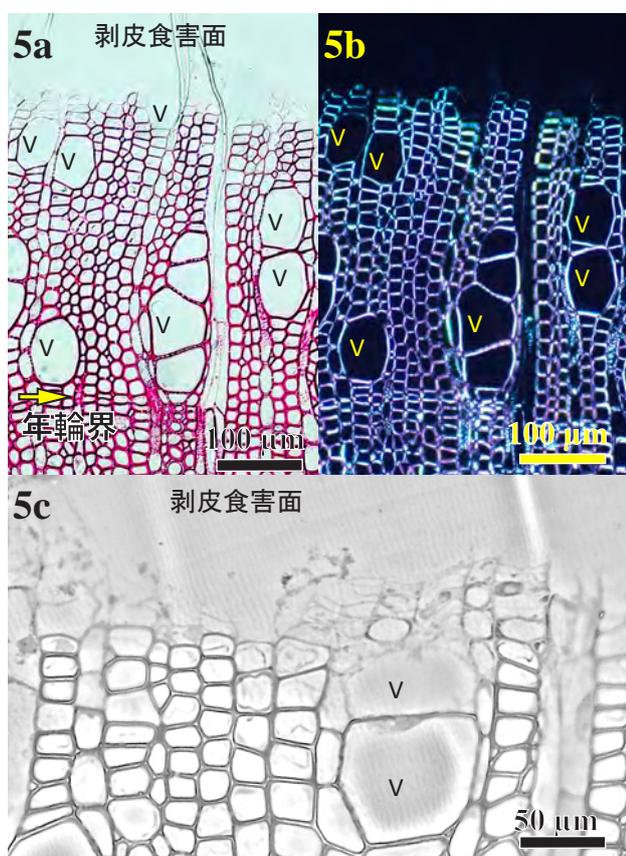


Fig. 5. 試料 2: 剥皮食害後間もない剥皮食害部の木口面切片

Micrographs of Sample-2, soon after bark-stripping, in cross section

- 5a: 染色像。5b: 5a と同一視野の偏光像。5c: 剥皮食害面近傍の位相差像。V: 道管要素
- 5a: Ordinary light micrograph. The current year growth ring (arrow: growth ring boundary) in Sample-2 was apparently narrower than that in Sample-1-A (compare with Fig. 5a and Fig. 7a).
- 5b: Polarized-light micrograph of the same field as 5a.
- 5c: Phase-contrast micrograph showing that the outermost part of Sample-2 was composed of developing xylem elements in 1 to 2-cell-layers with primary walls.
- V: Vessel.

薄壁の細胞と明確に厚壁の細胞がそれぞれの細胞層の数を変化させながら接線状の帯を形成しており、コルク組織と考えられる。コルク皮層からコルク組織までが周皮である。

周皮より内側が内樹皮である。内樹皮を構成する細胞は薄壁であるが明瞭に染色され (Fig. 4a and 6b)、偏光像で明るく見える二次壁を持っていた (Fig. 4b and 6c)。内樹皮はさらに染色濃度の違いで内層と外層に分けることができた (Fig. 4a and 6b)。その内層では、接線径がほぼ均一で、やや円形の細胞 (師部柔細胞) と窪んだ矩形の細胞 (師管要素)、それに隣接する顕著に小径の細胞 (伴細胞) の配列が観察できた。その木部側は師部分化帯を含む形成層帯と考えられ、非常に薄壁でかつ放射径が著しく小さく扁平な細胞が数層あった。

内樹皮の外層には、顕著に大径で非常に厚壁のスクレレイド (Fig. 6a, ▶) が低密度に散在する領域を曖昧な境として、接線方向にやや引き伸ばされ、やや濃色でやや厚壁の細胞が多少とも整然と配列していた。前年中に形成された内樹皮である可能性がある。

外樹皮は周皮より外側で、死細胞のみが存在する。外樹皮の厚さは内樹皮とほぼ同じ程度であった。内樹皮に類似した細胞配列が見られたが、偏光像で明るい明確な二次壁を持った細胞が放射列に配列していた (Fig. 6b and 6c)。そのほとんどの細胞が周皮で隔絶された師部組織の細胞と思われたが、偏光像で明るく見える細胞が多く出現し、内樹皮とは明らかな違いがあった。そこにはスクレレイドが観察されなかった。剥皮食害後に早期に樹皮が再生され、その師部柔細胞の一部からスクレレイドが再分化する前に、周皮が早期に発達して隔絶されたことが推察される。

外樹皮の最外層には、濃色に染色され、潰れているが直径が不均一な細胞の層があり、画像右端に見られる健全全部の外樹皮が剥皮部に張り出した部位で、その端の内側面の最外層に連続していた (Fig. 6a 右端)。

