



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	スサビノリの凍結と乾燥
Author(s)	照本, 勲; TERUMOTO, Isao
Citation	低温科学. 生物篇, 23, 11-20
Issue Date	1965-12-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17690
Type	departmental bulletin paper
File Information	23_p11-20.pdf



ス サ ビ ノ リ の 凍 結 と 乾 燥*

照 本 勲

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和 40 年 7 月受理)

I. 緒 言

著者は先きに冬期間北海道西海岸の潮間帯に生育するアマノリ類など7種の海藻について報告し、これらの植物の耐凍性と生育最盛期の気温とが相関し、厳寒期に最盛期をもつ海藻は最も耐凍性が高く、春暖の頃に繁茂の最盛期をもつものは最も耐凍性が低いことを明らかにした。中でもスサビノリは、原形質分離の害に対する抵抗性が他のアマノリ類にくらべて大きく、最も高張の媒液に耐えることができ、又、耐凍性については、 -35°C で 24 時間凍結した場合約半数の細胞が凍死したが、 -70°C で 24 時間凍結した後もわずかの細胞は生存できた¹⁾ (p. 20, 図版 VII-18)。そこで今回はスサビノリを材料として凍結、乾燥及び高張溶液に対する抵抗性を更に詳細に研究した。

II. 材料と方法

実験に使用したスサビノリ *Porphyra yezoensis* Ueda は、小樽市忍路町忍路湾にて4月下旬と5月中旬の2回にわたり採集した。スサビノリは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が、最近では5~8mの深いところにも着生していることが報告されている²⁾。スサビノリの葉体は、卵形又は長卵形(図版 I-1)で、縁辺には鋸歯なく全縁である。葉体は厚さ30~47 μ の一層の細胞からなり、細胞は多角形又は多少角張った円形で不規則に配列している。細胞の内腔断面はかどの円い方形で高さは幅の約2倍ある。細胞の直径は通常14~16 μ ある³⁾。材料としてスサビノリの他、一部アナアオサ *Ulva pertusa* kjellman を使用した⁴⁾。

材料は採集後 5°C に保った電気冷蔵庫中に、十分に海水をふくませて保存し、時々新しい海水で洗滌した。氷点下の種々の温度に対する抵抗性の実験は、小ペトリ皿に海水5ccを入れ、その中に組織数片を入れるか、又は試料の表面の海水を濾紙で速かに拭って、大きなカバーガラス(20×40mm)に軽くはりつけて、種々の温度の恒温箱中でそれぞれ24時間凍結させた。 -196°C の凍結の場合には、液体窒素中に、カバーガラスではさんだ試料をオモリをつけた小さな金網かごに入れて投入し、所定時間後引きあげた。凍結した試料は、室温で融解したあと顕微鏡観察を行なった。細胞の生死は、顕微鏡観察により容易にわかるが、そのあと2M

* 北海道大学低温科学研究所業績 第729号

平衡塩溶液 (NaCl 等張) を用いて原形質分離の有無と、海水に戻した場合の原形質復帰の有無から生存率を算出した。又、中性赤水溶液 (1 : 10,000) で生体染色した場合、生きている細胞には容易に中性赤が透入するので、この生体染色法もあわせて生死の確認に使用した。

乾燥実験は次のように行なった。95% 硫酸 (比重 1.84) を口径約 20 cm のデシケーターの底部に約 500 cc 入れ、その上に置いた底板上にカバーガラスにはった試料又は、濾紙で海水を拭った試料の入った小秤量瓶 (内容 5 cc) をならべ所定時間室温で乾燥した。そのあと生体量を秤量し、次に 105°C で 5~6 時間電熱式乾燥器で充分に乾燥して秤量し、含水量を計算した。又同時に、秤量前の試料の一部を海水に戻し、生体染色ならびに原形質分離法で細胞の生存率を算出した。

呼吸の測定は、生体重量 1 g を -70°C で 24 時間凍結し融解直後、海水 5 cc に浮遊してワールブルグ検圧計で酸素消費量を測定した。測定温度は 25°C である。

III. 結 果

1. 凍結に対する抵抗性

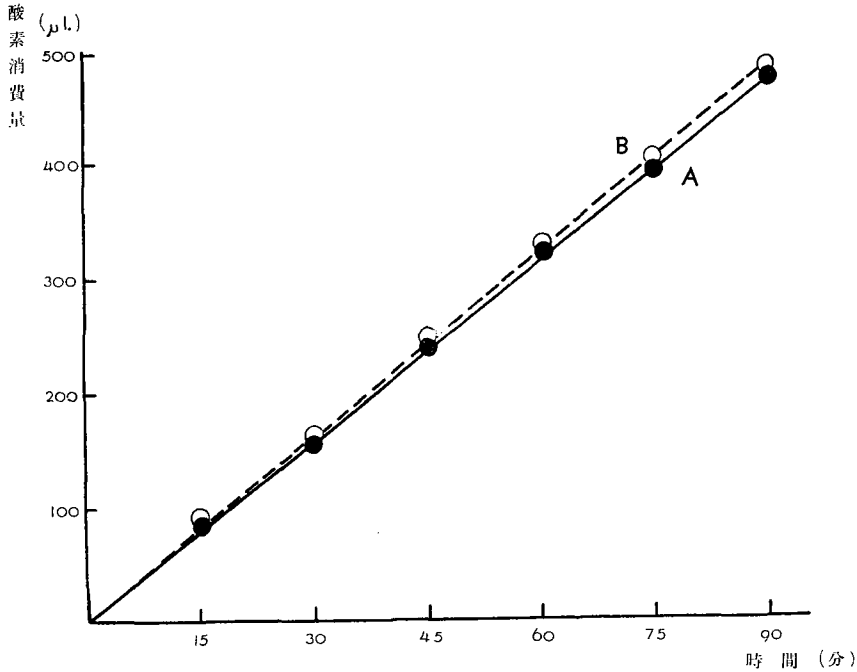
試料を -70°C, -100°C, -196°C で海水とともに又は濾紙で表面の海水を拭ったままの試料を 24 時間凍結させた。融解は、それぞれ室温で行ない、融解後の細胞の生死は、原形質分離法ならびに生体染色できめた。その結果は第 1 表にあげた。表からわかることは、-70°C で凍結した場合、予め海水を拭って凍結させた試料は、幾分抵抗性が小さかったが、液体窒素の沸点 -196°C まで冷却されても、融解後の細胞に異状は認められなかった。しかし -196°C に 48 時間凍結すると約 50% の細胞が凍死をおこした。この場合、生細胞と死細胞とが組織内でばらばらに分布せず、縞状に約半数が生細胞群、のこりが死細胞群と明瞭に区分された (図版 II-4, 5, 6)。又、-70°C 24 時間凍結融解直後のスサビノリを

