



Title	冬の潮間帯に生育する海藻の耐凍性
Author(s)	照本, 勲; TERUMOTO, Isao
Citation	低温科学. 生物篇, 22, 19-28
Issue Date	1964-10-20
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17678">https://hdl.handle.net/2115/17678</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	22_p19-28.pdf



## 冬の潮間帯に生育する海藻の耐凍性\*

照 本 勲  
(低温科学研究所 生物学部門)  
(昭和 39 年 7 月受理)

### I. 緒 言

著者は数年前から北海道沿岸の潮間帯付近に分布するアナアオサ、ボウアオノリなどの海藻について凍死温度、低温固定像からみた凍結様式、原形質分離の害に対する抵抗性などをしらべ、これを手がかりとして海藻の耐凍性について報告をつづけてきた<sup>1,2)</sup>。

今回は、冬期間に北海道西海岸の潮間帯に生育する緑藻ヒビミドロ、ウスバアオノリ、エゾヒトエグサ、紅藻ウシケノリ、ウップルイノリ(♀, ♂)、スサビノリ、オオノノリの各海藻について、凍死温度、凍結像、温度処理による耐凍性の変化、原形質分離の害に対する抵抗性などから、これらの海藻の耐凍性と生態的現象である生育最盛期、着生帯との関係を考察した。

この研究の材料採集に御協力下さった、北海道立釧路水産試験場川嶋昭二氏、当低温科学研究所丹野皓三氏、和田実男氏、理学部山田家正氏、並びに同定を願った理学部舟橋説往氏に深く感謝する。

### II. 材 料 と 方 法

実験に使用した海藻と、採集場所、採集時期、主なる着生帯\*\*とを次にあげた。

- 緑 藻 ヒビミドロ *Ulothrix flacca* (Dillwyn) Thuret 寿都郡寿都町 1月中旬。  
満潮線上 1.5 m 付近まで着生、ウシケノリとよく混生する。
- 〃 ウスバアオノリ *Enteromorpha linza* (L.) J. Ag. 小樽市桃内町 1月下旬、  
2月中旬。主に満潮線上 1.5 m 付近まで着生、潮だまり、湾内の石又は杭の上  
などに好んで生える。
- 〃 エゾヒトエグサ *Monostroma angicava* Kiellman 小樽市桃内町 2月中旬。  
潮間帯下部から漸深帯上部の岩上又は他の海藻の上に生える。
- 紅 藻 ウシケノリ *Bangia fusco-purpurea* Lyngb. 寿都郡寿都町 1月中旬。  
干潮線より上部 1.5 m 付近まで着生する。
- 〃 ウップルイノリ(♀, ♂) *Porphyra pseudolinearis* Ueda 寿都郡寿都町 1月  
中旬。主に飛沫帯(満潮線から上方 1.5 m 位まで)に多く、岩石、貝殻に多くつ

\* 北海道大学低温科学研究所業績 第 678 号

\*\* 川嶋・福原(1960)<sup>3)</sup>、船野(1963)<sup>4)</sup>による。

く他、比較的波浪のあたる所にあるヒバマタ、エゾイシゲに着生する。

- 紅 藻 スサビノリ *Porphyra yezoensis* Ueda 島牧郡島牧村原歌 3月下旬。  
潮間帯上部から漸深帯下部の比較的波浪の少ない所で、岩石、貝殻などに多く着生する。
- 〃 オオノノリ *Porphyra onoi* Ueda 余市郡余市町 5月上旬、小樽市忍路町 5月下旬。潮間帯下部から漸深帯上部で干潮線上下の狭い範囲に着生する。特にエゾツノマタ、アカバギンナンソウなどの海藻に付着する。

各海藻は採集後 0°C の海水中に保存した。海水は時々新しいものと代えた。氷点下の種々の温度に対する抵抗性の実験は、前回<sup>2)</sup>と同じ小ペトリ皿に海水 2 cc を入れ、その中に緑藻類は約 1 × 1 cm の組織切片数片、アマノリ類は数個体、ウシケノリ、ヒビミドロは数拾本の糸状体組織を入れ、種々の温度の恒温箱中におき、適宜植水して小ペトリ皿の海水の氷結が始まってから、それぞれ 24 時間凍結させた。なお -40°C から -70°C までの温度は、低温室(常時 -35°C) 内で、スチロポールで蓋をして予め冷却させた魔法瓶内にドライアイスを適量入れ、その魔法瓶内にできる安定した温度成層を利用し、試験管(内径 15 mm) に海水 5 cc と共に入れた試料を凍結させた。所定の時間凍らせた試料は、室温で融水してから中性赤溶液(1:10,000)で染色した。紅藻類の生死の判別は、生体染色をしなくても顕微鏡観察は容易であったが、正確を期するために中性赤で染色して判定した。生きている細胞には、容易に中性赤溶液が透入した。また原形質分離剤として、1 M 平衡塩溶液(NaCl 等張)を用いた。次に低温での固定処理は、試料を各凍結温度で 4 時間低温固定し<sup>3)</sup>、その後室温で脱水し、サフラニン、ヘマトキシリン溶液で染色後、顕微鏡観察した。切片の凍結方法は、カバーガラス上に一滴の海水をとり、その中に数 mm の長さ切った切片を入れ凍結させ、所要時間後カバーガラス共、冷固定液(エタノール+氷酢酸, 19+1 容積)に入れて固定した。

原形質分離による害は、1 ~ 5 M の各平衡塩溶液(NaCl:CaCl<sub>2</sub>:9:1)中に組織を 10 分間入れ、十分に原形質分離させ、次ぎに脱イオン水に移し、再び 1 M 平衡塩溶液で原形質分離させた結果から観察した。

### III. 結 果

#### 1. 凍死温度

各試料を氷点以下の種々の温度で海水とともに 24 時間凍結させた。融解後の細胞の生死は、生体染色ならびに原形質分離法できめた。その結果は第 1 表にあげた。表からわかることはウップルイノリの雌性体は、雄性体にくらべ幾分耐凍性が小さく、この方法では -55°C に凍死温度(平均生存率 50%)があった。また原形質分離の害に対する抵抗性(後述)が、この実験で使用した海藻中最も大きかったスサビノリでは、ウシケノリ、ウップルイノリにくらべて抵抗性が小さく、-35°C、24 時間凍結が生存の限界であったが、-70°C、24 時間凍結後もわずかの細胞が生存できた(図版 VII-18)。紅藻類は緑藻類にくらべて一般に寒冷に対する抵抗性大きく、春に生育の最盛期(繁茂期)をもつオオノノリを除き、他のものは -35° ~ -55°C 付近まで

第1表 各種の海藻の耐凍性 (24時間凍結)

種 類	凍 結 温 度									
	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C	-35°C	-45°C	-55°C	-70°C	
緑藻 ヒビミドロ	+*	+	+	+	+	-	-			
ウスバアオノリ	+	+	+	±	-	-				
エゾヒトエグサ	+	+	+	±	-	-				
紅藻 ウシケノリ	+	+	+	+	+	+	+	±	-	
ウップルイノリ (♀)	+	+	+	+	+	+	±	±	-	
ウップルイノリ (♂)	+	+	+	+	+	+		±	±	
スサビノリ	+	+	+	+	+	±	-	-	-	
オオノノリ	+	+	-	-						

