



Title	カラマツ(<i>Larix leptolepis</i> GORD.)仮道管の木化経過に関する研究
Author(s)	今川, 一志; IMAGAWA, Hitoshi; 深沢, 和三 他
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 33(1), 127-138
Issue Date	1976-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/20958
Type	departmental bulletin paper
File Information	33(1)_P127-138.pdf



カラマツ (*Larix leptolepis* GORD.) 仮道管の 木化経過に関する研究*

今川一志** 深沢和三** 石田茂雄**

Study on the Lignification in Tracheids of Japanese
Larch, *Larix leptolepis* GORD.

By

Hitoshi IMAGAWA, Kazumi FUKAZAWA
and Shigeo ISHIDA

目 次

I. はじめに	127
II. 実験方法	128
III. 結果および考察	129
1) 木化の開始	129
2) リグニン濃度の増加	132
IV. おわりに	134
V. 摘 要	135
文 献	136
Summary	136
Explanations of Figures	138
Plates (1-4)	

I. はじめに

樹木の木部形成経過については、多くの研究が行なわれており、著者⁷⁾らもカラマツの年輪形成および樹幹肥大の経過を巨視的、季節的に数量化することを試み、若干の成果を得た。その際、仮道管個々の分化・成熟過程についても観察を進めた。しかし、後者に関しては通常の光学顕微鏡観察を主体とした事情もあり、精細な知見を得るには至らなかった。特に、その最終段階として重要な意味をもつと考えられる木化過程の観察は十分に行なわれたとは言えず、

* 1975年6月30日受理

内容の大略は第25回日本木材学会大会(福岡, 1975)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.

将来の研究課題として残されていた。

従来、形態学的な領域での木化の研究は種々の染色法¹⁴⁾を用いて行なわれることが多かったが、その染色条件や染色特性などの問題点が多くあり¹⁾、研究を進める上で一つの障害となっていた。一方、リグニンは特定の紫外線域に対し特異的な吸収を示す。たとえば、280 m μ 波長に対し強い吸収を示すので、紫外線顕微鏡(以下ではUV顕と記す)は木化に関する研究に非常な威力を発揮する。すでに、GORINGら^{2,3,4,12,15)}、深沢⁵⁾はUV顕で細胞壁中のリグニン分布について研究し、多くの貴重な成果を得ている。ただし、これらの研究は完全に成熟した細胞について行なわれたものであり、木化の進行中の細胞については研究されていない。

以上の点から、著者らは既報⁷⁾からの継続の意味を含めて、カラマツ仮道管の木化経過をUV顕で研究し、若干の成果を得たのでここに報告する。

分化・成熟段階にある細胞の木化経過についての研究は極めて少なく、WARDROP(1971)¹⁴⁾の木化についての最近のレビューによっても、今までのところ *Pinus radiata* の仮道管について WARDROP(1957)¹³⁾が行なったもの以外はほとんどない。最近、SCHWARZMANN・KUTSCHA(1973)¹¹⁾が balsam pir の分化中の仮道管について電顕で研究した結果を報告しているが、予報的なものに留まっており、十分に解明されたとは言えない。したがって、細胞壁の木化経過自体についてもまだ明らかになっていない点が多くあるものと考えられ、多くの精細な研究が必要である。また、樹種的にみても、針葉樹の極く一部について研究されているにすぎず、広葉樹については全く研究されていない。そのため、これからは多くの樹種、特に広葉樹についての調査・研究が進められねばならない。

しかしながら、本研究では前述したように、ここではカラマツ仮道管に注目し、その木化経過をできるだけ詳細に明らかにすることとし、樹種的な面については今後の課題としたい。

なお、この研究の実施の一部は昭和49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)によって行なわれた。

II. 実験方法

供試木として北海道大学構内苗畑に植栽されていた10数年生のカラマツ (*Larix leptolepis* GORD.) が選ばれた。1974年4月から10月までの毎月の上旬と下旬に、その樹幹から試料が打抜かれた⁷⁾。試料はFAA液(エチルアルコール、水、酢酸、ホルマリン、60:30:5:5)で直ちに固定された。固定後、試料は細分(2mm角ぐらい)され、常法通りエチルアルコール系列で脱水後、エポキシ樹脂で包埋された。その試料から、ウルトラマイクロトーム(LKB, Ultratome-III)でガラスナイフを用い、0.5 μ 厚の薄切片(主に横断面切片)が作成された。

その薄切片は石英製のスライドガラス上で乾燥され、接着された。なお、予備実験から、切片中にエポキシ樹脂のない方が、木化の始まったばかりの仮道管壁(極く弱いUV吸収しか示さない)の観察には適していることが見出された。したがって、切片は10%ヨウ素アセトン

で脱包埋され、グリセリンで石英製カバーガラスを用いて封入された。

UV 顕 (Carl Zeiss, MPM-01) での写真撮影は 280 m μ 波長, バンド幅 5 m μ で行なわれ、フィルムは通常の市販品 (フジフィルム, Neopan SS) が用いられ、現像は常法通りに行なわれた。このようにして撮影された一部のフィルムの濃度が測定され、仮道管壁層中のリグニン量の増加という、木化経過の定量的な研究も予備的ではあるが試みられた。フィルム濃度の測定はマイクロフォトメーター (ナルミ, NLM-VII) で、スリット幅 30 μ (拡大撮影のため、実際の試料面では 0.06 μ 幅) で行なわれた。

なお、UV 顕用の切片は非常に小さく、その観察結果は局部的なものにならざるを得ない。そのため、試料の一部はセロイジンでも包埋され、切片 (10~15 μ 厚) が作られ、サフランインとファストグリーンで 2 重染色され、通常の顕微鏡で観察された。それらは UV 顕での観察結果を検討する際の参考とされた。

III. 結果および考察

一生長期にわたって、試料が採取された結果、各時期での仮道管の新生、分化の状態などについて詳細に観察することができた。カラマツの形成層活動 (細胞分裂) は春材仮道管が形成されている 5 月下旬から 6 月中が最も盛んであり、多数の細胞分裂が見られ、表面生長や 2 次壁形成や木化などの各分化段階にある仮道管も数多く観察された。その後、夏材仮道管が形成され始めるにつれ、形成層活動は次第に緩やかになり、分化中の仮道管数も少なくなっていく。

