



Title	植物組織内に出来る氷塊について
Author(s)	照本, 勲; TERUMOTO, Isao
Citation	低温科学. 生物篇, 18, 39-42
Issue Date	1960-11-04
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17636
Type	departmental bulletin paper
File Information	18_p39-42.pdf



植物組織内にできる氷塊について*

照 本 勲

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和 35 年 7 月受理)

I. 緒 言

植物が低温にあつて凍結する場合、寒さに弱い細胞は、容易に細胞内に結氷をおこすが、耐凍性のある植物では、最初細胞間隙の水分が凍結して、その氷の生長するにつれ細胞内から水がとられ、ますます間隙の氷は大きく生長する。この際、原形質表層部に氷の侵入を阻止する能力があるために、細胞内への凍結は阻止される^{1),2)}。植物組織のうちには、特に細胞外凍結した氷晶が互いに融合して大塊の氷晶に生長して、肉眼でも容易に認められるような大きな氷片を發達することがある。樹木の皮層部や髄部にできる氷晶³⁾、蕾の若い葉と若い芽の間にできる氷晶⁴⁾、常緑葉の柵状組織と海綿組織との間にできる氷片⁵⁾などは、われわれの日常観察できるところのものである。アカビートの根を比較的高い温度で長時間凍結させた場合には、特に同心円的に發達した維管束部に厚い層をなして氷晶が生長し、その氷晶を容易に採集することができ、種々の氷の分析に利用することが可能である。今回は氷晶を融解した場合の電気伝導度を測定して、この大きく生長した氷晶の分析から、凍結過程の細胞の状態を考察した。

II. 方 法

葉をつけたままのアカビート *Beta vulgaris* L. var. *Rapa* Dumort の根をビニール布でつつみ、 $-4\sim-5^{\circ}\text{C}$ の低温室に、10月下旬から3月上旬まで、130日間凍結保存した。氷片の採集は、 -10°C の低温室内で行ない凍結したままの根をナイフで約1 cm ずつの厚さに横断し、予め冷却した清潔なピンセットで、冷却乾燥したコルペン中に氷片を集めた。採集した氷片は、室温でコルペンを振盪しつつ徐々に氷片の外部より融解し、融解した水は順次分注して5段階 (No. 1→No. 5) に分けた。各について電気伝導度、pH、アントシアンの色調を調べた。

水の電気伝導度は、コールラウシュブリッジを使用して測定⁶⁾した。pHの測定は、pHメーターによつた。低温固定は、凍結した組織を -10°C の冷固定液で4時間固定する前報⁷⁾によつた。

なお、凍結組織細胞の生死は、室温で融解後顕微鏡的にしらべた。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第566号

III. 結果と考察

1. アカビートの根の組織の構造と氷晶

アカビートの根は、著しく肥大して肉質をなし、形は紡錘状倒円錐形をしている。横断面には、維管束部が同心円的に発達して、異状肥大生長を行なつた組織が見られる。これは、根に同心円的に発達する形成層が順次できた結果である。この形成層の発達は、寿命の短い形成層が分裂機能が弱つてくると、その外方に次の形成層が新しくできて細胞を分裂新生し、またその形成層の分裂機能が衰えると、その周囲の皮層部細胞から別の新しい形成層ができて、同心円的に次生組織を肥大し、こうして数条の同心円的な管束環が形成されたものである^{*)}。

アカビートの根は、 $-4\sim-5^{\circ}\text{C}$ という比較的高い氷点下の温度で徐々に凍結させた結果、根の横断面では、細胞外にとられた水が、大きな氷片として生長し、管束環に約 1 cm の幅をもつた氷の帯として形成される。また維管束と維管束とはさまれた貯蔵柔細胞層に数ミリおきに上記氷の帯に直角に粒状の氷晶が同時に発達しているのが見られる (図版 I-1)。低温固定した横断面からは、長期間にわたり徐々に細胞外に脱水されたため異状に収縮し、一生長層ごとに分離されている組織が認められる (図版 I-2)。

