HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	植物の耐凍性と滲透濃度
Author(s)	照本, 勲
Citation	低温科學. 生物篇, 16, 7-21
Issue Date	1958-12-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17604
Type	departmental bulletin paper
File Information	16_p7-21.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Isao TERUMOTO 1958 The Relation between the Cell Sap Concentration and the Frost-Hardiness of the Table Beet. *Low Temperature Science, ser. B, 16.* (With English résumé p. 19)

植物の耐凍性と滲透濃度*

照本　勲
(低温科学研究所　生物学部門)

(昭和33年7月受理)

I. 緒　言

寒冷地においては植物は晩秋になると，やがてくる冬の寒さにたえることの出来る性質をもつようになる。この性質はまた人工的に植物を低温にさらすことによつても，ある程度得られる。

この状態にある細胞は，凍死の一原因と考えられている細胞内凍結をおこさず，細胞外凍結のみをおこす。

われわれの教室では数年来アカビートを材料として耐凍性についての諸現象を観察し，実験を続けてきた[1),9)]。

植物細胞中の蔗糖濃度は冬になると高まることは古くから知られているが，著者はさきに蔗糖生成に関係する酵素フォスフォリラーゼと，加水分解酵素フォスファターゼについて研究をすすめ，アカビートでは耐凍性の状態で両者の活性は共に大きく，耐凍性を失うとフォスフォリラーゼの反応はまつたくなくなり，この酵素が特に滲透濃度の増減に関係するものであることを報告した[9)]。

今回の実験では前報と同じくアカビートを材料として，発育期から成熟期にいたる生育中に，低温および高温処理をあたえた場合のフォスフォリラーゼ，酸性フォスファターゼの活性度を組織化学的に調べ，同時にその時の耐凍性と滲透濃度との関係をみた。

II. 方　法

この実験に使用したアカビート (*Beta vulgaris* L. var. *Rapa* Dumort) は耐凍性をもつ植物として知られている。実験には葉，葉柄および根の部分を用いた。低温および高温処理は次のように行つた。鉢植にしたアカビートを0°C の恒温箱および 25°C の恒温箱の中に必要日数おく。特に照明を必要とした実験には葉上約 20 cm の距離から 20 W 棒型螢光燈ランプ2本で24時間連続照射した。凍結処理は−4°〜−5C° の冷蔵室で鉢植のまま行い，室温で融解させて使用した。

* 北海道大学低温科学研究所業績　第442号

検出した酵素ならびに代謝産物は前報と同じである[9]。

滲透濃度はガーゼで濾過した各組織の搾汁の氷点降下度をもつてあらわした。氷点降下度はミクロベックマン装置で測定した。

耐凍性はアカビートの葉を葉柄の根もとから切りとつて−5C°の恒温箱中で冷却し，人為的に植氷して2時間凍結放置した後，次の二つの方法によつて判定した。

第1は低温固定法で[10),11)]凍結したままの葉柄の一部を(長さ約3mm程度)切りとり−10°Cの純アルコール・氷酢酸混合液(容積19:1)に入れ，その温度で4時間固定したあと，室温の純アルコール中にうつし，一昼夜放置した。この試料より切片をつくり，ヘマトキシリンとサフラニンで染色して凍結様式の判定を行つた。細胞膜，原形質，核の正常な固定像をあたえたものを細胞外凍結とし，反対に細胞膜の破壊や，核ならびに原形質の破壊しているものを細胞内凍結とみなした。第2は原形質分離法による生死の判定である。固定小片を切りとつて残つた凍結アカビートの葉柄を，室温で融解後切片を作り蔗糖溶液で原形質分離させて細胞の生死の割合をしらべた。アカビートの細胞の液胞液は赤い色を呈しているため，細胞が破壊されると細胞液が流出するので容易に正常のものと区別できるので，この方法も利用した。

III. 結　　果

1. 発育期におけるフオスフオリラーゼ，酸性フオスフアターゼ，還元糖，油脂および澱粉

A. フォスフォリラーゼ　　測定を始めた6月下旬は，アカビートが生長しはじめたばかりで，フォスフォリラーゼの活性度も非常に大きい。光合成のさかんな時期に異状な処理状態(低温と暗黒)におくため処理1週間で材料はしなびてしまつたので，処理による差は明らかでない。7月上旬も未処理のものにおけるフォスフォリラーゼの活性は非常に大きい(図版I)。高温処理(25°C)されたものではフォスフォリラーゼの作用が全般に著しく弱くなつているが，逆に低温処理(0°C)されたばあいは葉，葉柄において活性が強くなつている。

7月下旬になると，この時期における処理の影響は7月上旬のものと同じ傾向であるが，低温処理された葉で活性をほとんど消失している。8月下旬の材料は，処理温度によつてその活性度に差を示している。高温のばあいは低温のばあいにくらべて小さい活性度を示す。9月中旬，10月上旬共にこの時期での活性も大体前の時期と同じ傾向で，フォスフォリラーゼの活性は高温処理で減少する。10月下旬になると，この時期には気温がかなり下るので(夜間の温度は普通0°～10°Cの間を前後する)，圃場である程度すでにhardyな状態になつている。高温処理によつてフォスフォリラーゼの活性はほとんど消失するが，低温処理では明らかに増加していることがわかる。

