



Title	木本類の耐凍性増大過程 : 亜熱帯産及び熱帯産ヤナギの耐凍性
Author(s)	酒井, 昭
Citation	低温科学. 生物篇, 23, 27-36
Issue Date	1965-12-01
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/17692
Type	bulletin (article)
File Information	23_p27-36.pdf



[Instructions for use](#)

木本類の耐凍性増大過程 XI*

亜熱帯産及び熱帯産ヤナギの耐凍性

酒 井 昭

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和 40 年 7 月受理)

I. 緒 論

前報¹⁾において、北海道で生育しているヤナギ、ポプラ、カラマツ等の枝を用いて、耐凍性増大に及ぼす Hardening 温度の影響を調べた。耐凍性が低い 10 月や発芽前の 4 月末頃は、0°C で Hardening した場合でも耐凍性はかなり高まったが、耐凍性がかなり高い 11 月中旬～4 月中旬の期間には、0°C での Hardening 効果はほとんど認められなかった¹⁾。また、枝が -5°C での約 10 日間の連続的凍結状態に耐えられる場合には、どの時期においても、耐凍性の増大は約 -3°C においてもっとも著しかった¹⁾。さらに、0°C から -30°C までの各温度で Hardening したところ、すくなくとも -20°C 以下の温度では Hardening 効果はほとんど認められなかった¹⁾。なお、耐凍性の増大に関連して、Hardening 中における澱粉の消長が組織化学的に調べられたが、澱粉の減少は -3°C で処理した場合にもっとも著しいことが明らかにされた¹⁾。

これらの実験は北海道で生育しているヤナギ、ポプラ等で行なったものであるが、暖地で生育している同一樹種についても同じ結果がえられるか否かを確かめることが必要である。もし関東地方以西のヤナギについても同様な結果がえられるならば、亜熱帯や熱帯に生育しているヤナギでも生長が停止し、成熟状態に入ったものでは、最適な条件下で Hardening することによって、かなり低温度での凍結にも耐えられるようになることが予想される。

本論文は Hardening の機構を明らかにするために、温暖な地方で生育しているヤナギの最適な Hardening 温度の決定、寒冷地と温暖地におけるヤナギの耐凍性増大過程の比較及び亜熱帯や熱帯産のヤナギの耐凍度を調べたものである。

実験材料を送って頂いた林業試験場九州支場徳重技官、群馬県林業試験場田中・板垣両技官、静岡県柑橘試験場小中原技官及び外国産の材料の入手につき御援助を頂いた北大植物園辻井助教授の各位に対して感謝の意を表します。

II. 材料及び方法

実験材料として、耐凍性が高く、しかも枝の害の判定及び栄養繁殖が容易であるヤナギの枝を用いた。実験に用いたヤナギのリストを下に示す。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第 731 号

カワヤナギ	<i>Salix integra</i> Thunb. (高崎産)
ヤマヤナギ	<i>Salix Sieboldiana</i> Blume (熊本産)
シダレヤナギ	<i>Salix babylonica</i> L. (清水産)
	<i>Salix safsaf</i> Forsk. (カイロ産)
	<i>Salix tetrasperma</i> Roxb. (シンガポール産)
	<i>Salix caerulea</i> Sm. (パキスタン, ラホール産)
	<i>Salix bonplandiana</i> H. B. and K. (メキシコシティー産)

カワヤナギの枝は群馬県高崎市から1月13日に、ヤマヤナギの枝は11月中旬から1月末までの期間に熊本市から航空便で20日毎に送られてきた。また、シダレヤナギは静岡県清水市から10月から3月までの期間に20日間毎に送られてきたものと、北大構内のシダレヤナギとを比較して使用した。

外国産のヤナギは1月から2月までの間に、シンガポール植物園, カイロ植物園, ラホール及びメキシコシティーから航空便で送られてきた枝を温室で挿木活着後, 無加温のビニールハウス中で生育させた。これらの挿穂は冬までに、いずれも1.5~2.0 mの高さにまで生長した。いずれの場合も、実験には1年生の枝の部分のみを使用した。同一実験には、長さ5~7 cmの長さに切った枝の小片5本宛を使用した。なお、これらの枝の小片の間には、多くの場合に凍結による被害程度の差がほとんど認められなかった。