形成層活動が季節的な変化を示す結果、それに応じて分化段階の細胞数も変化することはよく知られている⁷⁾。したがって、その影響は木化を始めた細胞の形成層からの距離 (細胞数) にも表われる⁷⁾。カラマツの 1 例を挙げると、Fig. 1 では形成層から 12 番目の仮道管で木化が始まっているが、Fig. 3 では 3~4 番目ですでに始まっている。

このように、季節によって、木化を始めた仮道管の位置はかなり異なったが、それらを詳細に観察しても個々の細胞の木化の進み方自体には相違を見出し得ず、同一の経過をとると考えられた。WARDROP (1971)¹⁴⁾ も仮道管の木化経過はその形成時期にかかわらず同じ経過をとるものと考えている。したがって、仮道管の木化経過に対する季節的な影響をほとんど無視しても差し支えないと考えられるので、以下では各時期の多くの試料を観察して得られた結果をとりまとめ、カラマツ仮道管の木化経過を説明することにする。なお、結果は、1) 木化の開始、2) リグニン濃度の増加、の 2 点に分けて述べることにする。

1) 木化の開始

一般的に、新生細胞の分化経過 (成熟経過) は表面生長、2 次壁形成、木化、の各段階に分けて扱われることが多いが、実際には各段階は互いに重複しており、厳密に分けることは不可能である⁷⁾。木化も 2 次壁形成の開始後に始まり、壁形成の進度に幾らか遅れながら並行して進むと考えられている。

カラマツ仮道管の場合も、 S_1 層の形成開始の方が早く、 S_1 層の形成が始まった仮道管から2~3番目のもので初めて木化が始まっていることが多かった (Fig. 3, 4)。

分化中、特に S_1 層が形成され始めた仮道管を形成層から順番に見ていくと、何番目かで Fig. 1, 2, 3 の矢印で示されるような UV 吸収点 (写真上では黒い点) が見出された。このような吸収点は、それが見出された仮道管よりも形成層側のものには認められず、またそれよりも材部側にあるとさらに分化の進んだ仮道管では、この吸収点から壁層中へと UV 吸収部が進展していた (Fig. 1~6)。したがって、ここでは、この UV 吸収点の出現をもって、その仮道管の木化が始まったものとし、その出現部位やその点からの吸収部の進展の仕方などについて観察を進めた。

この吸収点の仮道管での出現部位、すなわち木化開始部位は、その仮道管のコーナー部の細胞間層 (ほぼひし形をしていることが多い) と、接線または半径壁の細胞間層とが出合う点と判断された (Fig. 1, 2 の矢印)。

カラマツ仮道管の木化はコーナー部の細胞間層で始まったが、*Pinus radiata*¹³⁾ ではコーナー部の1次壁中で、また *balsam fir*¹¹⁾ ではコーナー部の1次壁の外周部またはコーナー部の細胞間層で始まったと報告されている。3樹種ともコーナー部で始まる点については一致した観察結果である。しかし、さらに詳しい点については異なっている。

この相違は樹種が異なるためとも考えられるが、実験・観察方法がそれぞれ異なっている点も考慮する必要がある。 *Pinus radiata*¹³⁾ は UV 顕と電顕で、*balsam fir*¹¹⁾ は電顕だけで観察されている。UV 顕は通常の光顕よりも高い分解能を持っているが、電顕には及ばない。一方、電顕では過マンガン酸カリ染色¹⁾が必要であるが、UV 顕では直接観察することができる。したがって、これからはカラマツについても、UV 顕とともに電顕をも併用し、さらに詳細な研究の進展が必要であろう。また、ラジオアイソトープを用いて、木化経過を光顕レベル¹⁰⁾、電顕レベル⁶⁾で追求する形態学的な面と生化学的な面とを結びつけた研究法も有効であろう。このように、観察手段についての問題点は残ってはいるが、ここではカラマツ仮道管の木化はそのコーナー部の細胞間層で始まると考え、さらにその経過を追求した。

通常、カラマツ仮道管の横断面には数個のコーナー部がある。その仮道管の木化が始まった場合、その仮道管のすべてのコーナー部に点状の UV 吸収部が見出された (Fig. 1)。後述するように、それとは異なる例も認められたが、基本的には複数個のコーナー部で同時に木化が始まるように思われる。ただし、SCHWARZMANN KUTSCHA (1971)¹¹⁾ は形成層から遠いコーナー部の方が近いものよりも早く木化を始めると報告している。

基本的にはすべてのコーナー部で同時に木化が始まると考えたが、そうではない場合も観察された。すなわち、その仮道管が放射組織に隣接している場合、その仮道管の数個のコーナー部のうち放射組織に接しているものは、その反対側の接していないものよりも早く木化が始まっている例も認められた (Fig. 2)。

Fig. 2において、写真の右端に放射組織があり、それに接して4個の仮道管が見られる。それらの仮道管の上方2個(細胞番号8と9)のコーナー部では、放射組織に接しているものには明らかにUV吸収点が認められ、木化が始まっていることがわかる。一方、両仮道管ともそれとは反対側のコーナー部にはUV吸収点は認められず、いまだ木化は始まっていない。また、下方の2個の仮道管(細胞番号10と11)のすべてのコーナー部では木化が始まっている。このように、放射組織に接しているコーナー部では接していないものよりも木化は早く始まるものの、接していないコーナー部の木化開始が極度に遅れる訳ではなく、その差はわずかなものであることも推定される。

同様な現象はbalsam firでも観察されており¹¹⁾、樹種的な広がりを持つ現象とも考えられる。また、ここでは詳細には述べないが、カラマツの放射柔細胞の木化は仮道管のそれとは同時的には進まず、幾分異なる経過を示すらしい(Fig. 5)。放射組織の構造・機能を考えると、このような現象をリグニン前駆物質などの放射組織中の流れと関連させて説明することも可能であるかも知れず、非常に興味ある現象と言える。したがって、今後は放射組織自体の木化経過を明らかにするとともに、それとの関係から仮道管の木化経過をさらに追求しなければならないと考えている。

