

## ホシミドロ属 (緑藻類) の細胞学的研究

### 1. 体細胞分裂<sup>1)</sup>

原田 彰\*・山岸高旺\*\*

\* 大阪府立清友高等学校 (581 大阪府八尾市千塚 102)

\*\* 日本大学農獣医学部教養生物学研究室 (252 神奈川県藤沢市亀井野 1866)

HARADA, A. and YAMAGISHI, T. 1980. Cytological studies on *Zygnema* (Chlorophyceae) 1. Mitosis. Jap. J. Phycol. 28: 233-239.

The details of mitosis and chromosomes in two species and other five unidentified ones of the *Zygnema*, were given in this paper. The observations on the mitotic process in the present study agreed with those by the previous authors. Recently, special attention had been paid to certain cytological features of the zygnemataceous algae, viz. nucleolar substance, nucleolar-organizing track, nucleolar organizing chromosome, stickiness of chromosome and centromere. In the present study, the nucleolar substance was observed in some species investigated. In prophase nuclei, it was confirmed that the nucleolar-organizing tracks corresponded to those of *Spirogyra* and *Sirogonium*, and that the two nucleolar organizing chromosomes were present in *Z. normani* and others. However, the parallel separation of all chromatids at early anaphase were observed suggesting the presence of polycentric chromosome as found in *Spirogyra*. The stickiness of chromosomes during metaphase and anaphase was confirmed in *Z. fanicum*, *Zygnema* sp. HA 1281 and 1519. Moreover, cytokinesis to which few attention had been given by the former workers, was clearly traced, i. e. at early prophase, minute granules arranged in a ring were observed inside the cell wall at the middle portion of a cell, and the granular ring developed gradually into a cell plate finally, the cell was divided centripetally by the cell plate at telophase.

*Key Index Words:* Cytology; mitosis; chromosome; N. O. chromosome; nucleolar substance; *Zygnema*.

Akira Harada, Seiyu Senior High School, Chizuka, Yao, Osaka, 581 Japan;  
Takaaki Yamagishi, Biological Laboratory, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Kameino, Fujisawa, Kanagawa, 252 Japan.

ホシミドロ属 (緑藻類, ホシミドロ科) の藻類は広く世界各地に分布し, 約 100 種が記載されているが, それらについての細胞学的研究は余りなされていない。糸状体の細胞分裂については MERRIMAN (1906), ESCOYEZ (1907), KURSSANOW (1912), WISSELINGH (1913) らの報告があるだけで, 近年になって PRASAD and GODWARD (1966) が数種のものについて染色体を中心にした観察を報告している。

