

果樹凍霜害防止に関する試験

第4報 ブドー樹の凍害とその組織学的観察

赤 羽 紀 雄†

I 緒 言

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 および Briggs,¹⁸⁾ Levitt¹¹⁾¹²⁾、Scrath¹⁷⁾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寒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、この防止対策を講ずることは急務であると考えられる。過去においてはすでにわが国で安藤⁷⁾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⁵⁾、朝比奈⁶⁾が植物凍霜害を細胞学的方面より究明し植物の凍結過程についてあきらかにし、さらに酒井¹⁵⁾¹⁶⁾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、この方面の研究に裨益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¹⁾はさきに「りんご」樹の凍害の尖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¹⁴⁾は各種落葉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⁴⁾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、耐凍性と凍害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。特に射出髓の発達と綫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年の初夏にブドーの新梢がかなり伸長してすでに果粒が小豆大に達したころ、僅か1夜のうちに萎凋し、やがて枯死する現象が産地に頻発したのである(写真1)。あるいは春の萌芽が不揃になるか、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、病虫害の影響、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原因としては密植、強剪定、結果過多、新梢の秋伸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。筆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な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つて形成層は死んでいと判断される。そこで、もし一本の結果母枝の横断面の全部が死んでいれ

† 植芸部

* 「耐寒性」という言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當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」とは氷点以下で必ず凍結が起こり、その凍結に耐える抵抗性の度合を意味しているものであるから耐寒性という言葉をさけて耐凍性という言葉を用いることにした。

ば、その部分より先端は、一時萌芽してもその後の新梢は伸長が停止して、やがて枯死することは当然であるが、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考えられる。

しからばこ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のであろう。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青木教授、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枝師の御厚志を受け、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

材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節目の充実した新梢または結果母枝で、低温処理の場合は、2cmに切断した枝の切口の両側に水湿の綿をつけ、温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数え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、必要と認めるときのみ柔細胞の原形質分離を考慮に入れた。

なお澱粉の検定はヨードヨード加里の染色法によつた。

(A) 圃場における形成層活動を判定する場合は鋭利な刃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層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)

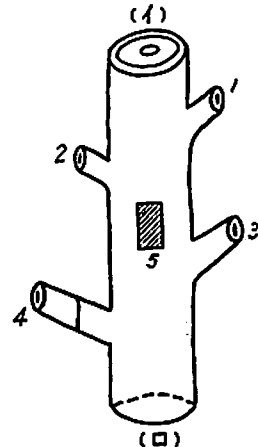
25: 皮部がかうじて剝離できる(形成層の配列は整一であるが6~7層のものがある)

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) (ロ)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、 -20°C の低温室に24時間放置した。

(C) 脱水試験には各種濃度のKCl, KNO_3 液中に切片を投入した後、水に戻し、さらに高濃液に入れたときの細胞の生存率を調べた。供試組織は韌皮柔組織を主体としたがときには射出髄も参考とした。

(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

Wolman²³⁾の方法に従い予め無水アルコール19, 氷醋酸1の割合に混合した溶液を -10°C に冷却しこのなかへ圃場で凍結している枝を1cmの長さの切つてそのまま投入して4時間 -10°C に保ち、のち、室温で無水アルコール中に枝を入れかえて徐々に濃度の低いアルコ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、最初シリコン油を -35°C に冷却してから前記同様に縦に2分した1cmの枝を投入し1時間後に -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

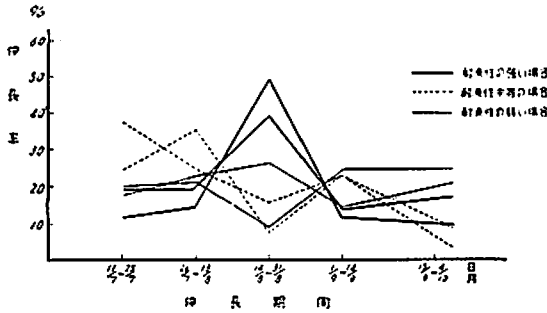
組織生成の過程を季節的に追跡することは組織の耐凍性を知るために、はなはだ大切である。なぜならコルク層の発現は各組織中、一番最後におこなわれるものであつて、この組織の有無は耐凍性の強弱に大きく影響することを認めたからである。6月下旬では新梢の最基部でさへまだ韌皮部と木質部の相違は判然としない。もちろん韌皮部の柔および硬組織は形成されていない。しかし導管、射出髄は内外に向かつて増殖されているのが見られる(写真4)。7月上旬になると木質部と韌皮部の境界がやや明瞭となり、後者には硬組織が若干でさへ始めてきた。そして射出髄の先端部にやや木化した組織が現われ始めたが、これが将来内鞘の繊維となる(写真5)。

