



Title	紫外線顕微鏡観察によるトドマツ圧縮あて材及び側方材細胞壁のリグニン分布
Author(s)	深沢, 和三; FUKAZAWA, Kazumi
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 31(1), 87-114
Issue Date	1974-07
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/20936">https://hdl.handle.net/2115/20936</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	31(1)_P87-114.pdf



# 紫外線顕微鏡観察によるトドマツ圧縮あて材 及び側方材細胞壁のリグニン分布\*

深 沢 和 三\*\*

The Distribution of Lignin in Compression and Lateral-wood  
of *Abies sachalinensis* Using Ultraviolet Microscopy\*

By

Kazumi FUKAZAWA\*\*

## 目 次

1. 緒 言 .....	88
2. 試料と実験方法 .....	90
2.1 供試木と試料採取 .....	90
2.2 検鏡切片の作成 .....	91
2.3 装置及び写真撮影 .....	91
2.4 フィルムの濃度解析 .....	91
2.5 UV 吸収スペクトルと吸光度の測定 .....	92
3. 結果と考察 .....	92
3.1 UV 顕微鏡写真 .....	92
3.1.1 正常材及び反対側材の細胞 .....	97
3.1.2 典型的な圧縮あて材の細胞 .....	97
3.1.3 側方材の細胞 .....	98
3.1.4 傾斜後10年輪目の圧縮あて材細胞 .....	99
3.2 フィルムの濃度解析 .....	100
3.3 試料の吸光度 .....	104
3.4 UV 吸収スペクトル .....	106
3.5 材のリグニン含量の推定 .....	106
4. 摘 要 .....	109
文 献 .....	111
Summary .....	112

\* Received Dec. 15, 1973.

内容の一部を第23回日本木材学会大会(京都, 1973)で発表した。

\*\* 北海道大学農学部林産学科 木材理学教室

Laboratory of Wood Physics, Dept. of Forest Products, Faculty of Agriculture, Hokkaido University.

## 1. 緒 言

紫外線顕微鏡は、紫外線を通過させるために、そのレンズ系はすべて石英を用いている。古くは顕微鏡の解像力を上げるために開発されてきたが、現在では細胞化学的な観察または測定用としての目的の方が大きい。すなわち細胞中の生体物質は、その物質により特定の紫外域波長帯に吸収ピークを示すことが多く、吸収スペクトルを調べることにより物質の同定を、またその部分の吸光度を測定することにより物質の量を求めることができる。したがって現在の紫外線顕微鏡は、可視域を含めた顕微分光光度計仕様が標準とされていることが多い。すなわち紫外線顕微鏡は、鏡体本体のほか光源として高圧クセノンランプ、分光のためのモノクロメーター（ある波長帯のみの吸収観察だけなら干渉フィルターでもよい）、光度測定のための光電子増倍管、増幅器、及び記録装置を構成するのが普通である。紫外線像は肉眼で見えないため、可視光でまずピントを合わせて紫外線に戻し写真撮影または測光が行われるが、そのためには波長帯の移動に伴って焦点がずれない対物鏡が開発されている。それには石英反射対物鏡が有利であるとされているが（西独ライツ社、オリンパス光学など）、石英屈折型対物鏡（西独カール・ツァイス社のウルトラフルール）でも筆者が使用した限り 260 m $\mu$  までの範囲なら何ら問題が無く、むしろ開口数が大きいこと解像度の面で優れているのではないかと思われる。紫外線吸収像を肉眼で直接見るためには、イメージコンバーター（増幅して蛍光板に撮像する）が標準付属とされているところもあるが、高価なため特に必要とするというものではないであろう。

紫外線顕微鏡の欠点として挙げられることは、高価なこと、紫外線吸収像が直接見られないこと、紫外線が弱いため薄い切片が必要なこと、及び同一波長帯で吸収する物質の区別が困難なことなどである。しかしながら試料の細胞化学的な呈色又は蛍光発光が、求める物質と固有な反応であること、またその結果の呈色濃度や発光強さが定量的であることが確かめられていない生物物質にとっては、大いに威力を発揮する（呈色の定量性が確立されているもの、例えば DNA のフォイルゲン反応では可視域だけの顕微分光光度計でよい）。また無染色の試料において物質量に応じた比較的高いコントラストの像を得ることができ、その吸収画像の数値的な解析は興味ある結果を引き出すことができよう。

ひるがえって木材の細胞壁の成分について考えると、リグニンの分布に対する知識は木化の考察において非常に重要であり、多くの組織化学的な研究がなされている<sup>1)</sup>。リグニンの染色方法としては、サフラニン・ファストグリーン法、フロログルシン塩酸反応法、モイレ反応法その他多くの色素が用いられているが<sup>2-4)</sup>、定性的な固有度や呈色濃度による定量性の問題は十分に確立されていない。リグニンの自己蛍光や蛍光色素を利用する蛍光顕微鏡の使用は、今後の問題としてあげられよう<sup>2,4)</sup>。酸又は適当な薬品による加水分解で多糖類を除き、残ったリグニンを光学顕微鏡<sup>5)</sup>あるいは電子顕微鏡<sup>6-10)</sup>で観察する手法も優れた結果を残している

が、酸による膨潤または加水分解残渣をすべてリグニンと見なすかどうかという点で問題も残る<sup>10)</sup>。

これに対し紫外線顕微鏡による研究では、定量的に優れた結果を示しているように思われる<sup>11-17)</sup>。LANGE<sup>11)</sup>は、Spruce について紫外線顕微鏡写真の濃度を解析し、リグニンはミドルラメラ (ML) で 73%、ルーメン付近の二次壁中層 (S2) で 16% の濃度を持つことを報告し、細胞壁層間のリグニン濃度の違いを確からしき数値で発表した。最近では SCOTT, FERGUS らが、ライツ社の紫外線顕微鏡でバンド幅  $5\text{ m}\mu$  の紫外域単色光の写真を撮り、フィルムをマイクロデンシトメーターにかけ、その濃度の変化からリグニン量を求める方法を理論的に確立し<sup>14)</sup>、細胞壁のリグニンに関する一連の報告<sup>15-17)</sup>を発表している。

リグニンの構造は大きくわけて、シリングルプロパン、グアヤシルプロパン、パラヒドロキシプロパンの三つに大別される<sup>1)</sup>。シリングル核 (主に広葉樹材のリグニン) とグアヤシル核 (主に針葉樹材のリグニン) は、最大吸収を示す波長がそれぞれ  $270\text{ m}\mu$  付近、 $280\text{ m}\mu$  付近と異なり、また吸光度はグアヤシル核の方がシリングル核より 3 倍も大きい<sup>16)</sup>。そのため広葉樹では構成要素による特性の違い (例えば道管壁と木繊維) を考慮しないと大きな誤ちを犯すことになることが警告されている<sup>16,17)</sup>。構成要素あるいは細胞壁各層でそれぞれ吸収スペクトルを求めることができる紫外線顕微鏡での木材細胞壁中のリグニンの分布の定量的な研究は、この点から見ても非常に優れた手法の一つであると言いうことができよう。

針葉樹材のリグニンは、正常材ではほとんどグアヤシルプロパンから成り、細胞壁中の含量はミドルラメラ (以下 ML と略す) で高く、二次壁中層 (以下 S2 と略す) では低く均一に分布していることが知られている<sup>11)</sup>。FERGUS 他は Spruce について、材のリグニン含量 27% の値から出発して放射組織、早晚材の違い、ML と S2 の面積比率、及び UV 顕微鏡写真のフィルム濃度から求めた ML と S2 のリグニン濃度比などから、細胞壁各層のリグニン濃度を計算した<sup>15)</sup>。すなわち早材の S2 は 22.5%、ML の側壁部 (半径および接線壁間) は 49.7%、コーナー部は 84.8% であり、晩材の S2 は 22.2%、ML の側壁部は 60%、コーナー部は 100.0% であること、及び各部のリグニンの量比は、早材では S2 が 72.1%、ML の側壁部が 15.8%、コーナー部が 12.1% であり、晩材では S2 が 81.7%、ML の側壁部が 9.7%、コーナー部が 8.6% であると報告している。

一方、圧縮あて材細胞は、正常材よりも約 10% ほどリグニン含量は高いと報告されている<sup>17)</sup>。その細胞壁におけるリグニンの特異的な分布について紫外線顕微鏡写真から WERGIN の報告<sup>13)</sup>、電子顕微鏡写真から CÔTÉ 他<sup>6-10)</sup> の報告がある。WERGIN は Fichte の圧縮あて材について、ML では強い UV 吸収、一次壁 (P) が異常に広く ML よりも吸収は弱いこと、二次壁外側で UV 吸収が強く、内方へ急激に減少すること、残りの二次壁は正常材と同程度の吸収を示すこと、三次壁は存在しないことなどを報告した<sup>13)</sup>。Côté らは、ML に接する異常に広い層は S1 であり、らせん割れが無くリグニン量の多い S2 外部がこれに続き、次いでらせ

ん割れの見られる S2 内部とに分けられることを、ミクロフィブリルの配列などから断定している。そしてこの S2 外部をリグニン・リッチということから、引張あて材の G 層に対応して S2(L) 層とよぶ用語を提唱している。WESTING の総説<sup>18)</sup>によると、TIMELL は、圧縮あて材細胞壁各層のリグニン濃度について ML では 60~70% (全リグニンの 5~10%)、S1 で約 10% (全リグニンの 5~10%)、S2 外部は ML と同じく 60~70% (全リグニンの約 40%)、S2 内部は 35~40% (全リグニンの約 40%) であると述べている。この圧縮あて材のリグニンの化学的性質は正常材に比べ、メトキシル含量が少ないこと、P-ヒドロキシフェニール型のフェニールプロパン単位が 3 倍も大きいことなどが示されている<sup>1)</sup>。

本研究は、西独カール・ツァイス社の紫外線顕微鏡光度計 MPM01 型を用いて、木材の細胞壁中のリグニンの分布及びそのリグニンの性質を見ることを目的とした。その試料として本報ではトドマツの圧縮あて材細胞、特に側方材におけるあて材の消失過程を重点的に採り上げてみた。上述のとおり圧縮あて材細胞のリグニン分布については、既に数多く報告されているが、いずれも典型的なあて材細胞についての観察である。圧縮あて材の消失過程、逆に言えば、あて材への発展段階をつかまえることは、欠点として圧縮あて材の程度をどのように表現するかという問題につながる。また圧縮あて材の形成の生理の問題の考察、材質との関連性などの点からも非常に重要なものと考えた。前述のように紫外線顕微鏡光度計は、細胞壁のある一点の吸収スペクトルを取ることができ、その点からリグニンの性質を、また対応する細胞壁各層の同一波長における UV 吸収度からリグニン量の推定又は比較をすることができる。本報の内容は、その試みも若干なされている。圧縮あて材の細胞壁のリグニン分布の変動を、紫外線顕微鏡の画像として中間型を含め広い範囲にわたり認識することは、今後の研究の発展に大きな意義があろう。また得られたフィルムの画像はいろいろな情報を含んでいるものであり、その解析についても今日では非常に興味ある手法が開発されており、本研究でも若干の試みがなされた。

