# 果樹 凍霜 害防止に関する試験 第4報 ブドー樹の凍患とその組織学的観察

## 赤 羽 紀 雄†

## I 緒 官

従来、植物の耐凍性\*に関する研究業績は海外 においては数多く見うけられる。この場合圃場試 験はもち論、耐凍性の機構についても,生理,生化 学的研究がおこなわれている。特に最近 Siminovitch \$\$ to Briggs, 18) Levitt 11)12) Scrarth17) 等の報告は、従来の凍害に関する諸説を総括して 1つの方向を示唆した感がある。わが国において も、1年生作物については若干の業績はあるが、 木本類における基礎試験についてはほとんどない といつても過言ではない。しかるに北海道や東北 地方の窓冷地においてはその環境から果樹類の一 部には冬季凍害をこうむることがしばしばあるの で、この防止対策を調することは急務であると考 える。過去においてはすでにわが国で安藤りはい ち早く霜害の機構を発表し田沢20)。さらに鈴木19) が続いて研究報告し、最近青木が、朝比奈のが植 物凍精害を細胞学的方面より究明し植物の凍結渦 程についてあさらかにし、さらに酒井(5)(6)(は桑樹 の耐凍性獲得のための条件あるいは原因等につい て検討しているが、今後、この方面の研究に碑盆 するところが大きいばかりでなく、実際圃場管理 法に科学的根拠を与えるものとして注目してよい であろう。筆者いはささに「りんご」 樹の凍害の実 態とともにその生理上の問題にふれ、耐凍性の強 い場合と弱い場合についての判定法を報告し、高

馬<sup>10</sup> は各種落薬果樹について耐寒性に関係する生理的諸性質について報告している。さらに筆者<sup>10</sup> は冬季凍害防止法の1つとしてブドーにおいては生育中の MH-30 の散布が効果のあることを報告した。今回はブドーを組織上より観察した場合、耐凍性と凍出の関係を検討して耐凍性獲得のための資料を得んとしたのが本研究の第一の目的であった。元来ブドーの組織はほかの果樹とはかなり趣きを異にしている。特に射出髄の発達と靱皮組織の特異性は樹の耐凍性を支配する上の重要な要素となりうると考えたからである。

さて北海道において 1956 年の初夏にアドーの 新権がかなり伸長してすでに 果粒が小豆大に泣し たころ、僅か1次のうちに萎凋し、やがて枯死す る現象が産地に頻発したのである (写真1)。ある いは春の萠芽が不揃になるか、全く不発芽に終わ ることは毎年みられる現象である。これらの原因 については従来、生理病の1種であるとか、病虫 **生の影響**、あるいは日焼けなどのためであると説 明されてきた。もつとも生理病を起こす間接的の 原因としては密植、強剪定、結果過多、新楷の秋 仲び等が指摘されてはいるが、直接の原因につい ては実証するに足るものがなかつた。錐者は上述 の萎凋枯死した新梢のでている前年枝を縦横断し てみると、組織の一部が browning しているばか りでなく(写真2) その年に発生した新生組織が 著しく不良であるかまたは部分によつては全く発 生してないことを観察したのである(写真3)。か ような枝条は例外なく横断面は円形をしたいで不 規則な出張りがある。このことはすでに春の活動 開始期より形成層の活動が局部的であつたか、ま たは全く活動していなかつたことを意味するので あつて、春の活動開始以前に何等かの障害によっ て形成層は死んでいたと判断される。そこで、も し一本の結果母枝の微断面の全部が死んでいれ

<sup>†</sup> 植芸部

<sup>\* 「</sup>耐寒性」という音葉は 広い意味に 用いられている すなわち必ずしも 0 C以下の温度にならなくとも植物 に対して適当の温度範囲以下の温度に耐えるときに耐 寒性があると解釈される場合もある。 いい換えれば凍 結が起こらなくともよいのである。 本文に用いている 「耐凍性」とは米点以下で必ず凍結が起こり, その凍 粒に耐える抵抗性の度合を意味しているのであるから 耐寒性という音葉をさけて耐凍性という音葉を用いる ことにした。

ば、その部分より先端は、一時萠芽してもその後 の新梢は伸長が停止して、やがて枯死するととは 当然であるが、組織の一部分だけ死んでいる時 (写真11) は不足ながらも養水分の流通があるか ら新梢伸長はかなり続けられる。しかし養水分の 供給が新梢伸長に対し均衡が破れるとやがて萎凋 枯死することが劣なられる。

しからばとの現象の直接の原因はなんであろうか、しかし凍害であるとすれば、従来いわれてきた生理病の直接原因は凍害であると判定しうるであろう。筆者はこの点を究明して証明せんとしたのが研究の第2の目的であつた。

本研究に対し北海道大学農学部沢田教授, 同大学低 温 科学研究所背木教授, 朝比奈助教授及び酒井氏の助 言を 辱うし, 北海道立農業試験場種芸部長浜技師の御厚志 を 受け, 部内の高橋, 山崎, 田辺, 伏見諸氏に一部応援を 得たのでここに記して深甚の謝意を表する。

## II 材料及び方法

村料は垣根仕立ての生育良好な4年生樹を供試 し必要に応じ枝条を採取した。耐凍性の検定に使 用した部分はおおむね7~8節目の充実した新桁 または結果母枝で、低温処理の場合は、2 cmに切 断した枝の切口の両側に水湿の綿をつけ、湿室に 保つたシャーレーに入れて一定時間恒温室に放置 して凍らせた。一定時間後とりだして24時間、普 **通の室温で融氷してから鏡検した。鏡検に際して** は縦断、横断の切片を枝の各部分より、すくなく とも10片以上とつて、生存細胞と死滅細胞の数を 読みとつて比率を決めた。生死の判定には細胞の browning を調べあるいは中性赤で染色し、また 一部には原形質の状況をも加味して決定した。ブ ドーは細胞内に貯蔵物質が多くて原形分離法によ る生死の判定法は困難なため、必要と認めたとき のみ柔細胞の原形質分離を考慮に入れた。

