



Title	ハルニレ樹皮の厚壁細胞の木化経過
Author(s)	今川, 一志; IMAGAWA, Hitoshi
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 44(1), 281-296
Issue Date	1987-02
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/21204">https://hdl.handle.net/2115/21204</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	44(1)_P281-296.pdf



## ハルニレ樹皮の厚壁細胞の木化経過

今川 一 志\*

Lignification of the Sclerenchyma Cells in the  
Bark of Haru-Nire, *Ulmus davidiana*

By

Hitoshi IMAGAWA\*

## 要 旨

ハルニレ (*Ulmus davidiana* var. *japonica*) 樹皮の厚壁細胞の木化経過がサフラニン・ファストグリーン2重染色, フロログルシン・塩酸法, モイレ反応, クロス・ベバン反応, ヨウ素・ヨウ化カリウム-硫酸法, UV 顕法で定性的・定量的に追求された。その2次壁は環状部と内方部の2つに大別され, そのうちの内方部の木化の開始はかなり遅れ, その上その完了までには長期間を要することが明らかになった。その内方部の木化は厚壁細胞の中心部から始まり, 周辺部へと進展した。一方, 環状部は通常の木化経過を示した。内方部と環状部とでは木化経過は異なったが, ともにグワヤシルリグニンが沈着した。しかし, 両者の境界部と細胞間層はシリゲルリグニンと関係していることが推定された。また, 外樹皮中の厚壁細胞は師部中のものとは異なる木化状況にあることも示唆された。

キーワード: ハルニレ, 樹皮, 厚壁細胞, 2次壁, 木化。

## 緒 言

樹木の木部の場合に比べ, その樹皮についての組織・構造の研究は少なく, まだ不明な点が多数あるものと思われる。多くの樹種の樹皮についての概略的な紹介は, CHANG (1954 a, b), HOLDHEIDE (1951), NANKO・CÔTÉ (1980), PARAMESWARAN・LIESE (1970), SRIVASTAVA (1963), ZAHUR (1959) らの報告がある。また, ESAU (1969) は師部の組織・構造, その発達経過や機能などにつき, 師部全般にわたった詳細な成書を出している。最近では, NANKO (1979) が針・広葉樹あわせて, 26科45属65樹種について, その2次師部中の厚壁細胞をTEM観察し, その壁構造を明らかにした。この厚壁細胞は樹皮の機械的性質に関与していると考えられており (ZAHUR

昭和61年8月18日受理 Received August 18, 1986.

\* 北海道大学農学部林産学科木材理学講座

Laboratory of Wood Physics, Faculty of Agriculture, Hokkaido University

1959), 厚い2次壁を有し, 木化しているものも, していないものもある (ESAU 1969) とされている。通常, 厚壁細胞はその形状あるいはその分化経過などに基づいて, 師部繊維, スクレイドに大別される。なお, これら両者の中間型と見なされるものはファイバースクレイドと呼ばれる。しかしながら, これらの定義にはかなり矛盾する点があり, 十分には確立されたものではない (ESAU 1969, IMAGAWA 1981, NANKO 1979, PARAMESWARAN 1980)。

筆者 (1974) はハルニレの2次師部の発達の季節的経過を調べ, それは第1の師管群, 第1の師部柔細胞群, 第2の師管群, 第2の師部柔細胞群の順に新生され, 成熟して行くことを示した。ただし, 第2の師管群と第2の師部柔細胞との間に出現する厚壁細胞の分化経過はさらに複雑であった。すなわち, 厚壁細胞は第2の師管と柔細胞の間に新生されるものの, その生長期には未成熟の状態のまま越冬した。その2次壁の肥厚は翌年の夏頃から始まり, 肥厚によってその内腔がほとんど認められなくなり, 厚壁細胞としての特徴を示すに至った。しかしながら, その木化は仮道管 (今川・他 1976) やファイバースクレイド (IMAGAWA 1981) のように, 壁肥厚にわずかに遅れて進行する (WARDROP 1971) ものではなく, さらに大幅に遅れるように思われた。したがって, ここでは, ハルニレの厚壁細胞の木化経過を明らかにしようとして研究に着手した。

## 方 法

北海道大学苫小牧地方演習林から十分に成熟したハルニレ (*Ulmus davidiana* var. *japonica*) の胸高部付近から, 樹皮・形成層・木部を含む小ブロックを適宜採取し, 直ちに FAA で固定し, 常法通りセロイジンやエポキシ樹脂で包埋した。前者からは顕頭用切片を, 後者からは UV 顕頭用切片を作成した。

顕頭観察のためには5種類の染色法または呈色反応を適宜用いた。すなわち, サフラニンとファストグリーンの2重染色, フロログルシン・塩酸法, モイレ反応, クロス・ベバン反応, ヨウ素・ヨウ化カリウム—硫酸法である。サフラニンとファストグリーンによる2重染色は顕頭観察には常用される染色法である。木化した細胞壁は赤色に, 未木化のものは青色に染め分けられる。しかしながら, よく知られているように, サフラニンのリグニンに対する特異性はあまり強いものではなく, 染色結果の取り扱いには慎重になされねばならない。発見者の名前をとって, Wiesner 反応とも呼ばれているフロログルシン・塩酸反応はリグニンの存在を示す最も信頼性の高い呈色反応である (JENSEN 1962)。したがって, 組織化学的な研究にもしばしば用いられている (SRIVASTAVA 1966)。その赤色はリグニン中のシンナムアルデヒド末端基に由来することが知られている (WARDROP 1971)。モイレ反応は針葉樹と広葉樹とは異なる染色結果を示すことで古くから知られている (中野ら 1983)。そのリグニン中にシンギル核が存在する場合には赤色を, そうでない場合には褐色を呈する (GIBBS 1957, SRIVASTAVA 1966)。クロス・ベバン反応は塩素水と亜硫酸ナトリウムによる呈色反応である (JENSEN 1962)。モイレ反応と