B. 酸性フォスファターゼ　　フォスフォリラーゼの場合と同じ条件のもとで酸性フォスファターゼの活性度の変化を調べた。その結果を第2表にあらわした。

6月下旬，7月上旬ともに，この時期のアカビートは生長しはじめたばかりで，葉，葉柄，

第 1 表　フォスフォリラーゼの活性

実験期間	処理日数	処理 対照			処理 25°C			処理 0°C		
		葉	葉柄	根	葉	葉柄	根	葉	葉柄	根
6月20日～6月24日	0	++	++	+						
	4				++	+	−	++	++	−
7月8日～7月15日	0	++	++	++						
	3				++	±	+	++	++	+
	7				±	−	+	+++	+++	+
7月23日～8月6日	0	+	++	++						
	7				+	−	±	++	++	+
	14				±	−	+	±	++	+
8月23日～9月6日	0	+	+++	+						
	7				−	−	±	+	±	+
	14				−	+	±	±	+++	+
9月17日～10月1日	0	++	++	++						
	7				−	+	±	−	++	+
	14				−	±	±	−	+	+
9月30日～10月7日	0	+	++	++						
	7				−	+	±	±	+++	±
10月25日～11月8日	0	+	+	+						
	7				±	++	+	++	++	+
	14				±	±	−	++	++	±

対照は畑より採取直後のものである。

+++……非常に活性，　+……活性，　±……わずかに活性，　−……不活性　(図版参照)

第 2 表　酸性フォスファターゼの活性

実験期間	処理日数	処理 対照			処理 25°C			処理 0°C		
		葉	葉柄	根	葉	葉柄	根	葉	葉柄	根
6月20日～6月24日	0	++	++	++						
	4				++	++	±	++	+	+
7月8日～7月15日	0	++	++	++						
	3				+	+	+	+	+	+
	7				+	+	+	+	+	+
7月23日～8月6日	0	++	+	±						
	7				++	+	±	++	++	±
	14				++	+	±	++	++	+

実験期間	処理日数	処理 対照 葉	対照 葉柄	対照 根	25°C 葉	25°C 葉柄	25°C 根	0°C 葉	0°C 葉柄	0°C 根
8月23日～9月6日	0	++	++	+						
	7				++	++	+	++	++	+
	14				+	+	±	++	++	+
9月17日～10月1日	0	++	++	+						
	7				++	+	+	++	++	+
	14				++	+	+	++	++	+
9月30日～10月7日	0	±	+	±						
	7				±	+	±	+	++	+
10月25日～11月8日	0	++	++	±						
	7				+	+	+	++	++	+
	14				+	+	+	++	++	+

++……非常に活性，　+……活性，　±……わずかに活性，　−……不活性　(照本•1957 a•図版参照)

根，全般にわたつて酸性フォスファターゼの活性度も非常に大きい。しかし処理による差は明らかでない。7月下旬になると，高温処理で影響なく，低温処理で特に葉柄の活性が大きくなる。8月下旬では，処理温度によつてその活性度に差を示している。2週間処理で，高温のばあいは低温のばあいにくらべて小さな活性度を示す。9月中旬，高温処理で葉柄の活性は幾分低下するが，低温処理したものは対照と変らない。10月上旬になると低温処理で活性を増す。圃場である程度 hardy な状態になつているため，酸性フォスファターゼは高温ではその活性は低下するが，低温ではほとんど処理による差はみとめられない。

C. 還元糖　　6月上旬の生育しはじたばかりのものでは処理による還元糖の差はないが，7月中旬，7月下旬のものでは高温処理でまつたく還元糖が検出できず，ちようど葉柄のフォスフォリラーゼの消長に平行している。8月下旬，9月中旬の処理による差はほとんど認められないが，10月上旬では低温処理で葉柄，根ともに還元糖が増加した。10月下旬のアカビートは，低温処理で根の還元糖が増加した。葉柄では処理による差は明らかでなかつた。

第3表　還元糖の検出

実験期間	処理日数	処理 対照 葉	対照 葉柄	対照 根	25°C 葉	25°C 葉柄	25°C 根	0°C 葉	0°C 葉柄	0°C 根
6月20日～6月24日	0		+	+						
	4					+	+		+	+
7月8日～7月15日	0		++	±						
	3					−	−		++	−
	7					−	−		++	−

実験期間	処理日数	処理								
		対照			25℃			0℃		
		葉	葉柄	根	葉	葉柄	根	葉	葉柄	根
7月23日～8月6日	0		++	+						
	7					−	−		++	+
	14					−	−		++	+
8月23日～9月6日	0		+++	+++						
	7					++	+		+++	+
	14					+	+++		++	+++
9月17日～10月1日	0		++	++						
	7					++	+		++	+
	14					++	+		++	±
9月30日～10月7日	0		++	+						
	7					+	+		++	++
10月25日～11月8日	0		++	+						
	7					++	+		+++	+
	14					++	+		++	++

D. 油脂　　葉の組織に油脂の反応なく，葉柄，根ともに大体同じ程度の反応を示した。処理による差は第4表からもわかるように認められなかつた。

第4表　油　脂　の　検　出

実験期間	処理日数	処理								
		対照			25℃			0℃		
		葉	葉柄	根	葉	葉柄	根	葉	葉柄	根
6月20日～6月24日	0	−	+	++						
	4				−	+	++	−	+	++
7月8日～7月15日	0	−	+	+						
	3				−	+	+	−	+	+
	7				−	+	+	−	+	+
7月23日～8月6日	0	−	+	+						
	7				−	+	+	−	+	+
	14				−	+	+	−	+	+
8月23日～9月6日	0	−	++	+						
	7				−	++	+	−	++	+
	14				−	++	+	−	++	+
9月17日～10月1日	0	−	+	+						
	7				−	+	+	−	+	+
	14				−	+	+	−	+	+

