



Title	植物の低温生化学的研究 VIII : 冬型代謝の転換と分解およびとりこみの反応について
Author(s)	匂坂, 勝之助; SAGISAKA, Shonosuke
Citation	低温科学. 生物篇, 28, 49-56
Issue Date	1971-01-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17769
Type	departmental bulletin paper
File Information	28_p49-56.pdf



植物の低温生化学的研究 VIII*

冬型代謝の転換と分解およびとりこみの反応について

匂坂勝之助

(低温科学研究所)

(昭和45年9月受理)

I. 緒言

ポプラを用いて行なったこれまでの実験で冬の終りから春にかけて植物の代謝体制に大きな転換のおこることがわかった^{1,2)}。冬期間に低温度環境を経ないで春をむかえたポプラは開芽が著しく遅れ、代謝の転換が円滑に進んでいないように思われる。この報告はこの時期におけるポプラの示す分解および合成反応の活性発現の度合について、特徴的なものを検索することを目的として行なったものである。実験は放射性化合物をポプラに与えて、これから生成する¹⁴CO₂の量に対して実験材料の状態から考察を加えると共に、蛋白質と核酸代謝に関して予備的検討を加えた。この実験に際して、樹木の枝の小片に放射性化合物を与えて、*in vivo*に近い状態で実験の出来ることがわかった。

本文では次の略号を用いた。

G6P, グルコース 6-リン酸; Ru5P, リブロース 5-リン酸; R5P, リボース 5-リン酸; G6PDH, グルコース-6-リン酸脱水素酵素; 6PGDH, 6-ホスホグルコン酸脱水素酵素

II. 材料と方法

材料: 1. *Populus gelrica* は鉢植のものを次の三つの条件下において用いた。

- 1) 落葉後(昭和44年11月上旬)実験室内に入れて越冬。
- 2) 1月中旬に圃場から4°Cの室に入れた。
- 3) 2)の鉢を必要に応じて4°Cから室温に移すかあるいは圃場に出して開芽生長させた。

2)の状態で作成したものはかなり長期間(7月中旬まで)にわたり開芽しないが、室温に保つと直ちに開芽が始まった。1)のものは開芽が遅れ、昭和45年6月末になってから不規則に若干の開芽が始まった。

2. 試薬類。ウリジン-2-¹⁴Cとイノシン-8-¹⁴CはThe Radiochemical Centre, L-リジン-¹⁴C(U), オロチン酸-2-¹⁴Cおよびクロレラ蛋白質-¹⁴C(U)水解物は第一化学薬品株式会社から、それぞれ購入した。G6P-¹⁴C(U)は前報³⁾で用いたものである。R5P-¹⁴C(U) (Ru5Pを含む)は次の反応液で調製した。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第1116号

反応液組成; G6P-¹⁴C(U) 8 μ mole, TPN⁺ 1.0 μ mole, G6PDH 14 単位, 6PGDH 2.4 単位, ピルビン酸 50 μ mole, 乳酸脱水素酵素 90 単位およびトリスー塩酸緩衝液 50 μ mole, pH 7.6, 全容 1.5 ml. 反応は 25°C で 1 時間行ない, トリクロル酢酸で除蛋白後, 固体の Ba(OH)₂ を加えて pH を 6 付近とし, 生じた沈澱を遠心洗滌して母液と合した。この溶液を Darco G-60 で脱色したあと, 酢酸を 0.1 M 濃度に, ついでエタノールを 4 容加えて沈澱を得た。この沈澱はエタノールおよびエーテルで洗って乾燥したのち酢酸を加えて溶解し, K₂SO₄ 溶液を加えて Ba⁺⁺ を除いたのち固体 KHCO₃ で pH 5 付近として保存した。この R5P-¹⁴C(U) 溶液は G6P-¹⁴C を含まないが, 6PGLU-¹⁴C を 4% 含んでいた。

3. 酵素類。酵素は Boehringer u. Sohne 製を用いた。

方法: 1. 放射性化合物から炭酸ガス発生量の測定。直径約 5 mm のポプラの枝を長さ 5~7 cm に切りとり, その下端を無菌処理した鋭いナイフで切って平らにし, さらに芽を除去した。この枝の小片を逆さに固定しておいて, pH 6 前後とした放射性化合物を含む溶液 5~15 μ l をこの上部のあらかじめ平らにしておいた部分におくと数分間で内部に吸いこまれる。つぎに, 5~10 μ l の水で表面に残った化合物の内部への流入をうながす。このあとは, パラフィルムで両端の切口を包んで硝子容器中に横に置き, 一方向から炭酸ガスを除いた空気を弱く通しながら 20°C で 15 時間反応を継続させた。反応中に硝子容器内で発生した ¹⁴CO₂ は, 通気を 1 N NaOH を通して捕集し, 炭酸バリウムとしたのち放射能を測定した。