枝の小片はポリエチレンの袋に入れて-5°Cの恒温箱に入れて冷却した。なお、冷却前に切口に水をつけて枝の過冷却が破れやすいようにした。冷却して1時間後にまだ凍っていない枝は植水して凍結させた。その後、30分毎に5°Cずつ低い恒温箱に移して所定温度まで冷却し、そこに16時間おいた。それらの枝は0°Cの部屋に取り出して融解し6時間後に室温に移した。なお、液体窒素(-196°C)中に入れる場合には、ポリエチレンの袋を取り去り、枝を糸でしばり、おもりをつけて液体窒素中に入れた。液体窒素中に30分おいてから、0°Cの部屋に取り出し、そこに6時間おいたのち室温に移して水挿した。

-70°C以下の凍結に耐えられる耐凍性の高い枝は、普通の凍結実験では耐凍度をはかれないので、予備凍結温度を変えて液体窒素中に入れる方法で耐凍度を比較した^{2,3)}。

被害程度の判定は枝を約2カ月間水挿したのち、芽の伸長状態、発根状態、茎の各組織における褐変の度合を調べて判定した。

Hardeningの方法は5~7 cmの長さに切った枝の小片を乾燥を防ぐためにポリエチレンの袋に入れて暗黒のもとで低温処理した。-3°CでHardeningする場合には、あらかじめ-5°Cで2時間凍結させてから-3°Cの恒温箱に移した。

澱粉の量は枝をアルコールと氷醋酸を含む液で固定後、横断切片数個をとって、ヨード・ヨードカリ溶液で澱粉を検出し、その量を一, 土, 十, 卅, 卅の相対値であらわした。この場合、十の数のますことは澱粉量の増加を意味する。なお、異なった温度でHardeningした場合における澱粉の消長を知る場合には、枝による差を少なくするために、同一の枝から長さ3 cmの枝の小片3~4個を切り取って、それらを各温度で処理してから澱粉の量を求めた。

III. 結 果

1. 関東地方で越冬しているヤナギの最適 Hardening 温度

高崎市で越冬しているカワヤナギの枝を1月13日に札幌に送ってもらい、耐凍性増大に及ぼす Hardening 温度の影響を調べた。第1表に示すように、無処理の対照は -25°C までの凍結にしか耐えなかったが、 -3°C で14日間凍結状態で Hardening したものは -70°C での凍結にも耐え、 -30°C で予備凍結してから液体窒素中に入れた場合には、材部に害が認められたが発芽した。しかし、 0°C で14日間処理した場合には、耐凍性は増加しなかったし、 0°C で30日間処理した場合には耐凍性はむしろ低下した。

第1表 処理温度と Hardening 効果との関係 (カワヤナギ)

凍結温度 ($^{\circ}\text{C}$) (16時間凍結)	無 処 理	Hardening の温度 ($^{\circ}\text{C}$)			
		0_{14} **	-3_{14} **	0_{30}	-3_{30}
-15	○	○	○	○	○
-20	○	○	○	△	○
-25	○	○	○	△	○
-30	△	△	○	●	○
-70	●	●	○	●	○
-30 L.N.*	●	●	△	●	△

実験期日： 1月13日

材料： カワヤナギ (高崎市から送付)