実験期間	処理日数	処理 対照 葉	対照 葉柄	対照 根	25℃ 葉	25℃ 葉柄	25℃ 根	0℃ 葉	0℃ 葉柄	0℃ 根
9月30日～10月7日	0	−	+	+						
	7				−	+	+	−	+	+
10月25日～11月8日	0	−	+	+						
	7				−	+	+	−	+	+
	14				−	+	+	−	+	+

E. 澱粉　　対照ならびに前述の各処理を行つた各組織において，澱粉は全く検出出来なかつた。

F. 照明温度処理　　処理中光合成をある程度停止せしめないために，照明を与えながら低温及び高温にさらした実験を行つた。結果を第5表にまとめた。

第5表 照明温度処理

A. 低温処理 (0℃)

実験期間	処理日数	処理 無照明 フォスフォリラーゼ 葉	葉柄	根	酸性フォスファターゼ 葉	葉柄	根	還元糖 葉	葉柄	根	照明 フォスフォリラーゼ 葉	葉柄	根	酸性フォスファターゼ 葉	葉柄	根	還元糖 葉	葉柄	根
8月23日～9月6日	0	+	±±	+	++	++	+		±±	±±									
	7	+	±	+	++	++	+		±±	+	±	+	+	++	++	+		++	+
	14	±	±±	+	++	++	+		++	±±	−	++	+	++	++	+		+	++

B. 高温処理 (25℃)

実験期間	処理日数	処理 無照明 フォスフォリラーゼ 葉	葉柄	根	酸性フォスファターゼ 葉	葉柄	根	還元糖 葉	葉柄	根	照明 フォスフォリラーゼ 葉	葉柄	根	酸性フォスファターゼ 葉	葉柄	根	還元糖 葉	葉柄	根
8月23日～9月6日	0	+	±±	+	++	++	+		±±	±±									
	7	−	−	±	++	++	+		++	+	+	+	+	+	+	+		±±	+
	14	−	+	±	+	+	±		+	±±	−	+	+	+	++	±		++	±±
9月17日～10月1日	0	++	++	++	++	++	+		++	++									
	7	−	+	±	++	+	+		++	+	−	±±	±	++	+	+		±±	++
	14	−	±	±	++	+	+		++	+	−	+	+	+	++	±		±±	++
10月25日～11月8日	0	+	+	+	++	++	±		++	+									
	7	±	++	+	+	+	+		++	+	−	−	+	++	+	+		++	+
	14	±	±	−	+	+	+		++	+	−	++	±	+	++	+		±	++

8月下旬のアカビートを照明処理したばあい，低温で，葉柄のフォスフォリラーゼならびに還元糖が幾分減少するが，高温ではほとんど差がない。9月中旬のものでは，高温処理されたばあいのフォスフォリラーゼの活性と還元糖は暗黒処理（無照明）にくらべて幾分大きい。10月下旬では，葉と根においてはフォスフォリラーゼの活性に差は見られないが，葉柄では2週間で明らかに活性を増加している。低温処理のばあいと同じ程度の活性を示す（第1表）。油脂は処理による差は見られなかつた。

G. 凍結処理　　9月中旬のアカビートを鉢ごと凍結処理されたばあい，1週間ならびに2週間目のフォスフォリラーゼの反応は消失してしまつた。酸性フオスファターゼ，還元糖，油脂の反応は低温処理したものとほとんど同じであつた。

2. 搾汁の氷点

A. 8月下旬　　葉柄の搾汁の氷点は高温照明処理されたものではほとんど影響を受けないが，高温処理だけされた場合は高くなる。低温処理では照明の有無にかかわらず1週間までは変らないが，照明2週間目で幾分低下している。これらの氷点の変化はフォスフォリラーゼの活性度と平行関係を示している（第1表）。この時期のアカビートでは高温処理されたときの照明と無照明処理との間で差が大きい。根においては低温処理されるとその氷点は低くなり特に照明を伴つたばあい2週間目に著しく低い値を示した。

第6表　8月下旬の搾汁の氷点（℃）

実験期間　8月23日～9月6日

	処理日数	処理			
		25℃	25℃（照明）	0℃	0℃（照明）
葉柄	0	−0.75			
	7	−0.55	−0.70	−0.74	−0.68
	14	−0.55	—	—	−0.86
根	0	−0.76			
	7	−0.77	−0.74	−0.88	−0.80
	14	−0.68	−0.78	−0.89	−1.03

B. 9月中旬　　葉柄の氷点は高温処理で高く，低温処理で低下する。照明によつて氷点は幾分低下する傾向を示す。この結果は酵素の活性とも平行している（第1表）。凍結処理をされても氷点はほとんど変化していない。この凍結処理をされたばあいはフォスフォリラーゼの作用も消失している。根では，低温処理により幾分氷点が低下するような傾向があるが，8月下旬の頃のような明瞭な差はみられない。根の氷点が処理によつて変化が少なくなることが，この頃から認められる。