使用した放射性化合物の種類と 1 試料当りの使用量は次の通りである。

1) ウリジン-2- ¹⁴ C	0.50 μ Ci	2.05 μ g
2) オロチン酸-2- ¹⁴ C	1.0 μ Ci	9.4 μ g
3) イノシン-8- ¹⁴ C	1.0 μ Ci	9.7 μ g
4) L-リジン- ¹⁴ C(U)	0.33 μ Ci	7.3 μ g
5) クロレラ蛋白質- ¹⁴ C(U) 加水分解物	2.5 μ Ci	0.25 μ g C
6) R5P- ¹⁴ C(U)	0.84 μ Ci	21.6 μ g
7) G6P- ¹⁴ C(U)	0.63 μ Ci	14.4 μ g

2. 放射性物質のとりこみ実験。放射性化合物は前記の通りであるが, 一定条件下で反応せしめたのち水中に移して反応をとめ, 速やかに分析操作を行なった。また, -3°C で反応せしめた試料は, -7°C で磨砕したのち 0°C で分析操作を行なった。L-リジン-¹⁴C(U) のとりこみ: 反応終了後, 韌皮部, 材部および随部の各々を 3~4 ml の 0.05 M トリスー塩酸緩衝液, pH 7.6 の存在下に海砂を加えて磨砕し, 2,500 回転で 5 分間遠心した。沈澱は, 同じ緩衝液で 10 ml として再び遠心して上清を合した。沈澱は 2% Na₂CO₃ で 2 回抽出し, 沈澱区分と分けた。トリスー塩酸緩衝液による抽出液は 10,000 \times g, で 20 分間遠心して得られる顆粒区分とその上清 (ミクロソームと可溶性蛋白質区分) に分けた。ウリジン-2-¹⁴C のとりこみ: 反応終了後, Ogur の方法⁴⁾ で DNA と RNA 区分を分離した。

3. ペーパークロマトグラフィー。アミノ酸は *n*-ブタノール・酢酸・水 (45:10:20 v/v)⁵⁾, ウリジンなどは *n*-ブタノール (水飽和, アンモニア気相⁶⁾), チミンとウラシルの分離は *iso*-プロピルアルコール・水 (65:35, 2 N HCl を含む⁷⁾) をそれぞれ上昇法で用いた。

III. 結 果

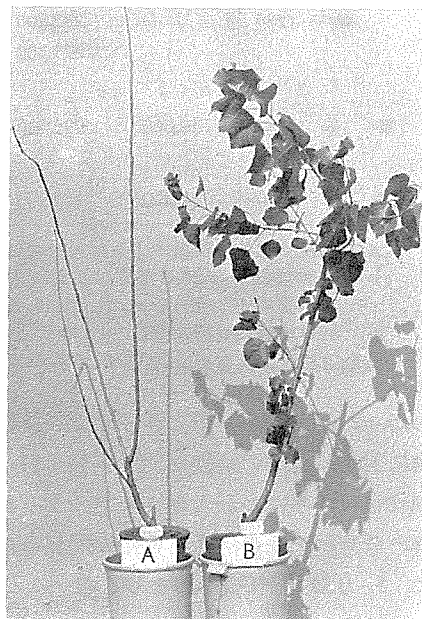
1. 低温環境と異化作用の活性

第1図に示すように、落葉後に室内にとりこんで越冬したものは開芽が非常に遅れる。これに反して冬の圃場で約2カ月をすごしたポプラは開芽がすみやかである。開芽の遅れた鉢植のポプラは、枯死することなく、6月下旬頃から徐々に且不規則に開芽が始まる。この場合、枝の先端での開芽は殆んどみられず、中部から下方あるいは地表面に近いところに多いのが特徴である。通常、低温環境を経て、圃場に生育しているものは融雪後約3週間で開芽が始まり、札幌では5月中旬に開芽が活潑となる。また、冬の室外に約2カ月おいたのちに室内にとりこんだものも約3週間で開芽が始まる。これらの場合は枝の先端あるいは先端に近い部分で開芽が活潑である。このように低温環境を経ないで室内で越冬した場合は約200日の開芽遅延がおり、また通常と異なった開芽状態を示す。

