

ZASTOSOWANIE DYFRAKCJI PROMIENI X I SKANINGOWEJ MIKROSKOPII
ELEKTRONOWEJ DO BADANIA STRUKTURY I ULTRASTRUKTURY DREWNA

Józef Kocoń

SGGW-AR w Warszawie, Zakład Fizyki

Podstawowe metody dyfrakcyjne obejmują rentgenowską analizę strukturalną i mikroskopię elektronową - transmisyjną i skaningową. Zostały one zastosowane nie tylko do badania struktury ciała stałego, ale i do badania struktur komórkowych na etapie organeli komórkowych i na poziomie molekularnym. Nauki rolnicze są z jednej strony ogniskiem dyscyplin biologicznych, z drugiej technicznych i technologicznych. Funkcjonalność biologiczna związana jest ze strukturą. Aby poznać i zrozumieć funkcjonalność biologiczną, należy uprzednio poznać strukturę. Należy jednak zaznaczyć, iż z poznanej struktury do zrozumienia funkcjonalności w sensie biologicznym jest droga daleka, wymagająca badań biologicznych, biochemicznych itd. Jest faktem niewątpliwym, że scenerią funkcjonalności jest struktura na różnych poziomach organizacji materii, począwszy od poziomu supermolekularnego, molekularnego, anatomicznego do poziomu mikroskopowego włącznie. Również fizyczne i technologiczne właściwości ciał organicznych (drewna, białek, kwasów nukleinowych itp.) zakodowane są w strukturze. Niniejsza praca nie pretenduje do opisu metod dyfrakcyjnych, które czytelnik może znaleźć w załączonej literaturze [1-7], ale podaje kilka możliwości zastosowania rentgenowskiej analizy strukturalnej i mikroskopii elektronowej - transmisyjnej oraz skaningowej w podstawowych badaniach wchodzących w zakres problematyki rolniczej i leśnej. Byłoby znacznym osiągnięciem tej pracy, gdyby przytoczone przykłady skłoniły czytelników do zastosowania metody dyfrakcyjnej w swoich programach badań. W przykładach podano zdjęcia i rentgenogramy otrzymane w Międzywydziałowej Pracowni Mikroskopii Ele-

