

エゾヤハズの生活史についての顕微測光法的研究

大森長朗・橋田順子

山陽学園短期大学 (703 岡山市平井1丁目14-1)

OHMORI, T. and HASHIDA, J. 1985. Feulgen microspectrophotometric studies of the life history of *Dictyopteris divaricata*. Jap. J. Phycol. 33: 155-159.

Cells of tetrasporophytes and those of germlings of tetraspores and liberated tetraspore mother cells of *Dictyopteris divaricata* were stained by the Feulgen technique, and the relative amounts of DNA per nucleus were measured by microspectrophotometry. The average relative amount of DNA in nuclei of tetrasporophytes was twice as large as that of germlings of tetraspores. The average relative amount of DNA in nuclei of germlings of liberated tetraspore mother cells was similar to that of tetraspores. From these results, we have come to the conclusion that tetrasporophytes are diploid and both germlings of tetraspores and liberated tetraspore mother cells are haploid.

Key Index Words: *Dictyopteris divaricata*; DNA; Feulgen microspectrophotometry; life history; nuclear phase.

Takeo Ohmori and Junko Hashida, Sanyo Gakuen Junior College, Hirai, Okayama, 703 Japan.

褐藻エゾヤハズ (*Dictyopteris divaricata*) では、四分胞子体の葉上に四分胞子母細胞が形成され、それが正常な減数分裂を行って四分胞子が作られることが知られている (篠 1958, 熊谷・猪野 1966)。放出された四分胞子を培養すると、発芽して仮根や直立苗 (erect shoot) を形成することが観察されているが (Inoh 1936, 西林・猪野 1959), これが配偶体が発達していくかどうかは確認されていない。また、エゾヤハズの四分胞子母細胞が四分胞子とならないで、母細胞のままで放出されて発芽することが観察されている (大森・橋田 1984)。しかし、放出四分胞子母細胞の発芽体の核相は知られていない。さらに、天然においては配偶体が見られるのは極めて稀であることから、本種の生活史には不明な点が残っている。同じアミジグサ科の *Taonia* でも配偶体があまり見られず、放出四分胞子母細胞が四分胞子にくらべて発芽力があり、活力のある生育を示すことから、ROBINSON (1932) は放出四分胞子母細胞の発芽体は diploid であって、これによって無性的に繁殖を続けているのかもしれないと述べている。今回、エゾヤハズの四分胞子体と、四分胞子および放出四分胞子母細胞の発芽体の核の相対 DNA 量をフェイルゲン顕微測光法を用いて測定することにより、その核相を明らかにすることができた

のでその結果を報告する。

材料と方法

1980年5月27日と1983年6月11日に岡山県玉野市渋川で採集したエゾヤハズの四分胞子体を材料に用いた。採集後一晩暗所に放置し、翌日成熟間近の四分胞子体を酢酸アルコール (氷酢酸 1:100% エタノール 3) で30分間固定した。アルコールで脱水した後パラフィンに包埋し、8 μ mの厚さのマイクローム切片とした。一方、別の個体を濾過海水に浸して胞子を放出させた。放出した胞子をピペットで集め、容器の底に敷いたスライドグラス上に滴下してこれを濾過海水で培養した。10日間の培養の後、スライドグラスをとり出し、酢酸アルコールで30分間固定した。次に両者を下のような方法で同時に染色を行った。まず 60°C の 1N HCl に5分間浸して加水分解を行った。純水で軽く洗ってから室温・暗室で SCHIFF の試薬に120分間浸した。0.05 M 亜硫酸水素ナトリウムに2分ずつ3回計6分間浸した後、流水で10分間洗い、発色させた。その後アルコールで脱水し、ビオライトで封入した。オリンパス定量顕微鏡 BHQ を用い、560 nm の波長の光を照射して相対 DNA 量を測定した。その値は照射する光のスポットの面積とその吸光度の積で表わされる。

四分孢子および放出四分孢子母細胞の発芽体の体部、仮根、直立苗の核の測定に用いたスポットの径は $4\ \mu\text{m}$ で、四分孢子体の皮層細胞 (cortical cell) と髓層細胞 (medullary cell) の核の場合は $5\ \mu\text{m}$ 、柄細胞 (stalk cell) の場合は $6\ \mu\text{m}$ であった。四分孢子と放出四分孢子母細胞は前報 (大森・橋田 1984) により、その大きさによって区別した。