第 1 表 スサビノリの耐凍性

凍結温度 (°C)	凍結時間	凍 結 条 件	生 存 率 (%)
- 70	24 時間	海 水 中	100
"	24 時間	空 気 中	70
-100	24 時間	海 水 中	88
"	24 時間	空 気 中	100
"	24 時間	" (乾燥 4 時間)*	100
-196	5 分	空 気 中	100
"	5 分	" (乾燥 3 時間)*	100
"	24 時間	空 気 中	100
"	48 時間	空 気 中	50

* 凍結前、湿度 0% の空気中で 4 時間又は 3 時間予め乾燥して含水量を少くした試料

用いて、凍結中に代謝機能になんらかの変化がおこるかどうかを調べる目的で、酸素消費量を測定したが、凍結しなかったものとの間に差はなかった (第 1 図)。-196°C で凍結させた試料を、室温の顕微鏡下で融解させ観察すると、最初、細胞は原形質が細胞壁より離れて収縮した凍結原形質分離をしているが、水の融解とともに徐々に原形質体は吸水しふくらんで、正常の大きさに戻るのが見られた。すなわち原形質分離の状態に細胞外凍結をしていたのである。次



第1図 -70°C, 24時間凍結融解直後のスサビノリの呼吸
(乾燥量, 223 mg)
A: 対照 (5°C, 24時間保存)
B: -70°C, 24時間凍結融解

に、海水中と空気中での凍結条件の相違は、その冷却速度の相違が主なものであるがほとんど差は認められなかった。又、-100°C と -196°C での凍結の場合、濃硫酸上で数時間乾燥した試料と乾燥処理しないものを一緒に凍結したが、両者の間に生存率の差はみられなかった。

次に海水とほぼ等張の無機塩類、多価アルコール、脂肪溶剤及び脱イオン水を媒液として小ペトリ皿中に試料を入れ、-100°C, 24時間凍結させた場合の影響をしらべた。第2表からわかるように NaCl, エチレングリコールを媒液とした場合の試料の生存率は、対照(海水)とほとんど同じであったが、蔗糖、グリセロール、メタノール、脱イオン水を媒液とした場合には100%の細胞が凍死した。

第2表 各種溶液を媒液とした場合のスサビノリの凍結 (-100°C, 24時間)

種類	濃度	生存率 (%)
海水	—	100
NaCl	0.5 M	80~100
蔗糖	1 M	0
グリセロール	1 M	0
エチレングリコール	1 M	100
メタノール	1 M	0
脱イオン水	—	0

2. 乾燥に対する抵抗性

スサビノリの乾燥に対する抵抗性は、試料をカバーガラスにはって乾燥した場合(第3表)と、海水を濾紙で拭って小秤量瓶中に入れ乾燥した場合(第4表)の両方についてしらべた。生存率は、乾燥した試料を海水に戻し、原形質

第3表 試料をカバーグラスにはった場合のスサビノリの乾燥 (湿度, 0%)

乾燥日数	生存率 (%)
1	100
3	100
4	50~70
6	30~40*
7	0*
10	0*
13	0*
16	0

* 縞状に死細胞群が増加するが、部分的にまだ生存率 100% の細胞群が存在する

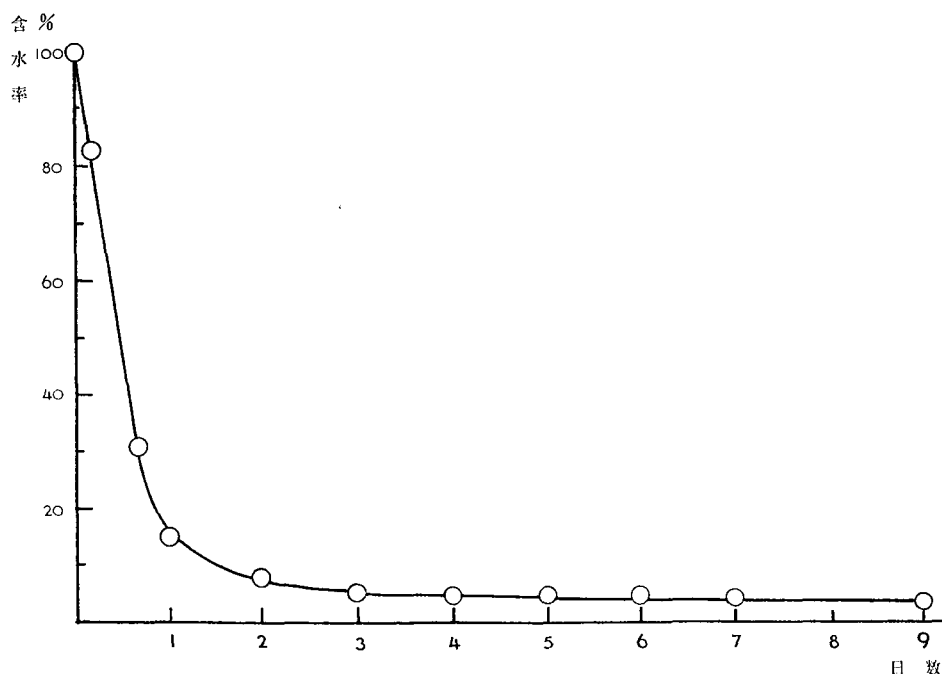
第4表 小秤量瓶中のスサビノリの乾燥 (湿度, 0%)