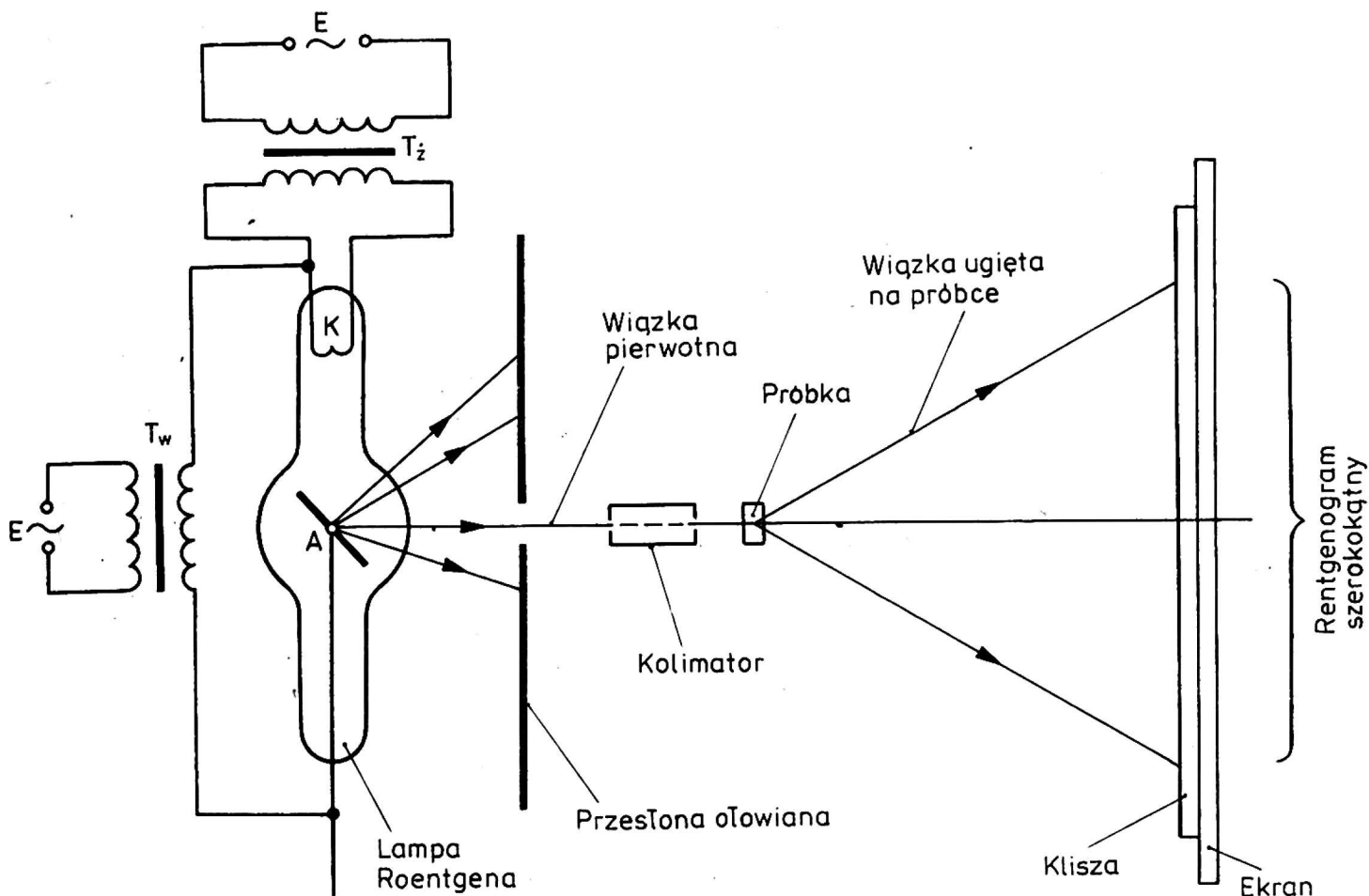
ktronowej SGGW-AR w Warszawie. Mam nadzieję, że na podstawie niniejszej pracy, pokazującej tylko wybrane możliwości zastosowania dyfrakcyjnych metod badania struktur i ultrastruktur wchodzących lub mogących wejść w zakres problematyki nauk rolniczych i leśnych Czytelnicy sami będą mogli ten zakres rozszerzyć i postawić zupełnie nowe problemy, które mogą być w całości lub częściowo rozwiązane przy zastosowaniu metod dyfrakcyjnych.

BADANIE UKŁADU MICEL CELULOZY W ŚCIANACH CEWEK JODŁY POSPOLITEJ (ABIES ALBA M.) ZA POMOCĄ DYFRAKCJI PROMIENI X

Układ micel celulozy w ścianach cewek drzew iglastych zależy od położenia cewki w strzale drzewa. Niniejsze badania jako przykładowe przedstawimy na podstawie analizy rentgenogramów otrzymanych na próbkach drewna jodły. Około 120-letnie drzewo jodły pospolitej (*Abies alba* L.) zostało przecięte w części odziomkowej, środkowej i wierzchołkowej. Próbki pobrano z trzech przekroi. W odziomkowej i środkowej części strzały drzewa próbki pobrano ze strefy rdzeniowej, środkowej i obwodowej. W części wierzchołkowej była tylko jedna strefa (kilka słoików). Próbki wycinano stycznie i badano układ micel celulozy w przyroście wiosennym (drewno wczesne) i w przyroście letnim (drewno późne).

Schemat metody badania ultrastruktury drewna za pomocą dyfrakcji promieni X pokazano na rysunku. Próbki drewna danego przyrostu w postaci płytek (0,2 do 1 mm) ustawiono prostopadle do monochromatycznej wiązki promieniowania charakterystycznego miedzi. Dyfrakcja promieni X następowała na płaszczyznach krystalograficznych celulozy, dając obraz dyfrakcyjny na płaskiej płycie fotograficznej, ustawionej na kasecie za badaną próbką. Lampa była pod napięciem 45 kV przy prądzie 8 A. Czas ekspozycji wynosił około 4 godzin. Na rysunku 2 i 3 załączono rentgenogramy pierwszego słoika rocznego przekroju odziomkowego kłody jodły. Oba rentgenogramy, otrzymane w wyniku dyfrakcji promieni X na próbkach drewna wczesnego i późnego są rentgenogramami spiralnymi.