* -30°C で16時間予備凍結後、液体窒素中に入れた場合

** 0°C 又は -3°C で14日間 Hardening したことを示す

枝は凍結、融解後、50日間水挿してから害を判定した

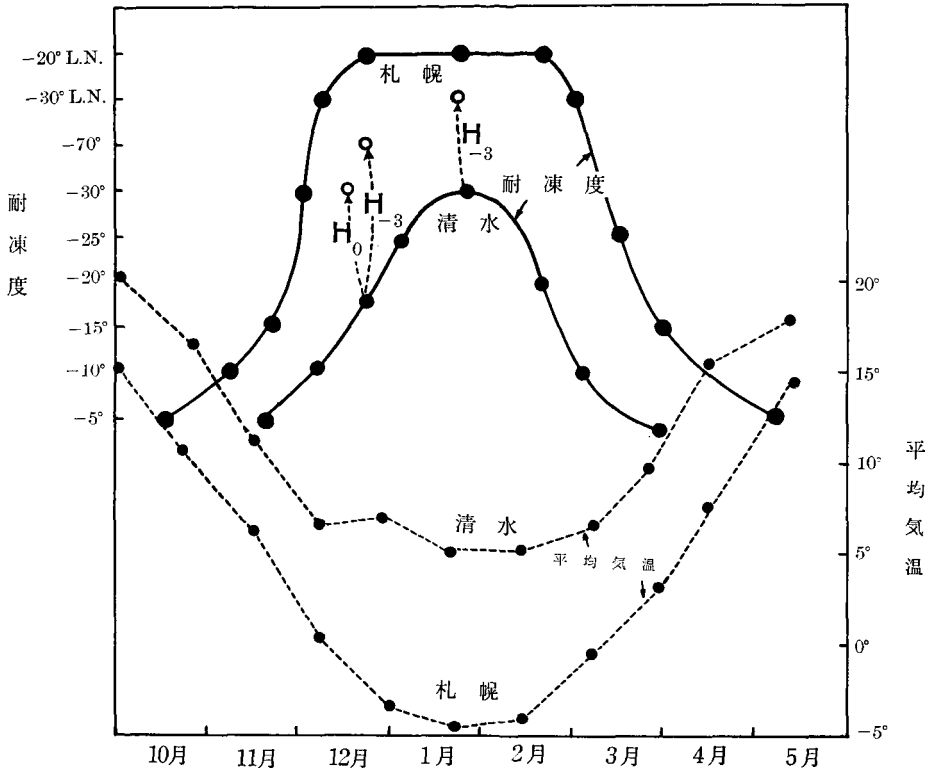
○： 正常に発芽、発根するもの

△： 発芽するが材部に害が認められるもの

●： 枯死又は害が著しいもの

2. 寒冷地と暖地で越冬しているヤナギの耐凍性増大過程の比較

10月から5月までの間、札幌と清水で越冬しているヤナギの枝を用いて、両者の耐凍性増大過程を調べた。なお、札幌の1月の平均気温は約 -6°C 、清水は 5°C である。ヤナギは2週間毎に清水から札幌に送られてきた。第1図に示すように、 -5°C での凍結に耐えるようになる時期は両者の間に約1カ月の差がみられ、耐凍度の最高値もかなり異なる。すなわち、清水の枝は -30°C の凍結に耐えるのが限度であるが、札幌のものは -20°C で予備凍結後、液体窒素中で処理しても生存していた。1月下旬、清水から札幌に送られてきた枝を -3°C で2週間 Hardening した場合には、 -30°C で予備凍結後、液体窒素中で処理しても生存していた。なお、冬に清水から送られてきたシダレヤナギの枝の皮層部には澱粉がほとんど認められなかったが、材部にはかなり多量の澱粉が認められた。しかし、札幌で越冬しているシダレヤナギの枝にはどの組織にも澱粉がほとんど認められなかった。



第1図 札幌と清水で生育中のヤナギの耐凍性増大過程の比較

実験材料： シダレヤナギ

耐凍度は16時間の凍結後、枝が害なく耐えうる最低温度であらわした -30°L.N. , -20°L.N. は、それぞれ -30° , -20°C の各温度で16時間予備凍結後、液体窒素中で処理したことを示す

H_0 , H_{-3} は 0° 又は -3°C で14日間 Hardening したことを示す。なお、矢印はそれらの場合の耐凍度の増加を示す

3. ヤマヤナギの Hardening 効果

国内の各地から冬にヤナギの枝を取り寄せて耐凍度を調べた結果、九州に自生しているヤマヤナギの耐凍度もつとも低いことが判明した。そこで、熊本で自生しているヤマヤナギを11月から1月下旬までの期間、2週間毎に航空便で札幌に枝を送ってもらい、ヤマヤナギの枝の耐凍性増大過程を調べた。このヤナギは九州では他の多くのヤナギより約1カ月おくれて12月中旬頃生長が停止し、12月下旬になって始めて -5°C の凍結に耐え、1月中旬に -10°C 、1月下旬に -13°C の最高値に達した。1月中旬と下旬に採集した枝を 0°C と -3°C で2週間 Hardening したところ、第2表に示すように、 0°C で処理した場合には耐凍性は増加しなかったが、 -3°C で処理した場合にはいずれも著しく増大した。

