HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ポプラの皮部と木質部における脂質および耐凍度の季節的消長
Author(s)	吉田, 静夫
Citation	低温科學. 生物篇, 31, 9-20
Issue Date	1974-01-10
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/17803
Type	bulletin (article)
File Information	31_p9-20.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Shizuo YOSHIDA 1973 Seasonal Changes in Lipids and Freezing Resistance in Poplar Trees. *Low Temperature Science, Ser.* ***B, 31.*** (With English Summary p. 20)

ポプラの皮部と木質部における脂質および耐凍度の季節的消長*

吉田静夫
(低温科学研究所)

(昭和48年8月受理)

I. 緒言

植物の耐凍性を理解する上で糖類のような凍害防御物質の変動は極めて重要である[2)]。しかし，凍結によって細胞のいかなる部分に障害を受け，またはその障害が防御されるのだろうか。著者らはこれまでにも述べてきたように，それが細胞内における重要な代謝の場である生体膜であろうと推定している[1,2)]。生体膜は細胞の内生的な要因に基づくいろいろな機能の変化および外界の環境要因の変化と対応して構造的，または構成要素が変化するものと考えられる。植物の耐凍性はこうした生体膜の性質の変化と深いかかわりがあるものと考えうれる。

すでによく知られているように，リン脂質，糖脂質およびステロールなどは生体膜に不可欠な構成成分である。植物の生体膜の性質変化を構成成分であるこれらの脂質の変化の面から明らかにしようとしたこれまでの実験で，糖脂質およびリン脂質についてこれを支持する成績が得られている[2-4)]。

この報告は各生育段階のポプラの皮部および木質部について，年間を通じての脂質の基本的な変化を理解するため，リン脂質をはじめ糖脂質，中性グリセリド，ステロールおよびその脂肪酸エステル，各リン脂質の構成脂肪酸等について行なった一連の実験結果である。

II. 材料と方法

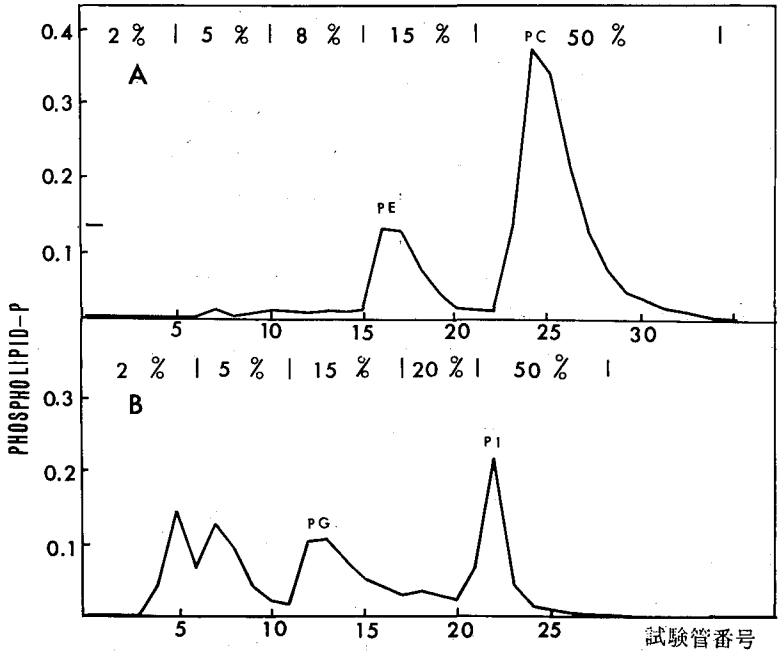
脂質の抽出方法： 材料は圃場に生育しているポプラ *Poplus euramericana* C. V. *gelrica* の一年生の枝を用いた。凍結保存中の脂質の分解[5)]を防ぐため脂質の抽出はすべて新鮮な材料について行なった。

脂質の抽出は同じ形状の枝の中央部分の皮部と木質部の各1.5 gについて行った。なお，材料の関係から9月～1月と2月～5月にはそれぞれ隣接して生育していた別々の株(AおよびB)を使用した。B株の枝はA株のそれよりも細目であった。皮部および木質部は細くきざんで冷やしたイソプロパノールを8 ml加え1.5 gの海砂とともに乳鉢の中で磨砕し25 mlのクロロホルム-メタノール(2:1, v/v)を加え室温で脂質を抽出した。遠心後残査を25 ml，ついで15 mlのクロロホルム-メタノール(2:1, v/v)で2回抽出した。抽出液は減圧下で溶媒を除き再びクロロホルム-メタノール(2:1, v/v)にとかし常法通りFolchの方法[6)]で非脂質成分を除いた。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第1257号

このようにして得られる脂質抽出物は所定量のクロロホルム-メタノール (2:1, v/v) にとかし，窒素ガス下 −20°C に保存した。実験はすべて 2〜3 回のくりかえしとしその平均値を求めた。