たお澱粉の検定はヨードョード加里の染色法に よつた。

(A) 園場における形成園活動を判定する場合は 鋭利な双物にて木質部に達する傷を入れたとき, 次の5つの段階を設けて肉眼観察し、あわせて同 一枝を採取してきて形成園の配列状況を 鏡 検 し た。 0: 皮部が堅く緊まつて全く剝離できない (形成層の-配列が整一で2~3層で一定している)

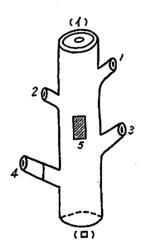
25: 皮部がかろじて剝離できる (形成層の配列は整一であるが6~7層のものがある)

50: 皮部は容易に剝離できるが切口には水分は見られない (形成層は7~9層でやや整一である)

75: 皮部が容易に剝離され切口に湿りが見出される ( 形成層は10層以上で不規則な配列をしている)

100: (皮部は容易に剝離され切口から水が滴り落ちる。. 形成層は全く不規則で大小様々な形をしている)

(B) 組織の凍結状態を調べるために特に耐凍性 の弱い醸造用品種の結果母枝を11月1日に採取し 次のような方法で凍結させた。



(イ)(口)は新梢の切口

1,2,3,4は副梢の切口

1:切口を水湿の綿にて包む

2:切口にワセリンを塗布

3:切口はそのまま放置

4:副梢は一節を残して放置

5:形成層の部分より皮部の一部分を剝離

(イ) (ロ)の切口も水湿の綿にて包み枝の全体をビニールで 包んで、一20°Cの低温室に24時間放置した。

- (C) 脱水試験には各種設度の KCI, KNO<sub>3</sub> 液中に切片を投入して後,水に戻し、さらに高調液に入れたときの細胞の生存率を調べた。供試組織は 製皮柔組織を主体としたがときには射出値も参考とした。
- (D) 圃場における細胞の凍結時の状態を調べるため、凍結固定をおこなつたが、その方法は

Wolman \*\*1)の方法に従い予め無水アルニール19、 水醋酸 1 の割合に混合した溶液を一10°Cに冷却し このなかへ闘場で凍結している枝を 1 cm の長さ に切つてそのまま投入して 4 時間一10°Cに保ち、 のち、室温で無水アルニール中に枝を入れかえて 徐々に湿度の低いアルニールに移してから切片を とつて鏡検した。特に細胞内凍結の状態を調べる ため、最初シリニン油を一35°Cに冷却してから前 記同様に経に 2 分した 1 cm の枝を投入し 1 時間 後に一10°Cの固定液に移し前と同様な方法で鏡検 した。

### III 試験結果と考察

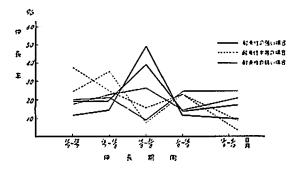
#### (1) 組織の生成および新梢伸長との関係

組織生成の過程を季節的に追跡することは組織の脚凍性を知るために、はなはだ大切である。なぜならコルク層の発現は各組織中、一番最後におこなわれるものであつて、この組織の有無は耐凍性の強弱に大きく影響することを認めたからである。6月下旬では新梢の最基部でさえまだ靱皮部と木質部の組織は判然としない。もちろん靱皮部の柔および側組織は形成されていない。しかし尊管、射出髄は内外に向かつて増殖されているのが見られる(写真4)。7月上旬になると木質部と靱皮部の境界がやや明瞭となり、後者には硬組織が若干でき始めてきた。そして射出髄の先端部にやや木化した組織が現われ始めたが、これが将来内輪の繊維となる(写真5)。

この木化した組織が増大してくると木質部より 皮層部へ伸びている射出髄は次生コルク形成層に よつて完全に遮断される。ここで初めて製皮部と 木質部とは明確に区別され、表皮直下には暗褐色 の内鞘厚膜組織が区別される(写真6)。初生コ ルク形成層はその直上にコルク層を、その直下に コルク皮層(製皮柔粗轍の一部)を生成してくる。 しかるときは皮層部における遮断された射出髄は いわゆる内鞘柔組織といわれ楕円形の比較的大き な細胞が皮層部にとり残されるが、やがて死滅し 他の内鞘部もコルク層により水液の供給を断たれ 続いて死滅し、いわゆる粗皮となつて 創 離する (写真7)。この時期は丁度8月中下旬ころである。 なお耐凍性の弱い品種(主に酸塩用品種)は上途の場合とやや趣を異にしている。すなわちコルク層の発生する以前にコルク形成層の直上に靱皮部同様に2層程度の柔組織および硬組織が変互に形成され、その上に初めてコルク層が現われてくるのが普通である。

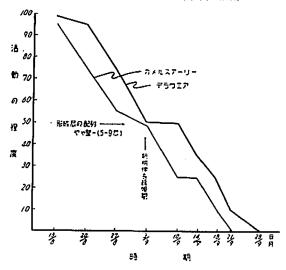
このことは、枝が褐変する時期を遅らせるとと もに、枝の不充実となる一原因でもあるので耐凍 性と重大な関係をもつものと考えられる。さて前 年枝(精果41枚)の組織活動状況をみると、活動の スタートは衝芽期より早く始まり、形成層は組織 の内外部に新生組織を分裂増殖し、特に5月下旬 の花房抽出期より急激に活発度を加え、旧木質部 と靱皮部の間に未木化の木質組織を増殖して枝条 の肥大生長がおこなわれる(写真8)。6月下旬 では新生木質部の幅は実長で 250µµ に達し、8 月下旬で最高の厚さ、つまり 1,000μμ 程度にな る。この時期で新旧木質部の区別がほとんどつか なくなる。そして以後は増殖肥大が緩慢となる。 もつとも新生の靱皮部や木質部は、一様に放射的 の増殖はしないで部分的の相違が著るしいが、一 般に楕円形の切口をもつ枝は尖部の方が活動が旺 盛である。結果母枝の新生組織の増殖肥大が緩慢 になる8月下旬まで新梢伸長が旺盛におこなわれ ることが望ましく、これが常旗の生育である。し かしややもすると新梢伸長が旺盛であるべき7月 下旬ないし8月中に緩慢であることは、春からの 伸長も同時に順調でない場合が多く、この原因の 1つとして、結果母枝の組織の増殖が不活発であ ることがあげられるが、これは体内における何等 かの障害であると推定される。逆に8月まで仲長 が緩慢であつて、9月に入つてからも依然として 伸長を続けるもの、あるいは春から秋まで弱い伸 長を続けるものは、寒冷地においては特に耐凍性 を弱めるものである。これはおそらく薬面積と代 謝作用との不釣合による炭水化物の不足が原因す るものであろう。かような新梢ほどコルク層の発 生が遅れ、コルク形成層の上に内輸部の柔組織、 硬組織の形成が遅くまで続くことは前述したとこ ろである。今、新梢の伸長と耐凍性の関係を図示 すれば第1図のとおりである。