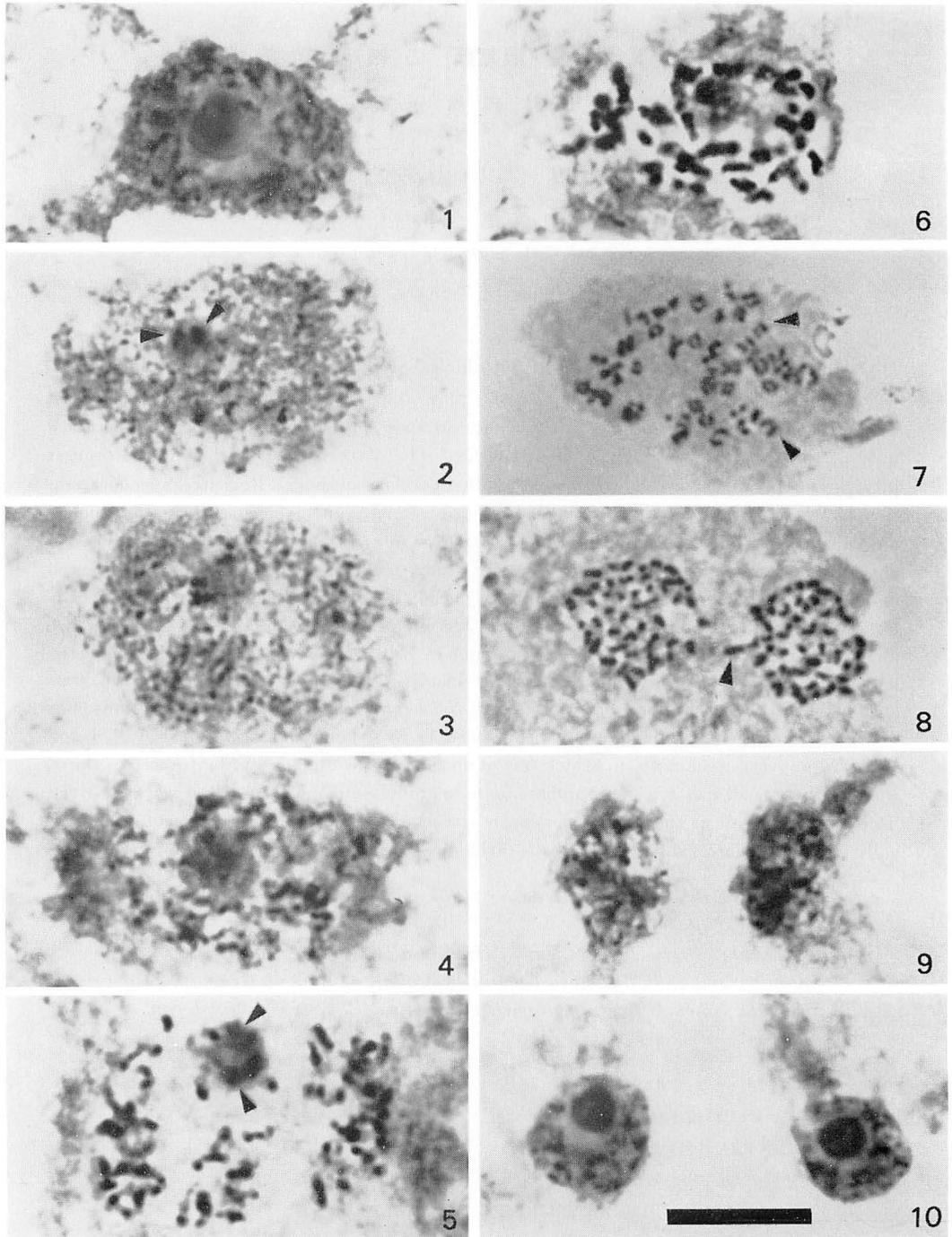
筆者らは国内各地から採集したホシミドロ属について, 細胞学的研究を進めているが, ここでは *Zygnema*

*normani* TAFT, *Z. fanicum* LI の 2 種, および完熟した接合胞子が得られなかったために同定のできなかった 5 種についての体細胞分裂と染色体の観察結果を報告する。同定できなかった 5 種は便宜上標本番号で示した。

### 材料および方法

観察に用いた *Z. normani*, *Z. fanicum* および他の 5 種はすべて奈良県生駒郡内各地の水田で, 1965 年から 1977 年にかけて, 毎年 3 月~5 月頃に採集した。い

1) 故 三輪知雄先生に捧ぐ Dedicated to the memory of the late Professor Tomoo MIWA.



Figs. 1-10. Mitosis of *Zygnema normani* TAFT (Scale 10  $\mu$ m)

1. Interphase: a nucleus with a prominent nucleolus. 2, 3. Prophase: two organiser tracks (arrow) in the nucleolus and chromatins in karyoplasm. 3, 4. Prophase: bead-like chromosomes appeared in karyoplasm. 5. Late prophase: two nucleolar organizing tracks (arrow) and chromosomes. 6. Early metaphase. 7. Early anaphase: parallel separation of chromatids (arrow) embedded inside the nucleolar substance in strongly squashed preparation. 8. Anaphase: polar view of two anaphase plate in strongly squashed preparation: a projected chromosome (arrow) behind the chromatids group. 9. Telophase. 10. Telophase: two daughter nuclei and reformed nucleoli.

