



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	クワの人工的 hardening
Author(s)	青木, 廉; AOKI, Kiyoshi
Citation	低温科学. 生物篇, 13, 13-20
Issue Date	1955-12-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17574
Type	departmental bulletin paper
File Information	13_p13-20.pdf



クワの人工的 hardening***

青 木 廉

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和30年9月受理)

I.

秋から冬にかけて成長の止まる頃から植物は寒さに対する抵抗性を次第に獲得してくる。この時期には植物体内にもいろいろの変化が現われてくる。たとえば含水量の減少、細胞の滲透濃度の増大、糖分の増加、細胞の水に対する透過性の増大、糖分の分解合成の平衡の変化等の起ることが知られている。これらの変化と耐寒性との平行関係の有無を調べ耐寒性の本態を明らかにしようとの努力が現在多くの人々によつてなされている。一方凍結という面からみると寒さに対して抵抗性の強い植物の細胞は冬になると細胞内部が凍りにくくなるのに対し、弱いものでは依然として凍り易い^{1),3)}。一般に細胞内部が凍るとその細胞は殆んど例外なく死んでしまうが、細胞外凍結の場合はその凍結の程度及び持続時間によつて左右されるが、致命的障害を受けない場合が多い。前に述べたように、時期により、また寒さに対する強弱により細胞の凍結様式に差があるわけで、当然この差は凍結曲線の型の上にも反映してくるはずである。

植物の寒さに対する抵抗性は自然状態におけるばかりでなく、適當の条件の下では低温環境にさらすことによつて人工的にも増大され得ることはコムギ、キャベツ等について数多く報告されているし、また寒さに強いテーブルビートについても人工的に耐寒性を増強させる、すなわち人工的 hardening の可能のことを細胞の凍結様式及び凍結曲線の型の変化から確かめられている¹⁾。クワも適當の条件の下で低温にさらした場合耐寒性を有する品種と有しない品種とでは寒さに対する反応の異なることは当然予想される。

耐寒性という言葉は広い意味に用いられている。寒冷といつてもそれは必ずしも 0°C 以下の温度を意味するものではなく、その植物に対して適當の温度範囲以下の温度を指すばあいも多い。しかしここで問題としているのはクワの氷点以下の温度範囲においての抵抗性であり、そこには当然凍結が起り得るので、実際には凍結に対する抵抗性を調べるのである。冬にその氷点以下の温度にさらされる植物で耐寒性の強いということは凍結に対する抵抗性が強いことである。事実クワの寒冷による害、いわゆる1年生の枝の先枯として現われてくるものは凍結による害である。この意味で本報告中では凍結に対する抵抗性ということをはつきりさせるために耐凍性という言葉を用いることにする。