第1図 新梢の季節別伸長率と耐凍性



枝条の肥大および伸長は形成層の活動と深い関係のあることは周知のところであるから時期別に おける新棺の形成層活動の消長を示すと第2図の とおりである。

第2図 新梢における季節的形成層活動



もちろん品種によつて相違はみられるが一般に 8月中旬までは各品種ともに最高の活動をしている。このときの形成層細胞は非常に不整形であつ て10数層をしている。「カメルスアーリー」は8 月中旬より活動が衰え、「デラウエア」「ナイヤガラ」では8月下旬より徐々に緩慢となり、その間 に約10日位の差異が認められた。9月にいたると 形成層は4~9層となり減少の傾向をとるが、や やもすると、このままの状態を一定期間続けるか または再び活動が盛んになることがある。いずれ にしても9月下旬には活動は停止して形成層は2 ~3層で整一となる(写真9)。9月中に再び活 動が盛んになることは耐凍性獲得のためには最も不利であつて今後、いかにして、この時期の形成層活動を早く停止させるかが問題である(このことについては次号で報告する予定である)

#### (2) 組織の耐凍性

全く完成された組織のなかでも、耐凍性の強い 部分と弱い部分が当然あるわけで、筆者はさきに りんごで冬季に最も耐凍性の強い部分は表皮直下 の皮呂(赤紫色の細胞液を有する細胞)であり、 最も弱い部分は内部皮層(薬緑素を有する大きな 細胞)であることを指摘したが、ブドーにおいて は9月上旬では靱皮射出髄および髄周辺細胞が最 も耐凍性が弱く10月以降は級皮封出髄およびコル ク形成層直下の柔細胞が最も凍寒を受けやすい。 そして組織の耐凍性を決めるには最も弱い靱皮射 出髄を一応判定の基準とすることが便利である。 すなわち靱皮射出髄が browning してくると 靱 皮柔組織もまた、早晩死滅してくるし、形成層も 死にいたる。しかしこの場合でも樹体が hardening されているときは、たとえ射出髄の 一部が browning しても形成層の死滅は免かれることが ある。しかし、これも程度の問題であつて生存し ている組織が代謝などの生理的不都合をきたさな い程度の凍死の場合は一部の靱皮部、形成層、木 質部が一連の関係をもつて生き残り、春季の活動 期に形成層は再び活動して新生組織を形成してい わゆる肥大を開始するものと考えられる。実際師 場においては枝の片側だけに異常な肥大をして他 の片側が死んでいるような常似でないのものがみ られることがあるが、なにか凍患と関連があるよ うに思われる。普通、ブドーは同一切断面の同一 組織においても耐凍性に著しい相違がみられる。 この傾向は切口の扁平な部分は耐凍性が強く、尖 つている部分は弱い。これを組織活動の上よりみ ると、尖つた部分は新生組織の活動が盛んな部分 であつて活動が遅くまで続いているのに対し、扁 平部は新生組織の形成が少なくかつ早く活動が停 止している。さらにコルク層発生の選速と耐凍性 の関係についてみると、コルク層は前述のように 組織生成のなかで最後にできる組織であるから、 コルク層ができていれば他の組織はすでに完成さ

れていると解釈してもよい訳である。かつまた猪野<sup>9)</sup> によれば、コルク制胞は空気、ことに安酸ガスをとかすが水はとわさないばかりでなく熱の不伝導体であるといつていることから、コルク層内部の低温保護に対して重大な役割を持つているのは当然であろう。第1表によればコルク層のない場合は、しからざる場合に比較すると組織の生存率は同一条件で約署であることからも裏付けられる。

第1級 コルク層の有無と耐凍性

	品種 デラウェア		カメルス アーリー		ナイヤガラ	
コルク 調査日	有	無	有	無	有	無
9月24日	85~ <u>80</u>	30~26	92~80	35~23	65~60	10~7
10月 5 日	95~90	30~10	98~92	30~10	70~50	30~10
¥) —10°C	4 BERN 2	ani w	1211 th		तः च	

北海道では10月になると気温が低下して最低温 度は氷点下に下がることがあるので、9月中、下 旬までに、コルク層のできなかつた場合はそのま ま緑枝となって残る。緑枝となった部分は冬季の 凍害により例外なく結死するととは第1家からも うかがえる。さて植物が脳凍性をうるためには、 細胞が連死しない程度の低温が必要であることは 多くの学者によって認められてきたが、植物が主 だ盛んに活動をしている夏季には hardening の 効果はえられない。たとえばブドーにおいては8 月21日に0°Cで7日間 hardening して後-5°C で24時間低温処理した場合と全く hardening し ないで同一低温で処理した場合とでは細胞の死滅 程度は同様であり(約50%の形成層、木質部は凍 死) hardening の効果は全くなかつた。しかし9 月25日においては第2表のように hardening の 効果はあきらかに現われた。