ずれの種も、その間に何回か繰返し採集された。

ホシミドロ属の藻類は一般に3~5月頃にかけて、水田や池沼などで、単一種が群集して緑色の綿状塊をつくって水面に浮遊していることが多いが、そうしたもののなかから完熟した接合胞子をもつものを求めて種の同定をした。

材料は採集直後に現地で固定するとか、持ち帰って夜に入ってから固定するなどの方法を取り、一部は室内で粗培養したものを用いた。固定液は1:3酢酸アルコールを用いた。この固定液は核を挟んで両側に位置する葉緑体もよく脱色し、以後の染色像の観察にも好結果が得られた。

染色は WITTMANN (1965) の酢酸鉄ヘマトキシリン・抱水クロラル法を用いた。また、染色体の観察に際しては仁物質の過染をおさえるために1N塩酸で前処理を行なった。なお、固定には材料容積の3倍以上の固定液を用いた方が好結果が得られた。固定材料は固定液に入れたままで家庭用の冷蔵庫で保存し、随時使用したが、固定後半年から1年を経ても保存は良好で染色性は変らなかった。

固定材料の一部をスライドガラス上にとり、そこで染色処理をしたあと、押しつぶし法によって分裂像の観察を進めた。

## 観 察

### (1) *Zygnema normani* TAFT

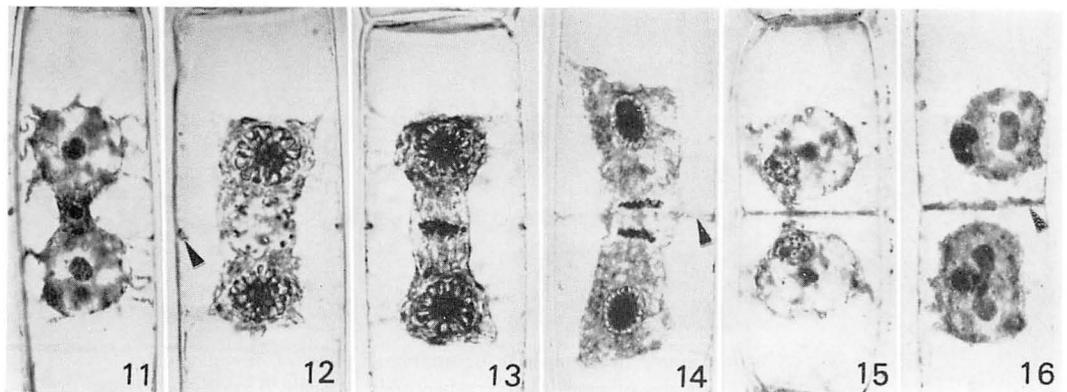
**静止期:** 静止核は球形—楕円形で径8-12 $\mu$ m, 糸状体細胞の径24-28 $\mu$ mに比し大型である。核は細胞の中央, 2個の葉緑体に挟まれた部分に位置する (Fig.

11)。核内には常に1個の球形の仁がみられ、仁には一部濃染する部分がみられるが、内部構造ははっきりしない (Fig. 1)。

**前期:** 早い前期に核は次第に膨潤して大きくなり、核質内に多数の染色粒 chromatin, chromocenter (Fig. 2), 矢印がみられる。やがて、核質内の染色粒が連なってジュズ状の染色体が現われる (Figs, 3, 4)。前期の中頃では染色体は次第に短縮した形となり、核内に散らばっている (Figs. 5, 12)。この頃の仁内には2個の濃染されるひも状体がみられるが、これはアオミドロ属などで知られている仁形成体 nucleolar organizing track (GODWARD 1950), さらにそれと連結している染色体が仁形成染色体 nucleolar organizing chromosome (GODWARD 1950) とみられる (Fig. 5)。仁はこの頃までは明瞭に観察されるが、前期の終りから中期に入る頃には崩壊して濃染する不定形の仁物質 nucleolar substance (GEITLER 1935) に変わり、次第に小さくなる (Fig. 6)。この時期には染色体は中央に集まってくるが、この中の2本は仁物質の残りの濃染部に接続しているのがみられた (Fig. 5, 矢印)。