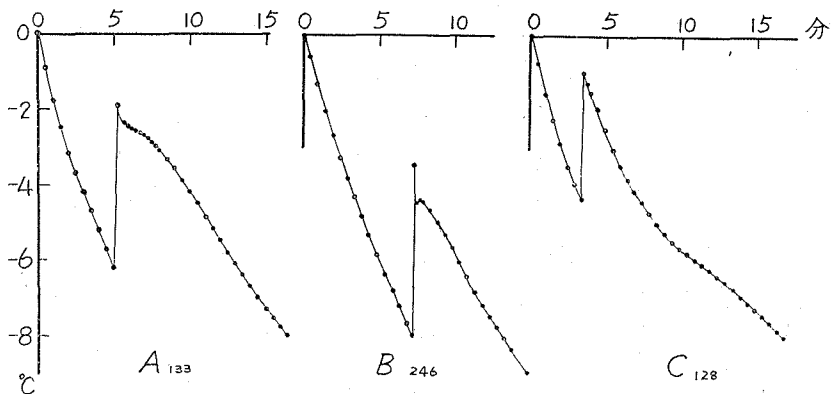
* 北海道大学低温科学研究所業績 第297号

** 農林省、農業、蚕糸業、林業及び水産業に関する科学研究助成金による。

hardening 処理されたものが耐凍性を得たか否かの判定は種々の条件の下で、実際に凍結させた後、枝がどの程度障害を受けたかを調べるのが一番直接的で確かである。この実験では凍結曲線の型の変化から障害の程度の判定を驗みた。この他、原形質分離等によつてどの程度細胞が生き残つたかを基準として調べたがそれは別報として報告してある¹⁾。凍結曲線の型の比較は主として二度目の凍結で得られた曲線(以下再凍結曲線と呼ぶ)について行つた。最初の凍結(初凍結)で細胞が殆んど障害を受けたような場合、融かした後得られた再凍結曲線の型は全く異なつてくる²⁾。すべての細胞が障害を受けている組織中ではどこでも氷はだいたい同じ速さで生成されるが、正常の組織中では氷の生成速度、つまり単位時間に生ずる氷の量は場所によつて異なる。その結果死組織の凍結曲線は単一な頂点部の円味をおびた滑らかな曲線となるが、正常の組織のものでは棘が現われたり、曲線の傾斜が急に變つたりする。したがつて再凍結曲線は初凍結曲線よりずれてくるが、その程度によつて定性的にはあるが、初凍結のときどの程度凍結に対して抵抗性があつたか、だいたいの判定はつく。この理由で主として再凍結曲線の型を調べた。

II.

實驗 1. 実験は 1953 年 10 月より 11 月にかけて行われた。桑園より切りとつてきた 70~80 cm の長さの枝の葉を全部とり、すべての切り口に厚くワゼリンを塗り、水挿しをしたまま 0°~-1°C の冷蔵庫に 10 日間放置した。この間殆んど光はなく*、且つ恒温である。このように処理された枝の径約 6 mm の部分より長さ 15 mm の小片を切りとりその凍結曲線をとつてみた(第 1 図)。凍結曲線のとり方は前報²⁾を参照されたい。これらの凍結曲線の型は同じ時期の低温処理を受けないもの(前報²⁾の第 1 図)と比べてほとんど差は認められない。**もし harde-



第 1 圖 hardening 処理した切枝の凍結曲線(水挿し)

A—タキノガワ(10月); B—タキノガワ(11月); C—ヤトメ(10月)

曲線の点は 30 秒と 15 秒毎の温度(以下各図とも同じ)

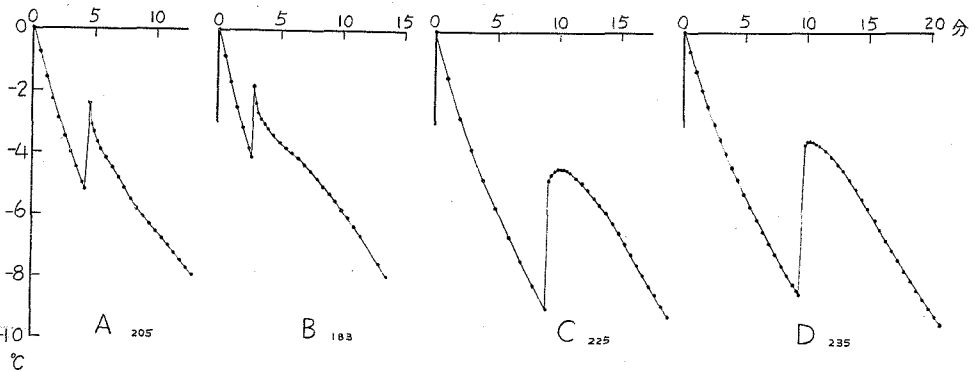
* 熱源として入れてある電球(30 W)の点滅により多少光はある。

** 前報の材料は桑園より採取直後のものであり、この実験の枝は 10 日間水挿ししてあるので型は少し異なるが本質的の差は認められない。

ning 効果があつたとすれば曲線の型はもつと冬型，すなわち耐凍性の強くなつた時の凍結曲線の型に近づくと思されるので，上の結果では hardening 効果はなかつたということになる。

