

アミジグサとコモングサの培養と細胞学的研究

籾 熙・能登谷正浩・杉本 清

北海道大学水産学部 (041 函館市港町 3-1-1)

YABU, H., NOTOYA, M. and SUGIMOTO, K. 1981. Culture and cytological observations on *Dictyota dichotoma* (HUDSON) LAMOUROUX and *Spatoglossum pacificum* YENDO. Jap. J. Phycol. 29: 129-134.

Culture conditions of 20°C, 2000 and 4000 lux light intensities and 12 h dark and 12 h light photoperiodicity, using modified Grund medium obtained the complete life cycle of *Dictyota dichotoma* and *Spatoglossum pacificum* from their tetraspores. Under the above conditions, male or female reproductive organs were produced on plantlets 8-10 mm height of *Dictyota dichotoma* after one month culture, and on plantlets about 10 mm height of *Spatoglossum pacificum* after three months culture. The life cycle was completed in two months for *Dictyota dichotoma* and in seven months for *Spatoglossum pacificum*. The chromosomes of *Dictyota dichotoma* in the cells of young gametophyte and in the cells of antheridia had the haploid number of from 25-30. Cytological observations on the tetrasporangia of *Spatoglossum pacificum* indicated the following: 1) In early prophase, chromatin threads form loops at one corner of the nuclear cavity. 2) Occasionally a chromophilous spherule was found in the nuclear cavity at prophase I. 3) The nuclear membrane was clearly visible even at metaphase.

Key Index Words: culture; cytology; Dictyotales; *Dictyota dichotoma*; *Spatoglossum pacificum*.

Hiroshi Yabu, Masahiro Notoya and Kiyoshi Sugimoto, Laboratory of Marine Botany, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido, 041 Japan.

アミジグサ (*Dictyota dichotoma* (HUDSON) LAMOUROUX) については欧州では古くから THURET (1855), WILLIAMS (1897 a, b, 1898, 1903, 1904 a, b, 1905) MOTTIER (1900), WENDEROTH (1933), SCHREIBER (1935) 等により活発に研究が行われ、四分孢子体と雌雄配偶体の生殖器官形成、孢子の発生、あるいは核分裂について詳しく報告されている。このアミジグサは我が国では北海道から沖縄に至るまで日本海と太平洋の両沿岸に春から秋にかけてごく普通に見られるが、通常四分孢子体のみが得られて、今迄配偶体についての報告は岡村 (1903) が雌性体並びにその卵細胞群を図示したものと、松永 (1966) が九州で雌性体を採集し、その造精器について観察したこの2例があるにすぎない。

