



Title	マリモの凍害と乾燥害
Author(s)	照本, 勲; TERUMOTO, Isao
Citation	低温科学. 生物篇, 17, 1-7
Issue Date	1959-10-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17616
Type	departmental bulletin paper
File Information	17_p1-7.pdf



マ リ モ の 凍 害 と 乾 燥 害*

照 本 勲

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和 34 年 7 月受理)

I. 緒 言

マリモ *Aegagropila Sauteri* (Nees) Kütz. は、多核の細胞が一行にならび、いわゆる糸状体をなしているが、その糸状体が枝状をなし、それが更に発達してあつい束状になり、終にはマット状又は球状の形態をつくる特性をもっている^{1),2)}。現在、阿寒湖のマリモは天然記念物として保存されているが、最近大量のマリモが赤茶色に変色枯死していく様子がみられる。

阿寒湖のマリモは、晩秋から早春にかけて、湖水の状況から凍害および乾燥害をうけるものと思われるが、現在までマリモの凍結による傷害と、乾燥によつておこる傷害については報告されていない。

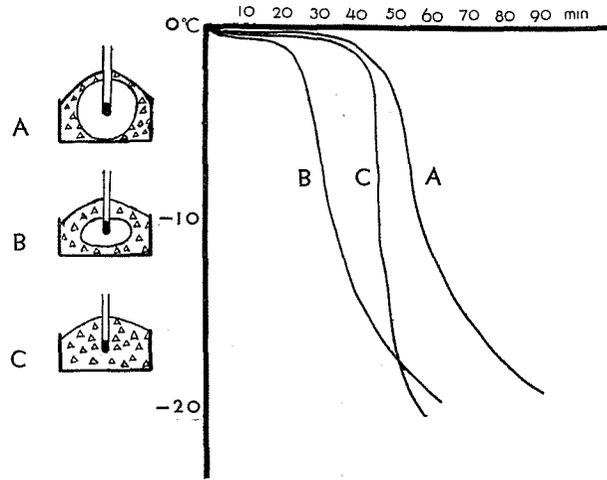
本実験は、阿寒湖のマリモを使用して、氷点以下の各温度で凍結させた場合の凍害の程度とマリモを空气中に露出させて、乾燥させた場合におこるマリモの傷害をしらべた。又、昨年度と本年度現地で採集された、変色してパフン状になつた被害マリモについて、その被害原因が何んであるかをあわせて考察した。

II. 方 法

阿寒湖より持つてきたマリモは、適宜新しい水道水の中に室温(約 20°C)で保存した。水をかえることは、珪藻類の繁殖することを防ぎ、マリモの細胞を健全に生育保存させるためである。マリモは直径 40~80 μ 、長さ直径の 10 数倍の大きな節間細胞をもつが、その枝状の糸状体を実験に使用するか、又はマット状の小さな束、或いは球状のままのマリモを材料とした。低温保存は、0°C の恒温暗箱中にマリモを水道水を入れたガラス容器中に入れて行つた。

凍結実験は、予め 0°C に保つておいた球状マリモ又はマット状マリモを、霜と水道水をまぜてつくつたカユ状の氷で周囲をかこみ、小シャーレ(内径 2.8 cm、高さ 1.5 cm)に入れて、所要温度で凍結させた。マリモをカユ状の氷でかこむことは、マリモが過冷却するのを防ぐためである。第 1 図は色々の条件で測定した、マリモ又は霜と水道水を混合した場合の凍結曲線であるが、この曲線からわかることは、このような実験方法でマリモは、40~50 分以内に凍結が完了するということである。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第 511 号



第 1 図 マリモの凍結曲線

A = 8.9 g の霜と水 + 4.5 g のマリモ小球の凍結

B = 6.0 g の霜と水 + 1.1 g のマリモ小片の凍結

C = 9.3 g の霜と水だけの凍結

縦軸……寒暖計の読み： 横軸……時間

細胞の生死の判定は、室温で融解後とところどころの糸状体をぬきとり、1 M 平衡塩溶液 (1 M NaCl と 2/3 M CaCl₂ を 9:1 にまぜる) を用い、原形質分離法によつて細胞の生死の割合をきめた。

