

香 川 大 学 農 学 部 紀 要

第 27 号

1974年11月

林木葉部中におけるカルシウムの化合形態と
その生理に関する基礎的研究

辰 巳 修 三

MEMOIRS OF FACULTY OF AGRICULTURE
KAGAWA UNIVERSITY

No. 27, November 1974

Fundamental Studies of the Chemical Forms of Calcium
and their Metabolisms in the Tree Leaves

Shuzo TATSUMI

香 川 大 学 農 学 部

香川県木田郡三木町

FACULTY OF AGRICULTURE, KAGAWA UNIVERSITY

Miki-tyō Kagawa-ken, Japan

香川大学農学部紀要

第 27 号

1974年11月発行

各研究室の業績を発表するため、本学部は“香川大学農学部学術報告”を発行しており、本年度（1974年）は第26巻となっている。この“紀要”は、研究の完成した比較的長い論文を発表するために発行されている。既刊の標題は表紙第3-4頁に記載されている。“学術報告”および“紀要”の交換または寄贈については、香川県木田郡三木町 香川大学農学部 あて照会されたい。

Memoirs of Faculty of Agriculture, Kagawa University

No. 27, November 1974

The Faculty of Agriculture, Kagawa University is publishing “Technical Bulletin” (Gakuzyutu Hôkoku) (vol. 1 in 1949-50 to Vol. 26 in 1974) as well as “Memoirs” (Kiyô), which contains more or less extended treatises. The titles of each number of “Memoirs” are printed on cover pages 3 and 4. Correspondence concerning the exchange of publications should be directed to Faculty of Agriculture, Kagawa University, Mikiyô, Kagawa-ken, Japan.

昭和49年11月10日印刷 昭和49年11月14日発行

香川県木田郡三木町

香川大学農学部

印刷所 富士印刷株式会社

高松市多賀町1丁目1番16号

電話 ③ 3 6 7 4 番 代

目 次

第一章 総 論	1
第一節 既往の文献を基にしたカルシウムの生理作用の概念と提起される問題点	1
第二節 研究目的	2
第三節 実験材料ならびに実験方法	3
第二章 形態別カルシウムの分画法の検討	5
第一節 既往の分画法	5
第二節 水可溶性区分およびIN Nacl 可溶性区分の再分画法	6
第三節 再分画法に基くカルシウム結合物質の確認	9
第四節 総 括	15
第三章 樹体内部におけるカルシウムの分布	16
第一節 葉部中のカルシウムの分布	16
第二節 葉柄部、樹皮部内のカルシウムの分布	23
第三節 摘 要	27
第四章 樹体内にとりこまれたカルシウムの動き	29
第一節 葉部におけるカルシウムの動き	29
第二節 葉柄部におけるカルシウムの動き	35
第三節 樹皮部におけるカルシウムの動き	37
第四節 摘 要	38
第五章 樹体内にとりこまれたカルシウムの1日の動き	40
第一節 既往の文献の解析	40
第二節 ヤチダモ稚樹葉部中の動き	41
第三節 形態別カルシウムの動き	41
第四節 摘 要	46
第六章 環境要因の変化がカルシウムの代謝作用に与える影響	47
第一節 光線量を規制した場合のカルシウムの動き	47
第二節 温度を規制した場合のカルシウムの動き	50
第三節 摘 要	53
第七章 総 括	55
文 献	59

序 文

本論文は、著者が京都大学農学部北海道演習林在任当時におこなった、林木における無機栄養元素の代謝生理の研究を発展させて、とくにカルシウムに焦点を合わせておこなった研究を括めたものである。第一章総論でも述べるように、現在カルシウムの植物体内における生理作用には、不明の点が多いとされているが、著者は、その原因の一つは、生理的に活性度の高いカルシウム結合物質の未確認にあると考えた。

そこで本研究においては、林木中のカルシウム代謝生理解明の基礎的研究として、まずこの生理的活性度の高いカルシウム結合物質を究明し、ついでその一般的な生理作用を明らかにしようとした。

本研究を括めるにあたり、終始御指導と御教示を賜わった京都大学岡崎文彬教授、四手井綱英教授、葛西善三郎教授、半田良一教授、高橋英一教授、香川大学浅野二郎教授、広島農業短期大学中江篤記教授、さらにペーパークロマトグラフ、ガスクロマトグラフなどの分析実験の面で御助言を仰いだ香川大学山中啓教授、福井義明教授、樽崎丁市教授、宮本裕三助教授、岡市友利助教授、北川博敏助教授、小西国義助教授、京都大学橋瓜斌助教授、速水淳二助教授、小西茂毅助手、の諸氏に深甚な謝意を表する次第である。また農林省四国農業試験場久保田技官、本山技官、ならびに京都大学放射性同位元素総合研究施設の各位には、放射能の計測ならびに実験で多大の御援助を賜わり、香川大学農学部吉田重幸助手、京都大学農学部北尾邦伸助手、全芦生演習林吉田義和技官、全森林経理学研究室、全北海道演習林、香川大学農学部林学研究室、全花卉研究室の各位には調査ならびに実験、およびその整理に御協力を賜わった。なお本研究の一部は、昭和41年度文部省科学研究費の援助を受けておこなった。付記して感謝の意を表する次第である。

第一章 総論

第一節 既往の文献を基にしたカルシウムの生理作用の 概念と提起される問題点

カルシウムは植物体内においては、カリとともに高含有率を示していることから、きわめて多量を必要とする必須栄養元素の一つに数えられている。その濃度分布をみると一般に葉部に多量に集積され、幹茎部、根系部には少ない。⁴³⁾⁴⁴⁾⁶⁸⁾⁸⁰⁾ また葉部においては新葉に少なく、旧葉部に集積する傾向にあることが明らかにされている。¹⁷⁾⁵⁶⁾⁷³⁾⁹¹⁾ これらの研究結果からは、カルシウムは葉部組織に必要な栄養元素と考えられるとしても、生理作用としては旧葉部に集積することから、活発なmetabolismに参画するよりはむしろ間接的な代謝活動に参画し、metabolic activityの低い部位で何らかの生理活動に参加していると考えるのが妥当である。今までに公表されているカルシウムの生理作用に関する実験例もこの種のものが多い。すなわち、もっとも重要なものとしては、植物体制の保持——細胞膜中葉中にペクチン酸カルシウムとして存在して植物の機械的な強剛制を保持する上に重要な作用をもつ——であり、³¹⁾³²⁾ 新陳代謝活動については生成された有害物質に対する解毒作用、PH調節緩衝作用として間接的に参画することが知られている。⁷⁰⁾⁷⁷⁾⁸⁵⁾ また葉部内炭水化物転流の円滑化、あるいは硝酸態窒素の還元に間接に影響を与えることが知られている。¹⁸⁾¹⁹⁾²⁴⁾²⁶⁾²⁸⁾³⁸⁾⁶⁴⁾⁷⁴⁾ 要するにこれらの諸報告は、カルシウムが植物の生理作用に間接的な場で参加していることを示すものである。このことは中田⁷⁰⁾も指摘しているごとく、植物中におけるカルシウムの生理作用究明の緒口が全く開かれていないことを意味しており、その最大障害は植物体内で生理的に積極的な意義をもつカルシウムを含む有機化合物の未発見にあり、またこれらの作用に関与する酵素が明らかにされていないところにあるものと考えられる。¹⁰⁹⁾

植物体内におけるカルシウムの生理作用については、このように不明の点が多いが、それでも当該関係の研究例をみると、いずれも巨視的な把握から微視的な把握へと不断の努力の跡が認められる。すなわち植物体内におけるカルシウムの分布状態、転流状態の究明から、最近においてはFraction別に分画定量することによって、生理的に積極的に参画するカルシウム結合形態を確かめ、また量的にも把握しようとする方向に変わって来ている。¹⁷⁾³⁰⁾³¹⁾³³⁾³⁶⁾⁴¹⁾⁵⁰⁾⁵⁶⁾⁷³⁾⁸⁶⁾⁹⁴⁾⁹⁵⁾⁹⁶⁾⁹⁷⁾⁹⁸⁾ その結果新しい事実が発見されつゝある。たとえば⁴⁵Caをトレーサーとして、タバコ葉部における着生位置別の分布を調べた小西ら⁵⁰⁾の実験例では、とりこまれたカルシウムは展開葉を中心にして集積し、この位置は時間的な経過にしたがって移動し難いことが報告されており、また形態別には、水可溶性、1N NaCl可溶性カルシウムは成熟した下方葉部に、2%CH₃CO₂H可溶性、5%HCl可溶性カルシウムは上方葉部に、それぞれ多量に存在することが明らかにされている。これらの結果から小西ら⁵⁰⁾は一端葉部にとりこまれたカルシウムは、再移動、再分布することなく、該当葉部内でゆるやかな速度でturnoverしていくものと考えた。また葉部内にとりこまれたカルシウムの経時的な変化についての実験例では水可溶性、1N NaCl可溶性カルシウムは時間の経過にしたがって減少の傾向をみせ、2%CH₃CO₂H可溶性、5%HCl可溶性カルシウムは増加傾向を示すことが報告されている。⁵¹⁾カルシウムの植物体内における移動性の問題については、僅少なながらも再移動、再分布する実験例が報告されており、著者もまたポプラを使った実験において認めた。この点については第三章、第四章で検討する。カルシウムの転流の問題として季節変化をとりあげると、従来は一般的な考え方として、植物体内にとりこまれたカルシウムは生長とともに着実に植物体内に集積されるという考え方が支配的であり、実験諸例にもその実証を示したものが多かった。¹¹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾²¹⁾⁶⁰⁾⁶³⁾⁶⁵⁾しかし中には生

長とともに増加したカルシウムも成熟期、落葉期直前にはむしろ減少の傾向をみせるものがあった。20)39)40)66)67)81)92)

さらに興味ある事実は、カルシウムが葉部中では昼間と夜間とでは規則的な動きを示すということである。すなわち、E. Ramann 72) を始めとする人々によって認められた現象 1)25) 昼間には濃度が減退し、夜間には増大する——である。この現象については、いままでのカルシウムの生理作用に対する一般的な考え方からすれば理解できない現象の一つと考えられるが、上述の、Fraction 別分画抽出法による水可溶性カルシウムの問題、さらには季節変動などから推定すると、植物体内におけるカルシウムは難動性であるとはいえ、その一部は植物体内を移動し、またその結合形態をかえ、活発な生理活動を営む部分のあることが想像に難くないのである。かゝる見地から著者は、この分画法によって水抽出によって溶出してくる部分に生理的活性度の高い結合形カルシウムの含まれることを予想し、61)95)96)97) この部分に有機酸と結合したカルシウムの含まれることを明らかにした。99)100)101)

カルシウムの葉部細胞内での存在形態を考えると、かなりの部分が難溶性最終生成物として細胞内に結晶状に沈積することが知られている。その大部分は蓚酸カルシウム、炭酸カルシウムであって、これらの生成はカルシウムによる中和に由来し、解毒作用を営むものと考えられている。一方光合成作用の場としての葉緑体、あるいはこれに関連した白色体にも相当量のカルシウムが含有され、その対灰分含有量はマグネシウムより高いという報告例もある。61)75) さらに水可溶性カルシウムが植物のある種のものによっては大部分を占める事実も報告されているが、59) これらは前述のようにカルシウムが植物体内では光合成作用を含めた第一次生体反応の場においても、かなり重要度の高い生理作用に関与していることを予想させるものである。

林木葉部中のカルシウムの一日の動きについては、最初の研究例として E. Ramann 72) の実験があり、K. Arens 1) は昼間時にカルシウムはグルコン酸との結合形で葉部から移動していくのではないかと考え、M. C. Geraldson 25) もまた同様の仮説をたてた。この場合にとくに注目されることは、Ca-gluconate が水溶性であることである。すなわち、K. Arens 1), M. C. Geraldson 25) らによる仮説にしたがった場合には、水可溶性カルシウム区分中に、これらの生理的に重要なカルシウムが含まれることは充分予想できるからである。

以上既往の文献を基にしてカルシウムの生理作用を概観したが、とくに重要なものとしてとりあげられる問題点は、Fraction 別の分画定量のうち水可溶性区分に含まれるカルシウム化合物の生理的な働きであろう。本論文ではカルシウムの生理作用究明の緒口はこの点にあると考え、これの解明に主力を注ぐことにした。

第二節 研究の目的

一般に樹木は、その一生は長く、生長もきわめて緩慢であるため、急激に生長をとげ一年でその寿命を終る草本植物に比して養分要求度はかなり低い。したがって樹木の各栄養元素は草本植物に比して火急的な欠乏を生ずることは少なく、また年々供給される落葉、落枝からの補給も考えられるため、現状では施肥問題は、ごく限られた地域でとりあげられているにすぎない。しかし近年労働力払底の析柄、その集約化を図るため全幹集材等の方法がとられる傾向にあるが、このような方法による作業が進行すれば、林地養分は収奪化の方向を辿るばかりで、やがては林学においても農学と同様に林地施肥問題が重要課題となることが充分予想できる。

カルシウムは樹木の生長に対して直接必要であるばかりでなく、間接的には他の栄養元素との拮抗作用、あるいは土壌の理学的組成の改善などに重要な働きをすることが知られている。

またこれの含有率が高いことから、巨大な樹木にあっては相当量のカルシウムを必要とするが、わが国における土壌中の含有量をみると年間降水量が多量であるために他国に比してかなり低い。3) したがって上述のような集約な林業が経営基盤となってくる現状にあっては、他の重要栄養元素、窒素、リン、カリとともにカルシウムの重要性がclose up されるものと考えられる。他面この原則的な推論を離れても、植作中における生理作用が未解明の状態にあるカルシウムにあっては現実の問題としてカルシウムの栄養関係の需給のバランスが認定できない危険性がとりあげられる。すなわち樹木葉部中のカルシウムの生理作用について、より活発に働く部分が解明されるならば、現在不良造林地、あるいは生産力減退林地として考えられるところにおいても、土壌の理学的構造の欠陥とともに、化学的構造の欠陥面として他の重要栄養元素と並んでカルシウムの問題点もとりあげられることが予想されるからである。

したがって本論文の主眼とするところは、もとより樹木内におけるカルシウムの生理作用を究明するところにある。すなわち当該カルシウムの生理作用を十分に解明しないで、施肥技術上の問題を論じてもそれは基礎のない砂上の楼閣にすぎないであろうし、現実に解明されずに残されている育林上の諸問題も、未解決の状態にあるカルシウムの生理作用に関連するところ大であるとも考えられるからである。

そこで研究手段として、まずカルシウムの一般的特性を把握する目的で、従来の多数の研究者によっておこなわれてきた常奪法を採用することにした。すなわち樹木の諸器官におけるカルシウムの濃度分布の調査であり、施与後樹体内にとりこまれたカルシウムの経時的な動きである。これによって生理的に活性度の高い結合形カルシウムならびにこれの存在するFractionを推定したのち、一日の動きにおいて果す当該結合形カルシウムの生理作用を確認することにした。さらに規制された環境要因のもとで体内にとりこまれたカルシウムの動きを追跡して、これらの生理的活性度の高い結合形カルシウムの働きが植物の生理生態学的な反応とどのような関係にあるかを明らかにしようとした。

本研究はあくまでもカルシウムの生理作用の基礎面を把握することを目的としている。したがって本研究によって明らかにされた諸点が現実の応用的な場において、どのような位置にあるかについては、今後の研究にまたなければならない。

第三節 実験材料ならびに実験方法

I. 実験材料

本研究における諸実験は二つに分類できる。その一つは成林木を対象としたものであり、いま一つは稚苗を対象としたものである。両類型による実験目的は、前者が主として後者の追試、すなわち一般的認知の方向となるものであることから、とくに稚苗を対象とした実験にはその供試材料の選択が重要な問題となった。この点について考慮されることは、1. カルシウムの必要量の多い樹種であること、2. 生長が早く個体間の差の少ないもの、3. 葉部、葉柄部、樹皮部の分離を容易におこなえるもの、4. これらの点を満たし、かつ造林樹種として重要性のあるもの、などである。そこで稚苗を対象とした実験には、これらの諸点を充たすものとして、改良ポプラ *Populus euramerica* 214——とくに個体差を少なくする目的で当該樹種の当年枝挿木苗——を供試材料として用いた。本研究の基礎的な資料となった全Caの日変化⁹³⁾においてはヤチダモを供試材料に選んだ。これは著者が京都大学北海道演習林在任時代におこなったものである。当該ヤチダモは、京都大学北海道演習林構内苗畑で育成された二年生稚苗であった。

Fraction 別カルシウムの分析、および水可溶性区分の形態別カルシウムの分析に用いた

ポプラ挿木苗は、いずれも水耕栽培法⁹⁴⁾ によって仕立てた。

II. Fraction 別カルシウムの定量法

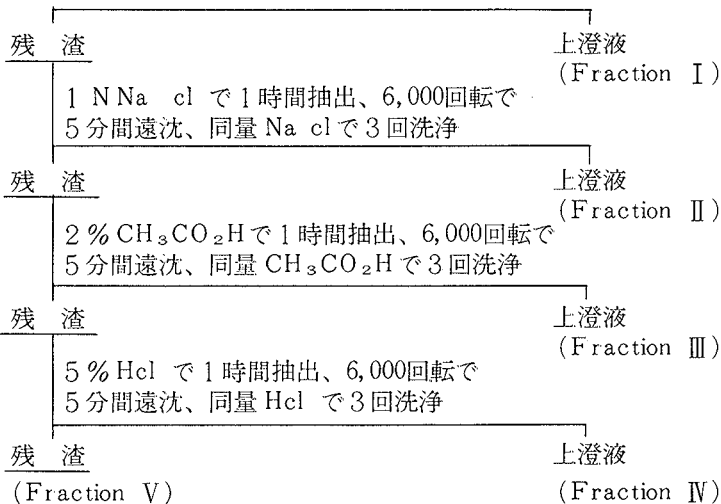
a). 生鮮材料の場合

この分画定量法としては太田、¹⁷⁾ 小西ら⁵⁰⁾ の方法が発表されているが、本研究においては主として小西らの方法を採用した。

Fraction 別カルシウムの分画定量法

生鮮材料を乳鉢でホモジネート

試料 2 g n につき 30cc の水で 1 時間
抽出 6,000 回転、5 分間遠沈、同量
水で 3 回洗浄



各上澄液は常法により蓚酸カルシウムの形で沈澱させ、グラスフィルターで濾紙上にこの沈澱を集めて放射能を計測した。なおこの場合 Fraction I については、有機物を過塩素酸—硝酸—硫酸法で分解後のものについて、Fraction V については電気炉で 550° C 灰化後に 1 : 1 Hcl で溶解させたものについて、それぞれ蓚酸カルシウムの形で沈澱させ、これを濾紙上に集めて放射能の測定をおこなった。45Ca の自己吸収の補正は常法によっておこなった。

b). 乾燥試料の場合

試料採取後 60° C 通風乾燥器中で乾燥させ、²⁷⁾ 乳鉢で粉碎して分析に供した。各抽出液の濃度および洗浄回数は生鮮材料の場合と同様であるが、抽出時間については、S. Kostyschew und V. Berg ⁴¹⁾、H. Itoh and T. Hatano、³³⁾ G. Schilling、⁷³⁾ らの方法を参考にして、それぞれ、水抽出時間 : 3 時間、1 N Nacl 抽出時間 : 3 時間、2 % CH₃CO₂H : 12 時間、5 % Hcl : 12 時間とした。各洗浄については生鮮材料の場合と同様の方法で蓚酸カルシウムの形で沈澱させ、これを濾紙上に集めて放射能を計測した。

III. 全カルシウムの定量法

試料はすべて 100° C 乾燥器で乾燥後粉碎して乾式で灰化してカルシウムの定量をおこなった。すなわち 550° C の電気炉中で灰化後 1 : 1 Hcl で灰分を溶解させて、これをキレート滴定法により定量した。

第二章 形態別カルシウムの分画法の検討

植物体中における栄養元素の生理作用の機構を明らかにするためには、まず当該元素が植物体内において存在する諸器官およびその器官内における結合形態を明らかにしなければならない。この点に関しては、前章において既往の文献を基にして解説したが、本研究の目的とする植物体内におけるカルシウムの生理作用を明らかにするためには、さらに生理的活性度の高い結合形カルシウムの分画法、およびその形態を明らかにする必要がある。なぜならば、前章総論の第一節で指摘しておいたごとく、カルシウムに関する生理作用に不明の点が多かったことは、このような分画法が確立されず、またその結合形態も明らかでなかったことがその主因となっていたように考えられるからである。

そこで本章においては、まず第一節において既往の分画法を概観したのち、第二節において、とくに植物体の生理作用と密接な関係にあると推定された水可溶性区分と、NaCl 可溶性区分についての再分画法を検討し、第三節においてその結合形態を吟味した。

第一節 既往の分画法

植物中のカルシウムの各種溶媒による段階的抽出法は、まず S. Kostyschew und V. Berg 41) が K. Aso の方法を改良して確立した。この場合の溶媒は、水、中性塩類、弱酸性溶媒、強酸性溶媒の四種であり、各抽出部における結合形態を推論しているが、この実験結果では磷酸カルシウム、炭酸カルシウム、蓚酸カルシウムなどの無機塩類が確認されただけで、有機物質との結合形カルシウムについては、ほとんど検知されなかった。その後多数の研究者によって当該抽出法の改良がなされ、¹⁷⁾³⁰⁾³³⁾₅₀₎₇₃₎ 無機イオン状カルシウムの分離の一方法として、水抽出の前処理として80%アルコールによる抽出も試みられた。³¹⁾³⁶⁾⁸⁶⁾

これらの各Fraction に含まれる結合形態について、H. Itoh T. Hatano ³³⁾ は中性溶媒(10%NaCl)によって抽出された区分に窒素が含有されることから、当該抽出部には蛋白質結合形カルシウムの存在することを推定しており、他の抽出部についても⁴⁵Caでラベルされた諸結合形カルシウム(ペクチン酸カルシウム、および無機塩類)の各溶媒による溶解度の差から第2-1表のように推定されている。⁵⁰⁾

第2-1表 各抽出部に含まれるカルシウム形態

抽出部	抽出溶媒	予想されるカルシウム形態
F - I	H ₂ O	無機イオン状カルシウム、有機酸塩類蛋白質結合形カルシウム
F - II	1N NaCl	炭酸カルシウム、蛋白質結合形カルシウム、ペクチン酸カルシウム
F - III	2%CH ₃ CO ₂ H	磷酸カルシウム
F - IV	5% HCl	蓚酸カルシウム
F - V		硅酸カルシウム

第2-2表 抽出用試料の調整方法を異にした場合の各Fractionの組成の変化

	Fresh Materials	Dry Materials
F - I	8.6 %	9.6 %
F - II	24.6	23.2
F - III	18.7	14.6
F - IV	48.1	57.4
F - V		1.2

ところでこれらの一連の研究で問題になるのは、抽出用試料の調整方法である。すなわち従来の研究においては、風乾試料、60°C 定温下の乾燥試料²⁷⁾ 生鮮材料を即刻、水でホモジネートにして抽出の三方法がとられているが第

2-2表からも明らかのように、各抽出部は抽出用試料の調整方法によって顕著な変動は認められなかった。しかし、風乾、定温乾燥などのような長時間に亘る処理をおこなう場合には、当然この間に酵素活動による反応が進行するものと考えられる。したがって形態別のカルシウムについて詳細に検討する場合には、出口、17) 小西ら50) も指摘しているごとく生鮮材料をそのまま、抽出用の試料として用いる方が無難なように思われる。

第二節 水可溶性区分およびIN NaCl 可溶性区分の再分画法

I. 再分画法の概説

a) 水可溶性区分

当該区分で予想される諸物質のうち、無機イオン状カルシウムは酵素作用の賦活剂的な作用をすることが予想され、18) 有機酸塩類は光合成過程、あるいはこれらの合成物質の分解過程に生ずる各種有機酸と関連するものであり、植物体内における新陳代謝活動と密接な関係にあるものと考えられる。

水可溶性区分の再分画にあたって、主題となるものは生理的活性度の高い部分の分画であり、生理的活性度の高い部分にあつては、とくに有機酸結合形カルシウム（蔭酸カルシウムを除く有機酸塩類のことである。以下有機酸塩とはこのことを意味する。）についての分画が問題となるであろう。なぜならば、巨視的には生理的活性度の高い部分の分画によって生理作用を推定することが可能であるが、微視的には光合成過程あるいは呼吸作用下における糖の分解過程にあらわれる個々の有機酸塩類の消長をみることによって、生理作用究明の途が開かれると考えられるからである。このため水可溶性区分の再分画法はつぎの段階をへることにした。

1. 巨視的分離

① 有機溶媒による溶解度の差を利用した分離

水可溶性区分中に含まれる諸物質は有機溶媒によって、これに可溶な部分と不溶な部分に大別することができる。このうち可溶部分には無機イオン状カルシウム、不溶部分には有機酸結合形カルシウム、高分子物質との給合形カルシウムが含まれる。そこで本法は近藤ら47) の酢酸菌によるグルコースからの代謝生成物の分離法をモデルとして、80%アルコールによる分離を試みた。(第2-3表)

② Sephadex を利用したゲル濾過法

による分離

第2-3表 80%アルコールによる分離例

	Ca (mg)
Residues	4.1
80%Et OH insol.	3.8
80%Et OH sol.	0.2

①による分離法では、有機溶媒に不溶な物質として有機酸塩類が分離されるが、これ以外にもphoto 2-4 (11頁)のB、Dに示されるようなペーパークロマトグラフで原点にとどまる物質が含まれるものと予想される。したがってこの分離法では本章の最初に述べたような本研究の主眼点——有機酸塩類の分離——にすることができない。

そこでこれらの物質を一括して(無機イオン状カルシウムをも含めて)分離するために、Sephadex を利用したゲル濾過法を採用した。本法を採用した理由の一つは、

後述のごとく、たとえばこれをペーパークロマトグラフによって分離する場合 tailing によって有機酸結合形カルシウムの分離が不鮮明になることである。また他の理由として液体クロマトグラフ、吸着クロマトグラフによる場合には、前述のように当該有機酸塩類は不溶性物質に変形することが考えられるからである。したがって媒体として水を利用することによって目的とする物質をそのままの形で分離できる Sephadex によるゲル濾過法が最適であろうと考えた。Fig. 2-1 は Sephadex G-10 による分離例である。

