

説 説

藻類におけるセルロース性細胞壁 I.
構造と形成

水 田 俊

高知大学理学部生物学教室 (780 高知市曙町2-5-1)

MIZUTA, S. 1987. Structure and generation of cell walls in cellulosic algae I. Microfibril arrangement patterns and cell wall formation. Jap. J. Phycol. 35: 45-59.

The present review concerned with cellulosic microfibrillar structures and their genesis in the cell walls of certain algae. The microfibrillar orientation patterns so far reported are generally of three types: (i) *Boergesenia*, (ii) *Boodlea* and (iii) *Oocystis* types. In the *Boergesenia*-type, longitudinally and transversely-oriented multifibrillar layers are present along with two transitional layers between the two crossed multifibrillar layers. The microfibrils in each layer change their orientation by a unit angle of 30°. *Valonia* belong to this type. In *Boodlea*-type, microfibrils are also arranged longitudinally and transversely to the longer cell axis but thin transitional layers are oriented symmetrically with the longer cell axis. Algae belonging to this type are *Chamaedoris*, *Dictyosphaeria*, *Microdictyon* and *Chaetomorpha*. The *Oocystis*-type wall consists of only two kinds of microfibrillar layers oriented symmetrically with the longer cell axis. *Glaucocystis* belongs to this type. Microfibrils constituting thallus walls are generally generated from the apex toward the base to form helices. Completed layers become thin as the cells continue to grow but their microfibril arrangements do not change. Fibril orientation patterns in the aplanospore or aplanospore-like cells which have developed from the protoplasm of these coenocytic algae are generally the same as those of the thalli. The outer surface consists of a wall matrix and randomly-oriented microfibrils. The layers each thicken to about 0.2 μm during 3-6 hours of culture at 25°C in a temperature dependent manner. Following completion of the outer surface, crossed polylamellate walls begin to form. Fibril orientation changes in the walls are affected by both light and temperature but not antimicrotubule agents.

Key Index Words: cellulose microfibril orientation; cell wall lamellation; cell wall deposition; cell wall structure; coenocytic green algae; microfibril arrangement pattern.

Shun Mizuta, Department of Biology, Faculty of Science, Kochi University, Akebono-cho Kochi, 780 Japan.

植物の細胞壁は細胞の形態維持及び環境緩衝機能など重要な生理学的働きをもち、植物の生活環を通じてその生命維持に欠くことのできない重要な部分である。細胞壁は系統発生上コケ植物以上では比較的共通した単糖類を成分とする多糖類から構成され、その主骨格は β -1, 4 グルカンの結晶より成るセルロースマイクロフィブリルである (和田1981)。これに対し藻類の細胞壁はさまざまな糖組成をもち、細胞の形態維持に関与する多糖類も多彩である (PRESTON 1974)。

このような藻類の細胞壁のうち、セルロースミクロ

フィブリルを骨格多糖にもつ細胞壁の構造及び形成を調べることは植物の成長生理学上有意義である。すなわち、(1)藻類の細胞は高等植物に比較し巨大かつ単純な配列をしているものがあり、高等植物では到底不可能な単一細胞の特定の部位における細胞壁内面表層部のマイクロフィブリルの配向構造や、物理化学的性質等を調べることも可能でこれらの解析はセルロースを細胞壁骨格としてもつ植物の成長機構を解明するための重要な手掛かりを与える。また、多核細胞性の緑藻では (2)細胞質を培養液中に流し出すと、散在した細胞

質破片が短時間内に多数のプロトプラストに移行し、適当条件下で発生するので、細胞壁の形成及びそれに続く壁成長の過程の解析が可能かつ容易である。

ここでは主として多核細胞性の緑藻におけるマイクロフィブリルの配向構造及び形成について概説する。すべての研究論文を網羅して述べることはできないので著者らが今までに材料として用いてきたミドリゲ目、シオグサ目緑藻の一部を中心として述べることにする。

I. 細胞壁の構造 主としてマイクロフィブリルの配向

藻類におけるマイクロフィブリルの配向構造は古くから PRESTON や WILSON らによって、主として海産緑藻のバロニア属やシオグサ属について調べられてきた (PRESTON and ASTBURY 1937, PRESTON *et al.* 1948, PRESTON and KUYPER 1951, WILSON 1951, FREI and PRESTON 1961, ROBINSON and PRESTON 1971 a, PRESTON 1974)。これらの藻類の細胞壁は70~80%の多量のセルロースを含み (PRESTON 1974, MIZUTA and WAKABAYASHI 1985), セルロースが結晶化したマイクロフィブリルはほぼ一定の方向に配向する層を形成しながら細胞の長軸と短軸方向に交互に整然と並ぶ交互多層構造 (cross polylamellated structure) を構成する。このようなマイクロフィブリルの配向及び変換は細胞の極性に依存するので配向の方向性は細胞壁の形成中乱されることなく維持される。PRESTON (1974) は上記の藻類の壁骨格は互いに直交するマイクロフィブリルの層であるとしながらも、さらにこれらを横切る第三番目の層の存在を確認し、細胞の短軸方向に配向する層のマイクロフィブリルが傾斜の緩い螺旋配向を成すのに対し、第三番目の層のマイクロフィブリルは傾斜の急な螺旋配向を成すと報告している。

近年著者らは、細胞の成長機構を研究する立場から緑藻類ミドリゲ目植物及びシオグサ目植物のマイクロフィブリルの配向構造を調べているうち、これらの壁構造は PRESTON 等が報告したほど簡単なものではないことが判明してきた。また、細胞の長、短軸方向に配向するマイクロフィブリルの層 (主層) とその間に分布する数層のフィブリル配向は細胞壁の形成や強度に対し重要な意味をもつことも明らかになってきた。現在までに明らかにされたフィブリル配向のパターンは、マガタマモ *Boergesenia forbesii* 型、アオモグサ *Boodlea coacta* 型及びオオキスティス *Oocystis solitaria*

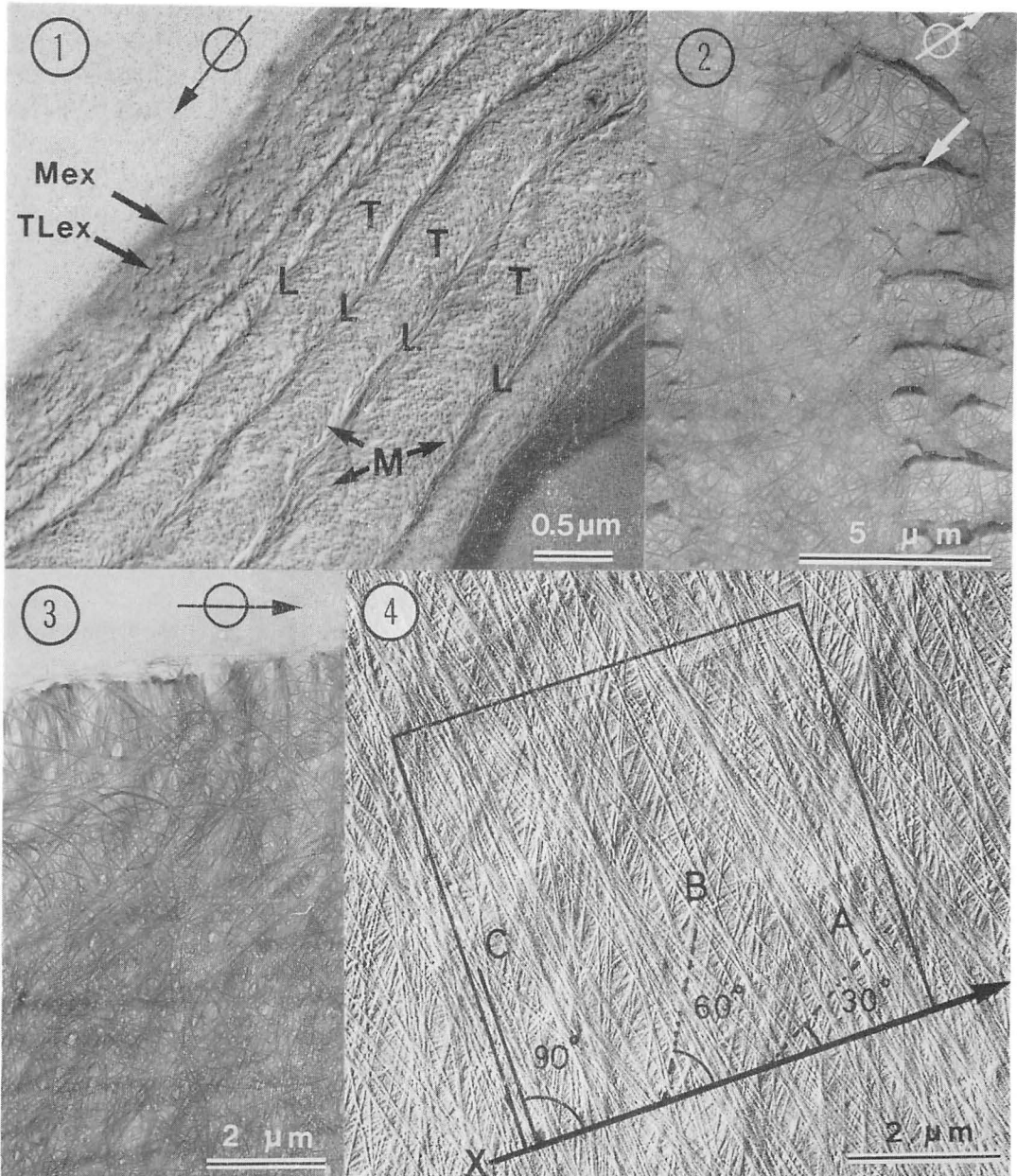
型に類別される。これらのうち前二者は、細胞の長短軸方向に配向する主層を壁骨格とする点では互いに共通しているが、配向変換様式の点では異なる。また、オオキスティス型はこれの中で最も簡単な配向パターンを示す。以下マガタマモとアオモグサ型のフィブリル配向について紹介する。

