



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	木本類の耐凍性増大過程 X : 枝の耐凍性を効果的にたかめる温度
Author(s)	酒井, 昭; SAKAI, Akira
Citation	低温科学. 生物篇, 22, 29-50
Issue Date	1964-10-20
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17679">https://hdl.handle.net/2115/17679</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	22_p29-50.pdf



## 木本類の耐凍性増大過程 X\*

枝の耐凍性を効果的にたかめる温度

酒 井 昭

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和 39 年 7 月受理)

### I. 緒 論

凍結状態に耐えられる植物を人工的に低温処理すると耐凍性が著しくたかまる。クワの秋の枝の皮層細胞を用いて Hardening 温度と耐凍性のたかまりとの関係を調べた結果<sup>1)</sup>, 15°C 以高の温度では Hardening 効果がほとんどなく, 10°C では処理期間が長くなると効果があらわれ, 5°C 以低ことに 0°C で処理した場合には, その効果が著しくたかまった。なお, 凍結状態で Hardening した場合には, 0°C で処理した場合よりも耐凍性のたかまりは大きかった<sup>1)</sup>。

野外で越冬している木の耐凍性増大過程を調べてみると, 札幌では 11 月中旬以降氷点下の気温が多くなるにつれて耐凍性のたかまりは著しくなる<sup>2,3)</sup>。また同一樹種における冬の耐凍性の大きさは年によってある程度異なっていて, 寒さのきびしい冬ほど, 冬の耐凍性がたかいことが知られている<sup>4)</sup>。さらに植物が雪の中に埋もれたり<sup>5)</sup>, 冬の木の枝を 0°C におく時も耐凍性はひくくなる<sup>5)</sup>。しかし, -5° 又は -10°C の温度で凍結状態におく場合には, たかい耐凍度を長い間保持できる<sup>5)</sup>。これらの事実から, 少なくとも耐凍性のたかい木では, それらの耐凍性を最高にまでたかめるのには, ある期間凍結状態におくことが必要のように思われる。しかし, 凍結状態においた場合に, なぜ耐凍性がたかまるかについては何も知られていない。

著者の従来<sup>6)</sup>の木の Hardening の研究の多くは, 枝の皮層細胞についてのみ行なったものであるが, 皮層細胞は枝の組織中もっとも耐凍性がたかいので皮層細胞で枝全体を代表させることはできない<sup>6)</sup>。したがって, 木の耐凍性増大過程を明らかにするためには, 皮層細胞だけでなく, すくなくとも枝単位で実験を行なうことが必要で, 従来皮層細胞で行なってきた結果を枝を用いて再検討してみる必要がある。

従来, 著者は -30°C の凍結に耐えられるものはそれ以低のどんな低温にも耐えられると考えていたが, トドマツ, カラマツ等の枝は -30°C では害を受けないが, それ以低 -70°C まで温度をさげるにつれて害がたかまることがわかったので, すくなくとも -70°C の凍結に耐えられるものは, それ以低のどんな低温にも生存できると考えた方がよい。このように, 枝が

\* 北海道大学低温科学研究所業績 第 679 号

-70°Cでの凍結に耐えられるようになると、それ以下の温度では枝の耐凍度の変動や Hardening 効果を知ることができなくなる。前報<sup>9)</sup>で報告したように、液体窒素中で植物を生存させる効果的な予備凍結温度は植物の樹種によって異なり、また同一樹種では季節によっても異なるが、いずれの場合にも、耐凍性の大きいものほど効果的な予備凍結温度はたかい。したがって効果的な予備凍結温度をはかって耐凍度の比較ができるので、この方法を用いて耐凍性のたかい木での耐凍性増大過程や Hardening 効果を知ることが出来るようになった<sup>9)</sup>。

本論文は木の耐凍性の増大する機構、ことに凍結状態での耐凍性のたかまる理由を明らかにする目的でヤナギ、ポプラ等の枝を用いて、10月から5月までの期間に、これらの枝の耐凍性の季節的変動及びいろいろな時期に異なった条件で Hardening した場合における耐凍性の増減を調べたものである。

実験材料を使用させて頂いた北大農学部林学科東助教授、実験材料を送っていただいた林業試験場九州支場徳重技官、群馬県林業試験場田中技官、静岡県有用植物園古里場長、静岡県柑橋試験場小中原技官の各位に対し感謝の意を表します。

## II. 材料及び方法

耐凍性がたかく、しかも枝の害の度合を判定しやすいヤナギ、ドロノキ、ポプラを実験材料にえらんだ。これらの木は枝が正常であれば発根するし、自然休眠\*が殆んどないので、秋でも容易に発芽する。次の植物を実験に使用した。

ナガバヤナギ\*\* *Salix sachalinensis* Fr. Schim.

カワヤナギ *Salix Gilgiana* Seemen

ヤマヤナギ *Salix Sieboldiana* Blume.

ポ プ ラ *Populus nigra* L. var. *italica* Muenchh.

シモニードロ *Populus simonii* Carr.

カ ラ マ ツ *Larix leptolepis* Murray.

ヤマヤナギは林業試験場九州支場(熊本市)から、11月下旬から1月末までの間に、航空便で送られた枝を使用した。カワヤナギは高崎市及び伊廊崎から11月下旬に送られた枝を使用した。ナガバヤナギ、ポプラ、シモニードロ、カラマツは北大構内にあるものを使用した。実験にはその年に伸長した枝の直径0.5~0.7 cmの太さの部分を使用した。なお、同一系列の実験には同一株の同一場所にある枝のみを使用した。また、すべての実験に長さ5~7 cmの長さに切った枝の小片5本宛を使用した。なお、これらの枝の小片の間には、多くの場合に凍結による被害程度の差がほとんど認められなかった。

枝の小片は乾燥を防ぐためにポリエチレンの袋に入れて-5°Cの恒温箱で凍結させた。なお、冷却前に枝の切口に水をつけて過冷却が破れやすいようにした。冷却して1時間後に、

\* 札幌では多くの木は11月下旬頃に休眠が破れる。したがって、それ以前にそれらの枝を室温で水挿しても発芽するまでに約3か月かかる。

\*\* 別名ヲノエヤナギともいう。

なお凍っていない枝は植水して凍結させた。その後 30 分毎に 5°C 宛低い恒温箱に移して所定温度まで冷却し、そこに 16 時間おいた。それらの枝は 0°C の部屋に取り出して融解し 6 時間後に室温に移した。なお、液体窒素中に入れる場合には、ポリエチレンの袋を取り去り、枝を糸でしばり、おもりをつけて液体窒素中に入れた。液体窒素中に 30 分おいてから、0°C の部屋に取り出しそこに 6 時間おいたのち室温に移して水挿した。

被害程度の判定は枝を約 2 か月間水挿したのち、芽の伸長状態、発根状態、茎の各組織における褐変の度合を調べて判定した<sup>6,9)</sup>。

澱粉の量は枝をアルコールと氷醋酸を含む液で固定後、横断切片数個をとって、ヨード・ヨードカリ溶液で澱粉を検出し、その量を一、土、十、廿、卅の相対値であらわした。この場合、十の数のますことは澱粉量の増加を意味する。枝の各組織によって澱粉量が異なるので、皮層組織の外層部\* 及び内層部\*、髓線、髓周辺組織について調べた。なお、異なった温度で Hardening した場合における澱粉の消長を知る場合には、枝による差を少なくするために、同一の枝から長さ 3 cm の枝の小片 3~4 個を切り取ってそれらを各温度で処理してから澱粉の量を調べた。

Hardening の方法は 5~7 cm の長さに切った枝の小片を乾燥を防ぐためにポリエチレンの袋に入れて暗黒のもとで低温処理した。-3° 又は -10°C で Hardening する場合には、あらかじめ -5°C で 2 時間凍結させてから -3° 又は -10°C の恒温箱に移した。なお、凍結状態で Hardening する時、枝の乾燥を防ぐためにポリエチレンの中に少量の霜を入れておいた。

