



Title	生物の凍結過程の分析 VIII. : 植物細胞の氷粒式凍結
Author(s)	朝比奈, 英三; ASAHINA, Eizo
Citation	低温科学, 8, 89-101
Issue Date	1951-12-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17510
Type	departmental bulletin paper
File Information	8_p89-101.pdf



生物の凍結過程の分析 VIII. 植物細胞の氷粒式凍結*

朝比奈英三

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和26年8月受理)

I.

植物細胞を急速に凍らせると、その内容が細胞液が濃縮されて出来た無数の小滴と氷とに分れる事は Molisch の有名な実験 (6) 以来一般に認められているようである。しかし蔬菜等の柔細胞の中には、凍結の結果細胞内に現われる上記の液滴に相当する部分は極めて規則的な球形に近い微小な氷粒であるものが稀ではない (1)。著者は前者のような凍結細胞の形式を液滴式、後者の場合を氷粒式と呼んだが (2)、こゝにはこの氷粒式凍結細胞の凍結過程をくわしく述べる。

元来氷粒式の凍結はフラッシングの結果現われる状態であるから非フラッシュ型の凍結をした細胞には見られない (1)。常態でよくこの形式のフラッシングをするものには、ナス類、ウリ類、の果実其他の柔細胞があるが、こゝには主としてシロウリ、水瓜等の果実の中果皮を用いて観察した結果をのべる。

ゆうまでもなく生きていた細胞は勿論、流出した細胞液に於ても、その見かけの氷点はその時の細胞の生理状態、冷却速度、植氷温度等により相当に変化する。従つて本文にしるす温度の絶対値は特にその時の状態に限つて適用出来るものである。又こゝで冷却速度は通常³⁾ 4°C/分を標準とし、冷却速度が小さいと言つたときは 1°C/分又はそれ以下をさすものである。

この研究は青木廉教授の御懇導により今尙続けられているが、特に氷粒の性質については吉田順五教授からもしばしば御高教を仰いだ、こゝに記して感謝する。

II.

