

SEM-EDXA法によるミズナラ苗木樹幹横断面における 無機質成分の分布とその移動

中井 毅尚¹⁾, 安部 久²⁾, 中尾 哲也¹⁾

¹⁾ 島根大学総合理工学部 材料プロセス工学科

²⁾ 独立行政法人森林総合研究所 木材特性研究領域

Distribution and transport of mineral elements for the cross-section of *Quercus crispula* sapling trunk by the SEM-EDXA method

Takahisa NAKAI¹⁾, Hisashi ABE²⁾, and Tetsuya NAKAO¹⁾

¹⁾ Department of Natural Resource Process Engineering, Faculty of Science and Engineering, Shimane University

²⁾ Department of Wood Properties, Forestry and Forest Products Research Institute

Abstract

This study investigated the radial transport of water containing mineral elements in the stem of a 2-year-old Japanese oak (*Quercus crispula* Blume) sapling using the scanning electron microscope energy dispersive X-ray microanalyzer (SEM-EDXA) method. The results obtained were summarized as follows.

- 1) Seven kinds of mineral element, which are calcium (Ca), phosphorus (P), potassium (K), silicon (Si), chlorine (Cl), sulfur (S) and magnesium (Mg), were detected from the element qualitative analysis of wood sample with the EDXA apparatus.
- 2) In the xylem right before lights-off / lights-on, the contents of either mineral element showed the almost constant low value, and gradually increased toward the outer part of the xylem.
- 3) The highest contents of mineral elements except for the Ca right before lights-on were found in the cambium and, in the case of Ca, in the phloem.
- 4) The water containing mineral elements as mentioned above was transported, via transpiration, in both directions between the mature xylem zone and the phloem zone through differentiating xylem cells.
- 5) The model as shown in Figure 5 suggests that xylem is divided into four parts: the cambial and phloem zone (zone A), expanding zone (zone B), developing zone (zone C), and mature xylem zone (zone D).
- 6) The water was transported through the apoplastic passageways and diffused into the tissue from zone D to zone A when transpiration was restricted in the dark period. As a result, mineral element ions in the water were distributed in high concentration in zone A and gradually decreased toward the inner part of the xylem through zones B and C.
- 7) In contrast, when transpiration was accelerated during the light period, water mainly flowed through vessels in zone D and was transported to the upper part of the sapling. Then, water containing mineral elements in zones A, B, and C was drawn toward zone D.

Key words: mineral element distribution, mineral element transport, energy dispersive X-ray microanalyzer, Japanese oak sapling

1. 緒 言

樹木は根、幹、樹冠の 3 つの部分から構成されている。基本的な構造は、水分、養分を通過させる通導組織、養分の貯蔵組織、および力学的に樹体の強度を保つ支持組織である。通導組織の細胞は仮道管や道管要素、篩部要素

であり、貯蔵組織は種々の柔細胞であり、支持組織は仮道管、および木部繊維である。樹木は、土壌の水分や養分を根の表皮からアポプラスト、シンプラストを經由して中心柱内の通導組織まで取り込み¹⁾、樹冠部の葉肉細胞へと輸送する。特殊な環境、例えば樹幹が凍結と融解を繰り返す環境などを除いては、水分は根から葉まで切れることなく繋が

っており、蒸散作用によって生じた強い吸水力が、水分を連続的に引き上げている(水の凝集力説^{例えぼ 2)})。また、蒸散作用が停止すると、樹幹軸方向の水の移動も停止する。この場合、樹幹は円周方向に自らの寸法を増大させる³⁻¹¹⁾。なお、葉肉細胞で生成された光合成産物は、師部を通じて樹木の各部位に分配され、樹木が成長するための原料、あるいはエネルギー源として使用されている。すなわち、樹体内の水移動は、土壌、樹木、大気をつなぐ一連の系として考えるのが妥当である。

