



Title	木本類の耐凍性増大の過程 IX : 糖類の凍害に対する保護作用
Author(s)	酒井, 昭; SAKAI, Akira
Citation	低温科学. 生物篇, 18, 23-34
Issue Date	1960-11-04
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17634">https://hdl.handle.net/2115/17634</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	18_p23-34.pdf



## 木本類の耐凍性増大の過程 IX\*

—— 糖類の凍害に対する保護作用 ——

酒 井 昭

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和 35 年 6 月受理)

### I.

耐凍性と糖との間に平行関係があることは古くから認められていたが、両者の間に直接的関係があるかどうかについては長年論争がつけられてきた。その原因の1つとして、耐凍性増大機構の中で低温が果たす役割が判らなかつたことがあげられる。すなわち、低温の作用で糖も耐凍性も増大するが、この2つの要因の間の関係が解析されていなかつた。他の理由は糖類を人工的に植物細胞内に入れる事が非常に困難であつたために、糖が耐凍性増大に直接関係しているという証拠がえられなかつたためである。前者の低温の作用の問題は前報<sup>1)</sup>において明らかにしておいた。前報の結果から、糖の増大が耐凍性をたかめる原因であつて、一部の人々<sup>2),3)</sup>がとなえているように、耐凍性増大の随伴現象、または結果として糖がますとは考えられない。かように、糖の増大が耐凍性増大の原因であるならば、細胞内に各種の糖を入れた時、実際に耐凍性が高まるはずである。

クチナシ等のような比較的薄い葉をもつた常緑樹の枝を2~3枚の葉をつけたまま25°Cで糖液に1日間さしておくと、葉の細胞内の糖濃度が非常に高まつてくることが判つた。このような方法では、Levitt (1959)<sup>4)</sup> がキャベツの葉で行なつた infiltration の方法とちがつて、細胞間隙が糖液でみたされることはない。この方法で細胞内に各種の糖を入れた時、耐凍性がどのように変るか。さらに、かような処理をした時、細胞内にどのような糖がどの程度ましているかについて調べてみた。さらに凍害に対する糖の保護作用の機構の一端を知るために、糖以外のいろいろな物質を用いて、同じ方法で細胞内にこれらの物質を入れて、凍害の保護作用を比較してみた。

御校閲して頂いた朝比奈教授に謝意を表します。

### II.

材料は西洋クチナシ (*Gardenia jasminoides* Ellis var. *grandiflora* Nakai) の葉を用いた。

\* 北海道大学低温科学研究所業績 第550号

9月中旬以降、充分成熟した葉は $-5^{\circ}\text{C}$ での1日間の凍結に耐えうる。この程度の凍結に耐えるようになってから、クチナシを戸外の寒さにあわせないために $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ の温室に移した。かようにして、耐凍性が戸外の低温でたかまることを防いで実験期間中(9月中旬~10月末)大体同じ程度の耐凍性を保持するようにした。

クチナシの枝は水揚が非常によいし、葉の裏面が白つぼい色をしているので、葉が害を受けて褐変した時、その害の度合がよく判る。さらにまえに述べたように、この葉は成熟してくると、ある程度の凍結に耐えるようになる。これらの利点をもっているのでクチナシを実験材料にえらんだ。

葉を2枚つけた枝を1方は水に挿し、他方は糖液にさして約 $25^{\circ}\text{C}$ の恒温箱中に1日間おいてから、1枚の葉は凍結させて耐凍性の大きさを測った。他の1枚の葉は糖の定量に用いた。葉を凍結させる時は過冷却を防ぐために葉を水で濡らしてから、シャーレに入れて $-5^{\circ}\text{C}$ の恒温箱で冷却した。冷却1時間後に、まだ過冷却している時は植氷して凍らせた。その後、所定の温度の恒温箱中に移して1日間凍結状態においた。そこから $0^{\circ}\text{C}$ の室内に取出して融解させて害の度合を調べた。葉の害の度合は融解後16~24時間経過後、褐度の度合から次のように分類した。一は正常。+は葉脈及びその周辺部のみ薄い黄褐色、その他の部分は緑色。++は葉脈及びその周辺部のみ褐色でその他の部分は黄褐色。+++は葉脈及びその周辺部のみ黒褐色でその他の部分は褐色。また必要な場合は葉の横断切片をとり、海綿及び柵状組織の細胞の生存率を原形質分離法で調べた。