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。ここで初めて韌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(韌皮柔組織の一部)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剝離する(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(主に醸造用品種)は上述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韌皮部同様に2層程度の柔組織および硬組織が交互に形成され、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。

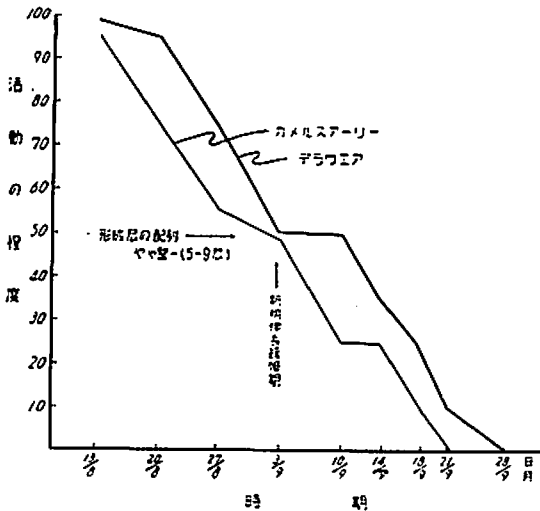
このことは、枝が褐変する時期を遅らせるとともに、枝の不充実となる一原因でもあるので耐凍性と重大な関係をもつものと考えられる。さて前年枝(結果母枝)の組織活動状況をみると、活動のスタートは萌芽期より早く始まり、形成層は組織の内外部に新生組織を分裂増殖し、特に5月下旬の花房抽出期より急激に活発度を加え、旧木質部と韌皮部の間に未木化の木質組織を増殖して枝条の肥大生長がおこなわれる(写真8)。6月下旬では新生木質部の幅は実長で $250\mu\text{m}$ に達し、8月下旬で最高の厚さ、つまり $1,000\mu\text{m}$ 程度になる。この時期で新旧木質部の区別がほとんどつかなくなる。そして以後は増殖肥大が緩慢となる。もつとも新生の韌皮部や木質部は、一樣に放射的の増殖はしないので部分的の相違が著しいが、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、これが常態の生育である。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月まで伸長が緩慢であつて、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。これはおそらく葉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鞘部の柔組織、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梢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的活動



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。「カメルスアアリー」は8月中旬より活動が衰え、「デラウェブ」「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あるわけで、筆者はさきよりんごで冬季に最も耐凍性の強い部分は表皮直下の皮層(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(葉緑素を有する大きな細胞)であることを指摘したが、ブドウにおいては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月以降は靱皮射出髄およびコルク形成層直下の柔細胞が最も凍害を受けやすい。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、早晚死滅してくるし、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には一部の靱皮部、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。実際圃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態でないものがみられることがあるが、なにか凍害と関連があるように思われる。普通、ブドウは同一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遅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、コルク層ができなけ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⁹⁾によれば、コルク細胞は空気、ことに炭酸ガスをとおすが水はとおさないばかりでなく熱の不伝導体であるといっていることから、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半であることから裏付けられる。

第1表 コルク層の有無と耐凍性

調査日	品種	コルク層		カメルスアーリー		ナイヤガラ	
		有	無	有	無	有	無
9月24日		85~80	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

注) -10°C 4時間処理 数字は生存率を示す

北海道では10月になると気温が低下して最低気温は氷点下になることがあるので、9月中、下旬までに、コルク層のできなかった場合はそのまま緑枝となつて残る。緑枝となつた部分は冬季の凍害により例外なく枯死することは第1表からもうかがえる。さて植物が耐凍性をうるためには、細胞が凍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つて認められてきたが、植物がまだ盛んに活動をjしている夏季には hardening の効果はえられない。たとえばブドウにおいては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

品 種	0°C 7日間 hardening	対 照
	-10°C 24時間処理	-10°C 4時間処理
ナイヤガラ	100%	70~55%
デラウエア	95~90	90~80
カメルスアーリー	100~95	90~80

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

なお細胞の滲透濃度をみると、8月21日の場合は hardening の有無にかかわらず KNO₃ で 0.25M~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 の8月の場合と変化がなかつたが、0°C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 による耐凍性の獲得

部 位	処理後	0°C 7日間 hardening			対 照		
		-14°C 24時間処理			-14°C 24時間処理		
		1日	3日	7日	1日	3日	7日
扁 平 部	尖 部	85~60	80~60	80~60	95~80	60~40	—
	尖 部	40~20	40~20	20~5	40~20	40~20	—
扁 平 部	尖 部	95~85	20~5	20~5	95~80	20~5	—
	尖 部	80~50	40~20	40~20	60~40	20~5	—
扁 平 部	尖 部	95~80	60~40	40~20	95~80	95~80	—
	尖 部	95~90	60~40	40~20	85~70	80~60	—