一般に生活している細胞は、タンパク質からなる原形質膜に、溶媒としての水が保持され、その中には、カルシウム(Ca)、カリウム(K)、リン(P)、硫黄(S)、マグネシウム(Mg)、塩素(Cl)などの無機質成分がイオン状態で存在している。これら無機質成分はイオン状態で、水と共に移動していると考えられる。これらイオンの放射方向の移動に関しては、これまで草本植物ではトウモロコシ根横断面における K^+ と P^+ の吸収移行を調べた報告¹²⁾があるが、木本植物ではほとんど報告されていない¹³⁾。

そこで本研究では、走査電子顕微鏡(SEM)にエネルギー分散形X線分析(EDXA)機を内蔵した装置を用いて、ミズナラ苗木樹幹の横断面における無機質成分の分布を調べ、それより無機質成分イオンの樹幹横断面における移動を推測した。

2. 実 験

2.1 供試苗木

実験には2年生実生のミズナラ苗木を4本用いた。これら苗木を、バーミキュライトを入れたワグネルポット(1/2000a、内寸: $\phi 252\text{mm} \times \text{H}297\text{mm}$ 、外寸: $\phi 270\text{mm} \times \text{H}304\text{mm}$)に植え付けた後、約1年の間、自然光の温室の中で生育し、その後、日長14時間(明運転)/10時間(暗運転)(点灯: 6:00a.m.、消灯: 8:00p.m.)に設定した人工気象室内(KG-206SHL-DS、小糸工業(株))において約3カ月間生育し、実験に供した。試験開始時における苗高は、平均で107cm(標準偏差:2.94)、また、地上高20cmにおける幹直径は平均で1.33cm(標準偏差:1.19)であった。これらの苗木には、栄養水(Table 1)^{4,5)}を3日に1度、1リットルずつ与えた。なお、測定データに及ぼす灌水の影響を取り除くため、測定期間は灌水後の約3日間とした。また、灌水頻度の違いによって形成される細胞形態の違いが現れる⁶⁾ため、本研究では測定期間の確保と、苗木が受ける水ストレスとの相互関係を考慮して、灌水頻度は3日おきとした。

なお、人工気象室の温度・湿度設定は、 $20 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 、 $75 \pm 5.0\% \text{R.H.}$ 一定とした。室内の人工光源は、8灯の水銀ランプ(1kW:HRF-1000X、松下電器産業(株))と、12灯の陽光ランプ(400W:D-400、東芝(株))を組み合わせた混合光とした。なおこの場合、光量は光源から0.8mの高さにおいて約 $490.0 \pm 5.0 \mu \text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2 / \mu \text{A}$ (曇天時並)であり、点

灯・消灯に対して矩形波的に変化させた。

Table 1. Composition of the culture solution.

Salts used	Concentrations of the nutrient solution	
	Elements	Concentration (ppm)
NH_4NO_3	N	50.0
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	P_2O_5	25.0
KCl	K_2O	30.0
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	CaO	20.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	MgO	10.0
EDTA-Fe	Fe_2O_3	2.0
EDTA-Cu	Cu	0.1
EDTA-Mn	Mn	0.1
EDTA-Zn	Zn	0.1
H_2BO_3	B	0.2
$\text{MoO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Mo	0.1

Note: Initial pH: 5.2.

2.2 接線方向ひずみ

樹幹の接線方向の膨潤・収縮量を測定するために、前項で用意した各苗木の地際から20cmの高さに、ひずみゲージ(ゲージ長:5mm、東京測器研究所(株)、1ゲージ3線法)を、外樹皮をはいで滑らかにした内樹皮表面に、シアノアクリレート接着剤(CN-E、東京測器(株))で貼付した。またこの場合、内樹皮表面の乾燥を防ぐために、貼付したひずみゲージの上からワセリンを塗布した。なお、ひずみゲージによる測定期間は、内樹皮表面にひずみゲージ貼付後、約5日間とした。