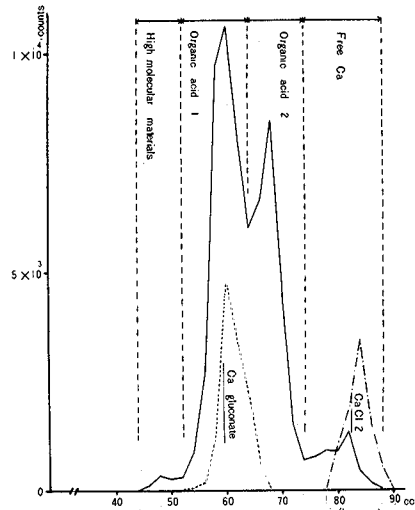


Fig. 2-1 Sephadex G-10による分離例
カラム：pharmacia
1.5×90cm

2. 微視的分離法：ペーパークロマトグラフによる例

前項②の分離法で有機酸塩類が二つの部分に分離されているものの、さらに詳細な結合形は不明である。そこで微細に分離できる方法としてペーパークロマトグラフによる分離例を検討した。99) (Photo 2-1, Photo 2-3)

3. 折衷的分離法

次節で述べるように、2のペーパークロマトグラフによる展開の場合、水可溶性区分に含まれる爽雑物の影響を受けて多重展開を試みてもなお分離の不良な場合を生じた。99) そこで水可溶性区分の前処理として Sephadex による分離をおこなって目的とする有機酸塩類部分を分画し、これをペーパークロマトグラフにかけることによって当該有機酸塩類の再分離を考えた。100) (Photo 2-3)

b) NaCl 可溶性区分

当該区分では、溶媒として NaCl を使用しているために水可溶性区分で採用した減圧濃縮法(次項参照)は不可能である。したがって比較的多量の試料液を使用しても分離の可能な方法を考えなければならない。そこで巨視的な方法としての有機溶媒による分離法と、Sephadex による分離法の二法を採用することにして、ペーパークロマト法、折衷法式による分離法は除外した。これは予想される物質が、水可溶性区分のように多種類のものではなく、第2-1表(5頁)に示した種類に限られており、前項の有機酸カルシウムのごとくその種類別の分離は問題視されないものと考えたからである。

II. 再分画法による実験方法

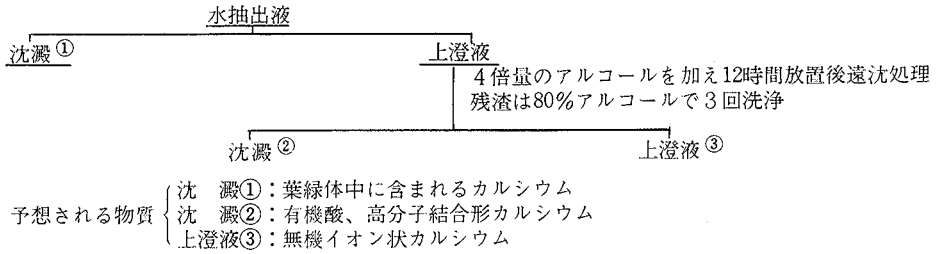
a) 水可溶性区分

1. 巨視的分離法

① 有機溶媒による溶解度の差を利用した分離

水抽出液は45°C 下で減圧濃縮したのち、一定量に稀釈して遠沈処理をおこない、上澄液には80%の濃度になるようにエチルアルコールを加え、12時間放置後遠沈処理をおこなってアルコール可溶性区分、アルコール不溶性区分に分離した。(第2-4表)

第2-4表 80%アルコールによる分離方法



② Sephadex による分離

本法によって物質の分離をおこなう場合、問題となるものはSephadex の粒子の大きさと、カラムの形態、およびその流出速度である。第2-5表はSephadex の粒子別の分離可能な分子量の範囲を示したものであるが、有機酸結合形カルシウムの分子量が500前後であると考えられるために、当該部分の分離を目的とする場合には、G-10が適当であると考えた。

第2-5表 Sephadex の種類

Type	Fractionation Range	M w
G-10	-	700
G-15	-	1500
G-25	100-	5000
G-50	500-	10000
G-75	1000-	50000
G-100	1000-100000	
G-150	1000-150000	
G-200	1000-200000	

カラムの形態については、カラムの長さ、流出口の径、および充填カラム下から適下口までの距離が分離の良、不良に対する重要な因子となるが、これに関連した実験の一例を示すとFig. 2-2のようになる。これらの結果からSephadex のtypeはG-10、カラムの形態は、1.5×90cmのpharmacia社製のものが最適であり、流出速度はカラム内のSephadex が充分安定した状態(20cc/hy)ではほとんど分離に影響しないことが明らかになった。したがって本研究における水可溶性区分のSephadex による分離はすべてこの方法によることにした。なおSephadex 分離用試料液の調整は前項におけると同様の方法によっておこなった。

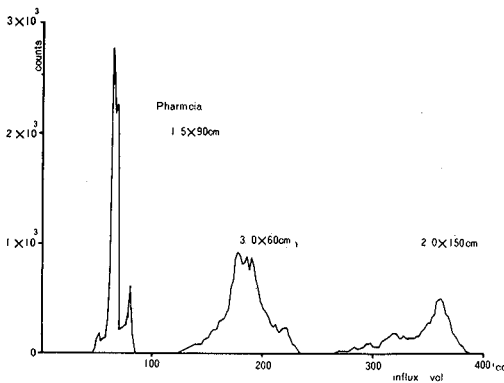


Fig. 2-2 カラムの形態別の分離例

pharmacia : 流下口径0.1cm, Sephadex 基部からの長さ5cm。
3.0×60cm : 流下口径0.3cm, Sephadex 基部からの長さ5cm。
2.0×150cm : 流下口径0.3cm, Sephadex 基部からの長さ6cm。
3.0×60cmと2.0×150cmのカラムによる分離が不良な原因は、流下口径の大きさとSephadex 基部から流下口までの構造上の欠陥によるものと考えられる。

2. 微視的分離法

(1) 試料原液の調整

水抽出液を常法によって減圧濃縮したのち、遠沈処理をおこなって残渣部を除き、上澄液は常温減圧下で乾燥させたのち少量の水に溶解させ、これを試料瓶(1cc容)にとってペーパークロマトグラフ展開用の

原液とした。

(2) 展開溶媒の検討

展開溶媒は、⁴⁶⁾⁴⁸⁾⁵²⁾₇₈₎⁷⁹⁾ 酸性溶媒 (nブタノール・酢酸・水系)、塩基性溶媒 (ピリジン・nブタノール・水系)、中性溶媒 (ブタノール、アルコール・水系) についてそれぞれ検討したが、これらの実験結果ではnブタノール・酢酸・水系が適当であり、中でも三者の組成費が15:10:15のものが最適であることがわかった。⁹⁹⁾ 他の溶媒については、ピリジン・nブタノール・水系では tailing 現象が著しく現われ、またフェノール・水系では全く分離されなかった。⁹⁹⁾ 使用した展開用の濾紙は東洋濾紙No.51 Aである。photo 2-1 はnブタノール・酢酸・水系 (15:10:15) で三重展開したものである。

b) NaCl 可溶性区分

NaCl 可溶性区分に含まれる物質のうち、無機塩類は抽出液中にイオン状に解離していることが予想される。これに反して当該可溶性区分に含まれる有機物質との結合カルシウム塩は解離されないで錯塩状の形で存在するものと推定される。そこで本法では水可溶性区分の場合と同様にエチルアルコールによる分離法を採用した。(第2-6表) 分離の一例は第2-7表に示した。

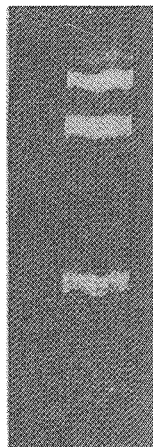
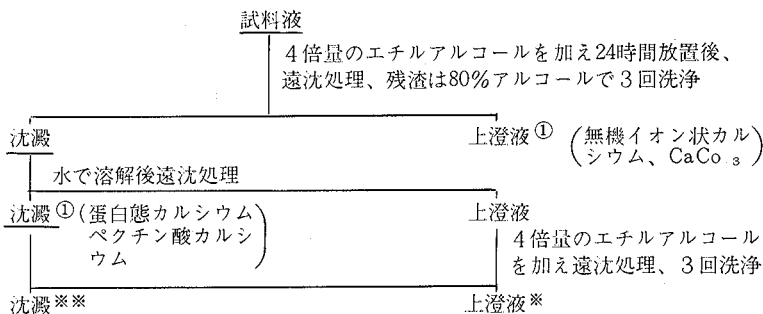


Photo 2-1
水可溶性区分の
Radioautograph

第2-6表 80%アルコールによる分離



※ : 上澄液①に合す
 ※※ : 沈澱①に合す

第2-7表 80%アルコールによる分離例

		Ca mg
80%EtOH	insol.	1.3
	sol	5.4

第三節 再分画法に基くカルシウム結合物質の確認

I. 水可溶性区分

1. 高分子区分中に含まれる蛋白質の確認

水抽出液の減圧濃縮過程に生成される不溶性物質、80%エチルアルコール不溶部分で

水に不溶な部分、およびSephadexによる分離過程中的高分子分画区分中には高分子な物質と結合したカルシウムが含まれるものと予想される。これらの高分子区分中にはligninその他の高分子物質とカルシウムの結合塩の存在も考えられるが、前章で述べたように、葉緑体中におけるカルシウム含有量がきわめて大きいことから、本研究では蛋白質の確認をおこなうにとどめた。photo 2-2は常法によって加水分解されたアミノ酸のペーパークロマトグラフを示したものであるが、これから当該高分子区分中には蛋白質の含まれることが明らかになった。

2. 有機酸カルシウムの確認

当該物質は、80%アルコールによる不溶性部分およびSephadexによる分離ではFig. 2-1 (7頁)の第2、第3のピーク中に存在することが予想される。しかし80%アルコール不溶部には前項の蛋白質結合形カルシウムを含む高分子物質の共存が考えられるため、有機酸カルシウムはSephadexによる分離部分およびRadioautograph (photo 2-1、photo 2-3)の各zoneについて確認することにした。分析方法はつぎに示すとおりである。

a) 有機酸定性用試料液の調整

① Sephadex 分離区分

Fig. 2-1の第2、第3の分画区分
 ↓ 4倍量アルコールによる分画、
 ↓ 不溶部を水に溶解
 IR120 Bによる陽イオン除去
 ↓
 IR45による陰イオン除去
 有機酸部分はIR45樹脂中に
 ↓ 吸着される
 2 M炭酸アンモニウムで溶出
 ↓ 有機酸部は溶出される
 IR120 Bによる陽イオン除去
 ↓
 有機酸試料液

上記の方法で調整された有機酸溶液は45°C下で減圧濃縮後、常温で減圧乾燥させて少量の水で溶解後、定性分析に供した。

② Radioautograph による分画区分

photo 2-1の各zoneを带状に切断して、水で溶出後減圧濃縮、常温下で減圧乾燥させて少量の水に溶解させ、

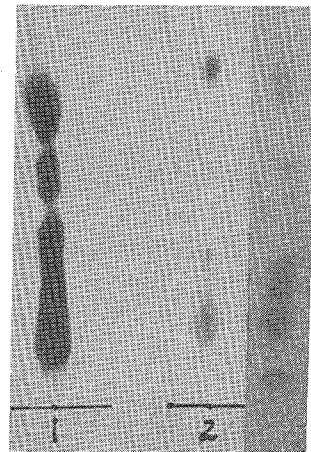


Photo 2-2 残渣部、高分子部、NaCl 可溶性区分中の80%アルコール不溶区分のペーパークロマトグラフ (ニンヒドリン発色)
 1. 残渣部 (水可溶性区分)
 2. 高分子部 (Sephadex 分離水可溶性区分)
 3. 80%アルコール不溶部 (NaCl 可溶性区分)

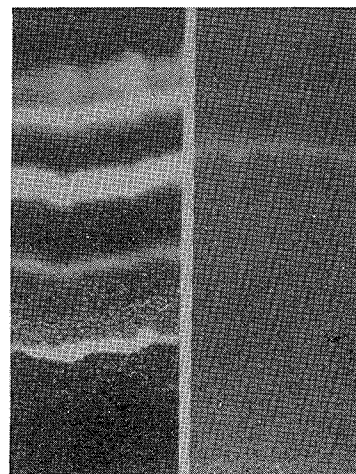


Photo 2-3 SephadexG-10によって分離した有機酸カルシウム区分と、原試料液のRadioautograph
 A. SephadexG-10による有機酸カルシウム1区分
 B. 原液
 AはFig. 2-5のガスクロマトグラフにあたるが同図からクエン酸、グルコン酸が認められる。

各zoneのRadioautographを再度つくった。(Photo 2-4) これらの単離されたzoneを切断して水で溶出後、前項のSephadexの場合と同様の方法で有機酸溶液に調整した。

b) 有機酸の定性分析

① ペーパークロマトグラフによる方法

ペーパークロマトグラフによる有機酸の定性分析には、多数の方法が考案され、発表されているが未確認の有機酸の含まれることも予想されるため、展開液、発色剤については慎重に吟味した。本研究で採用した方法を挙げるとつぎの通りである。

(1) 展開液

n ブタノール・酢酸・水 (4 : 1 : 2) (4 : 1 : 5) (15 : 10 : 15)
 フェノール・水
 イソプロパノール・ピリジン・水

(2) 発色剤

Bromophenol Blue 45) 52) アンモニア性硝酸銀 55)

未確認の有機酸に対しては、紫外線による蛍光反応を採用し 55) 当該有機酸とウロン酸との識別に対しては塩酸、アニシジンによる発色法を採用した。79)

② ガスクロマトグラフによる方法

糖類のガスクロマトグラフによる分析方法は、最近当該物質をTrimethylsilyl ether化(以下T.M.S化と称す)することによって、9) 34) 容易に揮発性物質に導く方法が見出されるようになってから時代の脚光を浴びてきているものである。したがってその分析例も少ないが、とくに本研究において問題となる有機酸(リンゴ酸、フマル酸、コハク酸、クエン酸、グルコン酸)に関しては、その分析例はほとんど知られていない。しか

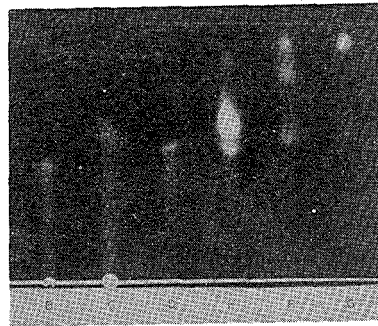


Photo 2-4 Photo 2-1の各zoneのRadioautograph

B. C. D. E. F. GはPhoto 2-1の下方よりの各zoneを再抽出したものの。

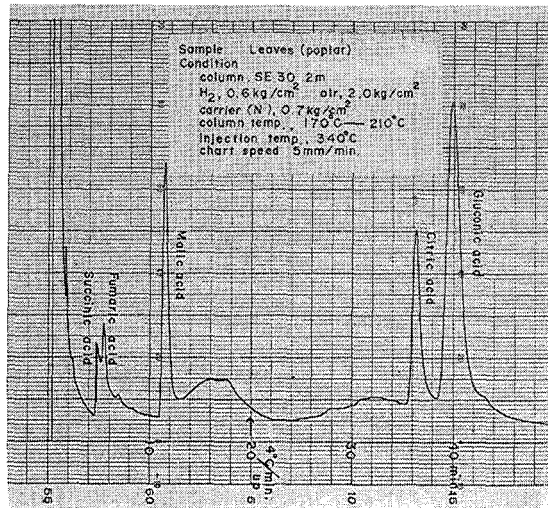


Fig. 2-3 ポプラ葉部の80%アルコール不溶部、水可溶部の有機酸のガスクロマトグラフ。

し当該有機酸のガスクロマトグラフによる分析の骨子は、要するに有機酸をT. M. S化することによって揮発性物質に変えることにあるものと考えられるため、前項の方法で調整した試料液を凍結乾燥した後少量のピリジンに溶解させ、これをT. M. S化して分析に供した。このT. M. S化には山川³⁴⁾の方法もあるが、本研究では予め調整され、市販されている島津製作所製のT. M. S化剤を用いた。

カラムの種類、その温度、キャリアーガスの流速なども問題になるが、この点に関しては種々検討した結果、以下に述べる条件で各種の有機酸の分離が良好におこなわれることが明らかになった。(Fig. 2-3)

ガスクロマトグラフの条件

- ①カラムの種類：SE30充填カラム、カラムの長さ2 m、
 H_2 ガス：0.6kg/cm²、Air：2.0kg/cm²
 Carrier Gas (N)：0.7kg/cm²

カラム温度：170°Cで20分、以後210°Cまで昇温(4°C/min)
 injection temp：340°C

コハク酸、フマル酸、リンゴ酸、クエン酸、グルコン酸の検出

- ②カラムの種類：SE 30充填カラム カラムの長さ1 m
 H_2 ガス：0.6kg/cm² Air：2.0kg/cm²
 Nガス：0.7kg/cm² カラム温度：210°C
 injection temp：340°C

リンゴ酸、クエン酸、グルコン酸のみ検出

- ③カラムの種類：Golag Q-45
 H_2 ガス：0.6kg/cm² Air 2.0kg/cm²
 Nガス：0.5kg/cm² カラム温度：210°C

リンゴ酸、クエン酸、グルコン酸の検出

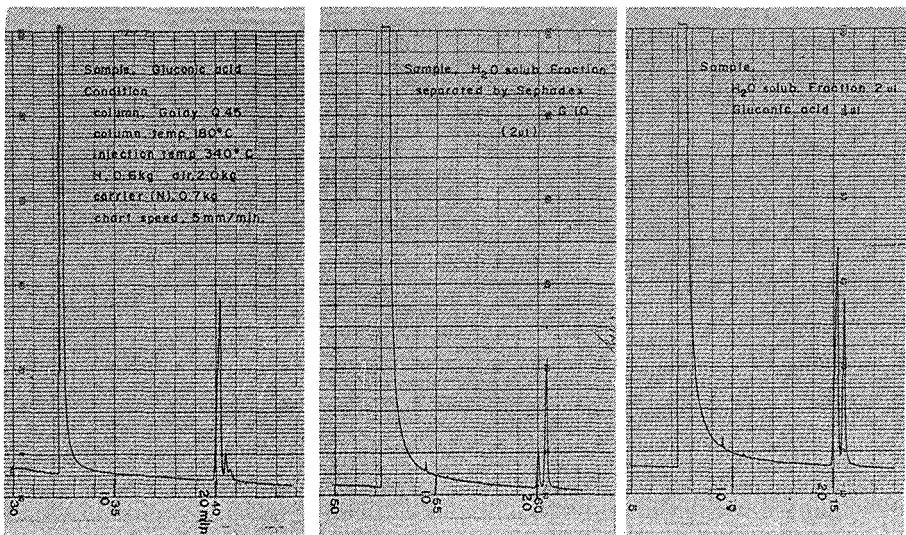


Fig. 2-4 Golay Q-45カラムによるガスクロマトグラフ
 A：グルコン酸標品、B：Sephadex 分離区分、C：Sephadex 分離区分+グルコン酸。

以上の定性分析の結果は、Fig. 2-4、Fig. 2-5、Fig. 2-6、photo 2-5にまとめて掲載したが、この場合に注目されることは、Sephadex G-10による分離によって有機酸カルシウム部の分画が明瞭におこなわれたことである。すなわち当該有機酸カルシウム部の第1の区分にはグルコン酸、クエン酸が、第2の区分には、リンゴ酸、コハク酸、

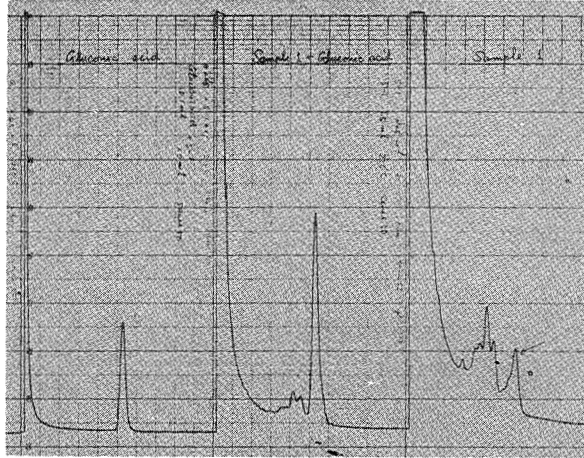


Fig. 2-5 グルコン酸の標品とphoto 2-3 (10頁) のSephadex 分離区分のガスクロマトグラフ
 カラム：SE 30 1m カラム温度 210°C

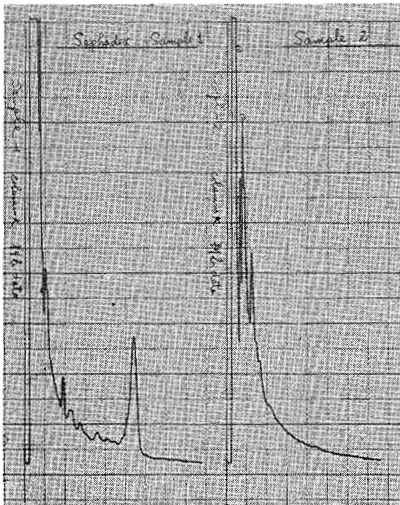


Fig. 2-6 Sephadex 分離区分中の有機酸カルシウム1区分と同2区分のガスクロマトグラフ
 カラム温度210°C カラム：SE 30 1m Sample 1：1区分、Sample 2：2区分、2区分にはグルコン酸クエン酸を含まない。

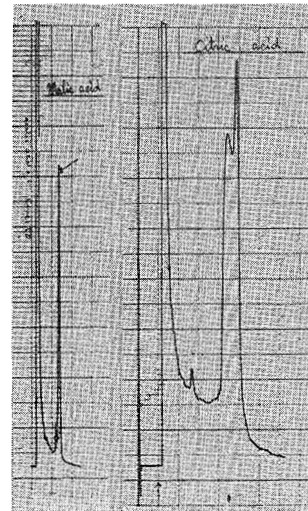


Fig. 2-7 クエン酸、リンゴ酸の標品のガスクロマトグラフ
 カラム：SE 30 1m 温度210°C

当該物質は無機塩類であるため、水溶液中ではイオン状に解離しており、したがって Sephadex による分離においては 45CaCl_2 の分画と一致する筈である。Fig. 2-9 はこの結果を示したものであるが、両者のピークは全く一致することが明らかになった。これらの結果から NaCl 可溶性区分中の、80% アルコール可溶部には炭酸カルシウムの存在することが推定できる。

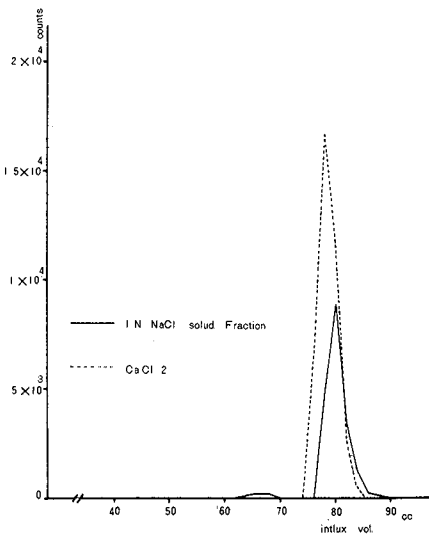


Fig. 2-9 1N NaCl 可溶性区分中の Sephadex の分離例

この図から 1N NaCl 可溶性区分中には多量の無機イオン状カルシウム CaCO_3 の含まれることがわかる。60~70cc 中に認められるピークは、その現われた位置から推定して、水によって除かれ得なかった有機酸カルシウムの残存部であろうと推定できる。

第四節 総括

本章の最初でも述べたように、本研究における主目的は生理的活性度の高い有機質結合形カルシウムの生理作用を解明するところにある。そしてこの目的達成のための前提として、本章において当該結合形カルシウムの分画法の確立と、その結合形態の確認を試みたのであるが、その結果前述のように今まで未解明であった有機質結合形カルシウムの存在と、その分離法が明らかにされた。

いま前述の実験結果から、もっとも適当と思われる分画法を、操作の簡便性と的確性とから検討するとつぎのようになる。すなわち水可溶性区分については Sephadex G-10 による分離であり、NaCl 可溶性区分については 80% アルコールによる分画である。この場合問題となるのは、水可溶性区分中の Sephadex 分画による第 2 のピークである。当該部には前節からも明らかのように、グルコン酸カルシウムとクエン酸カルシウムが共存しているからである。しかしこれは当該分画部中の有機酸そのものの種類と、量を知ることによって推定が可能である。そして有機酸の定性、定量はガスクロマトグラフによっておこなえば簡便であり正確でもある。

以上の結果から、次章以下の諸実験においては、すべて再分画はこれらの方法によっておこなうことにした。なお弱酸可溶性区分以下の抽出部については詳細な結合形態別の検討はおこなわないで、該当区分に関しては、すべて従来の方法によって一括定量することにした。

第三章 樹体内におけるカルシウムの分布

第一章総論で詳述したごとく、カルシウムは植物体内においては動きにくい元素の一つであるといわれ、一旦集積されたカルシウムの再分布、再移動はきわめて微量であろうとされている。⁴⁾⁵⁾¹³⁾⁴²⁾したがってカルシウムの分布を葉部の着生位置別にみた場合には、必然的には旧葉部>新葉部の傾向をもつことは明らかであるが、¹⁷⁾⁵⁶⁾⁷³⁾¹⁹¹⁾¹⁰⁷⁾植物の生育にともなって持続して吸収されるカルシウムは、必ずしもこの傾向をもってとりこまれるとは限らないであろう。むしろカルシウムが真に植物に生育上必須な栄養元素であるとするならば、本来のカルシウム分布形とは異なって、たとえば葉部の metabolic activity に応じたとりこみ方がされるものと考えられる。この点についてはすでに一つの研究例⁴⁹⁾が発表されており、この著者の推論に対する側面は明らかにされているが、葉部の metabolism に結びついた検討がおこなわれていないためになお不明である。

そこで本章では、とりこまれたカルシウムの分布形を、葉部組織の metabolism と結びつけて吟味することに重点をおいた。そしてこれの関連性を明らかにするための手段として、主として前章で明らかにした水可溶性区分に対する再分離法を用いた。これは前章で述べたごとく、葉部内におけるカルシウムは当該可溶性区分において生理的に活性な結合形カルシウムを含むことが予想されたからである。⁹⁵⁾⁹⁶⁾⁹⁷⁾⁹⁸⁾⁹⁹⁾なお本研究の一つの特色として挙げられることは、葉柄部、樹皮部における分布形である。樹木中においては、これらの器官は直接生命活動に結びついた関係は認められないが、その位置による分布形——形態別をも含めて——は樹体内におけるカルシウムの移動性の問題と併せて考えた場合に、重要なものとなってくることが予想されるからである。たとえば、metabolic activity の高い新組織と、この低い旧組織との間の分布上の差異は、当然カルシウムの樹体内移動の問題と密接に結びつくものと考えられるからである。