熊本から札幌に送られてきたヤマヤナギの枝を挿木後、札幌で約1年間生育させて冬に調べたところ、枝は -30°C での予備凍結後の液体窒素処理に耐え、 -20°C で予備凍結後、液体窒素中に入れたものでも、材部に被害が認められたが発芽発根した(第2表)。

第2表 処理温度と Hardening 効果との関係 (ヤマヤナギ)

処 理 条 件	耐凍度 (°C)*
1月8日熊本より送付 (無処理)	-10
1月8日熊本より送付 0°C で 14日間 Hardening	-10
1月8日熊本より送付 -3°C で 14日間 Hardening	-30
1月27日熊本より送付 (無処理)	-13
1月27日熊本より送付 0°C で 14日間 Hardening	-13
1月27日熊本より送付 -3°C で 14日間 Hardening	-70
九州から冬に送られた枝を挿木後、札幌で1年間栽培、越冬中のもの	-30 L.N.**

材料: ヤマヤナギ (熊本市から送付)

* 耐凍度は各温度で 16時間凍結させて害を受けない最低温度であらわした

** -30°C で 16時間予備凍結後、液体窒素中に入れた

第3表 澱粉の糖化に及ぼす処理温度の影響

枝の組織部位	無 処 理	Hardening の温度 (°C)	
		0	-3
皮 層 組 織	— — ± ± ±	— — — ± ±	— — — — —
髓 線	≡ ≡ ≡ ≡ ≡	≡ ≡ ≡ ≡ ≡	± ± ± ± ±
髓 周 辺 組 織	≡ ≡ ≡ ≡ ≡	≡ ≡ ≡ ≡ ≡	± ± ± ± ±

実験期日: 1月27日

材 料: ヤマヤナギの枝 (熊本より送付)

澱粉の含量: 同一の枝から、枝の小片5個をとって各温度で処理した。処理後、枝の小片から横断切片5個宛をとってヨード・ヨードカリ溶液で組織化学的に澱粉を検出し、その量を相対値であらわした

なお、第3表に示すように、1月27日に熊本から送られてきたヤナギの枝の材部には多量の澱粉が認められたが、0°C で Hardening した場合には、この澱粉はほとんど減少しなかった。しかし-3°C で2週間処理した場合には著しく減少した。このように、ヤマヤナギは熊本では1月下旬でも-13°C の凍結にしか耐えないが、これらの枝を十分な寒さにさらせば、かなり低温度の凍結にも耐えられるようになる事がわかった。この事を亜熱帯や熱帯で生育しているヤナギについても見い出せるか否か確かめてみた。

4. 亜熱帯及び熱帯で生育しているヤナギの耐凍性

亜熱帯及び熱帯で生育しているヤナギの枝は、シンガポール植物園から *Salix tetrasperma* が、カイロ植物園から *Salix safsaf* が、ラホールから *Salix caerulea* が、メキシコシティーから *Salix bonplandiana* が、いずれも1~2月に札幌に航空便で送られてきた。これらの地方の年平均気温と1月の平均気温を第4表に示した。これらのヤナギの枝は札幌で温室中で挿木された。活着後、これらの挿穂は無加温のビニールハ

第4表 ヤナギの産地の気温

場 所	年 平 均 温 (°C)	1 月 の 平均気温 (°C)
シンガポール	26.8	26.0
カ イ ロ	21.0	12.4
ラ ホ ール	24.4	12.6
メキシコシティー	15.6	12.0
東 京	14.3	3.2
札 幌	7.4	-5.9

ウス内で生育させたところ、年内に樹高1~2 mに達した。1月中旬までビニールハウス内で寒さに十分にさらしてから、これらの枝の耐凍度を調べた。なお、1月中旬までに観測されたビニールハウス内での最低気温は -12°C であった。

第5表に示すように、いずれの種類ヤナギも -30°C での凍結に耐えたが、 -70°C で凍結させた場合には、発芽するが材部に褐変が認められた。なお、パキスタンのラホールから送られたヤナギは札幌で2度目の越冬をしたが、このヤナギも初年度には -30°C の凍結にしか耐えなかったが、2年目の本年度は -30°C での予備凍結後の液体窒素処理にも耐えた。