2.3 SEM-EDXA 法

ひずみゲージによる測定終了後、点灯直前、及び消灯直前に、Figure 1 に示すような苗木の樹幹にセットしたプラスチック製の容器に、液体窒素を充填させて樹幹を直接凍結させ、水分状態を保持した¹⁴⁾。樹幹は、容器に液体窒素充填後ほぼ30秒程度で凍結した。凍結した部分の樹幹を、手鋸によって長さ5cm程度に切断し、液体窒素を充填した別の容器に一時保管し、その後 -30°C の冷凍庫に移した。それら試料を厚さ5mmのディスク状の形状に加工し、さらにディスクの断面を凍結マイクローム(MILES-SANYO社製、温度: -30°C)により仕上げた。これらのディスクを凍結乾燥機(Virtis社製)の中で24時間凍結乾燥後、真空蒸着装置(明石社製)によって炭素コーティングを施した。こうしてえられた実験用ディスクを P_2O_5 入りのデシケーターの中で保存し、実験に供した。

一方、観察には、低真空観察機能付き電子顕微鏡(SEM、JXA-840A、JEOL社製)を使用し、また元素分析には、JEOL社製のエネルギー分散形X線解析(EDXA)システム、JED-2110を用い、元素定性分析および元素定量

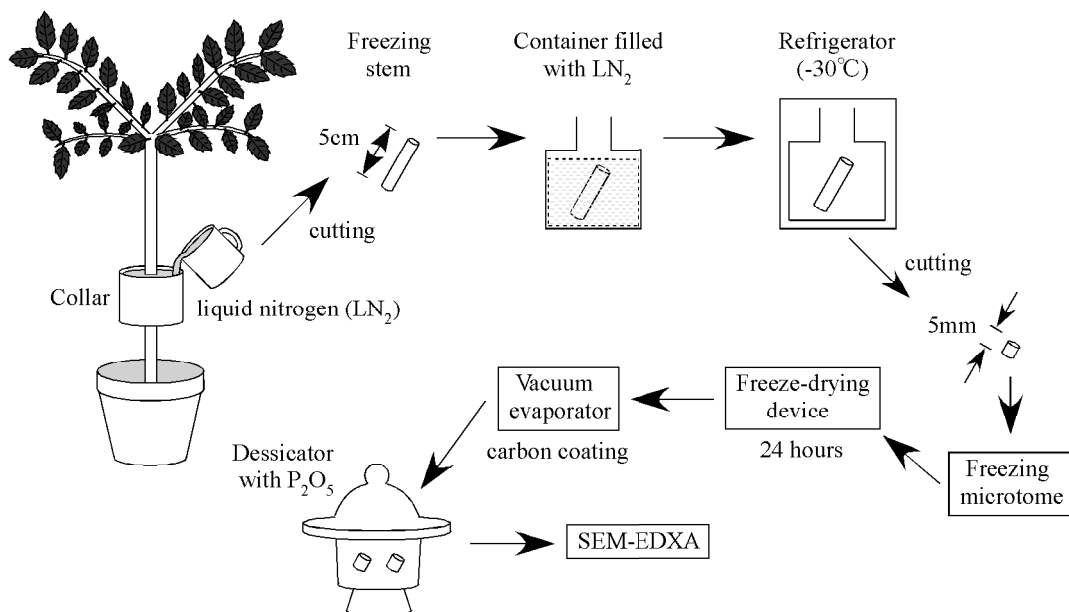


Figure 1. Sample preparation for the SEM-EDXA method.