III. 実験結果

1. 球状マリモの凍結

直径約 2 cm の大きさの小型マリモを、24 時間凍結させた結果を第 1 表にあげた。マリモは予め 24 時間、0°C の水道水中に保つておいたものを使用し、前述の方法で凍結させた。融解は 12°C の水道水中で行つた。

第 1 表 球状マリモの凍結

凍結温度 (°C)	重量* (g)	24時間凍結融 解後の生死**	20°C の水道水中での 1 か月 後の結果
0	3.9	100% 生	正 常
-10	5.2	100% 生	正 常
-20	5.0	80~90% 生	表面の細胞褪色, その後正常
-25	3.9	30~40% 生	弾力性幾分あり
-30	3.7	10~20% 生	{ 球状のままであるが, 弾力性ほ { とんだなし
-38	4.4	死	形態崩壊, 褪色

* マリモが十分に水をふくんでいる時の目方

** 生存細胞数から計算した球状マリモ全体の生死の割合

融解後、凍結で害されたマリモは青臭さがある。又、凍つたマリモを融解すると、細胞膜に附着している珪藻類が、軽くしぼつたマリモのしぼり液の中に放出されやすくなる。凍害を受けたものは、指ではさんだ場合に、球状マリモ全体の弾力性をうしない、綿に水をふくませた場合のごとき状態となる。然し、マリモ本来の緑色はもとのままで、顕微鏡でみた場合に、原形質と細胞膜が分離したままの細胞や、細胞のところどころに白くあながあいたように見える細胞が見られる(図版I-1, 2, 3)。凍害にあつたマリモは、融解後水道水中で培養していると徐々に葉緑素を失つて褪色され、球状の構造が破壊されていく。

次に0°Cに46日間低温保存した球状マリモを1~2gずつの束にほぐして、同じ方法で各温度に2時間凍結した。その結果を第2表にあげた。第1図の凍結曲線からみると、マリモと周囲の水が凍結しおわるまでに40~50分程かかるとしても、約1時間以上は処理温度で凍結していたと考えられる。この場合、-25°C以下の温度で凍結したマリモは、完全に致命的の傷害を受けた。完全な球状マリモを-25°Cで凍結させた前回は、生きている細胞も含まれたが、全体として致命的であつた。

2. マット状マリモの凍結

次にマット状マリモ(1~2g)を、前回と同じく低温保存して、前述の方法で凍結させた結果を第3表にあげた。凍結時間は前と同じく2時間である。マリモは凍結によつて如何にひどい害をうけても、数本の枝で、ところどころの細胞は生き残ることが認められる。-40°C2時間の凍結で、やはり数本の糸状体で2, 3の細胞が原形質分離剤で分離するし、常温で融解後水道水で培養した場合、その生き残つた細胞から新しい細胞ができることが見られる。

凍結に対して、マット状マリモも球状マリモも共に-25°C以下の温度で致死の傷害をうけることがわかつた。

3. マリモ節間細胞の凍結

マリモは水中で凍結された場合、非常に強いことがわかつたが、何故凍結に強いかをその細胞の凍結様式からしらべた。カバーグラス上に水滴をおきその中に数本の枝状糸状体を封入し凍結させ、2時間後この状態のまま低温固定した³⁾。正常な細胞にくらべて、凍結中の細胞は非常に収縮している像がみられる(図版II-5)。凍結がすすむにつれ細胞外に水がとられ、その結果細胞は収縮する。このような細胞外凍結の状態に凍結に耐えている細胞は、原形質分離

第2表 球状マリモ小片の凍結

凍結温度 (°C)	2時間凍結融解後の生死
-5	100%生
-10	100%生
-20	70~80%生
-25	死
-30	死
-40	死

第3表 マット状マリモ小片の凍結

凍結温度 (°C)	2時間凍結融解後の生死
-10	100%生
-20	70~80%生
-25	死
-30	死
-40	死

の際の如き脱水と勿論異なる(図版II-6)。融解に際しては、周囲の水がとけると、水を吸収してもとの正常な細胞に戻る(図版II-4)。一方凍結によつて傷害をうけた細胞は、融解しても脱水収縮したまま凝固し、細胞膜と原形質が分離した像をとるが(図版I-2)、又は融解した細胞のところどころに緑色を失つた穴ができるのである(図版I-3)。水生植物で普通にみられるように、マリモの場合も自然状態の冷却によつて、細胞内に氷のできることはほとんどない。