注) 11月1日採取枝 -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。Levitt¹²⁾によれば、炭水化合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ことは穀粒等の若干の例外を除けば一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、こ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 Briggs¹³⁾ Pisek¹⁴⁾ が指摘している。また Hildreth⁹⁾ は、夏において低温で hardening すると、耐凍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ご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、前記のように hardening の有無に関せず細胞の滲透濃度に変化のないことを認めたが、これは糖が低温において

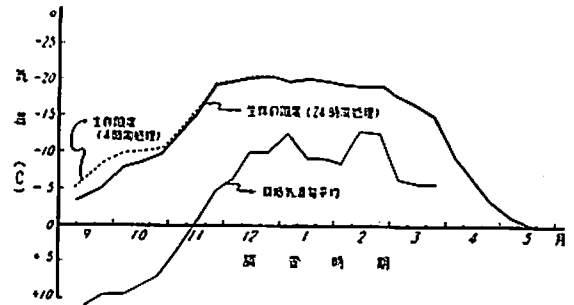
もほとんど増加しなかつたことを意味するものでおそらくブドーでは馬鈴薯などと異なり、8月ではまだ澱粉の絶体量が著しく少なかつたためであろう。事実9月下旬においては、hardeningによつて対照区より約0.2M程度透過濃度が高くなつているのは、9月下旬では枝条内にかなり澱粉が蓄積されていてこれが 0°C の低温で糖に転換されたものと考えられる。このことが、いわゆるhardeningによる耐凍性の増強という結果になつたのであろう。11月上旬の場合では、 0°C 、7日間hardeningした場合と全くしない場合で耐凍性に變化のなかつたことは自然の気温と関係があつたと考える。すなわち11月になると気温は 0°C 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°C 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°C でhardeningするよりも 0°C より低い温度すなわち -5°C 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かなりhardyになつているから、人工的にhardeningする場合は、 0°C 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月上旬こ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°C ないし 0°C 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間、何度で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 靱皮射出箇の季節的耐凍性

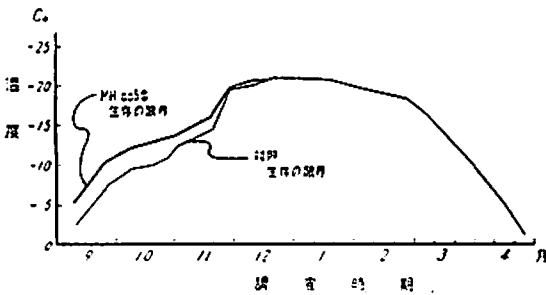


(約2cm) 両切口を水のついた綿で包み、急激に所定の低温に遭遇させて凍らせて一定時間後に再び急激に室温($+15^{\circ}\text{C}$)にだして融氷させた場合であるから、自然状態からみると趣きを異にする。しかし同一方法で季節的に追跡してこれが生死の状態におけるhardnessの比較はできると考える。そしてこの処理低温に耐えうるとすれば、少なくとも圃場ではこれ以上の低温に耐えることは確実である。耐凍曲線を見ると、10月までは徐々に耐凍性が強くなり、11月より急激にその度合を増し、11月下旬より最高に達し、2月下旬まで続いて以後、漸降することを示している。この傾向は木本類においては一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度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ブドーでは厳冬季の凍害は先ず心配はない。もし厳寒期の凍害が起これるとすれば、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(棚下しによつて)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 -3°C 前後であるから、根雪前に地表に枝下る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%液を全葉面散布したが、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°C程度増強されている¹⁾。しかし11月下旬より厳寒時においては無撒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°C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°C~5°C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-18.1°C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。元來、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Levitt¹¹⁾ Scarth¹⁷⁾ 朝比奈⁸⁾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、もし凍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Scarth¹⁷⁾, Levitt¹¹⁾, Nilsson-Leissner¹³⁾, Siminovitch and Briggs¹⁸⁾によつて指摘されている。たとえばNilsson-Leissner¹³⁾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 Briggs¹⁸⁾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濃度は、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1.2M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、特に射出部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倍の高濃度に10分入れただけで死にいたる細胞が約2割あり、(写真22)さらに同一切片を水で10分間復帰させる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(収射部及び柔組織)は脱水に対する抵抗が特に弱いことを示すもので、りんごとくらべると大きな相違がある¹⁾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。すなわち枝が破れないで、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。

筆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(写真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凍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差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)凍結させた場合(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露出させて、最初 -10°C で1時間凍

結させた後 -35°C 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きは靱皮部は約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、 $+5^{\circ}\text{C}$ の室温より -10°C 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°C と同一になる。この事実より木質部の温度の伝達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考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凍死が起こらないのは、おそらく木質部は靱皮部に比べて著しく脱水抵抗が強いためと推定できよう。Levitt⁽²⁾は皮部においては澱粉から糖に転換することは容易であるが、これが木質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ゐるが、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、いわゆる代謝の不均衡による度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の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害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害という問題からはありえないのである。しかし「りんご」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、すなわち靱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。(写