分析を行った。

3. 結果

3.1 樹幹の膨潤・収縮挙動の日変動

Figure 2 に接線方向ひずみの日変動を示した。横軸は経過時間、縦軸は接線方向ひずみである。

その結果、これまでの報告³⁻¹¹⁾同様、接線方向ひずみは、点灯・消灯の光刺激に対して周期的な日変動を示した。す

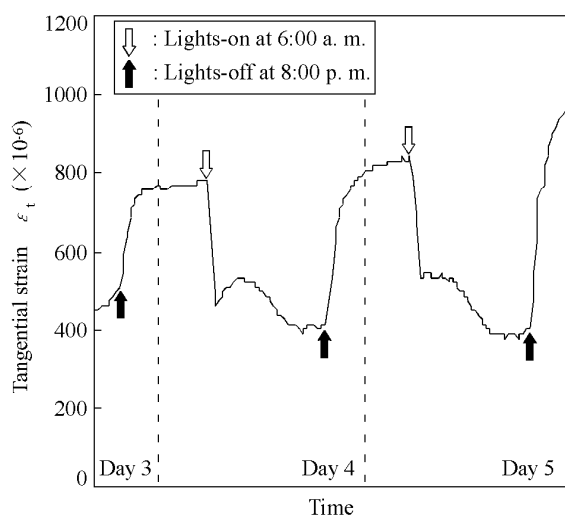


Figure 2. Diurnal changes in tangential strain. *Down arrows*, Lights-on at 6:00 a. m.; *up arrows*, lights-off at 8:00 p. m.; *Day 1*, Set the strain gauge on the inner bark; *Day 2*, Irrigation.

なわち、点灯と同時に急激に減少し、その後は概ね漸減傾向であり、逆に、消灯と同時に概ね漸増傾向を示し、点灯直前に暗運転期間における最大値を示した。

3.2 元素定性分析

EDXA 装置による元素定性分析の結果、いずれの木材ディスクからもカルシウム(Ca)、カリウム(K)、塩素(Cl)、硫黄(S)、リン(P)、ケイ素(Si)、およびマグネシウム(Mg)の計7元素の無機質成分が検出された。検出された7元素の重量%には苗木間において若干のばらつきが認められた

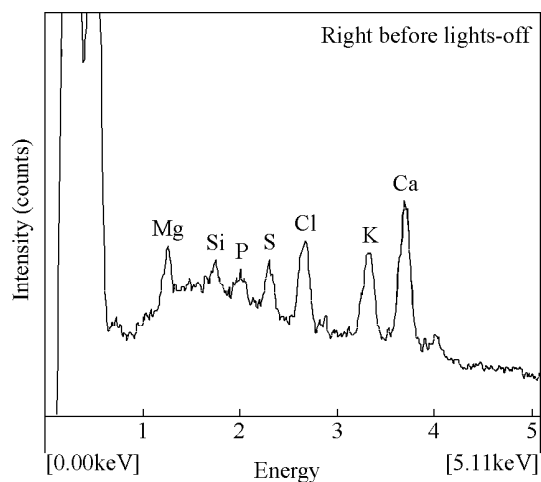


Figure 3. Example of element qualitative analysis of wood sample right before lights-off with the EDXA apparatus. *Mg*, 1.25 keV; *P*, 2.01 keV; *S*, 2.31 keV; *Cl*, 2.62 keV; *K*, 3.31 keV; *Ca*, 3.69 keV.

が、概ね同じ傾向であった。ここで参考までに、消灯直前の樹幹から取り出したディスクのスペクトルを Figure 3 に例示した。

3.3 元素定量分析

続いて、元素定性分析より検出した無機質成分の点灯

直前、および消灯直前における、随から師部にかけての分布を Figure 4 に例示した。なお、写真に認められる木材ディスクの形成層帯付近におけるき裂は、木材ディスクの凍結乾燥中にその部位がダメージを受けたために生じたものである。