また、コーナー部の木化開始と同じぐらい早くに有縁壁孔の壁孔縁の木化が始まっていることも観察された(Fig. 1の2重矢印)。一方、その例は示さないが、有縁壁孔膜(壁)は少なくとも当年生部ではUV吸収を示さなかったため、木化は進行しないと考えられる。このように、有縁壁孔の木化も特異な経過を示すので、種々の論議がなされ得るが、ここでは単にその現象を報告するだけとし、その機作については今後の研究に待つことにしたい。*

カラマツ仮道管の木化はその開始点から、細胞間層に沿って進むと同時に、壁中へも進展して行った。先ず、その開始点からコーナー部の細胞間層中を1次壁に沿って進み次に半径および接線壁の細胞間層へと進み、それとともにそれぞれの壁中へも進んだ(Fig. 6, 7)。半径および接線壁への木化の進み方には相違は見られず、同じように進むものと考えられる。しかし、balsam fir¹¹⁾では、木化は形成層とは反対側の接線壁に進み、次に両半径壁に、最後にもう一つの接線壁に進むと報告されている。また、前述したように、放射組織に接している半径壁の木化は早いことも観察されている。

カラマツの有縁壁孔の壁孔縁は早くから木化するにもかかわらず、それと同時にその壁孔膜(壁)は木化しないと言う特異な木化経過を示すことは前述した。このような木化経過を示す有縁壁孔の大部分は仮道管の半径壁上にある。その結果、接線壁に比べ半径壁の構造は複雑

* 投稿中に、KUTSCHA・SCHWARZMANN (Holzforschung, 1975, 29 (3)) による balsam fir の仮道管の木化経過についての研究が報告された。それによると、balsam fir の仮道管の木化は、有縁壁孔対をなしている両方の initial pit border が相接している部分の細胞間層で初めに始まり、その後 initial pit border と cell corner で始まるとされている。コーナー部の場合、木化が細胞間層から始まるのか、1次壁から始まるのかを結論することはできないと記している。

になり、その木化経過もかなり混み入ったものになろう。このような点から、半径壁と接線壁とにおいて、木化の進み方に見かけ上の相違が見出されたとしても、それは壁孔が存在することによる影響や、放射組織との関係¹¹⁾などによるものであり、基本的には相違はないものと考えたい。

次に、壁中での木化の進み方であるが、それはその外周部(細胞間層側)から内こうへ向かい求心的に進み、横断面切片で見るとその進み方に局部的な相違は認められず、同心円的に進展していった(Fig. 3)。しかし、木化がある程度進んだ仮道管のコーナー部では、幾分異なる不均一な進み方も観察された。

Fig. 8にその例が示されているように、コーナー部において、UV吸収の異なる帯状部がしばしば観察された。これは細胞間層とS₁層に比べ、1次壁¹¹⁾の木化が遅れることによるものと考えたが、その仮道管の木化が進むにつれて次第に認められにくくなった。なお、後述するように、フィルム濃度測定の結果からはそのような帯状部はあまり明らかではなかった。

2) リグニン濃度の増加

成熟した細胞壁中のリグニン分布は spruce²⁾, birch⁴⁾, Douglas fir¹⁵⁾, トドマツあて材⁵⁾などについてUV顕を用いて研究されている。一方、分化段階の細胞壁中のリグニン分布(リグニン沈着経過)はほとんど研究されておらず、*Pinus radiata*¹⁴⁾で若干の情報が得られているに過ぎない。木化経過の知見を深めるためには、本研究の前項で扱ったようなその経過の定性的な情報とともに、実際のリグニン沈着量の変化経過(増加し、完了するまで)を具体的に示す定量的な情報も同様に重要である。ここではそのための予備的とも言える試みを行なったので、その結果を述べることにする。

測定は7月25日に採取した試料の一部について行なわれた。その横断面切片中の半径方向細胞列中から、形成層から前年度年輪界まで大径の仮道管断面が連続する半径列を一系列選び、その列中の仮道管(大体5つ毎)の接線壁を280 m μ 波長で撮影した。その接線壁のフィルム濃度をマイクロフォトメーターで測定した。測定は1つの仮道管の内こうから、接線壁、次の仮道管の内こうまでそのフィルム上を走査して行なわれた。

測定結果の典型的な例と考えられるものがFig. 9~12で、濃度曲線の下には測定した接線壁のUV写真が示されており、それには測定部位も印されている。各濃度曲線の横軸は仮道管内こうの濃度を、さらに下の横線の長さは接線壁の厚さと細胞間層の位置を示す。また、数字は表面生長(半径方向への拡大)を基準として分化段階に入ったと判断した仮道管から数えた番号であり、その番号の大きなもの程、形成層から離れ、より分化の進んだ仮道管である。

縦軸はフィルム濃度である。この濃度値からScottら(1969)¹²⁾の方法により、細胞壁のUV吸収度に換算することも可能である。ただし、紫外線照射量とフィルム濃度との関係(γ 値)が確認できなかったので、ここでは相対的なフィルム濃度を図に示すだけにし、UV吸収度への換算や、その結果として求められるリグニン量の算出については、これからの課題としたい。

しかしながら、フィルム濃度はUV吸収度にほぼ対応するので、これらの濃度曲線からリグニンの沈着経過を相対的に推定することは差し支えないと考えられる。

測定したこの半径細胞列においては、実際には4番目の仮道管から木化が始まっていた。5番目の仮道管ではすでに壁層中へ木化が進んでおり、Fig. 9に示されている9番目と10番目(以下、9-10と表わす)の接線壁では木化はある程度進んでいた。さらに、15-16の接線壁では、木化はさらに進行し、細胞間層およびその近くの壁中のフィルム濃度はかなり高くなっている(Fig. 10)。しかし、その内こう近くの形成されたばかりの2次壁の濃度は非常に低く、細胞間層付近とは著しい相違を示している。また、15番目の仮道管の接線壁と16番目のそれとでは、細胞間層からそれぞれの内こうへ向う濃度曲線の傾斜は明らかに異なる経過を示している。16番目ではかなり緩やかな傾斜であるが、15番目の傾斜は急である。この相違は、16番目の方が木化がより進んでいることによると考えられる。したがって、このような分化段階にある仮道管では、互いに隣接していたとしてもそれぞれの木化の進行度合はかなり相違するものと思われる。