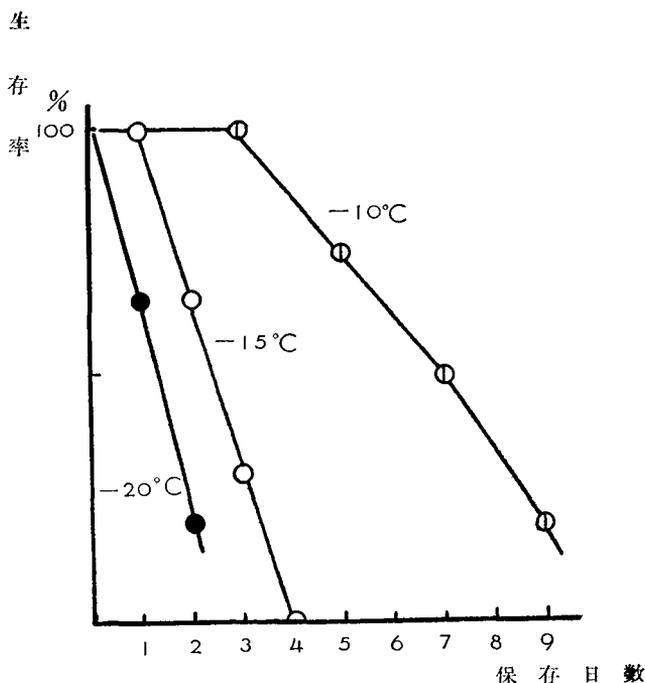
\* + (100%生存), ± (約50%生存), - (凍死)

の低温にたえ、ウップルイノリの雄性体では-70°C, 24時間凍結した後でも融解後は約50%は生存することができた(図版VI-15)。またウップルイノリとほとんど同じ場所に生育しているウシケノリも非常に寒さに強く、-55°C, 24時間の凍結で約50%の細胞が生きのこった。

緑藻のヒビミドロは-25°C, 24時間の凍結で融解後全部の細胞が生存できたが、-35°Cの凍結では完全に凍死した。ウスバアオノリ, エゾヒトエグサは、同じ緑藻であるヒビミドロより抵抗性が小さく、-20°C, 24時間の凍結で約50%の細胞が凍死した。両海藻の-10°C, -15°C, -20°Cでの長時間凍結

による生存率の変化は第1図, 第2図にあらわした。両海藻とも、-15°Cで4日間連続凍結すると、ほとんど全部の細胞が凍死してしまった。比較的高い温度である-10°Cでは徐々に凍死する細胞が多くなり、9日目ウスバアオノリでは80%の細胞が、エゾヒトエグサでは35%の細胞が凍死した。最も強いウップルイノリでは、-35°Cで7日間凍結後、雄性体では50%、雌性体では10~20%しか生存できる細胞はなかった。13日目には、どちらも100%凍死した。

以上のことから、第1表に示された致死温度より高い温度で凍結されても、これらの海藻

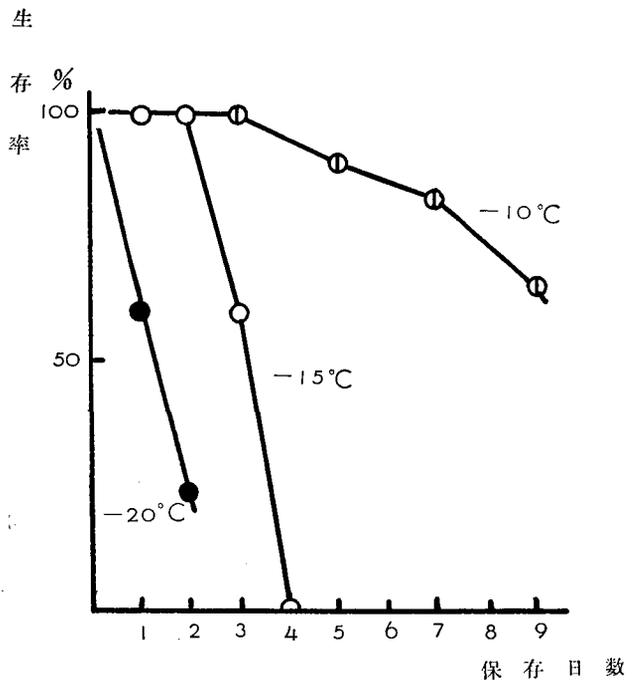


第1図 -10°C, -15°C, -20°Cにおけるウスバアオノリの耐凍性

は凍結中徐々に細胞の生存率は低下してくることがわかった。

## 2. 海藻の凍結像

各海藻について、凍結中の原形質の状態を知る目的で低温固定像をしらべた(図版 II-5, III-8, IV-10, V-13, VI-16, VII-19, VIII-22)。低温固定像は、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をあらわし、この状態で細胞外凍結をしていると思われる。各細胞とも細胞外凍結での氷の生長のため原形質が脱水収縮され凸型凍結原形質分離のまま、あるものは耐え、あるものは凝固死をおこしてしまったものと思う。



第2図 -10°C, -15°C, -20°Cにおけるエゾヒトエグサの耐凍性

凍結融解後の死細胞では、ヒビミドロ(図版 I-2)を除き、他のものは常温にもどしても凝固死をおこしたままの形で、固定したものとの間に、凍結像の形態、大きさの差がなかった(図版 VIII-21, 22)。ヒビミドロは融解後もとの形にもどった(図版 I-2)。また固定像からの脱水収縮の程度を比較するとき、凍結温度が同じ-30°Cの場合、ウップルイノリの雌性体(図版 V-13)とスサビノリ(図版 VII-19)では、ほとんど差がなく、同じ凍結温度(-30°C)でのウシケノリの糸状体(図版 IV-10)では、前二者の葉状体海藻の細胞よりも収縮程度が大きいことが認められた。

## 3. 20°C 処理による耐凍性の変化

海藻類を種々の温度で長期間保存して、その海藻が本来もっている耐凍性を変化させる研究は今まで報告されていない。本実験では緑藻ウスバアオノリとエゾヒトエグサを用いた。20°Cに所要日数保存して、凍死温度測定(II. 材料と方法の章参照)と同じ方法を用い、各24時間凍結、融解後の細胞の生存率を第2表にあらわした。両海藻とも、採集時の約2°Cの海水から0°Cの海水に移された対照(第2表の0の欄)と比較して、12~14日間ではほとんど耐凍性に影響はなかったといえる。両海藻とも10日以後、-15°C, -20°C 24時間凍結後に生存率がやや低下したのは、生態的条件と異なり、暗黒で保存したための影響と思われる。その他、形態学的には両者の間に差異は認められなかった。

第2表 20°C (暗黒) 処理後の耐凍性の変化  
(各24時間凍結融解後の生存率)

日数	ウ ス バ ア オ ノ リ				日数	エ ゾ ヒ ト エ グ サ			
	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C		-10°C	-15°C	-20°C	-25°C
0*	100	100	60	0	0	100	100	50	0
2	100	100	65	0	2	100	100	50	0
5	100	100	65	0	5	100	100	50	0
7	100	100	50	0	7	100	100	50	0
14	100	80	40	0	12	100	60	20	0