(1) マガタマモ型細胞壁

マガタマモ *Boergesenia forbesii* の葉状体側壁部の断面は Fig. 1 に示したように交叉多層構造を成す。この写真は約 5 cm に成長したマガタマモの葉状体を2% グルタルアルデヒドと1% パラホルムアルデヒドで固定し洗浄後、2% オスミウム酸で後固定、脱水、樹脂包埋、切削し、切片を支持膜を張ったグリッド上にのせエタノール KOH 飽和液で樹脂を溶かし、その上に白金を蒸着したものである。KOH-エタノール液は強アルカリ性のため包埋樹脂は勿論、細胞壁のマトリックス部分をも溶解するので、残ったセルロースマイクロフィブリル上に白金を蒸着すれば、その配向構造が立体的に観察できる。

Mex は最外部のフィブリルを含まないマトリックスのみから成る層で、TLex はその内側のフィブリルがランダムな方向に配向する層である。これらの存在は剥ぎ取った壁表面をピンセットでかき傷をつけることにより確認できる (Fig. 2, 矢印)。これらは壁の表層部を構成する。その内側には前述の交叉多層構造が出現する。マイクロフィブリルは層を成しほぼ一定の方向 (T と L 方向) に配向している。このうち T は細胞の短軸方向に配向する主層 (multifibrillar layer) で、L はそれと直交する細胞の長軸方向 (円付矢印の方向) に配向する主層である。しかし T と L におけるフィブリル配向はそれほど厳密ではなく、それぞれの間には中間的な配向を示す層 (M) が存在する。この M のために L 層と隣接する L 層との間は湾曲状に見える、KOH-エタノール無処理のまま観察した場合にはフィブリルの続いた湾曲構造として観察される。

このような構造は高等植物の二次壁でよくみられる (CHAFE and WARDROP 1972, CHAFE 1974)、古くからヘリンボン構造 (herring bone structure) 或は弧状構造 (bow-shaped structure) と呼ばれた。PARAMESWARAN (1975) はこれをフィブリルの湾曲した構造であると報じ、一方 ROLAND 等 (1975, 1977) はこれはフィブリルが連続的に配向変換をするために観察されるものと報じた。Fig. 1 を詳しく観察すると、壁の内面方向からみて L から T への形成過程は移行的なフ



Figs. 1-4. Cell walls and microfibrillar arrangements in *Boergesenia* thallus (MIZUTA and WADA 1981). 1. Longitudinal section of the thallus wall showing a crossed polylamellate structure. The section was shadowed with Pt-Pd after embedded resin had been removed. Mex, outermost matrix-rich layer; TLex, randomly-oriented fibrillar layer; T, transversely-oriented multifibrillar layer; L, longitudinally-oriented multifibrillar layer; M, transitional layer. The arrow with a circle indicating the acropetal direction along the thallus cell axis. 2. Outer surface of the wall of the thallus. Layers comprising the outer part of the wall were separated from the layer underneath and the outer surface was scratched in water with forceps. The arrow with a circle indicates the longer cell axis. 3. Thin wall lamellae separated from a piece of *Boergesenia* thallus wall after being swollen in water. The arrow with a circle indicates the longer cell axis. 4. Microfibril arrangement on the inner surface of the thallus wall. A, fibril of the layer lying at an angle of about 30° with the longer cell axis (arrow X); B, fibril of the layer on that of A at an angle of 30° ; C, fibril from the uppermost layer lying on that of B at an angle of 30° .

ィブリル（移行層）の配向を介して左回りに 90° 、さらにTから次のLへの過程でも同様に 90° 回転しているのがわかる。従って、ここではROLANDらの見解が当てはまる。孤状構造は主層（T）と主層（L）の間における移行層を構成するマイクロフィブリルの配向角度が小さいほど明瞭に観察される。

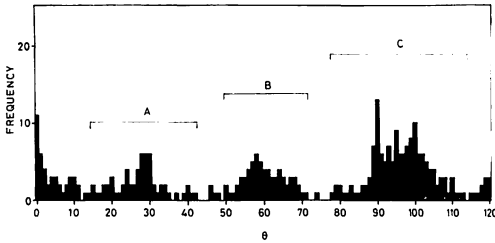


Fig. 5. Distribution of fibrillar angles with longer cell axis, as measured in the square shown in Fig. 4. A, group of fibrils belonging to the undermost layer in Fig. 4; B, group of fibrils lying on A at an angle of about 30° ; C, group of fibrils in the uppermost layer of the figure. The ordinate frequency indicates the number of fibrils counted. (MIZUTA and WADA 1981)

マガタマモの移行層は、Fig. 3 に示すように海水中で切り取った壁を薄い塩酸と蒸留水で処理し各層を機械的に剥ぎ取り直接観察しても確認されるが、より詳しく調べるためには Fig. 4 に示すような細胞壁内面表層部のレプリカを作成して観察しなければならない。マイクロフィブリルは一見ランダムな方向に配向しているように見えるが、実際は写真の最深部から表面にかけてAからC方向に 30° 単位で配向変換しながら形成されている。この変換を定量化するため Fig. 4 の正方形内におけるマイクロフィブリルの配向方向と細胞の長軸方向（矢印X）のなす角度（ θ ）を求めると Fig. 5 に示すようなパターンが得られる。グループCは細胞の短軸方向に配向し、フィブリルの密度も高いことからT層で、またフィブリル密度の低いA、Bの各層はL層からT層へ配向変換する移行層であることがわかる。これによりほぼ同一方向に配向するこれらのフィブリルグループは明らかに 30° 単位で配向変換していることが証明される。

葉状体の頂部付近の細胞壁内面表層には Fig. 6 a 及び b (b はフィブリルの配向方向の模式図) に示すようなマイクロフィブリルが扇形に広がった構造がよく観察される。この構造は扇形構造または噴水形構造 (fountain-like structure, MIZUTA *et al.* 1985 a) と呼ば

れ、その長さは一定ではなく、縦約 5mm の葉状体では $10\sim 100\ \mu\text{m}$ 、それ以上のものも存在する。扇形構造を成すフィブリルは扇形の一方の翼に偏在して配向し、らせを描きながら葉状体の基部方向へ向って伸びる。またこの構造は重なって観察されることもよくあり、Fig. 6 の場合は表層部の構造は主としてA方向に、深部の構造はB方向にフィブリルが配向し、AとB方向におけるそれぞれは約 30° の角度で交わる。これらのフィブリルを基部方向に向って追跡するとA方向に配向する多くのフィブリルの先端に出会う (Fig. 7, 矢印)。このようにマガタマモのフィブリル層は葉状体の頂部扇形構造から基部方向に向けて主としてらせを伴って形成される。しかし細胞長軸方向に配向するフィブリル層の形成時には扇形構造はみられない。

マガタマモのマイクロフィブリルの形成を伴う配向パターンを Fig. 8 に図式化する。a~g は葉状体の内面を側方から見たもので、フィブリル層は 30° 単位の左回り配向変換をしながら a, T層; b と c, 移行層; d, L層; e と f, 移行層; g, T層の順で頂部から基部方向へ向って形成される。このパターンは後述の不動孢子状体 (MIZUTA *et al.* 1985 a) の場合とほとんど同じである。

