

- lish summary). Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 23, 249-254 (1957).
- OKAMURA, K.: The Marine Algal Flora of Japan. (In Japanese). Tokyo, (1936).
- OKAMURA, K.: Icon. Jap. Alg., 7 (9), (1937).
- ROSENVINGE, L. K.: The Marine Algae of Denmark, Pt. IV. Rhodophyceae IV. København, (1931).
- ROTH, A. G.: Catalecta Botanica quibus plantae novae et minus cognitae describuntur atque illustrantur. Fasc. 3. Leipzig, (1806).
- RUPRECHT, F. J.: Tange des Ochotskischen Meeres. Middendorff's Sibirische Reise, 1 (2), "Lieferung" 2, 191-435. St. Petersburg, (1851).
- SCHMITZ, F.: Knöllchenartige Auswüchse an den Sprossen einiger Florideen. Bot. Zeit., 50, 624-630 (1892).
- SCHMITZ, F.: Die Gattung *Actinococcus* KÜTZ. Flora, 77, 367-418 (1893).
- STARMACH, K.: Die Bakteriengallen auf manchen Süßwasserarten der Gattung *Chantransia* FR. Act. Soc. Bot. Polonicae, 7, 435-459 (1930).
- TURNER, D.: Historia Fucorum, Vol. 1 (1808).
- YENDO, K.: Marine Botany. (In Japanese). Tokyo (1911).

藻類の凍死（綜述）

照本 勲*

I. TERUMOTO: Frost Killing of Algae

I.

生物の低温に対する影響の研究では、先ず第一にその生物の致死温度を知る必要がある。その生物はなん度で凍死するかということである。凍死という言葉は、低温又は寒冷のためにおこる傷害あるいは死滅をあらわす。凍結とは、細胞に含まれる水分がかたまつて氷となることで、植物が凍結したからといってかならずしも凍死するとはかぎらないし、又ある植物では0°Cより高い温度において、すなわち氷がまだ出来ない温度で凍死することもある。

この観点から藻類を材料として、昔から現在まで観察、又は実験された主な文献を次に記載し、あわせて凍死にいた現象である乾燥死にふれた文献も参照した。

植物の温度についての研究では、次の要素が必要である。1. 実験材料の

* 北海道大学低温科学研究所

種名。2. 実験される際の外部温度 (冷却温度又は凍結温度)。3. 外部温度の作用時間 (冷却時間又は凍結時間)。4. 冷却速度, 又溶かされる場合は融解速度。5. 凍結融解の回数, ならびに融解後の処置。6. 植物細胞, 組織内外における氷の形成状態。7. 冷却前, 冷却中の材料の状態と含水量等。

古い時代の凍死に関する文献は, これらの要素の最初のふたつ, すなわち種類と外部温度のみ記載しているものが多い。致死温度を知る場合には, 作用時間が重要なことであるが, その当時は重要視されなかつたためか, 多くの古いデータにはその明記がないので, 直接の比較が出来ないものがある。又, 致死温度を測定する場合に注意すべきことは, 材料としての植物の温度が, 外気温と平衡になつたかどうかを明瞭にすることである。低温にさらす時間がごく短い場合, 含水量の多いため比熱の大きい生物は, 非常に小さなものでない限り外気温と平衡になつていないことが多い。したがつて, できる限り植物体の温度を直接測るのが望ましい。

細胞の凍結過程は複雑ではあるが, 簡単に述べると, 二つの様式に大別できる。一つは細胞外凍結といい, 細胞の表面にだけ氷が生ずるのであつて, 凍結が進むにつれ細胞内部から水が奪われ, 表面の氷は成長する。細胞間隙におこる凍結と考えてよい。他の一つは細胞内凍結とよばれ, 細胞内部に氷が生ずる。細胞は内部が凍結すると例外なく致命的な害を受けるが, 細胞外凍結だけが起つた場合は, その時の温度, つまり生ずる氷の量および凍結の持続時間によつては障害をうけない。細胞外凍結は必ず一種の脱水をとまなうため, 凍害を脱水の害, すなわち乾燥障害と同じであると解する人もある。共に水分を失うという点で, 共通の理をもつものである。数種類の植物細胞について凍結, 乾燥, 原形質分離ならびに熱に対する抵抗性を比較実験したところ, そのひとつに対して強い抵抗性を示した細胞は, 他に対しても強いという結果がえられている。すなわち凍結, 乾燥, 熱に対する抵抗性は本質的に同じであり, そのひとつを説明できる説は他のふたつにも適用できるかも知れないが, その抵抗性機構が本質的に等しいものかどうかは今後に残されている問題といえよう。

II.