脂質の分離，同定および定量： 脂質はまず DEAE セルローズカラム (Whatman DE 32, 径 1 cm 長さ 7 cm) により酸性脂質群と中性脂質群に分けた[7]。カラムは氷醋酸で処理してメタノール，ついでクロロホルムの順で洗った。クロロホルム-メタノール (2:1, v/v) にとかした脂質の一部をカラムにのせクロロホルム-メタノール (2:1, v/v) 60 ml, ついでメタノール 30 ml で中性脂質群 (A) を溶出し，0.05 M の濃度の醋酸アンモニウムを含むクロロホルム-メタノール-水 (2:3:1, v/v) 70 ml で酸性脂質群 (B) を追加溶出した。この両脂質群 (A, B) は別々にケイ酸カラム (径 1 cm 長さ 6 cm) により第 1 図の如くクロロホルム中のメタノール濃度を段階的に増しながら溶出した。ケイ酸は Mallinckrodt 社製のものを使用した。使用前にメタノールに懸濁して微細な粉末を除き 105°C で 1 時間加熱活性化した。第 1 図に各リン脂質の溶出位置を示した。脂質の同定は薄層クロマトグラム上のスポットの位置を既知の標準脂質のそれらと比較検討して行った。また，50% 硫酸を噴霧して 105°C で加熱したり，ニンヒドリン，ドラーゲンドルフ試薬およびリンの発色試薬を用いて糖脂質，ステロール類，アミノ基を有



第 1 図 DEAE セルローズカラムで分離された中性リン脂質と酸性リン脂質のケイ酸カラムクロトグラム

試料：10 月 1 日に採取した皮部の脂質；A：中性リン脂質画分；B：酸性リン脂質画分；PC：ホスファチジルコリン；PE：ホスファチジルエタノールアミン；PG：ホスファチジルグリセロール；PI：ホスファチジルイノシトール。図中の % はクロロホルムの中のメタノールの含量を示す。溶出液は 5 ml ずつ分取し，その一定量についてリンの量を求めた。リンの量は試薬で発色後 700 nm における O. D で表わした。B において 2% および 5% のメタノールで溶出されるリン脂質は，それらの薄層上のスポットの位置からそれぞれジホスファチジルグリセロールおよびホスファチジン酸と思われる

する脂質およびコリンを含む脂質について検討した。薄層はシリカゲルHを用いて調製し，溶媒は極性脂質にはクロロホルム-メタノール-水 (65:25:4, v/v) とクロロホルム-メタノール-氷醋酸 (65:25:8, v/v) を使用し，非極性脂質には石油エーテル-エーテル-氷醋酸 (80:35:1, v/v) を使用した。標準脂質として卵黄のホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンをケイ酸カラムで分離精製したものおよびセファデックス LH 20[2] を用いて精製したホウレンソウのホスファチジルイノシトール，ホスファチジルグリセロール，ホスファチジン酸，ジホスファチジルグリセロール，モノガラクトシルジグリセリド，ジガラクトシルジグリセリド，スルホリピドを用いた。なお市販のホスファチジルイノシトールとホスファチジルセリンも用いた。非極性脂質は薄層クロマトグラム上のスポットの位置と50% 硫酸 −100°C 加熱による発色から判定した。

リン脂質の定量は第1図に示した各々のピークに相当する画分を濃縮してその一定量を Marinetti の方法[8] により行なった。糖脂質は前報のようにアンスロン法[3] で，中性グリセリドは Hanahan らの方法[9]，ステロールはリーベルマン反応[10] によりそれぞれ定量した。中性脂質は第1図のAにおける2% メタノール溶出画分を，そして糖脂質は同じく5〜20% メタノール溶出画分のそれぞれ一定量を石油エーテル-エーテル-氷醋酸 (80:35:1, v/v) およびクロロホルム-メタノール-水 (65:25:4, v/v) で薄層上に展開し，相当するスポットをかきとりクロロホルム-メタノール (1:1, v/v) ついでメタノールで溶出し濃縮後定量した。

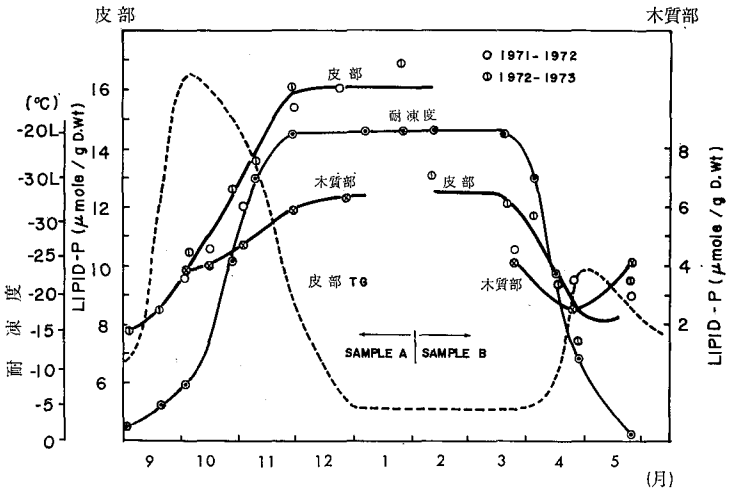
構成脂肪酸の分析： 第1図 A, B のようにして，分離された各リン脂質画分を薄層クロマトグラフィーで精製し，溶出後市販の濃塩酸を容量で5% 含む塩酸メタノールで封管中105°C で2時間トランスエステル化を行なった。得られる脂肪酸メチルエステルは石油エーテル-エーテル-氷醋酸 (80:35:1, v/v) を溶媒として薄層上で分離精製後ガスクロマトグラフィーでそれぞれの脂肪酸に分けて定量した。使用カラムは日立ゴーレイカラム BDS −45 で 5°C/分で直線的に160°C から 200°C まで昇温させながら展開した。検出は FID によった。