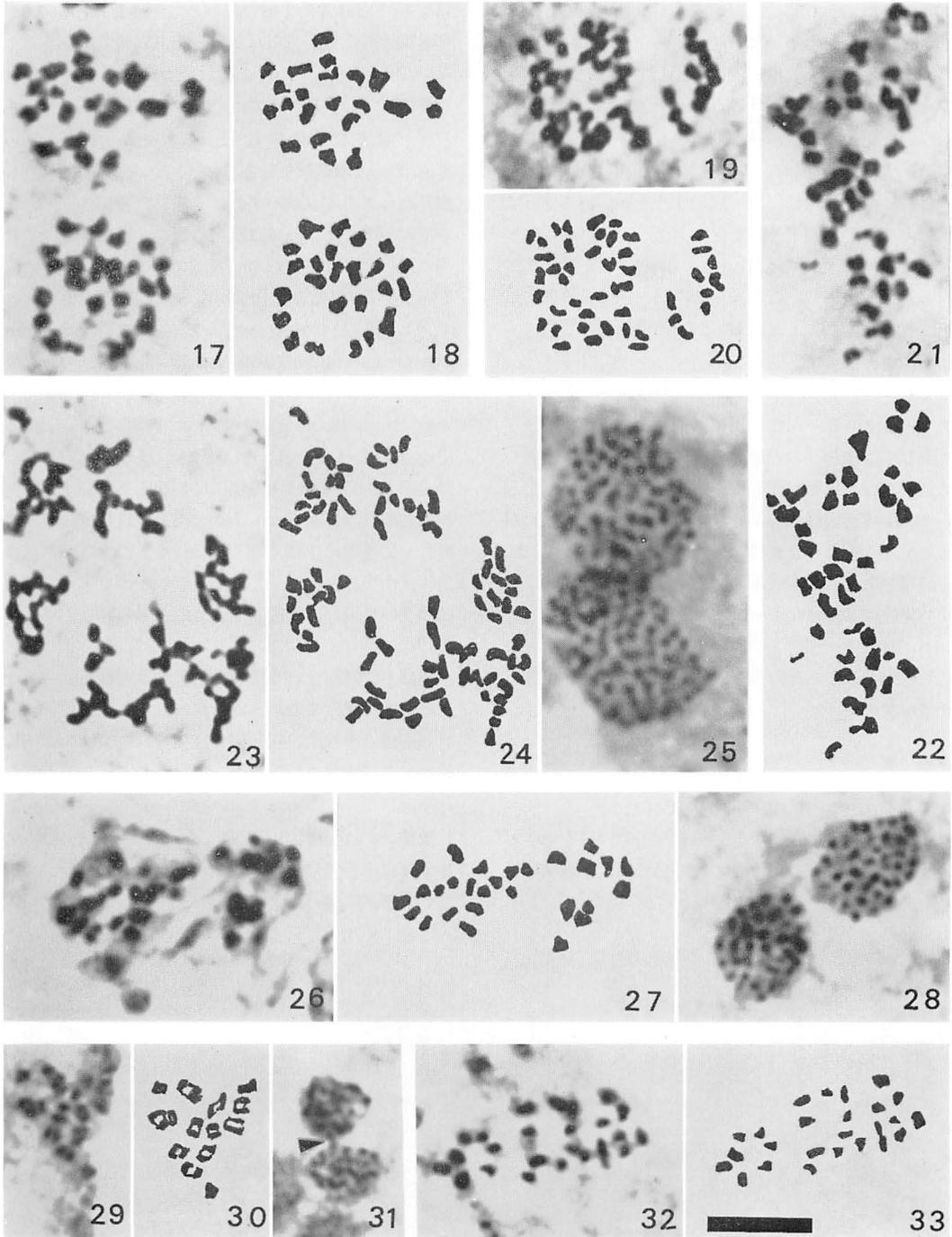
**中期:** 中期には46個の染色体がみられる。染色体は赤道面に配列するが、側面視では各染色体の分裂面が赤道面に平行に、極面視では集合した染色体が円板状を呈し、相互の位置を保って配列しているのがみられる。

**後期:** 染色体は2分しはじめるが、この時に各染色体分体は平行に分離する (Fig. 7, 矢印)。そのために、この時期のもの (Fig. 14) を強く押しつぶしたプレパ



Figs. 11-16. Mitosis of *Zygnema normani* TAFT (In unsquashed preparations).

11. Interphase. 12. Prophase. 13. Metaphase. 14. Anaphase: chromatids separating toward the poles and a granular ring (arrow). 15. Telophase. 16. Telophase: division of pyrenoids and chloroplasts in daughter cells and a cell plate (arrow).



