高周波酸素プラズマによる低温灰化の生薬学的研究への応用; インドゴムノキ, カナム
グラおよびキツネマゴの葉の灰化組織中における炭酸カルシウムの観察

梅本光一郎,^{1a)} 穂積啓一郎^{1b)}
京都薬科大学,^{1a)} 京都大学薬学部^{1b)}

Applications of Low-Temperature Ashing with High-Frequency Oxygen
Plasma in Pharmacognostical Studies; Observations of Calcium
Carbonate Crystals in Ashed Tissues of Leaves of *Ficus*
elastica ROXB., *Himulus japonicus* SIED. et ZUCC.
and *Justicia procumbens* LINN.

KOUICHIRO UMEMOTO^{1a)} and KEIICHIRO HOZUMI^{1b)}
Kyoto College of Pharmacy^{1a)} and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University^{1b)}

(Received February 27, 1971)

A low-temperature oxygen plasma generated in a high-frequency electromagnetic field under a low pressure was applied to plant tissues on a slide glass for removing organic matrices but perfectly preserving the shape and arrangement of calcium carbonate crystals in the specimens. The observation of ashed tissues of leaves of *Ficus elastica* ROXB. revealed details of cystolith deposited in the epidermis which seemed to be clustered crystals having optical properties of either isotropy or anisotropy. Calcium oxalate crystals were also observed along the vein in extremely high density. An ashed leaf of *Himulus japonicus* SIED. et Zucc. was highly characterized by short hair of single cell which had semispherical base consisting of several cells encircling a cystolith ball inside. *Justicia procumbens* LINN. left slender cystolith in the ashed tissue irregularly arranging near the vein.

前報において低圧酸素ガス流に高周波エネルギーを加え、生成する活性酸素プラズマ²⁾を植物体に作用させると、その組織構造を破壊せずに低温において完全燃焼させることができ、得られた灰化組織の細部構造を観察すれば植物分類学および形態学的研究あるいは生薬の原植物の同定に应用できることを報告した。³⁾ 前報⁴⁾においてシュウ酸カルシウムを含む植物について述べたが、今回は炭酸カルシウムを含むインドゴムノキ、カナムグラおよびキツネノマゴの葉について実験を行なった。炭酸カルシウムは鐘乳体として、たとえばクワ科、アサ科、キツネノマゴ科などに一般的にみられ、この灰化像の特徴を観察することは上記研究上有力な手がかりを与えるものと思う。

前報と同一方法を用いて各葉面中の炭酸カルシウムを中心として観察し、同時に組織細胞膜、顆粒などの灰化状況を観察した。また同一試料を用いて抱水クロラル液、オードジャベル液の各透明剤で透化処理したものを対照として鏡検したところ、本法は灰化後ももとの組織、組織中の結晶の位置、形態を正確に再現していることがわかった。本法は透明法に比し、顕微鏡像の鮮明度においても格段すぐれていることがわかった。

I. インドゴムノキ (*Ficus elastica* ROXB. クワ科)

試料植物 京都市, 山科 (栽培品) (1970).

灰化像 葉を表面視すれば表皮細胞の細胞膜は灰化後も原形をそのままとどめ、その内部には球形あるいは

- 1) Location: a) Yamashina Misasagi, Higashiyama-ku, Kyoto; b) Yoshida Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto.
- 2) C.E. Gleit, W.D. Holland, *Anal. Chem.*, **34**, 1454 (1962); C.E. Gleit, *Am. J. Med. Electron.*, **2**, 112 (1963); C. Berkely, J. Churg, J. Selikoff, W.E. Smith, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **132**, 48 (1965).
- 3) 梅本光一郎, 穂積啓一郎, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **19**, 217 (1971).
- 4) 梅本光一郎, 穂積啓一郎, 薬誌, **91**, 828 (1971).

長方形などの顆粒の存在が認められた (Fig. 1-F). 葉面全体を通じてきわめて大形の炭酸カルシウムからなる鐘乳体があり, その分布状態は不規則である. 鐘乳体は多数の結晶体が集合したものと観察され, 複雑な構造となっている. 層状の構造を有する鐘乳体は淡褐色ないし淡黄色あるいは灰色を呈し, 直交ニコルで光輝を与えるもの (Fig. 1-A, B, C, D) と光輝を与えないもの (Fig. 1-A, E) があることがわかった. また鐘乳体よりもはるかに小形のシュウ酸カルシウムの集晶があり, 直交ニコルで光輝を与える. 葉脈の存在位置および走行状態は明瞭であり, 葉脈をとり囲んで非常に多数のシュウ酸カルシウムの単晶が存在する (Fig. 2-A, B). 各々の単晶は比較的大形で, その形状は変異に富み長方形, 平行四辺形, 六角形, ひし(菱)形などいろいろの形態がある. 直交ニコルの下で観察すれば, 各々の結晶には葉脈の方向ないしこれと直角な方向の縞模様が認められ, ときには相似形の縞が認められる (Fig. 2-C, D). 維管束をとりまく多数の結晶に因って内部の仮道管, 師管などは認めがたい. またシュウ酸カルシウムと思われる柱状晶および砂晶様の物質が散在している.