次に同様に hardening 処理した枝の再凍結曲線は第2図である。初凍結の最低温度が -19°C 以上で，且つ凍結時間が30分以内の場合は初凍結曲線(A)と再凍結曲線(B)の型はほとんど変わらない。この程度の凍結ではだいたい両者とも凍害を受けなかつたということが出来る。しかし初凍結をつよくした場合，すなわち $-22^{\circ}\sim-24^{\circ}\text{C}$ で23~24時間凍結すると，タキノガワ，ヤトメ共に完全に凍害を受けて hardening 処理されたものも，されない対照と区別がつかない(CとD)。

以上の結果からは10月，11月という季節，この時期には成長は停止し耐凍性はかなりの程度自然に得られているにもかかわらず，この実験の切枝，水挿し，暗黒，低温という条件の下では hardening 効果，つまり耐凍性を増大させることはできないと結論される。

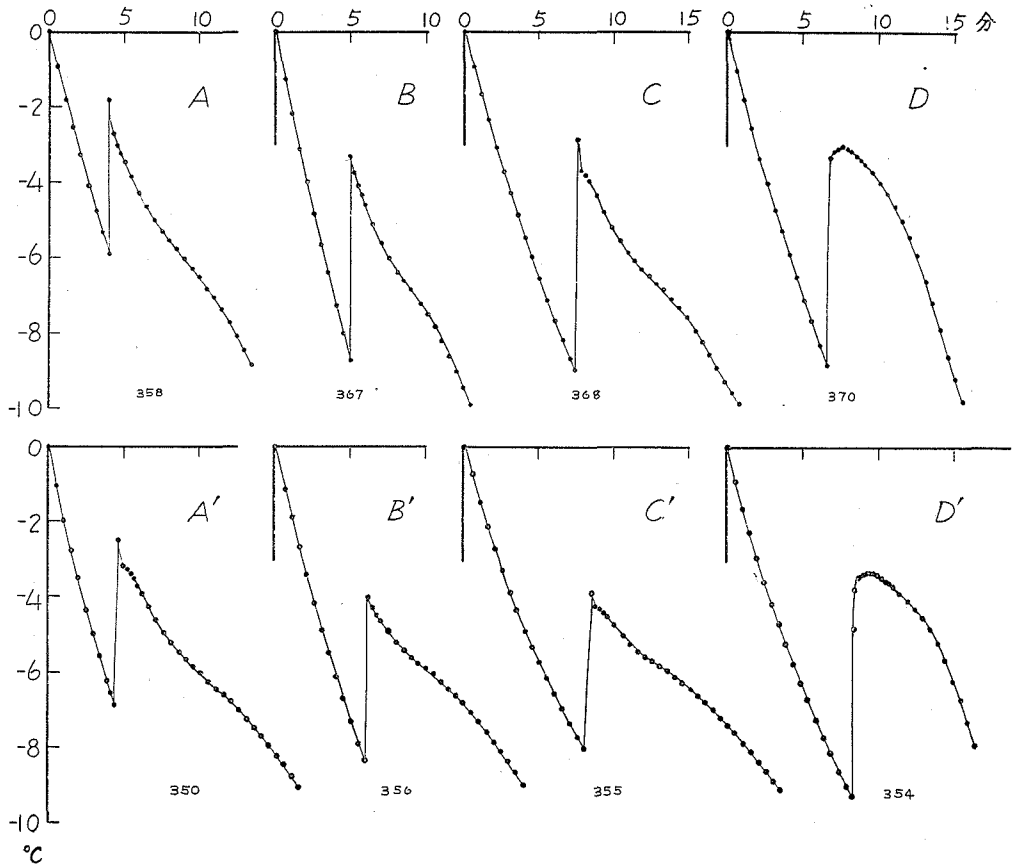


第2圖 hardening 処理した切枝の再凍結曲線

A—ヤトメ(11月) hardening 処理をしないばあいの凍結曲線(対照)；B—hardening 処理されたものの再凍結曲線(初凍結は最終温度 -19°C ，凍結時間20分)；C—タキノガワ(11月)同上(初凍結 -24°C で23時間)；D—ヤトメ(11月)同上(初凍結 -22°C で24時間)