耐凍度の検定： 脂質の分析に使用した同じ枝を3 cm 位の長さに切りポリエチレンの袋に少量の水と一諸に入れ −5°C に置いた。30分後氷片を入れて人為的に植氷しさらに1.5時間置いてから1時間おきに5°C ずつ低い温度に移し所定温度に達してからそこに16時間おいた。その後0°C の空中で融解させ室温にもどして2週間たってから被害を判定した。被害の判定は皮層組織の褐変の程度とカルス形成の程度から肉眼的に行なった。こうした肉眼的な被害の判定は，その切片について行なった顕微鏡的観察結果と大体一致していたが，肉眼的判定の方がよりきびしい傾向がみられた。

III. 結　　果

ポプラの生長は8月末に停止し頂芽を形成した。落葉は10月中旬に下枝の方から順に進み10月末には殆んど全部の葉が落ちた。春の開芽は4月下旬に始り5月末には新梢が10 cm 程度伸びた。

第2図に皮部と木質の全リン脂質量と枝の耐凍度の季節変動を示した。この実験は皮部については1971〜1972年と1972〜1973年の2年間にわたり同じ株のポプラについて行なった。



第2図 ポプラの皮部と木質部におけるリン脂質と耐凍度の季節変化

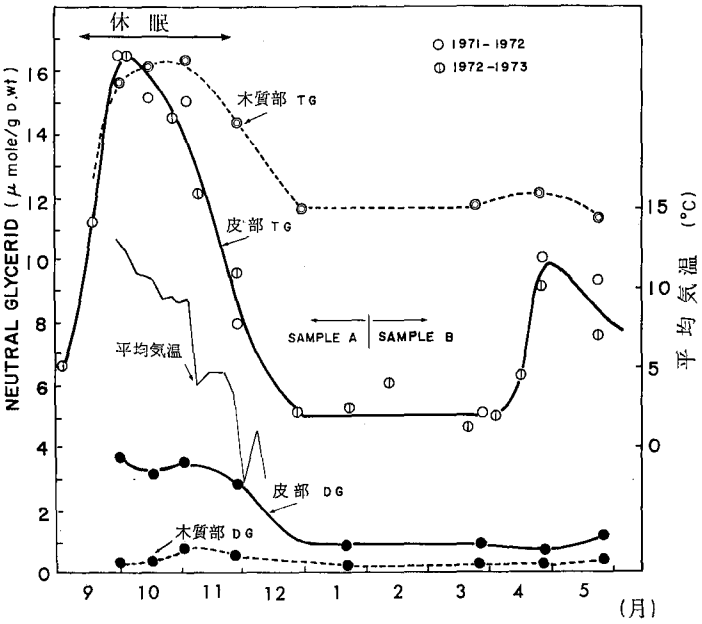
耐凍度は害なく耐える最低温度で示した。−20Lと−30Lはそれぞれ−20℃と−30℃から液体窒素中に投入したことを示す。破線は第3図における皮部のトリグリセリドの季節変動をプロットしたものである。図中 sample A, sample B とあるのは別々の試料を用いたことを示す

木質部については1971～1972年の結果である。皮部の全リン脂質量は9月から11月末にかけて増加し，3月末から4月末にかけて減少した。木質部についても皮部とほぼ同様の経過をたどった。木質部は細胞壁も厚く単位重量あたりの細胞の実質内容は皮部に比して少いため全リン脂質の量は皮部の半分以下で経過した。あたらしい木質部の形成の始まる5月下旬には全リン脂質の量は皮部および木質部ともに増加する傾向がみられた。なお，1月から2月にかけての全リン脂質量の大幅な低下は多分材料の相違に基づくものと考えられる。しかし，その他の原因によることも考えられ今後同一の枝について検討する予定である。

耐凍度は全リン脂質量と並行して季節的に経過した。

一方，中性グリセリドは第3図に示すようにリン脂質の変動とは極めて異った季節的な変動パターンを示した。すなわち，皮部のトリグリセリドは9月初旬から下旬にかけての約1カ月間に急速に増加し，10月初旬から12月下旬にかけて急速に減少した。また開芽の始まる少し前の4月中旬から5月上旬にかけて再び増加した。開芽後新梢が生長するにつれ再び減少した。木質部のトリグリセリドの量はリン脂質の場合とは異って比較的多量に含まれ単位重量あたり皮部のそれに相当する。またその季節的変動パターンは皮部と極めてよく似ていた。しかし，皮部に比べてその変化量は少く真冬でもなお可成りの量を維持しつづけた。