Fig. 6a の右端は健全な樹皮の端であり、内樹皮の外層と同様の細胞配列が見られ、厚壁で大径のスクレレイドが散在していた (Fig. 6a, ▶)。外樹皮の外表面には一部に周皮が残っていたが、外樹皮内には周皮は観察されなかった。形成後 1 年程度と考えられる再生樹皮 (Fig. 6b) に 1 層の周皮が既に形成されていたことを考慮すると、外樹皮は周皮を境界として剥落し易いと推察される。

3.4. 前年形成木部に残る剥皮食害の痕跡 (試料 1-A)

試料 1-A (分離木部) の前年に形成された木部 (Fig. 7a) に、前年当初の年輪界から年輪幅の 1/3 程度の位置に、やや大径で丸みを帯びた数個の柔細胞の集団があった (Fig. 7b and 7c)。そのうち 1 個の柔細胞は、やや大径化した軸方向柔細胞が放射柔細胞と融合した様な変形した外形を持ち、その水平壁には放射柔細胞と同様に小径の単壁孔が密に散在していた (Fig. 7b and 7c, ▶)。傷害組織の

カルス細胞群のようにも見えるが、小規模で局所的である。

別の部位 (Fig. 7d) では、隣接する放射柔細胞壁と同じ染色性と厚さの細胞壁を持つ細胞が 1 個あり、偏光像では木繊維壁の S_1 層と同等の明るさを示していた (Fig. 7d and 7e, ☆)。その横断面形状は窪んだ外形を持っていて、隣接する放射柔細胞との間は直線的で異常はなかったが、周囲の 4 個の木繊維のうち、形成層側の 3 個の木繊維の横断面外形が丸く膨らんでいた。この様な形態と細胞壁を持つ細胞は、カシヤマツ (*Pinus kesiya*) の異常組織に観察された、外的要因で二次壁形成を中断された仮道管と非常に類似している (Fujii and Sugawa 1985, Sugawa and Fujii 1985)。さらにその近傍からやや形成層側にかけて、やや厚壁で、かつ偏光像ではやや明るく見えることから二次壁中層 (S_2 層) のマイクロフィブリル傾角がやや大きいと推測される木繊維が接線方向に広がる細胞群が検出できた (Fig. 7f)。

3.5. 「樹皮再生樹種」の木材解剖学的特徴

エゴノキの木材は、道管が小径 (直径 50 ~ 100 μm) で比較的数量多く、ほぼ均一に散在する典型的な散孔材であり、小径の有縁壁孔を持つ木繊維を基本組織として、やや薄壁でやや扁平でかつ偏光像では明るく見える

細胞壁を持つ軸方向柔細胞が 1 ~ 2 細胞層で接線状に連続して配列する带状柔組織ないし断続的な短接線状の独立柔組織が周期的に繰り返されている (Fig. 7a, f)。この様なエゴノキの木材解剖学的特徴を、剥皮食害後に樹皮を再生させている可能性が報告されている樹種 (以下、樹皮再生樹種) との共通点を調べてみた。樹皮再生樹種として記録があるのは、リョウブとナツツバキ (Akashi and Nakashizuka 1999)、サラサドウダン (*Enkianthus campanulatus*) (阪上ら 2021)、ミズキ (*Cornus controversa*) (氷ノ山の植物誌 2010)、トチュウ (*Eucommia ulmoides*) (Li and Cui 1988) そして lime tree (*Tilia* sp.) (Strobbe et al. 2002) の広葉樹 6 種である。これらの樹種に共通した木材解剖学的な特徴を、森林総合研究所の「日本産木材識別データベース」、「日本産木材データベース」、「InsideWood」および Itoh et al. (2022 onwards) に基づき、抽出した。さらに、剥皮程度大・剥皮率が大・剥皮割合や採食割合が高とされた樹種 (以下、嗜好樹種) として報告されている樹種は樹皮を再生する可能性を否定できないので、それら下記の広葉樹 13 種と 2 属を対象に加えた (Table 1)。ガマズミ属 (*Viburnum* spp.) (Akashi and Nakashizuka 1999)・ナナカマド (*Sorbus commixta*) (釜田ら 2008)・マンサク (*Hamamelis japonica*) (釜田ら 2008)・ノリウツギ (*Hydrangea paniculata*) (関根・佐藤 1992)・クロモジ