真20)。ところが丁度これと逆に髓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きらかに髓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、さらに凍害を受けた場合について凍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圃場における耐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梢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、この時期より新梢伸長が緩慢になるのが常態である。耐凍性の弱い品種(酸造専用種一般)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。新梢伸長は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月以後の伸長量が多い場合は耐凍性が弱くなる。

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で耐凍性が増強するが、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、特に靱皮射出髓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ろう。なお木質部は靱皮部にくらべて著しく耐凍性が強い。

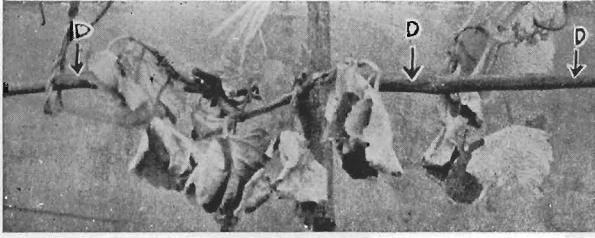
6. ブドーの凍害は常に枝の外側(靱皮部)より内側(木質、髓部)に向かつて進むが、単なる枝の枯込みは内側より外側に向かつて移行する。

7. 自然圃場において、もし枝条が凍害を受け

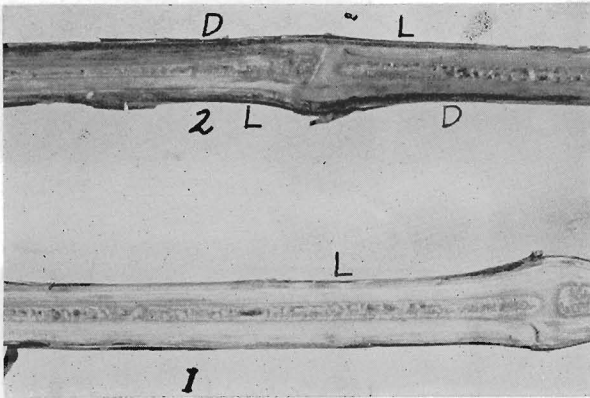
た場合は細胞外凍結による凍死であつて細胞内凍結による凍死でないことを人工処理によつて証明ができた。

引用文献

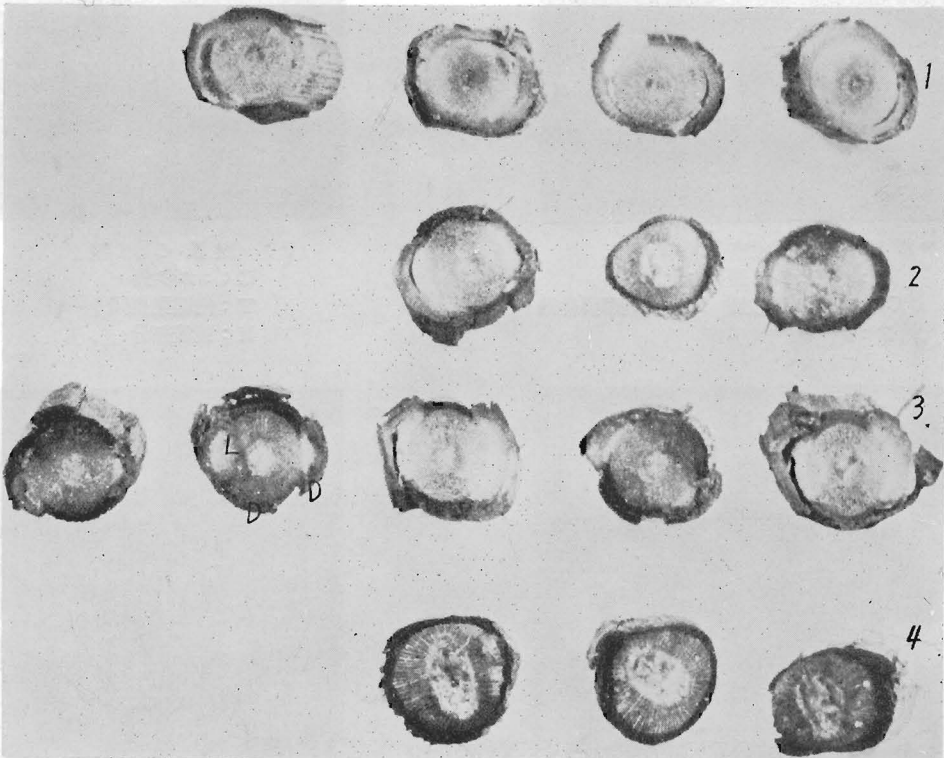
1. 赤羽紀雄, 匂坂昭吾, 山崎健 1954: りんご樹の凍害に関する研究(第1報) 園学雑, 23, (2), 97~102
2. —, 山崎健, 斎藤正人 1955: りんご樹の凍害に関する研究(第2報) 園学雑, 24 (2), 155~159
3. — 1955: りんご樹の凍害と寒地栽培法, 農園30 (2), 1579~1583
4. —, 山崎健 1957: MHがブドーの形質に及ぼす影響(3報) 北海道農試集報1
5. 青木康 1955: クワの人工的 hardening 低温科学生物篇 13
6. 朝比奈英三 1954: 植物霜害の一概論, 低温科学生物篇 11, 13~21
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
8. 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: 果樹の耐寒性に関する研究(第1報) 園学研究集録 7, 54~58
11. 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
13. Nilsson-Leissner, G. 1929: Death from low-temperature and resistance of plants to cold. Quart. Rev. Biol., 4: 113~117
14. Pisek, A. 1950: Frost härte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei Rhododendron ferrugineum, Pinus cembra und Picea excelsa.
15. 酒井昭, 1956: 植物における耐凍性増大と外胚温度, 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
17. Scarth, G.W. 1944: Cell physiological studies of frost resistance, A. Rev. New phytologist, 43: 1~12
18. 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, Arch 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: 霜と霜害, 寒地農学 1: 213, 325
21. Wolman, M. and A. Behar, 1952: A method of fixation for enzyme-cytochemistry and Cytology, Exp. Cell Res., 3: 619~621