第2図に比較のため皮部のトリグリセリドの変化を破線で示したが，10月から12月および3月から4月にかけて全リン脂質の量とトリグリセリドの量とは互に対称的に変動し，これら両者の間に密接な関連のあることを示唆している。第3図に全リン脂質量とトリグリセリドが対称的に変動する時期の平均気温を示してある。10月以降の気温の変化とトリグリセリドの変化は見かけ上一致している。気温の低下につれてトリグリセリドは減少し逆に全リン脂質量は増加した。



第3図　ポプラの皮部と木質部におけるトリグリセリドとジグリセリドの季節変化

TG：トリグリセリド；DG：ジグリセリド，図中の↔は休眠の深い時期を示す。グリセリドの量はグリセロールの量で示した。sample A, sample B は第2図に同じ

木質中のジグリセリドはわずかしか存在せずしかも年間を通じてほとんど変化しなかった。一方，皮部では10月から11月にかけて比較的高い水準を保持し，その後冬にかけて低下した。冬から春には量的に少く，また変化も少なかった。

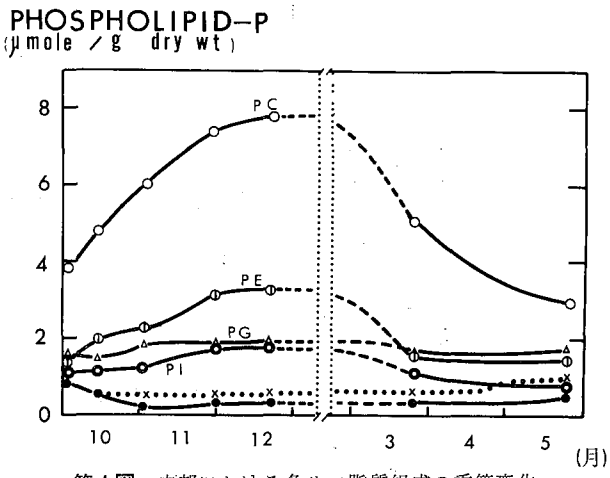
つぎに，いろいろな時期の切技を使って，0～−5°C で2週間ハードニングしたときの皮部の全リン脂質量とトリグリセリドの量の変化を第1表にまとめて示した。耐凍度の低い9月1日の材料では0°C のハードニングによって耐凍度は殆んど増大せず，また全リン脂質量も変化しなかった。しかし，ハードニングによって耐凍度が効果的に高まる9月18日と10月5日の枝では，ハードニング後耐凍度の増大と並行して全リン脂質量もまた増加した。また，開芽の少し前の4月25日に0，−3および−5°C の各温度でハードニングしたところ，いずれの温度でも耐凍度の増大とともに全

第1表　低温処理後の皮部における耐凍度とリン脂質およびトリグリセリドの変化

期　日		耐凍度 °C	リン脂質 μmole/g 乾重量	トリグリセリド μmole/g 乾重量
9月1日	NC	−3	8.0	6.6
	OH	−5	8.1	4.0
9月18日	NC	−5	8.5	11.2
	OH	−12	10.2	11.6
10月5日	NC	−7	10.5	16.4
	OH	−20	12.2	13.6
	−3H	−25	12.8	15.2
4月25日	NC	−12	7.5	9.1
	OH	−25	9.3	7.3
	−3H	−25	9.6	7.1
	−5H	−25	9.7	8.1

NC：対照；OH，−3H および −5H はそれぞれ 0，−3 および −5°C で2週間ハードニングしたことを示す

リン脂質の増加が認められた。一方，トリグリセリドについてみると，9月1日と9月18日を除く他の時期ではハードニングによってその量は減少した。このような低温下におけるリン脂質とトリグリセリドの対称的な変化は，トリグリセリドからリン脂質への変換機構のあることを示唆している。



第4図　皮部における各リン脂質組成の季節変化

図中の略号は第1図を参照。×…×，●—●は薄層クロマトグラム上のスポットの位置からそれぞれホスファチジン酸およびジホスファチジルグリセロールと推定される

皮部の全リン脂質の季節変動を各リン脂質組成についてみると第4図に示すようになる。全季節を通じて，各リン脂質の変化の中でホスファチジルコリンの変化が最も大きく，ホスファチジルエタノールアミンの変化がこれに次いで大きかった。ホスファチジルイノシトールは秋から冬にかけてわずかに増加し，春にはわずかに減少する傾向が認められた。未同定の酸性リン脂質（ジホスファチジルグリセロールとホスファチジン酸と推定される）は秋から冬にかけてわずかに減少し，春にはわずかに増加する傾向がみられた。一方，ホスファチジルグリセロールは全季節を通じて殆んど変化しなかった。以上のことから，年間を通じての全リン脂質量の増減はホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンの増減に基づくものとみなされる。

第2表に代表的な時期について，皮部の各リン脂質の百分率組成を示した。これによれば秋から冬，冬から春にかけてホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンの組成が可成り顕著に変動していることが明らかである。一方，未同定の酸性リン脂質およびホスファチジルグリセロールは組成の上で上述のリン脂質とは逆の関係を示し，ホスファチジルイノシトールは殆んど一定であった。以上のことからリン脂質は量的に増減するだけでなく耐凍度の高い時期にはホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンのような中性のリン脂質がより大きな部分を占めるような組成上の変化を伴うことが明らかとなった。

