



Title	植物の細胞外凍結による被害温度範囲
Author(s)	酒井, 昭
Citation	低温科学. 生物篇, 28, 73-78
Issue Date	1971-01-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/17772">http://hdl.handle.net/2115/17772</a>
Type	bulletin (article)
File Information	28_p73-78.pdf



[Instructions for use](#)

## 植物の細胞外凍結による被害温度範囲\*

酒 井 昭

(低温科学研究所)

(昭和45年8月受理)

### I. 緒 言

植物を細胞外凍結状態でゆっくり冷却した場合、害を受ける最低温度を知ることは生物の凍害や超低温での生存のしくみを明らかにする上で重要である。しかし著者の知るかぎり、こうした研究はほとんど行なわれていない<sup>1)</sup>。その理由は $-70^{\circ}\text{C}$ 以下の温度で初めて害を受ける植物の数が非常に少ないことと、 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下約 $-120^{\circ}\text{C}$ までの温度において現われる被害の程度を識別することが困難であるためと思われる。過去4年間の予備実験で北海道に自生、および植栽されている約150種の木の耐凍度が明らかになり、上記の実験目的にかなう樹種を選んで実験を行なうことが可能になった。

実験材料を送付して頂いた北大苫小牧演習林前田技官に深く謝意を表します。

### II. 材料と方法

実験材料は北大構内および北大苫小牧演習林内に植栽のものを使用した。実験材料としてつぎの樹種を用いた。

アズキナシ *Sorbus alnifolia* K. Koch, ミズキ *Cornus controversa* Hemsl., ミズナラ *Quercus mongolica* var. *grosseserrata* Rehd. et Wils., センノキ *Kalopanax septemlobus* Koidz., ズミ *Malus Sieboldii* Rehd., キハダ *Phellodendron amurense* Rupr., エゾウツギ *Acanthopanax senticosus* Harms, ヤチダモ *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* Maxim., オニグルミ *Juglans Sieboldiana* Maxim., オノエヤナギ *Salix sachalinensis* Fr. Schm., ヤマヤナギ *Salix Sieboldiana* Seemen, ソ連邦ノボンビリスクから送られたシベリア自生のヤナギ *Salix Dasyclados* Wimm., *Salix Daphnoides* Vill., *Salix Triandora*, Linn., アメリカカラマツ *Larix laricina* K. Koch.

実験にはその年に伸長した枝の先端部のみを使用し、各実験には約15cmの長さに切った枝5~7本を使用した。枝は $-5^{\circ}\text{C}$ で凍結後、2時間毎に $5^{\circ}\text{C}$ ずつ低い恒温箱に順に移し、 $-30^{\circ}\text{C}$ に達したのちその温度に16時間おいた。その後約 $-120^{\circ}\text{C}$ まで冷却可能な超低温装置に移し、2時間毎に $10^{\circ}\text{C}$ ずつ温度を下げ所定温度まで冷却した。融解は $0^{\circ}\text{C}$ または $10^{\circ}\text{C}$ の空中で行なった。 $-120^{\circ}\text{C}$ 以下 $-150^{\circ}\text{C}$ または $-180^{\circ}\text{C}$ に冷却する場合は、 $-120^{\circ}\text{C}$ から液体窒素で冷やされた $-150^{\circ}\text{C}$ または $-180^{\circ}\text{C}$ の空中に移して冷却した。その場合の平均冷却速度

\* 北海道大学低温科学研究所業績 第1119号

は秒速約 1~2°C であった。

枝の各組織の被害程度は融解後 2 カ月間室温で水挿してから、芽の伸長状態、枝の各組織の褐変度を調べて判定した。枝の材の被害程度はその褐変度から判定し、0, 1, 2, 3, 4 の 5 等級に分類した。この場合数字の増加は被害程度の増加を示す。一系列の実験に用いた 4~7 本の枝の全被害度は  $\sum_n^{0-4} b$  で表わした。 $n$  は一系列の実験に使用した枝の本数、 $b$  は褐変度を示す。またオノエヤナギの枝の融解後における生長の阻害は 2 カ月間の水挿中に発生した根および新梢の全重量で表わした。