同様に、リグニンの存在を示すだけでなく、そのリグニン中にシリングル核がある場合には赤色を、グワヤシル核の場合には黄褐色を示す(WARDROP 1971)。その呈色の機構もかなり明らかにされている(中野ら 1983)。ヨウ素・ヨウ化カリウム—硫酸法はセルロースの顕微化学的証明法の一つである(JENSEN 1962)。したがって、これ以外の染色法がリグニンを対象としていたのに対し、この方法はそれらとは異なり、セルロースの存在を第一義的に示す呈色反応である。セルロースに対しては青色を示し、リグニンが含まれる場合には黄褐色を呈する。

リグニンは特定の紫外線域に対し特異的な吸収を示すので、紫外線顕微鏡は木化の研究に対して非常に有効である(FERGUS・GORING 1970, 今川ら 1976)。本研究では、280 m $\mu$ の波長での写真撮影、吸収度の測定を行なった。吸収度の測定は切片上でのスポット測光により行なわれ、そのスポットの径は0.63  $\mu$ mである。なお、測定は280 m $\mu$ の波長だけで行なわれた。

## 結 果

### 1. 厚壁細胞の存在状態

厚壁細胞の木化経過を示す前に、樹皮中で厚壁細胞がどのような状態で存在するのかを示す。Photo 1aはハルニレ樹皮中の主として2次師部の全体像を示す横断面切片である。下方が木部で、2年前と1年前に形成された年輪、さらに形成中の年輪が見られる。典型的な環孔波状材である。なお、この試料は生長期の初期(6月)のため、径の拡大が終了したばかりの早材道管(EV)が見られる。この早材道管の上方には形成層細胞(C)がある。この形成層の上方部が2次師部である。

2次師部を構成する主な細胞は師管、師部柔細胞、厚壁細胞であり、師部放射組織も木部のそれと連続している。放射組織以外の構成細胞はいずれも接線方向に連らなり、帯状の群をなしている。基本的には、これらの帯状群が半径方向に交互に配置して2次師部が成り立っている。なお、これらの群中に、かなり大きな沈着物質(クサビ印)がしばしば認められるが、その成分については検討しなかった。この2次師部の上方には周皮(P)、その上方にはわずかではあるがコルク細胞が認められる。

Photo 1aは低倍のため、2次師部の全体像を示すには適しているが、構成細胞の詳細については不明瞭である。そのため、その一部を拡大したのがPhoto 1bと1cである。Photo 1bには周皮を含む、2次師部の最外部が、Photo 1cには2次師部中の最も若い部分が見られる。いずれの部分にも、接線方向に連らなり群状に存在している厚壁細胞(S)が認められる。この厚壁細胞群に隣接するような状態で師部柔細胞が見られ、同様に接線方向に連らなって存在している。この師部柔細胞はその内腔に沈着物を含有しているため、写真上では黒色の細胞の連らなりとして見える。師部柔細胞群と厚壁細胞群に挟まれて、押しつぶされた細胞があるが、これが師管である。ここに見られる師管はすべて押しつぶされている。したがって、それらの通導機能はすでに失なわれていると考えられる。

以上のように、ハルニレの2次師部は各講成細胞が接線方向に連らなつた帯状群が配列して成り立っている。本研究の研究対象である厚壁細胞も単独で存在するのではなく、同様の接線方向の帯状の群をなし、師部組織に大きな特徴を与えている。基本的には、この厚壁細胞群は一生期に一個だけが生み出されると推定されるが、まだ十分な確証は得られていない。そのため、以下では、その形成年度ではなく形成層から数えた出現番号をもって、各群の師部内での位置を示すことにする。

## 2. 染色・呈色結果

### 2.1 サフランとファストグリーンの2重染色

Photo 2はこの染色法によって得られた各位置の厚壁細胞群の横断面切片のカラー写真である。各写真は形成層から数えて、第1(2a)、第5(2b)、第16(2c)、第25(2d)、2次師部の最外部に位置する第35(2e)番目の群を示す。また、外樹皮中のもも示されている(2f)。厚壁細胞以外にも、内容物が暗褐色に染まっている師部柔細胞、厚壁細胞に附随しているひし型の結晶も観察される。

厚壁細胞の2次壁の染色状態は師部内での存在位置によってかなり異なる様相を呈している。形成層に近いものの場合(2a, 2b)、その2次壁はファストグリーンによってのみ染色されている。さらに、2次壁の外方にある環状部はその内側の内方部に比べ、その染まり方は明らかに強い。特に、第1番目の場合の内方部の青色はかなり弱い。第2番目になると、2次壁の染色は内外ともほとんど同程度になっている。サフランによる染色域はまだ認められない。

第16番目になって初めてサフランによる染色域が認められる。ただし、その群中のすべての厚壁細胞にサフランの染色域が認められる訳ではない。染色域を示した細胞について見ると、その染色は細胞の中心部から始っている。なお、サフランによる赤色の発現に先立って、ファストグリーンの青色が消失するらしい(2c)。形成層からさらに離れると(2d, 2e)、サフランによる染色域を示す細胞の数は増加し、その染色域を2次壁内方部の外周部へと拡大しており、その染色も強くなっている。

また、例外はあるものの、サフランによる染色域を示す細胞の横断面径はそれが見られないものに比べ大きい傾向にあることもわかる。厚壁細胞の外形はほぼ紡錘形と推定されるので、径の大きな断面は厚壁細胞の長さ方向の中央部に近く、小さなものは先端部に近いと考えられる。したがって、サフランの染色域は厚壁細胞の中心部付近から出現し始め、周辺部へ拡大して行くと考えられる。

一方、細胞間層は第1番目のものからすでに赤色に染まっており、師部中での群の位置による相違は2次壁に比べあまり顕著ではない。ただし、第1番目の場合にはコーナー部だけが赤色を呈しているようにも見られる。また、外樹皮中では、2次壁はサフランで完全に染まっており、特に外周の環状部は強く染まっている。師部中とは質的な変化が生じているのかも

知れない。

前述したように、この染色法は常用されるものの、サフラニンのリグニンに対する特異的な染色性はそれほど強くはなく、これだけの結果で木化を論ずることは不十分である。そのため、次にフロログルシン・塩酸法での結果を示す。