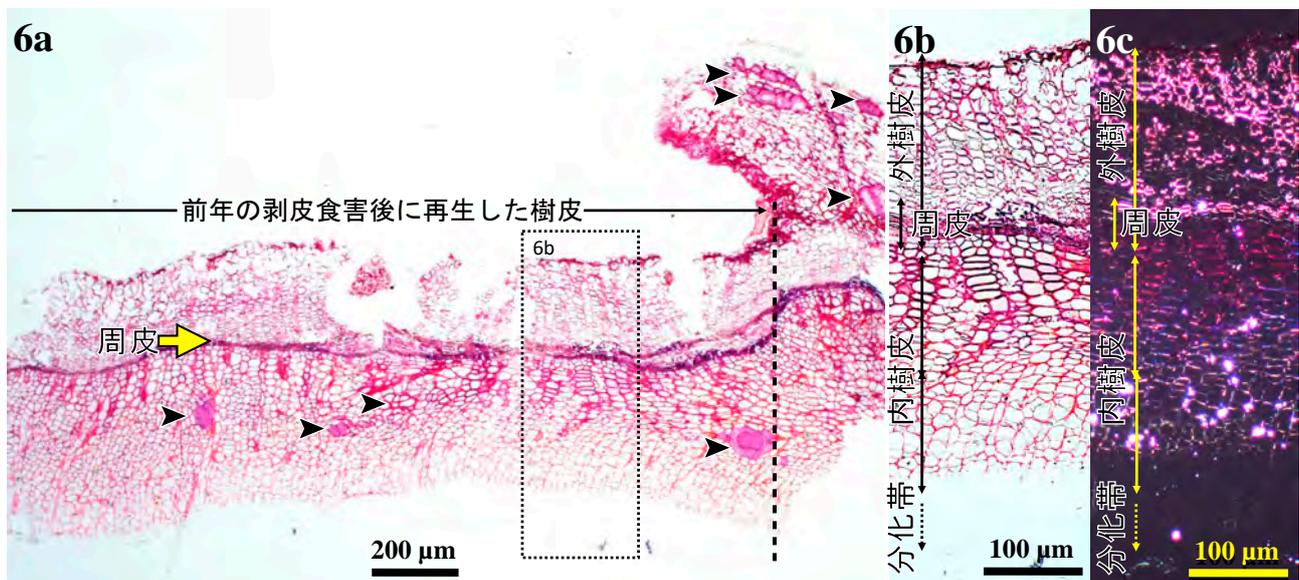


Fig. 6. 試料 1-B: 前年の剥皮食害後に再生したと思われる樹皮の木口面切片

Micrographs of bark side of separated Sample-1-B in cross section showing the regenerated bark after the previous year's bark-stripping and the boundary to intact bark.

6a: 再生樹皮とその右端の健全樹皮から小規模な巻込みの張り出し部分の染色像。6b: 6a の部分拡大。6c: 6b と同一視野の偏光像。▶: スクレレイド

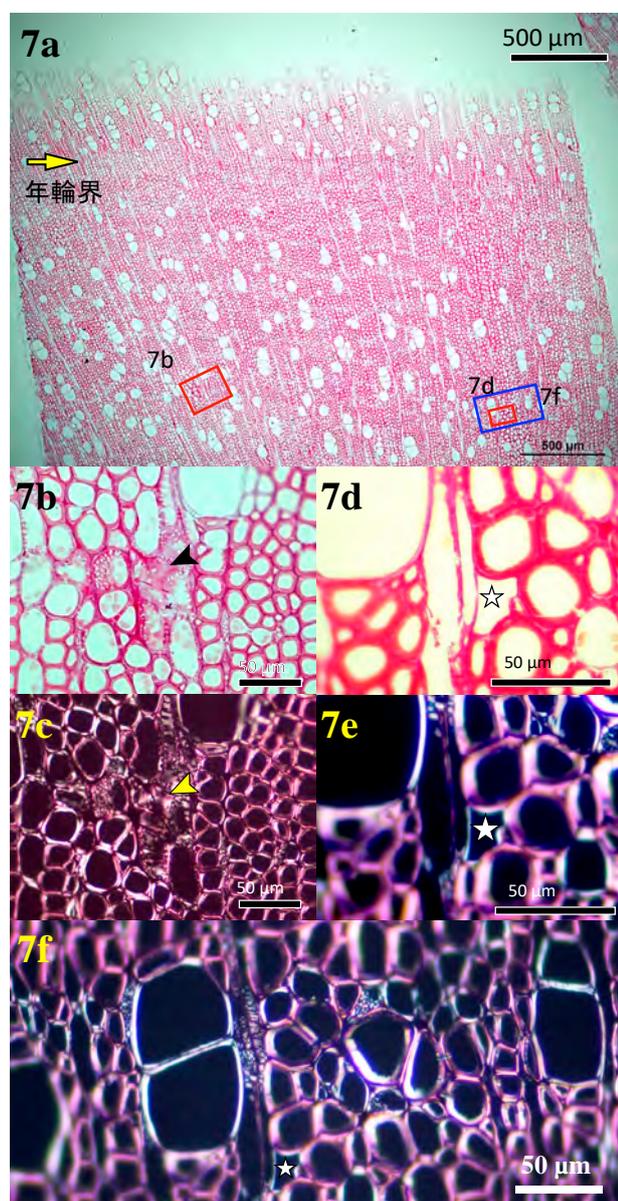
6a: Ordinary light micrograph of the regenerated bark and the overhanging part of wound-healing tissue from intact bark on the right end. The regenerated bark consisted of an inner bark and an outer bark isolated by the periderm (arrow). Depending on the difference in staining concentration, the inner bark is further divided into an inner layer and an outer layer where large sclereids (▶) are scattered, characterized by very thick walls.