### III. 結 果

細胞外凍結で -25°C 以低の各温度まで冷却された冬の木の枝の被害温度範囲を第 1 表に示す。凍害を受ける温度は樹種および組織によって異なるが、用いた材料では少なくとも -70°C にまで及んでいる。冬の木の枝の場合には、一般に靱皮組織がもっとも耐凍度が高く、枝の組織中材組織がもっとも低い。そのため、枝全体としての耐凍度は材組織の耐凍度に支配される。

-70°C までの凍結によって害を受けなかったヤナギとアメリカカラマツの枝を -70°C 以低 -120°C までの各温度に冷却した。-120°C まで冷却されたものをさらに -150°C または -180°C の空中に入れて冷却し、そこに 2 時間おいた。第 2 表に示すように、ヤナギの材組織およびアメリカカラマツの冬芽は -70°C 以低、-100~-120°C の温度範囲まで温度低下につれて害が増加した。しかし -120°C 以低、-150°C または -180°C まで冷却しても害の増加はほとんど認められなかった。-120°C まで冷却されたヤナギの枝の靱皮組織は外観上正常で不定根を出し、開葉していたが、材組織は害されていた。なお、-70°C 以低の温度で害を受ける

第 1 表 枝の各組織の被害温度

樹 種	被害温度範囲 (°C)	被 害 組 織
アズキナシ	-25~-30	材
ミ ズ キ	-25~-30	材
ミ ズ ナ ラ	-30~-40	材, 芽
セ ン ノ キ	-30~-40	材
ズ ミ	-30~-40	材, 芽
アズキナシ	-30~-40	材, 靱皮組織
キ ハ ダ	-40~-50	材
ウ コ ギ	-40~-50	材
ヤ チ ダ モ	-40~-50	材
オニグルミ	-50~-60	材
オノエヤナギ (11月20日)	-50~-60	材
アメリカカラマツ (12月26日)	-55~-70	芽
ヤ チ ダ モ	-60~-70	芽
オノエヤナギ (12月20日)	-60~-70	材

採集期日を記していないものはいずれも 12 月下旬に採集

第2表 -70°C 以下の各温度まで冷却されたヤナギの枝の材  
およびカラマツの冬芽の被害程度

樹 種	凍 結 温 度 (°C)					
	-70	-90	-100	-120	-150	-180
オノエヤナギ (3月19日)	0*	4	5	10	11	—
ヤナギ (ダシクラドス) (11月15日)	1	3	6	—	6	—
オノエヤナギ (3月23日)	2	10	13	16	—	16
ヤマヤナギ (3月5日)	7	13	—	12	12	—
ヤナギ (ダフノイデス) (11月15日)	—	6	12	—	11	—
アメリカカラマツ (12月26日)	80**	50	15	—	10	—

\* ヤナギの枝の材における被害度は褐変度を0, 1, 2, 3, 4の5段階に分類し, それを総計した全被害度  $\left\{ \sum_{n=27}^{0-14} b \right\}$  で表わした.  $n$  は一列の実験に用いた枝の本数,  $b$  は褐変度

\*\* カラマツの芽の被害度は使用した枝の芽の総数に対する開葉した芽の百分率で表わした

第3表 -70°C 以下の各温度まで冷却されたオノエヤナギ  
の枝の被害程度 (3月31日)

	凍 結 温 度 (°C)				
	-70	-85	-100	-120	-180
枝の材の被害度*	4	13	18	19	17
根の重量 (mg)**	227 (100)	140 (62)	85 (38)	45 (20)	36 (16)
新梢の重量 (mg)**	561 (100)	392 (70)	181 (32)	181 (32)	186 (33)

\* 第2表参照

\*\* 融解後2カ月間室温で水挿し, 材の褐変度を調べたのち, 根と新梢の重量を測定した。カッコ内の数字は -70°C で凍結した枝の根および新梢の重量に対する百分率を示す