### III. 実験結果

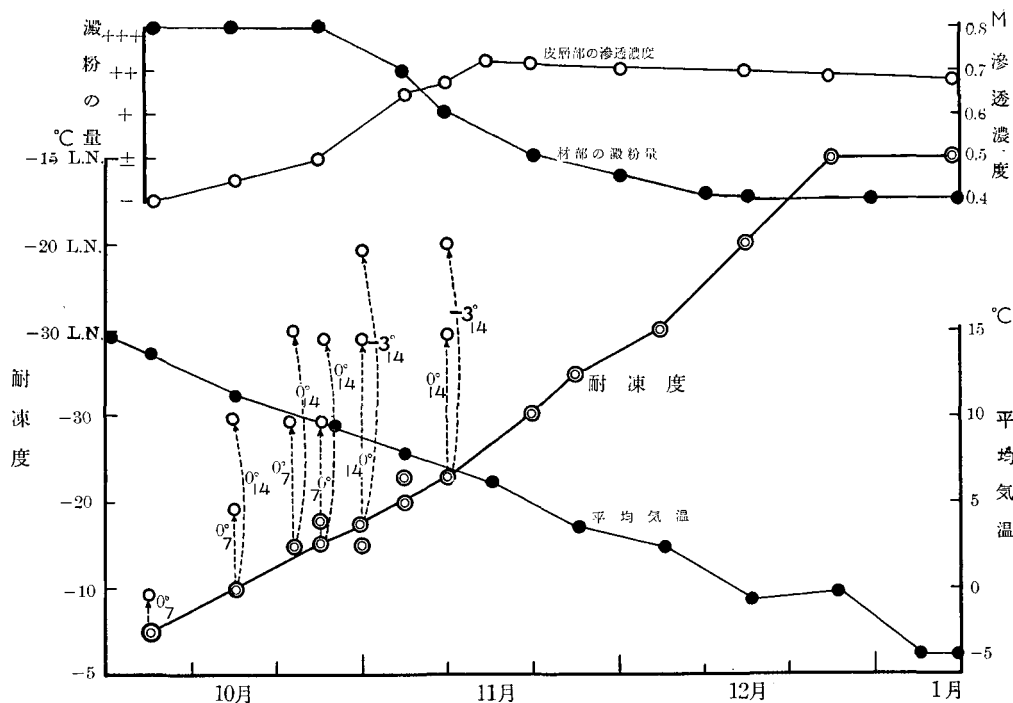
#### 1. 秋から冬にかけての耐凍性の増大

ナガバヤナギの枝を用いて、10 月から 1 月までの間における耐凍性増大の過程と各時期に低温処理した場合の耐凍性の変動を第 1 図に示す。

Hardening は 0°, -3°, -5° 及び -10°C の各温度で行なったが、第 1 図には主として 0°C で処理した場合の結果を示す。なお、同図は枝の皮層細胞の滲透濃度及び材部中に含まれている澱粉量の変動も示す。ナガバヤナギは 10 月初めに -5°C での 16 時間の凍結に耐えられるようになる。この状態のものは 0°C で Hardening しても耐凍性のたかまりは少ないが、-10°~-15°C での凍結に耐えられる枝では Hardening 効果がたかい。この場合、0°C で 7 日間処理するよりも、14 日間処理した方が、また 0°C で処理するよりも -3°C で処理した方が耐凍性のたかまりは著しい。なお、10 月中旬に -10°C での凍結に耐えられるようになった枝では、0°C で 30 日間処理すると -30°C での予備凍結後の液体窒素処理に耐えられるようになる。野外では 11 月 20 日頃に枝は -30°C の凍結に耐えられるようになり、その後、耐凍性はさらにたかまって 12 月下旬に最高値の -15° L. N.\*\* に達し、2 月中旬頃までその値を保持する。

\* 皮層組織の表皮細胞と繊維組織の間にある部分を皮層組織の外層部、繊維組織と形成層の間にある部分を皮層組織の内層部とよぶことにする (図版 I 参照)。内層部と外層部とは耐凍度や物質の消長がかなり異なっている。なお、皮層細胞の滲透濃度は外層部の細胞について測定した。

\*\* -15°C で予備凍結後、液体窒素中で処理した事を示す。



第1図 秋における耐凍性の増大過程

実験材料： ナガバヤナギの枝

耐凍度は16時間の凍結において枝が害なく耐えうる最低温度であらわした。-15° L.N., -20° L.N., -30° L.N. は、それぞれ-15°, -20°, -30°Cの各温度で16時間予備凍結後液体窒素中で処理したことを示す

図中の0<sup>7</sup>, 0<sup>14</sup>, -3<sup>14</sup>はそれぞれ0°Cで7日間, 0°Cで14日間, -3°Cで14日間処理したことを示す。なお、図中の矢印は耐凍度の増加の割合を示す

澱粉の量はヨード・ヨードカリ溶液で、組織化学的に検出し、-, ±, +, ++, #の相対値でその量をあらわした

皮層部の浸透濃度は10月初めから漸次たかまり、11月中旬に0.7M\*の最高値に達し、その後2月上旬までほとんど変動しない。材部に含まれている澱粉は10月下旬以降減少し始め12月10日頃には組織化学的には殆んど検出できなくなる。浸透濃度を測定している皮層組織の表層部では澱粉\*\*が枝の組織中もっとも速く消失し、皮層組織の内層部がこれにつぎ、髓周辺部及び髓線中の澱粉の消失はもっともおくれる。一方、枝の各組織における被害の割合を調べてみると、澱粉の消失のおそい組織ほど被害が大きい。したがって、澱粉の消失時期のおそい組織、すなわち、糖の増加がおくれるものほど耐凍性のたかまりもおくれるものと思われる。

10月に0°Cで7日間低温処理した場合には、皮層組織の表層部の澱粉は消失しているが、皮層組織の内層部の澱粉はすこししか減少していない。なお、0°Cで14日間処理した場合に

\* 浸透濃度は食塩溶液を基準にしてあらわした。

\*\* Hardening中に澱粉は糖に変化する<sup>2,11)</sup>。

は、材部の澱粉も殆んど消失する。

12月10日頃、枝の中の澱粉はほとんど認められなくなるが、それ以降でも耐凍性はさらにたかまり12月下旬に $-15\text{ L.N.}$ の最高値に達する。12月10日以降は糖の増加はほとんど起らないものと考えられるが、耐凍性がその後もたかまる理由は今のところわからない。

## 2. 処理温度と Hardening 効果 (秋の場合)

Hardening によって耐凍性がたかまりやすい10月下旬に、ナガバヤナギの枝を採集して2系列の実験を行なった。すなわち、一方では枝を $0^\circ$ 、 $-3^\circ$ 、 $-5^\circ$ 及び $-10^\circ\text{C}$ の各温度で7日間処理し、他方では枝を $0^\circ\text{C}$ で7日間処理後、 $0^\circ$ 、 $-3^\circ$ 、 $-5^\circ$ 及び $-10^\circ\text{C}$ の各温度でさらに7日間処理をつづけた。なお、 $-3^\circ$ 、 $-5^\circ$ 及び $-10^\circ\text{C}$ の各温度で処理する場合には、枝はすべて凍結状態におかれた。その結果を第1表に示す。無処理の枝は $-15^\circ\text{C}$ での凍結にし

第1表 処理温度と Hardening 効果との関係 (秋の場合)

凍結温度 ( $^\circ\text{C}$ ) (16時間凍結)	無処理	Hardening の 温 度 ( $^\circ\text{C}$ )							
		0	-3	-5	-7	$0_{14}^{**}$	$0_7+3_7^{**}$	$0_7+5_7^{**}$	$0_7+10_7^{**}$
		(7日間処理)				(14日間処理)			
$-15$	○	○	○	○	○				
$-20$	△	○	○	○	○				
$-30$	●	○	○	○	△	○	○	○	○
$-70$	●	△	○	△	△	○	○	○	○
$-30^\circ\text{ L.N.*}$	●	△	○	△	●	○	○	○	○
$-20^\circ\text{ L.N.*}$	●	●	●	●	●	△	○	○	●
$-15^\circ\text{ L.N.*}$						△	△	△	●

実験期日：10月29日

材 料：ナガバヤナギ

枝は同一株の同一条件にある場所のみからとり、各実験には枝の小片5個宛を使用した枝を各温度で16時間凍結後、50日間室温にて水挿してから害を判定した

○：正常に発芽、発根するもの

△：発芽するが材部に害が認められるもの

●：枯死又は害が著しいもの

\*： $-30^\circ$ 、 $-20^\circ$ 、 $-15^\circ\text{C}$ の各温度で16時間予備凍結後、液体窒素中に入れた場合

\*\*： $0^\circ\text{C}$ で7日間処理後、 $0^\circ$ 、 $-3^\circ$ 、 $-5^\circ$ 、 $-10^\circ\text{C}$ の各温度でさらに7日間凍結状態においた場合

か耐えられないが、 $0^\circ\text{C}$ で7日間処理すると、 $-30^\circ\text{C}$ の凍結にも耐えられるようになる。この場合、 $0^\circ\text{C}$ より $-3^\circ\text{C}$ で処理した方が効果はより大きい。また $-10^\circ\text{C}$ で処理した場合には、 $0^\circ\text{C}$ 処理の場合よりも効果はすくない。なお、 $0^\circ\text{C}$ で7日間処理後、さらに $0^\circ$ 、 $-3^\circ$ 、 $-5^\circ$ 、及び $-10^\circ\text{C}$ の各温度で7日間処理をつづけた場合は、上述の7日間処理の場合よりも耐凍度のたかまりは大きくなる。

シモニードロの枝と同様な実験を行なったが、ヤナギの場合と殆んど同様な結果をえた(第2表)。すなわち、 $0^\circ\text{C}$ から $-10^\circ\text{C}$ までの各温度に7日間処理した場合には、 $-3^\circ\text{C}$ での効果もっとも大きく、 $-5^\circ\text{C}$ で処理した場合がこれについている。 $-10^\circ\text{C}$ で処理した場合にも耐凍性はたかまるがその度合は小さい。 $0^\circ\text{C}$ で7日間処理後、さらに $0^\circ$ 、 $-3^\circ$ 、 $-5^\circ$ 及び

第 2 表 処理温度と Hardening 効果との関係

(秋の場合)

凍結温度 (°C) (16 時間凍結)	無処理	Hardening の 温 度 (°C)									
		0 -3 -5 -10 (7 日間処理)				* <sub>14</sub> 0 <sub>7</sub> + -3 <sub>7</sub> * 0 <sub>7</sub> + -5 <sub>7</sub> * 0 <sub>7</sub> + -10 <sub>7</sub> * (14 日間処理)					
-20	○	○	○	○	○						
-25	△	○	○	○	○						
-30	●	○	○	○	△	○	○	○	○	○	○
-70	●	△	○	△	●	○	○	○	○	○	○
-30 L.N.	●	●	○	△	●	○	○	○	○	○	○
-20 L.N.	●	●	●	●	●	●	○	○	○	○	●
-15 L.N.						●	△	●	●	●	●