マガタマモの葉状体の壁構造は Fig. 9 のようにモデル化される。TとLはそれぞれ主層、Mは移行層である。これらは葉状体の成長と、内面への新層の形成に伴い表層部方向へ移行し、最終的には主層と移行層の区別がつかなくなり TLex となる。各層のフィブリル配向の方向は細胞の成長の影響を受けず常に一定である。

このようなマイクロフィブリルの左回り配向変換による壁形成の例は他にオオバロニア *Valonia ventricosa* で確認された (MIZUTA *et al.* 1985 b)。Fig. 10 はその葉状体側壁部の内面表層レプリカである。フィブリル配向の変換パターンはマガタマモの場合と全く同様で 30° 単位の左回りである。バロニア属の他の種については未確認ではあるが、巨大、球形細胞性の藻類では恐らく同様のパターンをもつものと考えられる。NEVILLE and LAVY (1984) はシャジクモ類やフラスモ類 *Chara vulgaris*, *C. corallina*, *C. delicatula*, *Nitella opaca* も壁断面がマガタマモに似た孤状構造を成すと報じている。このことから直ちにこれらの植物がマガタマモ型細胞壁をもつとは断定出来ないが類似した構造であろうことが想像され、今後の精査を待ちたい。

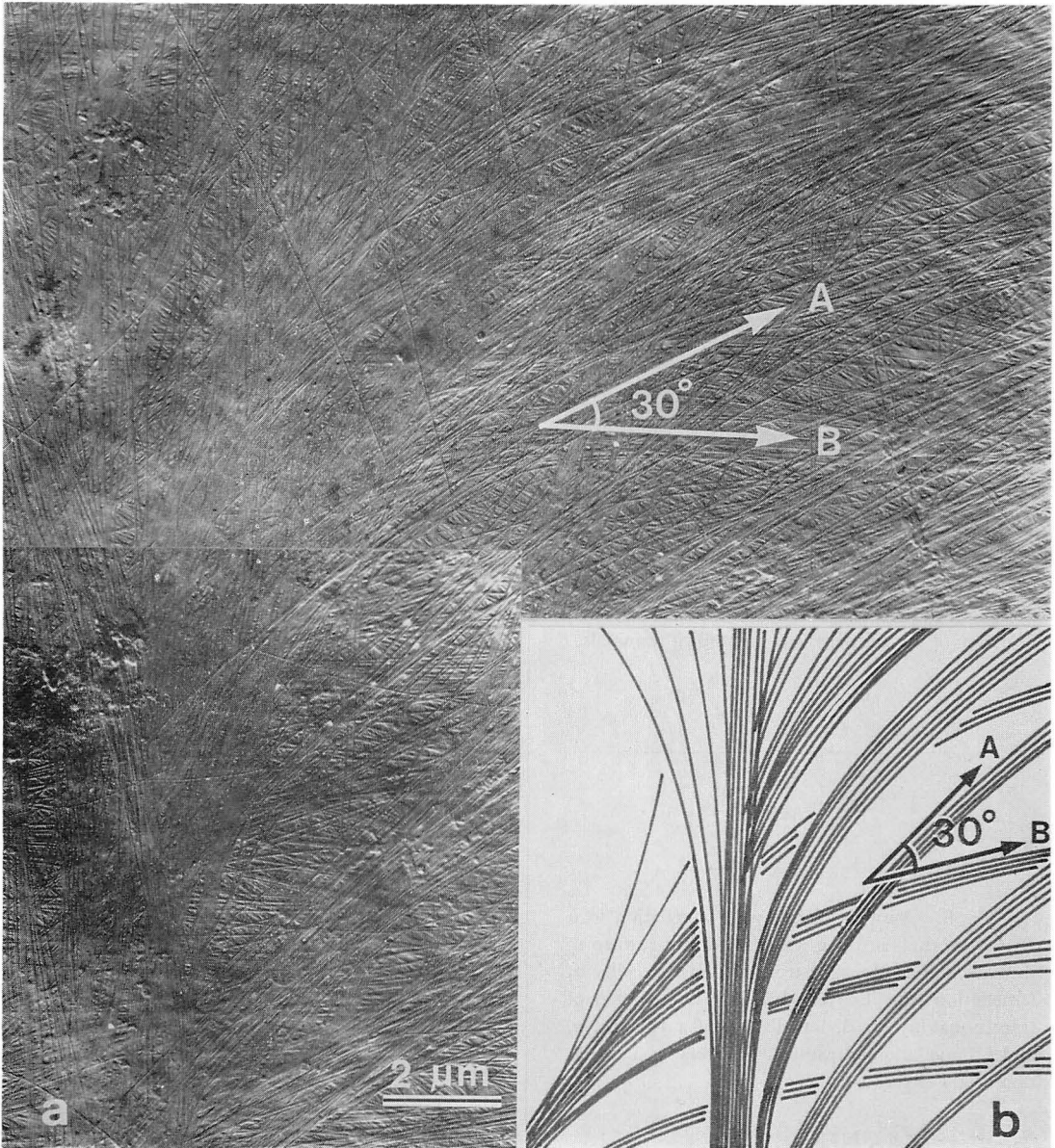


Fig. 6. Inner surface replica of the polar area of the *Boergeresenia* thallus wall showing fountain-like structures (a) and illustration of the major fibril arrangement of the fountains (b). Arrow A, major fibril arrangement direction of a fountain crossing at 30° with the underlying fibrils (arranged B direction) of another fountain.

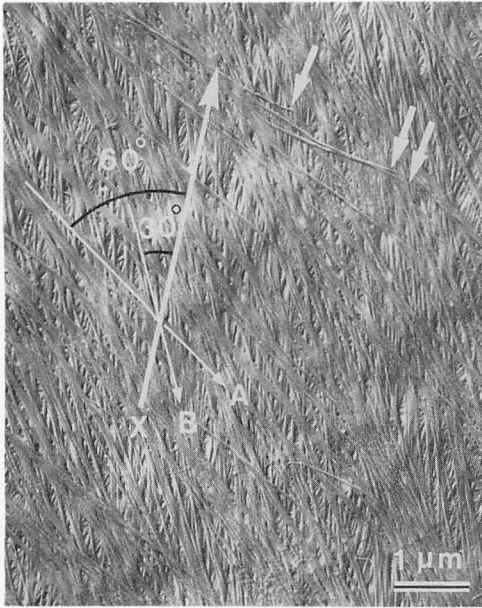


Fig. 7. Inner surface replica of the *Boergesenia* side wall. Arrows A and B indicate the major directions of fibril orientation. Arrow X, acropetal direction of the cell; arrows, microfibril terminals.

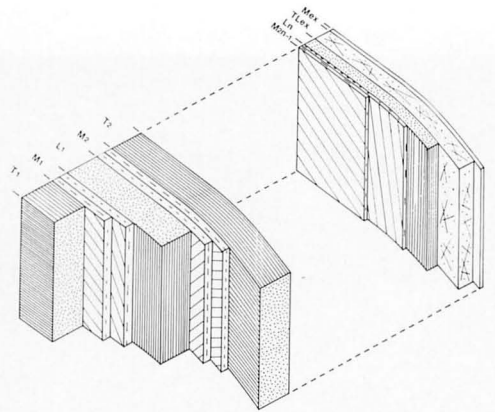


Fig. 9. Diagrammatic representation of the growing wall structure of a *Boergesenia* thallus (MIZUTA and WADA 1981). Mex, outermost matrix layer; TLex, matrix-rich layer whose microfibrils are arranged almost at random; L₁...L_n, longitudinally-oriented multifibrillar layers; T₁...T_n (T_n not shown in the figure), transversely-oriented multifibrillar layers; M₁...M_{2n-1}, transitional layers.

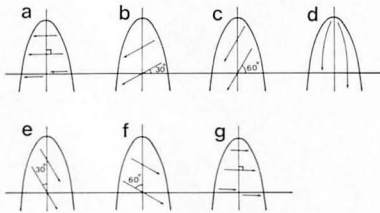


Fig. 8. A model of cell wall lamellation in a *Boergesenia* thallus. a-g show the inner surface of the side wall as observed from within the cell. a, lamellation of a T-layer; b and c, lamellation of transitional layers; d, lamellation of a L-layer; e, and f, lamellation of transitional layers; g, lamellation of a T-layer.