第一節 葉部中のカルシウムの分布

I. 葉部内にとりこまれた全カルシウムの分布

植物の必須栄養元素のうちの、易動性の元素の分布は、植物の生長期によって異なり、葉部の metabolic activity と密接な関係にあるといわれる。²³⁾⁸⁷⁾⁸⁸⁾⁸⁹⁾⁹⁰⁾⁹¹⁾カルシウムの分布についても、このような推論をもってすれば生長期によって異なることが予想されるため、実験は生長初期と、生長最盛期の二期に分けておこなった。Fig. 3-1-1、Fig. 3-1-2は

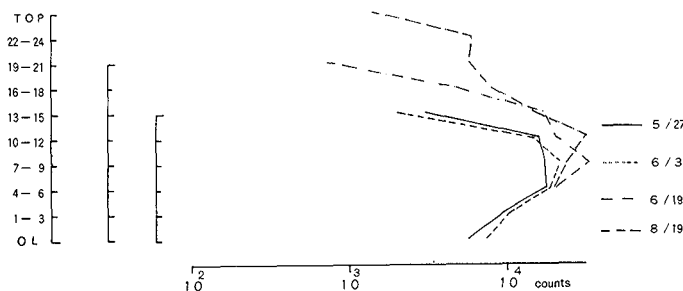


Fig. 3-1-1 生育初期に施与した⁴⁵Caの葉位別分布の動き(5月20日施与)

⁴⁵Caのピークは生育初期の上葉部に現われその位置は日数が経過しても余り変らない。

これらの結果を括めたものであるが、この両実験を通じて明らかにされた点はずぎの通りである。すなわち ^{45}Ca のactivityは、中葉部、又は上葉部に最大のピークをもつ凸型の分布で示され、最大量集積された葉部は、日数が経過してもその葉位はほとんど変わらない。また

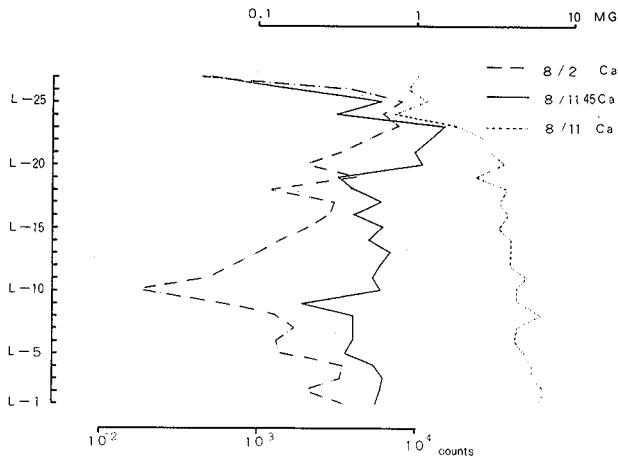


Fig. 3-1-2 生育最盛期に施与した ^{45}Ca の葉位別分布の動き（7月27日施与）

生育最盛期においては、下方葉部にも多少集積される葉位が存在するなどである。このうち最初の二点については、今までに報告された実験例に一致しており、樹木中においても草本植物に認められると同様な傾向にあることが明らかになった。また実験2（生育最盛期）において、葉位別のカルシウム含有量を調べた結果によると（Fig. 3-1-2）、下葉部>上葉部となり、上葉部に移るにつれて減少の傾向をみせた。すなわち葉部内のカルシウム含有量は、下葉部に移るにつれて集積する傾向にあるが、葉部内にとりこまれた ^{45}Ca は、葉部内カルシウム含有量と平行した分布を示さない。これは葉部内にとりこまれたカルシウムが、当該部位のmetabolic activityと関連して分布することを示唆するものと考えられるが、この点に関しては以下に示す実験データの解析によって明らかにされよう。

すなわち、1. 実験1と、実験2を比較した場合に最大集積葉位は実験2で上方部に移動している。これは田中⁹⁰⁾の提唱した活動中心葉の概念と、これが植物の生育につれて頂向性をもつという現象に一致している。2. 第三項（21頁）における水可溶性区分の再分画の結果から、有機酸カルシウムの最大含有量を示す葉位が、当該葉位に一致する。3. 次章における葉位別有機酸カルシウムの消長との関係である。すなわち有機酸カルシウムの第2区分の消長が、当該最大集積葉位で活発である。などの現象が観察されたことである。

ところで上述の1. について田中は、イネの葉位別の生理機能の研究⁸⁷⁾⁸⁸⁾⁸⁹⁾⁹⁰⁾⁹¹⁾において、活動中心葉の概念を提唱し、根系から吸収された無機イオンは当該葉において、有機物質と結合されて上方に移動することを推定した。そしてこの場合、活動中心葉は光合成機能のもっとも充実した葉部であることを ^{32}P を使った実験例において明らかにしている。90)カルシウムの生理機能は、その本質において磷とは著しく異なるために、上述の結果をもって直ちに活動中心葉の概念を適応することは危険であるが、次章でも明らかにするように、当該葉位を中心として、その上下で有機酸カルシウムの種類とその濃度とが著しく異なること、および上述の2. 3の実験結果から、当該葉位には活動中心葉が含まれるものとみなしてもさ

しつかえなからう。

実験2において施与後の日数経過とともに最大ピークを示す位置が、下方に移動する点については (Fig. 3-1-2で、8月2日と、8月11日とでは最大ピークが下方に移動している)、活動中心葉とともに、その上方葉位にさらに初期集積葉の存在することを想定してつぎのように推論した。この場合、初期集積葉とは施与直後に急速にとりこまれる葉部のことである。

すなわち生育最盛期においては、伸長はとまり、したがって活動中心葉の位置もまた固定してきているものと考えられる。一方初期集積葉の存在を考えれば、施与されたカルシウムは、まず当該葉位に急速にとりこまれ、ついで時間的経過にしたがって活動中心葉に漸時とりこまれるためであろうと考えるのである。

初期集積葉については、これが如何なるものであるかは不明であるが、次章における実験結果 (29頁) もまたこれの存在の可能性を示唆している。

II. 従来の分画法に基づく形態別カルシウムの分布

一般に各Fraction の濃度分布は、全カルシウムの場合と同様な傾向を示した。(Fig. 3-1-2, Fig. 3-3) 施与後の日数が経過しても各Fraction の最大ピークを示す位置が、余り

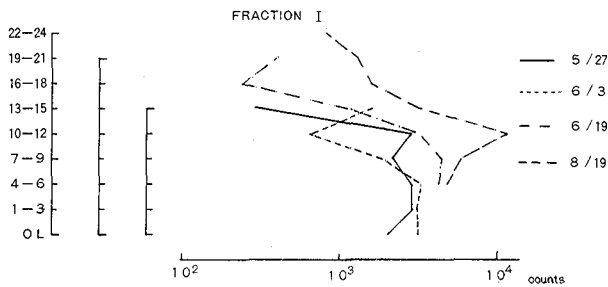


Fig. 3-2-1
生育初期に施与した場合のFraction Iにおける⁴⁵Caの濃度分布

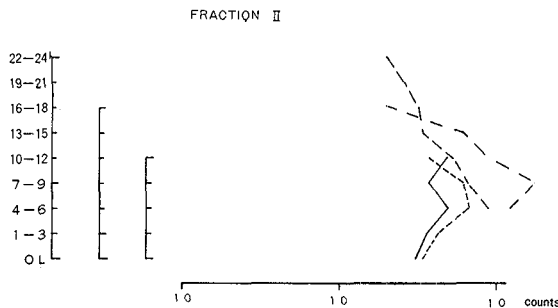


Fig. 3-2-2
生育初期に施与した場合のFraction IIにおける⁴⁵Caの濃度分布

移動しないことはカルシウムの樹体内移動が、積極的におこなわれないう初期にとりこまれた葉位において、各Fractionへのとりこみがおこなわれていることを示すものであろう。

(Fig. 3-1-1)

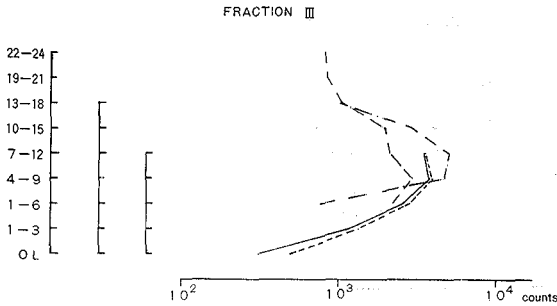


Fig. 3-1-3

生育初期に施与した場合のFraction IIIにおける⁴⁵Caの濃度分布

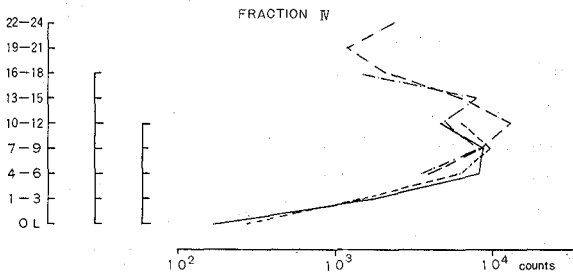


Fig. 3-1-4

生育初期に施与した場合のFraction IVにおける⁴⁵Caの濃度分布

葉部内における各Fraction へのとりこみの程度を、濃度分布からみると、いずれも上方葉部位で濃度が高く、当該部位で活発なとりこみのおこなわれていることが明らかにされた。これは実験2におけるカルシウムの、含有量の分布から一層明らかにされる。(Fig. 3-3) すなわち当該含有量がいずれのFraction も上方葉位に移るにつれて、漸減の傾向にあることが認められたからである。

上方葉位における各Fraction へのとりこみの程度を、その濃度分布の勾配 (Fig. 3-3)、およびカルシウムの含有量分布形 (Fig. 3-4) から併せて考えると、一般にF-III、F-IVは、F-I、F-IIに比して、より活発にとりこまれていることがわかる。この点に関し

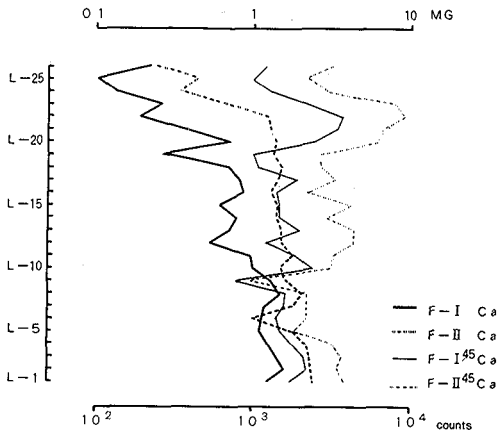
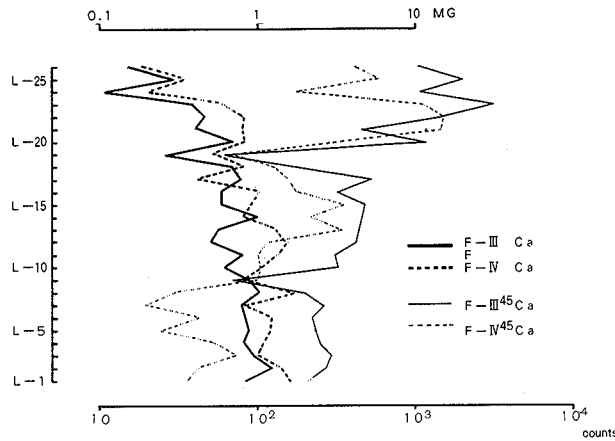


Fig. 3-3

生育最盛期に施与した場合のFraction 別カルシウムの濃度分布 (8月11日)

太線はCaの分布図である。⁴⁵Caは各Fractionとも最大集積葉位で最大量を示した。



ては、すでにタバコ葉を使った実験において認められているが、要するに上方葉位——展開葉——においては、小西ら51)も指摘しているように、他の下方葉位に比してF-IからF-III、F-IVへのとりこみが圧倒的な強さでおこなわれていることを示すものと考えられる。

F-I、F-IIについては、生育初期ではとりこみの程度に差が認められ、F-IはF-IIに比して活発であった。この点については次項で明らかにするが、これは要するにF-Iがポプラの生育初期において活発な代謝活動に参画していることを示すものであろう。

各Fractionの含有率の葉位別の分布に関しては、すでにダイズ、17)イネ、91)タバコ49)50)51)の例が公表されており、F-Iは上方葉位に移るにつれて漸減の傾向をもつこと、F-II、F-III、F-IVは漸増の傾向をもつことが明らかにされている。本実験ではF-Iを除いては、このような顕著な傾向は明らかにされなかった。

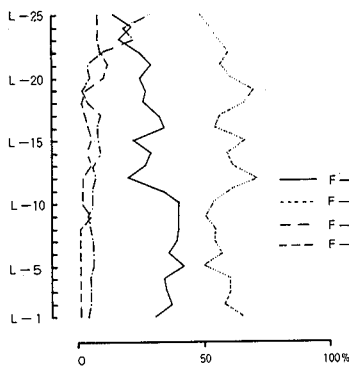


Fig. 3-4 生育最盛期におけるFraction別の含有率の分布 (45Ca)

F-Iは上方葉位に移るにつれて漸減した。

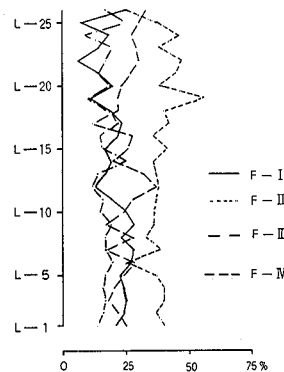


Fig. 3-5 生育最盛期におけるFraction別の含有率の分布 (Ca)

この図はFig. 3-4に類似しており、葉部にとりこまれた45Caは充分同化された時点では、あらかじめ存在しているFraction別カルシウムに応じた配分関係になるものと考えられる。

F-I : 水可溶性区分

F-III : 2% CH₃CO₂H 可溶性区分

F-II : 1N NaCl 可溶性区分

F-IV : 5% HCl 可溶性区分

本実験の場合において特異なことは、F-IIの含有率が各葉位ともに高いことである。(Fig. 3-4) 葉部内におけるFraction 別の実験例をみると、一般に農作物の場合にはF-Iが圧倒的に多いとされているが¹⁷⁾³⁰⁾⁴¹⁾₅₀₎₅₆₎₇₃₎、ポプラ、スギ、イチヨウ、メタセコイアの例(第3-1表)では、ともにF-IIが多量に含まれている。この点に関してはなお検討を要するが木本植物における一つの特性とも考えられる。

第3-1表 樹種別のFraction含有率

	F-I	F-II	F-III	F-IV	F-V
Poplar (10years)	13.3%	34.5%	9.8%	39.1%	3.3%
Poplar (cuttings)	24.2	27.4	23.3	16.8	8.3
Camphor tree (10years)※	34.1	24.4	13.4	25.2	3.0
〃 ※	38.2	35.4	13.2	7.6	5.5
Cryptomeria (10years)※	24.9	28.3	17.9	22.0	6.9
〃 ※※	18.4	36.8	20.9	15.0	8.9
Metasequoia (15years)	36.1	16.4	20.0	22.9	4.5
Ginkgo (15years)	46.8	19.9	15.8	15.8	1.8

※ this year leaves
※※ none year leaves

Fig. 3-5は葉部内に含まれる標識されないFraction 別カルシウムの含有率の分布形を示したものであるが、いずれもFig. 3-4に類似した分布形を示した。これは旋与された⁴⁵Caは、施与後の日数が経過して充分同化された段階では、あらかじめ存在している

形態別カルシウムの割合に応じた配分関係に落ち着くことを示すものと考えられる。¹⁰⁸⁾これがさらに時間的経過にしたがって、如何に変化するかについては次章で明らかにする。

III. 水可溶性カルシウムの形態別の分布

Fig. 3-6-1は、生育期初期における単葉ごとの濃度分布を、Fig. 3-6-2は生育最盛期における旧葉部(O.L)、新葉部(NL)の濃度分布を示したものである。これらの図から一般に水可溶性カルシウム中に含まれる形態別カルシウムは、それぞれが葉位ごとに特徴のある分布を示すことが明らかになった。その中で、とくに葉部のmetabolic activityと密接な関係を有するものとしては、濃縮過程で生成される残渣部と、有機酸カルシウムの動きが注目される。中でも有機酸カルシウムの葉位別の動きは、きわめて特異なも

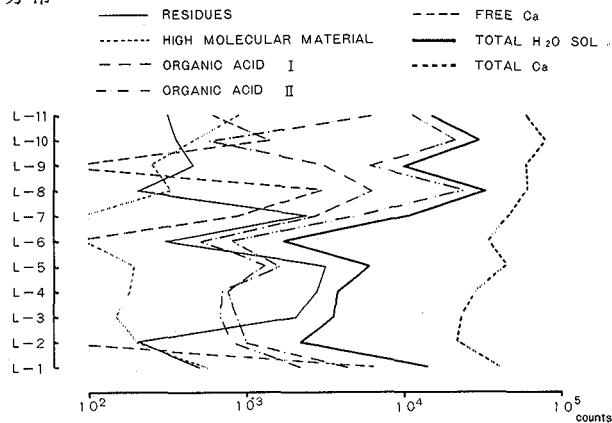


Fig. 3-6-1 生育初期における水可溶性区分の形態別カルシウムの濃度分布。

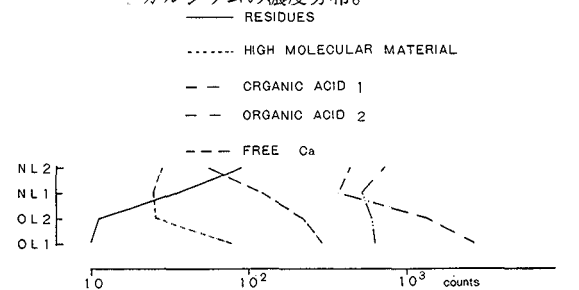


Fig. 3-6-2 生育最盛期における水可溶性区分の形態別カルシウムの濃度分布。

のであった。すなわち、
 この分布形は生育最盛
 期において顕著に認めら
 れたのであるが、一般に
 有機酸カルシウム2区分
 は上方葉位で高く、有機
 酸カルシウム1区分は下
 方葉位で著しく高くなっ
 た。(Fig. 3-6-2) 水
 可溶性カルシウム中に占
 める有機酸カルシウムの
 含有率は、濃度の分布と
 同様の傾向を示した。(F
 ig. 3-7-1, Fig. 3-
 7-2) これらの有機酸
 カルシウムの占める割合
 は、他の形態別カルシウ

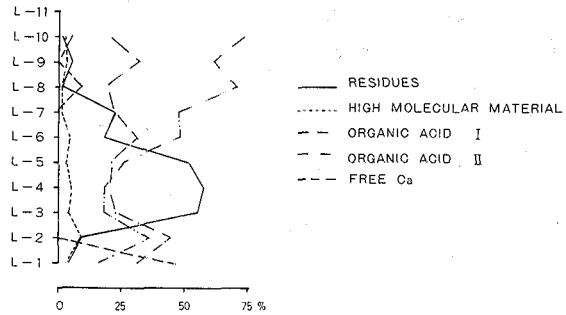


Fig. 3-7-1 生育初期における水可溶性区分の形態別
 カルシウムの含有率の分布

ムに比して多量であることから、前項で述べた水可溶性カルシウムの分布は、主として当該
 有機酸カルシウムの消長と密接な関係にあるものといえよう。

高分子区分中に分画される物質は、主とし
 て蛋白質に結合したカルシウムであろうと考
 えた。(第二章、第三節、9頁) 当該カルシウ
 ムの濃度分布は、生育初期で顕著な凹型の分
 布を示し、(Fig. 3-6-1) 生育最盛期では
 最下葉部で高濃度を示し、以降急減してほ
 平衡状態となって凹型の分布は認められな
 かった。(Fig. 3-6-2) これは当該カルシウ
 ムが、生育期を異にするにしたがってその代
 謝能力に差を生じることを示すものと考えら
 れ、生育初期には下方葉部とともに上方葉部
 でも活発なとりこみがおこなわれることを明
 らかにしたものと考えられる。

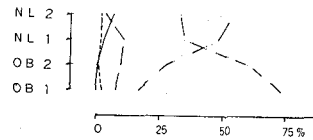


Fig. 3-7-2 生育最盛期における水可溶
 性区分の形態別カルシウムの
 含有率の分布

IV NaCl 可溶性カルシウムの形態別の分布

第3-2表は、カルシウム施与後3日目
 における生育初期の単葉ごとの形態別カルシウ
 ムの含有率を示したものである。この表から
 80%アルコール不溶性カルシウム——蛋白質
 結合形カルシウムおよび一部の有機酸カルシ
 ムを含む(第二章、Fig. 2-6.13頁)——
 はL-6より上方部に認められ、中でも最上
 方葉部で高含有率を占めることが明らかにさ
 れた。これは、45Ca施与後、急速にとりこ
 まれたカルシウムは、上方葉位において活発
 に蛋白質と結合することを意味しているもの

第3-2表 NaCl 可溶性区分の形態別
 カルシウムの葉位別の分布 (含有率)

	80%EtOH _{ins}	80%EtOH _{sol}
L 1	%	100 %
2		100
3		100
4		100
5		190
6	1.8	98.2
7	2.0	98.0
8	2.3	97.7
9	1.7	98.3
10	3.8	96.2
11	6.7	93.3

と理解できる。しかしその含有率は、後述の葉柄部、樹皮部に比して低く、葉部中では1 N NaCl で抽出されるカルシウム区分は、その大部分が炭酸カルシウムの形で存在するものと考えられよう。

第二節 葉柄部、樹皮部内のカルシウムの分布

I. 全カルシウムの分布

Fig. 3-8-1、Fig.

3-9-1からも明らかなように、とりこまれた全カルシウムは葉部の場合と同様に、中央部に最大ピークをもつ凸型の分布を示した。このピークの位置については、葉柄部位置および樹皮部位置が葉部位置と厳密に一致していないために確かなことはいえないが、対応する葉位数を考慮すると、Fig. 3-8-1、Fig. 3-9-1のピークは葉部の場合にほぼ一致するものと考えられる。これらの結果から葉柄部、樹皮部内においては、とりこまれたカルシウムはほぼ葉部に似た分布を示し、当該部位で独立した分布形は認められないものと考えられる。これは樹体内において、カルシウムの移動がなされる場合には、局所的な場——換言すれば局所的な葉部 ↔ 葉柄部 ↔ 樹皮部——において限定されておこる可能性を示唆するものといえる。もし広範囲でのカルシウムの移動がおこなわれるものとするならば、葉柄部、樹皮部における全カルシウムの分布は、葉部に対応した形をとらないであろうし、定方向的な増減傾向——傾向的に増加するか、減少するか——をとるものと考えられるからである。

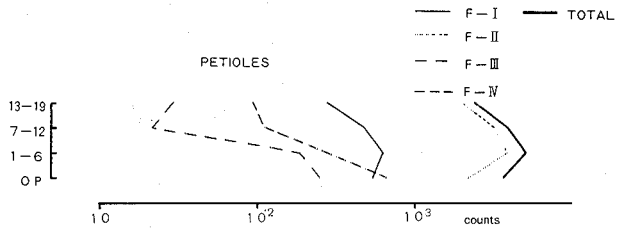


Fig. 3-8-1 生育初期におけるFraction別カルシウムと全カルシウムの濃度分布(葉柄部)

全カルシウムのピークは、Fig. 3-1-1の5月27日の葉部の場合のピークに一致しており、葉柄部でも葉部の最大量集積部に相当する位置に多量のカルシウムがとりこまれることが分る。

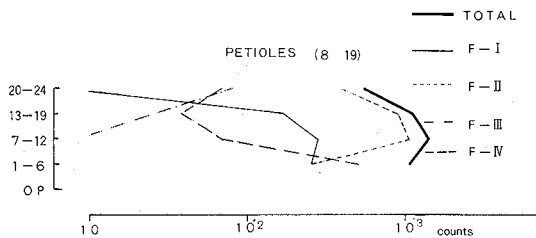


Fig. 3-8-2 3ヶ月経過した場合のFraction別カルシウムと全カルシウムの濃度分布の動き。

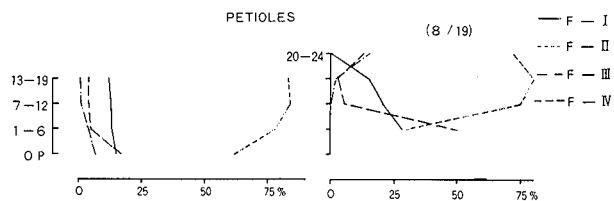


Fig. 3-8-3 生育初期ならびに3ヶ月後の含有率の分布(葉柄部)

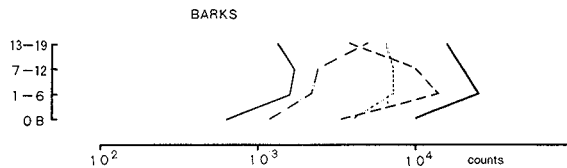


Fig. 3-9-1 生育初期における樹皮部中のFraction別カルシウムと全カルシウムの濃度分布

全カルシウムのピークはFig. 3-1-1のピークに一致しており、樹皮部でも葉柄部と同様に葉部最大量集積部に相当する位置に多量のカルシウムがとりこまれることがわかる。

II. 従来の分画法に基く形態別カルシウムの分布

1. 位置別の分布

a) 葉柄部

F-I、F-IIの濃度は、葉部におけると同様に全カルシウムの分布と同様な分布形を示した。(Fig. 3-8-1、Fig. 3-8-2) またこれの含有率の分布形も、F-Iについては葉部の場合と同様に上方部に移るにつれて漸減の傾向が認められた。(Fig. 3-8-3) F-IIについては、その含有率で明らかに凸型の分布形が認められ、(Fig. 3-8-3) 葉部の場合に異なっているために、当該Fractionで葉柄部におけるカルシウム代謝の特異性が考えられる。

F-III、F-IVについては、その濃度、含有率ともに葉部とは異なった分布形を示した。(Fig. 3-8-1、Fig. 3-8-2、Fig. 3-8-3) すなわちその濃度は、F-III、F-IVともに下方部位で高く、葉部のような全カルシウムの分布に見合ったピークは認められなかった。含有率もまた葉部が上方部位で漸増の傾向をみせたのに反して、葉柄部では漸減の傾向にあった。このようなF-III、F-IVの分布上の差異は、F-IIとともに当該Fractionの生理的特性とみることができよう。すなわち次項で指摘するように葉柄部における器官上の特性が考えられる。

b) 樹皮部

各Fractionの濃度は、F-IIIを除いて葉部におけると同様に全カルシウムの分布と同様な分布形を示した。(Fig. 3-9-1、Fig. 3-9-2) これは次項で述べるように当該器官が永久組織、貯蔵組織として考えられるために、とりこまれたカルシウムがこれらの組織の形成に参加したためと考えられ、この場合に樹皮部の組織形成にともなう代謝活動を活発に営む部分が、葉部のそれに対応した部位にあたることを意味しているものとする。F-IIIは上方部に移るにつれて漸増の傾向を示したが、これもまた葉部の場合に類似しており、当該Fractionが若い組織において活発な代謝活動を営んでいることを示すものであろう。