糖の定量は大きな葉脈の部位を除いてから、葉のホモヂネートを作り、トリクロール醋酸で除蛋白後、アンスロン溶液で比色定量した。また前報<sup>5)</sup>で述べた方法によつて、ペーパークロマトグラフィーで含まれている糖を分離後、それらの糖を水で elution してからアンスロン溶液で糖を定量した。多価アルコール類の定量はペーパークロマトグラフィーで分離後、水で elution した液を過沃素酸で酸化後、クロモトローブ酸試薬で比色定量した<sup>5), 6)</sup>。尿素の定量はジアセチールモノオキシム法によつた。いずれも湿重量当りのそれぞれの糖及び多価アルコールの量(%)であらわした。

また糖の定量に先立つて、葉の一部を切取つてうすい横断切片をとり、中性赤で染色後、平衡塩溶液中で原形質分離法によつて各組織の細胞の滲透濃度を測つた。各組織の細胞の間には滲透濃度の差がないことが判つたので、見やすい海綿組織の細胞をおもに使用した。また枝によつて葉の状態が可成り異なつていたので、同一系統の実験には同一状態にある葉のみを使用した。

### III.

1. 細胞内に糖を増加させた場合の影響 用いた葉の各組織の滲透濃度は約 $1.4\text{ M}$ であつた。使用する糖液の濃度を一定にするために、実験はすべて葉の滲透濃度の $1/2$ の濃度の溶液を使用した。まえにのべたように、2枚の葉をつけた約 $10\text{ cm}$ の枝を一方は水に、他方は $0.7\text{ M}$

第1表 耐凍性増大に対する糖の影響 (1) (クチナシの葉)

処理する液	滲透濃度 (M) (海綿組織)	滲透濃度の変化 (M)	糖の含有量* (湿重量当)	耐凍性の大きさ (24時間凍結)	
				-10°C	-15°C
水	1.40	-0.10 (減少)	1.80%	0%**	0%
グルコース溶液 (0.7 M)	2.60	+1.10 (増大)	3.60%	100%	80%

\* 葉脈を除いた葉の湿重量当りの糖の量 (%)

\*\* 葉の細胞の生存率 (%)

なお処理前の葉の濃度は 1.5 M である。

グルコース溶液にさして、25°C の恒温箱に1日おいた後、それぞれの葉の糖の量と耐凍性の大きさを測った。第1表に示すように、海綿組織の滲透濃度は水挿の方は処理前よりも 0.10 M 減少しているのに、グルコース溶液中に挿しておいた方は処理前より 1.10 M (70%) 増加している。その場合における葉の糖の含有量はグルコース溶液中で処理したものは水挿の場合の2倍の量を示した。これらの葉を -10°C と -15°C で1日間凍結してから、原形質分離法で葉の細胞状及び海綿組織の生存率を調べた所、水挿したものは葉の全細胞が死んでいたのに、グルコース溶液中で処理したものは -10°C では全細胞が、-15°C では 80% の細胞が生存していた。

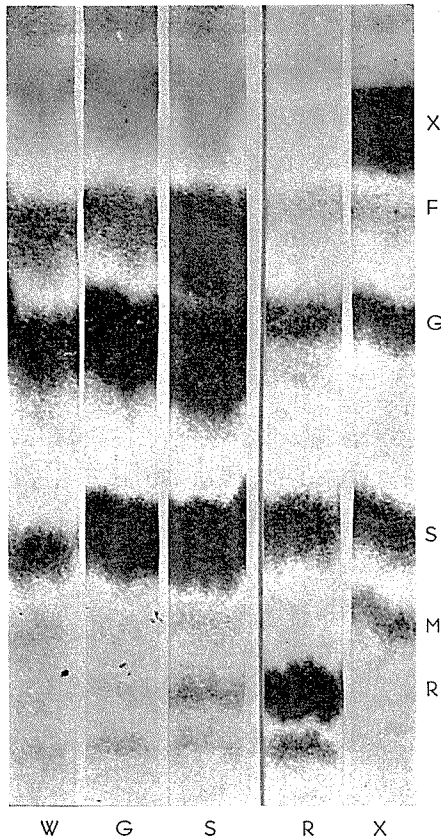
つぎに、サッカロースは植物及び動物細胞で、実験条件下では、グルコースとちがつて全く細胞内に透過しないとされている。サッカロースもグルコースと同様に細胞内に入り、耐凍性を著しく高めていることが第2表から判る。サッカロースはグルコースよりも、より多量に細胞内に入り、耐凍性をよりたかめている。