実験期日： 10 月 29 日

材 料： シモニードロの枝

\* : 0°C で 7 日間処理後、0°, -3°, -5°, -10°C の各温度でさらに 7 日間凍結状態においた場合。  
表中の略号は第 1 表に同じ

-10°C の各温度で 7 日間処理をつづけた場合にも -3°C での効果をもっとも大きい。処理温度と Hardening 効果との関係を、耐凍性がより小さいカワヤナギを用いてさらに確かめてみた (第 3 表)。材料は 11 月下旬に高崎市及び伊廊崎から送られたものを使用した。この場合、無処理の枝は -5°C での凍結にしか耐えられない状態にあった。この実験の場合にも、前の実験と同様に、0°C で処理後、さらに -3° 又は -5°C で処理したものがもっとも耐凍性がたかまっていた。なお、-3°C で連続的に長期間処理する実験は行なわなかった。なお、伊廊崎から送られた枝も同様な傾向を示した。

第 3 表 処理温度と Hardening 効果との関係 (秋の場合)

Hardening の条件 (°C)	耐凍度*** (°C)
無 処 理	- 5°
0 <sup>°</sup> <sub>10</sub> *	-15°
0 <sup>°</sup> <sub>20</sub> *	-20°
0 <sup>°</sup> <sub>10</sub> + -3 <sup>°</sup> <sub>10</sub> **	-70°
0 <sup>°</sup> <sub>10</sub> + -5 <sup>°</sup> <sub>10</sub> **	-30°

実験期日： 11 月 27 日

材 料： カワヤナギの枝 (高崎市から送付)

\* : 0°C で 10 日間又は 20 日間処理した

\*\* : 0°C で 10 日間処理後、-3° 又は -5°C でさらに 10 日間処理した

\*\*\* : 耐凍度はその温度で 16 時間凍らせて害を受けない最低温度であらわした

我国にあるヤナギのうちで耐凍性がもっとも小さいものの一つである九州のヤマヤナギを用いて 11 月下旬から 1 月下旬までの期間にそれらの耐凍性増大過程及び処理温度と Hardening 効果との関係について調べてみた。このヤマヤナギは熊本では 1 月下旬でもなお緑の葉をつけていた。実験は葉を取り去った枝について行なった。この枝は 12 月 20 日頃に -5°C での凍結に初めて耐えられるようになり、1 月中旬に -10°C、1 月末に -15°C の凍結に耐えられたが、その後、耐凍性は低下した。-10°C や -15°C での凍結に耐えられる枝を 0°C で 10 日間 Hardening しても耐凍性はほとんど高まらなかったが、-3°C でさらに 10 日間処理をつづ

第 4 表 処理温度と Hardening 効果との関係 (秋の場合)

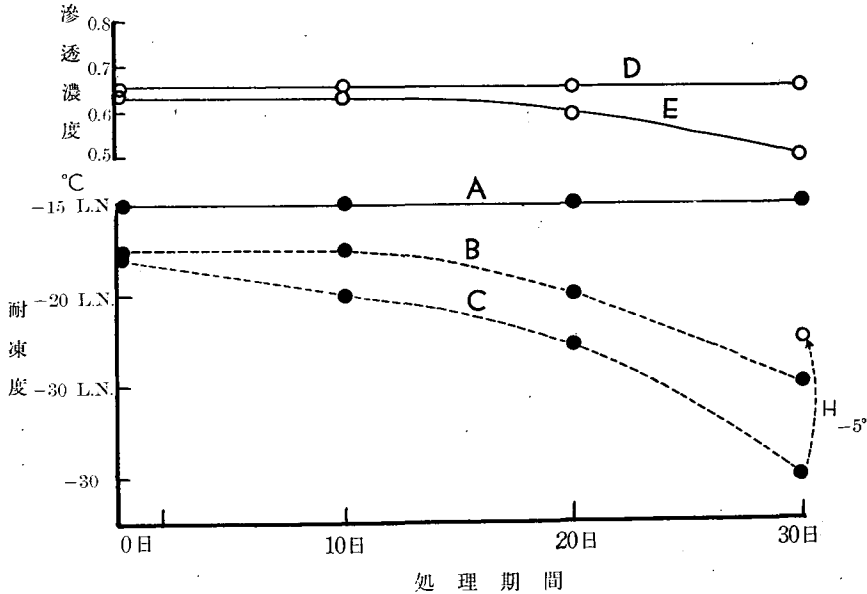
凍結温度 (°C) (16時間凍結)	無処理	Hardening の 温度 (°C)							
		0 -3 -5 -10 (7日間処理)				* <sub>0</sub> 14, * <sub>0</sub> 7+ <sub>-3</sub> 7, * <sub>0</sub> 7+ <sub>-5</sub> 7, * <sub>0</sub> 7+ <sub>-10</sub> 7 (14日間処理)			
-10	○	○	○	○	○	○	○	○	○
-15	○	○	○	○	○	○	○	○	○
-20	△	○	○	○	△	○	○	○	○
-25	●	△	○	△	●	○	○	○	○
-30	●	●	●	●	●	△	○	△	●

実験期日: 11月11日

材 料: カラマツの枝

凍結後室温にて2,3か月間水挿してから害の度合を判定した。カラマツは休眠のため発芽するまでに3か月を要した

\*: 0°Cで7日間処理後、それぞれ0°, -3°, -5°, -10°Cの各温度でさらに7日間処理をつづけた場合。表中略号は第1表に同じ



第 2 図 耐凍度の保持に及ぼす処理温度の影響 (冬の場合)

実験期日: 1月10日

材 料: ナガバヤナギとポプラの枝

A: ナガバヤナギの枝を -3°, -5°, -10°Cの各温度においた場合

B: ナガバヤナギの枝を 0°Cの温度においた場合

C: ポプラの枝を 0°Cの温度においた場合

D: -3°, -5°, -10°Cの各温度においた枝の皮層細胞の滲透濃度。滲透濃度は食塩溶液を基準にしてあらわした

E: 0°Cにおいた枝の皮層細胞の滲透濃度

耐凍度は各温度で16時間の凍結において枝が害なく耐えうる最低温度であらわした

-15° L.N., -20° L.N., -30° L.N. はそれぞれ -15°, -20°, -30°Cの各温度で予備凍結後液体窒素中に入れた場合

Hの記号は -5°Cで5日間 Hardening したことを示す

けたところ、枝は  $-30^{\circ}\text{C}$  での凍結にも耐えられるようになった。この場合、 $0^{\circ}\text{C}$  で 10 日間処理したものでは材部の組織中の澱粉がほとんど消失していなかったが、 $-3^{\circ}\text{C}$  で処理したものでは材部に澱粉がほとんど認められなかった。同様な結果がヤナギ、ドロノキ以外の他の樹種でも得られるか否かを知るために、カラマツで同様な実験を繰り返したがカラマツでもヤナギやドロノキの場合とほとんど同様な結果がえられた。(第 4 表)

### 3. 最高の耐凍度を保持する温度について

耐凍度が最高状態にあるヤナギとポプラの枝を  $0^{\circ}$ 、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}$  及び  $-10^{\circ}\text{C}$  の各温度において以後の耐凍度の変動を調べた。第 2 図に示すように、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}$  及び  $-10^{\circ}\text{C}$  の温度で凍結状態においた場合には、すくなくとも 1 か月の間には耐凍性は低下しなかった。しかし、 $0^{\circ}\text{C}$  においた場合には、それらの枝の耐凍性は漸次低下した。なお、 $0^{\circ}\text{C}$  においた場合には皮層細胞の滲透濃度も漸次低下したが、凍結状態においた場合にはほとんど低下しなかった。第 5 表は 2 月 4 日に採集した枝を  $0^{\circ}\text{C}$  に 30 日間おいたのち、 $-5^{\circ}$ 、 $-10^{\circ}$ 、 $-20^{\circ}$  及び  $-30^{\circ}\text{C}$  の各温度で 5 日間 Hardening した場合の耐凍性のたかまりを示す。 $0^{\circ}\text{C}$  で 30 日間処理後、 $-30^{\circ}\text{C}$  での凍結にしか耐えられなくなった枝が  $-5^{\circ}$  や  $-10^{\circ}\text{C}$  の温度で 5 日間凍結状態におかれた時には  $-20^{\circ}\text{L.N.}$  の凍結にも耐えられるようになった。この場合、 $-5^{\circ}$  及び  $-10^{\circ}\text{C}$  での処理が Hardening 効果をもっとも高く、 $-20^{\circ}\text{C}$  ではその効果は減少し、 $-30^{\circ}\text{C}$  ではその効果はほとんど認められなかった。

第 5 表 処理温度と Hardening 効果との関係 (冬の場合)

凍結温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	無処理	$0^{\circ}\text{C}$ におく日数			Hardening の温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )			
		10	20	30	$-5_s^*$	$-10_s^*$	$-20_s^*$	$-30_s^*$
$-15\text{ L.N.}$	$\triangle$	●	●	●	●	●	●	●
$-20\text{ L.N.}$	○	○	$\triangle$	●	○	○	●	●
$-30\text{ L.N.}$	○	○	○	$\triangle$	○	○	○	$\triangle$
$-30$	○	○	○	○	○	○	○	$\triangle$

実験期日： 2 月 14 日

材 料： ポプラの枝

\* 枝を  $0^{\circ}\text{C}$  に 30 日間おいたのち、 $-5^{\circ}$ 、 $-10^{\circ}$ 、 $-20^{\circ}$ 、 $-30^{\circ}\text{C}$  の各温度で 5 日間 Hardening した。表中の略号は第 1 表に同じ

