

Pleodorina californica SHAW (Volvocaceae) について

楠 元 守

On the *Pleodorina californica* SHAW (Volvocaceae)

Mamoru KUSUMOTO

KUSUMOTO, M. 1978. On the *Pleodorina californica* SHAW (Volvocaceae). Jap. J. Phycol. 26: 131-138.

Clonal cultures of *Pleodorina californica* SHAW obtained from dried soil samples of paddy fields in Japan were studied. The results of morphological observations through the life cycle were reported. Details of colony formation, sperm packet formation and process of fertilization in the sexual reproduction were described. In *P. californica*, two varieties, var. *tiffanyi* comb. nov. and var. *californica*, were distinguished on the basis of sexuality, namely these were monoecious and dioecious respectively. The former variety was reported for the first time from this country.

Mamoru Kusumoto, Kanagawa Prefectural Education Center, 4210 Fujisawa, Fujisawa-shi, Kanagawa, 251 Japan.

Pleodorina 属は緑藻類 *Volvox* 科に属し, *Eudorina* 属に類似するが, 群体の前部に小型の細胞を, 後部に大型の細胞を分化し, 大型の細胞のみが生殖能力を有する点で *Eudorina* 属と区別される (SHAW 1894)。GOLDSTEIN (1964) は培養することにより *Pleodorina* の小型の細胞も分裂することを観察し, 群体内に機能の異なる大小細胞が分化する点で *Pleodorina* 属を *Eudorina* 属と区別するのは妥当でないとして前者を後者にまとめることを主張した。しかし, 分裂能力すなわち生殖能力と解する GOLDSTEIN の考え方には問題がある。また, *Volvox* 属と *Eudorina* 属との間に *Pleodorina* 属を認めた方が *Volvox* 科の分類がよりすっきりすると思われる。

Pleodorina 属には, 群体の前部の一段目の細胞のみが小細胞からなる *P. illinoisensis* KOFOID (GOLDSTEIN 1964) や, 群体の前部 1/3~1/2 が小細胞からなる種 (*P. californica* SHAW (SHAW 1864, TIFFANY 1955, GOLDSTEIN 1964), および小細胞が群体の前部 1/3~1/2 とともに後部の大細胞の間にも散在する種 *P. sphaerica* IYENGAR (IYENGAR & RAMANATHAN 1951) などがある。

本報では日本新産と思われる 1 変種を含む *P. californica* の 2 変種の形態, 生殖および生活史について報告する。

本研究は文部省科研究費 (昭和49年度課題番号992510) による研究の一部である。

材 料 と 方 法

試料の採集および培養は, 楠元ら (1976, 1977) と同様の方法で行い, 採集地は神奈川県横須賀市長井 (strain Nagai 4) と神奈川県伊勢原市粕谷 (strain Kasuya 1 and 2) であった。

クローン培養 (clonal culture) された *Pleodorina* は, 小数の群体を新しい培地に継代培養して観察に供するとともに, 神奈川県立教育センター生物学研究室で継代・保存されている。なお, 観察の対象は生体が主であったが, 核はアセトカーミン染色法 (CAVE & POCCOCK 1951a, 1951b) により染色後観察した。

結 果 と 考 察

クローン培養された *P. californica* は観察の結果 2 変種に分類された。

1 *P. californica* SHAW var. *californica*

世界各地から報告されているが, 本研究に供したクローンは神奈川県横須賀市長井から分離した Strain Nagai 4 である。

形態; 群体はほとんど球形またはまれに楕円形で, 64および128個の細胞で構成されているが, まれに32個の細胞からなる群体も観察された。群体には極性が認められ, 楕円形のものでは長軸が前後軸に一致する。また, 群体の移動の方向より前後軸が判断される。

細胞は、前後軸に直交する面の群体の周辺部にタイヤ状に段階的に配列されている。群体内の細胞には大小二型があり、幼若群体ではその区別は判然としなが成長するにつれてその差は顕著となる (Fig. 1)。群体を構成する大小細胞の割合は、全体の約 1/4 が小細胞で残りの約 3/4 は大細胞であった (Table 1)。この割合は培地が古くなるほど変化の幅が大きく、4~5日間隔で3~4回継代培養を続けることによって大小細胞の比はほとんど 3:1 となった。

群体はなめらかなゼラチン様膜で包まれ、細胞は球形で2本の等長のべん毛をもっている。細胞内には杯状の1個の葉緑体と、1個から数個のピレノイド (pyrenoid・澱粉核) がある。固定・染色した細胞の中央部には、仁を含む核が観察される (Fig. 1A, B)。眼点はべん毛の基部付近にあり、葉緑体の前縁に埋没しているが、前部の小細胞では大きく、後部になるに