第2表　いろいろな生育期の皮部における各リン脂質の百分率組成

時期	酸性リン脂質画分				計	中性リン脂質画分		計
	a	b	PG	PI		PC	PE	
10月1日	8.6	9.9	16.2	11.9	46.6	38.4	13.5	51.9
11月30日	2.8	4.1	12.2	11.9	31.0	48.4	20.3	68.7
5月24日	4.7	9.2	20.3	9.2	43.4	38.9	16.7	55.6

a, b はそれぞれジホスファチジルグリセロールおよびホスファチジン酸と推定される。その他の略号は第1図を参照。各リン脂質の組成はリンのモル数より計算した

第3表 皮部の各リン脂質の脂肪酸の百分率組成

脂肪酸	保持時間 (分)	PC 10月1日	PC 11月30日	PE 10月1日	PE 11月30日	PG 10月1日	PG 11月30日	PI 10月1日	PI 11月30日
未同定	12.4	0	0	20.5	19.1	0	0	0	0
パルミチン酸 (16:1)	13.4	20.1	20.8	16.7	13.6	38.6	36.4	46.8	49.8
パルミトレイン酸 (16:1)	14.8	0	0	0	0	0	3.3	0	0
ステアリン酸 (18:0)	18.6	2.5	0.7	0.4	0.6	1.5	1.7	1.7	0.9
オレイン酸 (18:1)	19.8	6.8	0.4	2.7	1.3	7.7	1.9	3.0	0.6
リノール酸 (18:2)	22.2	64.3	67.4	50.7	58.5	46.1	48.1	42.9	37.4
リノレン酸 (18:3)	25.8	6.2	10.7	9.1	6.9	6.1	8.7	5.6	11.3

略号は第1図を参照

第3表に皮部の各リン脂質の脂肪酸組成を10月1日と11月30日についてしらべた結果を示した。各リン脂質間の脂肪酸組成に可成りの相異が認められた。ホスファチジルエタノールアミンの構成脂肪酸の組成は他のリン脂質にはない未同定の脂肪酸が含まれている。この脂肪酸はパルミチン酸の少し前（保時時間12.4分）に現れた。ホスファチジルコリンとホスファチジルグリセロールでは10月1日から11月30日にかけてリノール酸とリノレイン酸がともに増加した。ホスファチジルエタノールアミンではリノール酸が，ホスファチジルイノシトールではリノレイン酸がそれぞれ増加した。このことから，各リン脂質にある程度特有のパターンで秋から冬に不飽和脂肪酸の増加がリン脂質の量的ならびに組成的な変化と並行して起ることが明らかになった。

第4表に皮部と木質部の遊離ステロールおよびステロールの脂肪酸エステルの季節変化を示した。遊離ステロールは皮部では秋から冬にかけて増加するが，冬から春にかけて減少する傾向はみられなかった。これとは対照的に材の遊離ステロールは年間を通じてほぼ一定の値を維持した。ステロールエステルは皮部および木質部ともに年間を通じて一定の値を保持し，何ら季節変動がみられなかった。いずれにせよ，これらステロール化合物はその季節的変動パターンにおいてリン脂質や中性グリセリドとは全く異ったものである。

第4表 ステロールおよびステロールエステルの季節変化

期日	ステロール 皮部	ステロール 木質部	ステロールエステル 皮部	ステロールエステル 木質部
	(μ mole/g 乾重量)		(μ mole/g 乾重量)	
10月1日	1.37	0.21	1.29	0.90
10月14日	1.65	0.23	1.24	0.88
11月4日	1.89	0.25	1.32	1.03
11月30日	2.02	0.31	1.34	1.11
3月23日	2.53	0.25	1.19	0.80
4月25日	2.27	0.20	2.27	0.77
5月24日	—	0.25	—	0.82

ステロールおよびステロールエステルの量はコレステロール等量で表わした

第5表に10月から11月までのガラクトリピドの変化を皮部について定量した結果を示した。ガラクトースの量で表わしたモノガラクトシルジグリセリドとジガラクトシルジグリセリドの総和は，これらの実験期間中には殆んど差がみられなかった。しかし，10月から11月にかけてモノガラクトシルジグリセリドが減少し，ジガラクトシルジグリセリドが増加する傾向が認められた。ステロール配糖体はポプラでは他の未知物質との分離が困難で正確に定量できなかったが，定性的には明らかに秋から冬にかけて2～3倍量増加し，冬から春にかけて減少する傾向がみられた。しかし，ステロール配糖体の脂肪酸エステルについては調べることができなかった。スルホリピドは殆んど検出不可能であった。

第5表 秋における皮部の糖脂質の変化
(μmoleガラクトース/g乾重量)

期　日	MGD	DGD	計
10月1日	2.54	3.69	6.23
10月11日	1.96	3.94	5.90
11月30日	2.01	4.45	6.46

MGD：モノガラクトシルジグリセリド；DGD：ジガラクトシルジグリセリド．糖脂質の量はガラクトース等量で表わした

IV. 考　　察

リン脂質が耐凍度と並行して増加することはニセアカシア[4,11]，アルファルファ[12]およびコムギ[13]等について知られている。著者らはポプラの皮部のリン脂質が10月から11月にかけて自然条件下で増加するが，それは植物のおかれる温度環境に強く依存することを明らかにした[2]。すなわち，15°Cよりも低い温度条件ではリン脂質の増加と耐凍性の増大とが並行して進むが，15°C以高の温度条件下では耐凍度が低下するだけでなくリン脂質の減少がみられた。

