

エゾヤハズの四分胞子発生機構の解析 VII.

四分胞子発生におよぼすコルヒチンの影響

大森長朗・橋田順子

山陽学園短期大学 (703 岡山市平井 1-14-1)

OHMORI, T. and HASHIDA, J. 1982. An analysis of tetraspore development in *Dictyopteris divaricata* VII. Effects of colchicine on tetraspore development. Jap. J. Phycol. 30: 155-158.

Tetraspores of *Dictyopteris divaricata* were cultured in seawater solutions of colchicine at various concentrations. In solution at a concentration higher than 0.2%, most of the spores (more than 80.7%) died. At concentration of 0.05%, germination rate was markedly lower. At concentration of 0.001-0.05%, spores formed thick and giant rhizoids. Diameter of the giant rhizoids was about 1.7 times as large as that of the normal. Thickness of the giant rhizoid was almost constant at any concentration of colchicine of 0.001-0.05%. Colchicine at 0.005% completely inhibited formation of the segmentation wall of germlings.

When cultured under continuous unilateral illumination with colchicine, more than 80% of the spores developed rhizoid away from the light source. Therefore, it is presumed that colchicine is effectless for photopolarization.

Key Index Words: colchicine; *Dictyopteris divaricata*; giant rhizoid; morphogenesis; Phaeophyta; photopolarization; tetraspore development
Takeo Ohmori and Junko Hashida, Sanyo Gakuen Junior College, Hirai, Okayama, 703 Japan.

海藻に対するコルヒチンの効果は褐藻類に属する *Fucus* (ABE 1969, QUATRANO 1973, BRAWLEY and QUATRANO 1979) や *Pelvetia* (安部 1978) の受精卵および緑藻類に属する *Acetabularia* (WERZ 1969) について調べられている。

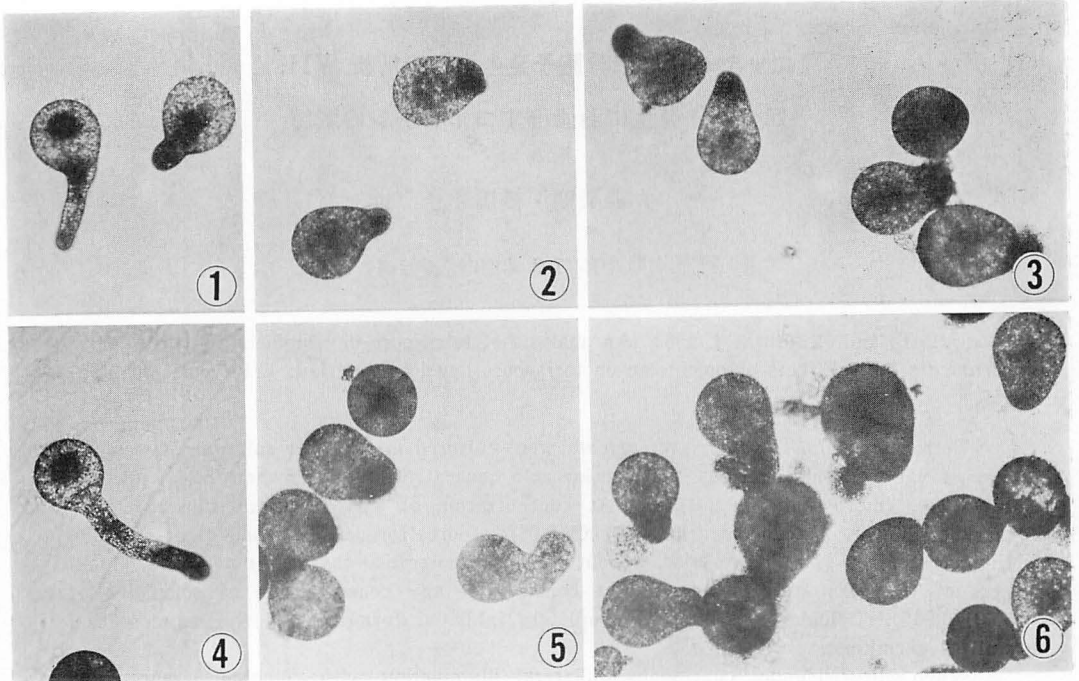
ABE (1969) は *Fucus evanescens* の受精卵を 50 ppm のコルヒチン海水溶液で培養すると仮根の分化はみられるがそれ以上の進展はみられないことを報告している。QUATRANO (1973) は *Fucus distichus* の受精卵を 1 mg/ml の濃度のコルヒチンで培養した結果、仮根形成に遅れを生じないし、一方照射による仮根の定位または極性軸の固定にはコルヒチンは影響しないことを明らかにしている。さらに安部 (1978) は *Pelvetia wrightii* の受精卵をコルヒチンで培養すると仮根の分化は遅れるが photopolarization には影響をおよぼさないことを報告している。*Acetabularia* ではコルヒチンにより cap の形成が強く阻害されることが知られている (WERZ 1969)。

