

# 高圧に関する生理学的研究補遺—水溶液の pH に就て

そ の 1

## Brilliant cresyl blue による植物細胞生体染色

岡山大学医学部生理学教室 (主任: 林教授)

講 師 岡 田 勝 喜

[昭和 29 年 9 月 17 日受稿]

### I 緒 論

水溶液の pH の高圧作用による変化に就ては種々の結果が報告されて居る。Ebbecke<sup>1)</sup> は、Tammann の研究から、高圧による溶液の解離度の増大に着目して、酸或はアルカリ溶液に加圧すると、夫々酸或はアルカリの度が強くなると云う。一方大和<sup>2)</sup>、丹原<sup>3)</sup> は高圧により酸性液はアルカリ側に傾くと報告して居る。

著者は植物細胞を塩基性色素で生体染色すると、染色液が酸性の時は細胞膜が、中性又は塩基性の時は液胞が染色する<sup>6,8)</sup> 事実を考慮して、植物細胞を用いて高圧による水溶液 pH の変化を測る目的で以下の如き実験を行った。

### II 材料及び方法

植物細胞として紫露草の裏面表皮細胞、タマネギ鱗片の内側表皮細胞、アオミドロを用いた。紫露草は葉の下から 5~10 極位の所を 0.5 極平方剝離して用いた。タマネギは水溶液に浸す時気泡が着き易いから充分注意した。アオミドロは葉緑体の数で種類を異にするが、葉緑体が 2~4 本あるものを特別に区別する事なく用いた。

実験方法は至極簡単で、塩基性色素 brilliant cresyl blue (以下 B. C. B. と略記) 水溶液に浸した儘高圧ボンベに入れて加圧した植物細胞 (以下 P と略記) と、それと同時間、同じ B. C. B. 水溶液に浸して居た対照の細胞 (以下 K と略記) とを同時に顕微鏡下に観察

し、細胞膜、液胞等の染色状態の相違を比較するのである。高圧ボンベは著者が先に報告したものである<sup>4)</sup>。観察する植物細胞の数は一回に 50~100 個位で、染色の濃淡を程度に応じて +, - の記号で表した。

### III 実験成績

#### A. 紫露草の裏面表皮細胞に就て

1. pH の異なる二つの B. C. B. 水溶液の比較細胞を 5~30 分間、0.01 及び 0.02% B. C. B. の水道水溶液と蒸溜水溶液とに浸した後、同時に顕微鏡下で比較観察した (第 1 表 A)。水素イオン濃度測定用東洋濾紙で測つた pH は、水道水が 6.6~6.8, 蒸溜水が 5.8~6.2 である。表によれば細胞膜は蒸溜水側がよく染り、液胞は水道水側が稍よく染る。又同様にして B. C. B. の水道水溶液と酸性水溶液 (pH 5.6) を比較すると、細胞膜は酸性水溶液側が強くと染り、液胞は水道水側が強くと染る。第 1 表の A と B とを比較すると、水溶液 pH の差が大きいと、染色状態の差も著しい事が

第 1 表 A. 紫露草 (水道水と蒸溜水との比較)

時間 (分)	細胞膜		液 胞		BCB の濃度
	水道水	蒸溜水	水道水	蒸溜水	
5	+	+	+	+	0.02%
10	±	±	±	±	0.02%
10	+	±(+)	+	±	0.01%
10	+	+	±	+	0.01%
10	+	+(+)	+	+	0.01%
15	+	±	+(+)	+	0.01%
30	+	±	±	+	0.01%

第1表 B. 紫露草 (水道水と酸性液(pH 5.6)との比較)

時間 (分)	細胞膜		液胞	
	水道水	酸性液	水道水	酸性液
10	+	++	++	+
20	+(++)	++	++	±
30	++	+++	++	+

わかる。

## 2. B. C. B. 蒸溜水溶液の加圧

細胞を0.01及び0.02% B. C. B. 蒸溜水溶液に浸して500~1500気圧, 10~30分間加圧し, 対照と比較した(第2表)。

第2表 紫露草 (B. C. B. 蒸溜水溶液の加圧)

圧力 (気圧)	時間 (分)	細胞膜		液胞		BCBの濃度
		加圧(P)	対照(K)	加圧(P)	対照(K)	
1500	10	-	+	+	++	0.01%
1500	10	+	+	+	++	0.02%
1000	10	+	+(++)	+	+++	0.02%
1000	10	+	++	+	++	0.01%
500	30	+	++	+	++	0.01%
500	15	-	+++	-	+++	0.02%
500	10	-	++	+	+++	0.02%
500	10	±	+	+	++	0.01%