第2表 耐凍性増大に対する糖の影響 (2)  
(クチナシの葉)

処理する液	滲透濃度 (M)	耐凍性の大きさ (-10°C で 24時間凍結)
水	1.40	0*
グルコース溶液 (0.7 M)	2.30	70
サッカロース溶液 (0.7 M)	2.60	100

\* 葉の細胞の生存率

2. 葉の中に各種の糖を増加させた時のペーパークロマトグラム グルコースやサッカロースの溶液中に枝を挿しておいた時、その葉の細胞の滲透濃度が増加しているし、また葉の中の糖の量を定量した結果、糖が著しく増加していることから、糖が細胞内に増加したことは確かである。ただそれらの糖が細胞内において、他の糖や他の物質に転換している可能性も考えられる。そのため、ペーパークロマトグラフィで糖を調べてみた。第1図にいろいろな糖液で処理された葉のペーパークロマトグラムを示す。それぞれのペーパークロマトグラムの下に記した記号は W (水), G (グルコース), S (サッカロース), R (ラフィノース), X (キシロース) の各液で処理された葉のペーパークロマトグラムであることを示している。ペーパークロマトグラムの横に記した X, F, G, S, R の記号はキシロース, フラクトース, グルコース, サッカロース及びラフィノースの位置を示している。クチナシの葉に含まれている主な糖はサッカロース



第1図 各糖液で処理された葉の  
ペーパークロマトグラム  
(材料クテナシ)

n-ブタノール、氷醋酸、水(4:1:2)の展開液で上昇法で7回展開後、ベンチジン試薬で発色。

ペーパークロマトグラムの下に記号はそれぞれW(水)、G(グルコース)、S(サッカロース)、R(ラフィノース)、X(キシロース)の0.7M溶液で処理された葉のペーパークロマトグラムであることを示す。G, S, R, X, Mはそれぞれグルコース、サッカロース、ラフィノース、キシロース、マルトースの存在位置を示す。なおW, G, SとR, Xは別の期日に行なつたものである。

これらの実験結果から、グルコースのみでなく、サッカロース、キシロースや三糖類のラフィノースでも細胞内に増加することが判る。またかように糖が細胞内に増加した場合には、耐凍性がたかまることも明らかになつた。(第7表)。

ズ、グルコース、フルクトースでその外に微量のキシロース、マルトース及び三糖類、四糖類が含まれている。グルコースで葉を処理した場合には、グルコースとサッカロースが増加している。サッカロースで処理した場合にはサッカロース、グルコース及びフルクトースが増加している。ラフィノースで処理した場合にはラフィノース及びラフィノースのスポットのすぐ下にある四糖類が増加している。キシロースの場合にはキシロースとサッカロースのスポットのすぐ下にあるマルトースが増加している。第1図のW, G, Sのそれぞれのペーパークロマトグラム中に含まれている糖のうち、サッカロース、グルコース、フルクトースについて定量した結果を第3表に示す。

第3表 糖液で処理した葉の中に含まれている各種の糖の量

	クロマトグラムの種類		
	水で処理 (対 照)	グルコー ズ溶液で 処理	サッカロ ース溶液 で処理
サッカロース	0.74*	1.80	2.68
グルコース	1.10	1.86	2.47
フルクトース	0.48	0.62	1.34

\* 湿重量当りの糖の量(%)

処理前の葉の濃度は1.52Mである。

さらに問題になるのは、細胞内に入った糖が糖以外の耐凍性をたかめる物質、たとえば多価アルコール類に変化しているおそれがあるので、同じ材料を用いて、これを定量してみた。第4表にその結果を示す。糖液にさしておいたものは対照と比較してグリセロールやマンニトール、ソルビトールが増加しているが、その量は糖の量に比較して僅かである。

第4表 葉の中に入った糖から多価アルコールえの変化

クロマトグラムの種類	多価アルコールの量 (湿重量当りの量 (%))			
	グリセロール	グリセロールの増加量	マンニトールとソルビトール	マンニトールとソルビトールの増加量
水で処理(対照)	0.09	—	0.40	—
グルコース溶液で処理	0.22	0.14	0.68	0.28
サッカロース溶液で処理	0.12	0.04	0.84	0.44