本研究ではエゾヤハズ *Dictyopteris divaricata* の

四分胞子をコルヒチン海水溶液で培養したところ巨大仮根を生じたのでその結果を報告する。

材料と方法

本研究では、1981年6月1日および6月30日に岡山県玉野市渋川において採集されたエゾヤハズ (*Dictyopteris divaricata*) の四分胞子を用いて実験を行った。採集後、藻体を一晚暗所に放置し、翌日濾過海水を満した大型シャーレに浸して四分胞子を放出させた。3時間以内に放出された四分胞子を遠沈して集め、実験に用いた。0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 および 0.5% のコルヒチンを含む海水溶液を作り、この中で胞子を培養した。次にコルヒチンからの回復を調べるため、最初 0.001, 0.005, 0.01 および 0.05% のコルヒチンを含む海水溶液で培養し、培養開始後 3, 17.5, 25 および 67時間それぞれ経過した後に培養液を濾過海水に取りかえて培養を続けた。以上の実験では光は自然光で培養温度は $17.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ であった。



Figs. 1-6. Stages in the development of tetraspores in *Dictyopectis divaricata*.

1. 45 hr in seawater. 2. 45 hr in 0.005% colchicine.
3. 45 hr in 0.01% colchicine. 4. 72 hr in seawater.
- 5, 6. 72 hr in 0.01% colchicine.

光による仮根の定位 (photopolarization) にコルヒチンがどのような影響を与えるのかを調べるために、0.005 および 0.01% のコルヒチンを含む海水溶液中で培養した四分胞子に光を一方から照射し、培養 5 日後に仮根の伸出方向を測定した。光源には 15W の白色蛍光灯を用いて 1000 lux の光を与えた。培養はすべて小型シャーレ (径 6 cm) を使用し、培養液は各シャーレに 7 ml ずつ入れられた。

結 果

仮根形成におよぼすコルヒチンの影響: コルヒチン海水溶液中でエゾヤハズスの四分胞子を培養した場合、0.01% の濃度では 82.3% の胞子が生き残り、0.1% では 66.4% の胞子が生き残った。濃度 0.2~0.5% では 80.7% 以上の胞子が死滅した。

培養 3 日後、濾過海水中では 45.8% の胞子が発芽したが、濃度 0.01% のコルヒチン溶液中では発芽率 35.6%、濃度 0.05~0.2% では発芽率 11.4~4.7% と、濃度が高くなるにしたがって発芽率は低くなった。培養 5 日後では、濾過海水中では 62.4% の胞子が発芽

したが、0.01% のコルヒチン溶液中では発芽率は 6.4% 増加したに過ぎず、0.05% 以上の濃度では発芽率の増加はみられずそれ以後の仮根の伸長も観察されなかった。

0.001~0.05% の濃度で培養した場合には、生じた仮根は正常のものに比べて著しく太くなっているのが観察された (Figs. 1~6)。濾過海水中ではこのような巨大仮根は 8.3% しかみられなかった。0.001, 0.005 および 0.01% とコルヒチンの濃度が高くなるにしたがって、巨大仮根の形成率も 18.2, 32.3 および 55.7% と高くなった (Table 1)。