結 果

まず、エゾヤハズ核を良好にフォイルゲン染色するための加水分解時間と染色時間を決定した。SCHIFF 試薬による染色時間は90分間と一定にして、 60°C の $1\ \text{N HCl}$ に 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40分間浸す7通りの加水分解を行った。それぞれの場合につき四分孢子体の髓層細胞の核の吸光度を20個測定した。その結果が Fig. 1 に示されている。5~15分の加水分解時間が最適で20分以上では加水分解時間が長くなるほど染色は弱くなり吸光度は低下していった。

次に $1\ \text{N HCl}$ 60°C で15分間の加水分解を行った後、SCHIFF 試薬で染色する時間を 15, 30, 60, 120, 180分間の5通り行い、最適の染色時間を決定した。それぞれ20個の髓層細胞の核についてその吸光度を測定した (Fig. 2)。吸光度が最大となるのは120分間 SCHIFF の試薬に浸した場合で、それ以上染色時間をのばしても効果はみられなかった。

エゾヤハズの四分孢子体を $1\ \text{N HCl}$ 60°C で5分間加水分解し、SCHIFF の試薬に120分間浸して染色し

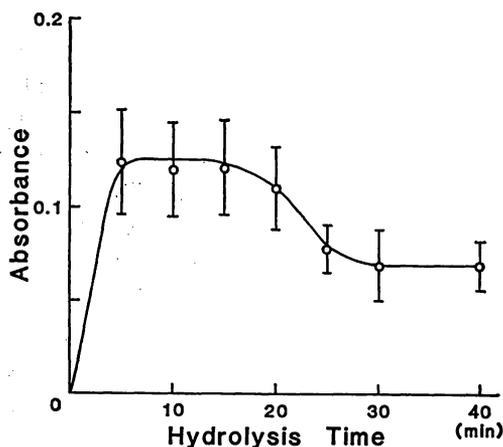


Fig. 1. The effect of hydrolysis time in $1\ \text{N HCl}$ at 60°C on the absorbance of mesurable dye bound by nuclei of medullary cell. The points are mean \pm S.D. of absorbance.

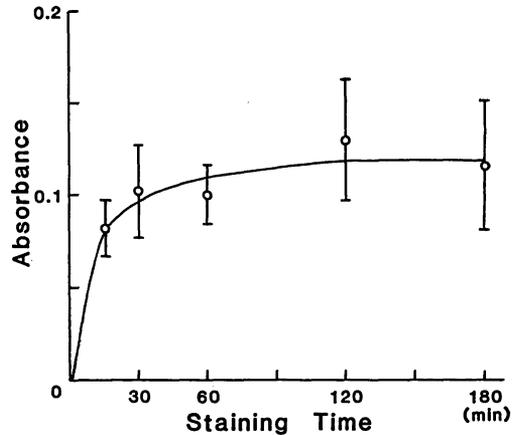


Fig. 2. The effect of staining time in Schiff's reagent on the absorbance of mesurable dye bound by nuclei of medullary cell. The points are mean \pm S.D. of absorbance.

た (Fig. 3a)。皮層、髓層および柄細胞のそれぞれ50個の核について、核当りのDNA量を測定した。DNA量はそれぞれ $0.7\sim 1.4$, $0.6\sim 1.4$, $0.7\sim 1.5$ を示し、その平均値および標準偏差はそれぞれ 0.946 ± 0.157 , 1.05 ± 0.215 , 1.15 ± 0.221 であった (Fig. 4a-c)。

次にエゾヤハズの四分孢子の発芽体を四分孢子体と同じ条件で染色し (Fig. 3b)、体部、仮根および直立苗の細胞のそれぞれ50個の核について、核当りのDNA量を測定した。DNA量はそれぞれ $0.3\sim 0.7$, $0.3\sim 0.7$, $0.3\sim 0.8$ を示し、その平均値はそれぞれ 0.462 ± 0.112 , 0.492 ± 0.105 , 0.560 ± 0.143 であった (Fig. 4d-f)。これらは四分孢子体の核のDNA量の約半分となっている。