始めに単細胞藻類の文献をあげると, 単細胞藻類の数種類は雪の中に発見された。緑色又は赤色に雪をそめ, 緑雪, 赤雪と古くからいわれているものである。そのうち *Chlamydomonas nivalis* はアルプス地方, グリーンラ

ソド、南極等の赤雪に見出され、その主要構成生物の一種と見なされている。動胞子は温度の上昇と共に不活潑になり、遂には鞭毛を失い、薄い膜にとざされ不動胞子となり、動胞子は +4°C 以上の温度には耐えられないといわれている。日本でもみられる（小林・福島 1952）。又、緑雪は主に *Chodatella* か、まれに *Chlamydomonas* より構成されているが、これらの藻類が生存できる最低温度に関しての文献はまだ見られない。ただハンガリーの KOL 女史と CHODAT, R. の業績を参考に出来る程度である。

WEST, W. と WEST, G. によると *Closterium* は水中で 14 日間も凍つていても、融けたあとで運動力をもっていることがわかった。*Microsterias* も同じ実験条件で凍結に耐えることが認められた。

WISLOUCH (1910) は滅菌水に浮遊させた *Stichococcus bacillaris* を色々な低温にさらした。-75°C に 2 時間さらしたものは、わずかに生き残つただけだったが、-21°C に 6~7 時間さらしたものでは約 50% も抵抗出来た。

PICTET (1893) は水に培養した珪藻の色々な種類を約 -200°C で凍結させたが害をうけなかつた。媒液を溶解後、珪藻は pseudopodia に似た突起を出しているように見られたという。

EDLICH (1936) は樹皮の下層部に生育している *Pleurococcus vulgaris*, *Apatococcus minor*, *Stichococcus bacillaris* を自然の生育状態のまま、前処理として大気湿度（関係湿度 25~100%）を色々にかえたあと、-20°C から -80°C までの低温に色々な時間あわせた。*Pleurococcus* は -80°C にすくなくとも 24~26 時間抵抗することが出来た。この結果は前処理として行つた湿度に関係なかつた。同じような実験で *Stichococcus* と *Apatococcus* は抵抗性が小さいことが証明された。前者は -80°C に 2 時間、後者は 1 時間でそれぞれ凍死した。関係湿度を 50% にかえると、-80°C の低温に対して始めて *Pleurococcus* と同程度の抵抗性をえた。

WARBURG (1919) はクノップの培養液中に浮遊した *Chlorella* を液体空気 (-192°C) に 1 時間さらした。細胞は処理によつて害されなかつた。

KÄRCHER (1931) は *Stichococcus bacillaris* を試験管中に寒天培養となし、-70°C に 1~8 日間、又 -183~-192°C の低温に 13 時間保つたが、藻類は死ななかつた。

BECQUEREL (1932, 1936) は *Protococcus* と *Pleurococcus* を乾燥状態に保つたあと、人工的につくれる最低温度にさらしたあとでも、この二つの藻類

は正常に生育することを確めた。液体合成培地で培養した細胞、又は樹皮片からとつた細胞を酸化バリウム上で 35°C 、3カ月にわたつて乾燥した。更に 10^{-5} mm 水銀減圧乾燥後、試験管に封じたものを -190°C に480時間、 $-269^{\circ}\sim -271^{\circ}\text{C}$ に7時間半さらした。そのうちのあるものは冷却前25時間にわたり真空中で乾燥したものを使用した。ひとつの実験では 1.84°K の温度に1時間維持できた。この他 *Pleurococcus vulgaris*, *Chlorella vulgaris*, *Stichococcus bacillaris*, *Hantzschia amphioxys*, *Pinnularia viridis*, *Chlorococcum humicolum*, *Palmella miniata* 等の藻類を材料としたが、この処理によつて生育は害されなかつた。

III.