皮部における秋から冬にかけての耐凍度ならびにリン脂質の変化は，すでに報告した結果と一致する[2]。冬から春にかけて耐凍度の低下する時期にも耐凍度とリン脂質の量は極めて良い並行関係を示す。木質部のリン脂質も皮部のそれと全く同じ傾向を示した。いろいろな時期の切枝を0～－5°Cの温度で2週間ハードニングをすると，9月初旬を除き皮部のリン脂質は確実に増加し同時に耐凍度も増した。9月初旬には0°Cのハードニングで耐凍度が殆んど増さないしリン脂質の増加もみられなかった。このようなリン脂質の変動と対称的に，トリグリセリドは極めて特徴的な季節変動を示した。9月初旬から10月初旬にかけての急速な増加とそれ以降の著しい減少，あるいは春の開芽期の一時的な増加がみられた。このような変化はこれまでに知られている木本類の澱粉の消長と良く似ている[1]。すでに報告[2]したし，また今回の実験からも明らかなようにトリグリセリドの変化は温度に依存していて，0°Cでは急速に減少する。このことも澱粉の低温下における分解と似た現象である。第3図に示したように，10月以降12月までのトリグリセリドの減少は気温の低下と並行していた。

すでに報告したように，グリセロール-1-^{14}Cの脂質へのとりこみは9月中旬に極めて高い値を示し10月初旬から下旬にかけて急速に低下する[14]。また，別の実験によれば，酢酸-1-^{14}Cの脂質へのとりこみは生長停止直後から急速に高まり，9月いっぱい高いとりこみがみられ10月初旬から低下することが知られている（吉田，未発表）。なお，酢酸-1-^{14}Cの脂質へのとりこみにおいて，9月から10月初旬には短時間にホスファチジルコリンに大部分の放射能がとりこ

まれ，時間と共に急速にホスファチジルコリンからトリグリセリドへ移行することがわかっている。これらの事実から，脂質の実質合成は9月初旬から10月初旬にかけて最も活発でそれ以降は急速に低下するものと考えられる。そして，脂質の実質合成が活発な時期には主としてトリグリセリドの形で蓄積され，実質合成の低下につれてトリグリセリドからリン脂質へ転換されるものと考えられる。この転換は低温においてより活発となることが推察される。こうした意味で，トリグリセリドの合成と蓄積が活発な9月初旬から10月初旬はそれ以降の脂質の変動にとって非常に重要な時期と考えられ，耐凍度増大の第1段階[15]における重要な反応の一つと考えられる。

4月から5月の開芽期において，リン脂質の減少につれてトリグリセリドの蓄積することもリン脂質からトリグリセリドへの転換を示唆しているように思われる。このことと関連して，Siminovitch ら[11]はニセアカシアにおいて中性脂質とリン脂質の間の相互転換のあることを報告した。しかし，彼らは各々の中性脂質を定量していない。また，Redshaw らはコムギの低温春化処理において，4～6°C の低温下で中性脂質の減少とリン脂質の増加が同時的に進むことを報告している[16]。彼らもまた中性脂質の減少がトリグリセリドの減少によるかどうか明らかにしていない。

トリグリセリド⇄リン脂質の変換を直接支持する証拠は得られていないが，これが事実とすれば植物の脂質代謝上極めて興味のあることである。また，この反応がどんな機作で起り，そして細胞のどんな部分でそれが進められるのだろうか。こうしたことを明らかにすることによりその生理学的意義と細胞の物理化学的性質に関する重要な知見が得られるものと思われる。

第3図に，森田・酒井[17]によってしらべられたポプラ *P. euramericana* C. V. *gelrica* の枝の休眠期間（室温で切枝を水挿しして100日以内に開芽しない時期）を矢印で示した。この休眠期間はトリグリセリドの最も変化の大きい時期に相当し，トリグリセリドの変動と枝の休眠の間に密接な関連のあることを想像させる。このことは今後くわしくしらべなければならない問題の一つと考えられる。

全リン脂質の量的変化を個々のリン脂質についてみると，すでに報告[2]したようにホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンが他のリン脂質に比べて圧倒的に多く含まれ，かつ季節的に最も大きな変動を示すことが再確認された。一方，ホスファチジルグリセロールのように年間を通じてほぼ一定値を示すものがある。したがって，リン脂質の組成の上でも10月初めと11月末および5月下旬では大きな違いを示している。耐凍度の高い冬にはホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンが他のリン脂質よりも高い組成比を示した。これらの変化が細胞の同一膜上で起きるものとすればその物理化学的性質，ことに凍結融解に対する安定性の上で何らかの寄与をなすものと考えられる。また，人為的なハードニングやデハードニング処理の前後で遠心分画した細胞のいろいろな画分について，蛋白質あたりのリン脂質量は大きく変化することが明らかにされている[18]。このように，季節的あるいは人為的な条件下でのリン脂質の変動は，電子顕微鏡的所見から明らかな膜成分の増加[19,20]だけによるのでなく膜のリン脂質組成の変化による面も重視されなければならないであらう。