本研究を行うに当たり、終始御指導を得た石田茂雄教授ならびに御助言を得た榊原彰教授に心から感謝の意を表す。実験の一部は卒業論文として取り組まれた由本正英君 (1973 年卒業) の努力によるものである。またフィルムの画像解析には、KK 応用電気研究所および KK きもとの御助力を得た。記して感謝の意を表す。本研究に要した備品の一部は昭和 47 年度文部省科学研究費 (一般研究 B) によるものであり、また研究の実施の一部は昭和 48 年度文部省科学研究費 (総合研究代表者京都大学木材研究所 樋口隆昌教授)、及び昭和 48 年度北海道科学研究費補助金によって行われた。

## 2. 試料と実験方法

### 2.1 供試木と試料採取

北海道大学苫小牧地方演習林 306 林班は、トドマツ *Abies sachalinensis* MAST. の 1933 年

植栽の人工林であるが、1954年の15号台風で傾斜し、その後下部の幹は傾斜したままで生長を続けている樹木が若干本残存しており、圧縮あて材の観察に好都合な貴重な資料を提供している。1972年5月にその一本を採取した。樹齢47年、樹高13.8m、胸高直径；長径22cm、短径18cmである。18年前、樹高9.8m、胸高直径14cmであった供試木が、台風により傾斜しそれ以後の生長で地上高6.5m以上の樹幹は起き上がり直立化したものでいわゆる“そり返り”<sup>19)</sup>のため樹幹はゆるいS字型を示していた。樹幹下部の傾斜は、胸高部で約18度であった。台風以後の樹幹の直立化への努力とその生長経過は、著者がさきに苗木で実験的に考察した結果<sup>19)</sup>をよく裏付けている。ある直径以上の樹幹下部になると、直立化はもはや物理的に不可能であり、ただ機能的な努力だけが続けられていると考えられよう。樹高3mから採取した円板を試料とした。圧縮あて材の存在はPhoto 1に示すとおりである。Photo 1, 2に検鏡用試片を採取した位置と記号を図示してみた。すなわち樹幹の圧縮側であて材発生2年輪目のものを試料番号II-1、10年輪目のものをX-1、2年輪目の側方(以下の本文で側方材とよぶことにする)から圧縮あて材の消失する過程にしたがってII-2, II-3, II-4, II-5と番号をつけ、それぞれ1年輪を含む試片を採取した。またあて材発生2年前のものから正常材(対照材)C、及びあて材発生2年輪目の反対側材II-Oppを同様採取した。

## 2.2 検鏡切片の作成

各位置において採取した1年輪を含む小片を、エポン812によりカプセル包埋をした<sup>20)</sup>。ウルトラマイクロトーム(LKBIII型)を用い、ガラスナイフで0.5 $\mu$ 厚の切片を作成した。1年輪を一切片でカバーすることは困難であるため、あらかじめ測定顕微鏡(ニコン工場顕微鏡)で年輪内の位置決めを行い、その後マイクロトームで順次切片を作成した。以下の本文及び図表や写真における試料番号の括弧中の0.0~1.0までの数値は、年輪内の相対位置を表す。すなわち0.0は早材の最初、年輪のイニシャル部であり、1.0は晩材の最後、年輪のターミナル部である。各切片は石英のスライド及びカバーガラスにグリセリンで封入され、検鏡に供した。

## 2.3 装置及び写真撮影

西独カール・ツァイス社の紫外線顕微鏡光度計MPM01型を使用した。緒言で述べたとおり、この社のものは屈折型石英対物鏡(ウルトラフルアール)を特徴としている。主に用いた対物鏡はウルトラフルアール100X, N.A. 1.25である。イメージコンバーターは付属させていない。光源はクセノンランプ150W(XBO 150W/t)、モノクロメーターは石英プリズム型M4Q III型である。波長精度はスリットで制御されるが、波長帯幅3 $\mu$ になるよう各波長においてスリット幅を調節した。使用フィルムは、紫外線用の特殊フィルムでなく、一般用市販フィルムである。

## 2.4 フィルムの濃度解析

280 $\mu$ mの単波長で得た顕微鏡写真のうち、幾つかのフィルムについて濃度解析を行った。細胞壁を横切って走査するときの濃度出力波形の記録には、KK応用電気研究所製のミク

ロデシントメーター (ホト・パターン・アナライザー PPA-250 型) を使用した。フィルムの走査条件は、スリット  $0.04 \times 0.2 \text{ mm}$  ( $0.086 \times 0.429 \mu$ )、フィルム送り  $5 \text{ mm/min}$ 、記録紙送り  $20 \text{ cm/min}$  (したがって記録紙  $1.87 \text{ cm}$  で  $1 \mu$ ) である。得られた濃度出力は、標準濃度片 (富士フィルム) の散光濃度値で校正した。

またフィルムの濃度差の判読と、任意の濃度レベル別の面積の算出には、KK きもと製のカラー画像解析装置フォスダック 1000 を使用した。この器械は、フィルムの濃度差に応じて最高 12 色に分割、ブラウン管に表示するもので、併せて付属の求積計により各色又は数色の面積、比率を電子的に求めデジタル表示できる。カラー表示は、任意の色数及び任意の濃度範囲で分割 (D 値に対し等間隔) される。本報のフィルムでは、実試料で光の透過率が 100% に当たるルーメン部分をオリーブ色、最暗部の ML の一部を黒に合わせ、その間の濃度を 5 色で表示した。オリーブ、黄、茶、赤、マゼンタ、紫、黒の色配列であるが、黄、茶色は、正常材では S2、圧縮あて材では S2 内部に当たるよう調節した。このカラー表示は、前述の標準写真濃度により校正したものではないが、一面撮影条件の違うフィルムも対応する濃度段階で比較し得る利点がある。

## 2.5 紫外線 (UV) 吸収スペクトルと吸光度の測定

$0.5 \mu$  の切片について、付属の光度計により、直接細胞壁の吸光度を測定した。照野絞りで任意に絞った単波長光束を試料に入れ、光度計絞りにより最小  $0.63 \mu\phi$  の測定視野内の透過光を光電子増倍管に入れて増幅し、記録計に透過率  $T$  として記録した。吸光度  $A$  は  $A = \log 1/T$  で計算した。UV 吸収スペクトルの測定は、正常材 C の 5 細胞、圧縮あて材 X-1 (0.8) の 5 細胞について行った。すなわち正常材では ML (コーナー部) と S2、圧縮あて材では ML (コーナー部) と S2 外部及び S2 内部に  $0.63 \mu\phi$  の測定視野を設け、 $240 \sim 350 \text{ m}\mu$  まで各単波長における吸光度を順次に測定し、スペクトル曲線を作成した。波長帯幅精度は  $3 \text{ m}\mu$  である。また採取全切片について、各 10 細胞ずつ ML (コーナー部)、S2 外部、S2 内部の  $0.63 \mu\phi$  中のスポット域について波長  $280 \text{ m}\mu$  における吸光度を測定、平均値を求めた。

## 3. 結果と考察

### 3.1 UV 顕微鏡写真

細胞壁の UV 吸収の実態を写真で視覚上の問題としてとらえることは、組織全体の解析のうえに大事なことである。細胞壁の一点における吸収スペクトルの測定のほか、単波長 ( $240 \text{ m}\mu$  から  $400 \text{ m}\mu$  まで  $10 \text{ m}\mu$  間隔) の連続写真を、典型的な圧縮あて材細胞と正常材細胞につ

#### Photos 1~2.

Sampling positions from compression, lateral and opposite wood of *Abies sachalinensis*.

#### Photos 3~32.

The microphotographs in ultraviolet light of wavelength  $280 \text{ m}\mu$  at each sampling position. ( ) ; relative position in an annual ring.

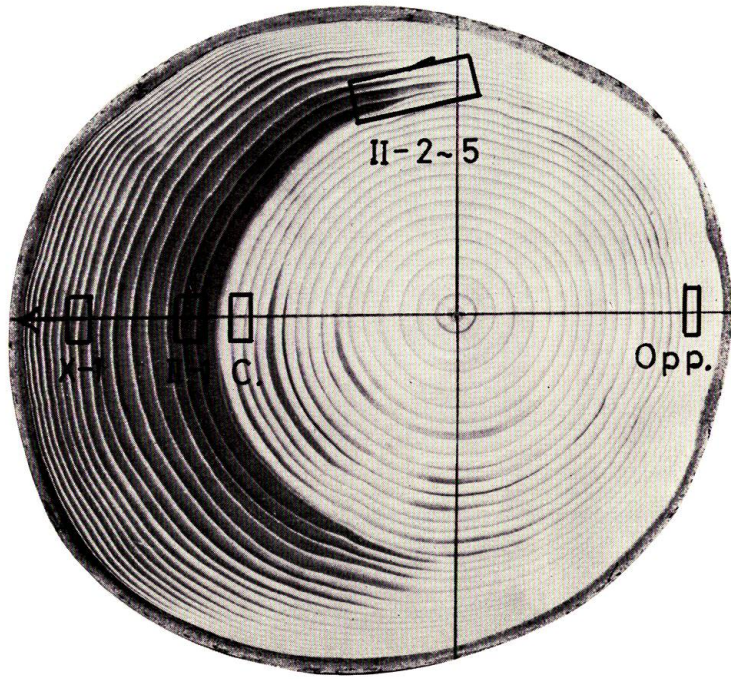


Photo 1.

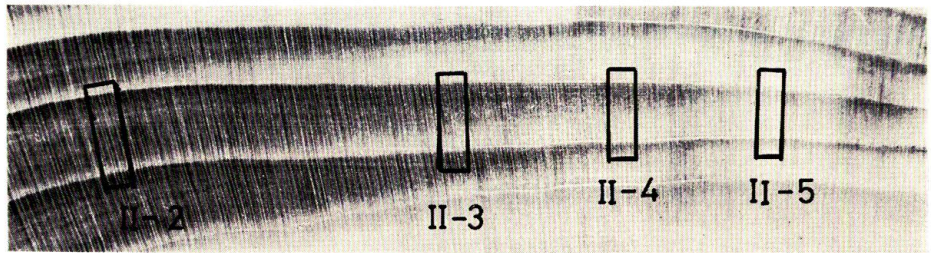


Photo 2.