## 2.2 フロログルシン・塩酸法

Photo 3 はこの呈色反応の結果を示す各位置の厚壁細胞の横断面切片のカラー写真である。各写真は形成層から数えて第1(3a)、第3(3b)、第6番目(3c)、2次師部の最外部に位置するもの(3d)、外樹皮中のもの(3e)である。また、2次師部中と外樹皮中のものとを同時に示すものも(3f)ある。

第1番目の場合、各厚壁細胞の2次壁の外側の環状部だけが赤色を呈し、その内方部はまったく呈色は認められない。しかし、第3番目では、この内方部の中心部に赤色域が認められ、それは外方へ拡大しつつあるように見える。第6番目では、その赤色域はさらに拡大し、その呈色の度も強くなっている。2次師部の最外部では、赤色域は内方部のほぼ全域に拡大し、わずかに環状部との境界付近を残すのみになっている。

個々の厚壁細胞について見ると、サフラニンの場合と同様に、その横断径の大きなものの方が赤色域の出現は早い。しかし、環状部についてはサフラニンの場合とは異なり、第1番目のものから赤色を呈している。したがって、フロログルシン・塩酸での赤色域は、2次壁の環状部では最初から認められ、内方部でだけ厚壁細胞の中心部から周辺部へと拡大して行く。細胞間層は第1番目のものからすでに赤色を呈し、環状部と同じ呈色結果である。

外樹皮中の場合、その呈色結果は2次師部中のものとかかなり異なっている。厚壁細胞の2次壁は2次師部中ではほぼ完全に赤色を呈するようになるが、外樹皮中ではその上にさらに新たな呈色が付加されるらしい。すなわち、2次壁の外方部はその内方よりもさらに強い赤色を呈している。このような2次師部中とは異なる呈色状況のために、外樹皮中と師部中のものを比べた場合(3f)、両者の呈色の色調はかなり差違が認められる。また、外樹皮中では厚壁細胞以外にも呈色を示しているものもあるが、それが何に由来するのかわからない。

## 2.3 モイレ反応

Photo 4 はモイレ反応の結果を示すカラー写真である。各写真は形成層から数えて第1(4a)、第2(4b)、第4(4c)、第10(4d)、2次師部の最外部である第34(4e)番目の厚壁細胞群であり、外樹皮中のもの(4f)も示されている。なお、厚壁細胞群に隣接し、暗褐色の細胞内容を有するのは師部柔細胞である。

形成層に近い場合(4a、4b)、厚壁細胞の2次壁の内方部にはまったく呈色は認められず、ほとんど透明であるかのように見える。一方、その外側の環状部はすでに灰褐色を呈している(4aのクサビ)。第4番目になって、2次壁の内方部に灰褐色の呈色域がその中心部から出現し

始めている。第10番目では、灰褐色の呈色域はさらに周辺部へと拡大し、最外部では内方部の全域が灰褐色を呈している。

厚壁細胞の横断径の相違による呈色域の出現状況についてはあまり明らかではない。しかし、2次壁中の環状部が早くから灰褐色を呈する点、また2次壁の内方部ではその中心部から周辺部へ向って灰褐色域が拡大して行く点など、フロログルシン・塩酸での呈色反応とほぼ同じ結果であると考えられる。

しかしながら、それとは異なる点も見出される。ここで示されている切片は一時的な封入であるため詳細な観察には十分とは言えないが、2次壁の環状部と内方部との境界付近に赤紫色を呈している線状部が認められる。この赤紫色部は2次師部、外樹皮を通して常に見出され、時には環状部の内外部を両方とも縁取り、2重線のように見られる場合もある(4cのクサビ印)。さらに、この赤紫色線は押しつぶされた師管の残がい(4eのクサビ印)、師部柔細胞(4dのクサビ印)、師部放射組織(4bのクサビ印)などに関連して見出せる。これらはいずれも細胞間層部に相当すると考えられるが、厚壁細胞の場合の境界部の赤紫色線はそれとは異なるものであろう。

厚壁細胞の細胞間層は第1番目のものから赤紫色を呈している。また、外樹皮中では、その灰褐色はさらに強まり、これまでと同様に質的な変化も生じているように思われる。

上述したように、モイレ反応での結果も、これまでの呈色反応での結果とほぼ同様であった。しかしながら、この呈色反応により赤紫色を呈する線状部が初めて見出された。これは2次壁内の木化の局部的な相違を示唆するものとも考えられるので、この点をさらに確認するために、クロス・ベバン反応での結果を次に示す。

#### 2.4 クロス・ベバン反応

Photo 5はこの呈色反応による厚壁細胞群の横断面切片のカラー写真である。各写真は形成層から数えて第1, 2(5a)、第5, 6, 7(5b)、第19, 20, 21(5c)、そして外樹皮中のものである(5d)。なお、各写真ともこれまでと同様に下方が形成層側である。

形成層の近くの場合、その2次壁の環状部はすでに灰黄色を呈している(5aのクサビ)。しかし、その内方部ではまだ灰黄色の呈色域は見出されない(5bのクサビ)。形成層からさらに離れるにつれ、2次壁の内方部の中心部には灰黄色の呈色域が出現し始め、それはしだいに外周部へと拡大しつつある(5cのクサビ)。モイレ反応で見出された線状の赤紫色部はこの呈色反応でも明らかに認められる。この赤紫色の線状部は形成層の近くの厚壁細胞でも見られる。その多くは1本の線として見えるが、環状部の内外を縁取り、2本に見える場合もある(5b, 5cの白いクサビ)。切片作成上の問題点(一時的な封入)があるためあまり明瞭ではないが、2本に見えるものがそれ本来の状態を示しているものと考えられる。すなわち、2次壁の内方部と環状部との境界、細胞間層が共に赤紫色を呈しているものと思われる。また、デンプン粒と考えられる小粒を多数含有している師部柔細胞やコルク細胞(5cのC)などとも関連して赤紫色の線

状部は認められる。外樹皮中では、2次壁全域は灰黄色を呈し、その染まり方もさらに強くなっている。

以上の各呈色反応 (Photo 3-5) は主としてリグニンの存在、さらにはその質的相違を顕微化学的に証明する方法であり、リグニンを第一目的とした呈色反応である。それらの結果をさらに確実なものとするために、次に通常はセルロースに対する呈色反応として知られているヨウ素・ヨウ化カリウム—硫酸法での結果を示す。したがって、これまでの木化経過の追求の仕方とはむしろ逆の方向からの解明を目指すものである。