ヤナギやカラマツの枝も厳寒期には -120°C 以下の凍結でも害を受けなくなる。さらに細胞外凍結によって害される最低温度を知るために, -70°C 以下 -180°C までの各温度に冷却されたオノエヤナギの枝を2カ月間水挿し, それらの材組織の褐変度を調べた。その後それらの枝から出ている根と新梢の重量を測定した。第3表に示すように, -70°C 以下少なくとも -100°C までは材の褐変度と比例して, 温度低下につれて根および新梢の重量は減少する傾向が認められた。

凍害を生ずる温度範囲が明らかになったので, その温度範囲を比較的早く通過させることによって被害を軽減させることが予想される。このことを確かめるために, -30~-50°C までの凍結にしか耐えないヤナギ, シラカバの枝を用いて, いろいろの条件で冷却された枝の被害度を調べた。第4表に一括して示すように, -30°C まで予備凍結後 -150°C の空中に移して冷却し, ついで 10°C の空中で加温した場合には無害か, 被害が軽減された。しかし -30°C までの凍結しか耐えないマカンバは同一条件で冷却しても被害は軽減されなかった。

第4表 異なった条件で超低温まで冷却された枝の被害程度

冷 却 条 件	枝 の 凍 害		
	マ カ ン バ (12月25日)	ヤ ナ ギ (トリアンドラ) (11月11日)	ヤ ナ ギ (ダフノイデス) (11月11日)
-30	○	0	0
-40	△	0	0
-50	△	0	0
-70	△	5	7
-100	△	6	12
-30 LN	△	—	5
-30→-150*	△	2	2
-20 LN	△		
-15 LN	●	16	16
-15→-150*	—	16	16

融解はいずれも 10°C の空中で行なった

-15 LN, -20 LN, -30 LN: -15, -20 および -30°C の各温度で予備凍結後液体窒素に入れたことを示す

\* -15 および -30°C で凍結後 -150°C の空中に入れて冷却

マカンバの枝の被害は○ (正常), △ (害), ● (死) で表わし, ヤナギの枝の材における被害は全被害度で表わした (第1表参照)。各温度で4本宛凍結した

#### IV. 考 察

細胞外凍結状態で連続的に -70°C 以低 -120°C まで冷却する時, -70°C 以低 -100~ -120°C の温度範囲まで, 温度の低下につれて被害が増加する。しかし, -120°C 以低 -150°C または -180°C まで冷却しても被害はそれ以上ほとんど増さなかった。Krasavtsev<sup>2,3)</sup> は位差熱測定装置でいろいろの木の枝を用い -10°C から -60°C までの温度範囲で細胞内の凍りうる水の量を詳細に測定している。さらに彼は各温度に1日間おいて凍結の結果発生する熱量の時間的経過も詳細に測定している。彼の結果によれば, 凍りうる水の量は木の種類によってかなり異なるが, 少なくとも -60°C まで温度の低下につれて増加する。彼の使用した測定装置では -60°C 以高の温度でしか測定できないが, 彼はそれ以低の温度でも樹種によっては細胞外凍結による脱水がつづいているものと考えている。著者<sup>4)</sup> の実験では, チョウセンゴヨウマツ, ストローブマツの枝は細胞外凍結状態で連続的に冷却する場合には少なくとも -120°C までの凍結に耐えるが, チョウセンゴヨウマツは -40°C 以高, ストローブマツは -50°C 以高で予備凍結後, 液体窒素中に入れた場合は殺され, -50°C や -60°C でそれぞれ予備凍結後液体窒素中に入れた場合は致命的でなかった。この実験の場合, これらの枝は液体窒素に入れてから -30°C の空中に取出しそこに2時間おいてから 0°C の空中でゆっくり融解された。これらの事実はこれらの針葉樹の冬の枝は -50~-60°C まで冷却されてもなお細胞内に凍りうる水があるていど残存していることを示しているものと考えられる。現在のところ, 細胞外凍結状態で -100°C または -120°C まで冷却された枝の材において認められた害がどうしておこったかは明らかでない。

-40~-50°Cまでの凍結にしか耐えられない枝を、-50°Cから約-120°Cまでの凍害発生温度範囲を比較的早く通過させて凍害を軽減する場合には次の3つの条件を充すよう考慮することが必要である。1. 冷却中に細胞外凍結による脱水が進行しないこと、2. 冷却中に致命的な細胞内凍結をおこさないこと、3. 冷却中に細胞内に微氷晶が生じてそれが有害となる程度に生長する十分な時間を与えないこと。