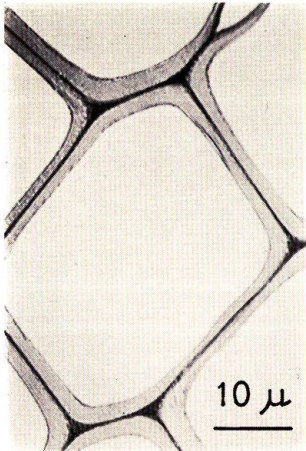


Photo 3. Control

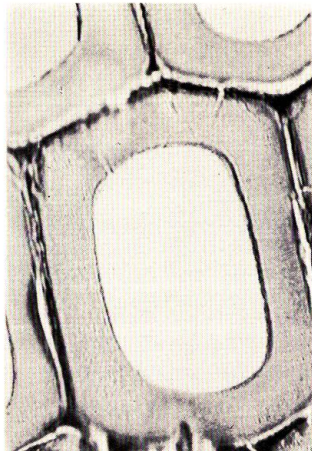


Photo 4. Control

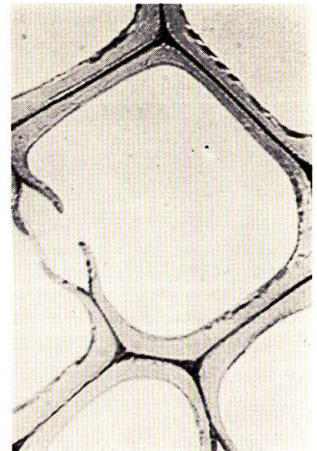


Photo 5. Opposite

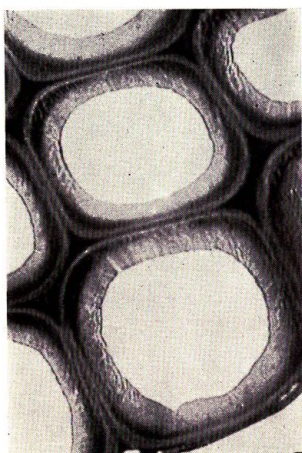


Photo 6. II-1 (0.1)

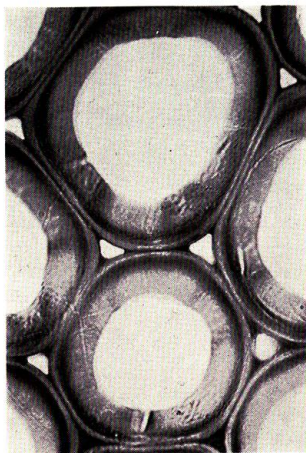


Photo 7. II-1 (0.4)



Photo 8. II-1 (0.6)



Photo 9. II-1 (1.0)



Photo 10. II-2 (0.0)



Photo 11. II-2 (0.2)

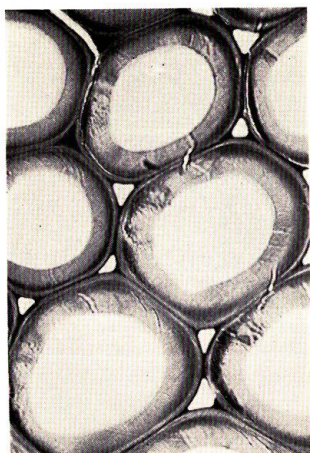


Photo 12. II-2 (0.4)

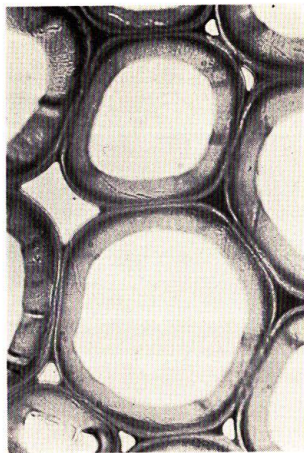


Photo 13. II-2 (0.7)



Photo 14. II-2 (1.0)

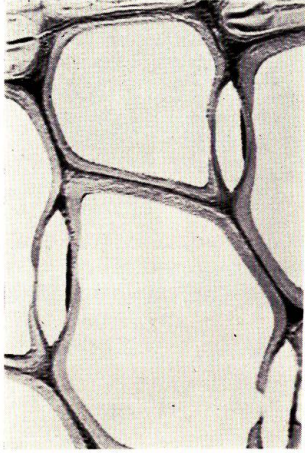


Photo 15. II-3 (0.0)

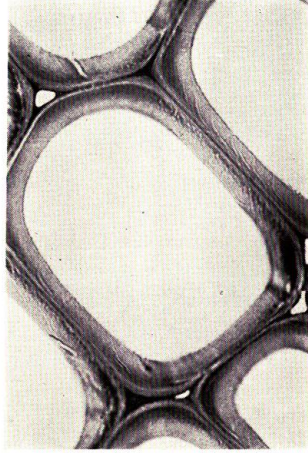


Photo 16. II-3 (0.4)

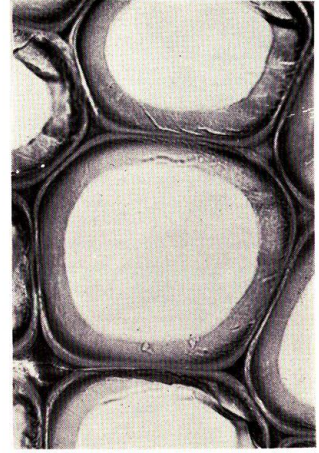


Photo 17. II-3 (0.6)

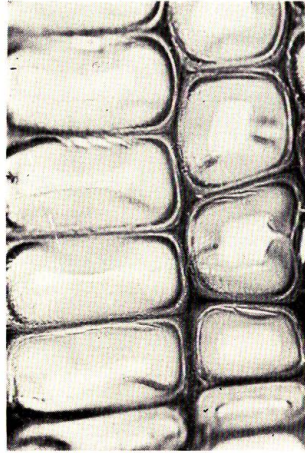


Photo 18. II-3 (1.0)

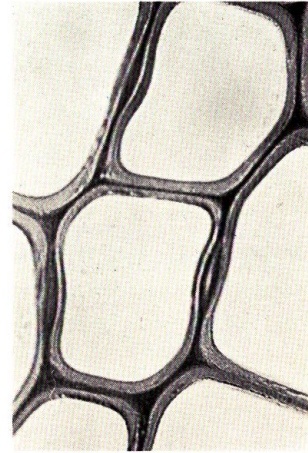


Photo 19. II-4 (0.0)

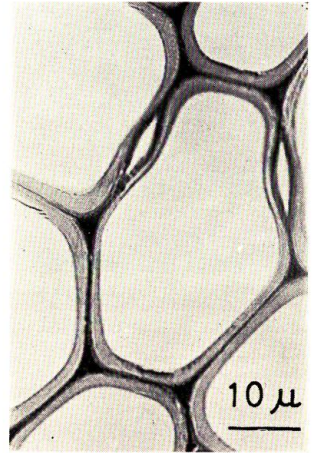


Photo 20. II-4 (0.2)

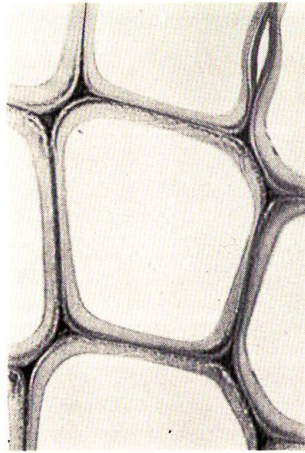


Photo 21. II-4 (0.4)

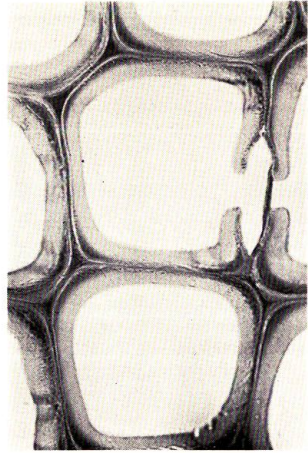


Photo 22. II-4 (0.6)

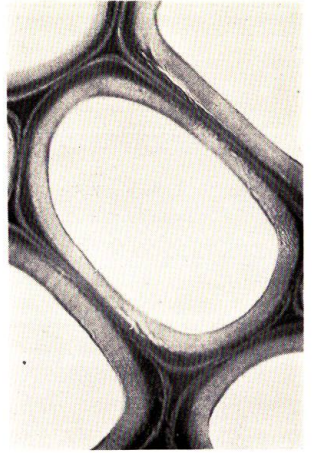


Photo 23. II-4 (0.8)



Photo 24. II-4 (1.0)

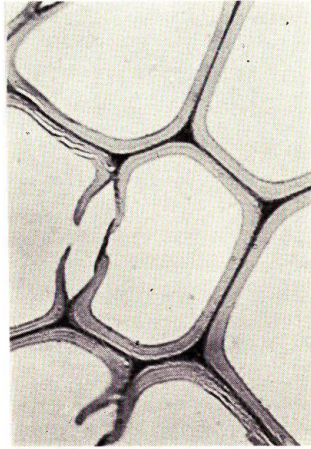


Photo 25. II-5 (0.4)

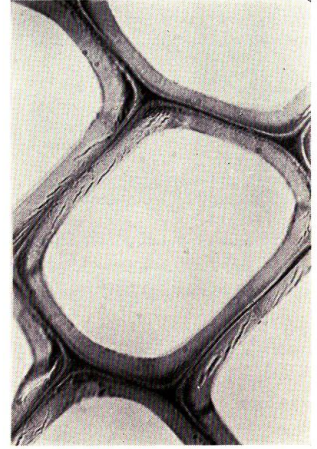


Photo 26. II-5 (0.6)



Photo 27. II-5 (0.8)



Photo 28. II-5 (1.0)

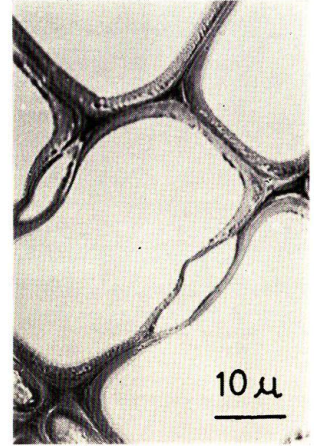


Photo 29. X-1 (0.0)

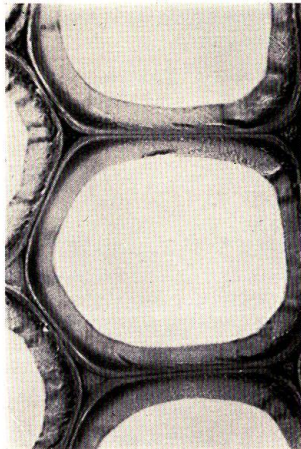


Photo 30. X-1 (0.6)

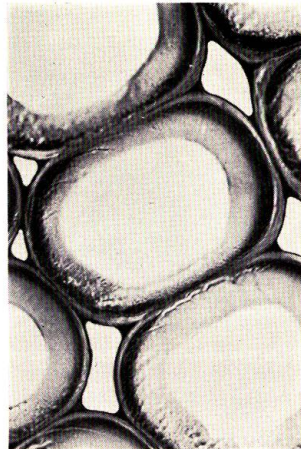


Photo 31. X-1 (0.8)

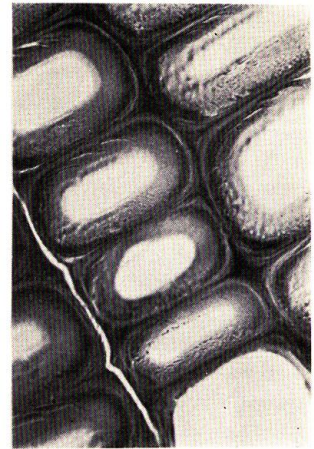


Photo 32. X-1 (1.0)

いて撮影し検討してみた。これらの写真は本報では省略したが、リグニンの吸収は320~300 m $\mu$ から強くなり、280~270 m $\mu$ で極大、260 m $\mu$ で弱くなり250 m $\mu$ 以下の波長で強くなる一般傾向が写真上で確認できる。250~240 m $\mu$ の波長になるとエポンの吸収もわずかながらみられていくため、コントラストが低下し、またピントが甘くなっているのが認められた。以下の本文において、各試料位置における細胞形態やUV吸収の1年輪内での変動を、まず顕微鏡写真(Photos 3~32)にまとめ比較検討することにする。いずれも極大吸収である280 m $\mu$ の波長における写真である。