Figs. 17-33. Chromosomes in metaphase or anaphase plate of seven species and diagrams of each plate, respectively. (Scale  $5\ \mu\text{m}$ )

17-18. *Zygnema normani* ( $n=46$ ). 19-20. *Zygnema fanicum* ( $n=46$ ). 21-22. *Zygnema* sp. HA 1607 ( $n=40$ ). 23-25. *Zygnema* sp. HA 1281 ( $n=82$ ). 26-28. *Zygnema* sp. HA 1652 ( $n=28$ ). 29-31. *Zygnema* sp. HA 1519 ( $n=14$ ). 32-33. *Zygnema* sp. HA 1278 ( $n=24$ ). (Figs. 25, 28, 31, showing two anaphase plates: sticky threads between the chromatids were remarkably observed in Fig. 29).

ラードでみると、平行に分離して両極に向かって移動する染色分体群は仁物質と思われる円板状の濃染物質内で対称的に配列してみえる (Fig. 8)。

**終期:** 両極に集まった染色分体は徐々にその形が不明瞭になり、娘核には核膜と不規則な形の仁が再形成される。やがて、染色体が染色粒に変わり、核内には1個の仁が形成される (Figs. 9, 10)。

**細胞質分裂:** 前期の後半から中期にかけて細胞の中央部で、細胞壁面に沿って、顆粒状物質が環状に現われる (Figs. 12, 矢印, 13)。後期から終期にかけて、その顆粒環は求心的に拡がって細胞板になる (Figs. 14 矢印, 15)。終期に入って2娘核が完成する頃には、その細胞板によって細胞が2分され、1個の核と1個の葉緑体をもった2個の娘細胞ができる。

**葉緑体の分裂:** 核分裂と細胞質分裂が完了すると、各娘細胞内の葉緑体中央にあるピレノイドは横に細長く伸びて中央部からくびれる様にして2個に分かれる。ピレノイドの分裂に平行して葉緑体も横に伸び、中央部でくびれる様に2分する (Fig. 16)。

**核の移動:** 細胞分裂直後には葉緑体の片側に位置していた娘核 (Fig. 15) は、葉緑体の外周に沿って移動し、葉緑体が2分したあとは2個の葉緑体の間に挟まれた位置に移動し、娘細胞は完成する (Fig. 16)。

### (2) *Zygnema fanicum* LI

糸状体細胞は径28-30 $\mu\text{m}$ 。静止核は球形-楕円形で径8-10 $\mu\text{m}$ 。核内には常に1個の仁がみられる。核分裂、細胞質分裂および葉緑体の分裂経過は、先の *Z. nonmani* とほとんど同じである。

中期には46個の染色体が認められた。中期から後期にかけての染色分体相互間には粘性物質が付着しているのがみられた。

### (3) 染色体

***Zygnema nonmani* TAFT:** 46個の染色体はすべて小さな短棒状で、大きなものでも長さ1.2 $\mu\text{m}$ 、幅0.7 $\mu\text{m}$ 、小さいものでは長さ0.7 $\mu\text{m}$ 、幅0.5 $\mu\text{m}$ である。染色体相互間の粘性物質はほとんどみられなかった。前期の終り頃には2個の仁形成染色体が認められたが、中期では、形や長さからそれらを識別することはできなかった (Figs. 17, 18)。

***Zygnema fanicum* LI:** 46個の染色体は短棒状で、大きいものでは長さ1.2 $\mu\text{m}$ 、幅0.5 $\mu\text{m}$ 、小さいものでは長さ、幅とも0.5 $\mu\text{m}$ 程度である。染色分体は粘性物質で相互に連結した形態を示し、染色体数決定は困難であった (Figs. 19, 20)。

***Zygnema* sp. HA 1607:** 40個の染色体はすべ

て短棒状で大きなものは長さ1.5 $\mu\text{m}$ 、幅0.5 $\mu\text{m}$ 、小さいものは点状で径0.3 $\mu\text{m}$ 程度である。非常に小さい点状の染色体が4個存在する。染色体相互間の粘性はほとんどみられなかった (Figs. 21, 22)。