中果皮の柔組織の切片を冷してゆく場合その過冷却が破れると、切片の表面は直ちに氷晶

* 北海道大学低温科学研究所業績 第131号 本研究の費用の一部に文部省科学研究費を使った。

1) 過冷却を破るため適宜の温度で植氷する。之等の方法及装置は著者の前報(1)に詳述してある。

2) 組織片を含む流動パラフィン懸滴の温度をさす。

3) 実際には懸滴が冷却中-1°Cより-3°Cまで冷えるのに要する時間から算出した。

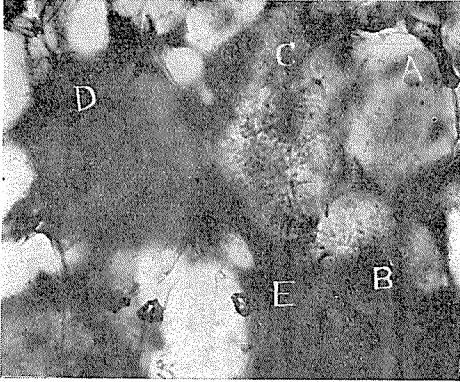


Fig 1

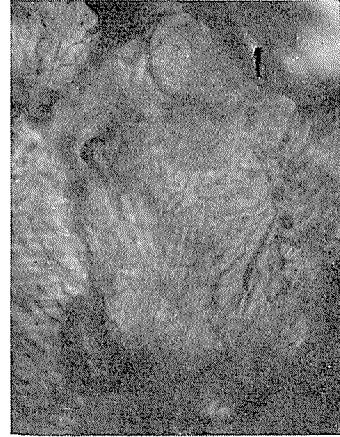


Fig 3

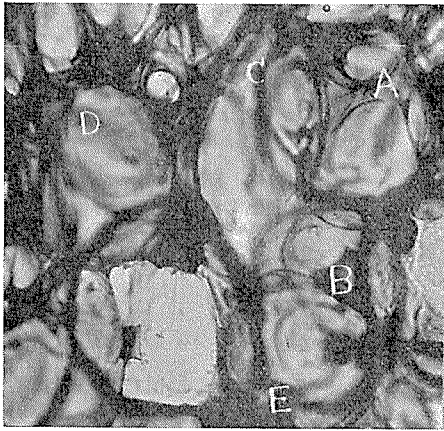


Fig 2



Fig 4

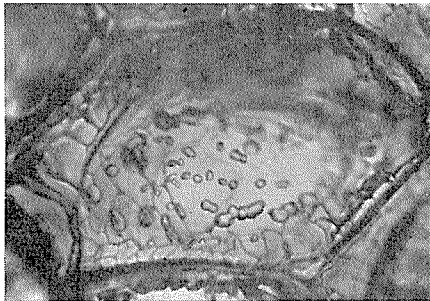


Fig 5

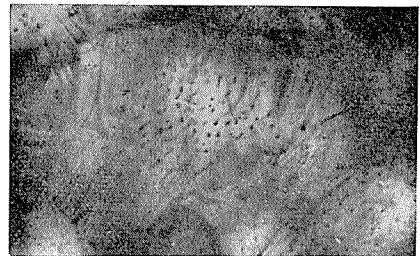


Fig 6

第1図版 水瓜の中果皮の柔細胞

1. 凍結細胞の一團 A, B, C, D, E, は夫々フラッシュした細胞を示し, 細胞Bは -5.8°C でフラッシュ後1分25秒, 細胞Cは -6°C でフラッシュ後1分15秒, 細胞Dは -7°C でフラッシュ後25秒の時, 温度は -7°C 。
2. 同上, 融解後1分, $+1^{\circ}\text{C}$
3. -4°C でフラッシュ直後の1細胞。
4. 1の細胞Bの拡大図, フラッシュ後1分10秒, -8°C 。
5. 細胞外凍結, 植氷後2分, -3°C 。
6. -6°C でフラッシュした異常細胞, 2分後, -9°C 。液滴式の凍結をしている。
(1-3, 5. 6図 100 \times , 4図 350 \times)



Fig 7



Fig 8

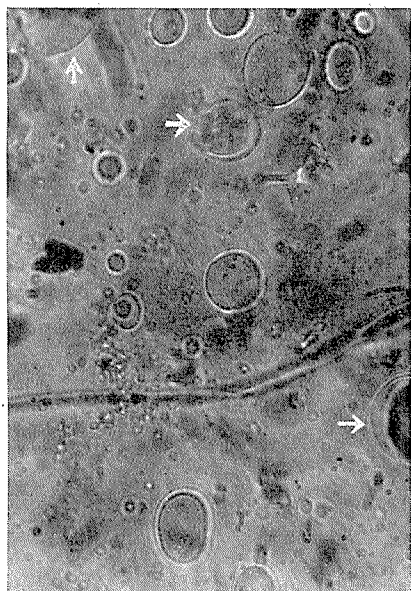


Fig 9



Fig 10

第2図版 水瓜の中果皮の柔細胞（第9図を除く）

7. -3°C でフラッシュ後20分の細胞内部, -7.4°C 。
 8. 同上, フォーカスをやゝ上げて細胞表層部の細胞質層及び核の凍結状態をしめす。フラッシュ後25分, -7.4°C 。
 9. 紅色ビート大根の柔細胞の細胞液, -6.6°C でフラッシュさせたものを融かしているところ。 -1.1°C 。矢印の水粒はまさに周囲の氷の中に融けこみつゝある。
 10. ゆつくり融かしつゝある水瓜の細胞の内部, -0.6°C 。水粒は形が変り液状となり内部に気泡をもつものもある。氷粒のまわりの一様な氷もいくつかの氷塊にわかれつゝとける。
- (7. 8図 300×, 9図 400×, 10図 350×)

で覆われるが、生きた細胞は他の部分が殆んど凍つてしまつた後にはじめてフラッシングを起して凍結する(1)。即ち細胞の内容はこの瞬間突然乳濁したように暗くなり、少時の後僅かながらはずきりと明るくなる(図版の1)。こうなつた細胞をよくみると、その内部には無数の小さい球状のものが充満しその間を透明な氷が埋めている(図版の4)この球状のものには直径数 μ のものからようやく微粉状に認められる程度のものでいろいろの大きさがあり、細胞の凍るときの温度が高い程球の大きさが増し、その数は減る。従つて高温でフラッシングした細胞程凍結した細胞の内部が明るく見える。細胞の表層部即ち細胞膜のすぐ内側には細胞質が凝固して状紐又は塊状になつて氷の間に挟まつているのが認められる(図版の8)。

上述の球状物はその内部に顆粒等のブラウン運動が認められぬこと、それが偏光を通すこと、次に述べる融解のしかた等から恐らく氷を主成分とするある固体と考えられるのでこゝには一応氷粒と呼んでおく。

さてこの様に凍つた細胞即ち氷粒式の凍結細胞はこのまゝでよくと、べつに温度をあげないでもその内容にはかなりの変化がおこる。接近した氷粒は互に融合したり、周囲の一樣な氷の中に融け消えたりする。小形の氷粒特に微分状のものは一層消えやすい。この場合氷粒の消えかたは球形の氷粒の輪画の一端が突然ぼける様な形で崩壊し、引続き三日月形にボケ消えてみるみるうちに消失してしまうのである(図版の9)。時間がたつにつれ凍つた細胞に充満していた氷粒は減り一樣な氷の部分が増えてくる。しかし氷粒の性質も亦時間と共に変化し消え残つた大形の氷粒の内容は恐らくもう固体ではなくなつてくる。即ちその形は不規則に変わり、又形はまだ球形であつてもまわりの氷との境界の色調がかわつてきたりする。この様な氷粒の変化は温度が高い程はやくおこる。