WEST, W. と WEST, G. は, *Spirogyra cataeniformis* が接合の過程で氷の中に2週間おかれたあとでも、秀れた生活力をもつていたと報告した。

COHN (1871) は顕微鏡にセットした凍結台の上で *Nitella syncarpa* を冷却して、その生活力を研究した。藻類の分枝は水を数 mm の深さに入れた浅いガラス器の底におかれ、 -20°C の低温にさらされた。温度はガラス器内の水につけてある寒暖計によつた。活動的な原形質流動は 0°C でも観察でき、 -2°C で流動はゆるやかとなつた。それ以下に温度が低下すると、細胞は凍つてその結果 *Nitella* は死んでしまつた。そのうち2例だけは、 -3°C の氷から取り出した細胞も生きていた。細胞の中に氷が出来るのは、 -3°C と -4°C の間で、始め原形質の収縮がおこるが、融解後細胞は死んでしまつた。

STRASBURGER (1878) は *Haematococcus* と *Chilomonas* の2種の藻類の游走子が、一部凍つた水滴の中の氷晶の間でも運動することを観察した。又完全に凍つてしまつた場合、*Haematococcus*, *Ulothrix*, *Bothrydium*, *Chilomonas* の游走子は融解後死んでしまつた。実験中、周囲の温度は -1°C 以下にさがらなかつたという。

MOLISCH (1897) は *Spirogyra* の糸状体をスライドとカバーグラスにはさみ、 $-3^{\circ}\sim -6^{\circ}\text{C}$ で凍結させた。*Spirogyra* は水の氷点以下に冷却されると、始めに氷の結晶が表面の周囲に形成され、水は細胞内部から引つぱられることを観察した。融解すると細胞は殆んど以前の容積をとり戻し、葉緑体は多くの細胞中に再びはつきりと現われるが、以前には明瞭に区別のあつたのが細胞核と同様に膨脹して、共にかたまりの中に一緒になつて、外見上からも死んだ像を示す。このような凍結様式は *Spirogyra* の他、*Cladophora*,

Derbesia 等でみられる。*Codium* は細胞内部の凍結と、上述の細胞外凍結とが同一細胞でおこる。*Spirogyra* の場合でも冷却が充分はやい時、氷は細胞の中に現われる。前と同じ条件で *Cladophora* は -8°C で凍死し、*Derbesia* と *Codium* では -11°C で凍死した。

又、MOLISCH は紅藻 *Nitophyllum* を水につけたまま -5°C で凍結した。この紅藻は凍結の状態、生命を害われ蛍光性紅色素を現わした。すなわち、MOLISCH はこの事実から、凍死は融解時始めておこるものでないことを認めた。

KLEMM (1895) は試験管に試料を入れ、寒剤につけて藻類に対する低温の影響をしらべた。*Chara* の発芽体と *Spirogyra* の糸状体は、 -13°C の低温に 15 分間さらすと死んでしまった。

KYLIN (1917) はスエーデン西海岸に生ずる種々の海藻の耐凍性について実験した。方法は試料を海水につけ、 -2.9°C 、 -4.0°C 、 -5.7°C 、 -7.8°C 、 -10.7°C 、 -16.8°C 、 $-18^{\circ}\sim-20^{\circ}\text{C}$ の七つの温度に、各 3, 6, 10 時間ずつ凍結させた。褐藻、紅藻では葉状体の色の変化、緑藻では凍死によつて色が変らないので原形質分離をするかしないかで生と死とを判定した。使用した海藻は過冷却状態の低温で死ぬことはなかつた。ピグメントの拡散は氷が出来なければおこらない。凍死温度とその温度に対しての致死的な時間を次にあげる。

紅藻	<i>Trilliella intricata</i>	-2.9°C	3 時間
"	<i>Delesseria sanguinea</i>	-4.0°C	10 時間
"	<i>Delesseria sinuosa</i>	-5.7°C	10 時間
"	<i>Laurencia pinnatifida</i>	-4.0°C	10 時間
"	<i>Ceramium rubrum</i>	-5.7°C	10 時間
"	<i>Chondrus crispus</i>	-16.8°C	10 時間
"	<i>Nemalion multifidum</i>	$-18^{\circ}\sim-20^{\circ}\text{C}$	10 時間後も生存
"	<i>Bangia fuscopurpurea</i>	"	"
"	<i>Porphyra hiemalis</i>	"	"
褐藻	<i>Laminaria saccharina</i> (一年目のもの)	-5.7°C	6 時間
"	<i>Laminaria saccharina</i> (数年目のもの)	-16.8°C	3 時間
"	<i>Laminaria digitata</i>	-5.7°C	10 時間
"	<i>Pylaiella littoralis</i>	$-18^{\circ}\sim-20^{\circ}\text{C}$	10 時間