第5表 亜熱帯及び熱帯に生育しているヤナギの耐凍度

ヤナギの種類	産地	耐凍度 ($^{\circ}\text{C}$)	
		1年目	2年目
<i>Salix caerulea</i>	ラホール	-30	-30°L.N.
<i>Salix tetrasperma</i>	シンガポール	-30	—
<i>Salix safsaf</i>	カイロ	-30	—
<i>Salix bonplandiana</i>	メキシコシティー	-30	—

実験期日： 1月15日

各ヤナギは1月又は2月に枝を航空便で札幌に送ってもらい、挿木発根後、無加温のビニールハウス中で約1年間生育させ、その中で越冬中の枝を使用した

IV. 考 察

1. 暖地で越冬しているヤナギの耐凍度

前報¹⁾において、北海道で生育しているヤナギやポプラの枝で、Hardening 効果のもっとも高い処理温度が約 -3°C であることが確かめられた。

九州で生育しているヤマヤナギは生長停止のおそいヤナギで、暖冬の年にはほとんど落葉しない。このヤナギの耐凍度の最高値は約 -13°C である。しかし、この枝を札幌に空輸して、 -3°C で2週間 Hardening したとき、 -70°C までの凍結に耐えるようになった。また、冬に札幌に送られたヤマヤナギの枝を挿木活着後、札幌で生育させた場合には、 -30°C での予備凍結後の液体窒素処理にも耐えた。これらの事実から、ヤマヤナギはかなり高い耐凍能力をもっているが、九州では生長停止がおそく、また十分な寒さにさらされないために、自己のもっている耐凍能力を十分に発揮できなかったものと考えられる。また、ヤマヤナギでの実験結果から考えて、北方に自生しているヤナギでも、暖地に自生しているヤナギでも、耐凍性を効果的に高める Hardening 温度はいずれも -3°C 附近にあることがわかる。この事はヤナギやポプラに限らず、カラマツでも確かめられているので¹⁾、すくなくとも落葉性木本類については、かなり普遍的な現象のように考えられる。しかし、常緑樹については、このことはほとんど確かめられていない。

シンガポール、カイロ、ラホール等で生育しているヤナギを札幌で挿木後、生育させて越冬させたところ、いずれのヤナギも -30°C での凍結に耐えた。これらのヤナギはビニールハ

ウス中で徒長生長していたが、次年度にこれを戸外で生育させた場合には、液体窒素処理にも耐えられるようになるものと考えられる。シンガポールの年平均気温は 27°C、1月の平均気温は 26°C で、1月下旬にシンガポールから札幌に送られてきたヤナギの枝はいずれも形成層が活動状態にあった。熱帯では、ヤナギは乾季を除いては1年中生長をつづけているものと考えられる。シンガポールからのヤナギ (*Salix tetrasperma*) は、主としてマレー半島及び中部インドに自生していることが知られている。また、カイロから送られてきたヤナギ (*Salix safsaf*) はアフリカの北東部 (アラブ連合共和国, スーダン, エチオピア) 及び南西部 (アンゴラ, コンゴ) 地方に多く自生しているが、赤道直下のタンザーニカ, コンゴにも自生していることが知られている。

年平均気温が 27°C の熱帯地方に長年生育しているヤナギでも、生長停止後、適当な低温にさらされると、少なくとも -30°C での凍結に耐えられるようになる事は興味あることである。もちろん、どの熱帯植物でも、十分な寒さにあわせれば低温での凍結に耐えられるようになるとは限らない。なぜならば、温帯にある植物でも、耐凍能力は植物の種類によってあるていど決定されているからである。しかし、耐凍性のある植物では、生長停止後、寒さに十分にさらせば、程度の差はあるが、耐凍度はかなり高まるものと考えられる。