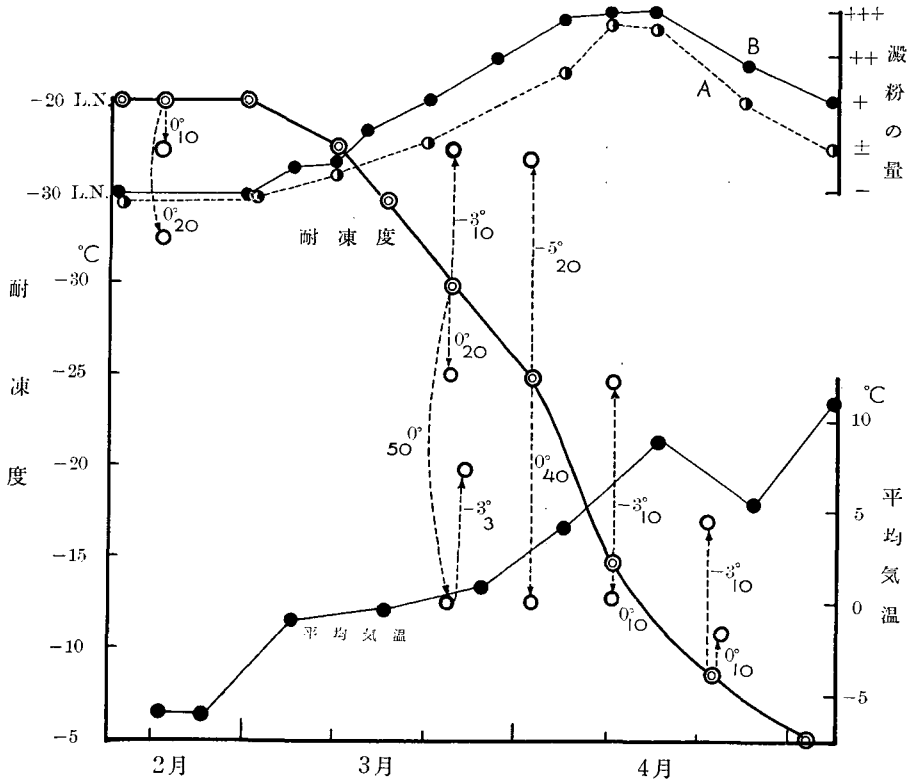
### 4. 早春における耐凍性の減少過程

第 3 図は春におけるポプラ\* の枝の耐凍性の減少する過程を示す。平均気温が  $0^{\circ}\text{C}$  近くになると澱粉が増加し始め、4 月中旬頃にその量は最高に達し、発芽前にまた減少する。

秋の場合と同様に、 $0^{\circ}$ 、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}$  及び  $-10^{\circ}\text{C}$  の各温度で Hardening したが、秋とちがって、 $0^{\circ}\text{C}$  においた場合には、耐凍性はほとんど変わらないか、あるいはむしろ減少した。しかし、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}\text{C}$  で凍結状態においた場合には、秋の場合と同様に耐凍性は著しく高まった

\* 秋につづいてヤナギの枝で耐凍性の低下する過程を調べる予定であったが、材料不足のためおもにポプラの枝を用いた。

(第3図)。発芽をすこし始めた状態の枝においても、 $-3^{\circ}\text{C}$  で凍結状態においた場合がもっとも効果が大きかった。ただし、この場合には、 $-3^{\circ}\text{C}$  以下の温度で長く処理すると処理中に芽が害されることがあるが、茎は耐凍性を著しくたかめた。



第3図 春における耐凍性の減少過程

材 料：ポプラの枝

A：枝の材部の澱粉含量の季節的変動を示す

B：枝の皮層組織の表層部における澱粉含量の変動を示す

澱粉の表示は第1図に従う

図中の $0^{\circ}_{20}$ 、 $-3^{\circ}_{20}$ はそれぞれ $0^{\circ}\text{C}$ で20日間、 $-3^{\circ}\text{C}$ で20日間処理した事を示し、矢印はそれらの場合の耐凍度の増減を示す

### 5. 処理温度と Hardening 効果 (春の場合)

3月下旬、 $-30^{\circ}\text{C}$ の凍結にしか耐えられなくなった枝を $0^{\circ}$ 、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}$ 及び $-10^{\circ}\text{C}$ の各温度で20日間処理した場合の耐凍度の変動を第6表に示す。 $0^{\circ}\text{C}$ においた場合には耐凍性は低下するが、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}$ 及び $-10^{\circ}\text{C}$ の各温度で処理する場合には耐凍性はたかまる。この実験の場合には、処理期間が長いために、これら3つの温度で処理した場合の効果の差は認められなかった。

4月中旬、耐凍度が $-15^{\circ}\text{C}$ まで低下した枝を $0^{\circ}$ 、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}$ 及び $-10^{\circ}\text{C}$ で10日間処理した場合の結果を第7表に示す。 $0^{\circ}\text{C}$ で処理した場合には、耐凍度の変動は認められなかった

が、 $-3^{\circ}$  及び  $-5^{\circ}\text{C}$  で処理した場合には耐凍性がたかまった。なお、 $-5^{\circ}\text{C}$  より  $-3^{\circ}\text{C}$  で処理した方が効果はより大きかった。

第 6 表 処理温度と Hardening 効果 (春の場合)

凍結温度 ( $^{\circ}\text{C}$ ) (16時間凍結)	無処理	Hardening* の温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )			
		0	$-3$	$-5$	$-10$
$-20$	○	○	○	○	○
$-30$	○	△	○	○	○
$-30$ L.N.	△	△	○	○	○
$-20$ L.N.	●	●	△	△	△

実験期日: 3月25日  
材 料: ポプラの枝  
表中の略号は第1表と同じ  
\* 各温度で20日間処理した

第 7 表 処理温度と Hardening 効果 (春の場合)

凍結温度 ( $^{\circ}\text{C}$ ) (16時間凍結)	無処理	Hardening の温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )					
		0 3 5 10 (10日間処理)				$-3_{20}$ $0_{10} + -5_{10}$ (20日間処理)	
$-10$	○	○	○	○	○	○	○
$-15$	○	○	○	○	○	○	○
$-20$	●	●	○	△	△	○	●
$-30$	●	●	○	△	●	○	●

実験期日: 4月14日  
材 料: ポプラの枝  
表中の略号は第1表と同じ

4月21日に耐凍度が $-7^{\circ}\text{C}$ にまで低下した枝を $0^{\circ}$ 、 $-3^{\circ}$ 及び $-5^{\circ}\text{C}$ でHardeningしてみた。なお、この頃には、枝中の澱粉の量が最高値を示していた。この時期では $0^{\circ}\text{C}$ でもHardening効果がある程度認められたが、やはり $-3^{\circ}\text{C}$ 処理の方が $0^{\circ}\text{C}$ や $-5^{\circ}\text{C}$ 処理の場合よりも効果が大きかった(第8表)。なお、春の6回の実験中、この場合のみが $0^{\circ}\text{C}$ でもHardening効果が認められたが、すこし発芽したヤナギの枝での実験の場合にも、 $0^{\circ}\text{C}$ ではHardening効果はほとんど認められなかった。したがって、4月20日前後のポプラの枝が $0^{\circ}\text{C}$ 処理後、耐凍性がますか否かについては、さらに確かめてみる必要がある。

第 8 表 処理温度と Hardening 効果 (春の場合)

凍結温度 ( $^{\circ}\text{C}$ ) (16時間凍結)	無処理	Hardening の温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )			
		0 $-3$ $-5$ (10日間処理)			$-3$ (20日間処理)
$-5$	○	○	○	○	○
$-10$	△	○	○	○	○
$-15$	●	△	○	△	○
$-20$	●	●	△	●	○

実験期日: 4月21日  
材 料: ポプラの枝  
表中の略号は第1表と同じ

以上の実験結果からわかるように、秋から春までの各時期に $0^{\circ}\text{C}$ から $-10^{\circ}\text{C}$ までの各温度でHardeningした場合、 $-3^{\circ}\text{C}$ で処理した場合がもっとも効果が大きかった。なお、7日間よりも14日間処理した方が効果は常に大きかった。 $0^{\circ}\text{C}$ で処理した場合には、秋の場

合はかなりの効果が認められたが、春ではほとんどの場合に効果が認められなかった。このような Hardening 温度による効果のちがいの理由を明らかにするために、各温度で処理した枝の組織中の澱粉量を組織化学的に調べてみた。

## 6. Hardening 中における澱粉の減少に及ぼす処理温度の影響について

### i 春の場合

4月14日に採集した1本のシモニードロの枝から、3cmの長さの5個の枝の小片を作りこれらを0°、-3°、-5°及び-10°Cの各温度でそれぞれ Hardening してから、それらの枝の小片の各組織中に含まれる澱粉量をヨード・ヨードカリ溶液で調べた。第9表にその結果を示す。

第9表 澱粉の糖化に及びす処理温度の影響

枝の組織部位	無処理	Hardening の 温 度 (°C)						
		0      -3      -5      -10				0      -3		
		(10日間処理)				(20日間処理)		
髓 周 辺 部	+++	+++	---	±±±	+++	+++	+++	---
	+++	+++	---	±±±	+++	+++	+++	---
髓 線	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
皮層組織の外層部	+++	±±±	---	---	±±±	±±±	---	---
	+++	+++	---	---	±±±	±±±	---	---
皮層組織の内層部	+++	+++	---	---	±±±	±±±	±±±	---
	+++	+++	---	---	+++	+++	+++	---