含有率の分布は、F-III、F-IVを除いて樹皮部の独特の形を示した。(Fig. 3-9-3) すなわち、1. F-Iは非常に少量含まれるにすぎなかった。2. F-IIは上方部に移るにつれて急激に増加し、最上方部では高含有率を示したことである。これらの結果から樹皮部におけるFractionの分布はとくにF-I、F-IIに関して特色のあることがわかる。

2. 各Fractionの組成上の特徴

Fig. 3-8、Fig. 3-9からも明らかなように、葉柄部と、樹皮部とでは各Fractionの組成割合に著しい差異が認められた。葉部に対比して検討した場合にも (Fig. 3-1-1) その組成割合に差異が認められた。これらの差異は第3-3表からも明らかなように葉部を基準にした場合、葉柄部位ではF-IIが上方部で80%となって大部分を占め、ついでF-Iとなり、F-III、F-IVは同程度であって量的には少ない。樹皮部では、F-II、F

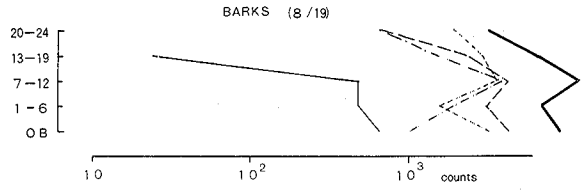


Fig. 3-9-2 3ヶ月経過した場合のFraction別カルシウムと全カルシウムの濃度分布の動き

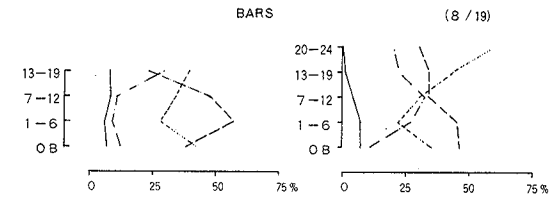


Fig. 3-9-3 生育初期ならびに3ヶ月後の含有率の分布

一Ⅲ、F—Ⅳが、それぞれ59~11%の範囲でかなりの量を占め、F—Ⅰが少量含まれるにすぎないことが特色としてあげられよう。

このように当該部において各Fractionの組成に差異が認められたことは、いうまでもなく樹体内ではカルシウムがそれぞれの器官内で特異な形でとりこまれることを示すものであろう。そしてこの場合には当然葉柄部、樹皮部における器官の構造の、また生理上の差異が考えられよう。すなわち前者は単に葉部の支持と、これに対する

養分の通導、転流に関係するものであって、それ自体葉部とともにつねに更新される立場にある器官である。これに反し樹皮部は養分の通導組織としての位置を占める一方、木本植物では貯蔵器官としても重要な位置にあり、それ自体更新されるべき立場にはない。換言すれば、葉柄部は樹木の生命活動上の一時的な器官であるに反し、後者は永久的な器官として考えられるのである。したがって樹皮部においてF—Ⅱ、F—Ⅲ、F—Ⅳが多量に認められることは、樹体内にとりこまれたカルシウムのうち当該Fractionに属する形態別カルシウム——その大部分は体制維持に必要なペクチン酸カルシウムであり、代謝活動の副産物として生成される炭酸カルシウム、燐酸カルシウム、蓚酸カルシウムと考えられる——へのとりこみ量の多いことを意味しており、葉柄部においてF—Ⅱが多量に出現することは、その器官としての性格上F—Ⅲ、F—Ⅳへのとりこみ量が少量であることに基くものと考えられる。

F—Ⅰに関しては次項で検討するが、両部位において量的な差異を生じたことは、いうまでもなく当該Fraction中に生理的に活性度の高い結合形カルシウムが含まれるからであろう。すなわち葉柄部において、より多量に出現することは上述のように当該部が直接に生命活動に参画する葉部に接続しているためであり、樹皮部において少量認められるにすぎないことは、当該部では全体として活発な新陳代謝活動がおこなわれていないことを意味している。

Ⅲ. 水可溶性カルシウムの形態別カルシウムの分布

前項で述べたように葉柄部、樹皮部における水可溶性カルシウムは、少量であるためにこれの再分画は、旧組織(葉柄部:OP、樹皮部:OB)と新組織(葉柄部:NP、樹皮部:NB)に二分しておこなった。供試材料は1967年4月20日に挿付発根後、8月2日まで水耕培養法によって育成したものであり、 $^{45}\text{CaCl}_2$ の施与は5月29日におこなった。

a) 葉柄部

濃縮過程に生成した沈澱部に対する測定をおこなっていないので、形態別カルシウムの含有率の算定はできなかつたが、その濃度はFig. 3-10に示す通りである。これによると、旧組織と新組織とでは、明確な差異が認められた。その差異の著しい点はSephadexの分離形からも明らかなように、新組

第3-3表 器官別の各Fractionの含有率 (max とmin. との範囲)

	Leaves	Petioles	Barks
F—Ⅰ	37—14%	28— 0%	7— 1%
F—Ⅱ	45—16	80—20	59—22
F—Ⅲ	14—11	15— 0	32—11
F—Ⅳ	40—20	13— 3	46—30

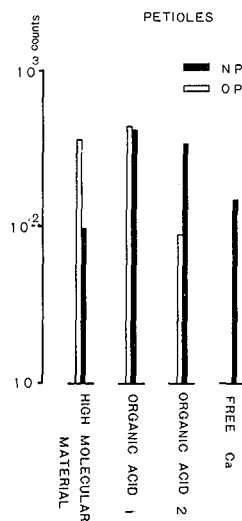


Fig. 3-10 葉柄部における水可溶性区分の形態別カルシウムの濃度

織では高分子部、有機酸カルシウム1区分、同2区分、無機イオン状カルシウム部に判然とした4ケのピークが認められるが、旧組織では無機イオン状カルシウム部を全く欠いていることである。(Fig. 3-11) さらに高分子部、有機酸カルシウム部についても明らかな差異が認められた。すなわち、旧組織では高分子部とともに、有機酸カルシウム1区分の濃度が高いのに反し、新組織では有機酸カルシウム1区分、同2区分の濃度もまた高い点である。とくに新組織における有機酸カルシウム1区分の高濃度が注目される。

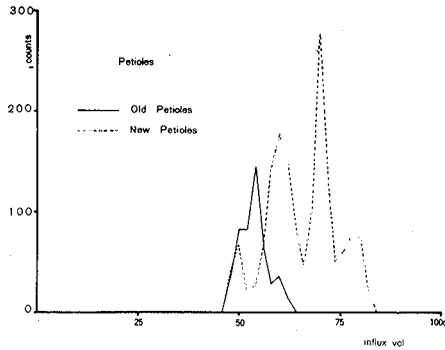


Fig. 3-11-1 旧葉柄部の水可溶性区分の Sephadex 分離図

Fig. 3-11-2 新葉柄部の水可溶性区分の Sephadex 分離図

新組織における無機イオン状カルシウムの出現は、当該部位における葉部に対するカルシウムの活発なとりこみと関係しているものと思われる。また有機酸カルシウム2区分に対しては、当該有機酸カルシウム区分が新葉部においても多量認められることから、当該葉部における有機酸代謝と密接な関係にあるものと推測される。新組織において、有機酸カルシウム1区分もまた高濃度に認められた点については、なお今後の研究によって明らかにしていかなければならないが、葉柄部における通導器官としての特性を示したのではないかとと思われる。

b) 樹皮部

当該部にみられる特性の一つは、旧組織 (OB)、新組織 (NB) ともに無機イオン状カルシウムを欠いていることである。(Fig. 3-12) これは、樹皮部内におけるカルシウムが、易動性の形態では存在しないことを明らかにするものであり、T.G. Mason などが発表している実験例(58)(59) 韌皮部内ではカルシウムは難動性の形で存在することを推定した——に一致するものである。

有機酸カルシウム2区分は、新組織で高濃度を示しており、葉部、葉柄部との関連性が考えられる。有機酸カルシウム1区分は、新・旧両組織ともに高濃度を示したが、これは樹皮部における器官的な特性を示したのではないかと推定できる。この点に関しては樹皮部における有機酸代謝との関係から検討してみる必要がある。

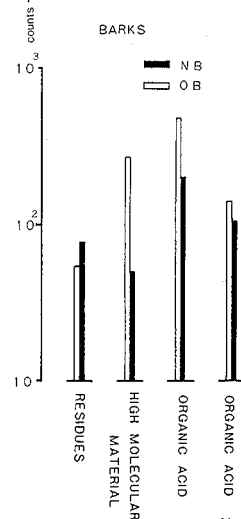


Fig. 3-12 樹皮部における水可溶性区分の形態別カルシウムの濃度

高分子部における濃度、含有率が共に旧組織で高いことは、葉柄部の場合と同様に当該部が組織 Aging と関連した物質であるためと考えられよう。

IV. 1N NaCl可溶性カルシウムの形態別分布

実験結果は、第3-4表に括めて掲載したが、葉柄部、樹皮部ともに蛋白質カルシウムと推定される80%アルコール不溶部は、葉部に比して高含有率を占めた。組織の新旧別の分布は、葉柄部については一括して分析しているために不明であるが、樹皮部では新組織で高含有率を占めた。これは当該部が組織の Aging と関連していることを示したものと考えられる。

第3-4表 1N NaCl 可溶性区分の形態別カルシウムの含有率

	80%Et OH _{ins}	80%Et OH _{sol}
Petioles	21.4 %	78.6 %
Old Barks	15.1	84.9
New Barks	27.0	73.0

第三節 摘 要

樹体内におけるカルシウムの分布を、全カルシウム、Fraction 別カルシウム、水可溶性カルシウムおよび1N NaCl 可溶性カルシウムについて調べた結果、以下のことが明らかにされた。

(1) 葉 部

1. 葉部に吸収された⁴⁵Ca は、上葉部に最大量集積され、葉部位置別のカルシウムの分布に平行した濃度分布は認められなかった。この最大集積葉位は、生育期によっては傾向的に移動することから、当該葉部中には活動中心葉が含まれるものと考えられる。
2. 各Fraction の濃度分布が、全カルシウムの場合と同様な傾向を示したことから、およびこれの最大集積葉位でF-Ⅲ、F-Ⅳへのとりこみが激しいことから、当該葉位では活発なカルシウムの代謝活動が営まれているものと考えられる。
3. F-Ⅰは、他のFraction と異なって下方葉部に移るにしたがって、その含有量が増加した。形態別にはこの増加傾向は残渣部、高分子部、有機酸カルシウム1区分、無機イオン状カルシウムの動向と関係がある。
4. 有機酸カルシウム2区分は、最大集積葉位で高含有率を占めることが明らかにされた。
5. 一般に樹木葉部には、草本植物に比してF-Ⅱが高含有率を占めることが明らかにされた。
6. 1N NaCl 可溶性区分では、炭酸カルシウムと推定される無機イオン状カルシウムが大部分を占めることが明らかになった。蛋白質結合形カルシウムと推定される物質は、上方葉部に移るにしたがって高濃度になることが明らかにされた。しかし、その含有率は著しく低いために、ほとんどのカルシウムが炭酸塩の形で存在しているものと考えられる。

(2) 葉 柄 部

1. 全カルシウムは、樹皮部とともに葉部と同様な分布を示した。この結果から樹体内にとりこまれたカルシウムは、最大量集積された葉部に対応した部分に集積することが明らかになった。
2. F-Ⅰは、全カルシウムと同様な分布を示しており、また上方部位では有機酸カルシウム2区分、全1区分が下方部位では有機酸カルシウム1区分が高濃度を示した。

(3) 樹 皮 部

1. F-Ⅰは、上方部位に移るにつれて漸増した。形態別には、無機イオン状カルシウムを

全く欠いていることが特色としてあげられる。

2. 有機酸カルシウム 1. 2 区分については、葉部のように組織の新旧別の差は判然と認められなかった。これは樹皮部が通導組織として考えられるとともに貯蔵組織としての性格をも有しているためではないかと考えられる。
3. F-Ⅲは、葉部と同様に上方部に移るにつれて多量認められた。したがって樹皮部でも新組織で当該Fraction へのとりこみが活発におこなわれるものと考えられる。
4. F-Ⅳは、葉部とは異なって下方部で多量認められた。これは、当該樹皮部が貯蔵器官、永久組織としての特性を有しているためと考えられる。

第四章 樹体内にとりこまれたカルシウムの動き

前章においてカルシウムは、難動性の元素であるといわれているにもかかわらず、施与されたカルシウムは metabolic activity の高い部位に集積する性質があることが観察された。このような現象は、従来から考えられているカルシウムの生理作用に対して一つの新局面を展開したものといえよう。すなわち、前章で詳述した結果は、従来から考えられてきた植物の生理作用に対する間接的な役割とともに、より直接的なはたらきをもつことが考えられるからである。そしてこの場合にとくにとりあげられるのは、生理的に活性度の高い結合形カルシウムを含むと思われる水可溶性区分であり、当該区分中の有機酸カルシウムの動向であろう。

本章においては、植物の生育にともなってカルシウムがどのような生理作用を営むかを明らかにする意図をもって、とくに水可溶性区分の動向に焦点を合わせつゝ、植物体内にとりこまれたカルシウムの時間的経過にともなう変容を吟味しようとした。

第一節 葉部におけるカルシウムの動き

I. 全カルシウムの動き

Fig. 4-1-1 は、挿付後1ヶ月を経たポプラ挿木苗の $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後の C. P. m. / Fr. wt の動きを1ヶ月にわたって追跡した結果であり、Fig. 4-1-2 は生育中期から後期にかけての動きを見る目的で、挿付後2ヶ月を経た場合の変化を3ヶ月にわたって追跡したものである。

これらの図から、 ^{45}Ca は施与直後に急速に葉部中にとりこまれ、以後漸増して長期間経過した段階ではほとんど変化が認められないことがわかる。換言すれば、これらの結果は ^{45}Ca の一部は施与直後に急速に葉部内にとりこまれるが、大部分はゆるやかな速度でとりこまれていくことを示すものと考えられる。

施与直後のとりこみの仕方を葉位別にみると、Fig. 4-1-1、Fig. 4-1-2 から明らかなように、第一に注目されることは、中葉部に多量にとりこまれることである。これは、前章のカルシウムの分布において述べたように、当該部でカルシウムのとりこみが急速におこなわれたことを示すものであろう。すなわち小西ら⁵⁰⁾の指摘した最大集積葉が当該葉部中に含まれることを示すものと考えられる。第二に注目される点は、上方葉部においても、下方葉部においてもカルシウムが高濃度を示すことである。これはカルシウム

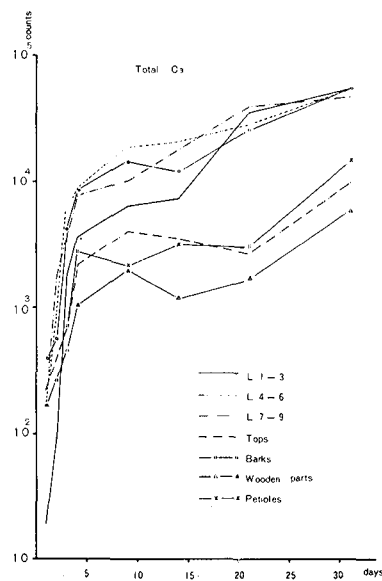


Fig. 4-1-1 生育初期における $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後の動き。

が樹体内では移動しにくい元素であるといわれているにもかかわらず、施与後の短時日の間には、施与されたカルシウムの一部が、所謂最大集積葉をこえた葉部にまでもとりこまれる事情を明らかにしたものと見えよう。この施与されたカルシウムが短時日で上方部にまで移動する点については、O. Biddulph 10)も大豆の実験例で認めており、著者もまたポプラについての時間単位での観測で認めているが、94)このような実験例は施与されたカルシウムの一部が急速に植物体内を移動することを明らかにしたものと見えよう。

施与後の時間的経過にしたがって、その含有率は下方葉部では変化に乏しいが、中葉部では10日目から減少の傾向を示し、上方葉部では増加の傾向を示した。(Fig. 4-2)すなわち葉部位置別のカルシウムの分布が、上方葉部<中葉部>下方葉部から、上方葉部>中葉部>下方葉部に変ることである。このようにカルシウムの分布上の最大集積位置が移動したことは、生育が進むにつれて小西ら50)のいう最大集積葉位が上方に頂向的に移動することを示すものと考えられる。

II. Fraction 別カルシウムの動き

時間的経過にともなうカルシウムの各Fractionへのとりこみの仕

方については、既に小西ら51)によるタバコを供試材料にした場合の報告がある。すなわち、⁴⁵Ca 施与直後にはF-I、F-IIへのとりこみが盛んにおこなわれ、Agingの進行した葉部程、このとりこみの程度の著しいことをあげ、さらに時間的経過にしたがってF-I、F-IIは漸減の傾向をみせ、F-III、F-IVへゆるやかな速度でTurn over していくことを認めている。そしてこのF-III、F-IVへのTurn over は最大集積葉を中心にして盛んであり、Agingの進行した葉部では少ないことを報告している。

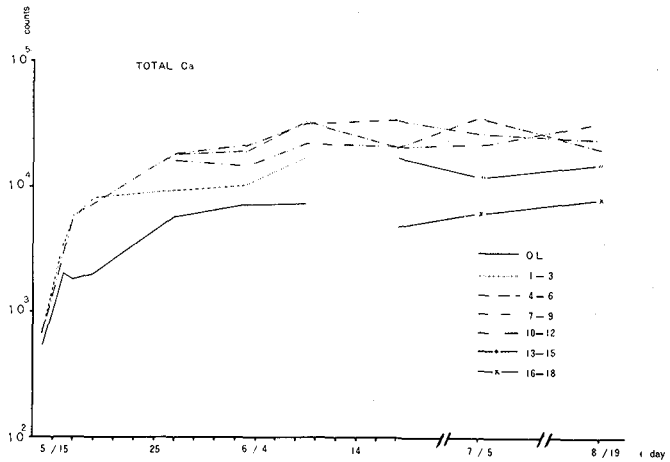


Fig. 4-1-2 生育初期に施与された⁴⁵CaCl₂の長期間にわたる動き。

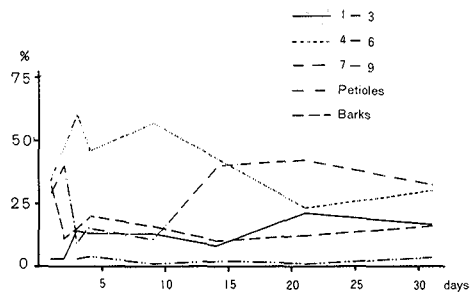


Fig. 4-2 生育初期における部位別含有率の変化。

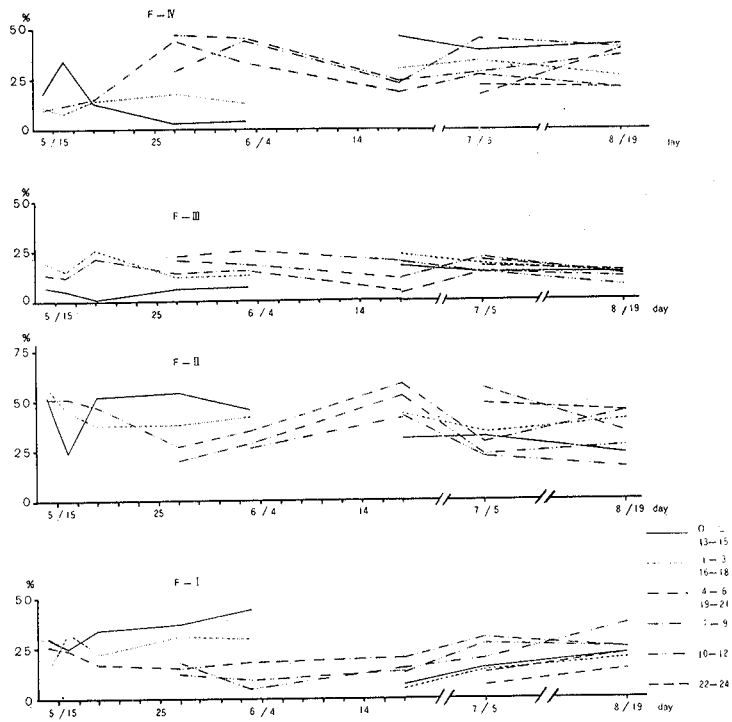
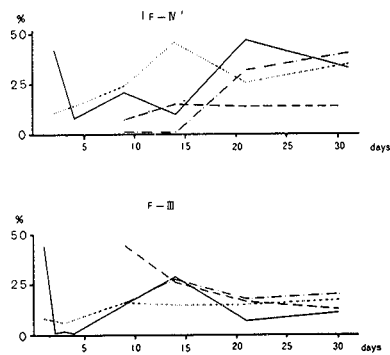


Fig. 4-3 生育初期に施与された⁴⁵Caの長期間にわたる葉位別Fraction別含有率の変化。

本研究においては、生育中期～後期の長期観測例 (Fig. 4-3) ではF-I、F-II、F-IVでは小西らと同様な結果を得たが、F-IIIにおいては、各葉位ともに含有率が20%±5を示し、当該Fractionの占める割合はほとんど変らなかった。

生育初期の場合においては、⁴⁵Caの施与後のF-Iへのとりこみの仕方に小西ら(51)とは異なった結果を得た。すなわちF-Iが施与直後に高濃度を占める点では、小西らと一致しているが、葉位別にみた場合には、上方葉部において最高の含有率を示したことである。(Fig. 4-4) これは、小西らの認めた実験結果に反したものであるが、著者はつぎの諸点から、施与直後におけるF-Iへのとりこみが、生理機能の衰えたAging



の進行した葉部で旺盛におこなわれるとともに、一方において展開しつつある葉部においてもまた旺盛におこなわれるものであろうと推論した。すなわち、1. 長期観測の例で上方葉部のF-Iが漸増傾向を示していること。2. 小西ら51)の実験でも、施与後新しく展開した葉部においては、上方葉部に移るにつれて高濃度を示したこと。3. Fraction別の季節変化において展開葉時の4月でF-Iが高含有率を示したこと、などである。

これらの問題については、なお検討、吟味しなければならないが、Agingの進行した葉部におけるF-Iの形態別カルシウムと、展開時の葉部にあるF-Iの形態別カルシウムとではその組成上に相違が認められており、(前章22頁)F-Iへのとりこみそのものも、葉部の生理機能と対比して検討される必要があるように思われる。

Ⅲ. 水可溶性区分における形態別カルシウムの動き

前項における結果から、施与されたカルシウムの一部は、急速に樹体内を移動して上葉部に達するが、大部分は中葉部に集中的にとりこまれることが明らかになった。Fraction別にみた場合には、とくにF-Iの動きに特色が認められた。すなわち下方葉部でF-Iへのとりこみ量の多かったことは、小西ら50)の実験に一致するものであるが、本実験においては、展開葉位でもまたF-Iへのとりこみ量が多かったことである。

前章で明らかにしたように、F-Iの形態別カルシウムの組成をみると、下方葉位と上方葉位とでは差異があるために、単にとりこみ量の多少だけでカルシウムの生理作用を論ずるわけにはいかないのである。

本項では、水可溶性区分の形態別カルシウムの動きを究明するにあたって、問題点を上述の点にしぼることにした。とくにカルシウムの移動の問題について、その究明の手がかりとして水可溶性区分の動向を選んだことは、当該Fraction中には生理的活性度の高いカルシウム塩が含まれることが推定されており、(65)95)96)97) これらが葉部中におけるカルシウムの移動に対しても大きな役割を演じていることが考えられるからである。

(1) 有機酸カルシウム区分の動き

Fig. 4-5-1、Fig. 4-5-2、Fig. 4-5-3、Fig. 4-5-4、Fig. 4-5-5は、前章 頁の実験における $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後の形態別カルシウムの動きを、3日目、15日目、30日目の3回に分けて調べたものである。

Fig. 4-5-1 から有機酸カルシウム1区分の濃度の経時的な動きをみると、L-8以上の葉部では、15日目に急激に増加したが、L-7~L-4では増加傾向は少なく、L-3

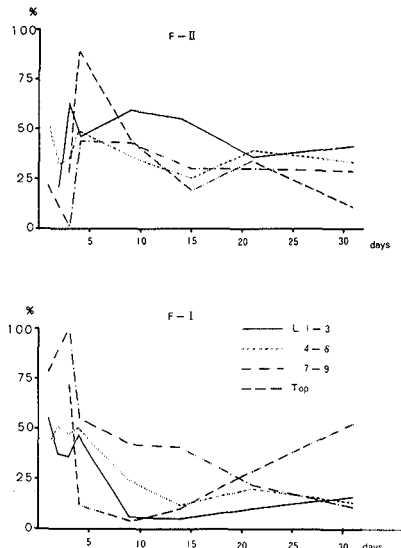


Fig. 4-4 生育初期における葉位別Fraction別含有率の変化。

以下の下方葉部では減少した。

有機酸カルシウム2区分 (Fig. 4-5-2) は、有機酸カルシウム1区分と同様にL-8以上の葉部では、15日目急激に増加し、L-3以下の下方葉部では減少した。しかしL-7~L-4では明らかな増加傾向は認められなかった。

これらの結果から、有機酸カルシウム1区分、および2区分はともに新陳代謝活動の盛んな上方葉部において、活発な代謝活動を営んでいることが予想できる。

有機酸カルシウムの両区分における時間的な経過にともなう葉位別の消長の差異については、本実験から明らかにされなかった。しかしその含有率をみると (Fig. 4-6)、1区分では葉位別に判然とした分布を示さなかったが、2区分では明らかに上方葉部で高含有率を示した。また第五章、第六章で明らかにされるように、生育最盛期のポプラでは、有機酸カルシウム2区分は新葉部にのみ認められ、1区分は、新葉部ではその濃度、含有率ともに低かった。これらの結果から、有機酸カルシウム1区分、2区分へのとりこみは、葉部のAgingの相違、すなわちその生理機能の差異によって異なるものと推定される。