## 2.5 ヨウ素・ヨウ化カリウム—硫酸法

Photo 6はこの呈色反応による結果を示すカラー写真であり、形成層から数えて第1(6 a)、第2(6 b)、第6(6 c)、第10(6 d)番目、そして外樹皮中(6 e)の厚壁細胞群の横断面を示す。

第1番目の厚壁細胞の2次壁内方部は青色を呈しており、典型的なセルロース反応を示している。一方、それを取り囲んでいる環状部は黄褐色を呈しており、すでにセルロース反応は負になっている。ただし、セルロースが存在しない訳ではなく、それ以外の成分(リグニン)が含まれているための結果である。第2番目になると、その内方部の中心部では速くもセルロース反応は失なわれ始め、黄褐色の呈色域が出現している。第6番目では、内方部のほぼ全域でセルロース反応は失なわれてしまっている。ただし、その反応が完全に失なわれている細胞もあるが、なかには環状部との境界付近に、わずかではあるが、セルロース反応を示している領域を有する細胞も認められる。第10番目では、2次壁中にはもはやセルロース反応はまったく見出されない。第6番目の幾つかの細胞でも観察されるように、セルロース反応の消失に替わって、内方部と環状部との境界に赤褐色の線状部が出現している。また、細胞間層はすでに第1番目のものから赤褐色を呈しており、境界部の赤褐色の線状部とともに2本の赤褐色の線が観察される。この2本の線状部はモイレ反応、クロス・ベパン反応でも認められたものと同じものと考えられる。

セルロース反応が失なわれて行きつつある第2番目の厚壁細胞群の個々の細胞を注目すると、その横断径の大きなもの程、セルロース反応を失なった領域は大きいことがわかる。前述したように、厚壁細胞は紡錘形をしていると考えられるので、その中心部からセルロース反応は失なわれ始め、そのような領域は周辺部へと拡大して行くものと考えられる。したがって、これまでの呈色反応で示したリグニンの沈着領域の拡大の状況によく対応していることがわかる。

外樹皮中ではセルロース反応はまったく認められず、その上に黄褐色はさらに高濃度になっている。これまでの結果と同様に、外樹皮中では新たな質的变化が生じているものと推定される。

以上の染色法および呈色反応によって厚壁細胞の木化経過の概略はほぼ明らかになった。しかしながら、上述した方法では木化経過を定量的に示すことはできなかった。また、プレパ

レーレの作成上の点から、壁構造と結びついた点からの木化経過の解明は不十分であった。そのため、以下では紫外線顕微鏡を用いた結果を示す。

### 3. 紫外線顕微鏡法

#### 3.1 紫外線顕微鏡観察

Photo 7 は 280 m $\mu$  の波長の紫外線で撮影した厚壁細胞の横断面切片の写真である。各写真は形成層から数えて第1 (7 a), 2次師部の最外部 (7 b), 外樹皮中 (7 c) に位置する厚壁細胞群である。紫外線顕微鏡 (UV 顕) 用の切片は薄く (0.5  $\mu$ m), 厚かつ撮影波長が短いため分解能が高くなるなどの点から、得られる写真はかなり詳細な観察に耐え得るものになる。そのため、これまでの光顕写真 (Photo 2~6) に比べて、厚壁細胞の壁構造についてはより多くの情報が得られる。厚壁細胞の1次壁については識別することはできないが、その2次壁は2層に大別されていることは明瞭に認められる。すなわち、その外周部にある2~3  $\mu$ m 厚の環状部と、それに取り囲まれた内側にある内方部である。この内方部の2次壁の肥厚によって、内腔はほとんど埋めつくされてしまい、わずかに痕跡を残すのみの状態である。ただし、この2層のフィブリル配向は観察できない。

UV 写真の場合、通常は写真濃度の高い部分ほど、リグニンの沈着量が多いと看なされる。ただし、写真濃度には幾つかの影響因子が考えられ、その相違は絶対的なものではなく、相対的な差違と考えるべきもので、その解釈には十分に慎重でなければならない。そのような点を十分に踏まえた上で第1番目の厚壁細胞を見てみると、その環状部にはそれ程顕著ではないが、若干のUV吸収のあることが認められる。一方、その内方部には吸収はほとんど見出せない。そのことは、写真左上の×印で示されている空白部と同程度の写真濃度であることから確認される。ただし、これまでの染色結果よりも明確であるとは言い難い。したがって、今後はマイクロデントメーターを用いた定量的な濃度解析が必要であろう。

最外部の厚壁細胞の場合、環状部にもその内方部にも明らかにUV吸収が認められる。最外部に達する以前の2次師部中間部での厚壁細胞群は示されていないので、内方部に吸収が認められるようになる状況の詳細は不明である。しかし、この最外部の厚壁細胞を見ると (7 b の S-1), その内方部では内腔部付近に吸収域が認められ、環状部側へ行くにつれてその吸収は減少している。また、それに隣接する別の厚壁細胞では (7 b の S-2), その内方部全体に吸収域が拡大している。したがって、2次壁内方部のUV吸収域はその中心部から出現し始め、外周部へと拡大して行くものと推定される。このような結果はこれまでの呈色反応による経過とまったく同じと考えられる。

最外部の厚壁細胞に明瞭に認められるように、その2次壁の環状部と内方部との境界にはかなり強いUV吸収が線状に出現している (7 b のクサビ)。この境界部はモイレ反応 (Photo 4) やクロス・ペバン反法 (Photo 5), さらにセルロース反応 (Photo 6) で見られた赤紫色の線状

部に該当すると考えられる。また、その細胞間層にも強い吸収が見られる(7bの白いクサビ)。したがって、染色法で認められた赤紫色の2重の線状部はUV顕でも再確認されたと言える。しかしながら、第1番目の場合(7a)、細胞間層のUV吸収は顕著であるものの、境界部ではあまり判然とはしない。すなわち、境界部には時には吸収線が2本あるかのように見える場合もある。UV顕でのこれまでの経験から判断すると、2本の吸収線のうちの内側のものは切片作成時に生じた人為像であり、外側の吸収線が境界部本来の吸収によって生じたものと考えられる。