***Zygnema* sp. HA 1281:** 82個の染色体は粘性物質で相互に連結している。染色体はすべて短棒状で大きいものは長さ1.2 $\mu\text{m}$ 、幅0.5 $\mu\text{m}$ 、小さいものは長さ、幅とも0.3 $\mu\text{m}$ 程度であった。本研究で扱った種の中では染色体数が最も多い種であった (Figs. 23, 24, 25)。

***Zygnema* sp. HA 1652:** 28個の染色体は短棒状または点状で、大きいものは長さ1.3 $\mu\text{m}$ 、幅0.5 $\mu\text{m}$ 、小さなものは径0.5 $\mu\text{m}$ 程度である (Figs. 26, 27, 28)。

***Zygnema* sp. HA 1519:** 14個の染色体はいずれも点状で、大きなもので長さ0.7 $\mu\text{m}$ 、幅0.5 $\mu\text{m}$ 、小さいものは長さ、幅ともに0.5 $\mu\text{m}$ 程度である。後期にかけて染色体が平行に分離するのがはっきりとみられたが、後期の染色分体を含む娘核は小さく、染色体数の確認は困難であった。後期始めに平行分離する染色分体群の中で、少し遅れて突出した仁形成染色体と考えられるものが1個みられた (Figs. 29, 30, 31)。

***Zygnema* sp. HA 1278:** 24個の染色体は短棒状または点状で、長さ1.0 $\mu\text{m}$ 、幅0.8 $\mu\text{m}$ のもの他、小さいものは長さ、幅ともに0.5 $\mu\text{m}$ 程度である (Figs. 32, 33)。

## 考 察

MERRIMAN (1906) の報告は各種の色素を用いて分裂各期の核、仁、紡錘体、染色体、ピレノイドなどの被染色性に注目しているが、分裂経過については、それ程詳しくは述べていない。しかし、筆者らが今回7種について観察した体細胞分裂の経過は MERRIMAN のほか、ESCOYEZ (1907), KURSSANOW (1912), WISELINGH (1913) らの観察、および近縁のホシミドロモドキ属 (原田・山岸 1976) のものとおよそ一致している。

ここでは、ホシミドロ科の中のオオミドロ属やシロゴニウム属で、GEITLER (1935), GODWARD (1950) らが指摘し、それを受けて PRASAD and GODWARD (1966) がホシミドロ属で注目した染色分体群を包む仁物質 nucleolar substance, 仁形成体 nucleolar organizing track, 仁形成染色体 nucleolar organizing chromosome, 動原体 centromere, 染色分体間にみられる粘性物質 sticky substance, さらに核型 karyotype などについて、今回の筆者らの観察とオオミ

ドロ属およびシロゴニウム属について報告されているそれらの性状とを比較しながら考察を進めることにする。

アオミドロ属やシロゴニウム属では前期の終りには仁がヘマトキシリンに濃染する不定形の仁物質に変わり、全部の染色体がその仁物質に包みこまれて赤道面に排列すること、さらに後期に入ると、その仁物質が2板の円板状の核板となって分離し、それに伴って染色分体が平行に分離することが知られている(DORAI-SWAMI 1946; GEITLER 1930; GODWARD 1966; WELLS 1969)。今回、筆者らの用いた WITTMANN の染色法では仁物質は濃染されて円板状の核板内部の染色体を観察することはできない。そのために1N塩酸による前処理を行なって仁物質の過染をさせた。そのために仁から仁物質への変化過程は十分に追跡できなかった。しかし、後期に入ると娘染色分体群は円板状の濃染する核板に包まれて両極に移動することがはっきりとみられた(Figs. 8, 25, 28, 31)。このことからホシミドロ属でも仁物質がアオミドロ属やシロゴニウム属と全く同じような機能をもつものと思われる。

アオミドロ属などでは仁内にみられる仁形成体と仁形成染色体との関連や、それらの機能について注目されてきている。PRASAD and GODWARD (1966) は観察したホシミドロ属では、仁内にはっきりした内部構造はみられなかったが、すべての種で1-2個の仁形成染色体、またはそれらしきものがみられたと述べている。しかし、筆者らの用いた材料では前期の仁内に濃染する仁形成体(Figs. 2, 5)があって、核質内にはこれらと接続する仁形成染色体がみられた。また、アオミドロ属やシロゴニウム属では仁形成染色体が他の染色体より遅れて分離するために、後期の仁形成染色体の一部が核板から突起状にとび出した形をしていることがあるが(GODWARD, 1953; WELLS, 1969; HARADA, 未発表)、今回の観察でもそのような形の

