



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アナアオサの耐凍性
Author(s)	照本, 勲; TERUMOTO, Isao
Citation	低温科学. 生物篇, 18, 35-38
Issue Date	1960-11-04
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17635
Type	departmental bulletin paper
File Information	18_p35-38.pdf



ア ナ ア オ サ の 耐 凍 性*

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

古くから植物生理学者は、寒冷、乾燥、熱などの環境要因が、植物細胞にどのように作用し、影響を与えるものであるかを、その抵抗性から研究をすすめてきた。上述の要因に対する抵抗性は、種がちがつたり、又同じ植物でも異なつた器官や組織間で、いろいろと異なるものである。海藻を材料としては、Biebl^{1),2),3)}によつて寒冷、熱、滲透濃度等に対する抵抗性が研究されてきた。その結果、種々の海藻はその生育する場所によつて、いろいろな要因に対する抵抗性を変えることが確かめられ、彼はその植物のもつ抵抗性の生態的な意義を強調してきた。又、Kanwisher⁴⁾は、数種の潮間帯の海藻を使用して、凍結によつて酸素呼吸の低下がおきることから、その原因は単なる脱水によるものか、又は塩分の増加によるものであるかという面から、海藻の凍結を研究してきている。

本実験に使用したアナアオサは、体制が簡単であり、細胞への水の吸収なども単細胞植物と殆んど同様に簡単に行なわれる性質をもち、又、寒さに対しても生態的な適応性をもつていると考えられる海藻である。この実験は、葉状体の致死温度の測定と、その凍結様式とを細胞学的に調べ、その耐凍性を考察したものである。

II. 方 法

使用したアナアオサ *Ulva pertusa* Kjellman は 9 月下旬に、北海道小樽市忍路臨海実験所付近で採集されたもので、使用するまで 10°C の海水中に保存した。氷点下の種々の温度に対する抵抗性の実験は、小ペトリ皿 (径 3 cm, 高 2 cm) に海水 2 cc を入れ、その中に約 2×2 cm の大きさに切つた扁平葉状体小片をつけ、種々の温度にさらし、適宜植水してやり、容器中の海水の氷結が始まつてから、それぞれ 24 時間凍結せしめた。その後、室温で融氷して中性赤溶液 (1:10,000) で染色した。生きている細胞には、容易に中性赤溶液が透入し、細胞内に金米糖状又は星状に赤く染まつた部分が現われる。更に原形質分離法をも利用して、その細胞の生死を判定した。原形質分離剤としては、1 M 平衡塩溶液 (NaCl 等調) を用いた。固定処理は、-17°C で 4 時間、低温固定して、その後室温で脱水しサフラニン溶液で染色後、顕微鏡観察を

* 北海道大学低温科学研究所業績 第 565 号

行なつた⁵⁾。この場合の切片の凍結方法は、カバーグラス上に一滴の海水をおき、その中に1×1 cm に切つた葉状体切片を入れて凍結させ、カバーグラス共、冷固定液(エタノール+氷酢酸, 19:1 容積)に入れて固定した。

III. 実験結果

(1) 細胞学的観察

アナアオサの組織は、扁平葉状体からできており、体中に多くの穴をもっている。生長するにしたがい穴はひろがり、更に不規則に分裂して裂片を生じ、ふちは波縮している。扁平葉状体は、密接した二層の細胞からなり、各細胞は幅 10~15 μ 、長さ 40~50 μ の細長い形をして、葉状体の表面に垂直にならんでいて、組織は細胞間隙をもたない。この細胞の原形質分離の限界濃度は 0.55 M (NaCl 等調) であつた。

(2) 耐凍性

正常な細胞は、中性赤溶液を用いた生体染色で、前述のように細胞に金米糖状、又は星状の部分のみが明瞭に染色される(図版 I-1, 2)。凍結によつて死んだ細胞は、融解後中性赤で染色されず、顕微鏡によると原形質が凝固してしまつてることが分る(図版 I-3)。凍死によつて凝固した細胞の原形質は、細胞膜よりはなれ、やや中央部に凝固していることが認められる(図版 I-3 の右上部の細胞)。凍死した細胞では、色素体の形も色も、ピレノイドもほとんど変化なく、細胞膜の収縮も認められない。