6b: Partial enlargement of 6a, but developing zone (broken line) is not clearly visible.

6c: Polarized-light micrograph of the same field as 6b. The elements in the outer bark are conspicuously brighter than those in the inner bark.

(*Lindera umbellata*) (河野ら 2018)・フウリンウメモドキ (*Ilex geniculata*) (関根・佐藤 1992, Akashi and Nakashizuka 1999, 釜田ら 2008)・クマノミズキ (*Cornus macrophylla*) (河野ら 2018)・カナクギノキ (*Lindera erythrocarpa*) (河野ら 2018)・アラカシ (*Quercus glauca*) (河野ら 2018)・タカノツメ (*Gamblea innovans*) (河野ら 2018)・ヒロハノツリバナ (*Euonymus macropterus*) (関根・佐藤 1992)・カエデ属 (*Acer* spp.) (関根・佐藤 1992, 釜田ら 2008)・アオダモ (*Fraxinus lanuginosa*) (関根・佐藤 1992, 釜田ら 2008)・スダジイ (*Castanopsis sieboldii* subsp. *sieboldii*) (河野ら 2018)・ツタウルシ (*Rhus ambigua*) (関根・佐藤 1992)。樹皮再生樹種は、小径道管の散孔材樹種で、短接線状ないし狭い (3 細胞幅以下) 帯状の独立柔組織を持つことが共通した特徴として注目される。一方、嗜好樹種では、半数程度の樹種もまた樹皮再生樹種と共通した特徴を持っている。

「短接線状～帯状の独立柔組織」の特徴を持つ木材では、



軸方向柔細胞が道管とは関係なく、接線方向に多少とも連続して密接しており、限定された範囲では形成層と同様の接線面を形成していると考えられる。木部分化帯においても、分化途中の軸方向柔細胞がほぼ連続する接線面を構成しているはずである。

4. 考察

4.1. 傷害面全体でのカルス (surface callus) の発達による形成層の再生

獣害によって樹皮が剥皮された樹木の樹皮の再生を扱った最近の研究報告 (阪上ら 2021) でも、一般的には「その部位は再生せず、被害を受けていない周囲の形成層が細胞分裂し、被害部位を覆って修復される」と記述している。教科書 (佐野 2011) にも、「樹幹木部の傷は、・・・傷を受けたあとの形成層活動により被覆 (巻き込み) あるいは充填することによって治癒する。・・・一般に外傷近傍では、材形成が活発化し、新生組織が露出材部を覆うように張り出してくる。・・・外傷に面した部分には、不定形の柔細胞からなるカルス (callus) 組織が形成される。カルスにより外気から隔てられると、本来の構成要素からなる組織が形成されるようになる・・・」と記述されている。しかし、本研究におけるエゴノキの剥皮食害部の顕微鏡観察では、巻き込みの樹皮組織は再生樹皮の端の小規模なものであり (Fig. 6)、前年形成木部には剥皮食害の痕跡と考えられる小規模な異常組織が観察されたが (Fig. 7)、露出部分を覆うように張り出してくる新生組織やカルスは観察されなかったため、一般的な巻き込みを

Fig. 7. 試料 1-A (分離木部) の木口面切片

Micrographs of xylem side of separated Sample-1-A in cross section.