褐藻	<i>Fucus vesiculosus</i>	-18°~-20°C	10時間後も生存
"	<i>Fucus serratus</i>	"	"
"	<i>Ascophyllum nodosum</i>	"	"
緑藻	<i>Enteromorpha intestinalis</i>	"	"
"	<i>Cladophora rupestris</i>	"	3時間

紅藻のうち *Trilliella*, *Delesseria*, *Laurencia* 等は最も耐凍性弱く, *Nemalion*, *Bangia*, *Porphyra* は耐凍性最も強い。褐藻の *Fucus*, *Ascophyllum*, 及び緑藻の *Enteromorpha* は強い耐凍性を示した。若い *Laminaria* は夏に 0.3~0.4 m の深さのところによく生育するが, 上の結果からもわかるように寒さに弱いため, 冬には容易に凍つてしまう。そのためスエーデン西海岸では, *Laminaria* の葉状体は 0.6~0.65 m より浅いところに發育しないのは冬期間の寒冷のため凍害をこうむるからである。又, これらの海藻をブドウ糖あるいは硝酸ナトリウムを溶解した海水又は濃縮した海水中に入れると, 低温に対する抵抗性の高いものほど高張溶液に対する抵抗性もまた高いことがわかつた。又, 凍結に際し氷は細胞内に出来ず, 組織の外側に出来た。

KÄRCHER (1931) は試験管で寒天斜面培養した *Pediastrum* と *Hormidium* の二種の藻類を, -70°C の寒剤に5時間さらしたが, この程度の低温に対しては死ぬことはなかつた。

BECQUEREL (1936) は乾燥した藻類を液体ガスで冷却して, その生活力を調べた。彼は色々な藻類を含む土壌試料をとり, 酸化バリウムを使用, 真空中で徐々に乾燥した。乾燥は 35°C で3カ月にわたつて行つた。10⁻⁵ mm 水銀減圧で更に乾燥を重ね, 液体ヘリウム (-269°~-271°C) に7時間半さらした。また同じように液体窒素 (-196°C) に480時間さらした。両方のグループとも *Oscillatoria*, *Glaeotila*, *Hormidium*, *Siphonema*, *Pediastrum* は処理後も生存した。

又, 彼は (1932) 糸状藻類である *Tribonema elegans* を樹皮片上に生育している状態のまま, 十分に乾燥, 高真空で22年間保存したものを 4°~1.84° K に数時間さらしたが, 処理後は正常に生育した。

小野田 (1937) は MOLISCH の設計を改良した凍結顕微装置を用い, 2種の *Spirogyra* の過冷却ならびに凍結をしらべた。*Spirogyra* は -11.4°C に17時間の過冷却をするが冷死はまぬがれず, 他の種類の *Spirogyra* では -3.5°C に5時間おくと, 全細胞の 36% は生き残つたが, 64% は冷死した。

又、細胞の外表に氷結の起つた場合、葉緑体、ピレノイドの上によく氷の結晶が出来た。*Spirogyra* は融氷後軽度の偽原形質分離が見られ、冷却時間が長いと原形質の凝固が起つて恢復しない。氷結が表面とともに内部にも起ると原形質は両者の間に圧せられ、脱水、乾燥、破碎をうける。内部凍結は細胞の死を意味するという。