実験2. hardening という現象の根本的のことは体内で，ある一連の特別の物質代謝が行われることで，その結果凍結に対する抵抗性という性質が現われてくると考えられる。したがって低温環境にさらされている間に体内において必要な代謝活動が十分に進行できるような条件の必要なことはいうまでもない。そうすると実験1における hardening の条件には非常に無理があることになる。植物体側における無理を少しでも軽くするために葉，根のついたままの木全体を低温にさらしてみた。材料は鉢植えの，ケンモチとネコヤタカスケの2種で9月に実験を行つたが，枝の状態は余り良好とはいえない。hardening の条件は次のようなものである。処理温度はだいたい 0°C ，光は30Wの蛍光灯で毎日約9時間だけ与え，10日間この条件下においた。この間に凍結に対する抵抗性が高まつたとしても品種によつてその程度に当然差が現われるにちがいないと考え，初凍結を -2.5°C ， -5.0°C ， -10°C と3種類の温度で

行い比較してみたのである。処理された枝の中部から約 15 cm 位を切りとり、両端に水を含んでいる脱脂綿をあて、ビニール布で包み*、それぞれ前述の温度の恒温箱中に 13 時間放置、凍結させた。その後室温で 3~4 時間放置、充分融かしてから再凍結曲線をとつた。その結果の一例を第 3 図に示してある。対照としては hardening 処理をしない系列 (A-D) をとつた。対照においても -2.5°C 及び -5.0°C で各々初凍結した後とつた再凍結曲線 (B と C) の型は全然予め凍結していないものの凍結曲線 (A) と本質的の差は全く見られないが、 -10°C で初凍結を行つたものでは完全な死組織の凍結曲線、すなわち頂点の円味をおびた単一曲線が得られている。hardening 処理を行つた系列についても対照系列と比べほとんど差は認められない。すなわち hardening 処理の有無にかかわらず、初凍結温度が -5°C 以上であれば、約 13 時間の凍結によつてはほとんど凍結による障害を受けないこととなり、いかえれば hardening 処理の効果はほとんど認められないといえる。ケンモチについてもだいたい同じ様な結果が得られ