低温環境を経ないで開芽遅延の状態（以下“開芽遅延”とよぶ）のものと低温環境を経過したのち開芽以前のもの（“開芽前”とよぶ）の間には、外観上特に顕著な差はみられない。代謝体制の転換には物質の異化反応がともない、蛋白質代謝、糖代謝および核酸代謝が主要なものであるから、これらについて予備的な実験を行なった。即ち、律速段階と考え得る程の異化反応の活性の差が、“開芽遅延”と“開芽前”のポプラの間にあるか否かを検討した。

第1表にその結果を示した。L-リジン- ^{14}C (U)とクロレラ蛋白質- ^{14}C (U)加水分解物を用いた結果は“開芽遅延”と“開芽前”の間にアミノ酸の分解（および再合成過程）反応に差のないことを示している。G6P- ^{14}C (U)とR5P- ^{14}C (U)を用いた結果もアミノ酸の場合と同様であった。糖代謝と異化反応に関する蛋白質代謝に関しては、個体が低温環境を経過することの有無に関係なく基本的な水準の活性が保たれているように考えられる。

ウリジン-2- ^{14}C 、オロチン酸-2- ^{14}C およびイノシン-8- ^{14}C から得た結果は、ポプラの物質代謝活性に与える低温度の効果を示しているように思われる。冬の圃場で2カ月間をすごしたポプラは、開芽前にかんがりの量の炭酸ガスをウリジン-2- ^{14}C から放出しているから、この期間内に核酸塩基成分の分解活性がほぼ最高水準近くに達したものと思われる。さらにウリジンについては、“開芽遅延”の示す低い活性も日のたつに従って高まる（“開芽遅延”（2））ことが



第1図 ポプラの開芽におよぼす低温度の効果

- A: 昭和44年11月上旬から実験室内で越冬。昭和45年6月25日まで開芽がみられない
- B: Aと同じ条件下で育成したポプラを昭和45年1月上旬まで圃場においてから 4°C の室に移し、2月上旬からAと同じ条件下においた。約2週間で開芽が始まり以後順調に育成した。

第1表 ポプラの異化反応活性におよぼす低温度の効果

放射性化合物	リジン	クロレラ 蛋白質 水解物	G6P	R5P	ウリジン	オロチン酸	イノジン
実験材料	発生した $^{14}\text{CO}_2$ (cpm)						
開芽遅延(1) ^{a)}	14,500	—	49,600	32,000	5,700 6,900	—	—
“ (2) ^{b)}	—	282,200 275,500	—	—	55,700 45,900 49,000	10,200	134,000
開芽前 ^{c)}	12,600	225,500	35,800	35,900	116,000	21,900 38,500	238,700
開芽後 ^{d)}	11,800	273,100	70,500	61,900	197,800	65,000	308,300

a) 室内で越冬し低温による効果を受けていない。7月上旬

b) (1)の実験から25日経過したもの

c) 冬の圃場で2カ月をすごしてから4°Cに保った

d) c)の状態の材料は常温で約20日で開芽する

実験方法は本文参照。20°Cで15時間反応

わかった。オロチン酸とイノシンは核酸塩基の生合成経路上にある中間生成物で、この二化合物に対する分解の活性は同一実験材料についてみると可成の開きがあるが、個体が開芽する体制に移行するにつれて高まる点でウリジンと同じ傾向を示している。このように低温環境は核酸の分解反応系の活性と密接な関係のあることが明らかになった。

2. L-リジン- ^{14}C (U)のとりこみ

第2表に“開芽前”のポプラの材部にL-リジン- ^{14}C (U)を与えて24時間反応せしめた後の放射能の分布を示した。材部に与えたL-リジン- ^{14}C (U)は、反応の極めて初期にはリジンの大部分は材部に局在するが、4°Cと20°Cでは短時間内(2~3時間)に韌皮部に移動し、その50%以上が韌皮部に見出される。表で4°Cと20°Cにおける反応では差を見出し得ないが、4°Cと-3°Cでは可成の差があって、氷点下の温度における“とりこみ”には物質の移動速度が律速因子の一つとなっていることを