(2) 無機イオン状カルシウム

無機イオン状カルシウムの経時的な動向については、Fig. 4-5-3 の30日目において、当該カルシウムの認められる葉部が多くなること、

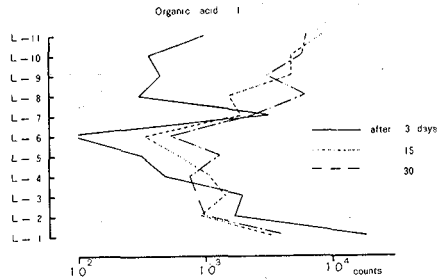


Fig. 4-5-1 水可溶性区分中の有機酸カルシウム1区分の葉位別濃度変化。

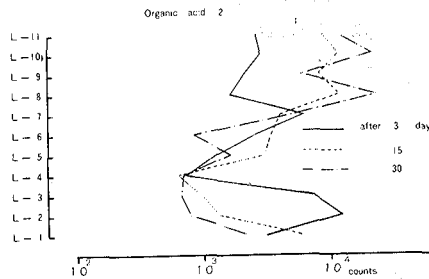


Fig. 4-5-2 水可溶性区分中の有機酸カルシウム2区分の葉位別濃度変化。

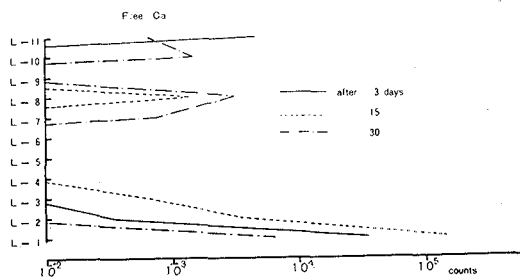


Fig. 4-5-3 水可溶性区分中の無機イオン状カルシウムの葉位別濃度変化。

生育中期から後期にかけておこなった実験結果(第4-1表)、および枯葉部における実験結果(第4-2表)から葉部中の無機イオン状カルシウムは、経時的に増加の傾向にあるものと推定できる。

(3) 残渣部、高分子部のカルシウムの動き

① 残渣部

Fig. 4-5-4からも明らかなように、当該部は、上方葉部で時間的な経過にしたがって減少の傾向をみせた。この傾向はFig. 4-6の含有率の変化でも明らかにされた。とくに含有率で注目されたことは、L-7を境として上方部で激減しており、2~5%以内の微量程度しか含まれないという点である。

② 高分子部

当該部の濃度および含有率の経時的な動きについては、明らかな定方向の増減傾向は認められなかった。(Fig. 4-5-5、Fig. 4-6)

第4-1表 生育後期における形態別カルシウムの動き。

Parts	Days	cpm/Fr. wt			
		High Molecular Materials	Organic acid 1	Organic acid 2	Free Ca
OL-1	7	7.7	268.5	63.3	29.3
	14		224.0		
	21		157.5		7.2
OL-2	7	2.6	130.6	5.95	2.22
	14		139.2		3.9
	21		125.8		7.8
NL-1	7	2.5	37.6	5.18	1.18
	14		57.3		
	21		33.5	1.14	4.6
NL-2	7	2.8	44.2	7.18	5.6
	14		50.8	1.64	5.7
	21		37.4	2.04	

第4-2表 生葉、枯葉部における形態別カルシウム

Leaves	Residues	High Molecular Materials	Organic Acid 1	Organic Acid 2	Free Ca
Lived Leav.	0.9%	3.8%	57.6%	18.5%	19.2%
Dead Leav.	1.2	4.7	9.3	7.1	77.7

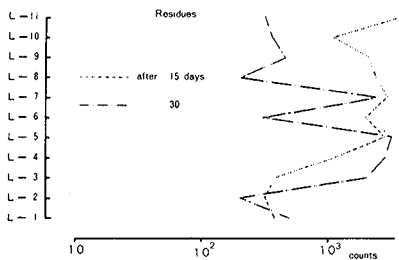
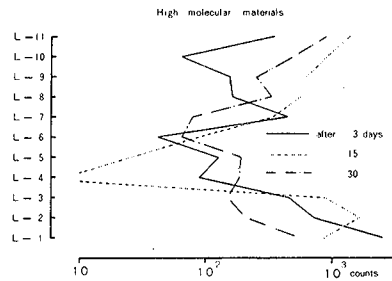


Fig. 4-5-4 水可溶性区分の残渣部の葉位別濃度変化。
水可溶



Eig. 4-5-5 水可溶性区分の高分子部カルシウムの葉位別濃度の変化。

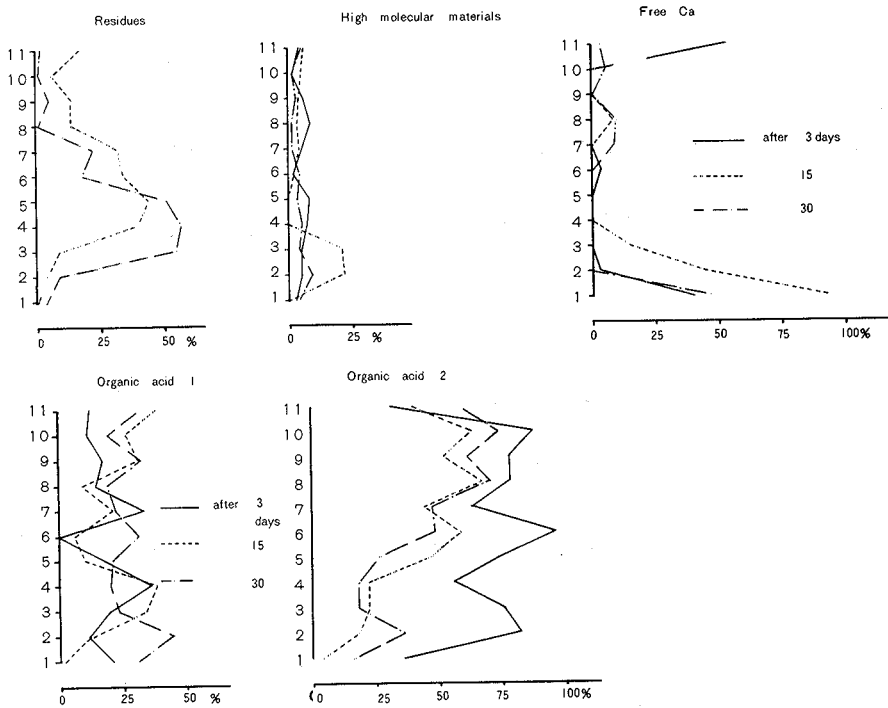
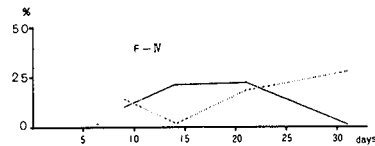


Fig. 4-6 水溶性区分の形態別カルシウムの葉位別含有率の変化。

第二節 葉柄部におけるカルシウムの動き

I. 全カルシウムおよびFraction 別カルシウムの動き

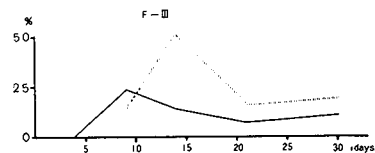
Fig. 4-1-1から明らかなように、葉柄部へのカルシウムのとりこみは、葉部の場合と同様な経過によっておこなわれることがわかる。しかし各Fraction へのとりこみは、葉部に比して若干日数おくれて、おこるようである。(Fig. 4-7) この場合とくに注目されることは、時間の経過にしたがってF-IIが増加し、31日目では70%の高含有率を示し、全カルシウムの主要部を当該Fraction で占めたことである。



II. 水溶性区分の形態別カルシウムの動き

a) 有機酸カルシウム区分および無機イオン状カルシウム区分の動き

有機酸カルシウム1区分の濃度は、15日目に急激に増加後漸増 (Fig. 4-8-1)、含有率は3日目では有機酸カルシウム1区分と高分子部のみが検出されたため高含有率を占めたが、以後15日目に15%、30日目



に24%となった。(Fig. 4-8-2) 有機酸カルシウム2区分の濃度は、15日目に急激に高くなったが、30日目には低下した。含有率もまた15日目：75%、30日目：64%と漸減した。これらの結果から、経時的には有機酸カルシウム2区分の減少、有機酸カルシウム1区分の増加傾向が推定できる。しかし、一括定量しているために葉柄部の位置別に、これらの有機酸カルシウムがどのように変化しているかは分らないが、葉部における分布、第五章、第六章の結果などから、ほゞ葉部と同様な傾向を示すものと思われる。すなわち経時的には、有機酸カルシウム2区分から1区分へturn over することが推定できる。

無機イオン状カルシウムは、30日目に5%認められる程度であり、第五章の結果および

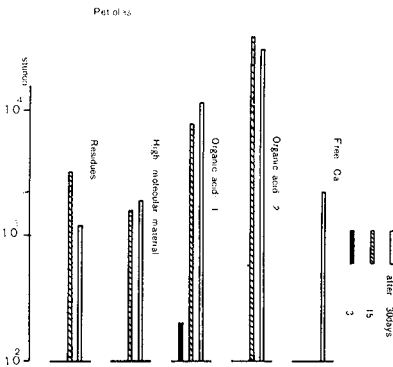


Fig. 4-8-1 葉柄部における水可溶性区分の形態別カルシウムの濃度変化。

別におこなった経時的な動きを追跡した実験(第4-3表)でも、ほとんど認められなかったことから、葉柄部においては無機イオン状カルシウムは、ほとんど存在しないものと思われる。

b) 残渣部および高分子部におけるカルシウムの動き。

残渣部の濃度は、時間的経過にしたがって減少し、含有率もまた漸減する。(Fig. 4-8-1, 4-8-2) とくに注目されることは、施与後30日目で3%となり、きわめて低含有率を示したことである。

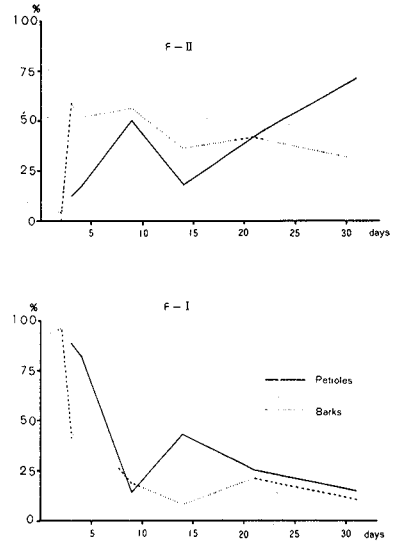


Fig. 4-7 葉柄部、樹皮部における各Fractionの含有率の変化。

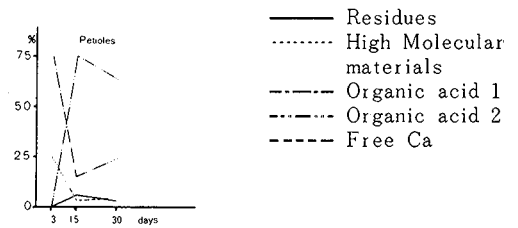


Fig. 4-8-2 葉柄部における水可溶性区分の形態別カルシウムの含有率の変化。

第4-3表 葉柄部および樹皮部における形態別カルシウムの時間的経過にともなう動き。

Parts	Days	cpm/Fr.wt			
		High Molecular Materials	Organic Acid 1	Organic Acid 2	Free Ca
Petioles	7	2965	3443	3529	
	14	587	2716	3187	2028
	21	457	4301	1938	89
	60	291	2365	404	
Old Barks	7	2152	8439	20314	65435
	14				
	21	451	1541	295	77
New Barks	60	360	266		
	7	388	1350	2219	3144
	14	829	1759	10729	28094
	21	135	1279	582	
	60	82	328		

高分子部の濃度は、時間的経過にしたがって増加するが、含有率は15日目に急激に減少後平衡に達した。

第三節 樹皮部におけるカルシウムの動き

I. 全カルシウム、およびFraction 別カルシウムの動き

Fig. 4-1-1から明らかなように、全カルシウムは葉部の場合と同じような動きを示したが、⁴⁵Ca 施与後の時間的経過にともなう名Fraction へのとりこみの仕方は、葉部、葉柄部に比して異なる。すなわちFig. 4-7からも明らかなように、F-I、F-II、F-IIIの減少傾向、とくにF-Iが急激に減少を示すこと、これに対してF-IVが急激な増加傾向にあることが注目される。このような傾向のみられることは、前章で述べたような樹皮部における器官としての特性が現われたのではないかと考えられる。またF-Iにおける急激な減少傾向は、T. G. Mason, E. J. Masrell 58) のいうごとく、カルシウムが樹皮部内では、難動性の形で存在することの測面を明らかにしたものと見えよう。

II. 水可溶性区分における形態別カルシウムの動き

有機酸カルシウム区分の濃度は、下方部、上方部ともに時間的経過にしたがって増加する傾向がみられた。(Fig. 4-9-1, Fig. 4-9-2) 含有率は有機酸カルシウム1区分では下方部：漸減、上方部：急減、2区分では下方部：増加、上方部：漸増の傾向を示した。(Fig. 4-10-1, Fig. 4-10-2) これらの結果から樹皮部では、組織の新旧の区別なしに有

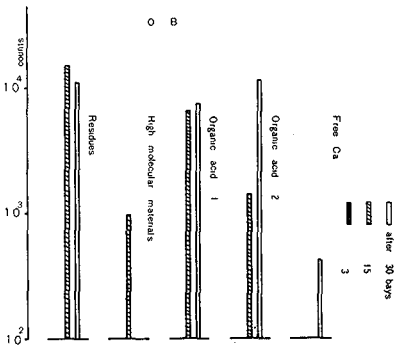


Fig. 4-9-1 樹皮部(旧組織)における水可溶性区分の形態別カルシウムの濃度変化。

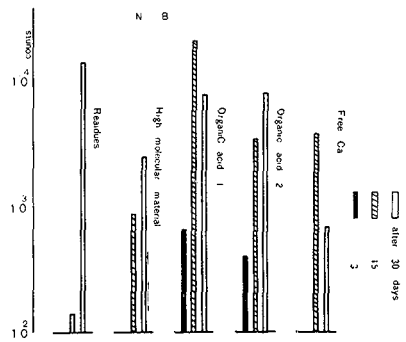


Fig. 4-9-2 樹皮部(新組織)における水可溶性区分の形態別カルシウムの濃度変化。

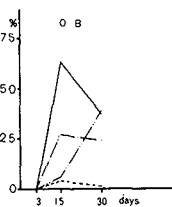


Fig. 4-10-1 樹皮部(旧組織)における水可溶性区分の形態別カルシウムの含有率の変化。

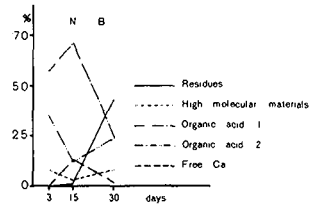


Fig. 4-10-2 樹皮部(新組織)における水可溶性区分の形態別カルシウムの含有率の変化。

機酸の両区分で、とりこみがおこなわれることが明らかになった。これは、葉部の場合と異なっている。しかし長期にわたる実験では、第4-3表のように有機酸カルシウム1区分では漸減するのに反して、2区分では急激な減少傾向を示すことから、樹皮部においても、有機酸カルシウム1区分は旧組織において、2区分は新組織において、それぞれ代謝活動に参加しているものと予想できる。

無機イオン状カルシウムは、下方部で30日目に検出されるにすぎなかった。上方部では、15日目に多量に認められ、30日目では減少した。下方部にみられるような実験結果については、なお検討してみなければならないが、第4-3表では旧組織(OB)で施与後7日目に大量の無機イオン状カルシウムを認めており、新組織(NB)においては本実験と同様な結果を得た。これらの結果から樹皮部では、前述のように施与直後には無機イオン状カルシウムが相当量存在するものと考えられよう。

残渣部の下方部の濃度は、漸減の傾向にあるが、上方部では急激に増加した。含有率は下方部では63%から37%に急激に減少し、上方部では1%から43%に増加した。(Fig. 4-10-1, Fig. 4-10-2) これらの結果から、樹皮部では残渣部が水溶性区分の相当部分を占めることが明らかになった。下方部における漸減傾向は、前述のF-IV区分と同様に ^{45}Ca がとりこまれた後には、旧組織において以後のとりこみがおこなわれ難いことを示すものであろう。

高分子部の濃度は、下方部で急減し、上方部では増加傾向を示した。含有率は前者で減少、後者では凹型の変動を示した。これらの結果から、当該部は残渣部と同様に上方部で活発なとりこみのおこなわれることが推定できる。しかし含有率は両部位ともに10%以内にあり、経時的な動きも少ないことから、残渣部と同様に活発な代謝活動には参加していないものと予想される。

第四節 摘 要

樹体内におけるカルシウムのうごきを、全カルシウム、Fraction別および水溶性区分の形態別カルシウムの動きから検討した結果、つぎの諸点が明らかにされた。

I. 葉 部

1. 施与された ^{45}Ca の一部は、その直後に急速に葉部にとりこまれるが、全体としては緩慢な速度でとりこまれることが明らかになった。とりこまれたカルシウムは、活動中心葉に最大量集積され、また一部は施与直後に最上方葉部にまで達することから、樹体内では積極的に移動するカルシウムの存在することが明らかになった。
2. 各Fractionへのとりこみは、F-I→F-II→F-III→F-IVへと段階的におこなわれる。経時的にはF-I、F-IIは漸減の傾向を示し、F-IVは漸増した。しかしF-IIIは、ほとんど不変であった。
3. 展開葉を含めたmetabolic activityの高い葉部では、F-IVの占める割合が高く、F-Iとともに葉部の新陳代謝活動と密接な関係にある。
4. 水溶性区分の形態別カルシウムの動きから、最上方葉部では、施与直後に有機酸カルシウム2区分とともに、無機イオン状カルシウムも多量に見出されることから、当該葉部は上生長にとまなう生理活動の旺盛な部位であることが推定できる。

最下葉部では、施与直後および施与後暫时无機イオン状カルシウムが高含有率を占めることから、当該葉部へのカルシウムのとりこみはmetabolicにおこなわれないものと考えられる。

5. 水可溶性区分の形態別カルシウムは、経時的に無機イオン状カルシウム→有機酸カルシウム2区分→有機酸カルシウム1区分にとりこまれることが予想される。ただし metabolic activity の高い葉部では、無機イオン状カルシウムの存在は認められないために、葉部内にとりこまれたカルシウムは直ちに有機酸カルシウム区分に大部分とりこまれるものと考えられる。長期間経過した段階では、有機酸カルシウム1区分は無機イオン状カルシウムに変化することが推測された。
6. 有機酸カルシウム区分の消長経過から、有機酸カルシウム1区分は成熟葉部で、2区分は新葉部で活発な動きをみせることが明らかになった。

II. 葉柄部

1. 葉柄部へのカルシウムのとりこみは、葉部に比して若干日数おくれて起ることが明らかになった。Fraction 別には、F-Ⅱが経時的に増別することが明らかになった。

III. 樹皮部

1. 樹皮部では、F-Ⅳが多量認められ、F-Ⅰは少量認められるにすぎなかった。これは当該部が、葉部とは異なった通導組織、貯蔵組織としての機能を備えた器官であるためと考えられる。
2. 水可溶性区分の形態別カルシウムでは、施与直後に無機イオン状カルシウムが多量に認められた。これはカルシウムが樹皮部を介して葉部に移行することを示すものと考えられる。
3. 有機酸カルシウム1区分、2区分の分布は葉部のように、組織の新旧別に判然とした差異は認められなかった。経時的には、その消長経過からみて1区分は下方部(旧組織)で活発にとりこまれることが明らかになった。2区分は下方部、上方部ともに活発にとりこまれており、葉部とは異なることが明らかになった。

第五章 樹体内にとりこまれたカルシウムの一日の動き

第一節 既往の文献の解析

樹体内における無機養分の転流過程を推定すると、一般に昼間においては根系から吸収された無機養分は、急速に葉部中に移動し、一方葉部内においてはその新陳代謝活動が、きわめて活発なために、移動した無機養分は、一部は同化生成物質と結合して体内構成物質となり、一部は諸酵素の賦活剤的な作用にあづかって生命活動に参画する。夜間においては、昼間に生成されたこれらの結合塩類は、葉部内において吸作用に消費されて分解されるか、あるいは栄養物質として貯蔵組織へ移動することが推定できる。すなわち、葉部中における無機栄養元素の収支を、1日を周期として考えると、昼間には葉部への移行が主となり、夜間にはこれに反して葉部からの転流が主となるものと思われる。そしてこの変化の類型は、とくに植物生理上重要な位置を占める——換言すれば生命活動に活発に参加する——無機栄養元素において顕著に観察されることが予想できる。事実今までに報告された1日の動きに関する事例(71)は、この予想を実証しており、著者のおこなった林木を使った実験もまたカルシウムを除いて同様な結果を示した。(93)すなわち上述の無機栄養元素の1日を周期とした増減傾向は、一般植物界に見出される現象であろうと理解される。

カルシウムに関する1日の動きについて、今までに5つの研究例が発表されているが、そのうちの3例(1)25)72)は、燐、マグネシウム、カリとは異なった型の変化を示すことを明らかにしている。E. Ramann 72) はブナ、カシワ、プラタナス、トネリコ、カエデの葉部中のカルシウム含有量(対乾重量)を14時と、2時の2回について調べ、夜間にはその含有量が増大することを認めた。72)またK. Arens 1) は、これの追試をおこなって同様な結果を得た。しかし、E. Phillis 71)はワタを使った実験において、E. Ramann 72) K. Arens 71)とは反対の現象を観察している。すなわち、葉部ではカルシウムもまた、カル、燐と同様に夜間に減少する傾向にあるというのである。そしてこの夜間に減少する現象は、降露にともなって起る葉部からのカルシウムの溶脱によって起るものと断定した。しかし、E. Lausch 54) は植物の葉部中におけるカルシウムの再分布に関する一連の研究の中で、とくにカルシウムの1日の動きについてE. Phillis 71)と同様な結果を得たが、この場合葉部中におけるカルシウムの減少が22時ですでに認められるという実験結果から、この事実は、単に降露による溶脱によって起る現象ではなくして、葉部中におけるカルシウムの生理現象の一つであろうと推定した。

カルシウムについては、上述のように1日の動きについて相反した現象が観察されたことに関して、著者はつぎのような見解をもっている。すなわち、既に第三章、第四章で明らかにしたように、樹木中のカルシウムは、葉部のmetabolic activityの高い部位で活発な代謝活動をおこなっており、このためにAgingの異なった葉部では、それぞれの葉部の代謝活動との関連において、異なった形での動きのあることが予想できるのである。この場合に、metabolic activityの高い葉部においては、カルシウムもまた活発な生理活動にあづかっていることが予想されるために、カリ、燐、マグネシウムと同様に夜間に減少の傾向をみせるものと考えられる。agingの進行した葉部については、少なくとも若い葉部とは異なった型の動きのあることが予想され、K. Arens 1)、E. Ramann 72)の認めた夜間に集積する現象が起るのではないかと考えられる。すなわち当該部のmetabolic activityは、上方葉部に比較して低いために、昼間時には樹体内を上昇するカルシウムの大部分は、上方部の展開葉に移行され、夜間時になって、はじめて当該葉部へのカルシウムの移行が起るのではないかと推測できるのである。

以上のようにカルシウムの1日の変化を、過去の文献および前章までの実験結果から検討すると、組織の新旧別によっては窒素、燐、カリ、マグネシウムとは異なったタイプの動きのある

ことが推定できる。これは、カルシウムが、植物体内では難動性の元素であるといわれているにもかかわらず、生理的には活発な代謝活動を営む面のあることを予想させるものであろう。

そこで本章では、まず第一節で全カルシウムの動きを検討してから、第二節以下では組織の新旧別にFraction 別カルシウムの動向、および水可溶性カルシウム区分に含まれる形態別カルシウムの動向を調べて、植物体内におけるカルシウムの生理作用解明のいとぐちを得ようとした。

第二節 ヤチダモ稚樹葉部中の動き

第6-1表は、生育最盛期とみなされる8月2日～3日と、生育終止期とみなされる9月2日～3日におこったヤチダモ稚樹葉部中のカルシウムの日変化の実験例である。⁹³⁾これによると生育最盛期では、12時から16時にかけて減少し、18時以降の夜半には増加の傾向にあることがわかる。8月3日の4時に急減後、8時から10時にかけてふたたび含有率の増加が認められるが、これは光合成機能の回復、および蒸散量の増加にともなって、根系からのカルシウムの移動がおこっているためと考えられる。生育終止期の9月では、夜間の22時と2時に低含有率であったが、20時、24時には高含有率を示し、6時にはふたたび含有率の低下が認められた。

第6-1表 ヤチダモ稚樹葉部中のカルシウムの動き

	12	14	16	18	20	22
8/2-8/3	2.61mg ± 0.351	2.39 ± 0.641	2.35 ± 0.669	2.74 ± 0.329	2.63 ± 0.300	3.18 ± 0.465
9-2-9-3	2.70mg ± 0.168	2.58 ± 0.309	2.50 ± 0.073	2.76 ± 0.429	2.96 ± 0.243	2.26 ± 0.318

24	2	4	6	8	10
2.76 ± 0.535	3.11 ± 0.447	2.61 ± 0.406	2.77 0.454	2.77 ± 0.592	3.01 ± 0.370
2.94 ± 0.114	2.37 ± 0.342	2.60 ± 0.300	2.36 ± 0.278	3.06 ± 0.216	2.84 ± 0.276

mg / dry wt

したがって顕著なカルシウムの動きは起らなかったものと考えられる。このように規則的な動きが観察されなかったのは、その一因としてE. Phillis ⁷¹⁾が指摘したような降露による溶脱現象が起ったのではないかと考えられます。

第三節 形態別カルシウムの動き

前節の結果から、カルシウムは夜間に葉部に集積する場合と、減少する場合の相反した現象を認めた。

本節では、生理的に活性度の高い結合形カルシウムが、1日の周期によってどのような動きを示すかを明らかにする目的で、Fraction 別カルシウム、および水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの動きを追跡した。

I. Fraction 別カルシウムの動き

1. 実験方法

第四章で、 $^{45}\text{CaCl}_2$ をトレーサーとして樹体内に吸収された ^{45}Ca は、施与後の日数によって各Fraction へのとりこみの様子が著しく異なることが明らかにされた。したが

ってFraction 別カルシウムの1日の動きを究明する場合にも、当然 $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後の日数によって、異なった類型の変動を示すことが予想できる。たとえば、昼間時には蒸散流によって相当量の無機イオン状カルシウムが、木質部から樹皮部、葉柄部、葉部に移動することが予想され、58)59)当然F-I部の増加となって現われる筈である。したがって、この場合には1日の環境の変化にともなって現われる代謝活動の影響とともに、カルシウムの樹体内移動に基く影響も現われるものと考えられるからである。そこで本研究では、 $^{45}\text{CaCl}_2$ を1週間吸収させて後、根系部を水洗、さらに1週間育成したもの(実験1)、および、さらに2週間育成したもの(実験2)についての2回にわたって実験をおこなった。