### 3.1.1 正常材及び反対側材の細胞

正常材と反対側材の細胞のUV吸収をPhotos 3~5に示した。複合細胞間層で強い吸収、二次壁ではこれより弱い吸収がほぼ均一に認められる。またルーメンに接する薄いS3が、S2よりも強い吸収で輪郭をかたどっているように見える。S3のリグニン含量が高いことは、正常材<sup>10)</sup>、反対側材<sup>22)</sup>で報告されている。ただ本報の光顕での検鏡の場合、光学的なエッジ・エフェクトが考えられるので、十分注意しなければいけない<sup>14)</sup>。

正常材と反対側材の細胞とは、UV吸収について差異は認められない。TIMELLは、針葉樹の反対側材の細胞は、正常材の細胞と比べて仮道管長が長いこと、早材では断面が比較的正方形で整然と並んでいること、晩材では不規則であること、S3が正常材の0.1~0.2  $\mu$ 厚に比べ、早材では0.2  $\mu$ 、晩材では0.4~0.8  $\mu$ と厚いこと、またこの厚いS3ではリグニン含量の高いことなどを報告している<sup>21,22)</sup>。本報では反対側材について、詳細な研究は特になされていない。

### 3.1.2 典型的な圧縮あて材の細胞

II-1の年輪における典型的な圧縮あて材の細胞をPhotos 7, 8に示した。この年輪のインシャル部の細胞はPhoto 6、またターミナル部の細胞はPhoto 9に示したが、これらの早晩材の年輪境界部を除き、典型的な圧縮あて材細胞が年輪内で均一に見られた。すなわちPhotosから見られるように内容の抜けた大きな細胞間隙と、断面が円形のいわゆる圧縮あて材の形態的な特徴が顕著である。細胞のコーナー部のUV吸収の強いMLの物質は、大きな細胞間隙のため膜壁及びその接する所に付着した状態で見られる。細胞壁(二次壁)は外側からUV吸収の比較的弱く、しかも正常材より広いS1と、S1と接してUV吸収の非常に強いS2外部、らせん割れを持ちUV吸収が均一でしかも弱いS2内部と続いている。このことは既に緒言で述べた他報告<sup>6~10,13)</sup>と同一である。緒言で述べたとおりWERGİN<sup>13)</sup>はMLに続くUV吸収の弱い層を一次壁(P)と報告しているが、ここではCôtéらの電子顕微鏡による知見のS1に従う<sup>9)</sup>。またS2のうちUV吸収の強弱(リグニン含量の大小)で分けられる層を、S2外部、S2内部と本報では呼んできた。しかしながら後述するように細胞によりS2外部の大小とか、消失するとかの表現には、若干抵抗感がある。他にS2外層、S2内層という呼び方も考えられるが、二次壁内外層の用語と紛らわしい。明らかにS2外部は独立した層ではなくS2の一部である。それ故本報では、以後S2外部をCôtéの提唱するS2(L)の用語で呼ぶことにする。た

だしS2外部, 内部の用語も, S2の内外部を対比する場合には好都合なので一部で流動的に用いられているところがある。用語の問題については今後の検討にまきたい。

このS2(L)は写真から認められるように, 隣の細胞と接する直線部では幅が狭く, あるいはほとんど見られなくなる。細胞のコーナー部すなわち3~4の細胞の接する広い細胞間隙に連なる曲線部位では, 幅が広くしかも強い吸収として認められる。

Photo 6にみられるイニシャル部の細胞は, UV 吸収の点で圧縮あて材の特徴を備えているが, 形態はより角型であり, したがって細胞間隙は小さく内容の抜けていないものが多い。Côté は圧縮あて材の初期早材について, 形, 細胞間隙の欠如, 及びらせん割れの無いことなどは正常材と似ており, 厚いS1の存在, S3の無いこと, 及びリグニンの分布などについては圧縮あて材であると述べている<sup>8)</sup>。またターミナル部の細胞は, Photo 9から認められるように長方形で細胞間隙は見られないが, S1は厚く<sup>8)</sup>, 短辺側でのS2(L)は幅が広がっている。

### 3.1.3 側方材の細胞

典型的な圧縮あて材年輪では, その濃色部が側方で新月状に弧をなして早材から順次消失している (Photo 2)。その過程において数個の年輪を試料として採取したが, その1年輪内における変動を Photos 10~28 に示した。検鏡は, 各位置でほぼ1年輪内を通じてなされているが, 本報での写真は代表的なものだけにとどめた。

前述の典型的な圧縮あて材である II-1 (Photos 6~9) を含め, ほぼ正常材になる II-5 (Photos 25~28) までの UV 顕微鏡写真を通覧し, 細胞の特徴からみて結論的になるが次のように便宜的に細胞型を分類してみた。

圧縮あて材から正常材までの細胞の便宜的な分類 (ターミナル部を除く)

A 型 (典型的な圧縮あて材); 細胞横断面円形, 細胞間隙大きく, コーナー部の ML の物質は細胞壁に付着している。膜壁は厚く, 広い S1, S2(L), らせん割れの目立つ S2 内部, S2(L) は断面を一周する。A' 型; S2 全体の膜厚がやや薄く, S2(L) の幅も若干狭く直線部で減少する。A 型よりあての程度が弱いもの。[例. A: II-1(0.4, 0.6), A': II-2(0.4)]

B 型; 細胞横断面方形, 細胞コーナーで丸みを持つ。細胞間隙は正常材より大きく, ML の物質は抜けていない。膜壁は厚い。広い S1, S2(L) はコーナー部で幅が広いが直線部では狭い。

B' 型; 形態は B 型と変らないが, 膜壁はやや薄く, S2(L) はコーナー部のみに限られ直線部では消失しているもの。[例. B: II-1(0.1), II-3(0.6), B': II-2(0.0), II-3(0.4)]

C 型; 細胞横断面及び寸法は正常材とほぼ変わない。ただ細胞コーナー部にのみ目立つ S1 と, わずかな S2(L) の存在が見られる。[例. II-4(0.4), II-5(0.6)]

D 型; 正常材の細胞

ターミナル部の細胞についての分類。すべて細胞断面は長方形である。

a 型; 角に丸みが見られ, 細胞間隙やや大きい。広い S1, S2(L) は幅広く断面を一周する。

a' 型; 形態は同じであるが S2(L) の吸収は弱く短辺にのみ見られるもの。[例. a: II-2(1.0),

a'; II-3(1.0)]

b型; 丸みがない長方形, コーナー部にのみ S1 と S2 (L) を持つ。[例. II-4(1.0)]

c型; 正常材

この分類は細胞の外面的な形態より, むしろ S2(L) の存在とその大きさに基づくもの因ると言ってもよい。著者は先に圧縮あて材の程度を, らせん割れによって見ようとした<sup>19)</sup>。本報における UV 顕微鏡写真による分類は, より内面的, 生理的なものと言えよう。

この分類により前述した II-1 (年輪幅 4.2 mm) について再述すると, イニシャルで B 型, 0.1~0.15 までは A' 型, 0.2~0.9 までは A 型, ターミナル部は a 型である。

II-2 (年輪幅 3.0 mm) Photos 10~14; この部位は圧縮あて材の濃色部が年輪内で早材から消失していく直前の位置であり, 肉眼的には II-1 とそう変らない。しかし II-1 に比べやや程度の低い A' 型の圧縮あて材細胞が年輪の大部分を占め, A 型の細胞はわずかであった。すなわちイニシャル部の 0.0 で B' 型, 0.2 まで B 型, 0.3~0.8 は A' 型, 0.8~0.9 で A 型, ターミナル部は a 型で示された。

II-3 (年輪幅 2.5 mm) Photos 15~18; 濃色部は年輪の約 60~70% である。イニシャル部は正常材と変らない D 型, 0.2~0.3 で C 型, 0.4~0.8 で B' ないし B 型, 0.8~0.9 で A' 型であった。ターミナル部は a' 型を示した。すなわちこの位置の年輪では, 淡色の部分では正常材もしくはあて材の初期型で, 濃色部ももはや典型的な圧縮あて材細胞は少なくなり, 中間の移行型が主流を占めてくる。II-2 と同様 0.8~0.9 であて材の程度は最も高い。またここで注目されるのはターミナル部において, 接線壁に S2(L) が見られなくなり, 圧縮あて材の消失過程を示してくることである。

II-4 (年輪幅 2.2 mm) Photos 19~24; 濃色部は年輪の約 40% である。0.0~0.2 で D 型, 0.3~0.4 で C 型, 0.5~0.9 まで B' ないし B 型が大部を占め A' 型はもはや見られない。ターミナル部も b 型が大部を占める。特に最後の 1~2 列の細胞では正常材のターミナルと区別されないのも示されてきた。

II-5 (年輪幅 2.0 mm) Photos 25~28; この部位は弧状の濃色の圧縮あて材の終わる位置で, 肉眼的には正常材と変らない所である。Photo 26 の 0.6 で C 型が見られるほかは, すべて正常材の D 型であった。ターミナル部の細胞群も正常材の c 型である。このように圧縮あて材の初期といえる C 型の細胞が, 年輪のほぼ中央に残り, 圧縮あて材は後期晩材からも急速に消失していくのは興味深いことと思われる。

### 3.1.4 傾斜後 10 年輪目の圧縮あて材細胞

X-1 (年輪幅 2.3 mm) Photos 29~32; 圧縮側のあて材形成後 (樹幹傾斜後) 10 年輪目のもので, 年輪幅は II-1 より狭い。濃色部は年輪の約 70% で, 肉眼的には前述の II-3 に相当する。しかし UV 顕微鏡写真から見られるように, 圧縮あて材の程度は II-3 より若干高い。すなわち 0.0~0.3 で C 型, 0.4~0.7 で B' ないし B 型, 0.8~0.9 で A' ないし A 型, ターミナル部は

aないし a'型を示した。実験方法の所で述べたように樹幹はまだかなり傾斜しているものであり、その点から言えば、10年前のあて材発生の時の条件とそう変わっていない。それにもかかわらず、あて材の程度が上述のとおり低くなっていることは、あて材形成の刺激の飽和化が示されているものと思われる。すなわち直立化が物理的に不可能になった状態での圧縮あて材形成の生理を示すものとして興味深い。

### 3.2 フィルムの濃度解析

II-4のPhotos 19~24に示した細胞について、相接する二重の細胞壁(1.0では単壁)を横断しマイクロデントメーターで走査したものを示すとFig. 1のとおりである。この濃度波形曲線は、縦軸にフィルム濃度すなわちUV吸収の強弱、横軸には細胞壁厚が示されており、正常材と圧縮あて材との対比がよく表わされている。

切片0.0, 0.2の細胞は正常材と変らないD型である。ルーメンとの境界に見られる濃度ピークは、S3に因るのか、エッジ・エフェクトなのか、ここでは追究できない。切片0.4はC型の細胞であり、写真ではコーナー部にS1とS2(L)が見られるが、この場合は直線部の所の走査であり前2者と変らない。切片0.6, 0.8はB型の細胞でA型ではないが、圧縮あて材の濃度プロファイルがよく示されている。すなわちS1の弱い吸収、S2(L)の強い吸収がS2内部へ減少していく様子、S2内部の均一な吸収などである。切片0.8の濃度波形で左側のS2内部が見られないのは、切片の破壊のためである。切片1.0はターミナル部の細胞のb型に当たり、あて材の消失する直前のものであるが、S2(L)がわずかに認められるもののプロファイルが示されている。S1と吸収がそう強くない幅の狭いS2(L)が認められよう。