(2) アオモグサ型細胞壁

アオモグサ *Boodlea coacta* の葉状体側壁部の細胞壁断面を前述と同様の方法で観察すると、壁層を構成するマイクロフィブリルの配向は非常に明瞭でマガタマモとは明らかに異なるのがわかる (Fig. 11)。最外層 Mex はマガタマモと同様に観察されるが、中間層部は細胞の短軸と長軸方向 (円付矢印の方向) に配向する厚い主層 (T 及び L) により構成され、移行層部のフィブリルが少ないため孤状構造は観察されない。細胞の成長に伴い中間層部は外側へ押しやられ、薄くな

り最終的には TLex となる。TLex におけるフィブリル配向はマガタマモのようにランダムとはならず、元の T または L における方向を維持したままである。

このような細胞壁の断面構造からは、移行層の有無は確認できないが、壁の内面表層のレプリカ観察により僅かながらその存在を確認することができる (Fig. 12)。Fig. 12 の a と b は頂部より 50 μm 基部寄りの位置で、a と b はそれぞれ別の材料である。移行層は先ず長軸方向 (矢印 X) に配向する主層 (L 層) に対し 60°~70° の角度で左上から右下方向へ配向し (a の矢印 A)、ついでこの上に細胞長軸を中心に対称的方向 (矢印 B) から新層が形成される (b)。次に、B 方向に配向するフィブリルは配向変換し、ほぼ細胞の短軸方向 (矢印 C) に配向し T 層を形成する。このレプリカを細胞の基部方向に向かって追うと形成中の T 層は徐々に消え (c)、移行層も消失して L 層が最内面に見えるようになる。さらに基部に向かって進めば L 層のフィブリルもまばらとなり、その間から下の T 層が観察されるようになる (d)。このときのフィブリル配向は畳の目のように観察される。このようにアオモグサにおいても壁層は頂部より基部に向かって形成される。また、移行層は L から T への配向変換のときよく観察されるが T から L への変換に際しても密度は低いながら頂部付近において観察される (MIZUTA and MIKI 1985)。

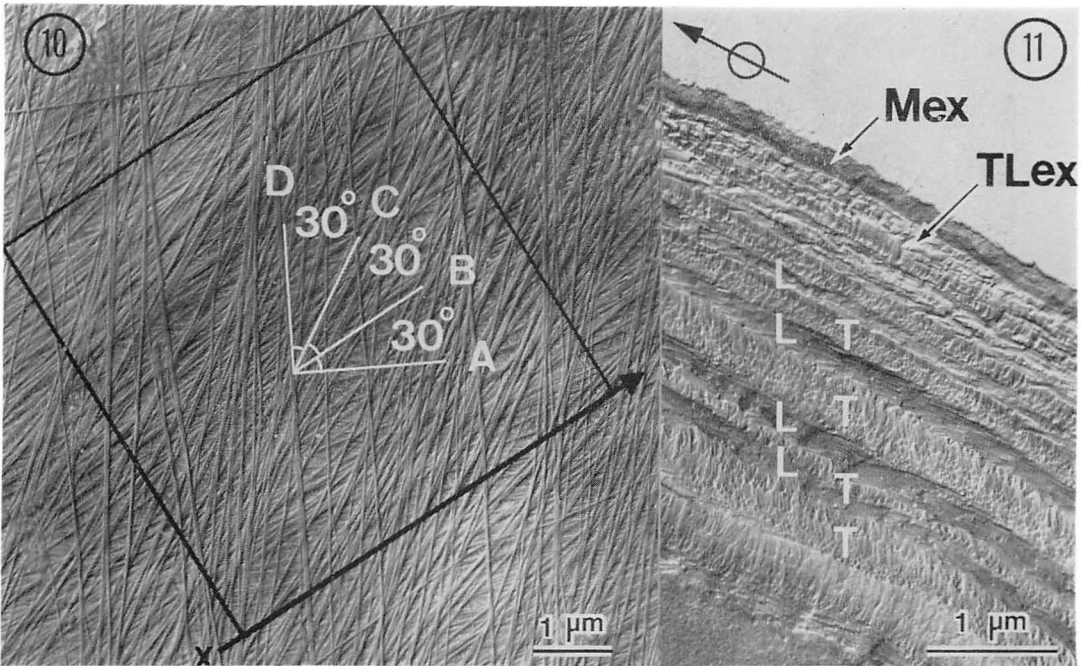


Fig. 10

Fig. 11

Fig. 10. Inner surface replica of the thallus wall of *Valonia ventricosa* (MIZUTA *et al.* 1985b). A–D show the major arrangement direction of microfibril group. Arrow X, acropetal direction of the cell.

Fig. 11. Cross sectional view of a *Boodlea* thallus wall (MIZUTA and MIKI 1985). Mex, outer surface matrix layer; TLex, laminated T- and L-layers; T, transversely-oriented multifibrillar layer; L, longitudinally-oriented multifibrillar layer. The arrow with a circle indicates direction of the longer cell axis.

アオモグサ葉状体の壁層形成パターンは Fig. 13 のようになる。a~f は壁層形成の順序を示す。a, b は移行層の形成で、a の形成終了後 b が形成される。いずれも細胞長軸を境に $60^{\circ}\sim 70^{\circ}$ の角度で対称的方向にらせんを描きながら基部方向へ向う。b における移行層形成の終了後フィブリルの配向は変換し、T層の形成に移る(c)。そして薄い移行層の形成終了後(d) L層が形成されるようになる(e)。f は a と同じでこのパターンは繰り返される。

Fig. 14 はアオモグサ葉状体における壁断面のモデルである。TとLの配向方向はマガタマモと同様であるが左回りの配向変換はせず、移行層(M)の形成パターンはマガタマモとは異なる。各層は細胞の成長に伴う壁内面への新層の沈着により薄くなり移行層は散在してほとんど観察されなくなる(Fig. 11)。しかし薄化したT及びL層のフィブリル配向方向はそのまま維持され TLex を形成する。

マイクロフィブリルの配向変換に関しては ROELOFSEN 等(1953)が変換は細胞の成長が原因で起こるとする“multinet growth hypothesis”を提唱し、その後多く

の材料で確認されてきた(ROELOFSEN 1958, 1965, WARDROP 1969, WARDROP *et al.* 1979, SCHNEPF and DEICHGRABER 1979)。これに対し ROLAND 等(1975, 1977)はマイクロフィブリルの配向変換はその形成時に起こり、細胞の成長に影響を受けるものではない、という“ordered fibril hypothesis”を提唱した。両説はいずれも高等植物についてはあるが交叉多層構造性細胞壁に適用されるとしている。今回紹介している配向変換様式の異なるマガタマモとアオモグサ両植物における壁層フィブリルの配向は、いずれも細胞の成長に対する影響を受けていないことがわかる。従ってこれらの藻類では ROLAND 等の説が受け入れられる。

アオモグサと同様またはこれに似たフィブリル配向をする藻類は現在までの調査ではタンボヤリ *Chamaedoris orientalis*, アミモヨウ *Microdictyon japonicum*, キッコウグサ *Dictyosphaeria cavernosa*, タマジユズモ *Chaetomorpha moniligera* 及びホリジュズモ *Chaetomorpha crassa* である(MIZUTA *et al.* 1985 b)。マガタマモ、パロニアを含めたこれらの種の壁構造、フィブリル配向変換の共通点はいずれも T, L層を骨格として極性依