19-20の接線壁では(Fig. 11)、15-16の場合に比べてみても、細胞間層の濃度が著しく増加しているとは言えない。しかし、壁中の濃度曲線には明らかに相違が認められ、リグニン沈着量の増加したことがわかる。また、この仮道管においても、2次壁中の内こう付近の形成後あまり時間のたっていない部分ではまだ木化は始まっていない。そのため、壁中の濃度傾斜はさらに急激である。

さらに、壁中において、その細胞間層付近の部分の濃度がほぼ一定であり、それよりも内こう部分の傾斜は急である。その結果、曲線はスムーズな傾斜を示さず、いわゆる“肩”が認められ、その部分ではリグニン沈着が終了したかのように見える。しかし、実際に壁中に濃度傾斜も見られなくなり、木化が完了したと考えられる仮道管は30番目ぐらいからであり、その場合の濃度はもう少し高かった(Fig. 12)。そのため、ここではこの“肩”の部分を木化の完了した領域とは見なさなかったが、その意味することを若干検討してみた。

Wuら(1967)¹⁶⁾によれば、カナダ産の5種の針葉樹の年輪内でのリグニン分布はすべて春材の方が夏材よりもリグニン含有率は高く、年輪内傾斜のあることが見出されている。また、FERGUSら(1969)²⁾もspruceの春材仮道管の2次壁は夏材仮道管のそれよりもリグニン量の高いことを見ている。したがって、19と20番目の仮道管が夏材またはそれに近い部分であるなら(木化の完了と見なしたFig. 12の仮道管は春材または、それにより近いので)、Fig. 12の仮道管壁の濃度よりも低い値で木化の完了が示されよう。この仮定が受け入れられるなら、Fig. 11の“肩”の部分は木化の完了を意味することになる。その場合には、壁中の木化は細胞間層側から部分的に、順次終了して行くと考えられ、壁全体が同時に終了するのではないと論ぜられよう。

このように、壁中の木化の進み方と同時に、それが終了する段階も非常に興味ある点と言

える。しかし、本研究では1半径列だけの測定であり、この“肩”について数多く調べることはできなかった。そのため、木化の終了段階については結論を出すには至らなかったもので、ここでは19-20の接線壁はまだ木化中であると考えておくことにする。

上述したように、30番目以降の仮道管壁中には濃度傾斜は見られなくなり、ほぼ一定の値を示すようになった。その一例がFig. 12であり、細胞間層および仮道管壁の濃度はいずれも9-10, 15-16, 19-20のものよりも高い値を示している。特に、仮道管壁中の濃度傾斜はまったく認められず、少なくとも2次壁中のリグニン分布は均一²⁾であることが示されている。

以上の結果、カラマツ仮道管壁中のリグニン沈着は細胞間層側から内こうへ向い、求心的に進展して行くことが明らかになった。また、2次壁形成直後の壁中へ直ちにリグニンが沈着し始めるのではなく、それよりも幾分時間の経過した部分で初めて木化が始まることが測定結果からも確かめられた。さらには、細胞間層および壁中でのフィルム濃度は時間とともに増加していることも見られた。したがって、初めからその部位でのリグニン量の100%が沈着するのではなく、次第にリグニンが追加されてゆく、継続的な沈着過程¹⁴⁾をとると考えらえる。ただし、上述したように、壁中の木化の完了の仕方についてはまだ明らかではなく、今後の問題として残された。また、沈着が完了するまでの時間については特に追求はしなかったが、前述したように形成層活動の季節的变化に由来する影響はある程度受けるものと推定されよう。

なお、上に示したいずれの濃度曲線にも仮道管内こうとその壁との境界部に顕著なピークが認められた。Fig. 9~11に示された仮道管は分化中なので、2次壁形成または木化などに関与している酵素的成分による吸収と考えることもできる。しかしながら、ここではその写真を示さなかったが、酵素的成分がもっと豊富であると考えられる細胞質のUV吸収はもっと強く、Fig. 9~11の境界部にはそれと考えられるようなものは認められない。さらに、測定された切片は脱包埋処理が施されており、このような処理によっても酵素的成分がそのまま残っているとは考えられない。したがって、このピークは壁層と、封入に用いたグリセリンとの境界で生じた人偽像¹²⁾と考えられる。ただし、S₃層のリグニン量が高いとの報告⁸⁾もあるので、Fig. 12の場合のピークを単に人偽像とみなすだけでなく、S₃層の影響をも考慮しなければならないであろう。FERGUSら(1969)²⁾はspruce仮道管の2次壁中のUV吸収は均一であると報告している。

IV. おわりに

本研究の結果、カラマツ仮道管の木化経過はかなり明らかになったが、今後の研究に待たねばならない点も多くあった。特に、木化の開始については多くの問題が残っている。

前述したように、本研究では仮道管の1横断面だけについて観察し、結論を求めた。しかし、実際の仮道管は軸方向に極めて長い形状であり、1断面だけでは十分とは言えず、その仮道管全体にわたるような観察が必要であろう。そのような観点から、本研究でも、仮道管の縦

断面壁(柾目面切片)について観察を試みた。観察例の少ないこともあったが、縦断面壁上にコーナー部を確認することはほとんど不可能であり、成果は得られなかった。したがって、これからは連続横断面切片での観察を進め、1個の仮道管全体としての木化開始を追求しなければならないと考えている。また、放射組織との関係についても同様な観点からの研究が必要であらう。

また、木化に関する研究において、UV 顕が非常に有効な研究手段であることはよく知られており、本研究でもその威力を発揮した。上述したように、今後は多量の切片についての観察が必要になる。その点についても、切片が比較的厚くても差し支えないこと、リグニン染色の手間が省けること、さらには、その観察結果を通常の光顕観察結果と対応させることが容易であること、などの点で UV 顕は大きく貢献するものと思われる。また、ここでは予備的な段階に終わったが、リグニン量の増加経過を定量的に示し得る点でもその可能性は大いに期待される。