シラカバ、ヤナギ等の耐凍度のもっとも高い冬の枝でも-20°C以下の温度で凍結しているものを30°Cの水中に入れて急速融解すると殺される。この場合、耐凍度の高いものほど急速融解後生存できる凍結温度は低くなる傾向が認められる。たとえば、シラカバは-18°C、オノエヤナギは約-15°Cである。枝の皮層組織切片は-10~-15°Cまで予備凍結して部分的に脱水後液体窒素中に入れ、ついで30°Cの温水中で急速加温すれば生存させることができる<sup>5,6)</sup>。しかし枝ではこの方法は適用できない。上に述べた3つの条件を充す冷却、加温方法は-30°Cまで予備凍結後-150°Cの空中に入れて冷却し(1~2°C/秒)、ついで10°Cの空中で加温(1~2°C/秒)することである。この方法で-40~-50°Cの凍結にしか耐えないヤナギやポプラの枝を比較的害なく-150°C以下の温度にまで冷却できた。しかし約-30°Cまでの凍結にしか耐えない枝を、-30°Cまで予備凍結後-150°Cの空中で冷却すると、冷却中に凍結があるていど進み害される。

したがってこの方法は予備凍結後の冷却中に細胞内凍結をおこしやすい材料や-30°C程度の凍結にしか耐えない耐凍度の比較的低い材料では適用できないようである。このことについてさらには多くの材料で検討してみたい。

## V. 摘 要

細胞外凍結状態で冷却された木の枝の被害温度は-70°C以下-100~-120°Cの温度範囲にまでおよんでいる。しかし-120°C以下さらに-150°Cおよび-180°Cまで冷却されても被害はそれ以上進まないようである。

## 文 献

- 1) Parker, J. 1960 Survival of woody plants at extremely low temperatures. *Nature*, **187**, 1133-1134.
- 2) Туманов, И. И. и Красавцев, О. А. 1959 Закаливание северных древесных растений отрицательными температурами. *Физиол. Растений*, **6**, 654-667.
- 3) Krasavtsev, O. A. 1967 Frost hardening of woody plants at temperatures below zero. In Cellular Injury and Resistance in Freezing Organisms. (É. Asahina, ed.), Inst. Low Temp. Sci., Sapporo, 131-141.
- 4) 酒井 昭 1967 超低温における植物組織の生存 V. 耐凍性の大きさと効果的予備凍結温度との関係 2. 低温科学, 生物篇, **25**, 1-7.
- 5) Sakai, A., Ôtsuka, K. and Yoshida, S. 1968 Mechanism of survival in plant cells at super-low temperatures by rapid cooling and rewarming. *Cryobiology*, **4**, 165-173.
- 6) Sakai, A. 1965 Survival of plant tissue at super-low temperatures III. Relation between effective prefreezing temperatures and degree of frost hardiness. *Plant Physiol.*, **40**, 882-887.

### Summary

This paper deals with the lowest range of temperature causing injury to plant cells by extracellular freezing. Some winter twigs which can survive freezing down to  $-70^{\circ}\text{C}$  were further cooled down to  $-120^{\circ}\text{C}$  at  $10^{\circ}\text{C}$  steps at one hour intervals. It was found that freezing injury in the xylem increased with the decreasing temperatures down to a temperature range of  $-100^{\circ}$  to  $-120^{\circ}\text{C}$ . The total weight of roots which developed from these frozen twigs planted in water for 60 days after thawing decreased with the decreasing temperatures. However, when some of these twigs were further transferred to air maintained at  $-150^{\circ}\text{C}$  or  $-180^{\circ}\text{C}$  from  $-120^{\circ}\text{C}$ , little or no additional increase in freezing injury was observed in the twigs. From these facts it seems apparent that the temperature in which twigs are injured by extracellular freezing ranges all the way from a few degrees below the freezing point to  $-120^{\circ}\text{C}$  or thereabouts.