3. 多価アルコール類の耐凍性に及ぼす影響 糖の場合と同様に0.7 Mのエチレングライコール、グリセロール及びマンニトール溶液中に25°Cで1日間処理してから、多価アルコールの量と耐凍性の大きさを調べた(第5表)。滲透濃度の増加はマンニトールで処理した場合が一番大きく、ついでグリセロール、エチレングライコールの順であつた。耐凍性の大きさはエチレングライコールとグリセロールの間に差は見出せなかつたが、マンニトールの場合には、

第5表 多価アルコール類の凍害に対する保護効果 (クチナシの葉)

	処 理 し た 液			
	水(対照)	エチレングライコール	グリセロール	マンニトール
滲透濃度(M)	1.46~1.50	1.90~2.00	2.54~2.58	2.70~2.80
耐凍性の大きさ*	0**	100	100	50

\* -10°Cで16時間凍結後さらに-15°Cで14時間凍結

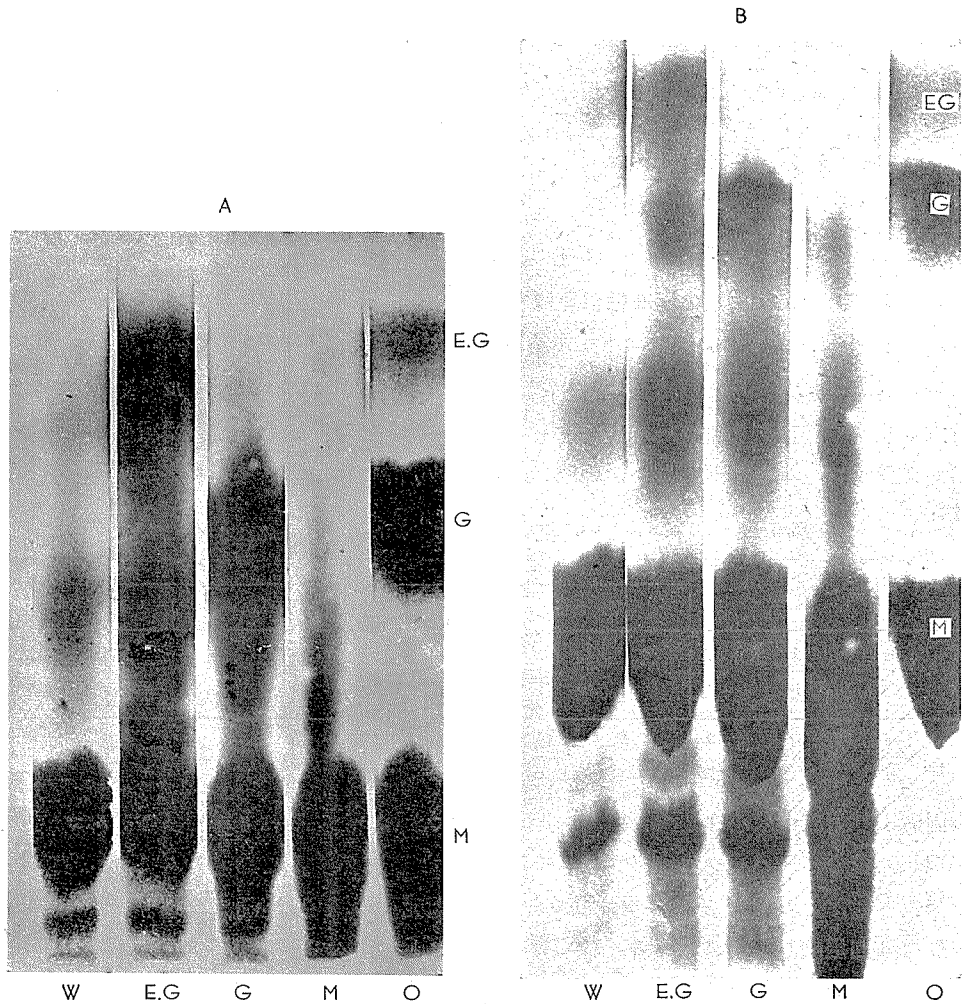
\*\* 葉の細胞の生存率(%)