氷粒式の凍結細胞の融解の過程を述べると先ず凍結したまゝおいた場合と同様な変化がおこる。細胞の融解速度がきわめて速ければ氷粒相互間の合一や、まわりの一樣な氷との融合(これはやはり半月形にぼけてゆく)が次々におこり、融け消えた氷粒の原位置には今まで氷粒の含んでいたもの(例えば色素や凝固した顆粒の集まり等)が残つていることもある。従つて温度をそれ以上あげないでおけば細胞の中はすべて一樣に透明な氷のみとなり僅少の顆粒等の挟雑物はあるが氷粒は全くその姿を消してしまう。勿論こうなつてから後改めて温度を下げてやつてももはや氷粒は現われない。

融解の速度が比較的小さいと氷粒は、小形のものは前述のように次第に消えてゆくが、やゝ大形のものは——恐らくその内容が液状に變つてから——同じ方向に対して夫々平行に細長くのび、隣の氷粒にふれると互に合一して大形となり再びその形は球形に近づく。こうして氷粒は次々に融合して大粒となるが、それにつれてその形はもはや球形にもどるとはかぎらず次第に不規則になる。こうなつた時にはもはやその内部は明らかに液状であつて、顆粒

1, しぼり出した細胞液を凍らせて出来た氷粒は大形で融解の過程も見易く、しかもその過程は細胞内にある場合と殆んど同様であるから、図には細胞液の場合を示した。

等のブラウン運動や気泡等も認められる。更に暖めるとこれらの液胞を含んだ氷は、(又は前記の氷粒が消えた後の様な氷は、)いくつかの氷塊にわかれつゝ夫々の氷塊毎にその周囲から融けはじめる(図版の10)。従つてこの外見様な氷の内部構造は決して様でなかつたことがわかる。凍結していた細胞がこうして融けてしまうと細胞膜の内側は様な液体に満される。最初氷の間に挟まれていた凝固した原形質は氷塊がとけるつれその間に沈み最後には細胞の底に沈澱する。本来色素を含んでいる細胞若しくは生体染色した細胞では、氷塊が融けて出来たばかりの液は凍結前と比べて色調はやゝ異なるがそれ程淡い色にはならない。しかし融解がすゝむにつれ細胞の外に色素が拡散してゆき、遂に細胞膜の内外が全く同じ色を呈するようになる。融解後の細胞膜は良く色素をとり、傷害や熱で殺した細胞の場合の膜の染まり方と同様に見える。そして膜の原位置を保っているが緊張を失つている(図版の2)。

一度フラツシングをした凍結細胞を融かして再凍結させると、植氷により外部に出来た氷は細胞に侵入する前にしばし細胞膜のところとどめられる。このことは初凍結の場合の組織片において氷が生細胞の原形質膜の内部に入りにくいいため凍結が細胞毎に間歇的に進行する現象(1)と似ているが、再凍結の場合は氷の侵入が止まつている時間も短かく凍結の進行は隣接細胞に対して同方向に連続的におこり、且細胞の連結過程は非フラツシ型(1)である。即ち一度細胞膜のところとどめられた氷は同じ温度に保つておいても間もなく一局部又は数ヶ所から細胞内に現われ、これは一つ又は数ヶの鈍頭をのぼして半島状にひろがり、細胞を埋めつくして全く様に透明な氷塊となる。凍結の速度は勿論過冷却の程度により異なるが、フラツシングの場合よりも過冷却が少い態状で細胞膜内の凍結が始まるのが常であるから通常は凍結速度ははるかにのろい。再凍結をさせた細胞を融かすと、初凍結の場合の様な氷が最後にいくつかに分れて融ける過程と同じ様な融けかたをする。この時内容の氷塊が融けるに従い細胞膜は甚しくひずむのが常である。

III.