第1表 アナアオサの耐凍性

凍結温度 (°C)	24時間凍結融解後の染色性(中性赤)	原形質分離の有無
0	+	+
-5	+	+
-10	+	+
-15	-	-
-20	-	-
-28	-	-

アアナアオサは -10°C で 24 時間の凍結に耐えることができるが、それ以上の低温では凍死する。その結果は第1表にあらわした。

(3) 低温固定像

低温固定は、細胞が凍結している際の原形質の状態を知るために行なつた。低温固定したものでは、染色途中に二層の細胞よりなる葉状体は、上下の二層にわかれ、一層ずつになるのが特徴的である。-10°C と -17°C で各 17 時間凍結したものを、凍結の状態のまま固定した。固定像は、原形質が膜より離れて収縮した、いわゆる凍結原形質分離像⁶⁾をあらわし、この状態で細胞外凍結をしているものと思われる。凍死したものでは、原形質の収縮はそれほどはつきりしていない(図版 II-4, 5)。

IV. 考 察

緑藻であるアナアオサは、比較的強い海藻であつて、わが国の全沿岸に分布し、主に内湾、浅所に多く生育し、一年を通じて見ることができる。この *Ulva* 属の海藻は、現在まで二三寒

冷抵抗実験に使用されてきた。例えば、Biebl²⁾によつて、*Ulva lactuca* と *Ulva cf. olivacea* が使われているが、前者は -8°C で 12 時間凍結しても生存でき、後者は -2°C で 12 時間の凍結に耐えることができても、 -8°C で 12 時間の凍結によつて凍死するといわれる。この凍死細胞が融氷されると、原形質はほぼ凸型又は重複凸型の偽原形質分離 (Pseudo-plasmolysen) をおこして死んでいるのが見られるが、葉緑体の形態も、その位置も、色も変化しないという³⁾。この両者の寒冷に対する抵抗性の差は、前者が潮間帯の海藻であり、後者がそれより深い漸深帯 (5~25 m) に生育する海藻であるので、Biebl はその生態的適応性質から、この抵抗性の説明を与えている。潮間、潮汐帯に生育する藻類と、それより深いところに分布している藻類とでは、明らかに生理的な違いがあり、当然寒冷抵抗性にも差異を生ずる⁷⁾。潮汐藻類が -8°C の凍結に容易に耐えられるのに、深海藻類では、海水の凍結もおこらない -2°C 付近で、すでに細胞の生活現象が最低の状態になり、30 種の漸深帯藻類のうち、約半数が -2°C で部分的に、又は全組織が冷死したことが報告されている²⁾。

Ulva 属と *Enteromorpha* 属を含むアオサ科 (Ulvaceae) の植物では、細胞が死んでも膜の収縮が少なく、葉緑体はほとんど変化しないのが特徴的であるという³⁾。故に分類学的に近縁関係にある *Enteromorpha* は、やはり寒冷に強く、*Enteromorpha compressa* は -8°C で 12 時間の凍結に耐えることができ²⁾、*E. clathrata* (Roth) Greville は -15°C 、21 時間の凍結で凍死することはなかつたという¹⁾。又、*E. intestinalis* は $-18\sim-20^{\circ}\text{C}$ の低温に 10 時間後でも生存することができる^{7),8)}。

藻類全般に、寒冷に対して抵抗性をもっているものは、熱、滲透濃度等に対する抵抗性も同じように大きいのが普通であり⁷⁾、乾燥についても同じような事がいえる。*Ulva lactuca* は、乾燥にも強く、77% の水を失なつても、再び海水に戻すと生存することができ、*Enteromorpha linza* は最高 84% の脱水にも耐えることができる⁴⁾。又、滲透濃度については、特に緑藻は、褐藻、紅藻の原形質にくらべてたとえ同じ深さの海に分布しているものでも、明らかに高い滲透抵抗をもっている。