従って次第に小さくなっている。細胞間を結ぶ原形質の連絡糸は存在しない。

群体の直径は、親群体から泳出直後の娘群体では長径 50~70 μm 、短径 50~60 μm 、成熟群体では長径 300~370 μm 、短径 300~350 μm 、泳出直前の娘群体をもつ親群体では 400~600 μm であった。また、成熟群体の小細胞の直径は約 12 μm 、大細胞の直径は約 26 μm であった。これらは SHAW (1894)、TIFFANY (1935) の観察と一致するが、大小細胞の比はこれらの報告では群体の 1/2~1/3 が小細胞からなるとされているのに対し筆者の観察した strain では、大小細胞の比を計数した結果 1/2~1/4 が小細胞で多くの群体では 1/4 が小細胞であった。

無性生殖；群体を構成する細胞のうち、大細胞は娘群体を形成して無性生殖に関与するが、小細胞はときに分裂するものがあるが娘群体は形成されない。GOLDSTEIN (1964) は、小細胞が分裂することに着目して *Pleodorina* 属を *Eudorina* 属に包含したが、筆者は、小細胞は分裂しても娘群体の形成には致らないこと、すなわち、小細胞は無性生殖には関与しないことに着目して、従来通り *Pleodorina* 属を認める立場をとった。

娘群体の形成は、まずべん毛の基部から細胞の縦軸に平行に2分裂がおこり、その後4~6回の2分裂が連続しておこりプラケア (plakea) が形成される。プラケアはカップ状を呈するが、やがて逆転 (inversion) して球状になり娘群体を形成する。すなわちプラケアの凹部が凸出して逆転し、その後、周辺細胞が次第に集まって球状になる。逆転開始とともに各細胞には新しいべん毛を生じ、逆転終了時には親群体と同様にべん毛は外側に位置するようになる。形成された娘群体は母群体内でしばらく左右に回転しているが、やがて母群体のゼラチン様膜を破って泳出する (Fig. 2)。分裂開始から娘群体泳出までに、25°C~28°C、5000 lux、二相培地 (soil-water bi-phasic medium) では20~24時間を要した。

無性生殖は、*Eudorina* や *Volvox* に類似し (GOLDSTEIN 1964, KOCHERT 1968, STARR 1969, VANDEBERG & STARR 1971, 楠元ら 1976)、*Pleodorina* について SHAW (1894)、TIFFANY (1935)、KIKUCHI (1978) らが観察した結果ともよく一致した。

有性生殖；*P. californica* var. *californica* の藻体は雌雄異体 (dioecius) であり、有性生殖は異形配偶子接合 (heterogamous) によって行なわれる。生殖細胞は群体の前部の小細胞では形成されず、後部の

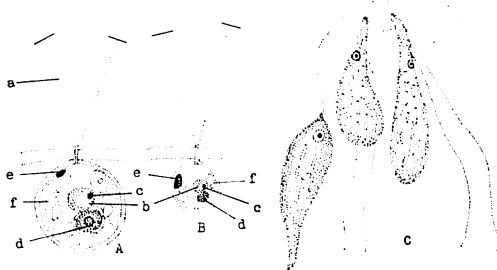


Fig. 1. Structure of large (A) and small (B) cells and sperms (C) of *P. californica* var. *californica*. a, flagella; b, nucleus; c, nucleolus; d, pyrenoid; e, eyespot; f, chloroplast.

Table 1. Distribution of the colonies consisting of different ratios of large and small cells of *P. californica* var. *californica*. (Strain Nagai-4)

NUMBER OF SMALL CELLS	31	41	44	45	46	47	48	49	92	93	94	96	97	98
36														
34										2	3			
33														
32											8			
31														
29														
17							2							
16						2								
15							3							
14							2							
11														

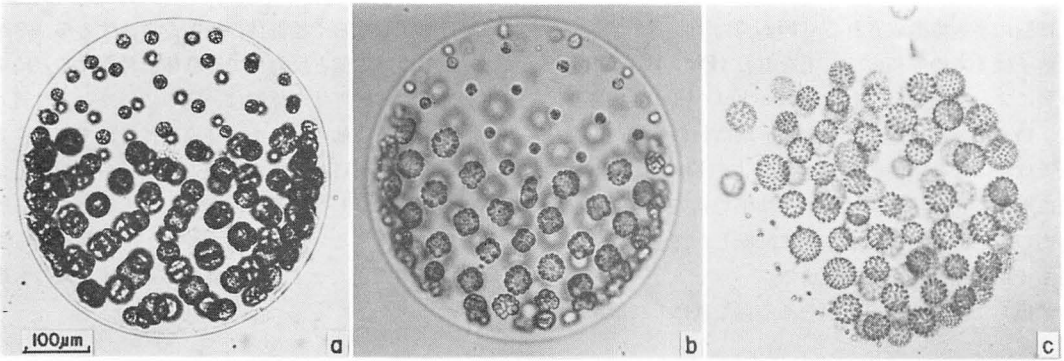


Fig. 2. Formation and liberation of daughter colonies of *P. californica* var. *californica*. a, 2 to 4-celled stage; b, 8 to 32-celled stage; c, liberation of daughter colonies.