細胞膜, 液胞共Kの方が強く染り, 又P, K間の差は液胞の方が著明である。

## 3. B. C. B. 水道水溶液の加圧

0.01% B. C. B. 水道水溶液に細胞を浸した儘, 500~1500気圧, 10~30分間加圧して対照と比較した。第3表に示す如く, 細胞膜はKの方が強く染り, 液胞でもKの方が稍強く染る。

第3表 紫露草 (B. C. B. 水道水溶液の加圧)

圧力 (気圧)	時間 (分)	細胞膜		液胞	
		加圧(P)	対照(K)	加圧(P)	対照(K)
1500	10	±	+	+	+
1000	10	+	++	+	++
1000	10	+	+	++	+(++)
500	30	+	++	+	++
500	10	+	+	+	+

## B. タマネギ鱗片内側表皮細胞に就て

## 1. pHの異なる二つのB. C. B. 水溶液の比較

A. 1の場合と同様にして, 0.01及び0.05%のB. C. B. 水道水溶液と蒸溜水溶液との比較をした。第4表Aに示す如く, 細胞膜は蒸溜水側が強く, 液胞は水道水側が強く染る。又0.01% B. C. B. の水道水溶液と酸性水溶液(pH 5.4~5.8)との比較をすると(第4表B), 細胞膜は酸性液側が強く, 液胞は水道水側が強く染る。

第4表 A. タマネギ (水道水と蒸溜水との比較)

時間 (分)	細胞膜		液胞		BCBの濃度
	水道水	蒸溜水	水道水	蒸溜水	
5	+	±	-	-	0.01%
5	+	+	±	±	0.05%
10	+	+	+	-	0.01%
10	-	+	+	-	0.05%
20	+	+	+	-	0.01%
20	-	+	-	-	0.01%
30	+	+	+	-	0.01%

第4表 B. タマネギ (水道水と酸性液との比較)

時間 (分)	細胞膜		液胞	
	水道水	酸性液	水道水	酸性液
10	±	++	+	±
20	+	++	+	±
30	+	++	+	±

第4表のAとBを比較すると, 染色状態の差異は, 二液のpHの差が大きいBの方が著明である。

## 2. B. C. B. 蒸溜水溶液の加圧

細胞を0.01及び0.05% B. C. B. 蒸溜水溶液に浸して500~2000気圧, 10~30分間加圧し, 対照と比較すると(第5表), 細胞膜は1000気圧以上でKの方が稍強く染り, 液胞ではP, K間に殆んど差がない。

## 3. B. C. B. 水道水溶液の加圧

細胞を0.05% B. C. B. 水道水溶液に浸して500~1500気圧, 10~30分間加圧し, 対照と比較すると, 1000気圧, 10分以上の加圧で細

第5表 タマネギ (B. C. B. 蒸溜水溶液加圧)

圧力 (気圧)	時間 (分)	細胞膜		液胞		BCBの濃度
		加圧(P)	対照(K)	加圧(P)	対照(K)	
2000	10	—	+	—	—	0.01%
1500	20	+	+	—	—	0.01%
1500	10	±	+	—	—	0.05%
1000	10	+	+	+	+	0.05%
500	30	+	+	+	+	0.01%
500	10	+	+	—	—	0.01%

第8表 アオミドロ (B. C. B. 蒸溜水溶液加圧)

圧加 (気圧)	時間 (分)	細胞膜		液胞	
		加圧(P)	対照(K)	加圧(P)	対照(K)
1500	10	+	+	+	+
1500	10	+	+	+	+
1000	20	+	+	+	+(+)
1000	10	+	+	+	+
1000	10	+	+(+)	+	+
500	20	+	+	+	+(+)
500	10	+	+	+	+(+)

第6表 タマネギ (B. C. B. 水道水溶液加圧)

圧力 (気圧)	時間 (分)	細胞膜		液胞	
		加圧(P)	対照(K)	加圧(P)	対照(K)
1500	10	+	+	—	+
1000	10	±	+	±	+
500	30	+	+	+	+
500	10	+	+	+	+

胞膜、液胞共僅かにKの方が強く染る(第6表)。

C. アオミドロに就て

1. pHの異なる二つのB.C.B.水溶液の比較

A. 1の場合と同様、0.001% B.C.B.の水道水溶液と蒸溜水溶液とを比較すると、細胞膜は蒸溜水側が強く、液胞は水道水側が強く染る(第7表)。

第7表 アオミドロ (水道水と蒸溜水との比較)

時間 (分)	細胞膜		液胞	
	水道水	蒸溜水	水道水	蒸溜水
10	+	+	+	±
20	+	+	+	+
30	±	+	+	+

2. B.C.B.蒸溜水溶液の加圧

アオミドロを0.001% B.C.B.蒸溜水溶液に入れて500~1500, 10~20分間加圧し、対照と比較すると(第8表)、細胞膜はP, K間に差がないが、液胞はKの方が強く染まる。