ものがみられた(Figs. 8, 31, 矢印)。これらのことからみてもホシミドロ属でも一般に仁形成体および仁形成染色体をもつものと考えられる。しかし、一般的には染色体が小さいために、それを中期、後期を通して確認するのは困難である。

PRASAD and GODWARD (1966) は観察した11種のホシミドロ属の中で、後期の分裂像からみて、末端部またはそれに近い部分に動原体をもつと思われる染色体がみられたと述べているが、筆者らの観察した7種は、後期に入ると、ほぼ平行に分離する形を示している(Figs. 7, 8, 14)ことからみて、ホシミドロ属の染色体も、多くのアオミドロ属、シロゴニウム属のものと同じく分散動原体 diffuse centromere または多動原体染色体 polycentric chromosome を有するものと考えられる。

染色体数は *Z. normani* で46, *Z. fanicum* で46, その他の5種で82, 40, 28, 24, 14の染色体をもつことが確認された(Table 1)。この中で *Zygnema* sp. HA 1519の染色体数14は、現在迄に報告されているホシミドロ属の中では最小のものである。PRASAD and GODWARD (1966) は *Z. verrucopunctatum* で1本, *Zygnema* sp. 25で2本の他より特に長い染色体がみられたとしているが、今回の観察に用いた7種では、いずれも長さが1.0  $\mu$ m前後の極めて小さな短棒状で、形態によって特に顕著なものを識別することは困難であった。染色体数について PRASAD and GODWARD は11種で19-82個のものを観察し、染色体数と糸状体細胞の径は必ずしも一致しないと述べている。現在までに知られたホシミドロ属の染色体は、いずれも小さな短棒状ないし点状で、ほぼ同じ形状を示し、ほとんど、個々の染色体を識別することはできない。したがって、今回の観察結果に、PRASAD and GODWARD の報告を併せても、それらの核型と形態的形質との関連性を結論づけることは困難で

Table 1. Chromosomes and cell sizes in seven species of *Zygnema*

Species	Chromosome numbers	Sizes of chromosomes ( $\mu$ m)		Width of cell ( $\mu$ m)
		Largest	Smallest	
<i>Z. normani</i>	46	1.2×0.7	0.7×0.5	24-28
<i>Z. fanicum</i>	46	1.2×0.5	0.5×0.5	28-30
<i>Z. sp. HA 1281</i>	82	1.2×0.5	0.3×0.3	34-38
<i>Z. sp. HA 1607</i>	40	1.5×0.5	0.3×0.3	23-25
<i>Z. sp. HA 1652</i>	28	1.3×0.5	0.5×0.5	18-20
<i>Z. sp. HA 1278</i>	24	1.0×0.8	0.5×0.5	20-23
<i>Z. sp. HA 1519</i>	14	0.7×0.5	0.5×0.5	15-17

ある。

アオミドロ属やシロゴニウム属では中期の染色体間後期の染色分体間に粘性物質が観察されているが、今回用いた種の中では *Z. fanicum*, *Zygnema* sp. HA 1281, 1579 ではっきりと見られた (Figs. 19, 23, 29)。この粘性物質を PRASAD and GODWARD は染色体を包む仁物質の一部であろうとしている。しかし、筆者らの観察では、塩酸前処理によって仁物質と染色体とを染め分ける方法をとっても、染色体と同じような染色性を示したことから、この粘性物質は仁物質ではなくて染色体そのものであろうと考えられる。なお、このことはアオミドロ属 (HARADA and YAMAGISHI, 未発表), シロゴニウム属 (HARADA, 未発表) でも仁物質と染色体の染め分けによって同様のことが確かめられている。

分裂前期末に紡錘体が形成されることについては MERRIMAN, WISSELINGH らによって観察されている。今回も前期末には2個の葉緑体の間に樽形の紡錘体が形成されるのがみられた (Fig. 13)。しかし、高等植物にみられるような紡錘糸と染色体との関係ははっきり追跡することはできなかった。