4. 低温保存の影響

0°Cの恒温暗箱中の水道水中に長時間保存したマリモは、常温(約20°C)に保存しておいたものと同くべて浸透濃度(第4表)も、凍結に対する抵抗性も特に顕著な差を認められなかつた(第2表参照)。

第4表 マリモの細胞の浸透価

保存温度	浸透価 (平衡塩溶液)
室温(17°~20°C)	0.84~0.86 M
0°C(11週間)	0.84~0.86 M

5. 乾燥害

マリモの細胞をかるく濾紙でぬぐい、室温(20°C, 相対湿度61%)におくと1本の枝状糸状体では1分以内に全節間細胞が乾燥凝固する。顕微鏡下の像は、始め細胞の一端へ急激に原形質の流動がおこると、細胞の両側に葉緑体は引き分けられ、隣あつた節間細胞とはリボン状のまま90度位ひねられる(図版II-7)。このような乾燥は致命的であり、この状態のものに水を再吸収させると、充分に水を吸収して原形に戻るが、細胞内の葉緑体は破壊し、網状の構造をすっかり変えてしまう。

6. 阿寒湖での被害マリモ

阿寒湖の現地で赤茶色に変色し、パフン状になつたマリモは、弾力性を失う。外観は凍害にあつたマリモと非常ににている。顕微鏡観察によると、節間細胞は何らかの原因によつて死んでいる事は確実であるが、緑色を失つていない。細胞のところどころに穴があいた状態を示すものと、人為的に乾燥によつておこされたと同じ様式の葉緑体の凝固像がみられ、この凝固像は凍結によつておこる破壊像と非常に異なることがわかつた。凍結によつて破壊されたものは、3~4週間後、葉緑素を消失したあとも葉緑素をもつていた網状のプラスチックの構造は、常温で長期間そのまま細胞内に存在するということが特長的であるが(図版III-8)、人為的に乾燥された細胞の葉緑体は、本来の網状を完全に破壊してしまう(図版III-9)。阿寒湖の被害をうけたマリモの葉緑体の網状構造は、完全に破壊されており(図版III-10)、ところどころにその網状葉緑体の一部が認められるにすぎない。また前年度被害をうけたマリモに特長なこととは、細胞膜だけを残し、原形質は完全に消失しているが、その破壊細胞の中に健全な節間細胞がところどころで生長を始めていることが認められることである(図版III-11)。

IV. 考 察

使用した阿寒湖のマリモは、緑藻類のミドリゲ族のシオグサ (*Cladophoraceae*) に属しているが、マリモに近縁と考えられるシオグサ (*Cladophora* sp.) について Molisch (1897) が凍結実験をおこなっている⁶⁾。彼の記載によると、凍結した細胞を -8°C まで温度を低下させると、細胞は徐々に脱水されて収縮するが、アオミドロが凍つたとき程には収縮せず、約20%の氷ができたという。2時間凍結したあと融解すると、細胞は吸水して大きくなるが、原形質と膜壁とに弱い原形質分離をしていたことが認められ、この程度の凍結で彼の実験に用いたシオグサは凍死したという。これに反し、マリモの細胞は、この程度の凍結にはらくに耐えることができる。緑藻は、種によつて低温に対する抵抗性も色々であることが知られている⁷⁾。

植物細胞が凍結する場合、ふたとおりの氷のでき方がある。ひとつは耐凍性のある植物細胞に見られるもので、氷は細胞の外側だけに生じ、細胞自身は収縮してしまう。つまり細胞の中の水は細胞の外側に出されて凍るので、細胞の中には氷ができない。他のひとつは、細胞の外にはあまり氷ができず、その代り細胞の中に容易に氷が生ずる様式で、すなわち細胞の中が凍らない型と凍る型のふたとおりがあるわけである。この第一の型を細胞外凍結といい、第二の型を細胞内凍結という。細胞内凍結を起した細胞は、例外なく死んでしまうが、細胞外凍結した細胞は、耐凍性にしたがつてそれぞれある程度の凍結にたえる。Molisch が用いたシオグサも、ここで使用したマリモも、凍結に際して共に細胞外凍結をすることは確かであり、マリモ細胞は、 -20°C 附近で一昼夜凍結されても、収縮したままで傷害をうけず、細胞外凍結のまま耐えることが認められた。外界の気温の変化を直接うける樹木と違って、周囲を水でかこまれているマリモは、外界の気温が低下しても、周囲の水が凍ってしまうまで、長時間にわたりその水の凍結の際出される潜熱で 0°C に保たれ、冷却速度はきわめてのろい。又この際細胞外凍結がはじまるので細胞そのものの過冷却現象がおこらないことも、マリモが凍害を容易にうけないためのひとつの利点となる。