外樹皮中では、UV吸収はさらに強くなり、2次師部中のものとはかなり異なる。染色法での結果からも推定したように、外樹皮中では単にリグニン沈着量が増加するだけでなく、質的な変化も生じていると考えられるので、今後はUV吸収スペクトルの測定もなされる必要がある。

### 3.2 紫外線顕微鏡測定

これまでの結果から、厚壁細胞の2次壁の内方部の木化は外樹皮に向かって徐々に進行することが明らかになった。ここでは、その経過を定量的に示すために、内方部のUV吸収度(280 m $\mu$  波長)の測定結果を示す。Fig. 1がその結果であり、横軸が測定された厚壁細胞群の形成層から数えた位置、縦軸がUV吸収度である。測定は2次壁の内方部の壁の中央部だけについてスポット測定で行なわれた。また、各位置の厚壁細胞群中の複数の細胞について測定された。なお、白丸は2次師部中、黒丸は外樹皮中の細胞を意味するが、外樹皮中でのものについての存在位置は示されていない。

UV吸収度には、同一の群中でも細胞によってかなりのバラツキのあることが認められる。測定値にバラツキがあるものの、全体を通してみると、形成層から離れるにつれて吸収度は増加して行く傾向にあることは認められる。すなわち、呈色反応やUV顕観察で得られたこれまでの定性的な木化経過はここで定量的に再確認されたと言えよう。また、形成層近くの厚壁細胞の内方部にはほとんど吸収は認められず、この点でもこれまでの結果と同じである。ただし、吸収度の測定は環状部については行なわれなかったため、環状部での木化の進み方についての定量的な経過

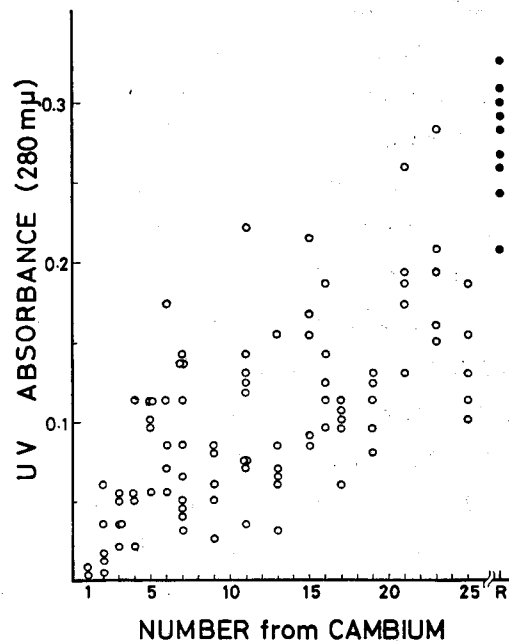


Fig. 1. UV absorbance of the inner parts in the secondary walls of sclerenchyma cells at each position in the phloem and the outer bark.

は得られていない。

上述したように、測定値にはかなりのバラツキがあった。このような結果が得られた主な原因は、内方部の木化がその中心部から始まり、周辺部へと進行して行くことに由来するものと考えられる。これまでに示して来たように、染色域や吸収域の拡大状況は同じ群中であっても細胞ごとに(横断面ごとに)かなり相違していた。したがって、同じ内方部であっても、細胞によってはそのような領域が測定点まで拡大している場合も、いない場合もあることになる。その結果がこのようなバラツキになって表われたものと推定される。今後は、スポット測光だけでなく、2次壁全体を通した測定や、あるいは横断径を考慮した上での測定も必要であろう。

一方、外樹皮中の厚壁細胞のUV吸収度は2次師部中のものより明らかに高い。しかし、2次師部中での増加の延長線上にそのまま対応しているとは思われない。また、これまでの結果から、外樹皮中では量的な変化だけでなく、質的な相違の可能性があるようにも思われた。したがって、そのような点を明らかにするには、上述したように師部中、外樹皮中の両者について、UV吸収スペクトルを求め、比較・検討することが必要であろう。

## 考 察

本研究の結果、ハルニレ樹皮の厚壁細胞の木化経過の概略はほぼ明らかになった。その2次壁は大きくは2つの層に区分することができ、その外方の環状部は形成層の近くですでに木化していた。一方、その内側を占める内方部は形成層の近くでは未木化の状態であり、形成層から離れるにつれて、その内腔部付近から木化が始まった。また、横断面径の大きなものの方が小さなものより早く木化していた。厚壁細胞は紡錘形と考えられるので、1個の厚壁細胞を考えた場合にはその中心部から木化が始まり、周辺部へと進行して行くものと推定される。

このようなリグニンの沈着の経過はフロログルシン・塩酸法で定性的に、UV顕法で定量的に確認された。前者はリグニン中のシンナモアルデヒド末端基に由来する顕微化学的なリグニンの存在の証明法であり(JENSEN 1962, WARDROP 1971)、UV顕のリグニンに対する有効性もまたよく知られている(FERGUS-GORING 1970, 今川ら 1976)。さらに、リグニンの沈着経過とは逆方向であるセルロース反応が失なわれて行く経過を追跡した結果も同様の経過であった。また、沈着して行くリグニンの性状についても検討された。モイレ反応やクロス・ベバン反応の結果から見て、内方部に沈着するのはグワヤシルリグニンと考えられる(GIBBS 1957, 中野ら 1983, WARDROP 1971)。同様に、環状部のリグニンもグワヤシル型であることが示された。このように、同じ2次壁であり、その上リグニンの性状も同じであるにもかかわらず、それが沈着して行く経過はまったく異なる。この点はリグニンの生合成を考える上からも非常に興味ある現象である。ただし、内方部でのリグニン沈着の開始時期、さらにはその完了時期についてはまだ詳細には不明である。今後はこの点についての研究も必要であり、そのためにはUV顕での定量的研究が有効であると考えられる。