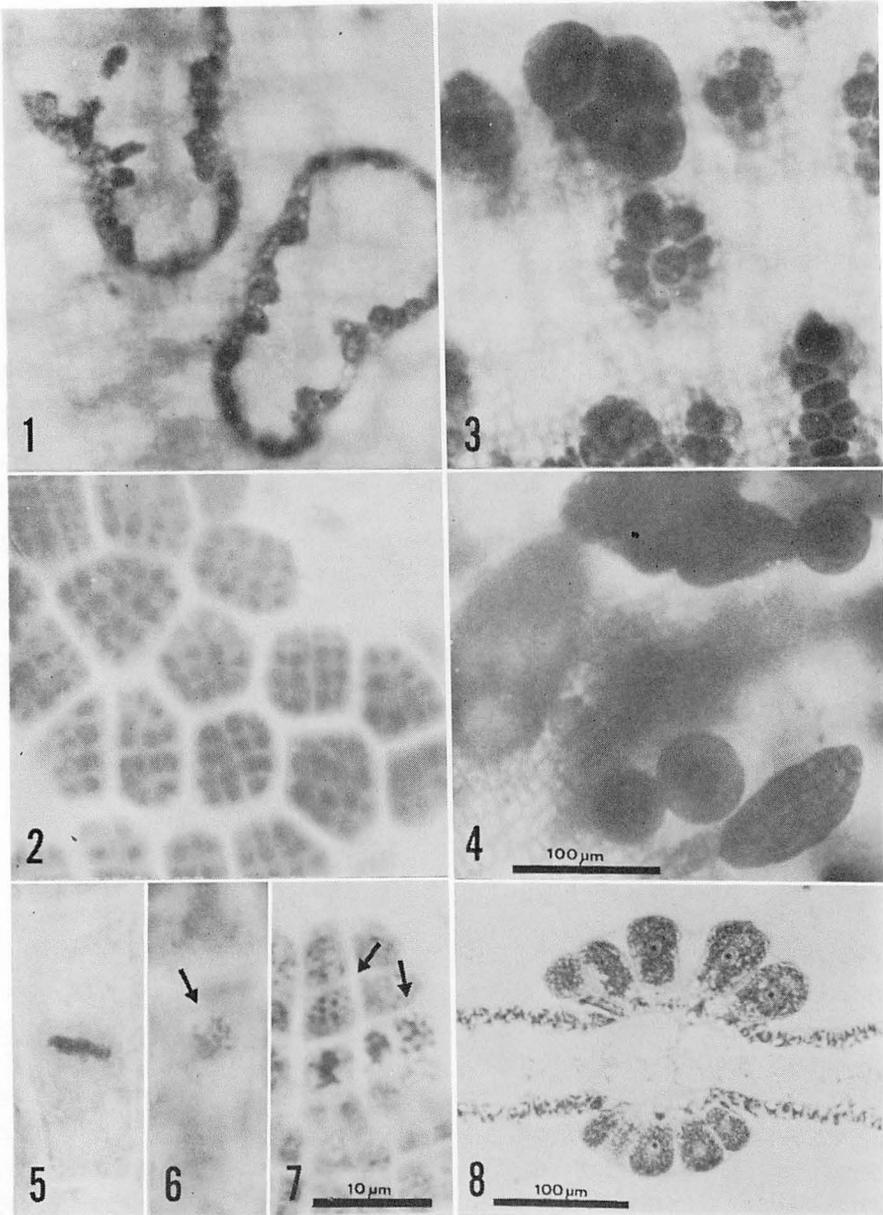
一方、同じアミジグサ目に属するコモングサ (*Spatoglossum pacificum* YENDO) は1902年 YENDO がこれを新種として発表した際、雌性配偶体の卵形成を見ているが、未だ雄性体が得られた記録はない。

そこで筆者らは函館に産するアミジグサとコモングサの四分孢子体を培養し、その発生体について観察を続けていたところ、両種ともに少数のものから雌雄の配偶体を得ることができた。又、本培養を行うに際して採集したアミジグサの多数の四分孢子体に混じってごく少数の雌性体を見出した。アミジグサでは培養中の発芽体で、コモングサでは採集した四分孢子体の孢子形成部分で核分裂についても二三の観察を行った。

材料と方法

材料として使用したアミジグサは1979年8月11日、コモングサは1979年10月18日にいずれも函館市内の銭亀沢で採集した四分孢子体である。

アミジグサの四分孢子体はまず予備実験として温度 10, 15, 20, 25°C, 照度を 500, 1000, 2000, 4000, 8000 lux, 光周期は12時間明期, 12時間暗期で10日間培養を行った結果、温度は 20°C, 照度は 2000 lux と 4000



Figs. 1-8. *Dictyota dichotoma* Lamouroux. 1-4. Tetraspore germling in culture: 1. Part of a male gametophyte bearing fully matured antheridial sori in 30 day culture; 2. Part of a matured male gametophyte bearing young antheridial sori in 35 day culture; 3. Part of a female gametophyte bearing eggs in 10 day culture; 4. Part of a female gametophyte bearing eggs and young sporophytes developed from the eggs, in 45 day culture; 5-7. Nuclear divisions in tetraspore germlings: 5. Side view of metaphase in a cell of germling in 35 day culture; 6. Metaphase (arrow) in a cell of germling in 35 day culture; 7. Metaphase (arrows) in the cells of antheridia of male gametophyte in 35 day culture; 8. Cross section of a female gametophyte collected at Zenigamezawa in Hakodate on August 11, 1979. Fig. 4 scale to right of Figs. 1-3. Fig. 7 scale to right of Figs. 5-6.

lux で生育状態が良かったので、アミジグサとコモングサはともにこの温度と照度で培養した。培養液には modified Grund medium (McLACHLAN 1973) を用い、一週間に一度、液の全量を換水した。

アミジグサの四分胞子発芽体で成熟中の雄性配偶体を酢酸・アルコール (1:3) の液で固定し、酢酸・鉄ヘマトキシリン・抱水クロラル液 (WITTMANN 1965) で染色した。コモングサでは採集した四分胞子体の一部を田原氏 (1929) の液 (2% オスミウム酸・7 cc, 2% クロム酸・70 cc, 氷酢酸・2.5 cc, 海水・30 cc) とホルマリンを 3:1 の割合で使用直前に混ぜた液で固定し、パラフィン法により厚さ 8 μ の切片を作製し、ハイデンハイン氏鉄ヘマトキシリンで染色した。