ただし、分解能の点では電顕にははるかに及ばないので、より精細な観察が必要な場合には電顕の併用も考える必要がある。

V. 摘 要

カラマツ (*Larix leptolepis* GORD.) 仮道管の木化経過が紫外線顕微鏡を用いて研究された。10 数年生のカラマツ生立木樹幹から、1 生長期にわたり (1974. 4~10) 試料が採取された。試料は FAA 液固定後、エポン包埋され、切片が作成 (0.5 μ 厚) された。280 m μ 波長で写真撮影がなされ、観察が進められた。また、予備的ではあるが、リグニンが壁中へ沈着して行く経過についても、フィルム濃度測定から推定された。

以上の結果、S₁ 層の形成の始まっている仮道管のコーナー部の細胞間層から木化が始まり (Fig. 1, 3, 4), そこから細胞間層や壁中へ木化が進展して行くことが示された (Fig. 6, 7)。その際 1 個の仮道管に複数個あるコーナー部はすべて同時に木化を始めることも観察されたが、放射組織と接しているコーナーが早い例も見出された (Fig. 2)。また、有縁壁孔縁の木化が早いことも示された (Fig. 1)。壁中へのリグニン沈着は細胞間層から内こうへと求心的に、2 次壁形成に幾分遅れて進むことが観察され (Fig. 3), 測定され (Fig. 9~12), 継続的な経過であることが示された。その経過中に、コーナー部の 1 次壁の木化は幾分遅れることも示された (Fig. 8)。

今後の問題として、仮道管の木化と放射組織の木化とがどのような関係にあるのかを明らかにすること、仮道管の形状に応じた観察法が必要なこと、リグニン沈着経過を本格的に研究しなければならないこと、などが示唆された。また、木化に関する研究において、今後も UV 顕は有効に用いられるであろうことも述べられた。

文 献

- 1) BLAND, D. E., R. C. FOSTER and A. F. LOGAN: The mechanism of permanganate and osmium tetroxide fixation and the distribution of lignin in the cell wall of *Pinus radiata*. *Holzforschung*, 1971, **25**, 137-143.
- 2) 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. Technol.*, 1969, **3**, 117-138.
- 3) FERGUS, B. J. and D. A. I. GORING: The location of guaiacyl and syringyl lignin in birch xylem tissue. *Holzforschung*, 1970, **24**, 113-117.
- 4) FERGUS, B. J. and D. A. I. GORING: The distribution of lignin in birch wood as determined by ultraviolet microscopy. *ibid.*, 1970, **24**, 118-124.
- 5) 深沢和三: 紫外線顕微鏡観察によるトドマン圧縮あて材及び側方材細胞壁のリグニン分布. 北大農演研報, 1974, **31**, 87-114.
- 6) 藤田 稔・佐伯 浩・原田 浩: オートラジオグラフィ法による圧縮あて材仮道管壁の分化過程の観察. 日本木材学会大会発表要旨集(第25回, 福岡) 1975.
- 7) 今川一志・石田茂雄: 樹木の木部形成に関する研究(I). 北大農演研報, 1970, **27**, 373-394.
- 8) PARHAM, R. A. and W. A. CÔTÉ, JR.: Distribution of lignin in normal and compression wood of *Pinus taeda* L.. *Wood Sci. Technol.*, 1971, **5**, 49-62.
- 9) SACHS, I. B., I. T. CLARK and J. C. PEW: Investigation of lignin distribution in the cell wall of certain wood. *J. Poly., Sci.*, 1963, part C, No. **2**, 203-212.
- 10) SALEH, T. M., L. LENEY and K. V. SARKANEN: Radioautographic studies of cottonwood, Douglas fir and wheat plants. *Holzforschung*, 1967, **21**, 116-120.
- 11) SCHWARZMANN, J. M. and N. P. KUTSCHA: Preliminary observation on lignification in tracheids of balsam fir. 31st Ann. Proc. Electron microscopy Soc. Amer., New Orleans, 1973.
- 12) 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.*, 1969, **3**, 73-92.
- 13) WARDROP, A. B.: The phase of lignification in differentiation of wood fibers. *TAPPI*, 1957, **40**, 73-92.
- 14) WARDROP, A. B.: Occurrence and formation in plants. in *Lignins*, Ed by K. V. SARKANEN and C. H. LUDWIG, New York, Wiley-Interscience, 1971.
- 15) WOOD, J. R. and D. A. I. GORING: The distribution of lignin in stem wood and branch wood of Douglas fir. *Pulp & Paper Mag. Can.*, 1971, **72**, T 95-102.
- 16) WU, Y-t and J. W. WILSON: Lignification within coniferous growth zone. *Pulp & Paper Mag. Can.*, 1967, **68**, T 59-164.
- 17) YENSEN, J.: Removal of epoxy resin from histological sections following halogenation. *Stain Technol.*, 1968, **43**, 344-346.

Summary

A study was carried out to determine the lignification sequence in Japanese larch (*Larix leptolepis* GORD.) tracheids using ultraviolet microscope, and to compare the result with the known sequence in *Pinus radiata*^{13,14)} and *Abies balsamea*.¹¹⁾ Throughout one growth season (Apr.—Oct., 1974), small specimens contained cambium were removed from about 10-year old trees grown at the nursery in the campus of Hokkaido Univer-

sity, Sapporo. The specimens were fixed in FAA solution and embedded in epoxy resin. Sections of 0.5 micron in thickness were cut transversely by an ultramicrotome (LKB Ultratome III) with a glass knife. Removal of the epoxy resin from the section was done by the method of YENSEN (1968)¹⁷⁾. The sections were mounted on quartz slide glasses with quartz cover glasses, and examined under the ultraviolet microscope (Carl Zeiss, West Germany, Type MPM-01)⁵⁾.

The photographs were taken on an ordinary film (Neopan-SS, Fuji Film Co.), using the wavelength of 280 milli-microns and were first examined to obtain general tendency for lignification sequence in larch tracheids. Furthermore, progressive deposition of lignin in the wall of the differentiating tracheids of this species was quantitatively examined; the silver density of the negative films on which the transverse section of the tangential walls was photographed at 280 milli-micron wavelength was determined with a micro-photometer (Narumi, Type NLM-VII).