Fig. 1の数値は、ML, S1, S2(L), S2内部のところのフィルム濃度(標準濃度片, JIS K 7605)である。この数値からScott 他<sup>14)</sup>により、S2内部とのリグニン濃度比を求めるとTable 1のとおりである。

Table 1の数値については、後述の吸光度の測定値(Table 2)と共に検討する。

Table 1. Relative lignin concentrations from silver density of the negatives

Sample position	early wood		II-4		late wood		X-1 0.8	Mean
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0		
C <sub>ML(tr)</sub> /C <sub>S2</sub>	1.78	2.54	1.78	2.25	1.48	1.90	1.53	1.89
C <sub>S2(L)</sub> /C <sub>S2</sub>	—	—	—	1.91	1.52	1.35	1.50	1.57
C <sub>S1</sub> /C <sub>S2</sub>	—	—	—	1.00	1.20	1.10	1.14	1.10

C<sub>ML(tr)</sub>: Lignin concentration in the compound middle lamella (tangential and radial wall)

C<sub>S2(L)</sub>: Lignin concentration in the outer part of S2

C<sub>S2</sub>: Lignin concentration in the inner part of S2

C<sub>S1</sub>: Lignin concentration in the S1

C<sub>ML</sub>/C<sub>S</sub> = D<sub>L</sub> - D<sub>ML</sub> / D<sub>L</sub> - D<sub>S</sub> (ref. SCOTT et al.)<sup>14)</sup>

D<sub>L</sub>: Silver density of the negatives in lumen

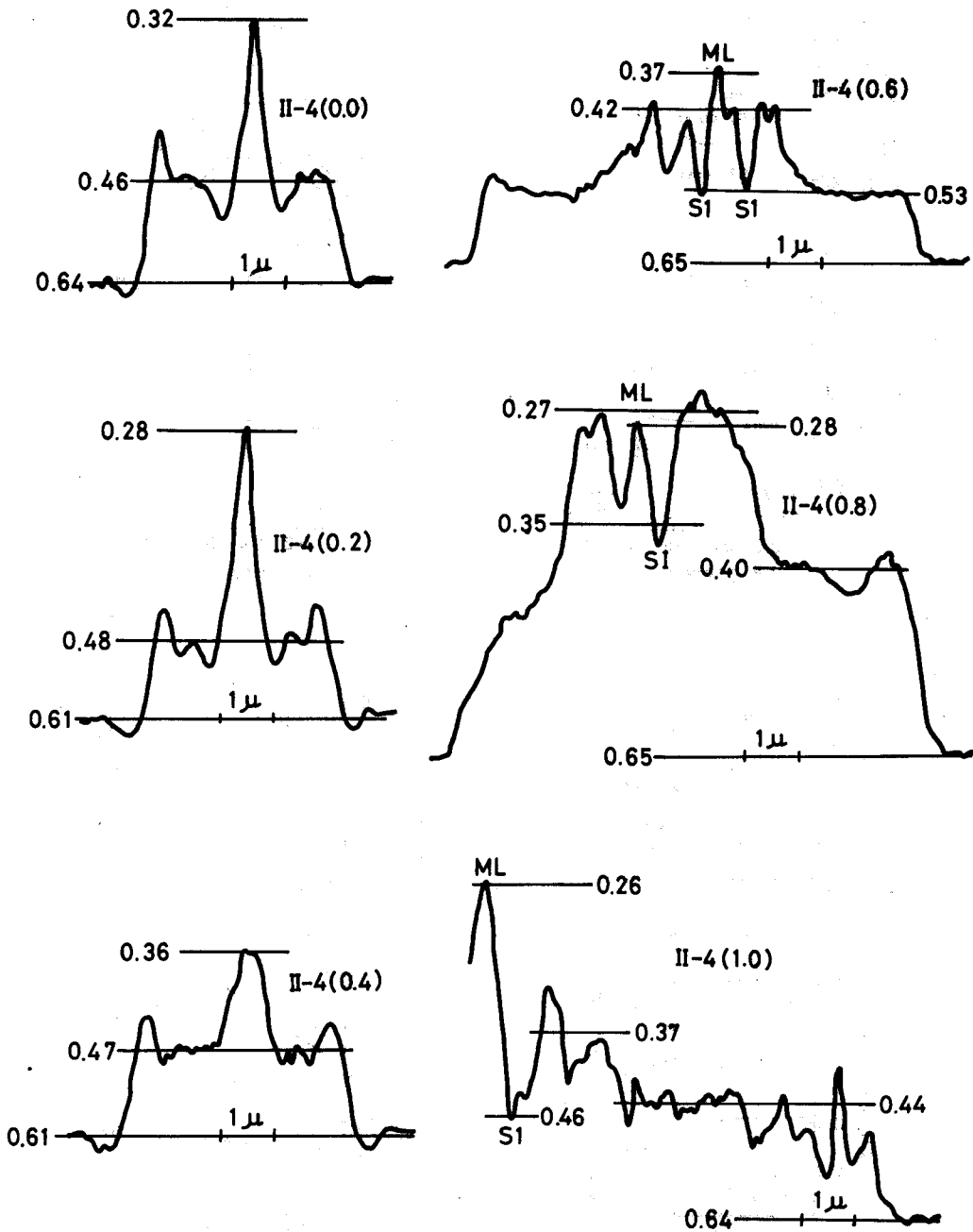
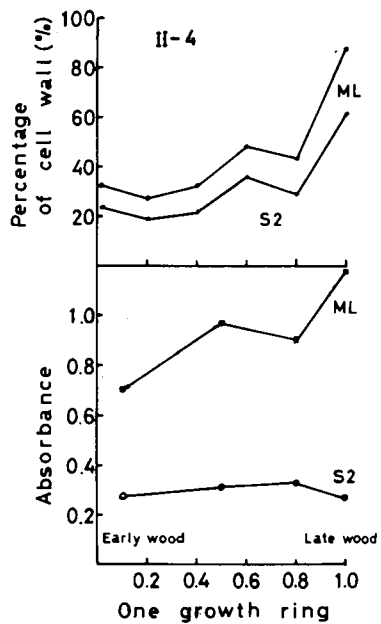
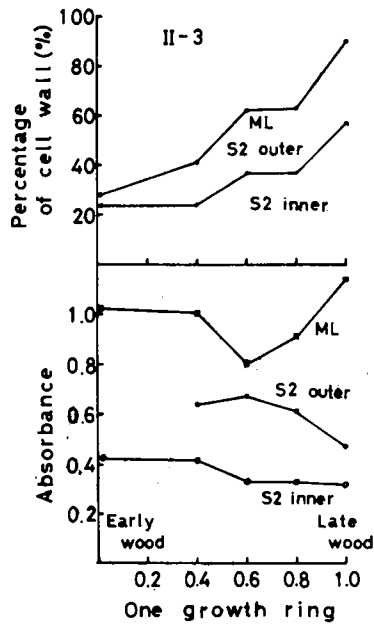
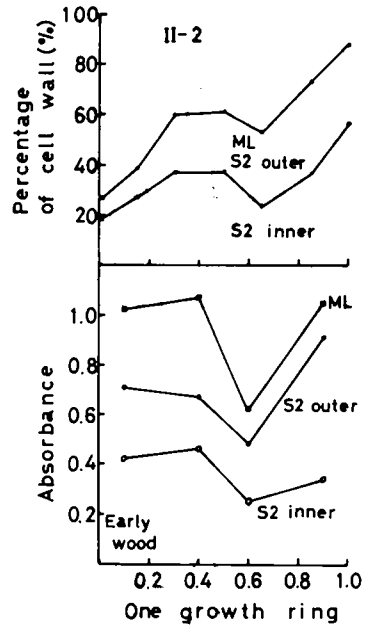
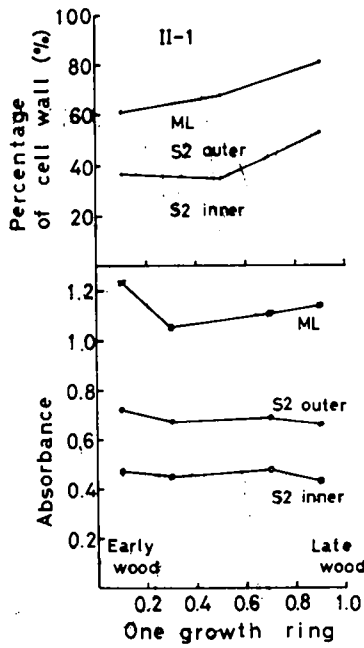


Fig. 1. Densitometer traverse across a tracheid wall of the position II-4.

( ): relative position in an annual ring  
 Number: silver density of the negatives



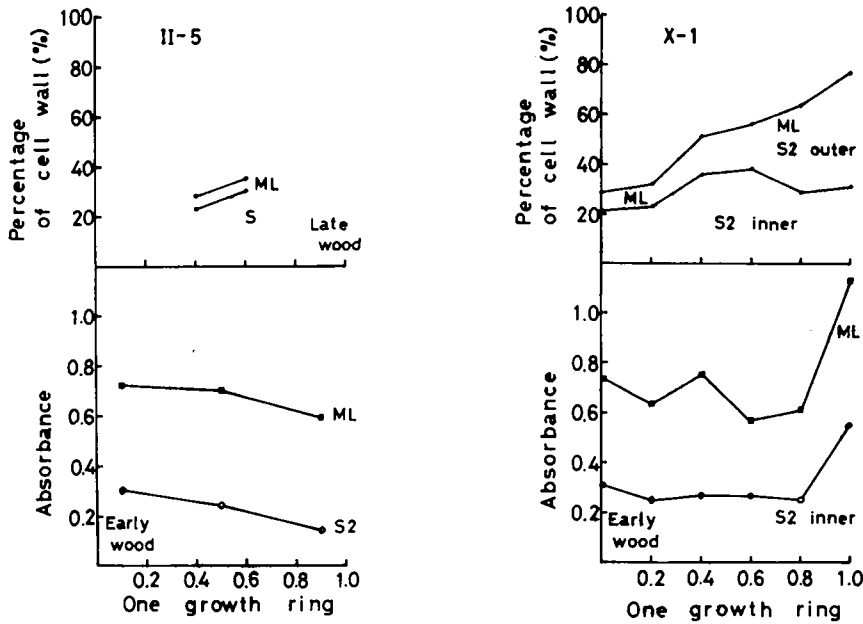


Fig. 2.(1~6) Cross sectional area from densitometric mensuration and absorbance from microscope photometer of wavelength 280 m $\mu$  in the various wall regions.