同一種類の植物でも、生育場所の冬の気温によって、植物が示す耐凍度は著しく異なる。東京以西の平坦地では、1月の平均気温が 3~6°C で、植物のもっている耐凍能力を充分に発揮させる温度条件にはない。生育場所の冬の気温が耐凍度に及ぼす影響を調べる場合に、見い出された耐凍度の差が環境要因によるか、個体誤差によるかを区別することが必要である。実生で増殖している林木の場合には、一般に個体間の耐凍能力にかなりの差があることが見い出されている⁹⁾。しかし、同一のヤナギの同一の枝からとった挿木苗を実験に使用すれば、個体誤差はかなり少なくなるはずである。生育場所の冬の気温が耐凍度に及ぼす影響を詳細に調べるために、北海道に自生しているヲノエヤナギの同一の木から多数の挿穂苗を作って今春、八丈島、熊本、清水、青森の各地に苗を送って栽培を依頼した。冬に航空便で各地から枝をとりよせて耐凍度を調べる予定である。

とにかく、冬にある場所で、ことに暖地で植物の耐凍度ははかっても、得られた値は、その生育条件下で発現している耐凍度であって、必ずしもその植物が生来もっている耐凍能力を充分現わしているとは限らない。したがって、植物のもっている耐凍能力を知るためには、植物を十分な寒さにあわせて、その植物の耐凍性を十分に高めてから耐凍度を測ることが必要である。植物の耐凍度は外囲温度のほか、生育場所の排水状態、肥培条件等によってもかなり異なるが、この問題については省略する。

2. 澱粉を糖化する最適温度

1月下旬に高崎から送られてきたヤナギの枝の皮層部には澱粉はほとんど認められなかったが、材部の髓線や髓周辺組織には多量の澱粉が認められた。この枝を 0°C で Hardening しても澱粉はほとんど糖化しなかったが、-3°C で Hardening した場合には、ほとんど完全に糖化した。同様なことが清水からのシダレヤナギや九州からのヤマヤナギについても観察され

た。材部の組織中の澱粉は、一般に、 -3°C で 20 日間位処理するとほとんど糖化してしまう。また、前報¹⁾ で述べたように、木の枝の組織中、材部の組織がもつとも耐凍度が低い。これらの事実から暖地では材部中の澱粉が糖化されがたいために、枝全体としての耐凍度が充分に高まらないものと考えられる。

前報¹⁾ においては Hardening 中におこる澱粉の減少を組織化学的に調べて、澱粉から糖への変化の傾向を知った。しかし、この方法では実際に澱粉から糖への変化がおきているか否か明らかでない。最近、著者⁵⁾ は同一の枝からとった枝の小片をいろいろな温度で Hardening した後、材部と皮層部にわけて澱粉と可溶性糖類を定量したが、澱粉が糖化する最適温度は皮層部も材部も $-3\sim-5^{\circ}\text{C}$ にあることが判った。また、澱粉の減少する時にはつねに糖の増加することが認められた。なお、 -15°C 以下の温度では澱粉の糖化はほとんど起こらなかった。

最近、Ogolevets (1964)⁶⁾ はリンゴとシラカバの枝を用いて氷点下での Hardening 中におこる澱粉、糖、ヘミセルローズの消長を調べている。彼は $-5, -10, -15, -20^{\circ}\text{C}$ の各温度で順次 12 日間宛処理し、漸次温度をさげて 48 日間 Hardening を行なっている。そして、12 日間毎に上記の物質について定量している。彼は -20°C においた場合でも、耐凍度も糖もわずかながら増加すると述べている。しかし、彼の実験では、物質の変動は皮層組織を用い、耐凍度の測定は枝全体を用いて行なっている。前に述べたように、枝全体の耐凍度は枝の組織中もつとも耐凍度の低い材部の組織によって支配されるので、皮層細胞に含まれている物質でなく、材部中の物質の変動と、枝の耐凍度とを関連させるべきである。また、彼の実験は $-5, -10, -15, -20^{\circ}\text{C}$ の各温度で、初めから同一期間 Hardening することをしていないので、この方法では澱粉が糖化する最適温度はつかみがたい。さらに、彼は糖の量として、単糖類と二糖類しか調べていないが、どの樹種でも秋から冬にかけて、三糖類のラフィノーズや四糖類のスタキオースが著しく増加することが知られているので^{7), 8)}、彼の測定方法では糖類のすべてを定量しているとはいえない。

Hardening 中に増加する糖の量は、澱粉から変化した糖の量と処理中に呼吸によって消費された糖の量との差であるが、呼吸によって消費された糖の量は測定しがたい。糖を生成する酵素系は、最近、いろいろな植物についてかなり解明されてきたが⁹⁾、低温下で澱粉を糖化する酵素系については、今のところほとんど解明されていない。