It was confirmed that the pattern of lignification of larch tracheids remained substantially constant irrespective of growth conditions through the annual cycle of growth¹⁴⁾. In the formation stage of S-1 layer of cell wall (Fig. 3, 4), lignification was usually first detected in a small spot at the intercellular layer in the cell corner, and this was found to begin simultaneously in all the corners of a particular tracheid (Fig. 1). As early as cell corners, lignification also began in the pit border (Fig. 1, double arrow). When a tracheid was adjacent to a ray, however, the cell corners of the tracheid immediately next to the ray were first observed to have a lignified cell corners (Fig. 2), probably suggesting a particular meaning of ray cells to the lignification. And then, lignification extended along both the radial and the tangential walls (Fig. 6, 7). After that, it proceeded towards the lumen, lagging behind cell wall formation (Fig. 3). In a more advanced stage of the wall formation, lignification appeared to be late in the primary wall at the cell corners (Fig. 8). This nearly coincided with the observation in balsam fir by SCHWARZMANN and KUTSCHA (1973)¹¹⁾.

Measurements of the silver density of the negatives indicated that lignification process had to envisaged as proceeding continuously through the wall thickening during cell differentiation¹⁴⁾ (Fig. 9~12).

During the course of study the usefulness of the UV-microscope for the qualitative and quantitative study of cell wall lignification was clearly shown.

It should be noted here that rolls of a ray for the lignification of a tracheid, possibly as a route of the lignin precursors, are very important item further to study (Fig. 5). Also examination of the longitudinal lignification sequence through a whole length of a tracheid is of importance, although the work reported above by the authors was carried out only about transverse sections of it.

Explanations of Figures

- Fig. 1.** Beginning of lignification in the wall of tracheids. Single arrows show the first lignified portions at the intercellular layers in the cell corners. Double arrow represents the lignified pit border. Figures in the lumina of the tracheids indicate the cell number from the cambium.
- Fig. 2.** Beginning of lignification in the tracheids adjacent to ray. Cell corners next to the ray are in the earlier beginning of lignification than the opposit ones.
- Fig. 3.** Lignification sequences of the differentiating tracheids from the cambium (Cam.).
- Fig. 4.** Polarising photograph of the cells corresponding to the photo 3. S-1 layers show the birefringence between cross nicols.
- Fig. 5.** Lignification of the ray. Lignification of the parenchyma cells begin later than the tracheids near the ray.
- Fig. 6.** Beginning of lignification in tracheids near the cambium.
- Fig. 7.** Extension of lignification. Soon after the beginning of lignification at the cell corner, lignified portion extends along the intercellular layer toward both radial and tangential directions.
- Fig. 8.** Weak UV-absorption of the primary wall. Arrow shows the primary wall at the cell corner.
- Fig. 9-12.** Progressive deposition of lignin in the tangential walls of the differentiating tracheids. Each curve of the film density appears to correspond to the lignin concentration in the tangential walls. Figures in the lumina indicate the cell number from the cambium. The peak at the middle of the curves shows the UV-absorptions in the intercellular layers. The another peak at the boundary between the wall and the lumen may be the artifacts (Fig. 8, 9, 10), or indicate the absorption of the S-3 layer (Fig. 12).

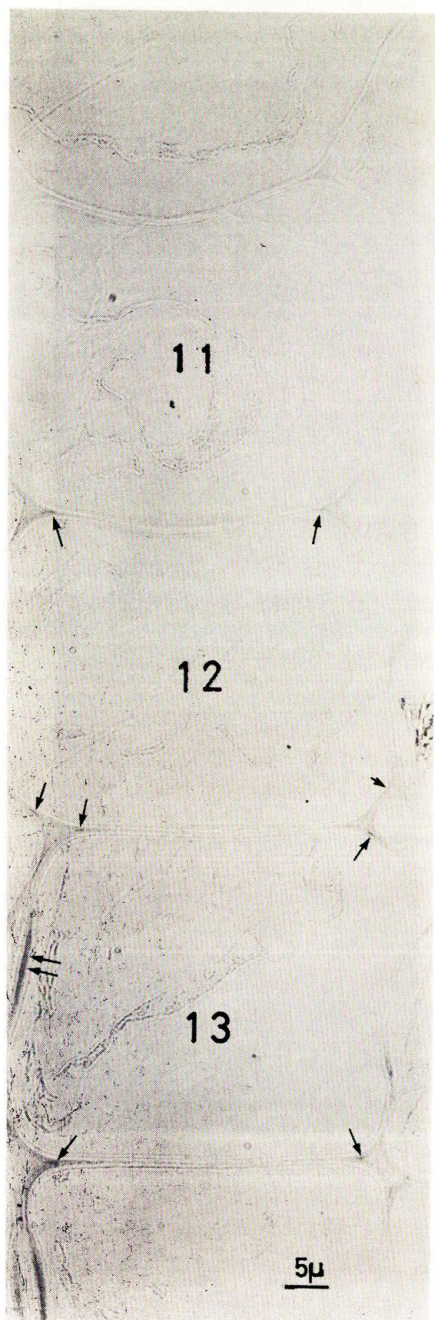


Fig. 1.

