

中沢信午*：ハネモの再生極性**

Singo NAKAZAWA*: Regeneration polarity in *Bryopsis***

ハネモ *Bryopsis* のタルスを切ると再生がおこる事実は古くから知られていた⁵⁾。近年になってさらに、その原形質の1滴からも正常の形態形成ができることが報告されている⁶⁾。またそのタルスは明暗勾配におかれると明るい側に面して、仮根は暗い側に面して分化し⁵⁾、I A Aの濃度勾配のなかでは濃度の高い方向に仮根を生ずることが知られている⁴⁾。このように自身の中に内在しながらも、外圍条件によって変わるハネモの極性は、体のどの部分にもとづくものであろうか、というのがこの研究のねらいである。

材料と方法

東北大学の和田俊司博士が松島湾で採集し、培養したハネモ *Bryopsis plumosa* を、山形大学の著者の実験室へ分譲を受け、研究材料とした。この材料を市販の人工海水“ジャマリン”中にストック培養し、1次元的に生長した枝約5 cmを必要に応じて切りとり、これを1日おなじ人工海水中において傷口を安定させ、次にそれをNOVAK & BENTRUP¹⁾がヒパマタの卵の極性の実験に使用した人工海水中に移して1昼夜放置し、径6 cmのペトリざらにおなじNOVAK & BENTRUP海水とともに入れて横たえ、先きの太いガラス針でタルスの一部分を圧殺すると、その部分の原形質は外へ流出し、そこだけ原形質のないギャップができる。この方法で5 mm間隔に圧殺すると図1Aのように、5 mm長さの原形質がギャップで連結された列車のようにならんだ状態となる。ギャップと接する原形質の傷面は、当初は不規則な形をしているが、24時間後には凸レンズ形に張り出してくる。こうして約5 cmの長い細胞壁のさやの中に、5 mm長さの原形質片が1列にならんでいる。これを20°CのコイトロンE₁型恒温室におき、白色蛍光灯により白色光2000 luxが直上から均一に照射する条件におく。明暗交代のない連続照明。原形質の圧殺は5 mm, 3 mm, 2 mmなど長さを変えた場合についても行なわれた。また原形質内容のある方向に配置転換した時に、その影響を受けて再生の軸が変わるか否かは、極性のメカニズムを考える上で重要である。この目的のために、上の方法で圧殺した材料を24時間放置して傷面が安定してから、10本ずつ束にして塩化ビニール・シートで巻いて曲がらないように保ち、遠心管に入れ、5分間35000 gで遠心力をかけ、

* 山形大学理学部生物学教室 (990 山形市小白川町1-4-12)。

** 文部省科学研究費(総合A・No. 934051)による分担研究の一部。

Department of Biology, Yamagata University, Koshirakawa, Yamagata, 990 Japan.

Bull. Jap. Soc. Phycol., 23: 139-143, Dec. 1975.

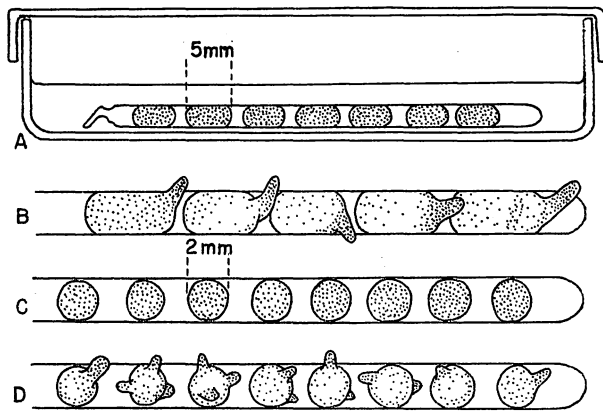


図1. A. 5mm 間隔圧殺したヘネモをペトリざらに培養する図解
 B. そのタルス再生初期
 C. 2mm 間隔圧殺における原形質の分離
 D. そのタルス再生初期

原形質内容の偏りを確認してから、ペトリざらに横たえて培養した。遠心器はマルサン卓上水冷式を用いた。

追試実験として、のちに自然海水を用いて同様の実験がなされ、極性については海水の場合と同一の結果が得られた。

結 果

1. 圧殺24時間後には原形質片の傷面に細胞壁が新生した。5mm長さの原形質片は実験個体110個のうち48時間後に94%以上の高率でその本来の頂端付近から、あらたにタルスを再生し、72時間後には本来の基端付近に1~2本の仮根を形成した(表1)。この有極的分化率は87%であった。仮根とタルスとの区別は、タルスが太くてプラスチック

表1. 細胞壁に付着した長さ5mmの原形質片110個について
 タルスおよび仮根再生の位置関係

再 生 位 置	タルス再生個体数	仮根再生個体数
頂 端	104	0
基 端	1	96
そ の 他	0	0
不 明	5	14
計	110	110

ドに富むに対して、仮根はずっと細く、プラスチックに乏しい点に特色がある。

2. 圧殺間隔が小さく、原形質片の長さが2mmになると、原形質は本来の細胞壁から完全に分離し、結果として本来の細胞壁のさやに包まれて球形のプロトプラストが1列にならんだ状態となる(図1C)。これをさきと同様の方法で培養すると、各プロトプラストは球形のまま表面に細胞壁を新生し、48時間後にはおのおの1~2個のタルスを出芽しはじめる。しかしその出芽の位置は不定で、本来の極性軸と何ら関係がない(図1D)。圧殺間隔が2.5~3.0mmの場合は、原形質は時には全部細胞壁から分離し、あるいは一部分だけ分離する。この状態で培養をつづけると、完全に原形質が分離したものでは上とおなじく再生方向が不定であった。しかし一部分だけ分離した場合には再生タルスは本来の頂端部に生ずる傾向を示した。