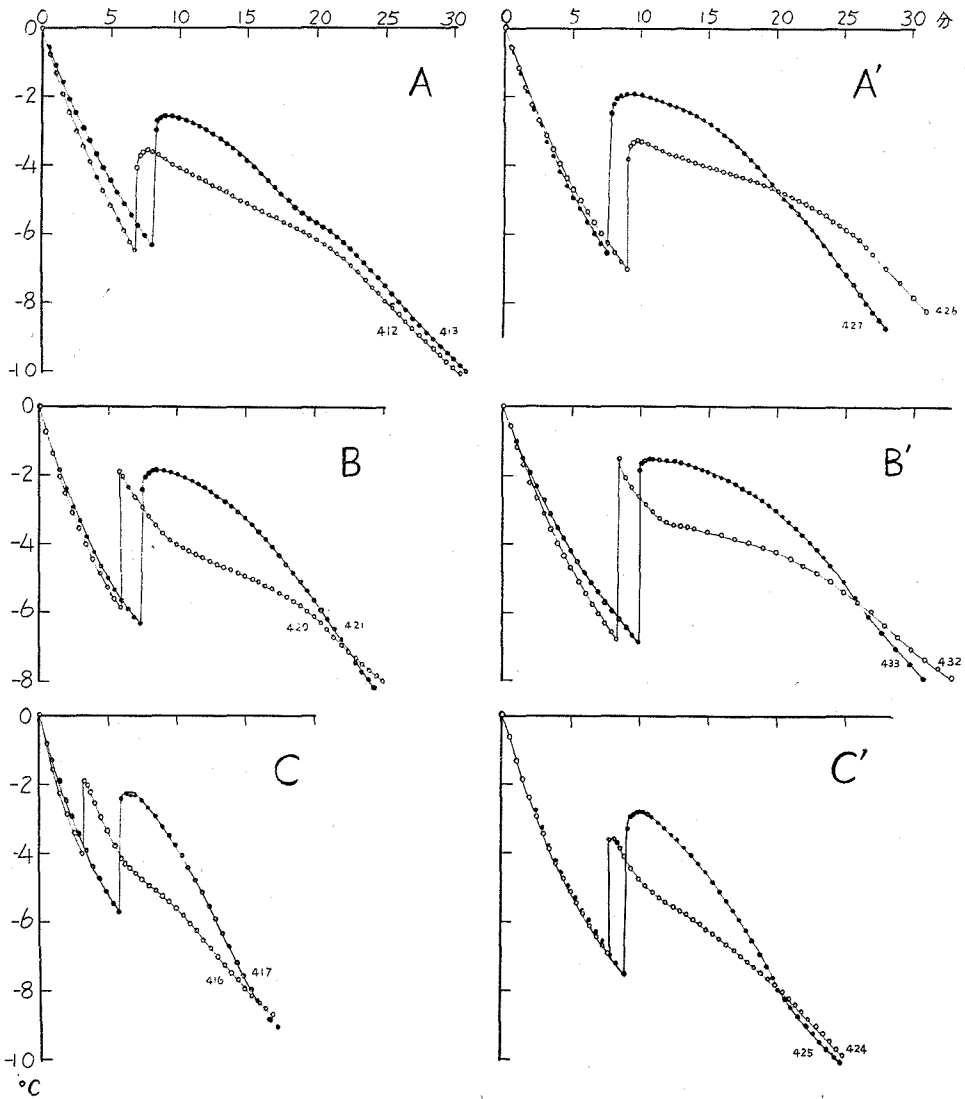
第 3 圖 鉢植えのまま hardening 処理されたものの再凍結曲線 (ネコヤタカスケ 9 月)

A-D は未処理, A'-D' は処理されたもの; A, A'—初凍結曲線; B, B'—再凍結曲線 (初凍結 -2.5°C で 13 時間); C, C'—同上 (初凍結 -5.0°C で 13 時間); D, D'—同上 (初凍結 -10.0°C で 13 時間)

* 水を含む脱脂綿をつけたのは inoculation のためであり、ビニール布で包むのは乾燥を防ぐためである。

ている。すなわち上記2種類の耐凍性を異にするといわれている品種の間に hardening 能力にほとんど差は認められなかつたことになる。

実験3. 実験2においては hardening の際、光だけはだいたい日週期に合わせて変えてあるが、温度の方は10日間一定に保つていたので、実験3においては温度にも週期的変化を与えてみた。その条件は次の通りである。温度は昼間約6時間だけ大体 +10°C、残りの時間は 0°~+2°C とし、光は 30 W 蛍光灯で毎日8時間与えた。箱の中の相対湿度は約90%、処理期



第4圖 鉢植えのまま hardening 処理されたものの初凍結及び再凍結曲線

A-C は未処理, A'-C' は処理されたもの。○-○ は初凍結曲線, ●-● は再凍結曲線。A, A' はコクソウ 21; B, B' はカイリョウソウ; C, C' はタキノガワ

間は10日である。材料はコクソウ21号、カイリョウソウ、タキノガワの3種、12月末から1月にかけて苗を温室内に入れ、新しい枝を出させ、3月中旬より4月中旬にかけて実験した*。処理は実験2と同様鉢植えのまま行つた。処理後各々枝の小片についてまず初凍結曲線を取り、次いで充分融解した後、再び凍結曲線(再凍結曲線)を取り両者を比較した。一系列の結果を第4図に示してあるが、各図の白丸は初凍結曲線、黒丸は再凍結曲線である。この場合の初凍結の最終温度は約 -10°C 、凍結時間は20~30分である。

