

ミズナラ緑葉に含まれるリグニンの地域間差異

(北大院農) ○川口 新、幸田圭一、宮本敏澄、浦木康光

〈緒言〉

北海道では、ミズナラの形態が地域によって異なることが知られている。東部地域では、近縁種であるカシワが多く天然分布しており、その開花期がミズナラと近接しているため、自然交配が起こり、カシワとミズナラの交雑種が存在する¹⁾。本研究では、北海道各地でミズナラ緑葉を採取し、カシワとの交雑や地域間差異がミズナラ緑葉中に含まれるリグニン量や性状にどのような影響を与えるか検討した。

採用したリグニン分析法も注意深く検討した。森林生態学などの分野では、葉に含まれるリグニンの定量に、クラークソン法を適用している場合が多い。しかし、クラークソン法では、葉に含まれるリグニン以外のフェノール性成分、クチン質やタンパク質などの影響で、硫酸不溶残渣として定量されるリグニン量が過大に評価される可能性が指摘されている^{2),3)}。比色定量法の一つ

であるアセチルブロミド法にも、同様の弱点が存在する。本研究では、リグニンに特徴的な官能基であるメトキシル基の定量及びニトロベンゼン酸化法を用いて、ミズナラ緑葉中のリグニンを分析した。

〈実験〉

桧山、苫小牧、母子里、苫前、大樹、厚岸、足寄の計7地点 (Fig.1) において、夏季 (2010 または 2011 年 7 月下旬~8 月中旬) にミズナラ緑葉 (Fig.2) を採取した。今回実験に供した緑葉の各サンプルは、形態上はミズナラに特徴的な外観 (鋭鋸歯状) を有する個体を選択した。緑葉を風乾した後、家庭用ミキサーで粉碎し、ふるい分けをして 60-80 メッシュ画分の乾燥粉末を得た。そこから 50 mg 取り、57 % ヨウ化水素酸 (HI) を用いて、リグニンのメトキシル基をヨウ化メチルに変換後、GC で定量した。さらに、乾燥粉末 50 mg をニトロベンゼン酸化に供し、生成する芳香族アルデヒド及び芳香族酸を GC で定量した。なお、リグニンの分析は原則として、各地点から採取された 2 個体を用いて行なった。



Fig.1 ミズナラ緑葉採取地点



典型的なミズナラ



交雑種



典型的なカシワ

Fig.2 ミズナラ、カシワ及び交雑種の緑葉の形状

〈結果と考察〉

(1) リグニン量の算出方法

緑葉中のリグニンの模式的な単位構造を Fig.3 に示した β -O-4 構造で代表させた場合、その残基分子量はそれぞれ、①X,Y=H である場合は 166 g/unit、②X=OCH₃, Y=H の場合は 196 g/unit、③ X,Y=OCH₃ の場合 226 g/unit となる。ニトロベンゼン酸化生成物の収量からリグニン中の骨格構造に関する情報 (H 核、G 核、S 核の比) が得られるので、以下の式を用いて Fig.3 で示すリグニン残基の分子量を決定した。

$$\text{残基分子量 (g/unit)} = \frac{166 \times \text{H核の比} + 196 \times \text{G核の比} + 226 \times \text{S核の比}}{\text{H核の比} + \text{G核の比} + \text{S核の比}}$$

この残基分子量とメトキシル基の定量結果から、ミズナラ緑葉中のリグニン量を計算した (Fig.4)。

(2) リグニンの性状に関する考察

リグニンを構成する芳香核構造 (H 核、G 核、S 核) は非縮合型構造および縮合型構造に分けられる。ニトロベンゼン酸化は、非縮合型構造の主な結合様式である β -O-4 結合を開裂し、芳香族アルデヒド及び芳香族酸を生成する。それらを定量することによってリグニン中の β -O-4 結合の頻度を知ることができる。緑葉中のリグニン構造における β -O-4 結合の割合を Fig.5 に示す。苫小牧では、 β -O-4 結合割合が 80 % 以上であり、苫小牧のミズナラ緑葉中のリグニンは 80 % 以上が非縮合型構造で構成されていることが分かる。一方で、苫前や大樹では、 β -O-4 結合の割合が 33~42 % であった。ゆえにリグニンの構造は地域間で大きく異なると言える。また、G 核に対する H 核、S 核のそれぞれの比についても検討し、地域間差異を見いだした (Table 1) が、これらを規定する要因や傾向については明確な解答を得るには至っていない。