BIEBL (1938) はヘルゴランド島の海岸に生育する海藻、特に紅藻について濃縮した海水と、乾燥に対する抵抗性について実験した。この結果は寒冷に対する抵抗性によく一致した。干潮線以下に生ずるものは 94%、干潮線以上のものは 88%、あるいはそれ以下の湿度にたえた。*Polysiphonia*, *Broggiartella* などは 100% の湿度中でも間もなく死んだ。抵抗性の大きな種類はその滲透価も高いが、干潮線以上に生ずるもので滲透価が比較的低いものは害をうけやすい。*Porphyra* の如きは高濃度の媒液にも乾燥にも抵抗性が比較的大きい。この *Porphyra* に対する抵抗性は前述の KYLIN の寒冷に対する抵抗性に相関している。BIEBL は最近ブルターニュ海岸の海藻を材料として、温度と滲透圧に対する抵抗性について論文を書いている (Protoplasma, 未刊)。

朝比奈 (1956) は *Nitella* の節間細胞を用いて、 -0.4°C という高い温度で細胞表面に氷をうえてやつた場合、細い氷の結晶が細胞外に発達したが、少なくとも数分間の凍結では、融解後も原形質流動を普通に観察できた。細胞内部が凍結するのは -3.2°C であつた。*Hydrodictyon reticulatum* の細胞膜は、細胞内部の凍結開始に抵抗する力が大きい。又、*Spirogyra* は -2.5°C で凍結した。これらの藻類は、過冷却度がある範囲内で凍結が始まつた場合、細胞外凍結をまぬがれなく、この凍結様式で容易に死んでしまう。

IV.

以上の文献を考察すると、種によつて低温による致死温度は色々と変化するものであることがわかる。単細胞藻類である *Chlorella* や *Stichococcus* は自然に生育する状態でも、又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人間が利用出来る最も低い温度に数時間おかれても細胞は破壊されない。それに反して多細胞藻類の大部分は、 $-10^{\circ}\sim-15^{\circ}\text{C}$ 附近の低温にさらされるとほとんど死んでしまい、単細胞藻類よりも寒冷に対する抵抗性が少ないことがわかる。特に *Hormidium* は、一列の細胞からなり糸状をしているが、容易に破碎して短い糸となる性質をもつためか、単細胞のもの

のと似て低温に対する抵抗性が大きい。形態的な違い、すなわち細胞の大きさ、形、表面積と体積との割合などで寒冷に対する抵抗性が変ってくるのがわかる。その他、凍結条件としての乾燥度の有効性や滲透濃度によつても影響される。

又、水生植物は自然の状態で細胞内に氷の出来ることはほとんどなく、温度が徐々に降下すると0°Cよりやや低温で、細胞をとりまいてる水に氷結が始まるが、これより脱水作用をうけそのため細胞は萎縮し、その凍結の持続時間によつて種々の傷害をうけ、ついに死んでしまう。

参 考 文 献

- ASAHINA, E. (1956): *Cont. Inst. Low Temp. Sci.*, No. 10, 83.
 BECQUEREL, P. (1932): *Rapport 6^e cong. Int. du Froid* (Buenos-Ayres).
 ————— (1932): *C. r. Acad. Sci.*, 194, 1974.
 ————— (1936): *C. r. Acad. Sci.*, 202, 978.
 BÈLEHRÁDEK, J. (1935): *Temperature and Living Matter*. (Berlin).
 BIEBL, R. (1938): *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 86, 350.
 EDLICH, F. (1936): *Arch. Microbiol.*, 7, 62.
 KÄRCHER, H. (1931): *Planta*, 14, 515.
 KLEMM, P. (1895): *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 28, 641.
 KYLIN, H. (1917): *Ber. deutsch. Bot. Ges.*, 35, 370.
 小林義雄・福島博 (1952): *植物学雑誌*. 65, 77.
 LEVITT, J. (1956): *The Hardiness of Plants* (New York).
 LUYET, B. J. & P. M. GEHENIO (1940): *Life and Death at Low Temperatures*. (Normandy).
 MOLISCH, H. (1897): *Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen*. (Jena).
 小野田直之 (1937): *植物及動物*. 5, 1845.
 PICTET, R. (1893): *Revue Scient.*, 52, 577.
 PRECHT, H., J. CHRISTOPHERSEND & H. HENSEL (1955): *Temperatur und Leben*. (Berlin).
 坂村徹 (1940): *植物細胞滲透生理*. (東京).
 STRASBURGER, E. (1878): *Ztschr. f. Naturwiss.*, 12, 612.
 WARBURG, O. (1919): *Bioch. Ztschr.*, 100, 234.