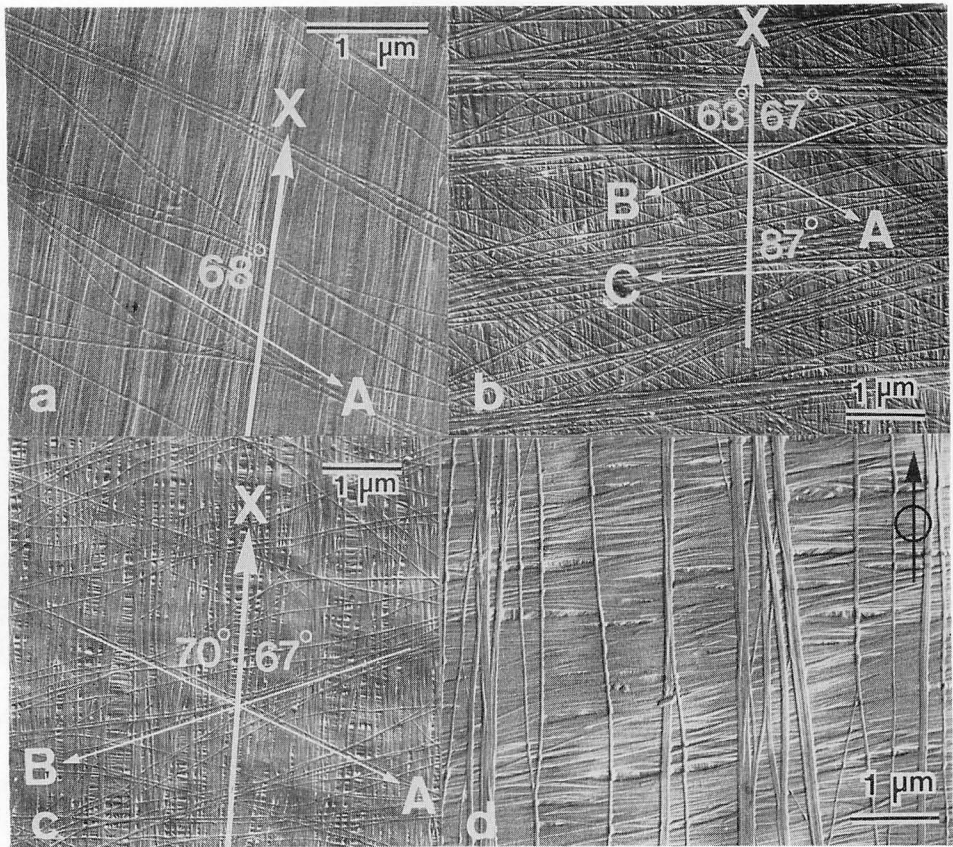


Fig. 12. Inner surface replica of the cell wall of a *Boodlea* thallus taken from various parts of the apical area (MIZUTA and MIKI 1985). **a** and **b**, portions with a $50\ \mu\text{m}$ base from the tip. Arrow X, longitudinal direction of the cell; arrow A, major direction of microfibrils of transitional layer covering the underlying L-layer; arrow B, major direction of the microfibrils of another transitional layer lying on the former symmetrical to the longer cell axis; arrow C, a microfibril assumed to be the most newly-formed and to cross at about 90° the longer cell axis. **c**, a portion of a thallus with about a $150\ \mu\text{m}$ base from the tip. Arrow X, longitudinal direction of the cell; arrows A and B, major directions of fibril orientation of transitional layers. **d**, a portion of a thallus with about a $400\ \mu\text{m}$ base from the tip. Arrow with a circle, longer axis of the cell.

存的に形成されることである。にもかかわらず配向変換様式が近縁の種であるマガタマモとアオモグサで大幅に異なるのは恐らくマガタマモやバロニアが単細胞のままあまりにも巨大化し、その内圧に対する壁強度を維持するため配向変換機構が高度に進化したものと考えられる。ちなみに、オオバロニア *Valonia ventricosa* の内圧は34気圧といわれ、細胞壁には $35\ \text{kg}/\text{cm}^2$ の圧力がその内部よりかかっている (和田1981)。

(3) 不動孢子及び類似細胞の細胞壁構造

マガタマモをはじめ多核細胞性の海産緑藻類では藻体に機械あるいは熱刺激を加えたり、その細胞質を海水に直接さらしたりすると、細胞質はくびれ多数のプ

ロトプラストとなり、分化して不動孢子状体となり、さらに発生して成体に成長する一種の分化全能性を示すことが知られている (ENOMOTO and HIROSE 1972, 小林等1976)。この不動孢子状体の細胞壁の断面構造は葉状体におけるのほとんど同じである (Fig. 15)。しかし、これらは発芽をするまでは体積変化の少ない、球形の状態で維持されるので各壁層の厚さはほぼ同じである。Fig. 15 の a はマガタマモ、b はオオバロニアである。いずれも典型的な弧状構造を示し各層のフィブリルの配向変換様式も葉状体のそれ (Fig. 4, Fig. 10) と同様で、各主層間のフィブリル配向は 30° 単位で変換する (MIZUTA *et al.* 1985 a)。これに対し

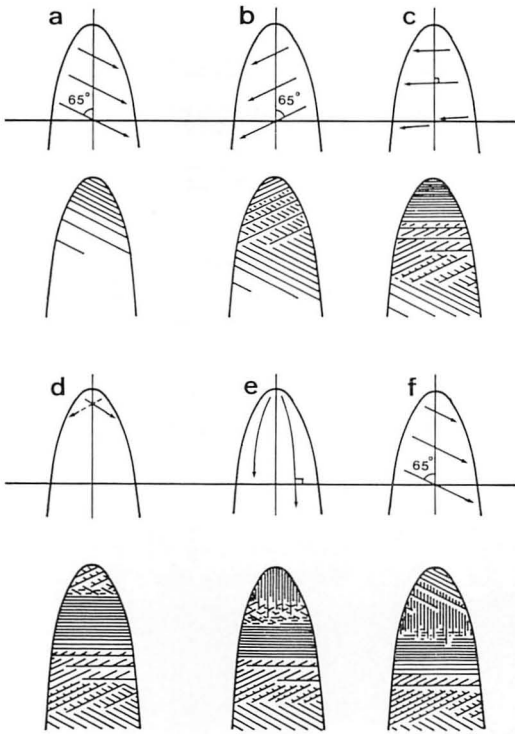


Fig. 13. A model of cell wall lamellation in a *Boodlea* thallus (MIZUTA and MIKI 1985). **a-f** show the inner surface of the side wall as observed from within the cell. Arrows indicate the major orientation of microfibrils. **a** and **b**, lamellation of transitional layers; **c**, lamellation of a T-layer; **d**, lamellation of transitional layers; **e**, lamellation of a L-layer; **f**, lamellation of a transitional layer identical to that of **a**.

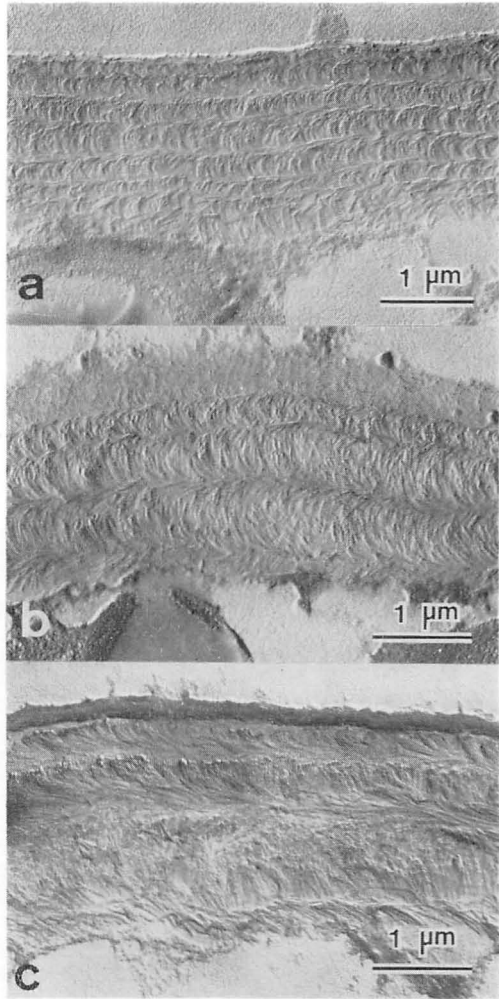


Fig. 15. Crossed polylamellate structures in aplanospore-like cells developed from the protoplasm of (a) *Boergesenia forbesii* (MIZUTA and WADA 1982), (b) *Valonia ventricosa* and (c) *Boodlea coacta* (MIZUTA 1985a).

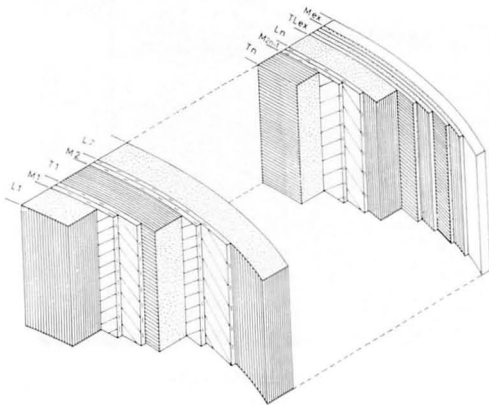


Fig. 14

Fig. 14. A model of a growing cell wall of a *Boodlea* thallus (MIZUTA and MIKI 1985). $L_1 \dots L_n$, longitudinally-oriented multifibrillar layers; $T_1 \dots T_n$, transversely-oriented multifibrillar layers; $M_1 \dots M_{n-1}$, transitional layers; Mex, outer surface non-fibrillar matrix layer; TLex, laminated T and L layers.

