

宮地和幸*・黒木宗尚*：緑藻のいわゆるミドリウツミモ
(*Chlorochytrium inclusum*) の遊走子の発達について**

Kazuyuki MIYAJI* and Munenao KUROGI*: On the development
of zoospores of the green alga *Chlorochytrium inclusum*
from eastern Hokkaido**

ミドリウズミモ *Chlorochytrium inclusum* は葉状の紅藻の組織に内生する緑藻であるが、モツレグサ属の *Spongomorpha aeruginosa* (L.) VAN DEN HOEK, *Sp. spinescens* KÜZTING (?) の胞子体であることが近年 JÓNSSON⁸⁻⁹⁾, KORNMANN^{9),10)}, 及び CHIARA¹¹⁾ によって明らかにされた。このミドリウズミモは我国近海の千島・樺太に生育することが知られているが^{13),14)}, 最近我々の研究室の調査 (未発表) において北海道にも生育することが確認された。しかし、日本のミドリウズミモとモツレグサ属との関係についてはまだ明らかにされていない。

今回、著者らは北海道東部の厚岸で、ニセカレキグサ *Farlowia irregularis* YAMADA に内生するミドリウズミモを採集し、これを培養して、遊走子を放出させ、その発達を観察することが出来たので、その結果を報告する。

材 料 と 方 法

本実験に用いた材料は1974年12月13日、厚岸町にある北海道大学理学部付属臨海実験所付近で採集したニセカレキグサの皮層に内生していたものである。このニセカレキグサの藻体をカミソリで輪切にし、その切片を直径 9 cm のフラットシャーレに数個ずつ入れて培養し、遊走子を放出させた。遊走子の発芽体は直立糸を形成した後、単離してそれぞれ腰高シャーレ (100 ml) に移植した。培養温度と照明時間は遊走子の放出のとき、5°C 8時間、10°C 10時間、15°C 14時間で行い、放出後はこれに 10°C 14時間の条件を加え、発芽体の単離後はさらに 5°C 14時間を追加して、5°C、10°C の長短日条件と 15°C の長日条件で培養した。照明には白色蛍光灯を用い、照度 1,000~4,000 lux とした。培地は ESP 培地を用い、また珪藻の増殖を抑える為に、酸化ゲルマニウム 0.5 mg/ml を適量添加した。核の染色には、Aceto-iron haematoxylin-chloral hydrate 液を使用した。

* 北海道大学理学部植物学教室 (060 札幌市北区北 10 条西 8 丁目)

Department of Botany, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo. 060 Japan.

** 文部省科学研究費補助金 (No. 754143) による研究の一部

Bull. Jap. Soc. Phycol., 24: 121-129, Dec., 1976.

結 果

ミドリウズミモの観察

ミドリウズミモはニセカレキグサの付着部より約 8 cm の高さまでの皮層に内生し、それより上部の葉体には見られず、特に下部では表面観で表皮がみられない位に密生し、上部になるに従って疎生していた。ミドリウズミモは常に宿主の皮層に内生するが、その頂部は宿主の表層に接する状態で存在する (Fig. 1A, B, Fig. 2a, b, f)。藻体の多くは楕円形に近いが (Fig. 2d), 円形のものもあり (Fig. 2e), また頂部がとがったものも見られた (Fig. 2f)。なお柄は全く観察されなかった。色素体は網目状で多数のピレノイドをもっている (Fig. 1A, B)。藻体の大きさは密生しているところで小さく、長径 20-50 μm , 短径 13-30 μm であるが、分布が疎になる部分では大きく、長径 30-75 μm , 短径 18-38 μm となり、さらに極端に疎となる部分では長径 60-110 μm , 短径 30-68 μm であった。成熟個体は極めて少なく密生している所の小さい個体だけに見られた (Fig. 1B, 2b)。

遊走子の放出と培養

培養を始めて2~3週間後には、ミドリウズミモは前記のすべての培養条件下で遊走子を放出した。しかし 5°C と 10°C ではそれらの発芽体は多かったが、15°C では極