\* 採集時、気温-3~-6.5°C、海水温約2°C。採集後、引続き0°C (暗黒) 保存のものを対照としたが、長期間耐凍性の変化は認められなかった

4. 原形質分離の害に対する抵抗性

細胞が高張溶液中で脱水され原形質分離する際、媒液が高張であればある程脱水された細胞の原形質には、凝固しないためのある種の強さが必要となる。従って段階的に高い濃度の原形質分離液を使うことによって、細胞の脱水収縮に対する原形質膜の抵抗性を観察することが可能である。第3表には各海藻の原形質分離限界濃度と、種々の濃度の平衡塩溶液で原形質分離したあとの生存率をあらわした。

第3表 原形質分離の害に対する抵抗性 (生存率%)

種	類	分離限界濃度 (NaCl 等張)	分離液の濃度								
			1 M	2 M	2.5 M	3 M	3.5 M	4 M	4.5 M	5 M	
緑藻	ヒビミドロ	0.85 M		100	100	100	0				
"	ウスバアオリ	0.63 M	100	100	60-70	0					
"	エゾヒトエグサ	不明瞭*	100	100	60-100	0					
紅藻	ウシケノリ	0.83 M		100	100	50		10		0	
"	ウップルイノリ (♀)	0.83 M		100		100		30		0	
"	" (♂)	0.83 M		100		100		20-30		0	
"	スサビノリ	不明瞭		100		100	100	100	50	0	
"	オオノノリ	不明瞭	100	100		10	0				

\* 原形質分離法では細胞間充質と原形質膜との分離の限界がはっきりしなかった。オオノノリは正常なものでも原形質が間充質より分離しているものが多かった

紅藻は一般に緑藻に比較して抵抗性が大きかった。緑藻ではヒビミドロが比較的抵抗性が大きかった。特にスサビノリは最も高張の媒液に耐え、4.5 M で処理後も約50%の生存率を示した。紅藻中ではオオノノリが最も抵抗性が小さく、3 M で処理されると約10%しか生存できなかった。ウシケノリ、ウップルイノリは4 M で処理後10~30%の生存率を示した。

IV. 考 察

海藻類の寒冷抵抗性についての比較研究は Biebl によって行なわれてきた<sup>6,7)</sup>。彼は海藻が

着生帯（潮間帯，低潮線，漸深帯）のちがいによって低温に対する抵抗性に大きな差があることを報告しているが，冬に生育期間をもっている海藻についてはまだしらべられていない。ただひとつ Parker がヒバマタの一種 (*Fucus vesiculosus* L.) を用いて一年間の耐凍性の変動を測定しているだけである<sup>9)</sup>。冬の花藻ははげしい気象条件にさらされている。特に干潮時の花藻は，きびしい冬の低温度にさらされ，異常な塩分の濃縮状態や，また乾燥状態におかれる。この実験は，以上のような最も寒冷のはげしい冬に，潮間帯に生育している花藻類の耐凍性を比較し，これと生態的な諸現象との関連を知ろうとして行なったものである。

実験に使用した花藻は種類としては多くはないが，これらは冬の花で生育する花藻類の中で最も主要で浅海増殖上重要な花藻ばかりといえる。これらの花藻はオオノリを除いて一般に耐凍性が高く，殊にアマノリ属のうちウップルイノリの雌性体は $-70^{\circ}\text{C}$ ，24時間の凍結融解後でも約50%の細胞が生存できた。雌性体は幾分耐凍性が低いが，ウシケノリと同じく $-55^{\circ}\text{C}$ ，24時間の凍結にたえた。スサビノリは $-35^{\circ}\text{C}$ ，24時間の凍結に耐えた。Kylin<sup>9)</sup>は *Porphyra hiemalis* で，Biebl<sup>6)</sup>は *Porphyra leucosticta* で共に寒冷に対する抵抗性を調べているが，凍死温度はきめていない。

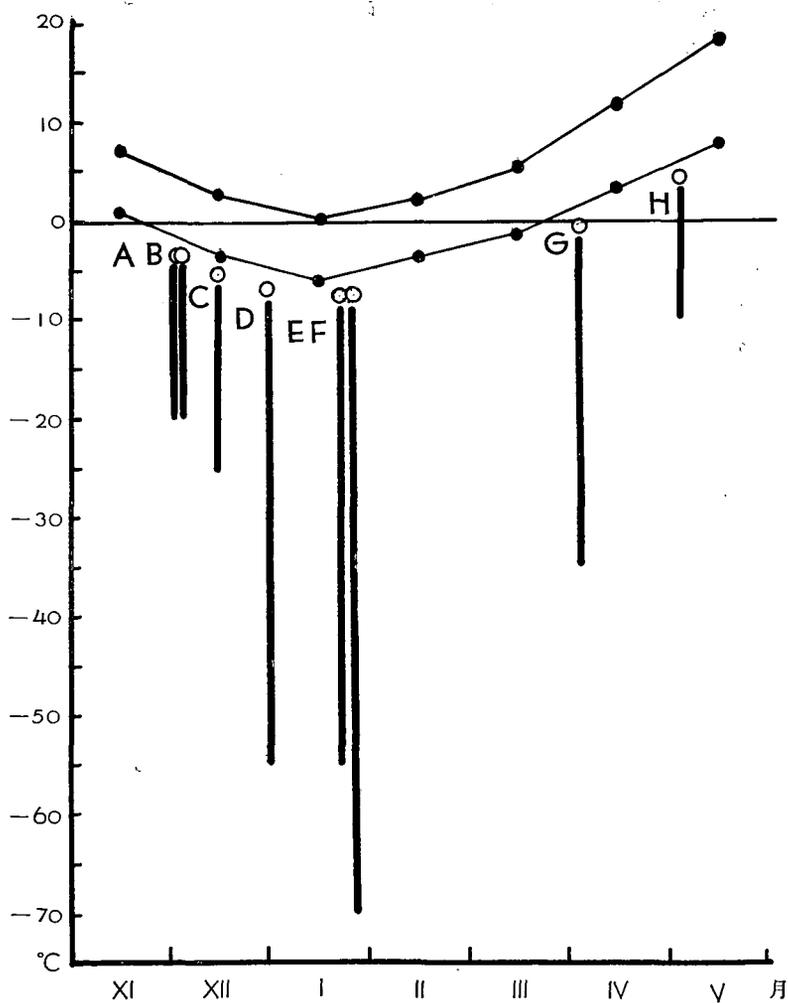
またこれらの花藻は，凍死温度（第1表）より高い温度で凍結されても，時間が長いと徐々に生存率は低下してくる（第1図，第2図）。この原因についてまだ明瞭な解釈はされていない。

