HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	木本類の耐凍性増大の過程　III ： 耐凍性増大と低温の作用
Author(s)	酒井, 昭
Citation	低温科學. 生物篇, 17, 29-34
Issue Date	1959-10-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17619
Type	departmental bulletin paper
File Information	17_p29-34.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Akira SAKAI 1959 The Frost-Hardening Process of Woody Plant III. Relation of Low Temperature to Frost-Hardening. *Low Temperature Science, Ser. B, 17.* (With English Résumé p. 33)

木本類の耐凍性増大の過程 III*

——耐凍性増大と低温の作用——

酒　井　　昭
(低温科学研究所　生物学部門)

(昭和34年7月受理)

I.

前報[5)6),7] の結果から木本類の耐凍性増大と細胞の糖濃度の増加との間には密接な平行関係が認められる。即ち秋から冬にかけて耐凍性が増大する場合にも，人工的に低温処理して耐凍性を増大させる場合にも，両者は完全に平行的に変動する。さらに人工的低温処理[5)] の場合，色々の温度で低温処理して耐凍性の大きさを色々に変えると，糖濃度もこれに平行して変動する。また同一温度で低温処理する場合[5)]，ある範囲内においては，処理時間の長さとともに耐凍性増大の割合も大きくなるが，この際にも，これと平行して糖濃度が増大する。このように耐凍性の大きさと糖濃度の間には密接な平行関係がみとめられる。しかしこれらのいずれの場合においても，低温の作用で耐凍性も，糖濃度も増大している。従つて低温の作用が耐凍性増大に不可欠なのか，それとも低温の作用は糖濃度を増大させるという間接的役割を果しているにすぎないのか判らない。これらの事を明らかにするためには，低温を作用させないで，室温(15°～20°C) で糖濃度を増大させた時，その増大に伴なつて耐凍性も増大するかどうか，或いは低温処理しても糖濃度が増大しない場合には，耐凍性が増大しないかどうかを明らかにする必要がある。本報告はこれらの事を明らかにするために行つた実験結果である。

II.

材料は桑 (*Mours bombysis* Koidz.) のタキノカワ (品種名) の秋と春の発芽前後の1年生の枝を用いた。0.5～0.7 cm の太さの枝の同一節内から2つの小片 (長さ2～3 cm) を切取り，切端にシリコングリースをつけた。1つの小片はビニールシートにつつんで乾燥を防いで室温においた。他の小片は同様に切端にシリコンをつけて室温で枝の表面から徐々に乾燥させた。2～3日で枝の小片の表面に小さなしわが認められるようになる。その時，乾燥をやめて対照と共に皮層細胞の滲透濃度，耐凍性の大きさを測る。隣合う節の同様な材料で澱粉量，糖量，

* 北海道大学低温科学研究所業績　第507号

含水量を比較測定した。糖の定量は水で抽出したホモゲネートの遠心上清を除蛋白後，アンスランで比色定量[8]した。澱粉の定量は遠心沈澱物を乾燥後，過ヨード酸で澱粉を抽出[4]してから，アンスランで定量した。この場合遠心上清中には可溶性澱粉は含まれていなかつた。糖量及び澱粉量の表示は計算の都合上，従来のような乾物量当りを基準にとらないで，皮部の湿重量から不溶性の部分を差引いた値を基準にした湿重量，又は乾物量当りの葡萄糖の量であらわした。

III.

実験 1 乾燥による耐凍性及び滲透濃度の増加。前にのべた方法で同一節内からとつた2つの枝の小片を一方はビニールに包み対照とし，他方は室温 (15°～20°C) で乾燥させて両者を同一条件で凍結させて耐凍性の大きさと滲透濃度にどのような差があらわれるかを調べてみた。5本の枝について調べてみたが同じ傾向の結果をえた。第1表にその1例を示した。なお比較のために，第1表には対照を 0°C で 10 日間低温処理した時の結果をも示した。第1表から

第 1 表 乾燥による耐凍性及び滲透濃度の増大

凍結温度	耐凍性の大きさ			滲透濃度 (M)
	−10°C	−20°C	−30°C	
対照	25*	0	0	0.35
乾燥	100	70	30	0.50～0.55
対照を低温処理	100	40	10	0.45～0.47

* 皮層細胞の生存率 (%)。凍結条件：各温度で 24 時間。乾燥条件：15°～20°C で 2 日間
実験日：5月 11 日。

ら判るように，15°～20°C での 2 日間の乾燥によつて耐凍性が著しく増大し，滲透濃度も増大している。その増大量は対照を 0°C で 10 日間低温処理した場合よりもより効果的である。この事から，低温処理効果が全くない 15°C 以上の高い温度においても，糖濃度が増大すれば耐凍性が著しく増大する事から，低温の作用が耐凍性増大に必ずしも必要でない事が予想される。