その結果、消灯直前の木部では、いずれの無機質成分においても、強度値はほぼ一定の低い値を示した。これに

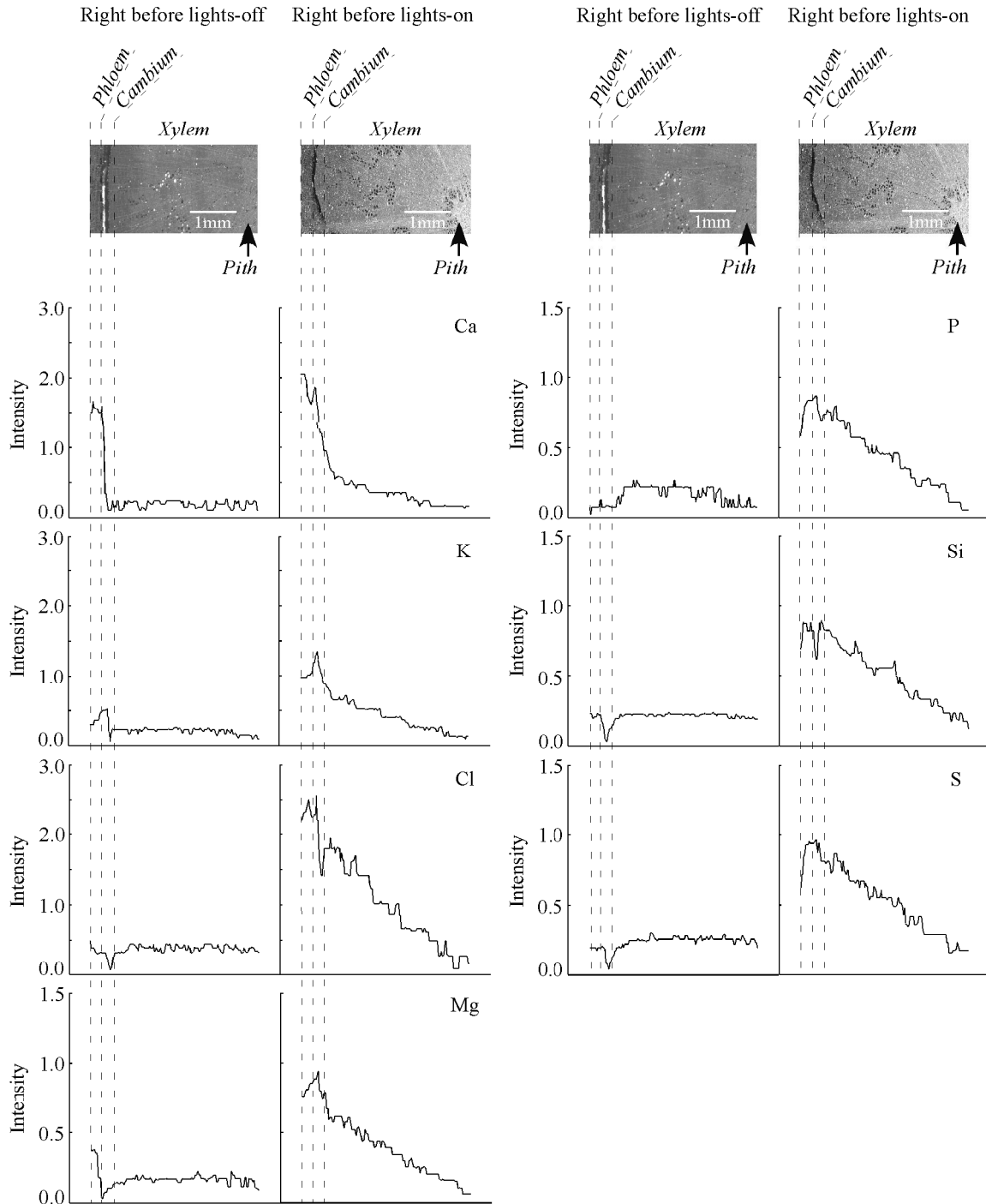


Figure 4. Examples of the distribution of calcium (Ca), phosphorus (P), potassium (K), silicon (Si), chlorine (Cl), sulfur (S) and magnesium (Mg) from xylem to phloem of the wood disks right before lights-off / lights-on.