実験期日： 4月14日

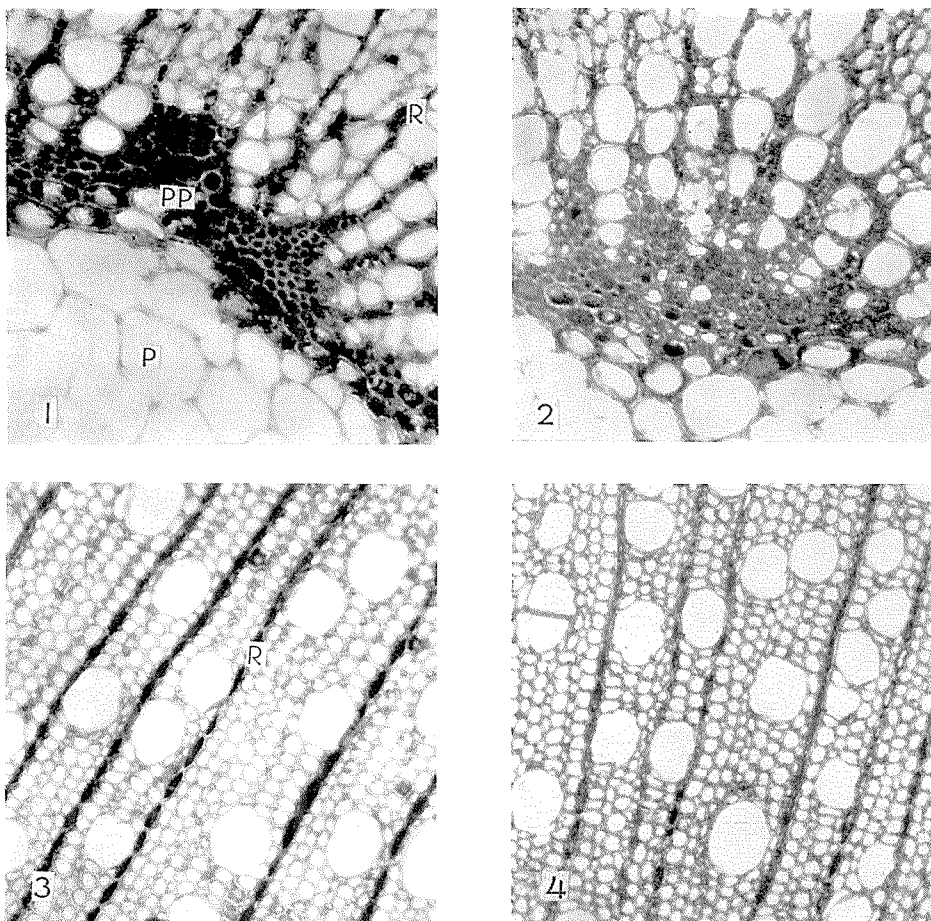
材 料： ポプラの枝。同一の枝から長さ3cmの枝の小片7個を切取って各温度で処理した

澱粉の含量： 各温度で処理後、枝の小片から横断切片6個宛をとってヨード・ヨードカリ溶液で組織化学的に澱粉を検出し、その量を-、±、+、++、+++の相対値であらわした

-3°Cで10日間処理した場合には、髓周辺組織、髓線、皮層組織の外層部及び内層部の各組織とも無処理の対照と比較して澱粉量が著しく減少していた。組織中の澱粉の含量は無処理、0°、-10°、-5°、-3°Cの順序で減少する(図版II参照)。-3°Cで10日間処理した場合には髓線中にかなりの澱粉が残存していたが、20日間処理した場合には澱粉は各組織にほとんど認められなかった(第4図)。

しかし、0°Cで処理した場合には、皮層部ことにその外層部の澱粉は減少したが、髓線、髓周辺部の澱粉は20日間処理後も対照と比較してほとんど減少していなかった。

第10表は4月10日に採集したナガバヤナギの枝を0°、-3°、-5°及び-10°Cの各温度で10日間処理した場合の各組織中に含まれている澱粉量を示す。この場合にも、処理後に残存している澱粉の量は0°、-10°、-5°、-3°Cの順に減少する。



第 4 図 Hardening 中における澱粉の減少に及ぼす温度の影響

実験期日： 4 月 14 日

材 料： ポプラの枝

- 1: 0°C で 20 日間処理した枝の横断切片で髄周辺部に (PP) 多量の澱粉が含まれているのが認められる。 ×250
- 2: -3°C で 20 日間処理した枝の横断切片で髄周辺部には澱粉が殆んど認められない。 ×250
- 3: 0°C で 20 日間処理した枝の横断切片で髄線に多量の澱粉が認められる。 ×250
- 4: -3°C で 20 日間処理した枝の横断切片で髄線には殆んど澱粉が認められない。 ×250

澱粉はヨード・ヨードカリ溶液で検出し、黒く染まっている部分は澱粉の存在を示す。図中の PP は髄周辺組織、P は髄、R は髄線を示す

第10表 澱粉の糖化に及ぼす処理温度の影響 (春の場合)

枝の組織部位	Hardening の 温 度 (°C)			
	0 <sub>10</sub>	-3 <sub>10</sub>	-5 <sub>10</sub>	-10 <sub>10</sub>
髓 周 辺 部	++ ++ ++ ++ ++	+ ± ± ++ ++	+ + + + +	+ + + + +
髓 線	## ## ## ## ##	+ + + + +	+ + + + +	+ ## ++ ++ ++
皮層組織の外層部	± ± ± ± ±	- - - - -	- - - - -	- - ± ± ±
皮層組織の内層部	+ + + + +	- - - - -	- - - - -	± ± + + +

実験期日: 4月10日

材 料: シモニードロの枝

同一の枝から3cmの長さの枝の小片4個をとって各温度で10日間 Hardening した澱粉の含有量の表示は第9表に同じ

第9, 10表からわかるように、枝の組織中、皮層部ことにその外層部の澱粉が分解しやすく、髓線、髓周辺部、皮層組織の内層部の澱粉は分解しにくい。同様な結果がポプラについても得られた。

ii 秋の場合

第11表 澱粉の糖化に及ぼす処理温度の影響 (秋の場合)

枝の組織部位	無 処 理	Hardening の 温 度 (°C)			
		0	-3	-5	-10
髓 周 辺 部	### ## ## ## ##	+++++ ## ##	- ± ± ± ± ±	- ± + + + + +	+++++ ## ## ##
髓 線	### ## ## ## ##	+++++ ## ##	+ + + + + + +	+++++ ## ## ##	### ## ## ## ##
皮層組織の外層部	+++++ + +	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - ± ±
皮層組織の内層部	+++++ ## ##	± ± ± ± ± ±	- ± ± ± ± +	- - ± ± ± ±	+ + + + + +

実験期日: 10月24日

材 料: ナガバヤナギ

同一の枝から3cmの長さの枝の小片6個をとって各温度で10日間処理した表中の略号は第9表に同じ

第12表 澱粉の糖化に及ぼす処理温度の影響 (秋の場合)

枝の組織部位	無 処 理	Hardening の 温 度 (°C)			
		0	-3	-5	-10
髓 周 辺 部	+++++ + +	- - ± ± ± ±	- - - - -	- - - - -	± ± ± + + +
髓 線	### ## ## ## ##	+++++ ## ##	+ + + + + + +	± ± + + + +	### ## ## ## ##
皮層組織の外層部	± ± ± ± ± ±	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
皮層組織の内層部	+++++ ## ##	± ± + + + +	- - - - -	- - - - -	± ± ± ± ± ±

実験期日: 10月24日

材 料: シモニードロの枝

同一の枝から3cmの長さの枝の小片5個を切取って、各温度で Hardening した表中の略号は第9表に同じ

10月24日に採集したナガバヤナギの枝を $0^{\circ}$ 、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}$ 及び $-10^{\circ}\text{C}$ の各温度でHardeningした後、各組織中の澱粉量を調べた。第11表に示すように、 $-3^{\circ}\text{C}$ で処理した場合には澱粉の減少がもっとも著しく、ついで $-5^{\circ}$ 及び $0^{\circ}\text{C}$ で処理した場合である。また $-10^{\circ}\text{C}$ で処理した場合には、材部の澱粉は10日間処理の場合にもほとんど減少していない。

第12表はシモニードロの枝で行なった結果で、この場合にも $-3^{\circ}\text{C}$ 処理の場合において澱粉の減少が著しく、ついで $-5^{\circ}\text{C}$ の場合である。ヤナギの場合とちがって、 $-5^{\circ}\text{C}$ の場合の方が $0^{\circ}\text{C}$ の場合よりも澱粉の減少が著しい。また、ドロノキの場合には、他の樹種とちがって、髓周辺部に含れている澱粉が比較的分解しやすい。

### iii 冬の場合

第2図及び第5表に示したように、耐凍度が最高の状態にあるポプラの枝を $0^{\circ}\text{C}$ で30日間おくと耐凍度は低下する。この場合、 $0^{\circ}\text{C}$ で30日間おいたものでは各組織中に澱粉が増加

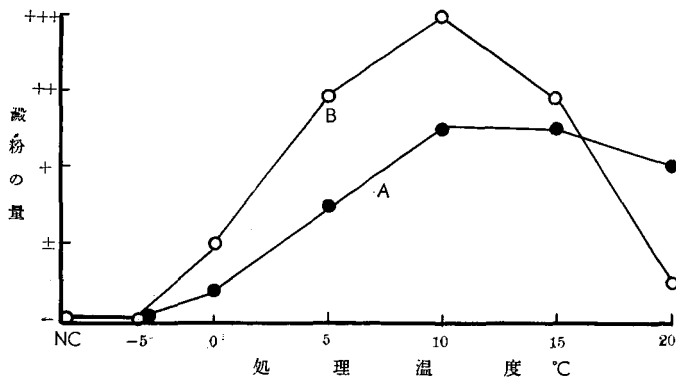
第13表 澱粉の形成に及ぼす処理温度の影響 (冬の場合)