一方、この内方部と環状部との境界部はシリングリグニンの存在を示す呈色反応が認められた。また、細胞間層も同じ反応を示した。FERGUS と GORING (1970) によれば、*Betula papyrifera* の木繊維の細胞間層はシリングリグニンとグワヤシルリグニンの混合または共重合の状態である。ハルニレの厚壁細胞の細胞間層はそれと同じ状態にあるのかも知れない。しかしながら、2次壁中の境界部でのように、局部的にリグニンの性状が異なる現象は非常に特異的であり極めて注目に値すると考えられる。UV 顕観察でもこの境界部は他の部分よりも強い吸収が示され、性状の違いを示唆しているかのように思われた。ただし、呈色反応に用いた切片は比較的厚く (15~20  $\mu\text{m}$ )、またプレパレートは一時的封入であり、詳細な観察に十分耐え得るとは言い難い。また、UV 顕での観察は 280  $\text{m}\mu$  の波長による写真に基づくものだけであり、リグニンの性状について論議するには十分とは言えない。したがって、境界部のリグニンの性状を明らかにするためには、FERGUS と GORING (1970) のような UV 吸収スペクトルの測定が必要であろう。このように本研究だけで明確な結論を出すことは避けねばならないが、環状部と内方部でのリグニンの沈着経過が顕著に異なる点を考慮すると、壁中のリグニンの性状が局部的に相違する可能性もあり得るように思われる。

外樹皮中の厚壁細胞の呈色反応および UV 吸収度の測定結果のいずれから、そのリグニン量は師部中のものよりも多いことが示された。窪田ら (1977) によれば、カラマツ、クロエゾマツ、シナノキ、ミズナラの外樹皮中のリグニン量は内樹皮中よりも多く、一方トドマツ、シラカバではその逆であった。したがって、ハルニレの場合は前者に該当する樹種と言える。また、フロログルシン・塩酸法によれば、外樹皮中での厚壁細胞の呈色はその外周部で強く、内方へ行くにつれ弱くなっていた。したがって、師部中でのリグニン沈着の状況とは幾分異なっているようにも考えられる。すなわち、外樹皮中では、リグニンまたはそれに類する成分が新たに沈着し、量的にだけでなく質的にも相違する可能性が示唆された。この点も今後に残された研究課題の一つである。

通常、木部細胞の木化は壁形成に引き続いて進行して行くことはよく知られている (WARDROP 1971, 今川ら 1976)。同じような経過は、ハリギリの師部繊維 (今川・石田 1973)、カラマツのファイバースクレレイド (IMAGAWA 1981) でも報告されている。しかしながら、ハルニレの厚壁細胞の2次壁の内方部では、壁形成が終了し、かなり時間がたってから木化が始まり、その完了にはさらに長年月を要する。したがって、その木化は、まずその環状部で終了し、次いで新たに内方部で再び始まると言うように2段階に分けて行なわれると考えられる。その上、境界部のリグニンの性状が異なっている可能性も強いので、この2段階の間に質的な相違を伴ったもう一つの段階のあることも考えられる。

以上のような経過のなかで、内方部でのリグニン沈着が非常に長期にわたって継続することは極めて興味深く、沈着するリグニンの起原を考える上からも注目に値する現象と言える。FERGUS と GORING (1970) によれば、リグニンの前駆物質の起原については2つの説があるこ

とが知られている。一つは形成層起原説であり、もう一つは分化中の細胞自身を起原とする説である。彼らは後者の説を支持しており、WARDROP (1971) もまた同じように考えている。本研究の結果によれば、環状部の木化の場合には形成層を起原とする説が、一方、内方部の場合には細胞自身を起原とする説が支持されることになる。また、外樹皮中の厚壁細胞のリグニン量の増加を考えると、後者の説はさらに強く支持されるものと考えられる。

BÖHLMANN (1971) は *Tilia cordata* の枝の上側部の樹皮は引張あて材に相当すると報告している。その結論は、師部繊維の数の多いこと、径が大きく、長いこと、そして交錯するネットワークを形作ることなどの比較的巨視的な観察結果に基づいており、その壁層の木化の程度には言及していない。このような報告があるものの、本研究で用いたハルニレ樹皮が引張あて材に相当するものであるとは考えられない。本研究の試料は複数の直立樹幹から得られたものであり、いずれも同じ木化経過であった。また、師部中での木化の程度は形成層側から外方へ向って、順次増加して行く規則的な傾向にあり、局所的な現象ではなかった。さらには、その木部には引張あて材の形成は認められなかった。これらの点から、ハルニレの厚壁細胞の木化が遅延することとあて材との関係は結びつかないと考えられる。

多数の樹種の師部を研究した NANKO (1979) はハルニレも取り挙げ、その2次師部中の師部繊維の壁構造を TEM で明らかにした。その2次壁は  $S_1$  層、 $S_2$  層、そしてその内側を埋めつくしている部分の3層構造であることを示した。そこに示された模式図によれば、本研究での環状部は  $S_1$  層と  $S_2$  層が一緒になったものであり、内方部は  $S_2$  層から内腔部までの部分に相当すると考えられる。さらに、彼はこの  $S_1$  層と  $S_2$  層は強く木化しているが、残りの内方部はほとんど未木化であり、引張あて材の G 層に類似していると記している。しかしながら、観察した師部繊維の師部中での存在位置については触れていない。もしも、それが形成層付近のものであったならば、本研究の結果によれば、それが未木化であることは十分に考えられる。したがって、今後は師部中での存在位置を考慮した上での TEM 観察が必要であろう。

さらに、NANKO (1979) はハルニレ以外にも幾つかの樹種で同様の未木化壁を有する師部繊維を見出しているが、いずれもその存在位置については記述していない。同じような結果は SRIVASTAVA (1966) も得ている。彼は22種の針葉樹と74種の広葉樹の師部繊維やスクレレイドの木化をモイレ反応とフロログルシン・塩酸法で研究し、*Ephedra viridis*, *Ginkgo biloba* の2次師部中の師部繊維の複合間層だけは木化し、2次壁は未木化であることを示した。また、1次師部ではあるが、2次壁も複合間層も木化しないものとして *Celastrus orbiculatus*, *Hovenia dulcis*, *Rhamus frangula* を挙げている。しかしながら、この場合も師部繊維の存在位置については触れていない。なお、残念ながら *Ulmus* は研究していない。以上の研究例に見られるように、その存在位置については問題はあるものの、厚壁細胞の木化状況が通常の場合と異なることのあるのはハルニレだけに見出されるものではなく、樹種的にかなり広がりを持つ現象と考えられる。今後は多くの樹種について、本研究でのような調査がなされる必要が