次にこれらの花藻における原形質分離の害に対する抵抗性は，自然環境における濃縮海水への抵抗性と平行的な関係があるようにみえる。高い内部浸透圧をもつ細胞は，潮間帯又は飛沫帯で大気中に露出された場合，当然おこる細胞周囲の海水の塩分の濃縮に対し，その膨圧を保持していることができる。これらの抵抗性は，花藻の着生帯により異なり，潮間帯のものは3倍濃縮海水に24時間も耐えることができるが，低潮線のものでは2倍濃縮海水にも抵抗できず，漸深帯のものでやっと1.5倍濃縮海水に耐えることができるという<sup>10)</sup>。本実験では，スサビノリの耐凍性は，ウップルイノリやウシケノリにくらべ小さいが（第3表），原形質分離の害に対する抵抗性の測定では異常なほど高濃度で処理されても生存できた。これは，スサビノリの着生帯がウップルイノリや，ウシケノリのように満潮線より上部又は干潮線より上部という狭い限られたものでなく，満潮線の上から5～8mの深さまでの低潮線付近までという割合広い範囲であるという生態的な性質のためと思われた。又，ウップルイノリは4M，10分間処理後でも20～30%生存する細胞があり，次のウシケノリ，ヒビミドロ，オオノリの順で抵抗性が小さくなる。ウスバアオノリ，エゾヒトエグサは2.5M処理で60～100%生存でき，前報のボウアオノリ，アナアオサ<sup>2)</sup>と高張媒液に対する抵抗性がほとんど等しかった。スサビノリを除けば，花藻の耐凍性とこの高張媒液に対する抵抗性とはほとんど相関していると考えられる。

花藻の温度処理による種々の抵抗性の変化の研究のうちで，高温に対する細胞の抵抗性を変化させる二，三の実験は行なわれているが<sup>11)</sup>，耐凍性に対する影響については報告がない。陸上植物は低温にあえば増殖現象によって細胞の耐凍性を増し，高温で失うことは周知の事実であるが<sup>12)</sup>，この事実は未だ藻類<sup>13)</sup>や水中植物ではみられていない<sup>14)</sup>。この実験に用いたウス

バアオノリ, エゾヒトエグサは, 海水温度 2°C の条件のものを採集したが, 20°C の海水中に約 2 週間保存してもほとんど耐凍性には影響がなかった。この原因のひとつは, 海藻では冬期間高級炭水化物が還元糖に変化して耐凍性を増すようなことはおこらないためであろう<sup>14)</sup>。

本実験で用いた海藻は, ほとんど秋から生育をはじめ, 成長の速いものでは, 肉眼的に見えるようになってから, わずか 40~50 日位で成体になる<sup>3)</sup>。これらの海藻は繁茂する最盛期が



第 3 図 気温, 生育最盛期と耐凍性との関係

上部曲線は小樽の最高最低温度 (1962-1963)<sup>15,16)</sup>

○ は各海藻の生育最盛期<sup>3)</sup>

■ は各海藻の耐凍性 (各 24 時間凍結)

A: ウスバアオノリ E: ウップルイノリ (♀)

B: エゾヒトエグサ F: ウップルイノリ (♂)

C: ヒビミドロ G: スサビノリ

D: ウシケノリ H: オオノノリ

大体一定している<sup>3,4)</sup>。これを第3図に示したが、アオノリ類(12月上旬)、ヒビミドロ(12月中旬)、ウシケノリ(12月下旬)、ウップルイノリ(1月下旬)、スサビノリ(4月上旬)、オオノリ(5月上旬)とほほきまった頃に最もさかんに生育する。第3図からわかることは、アマノリ属では最も寒い1月に最盛期をもつウップルイノリが最も耐凍性大きく、続いて3,4月に最盛期をもつスサビノリ、最も成長のおそいオオノリが最も耐凍性が小さい。また緑藻類の耐凍性も、生育最盛期の気温と相関していることが認められた。又、耐凍性と着生帯(II. 材料と方法の章参照)との間の関連は認められなかった。

### 摘 要

冬に生育し、潮間帯に着生する海藻である、緑藻ヒビミドロ、ウスバアオノリ、エゾヒトエグサ、紅藻ウシケノリ、ウップルイノリ(♀),(♂)、スサビノリ、オオノリの耐凍性をしらべた。最初種々の温度で凍結させた場合の凍死温度をしらべた。使用した海藻は生長のおそいオオノリを除き、一般に耐凍性大きく、特にウップルイノリの雄性体は $-70^{\circ}\text{C}$ 、24時間の凍結にも約50%の生存率を示した。次にウップルイノリの雌性体、ウシケノリが共に $-45^{\circ}\text{C}$ 、24時間に耐えた。スサビノリ、ヒビミドロ、ウスバアオノリ、エゾヒトエグサと順に耐凍性は小さくなるが、オオノリが最も耐凍性が小さい。オオノリは $-10^{\circ}\text{C}$ 、24時間の凍結で100%生存できる。これらの耐凍性の順位と原形質分離の害に対する抵抗性の順位とは、スサビノリを除いてほぼ一致した。

これらの海藻の低温固定像をみると、凍結中の細胞は、原形質が収縮して凸型の原形質分離の状態凍結に耐えている。温度がより低下すると過度の脱水のため凸型凍結原形質分離のまま凝固死をおこしてしまう。これらの海藻の凍結様式は、この実験条件で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。固定像からは各海藻間の脱水収縮の程度の比較はできなかった。

この実験に用いた海藻の耐凍性は、生育最盛期の気温と相関しており、厳寒期に最盛期をもつ海藻は最も耐凍性が高く、春暖かくなる頃最盛期をもつものは最も耐凍性が低いことがわかった。

また長時間 $20^{\circ}\text{C}$ で保存したことによる耐凍性の変化はみとめられなかった。

### 文 献

- 1) 照本勲 1960 アナアオサの耐凍性. 低温科学, 生物篇, **18**, 35-38.
- 2) 照本勲 1961 ボウアオノリの耐凍性. 低温科学, 生物篇, **19**, 32-28.
- 3) 川嶋昭二・福原英司 1960 岩ノリ. 増殖の手びき No. 1, 北海道浅海増殖研究会編, 18 pp.
- 4) 船野隆 1963 室蘭沿岸に生育するアマノリの生態学的研究. 藻類, **11**, 54-62.
- 5) 照本勲 1958 植物細胞の低温固定像について. 低温科学, 生物篇, **16**, 1-5.
- 6) Biebl, R. 1939 Über die Temperatur-resistenz von Meeresalgen verschiedener Klimazonen und verschieden tiefer Standorte. *Jahrb. wiss. Bot.*, **88**, 389-420.
- 7) Biebl, R. 1958 Temperatur- und osmotische Resistenz von Meeresalgen der bretonischen Küste. *Protoplasma*, **50**, 217-242.

- 8) Parker, J. 1960 Seasonal changes in cold-hardiness of *Fucus vesiculosus*. *Biol. Bull.*, **119**, 474-478.
- 9) Kylin, H. 1917 Über die Kälteresistenz der Meeresalgen. *Ber. dtsh. bot. Ges.*, **35**, 370-384.
- 10) Biebl, R. 1938 Trockenresistenz und osmotische Empfindlichkeit der Meeresalgen verschieden tiefer Standorte. *Jahrb. wiss. Bot.*, **86**, 350-386.
- 11) Biebl, R. 1962 Protoplasmatische Ökologie der Pflanzen. *Protoplasmatologia*, **XII-1**. Springer-Verlag, Wien, 344 pp.
- 12) Levitt, J. 1956 *The Hardiness of Plants*, Academic Press, New York, 278 pp.
- 13) 照本勲 1959 マリモの凍害と乾燥害. 低温科学, 生物篇, **17**, 1-7.
- 14) 坂村徹 1940 植物細胞滲透生理. 養賢堂, 東京, 176 pp.
- 15) 気象協会北海道地方本部 1962 昭和37年気象年報. 北海道の気象, 札幌, 30 pp.
- 16) 気象協会北海道地方本部 1963 昭和38年気象年報. 北海道の気象, 札幌, 30 pp.