Z analizy rentgenogramów, opartej na rzutach stereograficznych i figur biegunowych oraz praw dyfrakcji promieni X wnioskujemy, że micelle celulozy ułożone są spiralnie do kierunku przebiegu włókien (spiralnie do podłużnej osi cewek). Taka struktura drewna w od-



Rys. 1. Schemat metody badania ultrastruktury drewna za pomocą dyfrakcji promieni X

ziomkowej części pnia może występować w kilku, kilkunastu, kilkudziesięciu słojach rocznych, może też obejmować cały przekrój poprzeczny w zależności od warunków, w jakich rosło drzewo. Następne dwa rentgenogramy (rys. 4 i 5) otrzymano w wyniku dyfrakcji na drewnie wczesnym i późnym, pochodzącym ze środkowej strefy przekroju poprzecznego. Taki rozkład maksimów interferencyjnych dają tak zwane rentgenogramy włókniste. Rentgenogram włóknisty powstaje w wyniku dyfrakcji promieni X na micelach ułożonych równoległe do kierunku przebiegu włókien. Dokładną analizę rentgenogramów i metodykę badania struktury ścian komórkowych znajdzie czytelnik w cytowanych pracach. Również rentgenogramy otrzymane na ostatnim słoju rocznym (obwodowa część przekroju poprzecznego) są typowymi rentgenogramami włóknistymi (rys. 6 i 7). Z analizy tych rentgenogramów wynika, iż micelle celulozy w drewnie wiosennym i letnim są równoległe do podłużnej osi drewna.

Rentgenogramy drewna wczesnego i późnego pierwszego słoja środkowego przekroju poprzecznego, (rys. 8 i 9) są rentgenogramami spiralnymi. I w tym przypadku micelle celulozy ułożone są spi-

ralnie. Natomiast rentgenogramy strefy środkowej i obwodowej drewna przyrostu wiosennego i letniego omawianego przekroju poprzecznego są rentgenogramami włóknistymi, (rys. 6 i 7). A więc i w tej części pnia micide celulozy zarówno w drewnie wiosennym jak i letnim przebiegają równoległe. Układ micel celulozy w obu przyrostach słoja części wierzchołkowej badanego drewna obrazują rentgenogramy załączone na rysunkach 10 i 11. Są to rentgenogramy spiralne, a więc i układ micel celulozy w ścianach cewek tej części drewna jest spiralny. Jak już zaznaczono zakres słojów roboczych o spiralnym układzie micel zależy od warunków zewnętrznych, w którym rosło drzewo. Dotyczy to przede wszystkim odziomkowej części drzewa.

Jeżeli drzewo rośnie na skraju drzewostanu i przejmuje na swoją koronę dynamiczne uderzenia wiatru, to drewno o spiralnym układzie micel celulozy może obejmować cały przekrój poprzeczny odziomkowej części pnia. Jeżeli natomiast drzewo rośnie w zwarciu, odsłonięte od wiatrów, jest niegórujące w drzewostanie, to udział drewna o spiralnym układzie micel ogranicza do kilku lub kilkunastu słojów. Prawie w każdym drzewie liczba słojów o spiralnym układzie micel maleje od odziomka do wierzchołka. Mogą być oczywiście przypadki, że na pewnej wysokości może być prawie stała. W takim drzewie największa objętość drewna charakteryzuje się równoległym układem micel. W obwodowej i środkowej strefie drzewa części odziomkowej, środkowej występuje drewno o równoległym układzie micel celulozy. Drewno o równoległym układzie micel charakteryzuje się najkorzystniejszymi właściwościami fizycznymi, a więc i najkorzystniejszymi właściwościami technologicznymi. Drewno o spiralnym układzie micel ma większą wytrzymałość na zginanie. Taka struktura istnieje w tych miejscach strzały drzewa, gdzie występują niebezpieczne naprężenia zginające. Drewno o równoległym układzie micel posiada bardzo duży moduł sprężystości. W obwodowej części pnia w drewnie o równoległym układzie micel występują znaczne naprężenia rozciągające, co bardzo korzystnie wpływa na rozkład niebezpiecznych naprężeń przy zginaniu dynamicznym strzały drzewa spowodowane dynamicznymi uderzeniami wiatru na koronę drzewa. Drewno kilkuletnich drzewek iglastych charakteryzuje się w całej objętości spiralnym układem micel. Spiralny układ micel występuje również w drewnie reakcyjnym typu twardzicy. W drewnie gałęzi w obu przyrostach micide ułożone są spiralnie szczególnie, jeżeli chodzi o drewno po stronie dolnej względem rdzenia. W drewnie gałęzi po górnej stronie względem rdzenia micide tworzą nieznaczną dyspersję z

podłużną osią cewek. Tak więc drewno strefy rdzeniowej od odziomka do wierzchołka charakteryzuje się spiralnym układem micel. Natomiast drewno strefy środkowej i obwodowej na przekroju poprzecznym i części odziomkowej oraz środkowej względem długości strzały charakteryzuje się równoległym układem micel celulozy.