もう一つのフィルム濃度解析として、カラー画像解析装置を使用してみた。写真濃度差の読み取りと等濃度面積の算出を目的としたためである。カラー写真は本報では省略したが、余り多い色で分画しても雑然として来るし、少ない色の分割ではディテールが示され得ない。実験方法で述べたとおり、S2あるいはS2内部を黄、茶の2色、他の膜壁部分を赤、マゼンタ、紫、黒の4色で表現した。圧縮あて材のS1は茶と赤、S2(L)と正常材のMLが赤、マゼンタ、紫、黒の4色、あて材のMLがマゼンタ、紫、黒の3色で示され、S2(L)、ML共かなり幅広い濃度範囲が与えられた。MLのうち接線壁及び半径壁間の複合細胞間層は、コーナー部より低い濃度で、正常材では赤、マゼンタの2色で主に示された。この装置の求積計により、全面積に対する各等濃度範囲の面積比率が表示される。ただ各段階の色を代表する写真濃度の絶対値を各切片について設定し得なかったため、この面積比率の値から平均濃度を計算し、切片について比較することはできなかった。しかしこの色別の面積率の値から、細胞壁実質率(空隙率を引いたもの)と黄、茶で表わされた正常材のS2、あるいは圧縮あて材のS2内部の面積率は確からしき数値で示される。この両者の細胞壁率を各採取位置及び年輪内位置で示したのが、Fig. 2(1~6)の上の図である。

細胞壁率は、正常材の早材で27%前後であるが、晩材になる程大きな数値を示している。ターミナル部を除く典型的な圧縮あて材細胞のA型では、60~70%の膜壁率を示した。正常材の早材で全細胞壁に対するS2の比率は85%前後である。残りの15%は、ほとんどMLとみなされる。前述のとおり赤、マゼンタが接線及び半径壁間のML(t.r)、紫、黒がコーナー部の

ML(cc)を示したが、これを数値で表すとそれぞれ13%、3%であった(後述のTable 4)。圧縮あて材では、その程度が高くなる程、全細胞壁に対するS2内部の比率は下がっていくことが、よく示されている。すなわち典型的な圧縮あて材のA型の細胞は45~55%前後、B型で約70%の数値であった(Table 4参照)。残りの面積率の中にS2(L)、S1、MLが含まれるが、これらは濃度差としては示されないで、組織別の比率としてはもはや表すことができない。ただ濃度別の面積比率として、全細胞壁に対する赤、マゼンタの表示比率及び紫、黒で示される膜比率を後述のTable 4に示した。

### 3.3 試料の吸光度

試験方法の所で述べたとおり、ML(cc)、S2(L)、S2内部で $0.63\mu\phi$ の測定視野スポットを設定し、 $280\mu$ の波長における吸光度( $A_{280}$ )を直接測定した。すなわち吸光度 $A$ は次の式で示される。

$$A_{280} = \log I_L/I = \log 1/T = \epsilon \cdot c \cdot l$$

ここに  $I_L$ : ルーメンの透過光の強さ,  $I$ : 試料の透過光の強さ,  $T$ : 透過率,  
 $\epsilon$ : 吸光係数,  $c$ : 濃度,  $l$ : 試料厚さ

各位置で原則として10細胞ずつ測定し平均値を求め図示してみた。Fig. 2(1~6)の下の図である。反対側材、正常材については、この図では省略した。

カラー画像解析で示したとおり、正常材のS2あるいは圧縮あて材のS2内部のUV吸光度は比較的均一であるが、S2(L)あるいはMLのUV吸光度は、かなり幅広いものであった。この顕微鏡光度計による直接測定は一点法であり、測定点を同一細胞内で広く走査したものではない。また各層を代表する平均的なUV吸収の濃さを、可視光でのピント合わせの段階で判定することは不可能であり、仮に測定して数値を当たってみるか、あるいは顕微鏡写真像の助けを借りなければならない。またそのほかに直接吸光度に影響する因子として切片の厚さの精度の問題が挙げられる。例えばFig. 2のII-2(0.6)及びX-1(1.0)における数値の著しい相違は、切片の厚さの誤差によるものとも考えられる。このような問題点を今後のこととして残しながらFig. 2について検討してみた。

WILSONは、2, 3の針葉樹についてリグニン量の一年輪内変動は有意であり、早材の方が2~3%晩材より高いと報告している<sup>23)</sup>。しかしJANSONSは、時には晩材の方が早材よりリグニン量は高いこと、またその変動は晩材で22.3~34%、早材で25.2~29.5%であることを報告している<sup>1)</sup>。Fig. 2からS2あるいはS2内部の吸光度の一年輪内変動を見ると、ほぼ正常材であるII-5では、早材の方が晩材より明らかに吸光度は高いことが認められる。また圧縮あて材でもII-2、II-3のS2内部のUV吸光度は、早材の方が晩材より高い数値を示している。しかしながらII-1、II-4、X-1のS2内部では、一年輪にわたってほぼ均一な値を示した。

このようなリグニン量の年輪内の変動について本報では深く検討することはできない。この問題を残しながら各位置の一年輪内の全測定値を平均してみた。Table 2のとおりである。

**Table 2.** Mean values of absorbance ( $\lambda=280 \text{ m}\mu$ ) in each of the positions and relative lignin concentrations from these absorbance values

Sample position	II-1	II-2	II-3	II-4	II-5	C.	Opp.	X-1	Mean
ML(cc)	1.15	0.92	0.95	0.90	0.66	0.82	0.67	0.70	
S2(L)	0.68	0.67	0.59	—	—	—	—	—	
S2	0.46	0.36	0.37	0.30	0.22	0.36	0.30	0.32	
$A_{ML(cc)}/A_{S2}$	2.30	2.56	2.56	3.00	3.00	2.27	2.23	2.19	2.51
$A_{S2(L)}/A_{S2}$	1.36	1.86	1.59	—	—	—	—	—	1.60

ML(cc): Middle lamella (cell corner)

A: Absorbance from the microscope photometer

C: Control (normal wood)

Opp: Opposite wood

Table 2 には Fig. 2 に載せていない反対側材及び正常材の測定値も記した。また S2 内部と ML 及び S2(L) のリグニン濃度の比も付記した。この場合濃度の比は、直接  $A_{ML}/A_{S2}$ ,  $A_{S2(L)}/A_{S2}$  の値で与えられる。

Table 2 から各位置の吸光度の数値を見ると、正常材 (C) が反対側材 (Opp) などに比べ、若干高い値を示したので標準として考えてよいのかどうか疑問である。II-5 の S2 における値が低いのは、Fig. 2 から見られるように晩材に偏った値であるかもしれない。いま標準として、正常材の吸光度をここでは S2 が 0.2, ML が 0.7 と考えると、II-2, II-3 部位の中度の圧縮あて材は、S2 内部, ML とともに約 20% 増の吸光度, II-1 部位の典型的な圧縮あて材は S2, ML とともに約 50% 増の吸光度を示している。しかし X-1 では、II-2 程度の圧縮あて材であるが低い吸光度を示した。この例外はあるが圧縮あて材の S2 内部, ML のリグニン量は、正常材の S2 や ML よりも若干高いと判断される。ただ先に述べたような問題点や、抽出物の量などのこともあり、特に II-1 の場合の約 1.5 倍の値は、後述の材のリグニン含量推定の計算のうえでも考えられない数値である。詳しい検討は今後に譲りたいが、本研究では一応、圧縮あて材のリグニン濃度は正常材の約 1.2 倍であるとして考えていくことにした。

次に S2 内部と他の膜層とのリグニン濃度の比を Table 2 の吸光度の比及び前述の Table 1 の写真濃度から求めた比から検討してみよう。Table 1 の写真濃度からのものは、S1 が測定されていること、またこの場合の ML は接線あるいは半径壁間の複合細胞間層であることが Table 2 と異なる。測定値にかなりのバラツキもあり、実験上の問題その他細かい検討が更に必要であるが、本報ではごく大まかな目安を求めることにして平均値を挙げてみた。すなわち各層のリグニン濃度は S2 内部の値に対し、S1 では約 1.1 倍, S2(L) では 1.6 倍, ML(t·r) では 1.9 倍, ML(cc) では 2.5 倍の数値が示されてきた。FERGUS 他は、Spruce の正常材で ML(cc) では S2 の 3.77 倍 (早材), 4.5 倍 (晩材), ML(t·r) では S2 の 2.21 倍 (早材), 2.7 倍 (晩材) のリグニン濃度比を示しているが<sup>15)</sup>、本報の値はこれより低い。

### 3.4 UV 吸収スペクトル

X-1 における圧縮あて材の5細胞と、正常材 C の5細胞について、240 m $\mu$  から 350 m $\mu$  までの UV 吸収スペクトルを測定した。個々の細胞により、吸光度やスペクトル曲線の形に若干の違いが見られ、それが測定誤差 (測定点の移動) によるものか、抽出物によるとみなされるのか、あるいは本質的なものかどうか検討されていない。いまその全部あるいは一つの曲線を代表として取り出さず、吸光度の平均値を求めて図示してみた。Fig. 3 のとおりである。

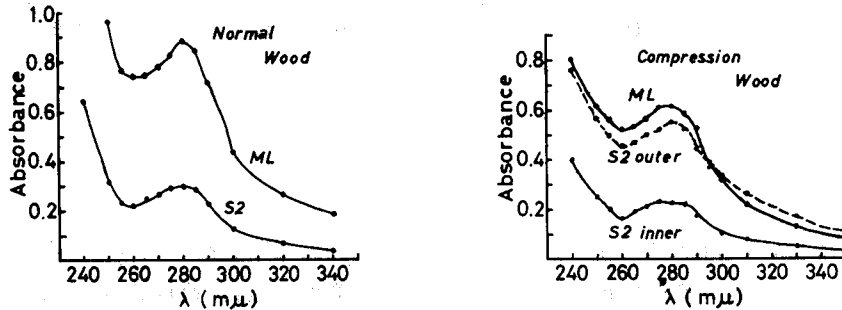


Fig. 3. Ultraviolet spectral curves for the middle lamella (cell corner region) and the S2 layers of cell wall in the normal and compression wood (Mean values of 5 cells).

吸収曲線は、いずれも紫外域から下って 260 m $\mu$  で極小、280 m $\mu$  で極大を示し以後可視域の方へ下っていく典型的なグアヤシル・リグニンのスペクトルを示している<sup>1)</sup>。圧縮あて材の UV スペクトルは正常材と有意な差がみられないとの報告<sup>1,24)</sup>もあり、本報の Fig. 3 の曲線でも両者に基本的な差は認められない。ただここで省略した個々の細胞でのスペクトル曲線の中で、圧縮あて材の ML(cc) で 275 m $\mu$  に極大が見られるもの (3細胞)、285~290 m $\mu$  で吸光度が急激に下らず、“肩”として見られるもの、また抽出物の影響と考えられる 260~270 m $\mu$  の不規則な吸収ピークが示されるものなどがあり、将来の検討が必要であろう。Fig. 3 において正常材の方が圧縮あて材より高い吸光度を示しているのは、UV 吸光度の非常に高い細胞 (晩材ターミナル部) が、2細胞含まれていたためである。

### 3.5 材のリグニン含量の推定

吸光度及び写真濃度解析の結果から、材ならびに細胞壁各層のリグニン含量について考察してみる。緒言で述べたように、針葉樹の正常材細胞壁のリグニン含量については FERGUS 他<sup>15)</sup>の研究が最も新しく、その数値も確からしい。圧縮あて材のリグニン分布については、CÔTÉ, TIMELL らの詳細な研究<sup>6-10)</sup>があるが、リグニン含量の数値は挙げられていない。ただ WESTING の総説の中に TIMELL の挙げた数値が載せられている<sup>18)</sup>。FERGUS 他は Spruce の二次壁及び ML のリグニン含量の算出に当たって、Spruce のクラソン・リグニン 27% の実験値から出発した。圧縮あて材の場合は、その方法を踏襲するわけにはいかない。なぜならば既に述べたように圧縮あて材の細胞は、典型的なものから中軽度のものまで多くの細胞型を含んでいるからである。