### Summary

Some marine algae from the winter intertidal zone were examined for frost-resistance. The algae in sea water were subjected for 24 hours to temperatures ranging from  $-5$  to  $-70^{\circ}\text{C}$ . The frost-resistance of these algae was as follows:

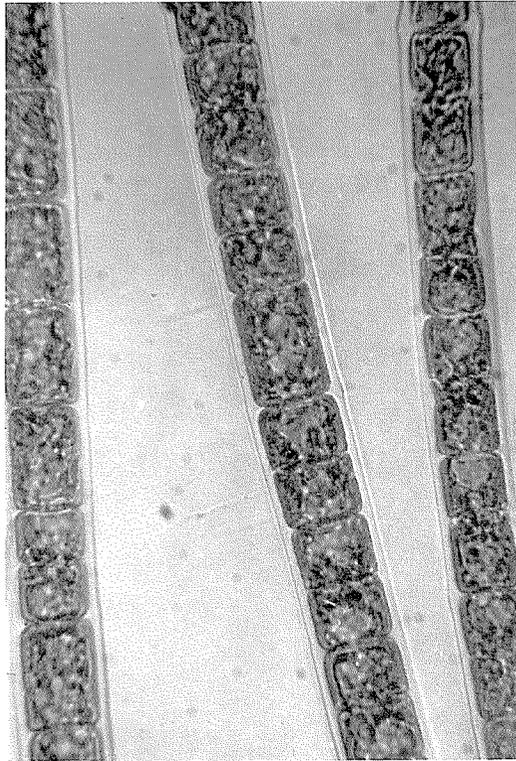
		Critical temperature (24 hours)
green alga	<i>Ulothrix flacca</i>	$-25^{\circ}\text{C}$ ( $-35^{\circ}\text{C}$ fatal)
"	<i>Enteromorpha linza</i>	$-20^{\circ}\text{C}$ (50 % survival)
"	<i>Monostroma angicava</i>	$-20^{\circ}\text{C}$ (50 % survival)
red alga	<i>Bangia fusco-purpurea</i>	$-55^{\circ}\text{C}$ (50 % survival)
"	<i>Porphyra pseudolinearis</i> (♀)	$-55^{\circ}\text{C}$ (50 % survival)
"	<i>Porphyra pseudolinearis</i> (♂)	$-70^{\circ}\text{C}$ (50 % survival)
"	<i>Porphyra yezoensis</i>	$-35^{\circ}\text{C}$ (50 % survival)
"	<i>Porphyra onoi</i>	$-10^{\circ}\text{C}$ ( $-15^{\circ}\text{C}$ fatal)

As these species grow chiefly in the intertidal zone, they are highly resistant to low temperatures with the exception of *P. onoi*, in which freezing for at least 24 hours at temperatures below  $-15^{\circ}\text{C}$  results in fatal injury to the cells. Under the microscope those algae fixed with a cold fixative showed cellular frost-plasmolysis (Plates II-5, III-8, IV-10, V-13, VI-16, VII-19, VIII-22). Intracellular freezing does not occur in cells frozen in this manner, and they can tolerate extracellular freezing. The cause of frost-killing in those algae seems to be the coagulation which results from excessive dehydration of the protoplasm.

Plasmolysis produced by a 1-5M balanced salt solution were also observed in these algae. With the exception of *P. yezoensis*, the resistance limit was between 2.5 and 4 M. In these algae, the degree of resistance to excessive plasmolysis was very high compared with that of other marine algae, and a high frost-resistance was generally accompanied by a high resistance to plasmolysis. Those marine algae which grow most luxuriantly in the coldest season resist freezing best and those which grow in the early spring resist it least. The levels of frost-resistance in marine algae could not be artificially changed by maintaining them in darkness at temperatures of 20 and  $0^{\circ}\text{C}$  for 12-14 days. It seems, therefore, that their high frost-resistance may be interpreted as resulting from a particular quality of the

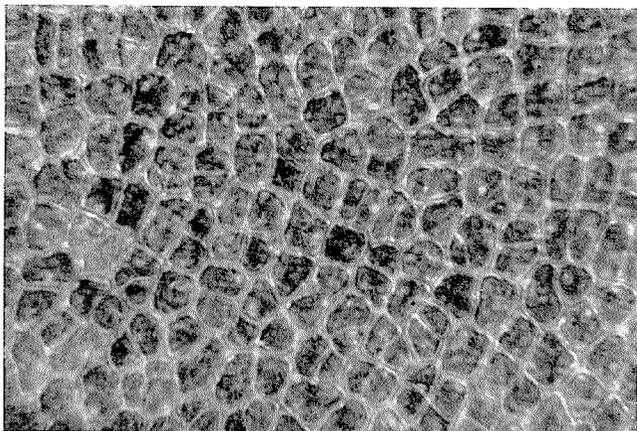
protoplasm of those marine algae, and not as being based upon an increase or decrease of any cellular protective substances such as sugars.

第 1 図 正常なヒビミドロ  
*Ulothrix flacca* の  
細胞 (中性赤で染色)。  
×390

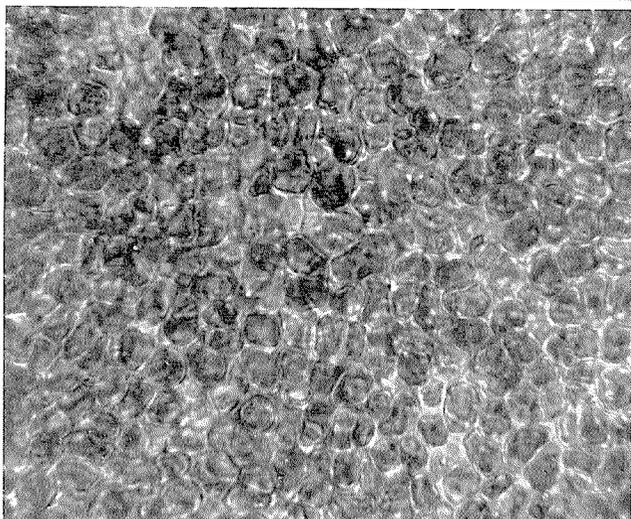


第 2 図  $-25^{\circ}\text{C}$ , 24 時間凍結融解  
後のヒビミドロの細胞。中  
性赤でこく染っている細胞  
が生きている (矢印)。×98