初凍結曲線の型だけを比較してみると、未処理の対照と hardening 処理されたものの間には、3種類とも、ほとんど差異は認められない。再凍結曲線についても同様であり、すべての場合完全に死組織の凍結曲線の型を呈している。丁度実験2の -10°C で初凍結をした場合と同様である。つまりこの初凍結程度の凍結によつてさえ、凍害を受けているわけであり、この第3の実験でも人工的 hardening の効果は全く認められなかつたといわざるを得ない。3種の材料のうちタキノガワは耐凍性が強いが、他の2種はかなり弱いものであるにもかかわらず、この程度の hardening 処理に対して等しく反応を全く示さなかつたことになる。実験当時3種類とも成長は未だ停止しておらず、タキノガワでは枝の2/3はコルク層ができていたが他の2種類は枝の元の方2~3節がコルク層で蔽われていた程度である。実験に用いた小片はコルク層のできていたところからとつた。

III.

自然状態で hardening の活潑に行われるのは、だいたい枝の成長が停止し気温が次第に下つてくる間であろう。この間に外界の低温も作用し体内の物質代謝は夏の成長の盛んな時期とは違つた動きをする、その結果耐凍性の強い状態になると思われる。すなわち外圍の温度の低下する時期に体内においても、その低温に反応し得るのに必要な条件が十分に備わつてにちがいない。このように考えると実験1の hardening 処理条件ははなはだ好ましくないといえる。この点を考慮し、hardening 過程の進行に必要な物質代謝を中断しないように根、葉のついたままの状態で行つたのが実験2である。この場合も凍結曲線の上からみたところでは凍結の様式を変化させる程、耐凍性を変化させることはできなかつた。実験2においては温度条件は一定の $0^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ で日週的変化はなく恒温状態であつた。この点に一番問題があるように思われる。札幌において9月~10にかけて1日の気温の変化は、すなわち最高最低の差は 10°C 以上である。したがつて長期に渉る恒温環境にいうことは物質代謝の進行には非常に不自然な条件といえよう。温度の日週変化が生体におけるいろいろの活動に対して刺戟的に働いていることは明らかであり、それが生物にとつては自然である。実験3においてはこの温度日週変化に対してもある程度考慮を払つたのであるが、予想に反し hardening 効果は少しも認められなかつた。どこかに必要な条件が満されていなかつたにちがいない。実験3に与えら

* 育成については酒井の論文4)参照。

れた外囲条件も自然のものと同様に比べれば非常に不完全であることはいうまでもないが、植物体側の条件の1つとして考えられることは枝が若い、つまり成長が止まつていなかったということである。

実験3の系列の材料を用い、同様に低温処理されたクワの枝を -5°C 及び -10°C で40分間凍結後、皮層細胞の生存率から判定した結果では、寒さに強いタキノガワで耐凍性は増強されているが、弱いカイリョウロソウ、コクソウ21号ではきわめて僅か増加しているにすぎない。また同一枝でみると耐凍性の増強され方は3種類とも枝の下部に行くほど著しくなっている⁹⁾。すなわち盛んに成長している部分では同じく低温環境にさらされても、未だ内部条件が備わっていないと見えて低温に対して充分な反応を示さない。また寒さに弱いといわれている品種でも枝の中部以下、すなわち寒さの来る前に完全に成長の停まつている部分では、その耐凍性の程度は強い品種と等しい⁹⁾。