仮根の太さを測定したところ、正常な仮根は $33 \pm 5 \mu\text{m}$ の太さであるのに対し、0.01% のコルヒチン海水溶液中で培養した場合の巨大仮根の太さは $56 \pm 7 \mu\text{m}$ と正常の約 1.7 倍になっていた。コルヒチンの濃度が 0.005 および 0.001% の場合も、生じた巨大仮根の太さは 0.01% の場合とほぼ同じであった (Table 2)。巨大仮根を生じるようなコルヒチン濃度では、仮根の生長は抑制された。

photopolarization におよぼす影響: 0.005 および 0.01% コルヒチン海水溶液中で四分胞子を培養し、これ

Table 1. Formation of giant rhizoids in tetraspore germlings cultured with colchicine for 5 days.

	Sea water	Colchicine concentration (%)			
		0.001	0.005	0.01	0.05
Number of germlings	120	126	102	106	10
Giant rhizoid (%)	8.3	18.2	32.3	55.7	50.0

Table 2. Average diameter of giant rhizoids in culture with colchicine for 3 days.

	Sea water (normal rhizoids)	Colchicine concentration (%)		
		0.001	0.005	0.01
Number	30	19	30	30
Diameter (μm)	33 \pm 5*	54 \pm 7	55 \pm 7	56 \pm 7

* Standard deviation

Table 3. Inhibition of segmentation wall formation in tetraspore germlings cultured with colchicine for 5 days.

	Sea water	Colchicine concentration (%)		
		0.001	0.005	0.01
Number of germlings	118	127	118	108
Germling with segmentation wall (%)	61.0	50.4	0.0	0.0

に一方から白色蛍光灯で 1000 lux の光を連続照射した。培養 5 日後に観察したところ、濾過海水では 94% の胞子が反光源側に仮根を伸出していた。0.005 および 0.01% コルヒチン海水溶液中では、それぞれ 80 および 82% の胞子が反光源側に仮根を伸出しており、コ

ルヒチンは胞子の光による仮根伸出の定位 (photopolarization) に影響をおよぼしていないことがわかった。

分割壁形成におよぼすコルヒチンの影響: 培養 4 日後の観察では、仮根を形成することなしに胞子細胞が分裂するという apolar な発芽体は、濾過海水の中では 5.6%, 0.001% のコルヒチン海水溶液中では 5.2% 存在したが、0.005% 以上の濃度では全く存在しなかった。さらに培養 6 日後仮根を生じた発芽体のうち、濾過海水の中では 61.0%, 0.001% のコルヒチン海水溶液中では 50.4% のものが分割壁を形成したが、0.005% 以上の濃度では全く分割壁は形成されなかった (Table 3)。0.005% 以上の濃度のコルヒチンは完全に胞子細胞の分割を阻害している。

コルヒチン海水溶液から正常海水に移した場合の発生の回復: 0.01% コルヒチン海水溶液で 3, 17.5, 25 および 67 時間それぞれ培養した後に、胞子を濾過海水にもどして培養を続けた。3, 17.5, および 25 時間後に濾過海水にもどして培養を行なったものは、最初から濾過海水で培養したものと同程度の発芽率を示した。67 時間後に濾過海水にもどしたものは発芽率は低く、連続コルヒチン培養の場合に近い値を示した (Table 4)。コルヒチン処理を行なうと巨大仮根を生じるが、この場合コルヒチン処理の時間が短いほど巨大仮根の形成率は低くなった。これはコルヒチン海水溶液から濾過海水にもどした場合、遅れて発芽してきたものの仮根が正常仮根を伸出するためであろうと思われる。0.01% コルヒチン海水溶液中で培養した場合は分割壁は全く形成されないが、3, 17.5 および 25 時間後に濾過海水にもどして培養を行なうと、57.4~67.1% のものに分割壁が形成されて、最初から濾過海水で培養したものと同程度の分割壁形成率を示した。この場合、分割壁の入る方向は仮根の伸出方向に対して直角であり正常なものと同じであった。巨大仮根を生じたものでも、

Table 4. Recovery induced by transferring the germlings to sea water after culture with 0.01% colchicine. Germlings were counted after culture for 140 hr.