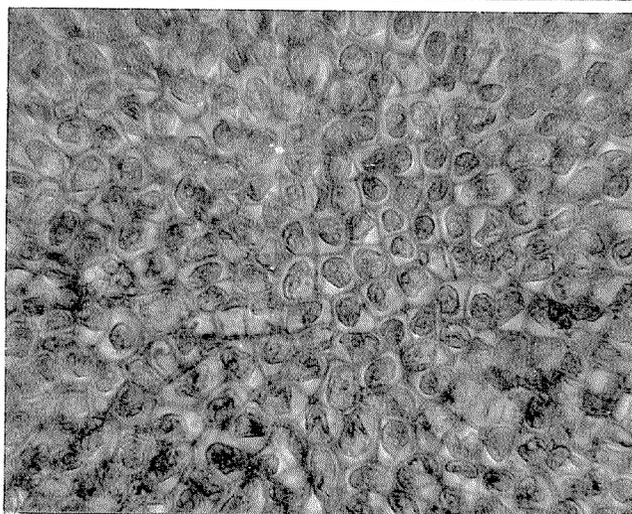




第3図 正常なウスバアオノリ  
*Enteromorpha linza* の細胞  
(中性赤で染色)。×390

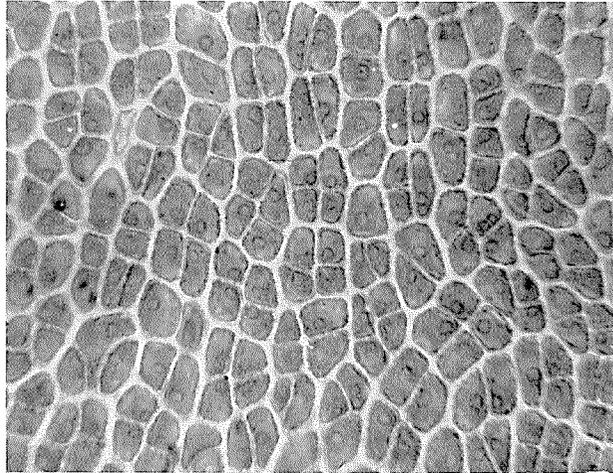


第4図  $-20^{\circ}\text{C}$ , 24時間凍結融解  
後のウスバアオノリの細胞。約50%の細胞が生きて  
いる(中性赤染色)。  
×390

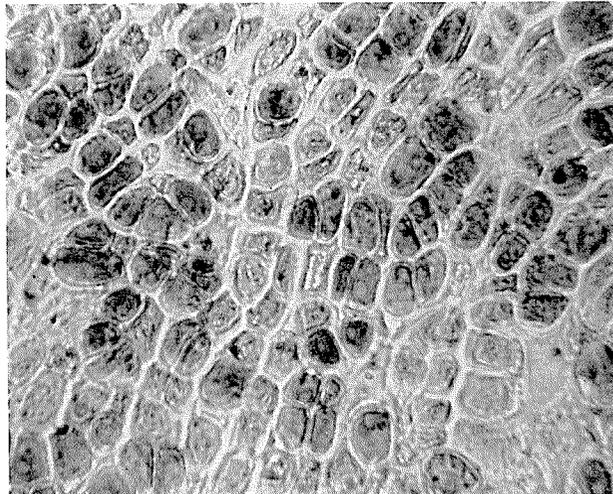


第5図  $-25^{\circ}\text{C}$ , 24時間凍結後の  
ウスバアオノリの細胞。(低温  
固定染色)。×390

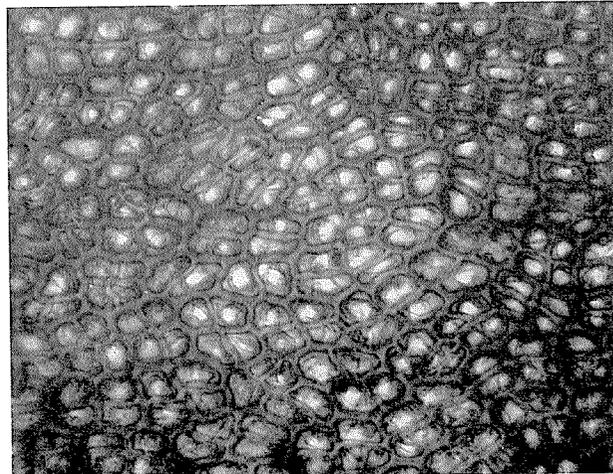
第 6 図 正常なエゾヒトエグサ  
*Monostroma angicava* の  
細胞 (中性赤染色)。 ×390

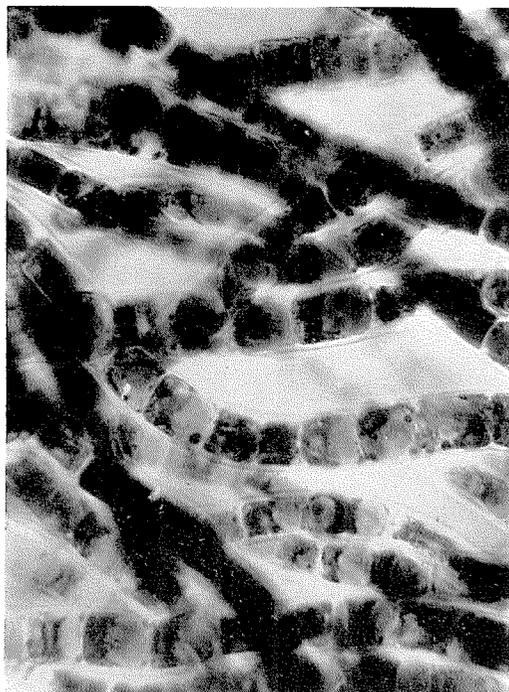


第 7 図  $-20^{\circ}\text{C}$ , 24 時間凍結融解  
後のエゾヒトエグサの細胞。約 50% の細胞が中性  
赤で染色される。 ×390