本実験に使用したアナアオサは、潮間帯に分布する *Ulva lactuca* にて、寒冷抵抗性も割合に大きく、 -10°C 、24 時間の凍結には容易に耐えることができた。このような凍結条件を与えても、融氷後は正常に生存できることが分つた。又、固定細胞像から明らかになつたことは、凍結に際して、細胞間隙をもたないこの組織では、細胞膜と細胞質との間に氷ができ、このため細胞から水がとられ、細胞質は収縮して、凍結原形質分離を生ずる。 -10°C 、24 時間程度の凍結では、このように原形質の収縮したままで凍結に耐えることができる。同じく細胞間隙をもたないコケの組織では、凍結によつて二次的に細胞間に割れ目を生ずることがみられているが⁹⁾、このアナアオサの組織では、そのような事実は認められなかつた。

摘 要

体制が比較的簡単なアナアオサの扁平葉状体を用いて、氷点下の種々の温度で凍結させた

場合の致死温度をしらべた。この緑藻は、潮間帯に分布する海藻として、低温に対する抵抗性は割合に大きく、 -10°C 、24時間の凍結にもよく耐えることができるが、 -15°C で24時間では凍死をおこした。低温固定像から、凍結中のアナアオサの細胞は、原形質が収縮して凸型凍結原形質分離の状態、凍結に耐えていることが明らかになった。温度がより低下すると、凸型凍結原形質分離のまま凍死(凝固死)をおこしてしまう。故に、アナアオサの凍結様式は、細胞外凍結で、原形質内に氷はできない。凍結に耐えた細胞は融氷に際して、とけた水を原形質内に吸水して、もとの正常な細胞にもどることができる。

御校閲の労をとられた朝比奈教授に感謝する。

文 献

- 1) Biebl, R. 1956 Zellphysiologisch-ökologische Untersuchungen an *Enteromorpha clathrata* (Roth) Greville. Ber. Dtsh. Bot. Ges., **69**, 75.
- 2) Biebl, R. 1958 Temperatur- und osmotische Resistenz von Meeresalgen der bretonischen Küste. Protoplasma, **50**, 217.
- 3) Biebl, R. 1959 Das Bild des Zelltodes bei verschiedenen Meeresalgen. Protoplasma, **50**, 321.
- 4) Kanwisher, J. 1957 Freezing and drying in intertidal algae. Biol. Bull., **113**, 275.
- 5) 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.
- 6) Asahina, E. 1958 The freezing process of plant cell. Cont. Inst. Low Temp. Sci., **10**, 83.
- 7) 照本 勳 1958 藻類の凍死. 藻類, **6**, 99.
- 8) Kylin, H. 1917 Über die kälteresistenz der Meeresalgen. Ber. Dtsh. Bot. Ges., **35**, 370.
- 9) Modlibowska, I. & Rogers, W. S. 1955 Freezing of plant tissues under the microscope. J. Exp. Bot., **6**, 384.

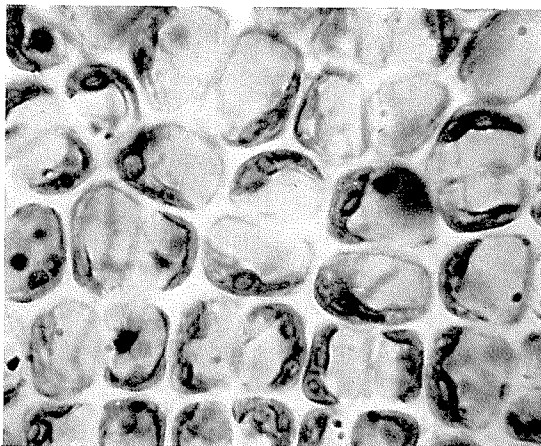
Résumé

To examine its frost-resistance, a marine alga *Ulva pertusa* Kjellman was subjected in sea-water to graded temperatures from 0°C to -28°C .