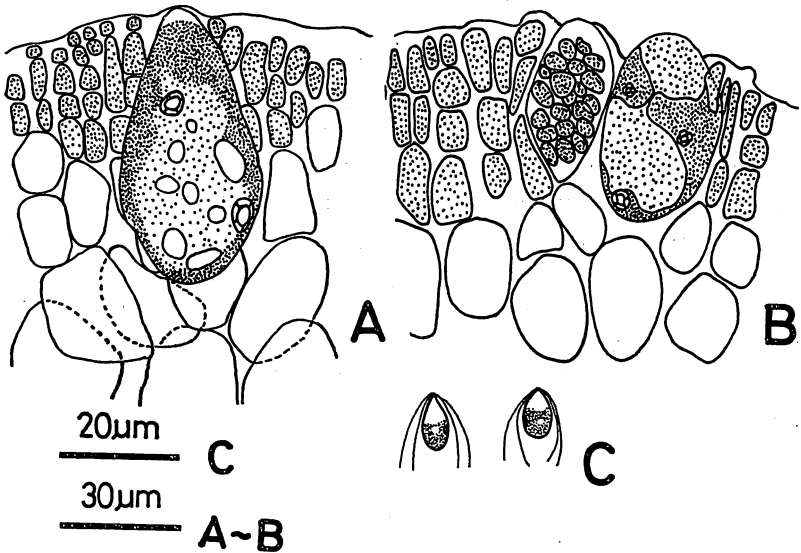


Fig. 1. A, B *Chlorochytrium inclusum*, endophytic in *Farlowia irregularis*, the left in B matured. C Discharged quadriflagellate zoospores.

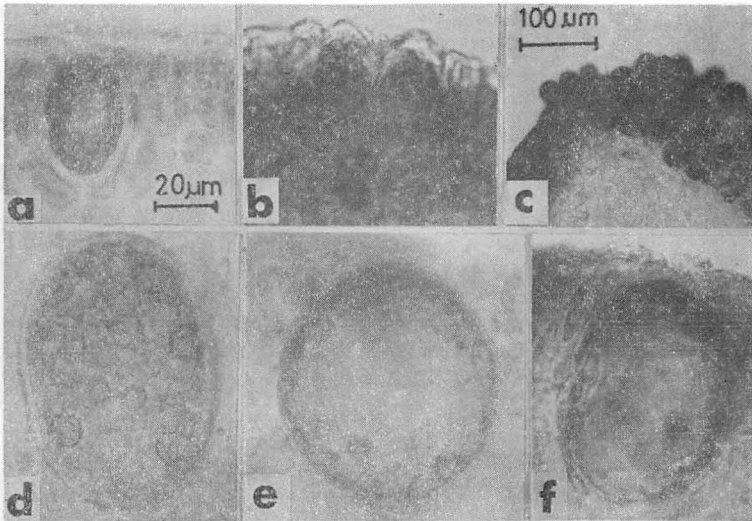


Fig. 2. *Chlorochytrium inclusum*, showing various shapes; a, d, e, f immature, b the left mature, c protruded mature ones from the surface of the host after two weeks of culture at 5°C in a 8-hr photoperiod. Use scale in a for a-b and d-f, scale in c for c.

めて少なかった。一般に遊走子は小さい藻体では体全体に形成され、大きい藻体では上部に偏在して形成される傾向があった。また 5°C の培養では藻体が生長して、宿主の体表面より突出しているのが見られた (Fig. 2C)。

遊走子は洋梨形で、頂部に 4 本の鞭毛をつけ、側部に眼点をもち (Fig. 1C)、大きさは $6-9\ \mu\text{m} \times 3-5\ \mu\text{m}$ であった。

遊走子は基質に付着すると丸くなり (Fig. 3a)、鞭毛がなくなり、その後眼点が消え、徐々に容積が増大し、一個のピレノイドが形成され (Fig. 3b)、伸長を始めた。これらの発芽体は伸長するとともにピレノイドの数が増加して、2~3 個となり、隔壁を生じて 2 細胞となった (Fig. 3c, d, 4f, g)。発芽体が 2~3 細胞になると、発芽体に細い細胞からなるものと、太い細胞からなるものと 2 型が存在することが認められた。

細い型の発芽体の細胞は幅約 $10\ \mu\text{m}$ で、長さが幅よりやや長く、最初は一方向に細胞を伸長させて、匍匐糸を形成した (Fig. 3e, f)。5°C と 10°C の短日条件下でその後の発達を見ると、この匍匐糸はさらに伸長するとともに、両側より分枝して (Fig. 3g)、互に相接して偽柔組織の一層の盤状体を形成し、後にこの部分から遊離の匍匐糸を出すものもあった (Fig. 3i, j)。盤状体は直径 $0.6\sim 0.8\ \text{mm}$ (時に $1\ \text{mm}$) に達し直立糸を発出したが、直立糸の発出後は生長は見られなかった。直立糸を形成した個体を単離して、腰高シャーレに入れ、5°C 14 時間照明、4,000 lux で培養したところ、約 1 ヶ月半で