(3) リグニン量に関する考察

(i) 気候条件

Fig.4 に示すように北海道南東部に位置する厚岸と大樹、足寄では、他の 4 地点と比べてリグニン量が低く、地域間で差異が見られた。その理由として第一に、気候条件の違いが考えられる。北海道中央部に日高山脈や大雪山地が南北にまたがっており、これを境に東西で北海道の気候が大きく 2 つに分かれている¹⁾。気候条件の中では、年間降水量及び年間日照時間の違いが顕著である。厚岸、大樹、足寄の年間降水量 (2011 年観測結果) は、1100 mm 未満であり、他の 4 地点の年間降水量は 1100 mm 以上である (Table 1)。また、年間日照時間については、厚岸、大樹、足寄で 1900 時間以上であるのに対し、他の 4 地点では、1700 時間よりも短い。

(ii) カシワとの交雑

サンプル採取地域間でリグニン量が異なった理由の 2 番目として、交雑の影響も想定できる。北海道東部地方では、カシワとミズナラの自然交配が行われており、東部のミズナラは、カシワに似た形態的特徴を有するとされている¹⁾。今回実験に供した緑葉の各サンプルは、形態上はミズナラに特徴的な外観を有する個体を選択した (Fig.2) が、遺伝子レベルでの検討までは行っていない。

ミズナラとカシワの自然交配が道東部でより進行していることが、他の 4 地点と比べて緑葉中のリグニン定量値が小さくなっていることと関係しているかどうかを明らかにするために、現在、典型的なカシワ緑葉のリグニン含有量および性状の分析を進めている。

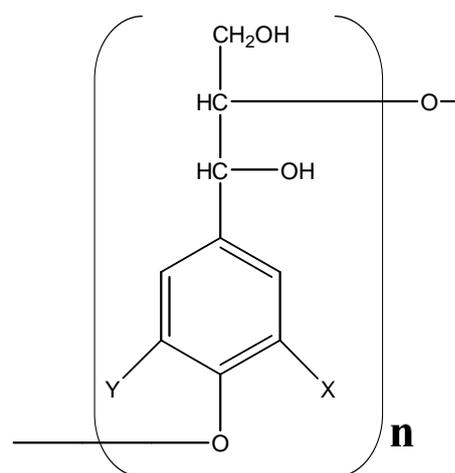


Fig.3 リグニンのフェニルプロパン単位
(X, Y: -OCH₃, or -H)

1) 生方正俊、飯塚和也、河野耕蔵：北海道のミズナラにおける葉および堅果の形質の反復率と地理的変異、

- 2) 川上日出國、草島すなお、沓名重明：スギ落葉有機組成分特にクチンの生分解について、名大演報9, 44-50 (1987)
- 3) Z. Jin, T. Akiyama, B. Y. Chung, Y. Matsumoto, K. Iiyama, S. Watanabe: Changes in lignin content of leaf litters during mulching. *Phytochem.*, 64: 1023-1031 (2003)