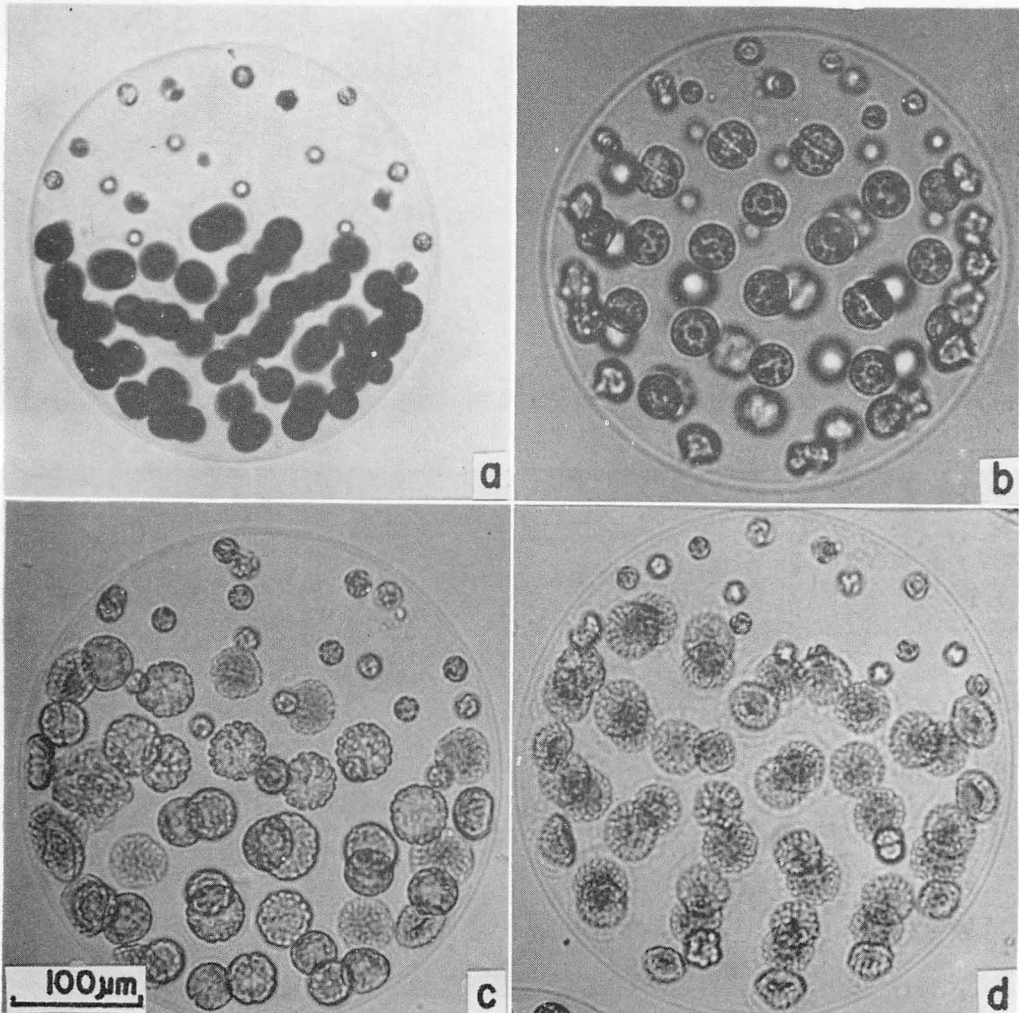


Fig. 3. Male and female colonies of *P. californica* var. *californica*. a, female colony; b, young male colony containing androgonia and its 2 to 4-celled stages; c, 64-celled and inversion stages; d, matured sperm packets just before liberation.

大細胞によって形成される (Fig. 3)。

精子は2本の等長のべん毛を有し (Fig. 1C), 細胞分裂によって精子束 (sperm packet) 内に形成される。精子束の形成過程は娘群体形成に類似するが、逆転後球状にならず精子が束状に並ぶ (Fig. 4)。群体内に形成された精子束は64個の精子で構成され、母群体内の定位置でしばらく左右に回転したあと精子束のまま群体膜を破って泳出する。

泳出した精子束はべん毛のある側を前にして雌群体

に接近し、しばらく雌群体の周囲を遊泳するが、やがてべん毛のある側と反対側で雌群体に付着する。精子束が付着する雌群体の位置は一定していない。付着した精子束は雌群体のゼラチン様膜を付着部で溶解するとともに精子束自身の結束も弛み、精子が単離するようになる。単離した精子は、溶解してできた穴から雌群体内に浸入する (Fig. 5)。このときの精子の一部は雌群体内に浸入せず、雌群体から遊離するものも観察される。