乾燥日数	含水量* (%)	生存率 (%)
1	15.5	100
2	9.0	100
3	5.5	100
4	4.4	100
5	5.4	100
6	4.6	100
7	4.3	100
9	4.1	90

* スサビノリの含水量を 100 として計算した

分離法ならびに生体染色によりきめた。

スサビノリは、上記二つの方法においてともに湿度 0% の乾燥条件で、数日間生存できることがわかった。カバーグラスにはりつけて乾燥した試料は、4日目頃から徐々に死細胞が増加し、16日後では全細胞が完全に乾燥死した。小秤量瓶中で乾燥した試料は、9日間たつて約 10% の死細胞が認められた。前者の乾燥条件でのスサビノリの生存日数の短縮は、脱水による細胞収縮が後者より急激である結果と思われる。スサビノリの含水量 (80.5%) を今 100% とし



第2図 湿度 0% の状態におけるスサビノリの乾燥曲線 (温度 13°~15°C)

て計算してみると、処理1日目で約85%、2日目で約91%、3日目で95~96%脱水され、この乾燥条件で脱水されるほとんど全部の水が3日目までにとられてしまうことがわかった(第2図)。その後、スサビノリは4~5%の含水量を保持したまま乾燥状態におかれるが、本実験では9日目に約10%の細胞が死んだ。乾燥3日目に5.5%の含水量をもつ生組織を海水中に戻すと、15分間で含水量91%まで吸水するが、死組織では同じ時間に含水量95~98%の吸水があった。顕微鏡観察による乾燥途中での細胞は、細胞壁も原形質も正常に見え、アナアオサの乾燥の場合のように、細胞壁や原形質が褶状に収縮し、その上原形質は細胞壁から離れる(図版V-14)ようなことはなかった(図版III-9, IV-10, 11)。乾燥された細胞は、海水に戻した場合、直ちに吸水して正常な細胞になるが、この乾燥条件で、3, 4, 5日目の試料の中に吸水とともに液胞が異常に大きくなり原形質は細胞内の一隅によせられる細胞が多く見られた(図版IV-12)。中性赤で染色すると、よく色素はこの液胞に透入したが液胞が過度に大きくなった細胞は、高張溶液中でも原形質分離しなかった。この細胞が将来死細胞となるか否かは明らかに出来なかった。これと同じ状態の細胞は、NaCl又はKClの低張溶液(0.2 M, 0.5 M)に健全細胞を入れても1時間以内にあらわれてくるところからみると(図版V-13)、乾燥途中に原形質の透過性に何等かの変化がおこり、その結果このような現象がおきたのであろう。

次に耐凍性をしらべた場合に用いたと同じ種々の溶液を媒液として、20分間スサビノリを前処理し、その後濾紙で表面の媒液を拭い、カバーガラスにはり濃硫酸上で乾燥した。生存率は処理日数後試料を海水に戻し原形質分離法及び生体染色によって算出した。第5表からわかるようにNaCl処理の試料だけ

第5表 各種溶液を媒液として処理した後のスサビノリの乾燥

種	類	濃度	乾燥日数と生存率(%)	
			1日後	2日後
海	水	—	100	100
NaCl		0.5 M	50	30
蔗	糖	1 M	100	100
グリセロール		1 M	100	100
エチレングリコール		1 M	100	100
メタノール		1 M	100	100
脱イオン水		—	100	70

が、乾燥中に約50%の細胞が死んだが、スサビノリの乾燥に対しては、他の溶液と脱イオン水の前処理としての影響はあらわれなかった。凍結の場合も細胞から脱水される結果となるが、媒液としての種々の溶液の作用は乾燥の場合とは同じでないということがわかった。

腊葉標本の生存率と含水量:

スサビノリが乾燥に強いということは、乾燥して腊葉標本にした試料についてもいえる。実験には試料を腊葉標本をつくる普通の方法で⁹⁾ 淡水中で4~5分塩抜きし、腊葉台紙上で乾燥し、其の後室温に放置しておいた標本を使用した。整作して30日を経過した腊葉標本のスサビノリの組織は、海水に戻すと個体の周辺4~5細胞は死んでいるが、その他の組織では2/3は100%、1/3が50%の細胞の生存率を示した。この場合の含水量は19.1%で、実験的には脱イオン水を媒液として処理した後に乾燥した試料(第5表)とほとんど同じ結果であった。すなわち腊葉標本にしたスサビノリも常温で数カ月は生存出来ることがわかった。

3. 高張溶液に対する抵抗力

平衡塩溶液の最高張濃度 5 M (NaCl 等張) 溶液中に、スサビノリの組織を入れ原形質分離の状態です所定時間放置後、脱イオン水に戻し、原形質復帰の状態をしらべた(第 6 表)。この結果からわかるように、スサビノリの高張溶液に対する抵抗力は極めて強く、3 日後さらにこの材料を脱イオン水から海水に戻しても異態な細胞は認められなかった。

第 6 表 高張 (5 M 平衡塩溶液) 溶液中での抵抗力

処理日数	生存率 (%)
1	100
2	100
3	100

IV. 考 察

潮間帯に生育する海藻は、干潮によって乾燥状態におかれ、降雨により海水が稀釈され、又大気のはげしい温度変化など環境変化に対して大きな抵抗力を必要とする。潮間帯海藻の低温に対する抵抗力の研究は、Kylin⁶⁾ によって始めて行なわれ、彼の研究した潮間帯の海藻 (10 種類) は -17°C で 10 時間の凍結で大部分のものは耐えたが、3 種類だけは $-18\sim-20^{\circ}\text{C}$ の凍結で凍死した。又、*Fucus vesiculosus* は北極海で -40°C に数カ月も生存でき⁷⁾、夏に -30°C 、冬に -45°C と耐凍性が季節的に変化するという⁸⁾。緑藻の *Ulva pertusa* は -10°C で少なくとも 24 時間の凍結で凍死せず⁹⁾、*Enteromorpha intestinalis*⁹⁾、*E. linza*、*Monostroma angicava*¹⁾ は同じく -20°C 、24 時間の凍結で 50~100% の細胞が生存できた。今回実験に使用したスサビノリはこのような潮間帯に生育する紅藻である。