Należy zaznaczyć, że jak w drzewie zaczęło przyrastać drewno o równoległym układzie micel celulozy, to proces ten jest ciągły, zatem udział drewna o równoległym układzie micel celulozy dla danych warunków siedliskowych zależy od wieku drzewa. W starszym drzewie jest więcej drewna o równoległym układzie micel celulozy. W młodych drzewkach zazwyczaj występuje tylko drewno o spiralnym układzie micel. Mówiąc o równoległym układzie micel mamy na myśli przewagę statystyczną takiego układu, ale w drzewie może występować również orientacja spiralna o znacznie mniejszym układzie procentowym. W ścianie wtórnej cewek jodły pokład S_2 obwodowej części strzały zajmuje prawie 90%. Natomiast udział drewna o równoległym układzie micel celulozy w ścianie wtórnej cewek strefy rdzeniowej jest minimalny lub może wcale nie występować. W tej strefie pnia przeważa drewno o spiralnym układzie micel. Układ micel celulozy jest więc w pewnym stopniu funkcją położenia drewna w strzale i ma charakter uniwersalny. Opisany wyżej układ micel celulozy występuje nie tylko w drzewie jodły, ale także w innych gatunkach iglastych, takich jak świerk, sosna, modrzew, żywotnik olbrzymi, żywotnik zachodni i tak dalej. W drzewie reakcyjnym typu twardzicy układ micel jest spiralny. W drzewie gałęzi po stronie ściskanej występuje spiralny układ micel celulozy. Drewno gałęzi po stronie rozciągającej charakteryzuje się niewielką dyspersją kątową w układzie micel celulozy. Gdyby tutaj występowało czyste rozciąganie, to układ micel celulozy byłby równoległy. Obok sił rozciągających występują tu również momenty gnące i skręcające, zakłócające równoległy układ micel.

STRUKTURA I ULTRASTRUKTURA WARSTWY BRODAWKOWEJ W CEWKACH JODŁY POSPOLITEJ (ABIES ALBA L.) PRZEDSTAWIONA ZA POMOCĄ SKANINGOWEGO MIKROSKOPU ELEKTRONOWEGO

Brodawkowate struktury na pokładzie S_3 ściany wtórnej w cewkach roślin iglastych zostały odkryte prawie równocześnie przez Liesego [8] u *Pinus silvestris* oraz Kobayashi i Utusumi [5] u