IV 考察並に総括

種々の色素溶液は容易に細胞内に透入して蓄積される事があるから、細胞に比較的無害な稀薄溶液を選んで植物細胞の生体染色を行う事が出来る。概して塩基性色素では細胞膜及び液胞が染色し、其の上色素溶液が酸性の時は細胞膜が、中性から塩基性の時は液胞が染色する事が多い。尤も此の染色部位の転換が起る限界のpHは、細胞及び色素の種類、染色の時間等で異り、厳密な境界は定め難い。併し本実験に於ては、PとKとの染色の相対的な差異から、高压による水溶液pHの変化の方向を知る事が目的であつて、其の変化の絶対値を求めて居るわけではない。

実験成績を見るに、実験A.1では、水道水(pH 6.6~6.8)と蒸溜水(pH 5.8~6.2)との比較で、細胞膜は酸性度の高い蒸溜水側がよく染り、液胞は塩基性に近い水道水側がよく染る。水道水と酸性液(pH 5.6)とでは、差が著明である。即ち溶液pHの差が大きい程染色の差が著しい。此等の関係は実験B.1、及びC.1でも同様である。

次に実験A.2に就て、細胞膜を見るとPがKに比し染色し難いことから、水溶液のpHは塩基性に傾いた事になり、一方液胞を見ると、PがKに比し染色し難いことから、水溶液のpHは酸性に傾いた事になる。実験A.3, B.2, 3, C.2でも殆んど同様で、細胞膜ではP, Kの差がない事もある(中性又は塩基性溶液では細胞膜は染り難い為)が、一

一般的には細胞膜も液胞も P は K に比し染り難い事実を示す。但し 500 気圧では P, K に差がない事が多い。此処で植物細胞の組織構造を考えるに、細胞膜は液胞に比し所謂生命的要素の少い所であるから、高圧に対する生体としての変化も、液胞に比し小さいと考えられる。故に高圧による水溶液 pH の変化の指標としては、細胞膜を取る方が妥当である。換言すれば、高圧による液胞の染色状態の変化は、高圧による生体の変化が現われて居るのであろう。依つて上記実験成績から見て高圧による細胞膜の染色状態の変化を考えれば、何れも B. C. B. 水溶液は塩基性の方向へ移動する事になる。

緒論にも触れたように、Ebbecke<sup>1)</sup> は高圧により、水溶液の pH は其の中に含まれて居る弱電解質の解離度が著増する為、弱酸なら H イオン弱塩基なら OH イオンが増し、夫々酸及び塩基の度を強めると云う。然るに大和<sup>2)</sup>、丹原<sup>3)</sup> は逆に高圧により酸性液が塩基性に傾くと報告して居る。著者<sup>4)</sup> の研究では、弱電解質溶液に加圧すると、夫等の電導度の増大は強電解質溶液に比し、遙かに著しい、従つて加圧による水溶液 pH の変化に関しては、大気圧下に於けるその pH よりも寧ろ高圧により解離すべき H 或は OH イオン（特に

弱電解質の）の存在が問題になる。斯る見地からすれば、本実験に於て、高圧により塩基性色素 (B. C. B. —弱電解質) が解離して ( $\text{ROH} \rightarrow \text{R}^+ + \text{OH}^-$ ) 溶液中の OH イオンが増せば、大気圧下の pH には無関係に、其の水溶液は塩基性に傾くと考えられ、上記実験成績は理解される。

## V 結 論

植物細胞を生体染色する時、細胞膜と液胞とが染色液 (brilliant cresyl blue) の pH により染色状態を異にする事から、高圧によるその色素水溶液 pH の変化を観察し、次の結果を得た。

1. 細胞膜により水溶液 pH の変化を見ると、高圧によつて酸性液は塩基性に傾く。
2. 液胞により水溶液 pH の変化を見ると、高圧により酸性液はより強い酸性に傾く。
3. 細胞膜と液胞との生命的要素の多少を考慮すると、細胞膜の方がより忠実に水溶液 pH の高圧による直接的变化を表現すると考えられる。即ち塩基性色素の水溶液 (酸性) の pH は高圧により塩基性に傾くと云える。

摺筆するに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師林教授に対し深く感謝の意を表す。

(文献はその 2 に併記する。)

Department of 1 Physiology, Okayama University Medical School.  
(Director Prof. Dr. K. Hayasi)

## Physiological Studies of Hydrostatic High Pressure. Supplement I. On pH of Brilliant cresyl blue Solution

By

Katuki Okada

In case we observe vital staining of plant cells (*Tradescantia*, *Allium cepa*, *Spirogyra*) with brilliant cresyl blue as pH-indicator, pH of its basic stain solution proves to augment owing to high pressure (up to 2000 atm.).