対して点灯直前の木部では、いずれの無機質成分においても、強度値は木部の外周に向かって徐々に増大傾向であることが分かる。また、点灯直前の強度値の最大値は、Caを除いた他の無機質成分では、形成層付近に現れた。なおCaの場合は、師部柔細胞に貯蔵されたカルシウム塩の影響で、形成層に比べ師部の強度値が高い値になったと考えられる。

4. 考 察

我々はこれまで、水ポテンシャル・蒸散量・樹液流量・接線方向ひずみ・生体電位などの樹木生理量を実測し^{4,6, 11-13}、Figure 5のような樹幹モデル^{5, 12}を提案した。このモデルは、木部を形成層・師部帯 (zone A)、細胞拡大帯 (zone B)、二次壁形成帯 (zone C)、および成熟木部帯 (zone D)の4つの部位で構成した。前述した通り、今回実測した接線方向ひずみの日変動は、従来の研究結果^{4,6, 11-13}とほぼ同様であるため、本研究においてもこのモデルを適用し、無機質成分イオンを含んだ水の放射方向の移動と細胞拡大に関して考察を加えることにした。

我々が提案したモデルでは、蒸散作用の停止・開始に伴ってFigure 5に示したような水の移動(アポプラスティックな通路に沿って輸送されるか、zone Aからzone Dの組織を介して移動・拡散する)が樹幹内で起き、その結果、樹幹の膨潤・収縮が起こり、周期的な樹幹の寸法変化が日単位で現れると考えている。

今回検出された7種類の無機質成分は、樹幹内の水の中ではイオン状態で存在していると考えられる。つまり、Figure 4で明らかになった、点灯直前と消灯直前における無機質成分の樹幹内分布の明確な差異は、放射方向における水の移動の結果生じたと推察できる。

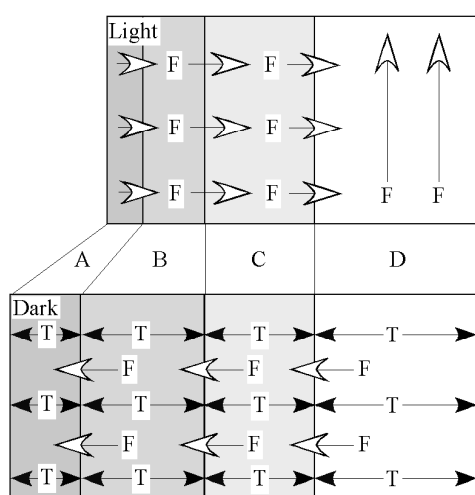


Figure 5. Schematic diagram for the water transport and cell expansion in the stem with transpiration. A, Cambial and inner bark zone; B, Expanding zone; C, Developing zone; F, water flow (white arrows); T, Pressure potential (black arrows)

周知の通り、ミズナラは広放射組織を有しており、その細胞間隙や細胞内を通しての水のアポプラスティック・シンプラステックな水の移動が行われていると考えられる。また、今回の研究で用いたミズナラは、若木で、しかも人工気象室で育てられたせい、道管配列は環孔状ではなく、放射状であった(Figure 6)。そのため道管、または道管周囲仮道管を通した放射方向における水の移動の可能性も考えられる。

以上のように、放射方向の水の移動は確かに存在するものの、その移動する経路については今後さらに詳しく検討する必要がある。

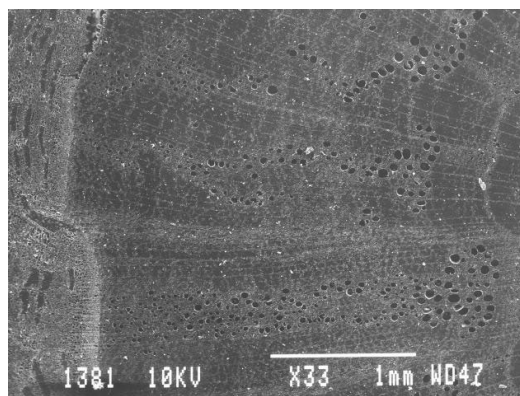


Figure 6. Photomicrography of the cross section for a *Quercus crispula* sapling used in this study.