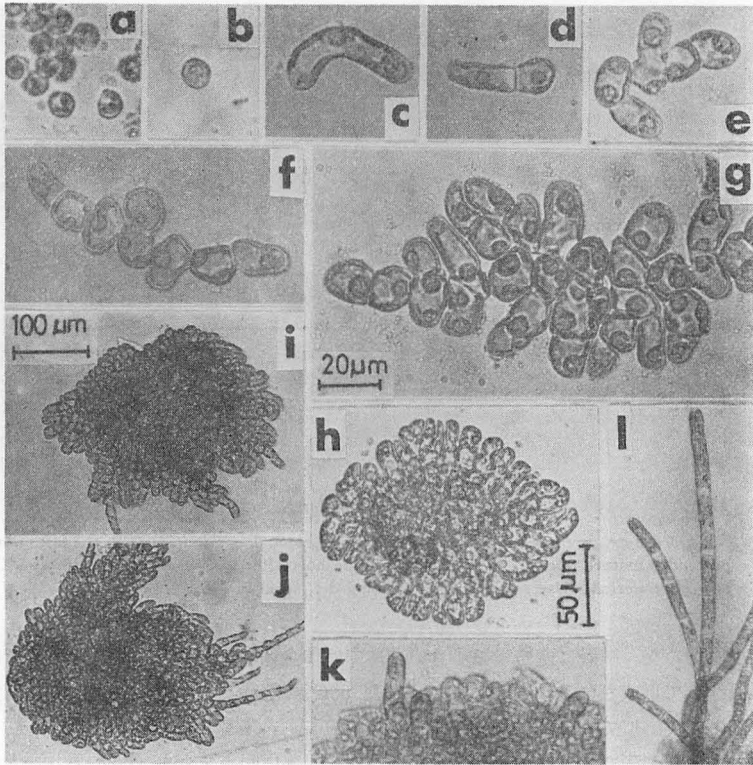


Fig. 3. Development of zoospores from *Chlorochytrium inclusum* and the slender type of germlings cultured at 5°C in a 8-hr photoperiod (a-j) and 10°C in a 14-hr photoperiod (k-l); a settled zoospores, b-j developmental stages of prostrate system, k-l erect filaments developed from prostrate system. Use scale in g for a-g, scale in j for i-j and k-l, scale in h for h.

1~2 cm のモツレグサ属の藻体となり、成熟した (Fig. 4a)。この出現したモツレグサの藻体は分枝が多かったが、枝はあまり長くならず、また側枝は頂部で腕曲してカギ状となった (Fig. 4b)。細胞の太さは下部で 20-30 μm 、中部で 60-90 μm 、上部で 50-60 μm 、カギ状の側枝の先端では 20-30 μm であった。配偶子嚢は長い細胞で、幅の 1~3 倍の長さをも有し連続的に形成された (Fig. 4c, d)。

第2の太い型の発芽体の細胞は幅 15-25 μm で円形に近い形態を示した (Fig. 4f, g, h, i, j)。この発芽体も上記の種類と同じように匍匐糸或いは盤状の偽柔組織を形成し、これらから直立糸を発出した (Fig. 4k, l, m)。これらの発芽体を単離培養した結果、さらに2種類のモツレグサが出現した。そのうちの1種類は 5°C の長日条件下で約1ヶ