いま本報では, FERGUS 他<sup>15)</sup>の求めた正常材の早材の S2 のリグニン濃度 0.225 g/g の数値を, 最も信頼できる基本値と考えて圧縮あて材のリグニン含量について検討してみる。吸光度の測定結果から, 圧縮あて材の S2 内部のリグニン濃度は, 正常材の S2 (0.22 g/g と仮定する)<sup>15)</sup>の 1.2 倍であると仮定された。これらの仮定とリグニンの濃度比の結果 (Table 1, 2) から細胞壁各層のリグニン濃度を求めると Table 3 のとおりである。

**Table 3.** Estimation of lignin concentrations in each of the cell wall layers of compression wood.

	S2	S2(L)	S1	ML(t-r)	ML(cc)
Relative absorbance	1.0	1.6 (1.4~1.9)	1.1 (1.0~1.2)	1.9 (1.5~2.5)	2.5 (2.2~3.0)
Lignin concentration (g/g)	0.26*	0.42 (0.36~0.49)	0.29 (0.26~0.31)	0.49 (0.39~0.65)	0.65 (0.57~0.78)

S2: Inner part of S2 of compression wood

\*: 0.22 g/g×1.2

The value of 0.22 g/g is the weight concentration of lignin in the secondary wall which had estimated by FERGUS et al.<sup>15)</sup>

Table 3 の数値と, 全細胞壁に対する各膜層部分の面積比 (容積比) があれば, 材のリグニン含量を求めることができる。この面積比率は, UV 顕微鏡写真の切り抜き法で求めることができる。正常材では早晚材の幾つかの細胞について測定すれば, そう大きく変動することはないので位置を考えることはいらぬ。しかし圧縮あて材の場合は, 各層の面積比率は非常に流動的であること [特に S2(L)], また ML や S2(L) のリグニン濃度の変動幅の大きいことから, たゞ面積率が圧縮あて材の程度により類別, 平均されたとしても Table 3 の数値が妥当なものであるかどうかによって, 誤差は非常に大きくなることが予想される。したがって圧縮あて材の場合は, 各膜層の全細胞壁に対する面積比率より, UV 吸収の各等濃度範囲の面積比率とその代表するリグニン濃度の設定の方がより有効であると考えられる。先に述べたカラー画像解析において, 各色段階の面積比率を求め得たが, その代表する写真濃度の設定はできなかった。けれども本研究では吸光度=0 (ルーメンの吸光度) からある吸光度までを6等分したことになり, S2 内部を黄茶の2色にまとめているのでその上の色を2色ずつまとめると, その3段階での吸光度比は1:2:3で示されることになる。この3者の面積率にリグニンの濃度を当てはめて計算すると, 材のリグニン含量を推定することができる。その試みの結果は Table 4 に示すとおりである。

Table 4 では, 前述の圧縮あて材の細胞型別にまとめてみた。A~D 型のほか, 最も程度の高い圧縮あて材と, 正常材 (早材) のものを列記した。正常材と C, D 型は, 正常材の S2 のリグニン濃度 (0.22 g/g) を基本値とし, A, B 型はこれより 20% 増の値を基本値とした。なおこの計算には放射組織について考慮されていないため, FERGUS 他<sup>15)</sup>の文献値に従い補正してみた。

Table 4. Estimation of lignin content of the wood.

		Relative absorbance			Lignin content of the wood (g/g)	Calibration** value (g/g)
		1.0	2.0	3.0		
Lignin concentration (g/g)		0.22*	0.44	0.66		
Normal wood (early wood)	Volume fraction (%)	84	13	3	0.262	0.270
	Lignin % of total	70	22	8		
C, D type***	Volume fraction (%)	77	18	5	0.282	0.290
	Lignin % of total	60	28	12		
Lignin concentration (g/g)		0.26	0.52	0.78		
B type***	Volume fraction (%)	68	26	6	0.361	0.370
	Lignin % of total	49	38	13		
A type***	Volume fraction (%)	55	31	14	0.417	0.412
	Lignin % of total	35	39	26		
Typical compression wood	Volume fraction (%)	45	34	21	0.461	0.460
	Lignin % of total	26	39	36		

\*: The value of assumption that referred to the report of FERGUS et al.<sup>15)</sup>

\*\* : Calibration from ray tissue. Lignin content of ray cell wall; 0.44 g/g. Volume fraction of ray tissue; 5%.

\*\*\*: Cell type from the compression wood to the normal wood. Values are the mean of several cell positions.

Table 4 から認められるように、正常材及び C, D 型 (正常材と変らない) のリグニン含量は、*Abies* 属の文献値<sup>7)</sup> からみてほぼ妥当な数値を示している。このことは基準値として設定した S2 のリグニン濃度 0.22 g/g が、そう間違った値でないことを確かめたことにもなる。圧縮あて材のリグニン含量の算出値も、*Abies* 属の文献値<sup>7)</sup> 39~40% に比べ、ほぼ妥当であると思われる。ただここで注意しなければいけないことは基準値の値により算出値は大きく変ることである。例えばいまここで圧縮あて材の S2 内部のリグニン濃度が正常材の S2 の 1.2 倍と仮定したが、仮に正常材の S2 と濃度は変らないとして計算すると、B 型の材では、0.310 g/g、A 型の材では 0.354 g/g、典型的な圧縮あて材では 0.390 g/g (いずれも放射組織を補正した値) のリグニン含量となる。このように、基準となる S2 あるいは S2 内部のリグニン濃度の正確な測定が、今後の検討に必要となるであろう。

Table 4 には、各濃度段階の持つリグニン量が全リグニン量に占める比率が挙げられてい

る。正常材では先に述べたようにこの3者の濃度段階の構成は、ほぼ S2:ML(t-r):ML(cc)に対応する。したがってこの三つの膜層部分のリグニン量比は、70:20:10 で表され、FERGUS 他求めた値<sup>15)</sup> 72:16:12 (緒言参照) と比較すると、よく一致していることが認められる。圧縮あて材の場合は、リグニン濃度 0.26 g/g 段階のもつリグニン量すなわち S2 内部のリグニンの比率は、あて材の程度により大きく変動する。典型的な圧縮あて材では、S2 内部のリグニンは全リグニンの 26% にしかならない。S2(L) の比率はここでは示され得ない。しかしま仮に圧縮あて材の ML の持つリグニンの量は、正常材の ML の持つリグニンの量の 20% 増であると単純に仮定すると、この ML のリグニン量は、典型的な圧縮あて材では全リグニンの 21%、A 型の細胞では 23% と計算される。S1 を考慮しないとすると残りの量が S2(L) にあるから、リグニン量比は典型的な圧縮あて材で 26(S2 内部):53[S2(L)]:21(ML) であり、A 型の細胞では 35:42:23 となり、S2(L) のもつリグニン量は全リグニンの 40~50% と推定されよう。

#### 4. 摘 要

紫外線顕微鏡光度計 (西独カール・ツァイス社 MPM01 型) を用いて、トドマツの圧縮あて材細胞壁のリグニン分布について調査した。典型的な圧縮あて材、反対側材、正常材の細胞の観察だけでなく、側方材で圧縮あて材の消失する過程のものを、1年輪内において注意深く観察し、吸光度などの測定を行った。得られた結果を要約すると次のとおりである。

1) 試料円板における検鏡試片の採取位置は、Photos 1, 2 に示される。試片はエボン包埋後、0.5  $\mu$  厚の切片とし、石英プレパラートにグリセリンで封入した。

2) 各試料位置で、細胞形態や UV 吸収の 1 年輪内の変動を UV 顕微鏡写真 (Photos 3~32) で検討した。写真はすべて 280 m $\mu$  の波長の単色光によるものである。

3) 圧縮あて材仮道管細胞の特徴は、UV 吸収の弱い広い S1 と、UV 吸収の強い S2(L)、UV 吸収の弱くしかも均一な S2 内部で示される。圧縮あて材から正常材までの移行において細胞の特徴から便宜的に次のように細胞型を分類してみた。

A 型 (典型的な圧縮あて材細胞): 円形、細胞間隙大、広い S1、細胞断面を一周する S2(L) とらせん割れのある S2 内部。[ex. II-1(0.4)]

B 型: 方形、細胞コーナーで丸みを持つ。広い S1、S2(L) はコーナー部で幅広いが直線部で狭い。[ex. II-1(0.1)]

C 型: 断面は正常材と変らない。細胞コーナー部に目立つ S1 とわずかな S2(L) を持つ。[ex. II-4(0.4)]

D 型: 正常材

ターミナル部の数列の細胞 (すべて長方形)

a 型: コーナー部に丸みがあり、広い S1 と幅広い S2(L)。

b 型: 丸みがなく、コーナー部にのみ目立つ S1 と S2(L) が見られる

## c型: 正常材

4) 典型的な圧縮あて材年輪であるII-1でも, イニシャル部はB型である。側方材になるに従い, 圧縮あて材は早材及び晩材から上記の細胞型を経て順次正常材へ移行した。圧縮あて材細胞の消失する寸前では, C型の細胞のみが年輪中央部に認められた。

5) ミクロデントメーターで細胞壁を横切るように走査し (II-4位置), フィルム濃度を記録した (Fig. 1)。正常材のD型と圧縮あて材のB型の細胞に当たるこれらの濃度波形曲線は, 細胞壁のリグニン量の推移をよく示している。写真濃度の数値からS2内部と他細胞壁各層とのリグニンの濃度比が計算された (Table 1)。

6) カラー画像解析装置により, 写真濃度を色に転換し, 各色段階別の面積率を求めた。細胞壁実質率及びS2あるいはS2内部 (圧縮あて材) の面積率を Fig. 2, また濃度比別の面積率を各細胞型について Table 4 に示した。正常材の細胞壁で, 二次壁は80%, 接線, 半径壁の複合細胞間層は15%, コーナー部の細胞間層は5%をそれぞれ占めている。圧縮あて材細胞壁でのS2内部の比率は, あて材の程度により70%から45%まで変動した。

7) 顕微鏡光度計により切片に $0.63\ \mu\text{f}$ の測定視野を設定し,  $280\ \text{m}\mu$ における透過率を測定, 吸光度に換算した。各位置における10細胞ずつの平均値の変動を Fig. 2 に示した。

8) 吸光度の値から, リグニン濃度は圧縮あて材のS2内部, MLにおいて, 正常材のS2, MLよりそれぞれ1.2倍大きいと判断された (Table 2)。

9) 吸光度及び写真濃度の値から, S2内部を1.0としたリグニンの濃度比を求めると, S2(L)は1.6, S1は1.1, ML(t-r)は1.9, ML(cc)は2.5であった (Table 3)。

10)  $230\sim 350\ \text{m}\mu$ にわたる単色光の吸光度からUV吸収スペクトル曲線を描いた (Fig. 3)。正常材と圧縮あて材において本質的差は見られなかったが, 抽出物の影響も見られ, 今後の検討を必要とする。