一般に樹木の樹皮とか、常緑樹の葉などでは秋から春にかけて、糖量と澱粉の消長が耐凍性の重要な指標として利用される。すなわち、冬は細胞中に含まれる澱粉が減少して糖量が逆に増加し、そのため滲透濃度も高まつて、耐凍性をもつようになる。この変化は低温の作用によつて進行することが確実であるが、水に沈んでいる植物には、このような変化は認められないといわれる (Lidforss 1896)⁸⁾。マリモでは、低温暗箱中保存でその滲透濃度も耐凍性の大きさも変化するものでないことがわかる。

球状マリモを室温で乾燥させて、それから水中に戻し、その後の経過を観察すると、2~3週間でその球状構造が崩壊し、徐々に赤茶色に変色しパフン状になり、丁度綿に水をふくませたように指でおさえた際にも、弾力性が失われていることがわかる。完全に乾燥枯死したと思われる状態のマリモも、数か月後に崩壊した組織の一部から、緑色の新しい糸状体が放射状に発育してくることが見られ、阿寒湖での被害マリモの中にも、本年度以前に被害をうけた組織

の中に、新しい細胞からの分枝糸状体を発見できる。乾燥傷害が凍結による傷害とくらべて致命的となるのは、細胞からの水のとられ方の違いからであろう。すなわち、凍結の際の脱水は、水分がゆるやかに細胞外にとられるのにくらべ、植物細胞が乾燥状態におかれて水分がとられる時は、液胞の体積は減少し、このため細胞質は収縮して細胞膜から離れようとする。しかし細胞質は膜から離れることができず、細胞質は内外から反対方向にひかれ機械的破壊作用をうけ致命的傷害をこうむると考えられる。

阿寒湖のマリモは、近年その本来の美しい緑色を失い、赤茶色を呈し、又は枯死するものもあるが、これら被害をうけたマリモは、凍結と乾燥についての以上の実験より考察すると、明らかに乾燥によつて傷害をうけたと思われる。

摘 要

阿寒湖の球状マリモならびにマット状マリモについて、その凍害と乾燥害についての実験を行つた。氷点下の種々の温度で、マリモを凍結させ、その致死温度をしらべたが、 -20°C で24時間の凍結にもよく耐えることができ、それ以下の温度では凍死する。マリモの凍結様式は、細胞外凍結で、細胞内に氷はできない。融解に際しては、とけた水を細胞内へ吸水してもとの正常な細胞に戻ることができる。球状マリモとマット状マリモの間には、凍結に対しての性状に差はなかつた。また、低温保存による滲透濃度ならびに耐凍性の変化は見られなかつた。

マリモ細胞の乾燥害は、空気中におかれることにより容易におき、致命的傷害となる。凍死細胞と異なり、乾燥によつて死んだ細胞は、マリモ細胞がもつ網状葉緑体が機械的に破壊されており、褪色細胞で容易に区別することができる。

以上の実験結果から、阿寒湖において赤茶色に変色しパフン状になつた被害マリモについて、その原因を考察してみると、このような被害は主として乾燥によるものと思われる。

最後に、この研究の動機を与えられ、実験材料について種々御配慮をいただいた、北大理学部山田幸男教授、ならびに阪井与志雄氏に、また研究上に有益な御教示をいただいた当研究所朝比奈英三教授に感謝する。

文 献

- 1) 阪井与志雄 1952 マリモの形態. マリモ調査報告 (昭和25, 26年度), 57.
- 2) Fritsch, F. E. 1948 The structure and reproduction of the algae. Volume I.
- 3) 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.
- 4) ——— 1958 藻類の凍死. 藻類, **6**, 99.
- 5) ——— 1957 タマネギの耐凍性について. 低温科学, 生物篇, **15**, 39.
- 6) Molisch, H. 1897 Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Jena.
- 7) Höfler, K. 1951 Cold resistance of some upland bog algae. Verh. Zool. Bot. Ges. Wien, **92**, 234 (Biol. Abstr., 25, 32786, 1951).
- 8) Levitt, J. 1956 The Hardiness of Plants. Academic Press, N. Y.