この両者より耐凍性は小さかつたが、対照よりは大きかつた。それぞれの多価アルコール溶液で処理した葉のペーパークロマトグラムを第2図A, Bに示す。これはアムモニア性硝酸銀溶液で発色させたもので、多価アルコールとともに還元性の糖も発色している。第2図Aは1回、Bは3回展開したものである。第2図のクロマトグラムの下に記号W, E.G, G, Mはそれぞれ水、エチレングライコール、グリセロール、マンニトール溶液で処理した葉のクロマトグラムであることを示す。記号Oのクロマトグラムはエチレングライコール(E.G), グリセロール(G), マンニトール(M)を展開したものである。第2図A, Bにおいて、水で処理した対照はエチレングライコールやグリセロールを含んでいないが、エチレングライコールやグリセロールで処理した場合には、それぞれのクロマトグラム上にそれらのスポットが認められる。第2図Aの程度の分離度ではマンニトールの増加が認めにくいので、更に3回展開を繰返したのが第2図Bで、マンニトールが多量に存在していて、そのために尾を引いていることがわかる。

第6表 葉の中に入った多価アルコール類の糖えの変化

葉を処理した液の種類	糖量*	増加量*
水(対照)	0.54	—
エチレングライコール	0.85	0.31
グリセロール	1.48	0.94
マンニトール	1.42	0.88

\* 糖量, 増加量ともに湿重量当りのグルコースの量(%)



第2図 多価アルコール溶液で処理された葉のペーパークロマトグラム

A: n-ブタノール, 氷醋酸, 水 (4:1:2) を含む展開液で1回展開

B: 同展開液で4回展開

ペーパークロマトグラム下の記号はそれぞれ W (水), E.G (エチレングライコール), G (グリセロール), M (マンニトール) の 0.7 M 溶液で処理された葉のペーパークロマトグラムであることを示す。E.G, G, M の記号はエチレングライコール, グリセロール, マンニトールのスポットの存在位置を示す。

クチナシの葉には湿重量当り 1.0% のマンニトールが含まれているが, マンニトールで処理した場合には 4.0% の含有量を示したのでマンニトール溶液中で処理したため, 湿重量当り 3.0% 増加したことになる。グリセロールは対照の葉の中には認められないが, グリセロールで処理した時, 葉の中にグリセロールが 1.85% 認められた。エチレングライコールで処理した場合には 1.25% 認められた。なお葉の中に入ったそれらが他の多価アルコールに転化するかと

うか調べてみたが、かような変化は認められなかつた。しかし、葉の中に入った多価アルコールの一部が糖に変化していた。第6表にその結果を示す。

4. 糖及び多価アルコール以外の物質の影響 アセトアミド、尿素、グリココール(グリシン)、エタノール(各0.7M溶液)、硝酸カリ、平衡塩溶液(CaCl:CaCl<sub>2</sub>を9:1に含む)(各0.7M溶液)について同様な方法で凍害に対する保護効果を調べてみた。これらの物質が細胞内にどれだけ入つたかについては尿素以外は現在まだ定量していない。尿素は対照の方に湿重量当り0.08%含まれているのに、処理したものには2.4%含まれていた。アセトアミドはグ

第7表 凍害に対する各物質の保護作用の比較

実験番号	物 質 の 種 類													
	E.G	Gly	S	G	X	A.A.	R	M	U	G.C	E	W	K	B.S
1			-	±					+~++				##	
2				±					+~++				##	
3				-	+				+~++	++			##	
4			-	+					+~++			##		
5	-	±											##	
6	±	+		+~++					++				##	
7				-		±				++~##	++~##		##	
8				-				+	++				##	##
9				-					++				##	##
10				±					##				##	##
11													##	##

・凍結条件 実験5は-10°Cで16時間、さらに-15°Cで14時間凍結、他の実験はいずれも-10°Cで1日間凍結

・物質の記号

E.G.(エチレングライコール), Gly(グリセロール), S(サッカロース), G(グルコース), X(キシロース), A.A.(アセトアミド), R(ラフィノース), M(マンニトール), U(尿素), G.C(グリココール), E(エタノール), W(水), K(硝酸カリ), B.S(平衡塩溶液).