- 7a: 最外年輪および前年度形成年輪の染色像。7b: 7a の部分拡大、異常な柔細胞の集団 (▶)。7d: 7a の部分拡大、変形した薄壁細胞 (☆)。7c and 7e: それぞれ 7b と 7d の同一視野の偏光像。7f: 7a の部分拡大、7e の近傍の異常二次壁の木繊維群、偏光像。
- 7a: Ordinary light micrograph of growth rings of the current and the previous years (arrow: growth ring boundary) showing the locations of abnormal tissues locating approximately in the same relative position within the annual growth ring.
- 7b: Partial enlargement of 7a. Axial parenchyma cell slightly expanded and deformed (▶) is apparently fusing with a ray parenchyma cell and shows dense, small simple pits in the horizontal wall, and forming part of traumatic parenchyma.
- 7c and 7e: Polarized-light micrographs of the same field as 7b and 7d, respectively.
- 7d: Partial enlargement of 7a. Deformed thin-walled cell (☆).
- 7e: Deformed thin-walled cell (☆) shows one narrow distinct bright layer indicating the S₁ layer.
- 7f: Partial enlargement of 7a. A cluster of fibers with anomalous secondary walls having rather bright S₂ layer in polarized light indicating a rather flat-helixed microfibrillar orientation, near by the deformed thin-walled cell (☆) in 7e.

伴う治癒組織では形成層の再生を説明できない。

樹幹の外傷に対応した巻込みによる傷害組織の形成過程と形成層の再生過程については、Larson (1994) が、*Larix decidua* と *Picea abies* の傷害反応を詳細に顕微鏡観察した Bangerter (1983) の学位論文を引用して次のように解説している。すなわち、外傷による傷害の境界近くの形成層および未分化の細胞は潰れ、最初に放射組織始原細胞が垂層分裂して横方向に拡大し、活発な細胞分裂でカルス母細胞を生じさせる。その後、カルス組織の中で並層分裂由来の扁平な細胞の狭い帯が出現し、形成層が再生する。さらに、新生形成層は外傷の境界近傍の既存の形成層と連続し、外傷の中心へと進展し、最終的には反対側から発達してきた形成層帯と結合する。

しかし、形成層もしくは木部分化帯が機械的影響を受けない状態であれば、巻込みによらないで、傷害面全体でのカルス (surface callus) が形成されるという現象が 200 年前から知られている (Strobbe et al. 2002)。この現象の組織の発達過程を調べた Strobbe ら (2002) は、6 月に *Tilia* sp. の樹皮 (10 cm²) を剥皮し、黒色のポリエチレン膜で被覆し、1 ~ 16 週後に約 1 cm 角の小片試料を採取し、固定・包埋して、厚さ 6 μm の切片を光学顕微鏡で観察した。その結果、剥皮後の木部側表層に部分的に残留していた師

部と形成層帯は崩壊し、剥皮後に残った一次壁帯の木部細胞 (主に未分化の放射柔細胞) の細胞分裂でカルスが形成されていた。その結果に基づいて、一次壁帯の木部細胞に由来するカルスの内方で形成層が再生したと考察している。また、Li and Cui (1988) は、樹幹を軸方向に 1 ~ 2 m を完全に剥皮したトチュウ (*Eucommia ulmoides*) では、露出した未熟な木部 (特に、放射組織が示唆される) からカルスが生成し、その深部 (木部側) に初期の形成層が分化することを示唆している。阪上ら (2021) は、ニホンジカの剥皮食害で樹幹の全周が剥皮されても大面積の樹皮が再生するサラサドウダンの樹幹から、剥皮食害の後の 8 月に試料を採取し、剥皮食害部の表面付近には、師部組織は存在せず、剥皮部位の再生は、「剥皮された部位で継続した細胞分裂が行われ、傷害柔組織を形成して直接修復作用が働いた結果、通常の木部形成が行われたと仮定」している。阪上ら (2021) の「剥皮された部位の表面付近は・・・核を有した小径で長方形の生細胞が分布しており・・・剥皮された後に形成された細胞であると推測できる。」との観察結果と考察は、傷害面全体でのカルス (surface callus) 中で形成層が再生する点では Strobbe ら (2002) および Li and Cui (1988) と共通している。ただし、再生形成層の分化位置がカルスの外方の表面近傍で

Table 1. 樹皮再生樹種および代表的嗜好樹種の木材解剖学的特徴
Wood anatomical features of bark-regenerating species and some deer-favorite tree species