第7表 9月中旬の搾汁の氷点 (℃)
実験期間 9月17日～10月1日

	処理日数	処理			
		25℃	25℃ (照明)	0℃	凍結(−4°～−5℃)
葉柄	0	−0.67			
	7	−0.53	−0.67	−0.80	−0.70
	14	−0.57	−0.73	−0.78	−0.65
根	0	−0.85			
	7	−0.84	−0.87	−1.07	−0.89
	14	−0.82	−0.80	−0.89	−0.88

C. 10月上旬　　9月中旬のばあいと同じ傾向で，葉柄では高温処理の結果氷点が高くなり，低温では氷点が低下する。根では，余り差は認められないが，低温処理で幾分氷点の低下がみられる。

D. 10月下旬　　葉柄では高温処理で氷点は明らかに高くなるが，照明されているばあいには逆に氷点は低下する。フォスフォリラーゼの活性の変化と平行になつている。(第1表)。低温処理で余り差が認められないのは，この時期にはアカビート自身がすでにhardyな状態になつているためである。根では高温処理中照明が与えられたばあいにのみ，やや氷点の低下がみられた。越冬中のアカビートの根は高温，あるいは低温処理されても大体同じ滲透濃度をもつことが知られている[1]。

第8表 10月上旬の搾汁の氷点 (℃)
実験期間 9月30日～10月7日

	処理日数	処理	
		25℃	0℃
葉柄	0	−0.71	
	7	−0.59	−0.86
根	0	−0.91	
	7	−0.88	−0.96

第9表 10月下旬の搾汁の氷点 (℃)
実験期間 10月25日～11月8日

	処理日数	処理		
		25℃	25℃ (照明)	0℃
葉柄	0	−0.89		
	7	−0.61	−0.69	−0.85
	14	−0.52	−0.98	—
根	0	−0.91		
	7	−0.96	−1.04	−0.98
	14	−0.82	−0.99	−0.96

3. 葉柄の耐凍性と凍結様式

7月上旬より越冬に入る10月下旬までのアカビートを各時期ごとに高温(25°C), 低温(0°C)処理してその耐凍性に及ぼす効果をしらべた。その際照明の影響をも考慮に入れた。第10表にこの結果を総括したが，9月中旬に0°C処理2週間のものが始めて−5°C 2時間の凍結にたえることが出来た。この頃になつて始めて凍結に対しての生理的準備が出来あがつたと考えられる。圃場において朝夕の低温により自然に耐凍性が現われてくるのは10月上旬である。それも10月下旬になり温度の低下がすすむにつれて，耐凍性の強さも増してくる。10月に入ると高温処理によつて明らかにdehardeningが起こり，かえつて耐凍性は低下するようになる。このばあい照明を与えられたものでは一時耐凍性の減り方が遅くなる。低温固定法による固定像の結果は，原形質分離法による生死の判定の結果とだいたい平行している。即ち原形質分離をおこさないばあいは常に細胞内凍結像を，おこす場合には常に細胞外凍結像を示している。

第10表　葉柄の耐凍性

時期	処理日数	処理 25°C 凍結融*解後の生死	25°C 固定像	25°C (照明) 凍結融*解後の生死	25°C (照明) 固定像	0°C 凍結融*解後の生死	0°C 固定像	0°C (照明) 凍結融*解後の生死	0°C (照明) 固定像	凍結(−4°〜−5°C) 凍結融*解後の生死	凍結(−4°〜−5°C) 固定像
7月上旬	0	死	細胞内凍結								
	3	〃	〃			死	細胞内凍結				
	7	〃	〃			〃	〃				
7月下旬	0	死	細胞内凍結								
	7	〃	〃			死	細胞内凍結				
	14	〃	〃			〃	〃				
8月下旬	0	死	細胞内凍結								
	7	〃	〃	死	細胞内凍結	死	細胞内凍結	死	細胞内凍結		
	14	〃	〃	〃	〃	〃**	〃	〃**	〃		
9月中旬	0	死	細胞内凍結								
	7	〃	〃	死	細胞内凍結	死	細胞内凍結			死	細胞内凍結
	14	〃	〃	〃	〃	50%生	細胞外凍結			〃	〃
10月上旬	0	70%生	細胞外凍結								
	7	死	細胞内凍結			70%生	細胞外凍結				
10月下旬	0	80~100%生	細胞外凍結								
	7	20%生	細胞内凍結	40~50%生	細胞外凍結	100%生	細胞外凍結				
	14	10%生	〃	10%生	細胞内凍結	〃	〃				

*　原形質分離法による。
**　表皮細胞のみ生きている。

IV. 考 察

植物が寒さにあつて次第に耐凍性を獲得する機構に関して，現在までたくさんの研究がなされているが，いかなる要因が耐凍性の条件をみちびくかは断片的にしか明らかにされていない。最も一般に認められている事実は，耐凍性の高いときの細胞の滲透価は高いということである。また耐凍性のある植物は人為的に低温処理することで必ず滲透価が増加する。越冬植物が hardening の過程で糖量が生成され増大することは早くから確認されてきた (Müller-Thurgau 1882)。この糖量の増加は細胞液の濃度増加をもたらす。全電解質は滲透濃度が増加しても変らないが，糖量は unhardy のコムギでは滲透価の 4～8%，hardend したものでは 10～40% を占める事が証明されている[4]。細胞中に糖量が増加することの生理的意義は滲透価を高めることで，その結果細胞の氷点が下ることはよく知られている事実であるが，この際細胞の凍結に対する抵抗の増加は氷点の実際的な低下よりも非常に大きい[4]。細胞搾汁濃度と耐凍性との間には多くの場合，明らかに密接な関係をもつが，又糖濃度と耐凍性との間には必ずしも相関関係のないことも証明され，保護作用は本質的に糖に限られるものではないとの主張もある[4]。殊に松柏科植物では，糖濃度と耐凍性との平行関係が最も少ない[5),6)]。