Pinus densiflora Pojęcie warstwy brodawkowej wprowadził Harada [1] i zostało ono przyjęte w anatomii i strukturze drewna. Liese [9-13] w latach 1956-1965 stwierdził występowanie lub brak warstwy brodawkowej u około 160 gatunków. Na podstawie przeprowadzonych badań wysunął wniosek, iż występowanie brodawek nie jest związane z przynależnością systematyczną do gatunku, rodzaju czy rodziny. Powyższe badania przeprowadzone były w transmisyjnym mikroskopie elektronowym. Wprowadzanie do badania anatomii i struktury drewna skaningowego mikroskopu elektronowego umożliwiło bezpośrednio obserwację pokładu S_3 ściany wtórnej, a tym samym warstwy brodawkowej. Warstwa brodawkowa u *Pinus* występuje raczej sporadycznie i nie może być cechą rozpoznawczą ani strukturą adekwatną w cewkach tego gatunku. W niniejszej pracy przedstawimy kompleksowe badania warstwy brodawkowej w cewkach jodły pospolitej w kłodzie drzewa, korzeniach i gałęziach. W strzale (kłodzie) drzewa badano warstwę brodawkową w cewkach od rdzenia do obwodu i od odziomka do wierzchołka w przyrostach wiosennych i letnich. Badanie warstwy brodawkowej przeprowadzono na tym samym drzewie, na którym badano układ micel celulozy w zależności od położenia w strzale drzewa. Próbki pobrano z trzech przekrojów poprzecznych z odziomkowego, środkowego i wierzchołkowego. Badania struktury i ultrastruktury warstwy brodawkowej przeprowadzono na ścianach promieniowych cewek jodły pospolitej w przyrostach wiosennych i letnich. W niniejszej pracy zamieszczano tylko kilkanaście zdjęć przedstawiających warstwę brodawkową w cewkach drzewa jodły pospolitej. Ogólny wygląd warstwy brodawkowej na promieniowej ścianie cewki wiosennej jodły pospolitej pokazuje rysunek 12. Próbką ta pochodziła z odziomkowej części pnia z okolicy rdzenia. Już przy tym powiększeniu na pokładzie S_3 ściany wtórnej widoczna jest warstwa brodawkowa. Szczegółowa struktura i ultrastruktura tej warstwy przedstawiona jest na rysunku 13. Warstwa brodawkowa występuje również w cewkach letnich jodły pospolitej. Strukturę i ultrastrukturę warstwy brodawkowej na pokładzie S_3 ściany wtórnej w cewce letniej obrazują rysunki 14 i 15. Warstwa brodawkowa występuje w każdej cewce - od rdzenia do obwodu odziomkowej części pnia. Na rysunkach (16-19) pokazano strukturę i ultrastrukturę warstwy brodawkowej w cewkach wiosennych i letnich odziomkowej części pnia. Występowanie warstwy brodawkowej stwierdzono w każdej cewce między rdzeniem a obwodem odziomkowego przekroju poprzecznego bada-

nego pnia. Należy zaznaczyć, że warstwa brodawkowa nie występuje w promieniach rdzeniowych. Zupełnie podobna sytuacja występuje w cewkach środkowego przekroju poprzecznego. W każdej badanej cewce od rdzenia do obwodu stwierdzono występowanie warstwy brodawkowej. Przykładowo przedstawiają warstwę brodawkową w cewkach wiosennych i letnich strefy środkowej drugiego omawianego przekroju poprzecznego (rys. 20-23). Jak wiadać z załączonych rysunków, warstwa brodawkowa może przyjmować różne formy i rozmiary (rys. 21 i 23). Średnica brodawek zawarta jest w granicach od 40 do 500 mm. Najdrobniejsze brodawki występują na obrzeżach jamek lejkwatych, są przypadki kiedy obrzeża jamek lejkwatych nie są pokryte warstwą brodawkową (rys. 24). Pokład S_3 ściany wtórnej nie zawsze pokryty jest taką klasyczną warstwą brodawkową, może być pokryty bezpostaciową warstwą (rys. 25). Pokłady S_3 ściany wtórnej cewek wiosennych i letnich wierzchołkowej części strzały drzewa jodły pospolitej również pokryte są warstwą brodawkową (rys. 26, 27). Zdjęcia 26 i 27 pokazują strukturę i ultrastrukturę warstwy brodawkowej w cewkach letnich wierzchołkowej części pnia jodły pospolitej. Z przeprowadzonych badań wynika, że prawie w każdej cewce jodły pospolitej występuje warstwa brodawkowa. Warstwa brodawkowa jest powszechnie występującą strukturą w cewkach drewna jodły pospolitej. Powinna być wprowadzona do atlasów anatomicznych drewna jodły pospolitej.

LITERATURA

1. Harada H.: Electron microscopic investigation on the wartlike structure of conifer tracheids. J. Japan. For. Soc. 1953, 35, 393.
2. Hayat M. A.: Principles and Techniques of Electron Microscopy Van Nostrand 1970-1974.
3. Hayat M. A.: Principles and Techniques of Scanning Elektron Microscopy, Van Nostrand 1974-1975.
4. Higadhi N.: The world through the Electron Microscope, Biology JEOL 1970.
5. Kobayashi K., Utusumi N.: Electronmicroscopy of conifer tracheides. Comm. Note on Electr. Microsc. 1951, 56-93.
6. Kocoń J.: Rentgenograficzna analiza struktury micel celulozy drewna świerka a wiek rębności drzewostanu. Zesz. Nauk. SGGW-AR, Warszawa 1974.
7. Kocoń J., Muszyński S., Sowa W.: Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Biol., 1978, 26, 5-6.