	和名 common name	学名 botanical name	管孔性 porosity	道管直径 (μm) vessel diameter	柔組織 axial parenchyma		
樹皮再生樹種 bark-regenerating species	リョウブ	<i>Clethra barbinervis</i>	散孔性	< 50	短接線状		
	ナツツバキ	<i>Stewartia pseudocamellia</i>	散孔性	50 ~ 100	短接線状		
	ミズキ	<i>Cornus controversa</i>	散孔性	50 ~ 100	短接線状		
	lime tree	<i>Tilia</i> sp.	散孔性	50 ~ 100	短接線状		
	トチュウ	<i>Eucommia ulmoides</i>	散孔性	< 50	短接線状		
	エゴノキ	<i>Styrax japonicus</i>	散孔性	50 ~ 100	狭い帯状		
	サラサドウダン	<i>Enkianthus campanulatus</i>	SR-D	半環孔性 (散孔性)	< 50	nb	狭い帯状
嗜好樹種 deer-favorite species	ガマズミ属	<i>Viburnum</i> spp.	散孔性	< 50	短接線状		
	ナナカマド	<i>Sorbus commixta</i>	散孔性	< 50	da	短接線状	
	マンサク	<i>Hamamelis japonica</i>	散孔性	< 50		短接線状	
	ノリウツギ	<i>Hydrangea paniculata</i>	散孔性	< 50		随伴散在	
	クロモジ	<i>Lindera umbellata</i>	D	散孔性	< 50	sp	随伴散在
	フウリンウメモドキ	<i>Ilex geniculata</i>		散孔性	< 50		狭い帯状
	クマノミズキ	<i>Cornus macrophylla</i>		散孔性	50 ~ 100	nb	短接線状
	カナクキノキ	<i>Lindera erythrocarpa</i>		散孔性	50 ~ 100	d-c	独立散在~連合翼状
	アラカシ	<i>Quercus glauca</i>		散孔性	100 ~ 200	nb	狭い帯状
	タカノツメ	<i>Gamblea innovans</i>	SR	半環孔性	< 50		きわめて稀
	ヒロハノツリバナ	<i>Euonymus macropterus</i>		散孔性	< 50	rare	きわめて稀
	カエデ属	<i>Acer</i> spp.	D	散孔性	< 50	sp, Ap-like F bands	随伴散在, 柔組織様 木部繊維の帯
	アオダモ	<i>Fraxinus lanuginosa</i>		環孔性	100 ~ 200	a-c	翼状~ 連合翼状
スダジイ	<i>Castanopsis sieboldii</i> subsp. <i>sieboldii</i>	R	環孔性	100 ~ 200	nb	狭い帯状	
ツタウルシ	<i>Rhus ambigua</i>		環孔性	> 200	vs	周囲状	

D: diffuse porous, SR: semi-ring porous, R: ring porous

d: diffuse, da: diffuse-in-aggregates, nb: narrow band, sp: scanty paratracheal, c: confluent, Ap-like F bands: parenchyma-like fibre bands, a: aliform, vs: vasicentric

あるとする点で、それがカルスの内方とする Li and Cui (1988) および Strobbe ら (2002) とは異なる。

4.2. 剥皮食害表面の被覆

Strobbe ら (2002) の傷害面全体でのカルス (surface callus) による形成層再生の試験では、剥皮直後に傷害面を被覆・保護している。環状剥皮後にはほぼ元通りの樹皮を再生するトチュウでも、山東省以外では被覆が必要とされる (Li and Cui 1988)。しかし、シカによる剥皮食害後に人為的な被覆が無いにもかかわらず、樹皮を再生する樹種がある。Strobbe ら (2002) が紹介する 200 年前から知られている傷害面全体でのカルス (surface callus) の形成も同様に人為的被覆はなかったと思われる。

本研究のエゴノキの樹幹では、6月27日の採取時に剥皮食害後間もないと推察した試料2の外表面は比較的新鮮な様相で、表層は淡く緑色を帯びた半透明の白色であった。被覆無しでも樹皮を再生する山東省のトチュウでは、剥皮面を覆う表層が剥皮後24時間以内に形成されることが報告されている (Li and Cui 1988)。エゴノキの樹幹でも、剥皮食害の直後に、剥皮食害への反応で、木部側の最外表面に露出した一次壁帯の細胞層から分泌された半透明の物質により短期間に被覆されたと推測される。今後の試験・調査により、どの様な物質がどのような細胞に由来するかが明らかになることを期待する。

4.3. 形成層の再生後に残る傷害組織の痕跡

傷害面全体でのカルス (surface callus) が木部分化帯の一次壁帯の中に発達して、そのカルス中に形成層が再生するとの仮説を提案した Strobbe ら (2002) は、傷害時に既存の木部と新生木部の間にはほとんどの細胞が二次壁を持たない柔細胞からなる領域があり、傷痕として残り、この接線方向の配列を持った組織は傷害時の木部分化帯の位置にあると記述している。阪上ら (2021) も同様に、樹皮が再生した部位の木部に「その時期に形成層が何らかの傷害を受けたこと」を示唆する「傷害柔組織」の形成を観察している。