微生物[21,22]の膜の脂質の構成脂肪酸は培養温度の低下により不飽和脂肪酸が増加することが知られ，植物でもこれが知られている[23,24]。ポプラでも10月初めと11月末では各リン脂質の構成脂肪酸に大きな違いを示し，リノール酸やリノレイン酸が増加した。わずかな不飽和脂肪酸の存在により脂質全体の相転移温度が大きくえいきようされることが知られているので[25]ポプラにおけるこのような構成脂肪酸の変化は，リン脂質，強いては生体膜の物理化学的性質に大きなえいきようを与えるものと考えられる。

モノガラクトシルジグリセリドやジガラクトシルジグリセリドはポプラの皮部では量的に少いが，10月初めから11月末にかけてモノガラクトシルジグリセリドの減少とジガラクトシルジグリセリドの増加する傾向が認められた。これら両糖脂質の和は殆んど変化しないので，秋から冬にかけてモノガラクトシルジグリセリド＋ガラクトース→ジガラクトシルジグリセリドのような変化が進むものと考えられる。別の実験でも，真冬の枝をデハードニングするとモノガラクトシルジグリセリドが増加してジガラクトシルジグリセリドが減少することが認められた[18]。Vervaes[26]も最近針葉樹の葉のクロロプラストでデハードニング中全く同じ現象を認めている。これらの糖脂質は光合成器管に多く，主として葉緑体のラメラの脂質の大半を占めるものである。しかし，ポプラの皮部では葉緑素の分布とこれらの糖脂質の分布が各細胞画分において必ずしも一致しない[18]。こうしたことからポプラの皮部ではプラスチド以外の膜画分にもこれらの糖脂質が分布しているものと考えられ，その中で起るこのような糖脂質の質的転換は膜の性質に大きな変化をもたらすであろう。

ステロール配糖体は今回の実験で定量が不可能であったが，薄層上のスポットの変化からニセアカシアの場合[3]とひとしく秋から冬にかけて増加（2～3倍量）し，逆に冬から春に減少する傾向が認められた。なお，スルホリピドは殆んど検出できなかった。

一方，明らかに膜の構成脂質と考えられる[27]ステロールおよびステロールエステルは皮部においてステロールが秋から冬にかけて増加したが，材では季節的に変化が少くほとんど一定していると云ってもよい。ステロールエステルは皮部および木質部において季節的に全く変化しなかった。このように，これまでのべてきたリン脂質や糖脂質とは異った性質がステロールおよびステロールエステルにおいて認められた。

以上のようにポプラの季節的な脂質の変動は，9月から10月初めにかけてのトリグリセリドの著しい増加，10月以降冬までのリン脂質の増加とトリグリセリドの減少および開芽期のリン脂質の減少とトリグリセリドの増加によって代表される。細胞全体としてこれらの脂質の量的変化を理解するためには，細胞各画分についての検討が不可欠であり，同時にその代謝生理についての検討が今後の重要な課題と思われる。

V. 摘　　要

この報告は自然条件下でのポプラの枝の皮部および木質部の脂質の季節的変動を扱ったものである。

9月初め頃から10月初旬にかけて枝の脂質合成は活発で主としてトリグリセリドの形で蓄積される。それ以降冬にかけてトリグリセリドの著しい減少とリン脂質の増加がみられた。

また，開芽期にはリン脂質の減少とトリグリセリドの増加がみられた。以上のことから，トリグリセリドとリン脂質の相互転換が推察される。また，このような変化は耐凍度の変化と密接に関連しているように思われる。

全リン脂質量の季節変動はホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンの変動によるところが大きく，その他のリン脂質は殆んど変動しないか，あるいは変化量が少なかった。各リン脂質の構成脂肪酸は秋から冬にかけてリノール酸やリノレイン酸のような不飽和脂肪酸が増加する傾向が認められた。また，秋から冬にかけてモノガラクトシルジグリセリドの減少とジガラクトシルジグリセリドの増加が認められた。