植物が耐凍性の高い状態で還元糖，非還元糖の含量が多いときには，澱粉が減少してくる。樹木では，冬に澱粉が最低まで減少し糖が逆に増加する[4]。hardening による糖量の増加は樹木，草本類では澱粉の変化によると考えられている。澱粉⇌糖の変化は季節，温度と密接な相互関係をもつている。糖は普通澱粉の変化によるか光合成によつて生ずるが，後者の場合には乾燥量の増加，全含水量の減少，溶質の増加，結合水の増加があり，これらの要因は密接に相関している[4]。

低温によつて滲透濃度が増大することに関係する酵素として近年特にとりあげられてきたフォスフォリラーゼは次のような反応をもつ。

$$\text{ブドウ糖-1-燐酸} \rightleftharpoons \text{澱粉} + \text{燐酸} \quad (\text{フォスフォリラーゼ})$$

低温による澱粉→糖反応にフォスフォリラーゼが関与することについて一二の批判はあるが[2),3)]，越冬中のアカビートの実験では滲透濃度の増減にフォスフォリラーゼの活性度が平行して，耐凍性に直接関係することがわかつた。つまりフォスフォリラーゼの作用により澱粉から滲透活性の糖類が生ずるのである。特にアカビートのフォスフォリラーゼの活性は harden されたもので大きく，deharden された組織，細胞では全く検出できなかつた[9)]。

第11表 葉柄の照明処理の影響

処理温度 25°C

処 理	フォスフォリラーゼ	酸性フォスファターゼ	搾汁氷点 (°C)
無照明	±	+	−0.52
照 明	++	++	−0.98

10月下旬・処理2週間

フォスフォリラーゼは圃場で発育中のものは光合成がさかんなため，試料をとる時期でまちまちな活性度を示すが概して活性度は

大きく，越冬中のものと異なり根にもフォスフォリラーゼの活性を示す。温度処理による影響は7月上旬頃より現われて，高温処理で活性度は小さくなり，低温処理で大きくなる。しかし葉とか根では処理による差は余り明らかではない。又，照明処理によつてフォスフォリラーゼの活性は増加し，搾汁氷点の降下と相関する。

フォスフォリラーゼの反応は越冬中のものでは −5°C 程度に凍結されても活性を保つているが，発育期のものでは不活性化される。例えば葉柄を−10°C に2時間凍結，融解後はフォスフォリラーゼは不活性化されてしまう。このことは越冬に入る11月中旬頃のものは，低温にさらされても細胞外凍結をおこし障害を受けないが，発育期のものでは細胞内凍結がおこり細胞は障害を受けるので，そこに不活性化の原因があると考えられる。

酸性フォスファターゼはフォスフォリラーゼと同じく葉と根においては明らかな差を示さないが，葉柄ではやはり低温処理で活性度が大きくなつている。

フォスフォリラーゼの活性度が大きく，糖濃度を増すばあい，一応含水量がへつて濃度が高まることも考えられるが，11月中旬のものでは処理による含水量の増減はほとんど認められなかつた。

第12表　処理による含水量の変化

	処理日数	処理 dehardening (%)	処理 hardening (%)
葉柄	0	91.6	
	7	93.1	93.1
	14	93.7	94.3
根	0	83.5	
	7	83.6	85.6
	14	84.6	84.1

実験期間　11月12日～11月26日

次に搾汁の氷点と耐凍性との関係を第6表から第10表にわたつて考察してみる。各時期のアカビートとも高温処理されたものでは，氷点は大体−0.5°～−0.6°C とほぼ等しい値を示している。この処理では前に述べたようにフォスフォリラーゼの反応はほとんど消失している。低温処理により明らかに氷点は低くなり，時期がおくれるにしたがつて高温処理との差は大きくなる。根では温度処理によつて氷点の受ける影響は葉柄における程著しくはない。この関係は両者の耐凍性に関してもみられる。

照明によつて発育中の植物は当然光合成をいとなみ糖量を増加する。結果，滲透濃度は増加する。成熟した植物の温度処理と未熟な発育中の植物の温度処理において，光の作用は非常に異なつている筈である。又，幼植物を暗黒中で温度処理することは異状であり，このことは結果を解釈する際に当然考慮しなくてはならない。

同じ時期のアカビートを高温照明処理で，滲透濃度を低温処理されたものの程度にまで増加せしめた場合，その耐凍性はどう変化するかを調べた。

照明を加えることによりフォスフォリラーゼの活性度も大きくなり滲透濃度も増し，氷点は低温処理されたものと同じように低下するが，耐凍性は処理2週間でほとんどなくなる(10%)。固定像による凍結像は，照明の有無にかかわらず細胞内凍結であるが，かなりの差が認められる。高温無照明処理されたものでは原形質はこまかく分散し破壊されているものが多

第13表 搾汁氷点と耐凍性

	日数	処理					
		25°C		25°C (照明)		0°C	
		氷点 (°C)	耐凍性* (%)	氷点 (°C)	耐凍性* (%)	氷点 (°C)	耐凍性* (%)
葉柄	0	−0.89	80～100				
	7	−0.61	20	−0.69	40～50	−0.85	100
	14	−0.52	10	−0.98	10	—	—