枝の組織部位	無 処 理	処理温度 (30日間処理) ( $^{\circ}\text{C}$ )	
		$-5^{\circ}\text{C}$	$0^{\circ}\text{C}$
髓 周 辺 部	-----	-----	+++++
髓 線	-----	-----	+++++
皮層組織の外層部	-----	-----	± ± ± ++
皮層組織の内層部	-----	-----	++++++

実験期日：1月10日

材 料：ポプラの枝

表中の略号は第9表に同じ



第5図 澱粉の形成に及ぼす処理温度の影響

実験期日：1月10日

材 料：ポプラの枝

A: 7日間処理の場合

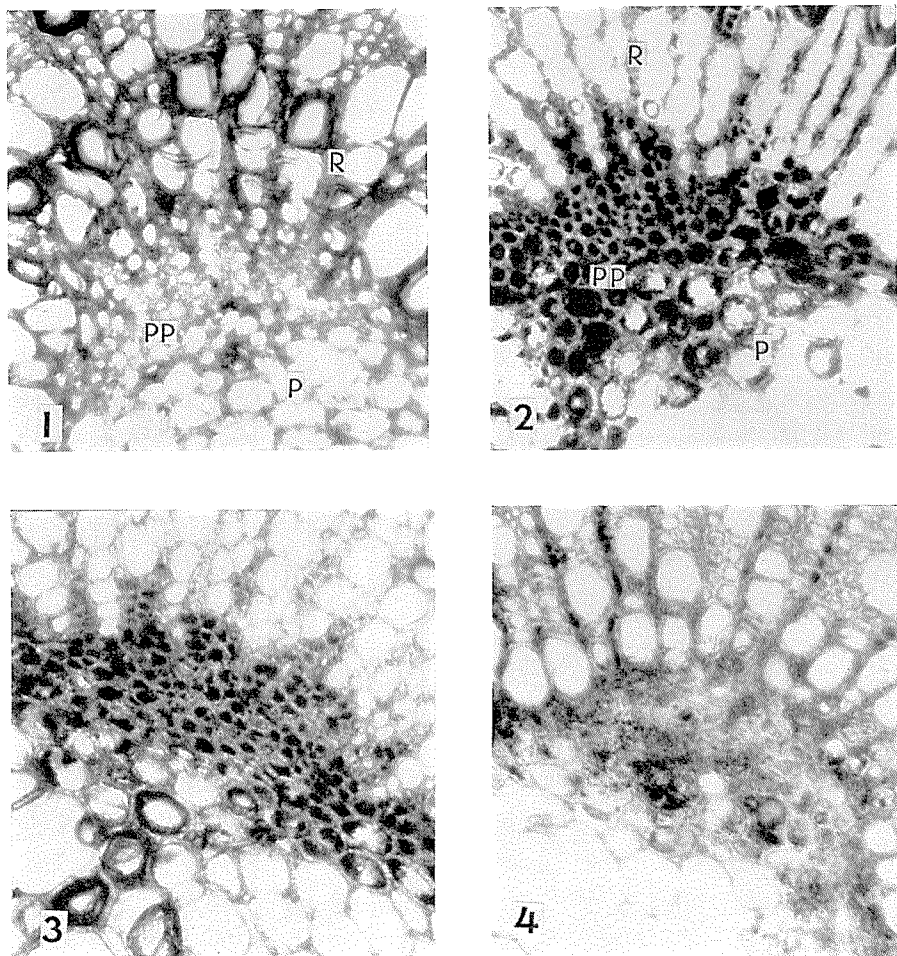
B: 14日間処理の場合

同一の枝から4cmの長さの小片をとって各温度で処理後、ヨード・ヨードカリ溶液で澱粉を検出した。その量を一、±、+、++、+++の相対値であらわした

していたが、 $-3^{\circ}$ 、 $-5^{\circ}\text{C}$  の温度で凍結状態においたものでは澱粉が認められなかった (第 13 表)。

#### 7. 澱粉の形成に及ぼす温度の影響 (冬の場合)

冬に枝を  $0^{\circ}\text{C}$  の温度に長い間おいた場合に、澱粉が各組織中に形成されることがわかったので、澱粉の形成に及ぼす温度の影響を調べた。澱粉を含まない 1 月 10 日のポプラの枝を  $-5^{\circ}$ 、 $0^{\circ}$ 、 $5^{\circ}$ 、 $10^{\circ}$ 、 $15^{\circ}$  及び  $20^{\circ}\text{C}$  の各温度に 14 日間おいてから各組織中に含まれている澱粉



第 6 図 澱粉の形成に及ぼす処理温度の影響

実験期日： 1 月 10 日

材 料： ポプラの枝

1, 2, 3, 4 はそれぞれ  $0^{\circ}$ 、 $10^{\circ}$ 、 $15^{\circ}$  及び  $20^{\circ}\text{C}$  で 14 日間処理した枝の横断切片で、髓周辺組織を示す

澱粉はヨード・ヨードカリ溶液で検出した。黒く染っている部分は澱粉の存在を示す。×300

R: 髓 線, PP: 髓周辺組織, P: 髓

の量を組織化学的に調べた。 $-5^{\circ}\text{C}$  で凍結しておいた場合には2週間後でも全く澱粉が認められないが、 $0^{\circ}\text{C}$  においた場合には2週間後に少量の澱粉が認められ、 $5^{\circ}$  や  $10^{\circ}\text{C}$  で2週間おいた場合には多量の澱粉が認められた。なお、 $15^{\circ}$  や  $20^{\circ}\text{C}$  で2週間おいた場合には、一度多量に形成された澱粉が代謝が盛んであるために消費されて時間とともに減少し、ことに  $20^{\circ}\text{C}$  で2週間おいた場合には組織中には少量の澱粉しか認められなかった(第5図及び第6図)。この事実から、冬季の枝の中に澱粉が認められない2つの場合が考えられる。すなわち、十分に低温にさらされて、材部や組織中の澱粉が完全に糖化された場合と、冬季も気温がたかいたために生長停止後、一時は多量に蓄積されていた澱粉が高温状態のために消費されてしまった場合とが考えられる。後者のことを確かめるために、1月下旬にシダレヤナギを清水市と熊本市から、2月上旬に台湾から2種類のヤナギを送ってもらって組織中の澱粉を調べたが、いずれの組織中にも澱粉はほとんど認められなかった。

#### IV. 考 察 及 び 結 論

##### 1. 処理温度と Hardening の効果

秋でも春でも枝を温度処理によって Hardening する場合にその効果ももっともたかい温度は  $-3^{\circ}\text{C}$  である。耐凍性が比較的小さい10月には、 $0^{\circ}\text{C}$  で処理しても耐凍性はかなりたかまるが、外気温が低下して枝の耐凍性がたかまってくると、 $0^{\circ}\text{C}$  での Hardening の効果は小さくなる。春に  $0^{\circ}\text{C}$  で処理した場合には、秋とちがって、ほとんどの場合に耐凍性がたかまらない。なお、秋や春に、いろいろな温度で Hardening する場合の処理効果は処理日数とともにます。

一方、各時期にいろいろな温度で Hardening したあとの組織中の澱粉の減少を調べてみると、どの時期でも、 $-3^{\circ}\text{C}$  で処理した場合に澱粉の減少量ももっとも多く、 $-5^{\circ}\text{C}$  での処理がこれについている。ヤナギの枝を秋に  $0^{\circ}\text{C}$  で処理した場合は、各組織中の澱粉は  $-5^{\circ}\text{C}$  で処理した場合と殆んど同程度に減少するが、春では  $0^{\circ}\text{C}$  で処理した時、皮層部の澱粉は減少するが、 $-3^{\circ}\text{C}$  や  $-5^{\circ}\text{C}$  での処理の場合とちがって、材部中の澱粉はほとんど減少しない。また秋のドロの枝の場合には、 $0^{\circ}\text{C}$  よりも  $-5^{\circ}\text{C}$  の方が Hardening の効果が大きい、澱粉の減少についても同様な事がいえる。また、Hardening にさいして枝の組織中澱粉がもっとも減少しやすいのは皮層組織の外層部であり、その内層部がこれにつき、材部の組織の澱粉がもっとも減少しにくい。この事は自然状態でも、人工的 Hardening の過程でも認められる。これらの事実から、Hardening 効果の大きさと澱粉の減少量との間に平行関係が認められる。なお、Hardening 中の澱粉の減少は糖の増加をいみするので<sup>3,11)</sup>、耐凍度の変動は糖の増減によって説明できる。しかし、 $-3^{\circ}\text{C}$  での凍結状態で耐凍性ももっともたかまるのは、この温度でたんに澱粉が分解しやすい事のほか、凍結状態におく樹自体も耐凍性をたかめるのに関与しているかもしれない。しかし、この温度で凍結させずに枝を低温処理することは、木の枝を過冷却状態で長く保ちがたいためにむずかしいので、これらの要因は今のところ分析できない。

クワの皮層細胞を用いた実験では、秋でも春でも 0°C で 7 日間 **Hardening** すると糖も耐凍性も著しくたかまる<sup>2,11,12)</sup>。しかし、一本の枝の耐凍度を問題とする時には、秋とちがって春では、皮層細胞の耐凍度は 0°C 処理でたかまるが、材部の耐凍性がたかまりにくいので、枝全体としては 0°C では **Hardening** 効果がないものと考えられる。