観察と結果

1. アミジグサ

培養結果: 培養した四分胞子は1ヶ月後に体長 8-10 mm となったが、このときごく少数 (約10%) の発生体に雌性又は雄性的生殖器官が形成された (Figs. 1-4)。雄性体では体の中央部付近より成熟が始まり、造精子が形成されてくる。雌性体では造卵器は初め数個ずつ群をなして現われるが、その4-5日後に成熟した卵 (径 65-70 μ m) が放出された。卵形成が始まったばかりの雌性体を1個体ずつ小型シャーレに移し入れて培養し、卵の単為発生について観察を行った。この場合には卵は発芽して2-3個細胞の体になるが発芽後5-8日経つと色素体が褪色して、そのまま枯死する。受精した卵は順調に生育し、四分胞子発芽体と同じ発生経過をたどる。しかし、仮根を形成しないまま生長する体も観察された。卵の発芽体は1ヶ月後に四分胞子体 (体長約 10 mm) となり、この体から得た四分胞子を培養すると天然の四分胞子体から得た四分胞子発芽体の場合と異なり、すべての体が1ヶ月後には成熟して雌雄の配偶体 (体長約 9 mm) となる。この雌性体より放出された卵からは1ヶ月後に再び成熟した四分胞子体 (体長約 10 mm) が得られた。

核分裂: 四分胞子放出後3週間経て体長約 6 mm に達したものの5個体と、その後更に2週間経った成熟中の雄性配偶体10個を固定、染色して調べた。未熟体では体の先端付近の細胞のなかに核分裂中期の像 (Figs. 5, 6) が得られたが、その多くは側面観で、染色体を数え得る像はごく少数しか見ることができなかった。そのうちの3個の像ではそれぞれ25, 27, 29の染色体数を認めた。雄性配偶体では造精子内で分裂像 (Fig. 7) を多数観察できたが、ここでも25-30の染色体数