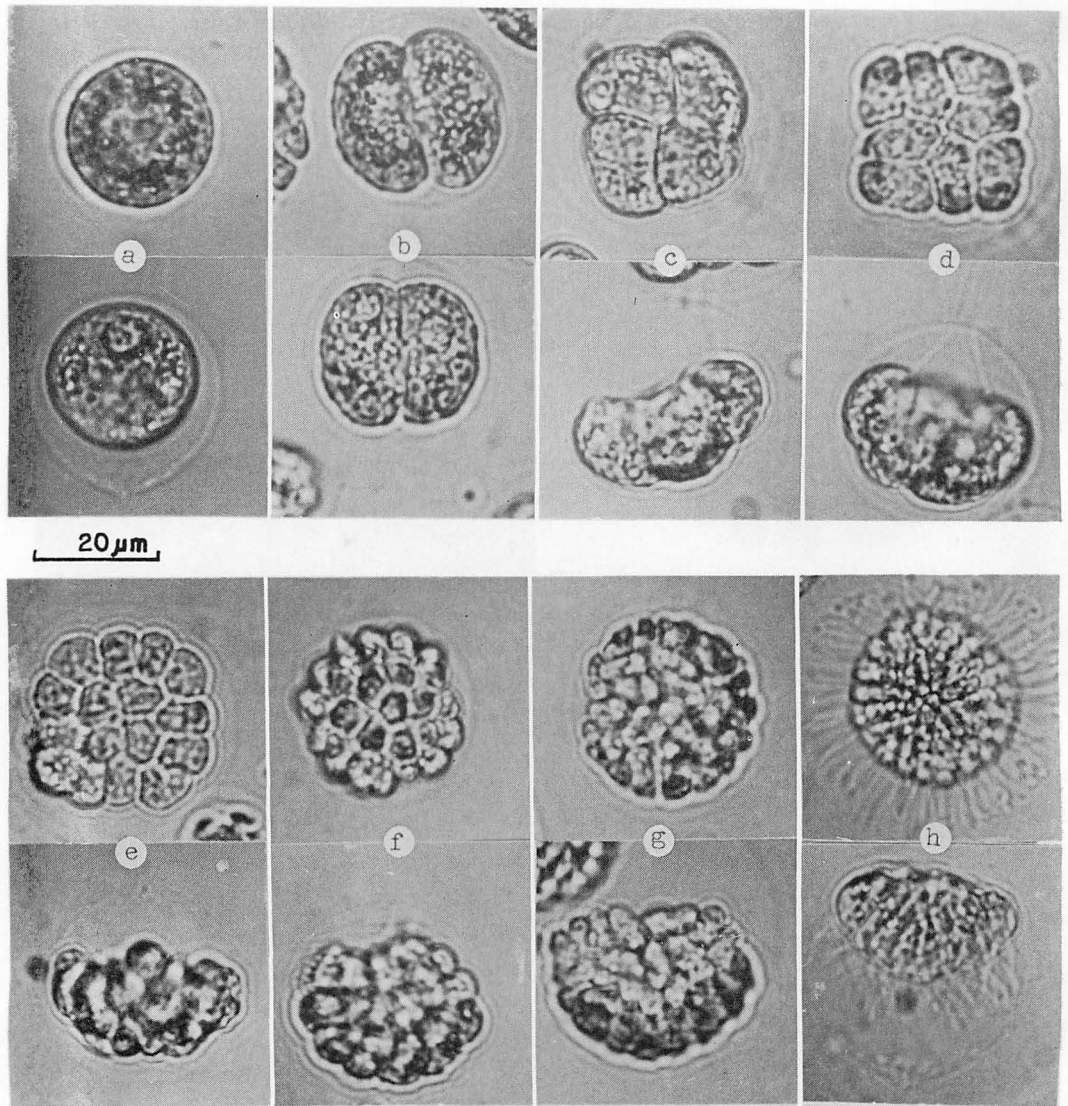


Fig. 4. Stages in the sperm packet formation of *P. californica* var. *californica*. Surface views (lower) are shown in pairs. a, androgonium; b, 2-celled stage; c, 4-celled stage; d, 8-celled stage; e, 16-celled stage; f, 32-celled stage; g, 64-celled stage just before inversion; h, sperm packet just after liberation.