・害の度合

-: 正常

+: 葉脈及びその周辺のみうすい黄褐色, その他の部分は緑色

++: 葉脈及びその周辺のみ褐色, その他の部分は黄褐色

##: 葉脈及びその周辺のみ黒褐色, その他の部分褐色

ルコースとほぼ同程度の保護効果を有する。尿素の保護効果は糖やマンニトールと比較して小さいが対照よりは明らかに凍害が少ない。グリココール(アミノ酸)やエタノールは用いた条件下では保護作用は極めて小さい。用いた無機塩類は保護効果がない。むしろ対照より害作用が認められる場合が多い。用いた条件下での各物質の凍害に対する保護効果を調べた結果を第7表に総括して示す。なおその結果の一部を図版A~Fに示す。

用いた条件下での各物質の凍害に対する保護効果の順列は大体次のようである。

エチレングライコール } グルコース }  
 グリセロール } キシロース }  
 サッカロース } アセトアミド } ラフィノーズ > マンニトール > 尿素 > グリココール }  
 エタノール > 水 > 平衡塩溶液 }  
 硝酸カリ

#### IV.

前報<sup>1),7),8),9)</sup>における一連の実験結果から、細胞内に糖がますことが耐凍性を高めることを示す事実をえた。実際、糖の増大が耐凍性増大の原因になつていならば、室温で人工的に細胞内に糖を入れた場合、耐凍性もますにちがいない。本実験で 25°C のような高い温度で細胞間隙の状態を変えないようにして、人工的に細胞内に糖を入れた時、それらの細胞の耐凍性が著しく高まつた。したがつて、糖の増大と耐凍性増大との間に因果関係があることが明らかになつた。

Levitt (1959)<sup>4)</sup> はキャベツの葉を用いて、グルコース溶液内で infiltration してキャベツの葉の細胞内にグルコースを入れたが、この場合、リボースや他の糖は入れることが出来なかつた。本実験の方法ではどのような糖も入れることが出来た。殊に分子量が 500 近いラフィノーズも細胞内に入つた。また、色々な糖を入れた時、実際にそれらの糖が細胞内に増加していることもペーパークロマトグラフィーで確かめた。その場合、細胞内にグルコースを入れた時は、その一部はサッカロースに、またサッカロースを入れた時は、その一部はグルコースとフルクトースに変わった。クチナシの葉では、冬にはサッカロースがグルコースやフルクトースより多量に蓄積される。このことから、人工的に葉の中に糖を入れた時、クチナシの葉では、サッカロースが他の糖よりも蓄積されやすいのであろう。糖を葉の中に入れた時、それらの糖から多価アルコール類えの変化が予想されたので調べてみたが、その変化はわずかであつた。逆に多価アルコールを入れた時には、それからかなりの糖の増加が認められた。

凍害に対する保護作用は多かれ少なかれ、どの糖も有していて、ある糖にのみ特異的でない。またこの保護作用は糖のみに特異的でもない。程度の差こそあれ、用いた物質では、多価アルコール、アセトアミド、尿素も保護作用をもっている。色々な物質の凍害に対する保護作用の大小を比較する実験においては、色々な問題がある。たとえば、血球<sup>10),11)</sup>、精子<sup>12)</sup>で行なわれているように、異なつた濃度の溶液中で細胞を処理してから凍害の度合を調べて、それらの物質の濃度変化と保護効果の変動との関係を調べている。この場合、かりにその物質が細胞内に入つたとしても、どれだけ量が入つたか、また入つてからどれだけがその物質としてとどまり、どれだけが他の物質に変化したかが測定されていない場合が多い。またこのような実験では、サッカロースのように、細胞内に入らない物質は保護効果が少ないことになる。かように色々な物質による保護効果の大きさを厳密に比較するためには、色々な物質を同一量だけ細胞内に入れた時の効果を比較することが必要であるが、実際にはかようなことは非常に困難である。かような意味から、本実験も各物質の保護効果を正しく比較することが出来なし、さらに葉の不均一性もあるので、大体の傾向しかすることが出来ない。糖類の中では三糖類は

より低分子の糖より保護効果が少ないし、多価アルコール類の中ではマンニトールはエチレングライコールやグリセロールよりも効果が少ない。

実験に用いたクチナシの葉は氷点下数度の凍結には充分耐えられる状態のものであつて、急速に冷却しない限り、細胞内凍結は起こりにくい。したがつて、これらの細胞が凍結融解後、凍害を受けた場合には、細胞外凍結によつて細胞内の水が脱水されて起つたものと解釈してもよい。糖や多価アルコール類のような中性物質が細胞内に多量にある場合、細胞が害を受ける程度にまで脱水されにくいためか、或は同程度に脱水されてもそれらの物質のために原形質が害されなくなるためか、それらの保護作用の機構はわかつていない。