5mm以上の間隔で圧殺した場合でも、原形質の傷面は自身の表面張力によって凸レンズ形に丸くなるので、それにともなって傷面部域からやや奥まで原形質は壁から離れる。しかしその深さは0.5mm程度であるから、より深部は壁に付着したままである。圧殺が2mm間隔になると、原形質の両端の傷面から1mm深く入った部分さえも、傷面の表面張力に耐え切れずに分離し、全体が球形またはやや長い球形になるのである。

3. 遠心力をかけた原形質片は、遠心力が頂部、基部、側部のうちの、どの方向にかかっても、すべて遠心端にプラスチックと核とが集まった。この層状化は約6時間後に分散して当初の状態に復帰するが、なかには層状化が完全には分散せずに残っている場合も見られた。遠心後24時間たって観察した結果、遠心力がどの方向にかかっても、再生の極性は正常にあらわれ、乱れることはなかった(表2)。すなわちタルスの出芽は本来の頂端付近に生じた。

NOVAK & BENTRUP の海水は成分が単純で、実験には便利であるが、ハネモの生長には好適ではないので、自然海水を用いて追試実験が行なわれた。その結果は、再生の

表2. 遠心した長さ5mm原形質片のタルスおよび仮根再生の位置

()内は実験個体数

再生位置	頂方遠心 (83)		基方遠心 (80)		側方遠心 (56)	
	タルス 両生	仮根 再生	タルス 再生	仮根 再生	タルス 再生	仮根 再生
頂端	62	0	77	0	50	0
基端	0	57	0	79	0	48
その他	0	0	0	0	0	0
不明	21	26	3	1	6	8
計	83	83	80	80	56	56

極性に関するかぎり、NOVAK & BENTRUP の海水の場合と同一であった。ただし自然海水の場合は再生がより完全で、タルスの羽状化まで進行することができた。NOVAK & BENTRUP 海水では、のちに奇型が生じやすい。しかし極性の問題とはここでは直接には関係ないことである。

考 察

ハネモは多核の巨大細胞であるから、圧殺されて残った原形質片中には1個以上の核を含み、また多くのプラスチッドも含んでいる。したがって、これが再生によって形態形成をはじめるのは Tatewaki ら¹⁾の実験から考察しても当然である。光が一方から不均一に照射した場合には、ハネモのタルスは光源の方向に伸長し、また再生タルスもその方向に生ずるが、全体に均一に光があたった場合は自身の極性にしたがって先端生長をつづける。この極性は、タルスを切り刻み、あるいは間隔圧殺しても、原形質が細胞壁に付着しているかぎり、本来の頂端方向へ伸長またはタルスが再生する傾向が失われない。しかし、ひとたび原形質が細胞壁から分離すると、もはやその本来の極性を失い、再生の方向が乱れる。したがってハネモの極性を保持するものは、原形質の表面が細胞壁と密着している状態にあると考えられる。そして、その密着が原形質に対して細胞壁の本来の生長方向がどちらであったかによって再生の方向が決まっているのだから、限定要因は本来の細胞壁の伸長方向、つまり極性の“向き”は細胞壁にある。このことは遠心力によって内容を動かしても、それが極性の向きに影響しないという実験によって、より一層確実であると考えられる。

STEINECKE²⁾が報告した *B. disticha* ではタルスの再生が切片の両末端からはじまる点で本実験のハネモと異なる。しかし BURR ら³⁾が報告した *B. hypnoides* では本実験とおなじく頂端からタルスの再生がおこっている。

Summary

About 5 cm long thallus of *Bryopsis plumosa* growing one-dimensionally was killed by pressing with a blunt glass needle at 5 mm to 2 mm intervals. In the killed part, the protoplasm was lost by injuring of cell wall. Thus were obtained a train of protoplasmic fragments arranged in a line connected with transparent cell wall. These were cultured in petri dishes with artificial sea water kept horizontally under constant illumination of 2000 lux white light shining uniformly from above. New thallus was formed almost always at the originally apical end of each fragment so far as the fragment was longer than 5 mm, exhibiting a definite polarity. The polarity was not disturbed by stratification of the intracellular materials induced by centrifuging. However, the polarity was lost if the

fragment was 2 mm in length in which case the protoplasm was completely separated from the original cell wall.

引用文献

- 1) NOVAK, B. and BENTRUP, F. W. (1973): Orientation of *Fucus* egg polarity by electric a. c. and d. c. fields. *Biophysik* **9**, 253-260.
- 2) BURR, F. A. and WEST, J. A. (1970): Light and electron microscope observations on the vegetative and reproductive structures of *Bryopsis hypnoides*. *Phycologia* **9**, 17-37.
- 3) BURR, F. A. and WEST, J. A. (1971): Protein bodies in *Bryopsis hypnoides*: Their relationship to wound-healing and branch septum development. *J. Ultrastr. Res.* **35**, 476-498.
- 4) JACOBS, W. P. (1951): Studies on cell differentiation: the role of auxin in alga, with particular reference to rhizoid-formation in *Bryopsis*. *Biol. Bull.* **101**, 300-306.
- 5) STEINECKE, F. (1925): Zur Polarität von *Bryopsis*. *Bot. Arch.* **12**, 97-118.
- 6) TATEWAKI, M. and NAGATA, K. (1971): Surviving protoplasts in vitro and their development in *Bryopsis*. *J. Phycol.* **6**, 401-403.