生細胞は氷が直接ふれているときでも凍結する迄にはかなり大きな過冷却をする。この時冷却速度が小さければ過冷却の程度は更に大きくなる。過冷却状態がつゞいている間は細胞膜の外側に氷の析出が見られる。この析出する氷の量は液滴式の凍結(2)をする細胞に比べると氷粒式の凍結をする細胞では遙に少い。細胞膜の外側に殆んど液が附着していない部分をえらんで観察すると、多くの場合氷は先ず少数の点として膜の外面に現われ、間もなく発

- 1) 細胞液より僅か低調な蔗糖液に約0.05%に中性赤を溶かして用いた。pHはNaHCO₃で7附近に調節した。
- 2) 凍結中に色が消える場合(後述)を除く。
- 3) 細胞に直接氷がふれていない時は更に甚しい過冷却をする。しかし常温に戻した時の原形質分離能力から考えると短時間過冷却状態にあつたことそれ自身は殆んど細胞に無害である。
- 4) この方法では切断された一つの細胞の内側から隣接する細胞をみるため、二層の細胞膜を通して氷が析出してくるのを見ることになる。

達して不整形の細枝状，星状又は葉状になり，時には美しい六花の形をとるが発達するにつれ形がくずれる。或程度以上発達すると氷の生長速度は甚だ小さくなり，細枝状にのびたものではその枝はバラバラに分断されたりする。ちぎれた枝は多数の短い棒状となり更にこれはみるみるうちにまるくなる。こうして細胞の表面には色々な形の氷晶がイボ状に突出していることになる（図版の5）。

なかなか過冷却が破れなかつた細胞でも外表面での氷晶の発達が殆んど止まつた後は間もなくフラッシングを起して瞬間的に凍結する。この場合は表面にある氷晶のため内部が見にくいばかりでなく凍結速度がきわめて速いから殆んどその過程を観察することが出来ない。たまたま比較的高温で過冷却が破れた場合でも細胞内部の凍結による乳濁暗化が映画の溶暗の様に内部に進むのを認めるに過ぎない。それで過冷却の小さいうちに凍結をおこさせるため人工的に細胞の中に植氷した。即ち細胞の外側に氷がふれているとき顕微解剖針で細胞に小さい孔をあけると、氷はこの孔の位置から内部に拡がってゆく。氷が恰度この位置に接していないと針を抜いても凍結は始まらない。しかしその直後に氷がのびて来てこの孔に達するとあたかも噴水のようにそこから細胞内部に氷がのびひろがる。

この方法で見られる細胞の凍結過程はその過冷却の程度により相当に異なる。こゝには完熟したシロウリ³⁾を材料とした場合について述べる。植氷した組織片をきわめて小さい速度で冷却してゆき或温度で細胞内に植氷し、それ以後は温度を変えずに観察した。この方法で大體次の三種の型の凍結過程がみられた。

A型 植氷温度は -1°C 以下，1細胞の凍結時間は0.5秒以下。

植氷点を起点として放射状に氷粒が密に散布されてゆく。細胞の表面に近い程早く凍結するので氷粒はぐると細胞の表層をめぐるつて両側から撒布される。全表層に氷粒が現われた後も内部ではまだ凍結が進んでいて中心部は最後に暗化する。氷粒は表層にも内部にも同じように密に散布され、その間を一様に透明な氷が既に埋めている。出来たばかりの氷粒はやゝ角ばつているが間もなく球形になる。この氷粒の大きさは高温で出来るほど大きく -1°C に近い温度では直径 7μ 位に達するものも含むが大部分は径 2μ 位か又はそれより小さい。凍結と同時に細胞質層は変化し、先づ原形質は粗い不規則な網目状に凝固し、核は原位置のまま暗色となり、そのまわりに変質した細胞質が放射状に認められる。生体染色した細胞では凝固した原形質は時間がたつにつれ次第に濃く色素をとる。

凍結した細胞をこのまゝの温度におくと氷粒は既に述べたような過程で融け消えたり互に融合をはじめたりするが、数分乃至十数分間に氷粒が殆んど消えてしまう程速やかな変化ではない。

B型 植氷温度は -0.9°C 乃至 -0.45°C 位，1細胞の凍結時間は2秒乃至3秒。

1) fade-out

2) この孔は細胞膜と細胞質層を貫いている。

3) 細胞は長径 300μ 内外の回轉楕円体に近い形で原形質分離の限界濃度は蔗糖の0.2モルにあたる。

植氷点より細指状のものが放射状にのびひろがるが細胞全体をうすめつくす程密生はしない。指状物は通常細胞の表面に多く、これがのび終つた時細胞内の残余の部分はやはり一様に透明な氷になつてしまつていて、しかもその中にはA型に見られたような氷粒が散在している。氷粒は高温で出来る程大きいが径 5μ 位か又はそれより小さいのが常である。指状物の色は氷粒よりも暗く勿論周囲の様な氷よりも暗い。染色した細胞では指状物は他の部分より濃く色ずいて見え、しばしばこの部分に原形質の凝固したものが認められる。凍結した細胞をこのまゝでみると、氷粒も指状物も夫々融合して数分乃至十数分間に大きい不規則な形のものに変わり、これも亦次第にその周囲の様な氷の中に融けこみ、遂には細胞の中がほぼ一様な氷の塊によつて占められる。