あると思われる。

HOLDHEIDE (1951) は *Ulmus scabra* の厚壁細胞の分化の大部分は2年目になって行なわれるので、その厚壁細胞は師部繊維ではなく、ファイバースクレイドと呼ぶべきであると考えている。また、TsoUMIS (1968) もスクレイドの木化は数年にわたって継続すると述べている。以上の点から、ハルニレの厚壁細胞はファイバースクレイドあるいはスクレイドと呼ぶべきかも知れない。一方、その形状から見ると、*Ulmus americana* (CHANG 1956 b, ZAHUR 1959), *U. scabra* (HOLDHEIDE 1951), *U. fulva* (ZAHUR 1959) の厚壁細胞は細長く、いわゆる繊維状であり、師部繊維と呼ぶべきかも知れない。他方、ESAU (1969) は多くの文献を詳細に比較・検討した結果、師部繊維とスクレイドを区分する厳密な基準は見当たらないと結論している。その結論によれば、師部繊維とスクレイドの中間状態のものをファイバースクレイドと呼んでいることも適当ではないと考えられる。本研究では、師部繊維とスクレイドの総称である厚壁細胞を一貫して用いて来たが、それが最も適当な呼び方であると考えられる。

## 結 論

ハルニレの樹皮中の厚壁細胞の木化経過は顕微鏡レベルの呈色反応およびUV 顕による観察・測定によってほぼ明らかになった。厚壁細胞の2次壁は顕微鏡レベルでは2層構造に見え、外方を環状部(S<sub>1</sub>層+S<sub>2</sub>層)、内側を内方部と呼ぶことにした。この環状部は形成層の極く近くで、すなわちそれが分化して1~2年目と考えられるが、すでに木化しており、通常の木化経過をとるものと考えられる。一方、その内方部は形成層よりかなり離れた位置にある厚壁細胞で初めて木化を始める。すなわち、2次壁形成が完了した厚壁細胞の中心部の痕跡ばかりになった内腔部付近から木化し始め、外周部(細胞軸方向、周囲方向)へと進展して行き、その完了には長期間を要する。このような木化開始の遅延や木化の長期の継続の例は幾つか報告されており、ハルニレだけに特異的に見られるものではなく、樹種的な広がりを持つ現象と考えられる。したがって、この現象に基づいて、リグニンの起原を論ずることも可能であり、分化中の細胞自身が起原であるとの説を支持するものと考えられる。

このような沈着経過をとるリグニンは環状部、内方部ともにグワヤシルリグニンである。一方、その細胞間層はシンギルリグニンと強く関係していると考えられ、また環状部と内方部との境界部も同様の性状のリグニンと推定されたが、明確に結論するには至らなかった。

なお、外樹皮中の厚壁細胞の木化の程度は師部中のものよりも高かった。しかし、それがリグニンの量的な増加だけによるのか、質的な変化が生じているのかは判然とせず、今後の研究に残された問題点である。

通常、厚壁細胞は師部繊維、スクレイド、ファイバースクレイドに分けられることが多いが、それらを識別する基準は確立してはず、あるいはそれが不可能であるとも考えられている。したがって、それらの定義が十分に確立するまでは、それらの総称である厚壁細胞を用

いるべきであると考えられる。

## 謝 辞

本研究をまとめるにあたり、北海道大学農学部林産学科木材理学講座の深沢和三教授には多くの有益な御教示を戴いた。ここに記して深く感謝の意を表わす。

## 文 献

- 1) BÖHLMANN, D.: Zugbast bei *Tilia cordata* MILL., *Holzforschung*, **25**: 1-4 (1971).
- 2) CHANG, Y. P.: Bark Structure of North American Conifers, U.S. Dept Agr., (1954 a).
- 3) CHANG, Y. P.: Anatomy of Common North American Pulpwood Barks, TAPPI monograph series no. 14 (1954 b).
- 4) ESAU, K.: The Phloem, Gebrüder Borntraeger, (1969).
- 5) FERGUS, B. J. and GORING, D. A. I.: The Location of Guaiacyl and Syringyl Lignins in Birch Xylem Tissue, *Holzforschung*, **24**: 113-117 (1970).
- 6) GIBBS, R. D.: The Mäule Reaction, Lignins and the Relationships between Woody Plants, In *The Physiology of Forest Trees*, ed. by THIMANN, K. V., The Ronald Press Co.,: 269-312 (1957).
- 7) HOLDHEIDE, W.: Anatomie mitteleuropäischer Geholzirinden, In *Handbuch der Mikroskopie in der Technik*, ed. by FREUND, H., Umschau Verlag, **5**: 19-367 (1951).
- 8) 今川一志: ハルニレの2次師部の発達, 日本木材学会大会(第24回)研究発表要旨集, **42** (1974).
- 9) IMAGAWA, H.: Studies on the Seasonal Development of the Secondary Phloem in *Larix leptolepis*, *Res. Bull. Exp. For. Hokkaido Univ.*, **38**: 31-44 (1981).
- 10) 今川一志, 石田茂雄: ハリギリ (*Kalopanax pictus*) の2次師部の発達に関する研究, *北大農演研報*, **30**: 145-162 (1973).
- 11) 今川一志, 深沢和三, 石田茂雄: カラマツ (*Larix leptolepis* Gord.) 仮道管の木化経過に関する研究, 同上, **33**: 127-138 (1976).
- 12) JENSEN, W. A.: *Botanical Histochemistry*, W. H Freeman and Co., (1962).
- 13) 窪田 実, 他: 道産樹皮のポリフェノール量, 日木北支講, **9**号: 27-30 (1977).
- 14) 中野準三, 他: 木材化学, ユニ出版株 (1983).
- 15) NANKO, H.: Studies on the Development and Cell Wall Structure of Sclerenchymatous Elements in the Secondary Phloem of Woody Dicotyledons and Conifers, Dr. thesis Kyoto Univ., (1979).
- 16) NANKO, H. and CÔTÉ W. A.: Bark Structure of Hardwoods grown on Southern Pine Sites, Syracuse Univ. Press, (1980).
- 17) PARAMESWARAN, N.: Some Remarks on the Nomenclature of Fibers, Sclereids and Fiber-Sclereids in the Secondary Phloem of Trees, *IAWA n.s.*, **1**: 130-132 (1980).
- 18) PARAMESWARAN, N. and LIESE, W.: Mikroskopie der Rinde tropischer Holzarten, In *Handbuch der Mikroskopie in der Technik*, ed. by FREUND, H., Umschau Verlag, **5**: 227-306 (1970).
- 19) SRIVASTAVA, L. M.: Secondary Phloem in *Pinaceae*, *Univ. Calif. Publ. Bot.*, **36**: 1-142 (1963).
- 20) SRIVASTAVA, L. M.: Histochemical Studies on Lignin, *TAPPI*, **49**: 173-183 (1966).
- 21) TSOUMIS, G.: Wood as Raw Material, Pergamon Press (1968).
- 22) WARDROP, A. B.: Occurrence and Formation in Plants, In *Lignins*, ed. by SARKANEN, K. V. and LUDWIG, C. H.: Wiley-Interscience, 19-41 (1971).
- 23) ZAHUR, M. S.: Comparative Study of Secondary Phloem of 423 Species of Woody Dicotyledons belonging to 85 Families, *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem.*, **358**, pp. 160 (1958).