* −5°C 2時間凍結，融解後の原形質分離法による生存%　　測定 10月下旬

いが，高温照明処理によつて滲透濃度の高められたものでは，原形質が塊状になつて，あたかも脱水凝固によつたと考えられる固定像が多いことが観察された。このことは別の過程をとつて障害を受けたものとも考えられるので今後の実験で確かめたい。

多くの学者[5)~7),12)]は糖量と耐凍性との関連において，糖は種々の植物で，耐凍性の変化に対してせいぜい二次的役割をしているに過ぎないと考えているが，前にのべた搾汁氷点とその材料の耐凍性との関係も糖のみが凍結に対する唯一の保護要因ではないことを示している。耐凍性をもつアカビートは低温処理によつて，本実験の冷却条件では必ず細胞外凍結をする。即ち処理によつて本来細胞内凍結をおこしやすかつた組織の凍結様式が変化することが認められる。このような変化は主に細胞の水に対する透過性に関係するところが大きいと考えられる。この水に対する透過性と，細胞液の滲透価，即ちその主因をなす溶存糖量との間には密接な関係があるので，滲透価の高いもの程細胞外凍結をするようになるのであろう。このように含糖量が多いことは致命的な細胞内凍結をおこりにくくさせるが，更に与えられた温度で出来る氷の量をへらすから，細胞外凍結の際におこるかもしれない氷の圧力による害や脱水による害をも減少させることができる。尚すでに前報[10)]でふれたように植物はある塩溶液で処理すると細胞内凍結が非常におこりにくくなるために，凍結にたえるようになる事実があるが，これについては稿をあらためてのべる。

摘　要

耐凍性をもつアカビートの組織を用いて発育期から成熟するまでの間に，フォスフォリラーゼおよび酸性フォスファターゼの活性が温度処理によつて如何に変化するかを組織化学的に調べ，酵素の活性と滲透濃度の変化並びに耐凍性との関係について考察した。

成熟したアカビートの葉，葉柄の耐凍性およびフォスフォリラーゼの活性は低温処理で明らかに増加し，高温処理で減少するが，この変化は搾汁の滲透濃度の変化とも平行している。未熟のものでは，葉，根ではこの関係は明らかではないが，葉柄においては生育がすすむにつれて温度処理の影響が現われ始める。発育期のものを凍結状態に保つたものでは成熟期のものと違い，葉および葉柄のフォスフォリラーゼの活性は失われる。

成育期の酸性フォスファダーゼの活性は，フォスフォリラーゼと同じく葉と根においては

明らかな差を示さないが，葉柄では低温処理で活性度が大きくなる。

還元糖の消長は発育期から成熟期まで搾汁の氷点ならびにフォスフォリラーゼの活性度と平行関係を示す。

搾汁の滲透濃度は耐凍性の増大に平行して増加し，密接な関係にある。然し高温照明処理の実験結果，即ち滲透濃度のみ高まつても耐凍性が増さないという事実から，滲透濃度の増大は耐凍性の一つの重要な要因とは考えられるが，この時の原形質の状態が非常に重要な影響をもつと考えられ，その点について少しく考察した。

稿を終るにあたり，この研究について御指導下さつた青木繁教授，ならびに有益な御教示をいただいた朝比奈英三教授に深く感謝する。

文　献

1) 青木繁・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) Arreguin-Lozano, B. and J. Bonner 1949 Experiments on sucrose formation by potato tubers as influenced by temperature. Plant Physiol., ***24***, 720.
3) Ewart, M. H., D. Siminovitch and D. R. Briggs 1953 Studies on the chemistry of the living bark of the blach locust tree in relation to frost hardiness. VI. Amylase and phosphorylase systems of the bark tissues. Plant Physiol., ***28***, 629.
4) Levitt, J. 1956 The hardiness of plants. Academic press. N. Y.
5) Parker, J. 1957 Seasonal changes in some chemical and properties of living cells of *Pinus ponderosa* and their relation to freezing resistance. Protoplasma, ***48***, 147.
6) Pisek, A. 1950 Frosthärte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei *Rhododendron ferrugineum*, *Pinus cembra* und *Picea excelsa*. Protoplasma, ***39***, 129.
7) Siminovitch, D. and D. R. Briggs 1949 The chemistry of the living bark of the blach locust tree in relation to frost hardiness. 1. Seasonal variations in protein content. Arch. Biochem., ***23***, 8.
8) 照本　勳 1956 植物組織の酸性フォスファターゼの検出について. 低温科学, 生物篇 ***14***, 29.
9) ——— 1957 a アカビートの耐凍性とフォスフォリラーゼ. 低温科学, 生物篇 ***15***, 31.
10) ——— 1957 b タマネギの耐凍性について. 低温科学, 生物篇 ***15***, 39.
11) ——— 1958 植物細胞の低温固定像について. 低温科学, 生物篇 ***16***, 1.
12) Ullrich, H. and U. Heber 1957 Über die Schutzwirkung der Zucker bei der Frostresistenz von Winterweizen. Planta, ***48***, 724.

Résumé

Using the leaf, petiole and root of table beet in various stages of growth (June-Oct.), the influence of the treatment at 25°C as well as at 0°C on the activities of phosphorylase and acid-phosphatase in the tissue was studied by histochemical method. Further the changes of osmotic concentration of squeezed sap and the frost-resistance of tissue cell were also determined.