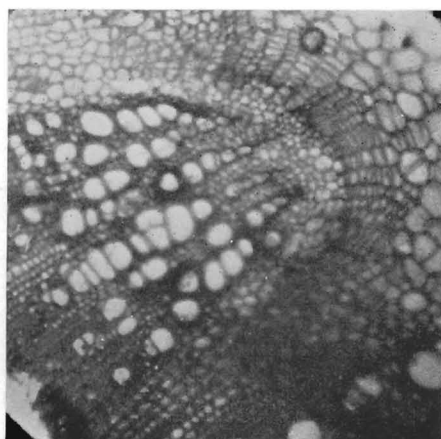
F 1 新梢の萎凋 (7月中旬)
D : 結果母枝が一部枯死している部分を示す



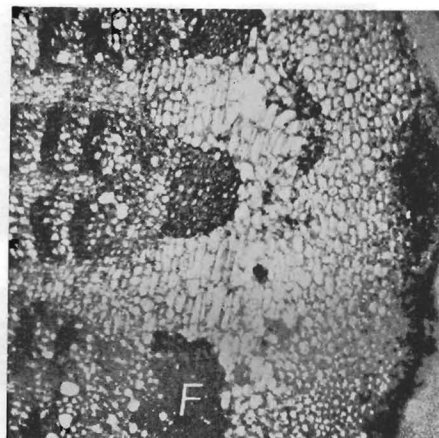
F 2 結果母枝の縦断
1 : 無障害枝
2 : 障害枝
L : 生きている部分
D : 死んでいる部分



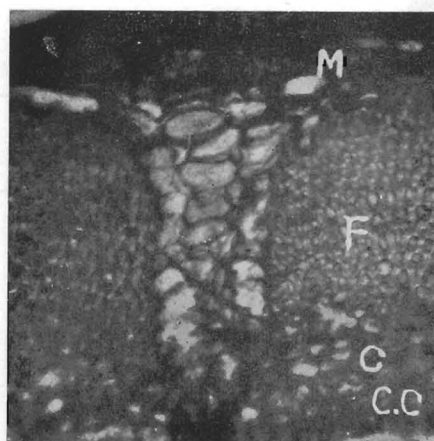
F 3 結果母枝の横断
1 : 無障害
2 : } 韌皮部が一部枯死している L : 生, D : 死
3 : }
4 : 韌皮部は殆んど全部枯死している



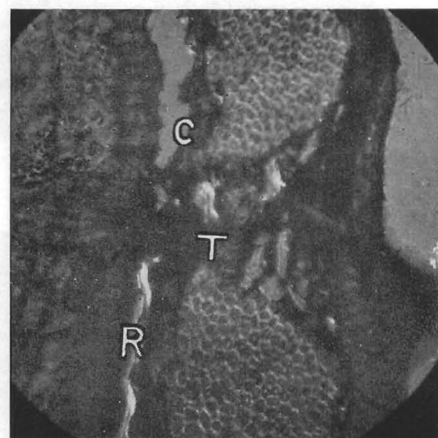
F 4 木質部及び靱皮部形成中 (6月31日)