2. 氷晶の融氷水の電気伝導度と pH

管束部の氷は非常に大きく発達しているので、ピンセットで容易に採集することが可能である。この氷晶を 50~60 グラムごとにコルペン中できとらし、初めに融けたものから順次均等に 5 段階に分けて試験管に分注した。その電気伝導度は第 1 表にあらわした。No. 1 の試料は、

第 1 表 氷晶の電気伝導度と pH*

試料	比伝導度 (Mho)	pH	アントシアンの呈色	
実験 1	No. 1	0.001592	6.50	≡
	No. 2	0.000955	6.45	++
	No. 3	0.000495	6.45	+
	No. 4	0.000239	6.50	±
	No. 5	0.000134	6.50	—
実験 2	No. 1	0.001555	6.45	≡
	No. 2	0.000608	6.50	++
	No. 3	0.000446	6.50	+
	No. 4	0.000223	6.50	±
	No. 5	0.000129	6.50	—

* アカビートの根の搾汁 (0°C 長期保存) の比伝導度平均 0.015785, 水道水の比伝導度 0.000427, 搾汁の pH = 6.35

氷晶の最も外側の氷の融けた部分の水で、アントシアンの滲出によつて紅色をしている。No. 5 の試料は、氷晶の最も中心部、すなわち維管束又は細胞間隙で最初に凍結が始まつた際に生長した氷と考えられる部分の水からなっており、肉眼ではほとんどアントシアンの紅色は認められない。融氷水の電気伝導度は、第 1 表からわかるように、実験 1, 2 もほとんど同じ傾向がえられた。採集された氷晶の最外部の値は中心部の融氷水にくらべて約 10 倍あり、氷晶が大きくなるにつれ試料に電解質が多くなつているのが分る。pH は、試料によつてほとんど変わらず、氷晶の

どの部分もほぼ一定で、6.45~6.50である。アントシアンの紅色の着色程度を第1表にあげた。これは肉眼でみた値である。氷晶の中心部より外側にうつるにつれ、アントシアンの紅色は濃くなるが、これは原形質のアントシアンに対しての不透過性が、氷晶の生長途中から徐々に消失して、氷晶にアントシアンが細胞からの電解質とともに加わってきたものと思われる。

3. 細胞の凍結様式

アカビートの根の柔細胞は、 $150\mu \times 120\mu$ 位の大きさの不規則な立方形をした細胞で、核は小さく、細胞液はアントシアンを含むために濃紅色をしている。核の周辺には葉柄の柔細胞でみられるような顆粒はみられない。根の柔細胞では、葉柄の柔細胞と同じく、hardeningされると、最終温度 -6°C 程度の凍結で、ほとんど細胞外凍結をおこす⁹⁾。はじめ細胞膜の外面に生じた氷は細胞内部より水をうばつて水自身はしだいに発達して大きくなる。その結果、細胞はしだいに収縮し扁平になる。すなわち、相当量の水分が細胞外に移される。これらの凍結の際の細胞内凍結、細胞外凍結は低温固定像からも容易に知られる¹⁰⁾。粒状で容易にとりのぞくことのできる氷晶をのぞいたあとの柔組織の含水量は平均73.2% (対照93.2%: 10月下旬より3月上旬まで 0°C に保存した試料)であつた。この値は、主に細胞内にできた小さな氷晶によつて示されたものと思われる。初めの含水量(対照)との差、約20%の水分が、維管束部その他の細胞外凍結によつて大きな氷晶をつくるのに移行したものであろう。細胞外凍結後、細胞内凍結がおこつたことは、融水後の細胞の状態や、低温固定像による原形質ならびに核の破壊からもわかり(図版II-3, 4)、又前述の電解質、アントシアンの氷晶中への滲出からも理解することができる。

アカビートの根の構造と、維管束又は貯蔵柔組織の氷晶の融けた水の電気伝導度の測定、ならびに細胞内凍結をしている柔細胞像から次のことが考察できる。最初、凍結に際して、細胞間隙にとられたほぼ純粋に近い水分が、徐々に凍結し氷晶が生長して行くうちに、原形質膜の半透性が失われて電解質の溶出がおこり、アントシアンに対する半透性も失われて、細胞外の氷晶中に現われてくるようになる。それと前後して、原形質表層部の細胞内への水の阻止能力もなくなり、細胞内凍結がおこつて、原形質の不可逆的破壊がおこる。今回の実験条件では、細胞外にとられた氷晶の生長に加わつた水分は、全含水量の約20%で、細胞が脱水によつて約73%前後の含水量になつた時に細胞内凍結がおきたものと考えられた。