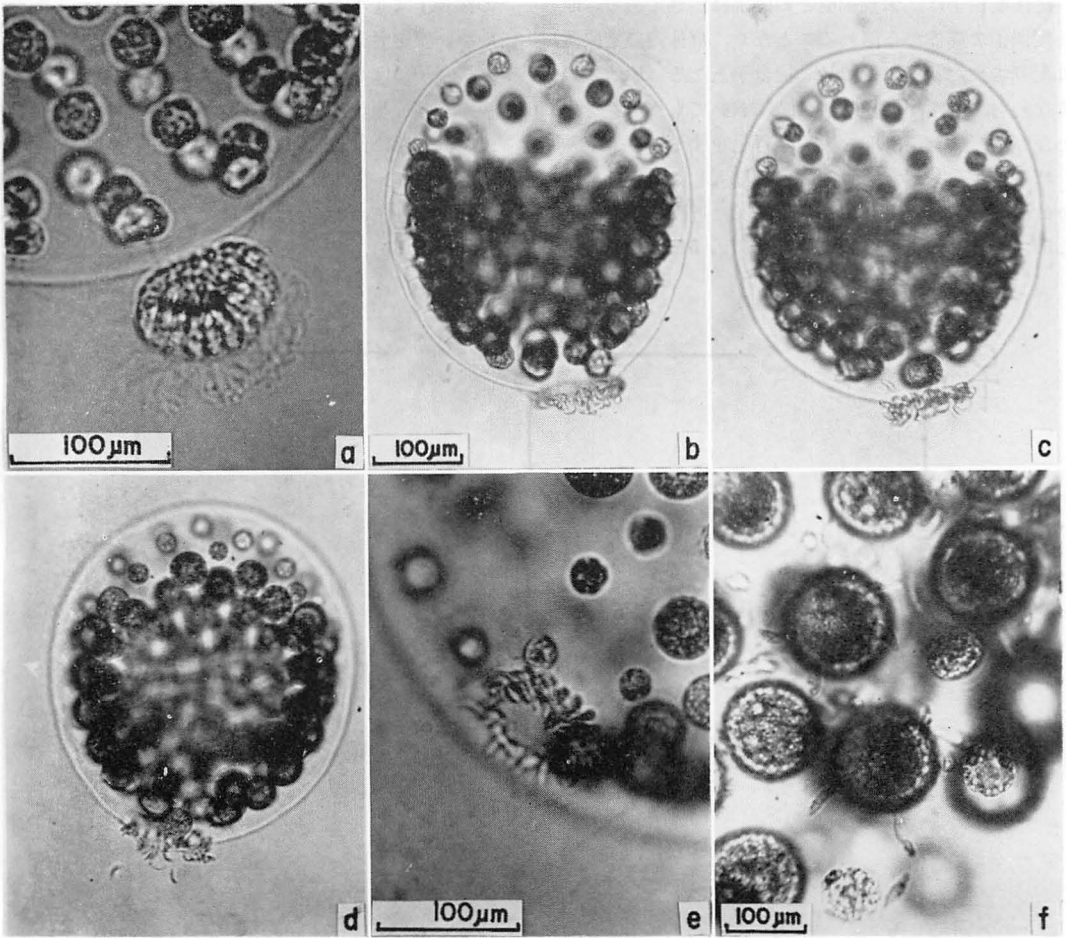


Fig. 5. Sexual reproduction of *P. californica* var. *californica*. a, intact sperm packet attached to the surface of a female colony; b, fully attached sperm packet; c, sperm packet melting gelatinous envelope of the female colony; d, sperms penetrating into the female; e, opening (fertilization pore) of the female colony at the site of attachment of the sperm packet.

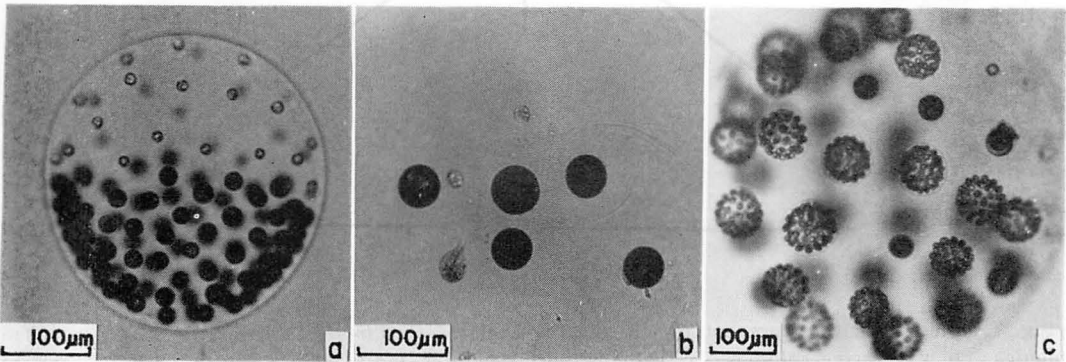


Fig. 6. Zygospores of *P. californica* var. *californica*. a, female colony containing zygospores; b, released zygospores; c, female colony containing both daughter colonies and zygospores.