乾燥した場合，滲透濃度は対照よりも 0.15～0.2 M 増加している。この場合，含水量の減少 (湿重量に対して約 12%) に基づく濃度の増加分は計算の結果，約 0.1 M である。また I-IK 反応で調べた所，乾燥した皮部の細胞は対照と比較して著しく澱粉が減少していた。これらの事実から，乾燥した場合，澱粉が糖に変化して糖濃度が増大する事が予想される。

実験 2 乾燥による澱粉の減少と糖の増大。枝の同一節内から切取つた枝の小片を前と同じ方法で 15°～20°C で乾燥してから，それらの皮部について澱粉量と糖量を測定した。これを3本の枝について調べてみた。

第2表から明らかなように，皮層部の縦断切片 5～7 個について I-IK 反応で組織化学的に澱粉量を調べた場合，乾燥によつて澱粉量が減少している事が判る。澱粉を抽出後，比色定量

第 2 表　乾燥による澱粉の減少

	澱粉量（乾物当）*			I—IK 反応	
	対照 (%)	乾燥 (%)	減少率 (%)	対照	乾燥
No. 1	8.1	5.5	32.3	++	+～±
No. 2	5.5	4.1	25.0	++	+～±

*　湿重量から不溶性の部分を差引いた値の乾物量当りの葡萄糖量であらわした。

第 3 表　乾燥による糖の増大

	乾物量当*			湿重量当**		
	対照 (%)	乾燥 (%)	増加率 (%)	対照 (%)	乾燥 (%)	増加率 (%)
No. 1	13.2	19.5	47.5	5.3	9.6	81.0
No. 2	10.3	15.7	52.0	3.9	7.1	82.0
No. 3	8.8	12.3	42.0	2.9	5.4	86.4

* **　湿重量から不溶性の部分を差引いた値の乾物量当及び湿重量当りの量を示す。

した場合にも，乾物重当り，乾燥によつて 25～30% 減少している。 さらに同一枝の小片で糖を定量した結果を第 3 表に示した。 糖は乾物当り 42～48% の増加を示し，3 系列とも増加率は同じ傾向を示した。 この場合，乾燥した方は約 12% の含水量が減少しているので，湿重量当りで比較すると乾燥した場合には 3 系列とも 80～86% の増加になる。

実験 3　糖を増大させないで低温処理した場合。低温処理しても糖濃度が増大しない時には，耐凍性が増大しないかどうかを確めるためには，次の 2 つの方法が考えられる。澱粉を含まない細胞を低温処理するか或いは何か適当な阻害剤を用いて糖の生成をおさえておいて低温処理する場合が考えられる。今回は前者の方法で確かめてみた。そのため皮層細胞中にまだ澱粉を含む枝の小片を低温処理効果が生じない 12°～15°C の室温にビニール布につつんで 20 日間放置して，I-IK 反応で皮層細胞中に澱粉が認められなくなつてから，0°C で 10 日間，低温処理してみた。第 4 表に示すように低温処理しても滲透濃度も耐凍性も殆んど変らなかつた。また 5 月中旬，乾燥によつて澱粉を糖に変化させて I-IK 反応でもはや澱粉反応が殆んど認められない枝の小片を 0°C で 10 日間低温処理した場合にも上の結果と同様に滲透濃度も耐凍性の大きさも殆んど変化しなかつた。さらに 6 月中旬，新梢が 20 cm 近く伸長している昨年の枝で，皮層部の細胞に殆んど澱粉が認められない枝の小片を 0°C で 7 日間低温処理したが，滲透濃

第 4 表　澱粉を含まない枝の小片を低温処理した場合の変化

	滲透濃度 (M)	耐凍性の大きさ（−20°C で 6 時間凍結）
対照	0.48～0.52	35*
澱粉を含まない場合の低温処理	0.50～0.52	40
澱粉を含む場合の低温処理	0.65	100

*　皮層柔細胞の生存率 (%)

度の増加も耐凍性の増大も殆んど認められなかつた。そのような低温処理効果の少ない枝の小片を室温で徐々に乾燥させたが，含まれている澱粉は少ないために乾燥による糖の増大はないと思われるが，水分の減少によつて糖濃度は低温処理した場合よりもより多く増大した。耐凍性も低温処理した場合とちがつてある程度増大した。

IV.

低温処理効果をともなわない15°C以上の温度で2～3日間乾燥させて糖濃度を増加させると，0°Cで10日間低温処理した場合よりも多く耐凍性を増大する。一方，糖濃度が増加しない時には，低温処理しても耐凍性が増大しない。これらの事実から低温の作用が耐凍性増大に不可欠ではなく，低温は糖濃度を増大させるという間接的役割をもつにすぎないものとみなされる。さらに耐凍性増大に対して低温が必ずしも必要でないいくつかの証拠をあげてみよう。木では伸長停止後しばらくすると，細胞内に蓄積されていた糖類が澱粉に変化し，水分が湿重量当り15～20%減少し滲透濃度も0.25 Mから0.35 Mに増加する。この変化が起こる前には−5°Cでの凍結に全く耐えられなかつたものが，−5°Cでの数時間の凍結に耐えられるようになる[5),6)]。この時に始めて低温処理効果が有効になる。このような濃度の増加に伴なう耐凍性の増大は8月下旬～9月上旬に，気温が20°～30°Cの高温のもとにおいて起こる。また室温で皮層組織の切片をエチレングライコールやグリセリン溶液中に数分間処理するだけで耐凍性が著しく増大する事実[7)]もこの事を裏付けている。