第2表 hardening による耐凍性獲得

. 処 理	0°C7日則 hardening	対 照		
品和	—10℃24時間処理	—10℃ 4 時間処理		
ナイヤガラ	100%	70~55%		
デラウェア	95~90	90~80 90~80		
カメルスアーリー	100~95			

注) 9月25日採取枝 数字は細胞の生存率を示す (低沮処理後24時間の調査)

なお細胞の感透濃度をみると、8月21日の場合は hardening の有無にかかわらす KNO<sub>3</sub> で0.25 M~0.30Mであつたが9月25日においては対照区では0.25M~0.30Mと8月の場合と変化がなかつたが、0℃で hardening した場合は0.55Mとあきらかに上昇していた。さらに11月1日の場合をみると第3表のとおりである。

第3表 hardening による財政性の獲得

-	-	341	1 149	0°C 7日     hardening 文 —14°C24時間処理 —			照 -14℃24時間処理		
部(	<u>ү</u>	收	1日	3 EI	7日	18	3 🖽	7 B	
桶	2k.	部	85~60	80~ <i>6</i> 0	80~60	95~80	60~40	_	
尖		部	40~20	40~20	20~ 5	40~20	40~20	_	
F	华	部	95~85	20~5	20~5	95~80	20~5	_	
	,	部	80~50	40~20	40~20	60~40	20~5		
粡	¥	紭	95~80	60~40	40~20	95 <b>~</b> 80	95~80	_	
		部	95~90	60~40	40~20	85~70	80~60		

注) 11月 1 日採取校 −14°C 24時間処理 数字は細胞の生存率を示す

第3表によれば 0°C、7日間 hardening した 場合としない場合では、耐凍性獲得に大差は認め られなかつた。Levittiz)によれば、炭水化物と耐 **凍性の関係は深いもので糖の量が多いものほど耐 凍性が強いてとは穀粒等の若干の例外を除けばー** 応うなずける点があるという。すなわち、hardening によつて糖の増加することは、とりもなお さず低温による澱粉から糖への転換であるが、と れはあくまで秋から冬にかけてのことで春には耐 凍性の変化と同率にはこの変化を認められないと いうことが Siminovitch and Briggs<sup>18)</sup> Pisek<sup>14)</sup>が 指摘している。また Hildreth® は、夏において低 温で hardening すると、脳源性を増加すること なく糖の量を冬の最大量にまで、引きあげること ができるとし、その例として、馬鈴薯は低温では 澱粉から糖へ転換するが、耐凍性は依然として弱 く、しかも糖の量からみると耐凍性の強いりんど の枝よりも多く蓄積されていることを認めてい る。筆者は、8月下旬においては、前配のように hardening の有無に関せず細胞の滲透過度に変化 のないことを認めたが、これは樹が低温において

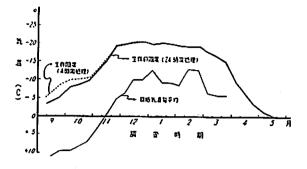
もほとんど増加しなかつたことを意味するもので おそらくブドーでは馬鈴薯などと異なり、8月で はまだ澱粉の絶体量が著るしく少なかつたためで あろう。事実9月下旬においては、hardening に よつて対照区より約0.2M程度滲透凝度が高くな つているのは、9月下旬では枝条内にかなり澱粉 が蓄積されていてこれが0°Cの低温で糖に転換さ れたものと考えられる。このことが、いわゆる hardening による耐凍性の地強という結果になつ たのであろう。11月上旬の場合では、0°C、7日 間 hardening した場合と全くしない場合で耐 凍 性に変化のなかつたことは自然の気温と関係があ つたと考える。すなわち11月になると気温は0℃ 以下の日が続くので、枝条は自然の状態でかなり hardening されているので、人工低温で0℃に した場合と同じ影響を受けているからである。酒 井10)によれば、木本類の耐凍性を長く維持するた めには0℃で hardening するよりも0℃より低 い温度すなわちー5℃で hardening した方が耐 **凍性を強めるのに効果のあることをクワ、ヤナギ** ポプラ等で証明している。

この試験成績は、いずれも11月中旬以降の場合 であつて、11月になると自然の気温の低下ととも に樹体がかたり hardy になつているから,人工的 に hardening する場合は、0℃よりもつと低温 度でおこなつた方が植物体をより低温に耐える力 を増させることは一応考えられる。しかし9月. 10月上旬とろのまだ樹体が組織的あるいは栄養的 に完成していないときには、むしろ0℃ないし0 ℃より高い温度で hardening されなければかえ つて生理的に有害となることがあろう。

ここで、われわれの知りたいことは自然では何 時の時期に幾日川、何度の温度で hardening さ れた場合に最も耐凍性が増強してかつ長く維持で きるかということであるが種々の要素が加味され るので、実際には予想程度しかつかないのが実状 である。そこでブドーが自然状態でどの程度の耐 **凍性を季節別に獲得されているかを示すと第3図** のとおりである。

第3図の成績は植物体にとつて最も不利な環境 を与えた場合である。すなわち枝を短かく切つて

第3図 物皮射出師の季節的耐凍性

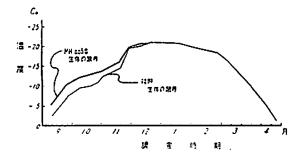


(約2cm) 両切口を水のついた糸で包み、 急激に所 定の低温に遭遇させて凍らせて一定時間後に再び 急激に窒温 (+15℃) にだして融氷させた場合で あるから、自然状態からみると趣きを異にする。 しかし同一方法で季節的に追跡してこれが生死の 状態における hardness の比較はできると 考え る。そしてこの処理低温に耐えうるとすれば、少 なくとも圃場ではこれ以上の低温に耐えることは 確実である。耐凍曲線をみると、10月までは徐々 に耐凍性が強くなり、11月より急激にその度合を 増し、11月下旬より最高に遠し、2月下旬まで総 いて以後、漸降することを示している。この傾向 は木本類においては一般に類似しているものであ る。ただ異なるのは種類や品種によつて耐凍性が 最高に達する時期と最高の耐凍性の皮合であるよ うである。北海道においてさえも余程の気象異変 がない限りプドーでは厳冬季の凍御は先ず心配は ない。もし厳寒期の凍患が起こるとすれば、それ は凍結時の凍結程度と凍結持続時間によるもので ある。むしろ秋から冬にいたるまでと早春の間が 最も危険な時期である。