Résumé

Resently, lake-balls (*Aegagropila Sauteri* (Nees) Kütz.) in Lake Akan are very frequently found to be brown, and not to possess the beautiful green color of normal lake-balls. This may be perhaps because of the frost and drought injury due to decrease of lake water from late autumn to spring. The present report is concerning the frost and drought injury of lake-balls.

To examine the frost resistance, the lake-balls were covered with a mixture of frost crystals and water, and then were exposed to low temperature. After being frozen for 24 hours, the lake-ball was thawed at room temperature. It can be concluded as results of the experiment, that the lake-balls can tolerate freezing at -20°C ., without death at least for 24 hours. When the algae was frozen at temperatures below -20°C ., the percentage of survived cells was always less than 30%. The fixed pattern with a cold fixative in lake-ball filaments suggested the occurrence of extracellular freezing in the cells.

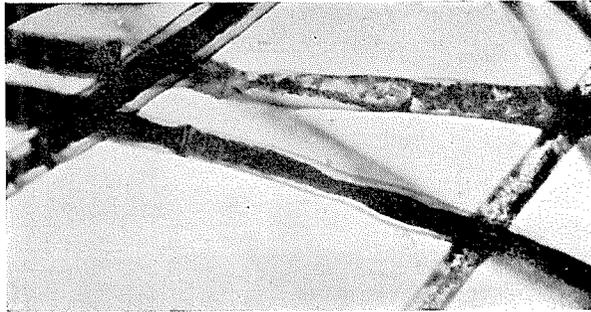
In the cells of this algae, drought injury easily occurred in open air at usual room temperature. This resulted in fatal injury to the cells. The cells killed by drought injury are easily distinguished by the destruction of the net-like structure of connected chloroplast, differing from the damage by frost injury.

As a result of above observations it is concluded that lake-balls are very tolerant to freezing but very weak under drought conditions.