8. Liese W.: Demonstration elektronmikroskopischer Aufnahmen von Nadelholztupfeln. Ber. Dnt. Bot. Ges. 1951, 64, 31-32.
9. Liese W.: Electronenoptische Beobachtungen über die Warzenstruktur bei den Koniferen. Electron Microscopy Proc., Conf., 276-279, Stockholm 1956.
10. Liese W.: Zur systematischen Bedeutung der Warzenstruktur bei der Gattung Pinus L. Holz Roh-Werkstoff 1956, 14/11/; 417-424.
11. Liese W.: Beitrag zur Warzenstruktur der Koniferentracheiden unter besonderer Berücksichtigung der Cupressaceae. Ber. Deut. Bot. Ges. 1957, 70, 21-30.
12. Liese W.: Tertiary wall and warty layer in wood cells. J. Polymer Sci., 1963, Part. C. 2, 213-229.
13. Liese W.: The warty layer. In: W. A. Cote, Jr. Cellular ultrastructure of woody plants. Syracuse University Press. 1965.
14. Muszyński S., Kocoń J., Dralewska M., Gromadka M.: Bull. Acad. Polon., Sci., Ser. Biol. 1976, 24, 449-450.

Юзеф Коцонь

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИФРАКЦИИ ЛУЧЕЙ X И СКАННИНГОВОЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ СТРУКТУРЫ И УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ДРЕВЕСИНЫ

Р е з ю м е

Распределение мицелий целлюлозы в древесине весеннего и летнего прироста зависит от их положения в стволе белой пихты (*Abies alba* M.). Большинство мицелий целлюлозы в стенках трахеид весенней и летней присердцевинной зоны характеризуется спиральным строением (спиральная рентгенограмма). Мицелии в стенках трахеид весеннего и летнего прироста периметровой зоны дерева белой пихты уложены параллельно (волокнистая рентгенограмма). Бородавчатый слой выступает в трахеидах корней, ствола и ветвей белой пихты (*Abies alba* M.) Установлено наличие бородавчатого слоя на пласту S_3 вторичной стенки от вердцевины до периметра и от корней до верхушки дерева белой пихты. Бородавчатый слой выступает как в ядровой так и в заболонной древесине корней, колоды и ветвей белой пихты. Исследования проводились на нескольких деревцах и деревьях. Почти в каждой трахеиде белой пихты выступает бородавчатый слой, независимо от возраста дерева. Бородавчатый слой представляет собой повсеместно встречаемую структуру древесины белой пихты и как таковой должен считаться опознавательным признаком этого вида, который следует учесть в анатомических атласах древесины. Бородавчатый слой в трахеидах белой пихты может принимать различные формы, а диаметр бородавки может колебаться в пределах 50-600 мкм.

Пласт S_3 вторичной стенки трахеид белой пихты может быть покрыт слоем не имеющим бородавок. Этот слой построен по всей вероятности из тех же полисахаридов, как и бородавки.

Józef Kocoń

APPLICATION OF X RAYS DIFFRACTION AND SCANNING ELECTRONIC
MICROSCOPY IN INVESTIGATIONS OF THE STRUCTURE AND ULTRASTRUCTURE
OF WOOD

S u m m a r y

The arrangement of cellulose micelles in wood of the spring and summer increment depends on position in the common fir (*Abies alba* M.) trunk.

Most cellulose micelles in walls of spring and summer tracheids of the by-heart zone are arranged spirally (spiral roentgenogramm). Cellulose micelles in walls of tracheids of the spring and summer increment of the common fir tree are arranged parallelly (fibrous reontgenogramm). The verrucous layer occurs in tracheids of roots, logs and branches of common fir (*Abies alba* M). Occurrence of the verrucous layer on the S_3 stratum of the secondary wall from heart to circumference and from roots to top of the common fir tree has been found. The verrucous layer occurs also in tracheids of reactive wood of common fir. The verrucous layer occurs both in heart- and sapwood, in the wood of roots, log and branches of fir. The investigations were carried out on several saplings and trees. In almost every tracheid of common fir verrucous layer occurs, irrespective of the tree age. The verrucous layer is usually encountered structure of the common fir wood and as such should be a recognition feature of this species to be introduced into the anatomic atlases of wood. The verrucous layer in tracheids of common fir can assume different forms and the verruca diameter can vary within the limits of 50-600 nm.

The S_3 stratum of secondary wall of tracheids of common fir can be covered with the layer without verrucas. This layer is probably built of the same polysaccharides as verrucas.