アマノリ属は一般に乾燥に強く¹⁰⁾、寒冷にも高濃度の媒液に対しても抵抗力が大きいことが知られている^{11,12)}。然し、本実験に使用したスサビノリ程に、種々の要因に対して抵抗力が大きい種類は未だ報告されていない。アマノリ属の低温に対する抵抗力の研究については、今まで Kylin⁶⁾、Biebl^{13,14)}、照本¹⁾ 等によって行なわれてきた。今回採集したスサビノリを液体窒素中で凍結しても融解後の細胞は、正常に生存できたことは第 1 表で明らかである。単細胞藻類である *Chlorella* や *Stichococcus* は、自然に生育する状態でも人工液体培地に生えたものでも、共に液体空気や液体窒素などを用いて超低温に数時間おかれても細胞は破壊されない^{15,16,17)}。これに反し、多細胞藻類の大部分は、 $-10^{\circ}\text{C}\sim-15^{\circ}\text{C}$ 付近の低温にさらされると死んでしまい、単細胞藻類よりも寒冷に対する抵抗力が小さいことがわかっている^{15,16,17)}。

多細胞藻類で超低温まで冷却されたものは、Becquerel による *Oscillatoria*、*Glaeotila*、*Hormidium*、*Siphonema*、*Pediastrum* 及び *Tribonema elegans* であるが、全種類とも数カ月から数年にわたって乾燥したもので、生材料ではない。普通一般に、細菌、乾燥種子などは寒さに非常に強いとされている¹⁶⁾。この場合これらの植物に共通してみられることは、体内に水分の少ないことである。又、ある植物は -30°C 付近で充分凍結されると、その後超低温に急冷されても耐えることができる。これは凍結組織内にもはや凍り易い水がほとんど残っていないためと考えられている^{18,19)}。

スサビノリが生材料 (含水量: 80.5%) で個体のまま約 220°C の温度差で急速凍結に耐え、又、 -100°C から室温の海水中に戻しても急速融解に耐えられることはきわめて興味深い。又、

-70°Cで24時間凍結された細胞も、融解吸水後は直ちにもとの正常な代謝機能を回復できることを呼吸の測定からたしかめた。これは本種の細胞がきわめて特殊な性質をもっていることを暗示する。

スサビノリを凍結する際に媒液としてのNaClとエチレングリコールの影響はほとんど認められなかったが、蔗糖、グリセロール、メタノールを媒液とした場合は-100°C、24時間の凍結ですべての細胞が凍死した。この理由としてこれらの媒液の作用によって凍結の際に原形質の脱水収縮に対する抵抗性が低下する可能性も考えられる^{20,21)}。脱イオン水の作用は、塩分濃度の低下でおこる水に対する透過性の減少と²²⁾、水の透過による膨潤現象により原形質内の自由水が多くなり、原形質膠質の毛細管的構造が粗大になり、脱水に対する抵抗力を低下させた²³⁾のと、両方の影響によるものであろう。

潮間帯のある種の高藻が数日間も乾燥に耐えられる能力をもっていることは前から理解されていた。Biebl¹⁰⁾のヘルゴランド島の海岸に生育する高藻で行なった結果では、干潮線以上のものは88%相対湿度又はそれ以下の湿度に耐えられるのが普通であるという。今までアマノリ属を使用して乾燥に対する抵抗性については、Berthold¹²⁾、Muenscher¹²⁾、Biebl^{10,24)}等によって調べられた。本実験で使用したスサビノリは、湿度0%の乾燥状態で9日間乾燥されても、大部分の細胞が海水に戻されるともとの生きた状態にかえることがわかった。この種類のように乾燥に強いものはアマノリ属にも、他の属でも現在のところ見あたらない。

次に、スサビノリから95~96%の水が濃硫酸上で脱水されても、この状態で長時間乾燥に耐えられるという細胞の特質もわかった。現在まで最高脱水量として*Fucus vesiculosus* 91%、*Chondrus crispus* 63%、*Ulva lactuca* 77%、*Enteromorpha linza* 84%が報告されている⁷⁾。今回の乾燥条件で脱水できない4~5%の水は、普通に結合水といわれるもので、脱水状態で細胞構成蛋白を変性から保護するために重要なものと考えられている^{25,26)}。スサビノリが腊葉乾燥標本となっても相当期間生存できることは、その含水量がスサビノリの最小含水量まで脱水されていないためであろう。高藻の場合の乾燥死は偽原形質分離の状態になるのが普通である²⁷⁾。細胞から水蒸気の形で水が失われる場合に、単層の細胞層をなす組織の一面のみが脱水収縮をおこすと速かに乾燥傷害があらわれてくる。カバーガラスにはって乾燥した試料が、早く乾燥死をおこすことは、このことが原因のひとつになっていると思われる。乾燥前の無機塩、糖類、高級アルコール、脂肪溶媒、脱イオン水の前処理が、NaClを除いてはほとんど乾燥死に影響を与えなかったことは、細胞からの脱水される現象は凍結の場合と同じでも、凍結と乾燥とを一緒に論ずることができないことを現わしている。これらのことから乾燥によって細胞が死ぬのは、単に水分が取られるということによるのではなく、原形質の収縮の際におこる機械的な傷害が大きな原因となるためと考えられ、これには細胞の大きさや形、液胞の大きさと状態、細胞壁の厚さなどが関係するが、特に原形質膜の性質が特に関係していると思う²⁷⁾。