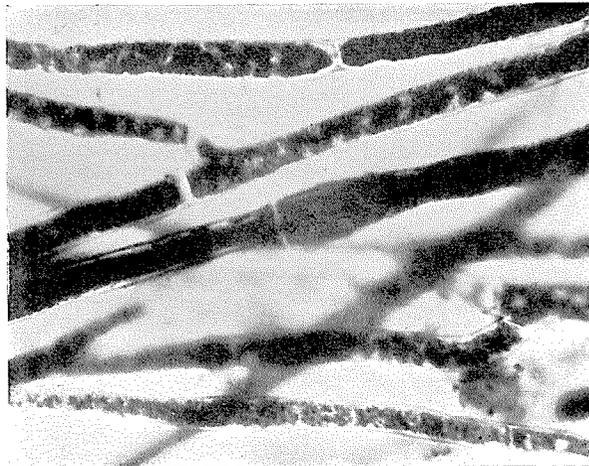
第1図 マリモをつくっている糸状体。
×100

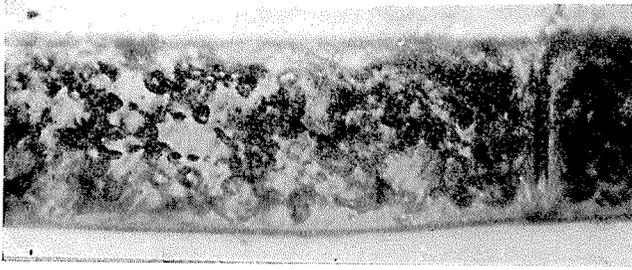


第2図 -25°C で2時間凍結し、融解後の死細胞。細胞膜と原形質が分離凝固している像が見られる。 ×100

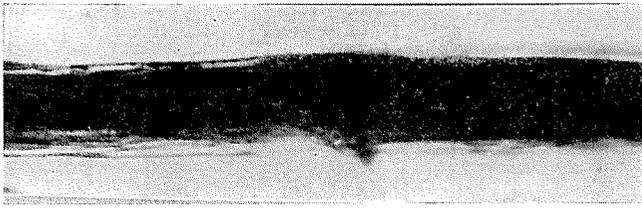


第3図 -25°C で2週間凍結し、融解した死細胞。細胞のところどころに穴のあいているのが見られる。 ×100

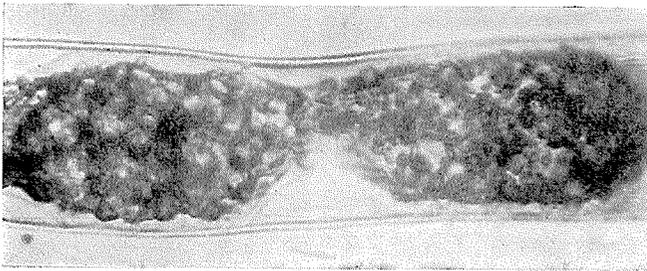




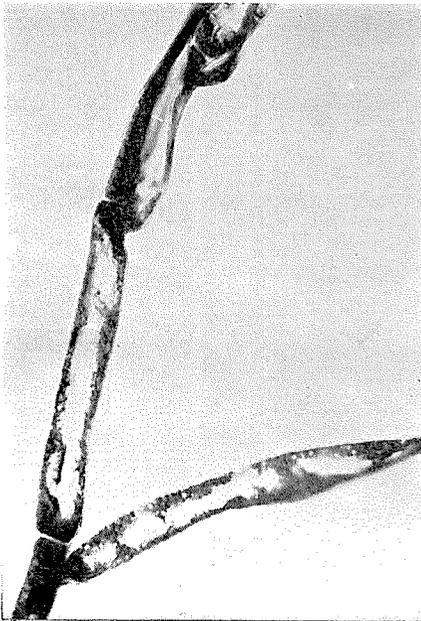
第4図 正常なマリモの細胞。網状の葉緑体が見える。 ×360



第5図 -20°C, 2時間凍結後低温固定したもの。脱水されたこの状態で凍結に耐える。 ×360

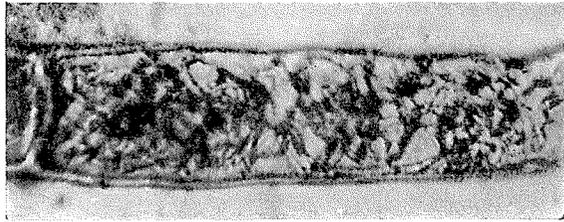


第6図 正常な細胞の原形質分離像 (原形質分離剤=1 M 平衡塩溶液)。 ×360

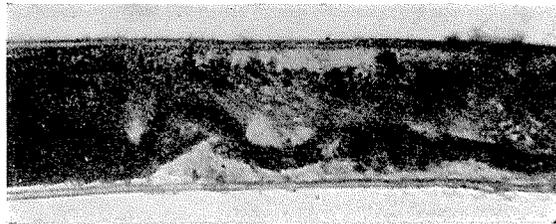


第7図 室温で乾燥した糸状体。葉緑体が細胞膜側にひつばられて、網状構造は破壊されてしまう。 ×100

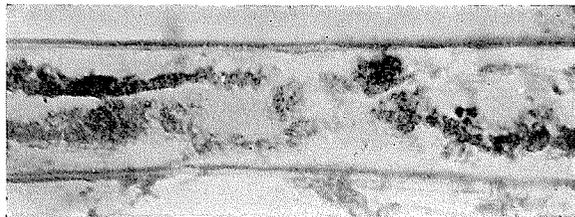
第8図 -38°Cで24時間凍結し、融解後室温で水道水で培養中、葉緑素を失った凍死細胞。網状構造が残っている。
×360



第9図 人為的に乾燥して、水道水に戻した乾燥死した細胞。葉緑体は破壊し凝固しているが、網状構造は見えない。
×360



第10図 本年度阿寒湖で被害をうけた茶色になつたマリモの死細胞。乾燥して破壊した細胞とにている。
×360



第11図 昨年度阿寒湖で被害をうけたマリモ。細胞膜だけを残している死細胞のかたまりの中に、新しい細胞がところどころに見える。
×100