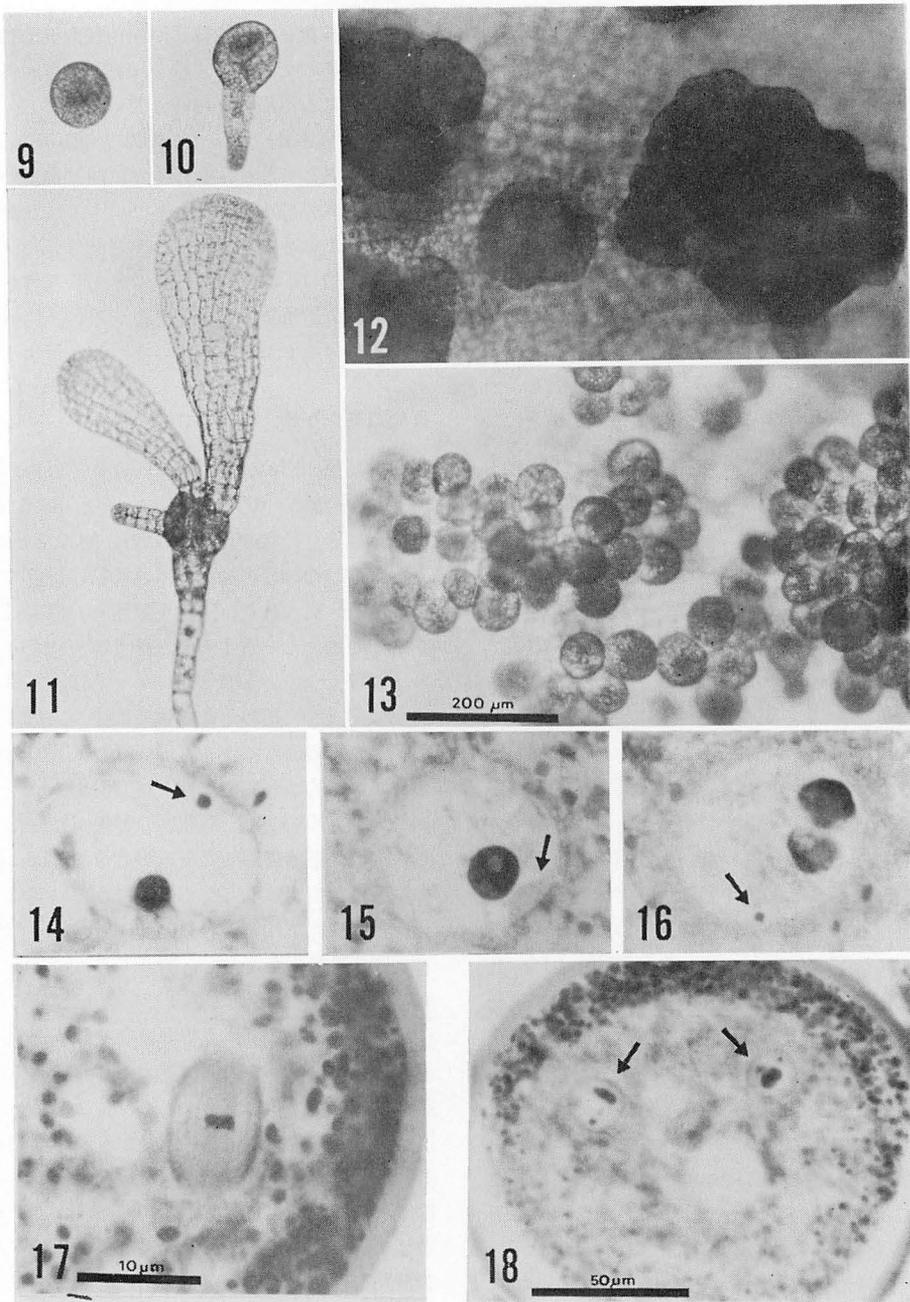
が得られた。

天然で採集した雌性体: 函館市銭亀沢で1979年8月11日に採集したアミジグサを研究室に持ち帰り整理していたところ、約300の四分胞子体に混じって3個体の雌性体を見出した。この時の四分胞子体は体長3-5 cm で群生しており、6月中旬に同じ場所で得た四分胞子体 (体長約 10 cm) より小さく、二次的に発生して成熟したものと思われた。3個体の雌性体はいずれも体長約 10 cm で四分胞子体よりは著しく大きく外観は四分胞子体よりも幾分か濃い。Fig. 8はそれらの雌性体のうちの1個体の横断面を示す。

2. コモングサ

培養結果: Figs. 9-11 は四分胞子の初期発芽体を示す。四分胞子 (径 70-94 μ m, 平均 86.5 μ m) は培養開始後3ヶ月目に長さ約 1 cm, 幅 2.5 mm に生長し、この時約10%の発芽体に雌性又は雄性的生殖器官の形成が見られた。雄性生殖器官の形成経過はアミジグサの場合と一致するが、精子嚢斑は幾分アミジグサよりは大きい。雄性器官 (Fig. 12) は葉状体の中央部に形成され始め、成熟するに従って体表面全体に散在してくるようになる。卵 (Fig. 13) の形成が認められてから約2週間後に卵 (径 74-84 μ m, 平均 80.3 μ m) が放出された。造卵器の形成が始まったばかりの雌性体を分離培養して卵を放出させると、この未受精卵は仮根を生ずることなく数日のうちにアミジグサの場合と同様に枯死した。受精卵は四分胞子の発芽の場合と同様の発生を行ない、約4ヶ月後に体長 1-2 cm, 幅 3-5 mm となり四分胞子を形成した。この頃には中肋の隆起が認められるようになった。四分胞子嚢は体の下部の中肋部の両側に認められるようになり、次第に体の中央部に形成されてくる。

核分裂: 体の表層細胞が四分胞子嚢母細胞となり、これが分裂を行い若い四分胞子嚢を生ずる。この四分胞子嚢はその大きさを増すと同時に核も大きくなり、核径が約 25 μ m になった時核分裂を開始する。核分裂前期の初めには染色体は核内の一隅に偏在し (Fig. 14), 次いで極めて繊維状となって核内に拡がりやがて染色体となる。核分裂前期の初めでは約20%の核に色素によく染まる "chromophilous spherule" (Figs. 14, 16) が、約10%の核内には核膜に接してレンズ状のうすく染まる物体が見られる。仁は通常1個であるが稀に2個 (Fig. 16) 存在する。核分裂中期でも核膜は消失せず且つ紡錘体は明瞭に観察できる (Fig. 17)。核分裂の方向は細胞の軸に平行の方向



Figs. 9-18. *Spatoglossum pacificum* Yendo. 9-13. Tetraspore germling in culture: 9. Liberated tetraspore; 10. Tetraspore germling in one day culture; 11. Tetraspore germling in 4 day culture; 12. Part of male gametophyte bearing antheridia in 95 day culture; 13. Part of female gametophyte bearing eggs in 120 day culture. 14-18. Nuclear divisions in the tetrasporangia; 14-16. Early prophase. Chromophilous spherule in Figs. 14 and 16 and crescent lens body in Fig. 15 are indicated by arrow; 17. Side view of metaphase I; 18. Metaphase II (arrows). Fig. 13 scale to right of Figs. 9-12. Fig. 17 scale to right of Figs. 14-16.