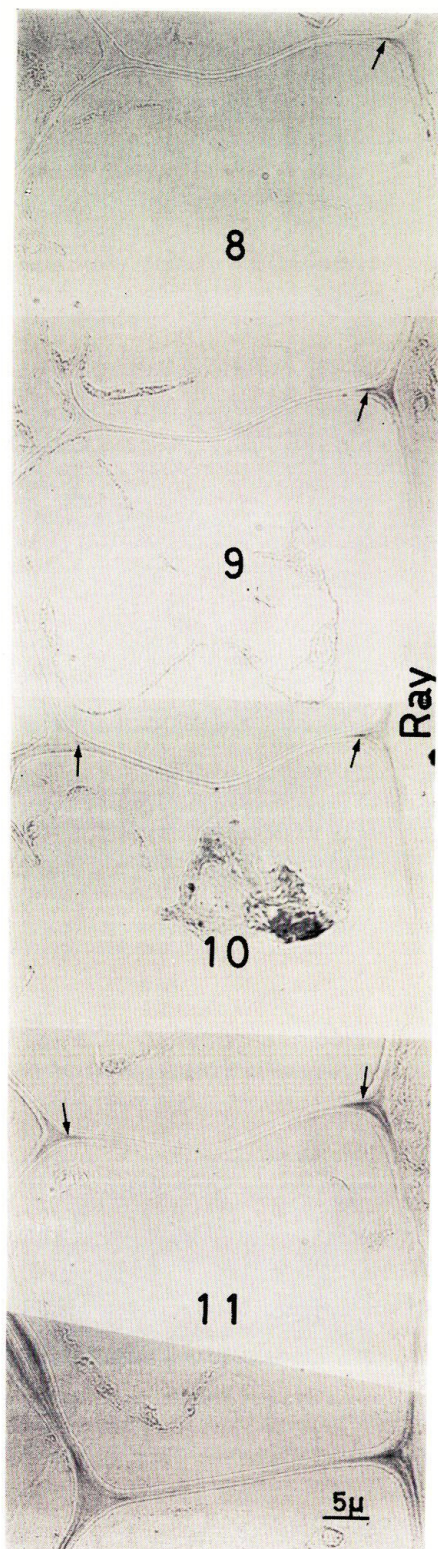


Fig. 2.

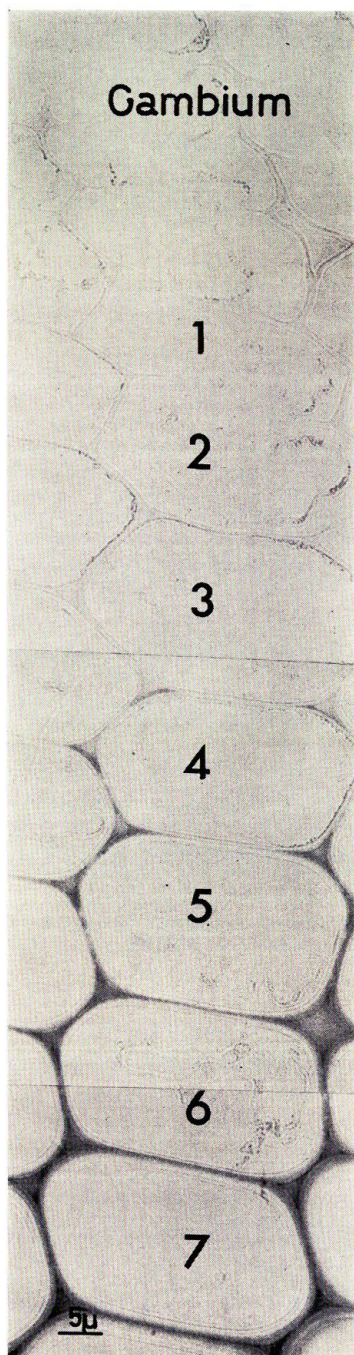


Fig. 3.

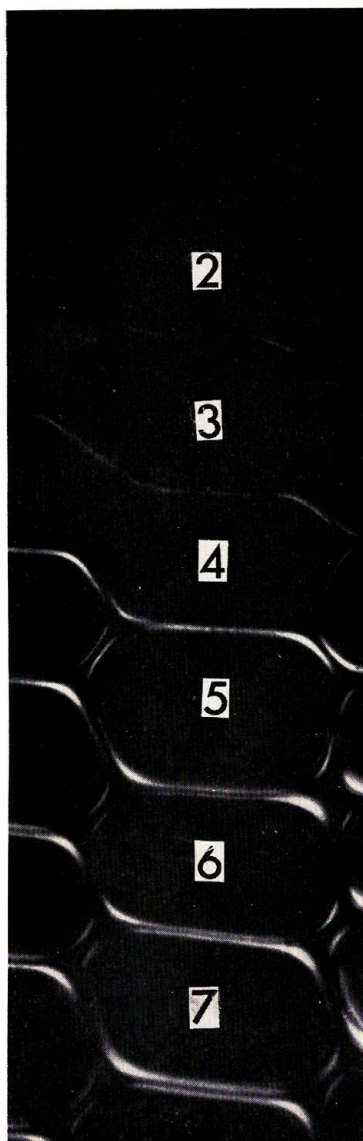


Fig. 4.

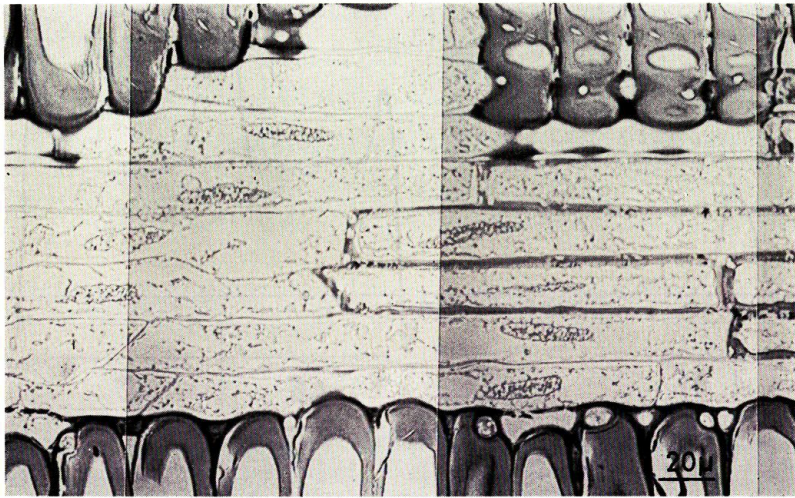


Fig. 5.

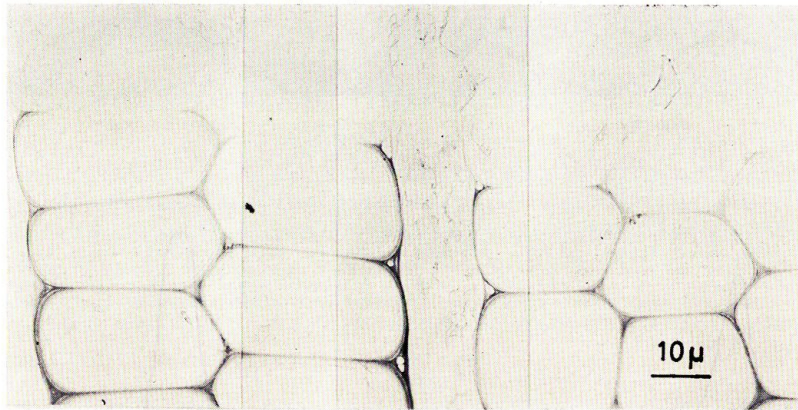


Fig. 6.