C型 -0.4°C で植氷した時植氷のためにあけた孔が比較的大きいと時々見られるもので植氷点より大形舌状の氷が単一又は二、三に分枝しておもむろにのび一般に3秒乃至6秒以上かゝつて細胞の末端までのび終る。この氷は殆んど無色透明で氷粒其他の挟雜物を含まない。染色した細胞でみるとこの舌状の氷がのびるにつれ、染つた細胞内容物はその周囲に濃縮されてゆく。細胞質層もこの濃縮された部分に含まれていて、始めは認めにくい、数分後変質凝固が進んでよく色素に染まりやがて顆粒状又は塊状に集まつてはつきりと見えてくる。

-0.4°C より高温では植氷しても細胞内の凍結は見られない。もし細胞にあけた孔が大きいと細胞膜の外に細胞液が流れ出るが、これが外にある氷にふれたところで凍結は始まらない。又組織片をしばつて出した液滴に直接植氷してやつても -0.4°C 以上では凍結は始まらない。

上述の三つの様式の他にA, B両型の中間型があり、その場合の凍結温度及び凍結速度も夫々両型の中間に位置している。

さてこの様に凍結した細胞をその直後暖めて融解の過程をみるとA型では前述の典型的な氷粒式のフラッシングをした細胞の場合と全く同様である。AB中間型及びB型では氷粒や指状物はその周囲の様な氷の融解に先立つてその氷の中に消え、その様な氷も温度の昇るとともにいくつかに分れて融けてゆく。C型では舌状の氷はしりぞく様に融けてゆき、しりぞいた場所では濃縮されていた細胞液が氷の融けて出来た液の中に拡散する。

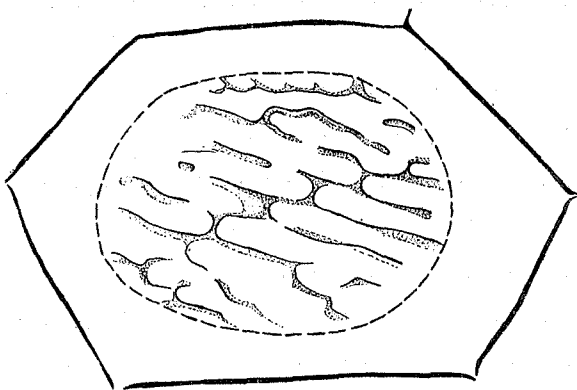
融解直後の細胞質の状態をみると、凍結しているときはAB中間型及びB型では細胞内の凍結の結果生じた指状物と同じ位置に原形質の凝固したものが認められたが、これは主として表層部にあつた指状物のところに集まつていたことがわかる。融解と共に色素の大部分は細胞外に拡散するが、上記の二つの型ではこの凝固した原形質がよく染まつている爲数本の濃色の太い縞が並んだ様に見える、又B型で見られた指状物の太い部分の跡にはしばしば数個の濃色の小塊となつて細胞内にはつきりと残つている。C型では細胞内部は一時もとの

1) 上面から見ると透明な氷の両側に分けられて濃縮される。

様な様な色調にもどるが、間もなくむらが出来て凝固した原形質を含む濃色のモヤモヤした塊が沈んでくる。細胞膜はよく染まるようになり、A型及びB型では緊張を失っているが元の形を保っている。これに比べるとC型では膜の破壊が甚しく既に述べた再凍結後の融解のときの様にゆがんでしまうことが少ない。

IV.

上述の凍結の型式の中でA型は明らかに氷粒式のフラツシングであるがその凍結速度がまだ速くてその過程を明らかにすることが出来ない。僅かにA B両型の間中型で細指状のものゝ先端がしばしばちぎれて不整形の氷粒にかかわることからこの両者が質的に近いことが考えられるに過ぎない。シロウリ以外のものでも氷粒式のフラツシングをする細胞は少ないが、トマト、水瓜等を用いて凍結の過程をしらべると、凍結する温度に若干の差があるが何れもその過程は甚だ類似している。殊に水瓜の中果皮の柔細胞では細胞が大きくて1細胞がフラツシングを終るのに数秒を要する場合があります、氷粒式の凍結過程を更に詳細に観察出来る。即ち約 -1.5°C でこの細胞に植氷し引続ききわめてゆつくりと温度を下げゆくと、樹枝状に細かく分れたほど同じ太さの鈍頭の氷が瞬間的に細胞の表層部にのびひろがり殆んど1秒以内に細胞全体を埋めつくす(図版の3)。この氷の枝に挟まれた部分には夫々細長い脈状のものが析出される。この析出物は最初に出来る氷の枝が樹枝状であるためにやはり樹枝状に出来るらしいが、実際に観察される時はすでにところどころが切れているため、氷の小枝に挟まれた部分は多数の平行な棍棒状物となり、氷の幹に平行に析出したものはかなり長いジグザク形の脈状物となつている(第1図)。更に30秒位の間にこの様な析出物はそのところどころ