摘 要

1. Hardening の最適温度は暖地に生育しているヤナギも、寒冷地のものでも同じように -3°C 附近にある。

2. 暖地に生育しているヤナギは、北海道のものどちがつて、1月下旬でも材部の組織中にかなり多量の澱粉を含んでいる。これらの枝を -3°C で Hardening すると材部の澱粉が糖化するし、枝全体としての耐凍度も著しく高まる。

3. シンガポール、カイロ、ラホール等の熱帯及び亜熱帯に生育しているヤナギでも、生長停止後、寒さに充分にさらすと少なくとも -30°C の凍結に耐えられるようになる。

4. これらの事実から温暖地方や熱帯地方に生育しているヤナギでも、かなり低温度での凍結に耐える能力をもっているが、寒さに十分にさらされないために、生来もっている耐凍能力を十分に発揮できないものと考えられる。

文 献

- 1) 酒井 昭 1964 木本類の耐凍性増大過程 X. 枝の耐凍性を効果的にたかめる温度. 低温科学, 生物篇, **22**, 29-50.
- 2) 酒井 昭 1963 超低温における植物の生存 III. 耐凍性の大きさと効果的予備凍結温度との関係. 低温科学, 生物篇, **21**, 1-16.
- 3) Sakai, A. 1965 Determining the degree of frost-hardiness in highly hardy plants. *Nature*, **206**, 1064.
- 4) 江口 完・薄井五郎・鈴木 巖・前田 勉 1965 スギの耐凍性に関する研究(第1報). 道南地方にあるスギの外形的な型と耐凍性との関係. 日林誌, **47**, 45-50.
- 5) 酒井 昭 未発表.
- 6) Оголевец, И. В. 1964 Изменение углеводного комплекса в коре деревьев при воздействии отрицательных температур. Физиология Растений, **11**, 889-896.
- 7) 酒井 昭 1960 木本類の耐凍性増大過程 VII. 糖類の季節的変動(2). 低温科学, 生物篇, **18**, 1-14.
- 8) Sakai, A. 1962 Studies on the frost-hardiness of woody plants. I. The causal relation between sugar content and frost-hardiness. *Contr. Inst. Low Temp. Sci.*, **B11**, 1-40.
- 9) Akazawa, T., Minamikawa, T. and Murata, T. 1964 Enzymic mechanism of starch synthesis in ripening rice grains. *Plant Physiol.*, **39**, 371-376.

Summary

To clarify the mechanism of frost hardening in woody plants, the seasonal fluctuation of frost-hardiness and the temperature most effective in producing maximum frost-hardiness were studied in the twigs of willows growing in warm and hot climates.

1. In midwinter, there was no starch in the xylem cells of any of the twigs from Sapporo, but there was always starch in the xylem cells of the twigs from Kanto and other warm districts. When twigs containing starch in xylem were subjected to a temperature of -3°C for 14 days, considerable starch-to-sugar conversion took place in the xylem cells with a concomitant increase in the frost hardiness. However exposure for 14 days to 0°C produced no appreciable increase either in the sugar content or the frost-hardiness.

It was also found that the optimum temperature for converting starch into sugar during hardening seemed to be about -3°C in all of the twigs tested, irrespective of the environmental temperature.

2. The tenderest willow (*Salix Sieboldiana*) growing in Kyushu can withstand freezing at -13°C even in midwinter. When winter twigs from the willow were sent to Sapporo by air and then hardened at -3°C for 14 days, they could withstand freezing at -70°C . However exposure for 14 days at 0°C increased the frost-hardiness only slightly. After planting these twigs in Sapporo, they could survive even immersion in liquid nitrogen following pre-freezing at -30°C in the following winter.

Twigs from willows growing in Singapore, Cairo, Lahore and Mexico City were sent to Sapporo where they were planted and allowed to grow for one year. The following winter, these twigs could withstand freezing at -30°C for a day. From these facts, it seems apparent that even the willows growing in warm and hot climates have the ability to withstand deep freezing, but this cannot be fully exhibited because they are never exposed to temperatures low enough to develop it under natural conditions.