低温処理する場合，澱粉が分解して糖類に変わるが，ある種の植物では澱粉が糖類の外に糖アルコールに変化する事が知られている[1)]。殊にクチナシでは澱粉が低温のもとで蔗糖と同程度のマンニットを生ずる事が知られている。桑では現在までの実験結果では冬季においても糖アルコールは少量しか認められない。他の木本類について冬季糖アルコールを多量に含んでいるかどうか今後検討してみたい。桑のように冬季，糖アルコールを少量しか含まない種類では耐凍性増大に対して糖濃度の増大が重要な関係をもつているものと思われる。糖濃度の増加を有効にするために，水分の少ない状態の細胞内に糖を人工的に入れた時に，耐凍性が増加する事が判れば，糖濃度の増大が耐凍性を増大させるという直接証拠が得られるが，現在までの所，糖を細胞内に入れる事はむずかしい。

乾燥した場合，澱粉が分解して糖類に変化する事実はIljin[2),3)]が1922年草本類の孔辺細胞で見出しているが，木の皮層細胞ではこの事実はまだ見出されていなかつた。

摘 要

植物の耐凍性増大に対して低温の作用が不可欠であるか，或いは低温の作用は糖類を増大させる間接的役割にすぎないかを調べてみた。

1. 高温で乾燥させた場合，澱粉が減少して糖類が増大する事が判つた。同じ材料を0°Cで10日間低温処理した場合と比較して同程度以上に糖濃度も，耐凍性も増大した。

2. 低温処理しても糖濃度が増大しない時には耐凍性の大きさは変らなかつた。

これらの結果より少なくとも桑の皮層細胞の耐凍性増大に対して低温の作用は不可欠でない。耐凍性増大に対して低温の作用は糖類を増大させる間接的役割を果しているにすぎないと思われる。従つて耐凍性増大に対して細胞の糖濃度の増大が重要な関係を有している。

御校閲して頂いた朝比奈教授に謝意を表わします。

文　献

1) Asai, T. 1932 Untersuchungen über die Bedeutung des Mannits im Stoffwechsel einiger höheren Pflanzen. Jap. J. Bot., ***6***, 63.
2) Iljin, W. S. 1922 Wirkung der Kationen von Salzen auf den Zerfall und die Bildung von Stärke in der Pflanze. Biochem. Z., ***132***, 494.
3) ———— 1957 Drought resistance in plants and Physiological process. Ann. Rev. Plant Physiol., ***8***, 257.
4) McCready, R. M., Guggol, J., Silviera, V. and H. S. Owens 1950 Determination of starch and amylose in vegetables. Anal. chem., ***22***, 1156.
5) 酒井　昭 1956 植物に於ける耐凍性増大と外囲温度. 低温科学, 生物篇, ***14***, 7.
6) ———— 1957 木本類の耐凍性増大過程 I. 耐凍性増大と糖類及び水溶性蛋白質の関係 (1). 低温科学, 生物篇, ***15***, 17.
7) ———— 1958 木本類の耐凍性増大過程 II. 耐凍性増大と糖類及び水溶性蛋白質の関係 (2). 低温科学, 生物篇, ***16***, 23.
8) Troy, A., J. R. Scott, and E. H. Melvin 1953 Determination of dextran with anthrane. Analy. chem., ***25***, 1656.

Résumé

In both natural and artificial frost-hardening of the parenchyma cells in cortex of mulberry tree with a constant length of frost-hardening period, the lower the temperature to which material is exposed, the greater the effectiveness of treatment becomes. At a definite temperature, a comparatively longer period of treatment is more effective than shorter ones within a certain limit. In general, the increase in frost-hardiness of parenchyma cells is intimately proportional to that in the sucrose concentration. It is necessary, therefore, to distinguish the effect of low temperature and of the increase of sucrose concentration in cosideration of the increase in the frost-hardiness of woody plant cells.

When pieces of twig were gradually desiccated at room temperature (15°～20°C) for 2 to 3 days, it was found that a considerable decrease of starch content in the parenchyma cells of the cortex was accompanied by a concomitant rise in sucrose concentration. These cells treated in such way became distinctly more frost-resistant than the parenchyma cells in the pieces which were held at 0°C for 10 days at that time. On the other hand, whenever any chilling in parenchyma cells of cortex resulted in no

increase in their sucrose concentration, they could not be hardened further by subjection to low temperature.

These facts seem to indicate that at least in cortical tissue of mulberry tree, low temperature itself has no important effect upon the increase of frost-resistance, but the increase of sucrose concentration is a primary factor in it.