第2表 材部に与えたL-リジン- ^{14}C (U)の分布と反応温度

放射能の所在	反応温度		
	-3°C	4°C	20°C
材部	59.3	36.1	38.8
韌皮部	36.4	55.8	52.5
随部	4.3	8.1	8.7

24時間反応

第3表 材部と韌皮部におけるL-リジン- ^{14}C のとりこみ

反応温度	4°C			20°C		
	皮	材	材 (%)	皮	材	材 (%)
“開芽前”	(cpm)			(cpm)		
“開芽前”	36,900	16,400	30.7	44,100	18,400	29.4
“開芽後”	37,800	22,600	37.4	34,600	29,900	46.3
“開芽遅延”	26,300	18,200	40.9	36,200	23,500	39.3
“夏”	23,600	38,900	62.2	22,900	40,400	63.4

* 直径約5mmの枝を1g(生重量)用いた。24時間反応

示している。

“開芽前”，“開芽後”，“開芽遅延” および圃場で成長肥大が活潑に進んでる“夏”のポプラにおけるとりこみの結果を第3表に示した。材部と韌皮部に見出された蛋白質中の放射能 (Na_2CO_3 液で抽出した残渣の放射能も加えた) の合計は、いずれのポプラにおいても殆んど同程度のとりこみ活性を有することを示しているように思われる。成長肥大が活潑になるに従ってとりこみは材部に重点が移るようになる。実験に用いた L-リジン- ^{14}C の大部分は遊離のまま、未変化でそれぞれの区分に残っていたが、一部は $^{14}\text{CO}_2$ となった (第1表)。

韌皮部の顆粒構造は開芽後にその大部分が消失する³⁾。また第3表の成績で成育が進むにつれて材部へのとりこみが増すことを考慮してアミノ酸のとりこみ活性と顆粒の関係を予備的に検討した。結果は第4表の通りである。ポプラの韌皮部および材部に含まれている顆粒は多くの構造体からなるようで、それらの分析と機能の解析は今後の問題として残っているが、この顆粒構造物にはアミノ酸のとりこみ活性を有する顆粒のあることがわかった。韌皮部におけるこの顆粒のとりこみの活性はマイクロソームを含む $10,000\times g$ 上清区分より高い。材部においても顆粒構造へのとりこみが明らかである。

第4表 L-リジン- ^{14}C のとりこみと顆粒

反 応 温 度 区 分	4°C (cpm)		20°C (cpm)	
	200~10,000×g 沈澱	10,000×g 上清	200~10,000×g 沈澱	10,000×g 上清
韌 皮 部*	4,700	70	10,000	270
材 部*	670	660	850	1,230

* “開芽前”のポプラのトリス-塩酸緩衝液抽出区分を用いた

トリス-塩酸緩衝液および 2% Na_2CO_3 で抽出した蛋白質- ^{14}C の沈澱は、エタノールとエーテルで洗ったのち、再び 2% Na_2CO_3 で処理して溶解する蛋白質をとり、再沈澱して遊離 L-リジン- ^{14}C の吸着していないことをたしかめた。

3. ウリジン-2- ^{14}C のとりこみ

ポプラの材部にウリジン-2- ^{14}C を与えて 15 時間、20° および 4°C に保ったのちの放射能の分布状態を第5表に示した。ウリジンは 4°C で材部から韌皮部への移動が一般的に遅いことが特徴で、特に“開芽遅延”で著しいことが明らかである。20°C に保った場合は“開芽遅延”においても“開芽前”と同程度の放射能が韌皮部に見出された。L-リジン- ^{14}C (U) を与えた場合は、20° と 4°C で移動した量に実際的な差がなく -3°C で差があらわ

第5表 材部に与えたウリジン-2- ^{14}C の分布と反応温度

		20°C	4°C
		(cpm)	(cpm)
“開芽遅延”	韌皮部	177,800	94,400
	材部	133,000	358,300
	随部	12,100	8,600
“開芽前”	韌皮部	171,000	147,500
	材部	70,400	205,200
	随部	29,600	33,600
“開芽後”	韌皮部	57,800	58,500
	材部	56,000	177,000
	随部	24,200	9,500
“夏”	韌皮部	66,900	54,900
	材部	51,400	187,200
	随部	2,900	5,000

生重量 1g の枝を用いた。15 時間反応

れた(第2表)。このように、材部から靱皮部への物質の移動には低分子量の物質のなかでも差があって、低温度環境で差が顕著であることは、植物の生活と物質代謝の上から重要なことのように思われる。