5. 結 論

2年生のミズナラ苗木を用いて、樹幹横断面における無機質成分の分布と、放射方向の移動をSEM-EDXA法によって推測することを試みた。

元素定性分析の結果、Ca、K、Cl、S、P、Si、およびMgの計7元素の無機質成分が検出された。また、検出された無機質成分の点灯直前、および消灯直前における、随から師部にかけての樹幹内分布を元素定量分析により調べたところ、両者には明確な差異が認められ、この原因は放射方向における水の移動の結果生じたと推察した。

参 考 文 献

- 1) 根の事典編集委員会: “根の事典”, 森田茂紀他 16名編, 朝倉書店, p.12, 1998.
- 2) T. T. Kozlowski and S. G. Pallardy: “Physiology of Woody Plants (Second edition)”, Academic Press, p.259-260, 1997.
- 3) Okuyama, T., Yoshida, M. and Yamamoto, H. (1995): An estimation of the turgor pressure change as one of the factors of growth stress generation in cell walls. *Mokuzai Gakkaishi*, 41: 1070-1078.
- 4) Nakai, T., Abe, H. (1997): Measurements of the

- bioelectrical potential of a Japanese oak (*Quercus crispula* Blume) sapling. *Mokuzai Gakkaishi*, 43: 518–520.
- 5) Nakai, T., Abe, H. (1998): Measurements of the bioelectrical potential of a Japanese oak (*Quercus crispula* Blume) sapling: effect of the radial distribution of inorganic within a tree stem on the diurnal change in resting potential. *Journal of wood science*, 44: 249–254.
 - 6) Abe, H. and Nakai, T. (1999): Effect of the water status within a tree on tracheid morphogenesis in *Cryptomeria japonica* D. Don. *Trees*, 14: 124-129.
 - 7) Yoshida, M., Yamamoto, O., Tamai, Y., Sano, Y., Terazawa, M., Okuyama, T. (1999): Investigation of change in tangential strain on the inner bark of the stem and root of *Betula platyphylla* var. japonica and *Acer mono* during sap season. *Journal of wood science*, 45: 361-367.
 - 8) Yoshida, M., Hosoo, Y., and Okuyama, T. (2000): Periodicity as a factor in the generation of isotropic compressive growth stress between microfibrils in cell wall formation during a twenty-four hour period. *Holzforschung*, 54: 469-473.
 - 9) Hosoo, Y., Yoshida, M., Imai T., and Okuyama, T. (2002): Diurnal difference in the amount of immunogold-labeled glucomannans detected with field emission scanning electron microscopy at the innermost surface of developing secondary walls of differentiating conifer tracheids. *Planta*, 215: 1006-1012.
 - 10) Hosoo, Y., Yoshida, M., Imai T., and Okuyama, T. (2003): Diurnal difference in the innermost surface of the S2 layer in differentiating tracheids of *Cryptomeria japonica* corresponding to a light-dark cycle. *Holzforschung*, 57: 567-573.
 - 11) Abe, H., Nakai, T., Utsumi, Y., and Kagawa, A. (2003): Temporal water deficit and wood formation in *Cryptomeria japonica*. *Tree Physiology*, 23: 859-863.
 - 12) Nakai, T., Abe, H., Nakao, T., and Muramoto, T. (2005): The relationship between sap flow rate and diurnal fluctuation of the stem in *Cryptomeria japonica* saplings. *Journal of wood science*, 51: 441-447.
 - 13) 中井毅尚、安部 久、村本 健 (2007): 光刺激に対するスギ苗木樹幹内の水分通導の測定と樹幹の膨潤・収縮挙動. 森林バイオマス利用学会誌, 2: 1-6.
 - 14) Läubli, A. (1967): Investigations on the distribution and transport of ions in plant tissues with the X-ray microanalyzer. *Planta*, 75: 185-206.
 - 15) Kuhn, A. J., Schroder, W. H., Bauch, J. (1997): On the distribution and transport of mineral elements in xylem, cambium and phloem of spruce (*Picea abies* [L.] Karst). *Holzforschung*, 51: 487-496.
 - 16) Utsumi, Y., Sano, Y., Ohtani, J., Fujikawa, S. (1996): Seasonal changes in the distribution of water in the outer growth rings of *Fraxinus mandshurica* var. japonica: A study by cryo-scanning electron microscopy. *IAWA Journal*, 17: 113-124.