本研究のエゴノキの前年の剥皮食害後に樹皮を再生させた部位 (試料 1-A: 分離木部) の観察では、前年に形成された木部には接線方向に帯状に連続する傷害柔組織を検出できなかった。局所的には、変形した柔細胞群、変形した薄壁細胞そして異常な二次壁を持つ木繊維群が検出された。これらの異常組織・細胞は、年輪内の相対的位置がほぼ同じであり、試料 1-A (分離木部) が前年の成長期にシカによる剥皮食害を受けていたとの推測が正しければ、前年の剥皮食害に対応した傷害組織の痕跡である可能性が考えられる。しかし、不定形の柔細胞からなるカルスもしくは傷害柔組織とされる傷害組織とは異なる。また、剥皮食害時に木部分化帯にあって細胞壁形成を中断された細胞が、Strobbe ら (2002) や阪上ら (2021) が傷害時の木部分化帯の位置に観察した柔細胞からなる

層状の領域ではなく、孤立した1個の細胞であった事の観察結果は、ほとんどの部位では剥皮食害の刺激を受けても分化中の木部細胞が正常に分化を継続したことを示唆している。

4.4. 再生形成層の木材解剖学的仮説

正常な形成層の始原細胞から派生した細胞が木部細胞に分化するのは、木部分化帯の一次壁帯においてであると考えられる。「樹皮再生樹種」は、小径道管の散孔材樹種で、短接線状ないし狭い (3細胞幅以下) 帯状の独立柔組織を持つことが共通した木材解剖学的特徴であり、そのような独立柔組織においてほぼ連続する接線面を構成する軸方向柔細胞は、始原細胞からの派生直後または一次壁帯において軸方向柔細胞への分化が運命づけられることになる。

Strobbe ら (2002) によれば、剥皮傷害後に細胞分裂で増殖するのはほとんどが未分化の木部細胞であり、Schmitt ら (2016) は、「傷害面全体でのカルス (surface callus) を形成するための最も重要な前提条件は、二次壁を持たない分化中の木部・師部細胞および形成層細胞の未分化細胞が傷害表面に残ることである」と記述している。本研究のエゴノキでは、剥皮食害後に木部分化帯の一次壁帯の未分化の細胞が最外表面に残っていたことから、半透明の層で被覆されたそれらの細胞から新たな形成層が再分化したと仮定することは妥当であろう。剥皮食害後に残った一次壁帯の細胞は未分化もしくは軸方向柔細胞への分化が運命づけられた段階であり、軸方向柔細胞が形成層帯で接線方向に多少とも連続して密接して分化するように、それらの細胞が剥皮食害の刺激を受けて形成層始原細胞に初期化され、形成層と同様の連続した接線面を容易に形成して、形成層を再構築する可能性を考えることができる。

謝辞

顕微鏡画像観察および撮影は、組織材質研究室、微生物生態研究室および微生物研究領域の備品類を借用した。英文校閲は Dr. Pieter Baas (Naturalis Biodiversity Center and Leiden University, The Netherlands) による。記して感謝の意を表す。

引用文献

- Akashi, N. and Nakashizuka, T. (1999) Effects of bark-stripping by Sika deer (*Cervus nippon*) on population dynamics of a mixed forest in Japan. *For. Ecol. Manage.*, 113, 75–82.
- Bangerter, U. M. (1983) Der Verschlussmechanismus von Längswunden am Stamm von *Larix decidua* Mill. und *Picea abies* (L.) Karst. *Vierteljahrsch Naturforsch Ges Zurich* 129, 339–398.
- Fujii, T. and Sugawa, T. (1985) Cell wall structure of abnormal