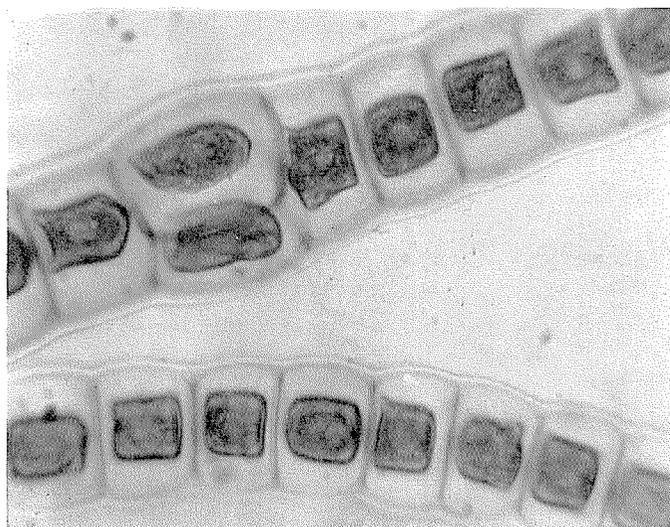


第 8 図  $-25^{\circ}\text{C}$ , 17 時間凍結後低  
温固定染色したエゾヒトエ  
グサの細胞。 ×390



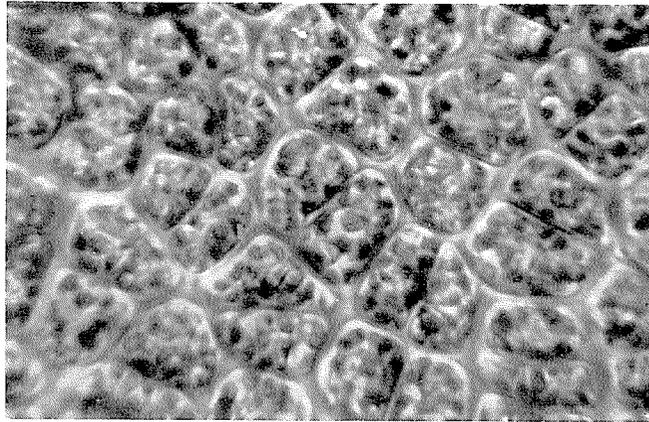


第9図 正常なウシケノリ  
*Bangia fusco-purpurea* の  
細胞 (中性赤で染色)。  
×390

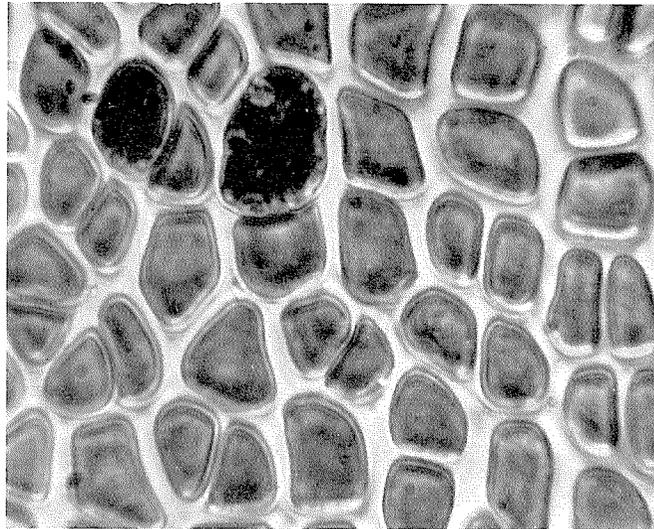


第10図  $-30^{\circ}\text{C}$ , 24時間凍結後,  
低温固定染色したウシケノ  
リの細胞。脱水されたこの  
状態でいきている。×1000

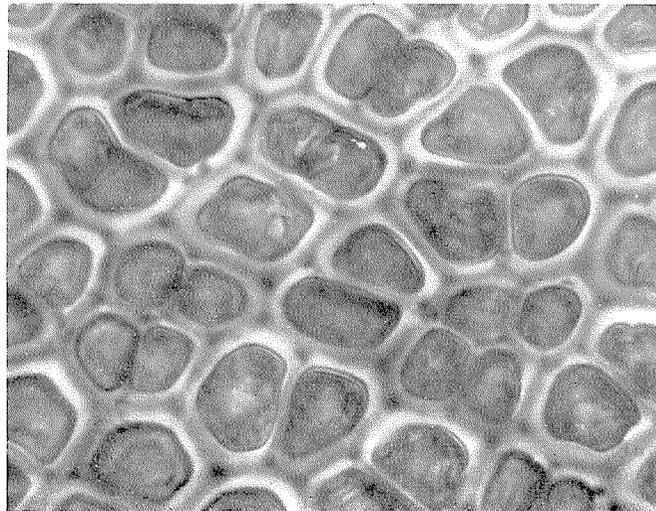
第11図 正常なウップルイノリ  
*Porphyra pseudolinearis*  
(♀) の細胞。 ×1000

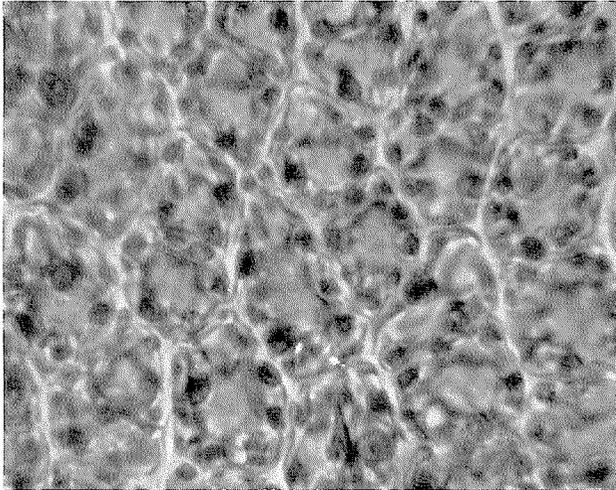


第12図 -70°C, 24時間凍結融解  
後のウップルイノリ (♀) の  
細胞。数細胞が生きのこる  
(中性赤染色)。 ×1000

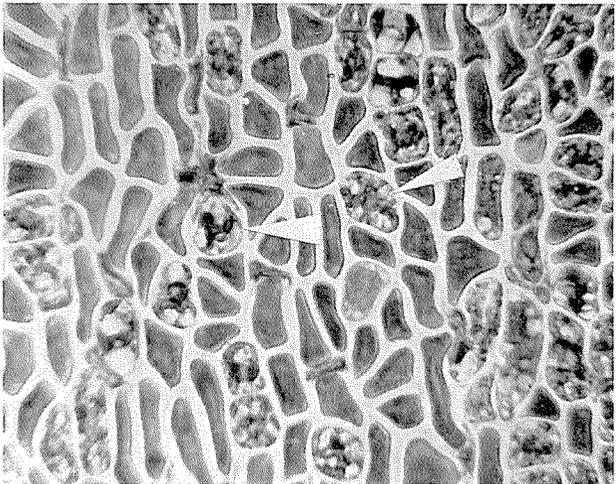


第13図 -30°C, 24時間凍結後,  
低温固定染色したウップル  
イノリ (♀) の細胞。原形質  
が膜より離れたこの状態で  
凍結に耐えている。×1000

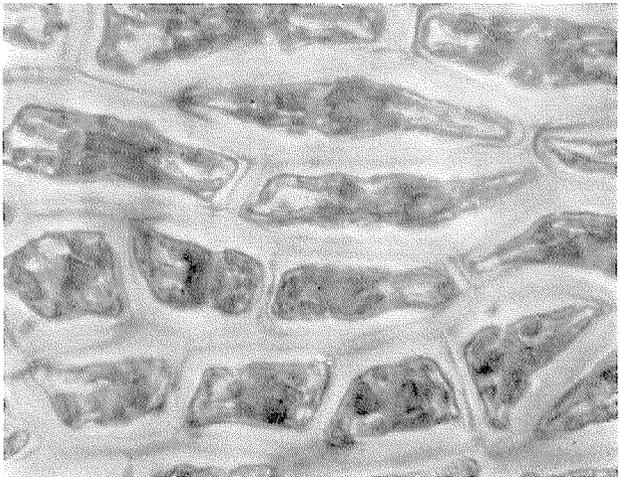




第14図 正常なウップルイノリ  
*Porphyra pseudolinearis*  
(♂)の細胞。 ×1000

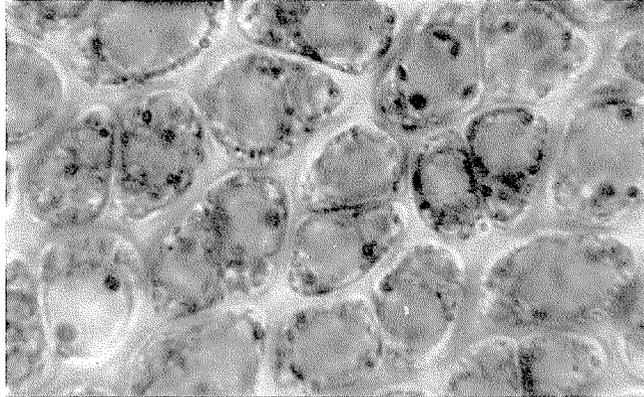


第15図  $-70^{\circ}\text{C}$ , 24時間凍結融解  
後のウップルイノリ(♂)の  
細胞。約50%の細胞が生  
きている(矢印)。 ×390