The sweetening of plants on exposure to low temperatures has long been known.

There is no doubt but that sugar has accumulated in the course of the increaseing cell sap concentration with hardening. In the writer's previous paper it was indicated that in table beet phosphorylase was involved to increase the osmotic concentration of cell sap and the frost-resistance of the cell. The phosphorylase activity in leaf and in petiole of full grown table beet was remarkably increased with hardening, by which the plant has sufficiently become frost hardy. There exists a parallelism between the change of the sap concentration and that of phosphorylase activity. On the other hand, the activity was decreased in dehardened state.

In young plant, the activity of phosphorylase was also distinctly increased by the low temperature treatment, but in leaf and in root such increase in activity was not clear. In young table beet kept in frozen state at $-4°\sim-5°C$, the phosphorylase activities of leaf and of petiole were diminished. The activity of acid-phosphatase in petiole from the plant in every growing stage was also increased by the low temperature treatment. But a young plant can not be hardened by exposure to low temperature. After the second ten days of September, frost-resistance was remarkably increased by the same treatment.

In the plant of every growing stage, the activity of phosphorylase together with the reduced sugar and freezing point of cell sap was distinctly changed. In full grown plant, the increase of the osmotic concentration of cell sap was closely correlated with that of the frost-resistance, but this was not the case in the plant illuminated at a high temperature.

図版説明

第1図　アカビートの葉の横断切片（7月9日圃場のもの）。
フォスフォリラーゼ反応 (++)。

第2図　同上。葉柄の柔組織（7月9日圃場のもの）。
フォスフォリラーゼ反応 (++)。

第3図　同上。根の柔組織（7月9日圃場のもの）。
フォスフォリラーゼ反応 (++)。

第4図　同上。10月下旬に2週間0℃処理した葉柄。
フォスフォリラーゼ反応 (++)。

第5図　同上。同じく25℃処理した葉柄。
フォスフォリーゼ反応 ±。

第6図　同上。同じく25℃（照明）処理した葉柄。
フォスフォリラーゼ反応 (++)。

第7図　同上。同じく0℃処理した葉柄を凍結後低温固定したもの（100%生）。

第8図　同上。第7図細胞を拡大（細胞外凍結）。×360

第9図　同上。同じく25℃処理した葉柄を凍結後低温固定したもの（ほとんど死）。

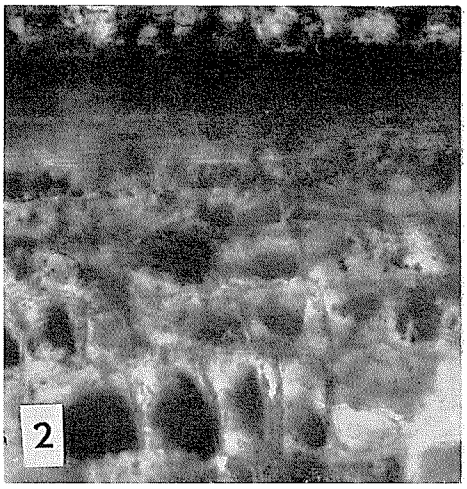
第10図　同上。第9図細胞を拡大（細胞内凍結）。×360

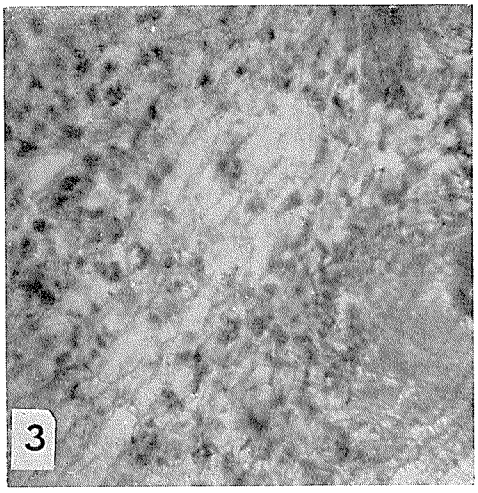
第11図　同上。同じく25℃（照明）処理した葉柄を凍結後低温固定したもの（ほとんど死）。