### Summary

Lignification process of the sclerenchyma cells in Haru-Nire, *Ulmus davidiana* var. *japonica*, was examined with a staining or some color reactions, e.g. safranin and fast green double staining for usual light microscopy, phloroglucinol reaction, Mäule reaction and Cross Bevan reaction for lignin, and I-KI-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> method for cellulose. Furthermore, UV microscopy was applied to elucidate the process qualitatively and quantitatively. Specimens were obtained from the fully mature stems grown at Tomakomai Experiment Forest of Hokkaido University. Specimens were fixed in FAA, embedded in celloidin, and transverse sections were cut. They were stained or treated with methods mentioned above. Semi-ultrathin sections for UV microscopy were cut from the epon embedded specimens.

The secondary walls of the sclerenchyma cells were composed of two parts, ring-like band and inner part. The former was located at the outer portion of the secondary wall and the latter was surrounded with the ring-like band. In the sclerenchyma cells far from the cambium, lignification began at the inner part. In other words, the lignification was not initiated in such cells until some time after the completion of the secondary wall formation. Furthermore, the deposition of lignin continued for a long time. The lignin deposition began first in the inner part near the lumen at the central portion of the sclerenchyma cell and advanced gradually toward the cell tips and the periphery. On the other hand, however, the ring-like band was lignified in the same manner as usual xylem cells, i. e. immediately after wall deposition.

Treated with Mäule or Cross-Bevan reaction, both the inner part and the ring-like band indicated the same negative reaction which implied guaiacyl lignin, though their lignification processes were considerably different. While, the intercellular layers and the boundaries between the ring-like bands and the inner parts showed positive reaction which derived from syringyl lignin. It is interesting that nature of the lignin may be locally varied in the secondary wall.

In the outer bark, lignin contents of the sclerenchyma cells were higher than in the secondary phloem. Judging from the results of the color reactions, it is considered that not only quantitative but also qualitative variation may occur in the outer bark.

### Explanation of Photographs

- Photo 1.** Transverse sections of whole secondary phloem and a part of outer bark. 1 b and 1 c show the parts (b, c) in 1 a. Arrows indicate the depositions in the phloem. P: periderm, C: cambium, EV: enlarging vessel, S: sclerenchyma cell.
- Photo 2.** Transverse sections of sclerenchyma cells stained with safranin and fast green. 2 a-2 e indicate sclerenchyma cells at each position from the cambium, respectively 1st 5th 16th 25th and the outermost 35th in the phloem. 2 f shows ones in the outer bark.
- Photo 3.** Transverse sections of sclerenchyma cells treated with phloroglucinol reaction. 3 a-3 d indicate sclerenchyma cells at each position from the cambium, respectively 1st, 3rd, 6th and the outermost in the phloem. 3 e shows ones in the outer bark. 3 f exhibits the secondary phloem and the outer bark.
- Photo 4.** Transverse sections of sclerenchyma cells treated with Mäule reaction. 4 a-4 e indicate sclerenchyma cells at each position from the cambium, respectively 1st, 2nd, 3rd and 4th, 9th and 10th, and the outermost 34th in the phloem. 4 f exhibits ones in the outer bark. Wedges show the intercellular layers and the boundary between the ring-like band and the inner part of the secondary wall which are dyed red.
- Photo 5.** Transverse sections of sclerenchyma cells treated with Cross Bevan reaction. 5 a-5 c indicate sclerenchyma cells at each position from the cambium, respectively 1st and 2nd, 5th-7th, 19-21th in the phloem. 5 f exhibits ones in the outer bark. Black wedges in 5 a show the ring-like bands of the secondary walls which are dyed brown. In 5 b, black wedges show the unlignified inner parts of the secondary walls which are not dyed. In 5 c, black wedges indicate the lignified parts of the inner part which are dyed brown. White wedges exhibit the line-like parts which are dyed red.
- Photo 6.** Transverse sections of sclerenchyma cells treated with IKI-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> method. 6 a-6 d indicate sclerenchyma cells at each position from the cambium, respectively 1st, 2nd, 6th, and 10th in the phloem. 6 e exhibits ones in the outer bark. Cellulose in the secondary walls shows blue color.
- Photo 7.** UV micrographs of transverse sections of sclerenchyma cells taken with 280 m $\mu$  wave length. 7 a shows sclerenchyma cells adjacent to the cambium. 7 b indicates ones at the outermost part in the phloem. 7 c exhibits ones in the outer bark.