雌性配偶子は、栄養細胞との区別は困難である。雌性配偶子は群体から離れることなく、群体内の定位置に配列された状態で受精し、接合子となる (Fig. 6a)。すなわち、雌性配偶子は接合時においてもべん毛を失わないが、あたかも卵のような行動をする。

精子束から分離し、雌群体内に浸入した精子は群体全体に分散する。そして、精子は卵に近すぎ、先端から卵と接合し、次第に陥入する (Fig. 5f)。受精直後

の接合子は4本のべん毛であるが、その後べん毛を失い厚い膜を形成して休眠状態に入る。

接合子ははじめ暗緑色を呈するが、数日後には黄褐色から暗赤褐色に変化する。接合子の形成された群体は試験管壁に付着したり、あるいは試験管底に沈殿する。その後、群体は崩壊し、接合子は単離する。形成された接合子の表面には突起物はなくなめらかであった (Fig. 6b)。なお、受精にあずからなかった細胞は、

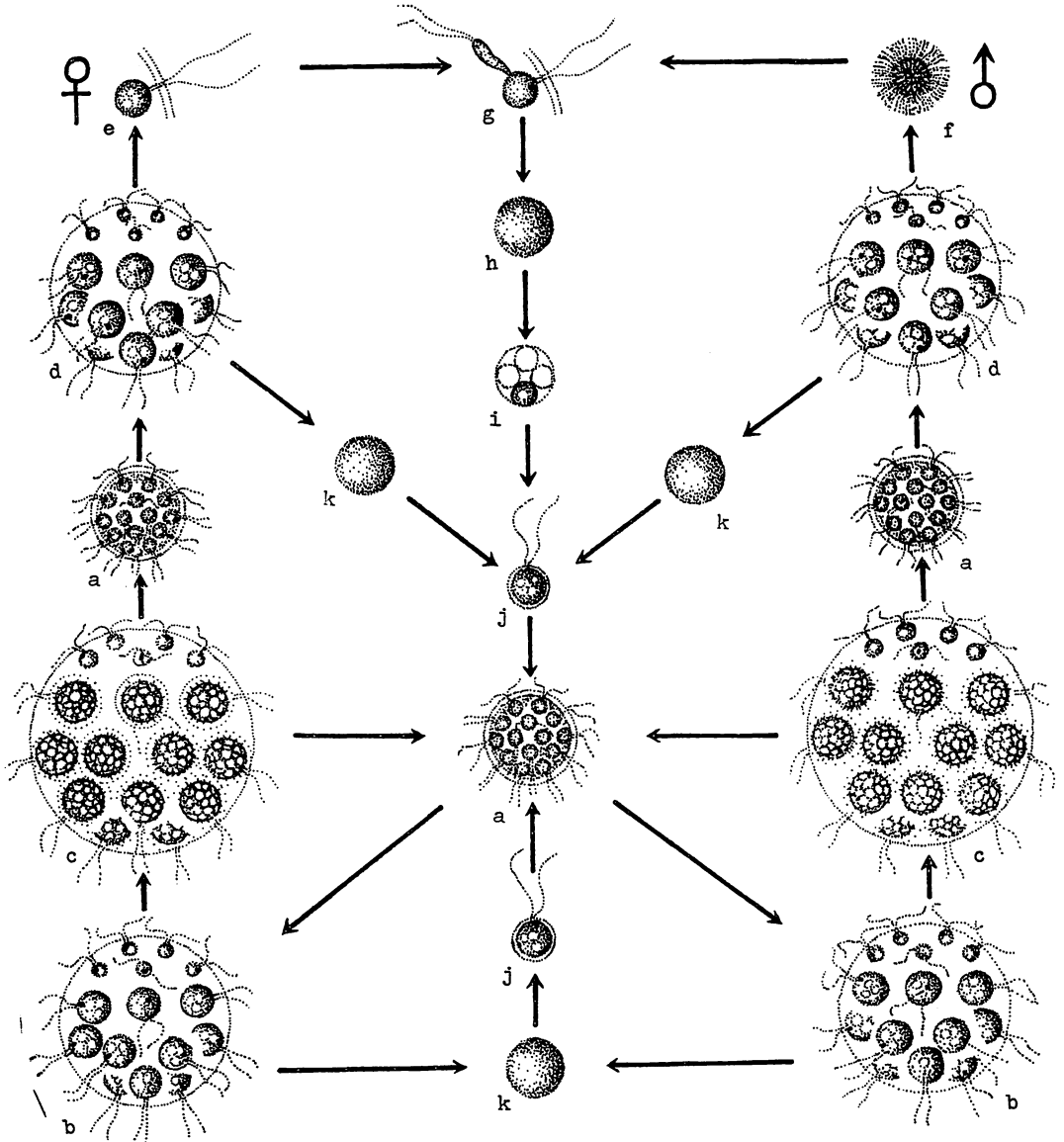


Fig. 7. Diagrammatic representation of the life cycle of *P. californica* var. *californica*. a, young colonies; b, vegetative colonies; c, colonies with daughter individuals; d, sexually differentiated colonies; e, eggs; f, sperm packets; g, unequal fusion; h, zygospores; i, germination of zygospores; j, biflagellated unicells; k, parthenospores.