Ogurの方法でポプラのDNA区分とRNA区分を分けて、このなかに含まれている放射能を測定した結果を第6表に示した。“開芽遅延”と“開芽前”の含むDNAあるいはRNAの質的な差はわかっていないが、とりこみの活性に開芽の遅れる原因と考えられる程の差はみられなかった。ペーパークロマトグラフィーの成績では、与えたウリジンは未変化のまま材部あるいは靱皮部に存在していた。DNA区分とRNA区分の放射能はそれぞれチミンとシトシンあるいはウラシルとシトシンに由来する筈であるが、100°C、3時間の6N塩酸による加水分解⁸⁾後のペーパークロマトグラフィーでRNA区分に若干量のチミンが検出され、DNA区分にかなりの量のウラシルが見出された。従ってOgurの方法をポプラに適用するには若干の改善を要するが、このような実験方法の不完全な点を考慮に入れても、とりこみの活性の差が開芽遅延の原因と考え難い。

第6表 ウリジン-2-¹⁴Cのとりこみ

		DNA 区分 (cpm)	RNA 区分 (cpm)
“開芽遅延”	靱皮部	15,100	5,600
	材部	19,700	3,200
	随部	4,800	1,400
“開芽前”	靱皮部	22,900	10,800
	材部	10,200	0
	随部	1,400	0
“開芽後”	靱皮部	21,000	3,200
	材部	12,200	1,100
	随部	3,100	0
“夏”	靱皮部	20,600	2,500
	材部	16,500	400
	随部	0	400

第5表と同じ条件(20°C)

IV. 考 察

ポプラのように多年生の植物は越冬前に落葉し、冬期の低温環境を経て春期に開芽する。落葉がすんで休止状態に入った植物は戸外から温室に移しても芽の成長はおこらない。この休眠は通常低温処理によって破られ、芽の成長と休眠の規則正しい繰返しには低温環境の経過が必要である。低温環境が植物の代謝体制に与える実体的な効果はまだ解明されていない。低温環境を経て開芽の活潑なポプラと室内で越冬して開芽の遅れているポプラとの間の差をしらべるために、合成反応系と分解反応系の活性を検討した。この実験で用いたポプラは落葉後のものであるから、開芽に際して必要とされる酵素(活性)は、低温環境の経過と関係なくすでに秋に合成されていると思われる。L-リジン-¹⁴C(U)とウリジン-2-¹⁴Cのとりこみ実験で低温により休眠が破れた結果、活性が増加したと考えられる成績は得られなかった。

一方、分解系の活性をしらべた結果、低温の効果は核酸代謝と関連し得る可能性のあることがわかった。低温環境下に生活したポプラはウリジンなどの分解活性が著しく高いからである。この知見は、ポプラの開芽にともなう顆粒の消失³⁾と関係があるように思われる。これらの顆粒には核酸、とくにRNAが多量に含まれている⁹⁾がリボソームとは全く異なった顆粒で、遠心分離によって明瞭に区別出来る。顆粒構造の消失は、一般に分解反応系の酵素が生物の正常な生活で果している役割を示す一例であろう。構造成分以外の成分(例sRNA)で正常な反

応として異化反応を受ける物質も考えられるから、構造の消失する前にかんりの異化反応が進行しているであろう。蛋白質代謝を検討するためにアミノ酸を用いた結果では、低温処理で活性に差のあらわれないことがわかった。リジンのように分解を受け難いアミノ酸と蛋白質- ^{14}C (U)の加水分解物でも同様であった。

低温環境で生活したポプラは約20日で開芽するが、そうでないものは約200日を要し、しかも開芽は不規則である。ポプラのような植物は細菌と異なって一生活環が非常に長いから律速段階が一つの反応系に限られるように簡単化されるなら、実験時間を15時あるいは1日と長くにとって反応が定常状態に達したと思われる点で比較すると“開芽遅延”と“開芽前”のポプラの間には活性が約1/10異なる反応系のあることを実験の着手に当って想定した。実際、核酸の異化反応系がその範疇に入ることがわかったが、前述の顆粒構造の消失と併せ考えると極めて興味深い事柄のように思われる。最近までに、RNAの中には微量成分としてcytokininが含まれていることを示した成績が多く報告されている¹⁰⁾。従って、核酸の異化反応系は、植物がホルモン作用¹¹⁾を受ける時期と密接な関係があることが明らかである。ポプラにおけるRNA異化反応系とホルモンの関係も同様に考えられる。このように、低温環境下の越冬で核酸の異化反応系が活潑になることを知ったのは、今後の実験計画上有意義であった。