横断面視すれば, 上下両面の表皮, 気孔, さく状組織, 海綿状組織を構成する柔細胞は灰化後もその存在位置

Fig. 1. Mineral Microstructures of Leaves of *Ficus elastica* Roxb. obtained by the Low-Temperature Ashing Method

A, C, E, F: normal light
B, D: crossed nicols

Fig. 2. Calcium Oxalate Crystals in Ashed Leaves of *Ficus elastica* ROXB. under crossed Nicold

Fig. 3. Calcium Carbonate Crystals in Ashed cross Sections of Leaves of *Ficus elastica* ROXB.
A,C,D: normal light B,E: crossed nicols

を明瞭に認めることができる。前述の炭酸カルシウムからなる鐘乳体は、上面表皮下の大形の細胞内に懸垂された状態で存在し、ブドウ状あるいはイチゴ状の構造を呈しているのが認められる (Fig. 3-A, B)。

鐘乳体は 2 種類あり、淡黄色を呈し、鐘乳体を構成する各結晶が互いに融合して結晶塊の形が明瞭でなく、断面視においても直交ニコルで光輝を与えるもの (Fig. 3-D, E) と、淡灰色を呈し、鐘乳体を構成する各結晶がひ針状で、構成する結晶塊の形が非常に明瞭に認められ、直交ニコルで光輝を与えないもの (Fig. 3-C) とがあることがわかった。また鐘乳体の存在する部分の表皮は若干上面に突出している (Fig. 3-D)。シュウ酸カルシウムからなる集晶は海綿状組織内に多数存在している。各葉脈を構成する維管束の存在位置は認められるが、それらを構成する仮道管、篩管などの細胞膜は柔組織よりも形態の保持状態が悪く、細胞の原形は消失している。非常に太い維管束では篩部繊維が認められることがあり、葉脈は空洞になっている。その維管束の空洞になった周囲を大形のシュウ酸カルシウムの単晶が立体的にとりまいている (Fig. 3-A, B)。この維管束をとりまく単晶は葉の下面側に多く存在し、上面側は少ない傾向がみられ、細脈になると葉の下面側にのみ存在し、上面側には存在を認めることができない。微細な柱状晶が主としてさく状組織内に散在しているのが認められる。

II. カナムグラ (*Himuls japonicus* SIEB. et ZUCC. クワ科)

試料植物 滋賀県坂田郡、伊吹山 (1970)。

灰化像 葉の表皮は灰化後その形をとどめないが、気孔付近の一部の表皮細胞および気孔の孔辺細胞の細胞膜はその形をとどめている。表皮上には種々の形態をなす多数の単細胞性の剛毛が存在し (Fig. 4-A, B)、剛毛の基部は丸くふくらんでいて、その中に炭酸カルシウムからなる鐘乳体を 1 個含んでいる (Fig. 4-C)。剛毛の長さの短いものの方が一般的に鐘乳体が大形であり、剛毛の細胞膜は非常に明瞭な灰化像を残す。ブドウ状を呈する炭酸カルシウムの鐘乳体は非常に明瞭に観察され、それを構成する各々の顆粒は層状になっている (Fig. 4-D)。剛毛の基部の周囲に環状に配列する特殊な表皮細胞が認められ (Fig. 4-D)。その細胞内には顆粒が存在するが、これは結晶体であるか白色体であるかは不明確であり、さらに今後の検討を要する。灰化後においても剛毛の基部の周囲をとりまく特殊な細胞の表面のクチクラには細かい放射状の線が走行している。鐘乳体は直交ニコルでほとんど光輝を与えない。同時にシュウ酸カルシウムの集晶も不規則に散在しているのが認められ、その大きさは鐘

Fig. 4. Ashed Tissues of Leaves of *Himuls japonicus* SIEB. et ZUCC. obtained by the Low-Temperature Method

乳体よりもいちじるしく小形である。集晶の形は非常に不規則であって、それを構成する各結晶の数にもかなりの差が認められ、また直交ニコルの下で観察すればその光輝は炭酸カルシウムよりも強い。葉脈の走行状態は認められるが (Fig. 4-B), それを構成する仮道管、師管などは灰化後ほとんど消失している。

III. キツネノマゴ (*Justicia procumbens* LINN. キツネノマゴ科)

試料植物 滋賀県坂田郡, 伊吹山 (1969).

灰化像 葉の表皮細胞は灰化後その形骸を認めがたい非常に少数散在する 2—3 細胞性の毛はわずかにその形骸をとどめている。円形, だ円形, 四方形などの顆粒が認められる。炭酸カルシウムからなる鐘乳体は不規則に散在し, 個々の鐘乳体の大きさには差があり, 主として葉脈に近い部分に存在する (Fig. 5-A). また個々の形態も非常に不規則で, 長短さまざまであり, 直交ニコルによって光輝が認められる。シュウ酸カルシウムと思われる結晶がまれに存在する (Fig. 5-B). 葉脈を構成する仮道管などは認められないが, 葉脈の存在位置は判別できる。

Fig. 5. Surface Views of Leaves of *Justicia procumbens* LINN. ashed by the Low-Temperature Method

結 論

以上のように植物無機組織中の主要な結晶体の一つである炭酸カルシウムを含有する植物についても, この低温灰化によって結晶が灰化組織中に原形のまま完全に保存され, 結晶の配列状態や光学的特徴を顕微鏡下に観察することにより, 植物分類学および形態学的研究などに有効に應用できることが判明した。炭酸カルシウムの結晶は従来の植物切片の顕微鏡的観察では有機性の細胞にさえぎられて観察が困難または不可能なことが多かったので, この低温灰化法は植物組織の顕微鏡的研究の分野に新しい可能性をもたらすものと考えられる。

謝辞 本研究にあたり懇切な御指導をいただいた京都大学薬学部 木島正夫教授に感謝の意を表する。また有益な御助言ならびに貴重な試料を御提供いただいた京都薬科大学 布藤昌一博士に深謝する。