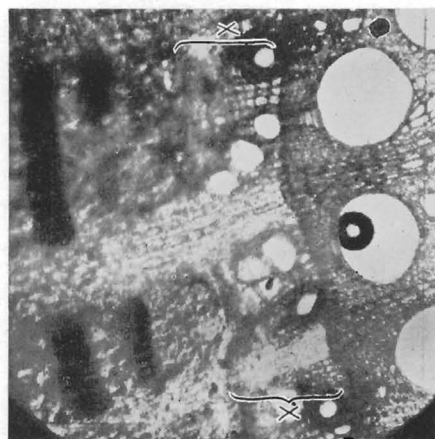
F 5 靱皮部完成近し (8月1日)
F: 内鞘繊維



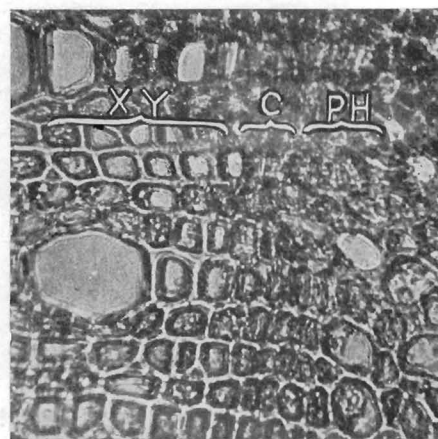
F 6 コルク層発生直前
C: 将来コルク層発生する
CC: コルク形成層 M: 内鞘厚膜組織
F: 繊維



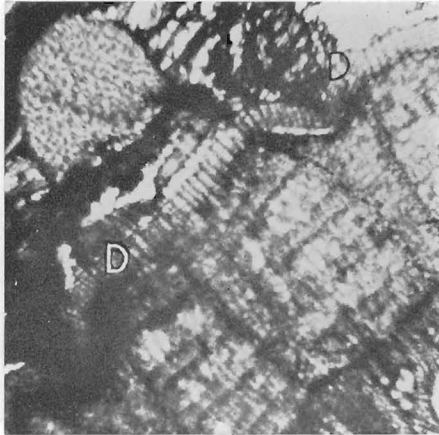
F 7 粗皮の剝離
C: コルク層
T: 内鞘柔組織
R: 剝離部分



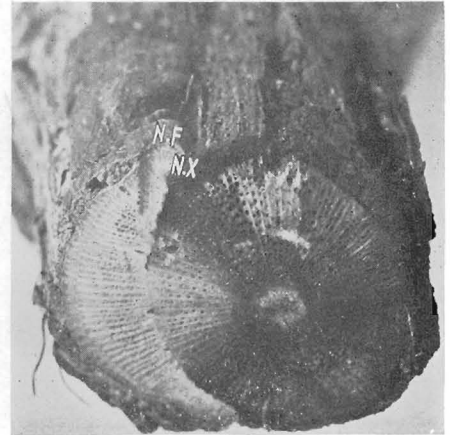
F 8 未木化の木質組織
(6月5日)
X: 未木化組織



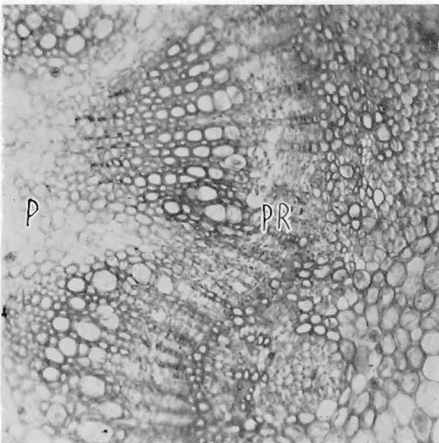
F 9 形成層活動停止期の配列 (10月下旬)
C: 形成層 PH: 靱皮部
XY: 木質部



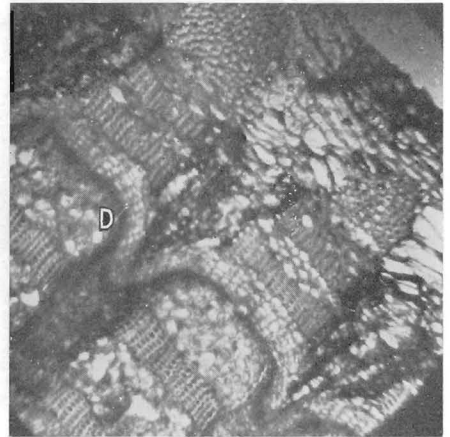
F10 コルク形成層直下及び射出髓の凍死
 -10°C 4時間 (9月25日)
 D: 死