L-リジンのとりこみ活性は、上記のようにポプラの低温環境経過の有無に直接関係がないように思われる。しかし、L-リジン- ^{14}C (U)を用いた成績から、アミノ酸のとりこみは靱皮部材部ともにマイクロソームと異なる大きな顆粒の蛋白質に活潑におこること、ことに靱皮部では可溶性の蛋白質区分にはほとんどとりこまれないことがわかった。この顆粒構造区分は一生活環を通じて、その消長がはっきりしてRNA含有量も高いので、今後の研究対象と考えている。L-リジンのとりこみは成育が盛んになるにしたがって靱皮部から材部に多くなる傾向を示す。材部の酵素活性の高いことは、数種の酵素についてこれまでの報告書で述べた³⁾。新らしく合成された材の部分には、靱皮部と材部を通じて最も高い酵素活性を示す。

V. 摘要および結論

- 1) 越冬中のポプラが受ける低温環境の影響を物質代謝の面から検討を加えた。この結果、低温環境を経たポプラは核酸の異化反応系の活性が高まっていることがわかった。核酸の異化反応は、植物ホルモンと関係があることに考察を加えた。
- 2) アミノ酸のとりこみは顆粒構造におこり、このとりこみは成育がすすむにつれて、材部に多くなっていく傾向がある。

文 献

- 1) 匂坂勝之助 1968 植物の低温生化学的研究 I. ポプラの Ribose 5-Phosphate の代謝反応系について. 低温科学, 生物篇, **26**, 33-43.
- 2) 匂坂勝之助 1969 植物の低温生化学的研究 III. ポプラの生活環境変化と関連した基質流量の調節機構について. 低温科学, 生物篇, **27**, 81-88.
- 3) 匂坂勝之助 1969 植物の低温生化学的研究 II. ポプラのトランスケトララーゼ活性の変働とこれにともなう磷酸エステル代謝系の体制変化. 低温科学, 生物篇, **27**, 73-80.

- 4) 佐久間慶子・寺山 宏 1967 核酸の定量法. (安藤鋭郎・寺山 宏・西沢一俊・山川民夫編: 生化学研究法), 朝倉書店, 東京, II, 697-698.
- 5) Sagisaka, S. and Shimura, K. 1959 Enzymatic reduction of α -amino adipic acid by yeast enzyme. *Nature*, **184**, 1709-1710.
- 6) Hotchkiss, R. D. 1948 The quantitative separation of purines, pyrimidines and nucleosides by paper chromatography. *J. Biol. Chem.*, **175**, 315-332.
- 7) Wyatt, G. R. 1951 Recognition and estimation of 5-methylcytosine in nucleic acids. *Biochem. J.*, **48**, 581-584.
- 8) 三浦謹一郎 1962 核酸の化学. 東京化学同人, 東京, 51.
- 9) 匂坂勝之助 未発表.
- 10) Armstrong, D. J., Evans, P. K., Burrows, W. J., Skoog, F., Petit, J-F., Dahl, J. L., Steward, T., Strominger, J. L., Leonard, N. J., Hecht, S. M., and Occolowitz, J. 1970 Cytokinins: activity and identification in *Staphylococcus epidermidis* transfer ribonucleic acid. *J. Biol. Chem.*, **245**, 2922-2926.
- 11) Johannes van Overbeek 1968 The control of plant growth. *Scientific American*, **219**, July 75-81.

Summary

In an attempt to elucidate the effect of low temperature on budding in perennial trees, the dissimilation activities of *Populus gelrica* were studied.

Uridine-2-¹⁴C (and orotate-2-¹⁴C and inosine-8-¹⁴C) transfused to a piece of slender stem, which had been kept in a cold field for two months, was actively metabolized to CO₂, at a much faster extent than the comparable stem, not exposed to low temperature. However, when left standing for a long period (more than 6 months at the room temperature), the activity in the control stem appeared to rise approaching the level of the cold-exposed stem. It may be pertinent to note that one of the rate-limiting activities governed and sensitized by low temperature may well be at the step where ribonucleic acid is metabolized inside the cells.

There was essentially no difference in the dissimilation activities toward L-lysine-¹⁴C(U), protein-¹⁴C(U) hydrolyzate, glucose-¹⁴C(U) 6-phosphate and ribose-¹⁴C(U) 5-phosphate, showing that activities for protein dissimilation and sugar metabolism would be sufficient for the plants, regardless of the exposure to low temperature. The incorporation of L-lysine-¹⁴C into bark and xylem was also studied.

A new method to transfuse radioactive compounds into a piece of stem was briefly described.