2. 実験結果

Fig. 6-1-1は、 $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後2週間目(実験1)、Fig. 6-1-2は、施与後4週間目(実験2)の実験結果で、Fraction 別カルシウムのc. p. m/Fr. wtの動きを示したものである。

F-Iの動きをみるとFig. 6-1-1のL 8-10、Fig. 6-1-2のL 8-10~L 14-16および比放射能の動きを調べたFig. 6-2のL 8-10~L 14-16で夜間の24時に最低の値を示した。その他の葉位では、昼夜別の動きについて顕著な傾向が観察されなかったために、なお検討を要し即断はできないが、これらの結果は、上方葉部では、F-Iは夜間に減少する傾向にあるのではないかと推定できる。F-II、F-III、F-IVは、両実験を通じて顕著な昼夜別の動きは観察されなかった。

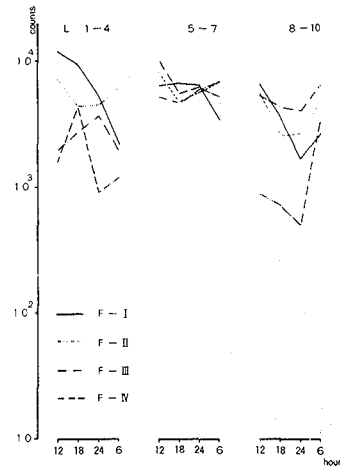


Fig. 6-1-1 $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後2週間目のFraction別カルシウムの動き。

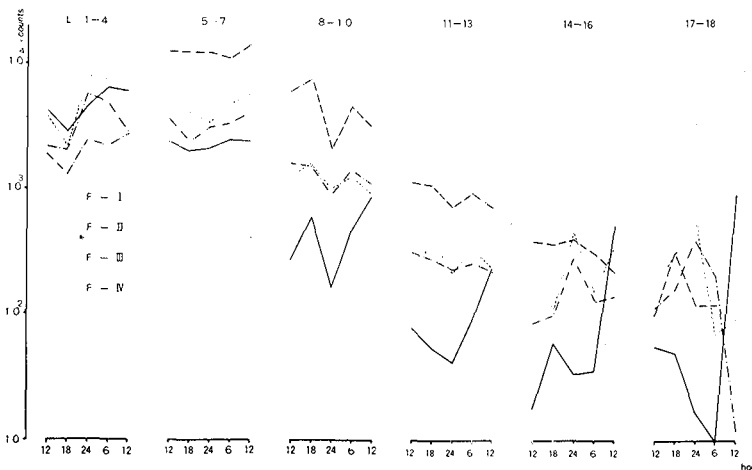


Fig. 6-1-2 $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後4週間目のFraction別カルシウムの動き。

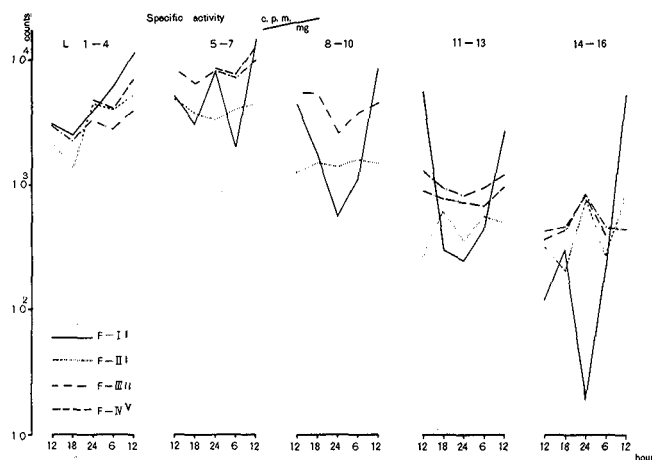


Fig. 6-2 Fig. 6-1-2の比放射能の動き。

II. 水可溶性区分の形態別カルシウムの動き

前項で、葉部のFraction 別カルシウムの1日の動きを、検討した結果主として上方部のF-Iで夜間に減少の傾向をもつことが認められた。そこで本項では、さらに当該区分を再分画することによって形態別カルシウムの動きを捉え、カルシウムの1日の動きにおいて支配的に作用する物質を究明しようとした。

実験材料には、改良ポプラの挿木苗を使用し、 $^{45}\text{CaCl}_2$ をトレーサーとしたが、試料の採取時間は、前項の場合とは異なって昼間時14時、夜間時24時の2回にわけておこなった。これは、前項におけるFraction 別カルシウムの結果を検討して、昼間時、夜間時の両極端時を抑えることによって、一般的な日変化の様態が明らかにされるものと考えたからである。実験は、 $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与後の日数による影響と、生育期——とくに生育初期——による影響を考慮してつぎのように計画した。すなわち挿付して発根後、初生葉を形成した段階で $^{45}\text{CaCl}_2$ を施与し、そのまゝの状態です3週間培養後、水洗して放射能の汚染を除いた段階で第1回の実験をおこない、ついで2週間後、および2ヶ月後の3回に分けておこなった。(第6-2表)

第6-2表 実験の日程

処 理	月 日
$^{45}\text{CaCl}_2$ 施与	1967 5月 2日
水 洗	5月 23日
第1回実験	5月 23日
第2回実験	6月 2日
第3回実験	8月 2日

この場合、第1回の実験は初期生長の旺盛な時期に当ることが推定できる。これは $^{45}\text{CaCl}_2$ 施与期が発根状態も未熟の時期にあっており、5月4日、および5月14日に採取した葉部の、水可溶性区分のSephadexによる分離では、各分離部にほとんど放射能を認めず、また樹勢も5月20日前後で急速に強くなることが観察されたことにもよる。第2回の実験では、着実にポプラの伸長が観察されており、前章における実験結果からも樹体内にとりこまれた

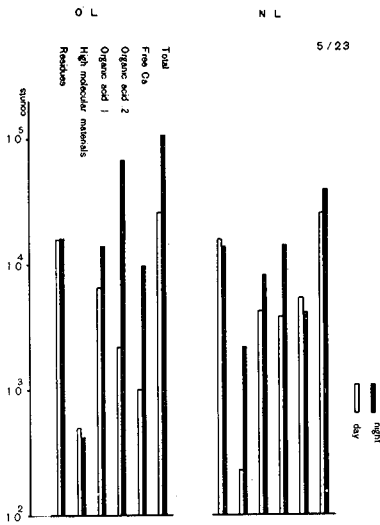


Fig. 6-3-1 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの昼夜別の動き(実験1.5月23日採取)

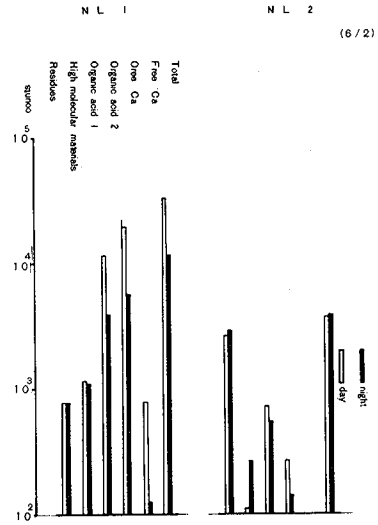


Fig. 6-3-2 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの昼夜別の動き(実験2.6月2日採取)

カルシウムは、一応樹体内のmetabolism に対応して、活発な代謝活動にあづかっているものと考えられる。第3回の実験では、主として老化した葉部、成熟葉部、および新生葉部における昼夜別の変動の特色を把握する目的でおこなったものである。

実験結果ならびに考察

Fig. 6-3-1、Fig. 6-3-2、Fig. 6-3-3は、水可溶性区分の形態別カルシウムのC. P. m/Fr. wt を図示したものであり、Fig. 6-4-1、Fig. 6-4-2、Fig. 6-4-3 は昼間時を基準にした増減状態を図示したものである。これらの図から、水可溶性区分の形態別カルシウムの動きは、ポプラの生育期によって異なっており、また葉部の位置によっても、各形態別カルシウムの間にも著しい差異のあることが明らかにされた。

生育初期における水可溶性区分全体の動きをみると、夜間に増加することが明らかにされ、その割合は完成葉部域 (OL) で著しく、新生葉部域 (NL) では漸増する傾向にあった。Fig. 6-3-1から夜間における増減状態をみると、残渣部は、OLでは不変であるが、NLで僅かに減少した。高分子部は、OLでは残渣部と同様に不変であるが、NLでは激増した。高分子部については、第二章で蛋白質に結合したカルシウムであることを推論しているので、当該部がNLで夜間に激増

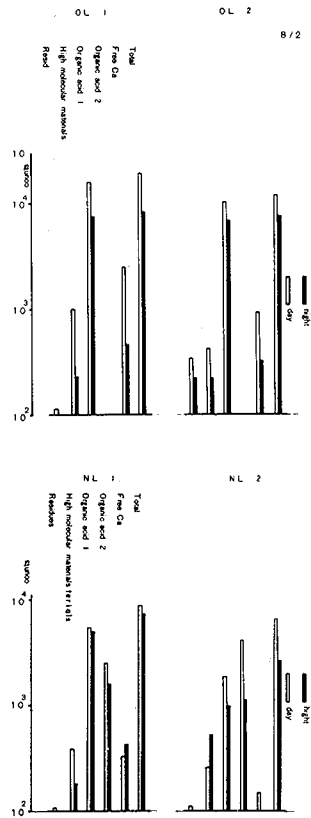
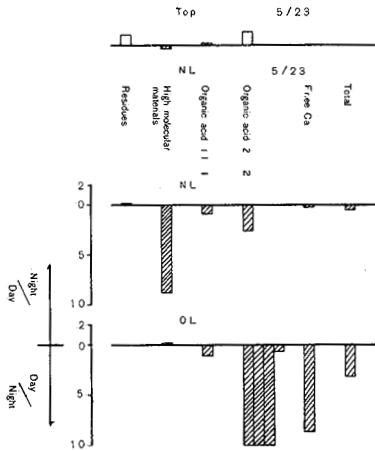


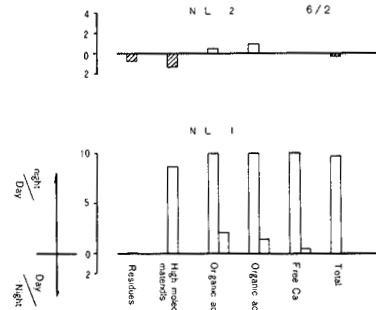
Fig. 6-3-3 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの昼夜別の動き(実験3.8月2日採取)

していることは、とくに新生葉部域における蛋白質の動きと関係があるのではないかと推定される。残渣部における変化が、葉部組織の新しい部位で起り、夜間に減少する点については、当該部が葉緑体中のカルシウムと推定されるために、葉緑体の生成と関係があるものと考えられる。

有機酸カルシウム区分は、いずれも夜間に増大するが、その割合はOL、NLともに有機酸カルシウム2区分で高く、1区分は、2区分に比して低かった。組織の新旧別では、OLでは



※ Fig. 6-4-1 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの昼夜別の変動傾向 (実験1. 5月23日採取)

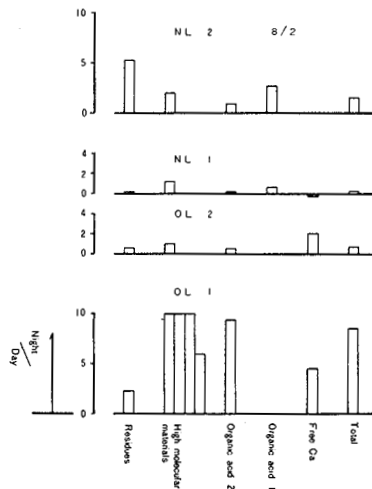


※ Fig. 6-4-2 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの昼夜別の変動傾向 (実験2. 6月2日採取)

2区分が激増し、NLではOLに比して増加割合は小さく、1区分は両部位ともにほぼ同程度の増加を示した。これらの結果から、有機酸カルシウム部は生育初期では2区分で変動が大きくなっており、当該区分で活発な代謝活動を営むことが推論できる。

無機イオン状カルシウムはOLで夜間に増大し、NLでは僅かに減少した。これは生育初期においては、OLでは夜間でも絶えまなくカルシウムが葉部内にとりこまれていることを示すものと考えられる。

実験2、実験3では、実験2のNL-2を除いて、いずれも水可溶性カルシウムは夜間に減少しており、本節IのFraction 別の上方葉位の動き



※ Fig. 6-4-3 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの昼夜別の変動傾向 (実験3. 8月2日採取)

※ Fig. 6は Night/Day、又は Day/Night の値を示したものである。

本図から、水可溶性区分に含まれる形態別カルシウムの昼夜別の動きが、生育期によって異なることがわかる。

の場合と同様な結果を得た。とくに注目されることは、実験1より10日間経過した実験2でも夜間に減少の傾向にあることが認められた点である。(Fig. 6-4-2) この点についてはつぎのように考えた。すなわち実験1では、有機酸カルシウム区分、および無機イオン状カルシウムの動向から、施与されたカルシウムは急速に葉部内に移行していることが予想され、この場合に現われる1日の動きはカルシウムのとりこみ過程におこる各Fractionへの活発なとりこみの影響が強く現われているものと思われる。これに反して実験2では、根系からの移行は一応考えられないために、本来の各葉部内における代謝活動が現われているものとみなされる。実験3に関しても同様なことが考えられるが、この点については、なお検討する必要がある。

残渣部については、実験3で夜間に減少の傾向を示したが、OL-2を除いてその量が僅少であるために、にわかに断定することは困難である。この場合に注目されることは、施与後の日数の経過によって残渣部が激減することである。当該部には、一応葉緑体中に含まれるカルシウムが存在するものと仮定したが(第二章7頁)、さらに結合形態を明らかにして検討して見る必要がある。高分子部については、実験3の各葉位で夜間に減少の傾向が認められた。

有機酸カルシウム区分については、その組成が両実験で異なっており注目される。実験3では、初生葉は枯死落葉したため、OL-1、OL-2は実験2のNL-1、NL-2に相当するが、当該部で有機酸カルシウム2区分を全く欠いていることである。これは、葉部のAgingの進行にともなって、当該カルシウム2区分が消失することを意味している。すなわち第三章、第四章で詳述したように、1区分は老熟した葉部で、2区分は若い葉部でそれぞれ活発な代謝活動を営むことがわかる。

昼夜別の動きで注目される点は、いずれの有機酸カルシウムも夜間に減少することであり、水可溶性区分における夜間の減少傾向が、有機酸カルシウムによって支配的な影響を受けることである。このような現象は、明らかに実験1に相反したものであるが、この両実験を通じての条件(根系よりのカルシウムの移動を遮断した)から考えて、カルシウム本来の葉部内代謝活動を示したものと推測される。

無機イオン状カルシウムについては、実験3のNL-1を除いていずれも夜間に減少した。この減少傾向の方向性については実験3のNL-2で疑点が残るが、下方葉部に移るにつれて減少傾向が著しくなるように思われる。1日の動きの場で、葉部内で果す無機イオン状カルシウムの生理的役割については、明らかなことはいえないが、昼間時に増加するという現象は、他部位からのカルシウムの移動性の問題点を内蔵しつつ、他面において活発な代謝活動——たとえば酵素に対する賦活剤的な作用——に参画していることを示すのではなからうか。この点に関しては尾崎¹⁰⁹⁾も指摘しているごとくなお検討すべき事項である。

第四節 摘 要

カルシウムの1日の動きを、全カルシウム、Fraction別カルシウム、ならびに水可溶性区分の形態別カルシウムの動きから検討した結果、つぎのようなことが明らかにされた。

1. ヤチダモ稚樹葉部中では、生育最盛期で夜間に集積する傾向にあることが観察された。
2. $^{45}\text{CaCl}_2$ をトレーサーとしてポプラ葉部中のFraction別カルシウムの動きを検討した結果、F-Iが上方葉部内で夜間に減少する傾向を示した。しかし、F-II、F-III、F-IVについては顕著な動きは認められなかった。
2. 水可溶性区分の形態別カルシウムの昼夜別の動きは、有機酸カルシウム区分で顕著に認められた。すなわち昼間には増加し、夜間には減少する傾向がみられた。また当該カルシウム区分が多いことから、昼間における水可溶性区分の増加は、有機酸カルシウム区分の増加と関係があるように思われる。
4. 無機イオン状カルシウムは、夜間に減少する傾向を示した。

第六章 環境要因の変化がカルシウムの代謝作用に及ぼす影響

前章で、カルシウムの1日の動きを検討した結果、樹体内カルシウムは、有機酸との結合塩の形で、活発な代謝活動に参加していることが明らかにされた。1日のうちの主要な環境要因の変化は、いうまでもなく光因子であるが、これとともに昼間時と夜間時における温度較差もまた見逃すことのできない因子と考えられる。すなわち、これらの因子は植物生理上の重要な規制因子と考えられ、光合成、呼吸、転流に直接影響するものであるために、(12)53)57)106) 前章における結果をさらに一般化するためには、両因子による影響の有無を調べる必要がある。

そこで本章においては、環境要因を光、および温度の2因子に限定して形態別カルシウム、とくに水可溶性区分の有機酸カルシウムの動きに焦点を合わせて検討することにした。

第一節 光線量を規制した場合のカルシウムの動き

I. カルシウムの吸収におよぼす光線量の影響

Fig. 7-1は、挿付後第6葉まで開葉したポプラ挿木苗について、12000Lux、200Luxにおける⁴⁵Caの吸収を1日目から9日目にかけて追跡したものであるが、この図から12000Lux区においては、各部位ともに急速なとりこみが認められるが、200Luxでは、各部位のとりこみ量が減退する傾向にあることが明らかにされた。この光線量と、カルシウムの吸収との関連性については、否定的な実験結果も報告されているために、(104) なお検討しなければならないが、本実験と同様な現象の起ることはA. H. Lange (53) も認めており、また第三章の結果からも考えて、施与されたカルシウムの一部は、光線の影響をうけて急激にとりこまれるものと推定できる。

一方とりこまれ、移行しつつあるカルシウムは、光線量の影響をうけて地上部においては、その代謝過程に変動の起ることが予想される。Fig. 7-2は、Fraction 別カルシウムの変動を示したものであるが、各Fractionは、頂端部を除いて12000Luxで活発に増加した。これに反して200Luxでは、各Fractionへのとりこみ量は停滞のみであった。この場合、水可溶性区分の再分画をおこなっていないので有機酸カルシウム区分の動向に関しては不明であるが、各Fractionの動きから推定して、本実験結果は樹体内にとりこまれるカルシウムが光線量の規制にともなって変化する葉部のmetabolismと密接な関係にあることを明らかにしたものとしよう。

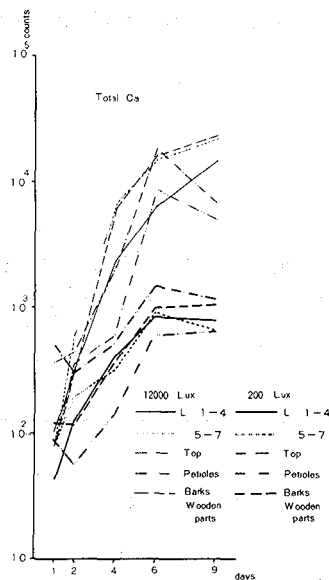


Fig. 7-1 照度を異にした場合のカルシウムのとりこみ量の変化

II. 光線量を規制した場合の樹体内にとりこまれたカルシウムの動き

1. 実験方法

実験材料には、ポプラ挿木苗を用い、Fraction 別のカルシウムについては、開葉後2.5ヶ月を経過したものについて、30°C制御温

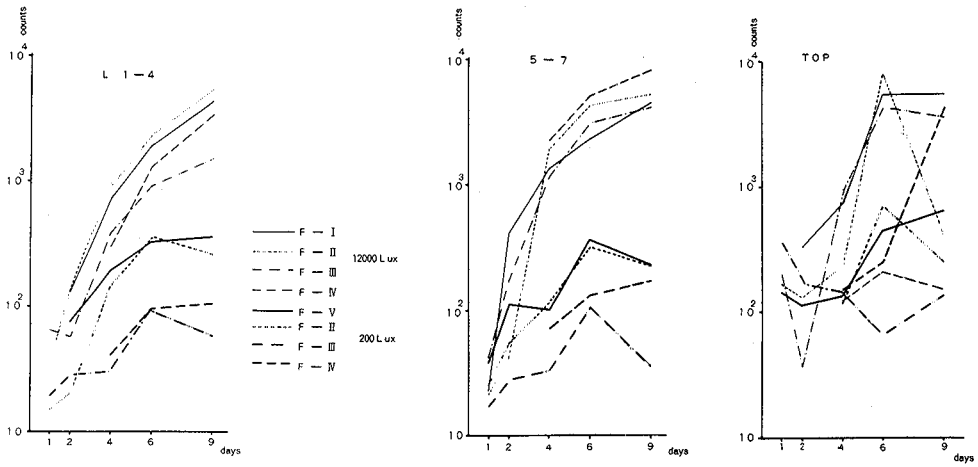


Fig. 7-2 照度を異にした場合の各Fraction別カルシウムの葉位別の動き。

室内で人工照明下（12000Lux）で実験をおこなった。水可溶性区分の形態別カルシウムについては、25°C温室内で人工照明下（12000Lux）で実験をおこなった。

2. Fraction別カルシウムの動き

Fig. 7-3は、葉部位置別のFraction別カルシウムの変化を图示したものであるが、この図から各Fractionは明暗処理によって複雑な動きを示し、経時的な系統的な動きは

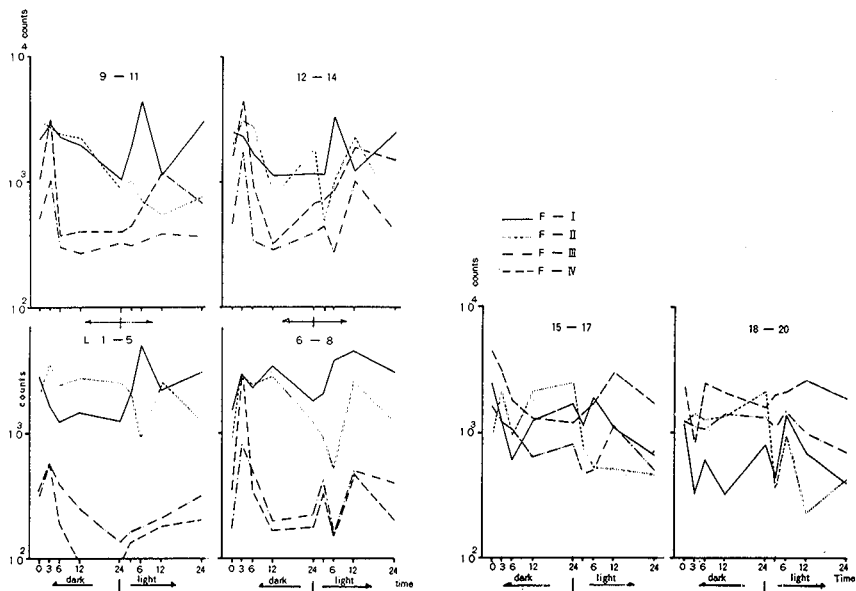


Fig. 7-3 生育中期における明暗処理にともなうFraction別カルシウムの動き。

明らかにされなかった。強いてあげれば、F-Iの動きが注目される。すなわち、経時的には複雑な動きを示すが、暗処理直後に急激な減退が起り、明処理直後に急激な増加が認められたことである。この傾向は、前章で明らかにした夜昼におけるF-Iの動きに一致するものであるが、これらの結果および次項の結果から、F-Iの動きが光線量と密接な関係をもつことが推測できる。

3. 水可溶性区分の形態別カルシウムの動き

Fig. 7-4は、葉部における形態別カルシウムの動きを示したものである。この実験は、

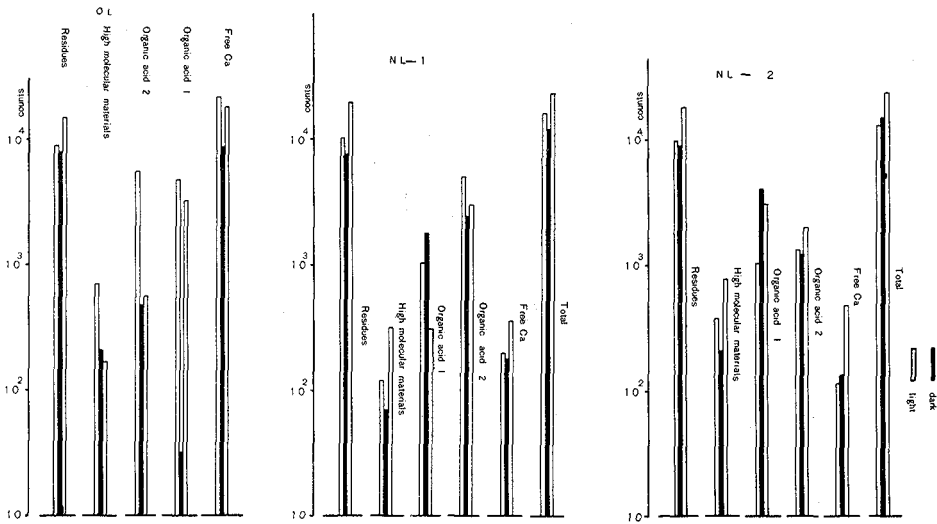


Fig. 7-4 明暗処理にともなう水可溶性区分中に含まれる形態別カルシウムの動き。

カルシウムの施与後の日数が余り経過しない内におこなわれたために（施与後1週間目）、残渣部の占める割合が高く、有機酸カルシウム区分の濃度は、前章の場合に比較して低かった。したがって本実験を、前章の1日の動きの場合に厳密に比較することは許されないが、Fig. 7-4 からつぎのようなことが明らかにされた。

1. 水可溶性カルシウムは、暗処理区で減少の傾向を示した。NL-2の上葉部では、段階的に増加したが、これは当該葉部へのカルシウムの移動が、不断におこなわれることを示したものと考えられる。
2. 残渣部、高分子部、有機酸カルシウム2区分、無機イオン状カルシウムは、いずれの葉部においても暗処理区で減少の傾向を示した。
3. 有機酸カルシウム1区分は、OLで段階的に減少し、NLでは暗処理区で増加の傾向を示した。

このうち、全水可溶性カルシウムの動きは、前項のFraction別の動き、および前章における昼夜間の動きから考えて、光線量の問題と関係のあることを明らかにしたものと見える。残渣部、高分子部、有機酸カルシウム2区分についても前章の昼夜別の動きに一致