	Germination rate (%)	Giant rhizoid (%)	Segmentation wall (%)
Sea water (SW)	62.4	8.3	62.2
3 hr Colchicine \rightarrow SW	75.2	14.3	57.4
17.5 hr Colchicine \rightarrow SW	70.9	16.2	62.2
25 hr Colchicine \rightarrow SW	59.8	20.8	67.1
67 hr Colchicine \rightarrow SW	44.4	28.2	38.2
Colchicine	42.0	55.7	0.0

分割壁は正常に形成された。

これらのことからコルヒチン処理が培養開始後25時間以内の時には、コルヒチンによる胞子発芽や分割壁形成の抑制は可逆的であることがわかった。

考 察

エゾヤハズの四分胞子をコルヒチン海水溶液で培養すると、濃度0.2%以上では80%以上の胞子が死滅した。0.05%以上の濃度では、仮根突起は形成されるが分割壁は形成されなかった。さらにその後の仮根の伸長も観察されなかった。また、コルヒチン処理は photopolarization に影響を与えないことが明らかになった。これらの結果は *Fucus* (ABE 1969, QUATRANO 1973) および *Pelvetia* (安部 1978) の受精卵での結果と一致している。

数種のシダの胞子をコルヒチンを含む液で培養すると、仮根に対してはコルヒチンの著しい影響は見られないが、原糸体の細胞が球形に異常肥大して決して糸状に生長しないことを NAKAZAWA (1968) は報告している。エゾヤハズの四分胞子では、0.001~0.05%の濃度のコルヒチン海水溶液で巨大仮根の形成が観察された。巨大仮根を生じた場合、その太さはコルヒチンの濃度に関係なく一定であったが、巨大仮根の形成率は濃度が高くなるほど高くなった。コルヒチンはチューブリンと呼ばれるタンパク質と特異的に結合する働きがある。この為、コルヒチンはチューブリンが単位となって構成されている微小管の形成に影響をおよぼし、この結果巨大仮根が生じたと考えられる。コルヒチンにより分割壁の形成が抑制されるのは、微小管からなる紡錘糸の形成が阻害されるためであろう。中

沢 (1969) は *Fucus* の受精卵を KI 海水溶液で培養すると巨大仮根が形成されることを報告している。エゾヤハズの四分胞子では KCl および KBr 海水溶液により巨大仮根が形成されることを大森・末村(1977)が報告している。これらの場合の巨大仮根と、今回コルヒチン処理によって生じた巨大仮根の形成のメカニズムが同じであるかどうかは今後の研究にまたなければならぬ。

引用文献

- ABE, M. 1969. Rhizoid differentiation under low temperature condition in *Fucus* eggs. Bot. Mag. Tokyo 82: 53-55.
- 安部 守 1978. エゾイシゲ 卵の極性発現について。日本植物学会第43回大会研究発表記録 p. 74.
- BRAWLEY, S.H. and QUATRANO, R.S. 1979. Effects of microtubule inhibitors on pronuclear migration and embryogenesis in *Fucus distichus* (Phaeophyta). J. Phycol. 15: 266-272.
- NAKAZAWA, S. 1968. Growth patterns of fern gametophytes with colchicine and sulfhydryl groups. Bot. Mag. Tokyo 81: 575-581.
- 中沢信午 1969. Fucales ノート (5). 藻類 17: 122-125.
- 大森長朗・末村枝利子 1977. エゾヤハズの四分胞子発生機構の解析Ⅲ KCl, KBr による仮根の分岐。山陽学園短期大学研究論集 8: 47-50.
- QUATRANO, R.S. 1973. Separation of processes associated with differentiation of two-celled *Fucus* embryos. Develop. Biol. 30: 209-213.
- WERZ, G. 1969. Wirkungen von Colchicin auf die Morphogenese von *Acetabularia*. Protoplasma 67: 67-78.