四分孢子母細胞が未成熟なままで放出され発芽することがある。この放出四分孢子母細胞の発芽体についても同様に染色し、その体部、仮根、直立苗についてそれぞれ 21, 28, 15個の核のDNA量を測定した。その平均値はそれぞれ 0.552 ± 0.103 , 0.443 ± 0.132 , 0.620 ± 0.201 であった (Fig. 4g-i)。直立苗の細胞は分裂頻度が高く、また測定数が少ないために値が少し高くなったと考えられる。この事を考慮すると、放出四分孢子母細胞の発芽体の核のDNA量は四分孢子の発芽体のDNA量とほぼ同じである。

考 察

海藻の核相を調べるさい、分裂像がとらえにくく染色体が小さいことがかなり障害となっているが、近年海藻の細胞の核をフォイルゲン染色し、その吸光度を

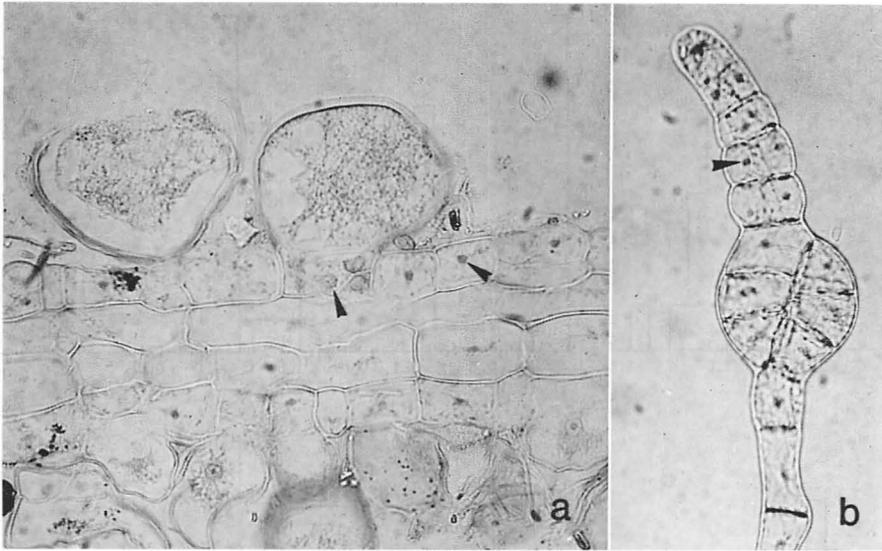


Fig. 3. Photomicrograph of a tetrasporophyte (a) and a tetraspore germling (10-day-old) (b) of *Dictyopteris divaricata* stained by the Feulgen technique. Arrow shows the nucleus. a, b $\times 200$.

測定することにより核当りの DNA 量を知り、核相を明らかにした研究報告が見られるようになった。1972 年 HURDELBRINK and SCHWANTES が紅藻カワモズク属の生活史の研究に顕微分光測光法が有用であることを示したのに続いて KOOP (1975) が緑藻 *Acetabularia mediterranea* で、BREEMAN (1979) が紅藻 *Acrosymphyton purpuriferum* で、NELSON and COLE (1981) が褐藻 *Analipus japonicus* で、大森・植木 (1982) が褐藻ウミトラノオでフォイルゲン顕微測光法により核相を明らかにしている。

本実験からエゾヤハズの四分胞子と放出四分胞子母細胞の発芽体の細胞の核に含まれる DNA 量は四分胞子体の皮層、髓層および柄細胞の核に含まれる DNA 量の約半分であることが明らかとなった。従って、エゾヤハズの四分胞子と放出四分胞子母細胞の発芽体の核相はどちらも n であり、四分胞子体の核相は $2n$ と考えられる。

籾 (1958) は北海道忍路湾産エゾヤハズの四分胞子嚢の第 1 回核分裂は正常な減数分裂であると報告しており、熊谷・猪野 (1966) は瀬戸内海産のエゾヤハズでも四分胞子の形成のさいに正常な減数分裂が行われていることを報告している。これらの報告と、本研究の結果とはよく一致している。