していることから、当該部が光線量との関係のもとで活発な代謝活動にあづかっていることが推定できる。この場合に注目されることは、残渣部と、高分子部が2回目の明処理でより高濃度になることである。これは、カルシウム施与後の日数経過の新らしい段階でおこなわれたことを意味しているものと推測され、このような結果は第四章で述べたような当該区分へのとりこみが、光線量との関係で鋭敏な反応を起しつゝ、着実に起ることを明らかにしたものと考えられることができる。

有機酸カルシウム1区分については、前章の場合に一致しなかった。すなわち、OLでは段階的に減少しており、NLでは前章の昼夜別の動きとは反対の傾向を示して、暗処理で増加した。このように昼夜別の動きに一致しなかった点については、つぎのように考える。その一点は残渣部、高分子部における含有率が高いことから、有機酸カルシウム1区分におけるカルシウムが、まだ十分な生理活動に参加していないことが推測され、いま一つの理由は、本実験が昼夜別の動きの場におけるcycle——12時間cycle——から離れて24時間cycleの明暗処理でおこなわれた点である。すなわち、暗処理区では葉部組織が栄養的に一時的な飢餓状態に陥ることが考えられるために、2回目の明処理では光合成作用による栄養物質の生成と同時に、葉部の生理的障害に対する回復作用が働いているのではないかとも考えられるからである。このような視点に立って考えた場合には、有機酸カルシウム2区分に対しても同様なことがいえる。

第二節 温度を規制した場合のカルシウムの動き

I. カルシウムの吸収におよぼす温度の影響

イオンの吸収と、温度との関係について、今までに調べられた例では、anionとcationとで異なった吸収経過を辿ることが報告されている。すなわち、anionの吸収は、温度の上昇とともに増大するが、cationでは僅かに増大するに過ぎないといわれる。106) トマトについてカルシウムと燐の動きを調べた結果もまたこれを裏付けしており、カルシウムは70°~75°Fで最高の吸収を示し、80°~85°Fでは逆に低下したのに反して、燐では80°~85°Fまで加速度的に吸収されることを明らかにした。57) 著者がおこなった30°Cと10°Cとにおける実験例もまた同様な結果を示し、ポプラ挿木苗中の木質部においては10°Cの方がより速やかにカルシウムがとりこまれることを明らかにした。95)

根系から吸収された無機イオンは、葉部における活発な新陳代謝活動によって新しい生化学的な反応に参画し、数々の生理的重要度の高い結合形態に変ることによって、始めて正常な生活活動系に組み入れられることになる。この意味に解すれば、単に根系からの吸収移動のみの追跡では、当該栄養元素の生理作用を十分に究明することにはならないであろう。

Fig. 7-5は、30°Cと10°CにおけるFraction別カルシウムの動きを調べたものであるが、30°Cの葉部では各Fractionは持続的に増加した。10°Cにおいては、F-I、F-IIは第2日目に検出され、このうちF-IIは持続的に増加したが、F-Iは7日目まで急増して以後増加現象は減退した。

第四章で明らかにしたようにF-I中の無機イオン状カルシウムの動きは、下方葉部に移るにつれて活発になり、とくにカルシウム施与直後では、F-Iの大部分が無機イオン状カルシウムで占められた。これは時間的経過によって急減するが、有機酸カルシウムは増加する。上方葉部では、無機イオン状カルシウムの含有割合は低く、大部分が有機酸カルシウムとして検出され、この濃度は時間経過によって増加した。本実験では、温度変化による経時的な動きは検討していないので確かなことはいえないが、30°Cと20°Cにおける $^{45}\text{CaCl}_2$

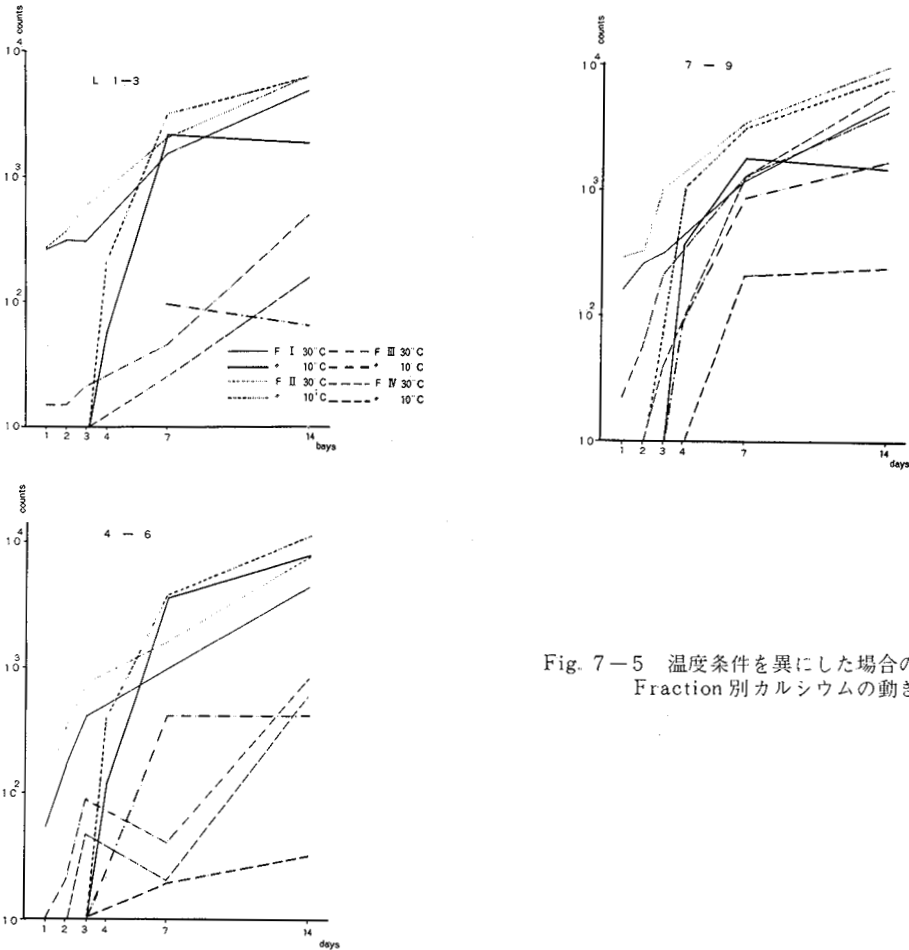


Fig. 7-5 温度条件を異にした場合の Fraction別カルシウムの動き。

施与後の1週間目の水溶性カルシウム区分を、Sephadex によって分離した結果をみると、Fig. 7-6 のようになる。この図によると、高分子部は30°Cで活発にとりこまれることがわかる。有機酸カルシウム1区分もまた30°Cで多量にとりこまれており、10°CのNL-2では全く認められなかったことから、当該有機酸カルシウムへのとりこみは、温度較差によって、もっとも鋭敏な影響を受けていることがわかる。この点については、なお検討しなければならないが、次項で述べるように、葉部内カルシウムの温度変化による経時的な動きもまた、30°C → 20°C において漸減傾向にあることから、有機酸カルシウム1区分におけるカルシウム代謝が温度変化による影響を受けたものと推定できる。有機酸カルシウム2区分もまた30°Cにおいて多量認められ、その傾向はNL-2で顕著に現われた。これは第三章、第四章で明らか

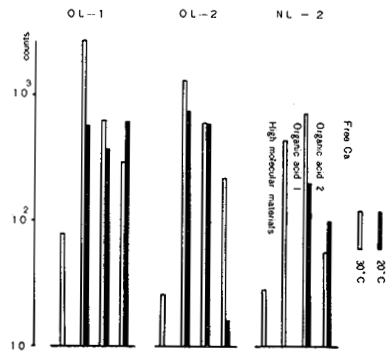


Fig. 7-6 温度条件を異にした場合の水溶性区分中の形態別カルシウムの動き。

にしたように、当該区分が葉部の新しい組織で活発な代謝活動を営むことを示したものと考えられる。無機イオン状カルシウムはOL-2を除いて、20°Cで多量に認められたが、これは当該温度では、他の形態別カルシウムへのとりこみが活発におこなわれなかったことを明らかにするものといえる。

これらの結果を直ちに30°Cと10°Cとの場合に結びつけて考えることは危険であるが、10°Cの温度較差においても、このように顕著な差が認められたことから、Fig. 7-5にみられるF-Iの動きには、上述の形態別カルシウムの温度変化にともなう影響が現われているものと推定できる。

II. 温度を規制した場合の樹体内にとりこまれたカルシウムの動き

Fig. 7-7は、30°C→10°C、10°C→30°Cの場合のFraction別の動きを图示したもので

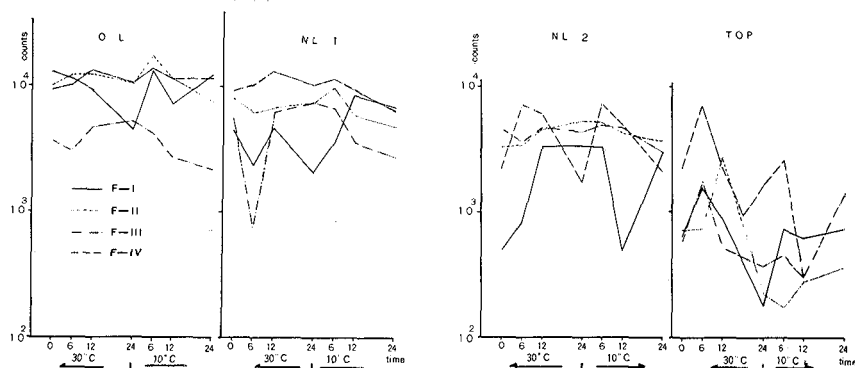


Fig. 7-7 温度変化にともなうFraction別カルシウムの動き。

あるが、この図によると、F-IはNL-2を除いて顕著な動きを示し、温度別には、低温下では漸減、高温下では漸増の傾向を示すことが明らかにされた。F-IIについては、顕著な動きは認められず、温度処理別には系統的な動きは明らかにされなかった。

温度変化が、植物の生理作用に与える影響の一つとして、光合成作用、呼吸作用の変化があげられるが、これらは当然F-Iの構成物質の一つとして挙げられる有機酸カルシウムの動きに直接反映してくるものと考えられる。

Fig. 7-8は、30°C→20°Cにおける水可溶性区分の形態別カルシウムの動きを、⁴⁵CaCl₂施与後1週間目(施与後1週間で水洗、根系部の放射能の汚染を除く)、2週間目、3週間目にわたって調べたものである。これによると葉部位置を異にしたがって、形態別カルシウムの動きに顕著な差が認められた。とくに注目すべきものとして有機酸カルシウムの動向をみると、有機酸カルシウム1区分は、OL-1部で経時的に漸減したが、他の部位では、2週間目に漸増後30日目に減少した。有機酸カルシウム2区分は、OL-1部、OL-2部で、20°C移置後に全く検出されなかったが、NL-1では30日目にふたたび検出され、NL-2では2週間目に激減後30日目にふたたび漸増した。このような現象が認められることは、前述のように有機酸カルシウム1区分が、下方葉部に移るにつれて、また全2区分が上方葉部に移るにつれて、それぞれ活発な代謝活動に参加していることを意味するもの

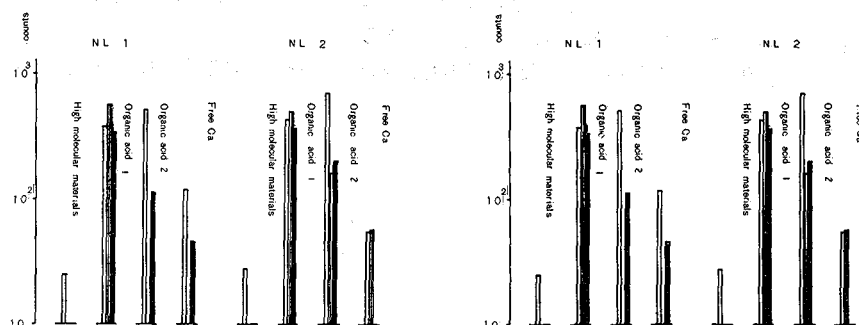


Fig. 7-8 30°Cから20°Cに移置された場合の水可溶性区分中に含まれる形態別カルシウムの動き。

と考えられる。とくにOL-1、OL-2で2週間目に有機酸カルシウム1区分のみが認められたことに関しては、温度の急変にともなって、第四章で述べた旧葉部における経時的な動きが、急速度に起ったことを意味するものと考えられる。

これらの結果は、長時日の観測に基くものであるために、時間単位の観測結果であるFig. 7-7に結びつけて考えることは許されないが、水可溶性区分がFig. 7-7と同様に減少していることから30°C→10°Cで認められるF-Iの減少傾向は、有機酸カルシウムの動向と関係しているものと推定できる。この点に関しては、なお吟味検討しなければならない。

Fig. 7-8で、別に注目される現象は、無機イオン状カルシウムが20°C移置後経時的に増加する傾向が認められたことである。これは第四章で述べたような無機イオン状カルシウム→有機酸カルシウム2区分→有機酸カルシウム1区分→無機イオン状カルシウムのAgingにともなう経時的な変化が、温度の変化にともなって急速に現われたものとも推定されよう。

第三節 摘 要

環境要因のうち光因子、温度因子を規制した場合に起るカルシウムの変動を、Fraction別、形態別の面から検討した結果つぎのようなことが明らかにされた。

1. 吸収速度は光因子によって影響され、12000Luxと200Luxとでは、前者で急速なとりこみが認められた。またFraction別の動きも明処理で活発に認められ、カルシウム代謝が光線量の多少によって、多大の影響を受けることが明らかにされた。
2. 遮光処理によって、葉部内カルシウムのFraction別カルシウムのうち、F-Iで特異な動きが認められた。すなわち明処理でF-I：増加、暗処理でF-I：減少の傾向を示した。水可溶性区分中の形態別カルシウムでは、有機酸カルシウムが明処理で増加した。
3. カルシウムの吸収速度は、温度因子によっても影響され、30°Cと10°Cとでは、前者で急速なとりこみが認められ、またFraction別の動きも30°Cで活発であった。水可溶性区分中の形態別カルシウムについては、30°Cと20°Cとで検討したが、高温下では有機酸カルシウム区分へのとりこみが、顕著に認められた。これらの結果から、カルシウムは適温下では

活発な代謝を営むことが推測された。

4. 葉部中における 30°C と 10°C の場合の経時的なFraction 別カルシウムの動きは、F-Iで顕著に認められ、高温下に移置された場合に増加した。昼夜別の温度較差が 10°C 以上も認められたこと⁹⁶⁾から、このような結果は昼間におけるF-Iの増加現象が光因子とともに、温度因子の影響を受けて起るものと考えられる。
5. 光因子規制、温度因子規制、いずれの実験においてもその処理直後に急激な変動を起すことが明らかにされた。

第七章 総 括

植物体内におけるカルシウムの生理作用については、数多くの研究例があるが、現状ではなお未解明の状態にある。本研究は、これらの未解明の点をときほぐすいとぐちとして、とくに生理的に活性なカルシウムを含むと推定される水可溶性カルシウム区分を選んで、これの代謝生理を検討しようとした。研究の手順は以下のようにおこなった。すなわち、樹木の諸器官におけるカルシウムの濃度分布の調査をおこなって、カルシウムが、如何なる器官に集積し、組織の Aging によっては、どのような動きをするかを明らかにし、ついで樹体内にとりこまれたカルシウムの代謝過程を、樹体内におけるカルシウムの分布と平行して検討した。これによって生理的に活性な結合形カルシウムならびにこれの存在する Fraction を推定した。さらに光合成、呼吸作用、あるいはこれらの集大成された樹木の生長過程によって、実際に生体反応の場でこれらのカルシウムがどのような動きを示すかを明らかにするために、1日を周期とした動き、ならびに規制された環境要因のもとでの動きを追跡した。章別の内容について要約するとつぎのとおりである。

第一章においては、第一節で既往の文献を基にして、カルシウムの生理作用の究明のいとぐちは、水、中性塩類、弱酸性、強酸性の各種溶媒による段階的抽出にあることをとりあげ、なかでも水による Fraction に生理的活性度の高い結合形カルシウムの存在することを推定した。体内移動の問題に関しても、これらの Fraction に含まれるカルシウムの、とりこみ時の分布、1日の動きを知ることによって、カルシウムの生理作用に関するよりの確な資料を得るものと考えた。第二節では、著者の専門とする林学内での問題点をとりあげて、本研究の位置づけ、ならびにその目的を明らかにし、第三節では、実験材料ならびに実験方法についての特色を述べた。

第二章では、従来の研究方法の盲点が、各種溶媒による段階的抽出法にあることを考え、とくに本論文の主題とする水可溶性区分の再分画法について検討した。その結果、水可溶性区分に関しては、ペーパークロマト法、および、Sephadex G-10によって形態別カルシウムが的確に分離されることをみた。中でも Sephadex G-10による分離法では、Pharmacia 社製の 1.5×90cmカラムを使用することによって、高分子部、有機酸カルシウム1区分、有機酸カルシウム2区分、無機イオン状カルシウムの4部分に明瞭に分離できることを確認した。またその形態については、ペーパークロマト法、ガスクロマト法による検討の結果、高分子部については蛋白質結合形カルシウム、有機酸カルシウム1区分についてはクエン酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、有機酸カルシウム2区分についてはリンゴ酸カルシウム、フマル酸カルシウム、コハク酸カルシウムの存在することを確認した。

第三章では、樹体内部におけるカルシウムの分布を、葉部、葉柄部、樹皮部の三部分に分けて検討した。その結果、体内にとりこまれたカルシウムは、中葉部、上葉部中の、ある特定部位に最大量集積され、葉柄部、樹皮部もまた当該葉部位置に相当する部位で、最大量集積されることを明らかにした。この最大量集積される葉位については、つぎのように考えた。すなわち水可溶性区分中の有機酸カルシウムのうち、2区分の濃度分布が、当該葉位を中心にして上方部位にかけて、急激に高濃度になることから、この特定部位が metabolic activity の高い、所謂田中90)の提唱した活動中心葉に相当することを推定した。

各 Fraction については、F-I は葉部では旧組織に、葉柄部、樹皮部では新組織に、F-III、F-IV は葉部では新組織に、樹皮部では旧組織に多量存在した。また葉部中の F-II は、草本植物に比して多量含まれることから、樹木としての生理的特性がこの点に存在するものと考えた。葉柄部中に占める F-II の割合が異常に高いこと、および F-III、F-IV の占める割

合が低いことは、当該器官としての生理的特性を示すものと考えた。葉部中の有機酸カルシウム区分で特に注目された点は、これの含有割合が異常に高く、有機酸カルシウム1区分は、旧組織に、有機酸カルシウム2区分は、新組織に多量に存在することであった。高分子部は、新組織に多量存在し、無機イオン状カルシウムは、旧組織に多量存在することから、これらのカルシウムが葉部のmetabolismと密接に結びついていることが予想された。

NaCl可溶性区分のうち蛋白質結合形カルシウムは、水可溶性区分の高分子部の場合と同様に、各器官ともに新組織で高濃度を示した。これは、当該カルシウムが新組織における窒素代謝と関係することを示すものと考えた。器官別には、葉部では、数%の含有割合を占めるにすぎなかったが、葉柄部、樹皮部では、20%前後となって比較的高含有率を示すことが明らかになった。

第四章では、樹体内にとりこまれたカルシウムの吸収過程ならびに、これの代謝過程を追跡した。その結果、カルシウムは移動しにくい元素であるといわれているにもかかわらず、一部のカルシウムは積極的に樹体内にとりこまれていることが明らかにされた。

水可溶性区分に関しては、最大集積葉で有機酸カルシウム2区分、無機イオン状カルシウムの動向に特色がみられた。すなわち、有機酸カルシウム2区分は最大集積葉を含む上方葉位で多量存在し、無機イオン状カルシウムは、下方葉位、および最上方葉位で多量認められた。またこれらの有機酸カルシウムの消長経過から、ふたたびこれらの有機酸カルシウムが無機イオン状カルシウムに変容することを推定した。

葉柄部、樹皮部内では、ともに水可溶性区分中に占める有機酸カルシウムの割合は高く、とくに葉柄部内では、葉部に対応した分布、ならびに消長経過を辿ることが明らかにされた。

F-Ⅲ、F-Ⅳは、いずれも上方葉部で活発なとりこみがおこなわれるが、時間的経過にしたがっては、ほぼ恒常的に落ちつくものと考えられる。F-Ⅱは時間的経過にしたがって、活発な変動は起らなかった。

第五章では、カルシウムの樹体内での1日の動きを検討した。まず既往の文献による日変化の実験例をとりあげて解説し、第二節でこれの追試をおこなった。第三節では、Fraction別カルシウムならびに水可溶性区分中に含まれる形態別カルシウムの、1日の動きを検討した。その結果、Fraction別にはF-Ⅰで顕著な動きが観察され、昼間には当該Fractionは増加傾向を示した。水可溶性区分中の形態別カルシウムについては、カルシウムが葉部内に充分とりこまれた段階では、有機酸カルシウム1、2区分はともに昼間時に増加し、夜間時に減少することが明らかにされた。

第六章では、環境要因中の光因子、温度因子を規制した実験をおこなうことによって、1日の動きの場において演じるカルシウムの生理的役割を、側面から明らかにしようとした。その結果、光線量を規制した実験では、1日の動きの場合と同様な傾向が観察された。この場合に注目されたことは、明→暗、暗→明のいずれの処理においても、その処理直後に顕著な動きを示したことである。

温度規制の実験では、高温から低温への環境の変化によって、F-Ⅰは減少の傾向にあることを認めた。この場合、形態別カルシウムの動向は未確認であるが、30°C→20°Cの長期的な実験では、有機酸カルシウム区分は、いずれも漸減の傾向を示したことから、温度変化による有機酸代謝過程の変動関係があることを予想した。

以上、林木中に含まれるカルシウムの代謝生理を、樹体内の分布、とりこみ過程、1日の動き、環境要因の規制によって生ずる変化の諸面から、とくに葉部を中心にして検討した結果、本研究の段階では、なおカルシウムが直接的に生体反応にあづかっていると断定できなかった。

た。しかし生理的活性度の高いカルシウムは、水可溶性区分中に含まれ、中でも有機との結合塩の形で生理的役割を果していることが推測された。

これに関連して注目されることは、植物体内の有機酸代謝が、カルシウムの体内含有量と密接な関係にあるという研究例⁸³⁾である。本研究は、有機酸代謝の面からの検討をおこなっていないために、この点についての解析はできないが、上述のように、有機酸と結合したカルシウムが生理的に重要と思われる活性の高い生体反応を示したことは、樹体内カルシウムが有機酸代謝と密接な関係を保ちつゝ、活発な生理作用に参加していることを明らかにしたものといえよう。

第一章総論で述べたように、本研究の目的は未解明の状態にあるカルシウムの生理作用について、解明のいとぐちを見出すためにおこなったものである。したがって上述のような推論をよりの確なものにするためには、さらに栄養生理的な面を含む応用的な場での検討をおこなう必要がある。

文 献

1. Arens, K. : Die Tag-Nacht-Differenz des Kalzium gehaltes von Laubblättern. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 88 169—175 1939
2. Anderson, D. G. : The distribution in higher plants of phosphopyridine nucleotidelinked enzyme systems capable of reducing glutathione. *Plant Physiol.* 27 675—684 1952
3. 青木茂一 : 土壌と植生 484—519 養賢堂 1958
4. 麻生末雄 : 作物の養分吸収に関する研究 I
 磷酸の吸収分布—とくにカルシウムとの相違について その1 日土肥 26
 387—390 1956
5. _____ : _____
 _____ その2 日土肥 26 450 1956
6. Barnett, R. C., Stafford, H. A., Conn, E. E., and Vennesland, B. : Phosphogluconic dehydrogenase in higher plants. *Plant Physiol.* 28 115—122 1953
7. Beevers, H., and Gibbs, M. : The direct oxidation path way in plant respiration. *Plant Physiol.* 29 322—331 1954
8. _____, _____ : Glucose dissimilation in the higher plant. Effect of age of tissue. *Plant Physiol.* 30 343—347 1955
9. Berry, J. W. : Gas chromatography of carbohydrates *Advance in chromatography* 2—271—289 1966
10. Biddulph, O., Nakayama, F. S., and Cory, R. : Transpiration stream & ascension of calcium *Plant physiol.* 36 429—436 1961
11. Bingham, F. T. : Seasonal trends in nutrient composition of Hass Avocado leaves. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 78 149—160 1961
12. Böhning, R. H., and Lusanandana, B. : A comparative study of gradual and abrupt changes in root temperature on water absorption. *Plant Physiol.* 27 475—488 1952
13. Bukovac, M. J., Wittwer, S. H., and Tukey, H. B. : Anesthetization by DI-ethyl ether and the transport of foliar applied radiocalcium *Plant Physiol.* 31 254—255 1956
14. Burrige, J. C., Lockard, R. G., and Acpuaye, D. K. : The levels of nitrogen, Phosphorus, potassium, calcium, and magnesium in the leaves of cacao as affected by shade, fertilizer, irrigation and season. *Ann. BQt.* 28 401—417 1964
15. Cannon, T. F., Chadivick, L. C., and Reisgh, K. W., : The nutrient element status of some ornamental trees. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 76 661—666 1960
16. Davidaon, H., : Nutrient-element composition of some ornamental trees. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 76 667—672 1960
17. 出口正夫、太田安定 : カルシウムの生理作用に関する研究
 I. カルシウムの供給量および時期とカルシウムの葉位別分布の関係 日土肥30
 108—112 1959