細胞質分裂はホシミドロモドキ属 (原田・山岸, 1976), シロゴニウム属 (HARADA, 未発表), さらにアオミドロ属などと同じく、細胞壁に沿って生じた顆粒環から求心的に形成される細胞板によってなされることが確かめられた。この細胞質分裂について、MERRIMAN (1906) は記載はしていないが、添えられた図の中には顆粒環らしきものを示している。一方、KURSSANOW (1912) は分裂前期に隔壁形成部位に粒状の原形質が堆積すると述べているが他の研究者はほとんどふれていない。

細胞質の分裂に伴って、娘細胞に入った1個の葉緑体はピレイド分裂に続いて2個に分かれる。この時にみられる娘核の移動は極めて特異な現象であるが、これは MERRIMAN (1906), HOSHOW (1968) らによっても観察されている。

#### 引用文献

- DORAISWAMI, S. 1946. Nuclear division in *Spirogyra*. J. Indian Bot. Soc. 25: 19-36.
- ESCOYEZ, E. 1907. Le noyau et la karyocinèse chez le *Zygnema*. La cellule 24: 355-366.
- GEITLER, L. 1935. Neue Untersuchungen über die Mitose von *Spirogyra*. Arch. Protistenk. 85: 10-19.
- GODWARD, M. B. E. 1950. On the nucleolus and nucleolar organizing chromosomes in *Spirogyra*. Ann Bot. 14: 39-53.
- GODWARD, M. B. E. (ed.) 1966. The chromosomes of the algae. Edward Arnold Publ. Ltd., London.
- 原田 彰・山岸高旺 1976. ホシミドロモドキ属の一種 *Zygnemopsis quadrata* JAO の細胞学的研究. 日大農獣医教養紀要 12: 41-49.
- HOSHOW, R. W. 1968. Biology of the filamentous conjugating algae. In JACKSON, D. F. (ed), Algae, Man and Environment, 135-184. Syracuse Univ. Press, New York.
- KURSSANOW, L. 1912. Über Befruchtung, Reifung und Keimung bei *Zygnema*. Flora 104: 65-84.
- MERRIMAN, M. L. 1906. Nuclear division in *Zygnema*. Bot. Gaz. 41: 43-53.
- PRASAD, B. N. and GODWARD, M. B. E. 1966. Cytological studies in the genus *Zygnema*. Cytologia 31: 371-391.
- WELLS, C. 1969. Cytology of the green algae *Sirogonium*. (Ph. D. Thesis, Univ. Arizona)
- WISSELINGH, C. v. 1913. On the nucleolus and karyokinesis in *Zygnema*. Proc. K. Nederlands Akad. v. Wetensch. Amsterdam 16: 11-19.
- WITTMANN, W. 1965. Aceto-iron-haematoxylin-chloral hydrate for chromosome staining. Stain Technol. 40: 161-163.

## 賛助会員

北海道栽培漁業振興公社 060 札幌市中央区北4西6 毎日札幌会館内  
阿寒観光汽船株式会社 085-04 北海道阿寒郡阿寒町字阿寒湖畔  
海藻資源開発株式会社 160 東京都新宿区新宿1-29-8 財団法人公衆衛生ビル内  
協和醸酵工業株式会社農水産開発室 100 東京都千代田区大手町1-6-1 大手町ビル  
全国海苔貝類漁業協同組合連合会 108 東京都港区高輪2-16-5  
K.K. 白寿保健科学研究所・原 昭邦 173 東京都板橋区大山東町32-17  
浜野顕微鏡商店 113 東京都文京区本郷5-25-18  
株式会社ヤクルト本社研究所 189 東京都国立市谷保1769  
山本海苔研究所 143 東京都大田区大森東5-2-12  
秋山 茂商店 150 東京都渋谷区神宮前1-21-9  
弘学出版株式会社 森田悦郎 214 川崎市多摩区生田8580-61  
永田克己 410-21 静岡県田方郡菰山町四日町227-1  
全漁連海苔海藻類養殖研究センター 440 豊橋市吉田町69-6  
神協産業株式会社 742-15 山口県熊毛郡田布施町波野962-1

---