また放出四分胞子母細胞の発芽体の核の DNA 量は四分胞子の発芽体と同じであり、四分胞子体の核の DNA 量の半分であったことから、放出された四分胞

子母細胞も放出後、発生の途中で減数分裂を行い、その発芽体は haploid となっていることが明らかとなった。従ってエゾヤハズでは放出四分胞子母細胞の発芽体が $2n$ の四分胞子体に生長していくとは考えられない。四分胞子および放出四分胞子母細胞の発芽体はどちらも染色体数が半数である配偶体に生長していくものと思われる。時田・正置・籾 (1953) はエゾヤハズの根様系の上に、幼体が形成される事実を発見している。瀬戸内海で海中に生育している藻体には四分胞子体が圧倒的に多いのは、根様系から新しい個体を生ずるといふ栄養繁殖を盛んに行っているためと考えられる。

引用文献

- BREEMAN, A.M. 1979. The caryological phases in the life history of *Acrosymphyton purpuriferum* (J. AG.) Sjöst. (Rhodophyceae, Cryptonemiales). *Phycologia* 18: 146-148.
- HURDELBRINK, L. and SCHWANTES, H.O. 1972. Sur le cycle de développement de *Batrachospermum*. *Soc. bot. France, Mém.* 269-274.
- INOH, S. 1936. On tetraspore formation and its germination in *Dictyopteris divaricata* OKAM., with special reference to the mode of rhizoid formation. *Sci. Pap. Inst. Algal. Res., Fac. Sci., Hokkaido Imp. Univ.* 1: 213-219.
- KOOP, H.-U. 1975. Über den Ort der Meiose bei *Acetabularia mediterranea*. *Protoplasma* 85: 109-114.
- 熊谷信孝・猪野俊平 1966. アミジグサ目の形態発生