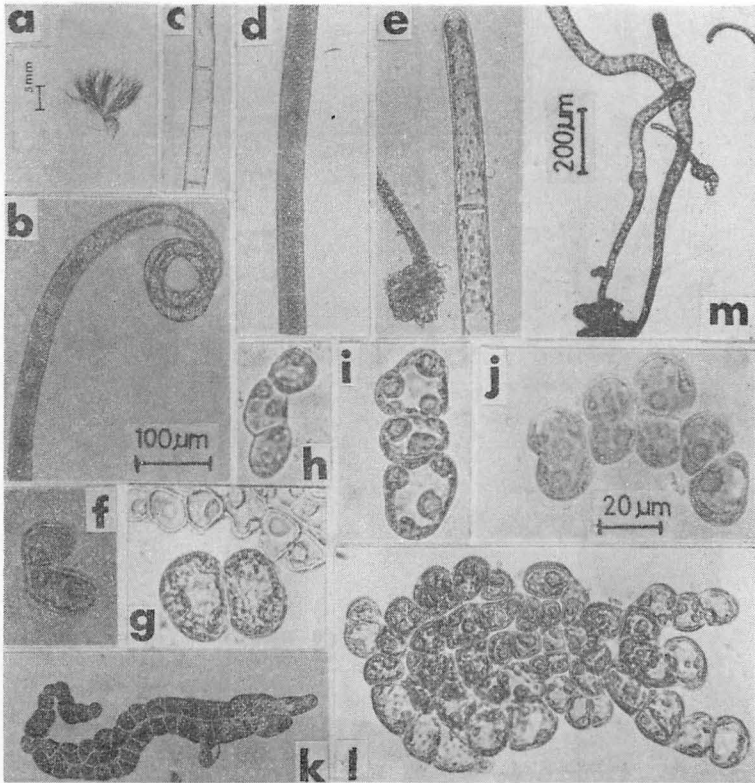


Fig. 4. a-e a matured plant identified as *Sp. spiralis* derived from the slender type of germling; a habit, b hooked branch, c empty gametangia, d mature gametangia, e upper part of erect filament, f-m developmental stages in the ovoidal type of germlings cultured at 5°C in a 8-hr photoperiod; f-l prostrate system (upper one in g being the slender type), m erect filament. Use scale in b for b-e and k, scale in j for f-j and l, scale in m for m.

月半で 3~4 cm の高さに成長して成熟した (Fig. 5f)。体は房状で枝分れが多く、側枝はカギ状となった (Fig. 5i)。細胞の太さは下部で 40-50 μm 、中部で 90-160 μm 、上部で 120-140 μm 、そしてカギ状の枝では 20-40 μm であった。枝の先端が時々ふくれることがある (Fig. 5h)。配偶子嚢は短い細胞で、長さは幅の $\frac{1}{3}$ ~1 倍であり、連続的に形成された (Fig. 5g)。もう一種類は 5°C の長日条件下で 5~6 cm の高さに成長し成熟した (Fig. 5a)。この種類は前記の種と違って、カギ状の枝がなく、少々粗剛で、枝は互生ないし、偏在した。細胞壁は厚く 10-20 μm あり、体の太さは下部で 70-100 μm 、中部で 130-200 μm 、上部で 130-230 μm あり (Fig. 5b, c)、上部では時に 250 μm となった。配偶子嚢は連続的に形成され、その長さは幅の $\frac{1}{3}$ ~2 倍であった (Fig. 5d, e)。

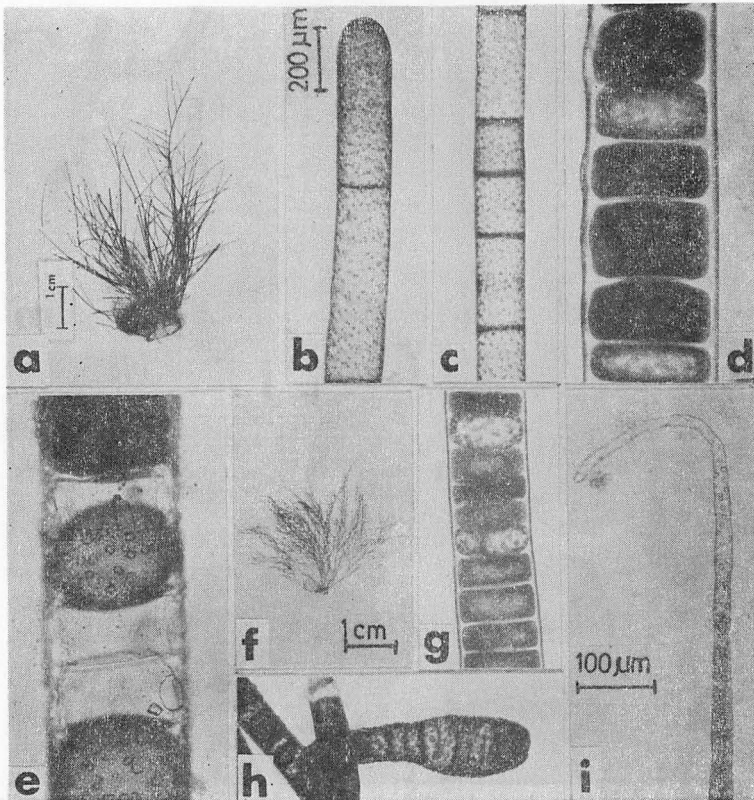


Fig. 5. a-e a matured plant identified as *Sp. duriuscula* derived from the ovoidal type of germling; a habit, b apex of erect filament, c upper portion of erect filament, d-e gametangia, f-i a matured plant identified as *Sp. heterocladia* derived from the ovoidal type of germling; f habit, g gametangia, h a branchlet with abnormally inflated apex, i slightly hooked branch. Use scale in i for d-e, g and i, scale in h for b-c and h.