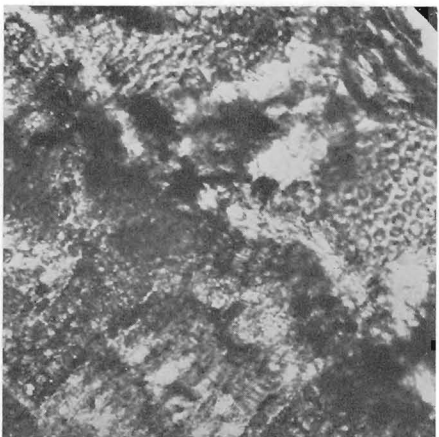
F11 枝条の異状発達 黒色部は死組織
 N.X: 新生木質部
 N.F: 新生韌皮部



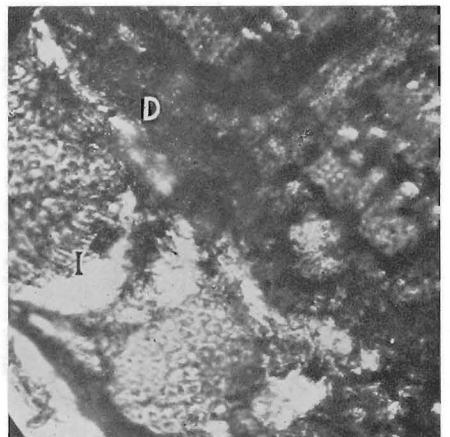
F12 りんご新梢の横断 (活動中の組織)



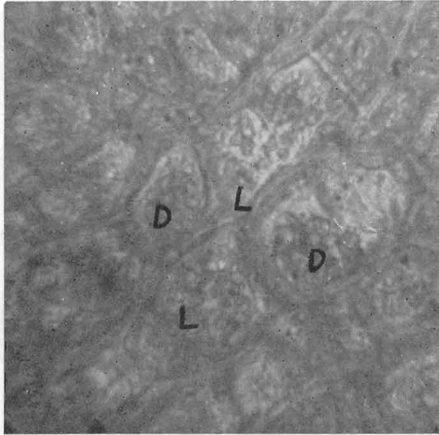
F13 醸造用品種 (グローセミオン) の組織
 と凍害 -13°C 24時間 (11月1日)
 D: 死



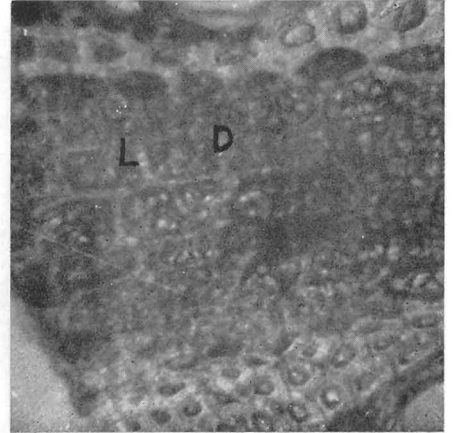
F14 F15と同一切片の過冷却 (-4°C)



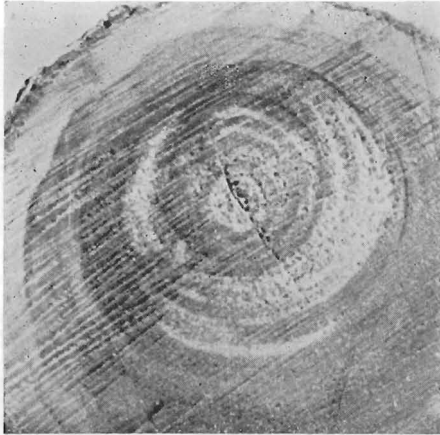
F15 細胞内及び細胞外凍結の過程
 (-4°Cで植氷15秒後)
 I: 内鞘内の水
 D: 細胞内凍結による死



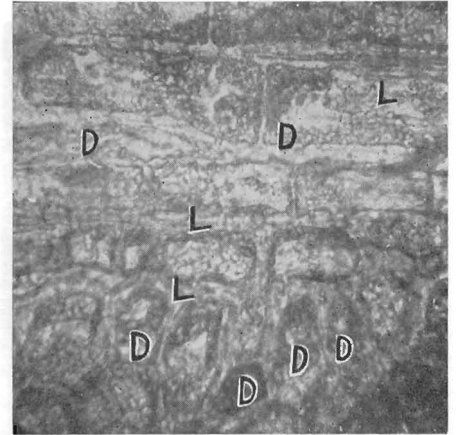
F16 韌皮射出髓細胞の死



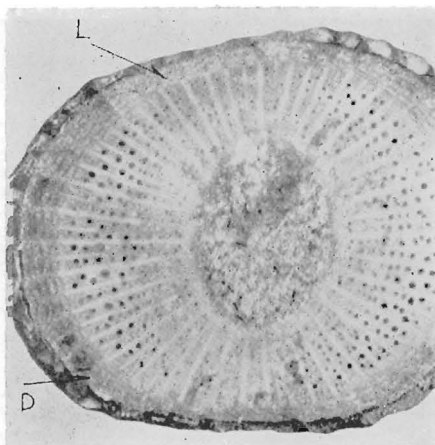
F17 木質部射出髓細胞の生死
殆んど全細胞は生存している
-35°C 4時間処理