高藻は普通ほぼ一定濃度の海水に生育するが、その生ずる場所によって海水の濃度が変化し、これによって種々の影響をうけるため滲透的变化に対する抵抗力が高い。高張溶液に対するアマノリ属の抵抗性について、Biebl²⁸⁾、照本¹⁾等の報告がある。今回採集したスサビノリの

細胞は、5 M 平衡塩溶液中で3日間連続室温放置後も、脱イオン水中で原形質復帰するが、処理中原形質分離によく耐え著しい抵抗性を示した。高張溶液に対して抵抗力のない細胞は、高張溶液によって原形質分離をおこし、その原形質分離が細胞にとって永久の傷害となる^{29,30,31)}。スサビノリが原形質分離害をさけることの出来るのは、アマノリ属で見られたように、非常に密度の大きな内容をもつ小さな細胞で、細胞壁は高張溶液中でよく膨脹することができる³²⁾ためであろう。

以上、凍結、乾燥、高張溶液に対するスサビノリの抵抗性をしらべた結果、この藻類が -196°C もの超低温に生材料のままよく抵抗できる特性は、常態含水量の95~96%というはげしい脱水状態によく耐え、更に高張溶液中で長時間原形質分離の状態のまま傷害をうけないような原形質の性質によるものであることがわかった。

なお前回報告した¹⁾スサビノリと、今回の報告との生理学的性質の相違は、藻類の寒冷抵抗性が季節的に変化する^{8,33)}ためか、又は採集時期、採集場所のちがいがらきたものかは未だ不明であり、今後研究を続けたいと思う。

摘 要

北海道西海岸の潮間帯に冬期間生育する紅藻スサビノリ(含水量80.5%)を4月下旬から5月中旬に採集し、このスサビノリについて、低温、乾燥及び高張溶液に対する抵抗性をしらべた。生死の判定は、原形質分離法と生体染色法を用いてきめた。スサビノリの耐凍性は非常に大きく、生材料のまま -70°C 、 -100°C 、 -196°C で24時間凍結の場合、融解後凍死した細胞はひとつもなかった。この材料はこのような極めて低い温度で長時間凍結にあっても、融解後直ちに正常な代謝機能を回復することが呼吸測定からわかった。又、凍結の際、媒液として海水と等張のNaCl、蔗糖、グリセロール、エチレングリコール及び脱イオン水を使用した場合、NaCl、エチレングリコールは生存率に影響なく、蔗糖、グリセロール、脱イオン水は完全にスサビノリの耐凍性を消失させた。乾燥に対する抵抗性は、デシケーター中に濃硫酸を入れ湿度0%の状態乾燥した細胞を海水に戻して、その生存率からしらべた。この条件で乾燥2日後95~96%の水が細胞からとられ、細胞は4~5%の含水量のまま乾燥状態にたえた。前処理としての種々の溶液の乾燥に対する影響は、NaClを除いては見られなかった。乾燥は細胞からの脱水という点では凍結の場合と近い現象ではあるが、その機構については同一に論ぜられない。高張溶液に対する抵抗性は、5 M 平衡塩溶液(5 M NaCl 等張)を媒液として3日間連続原形質分離させたが、少しも細胞に傷害は認められなかった。

以上、凍結、乾燥及び高張溶液に対する抵抗性の実験結果と、現在まで報告されてきたこの領域の実験結果を比較検討し、今回使用したスサビノリの細胞が、他の細胞に見られない生理的特性を有していることを考察した。

終りに、御校閲いただいた朝比奈教授に感謝する。

文 献

- 1) 照本 勲 1964 冬の潮間帯に生育する海藻の耐凍性. 低温科学, 生物篇, **22**, 19-28.
- 2) 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.
- 3) 岡村金太郎 1936 日本海藻誌. 内田老鶴圃, 東京, 964 pp.
- 4) 照本 勲 1960 アナアオサの耐凍性. 低温科学, 生物篇, **18**, 35-38.
- 5) 瀬川宗吉 1956 原色日本海藻図鑑. 保育社, 大阪, 282 pp.
- 6) Kylin, H. 1917 Über die Kälteresistenz der Meeresalgen. *Ber. dtsh. bot. Ges.*, **35**, 370-384.
- 7) Kanwisher, J. 1957 Freezing and drying in intertidal algae. *Biol. Bull.*, **113**, 275-285.
- 8) Parker, J. 1960 Seasonal changes in cold-hardiness of *Fucus vesiculosus*. *Biol. Bull.*, **119**, 474-478.
- 9) 照本 勲 1961 ボウアオノリの耐凍性. 低温科学, 生物篇, **19**, 23-28.
- 10) Biebl, R. 1938 Trockenresistenz und osmotische Empfindlichkeit der Meeresalgen verschieden tiefer Standorte. *Jahrb. wiss. Bot.* **86**, 350-386.
- 11) Biebl, R. 1962 Seaweeds. In *Physiology and Biochemistry of Algae*, (R. A. Lewin, ed.) Academic Press, New York and London, 799-815.
- 12) Biebl, R. 1962 Protoplasmatische Ökologie der Pflanzen. *Protoplasmatologia*, **XII-1**, Springer-Verlag, Wien, 344 pp.
- 13) Biebl, R. 1939 Über die Temperatur-resistenz von Meeresalgen verschiedener Klimazonen und verschieden tiefer Standorte. *Jahrb. wiss. Bot.*, **88**, 389-420.
- 14) Biebl, R. 1958 Temperatur- und osmotische Resistenz von Meeresalgen der bretonischen Küste. *Protoplasma*, **50**, 217-242.
- 15) 照本 勲 1958 藻類の凍死. 藻類, **6**, 99-106.
- 16) Luyet, B. J. and Gehenio, P. M. 1940 Life and Death at Low Temperatures. *Biodynamica*, Normandy, 341 pp.
- 17) Holm-Hansen, O. 1963 Viability of blue-green and green algae after freezing. *Physiol. Plantarum*, **16**, 530-540.
- 18) Scholander, P. F., Flagg, W., Hock, R. J. and Irving, L. 1953 Studies on the physiology of frozen plants and animals in the Arctic. *J. Cellul. a Comp. Physiol.*, **42**, 1-56.
- 19) 酒井 昭 1956 超低温における植物組織の生存. 低温科学, 生物篇, **14**, 17-23.
- 20) 照本 勲 1962 マリモ節間細胞の耐凍性 I. 低温科学, 生物篇, **20**, 1-24.
- 21) 照本 勲 1964 マリモ節間細胞の耐凍性 II. 低温科学, 生物篇, **22**, 1-17.
- 22) Stadelmann, E. J. 1962 Permeability. In *Physiology and Biochemistry of Algae*, (R. A. Lewin, ed.) Academic Press, New York and London, 493-528.
- 23) 坂村 徹 1940 植物細胞滲透生理. 養賢堂, 東京, 176 pp.
- 24) Biebl, R. 1956 Zellphysiologisch-Ökologische Untersuchungen an *Enteromorpha clathrata* (Roth) Greville. *Ber. dtsh. bot. Ges.*, **69**, 75-86.
- 25) Crafts, A. S., Currier, H. B. and Stocking, C. R. 1949 Water in the physiology of plants. *Chronica Botanica Company*, Waltman, 240 pp.
- 26) Levitt, J. 1956 Hydration. *Ency. Plant physiol.*, **2**, 584-590.
- 27) Iljin, W. S. 1957 Drought resistance in plants and physiological processes. *Ann. Rev. Plant physiol.*, **8**, 257-274.
- 28) Biebl, R. 1959 Das Bild des Zelltodes bei verschiedenen Meeresalgen. *Protoplasma*, **50**, 321-339.
- 29) Höfler, K. 1930 Das Plasmolyse-Verhalten der Rotalgen. *Z. Botan.*, **23**, 370-388.
- 30) Höfler, K. 1931 Hypotonietod und osmotische Resistenz einiger Rotalgen. *Österr. Botan. Z.*, **80**, 51-71.