ミドリウズミモの遊走子から出現した3種のモツレグサの細胞はすべて多核であった。

なお、発芽体の生長と温度、日長条件との関係についてみると、全体を通じて発生の初期には、前述した5°Cと10°Cの短日条件に比べて10°Cの長日では盤状体は大きくならず、直立糸の形成が促進された。また15°Cの長日で匍匐糸は盤状体を形成せず、直立糸もほとんど形成されなかった。直立糸形成後は前述の5°Cの長日に比べて5°Cの短日では生長が緩慢であり、10°Cでは長短日共に成熟が早く、体も大きく生長しなかった。

考 察

以上の実験結果からニセカレキグサに内生するミドリウズミモ *Chlorochytrium inclusum* はモツレグサ属 *Spongomorpha* 植物の胞子体であることが明らかになった。しかもニセカレキグサの同一藻体に内生して形態学的に1種と思われるミドリウズミモから3種のモツレグサ属の植物を得たことは興味深い。なお培養によって得たこの3種のモツレグサ属の植物の接合子の発生などについては後日発表の予定である。

この3種類の種名を天然のモツレグサ属の観察及び現在進行中のモツレグサ属の培養結果から考察すると、第1の種類はカギ状の枝を有すること、直立糸が細いこと(60-90 μm)、配偶子嚢が長いこと等からウズモツレグサ *Spongomorpha spiralis* SAKAI に、第2の種類はカギ状の枝を有し、直立糸の太さが90-160 μm あり、配偶子嚢が短く、連続的に形成されることから、イブリモツレグサ *Sp. heterocladia* SAKAI に、第3の種類はカギ状の枝がなく、直立糸が粗剛で太い(130-230 μm) ことなどからモツレグサ *Sp. duriuscula* (RUPR.) COLLINS に同定されると思われる。なおこれら3種が厚岸に生育することは著者らによって確認されている。

モツレグサ属 *Spongomorpha* と *Acrosiphonia** の生活環について、前述のようにミドリウズミモ *Chlorochytrium inclusum* が欧州大西洋で *Sp. aeruginosa*^{8),7),8),9),10),11)} の、太平洋北東岸で *Sp. spinescens* (?)¹¹⁾ の胞子体であることが既に明らかにされ、今回の我々の実験によって *Sp. spiralis*, *Sp. heterocladia*, *Sp. duriuscula* の胞子体でもあることが明らかになった。一方紅藻の殻状藻 *Petrocelis* spp. に内生する *Codiolum petrocelidis* KUCKUCK もアメリカの北太平洋で *Sp. coalita* (Rupr.) COLLINS の胞子体であることが HOLLENBERG⁹⁾ や Fan²⁾ により、欧州では *Acrosiphonia spinescens* (Kütz.) KJELLMAN であることが JONSSON^{4),5)} と KORNMAN^{11),12)} によりそれぞれ報告された。また KORNMAN^{9),10),11)} は *Codiolum petrocelidis* も *Chlorochytrium inclusum* も共に *Sp. aeruginosa* の胞子体であるといっている。我国においても *Codiolum petrocelidis* について研究を今後進める必要がある。

Summary

The development of zoospores of *Chlorochytrium inclusum* endophytic in *Farlowia irregularis* collected at Akkeshi in eastern Hokkaido were investigated in culture.