摘 要

アカビートの根を、氷点下の比較的高い温度で凍結すると、根の中には大きく成長した氷晶ができる。主に、同心円的に発達した維管束環に密に氷ができ、この氷は容易に採集することができる。この採集した氷晶を、外側から順次融解して分注し、その各々について電気伝導度を測定して、その水分の性質から細胞外への脱水量と、細胞内凍結との関係を考察した。組織の含水量の約20%が細胞外の氷晶を形づくっているが、氷が生長しつつある途中で細胞からの電解質の滲出をおこしており、細胞の含水量が約73%にまで脱水されたころ、細胞内凍

結はおきたと想像され、このとき細胞は凍死したものであろう。

御校閲の労をとられた朝比奈教授に感謝する。

文 献

- 1) Asahina, E. 1956 The freezing process of plant cell. Cont. Inst. Low Temp. Sci., **10**, 83.
- 2) 照本 勳 1959 植物細胞の耐凍性に影響する媒液中の無機塩類の効果について. 低温科学, 生物篇, **17**, 9.
- 3) Asai, G. N. 1943 A study of frost injury and frost resistance in garden roses. Cornell University Ph. D. Thesis (Curtis, O. F. & Clark, D. G. 1950 An Introduction to Plant Physiology. McGraw-Hill, New York による)
- 4) Wiegand, K. M. 1906 Some studies regarding the biology of buds and twigs in winter. Bot. Gag., **41**, 373.
- 5) 畠山伊佐男 1952 緑葉でも2段凍結曲線のみられる例. 科学, **22**, 652.
- 6) 鮫島実三郎 1942 物理化学実験法. 改訂版. 裳華房, 東京.
- 7) 照本 勳 1958 植物細胞の低温固定像について. 低温科学, 生物篇, **16**, 1.
- 8) Esau, K. 1953 Plant Anatomy. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 9) 青木 廉・朝比奈英三・照本 勳 1953 生物の凍結過程の分析 IX. 植物の耐凍性と凍結曲線の型. 低温科学, **10**, 69.
- 10) 照本 勳 1958 植物の耐凍性と滲透濃度. 低温科学, 生物篇, **16**, 7.

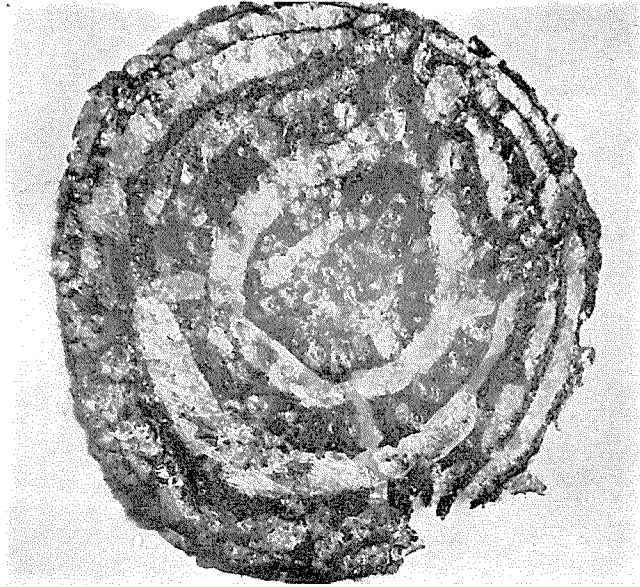
Résumé

When the root of table beet was subjected to freezing at $-4^{\circ}\text{C}\sim-5^{\circ}\text{C}$, ice masses appeared between the cells, mostly in the concentric spaces in vascular bundle ring region (Plate I-1). The ice masses were collected from cross sections of frozen root in cold room, and then thawed. Melted water from the ice masses was divided into five parts in order of the time. Electric conductivity, pH and colour tone of anthocyan of the separate water samples were measured.