一方，ステロールおよびステロールエステルは上述の脂質とは根本的に異なる変動様式が認められた。

以上のように，季節的に耐凍度の変化と平行して脂質の量的，質的変化がポプラの皮部および木質部において起ることが明らかとなった。

文　　献

1) Sakai, A. and Yoshida, S. 1968 The role of sugar and related compounds in variations of freezing resistance. *Cryobiology*, **5**, 160–174.
2) Yoshida, S. and Sakai, A. 1973 Phospholipid changes associated with the cold hardiness of cortical cells from poplar stem. *Plant & Cell Physiol.*, **14**, 353–359.
3) 吉田静夫 1969 植物の耐凍性に関する研究 I. ニセアカシア靱皮組織の糖脂質の季節的変動. 低温科学, 生物篇, **27**, 109–116.
4) 吉田静夫 1966 植物の耐凍性に関する研究 II. ニセアカシア靱皮組織の燐脂質の季節的変動. 低温科学, 生物篇, **27**, 119–123.
5) 吉田静夫・酒井 昭 1973 植物の凍結障害とリン脂質の分解 I. 凍結下における植物のリン脂質の分解. 低温科学, 生物篇, **31**,
6) Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G. H. 1957 A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497–509.
7) Allen, C. F., Good, P., Davis, H. F., Chisum, P. and Fowler, S. D. 1966 Methodology for the separation of plant lipids and application to spinach leaf and chloroplast lamellae. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **43**, 223–231.
8) Marinetti, G. V. 1962 Chromatographic separation, identification and analysis of phosphatides. *J. Lipid Res.*, **3**, 1–12.
9) Hanahan, D. J. and Olley, J. N. 1958 Chemical nature of monophosphoinositides. *J. Biol. Chem.*, **231**, 813–828.
10) 石井 暢 1962 コレステリン（コレステロール）. 化学の領域増刊, **49**, 36–44.
11) Siminovitch, D., Rheaume, B., Pomeroy, K. and Lepage, M. 1968 Phospholipid, protein, and nucleic acid increases associated with development of extreme freezing resistance in black locust tree cells. *Cryobiology*, **5**, 202–225.
12) Kuiper, P. J. C. 1970 Lipids in alfalfa leaves in relation to cold hardiness. *Plant Physiol.*, **45**, 684–686.
13) De La Roche, I. A., Andrews, C. J. and Pomeroy, M. K. 1972 Lipid changes in winter wheat seedlings (*Triticum aestivum*) at temperature inducing cold hardiness. *Can. J. Bot.*, **50**, 2401–2409.
14) 吉田静夫 1971 秋のポプラにおけるグリセロール代謝. 低温科学, 生物篇, **29**, 47–52.
15) Weiser, C. J. 1970 Cold resistance and injury in woody plants. *Science*, **169**, 1269–1278.

16) Redshaw, E. S. and Zalik, S. 1968 Changes in lipids of cereal seedlings during vernalization. *Can. J. Biochem.*, **46**, 1093–1097.

17) 森田健次郎・酒井 昭 1966 ポプラ類の凍害に関する研究 (1). 改良ポプラ品種間の耐凍性の差. 日本林学会誌, **48**, 267–273.

18) 吉田静夫 1973 樹木の皮部のリン脂質の細胞内分布とハードニングおよびデハードニングによるその変化. 低温科学, 生物篇, **31**, 21–30.

19) Pomeroy, M. K. and Siminovitch, D. 1971 Seasonal cytological changes in secondary phloem parenchyma cells in *Robinia pseudo acacia* in relation to cold hardiness. *Can. J. Bot.*, **49**, 781–795.

20) 大塚宏二 1972 クワ皮層細胞の春における耐凍性変動と細胞内微細構造変化. 低温科学, 生物篇, **30**, 33–44.

21) Fulco, A. J. 1967 The effect of temperature on the formation of Δ^5-unsaturated fatty acid by Bacili. *Biochim. Biophys. Acta*, **144**, 701–703.

22) Okumura, H. Phospholipid metabolism in *Esherichia coli* after a shift in temperature. *Biochim. Biophys. Acta*, **176**, 125–134.

23) Gerloff, E. D., Richardson, T. and Stahman, M. A. 1966 Changes in fatty acids of alfalfa roots during cold hardening. *Plant Physiol.*, **41**, 1280–1284.

24) Haris, P. and James, A. T. 1966 The effect of low temperature on fatty acid biosynthesis in plant. *Biochem. J.*, **112**, 325–330.

25) Raison, J. K., Lyons, J. M., Mehlhorn, R. J. and Keith, A. D. 1971 Temperature-induced phase changes in mitochondrial membranes detected by spin labeling. *J. Biol. Chem.*, **246**, 4030–4040.

26) Bervaes, J. C. A. M., Kuiper, P. J. C. and Kylin, A. 1972 Conversion of digalactosyl diglyceride (extra long carbon chain conjugates) into monogalactosyl diglyceride of pine needle chloroplasts upon dehardening. *Physiol. Plant.*, **27**, 231–235.

27) Grunwald, C. 1970 Sterol distribution in intracellular organelles isolated from tabacco leaves. *Plant Physiol.*, **45**, 663–666.

Summary

The present report is concerned with seasonal variations of lipid components and frost hardiness in poplar trees.

Total amounts of phospholipids in cortex and xylem varied seasonally in association with hardiness. Of each phospholipid component, most noticeable change was observed in phosphatidylcholine. The unsaturation of fatty acids from each phospholipid proceeded significantly from early October to late November as the hardiness increased. Triglyceride was formed and accumulated in September and reached the maximum level within this month. Thereafter, it was declined to the minimum level in mid winter. In Spring, prior to budding, triglyceride increased again to some extent as phospholipid decreased. Thus, there may be an inverse relationship between the changes of phospholipid and of triglyceride. A reciprocal change in monogalactosyl diglyceride and digalactosyl diglyceride in the samples was observed from October to late November.

Free sterol in xylem and sterol ester in cortex and xylem did not change throughout the season, while a slight increase was observed in free sterol in autumnal cortex.

From these results, it may be postulated that changes in lipid components play an important part in variation of hardiness in poplar cells.