一般に北海道ではブドーの枝(棚下 しによっ て) は冬季間ほとんど雪中に埋れるし,30cm の 積雪量があれば地表は一3℃前後であるから、根 雪前に地表に枝下ろしをすれば一層安 全 で あ ろ う。しからば肥培管理によつて少しでも耐凍性を 増強させる手段はないものであろうか。

その一方法として新梢における秋の活動を抑制 するため、8月下旬にMH-30の0.05%液を全薬 面散布したが、その後の耐凍性の獲得の消長を無 散布のものと比較すれば第4図のとおりである。

第4図 処理による耐凍性の増強(時間処理)



すなわち秋から冬にかけて耐凍性が約3℃程度 増強されている<sup>6</sup>。しかし11月下旬より厳寒時に おいては無撤布のものと変化を認めない。いずれ にしてもMH-30の利用によつて最も凍害の危険 のある時期に約3℃の耐凍性が増強されることは 大きな問題であろう。なおブドーの芽は枝にくら べて耐凍性が弱く、1本の枝では先端部にいくほ ど芽の耐凍性は弱い。そして芽とその位置におけ る枝の耐凍性を比較すると約3℃~5℃の相違が あり、副芽は主芽より常に弱い。1956年12月13日 札幌地方の最低気温が一18.1℃に降つた際、枝は 凍害を免かれ、芽のうち、副芽の凍死したものが 多かつた事実を確認したが上記のことを裏付けす るものと考えられる。

#### (3) 組織の凍死

すでに述べてきたように、植物体がいかに hardy になつてきてもある程度を越す場合にはつ いに組織の凍死が起きる。元来、組織が凍死する 場合には細胞内凍結 (写真29) あるいは細胞外凍結 (写真28) のいずれかまたは同時に起きる ことは 従来から認められている。特に最近にいたつて Levitt<sup>(1)</sup> Scarth<sup>(7)</sup> 朝比奈<sup>6)</sup> はその機構について 考察するところがあつた。 木本類が自然状態で、 もし東死が起きたとすれば、そのほとんどが細胞 外凍結によつて起きるであろうとはだれしも疑う 余地がない。ブドーももちろんそのうちに含まれ る。もし細胞内凍結による凍死であれば凍結の瞬 間において細胞が死滅しなければならない。しか し筆者が人工的に低温で処理をおこなつた範囲で はいずれも凍結融氷直後は細胞の生きている場合 が多く,時間の経過とともに死細胞が増加してい くのを認めたからである。これは細胞外凍結によ

つて誘発された脱水に帰因する障害であると一応 推定される。細胞の脱水による 害は Scarth<sup>17</sup>)。 Levitt<sup>11)</sup>, Nilsson-Leissner<sup>13)</sup>, Siminovitch and Briggs<sup>18)</sup> によつて指摘されている。たとえば Nilsson-Leissner<sup>(3)</sup> は凍結による凍死の主要な原 因は温度でなく細胞内の氷の形成や本質的には無 害である過冷却によるものであると述べている。 脱水が過ぎれば何故細胞は死滅するかということ について Siminovitch and Briggs<sup>18)</sup> は水溶性蛋 白質の存在が脱水抵抗を強めるばかりでなく、細 胞内凍結を防ぐに役立つものであると証明してい る。そこで筆者はブドーの脱水抵抗力を調べるた めに2月20日採取の枝条で細胞の原形質分離をお こなつた。この時期の細胞原形質分離 没度は, KClで1.0~1.1M程度であつたが、KClの1.2M 液に5分間入れたときは、原形質分離をする (写真25) が、同一切片を水で復帰させ、再び1.2 M液に入れるときは柔組織は若干分離をしたのみ であつて、特に射出髄の細胞は半数は死んでい た (写真26)。またコルク形成層直下の細胞 は原 形質分離限界濃度の約2倍の高濃液に10分入れた だけで死にいたる細胞が約2割あり、(3/真22) さ らに同一切片を水で10分間復帰さすときは約半数 の細胞が死滅し (写真23) さらに同一切片を再び 高濃度に10分入れるときは大半の細胞が死滅して いる (写真24)。

以上の点よりみて、ブドーの組織(複皮射出動及び柔粗轍)は脱水に対する抵抗が特に弱いことを示すもので、りんでとくらべると大きな相違があるりブドーの脱水による細胞の死滅状態には次のとおりの場合がみられた。すなわち核が破れないで、その周りに一見原形質分離のような形をして収縮した細胞質が、凝固して死んでいるもの(写真16、19)と、またさらに細胞の外壁が browning してから原形質もまた browning し、最初は貯蔵物質がそのまま粒状に見分けがつくが、次第に原形質が凝固してくるとほとんど区別がつかなくなつてくる場合があつた。

一般に植物の各細胞については、その凍結過程 が詳しく報告されているが、組織全体からみた場 合、特にブドーについては報告がほとんどない。 無者はブドーにおいて組織の凍死がいかなる過程で増加していくかについて観察した。ブドーの組織が他果樹と異なる点については第1項で述べたし写真12,13のとおりであるが、凍結状態は次のようである。すなわち外部の温度が低下してきて凍結が始まると外部に最も近い内鞘柔組織が凍結して多くの氷が生じてくるのがみられる(写其14.15)。内鞘柔組織はコルク層を中断していて、直接コルク形成層に接し、コルク形成層はその直下に漏斗状に開いた靱皮射出髄が入り込んでいる。その他の部分はコルク層によつて外部との連絡は全く断たれているので、この内鞘柔組織の一端だけが唯一の熱や水の通路であるとみてよいであろう。