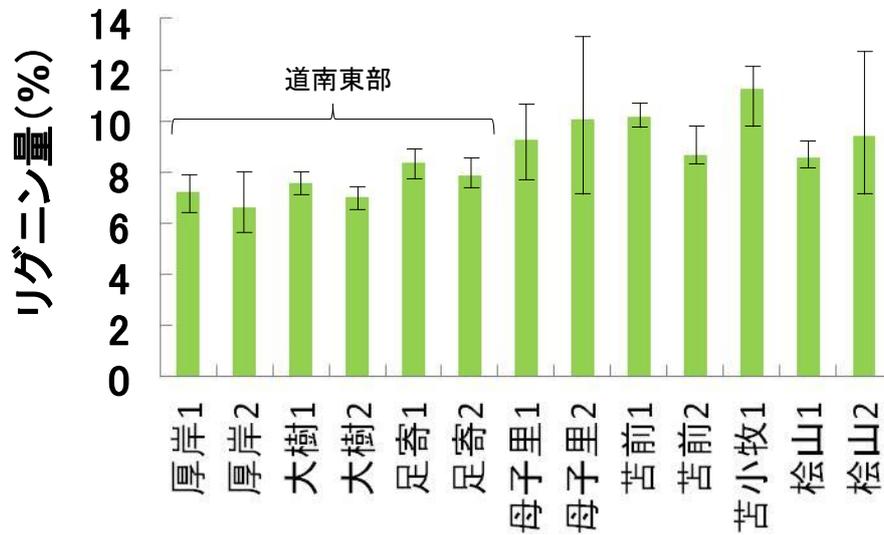


Fig. 4 ミズナラ緑葉中のリグニン量

(error bar は3反復の最大値と最小値を示す)

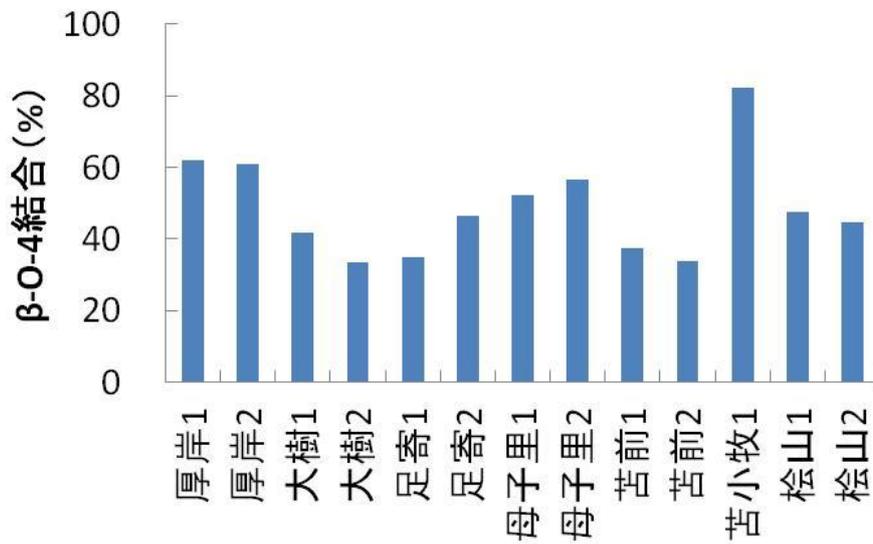


Fig. 5 ミズナラ緑葉中のβ-O-4結合の割合

Table 1 サンプル採取地の環境条件

	日照時間 (h)	年降水量 (mm)	H/G比 (個体1)	H/G比 (個体2)	S/G比 (個体1)	S/G比 (個体2)
厚岸(大田)	1933	1003	0.4	0.5	0.7	0.7
大樹	1997	1090	0.6	0.5	0.7	0.7
足寄	1947	852	1.1	0.6	0.4	0.5
母子里 (朱鞠内)	1188	1895	0.9	1.0	0.4	0.4
苫前(羽幌)	1557	1682	1.1	1.1	0.5	0.4
苫小牧	1667	1347	0.3	No data	0.6	No data
桧山(江差)	1371	1197	0.5	0.7	0.5	0.6

(注)：調査地地点の観測データがない場合には、近接地域（カッコ内）の観測結果を参照した。