のものが多くが斜め又は水平の方向のものもある。第2分裂では核径は8-10 μm となり、第1分裂の核よりは可成り小さくなる。第2分裂を終え細胞内に4核が形成された後、細胞に隔膜が生じ4つの胞子が出来る。

考 察

前述のごとく今までにアミジグサでは岡村 (1907) が雌性体を、松永 (1966) が雄性体を記述しているが、コモングサでは雄性体は報告されていない。本研究を行うに際して函館市銭亀沢沿岸でアミジグサとコモングサ両種の雌雄配偶体を探すべく努力したが、アミジグサでは約300個体の四分胞子体に混じって3個体の雌性体を見出すことができた。しかし、コモングサでは配偶体は見出すことはできなかった。

アミジグサ科植物の四分胞子の培養は現在までに COHN (1865), REINKE (1878), THURET and BORNET (1878), WILLIAMS (1904), PEIRCE and RANDOLPH (1905), CARTER (1927), ROBINSON (1932), INOH (1936), 西林・猪野 (1966) 等により行われたがいずれもその観察は初期発生にとどまり、未だ生活史を培養によって完結させた記録はない。

今回筆者らの行った培養では、アミジグサとコモングサはともに四分胞子発芽体の約10%が成熟して雌雄の配偶体となった。そして雌性体から放出された卵を培養したところ、すべて四分胞子体に成長し、アミジグサでは約2ヶ月で、コモングサでは約7ヶ月で生活史を完結させることができた。アミジグサでは更に2ヶ月間培養を行ない2世代の生活史を得たが、この結果からみるとアミジグサは比較的水温が高く栄養塩類の豊富な南方の沿岸においては雌雄の配偶体が存在し、且つ4ヶ月位の短期間の間に2世代の生活史が繰り返されている可能性があるものと推定される。

アミジグサの染色体数については既に欧州産の材料で MOTTIER (1900) と WILLIAMS (1904) がいずれも $n=16$ 、本邦産の材料で 藪 (1958) と KUMAGAE, INOH and NISHIBAYASHI (1960) がいずれも $n=32$ と報告しているが、本研究で函館産アミジグサの四分胞子発芽体の細胞内と雄性体の造精器の細胞で見た染色体数は $n=25-30$ で、この単数染色体数と KUMAGAE ら (1960) が見た染色体数と類似している。

今回の培養でコモングサの雌性体が初めて得られたが、精子形成の過程はアミジグサの場合と同様であった。

コモングサの四分胞子嚢内核分裂では核分裂前期の初めに色素に極めてよく染まる “chromophilous

spherule” が約20%の核に存在した。邦産の藪 (1958) によるアミジグサとエゾヤハズ、KUMAGAE, INOH and NISHIBAYASHI (1960) によるアミジグサとオキナウチワ、熊谷・猪野 (1966) によるエゾヤハズについての研究では、この “chromophilous spherule” なる小体はエゾヤハズとオキナウチワでは観察されているが、アミジグサでは認められていない。

コモングサの四分胞子嚢内核分裂中期では核膜は消失することなくそのまま残存した。この時期における核膜はアミジグサとオキナウチワでは消失するが、エゾヤハズでは存在することが 藪 (1958) KUMAGAE, INOH and NISHIBAYASHI (1960) と熊谷・猪野 (1966) により報告されている。以上コモングサの四分胞子嚢内核分裂の観察結果より見るとコモングサはアミジグサよりもエゾヤハズに近いものと考えられる。