以上3つの実験に用いられた枝の状態は、実験1では完全に成長は停止しており、したがって内部条件も充分揃つていると思われるが、外囲条件が不適當であつた。実験2,3ではコルク層はできていたとはいえ未だ成長は完全に停止してはいない。したがって枝自身 hardening 効果が十分に現われる状態に未だなつていなかったと考えられる。しかし皮層細胞では耐凍性の増強に明らかな差が認められているのに、凍結曲線には差が現われていない。これは、耐凍性の獲得され方は各組織によつて一様ではないため、ある程度耐凍性が得られたとはいえ、全体としての氷生成速度に著しい影響を及ぼすまでには至らなかつたためとも考えられる。今回の実験条件は人工的 hardening には決して充分とはいえないが、皮層細胞での結果からみると、その効果はある程度確かに現われているので、必要な内外の hardening 条件が具体的に明らかになれば、はつきりした型で hardening 効果を凍結曲線の型の上に現わすことも可能と思われる。

また一方、融解後、組織内での水の分布状態が變つてしまい、再凍結のとき未だ元に戻つていない可能性もある。そうすると、場合によつては生き残つている細胞の凍結による影響はかくされて、現われないこともあり得ると思われるので、この点再凍結曲線について今後詳しい検討が必要である。

実験材料について種々御配慮をいただいた農林省蚕糸試験場濱田桑樹部長、相田技官、農林省熊本、宮下技官、並びに北大農学部滝沢助教、同附属桑園の越山氏に深謝する。

摘 要

クワを低温環境で処理し耐凍性を人工的に増強させることができるか否かを、再凍結曲線の型の変化を目安として調べた。

成長が止まつている枝でも、摘葉、水挿しの状態では暗黒、低温という条件の下で人工的 hardening はできなかつた。さらに根のついたままの個体を用い、光、温度の日週変化を考慮

に入れて hardening 処理を行つても、成長の停止していない枝ではその効果は全く認められなかつた。しかし皮層柔細胞などは確かに hardening 効果を示しているので、余程極端に効果の現われた場合を除いては、hardening 効果の判定に再凍結曲線を利用することはできない。

単に低温にさらされただけでは耐凍性は増強されない。植物体内に低温に対して反応し得るある条件が必要であり、成長しつつある枝には未だこのような条件は備わっていないらしい。

文 献

- 1) 青木廉・朝比奈英三・照本勳 1953 生物の凍結過程の分析 IX. 植物の耐凍性と凍結曲線の型. 低温科学, **10**, 69.
- 2) 青木 廉 1955 生物の凍結過程の分析 XII. クワ枝の凍結曲線. 低温科学, 生物篇 **13**, 1.
- 3) 朝比奈英三 1950 植物細胞の凍結過程と凍結した細胞の型. 科学, **20**, 321.
- 4) 酒井 昭 1955 桑枝条の発育過程と耐凍性獲得との関係. 低温科学, 生物 **13**, 21.

Résumé

The freezing curve (refreezing curve) taken from the twig piece of mulberry tree which has been damaged by previous freezing (initial freezing) shows a completely different shape from that of the initial freezing curve. When the twig piece has not been damaged by initial freezing, the shape of the refreezing curve is identical with that of the initial freezing one. Therefore, it may be reasonable, from the shape of the refreezing curve, to infer in what degree the twig piece has suffered damage from the initial freezing under a definite freezing condition. In other words, one may learn whether it has any resistance against freezing. By observation of change of the shape of refreezing curve, an attempt was made to ascertain how the frost-resistance of twigs of mulberry tree can be artificially increased by treating with low temperature (0°C).

In all experiments carried out in which both young and matured twigs were exposed to 0°C for ten days, even when giving consideration to diurnal changes of light and temperature, scarcely any increase of frost resistance as a result of such treatment could be found.

On the other hand, according to the experiments performed in parallel with this work (A. Sakai, this Journal p. 21) the frost resistance of the cortical parenchym cells in matured twig was clearly increased by the same treatment with 0°C. This fact shows that the treatment with 0°C is surely effective to increase the frost-resistance of some sorts of tissue cells in matured twig. Consequently the refreezing curve can not be used as a criterion for finding the effectiveness of treatment to induce the frost-hardiness, unless a precise analysis of the refreezing curve is made.