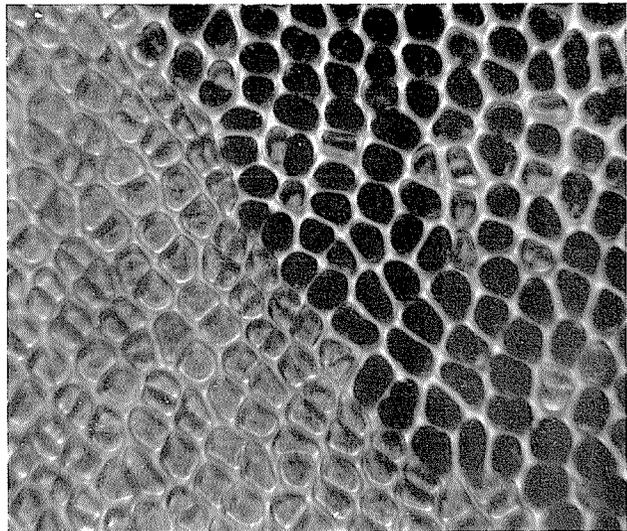


第16図  $-15^{\circ}\text{C}$ , 24時間凍結後,  
低温固定染色したウップル  
イノリ(♂)の細胞。原形質  
が膜よりはなれたこの状態  
で凍結に耐えている。  
×1000

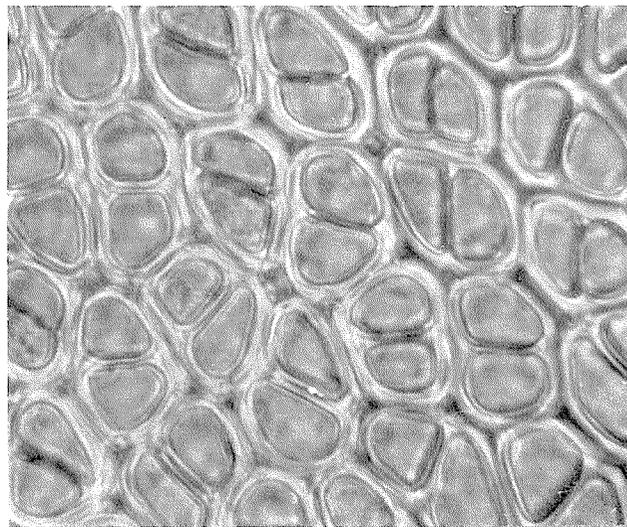
第17図 正常なスサビノリ  
*Porphyra yezoensis* の細胞  
(中性赤染色)。 ×1000

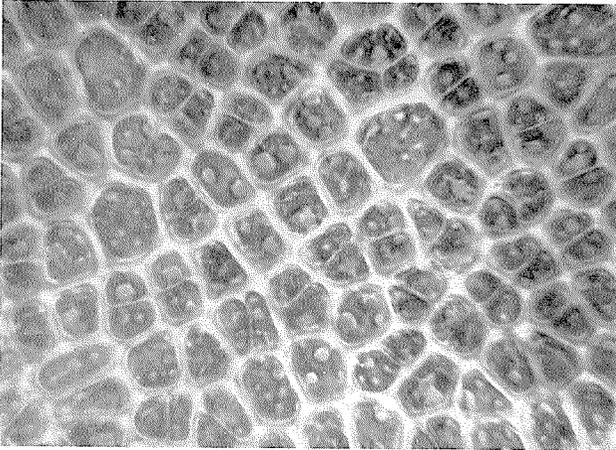


第18図  $-70^{\circ}\text{C}$ , 24時間凍結融解後,  
中性赤で染色し更に2M平衡塩溶液で  
原形質分離したスサビノリの細胞。  
濃く見えるのが生細胞。 ×390

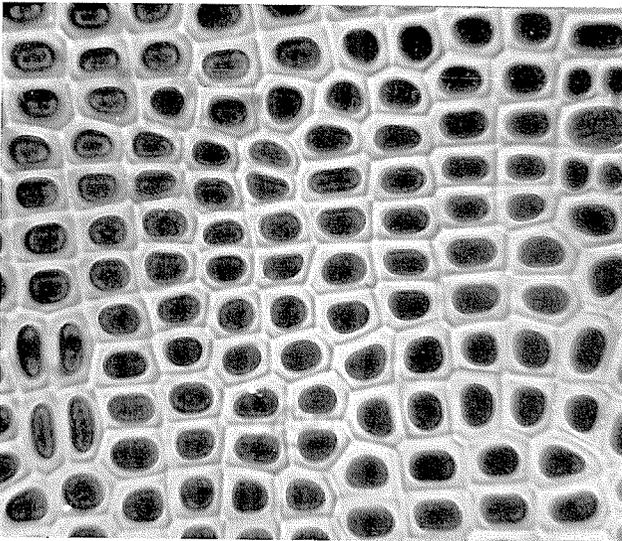


第19図  $-30^{\circ}\text{C}$ , 2時間凍結後,  
低温固定染色したスサビノリの細胞。  
凍結原形質分離して生きている状態の時の  
細胞。 ×1000

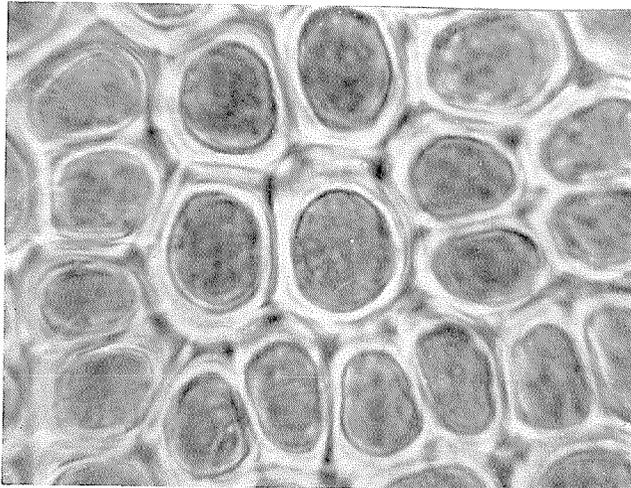




第20図 正常なオオノノリ  
*Porphyra onoi* の細胞。  
×390



第21図  $-25^{\circ}\text{C}$ , 20時間凍結融解  
後のオオノノリの死細胞。  
×390



第22図  $-25^{\circ}\text{C}$ , 24時間凍結後,  
低温固定染色したオオノノ  
リの細胞。 ×1000