

## 農作物の低温感受性に関する膜脂質の基礎的研究

小嶋道之

農産化学科食品化学研究室

### 1. 目的

農作物の収穫を左右する重要な環境要因の一つに生育時期の温度を挙げることができる。農作物のうち、ビートやジャガイモなど一部のものを除き、大部分は亜熱帯起源の植物であり、それらは基本的に低温に弱い性質をもっている。村田らは、低温に感受性および耐性植物の葉緑体膜脂質を分子種レベルで比較調査して、感受性植物に多く含まれ、かつ、相転移温度の高い2種のホスファチジルグリセロール分子種：ジパルミトイルホスファチジルグリセロールと1-パルミトイール-2(3-トランス)ヘキサデセノイルホスファチジルグリセロールの存在を明らかにした<sup>1)</sup>。また、吉田らは、低温障害は形質膜や液胞膜でまず起るとして両膜に特徴的に認められるセレブロシドが低温感受性に関係していると報告した<sup>2)</sup>。本研究では数種の低温感受性および耐性の農作物葉中に含まれているセレブロシドの構成分の特徴を比較調査して、両者の違いを明確にするとともにセレブロシドの分子種組成をHPLC法で分析して、各分子種の相転移温度から特に強く低温感受性を示す化合物を明らかにしようとした。

### 2. 方 法

低温感受性植物として7種：イネ、トウモロコシ、スイートポテト、キュウリ、ピーマン、トマトおよびナス、低温耐性植物として11種：ホウレン草、エンドウ、ホワイトクローバー、キャベツ、紅花、小麦、オート麦、ビート、ブドウ、春菊およびレタスの葉からFolch法で全脂質を調製した。弱アルカリ処理により得られたアルカリ安定脂質画分を展開溶媒：クロロホルム-メタノール(95:12)を用いたケイ酸TLCに供してセレブロシドを分別精製した。セレブロシドは無水メタノール性5%塩化水素あるいは含水メタノール性1N塩酸を加えて分解し、遊離した構成分(脂肪酸、スフィンゴイドおよび糖)を常法で抽出して、それらの組成をGLCで調べた。また、精製したセレブロシドは逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)に供して分子種に分別して、それらの相転移温度を示差走査熱量計(DSC)で調査した。

### 3. 結果および考察

低温耐性植物の構成スフィンゴイドはt18:1<sup>st</sup>よりt18:1<sup>sc</sup>の割合が高いことが示された(Table 1)。しかし、低温感受性植物の構成スフィンゴイドは、t18:1<sup>st</sup>/t18:1<sup>sc</sup>の値が1より大きいグループ(キュウリや西洋カボチャなど)と1より小さいグループ(イネやトウモロコシなど)

Table 1 *trans/cis* Ratios of 8-unsaturation in component sphingoids from leaf cerebrosides from chilling-resistant and chilling-sensitive plants.

Plant	Total	d 18:1 <sup>a</sup> +d 18:2 <sup>a,b</sup>	t 18:1 <sup>b</sup>
<i>Chilling-resistant</i>			
Wheat	0.16	0.52	0.09
Oat	0.44	0.89	0.29
Lettuce	0.69	1.23	0.32
Grape	0.41	0.40	0.41
White clover	0.73	1.06	0.44
Pea	0.78	1.63	0.50
Beet	2.69	14.00	0.59
Cabbage	0.60	0.60	0.60
Chrysanthemum coronarium	1.39	3.26	0.75
Sunflower	1.50	2.92	0.94
<i>Chilling-sensitive</i>			
Rice	0.13	0.30	0.05
Maize	0.24	0.31	0.06
Sweet potato	0.40	0.88	0.23
Egg plant	7.26	14.23	1.82
Squash	10.89	80.11	2.59
Cucumber	10.10	33.50	3.40
Tomato	3.11	2.92	4.02
Piement	1.19	1.10	5.55

の2群が存在した。また、セレブロシドの構成スフィンゴイドは9種類存在しており、t 18:1<sup>b</sup>以外にd 18:1<sup>a</sup>およびd 18:2<sup>a,b</sup>が存在し、それらの8位の二重結合の幾何異性のトランス/シス値には低温感受性植物および低温耐性植物としての特徴は認められなかった。また、セレブロシドの構成脂肪酸を分析した結果、低温耐性植物の数種にのみ不飽和ヒドロキシ脂肪酸の存在が認められたが、飽和ヒドロキシ脂肪酸には低温感受性および耐性植物としての特徴は認められなかった。また、植物の葉セレブロシドを逆相HPLCに供したところ、少なくとも22種のピーク(分子種)が認められた。低温耐性植物の葉セレブロシドの分子種は感受性植物のそれに比べてt 18:1<sup>a,c</sup>含有型分子種の方がt 18:1<sup>a,c</sup>含有型分子種より高い割合で含まれていた。セレブロシド分子種の中で、二重結合を有する3種のスフィンゴイド:d 18:1<sup>a</sup>, d 18:2<sup>a,b</sup>およびt 18:1<sup>b</sup>を含有する分子種は、すべて8位の二重結合がトランス型分子種の方が、シス型分子種に比べて相転移温度が高いことが認められた(Table 2)。また、同一スフィンゴイド含有型分子種では、ヒドロキシ脂肪酸の炭素鎖長が長くなると相転移温度が高くなり、構成ヒドロキシ脂肪酸のω9位に二重結合(シス型)を含む分子種では、同じ炭素鎖長のものと比べて低い相転移温度を示すことが明らかとなった。今回調査した結果から、種々のセレブロシド分子種の相転移温度は、かなり高いことが明らかで、相転移温度の高いホスファチジルグリセロールに加えてセレブロシド、特に8位の二重結合がトランス型スフィンゴイドから成る分子種が膜の相転移温度を規定していることが考えられる。

Table 2 Temperatures(°C) for the gel to liquid crystalline phase transition and structural characteristic of plant cerebrosides.

Ceramide moiety	8-trans type	8-cis type
d18 : 1 <sup>st</sup> ore-		
16 h : 0	61	27
18 h : 0	62	34
20 h : 0	64	32
d18 : 2 <sup>nd</sup> ore-		
16 h : 0	58	18
20 h : 0	62	24
22 h : 0	61	27
24 h : 0	63	30
t 18 : 1 <sup>st</sup> ore-		
20 h : 0	60	23
22 h : 0	48	26
24 h : 0	57	38
24 h : 1	31	20

- 1) N. Murata, N. Sato, N. Takahashi and Y. Hamazaki : *Plant and Cell Physiol.*, **23**, 1071 (1982).
- 2) S. Yoshida and M. Uemura : *Plant Physiol.*, **82**, 807 (1986).