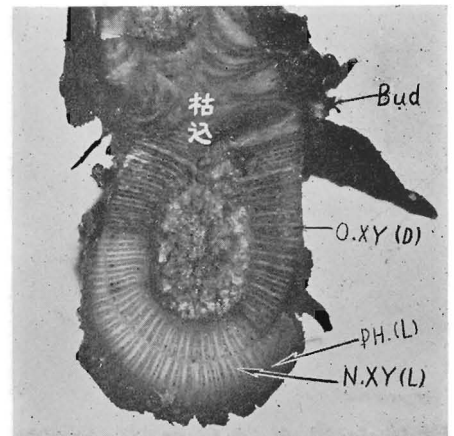
F18 りんご樹のBlack-heart
黒色部は木質部の死組織



F19 韌皮柔組織及び射出髓の死細胞
D: 死(原形質が凝固して Browning している)
L: 生



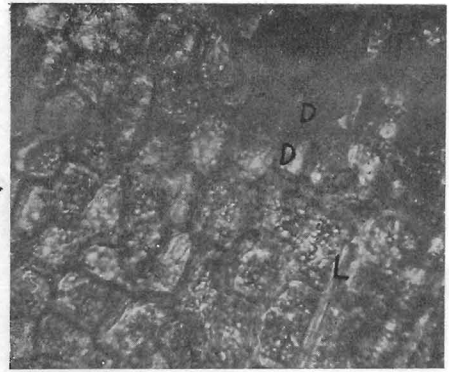
F20 凍害枝の横断
L: 生組織 (白色部)
D: 死組織 (黒色部)



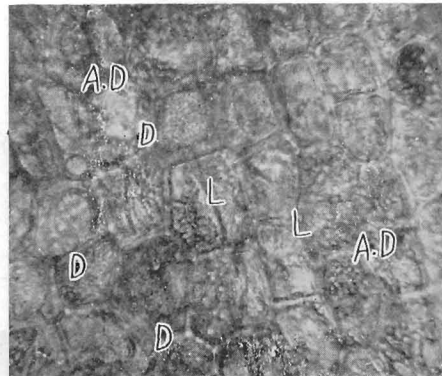
F21 副梢よりの枯込み
N.XY(L): 新生木質部, 生組織
O.XY(D): 旧木質部, 死組織
PH(L): 韌皮部, 生組織



F22 脱水抵抗 2月20日採取 (デラウエア)
 2M (KNO₃) 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)



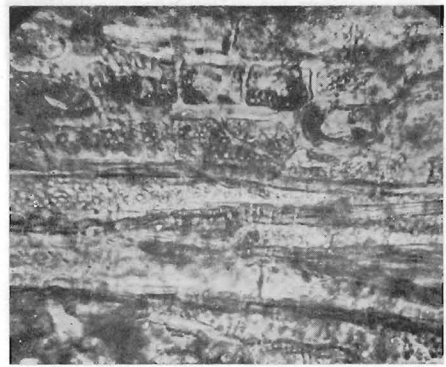
F23 脱水抵抗 F24と同一附近のSection
 2 M (KNO₃) 10分後、水に10分
 全細胞の半数が死滅
 D : 死 L : 生



F24 脱水抵抗 F23と同一 Section
 2 M (KNO₃) 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割は死滅
 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 (KCl) で原形質分離の韌皮柔組織



F26 脱水抵抗 F25と同一 Section
 1.2M (KCl) 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KCl 1.1M~
 1.2M)

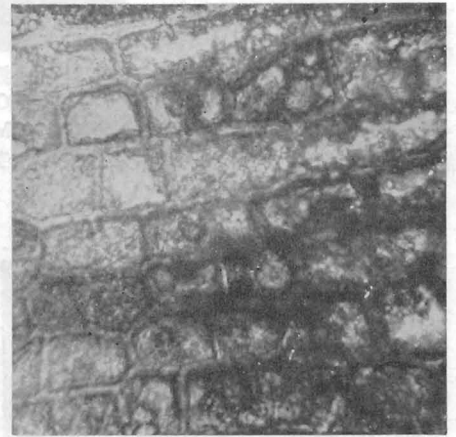


F27 2月20日採取

韌皮部のみ分離して -20°C 4時間処理
融氷後5時間目
韌皮射出髄及び最上部の柔組織は
browningし、かつ死滅組織は外部ほど著るしい。



F28 凍結固定 細胞外凍結の場合
 -10°C 4時間処理後(充分脱水後)
 -35°C 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°C へ無凍結枝を急激に入れた時
細胞内凍結している。