- 31) Kylin, H. 1938 Über den osmotischen Druck und die osmotische Resistenz einiger Meeresalgen. *Svensk Botan. Tidskr.*, **32**, 238-248.
- 32) Biebl, R. 1939 Protoplasmatische Ökologie der Meeresalgen. *Ber. dtsh. bot Ges.*, **57**, 78-90.
- 33) Feldmann, N. L. et Lutova, M. I. 1963 Variations de la thermostabilité cellulaire des Algues en fonction des changements de la température du milieu. *Cahiers De Biologie Marine*, **4**, 435-458.

Summary

A red alga *Porphyra yezoensis* Ueda, growing chiefly in the winter intertidal zone in the west coast of Hokkaido, was examined for resistance to frost, desiccation and high osmotic solution. The mortality of the cells was determined by means of plasmolysis and vital staining.

P. yezoensis was extraordinarily resistant to low temperatures among many intertidal seaweeds. It could tolerate freezing at -70°C , -100°C and -196°C for 24 hours without death. Measurement of respiration in the cells revealed that normal endogenous metabolism in this alga recovered soon after freezing and rewarming.

Samples of this alga were subjected to freezing with media made of various kinds of solutions. The use of sucrose and glycerol in solution resulted in a fatal frost-injury to the cells. The use of distilled water as a medium was found to be fatal to the cells, while NaCl and ethylene glycol caused no injury.

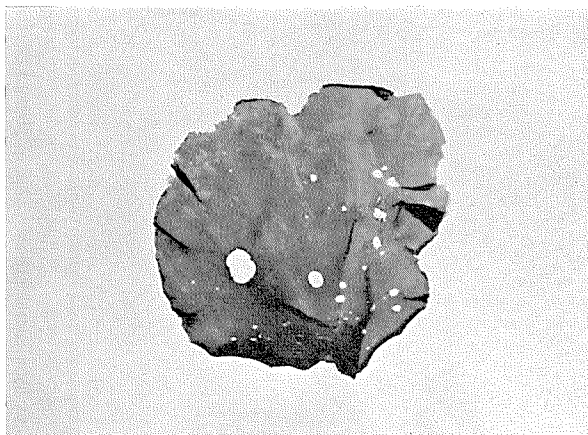
The ability of this alga to resist desiccation was very high. It could tolerate the desiccation in air of 0% relative humidity for 9 days at room temperature. Under the present experimental condition, it lost 95-96% of water content from the cell after 2 days of desiccation. It could, however, tolerate a severe dried state of about 5 per cent in water content.

Previous treatment for 20 minutes in sucrose, glycerol, ethylene glycol solutions and distilled water did not bring about any influence upon the desiccation resistance of this alga, while NaCl caused some injury. The injury in freezing and desiccation is closely correlated with dehydration from cells, but the mechanism of injury may certainly be different in both cases.

Regarding the resistance to a high osmotic solution, this alga could tolerate plasmolysis for 3 days in 5 M solution of balanced salts.

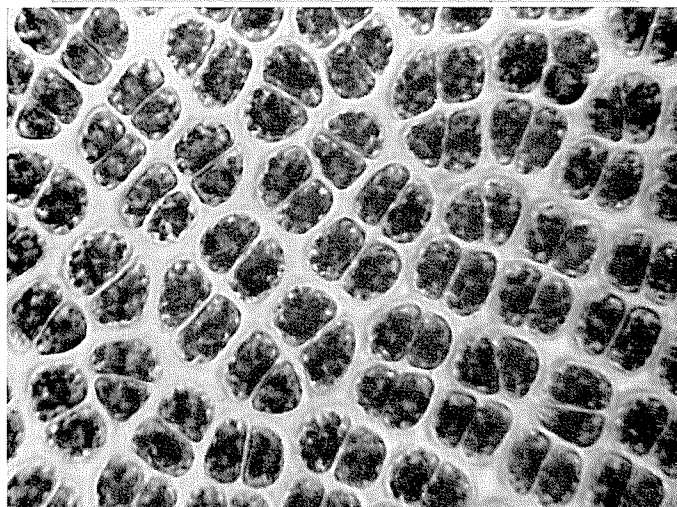
1. スサビノリ.