事実、組織のうち、最も早く死滅するのは靱皮射出髄の頂端部の細胞であつて、まもなくコルク形成層直下の細胞および射出髄の両側の細胞が死にいたる(写真10,13)。そして時間の経過とともに射出髄全部と柔細胞全部が死滅していき、この順序には例外をみいださなかつた。それでは何故最初に射出髄の先端やコルク形成層直下の柔組織が弾死するかについては不明であるが、細胞外凍結で組織が死にいたる早晩は脱水抵抗の強弱の逆によることが一応考えられるのでこれを確かめるために次のような実験をおこなつた。

すなわち2月20日に枝を採取し靱皮部と木質部を分離して靱皮部のみを-20°Cに4時間(または24時間)疎結させた場合(つまり靱皮部の内側より凍結させた)においても、しからざる場合と全く同一の順序で凍死が増大していつた(写真27)。このことは内鞘柔組織が最初に氷結することによつてこれと直接連絡する靱皮射出髄の先端から氷結が進行したり、あるいはこの部分が他部分より脱水が時間的に早くかつ脱水量が特に多いとは考えられない。さらに前述の脱水抵抗試験とを相互に考察するとき、ブドーにおける組織の凍死の順序は少なくとも細胞外凍結においては脱水抵抗の弱い順に起きるものと考えるのが妥当であろう。

さて木質部の耐凍性は靱皮部に比較して著しく 強い。いま2月上旬に枝を採取して靱皮部を除き 木質部だけを欝出させて、最初−10℃で1時間凍 結させた後-35℃で4時間凍結させてもほとんど 全細胞は生存している (写真17) のに 対し、 靱 皮 部をつけたまま同一処理をするとをは靱皮部は約 8割程度が死滅してしまう。この場合でも木質部 は全部生存している。以上の点より、木質部は元 来組織自体が強いのか、あるいは外部の温度の伝 達が鈍くかつ冷却度が少ないためであろうか。そ こで全組織を具備した枝に特製の寒暖計を縦に深 く木質部に接して差し込み,+5℃の 室温 よ り ―10℃の低温に急激に遭遇させると3分内外で過 冷却が破れて凍り始め、約20~30分で外温の-10 **℃と同一になる。この事実より木質部の温度の伝 遠は靱皮部より遅いので、靱皮部の方が早く凍り** 始めることが考えられるが、長時間の低温よりみ れば問題にならない時間的差である。したがつて 両組織は同一温度で同一時間で凍結すると一応者 えてもよいであろう。それにもかかわらず木質部 にはほとんど似死が起こらないのは、おそらく木 質部は靱皮部にくらべて著しく脱水抵抗が強いた めと推定できよう。Levitt12) は皮部においては殺 粉から糖に伝換することは容易であるが、これが 木皮部ではおこなわれないということの脱明に木 質部は代謝作用がきわめて不活発であるといつて いるが、ブドーにおいて木質部が著しく耐凍性が 強いのは脱水抵抗のほかに、いわゆる代謝の不均 **何による皮合などが関係してくることも当然予想** できるであろうが、これは今後の検討を要する問 題である。

以上の事実から逆にいうならば、木質部が凍死したということは靱皮部や形成層がすでに凍死しているということを意味するものである。したがつて実際圃場において木質部が凍事を受けているのに靱皮部が生存していることはブドーの凍むという問題からはありえないのである。しかし「りんで」においては必ずしもそうではない。すなわちblackheart (写真18)といつて木質部の凍害は 靱皮部同様に北海道では年によつてみられる。筆者は1952年の冬季にこれを確認した。

以上の諸点よりブドーにおいて枝の周囲, すな わち級皮部より中心に向かつて死滅していく現象 は一応凍害であると断定してもよいであろう, (年 其20)。ところが丁度これと逆に髄部から外部へ向かつて組織が死滅していくことは、ブドーではしばしばみられるがこれはあさらかに髄部より侵入した雨水や乾燥などの枯込み(写真21)であると考えられる。

## IV 摘 要

ブドー枝条を組織学的に観察して生成過程を調べ、さらに凍密を受けた場合について測死の原因を確かめた。なお耐凍性と組織上との関係および自然開場における断凍性の判定法について1~2の例を指摘した。細部について要約すれば次のとおりである。

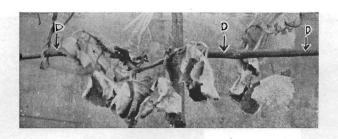
- 1. ブドー組織の生成には一定の過程があり新 棺の伸長と関係がある。つまり組織の完成された ときがコルク層の発現するときで、この時期より 新棺伸長が緩慢になるのが常態である。耐凍性の 弱い品種(酸造功用種一般)は強い品種(アメリカ系) にくらべ内鞘部の組織生成過程に著しい 差がある。 新棺伸長は8月中下旬に全生育期間における 全伸長量の約40~50%以上の場合は最も耐凍性が 強くなるが8月中下旬以降特に9月以後の伸長量が が多い場合は開凍性が弱くなる。
- 2. 形成層活動は形成層細胞の数と配列とに関係があり、活動停止期では2~3層の細胞が規則 正しく配列される。
- 3. コルク層の有無によつて耐凍性に著しい差がある。すなわちコルク層のある場合は、ない場合にくらべ約3倍の耐凍性を獲得する。
- 4. 9月下旬~10月下旬までは0°Cで7日間の hardening で開凍性が増強するが、それ以外の時期では0°Cの hardening は効果を認めない。
- 5. 靱皮部、特に靱皮射出髄の先端部およびコルク形成層直下の柔組織が耐凍性が最も弱い。これはほかの組織より脱水抵抗が特に弱いためであるう。なお木質部は靱皮部にくらべて著しく耐凍性が強い。
- 6. ブドーの凍害は常に枝の外側 (物皮部) よ り内側 (木質, 顕部) に向かつて進むが、単なる枝 の枯込みは内側より外側に向かつて移行する。
  - 7. 自然圃場において、もし枝糸が凍售を受け