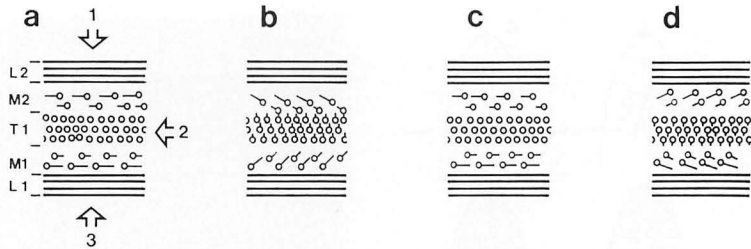


Fig. 16. Appearance of herring bone structure in the cross section of a crossed polylamellate structure. Arrows 1-3 in **a** show the sectioning direction of the wall. Circles within the structures indicate the cross section of each fibril. L_1 and L_2 , longitudinally-oriented multifibrillar layers; T_1 , transversely-oriented multifibrillar layer crossed with L_1 and L_2 at about 90° ; M_1 and M_2 , transitional layers. **b**, a herring bone structure appear in the case of sectioning direction indicated by arrow 1. **c**, a cross section appears when the sectioning direction is that shown by arrow 2. **d**, a herring bone structure when the sectioning direction is that indicated by arrow 3.

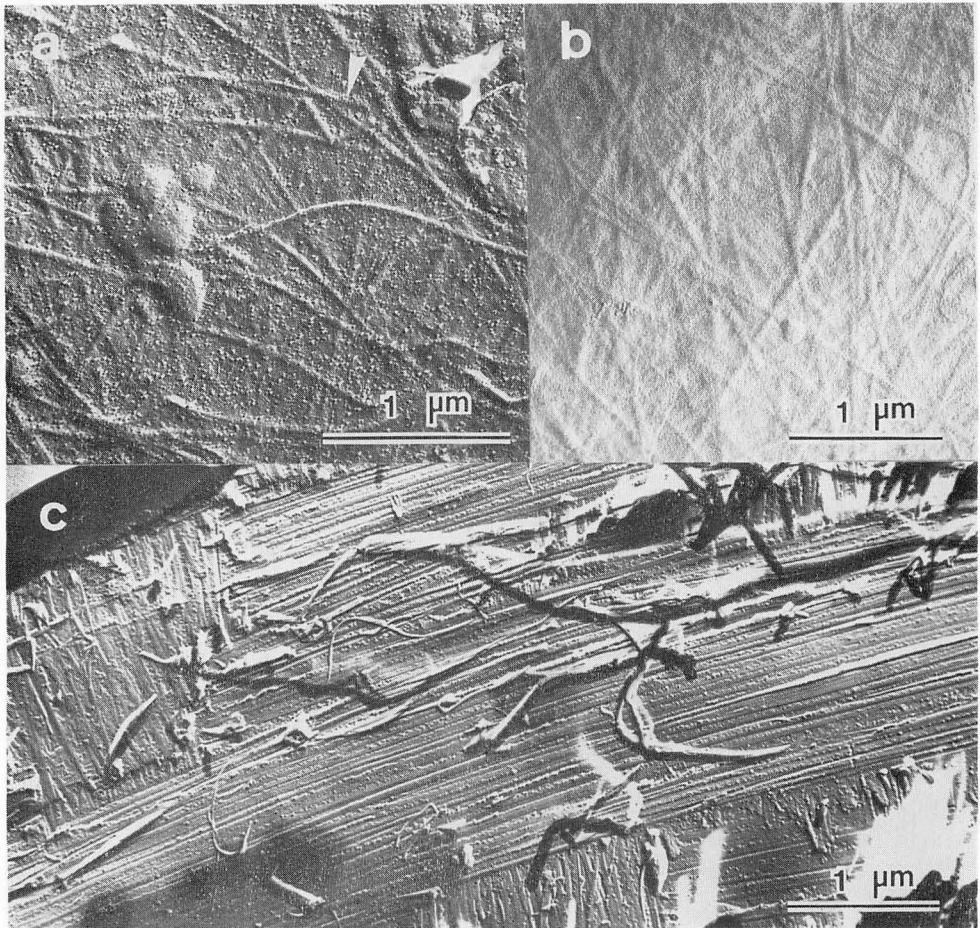


Fig. 17. Freeze-replica of plasma membrane (**a**) and cell wall (**b** and **c**) in the aplanospore-like cells of *Chaetomorpha*. Protoplasts from *Chaetomorpha moniligera* were fractured after 3 hr (**a**), 8 hr (**b**) and 10 hr (**c**) of culture, respectively.

オモグサの壁断面 (Fig. 15 c) は弧状構造を成さず、フィブリルの配向変換様式もまた葉状体のそれ (Fig. 13) に似ている (OKUDA and MIZUTA 1985)。

アオモグサの不動孢子状体と部分的に類似した配向を示すものに、微小な楕円細胞より成るオオキスティス *Oocystis* やグラウコキスティス *Glaucocystis* がある。これらの藻類では細胞の経線方向 (長軸方向) に配向する主層をもたないが、細胞長軸を境に左右から対称的にらせんを描きながら配向する2種類の主層をもつ (ROBINSON and PRESTON 1971 b, 1972)。このような部分的に類似したフィブリルの配向パターンの存在は他の藻類においても当然想像されるが、その詳細は充分には調べられていない。

不動孢子状体の壁層における規則的なフィブリル配向の変換は、その形成以前にすでに極性が分化していることを示す。すなわち、葉状体におけるフィブリルの配向は極性依存的な形成及び変換を示すからである (Fig. 8, 13)。不動孢子状体の極性の誘導の実験はマガタマモにおいて詳しくなされている。ISHIZAWA 等 (1979) によると細胞極性は青色光により誘導され、その照射方向に葉状体を、反対の影側に仮根を分化する。しかし、プロトプラストから分化したマガタマモの不動孢子状体では T 及び L 層はプロトプラスト形成後 25°C 6 時間後でもすでに確認される (MIZUTA *et al.* 1985 a) し、しかもこのような細胞は暗黒下でも T, L の配向変換を示しそれぞれランダムな方向に発芽する (ISHIZAWA *et al.* 1979; MIZUTA and WADA 1982)。また、青色光による極性の誘導は T, L 層の形成後でも可能である (ISHIZAWA *et al.* 1979)。従ってマガタマモの本来の極性は比較的早い時期 (25°C 6 時間以内) の、交叉多層構造性細胞壁を形成する前に発現し、このような細胞に光が当ればその方向性に対し極性軸が再配向するものと考えられる。極性軸の再配向する例はヒバマタ *Fucus evanescens* の受精卵等でも確認されている (QUATRANO 1978)。

Fig. 1 及び Fig. 15 の a, b に示した壁断面の弧状構造の形状は弧の方向性において微妙に異なる。これは切削時の一種のアーティファクトと考えられ次のように解釈される。Fig. 16 に示すように細胞壁断面を a の 1, 2 及び 3 の方向から切削した場合、その刃圧によりフィブリル配向に微妙な変化をきたし、それぞれ b, c 及び d のような形態を示すと考えられる。従って同一試料を切削した場合でもその方向により逆の形態を成する弧状構造 (b 及び d) が観察されることとなる。このような変形はこれらの藻類の細胞壁が非常

に堅牢であるために起こるものと考えられる。

II. 細胞壁の形成

前述のごとく多核海産緑藻から形成させたプロトプラストは非常に短時間のうちに細胞壁を形成し不動孢子状体となるので、プロトプラストからの細胞壁の形成過程の研究には好都合の材料である。この章ではオオバロニア *Valonia ventricosa*, マガタマモ *Boergesenia forbesii*, アオモグサ *Boodlea coacta* 及びタマジユズモ *Chaetomorpha moniliger* 等のプロトプラストにおける細胞壁の初期形成過程と、交叉多層構造の形成及びマイクロフィブリルの配向変換に対する諸要因の影響について述べる。