As a result of the experiment it was concluded that the algae can tolerate freezing at -10°C without death at least for 24 hours. The fixed pattern with a cold fixative in marine algae cells observed under microscope shows the occurrence of frost-plasmolysis in the cells (Plate II-4). In those frozen in this way intra-cellular freezing does not occur. In this algae freezing of the tissue at temperatures below -15°C results in fatal injury to the cells.

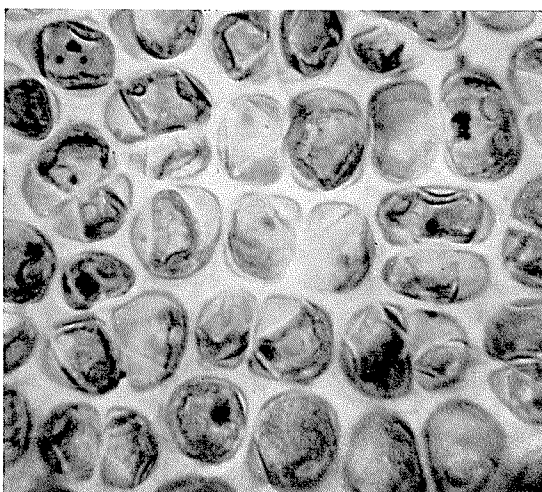
第1図 正常なアナアオサの細胞 (横断面)。
縦断面では、いつれの細胞にも中性赤で
染色された金米糖状又は星状の部分が見
られる。

× 840



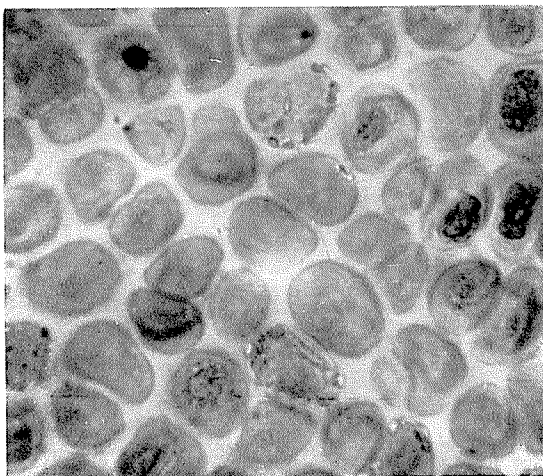
第2図 正常な細胞の原形質分離像 (原形質
分離剤, 1 M 平衡塩溶液)。

× 840



第3図 -20°C , 24 時間凍結し, 融解した凍
死細胞。生き残った, ただ一つの細胞が
左上部に中性赤で染色されているのが見
られる。

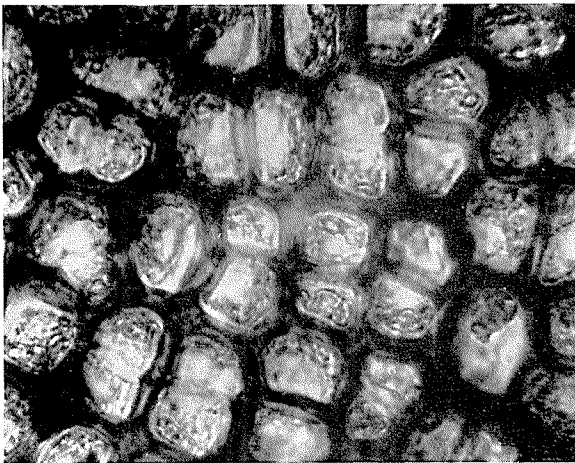
× 840





第4図 -10°C , 17時間凍結後, 低温固定し染色した細胞。原形質が膜より離れて収縮した, この状態で凍結に耐えている。

× 840



第5図 -17°C , 24時間凍結後, 低温固定し染色した細胞。凍死細胞。

× 840