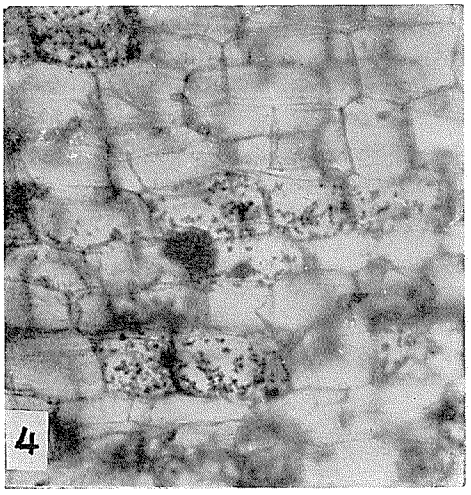
第12図　同上。第11図細胞を拡大（細胞内凍結）。×360

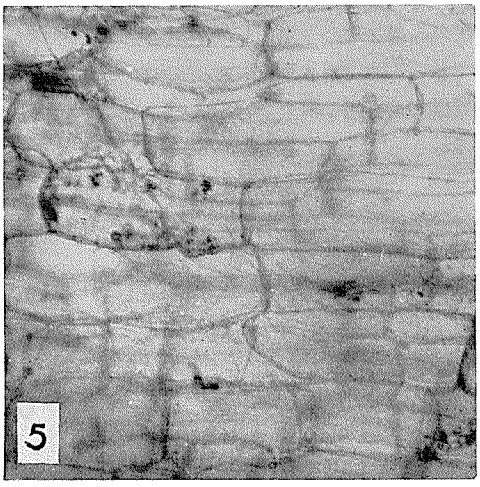
（第8, 10, 12図を除き各×100）

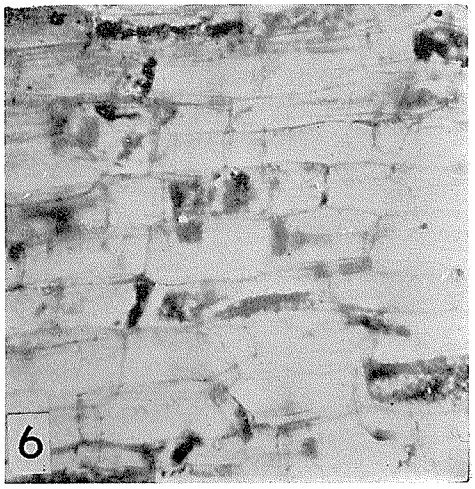
1

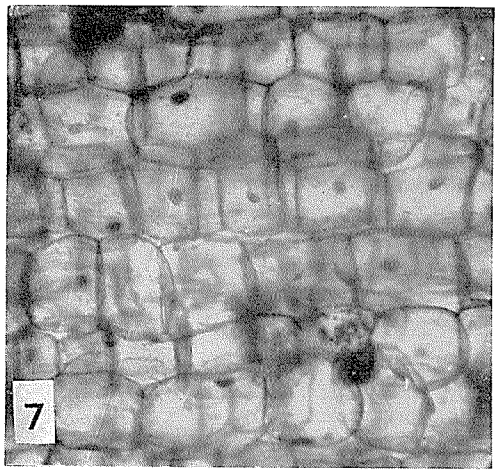

2

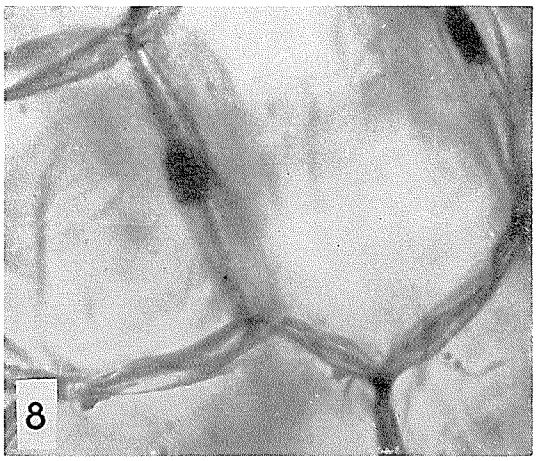

3

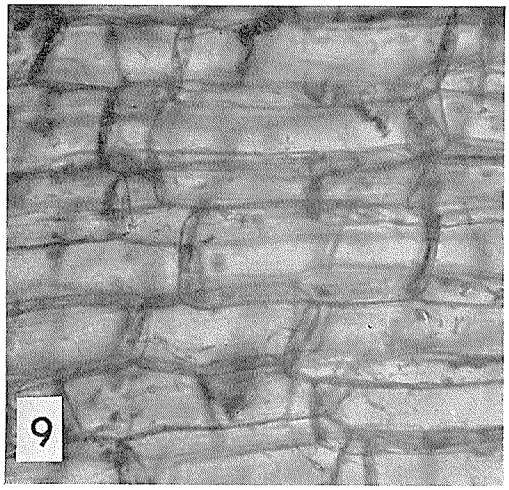

4


5

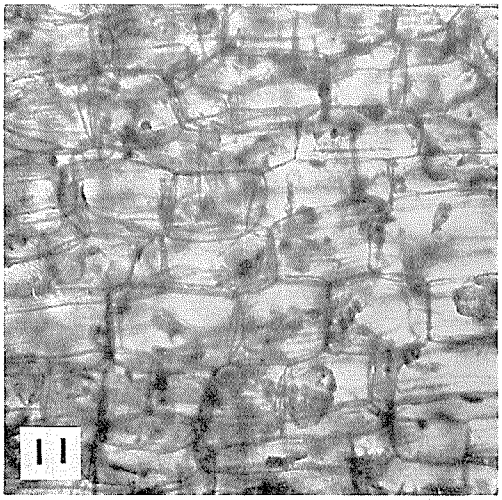

6

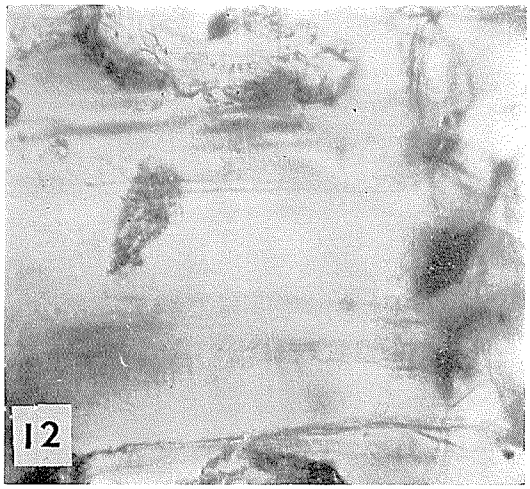

7


8


9

10


11


12