無性生殖によって娘群体を形成することも観察された (Fig. 6c)。

有性生殖における精子束の形成過程も *Volvox* のそれに類似するものであった (DARDEN 1966, KOCHERT 1968, STARR 1969, VANDE BERG & STARR 1971)。

受精については IYENGAR (1937) が *Eudorina elegans* で、また、IYENGAR & RAMANATHAN (1951) が *P. sphaerica* で報告しているが、本報は *P. californica* の受精について詳細に報告した最初のものである。

生活史; *P. californica* var. *californica* の生活史の概要は Fig. 7 に示したが、生育条件の良好な場合は a→b→c→a の無性生殖のサイクルで増殖し、環境によっては性的に成熟して a→d→e と a→d→f を経て g→h によって接合子が形成される。接合子は、再び好適な環境におかれると発芽して群体を形成する。性的成熟群体中にも、無性生殖によって娘群体が形成される d→a→c のコースも確認された。

性的未成熟群体の細胞や受精しなかった細胞が乾燥などの不良環境に遭遇すると、一部の細胞は死滅しても他の細胞は単為胞子を形成し、好適環境の再現によってこれが発芽し、その後分裂によって群体が形成される d→k→j→a のコースも考えられる。このことは、同科の *Eudorina* や *Gonium* で楠元ら (1976, 1977) が確認したものと同様であり、自然男においては接合子とともに単為胞子の状態で乾燥や低温に耐えているものと考えられる。

接合子は乾燥後再培養することによって新群体を形成するが、接合子からの発芽の過程は十分観察することができなかった。接合子の発芽は、接合子内で減数分裂を含む2回の分裂によって始まり、生じた4個の細胞のうち3個は消失し、等長の2べん毛を生じた1個の細胞が泳出することが *Eudorina* で知られているが (GOLDSTEIN 1964, 楠元ら 1976), *Pleodorina* でも同様であろうと考えられる。発芽した細胞は、細胞分裂を繰り返して群体を形成するものと考えられる。

2 *P. californica* var. *tiffanyi* (GOLDSTEIN) comb. nov. *Eudorina californica* (SHAW) GOLDSTEIN var. *tiffanyi* GOLDSTEIN J. Protozool. 11: 330 1964.

TIFFANY (1935) によって *Pleodorina* に雌雄同体の群体の存在が観察され、その後、GOLDSTEIN (1964) によって *Eudorina* の新変種の地位を与えられたものであるが、本研究に供したクローンは神奈川県

伊勢原市粕谷から分離した strain Kasuya 1~2 である。

形態; 群体を構成する大小細胞の割合は、*P. californica* var. *californica* より変化の幅がせまく、その大部分は小細胞が大細胞の1/4のものであった (Table 2)。群体および細胞の形態は *P. californica* var. *californica* と同様であった。

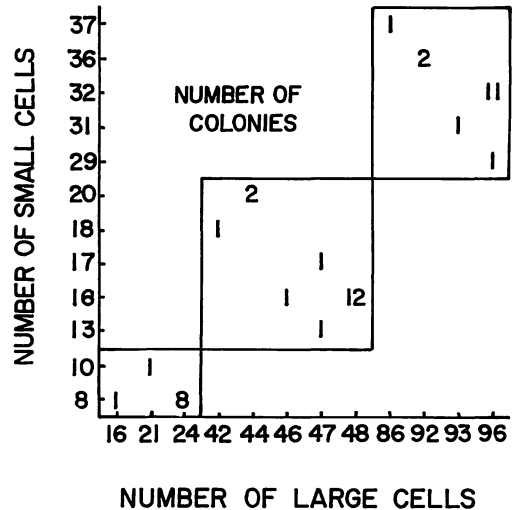
有性生殖; 無性生殖は前変種との間に相違は認められなかったが、有性生殖は異なっていた。本変種の藻体は、同一群体内に精子束と雌性配偶子とを生ずる雌雄同体 (monoecius) で、1~数個の精子束を形成し残り的大細胞は雌性配偶子となる雌優勢のものと、1~数個が雌性配偶子で他の大細胞は精子束を形成する雄優勢のものがあった (Fig. 8)。配偶子は雄性配偶子先熟であった。そのため、同一群体内で形成された雌雄配偶子間での受精は観察されなかった。この点は、楠元ら (1976) が *Eudorina* で観察したものと異なっている。

精子形成の過程、受精の過程および接合子の形態は、*P. californica* var. *californica* と同様であった。

生活史; *P. californica* var. *tiffanyi* の生活史の概要は *P. californica* var. *californica* のそれとほとんど同様であったが、上記の如く藻体が雌雄同体であるために、有性生殖の場合の配偶子形成に相異があった。

TIFFANY (1935) は、1933年の夏に Erie 湖の Middle Bass 島から得た *P. californica* の個体群

Table 2. Distribution of the colonies consisting of different ratios of large and small cells of *P. californica* var. *tiffanyi*. (Strain Kasuya-1)