(1) 細胞壁形成の初期過程

すでに Fig. 15 で示したとおり、不動孢子状体の細胞壁は構造の異なった二つの部分、すなわち表層部 (主としてマトリックスから成る層、ランダムな方向に配向するマイクロフィブリルを含む) と交叉多層構造部とより成る。プロトプラストを 25°C で PROVASOLI's ES-enrichment を含んだ人工海水 (MIZUTA and WADA 1981) で培養すると表層部はマガタマモやオオバロニアでは 6 時間以内に、アオモグサやタマジユズモで 3 時間迄に形成される (MIZUTA 1985 a, b, MIZUTA *et al.* 1985 a, 1986)。表層部を構成するマイクロフィブリルは最初湾曲を伴って配向する (Fig. 17 a) が、時間とともにほぼ直線状に配向するようになる (Fig. 17 b)。この間の細胞直径を測定するとプロトプラスト形成後暫くして増加を開始し、その後ほぼ一定となる。この増加は約 6 ~ 10 時間続きその程度はアオモグサが 20 ~ 30 % で最も大きく、マガタマモが約 10 %, 他はこれと同程度かそれ以下である。この直径の増加の原因は不明であるが、丁度この時期は液胞の発達と重なるのでこれと関係するのかも知れない。いずれにしても湾曲フィブリルが直線状に伸びるのは細胞の直径の増加に起因するものと考えられる。また、一定時調後に直径の増加が停止するのはその時期に形成が活発になる交叉多層構造 (Fig. 17 c) による強い壁圧によるものと考えられる。

表層部の形成は温度に依存する。マガタマモの場合 0.2 μm 肥厚するのに 20°C では 12 時間、25°C で 6 時間、30°C では 3 時間である (MIZUTA *et al.* 1985 a)。表層部が 0.2 μm 程度の厚さに達すると交叉多層構造の形成が開始されるので、細胞壁形成の初期過程における温度条件はその後の形成及び発生に対し重要な要因となる。

細胞壁形成の初期には細胞質に多くの小胞が観察され、細胞壁マトリックスの先駆体を原形質膜内外へその膜融合及び外包運動により放出する (MIZUTA *et al.* 1985 a)。この現象はクロレラや高等植物のマトリックス物質の運搬及び沈着 (MÜHLETHALER 1967) と同様で、小胞はゴルジ体由来のものと考えられる。小胞は交叉多層構造の形成時にも観察されるが、表層部の形成時ほど多くは見られない (MIZUTA *et al.* 1985 a)。

(2) 交叉多層構造の形成とマイクロフィブリルの配向交換速度

交叉多層構造の形成開始には一定の条件が必要である。マガタマモの場合は前述のごとく表層部が $0.2 \mu\text{m}$ 程度肥厚することを要し、その形成速度は温度と光の両者に影響を受ける (MIZUTA *et al.* 1985 a)。Fig. 15 及び 17 c に示すような規則的なフィブリル配向の変換が何により調節されているのかは興味をもたれる問題である。これは光の明暗リズムには全く関係せず、むしろ光照射した時間 (光強度一定) に比例して変換速度は増す (MIZUTA and WADA 1982)。Fig. 18 はマガタマモのフィブリル配向交換速度と壁肥厚に対する光の影響を示す。25°C で培養した場合、配向交換速度は暗黒に比べ 2 倍以上となる。この傾向はバロニアやアオモグサでもほぼ同様である (水田, 未発表)。ま

た、配向交換速度に対する光質は青と赤が有効でこの効果は DCMU (3-(3, 4-dichlorophenyl)-1, 1-dimethyl urea) により阻害される (MIZUTA and WADA 1982)。これらの結果は配向変換が光合成の影響を受けることを想像させるが、配向変換の直接の制御が何によるのかは不明である。

古くからマイクロフィブリルと細胞壁微小管との配向的関連性が指摘され (LEDBETTER and PORTER 1963, HEPLER and NEWCOMB 1964, HEPLER and PALEVITZ 1974, SEAGULL and HEATH 1980)、この関連性が微小管合成阻害剤 (コルヒチン、ビンブラスチン等) によりみられなくなる (PICKETT-HEAPS 1967, PALEVITZ and HEPLER 1976, HOGETSU and SHIBAOKA 1978) ことからマイクロフィブリルの配向は細胞壁微小管の配向により調節されるのではないかと考えられてきた。しかし、マガタマモの規則的配向変換に対しては、コルヒチン、グリゼオフルビン、サイトカラシン B 等はほとんど影響を与えない (Table 1)。特にコルヒチンは 10^{-2}M という高濃度でプロトプラストを 3 日培養しても壁は通常通り形成され、フィブリルの配向交換速度は何ら影響を受けない (MIZUTA and WADA 1982)。この結果はマガタマモ細胞壁のマイクロフィブリルの配向が細胞壁微小管の配向と無関係であることを暗示している。これはまたアオモグサ (OKUDA and MIZUTA 1985) やバロニア (ITOH and BROWN 1984) の不動孢子状体の細胞壁微小管の配向方向がマイクロフィブリル

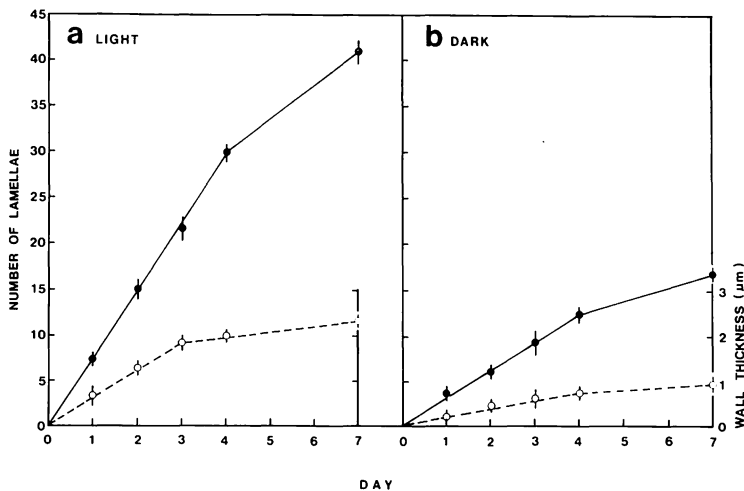


Fig. 18. Polylamellae formation and thickening of the walls of new *Boergeresenia* cells (MIZUTA and WADA 1982). Cells were cultured for 1 to 7 days at 25°C in either continuous light (a) or dark (b). The number of lamellae (—●—) was counted and total thickness of the wall (—○—) was measured with five cells in each experiment. Vertical bars indicate standard errors.

Table 1. Effects of cytochalasin B, colchicine and griseofulvin on the shift of microfibril orientation and wall thickening in *Boergesenia* aplanospore-like cells (MIZUTA and WADA 1982).

Reagent	Conc.	Shift of orientation (day ⁻¹)	Thickening (μm·day ⁻¹)
None		7.0±1.3*	0.58±0.15*
DMSO	1.5%	4.3±0.9	0.21±0.05
DMSO	0.5%	6.0±0.6	0.48±0.07
Cytochalasin B	50 μg/ml in 1.5% DMSO	4.2±1.0	0.25±0.07
Colchicine	10 ⁻² M	6.7±0.8	0.47±0.08
Colchicine	10 ⁻³ M	6.5±0.8	0.55±0.10
Griseofulvin	10 ⁻⁴ M in 0.5% DMSO	4.0±0.5	0.30±0.04

Cells were cultured for 3 days in ESP medium containing each inhibitor at 25°C under continuous light illumination (2W/m²).

* Standard error.

の配向と一致しないという事実によって支持される。

このように巨大で比較的単純な細胞系から成る藻類の細胞壁のフィブリル配向の研究は単に壁構造の解明にとどまらずマイクロフィブリルの配向変換，細胞壁の成長機構の解明，細胞の成長及びかたち作りの機構，さらには植物体全体の形態形成機構の解明等につながる重要な手がかりを与えると考えられ，今後一層の進展が期待される。