×1



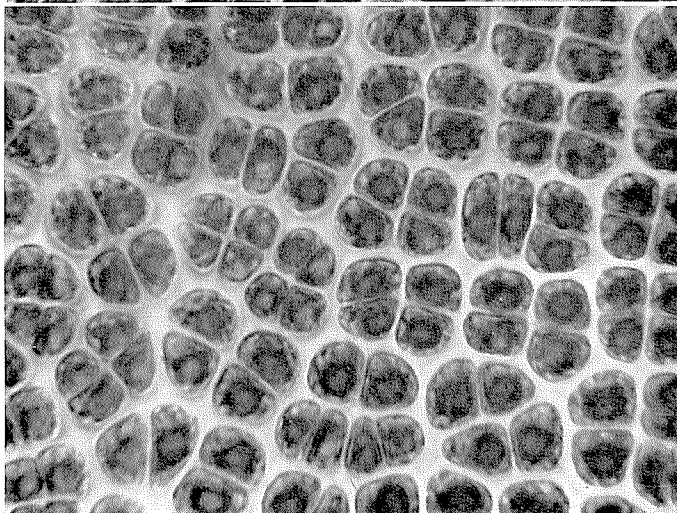
2. 正常なスサビノリの細胞.

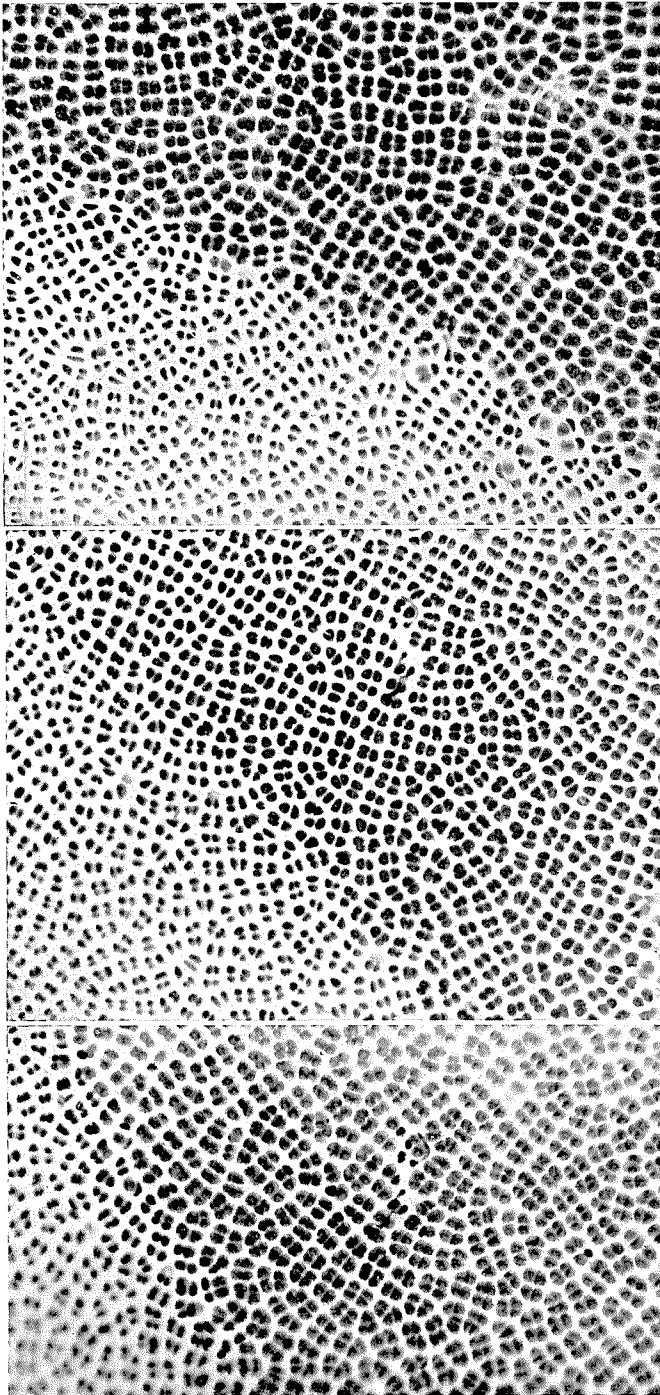
×625



3. -196°C, 2日間凍結融解後の生細胞.

×625





4. -196°C , 2日間凍結融解後海水中に戻した細胞. 左下半分は凍死細胞. $\times 160$

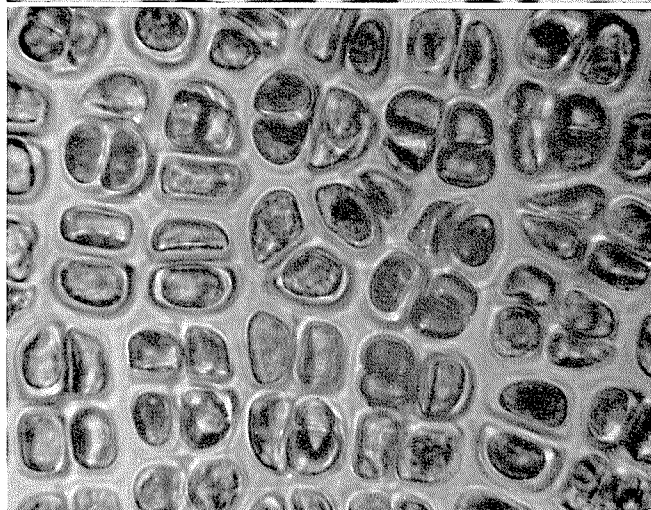
5. 同上の細胞を2M平衡塩溶液にて原形質分離した状態. $\times 160$