コモングサの染色体数については本研究では確認することはできなかったため、この件については今後更に研究を進めたい。

引用文献

- CARTER, P.W. (1927). The life-history of *Padina pavonia* I. the structure and cytology of the tetrasporangial plant. *Ann. Bot.* 41: 139-157.
- COHN, F. (1865). “Ueber einige Algen von Helgoland” *Rabenhorst. Beitr. z. Kenntn. d. Algen.* 2: 17-32.
- INOH, S. (1936). On tetraspore and its germination in *Dictyopteris divaricata* OKAMURA with special reference to the mode of rhizoid formation. *Sci. Pap. Inst. Algal. Research, Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ.* 1: 213-219.
- 熊谷信孝 1972. アミジグサ目の形態発生IX, コモングサとシワヤハズの四分胞子発生, *藻類*, 20: 7-13.
- 熊谷信孝・猪野俊平 1966. アミジグサ目の形態発生, V, エゾヤハズの四分胞子母細胞の成熟分裂, *藻類*, 14: 1-8.
- KUMAGAE, N., INOH, S. and NISHIBAYASHI, T. 1960. Morphogenesis in Dictyotales II. On the tetraspore mother cell in *Dictyota dichotoma* (HUDSON) LAMOUROUX and *Padina japonica* YAMADA. *Biol. J. Okayama Univ.* 6: 91-102.
- 松永圭朔 1966. エゾヤハズとアミジグサの雄性生殖器官について, *藻類* 4: 8-11.
- McLACHLAN, J. 1973. Growth media-marine. In: *Handbook of Phycological Methods* (Ed. by J.R. Stein), pp. 25-51. Cambridge University Press, New York.
- MOTTIER, D.M. 1900. Nuclear and cell division

- in *Dictyota dichotoma*. Ann. Bot. 14: 163-192.
- 西林長朗・猪野俊平 1959. アミジグサ科植物の生活史について 1, アミジグサ, エゾヤハズ, オキナウチワの四分孢子発生, 植物学雑誌, 72: 261-268.
- 岡村金太郎 1907. 日本藻類図譜, 3巻。
- PEIRCE, G. J. and RANDOLPH, F. A. 1905. Studies of irritability in Algae. Bot. Gaz. 40: 321-350.
- REINKE, J. 1878. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über die Dictyotaceen des Golfs von Neapel. Nov. Act. Leop. Carol. Acad. 40: 56 p.
- ROBINSON, W. 1932. Observations on the development of *Taonia atomaria* AG. Ann. Bot. 46: 113-120.
- SCHREIBER, E. 1935. Ueber Kultur und Geschlechtsbestimmung von *Dictyota dichotoma*. Planta 24: 266-275.
- TAHARA, M. 1929. Ovogenesis in *Coccophora Langsdorffii*. GREV. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. 4th Ser. IV, 551-556.
- THURET, G. 1855. Recherches sur la fecondation des Fucasées et les antheridies des Algues II. Ann. Sci. Nat. Bot. IV. 3: 5-28.
- THURET, G. and BORNET, E. 1878. Etudes phycologiques. Paris 1878.
- WENDEROTH, H. 1933. Einige Ergänzungen zur Kenntniss des Aufbaues von *Dictyota dichotoma* LAMOUROUX and *Padina pavonia* LA-MOUROUX. Flora, 127: 185-189.
- WILLIAMS, J. L. 1897a. Mobility of antherozoids of *Dictyota* and *Taonia*. Jour. Bot. 35: 361-362.
- WILLIAMS, J. L. 1897b. The antherozoids of *Dictyota* and *Taonia*. Ann. Bot. 11: 545-553.
- WILLIAMS, J. L. 1898. Reproduction in *Dictyota dichotoma*. Ann. Bot. 12: 559-560.
- WILLIAMS, J. L. 1903. Alternation of generations in the Dictyotaceae. New Phytol. 2: 184-186.
- WILLIAMS, J. L. 1904a. Studies in the Dictyotaceae. I. Cytology of the tetrasporangium and germinating tetraspore. Ann. Bot. 18: 141-160.
- WILLIAMS, J. L. 1904b. Studies in the Dictyotaceae. II. The cytology of the gametophyte generation. Ann. Bot. 18: 183-204.
- WILLIAMS, J. L. 1905. Studies in the Dictyotaceae. III. The periodicity of the sexual cells in *Dictyota dichotoma*. Ann. Bot. 19: 531-560.
- WITTMAN, W. 1965. Aceto-iron-haematoxylin-chloral hydrate for chromosome staining. Stain Tech., 40: 161-164.
- 籾 熙 1958. エゾヤハズとアミジグサの四分孢子囊に於ける核分裂について. 北大水産研究彙報 8: 290-296.
- YENDO, K. (1920). Novae algae Japoniae. Bot. Mag. Tokyo, 34: 1-12.