凍結状態に耐えられる植物では、糖の増加と耐凍度のたかまりとの間には、たんに平行関係だけでなく因果関係が認められる<sup>11,13,15,16)</sup>。すなわち、クチナシの葉に室温で人工的に糖を増加させると耐凍度は糖の増加とともにます<sup>11,13)</sup>。なお、糖のほかにマンニトール、ソルビトール、グリセロール等の小分子の多価アルコールもクチナシの葉の耐凍度をたかめる<sup>11,13)</sup>。最近、Trunova<sup>15,16)</sup>等は小麦やライムギの発芽初期の材料をつかって、いろいろな糖液に根をひたし、5°C の温度で暗黒状態で人工的に糖を増加させた時、無処理のものが -7°~-9°C での凍結にしか耐えないが、糖を増加させた材料では -25°C での凍結にも完全に耐える事を明らかにした。これらの事実は耐凍度をたかめるのに少なくとも 0°C 以上の冷温は必ずしも必要でなく糖の増大が耐凍性をたかめるのに一次的な要因になっている事を示している。しかし、凍結に耐えない植物では糖や多価アルコールが増加しても耐凍性はほとんどたかまらない<sup>2,14)</sup>、凍結に耐える植物でも、糖の一定量の増加に対する耐凍性のたかまりかたが季節によって異なっている<sup>14)</sup>。また、同一種内の品種間の耐凍性の差は糖の量で説明できるが<sup>9)</sup>、異種間の植物では耐凍性の差が糖の量では説明できない<sup>11,12)</sup>。こうした事実から、植物が凍結に耐えようようになるためには、ある種の原形質構造がまずできあがり、ついで糖、多価アルコール等の凍害保護物質が増加して耐凍度がたかまってゆくものと思われる。また、同一種内の品種間の場合とちがって、異種間の植物の耐凍性が糖の量だけで説明できないのは、種類によって原形質構造が異なるため同一量の糖を含んでいても耐凍性の大きさに差ができるものと考えられる。

最近 Levitt<sup>17-19)</sup>等は細胞外凍結の害は細胞が限度をこえて脱水されておこるもので、このような脱水に対する抵抗性を増すような原形質の構造的変化として SH 基のような水をとむ蛋白質分子の末端基の増加を考えた。そして、主として小麦の発育初期の材料を使って **Hardening** 中の SH 量と耐凍性の変動を調べた。しかし、彼等の資料<sup>17-19)</sup>によれば 20 日又は 30 日におよぶ長い **Hardening** の過程で SH の増加が明らかに認められるのは最初の数日以内で、それ以後は SH 量と耐凍性の増大とは必ずしも平行していない。しかも、こうした条件下での小麦の **Hardening** のさいには糖が著しく増すことが知られている<sup>15-16)</sup>。したがって彼等が考えているように、原形質蛋白の SH 量の増加が耐凍性をたかめる主因であると結論することは問題があるようである。

朝比奈等<sup>20)</sup>はウニ卵の耐凍性は受精の直後わずか 1 分で著しくたかまり、受精後 10 分以内で最高で、それ以後はかなり低下する事を見出した。なお、受精直後のウニ卵にはいわゆる凍害保護物質として知られている小分子化合物の生産はおこらないので、上に述べたような耐凍性増大のためには原形質の蛋白が水との相互作用をますような構造的変化があるものと考え SH 基と結合するアゾ色素を使って細胞化学的な染色をウニ卵で試みたところ、受精直後に細胞質の染色性は非常にたかまり、10 分以内で最高になりそれ以後は次第に低下することを見出

した。この事から彼等は卵の耐凍性増大は卵細胞の原形質蛋白の SH 基を含む構造的変化に基因すると考えている。しかし、SH 基の増加と耐凍度の高まりとの間の因果関係は今のところわからない。

## 2. 凍結状態での Hardening

Tumanov 及びその協同研究者等<sup>21-22)</sup>は植物の耐凍度を十分にたかめるためには、Hardening の 2 つの段階をへさせる事が必要だと考え、第一段階では 0°C に近いプラスの温度で処理し、第 2 段階では -5°, -10°, -15°, -20°, -25°, -30°, -40°, -50° 及び -60°C の各温度に 1-4 日間宛順次にさらして約 1 カ月間凍結状態で Hardening している。なお、こうした処理を受けたヤナギ、シラカバ、マツ、グズベリの枝は液体窒素処理後に害を受けなかった。しかし、彼等はこれらの枝を液体窒素処理後生存させるのに、こうした長時間にわたる凍結状態での処理が必要不可欠か否かについてはなんの実験もしていない。彼等は木が最高の耐凍性を示すのは厳寒の時期であるので、モスコウで木が秋から厳寒期までにさらされる温度を考慮して、このような処理方法を考えたものと思われる。しかし、本実験の結果から、10 月中旬に 0°C で 20 日間処理すれば -30°C で予備凍結後に枝を超低温で生存させられるし、凍結状態で処理する場合には、-3°~-5°C の温度で 2 週間も処理すれば超低温に生存させられる。また、2 月中旬、予め 0°C において、枝の耐凍性を低下させてから、-5°C 以下 -30°C までのいろいろな温度で 5 日間 Hardening した場合、-5°~-10°C の温度範囲での処理がもっとも耐凍性をたかめた。これらの事実から Tumanov 等が行なっているような長期間にわたる非常に低温度での Hardening が不可欠とはおもわれない。とにかく、耐凍性を最高度にたかめ、またこの状態を長く保持するためには、植物を凍結状態におく事が必要である。しかし、この事が暖地性の常緑樹についてもあてはまるか否かは現在のところわからない。今後各種の常緑樹についてもこの事を調べてみる予定である。

## 3. 暖地で越冬しているヤナギの枝の耐凍性

Levitt<sup>23)</sup> (P 84) は冬の木の材部の組織中の澱粉は皮層部の細胞とちがって糖化しないで澱粉の状態に残っている事を報告している。前に述べたように、材部の澱粉は皮層部よりも糖化しにくいので、充分な寒さにさらされない地方では、材部の澱粉は冬でもそのまま残っているものと考えられる。しかし、北海道にある落葉樹では、冬には材部に澱粉は認められない。清水から本年 1 月末に送られてきたシダレヤナギには材部にも澱粉が認められなかったし、台湾から 1 月末に送られた 2 種類のヤナギでも全組織にほとんど澱粉が認められなかった。本実験の結果からわかるように、冬に 15°C 以上のたかい温度に長い間おかれると一度形成された澱粉が比較的速く消費されて認められなくなる事から、暖地では、ことに暖冬の年には、材部に残っているはずの澱粉が消費されてしまうものと考えられる。

シンガポールから 1 月末に送られてきたヤナギ (*Salix tetrasperma*) の大部分の枝には全く澱粉が認められなかったが、一部の枝には多量の澱粉が認められた (第 7 図)。この事は亜熱帯及び熱帯性のヤナギでは寒地とちがって生長の停止時期が枝によってかなり異なっているので、生長停止後充分時間が経過したものでは澱粉が認められないが、生長停止まもないもので

は多量の澱粉が存在しているものと考えれば説明できる。11月下旬高崎市及び伊廊崎から送られてきたカワヤナギは $-5^{\circ}\text{C}$ の凍結にしか耐えられなかったが、これらの枝を $-3^{\circ}\text{C}$ でHardeningした時、 $-30^{\circ}\text{C}$ での凍結に耐えられた。また、九州にあるヤマヤナギは自然状態では真冬でも $-15^{\circ}\text{C}$ の凍結にしか耐えられないが、 $-3^{\circ}\text{C}$ でHardeningすると $-30^{\circ}\text{C}$ での凍結に耐えられるようになった。これらの結果から、本州を始め暖地で越冬しているヤナギは厳寒期でも充分の寒さにさらされていないので、生来もっている耐凍能力を十分に発揮できないものと考えられる。またこうした結果から、熱帯性のヤナギでも、生長が停止し、ある程度凍結に耐えられる状態になりうるものでは、適当な条件でHardeningすることによって、かなり耐凍度をたかめられるものとおもわれる。

耐凍度をたかめ、またそれを維持するためには、害を受けないかぎり植物を低温度におくことが望ましい。寒地では雪の中に埋もれて外気にさらされない木は耐凍性が低下すること、また一本の木でも南側の枝は北側のものより耐凍性が低いことは上に述べたことから説明できる。

### 摘 要

木の耐凍性増大機構を明らかにするために、ヤナギ、ポプラの枝を用いて、枝の耐凍性の季節的変化及びいろいろな時期に異なった温度でHardeningした場合における耐凍性の変動を調べた。

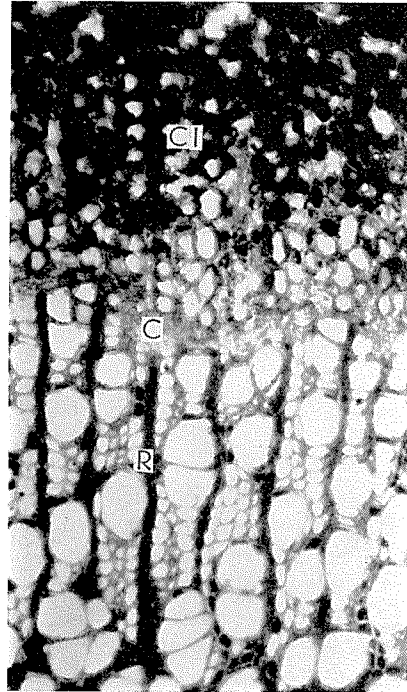
1. 処理温度によるHardening効果の大きさの順序はつぎのようである。

秋の場合： $-3^{\circ} > -5^{\circ}$ ,  $0^{\circ} > -10^{\circ} >$  無処理

春の場合： $-3^{\circ} > -5^{\circ} > -10^{\circ} >$  無処理  $> 0^{\circ}$

秋の場合でも、春の場合でも、枝のHardening効果は行なったすべての実験において $-3^{\circ}\text{C}$ 処理がもっとも大きかった。春は $0^{\circ}\text{C}$ でHardeningしても耐凍度はほとんどたかまらなかった。なお、効果的な処理温度の場合には、ある限界内では、処理期間が長い方が効果が大きかった。