た場合は細胞外凍結による凍死であつて細胞内凍 結による凍死でないことを人工処理によつて証明 ができた。

#### 引用文献

- 赤羽紀雄, 白坂昭吾, 山崎健 1954: りんご樹の 凍豊に関する研究 (第1報) 園学雑, 23. (2), 97~ 102
- 一,山崎健,斉藤正人 1955:りんご樹の凍害 に関する研究(第2報)園学雑,24 (12), 155~159
- 3. ——1955: りんご樹の運営と郷地栽培法、農園30 (2), 1579~1583
- 4. , 山崎健 1957: MHがブドーの形質に及ぼ す影響 (3 報) 北海道農試集報 1
- 5. 青木麻 1955: クワの人工的 hardening 低温料 学生物篇 13
- 6. 朝比奈英三 1954: 植物前書の一機構, 低温科学 生物篇 11, 13~21
- 7. 安藤広太郎 1919: 植物の凍死及びその耐寒性に 関する研究 農試報告 44
- Hildreth, A.,C. 1926: Determination of hardiness in apple varieties and the relation of some factors to cold resistance. Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 42.
- 9. 猪野俊平 1956: 植物組織学
- 10. 高馬進, 宮崎義光, 北沢昌明 1955: 果樹の母寒 性に関する研究(第1報) 園学研究集鉄 7,54~58
- Levitt J, and G,W. Scarth 1936: Frost hardening studies with living cells. Canadian Jour. Res. Sect. C. 14: 267~305
- 12. ——1951: Frost, drought, and heat resistance,
   Ann. Rev. Plant Physiol., 2:245~268
- Nilsson-Leissner, G. 1929: Death from lowtemperature and resistance of plants to cold. Quart. Rev. Biol., 4:113~117
- Pisek,A. 1950: Frost h

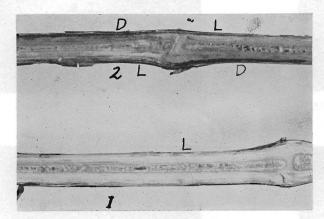
  ürte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei Rhododendron ferrungineum, Pinns cembra und Picea excela.
- 15. 酒井昭, 1956: 植物における母栗性地大と外囲温 度, 低温科学生物篇 14:1~6
- 16. ——1956: 耐凍性の持続及びそれに及ぼす温度の影響,低温科学生物篇 14:1~6
- Scarth, G.W. 1944: Cell physiological studies of frost resistance, A. Rev. New phytologist, 43: 1
- Siminovitch, D. and D.R. Briggs, 1949: The chemistry of living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness. 1 Seasonal variation in protein content, Aarch Biochem., 23: 8 ~17
- 19. 鈴木清太郎, 荒井哲男, 1952: 霜害の可能性(予報第2), 農業気象 7:127~131
- 20. 田沢博, 1947: 霜と霜書, 寒地農学 1:213, 325
- Wolman, M. and A. Behar, 1952: A method of fixation for enzyme-cytrochemistry and Cytrogy, Exp. Cell Res., 3:619~621



F1 新梢の萎凋 (7月中旬)

D: 結果母枝が一部枯死して

いる部分を示す



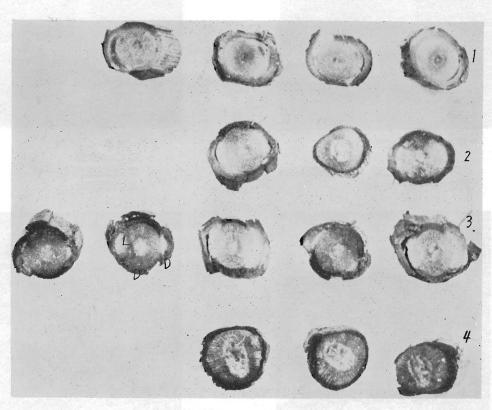
#### F 2 結果母枝の縦断

1:無障害枝

2:障害枝

J.: 生きている部分

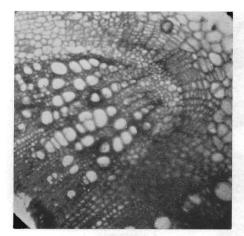
D: 死んでいる部分



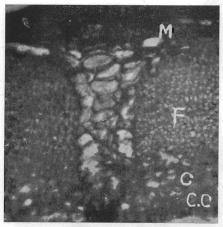
F3 結果母枝の横断

1:無障害

4: 靱皮部は殆んど全部枯死している



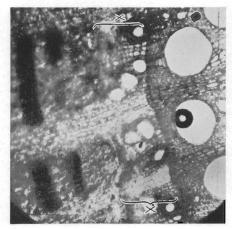
F 4 木質部及び靱皮部形成中 (6月31日)



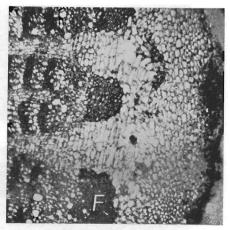
 F6
 コルク層発生直前

 C:将来コルク層発生する
 CC:コルク形成層 M:内鞘厚膜組織

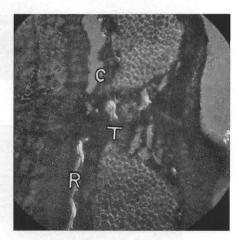
 F:繊維
 維



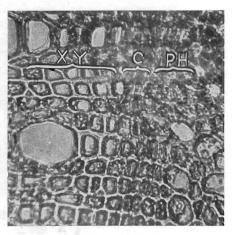
F8 未木化の木質組織 (6月5日) X:未木化組織



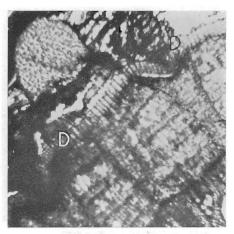
**F5** 靱皮部完成近し (8月1日) F:内鞘繊維



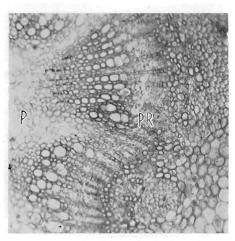
F7 粗皮の剝離 C:コルク層 T:内鞘柔組織 R:剝離部分



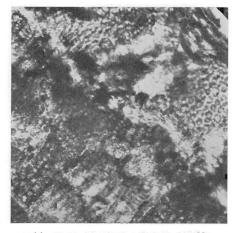
F 9 形成層活動停止期の配列 (10月下旬) C:形成層 PH: 靱皮部 XY: 木質部