第1図 フラツシ直後の細胞内部模式図
(表層部の一部分をしめす)

平行にのびた氷(透明部)の枝に挟まれて脈状のものが析出されている。

ろがくびれてははちぎれてゆき、その結果細胞の中は最初の氷の枝が融合して出来た一様に透明な氷の中に角のまるい多数の短棒状又は球形のものが象眼されている状態になる。このとききれいな球形に近いものは表面よりも内部に多くみえる。細胞質層は細胞の凍結が始まるとともに凝固をはじめ脈状に集まってくる。生体染色した細胞ではこの脈状の凝固物は植氷後1分乃至2分間でかなり色素に染まってくる。氷粒も始めから

同じ色素を含んでいるが、その色は粒の輪画部で最も濃く中心程淡くみえる。5分位たつと上述の凝固した原形質の染色は甚だしくなり氷粒の色とは明らかに区別される。一方氷粒の

色は10分乃至30分位の後相当に褪色したりときには全く失われることも少くない。細胞の中は最初の氷の枝がのびきつた時に最も暗く、すつかり氷粒に切れてしまうとそれ迄よりも明るくなる。析出したばかりの脈状物は氷粒と同様な色調と明るさを持ち、直交ニコルを用いてみると双方共に偏光を通す。

V.

著者はさきに植物組織からしぼり出した細胞液の小滴の凍結過程を報告したが(3)、その凍結形式は甚だきれいな氷粒式である。そしてその場合の氷粒の形態や行動は細胞内に出来た氷粒の場合と殆んど同じであるからこの両者は質的には同じ物と考えられる。それで前記の細胞の氷粒式フラッシングの凍結過程は、液滴の凍結過程の観察を総合すると次の様に説明される。植氷点に現われた氷は(これを第一次の氷と呼ぶ)樹枝状にこまかく分枝してのびひろがり細胞液はその間に挟まれて濃縮される。第一次の氷の枝は遂に細胞内に充満しその先端は相接する。この接した面にそつて濃縮された細胞液が樹枝状の脈として析出され細胞内はこの時最も乳濁暗化した状態となる。第一次の氷の枝が発達して互に融合するに従いその間に挟まれた脈状物は分断されて粒状又は短い棍棒状となり更に変形して球状となる。この時細胞内の乳濁度はへつてやゝ明るくなる。細胞質層も同様な過程で氷と脱水された原形質とに分離されるが、それ自身の中での氷の形成のため構造をこわされた原形質は凝固して分断されにくくなり脈状又は網目状に止まるのであろう。第一次の氷の発達は植氷点に近い程早くおこるから、脈状物の析出は先ず植氷点の附近よりはじまる。又冷却速度が著しく大きくない限り液胞の中心部は最後に凍結するので、こゝは最後に乳濁暗化するのである。このような脈状物の析出とその次におこる分断及び球形化は或程度以上の過冷却状態では連続的におこる過程であるから氷粒の散布は植氷点より細胞の表層をめぐるつて中心部に及ぶわけである。

こゝで上述の凍結過程と直接細胞内に植氷しない場合の凍結過程との相異を考えなければならぬが、観察出来た範囲では凍結の過程は全く同じである。無傷の細胞の場合液滴式のフラッシングでは氷は先づ原形質膜の外側をのびるが(2)、氷粒式の凍結をする細胞では前以て原形質分離をさせておかぬ限り、もしも一旦細胞膜の内側に氷が現われた場合は直ちに液胞の内部にまでびひろがり細胞質層の変化はむしろそれよりも遅れて認められるのが常であつた。恐らくこの様な性質の細胞では氷の侵入に対する原形質膜の抵抗力も小さく、又既に述べた様に氷により原形質膜を通して外側に引き出される水の量も少ないから液胞内の凍結の進行は原形質内のそれよりもむしろ容易に行われるものであろう。

細胞の内容物が凍結して一応氷粒とその間を埋める第一次の氷とに分離した後もこの状態は非常に不安定で析出物も氷も共に夫々融合や変形をつゞける。このためシロウリでみられたB型の凍結様式のように凝固した原形質の部分も析出物と同じ場所にとりこまれるのであ