- tracheids of *Pinus kesiya*. 木材誌, 31, 237–245.
- 藤木 大介 (2012) ニホンジカによる森林生態系被害の広域評価手法マニュアル. 兵庫ワイルドライフモノグラフ, 4, 2–16.
- 原田 浩 (1985) V.-2.-(1) 壁層構成. 原田 浩・佐伯 浩編 “木材の構造”. 文英堂, 135–137.
- 橋本 佳延・藤木 大介 (2014) 日本におけるニホンジカの採食植物・不嗜好性植物リスト. 人と自然, 25, 133–160.
- 氷ノ山の植物誌 (2010) “シカによるミズキの樹皮剥ぎ”, https://hyonosen-plants.at.webry.info/201007/article_3.html, (参照 2021-11-4).
- InsideWood (2004 onwards) “Search The InsideWood Database”, <https://insidewood.lib.ncsu.edu/search>, (参照 2022-3-5).
- Itoh T. et al. (2022 onwards) “Anatomical Database and Atlas of Chinese Woods”, <https://www.kaiseisha-press.ne.jp/cnwood>, (参照 2022-3-5).
- 釜田 淳志・安藤 正規・柴田 叡弐 (2008) 樹種選択性, 選好性樹木の分布および土地利用頻度からみた大台ヶ原におけるニホンジカによる樹木剥皮の発生. 日林誌, 90, 174–181.
- 河野 圭太・久保 満佐子・藤巻 玲路 (2018) 島根県弥山山地におけるニホンジカの嗜好性が樹木の生育に及ぼす影響. 日緑工誌 44 (2), 330–339.
- Larson P. R. (1994) 10.2 Barrier Zone. In “*The Vascular Cambium Development and Structure*”. Springer-Verlag, 501–508.
- Li Z. and Cui K. (1988) Differentiation of secondary xylem after girdling. IAWA Bulletin n.s. 9, 375–383.
- 阪上 宏樹・後藤 栄治・新津 栄市・和田 正三 (2021) ハケ岳高原海の口自然郷内に群生するサラサドウダンのシカによって剥皮された樹皮の再生状況. 木材誌, 67, 188–196.
- 佐野 雄三 (2011) 第5章 2. 4) 傷害組織. 日本木材学会編, “木質の構造”. 文英堂, 216–218.
- Schmitt U. et al. (2016) Chapter 1 The Vascular Cambium of Trees and its Involvement in Defining Xylem Anatomy. In Kim YS Funada Singh (eds.) “*Secondary Xylem Biology*”, Elsevier, 3–24.
- 関根 達郎・佐藤 治雄 (1992) 大台ヶ原山におけるニホンジカによる樹木の剥皮. 日生態会誌, 42, 241–248.
- 芝原 淳・境 米造・井上 徹夫・安藤 正規 (2014) 京都府におけるニホンジカによる天然林および人工林被害の広域モニタリング. 日緑工誌, 39 (3), 389–394.
- 森林総合研究所 “日本産木材データベース”, <https://db.ffpri.go.jp/WoodDB/JWDB/home.php>, (参照2021-11-3).
- 森林総合研究所 “日本産木材識別データベース”, <https://db.ffpri.go.jp/WoodDB/IDBK/home.php>, (参照2021-11-3).
- 森林総合研究所四国支所 (2006) 平成17年度四国森林管理局委託事業「滑床山・黒尊山国有林の森林被害に関する研究」調査報告書. 林野庁, 61pp.
- Strobbe, H., Schmitt, U., Eckstein, D. and Dujesiefken, D. (2002) Developmental stages and fine structure of surface callus formed after debarking of living lime trees (*Tilia* sp.). *Annals of Botany*, 89, 773–782.
- Sugawa, T. and Fujii, T. (1985) Thin-walled tracheids in *Pinus kesiya* Royle ex Gordon. 木材誌, 31, 301-305.
- 山中 啓介・林 晋平 (2013) 松くい虫被害を受けた島根半島弥山山地の天然林の再生と管理にニホンジカが与える影響. 日緑工誌, 39 (2), 241–247.

Anatomy of bark and xylem of Egonoki (*Styrax japonicus*) suffering from bark-stripping by sika deer

Tomoyuki FUJII^{1)*}

Abstract

Bark-stripping by sika deer has often been reported to lead to high tree mortality. Only few species were reported to survive heavy bark-stripping. Here I report on bark recovery in Egonoki (*Styrax japonicus*), and discuss anatomical features related to successful bark recovery. The regenerated outer layer of a stem after bark-stripping in the previous year was investigated. The regenerated bark consisted of an inner bark and an outer bark segmented by a periderm. The innermost surface on the separated bark-side sample was a rather wider layer of thin-walled-cells, presumably composed of cambial zone and developing phloem. The outermost layer on the separated xylem-side was a developing-xylem-tissue with a wider primary-wall-zone but no apparent cambium remaining. Traumatic tissue was observed only as small traces in the previous-year's growth ring. In contrast, primary-wall-developing xylem elements were only in 1 to 2-cell-layers remaining on the outermost surface of the stem soon after bark-stripping, and was covered with a translucent substance. Interestingly, wood anatomical features common to tree species that can survive heavy bark-stripping by deer are "apotracheal axial parenchyma in tangential to oblique lines or in narrow bands" and "diffuse-porosity with narrow-diameter vessels". Cambium can be regenerated within a surface callus formed over the entire wound area for some species. Although traumatic parenchyma zone was not formed in Egonoki, wound cambium may regenerate similarly. The fact that axial parenchyma cells can form a more-or-less continuous tangential plane just like a cambium leads to the speculation that cells differentiating into axial parenchyma cells under the covering substance can be reprogrammed (dedifferentiated) into meristematic cells, comparable to cambial initials, by the stimulation of bark-stripping.

Key words : regenerated bark, axial parenchyma, cambium, surface callus

Received 22 December 2021, Accepted 18 October 2022

1) Forestry and Forest Products Research Institute

* E-mail: tomoyuki63fujii@gmail.com