アセトアミドが可成り保護効果を有することから、凍害の保護効果は糖や多価アルコールのようにその分子内に OH 基を有することが不可欠とは思われない。細胞内に入りやすく、多量に細胞内に入つても、害作用を与えないような中性物質はある程度効果をもつ傾向が認められる。Lovelock<sup>10),11),12)</sup> が動物細胞でとなえているように、中性物質が細胞内に多量にある場合には、細胞内の塩類のモル分率が低下するために、細胞が脱水されても、細胞内の塩濃度のたかまりが押えられるために、凍害が少なくなるという事も考えられる。この説に従えば、0°C以下の温度において、氷と平衡状態にある電解質の濃度を低下させるように働くグリセロールの保護作用は溶液の colligative properties によるもので、グリセロールのみに特有でなく、細胞内に入りやすく、しかも細胞に害を与えることが少ない中性物質はすべて同一濃度においては同一の程度の作用をもつことになる。本実験の場合には、25°Cでの1日間の処理後に葉に葉害が出ていれば、葉に褐変が現われるので、すぐその程度を知ることが出来る。凍害実験は葉害を生じていない葉についてのみ行なつた。ただこの場合、凍結実験前においては葉害を生じていなかったが、凍結させて細胞内が脱水濃縮されると葉害が出てくることも考えられる。しかし、凍結融解後、あらわれる害が、凍害によるのか、葉害によるのか区別することは困難である。凍害の保護作用の機構を考える場合、colligative properties によるかどうかを解明するためには、この問題を解決することが必要と思われる。

無機塩類で処理した場合、水挿(対照)の場合と比較して保護効果がないか、むしろ害作用が認められることは興味あることである。無機塩類や糖類の濃度をいろいろ変えたり、この両者を細胞内に入れる実験を行なえば、凍害の保護作用の機作を解明する手掛がえられるかもしれない。

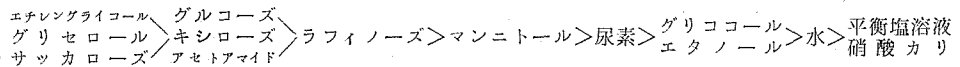
## 摘 要

クチナシの葉をつけた枝を 25°C で1日間、0.7~0.8 M の糖を始めいろいろな溶液中に挿しておいて、細胞中にこれらの物質を人工的に入れて、凍害に対するそれらの物質の保護効果を調べた。実験に用いたクチナシの葉は成熟していて、-5°Cでの約16時間の凍結に耐えうる状態のものを使用した。

1. グルコース、サッカロース、キシロース、ラフィノースの各糖類が細胞内に増加した

時、それらの細胞の耐凍性が著しくたかまつた。したがって、細胞内における糖濃度の増加が耐凍性をたかめる原因となつてゐることが確かめられた。

2. 凍害に対する保護作用は糖のみに特異的でなく、用いた物質では多価アルコール、アセトアミド、尿素もこの作用を有しているが、無機塩類にはこのような作用が認められなかつた。用いた条件下で凍害に対する各物質の保護作用の大体の順位は次のようである。



## 文 献

- 1) 酒井 昭 1959 木本類の耐凍性増大過程 III. 耐凍性増大と低温の作用. 低温科学, 生物篇, **42**, 97.
- 2) Pisek, A. 1950 Frosthärte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei *Rhododendron ferruginium*, *Pinus cembra* und *Picea excelsa*. *Protoplasma*, **39**, 129.
- 3) Larcher, W. 1954 Die Kälteresistenz mediterraner immergrüner und ihre Beeinflussbarkeit. *Planta*, **44**, 607.
- 4) Levitt, J. 1959 Effects of artificial increases in sugar content on frost hardiness. *Plant Physiol.* **34**, 401.
- 5) 酒井 昭 1960 木本類の耐凍性増大過程 VI. 糖類の季節的変動 (1). 日本林学会誌, **42**, 97.
- 6) Burton, R. M. 1957 The determination of glycerol and dihydroxyacetone. *Methods in Enzymology*. (edited by S. P. Colowick & N. O. Kaplan) Academic Press, N. Y. Vol. III, 246.
- 7) 酒井 昭 1956 植物における耐凍性増大と外囲温度. 低温科学, 生物篇, **14**, 7.
- 8) 酒井 昭 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.
- 9) 酒井 昭 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.
- 10) Lovelock, J. E. 1953 The mechanism of the protective action of glycerol against haemolysis by freezing and thawing. *Biochim. Biophys. Acta*, **11**, 28.
- 11) Lovelock, J. E. and Polge, C. 1954 The protective action of neutral solutes against haemolysis by freezing and thawing. *Biochem. J.*, **56**, 265.
- 12) Lovelock, J. E. 1954 The immobilization of spermatozoa against haemolysis by freezing and thawing. *Biochem. J.*, **58**, 618.