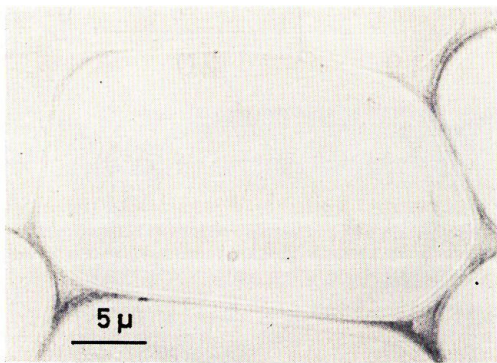


Fig. 7.

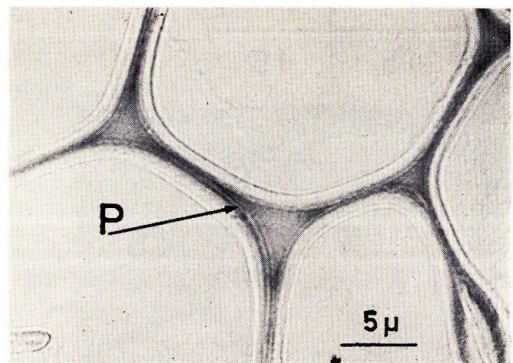


Fig. 8.

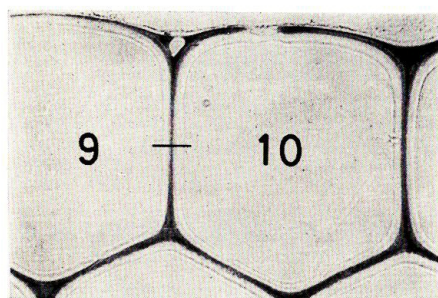
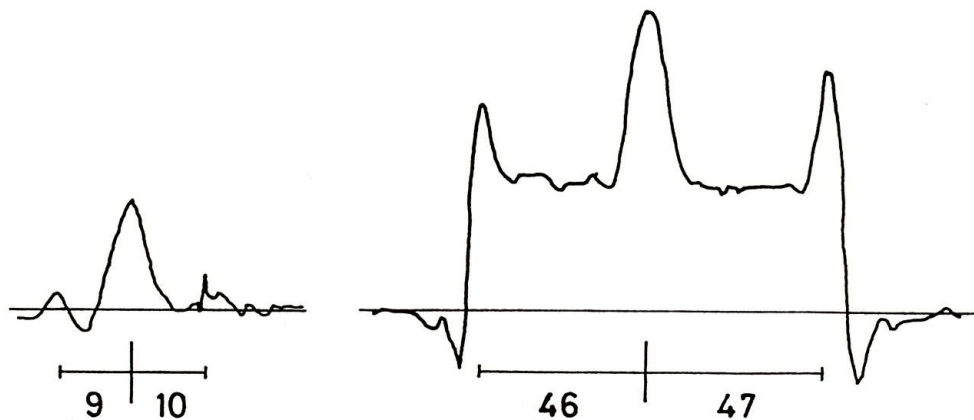


Fig. 9.

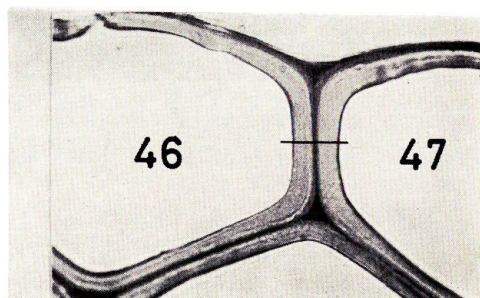


Fig. 12.

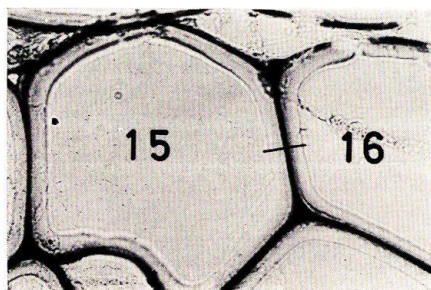
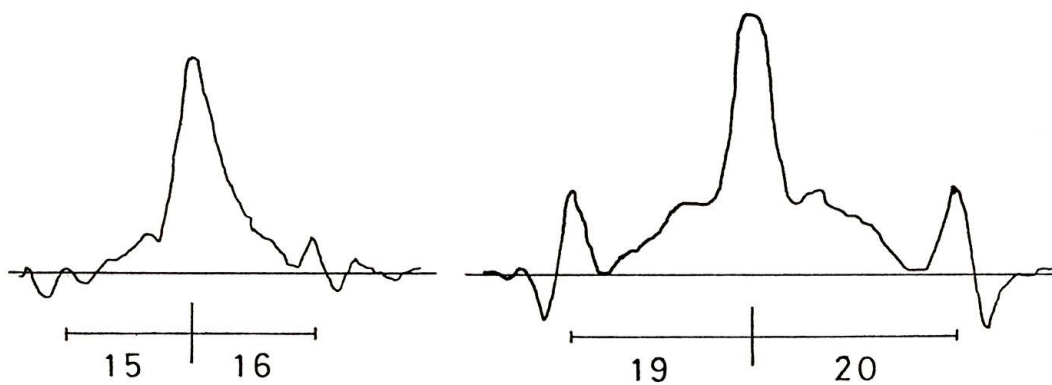


Fig. 10.

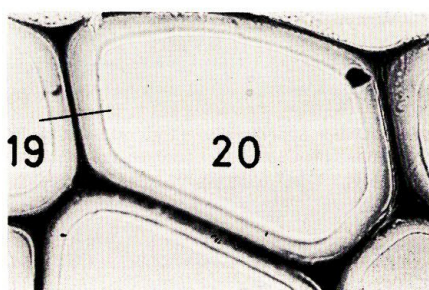


Fig. 11.