Small pieces of the host plant containing *Chl. inclusum* were cut and cul-

* WILLE¹⁵⁾, JONSSON⁷⁾ によると *Acrosiphonia* は多核であることによって単核の *Spongomorpha* と区別される。この区別によると、我々の3種のモツレグサは *Acrosiphonia* に属することになるが、その取扱については今後の問題として残しておく。

tured at 5°C, 10°C and 15°C. Quadriflagellate zoospores were discharged after 2-3 weeks. The zoospores germinated into prostrate filaments or pseudoparenchymatous discs from which erect filaments identical to the thalli of *Spongomorpha* grew. When the prostrate germlings became 2-3 celled, two types were recognized according to the shape and size of cell. One type is of slender cells about 10 μm broad and the other is of ovoidal cells 15-25 μm broad. The first type of germling developed into matured *Spongomorpha spiralis* SAKAI, which is characterized by having slender erect filaments 60-90 μm broad, hooked branches, and gametangia longer than broad. The second type of germlings developed into two kinds of matured *Spongomorpha*. One had erect filaments 90-160 μm broad, hooked branches and short gametangia, and it agreed with *Sp. heterocladia* SAKAI. The other was identified as *Sp. duriuscula* (RUPR.) COLLINS by its rigid erect filaments 130-230 μm broad, absence of hooked branches, and presence of short gametangia.

It was interesting that the three species of *Spongomorpha* were obtained from *Chl. inclusum* plants endophytic in the same host.

引用文献

- 1) CHIHARA, M. (1969) Culture study of *Chlorochytrium inclusum* from the northeast Pacific. *Phycologia* 8: 127-133.
- 2) FAN, K. C. (1959) Studies on the life histories of marine algae I. *Codiolum petrocelidis* and *Spongomorpha coalita*. *Bull. Torrey Bot. Club*, 86: 1-12.
- 3) HOLLENBERG, G. J. (1958) Observations concerning the life cycle of *Spongomorpha coalita* (RUPRECHT) COLLINS. *Madrõno*, 14: 249-251.
- 4) JÓNSSON, S. (1958) Sur la structure cellulaire et la reproduction de *Codiolum petrocelidis* KUCK. *Algue verte unicellulaire endophyte*. C. R. Acad. Sci., Paris, 247: 325-328.
- 5) ——— (1959a) L'existence de l'alternance hétéromorphe générations entre *l'Acrosiphonia spinescens* KJELLM. et *Codiolum petrocelidis* KUCK. *Ibid.*, 248: 835-837.
- 6) ——— (1959b) Le cycle de développement du *Spongomorpha lanosa* (ROTH) Kütz. et la nouvelle famille des Acrosiphoniacées. *Ibid.*, 248: 1565-1567.
- 7) ——— (1962) Recherches sur des Cladophoracées marines (structure, reproduction, cycles comparés conséquences systématiques). *Annls Sci. Nat.*

- Bot., Paris, 3: 25-230.
- 8) ————— (1966) Sur l'identification du sporophyte du *Spongomorpha lanosa* (ROTH) KÜTZ. (Acrosiphonacées). C. R. Acad. Sci., Paris., 262: 626-629.
 - 9) KORNMAN, P. (1961) Über *Spongomorpha lanosa* und ihre Sporophytenformen. Helgol. Wiss. Meeresunters., 7: 195-205.
 - 10) ————— (1964) Zur Biologie von *Spongomorpha aeruginosa* (LINNAEUS) VAN DEN HOEK. Ibid., 11: 200-208.
 - 11) ————— (1970) Phylogenetische Beziehungen in der Grünalpengattung *Acrosiphonia*. Ibid., 21: 292-304.
 - 12) ————— (1972) Les sporophytes vivant en endophyte de quelques Acrosiphoniacées et leurs rapports biologiques et taxonomiques. Soc. Bot. Fr. Mémoires, 75-86.
 - 13) NAGAI, M. (1940) Marine algae of Kurile Islands I. Fac. Agric. Hokkaido Imp. Univ., 46: 1-137.
 - 14) TOKIDA, J. (1954) The marine algae of southern Saghalien. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 4: 1-264.
 - 15) WILLE, E. (1900) Dei Zellkerne bei *Acrosiphonia* (J. AG.) KJELLMAN. Bot. Zentralb., 81: 238-239.

Bruno SCHUSSNIG 博士の逝去

数々の緑藻類の細胞学的研究報告，特に Handbuch der Protophytenkunde Band, I & II の大著で世界の藻類学界に貢献された著名な藻類細胞学者 Em. Univ. Professor Dr. Phil. habil. Bruno SCHUSSNIG は1976年3月3日に逝去された。1892年1月7日生れであるので，享年84才であった。多くの細胞学的研究論文の別刷及びその他の印刷物は奥様の Eva-Maria SCHUSSNIG geb Golber, 69 Jena, Schillbachstrasse 49 が保管されておられる由。

(猪野俊平)