る。

さてこのような氷粒式のフラツシングは果実其他の柔細胞を凍らせるときしばしばみられるものであるが、現在迄にこれについて述べられた例を聞かない。これは植物細胞の凍結の観察が従来は主として耐寒性の研究の一部として行われて来たためで、用いられた細胞も殆んどその様な性質の強いもののみが使用されていたからであろう (5, 8, 9, 10)。又耐寒性とは直接に関係なく植物細胞の凍結を観察した人々も実験の便宜の爲に主として表皮細胞を用いたためかゝる凍結様式を発見しなかつたのであろう。即ち逆に言えば氷粒式の凍結は表皮細胞その他の分化した器管の細胞又は耐凍性の大きな細胞では通常はおこらぬ現象なのである。しかしながらこのような凍結様式はその細胞に特有な細胞液の性質に帰せられるものでは決してない。しぼり出した細胞液を急速に凍らせると殆どいずれの細胞を用いた場合でも氷粒式の凍結をみる事が出来る。又通常は氷粒式の凍結をする細胞でも異常な状態¹⁾にあるときは必ずしも同じ凍り方をしめさない。たとえば水瓜の中果皮等でも異常な細胞ではしばしば液滴式のフラツシング (2) がみられる。かゝる場合は氷粒式のフラツシングの時より凍結に要する時間が長く、又氷の中に生じた小液滴の形はかなり球形に近いものもあるが脈状の析出物から分断してこれが出るまでには -10°C にて数分乃至数十分もかゝり且凍結細胞内で液滴の占める体積は氷粒の場合より遙かに少ない (図版の6)。これらの事実から考えると生細胞の凍結様式はその原形質部分の状態に最も関係が深いことが想像されるのである。

VI.

次にこの氷粒と述べて来たものゝ本体は何であろうか。氷粒について今までにわかつた事実の中から主なものをひろい出すと、

1. 細胞の過冷却が大きな場合に急速に凍結すると出来る。
2. 濃縮された細胞液から出来る。
3. 一旦脈状に析出された後に分断され更に変形して球状になる。
4. 非常に不安定で近接した氷粒は互に融合しやすい、又氷粒の周囲をを埋める一様な氷の中に融けこみやすい。これらの変化は温度が高い程促進される。
5. 融点は周囲の一様な氷より低い。
6. 偏光を通し、顆粒等を含む場合もブラウン運動は認められない。²⁾
7. 細胞液中にあつた色素や顆粒等をもち中心部よりも周辺に近づく程色が濃くなりその輪画は特に明瞭である。
8. 細胞が無色の場合でも氷粒は第一次の氷よりは暗色である。

1) たとえば生体染色による呈色が異状な細胞や、異常な原形質分離をする細胞、負傷細胞等。

2) 偏光でみても周囲が氷で埋められていると小さい液滴では明暗の差を認めにくい氷粒の場合は経 10μ 以上の大きさがあつても充分明るく見える。

9. 凝固した原形質も同じ場所にとりこまれることがある。
10. 細胞が急速に融けるときは氷粒は周囲の氷の融けるのに先立つてその氷の中に融合しこの時液体とはならない。しかも氷粒の中にあつた色素、顆粒又は凝固した原形質等は周囲の氷の中の元の位置に残っている。
11. 温度が低ければ比較的長時間後、高ければ短時間のうちにこの氷粒は液状のものになり、変形したり内部に気泡が現われたり或いは顆粒のブラウン運動が認められたりする。
12. 凍結した細胞をゆつくりと融かす場合も氷粒の液状化がおこる。

以上の事実の中で2及び氷粒の変形しやすいことから濃縮細胞液の小滴が先ず想像されるが、液滴式の凍結細胞(2)の中に見られる小液滴とは多くの点で明瞭に異なり、6及び氷粒の融け方からみて先ず固体と思われる。5, 8等によれば決して単なる氷ではないが氷を主成分とするものであることは4, 10, 12等により明らかである。含氷晶ではないかとも考えられるが10によればそうでもない。現在のところでは細胞液中にあつた膠質と氷との固溶体と考えると一番説明がつきやすいようである。ゲラチン等のゲルを急に凍らせたときゲルと氷との固溶体が出来易いことは既に知られているし(4,7)。著者もゲラチン及澱粉の1%水溶液のゲルを凍らせて細胞のそれとよく似た氷粒を作ることに成功した(3)。7,10等を説明するには細胞中にあつた膠質其他の物質で出来た薄い膜によつて氷粒の外膜がおゝわれているとすると好都合で、これはその凍結過程から考えても可能性もある。この膜の部分に含まれている水は周囲が凍結してもまだ液体のまゝだとすれば氷粒が移動しやすく且変形しやすい性質をもつのに便利である。4, 11, 12等から考えると凍結した植物細胞内においてはこの氷粒は恐らく凍結の進行の過程における1時的の産物であつて、凍結が平衡状態に達したときには、(少なくとも -10°C より高い温度においては)このまゝの形ではもはや存在しないものと考えてよいであろう。