2. 自然条件下でも、人工的Hardeningの場合でも、木の枝の組織中、皮層組織の外層部がもっとも速く耐凍性がたかまり、皮層組織の内層部がこれにつき、材部の髓線、髓周辺組織がもっとも耐凍度のたかまりがおくれた。



第7図 2月上旬の熱帯のヤナギの枝の中の澱粉

材料： 航空便でシンガポールから送られたヤナギ (*Salix tetrasperma*)  
黒く染まっている部分は澱粉の存在を示す。  $\times 300$

CI は皮層組織の内層部、C は形成層、R は髓線を示す。形成層はまだ活動状態にある

3. いろいろな温度で Hardening した場合における枝の組織中に含まれている澱粉の量を調べてみたところ、どの実験でも、組織中に残存している澱粉量がもっとも少ないのは  $-3^{\circ}\text{C}$  で処理した場合であった。また、いずれの場合にも耐凍性のたかまりが大きい枝ほど、組織中、ことに材部中の澱粉の存在が少なかった。なお、Hardening 中に澱粉は糖に変化するので、耐凍性の変動は糖の増加によって説明される。

4. 冬にたかい耐凍性をもつ枝を  $0^{\circ}\text{C}$  におくと耐凍性は漸次低下するが、 $-3^{\circ}\text{C}$  以下の温度で凍結状態においた場合には耐凍性は低下しない。したがって、たかい耐凍性を保持するためには凍結状態におくことが必要である。

#### 文 献

- 1) 酒井 昭 1956 植物における耐凍性増大と外圍温度. 低温科学, 生物篇, **14**, 7-15.
- 2) 酒井 昭 1957 木本類の耐凍性増大と糖類及び水溶性蛋白質との関係. 低温科学, 生物篇, **15**, 17-29.
- 3) 酒井 昭 1959 バラの耐凍性 (第1報) 種間及び系統間の耐凍性の差. 園芸学会誌, **28**, 310-316.
- 4) Туманов, И. И. и Красавцев, О. А. 1959 Закаливание северных древесных растений отрицательными температурами. Физиология Растений, **6**, 654-667.
- 5) 酒井 昭 1956 耐凍性の持続及びそれに及ぼす温度の影響 (1). 低温科学, 生物篇, **14**, 1-6.
- 6) 酒井 昭 1955 木本類の生死の判定法. 低温科学, 生物篇, **13**, 43-50.
- 7) 酒井 昭 1956 超低温における植物組織の生存. 低温科学, 生物篇, **14**, 17-23.
- 8) Sakai, A. 1960 Survival of the twig of woody plants at  $-196^{\circ}\text{C}$ . *Nature*, **185**, 393-394.
- 9) 酒井 昭 1963 超低温における植物の生存 III. 耐凍性の大きさと効果的予備凍結温度との関係. 低温科学, 生物篇, **21**, 1-16.
- 10) 酒井 昭 1962 液体ヘリウム中での木の生存. 低温科学, 生物篇, **20**, 121-122.
- 11) Sakai, A. 1962 Studies on the frost-hardiness of woody plants. I. The causal relation between sugar content and frost-hardiness. *Contr. Inst. Low Temp. Sci.*, **B 11**, 1-40.
- 12) 酒井 昭 1960 木本類の耐凍性増大過程 VII. 糖類の季節的変動 (2). 低温科学, 生物篇, **18**, 1-14.
- 13) 酒井 昭 1960 木本類の耐凍性増大過程 IX. 糖類の凍害に対する保護作用. 低温科学, 生物篇, **18**, 23-34.
- 14) 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との関係 (2). 低温科学, 生物篇, **16**, 23-34.
- 15) Туманов, И. И. и Трунова, Т. И. 1963 Первая фаза закаливания к морозу озимых растений в темноте на растворах сахаров. Физиология Растений, **10**, 176-188.
- 16) Трунова, Т. И. 1963 Значение разных форм сахаров в повышенном морозостойкости коллептилей озимых злаков. Физиология Растений, **10**, 588-593.
- 17) Levitt, J., Sullivan, C. Y., Johansson, N.-O and Pettit, R. M. 1961 Sulfhydryls—a new factor in frost resistance. I. Changes in SH content during frost hardening. *Plant Physiol.*, **36**, 611-616.
- 18) Schmutz, W., Sullivan, C. Y. and Levitt, J. 1961 Sulfhydryls—a new factor in frost resistance. II. Relation between sulfhydryls and relative resistance of fifteen wheat varieties. *Plant Physiol.* **36**, 617-620.
- 19) Levitt, J., Sullivan, C. Y. and Johansson, N. O. 1962 Sulfhydryls—a new factor in frost resistance. III. Relation of SH increase during hardening to protein, glutathione and glutathione oxidizing activity. *Plant Physiol.*, **37**, 266-271.
- 20) 朝比奈英三・丹野皓三 1963 生物細胞の耐凍性に関係する一つの原形質的要因—ウニ卵細胞での観察. 低温科学, 生物篇, **21**, 61-69.

- 21) Красавцев, О. А. 1961 Закаливание древесных растений к свернизким темпелатурам. Известия Академии Наук, Биология, No. 2, 228-232.
- 22) Туманов, И. И., Красавцев, О. А. и Хвалин, Н. Н. 1959 Повышение морозостойкости березы и черной омородины до  $-253^{\circ}$  путем закаливания. Доклады Академии Наук, **127**, 1301-1303.
- 23) Levitt, J. 1956 The Hardiness of Plants. Academic Press, N. Y., 278 pp.
- 24) 酒井 昭・和田実男 1963 越冬中の木の温度変化. 低温科学, 生物篇, **21**, 25-40.

### Summary

To clarify the mechanism of frost-hardening in woody plants, the seasonal fluctuations of frost-hardiness and the effect of hardening at temperatures ranging from 0 to  $-20^{\circ}\text{C}$  were studied in twigs of willow and poplar during the period from October to May.

1. The effect of hardening at various temperatures may be briefly summarized as follows:

$-3^{\circ} > -5^{\circ}, 0^{\circ} > -10^{\circ} > \text{Normal Control}$ , in autumn;

$-3^{\circ} > -5^{\circ} > -10^{\circ} > \text{N.C.} > 0^{\circ}$  in spring.

Hardening at  $-3^{\circ}\text{C}$  (in frozen state) was most effective in increasing the frost-hardiness of the twigs in all of the experiments. When the twigs were hardened at effective temperatures, the effectiveness of the hardening increased with the length of the hardening period within certain limits.

2. The effect of frost-hardening, natural or artificial, differs considerably in the different tissues, and the order of the effectiveness may be given as follows:

outer parenchyma cells in the cortical tissue > inner parenchyma cells in the cortical tissue > pith ray, pith-pericycle tissue.

3. The optimum temperature for converting starch into sugar during frost-hardening was found to be  $-3^{\circ}\text{C}$  in all of the twigs tested. In addition, the greater the effectiveness of the hardening treatment, the greater the rate of conversion from starch to sugar.

It seems obvious from these results that the frost-hardiness of a twig is closely related to the sugar content of the twig, especially in the xylem tissues.

## 図 版 説 明

- 第 1 図 ヨード・ヨードカリ溶液で処理した11月5日のナガバヤナギの枝の横断切片。澱粉は黒く染ってみえる。E: 表皮細胞 F: 韌皮繊維 C: 形成層 OC: 皮層組織の外層部 IC: 皮層組織の内層部 X: 材部 ×100
- 第 2 図 第1図の拡大図で皮層組織の内層部を示す。F: 韌皮繊維 C: 形成層 R: 髓線 X: 材部 ×300
- 第 3 図 第1図の拡大図で、髓周辺組織を示す。R: 髓線 PP: 髓周辺組織 P: 髓 ×250
- 第 4 図 ヨード・ヨードカリ溶液で処理した2月5日のナガバヤナギの枝の横断切片。髓周辺組織にも澱粉が全く認められない。×250
- 第 5 図 4月14日にポプラの枝を採集し、枝を3cmの長さの小片に切って、0°C (第6図), -3°C (第7図), -10°C (第8図)の各温度で10日間処理して組織中における澱粉の減少を調べた。第5図は無処理の対照で澱粉が各組織中に多量に認められる。R: 髓線 PP: 髓周辺組織 P: 髓 ×250
- 第 6 図 同じく0°Cで10日間処理した場合。澱粉は殆んど減少していない。×250
- 第 7 図 同じく-3°Cで10日間処理した場合。澱粉は著しく減少している。×250
- 第 8 図 同じく-10°Cで10日間処理した場合。澱粉はすこし減少している。×250
- 第 9 図 4月14日に採集し0°Cで10日間処理したポプラの枝の皮層組織の内層部の細胞。細胞質に多量の澱粉が認められる。×1200
- 第 10 図 同じく-3°Cで10日間処理した枝の皮層組織の内層部の細胞。細胞質には殆んど澱粉が認められない。×1200