## Résumé

Some experiments were made to find out whether the increase of sugar concentration in plant cells directly results in an increase of their frost hardiness or not. In order to increase the sugar content in a cell, the twigs of *Gardenia (Gardenia jasminoides) Ellis* var. *grandiflora* Nakai) with 2-3 leaves were used in September and October when the leaves can withstand freezing at  $-5^{\circ}\text{C}$  for about 16 hours. They were put in various kinds of sugar solutions (0.7 M) at  $25^{\circ}\text{C}$ . At the same time, the twig of the control was put in water under the same conditions as mentioned above. The osmotic value of the spongy or the palisade mesophyll cells in a leaf of gardenia was about 1.4 M.

1. The cells treated with sugar solution such as glucose, saccharose, xylose and raffinose showed considerable increase in their frost hardness as well as in sugar content, it is therefore obvious that the increase of sugar content in a cell results in that of its frost hardness.

2. The protective action against freezing injury in gardenia leaf cell is not unique to sugar. Polyhydric alcohols, acetoamide and urea also showed a protective action against freezing, but inorganic salts did not.

The degree of ability in which various substances are able to protect against freezing injury in gardenia leaf cell is as follows:

ethylene glycol glycerol saccharose	}	glucose xylose acetoamide	}	raffinose	>	mannitol	>	urea	>	glycocol ethanol
> water (control)	>	balanced salts solution		>						
		pottasium nitrate								

## 図 版 説 明

- A. 1. 0.8 M ethylene glycol 溶液で処理 (－)  
 2. 0.8 M glycerol 溶液で処理 (±)  
 3. N.C. (水で処理) (⊛)

いずれも  $-10^{\circ}\text{C}$  で 16 時間, ついで  $-15^{\circ}\text{C}$  で 14 時間凍結。融解後 1 日の状態

- B. 1. 0.8 M glucose 溶液で処理 (－)  
 2. 0.8 M urea 溶液で処理 (+)  
 3. 0.4 M  $\text{KNO}_3$  溶液で処理 (⊛)  
 4. N.C. (水で処理) (⊛)

$-10^{\circ}\text{C}$  で 1 日間凍結, 融解 1 日後の状態

- C. 1. N.C. (水で処理) (⊛)  
 2. 0.7 M glycerol 溶液で処理 (++~⊛)  
 3. 0.7 M ethanol で処理 (⊛)  
 4. 0.7 M acetoamide 溶液で処理 (±)  
 5. 0.7 M glucose 溶液で処理 (－)

$-10^{\circ}\text{C}$  で 1 日間凍結, 融解 1 日後の状態

- D. 1. 0.7 M glucose 溶液で処理 (－)  
 2. N.C. (水で処理) (⊛)  
 3. 0.7 M mannitol 溶液で処理 (+)  
 4. 0.35 M  $\text{KNO}_3$  溶液で処理 (⊛)  
 5. 0.7 M urea 溶液で処理 (++)

$-10^{\circ}\text{C}$  で 1 日間凍結, 融解 1 日後の状態

- E. 1. 0.35 M balanced salt solution で処理 (⊛)  
 2. 0.35 M  $\text{KNO}_3$  溶液で処理 (⊛)  
 3. 0.2 M  $\text{KNO}_3$  溶液で処理 (⊛)  
 4. N.C. (水で処理) (++)

$-10^{\circ}\text{C}$  で 1 日間凍結, 融解 1 日後の状態

- F. 1. N.C. (水び処理) (⊛)  
 2. 0.75 M mannitol 溶液で処理 (+)  
 3. 0.75 M glucose 溶液で処理 (－)  
 4. 0.35 M glucose 溶液で処理 (++~+)

$-10^{\circ}\text{C}$  で 1 日間凍結, 融解 1 日後の状態