**F10** コルク形成層直下及び射出髄の凍死 --10℃ 4 時間 (9月25日) **D**: 死



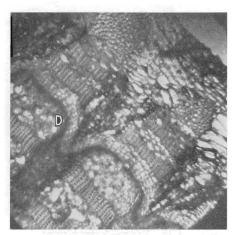
F12 りんご新梢の横断(活動中の組織)



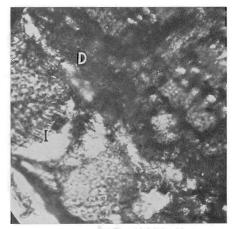
F14 F15と同一切片の過冷却 (-4°C)



F11 枝条の異状発達 黒色部は死組織 N.X:新生木質部 N.F:新生靭皮部



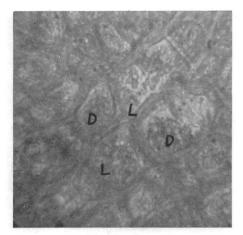
F13 醸造用品種 (グローセミョン) の組織 と凍害 -13℃ 24時間 (11月1日) D: 死



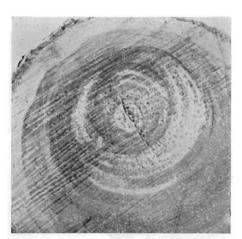
F15 細胞内及び細胞外凍結の過程 (-4°Cで植氷15秒後)

I:内鞘内の氷

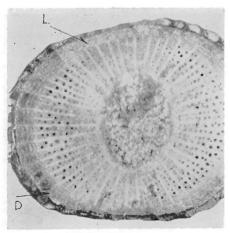
D:細胞内凍結による死



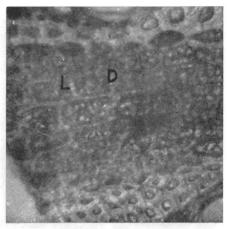
F16 靱皮射出髄細胞の死



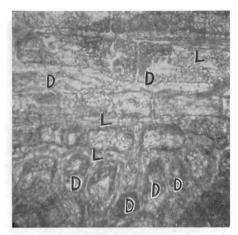
F18 りんご樹のBlack-heart 黒色部は木質部の死組織



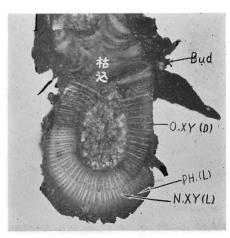
F20 凍害枝の横断 L: 生組織 (白色部) D: 死組織 (黒色部)



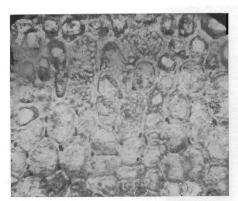
F17 木質部射出髄細胞の生死 発んど全細胞は生存している -35℃ 4時間処理



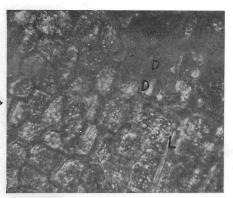
F19 靱皮柔組織及び射出髄の死細胞 D:死(原形質が凝固してBrowningしている L:生



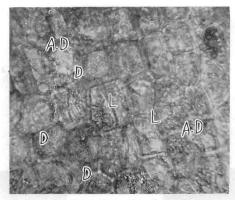
F21 副梢よりの枯込み N.XY(L):新生木質部,生組織 O.XY(D):旧木質部,死組織 PH(L):靱皮部,生組織



F22 脱水抵抗 2月20日採取 (デラウエア) 2M(KNO<sub>3</sub>)10分 (原形質分離限界濃度1.2M) コルク形成層直下の柔組織 (全細胞の8割以上が生存している)



F23 脱水抵抗 F24と同一附近のSection 2 M (KNO<sub>3</sub>) 10分後, 水に10分 全細脱の半数が死減 D:死 L:生



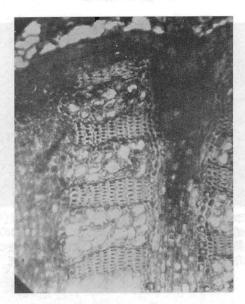
F24 脱水抵抗 F23と同一Section 2 M(KNO<sub>3</sub>)10分,後水に10分入れ 更に2 Mに10分入れた時全細胞の8割は死減 L:生 A.D:殆んど死 D:完全死



F25 脱水抵抗 2月20日採取 1.2M(KCI)で原形質分離の靭皮柔組織

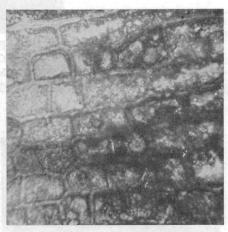


F26 脱水抵抗 F25と同一 Section 1.2M (KCI) で原形質分離後,水で復帰 更に1.2 M液に入れた時原形質分離を しない。 (この場合分離限界濃度はKCI1.1M~ 1.2M)





F28 凍結固定 細胞外凍結の場合 -10℃ 4時間処理後(充分脱水後) -35℃ 4時間処理しても細胞外凍結 している。



F29 凍結固定 細胞内凍結の場合 -35℃へ無凍結枝を急激に入れた時 細胞内凍結している。