終りに本稿の作成に当たり適切なる御助言を賜った神戸大学臨海実験所の榎本幸人氏に，また惜しまず助力してくれた当研究室の奥田一雄氏に感謝申し上げます。

引用文献

- CHAFE, S. C. 1974. Cell wall structure in the xylem parenchyma of *Cryptomeria*. *Protoplasma* **81**: 63–76.
- CHAFE, S. C. and WARDROP, A. B. 1972. Fine structure observations on the epidermis I. The epidermal cell wall. *Planta* **107**: 269–278.
- ENOMOTO, S. and HIROSE, H. 1972. Culture studies on artificially induced aplanospores and their development in the marine alga *Boergesenia forbesii* (Harvey) Feldmann (Chlorophyceae, Siphonocladales). *Phycologia* **11**: 119–122.
- FREI, E. and PRESTON, R. D. 1961. Cell wall organization and wall growth in the filamentous green algae *Cladophora* and *Chaetomorpha* I. The basic structure and its formation. *Proc. Roy. Soc. B.* **150**: 70–94.
- HEPLER, P. K. and NEWCOMB, E. H. 1964. Microtubules and fibrils in the cytoplasm of *Coleus* cells undergoing secondary wall deposition. *J. Cell Biol.* **20**: 529–533.
- HEPLER, P. K. and PALEVITZ, B. A. 1974. Microtubules and Microfilaments. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 309–362.
- HOGETSU, T. and SHIBAOKA, H. 1978. Effects of colchicine on cell shape and on microfibril arrangement in the cell walls of *Closterium acerosum*. *Planta* **140**: 15–18.
- ISHIZAWA, K., ENOMOTO, S. and WADA, S. 1979. Germination and photo-induction of polarity in the spherical cells regenerated from protoplasm fragments of *Boergesenia forbesii*. *Bot. Mag. Tokyo* **92**: 173–186.
- ITOH, T. and BROWN, R. M. 1984. The assembly of cellulose microfibrils in *Valonia macrophysa* Kütz. *Planta* **160**: 372–381.
- 小林 興，遅川政稔，堀 輝三，箱脇正和，榎本幸人
和田俊司. 1976. 多核緑藻類の生物学. *細胞* **8**: 360–377.
- LEDBETTER, M. C. and PORTER, K. R. 1963. A 'microtubule' in plant cell fine structure. *J. Cell Biol.* **19**: 239–250.
- MIZUTA, S. 1985a. Assembly of cellulose synthesizing complexes on the plasma membrane of *Boodlea coacta*. *Plant Cell Physiol.* **26**: 1443–1453.
- MIZUTA, S. 1985b. Evidence for the regulation of the shift in cellulose microfibril orientation in freeze-fractured plasma membrane of *Boergesenia forbesii*. *Plant Cell Physiol.* **26**: 53–62.
- MIZUTA, S. and MIKI, F. 1985. Polar-dependent

- polylamellation and microfibril shift in the growing cell wall of *Boodlea coacta*. Mem. Fac. Sci. Kochi Univ. (Ser. D) **6**: 33-44.
- MIZUTA, S. and WAKABAYASHI, K. 1985. Gas chromatographic analysis of cell wall polysaccharides in certain siphonocladalean and cladophoralean algae. Rep. Usa Mar. Biol. Inst. Kochi Univ. **7**: 9-14.
- MIZUTA, S. and WADA, S. 1981. Microfibrillar structure of growing cell wall in a coenocytic green alga, *Boergesenia forbesii*. Bot. Mag. Tokyo **94**: 343-353.
- MIZUTA, S. and WADA, S. 1982. Effects of light and inhibitors on polylamellation and shift of microfibril orientation in *Boergesenia* cell wall. Plant Cell Physiol. **23**: 257-264.
- MIZUTA, S., SAWADA, K. and OKUDA, K. 1985a. Cell wall regeneration of new spherical cells developed from the protoplasm of a coenocytic green alga, *Boergesenia forbesii*. Jap. J. Phycol. **33**: 32-44.
- MIZUTA, S., KONDO, R. and OKUDA, K. 1985b. Microfibril arrangement patterns in selected siphonocladalean and cladophoralean algae. Rep. Usa Mar. Biol. Inst. **7**: 15-20.
- MIZUTA, S., HAGINO, Y. and OKUDA, K. 1986. A study on the growth and development of protoplasts from a coenocytic green alga, *Chaetomorpha moniligera*. Mem. Fac. Sci. Kochi Univ. (Ser. D) **7**: 51-62.
- MÜHLETHALER, K. 1967. Ultrastructure and formation of plant cell walls. Ann. Rev. Plant Physiol. **18**: 1-24.
- NEVILLE, A. C. and LEVY, S. 1984. Helicoidal orientation of cellulose microfibrils in *Nitella opaca* internode cells: ultrastructure and computed theoretical effects of strain reorientation during cell growth. Planta **162**: 370-384.
- OKUDA, K. and MIZUTA, S. 1985. Analysis of cellulose microfibril arrangement patterns in the cell wall of new spherical cells regenerated from *Boodlea coacta* (Chlorophyceae). Jap. J. Phycol. **33**: 301-311.
- PALEVITZ, B. A. and HEPLER, P. K. 1976. Cellulose microfibril orientation and cell shaping in developing guard cells of *Allium*: The role of microtubules and ion accumulation. Planta **132**: 71-93.
- PARAMESWARAN, N. 1975. Zur Wandstruktur von Skleriden in einigen Baumrinden. Protoplasma **85**: 305-314.
- PICKETT-HEAPS, J. D. 1967. Ultrastructure and differentiation in *Chara* sp. I. Vegetative cells. Aust. J. Biol. Sci. **20**: 539-551.
- PRESTON, R. D. 1974. The physical biology of plant cell walls. Chapman and Hall, London.
- PRESTON, R. D. and ASTBURY, T. W. 1937. The structure of the wall of the green alga *Valonia ventricosa*. Proc. Roy. Soc. B. **122**: 76-97.
- PRESTON, R. D. and KUYPER, B. 1951. Electron microscopic investigations of the wall of green alga I. A preliminary account of wall lamellation and deposition in *Valonia ventricosa*. J. Exp. Bot. **2**: 247-263.
- PRESTON, R. D., NICOLAI, E., REED, R. and MILLARD, A. 1948. An electron microscope study of cellulose in the wall of *Valonia ventricosa*. Nature **162**: 665-667.
- QUATRANO, R. S. 1978. Development of cell polarity. Ann. Rev. Plant Physiol. **29**: 487-510.
- ROBINSON, D. G. and PRESTON, R. D. 1971a. Fine structure of swarmers of *Cladophora* and *Chaetomorpha* I. The plasmalemma and Golgi apparatus in naked swarmers. J. Cell Sci. **9**: 581-601.
- ROBINSON, D. G. and PRESTON, R. D. 1971b. Studies on the fine structure of *Glaucocystis nostochinearum* Itzigs. J. Exp. Bot. **22**: 635-643.
- ROBINSON, D. G. and PRESTON, R. D. 1972. Plasmalemma structure in relation to microfibril biosynthesis in *Oocystis*. Planta **104**: 234-246.
- ROELOFSEN, P. A. 1958. Cell wall structure as related to surface growth. Some supplementary remarks on multinet growth. Acta Bot. Neer. **7**: 77-89.
- ROELOFSEN, P. A. 1965. Ultrastructure of the wall in growing cells and its relation to the direction of the growth, p69-149. In R.D. PRESTON (ed), Advances in botanical research 2. Academic Press, London.
- ROELOFSEN, P. A. and HOUWINK, A. L. 1953. Architecture and growth of the primary cell wall in some plant hairs and in the *Phycomyces sporangiophore*. Acta Bot. Neer. **2**: 218-225.
- ROLAND, J. C., VIAN, B. and REIS, D. 1975. Observations with cytochemistry and ultracytometry on the fine structure of the expanding walls in actively elongating plant cells. J. Cell Sci. **19**: 239-259.
- ROLAND, J. C., VIAN, B. and REIS, D. 1977. Further observations on cell wall morphogenesis and polysaccharide arrangement during plant growth. Protoplasma **91**: 125-141.
- SEAGULL, R. W. and HEATH, I. B. 1980. The organization of cortical microtubule arrays in the radish root hair. Protoplasma **103**: 205-229.
- SCHNEPF, E. and DEICHGRÄBER, G. 1978. Elonga-

- tion growth of setae of *Pellia* (Bryophyta): Fine structure analysis. *Z. Pflanzenphysiol.* **94**: 283-297.
- 和田俊司. 1981. 細胞壁. p. 32-49. 古谷雅樹編, 植物生理学7「成長」. 朝倉書店, 東京.
- WARDROP, A. B. 1969. The structure of the cell wall in lignified collenchyma of *Eryngium* sp. (Umbelliferae). *Aust. J. Bot.* **17**: 229-240.
- WARDROP, A. B., MOLTERS-ARTS, M. and SASSEN, M. M. A. 1979. Changes in microfibril orientation in the walls of elongating plant cells. *Acta Bot. Neer.* **28**: 313-333.
- WILSON, K. 1951. Observation on the structure of cell walls of *Valonia ventricosa* and *Dictyosphaeria favulosa*. *Ann. Bot.* **15**: 279-288.

 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
- 弘学出版株式会社 森田悦郎 214 川崎市多摩区生田8580-61
- 田崎真珠株式会社田崎海洋生物研究所 779-23 徳島県海部郡日和佐町外ノ牟井
- 神協産業株式会社 742-15 山口県熊毛郡田布施町波野962-1
- 理研食品株式会社 985 宮城県多賀城市宮内2丁目2番60号
-