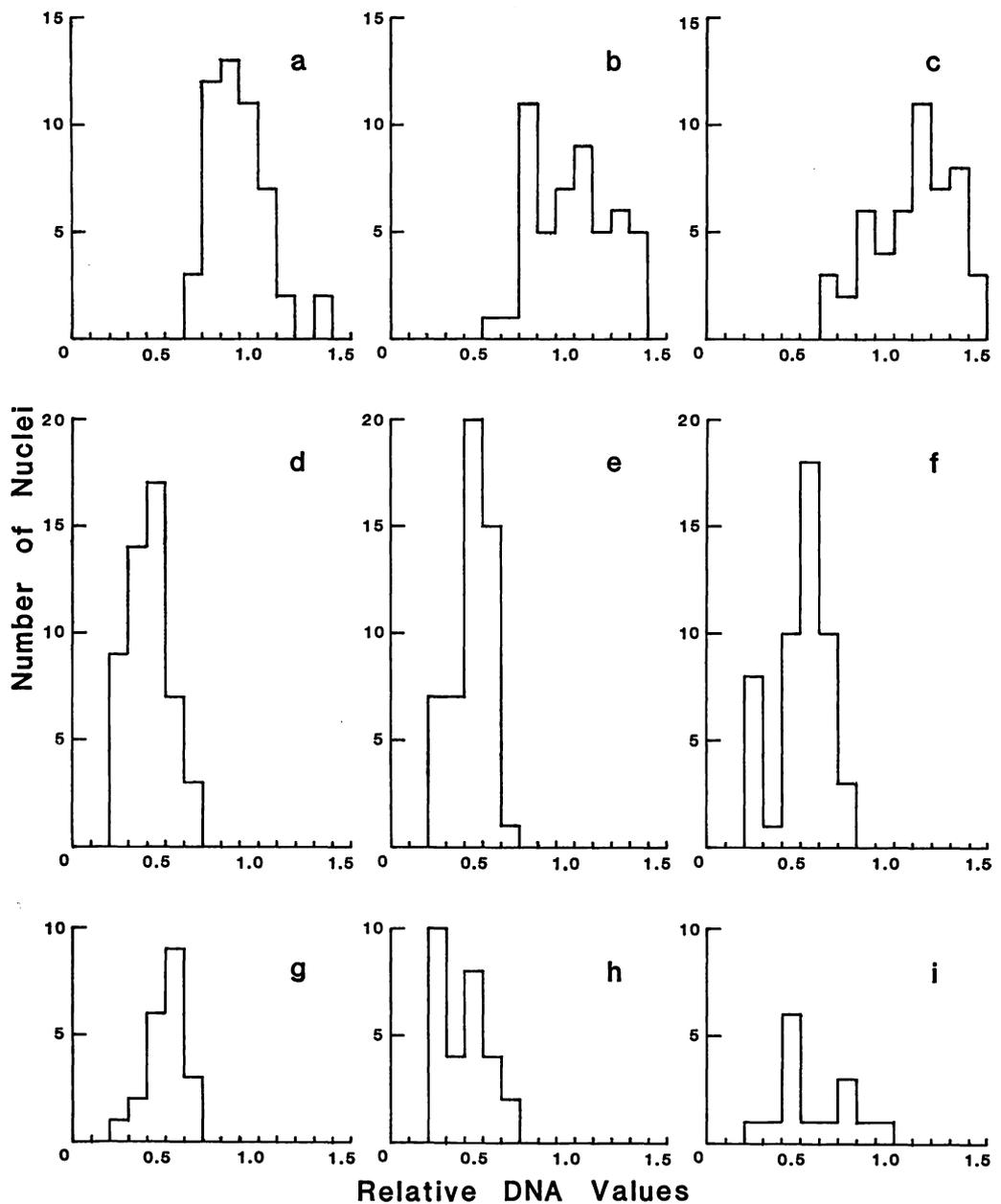


Fig. 4. Frequency distribution of relative DNA values of nuclei of tetrasporophyte (a~c), germlings of tetraspore (d~f) and germlings of liberated tetraspore mother cell (g~i) in *Dictyopteris divaricata*. a. Cortical cell, 50 nuclei, mean= 0.946 ± 0.157 ; b. Medullary cell, 50 nuclei, mean= 1.05 ± 0.215 ; c. Stalk cell, 50 nuclei, mean= 1.15 ± 0.221 ; d. Body cell, 50 nuclei, mean= 0.462 ± 0.112 ; e. Rhizoidal cell, 50 nuclei, mean= 0.492 ± 0.105 ; f. Cell of erect shoot, 50 nuclei, mean= 0.560 ± 0.143 ; g. Body cell, 21 nuclei, mean= 0.552 ± 0.103 ; h. Rhizoidal cell, 28 nuclei, mean= 0.443 ± 0.132 ; i. Cell of erect shoot, 15 nuclei, mean= 0.620 ± 0.201 .

- V. エゾヤハズの四分胞子母細胞の成熟分裂. 藻類 14: 1-8.
- NELSON, W. A. and COLE, K. 1981. Feulgen microspectrophotometric analysis of the life history stages of *Analipus japonicus* (HARV.) WYNNE (Phaeophyta). *Phycologia* 20: 435-437.
- 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 I. アミジグサ, エゾヤハズ, オキナウチワの四分胞子発生. 植物学雑誌 72: 261-268.
- 大森長朗・橋田順子 1984. エゾヤハズの放出四分胞子母細胞の発生について. 藻類 32: 162-166.
- 大森長朗・植木洋子 1982. ウミトラノオの生活史についての顕微測光法的研究. 藻類 30: 44-46.
- ROBINSON, W. 1932. Observations on the development of *Taonia atomaria*, AG. *Ann. Bot.* 46: 113-120.
- 時田 郁・正置富太郎・藪 熙 1953. 褐藻エゾヤハズの根様縁に就いて. 北海道大学水産学部研究彙報 4: 149-156.
- 藪 熙 1958. エゾヤハズとアミジグサの四分胞子嚢に於ける核分裂について. 北海道大学水産学部研究彙報 8: 290-296.

 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
- 有限会社 シロク商会 260 千葉市春日 1-12-9-103
- 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
- 協和醗酵工業株式会社 バイオ事業本部 バイオ開発部
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. 白壽保健科学研究所・原 昭 邦 173 東京都板橋区大山東町 32-17
- 有限会社 浜野顕微鏡 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
- 神協産業株式会社 742-15 山口県熊毛郡田布施町波野 962-1
-