摘 要

シロウリ、水瓜等の柔細胞を用いて氷粒式凍結及びその融解の過程を観察した。これらの細胞では或程度以上の過冷却状態で内部の凍結がはじまると瞬間的に乳濁暗化する。即ちフラッシングをする。この結果細胞の内部は無数の微小な球形の氷粒とその間を埋める一様な氷とに充たされる。この氷粒は非常に不安定で互に融合したり又はその周囲の一様な氷の中に融けこみやすい。氷粒が融け消えるとき氷粒自身のもつていた挾雑物は氷の中のもの位置に残される。ゆつくり暖めると氷粒は次々に融合して大形となり内容も液化してくる。更に暖めると細胞内を充した一様な氷もいくつかの塊に分れつゝ融けてしまう。

この場合の細胞の凍結過程は既報(3)、「細胞液の凍結過程」をも参照して考えると次の様に説明出来る。細胞内に現われた氷はこまかく分枝してのびひろがり細胞内に充満する。こ

の結果濃縮された細胞液が脈状に析出する。これは氷の発達するに従がい分断され、更に変形して球状となりこゝに前述の氷粒が出来る。細胞質層も同様な過程で凍り、氷と脱水された原形質とに分離され、凝固して脈状又は網目状になる。この氷粒の本体は未だよくわからないが、現在のところでは細胞液中にあつた膠質と氷との固溶体で、その表面が膠質の薄膜で包まれていると考えると好都合である。

融解後の細胞膜は緊張を失つているが外見上の破壊は少ない。しかし細胞を再び凍結させると非フラシツ型の凍結がおこり融解後の細胞膜は甚しく破壊されている。

文 献

1. 朝比奈英三 1950 生物の凍結過程の分析 II. 植物柔組織の凍結過程の顯微鏡的觀察 低温科学 3, 229
2. 朝比奈英三 1948 生物の凍結過程の分析 V. 植物細胞のフラシツ型凍結の一様式に就いて 同誌 4, 85
3. 朝比奈英三 1950 生物の凍結過程の分析 VI. 植物細胞液の凍結過程の一様式 同誌 5, 115
4. Hardy, W.B. 1926 A microscopic study of the freezing of gel. Proc. Roy. Soc. London, A, 112, 47
5. Iljin, W. S. 1933 Ueber den Kältetod der pflanzen und seine Ursachen. Protoplasma, 20, 105
6. Molisch, H. 1897 Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Jena
7. Moran, T. 1926 The freezing of gelatin gel. Proc. Roy. Soc. London, A, 112, 30
8. Sachs, J. V. 1892 Krystallbildungen bei dem Gefrieren und Veränderung der Zellhäute bei dem Aufthauen saftiger Pflanzenteile. Gesammelte Abhandl., 1. Bd., Leipzig.
9. Schander, R. and E. Schaffnit, 1919 Untersuchungen über das Auswintern des Getreides. Landwirtschaftl. Jahrb., 52, 1
10. Siminovitch, D. and G. W. Scarth, 1938 A study of mechanism of frost injury of plants. Canad. J. Res., C, 16, 467

R é s u m é

When parenchymatous cells of many of the common vegetables are frozen rapidly, ice particle type flashing occasionally takes place. In a thus-frozen cell, scattered throughout the homogeneous ice mass, there are numerous minute spheres of "ice particle." Even with slow cooling, some of the cells freeze in this type, and in this case the propagation of freezing is observed only as a wave of opacity that starts from the periphery and "fades out" at the centre of the cell.

Ice grows around the inner side of the tonoplast until the whole cell is filled with dendritic ice crystals which later become a homogeneous ice mass by fusion, while between the crystals the cell sap is condensed as many vein-like branches of dark colour. These branches are then torn into a large number of minute particles which soon after, depending upon the temperature at that time, become spherical. In parallel with the vacuole freezing, the cytoplasmic

layer of the cell freezes in similar manner. In the ice mass, there exists usually a network or, some times, many rods of coagulated protoplasm irregular in form.

Thus frozen cell is not in a stable state. A part of the ice particles gradually fuse with each other into larger spheres, but the greater part of them fade away into the surrounding ice mass. On thawing, the ice particles collapse at a distinctly higher temperature than the melting point of the surrounding ice, leaving no liquid but a very small quantity of coagulated substance.

Though the structure of the "ice particle" is yet unknown in detail, it is assumed to be a solid solution constituted mainly of ice and colloidal substance in the cell, and the surface of such particle seems to be covered with a thin layer of certain coagulated colloids.