11) 正常材のS2のリグニン濃度を $0.22\ \text{g/g}$ と仮定して<sup>15)</sup>, この値から圧縮あて材各膜層のリグニン濃度及び材のリグニン含量を推定した。S2内部; 26%, S2(L); 42%, S1; 29%, ML(t-r); 49%, ML(cc); 65%である。材のリグニン含量は, 正常材で27~29%, 圧縮あて材のB型の細胞では37%, A型の細胞は41~46%となり, 推定の妥当性を裏付けた (Table 3, 4)。

12) 正常材の早材では, 全リグニンの約70%が二次壁に, 20%がML(t-r), 10%がML(cc)にあると推定される。圧縮あて材では, S2内部が持つリグニンはあて材の程度により, 全リグニンの26~50%と変動する (Table 4)。あて材のS2(L), MLの持つリグニン量は個々に示され得なかったが, 強いて推定すると, S2(L)のリグニンは全リグニンの40~50%, MLは20~25%と思われる。

## 文 献

- 1) SARKANEN, K. V. and C. H. LUDWIG (Ed.): Lignins. New York, Wiley-Interscience (1971).
- 2) AUFSEß, H.: Mikroskopische Darstellung des Verholzungsgrades durch Färbemethoden. Holz als Roh- u. Werkstoff **31**(1), 24 (1973).
- 3) SRIVASTAVA, L. M.: Histochemical studies on lignin. Tappi **49**(4), 173 (1966).
- 4) BALATINECZ, J. J. and R. V. KENNEDY: Maturation of ray parenchyma cells in pine. For. Prod. Jour. **17**(10), 57 (1967).
- 5) RITTER, G. J.: Distribution of lignin in wood. Ind. and Eng. Chem. **17**, 1194 (1925).
- 6) CÔTÉ Jr., W. A., T. E. TIMELL and R. A. ZABEL: Studies on compression wood Part 1, Distribution of lignin in compression wood of red spruce (*Picea rubens* Sarg.). Holz als Roh- u. Werkstoff **24**(10), 432 (1966).
- 7) ———, B. W. SIMSON and T. E. TIMELL: Ditto Part 2, The chemical composition of wood and bark from normal and compression regions of fifteen species of gymnosperms. Svensk Papperstid. **69**, 547 (1966).
- 8) ———, A. C. DAY, N. P. KUTSCHA and T. E. TIMELL: Ditto, V. Nature of compression wood formed in the early spring wood of conifers. Holzforschung, **21**(6), 180 (1967).
- 9) ———, ———, and T. E. TIMELL: Ditto, VII, Distribution of lignin in normal and compression wood of Tamarack. Wood Sci. Technol. **2**(1), 13 (1968).
- 10) PARHAM, R. A. and W. A. CÔTÉ, Jr.: Distribution of lignin in normal and compression wood of *Pinus taeda* L., Wood Sci. Technol. **5**, 49 (1971).
- 11) LANGE, P. W.: The distribution of lignin in the cell wall of normal and reaction wood from spruce and a few hardwoods. Svensk Papperstid. **57**, 525 (1954).
- 12) WARDROP, A. B.: The phase of lignification in the differentiation of wood fibers. Tappi **40**, 225 (1957).
- 13) WERGIN, W.: Über Entstehung und Aufbau von Reaktionsholzzellen 4. Mitt.: Nachweis der Ligninverteilung in den Zellwänden des Druckholzes durch Untersuchungen im UV-Licht. Flora, Abt. A, **156**, 322 (1965).
- 14) SCOTT, J. A. N., A. R. PROCTER, B. J. FERGUS and D. A. I. GORING: The application of ultraviolet microscopy to the distribution of lignin in wood. Description and validity of the technique. Wood Sci. Technol. **3**, 73 (1969).
- 15) FERGUS, B. J., A. R. PROCTER, J. A. N. SCOTT and D. A. I. GORING: The distribution of lignin in sprucewood as determined by ultraviolet microscopy. Wood Sci. and Tech. **3**, 117 (1969).
- 16) ———, and D. A. I. GORING: The location of guaiacyl and syringyl lignins in birch xylem tissue. Holzforschung **24**(4), 113 (1970).
- 17) ———, ———: The distribution of lignin in birch wood as determined by ultraviolet microscopy. Holzforschung **24**(4), 118 (1970).
- 18) WESTING, A. H.: Formation and function of compression wood in gymnosperms II. Botanical Review **34**, 51 (1968).
- 19) 深沢和三: トドマツ傾斜苗木の直立化と材形成過程. 北大農演報, **30**(1), 103 (1973).
- 20) 串田 弘: 電子顕微鏡の試料作製法. ニュー・サイエンス社, 東京 (1971).
- 21) TIMELL, T. E.: Studies on opposite wood in conifers Part II: Histology and ultrastructure. Wood Sci. Technol. **7**: 79 (1973).
- 22) ———: Ditto, Part III: Distribution of lignin. Wood Sci. Technol. **7**, 163 (1973).
- 23) WILSON, J. W. and R. W. WELLWOOD: Intra-increment chemical properties of certain western canadian coniferous species. in "Cellular ultrastructure of woody plants" (W. A. CÔTÉ, Jr. Ed.) Syracuse Univ. Press (1965).
- 24) 諸星紀幸・榊原 彰: アテ材リグニンの化学構造について (I), (II). 木材誌, **17**, 393-404 (1971).

### summary

Lignin distribution in compression- and lateral- (side) wood of *Abies sachalinensis* Mast. was studied quantitatively by the use of an ultraviolet (UV) microscope photometer (Carl Zeiss/West Germany, Type MPM 01). In the lateral wood, the vanishing process of typical compression wood cells was observed in detail across the annual ring by UV microphotographs. The lignin concentration and content in the wood were estimated quantitatively by the densitometric analysis of the negatives, and by spot measurements of the transmittance of  $0.5\ \mu$  transverse sections in UV light. The symbols and abbreviations in this report are as follows: S1—Outer layer of secondary wall; S2—Middle layer of secondary wall; S2(L) or S2(outer)—Outer part of S2 in compression wood; S2(inner)—Inner part of S2 in compression wood; S3—Inner layer of secondary wall; ML—Middle lamella; ML(cc)—Cell corner region of middle lamella; ML(t,r)—Tangential and radial compound middle lamella; C—Concentration of lignin; D—Silver density of negatives; A—Absorbance obtained through the measurement of a microscope spectrophotometer.

### Samples

As shown in Photos 1 and 2, small specimens containing the whole of an annual ring, which were collected from compression-, lateral- and opposite wood in the experimental disk, were embedded in Epon by general techniques. Ultrathin sections ( $0.5\ \mu$ ) were cut from these specimens with a glass knife and mounted on quartz cover-slips, using glycerin as the immersion fluid.

### UV microphotographs

Microphotographs taken on ordinary commercial film at a wavelength of  $280\ m\mu$ , were displayed in Photos 3~32. They represented details of UV absorption on the images at all stages in the transition from compression wood to normal wood. In the compression wood tracheids, a thick, low absorbing S1, a high absorbing region of S2(L) and a low absorbing region of inner part of S2 are revealed as their characteristics by UV absorption. In the transition from compression- to normal wood, the tracheids were classified into the following types according to the morphological and histochemical features. A type (typical compression wood): Round in outline, large intercellular space, thick S1, S2(L) circulates around the cell, inner part of S2 having helical cavity (ex. Photo 7). B type: Square in outline, becoming round in the cell corner, thick S1, S2(L) widening in the cell corner and narrow or vanishing between the two cell corners (ex. Photo 6). C type: Outline of tracheid almost same as normal wood, thick S1 and S2(L) are restricted their presence within narrow limit of the cell corner (ex. Photo 21). D type: Normal wood. Terminal cells (last-formed cells) which were flat in outline were classified by another criteria. a type: Round in the cell corner, thick S1 and notable S2(L) (ex. Photo 9). b type: Angular in outline, S1 and S2(L) restricted in their presence within the narrow limit of the cell corner (ex. Photo 18). c type: Normal wood. First-formed earlywood cells in an annual ring of the compression wood were not represented as A type but as B type. Thus, the compression wood cells vanished little by little from early-formed cells in an annual ring

and became transformed gradually into the normal wood approaching the lateral side. Simultaneously, they also disappeared from terminal (last-formed) cells. On the border of the compression wood at lateral side, the cells of C type were observed in the middle part of an annual ring.

#### Densitometric analysis of the negatives

The silver density of the negatives was determined with a recording microdensitometer (Ōyo Denki, Photopattern Analyzer, Model PPA-250) and was calibrated by standard density scale film. The density profile across a tracheid double cell wall in the position of II-4 is given in Fig. 1 (1~6). From the values of the density of various regions ( $D_{ML}$ ,  $D_{S2}$  etc) and lumen ( $D_L$ ), relative lignin concentrations may be calculated by the equation of SCOTT et al. (Table 1). While as another analysis of the negatives, colour conversion and planimetry of iso-density areas corresponding to the different levels of shade in the images were executed by the use of an analyzer of photographic image by colour (Kimoto, Phosdac 1000). As a result, volume fractions which correspond to the relative absorbance 1:2:3 are obtained by this instrument and were given in Table 4 of each of the cell types. The S2 of normal wood and the inner part of the S2 of compression wood were arranged to include the low absorbance part of the above three fractions by the adjustment of this instrument. Therefore, it was estimated that the ratio of the volume fraction, S2: ML(t, r): ML(cc) was 80:15:5, because ML(t, r) and ML(cc) correspond to the medium and high absorbance parts respectively in normal wood. In compression wood, the volume fraction of the inner part of S2 ranged from 70% to 45% according to the cell types. The variations of the volume of solid substance and the volume of S2 fraction in the wood were shown in Fig. 2.

#### UV absorbance by photometric measurement

Absorbance at 280 m $\mu$  wavelength was measured in 0.63  $\mu\phi$  spot area of S2, S2(L) and ML(cc) of 10 cells in each of the measuring point by the microscope photometer. Variations across the annual ring and mean values of an annual ring in each of the sampling positions are given in Fig. 2 and in Table 2. From the absorbance values of compression wood (II-1~3) and normal wood in Table 2, it might be concluded that the lignin concentrations of compression wood were about 1.2 times that of normal wood. And it was given that the ratio of lignin concentration of S2:S2(L):S1; ML(t, r):ML(cc) were 1.0; 1.6:1.1:1.9:2.5.

#### UV absorption spectra

In compression- and normal wood, UV spectral curves of an average of 5 cells are shown in Fig 3. The UV spectrum of S2, S2(L) and ML(cc) gave the same as that of guaiacyl lignin, and exhibited no difference between compression- and normal wood.

#### Estimation of lignin content of the wood

From the preceding relative lignin concentration and fraction of the iso-absorbance area, if the value of the lignin concentration of the S2 is given, it should be possible to estimate the lignin content of the wood. In the opposite direction, if the value of lignin content of the wood is given, it would be possible to calculate the lignin concentration of the S2. So, in the latter way, FERGUS et al. obtained the value of 0.225

g/g, as the weight concentration of lignin of the secondary wall in earlywood. In this report, the lignin content of the wood was calculated on the assumption that the lignin concentration of the S2 of normal wood was 0.22 g/g. The results of calculation are given in Tables 3 and 4. Depending on the cell type from compression- to normal wood, the lignin content of the wood ranged from 46% to 29%, and 26%~70% of the total lignin were located in the S2 or inner part of S2 region.