As a result of determination, it may be said that the specific conductivity was remarkably increased successively from the inner part to outer side of the ice masses, together with the colour tone of anthocyan. This is perhaps because of the gradual disruption of protoplasm during the development of extracellular ice mass. Under the present experimental conditions, the ice mass was found to consist of about one-fifth of the total moisture content of the frozen root tissue.

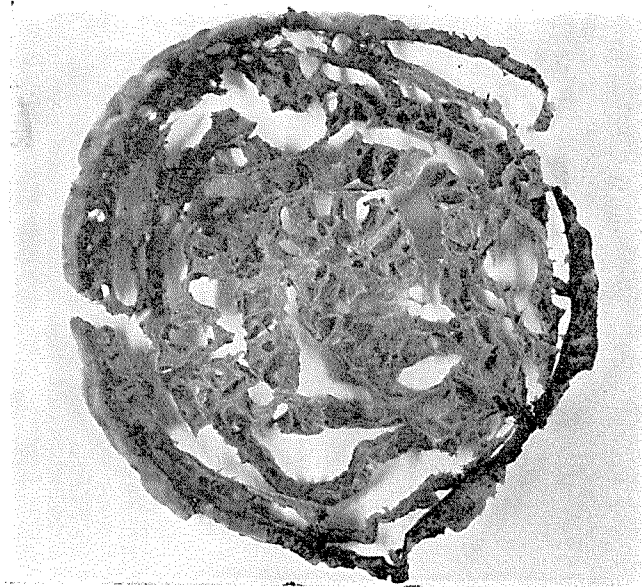
第1図 凍結したアカビートの根の横断面。白い部分が氷で、同心円に氷ができていくのがわかる。

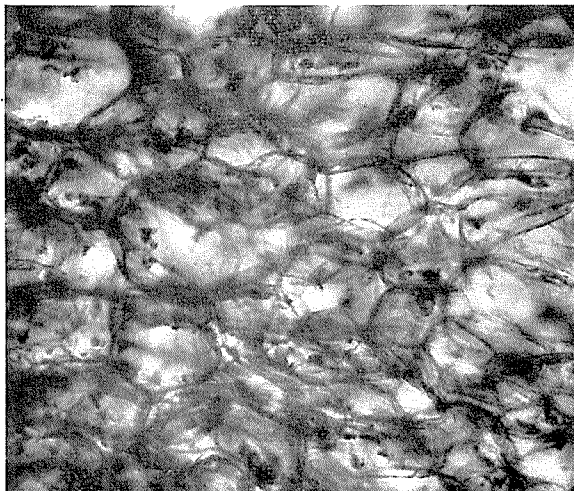
× 0.7



第2図 同上の低温固定したもの。一生長層ごとに組織が離れているのがわかる。

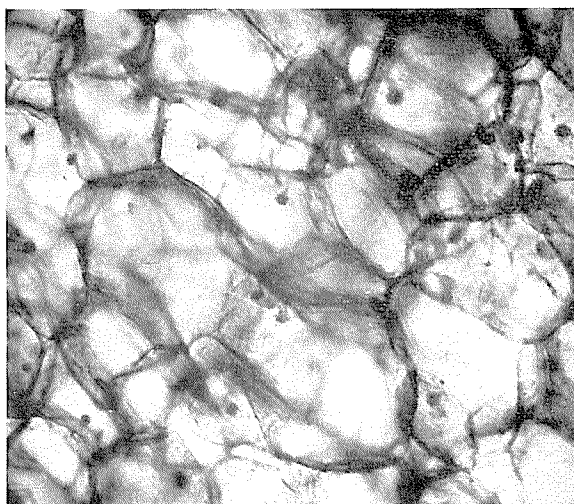
× 0.8





第3図 アカビートの根を、 $-4\sim -5^{\circ}\text{C}$ で130日間凍結後低温固定したもの。全部の細胞が凍死している。第4図とくらべて、核の形がくずれているのがわかる。

$\times 100$



第4図 凍結させないアカビートの根を、低温固定したもの(対照)。

$\times 100$