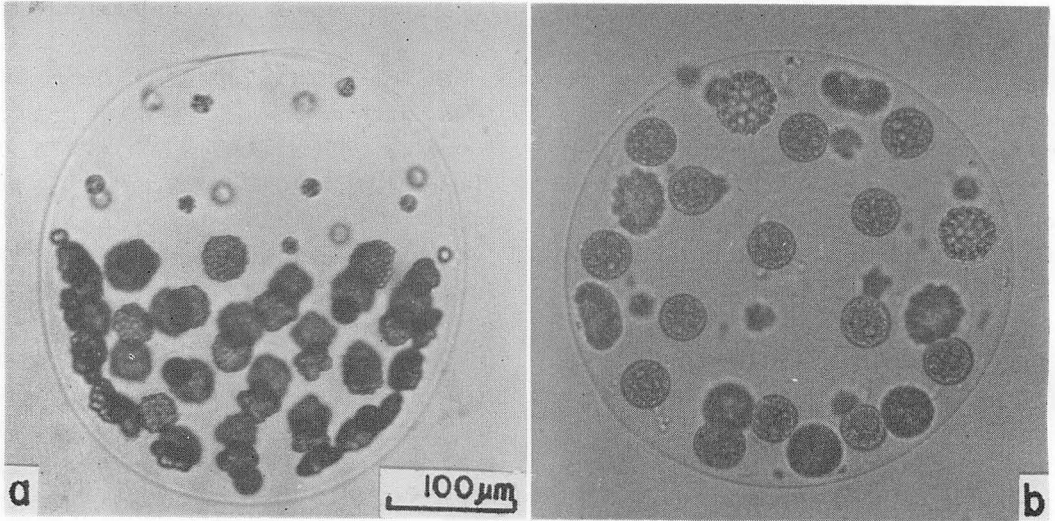


Fig. 9. Colonies of *P. californica* var. *tiffenyi*. a, male-predominant colony; b, female-predominant colony.

を観察したところ、7月上旬には雌雄異体であったものが月末には雌雄同体になっていることを観察した。しかし、彼はその原因を環境条件の変化と考えた。GOLDSTEIN (1964) は、北米 Bloomington 近くの池から *Eudorina elegans* の雌雄同体の strain と異体の雄性的 strain を同時に分離し、これらの strain と他の *Eudorina* の有性の strain の培養品について有性生殖の研究を行なったところ、いずれの strain においても有性生殖法の転換は認められなかったとして、TIFFANY の観察した雌雄同体の *Pleodorina californica* を *Eudorina californica* var. *tiffenyi* として新変種を樹立した。筆者も本研究においてこの見解を支持すると同時に、*Pleodorina* 属も存続させるべきであるとする立場をとり、雌雄同体のものを *Pleodorina californica* var. *tiffenyi* として新組替えを行うことを提案したい。この変種は日本新産と思われる。

本研究を進めるに当り、懇切なご指導とご校閲を賜った東京大学応用微生物研究所市村輝宜博士に深謝の意を表する。

引用文献

CAVE, S. & POCKOCK, M. A. 1951a. The acetocarmine tchnic applide to the colonial Volvocales. *Stain tech.* 26: 173-174.
 —, — 1951b. Karyological studies in the Volvocaceae. *Am. Journ. Bot.* 38: 800-811.
 DARDEN, W. 1966. Sexual defferentiation in

Volvox aureus. *J. Protozool.* 3: 239-255.
 GOLDSTEIN, M. 1964. Speciation and mating behavior in *Eudorina*. *J. Protozool.* 11: 317-344.
 IYENGAR, M. O. P. 1937. Fertilization in *Eudorina elegans* EHRENBERG. *J. Indian. Bot. Soc.* 16: 111-118.
 — & RAMANATHAN, K. R. 1951. On the structure and reproduction of *Pleodorina spherica* IYENGAR. *Phytomorphology.* 1: 215-224.
 KIKUCHI, K. 1978. Cellular differentiation in *Pleodorina californica*. *Cytologia* 43: 153-160.
 KOCHERT, G. 1968. Differentiation of reproduction cells in *Volvox carteri*. *J. Protozool.* 15: 438-452.
 楠元 守・園田幸朗・夏目正己・小沢 肇. 1976. 神奈川県における *Eudorina* (ボルボックス科緑藻類) の分類と分布について, *藻類* 24: 149-164.
 —・—・梶野 稔・浜松伸典, 1978. 日本各地の水田土壌より分離培養した *Gonium pectorale* MÜLLER について, *藻類* 26: 19-26.
 SHAW, W. R. 1894. *Pleodorina*, a new genus of the Volvocineae. *Bot. Gaz.* 19: 279-283.
 STARR, R. C. 1969. Structure, reproduction and differentiation in *Volvox carteri* f. *nagariensis* IYENGAR, Strains HK 9 & 10. *Arch Protistenk.* 3: 204-222.
 TIFFANY, L. H. 1935. Homothalism and other variation in *Pleodorina californica* SHAW. *Arch. Protistenk.* 85: 140-144.
 VANDE BERG, W. J. & STARR, R. C. 1971. Structure, reproduction and differentiation in *Volvox gigas* and *Volvox powersii*. *Arch. Protistenk.* 113: 195-219.