18. _____, _____ : _____ II
窒素の供給量および形態の差異がカルシウムの葉位別分布におよぼす影響
日土肥 30 189—192 1959
19. Eckerson, S. H. : Protein synthesis by plant 1 Nitrate reduction Bot. Gaz. 77
377—390 1924
20. Embleton, T. W., Kirkpatrick, J. D., and Parker, E. R. : Visible response of phosphorus deficient orange trees to phosphatic fertilizers, and seasonal changes in mineral constituents of leaves.
Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 60 55—64 1923
21. Fahmy, J., and Nasrallah, S. : Changes in macronutrient element of Souri Olives leaves in alternate bearing years. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 74 372—377 1959
22. Ferrel, W. K., and Johnson, F. D. : Science 124 364—365 1956 From Ann. Rev. Plant Physiol. 8 1957
23. Freeland, R. O. : Effect of age of leaves upon the rate of photosynthesis in some conifers. Plant Physiol. 27 685—690 1952
24. Gausch, H. : Response of the bean plant to calcium deficiency. Plant Physiol. 15 1—21 1940
25. Geraldson, C. M. : Proc. Florida State Hort. Soc. 68 197—202 1955 from Ann. Rev. Plant Physiol. 8 1957 : mineral nutrition of plant
26. Groom, P. : On the relation between calcium and the translocation of carbohydrates in plant. Ann. Bot. 10 91—96 1896
27. Hariman, P. Q. : Effect of various methods of storage on the chlorophyll content of leaves. Plant Physiol. 5 599—606 1930
28. Hibbard, R. P., and Grigshy, B. H. : Relation of light, potassium and calcium deficiencies to photosynthesis, protein synthesis and translocation. Agr. Expt. Sta. Michigan, Tech. Bull. 141 3—39 1934
29. Hylmo, B. : Transpiration and ion absorption. Physiologia Plantarum 6 334—401
30. 橋本武、岡本守 : 作物のマグネシウム栄養に関する研究Ⅱ、マグネシウム欠乏大豆におけるカルシウムの含有量 日土肥 24 231—234 1953
31. 橋本武 : _____ IV
作物のマグネシウム、カルシウム、カリとの関係 日土肥 26 139—142 1955
32. _____ : 水稻における化学的組成の品種間差異 I 葉および稈における形態別カルシウム、マグネシウム、カリの品種間差異 日土肥 28 9—12 1957
33. Itoh, H., and Hatano, T. : A study of the calcium in legume forages. Tohoku Jour. Agr. Res. 11 133—146 1960
34. 池川信夫、船坂渡 : 最新ガスクロマトグラフィーⅡ 廣川書店 1966
35. 岩坪五郎、堤利夫 : 森林内外の降水中の養分量について (第2報)
京都大学農学部演習林報告 39 110—124 1967
36. 伊藤信、藤原彰夫 : 水稻のカルシウム栄養について特に培地カルシウム濃度と体内カルシウムの変動について 日土肥 38 126—130 1967
37. _____, _____ : 水稻地上部での細肥内カルシウムの分布について

- 日土肥 38 260—264 1967
38. Joham, H. E., : Carbohydrates distribution as affected by calcium deficiencies in cotton. *Plant Physiol.* 37 113—117 1962
39. Jones, W. W., and Parker, E. R., : Seasonal variation in mineral composition of orange leaves as influenced by fertilization practices. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 55 92—100 1950
40. Jones, W. W., and Parker, E. R., : Seasonal trends in mineral composition of valencia orange leaves. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 57 101—103 1951
41. Kostytschew, S., and Berg, V., : Die Foem der Kalziumverbindungen in lebenden Pflanzengeweiben. *Planta* 8 55—67 1929
42. 葛西善三郎、奥田 東：高等植物に吸収された無機栄養素の行動 5 なたねとごまに吸収されたカルシウムの再分布 日土肥 27 19—22 1956
43. _____, _____, _____ 6 水稻の生育期に吸収された燐とカルシウムと硫黄のゆくえ 日土肥 27 301—304 1956
44. 北尾邦伸：稚樹における無機養分移動に関する研究
京都大学農学部林学教室、卒業論文 740 1964
45. 倉沢文夫、伊賀上郁夫：糸状菌の糖類脱水素酵素に関する研究
農化雑 30 556—560 1956
46. 桑田 智：続クロマトグラフィー I 廣川書店 1955
47. 近藤圭二、餘山実、山口務：Acetobacter melanogenumによるグルコースの酸化代謝 I
2.5—ジケトグルコン酸の生成 農化雑 30 419—422 1956
48. _____, _____, _____, _____ : _____ II
代謝生産物の消長 農化雑 30 423—426 1956
49. 小西茂毅、葛西善三郎：タバコ葉の老化枯死にともなうカルシウムの行動 日土肥 31
317—320 1960
50. _____, _____, _____ : タバコ葉のAging にともなうカルシウムの代謝 (その1)
生育期に吸収された ^{45}Ca の形態変化 日土肥 34 67—70 1963
51. _____, _____, _____ : _____ (その2)
生育初期および開花期に吸収された ^{45}Ca の生育にともなう形態変化 日土肥
34 71—74 1963
52. 植物栄養学実験編集委員会編：植物栄養学実験書 朝倉書店 1959
53. Lange, A. H., : Effect of environment on the uptake-transport of calcium and phosphorus by bean plant. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 73 349—354 1959
54. Lausch, E., : Untersuchungen über calcium-Rücktransport in höheren Pflanzen. *Flora* 542—588 1957/58
55. Lederer, E., and Lederer, M., : Chromatography 1957
56. Lehmann, K., and Garz, J., : Zur Calciumernährung einiger Kulturpflanzen. *z. Pflanzenernähr. BodenK.* 104 B 1—11 1964
57. Lingle, J. C., and Davis, R. M., : The influences soil temperature and phosphorus fertilization on the growth and mineral absorption of tomato seedlings. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 73 312—322 1959
58. Mason, T. G., and Maskell, E. J., : Further studies on transport of phosphorus, potassium and calcium. *Ann. Bot.* 45 126—170 1931

59. Mason, T. G., and Mskell, E. J., Phillis, E.,: Further studies on transport in the cotton plant III Concerning the independence of soluble movement in the phloem. *Ann. Bot.* 50 24—57 1936
60. Mason, A. C., and Whitfield, A. B.,: *J. Hort. Sci.* 35 34—55 1960 from *Ann. Rev. Plant Physiol.* 13 1962
61. Maynard, D.N., and Gentile, A. C.,: The distribution of calcium in cells of the roots of carrot. *Physiol. Plantarum* 16 40—43 1963
62. Mecklenburg, R. A., and Tukey, H. B.,: Influence of foliar leaching on root uptake and translocation of calcium⁴⁵ to the stem and foliage phaseolus vulgaris. *Plant Physiol.* 39 533—536 1964
63. McClung, A. C., and Lott, W. L.,: Mineral nutrient composition of peach leaves as affected by leaf age and position and the presence of a fruit crop. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 67 113—120 1956
64. Nightingale, G. T., Addoms, R. M., and Robbing, W. R.,: Effect of calcium deficiency on nitrate absorption and on metabolism in tomato. *Plant Physiol.* 6 605—631 1931
65. 中塚友一郎: 樹木及び樹苗の生理化学的研究 (第1報)
落葉広葉樹の無機成分及び窒素量の季節変化 日林誌 25 521—532 1943
66. _____: _____ (第2報)
常緑広葉樹の無機成分及び窒素量の季節変化 日林誌 26 110—117 1944
67. _____: _____ (第3報)
針葉樹の無機成分及び窒素量の季節変化 日林誌 31 121—126 1949
68. 中江篤記、辰己修三: 京都大学北海道演習林におけるヤチダモの育林学的研究、ヤチダモ稚樹の耐陰性について 京都大学農学部演習林報告 33 285—292 1961
69. 奥貫一男: 植物生理化学 1954 朝倉書店
70. 奥田 東: 土壤肥料学新説 養賢堂
71. Phillis, E., and Mason, T. G.,: On diurnal variation in the mineral contents of the leaf of the cotton plant. *Ann. Bot.* 6 437—442 1942
72. Ramman, E.,: Mineralstoffgehalt von Baumblättern zur Tages- und zur Nachtzeit. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 50 84—91 1912
73. Schilling, V. G.,: Strontium in der höheren Pflanzen II Verteilung und Bindszustand in der Pflanze. *z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.* 91 212—224 1960
74. Skok, J.,: Effect of the form of the available nitrogen on the calcium deficiency symptoms in the bean plant. *Plant Physiol.* 16 145—157 1941
75. Stocking, C. R., and Ongren, A.,: The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. *Amer. J. Bot.* 49 284—289 1962
76. Stumpf, P. K.,: Glycolytic enzymes in higher plants *Ann. Rev. Plant Physiol.* 3 17—34 1952
77. 坂村 徹: 植物生理学 I 裳華房 1958
78. 佐竹一夫: クロマトグラフィー 共立全書 1955
79. 柴田村治: ペーパークロマト法の実際 共立出版 1962
80. 柴田信男: 林木稚苗の栄養生理に関する研究 VII スギ、ヒノキ、アカマツおよびクロマ

- ツ稚苗における肥料要素含有量に関する2～3の総合的研究
京都大学演習林報告 29 181—206 1960
81. 芝本武夫、中沢春治：アカマツ稚苗の生長にともなう無機養分の吸収について
日林誌 40 383—390 1958
 82. 正垣幸造、岩坪五郎、堤利夫：森林内外の降水中に含まれる養分量についてⅢ.
葉からの養分溶脱についての実験 日林大会講演集 76 110—112 1965
 83. Thimann, K. V., and Bonner, W. D. Jr., : Organic acid metabolism Ann. Rev. Plant
Physiol. 1 75—108 1950
 84. Tukey, H. B., and S. H. Wittwer., : Loss of nutrient by foliar leaching as deter-
mined by radioisotopes. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 71 496—505 1958
 85. 田口亮平：作物生理学 養賢堂
 86. 高橋達郎、吉田大輔：タバコ植物の栄養に及ぼす各種イオンの相互作用についてⅣ
マグネシウムとカリ、カルシウムの相互作用 日土肥 27 468—471 1957
 87. 田中 明：業位別にみた水稻葉の生理機能の特性およびその意義に関する研究 5
下位葉と上位葉の生理機能の比較 日土肥 27 257—264 1956
 88. _____, : _____ 2
各業位の葉の生理機能の比較 日土肥 26 341—345 1956
 89. _____, : _____ 3
各業位の葉の窒素代謝と生理機能との関係 日土肥 26 413—418 1956
 90. 田中 明：_____ 7 活動中心葉の概念と各業位ならびに各葉子間
の相互関係 日土肥 28 231—234 1957
 91. _____ : _____ 9 各業位の石灰、苦土、および硫黄の消長並び
に燐酸と石灰の移動性の比較 日土肥 29 241—245 1958
 92. 辰巳修三：主要広葉樹の栄養生理に関する研究 葉分析に基づく無機養分の季節変化
について 日林大会講演集 72 1962
 93. _____ : 樹体内の要素代謝に及ぼす環境要因の影響について、 無機養分の日変化
日林大会講演集 74 1963
 94. _____ : 林木のカルシウム代謝に関する研究 I ポプラ挿木苗におけるカルシウ
ムの吸収と移動について 日林誌 46 242—245 1964
 95. _____ : _____ II ポプラ挿木苗のカルシウム上昇に及ぼす温
度の影響について 日林誌 46 325—335 1964
 96. _____ : _____ III ポプラ挿木苗におけるカルシウムの形態別
の日変化 日林誌 47 1965
 97. _____ : _____ IV 遮光処理をおこなった場合のポプラ挿木苗
におけるカルシウムの形態変化について 日林誌 47 1965
 98. _____ : _____ V 温度変化がポプラ挿木苗中のカルシウムの
分化形態に及ぼす影響について 日林誌 47 1965
 99. _____ : _____ VI ポプラ葉部中に含まれる水可溶態カルシウ
ムのペーパークロマトグラフについて 日林誌 48 237—244 1966
 100. _____ : _____ VII 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウム
の分離について 日林誌 投稿中
 101. _____ : _____ VIII 水可溶性区分に含まれる形態別カルシウム
の消長経過について 日林誌 投稿中

102. _____ : _____ IX 葉位別の形態別カルシウムの分布について
日林誌 投稿中
103. 譚 健栄、栗原 淳、熊沢喜久雄、三井進平：光合成産物の動態と養分吸収 明暗
処理が植物の¹⁴Cの分布、移動に及ぼす影響 日土肥 37 585—589 1966
104. 戸刈義次他編：作物生理学講座 2 朝倉書店 1966
105. Vickery, ., : The effect of temperature on the behavior of malic acid
and starch in leaves of *Bryophyllum calycinum* cultured in darkness.
Plant Physiol. 29 385--393 1954
106. Went, F. W., : The effect of temperature on plant growth *Ann. Rev. plant
Physiol.* 4 347—392 1953
107. Williams, R. F., : Redistribution of mineral elements during development. *Ann.
Rev. Plant Physiol.* 6 25—42 1955
108. 吉田大輔：タバコ植物の苦土欠乏症の発生経過について II タバコ葉中のマグネ
シウムおよびカルシウムの形態別分布について 日土肥 28 48—50 1957
109. 尾崎 清：植物の栄養と診断 高陽書院 1962

Fundamental Studies of the Chemical Forms of Calcium and their
Metabolisms in the Tree Leaves

Shuzo TATSUMI

Summary

The calcium metabolism in the leaves has been studied by many workers. However, many unresolved questions in their studies were still remained. Whether calcium is immobile with little distribution or mobile with a little redistribution from tissues, in which it has been utilized, still does not resolve up to date.

The chemical forms of calcium salts in the tree leaves and their plant-physiological metabolisms were discussed in this paper. The obtained results are summarized as follows.

1. The absorbed calcium⁴⁵ was separated into five fractions by the following methods.

Ground tissue (fresh matters)

Residue	Extracted with water for 2 hours, centrifuged, reextracted with water four times	Extract : Fraction I
Residue	Extracted with 1 N NaCl for 1 hour, centrifuged, reextracted with 1 N NaCl three times	(A part of ionic mineral compounds in cellular solution and organic salts except calcium oxalate)
Residue	Extracted with 2 % CH ₃ COOH for 1 hour, centrifuged, reextracted with 2% CH ₃ COOH three times	Extract : Fraction II (Calcium pectinate, and calcium protein complexes)
Residue	Extracted with 5 % HCl for 1 hour, centrifuged, reextracted with 5 % HCl three times	Extract : Fraction III (Calcium phosphate)
Residue : Fraction V (Calcium silicate)		Extract : Fraction IV (Calcium oxalate)

2. Calcium compounds being soluble both in water and 1 N NaCl were separated by using of the column and paper partition chromatograph. The water soluble parts (fraction I) were furthermore clearly separated into four parts, which were detected as the high molecular materials (albumines), organic acid I, organic acid II compounds and free calcium ion, by using of the gel filtrating method (gel substance : Sephadex G-10, column : 1.5×90cm. Pharmacia KK in Sweden). These compounds were identified as follows : the high molecular materials ; albumines, the organic acid I ; calcium citrate and gluconate, the organic acid II ; calcium malate, fumarate and succinate.
3. Generally, the total calcium ⁴⁵ (fraction I — fraction V) was concentrated around the middle leaves, their petioles, and bark which have the largest accumulated

calcium. The organic acid II was distinctively increased in the parts of the middle leaves and the higher.

4. Fraction I was increased in the old tissues of lower leaves and in the new tissues of the petioles of upper leaves and bark. A large amount of fraction III and IV were detected in the new tissues of upper leaves and the old tissues of the bark. From a result in upper leaves that a larger amount of fraction II was detected in the woody plants rather than the herbaceous plants, it was supposed that the quantitative difference might be based on one of the physiological characteristics of the woody plants in this fraction. In the petioles, the large amount of the fraction II accompanied with a small fraction of III and IV was detected.
5. A larger amount of the organic acid fraction was detected in the leaves rather than the other organs. The amount of organic acid I was rich in the old tissues, while the organic acid II was rich in the new tissues. The high molecular materials was accumulated in the new tissues, and the free calcium ion was in the old tissues.
6. The calcium-albumine complex in fraction II was detected mainly in the new tissues of the tree. In the leaves, fraction II was a few percents of the total calcium⁴⁵, while it was about 20% in the petioles.
7. From the experiment of the mobility of the absorbed calcium⁴⁵ in the leaves, the following results were obtained.

Fraction I: The organic acid II was accumulated in the upper part of tree (from the highest accumulated calcium leaves in middle leaves to the upper leaves), while the free calcium ion was accumulated in the lower leaves and the top leaves. In the leaves, the calcium salts of organic acid were turned over to the free calcium ion with the advance of the tree growth stage. In the petioles and bark, a large amount of the organic acid fraction was abundantly detected in the water soluble fraction (fraction I). Especially, in the petioles, this organic acid fraction was distributed with the same pattern as that in the leaves.

Fraction III and IV: In the upper leaves, the absorbed calcium⁴⁵ was actively turned over both to fraction III and to IV with the advance of the growth stage. These fractions were increased near constant value in mature stage.

8. The diurnal variations of fractionated calcium.
 - I. In the leaves, total calcium was increased in the midnight and decreased in the daytime. In the fractionated calcium, fraction I was decreased in the midnight, contrarily fraction II was increased. Fraction III and IV were not affected by the diurnal variations.
 - II. In the barks, total calcium was decreased in the midnight and increased in the daytime. In the fractionated calcium, fraction I was increased in the midnight, contrarily fraction III was decreased.
 - III. In the wooden parts, calcium content was not affected by the diurnal variations.
 - IV. Summarizing the above results, it was presumed that calcium was moved alternately from leaves to barks and also moved from fraction I both to

- fraction II and to III, with the diurnal variations.
- V. In the water soluble part (fraction I), the organic acid I and II were increased clearly in the daytime.
9. The variation of the fractionated calcium caused of the lighting treatment.
- I. In the leaves : Fraction I was increased in the light exposing and contrarily decreased in the light shielding. Fraction II was decreased in the light exposing and on the contrary it was increased in the light shielding. Both fraction III and IV were not shown any noticeable changes by these treatments.
- II. Both in the petioles and in barks, the fractionated calcium was not shown any noticeable changes in these experiments.
- III. The movement of the total calcium : In the leaves, the total calcium was decreased by the light exposing and increased by the light shielding. In the petioles and barks, it was increased by the light exposing and decreased by the light shielding. In the wooden parts, no noticeable changes were found, unlike those in the leaves, petioles and barks.
- IV. The variation of the fraction I caused of the lighting treatment.
- a. High molecular materials and organic acid I in the leaves were decreased by the light shielding.
- b. Organic acid II was decreased in the old leaves, but it was increased in the new leaves by the light shielding.
- V. In the leaves and bark, calcium 45 was absorbed more abundantly by 12000 Lux than 200 Lux lighting. However, in the wooden part, there were no significant differences between both treatments.
10. Effect of the temperature variation on the fractionated calcium.
- I. In the leaves and bark, calcium 45 was absorbed more abundantly at 30°C temp. as the treated periods elongated. But, in the wooden part, calcium absorption was no significant differences between 30°C and 10°C treatment.
- II. In the leaves, the absorbed calcium was not turned over to many fractions at 10°C temp. This indicated that the metabolic activity in these leaves was in low level at 10°C temp. It was suggested that the calcium translocated into the leaves both via the bark and via petioles was probably affected with not only low temperature but also the metabolic activity in these leaves.
- III. In the leaves, the absorbed calcium was changed more actively from fraction I to fraction II. The translocated calcium in these parts was varied more actively in the upper leaves or top than in the other parts as the periods elongated. As these results, it was presumed that the degree of the metabolic activity was probably estimated by the variation of water soluble and 1 N NaCl soluble part as the periods elongated. In the upper leaves or top, the metabolic activity was much greater than that in the other parts.
- IV. In the petioles and the bark, the absorbed calcium was separated into five fraction by the same method as that in the leaves. Fraction I and II were about 80% of the total calcium, and the translocated calcium was changed more actively to the part of tree. It was also observed that the absorbed

calcium was turned over to many fractions more actively at 30°C than 10°C temp..

- V. The variation of fraction I caused of the temperature treatment.
- a. Organic acid II in the old leaves was decreased as the period elongated after transferring tree from 30°C to 20°C. While, in the new leaves, organic acid II was increased. It was a noticeable result that only organic acid I was detected in the old leaves at 2 weeks after transferring tree from 30°C to 20°C.
 - b. Free calcium ion in the old leaves was increased as the period elongated.

香川大学農学部紀要

- 第1号 幡 克 美 : アカマツ材の成分並びにパルプ化に関する研究 (1955年3月)
- 第2号 内 藤 中 人 : 植物生長ホルモンに関する植物病理学的研究 特に植物病原菌に及ぼす影響について (1957年10月)
- 第3号 松 沢 寛 : アオムシコマユバチの生態に関する研究 (1958年3月)
- 第4号 梶 明 : 和紙原料の醸酵精練に関する研究 (1959年3月)
- 第5号 森 和 男 : 傾斜地蜜柑園経営の構造分析 (1960年3月)
- 第6号 玉 置 鷹 彦 : ガラク並びに池泥の研究 (1960年3月)
- 第7号 上 原 勝 樹 : 傾斜地開発利用に関する物理気象的研究 (1961年3月)
- 第8号 桑 田 晃 : オクラとトロロアオイとの種間交雑およびそれらより育成された種々の雑種ならびに倍数体に関する研究 (1961年9月)
- 第9号 中 潤三郎 : 甘藷の生育過程に関する作物生理学的研究 (1962年3月)
- 第10号 斉 藤 実 : 香川県及び北愛媛県の地質について (1962年3月) (英文)
- 第11号 小 杉 清 : グラジオラスの生産と開花に関する研究 (1962年9月) (英文)
- 第12号 吉 良 八 郎 : 貯水池の滞砂に関する水理学的研究 (1963年2月)
- 第13号 野 田 愛 三 : 禾穀類の根鞘に関する研究 (1963年3月)
- 第14号 川 村 信一郎 : 豆類のデンブンの研究 (1963年3月) (エスペラント文)
- 第15号 浅 野 二 郎 : 種子の耐塩性を中心とした海岸地帯におけるアカマツおよびクロマツ林の成立に関する研究 (1963年3月)
- 第16号 山 中 啓 : 乳酸菌のペントース・イソメラーゼに関する研究 (1963年8月) (英文)
- 第17号 葦 沢 正 義 : 香川県における葡萄の早害に関する研究 (1964年3月)
- 第18号 谷 利 一 : カキ炭疽病の病態生理学的研究, とくに罹病果実の病徴発現にあずかるペクチン質分解酵素の役割 (1965年3月)
- 第19号 樽 谷 隆 之 : カキ果実の貯蔵に関する研究 (1965年3月)
- 第20号 狩 野 邦 雄 : ラン種子の発芽培地に関する研究 (1965年3月) (英文)
- 第21号 山 本 喜 良 : コモンベツチおよびその近縁種の雑種に関する研究 (1966年3月)
- 第22号 中 広 義 雄 : 鶏における飼料の消化率測定法に関する研究 (1966年10月)
- 第23号 井 上 宏 : ナツダイダイの果実発育に関する研究, とくに水腐病の発生機構を中心として (1967年3月)
- 第24号 宮 辺 豊 紀 : 異常乳の生成と塩類均衡とくにカゼイン磷酸カルシウムに関する研究 (1967年8月) (英文)
- 第25号 十 河 村 男 : 樹皮リグニン及び樹皮フェノール類に関する研究 (1971年9月)
- 第26号 大 島 光 昭 : 赤クローバーサイレージ中の窒素栄養源に関する研究 (1971年11月) (英文)
- 第27号 辰 巳 修 三 : 林木葉部中におけるカルシウムの化合形態とその生理に関する基礎的研究 (1974年11月)

Memoirs of Faculty of Agriculture, Kagawa University

- No. 1 Katsumi HATA: Studies on the Constituents and Pulping of "Akamatsu" (*Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC.) Wood (March, 1955)
- No. 2 Nakato NAITO: Phytopathological Studies Concerning Phytohormones with Special Reference to Their Effect on Phytopathogenic Fungi (October, 1957)
- No. 3 Hiroshi MATSUZAWA: Ecological Studies on the Branconid Wasp, *Apanteles glomeratus* (March, 1958)
- No. 4 Akira KAJI: Studies on the Retting of Plant Fiber Materials for Japanese Paper Manufacture (March, 1959)
- No. 5 Kazuo MORI: An Analytical Study on the Structure of the Mandarin Orange Growing Orchard Farm in a Sloping Land Region (March, 1960)
- No. 6 Takahiko TAMAKI: Studies of Garaku Paddy Soil and Reservoir Deposits (March, 1960)
- No. 7 Masaki UEHARA: Physical and Meteorological Studies on the Cultivation and Utilization of Slope Land (March, 1961)
- No. 8 Hikaru KUWADA: Studies on the Interspecific Crossing between *Abelmoschus esculentus* MOENCH and *A. Manihot* MEDIC. and the Various Hybrids and Polyploids Derived from the Above Two Species (September, 1961)
- No. 9 Junzaburo NAKA: Physiological Studies on the Growing Process of Sweet Potato Plants (March, 1962)
- No. 10 Minoru SAITO: The Geology of Kagawa and Northern Ehime Prefectures, Shikoku, Japan (March, 1962) (in English)
- No. 11 Kiyoshi KOSUGI: Studies on Production and Flowering in Gladiolus (September, 1962) (in English)
- No. 12 Hachirō KIRA: Hydraulical Studies on the Sedimentation in Reservoirs (February, 1963)
- No. 13 Aizo NODA: Studies on the Coleorrhiza of Cereals (March, 1963)
- No. 14 Sin'itirō KAWAMURA: Studoj pri Ameloj de Legumenoj (March, 1963) (in Esperanto)
- No. 15 Jiro ASANO: A Study on the Formation of Pine Forests on Seaside Areas, giving due Consideration to the Salt Resistance of the Seeds (March, 1963)
- No. 16 Kei YAMANAKA: Studies on the Pentose Isomerases of Lactic Acid Bacteria (August, 1963) (in English)
- No. 17 Masayoshi ASHIZAWA: Studies on the Drought Damage of Grape Trees in the Region of Kagawa Prefecture (March, 1964)
- No. 18 Toshikazu TANI: Studies on the Phytopathological Physiology of Kaki Anthracnose, with Special Reference to the Role of Pectic Enzymes in the Symptom Development on Kaki Fruit (March, 1965)
- No. 19 Takayuki TARUTANI: Studies on the Storage of Persimmon Fruits (March, 1965)
- No. 20 Kunio KANO: Studies on the Media for Orchid Seed Germination (March, 1965) (in English)
- No. 21 Kiyoshi YAMAMOTO: Studies on the Hybrids among the *Vicia sativa* L. and its Related Species (March, 1966)
- No. 22 Yoshio NAKAHIRO: Studies on the Method of Measuring the Digestibility of Poultry Feed (October, 1966)
- No. 23 Hiroshi INOUE: Studies on the Fruit Development of Natsudaidai (*Citrus Natsudaidai* HAYATA), with Special Reference to water Spot Injury (March, 1967)
- No. 24 Toyoki MIYABE: Studies on the Production and the Salt Balance in Relation to Calcium Phosphocaseinate of Abnormal Milk (August, 1967) (in English)
- No. 25 Murao Sogo: Studies on the Bark Lignin and Bark Phenolic Compounds (September, 1971)
- No. 26 Mitsuaki OHSHIMA: Studies on Nutritional Nitrogen from Red Clover Silage (November, 1971) (in English)
- No. 27 Shuzo TATSUMI: Fundamental Studies of the Chemical Forms of Calcium and their Metabolisms in the Tree Leaves (November, 1974)