6. 同上の原形質分離した細胞を海水中に戻した時の状態. $\times 160$

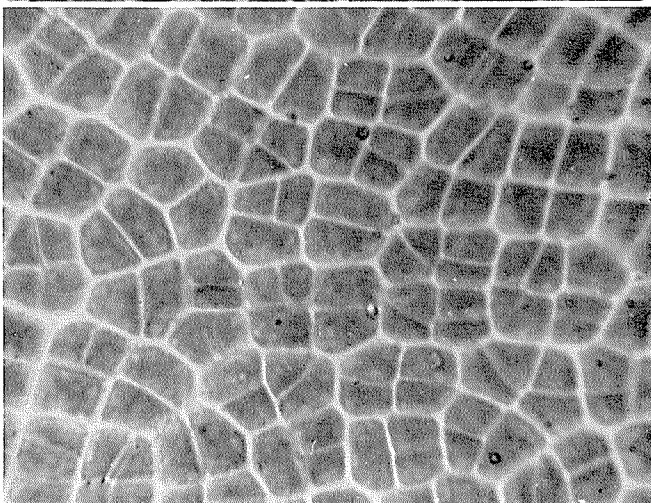
7. -196°C , 2日間凍結融解後の凍死細胞. $\times 625$

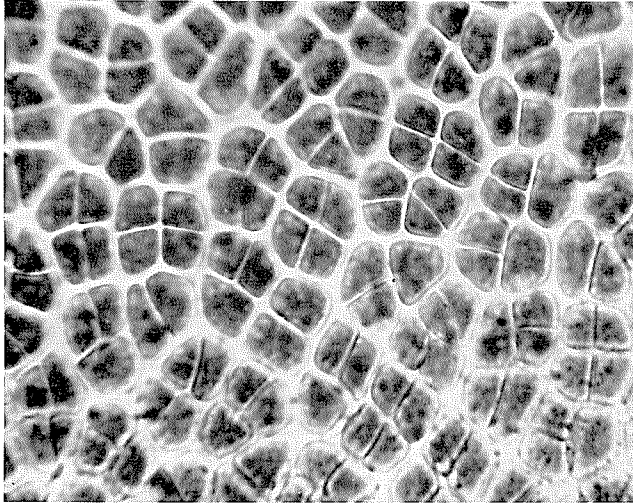


8. 1 M 蔗糖液で洗滌後, -70°C , 24時間凍結融解後の死細胞. $\times 625$

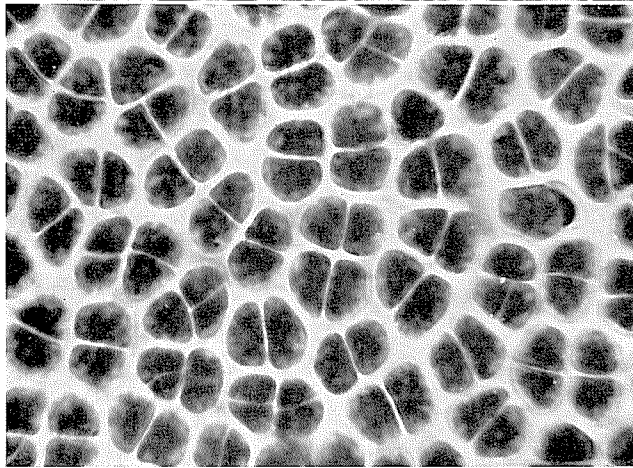


9. スライドガラスにはったまま乾燥, 3日後の状態 (100% 生). $\times 625$

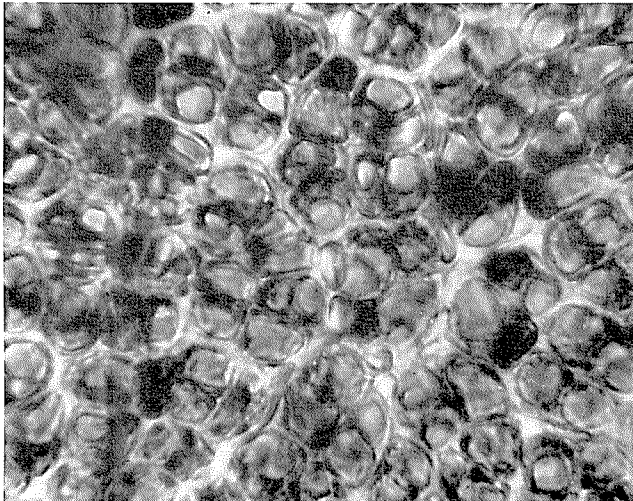




10. 乾燥 7 日後の状態. ×625

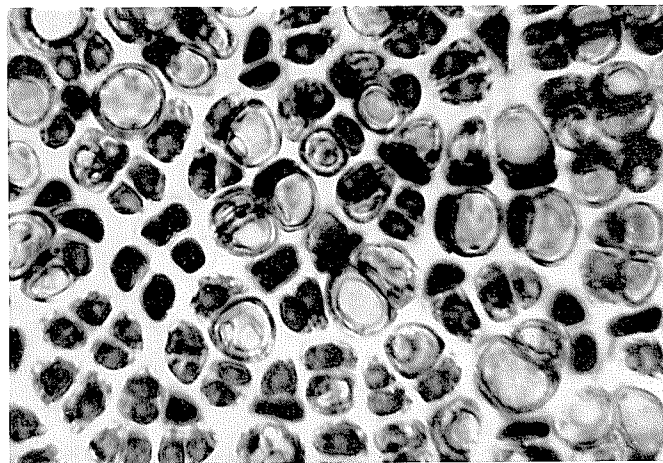


11. 乾燥 16 日後の状態 (ほとんど死細胞). ×625



12. 乾燥 4 日後, 海水に戻して 20 時間後の細胞. ×625

3. 0.5 M NaCl 中, 3 時間 30 分
後の細胞.
×625



14. アナアオサの乾燥細胞.
×625

