# 海産緑藻オオバロニア Ventricaria ventricosa の不動胞子の発生

#### 熊田美里・大葉英雄・田中次郎

東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科 (〒108-8477 東京都港区港南4-5-7)

Misato Kumada, Hideo Ohba and Jiro Tanaka: Germination and development of aplanospores in the marine green alga *Ventricaria* ventricosa (J. Agardh) Olsen et West (Chlorophyta, Siphonocladales). Jpn. J. Phycol. (Sôrui) 57: 81–85, July 10, 2009

The development of aplanospores in *Ventricaria ventricosa* was observed in a laboratory. When the thallus is mechanically stimulated, the protoplasm is divided into numerous aplanospores. The aplanospore increases its volume and produces some lenticular cells at the opposite side toward light. The lenticular cell elongates and becomes a rhizoid with haptera at the tip. The original cell grows up to a spherical body. The protoplasm around the tip of rhizoid increases and divides into some segments. These segments increase their volumes and grow to spherical bodies (juvenile vesicles) in the rhizoid. Reproduction and cell division in *V. ventricosa* were discussed.

Key Index Words: aplanospore, development, green alga, lenticular cell, Ventricaria ventricosa

Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology (4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan)

#### 緒言

海産緑藻オオバロニア Ventricaria ventricosa (J. Agardh) Olsen et West はミドリゲ目バロニア科オオバロニア属に属し (吉田ら 2005), 熱帯・亜熱帯海域に広く分布する。藻体は、ほぼ球形の胞嚢と短い糸状仮根からなり、一細胞内に多数の核をもつ巨大細胞性多核嚢状体である。

本種は Agardh (1887) により, バロニア属の Valonia ventricosa J. Agardh として記載され, その後 Olsen & West (1988) によって, オオバロニア属 Ventricaria の新設とともに Ventricaria ventricosa (J. Agardh) Olsen et West に組み換えられた。Olsen & West (1988) は, バロニア属とオオバロニア属の識別形質の一つにレンズ状細胞 (lenticular cell) の有無を挙げ, オオバロニア属はレンズ状細胞を持たないと述べている。しかし, オオバロニアはレンズ状細胞をもつとする報告もある (Børgesen 1913, 神田 1940)。

本種の繁殖法には、4 鞭毛遊走細胞(榎本ら 1994),不動胞子(Murray 1893,Børgesen 1913,神田 1940,榎本ら 1994)が知られている。また,Olsen & West(1988)は、培養体と野生体で,肥大した仮根を観察し,肥大部分が小胞嚢に変化することによる栄養繁殖の可能性を示唆した。本種の不動胞子は小球体ともよばれる特殊な胞子で,藻体が機械的刺激を受けた際に原形質が凝集して多数の小さな断片に分かれ、それらが球形化して細胞壁を形成したものである。このような不動胞子の形成は、ミドリゲ目では本種とマガタマモ Boergesenia forbesii(Harvey)Feldmann(ミドリゲ目マガタマモ科マガタマモ属)でのみ観察されている。マガタマモでは、不動胞子が発芽、成長して母藻体と同様な個体となることが報告されている(Enomoto & Hirose 1972)。しかし、オオバロニアの不動胞子の発生についての報告はほと

んどない。そこで、本研究は、オオバロニアのレンズ状細胞 形成の有無を確認することと、不動胞子の発生を観察するこ とを目的として行った。

## 材料と方法

野生体の形態観察には、2006年5月に沖縄県久米島で、 2008年3月に東京都小笠原で採集したオオバロニアを用い た。また、培養には2006年5月に沖縄県久米島で採集した オオバロニアと、Olsen & West (1988) の研究で用いられ たオアフ島産オオバロニアの培養保存株 (UTEX LB 2260) を用いた。藻体表面を脱脂綿で拭いて、付着物を取り除いた 後、パスツールピペットで藻体を刺し、不動胞子形成を誘導 した。不動胞子形成後, 母藻体の細胞壁を解剖ハサミで切り, 不動胞子を滅菌海水を満たしたシャーレに取り出した。直径 約120 µm の不動胞子を倒立顕微鏡下でパスツールピペッ トを用いて1つずつ吸い上げ、別のシャーレに移す操作を3 回繰り返すことにより洗浄した。洗浄した不動胞子を 12 穴 マルチウェル (6.0 mL/ 穴, 3.38 cm²/ 穴) に 1 胞子ずつ移 して培養し、発生を観察した。培養条件は、温度25℃、光 量 15  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> , 光周期 14L / 10D とした。培養液には PES 培地 (McLachlan 1973) を用い、珪藻の繁殖を防ぐた めに二酸化ゲルマニウム (GeO<sub>2</sub>) を 0.02%添加した。培養 液の交換は1週間に1度行った。久米島産ならびにオアフ島 産培養株(UTEX LB 2260) を各 12 個ずつ, 合計 24 個の 不動胞子の発生を3ヶ月間にわたり観察した。

#### 結果

採集したオオバロニアの藻体は、単一無分枝で直径 1 ~ 5 cm の胞嚢 (球形の葉状部) からなり、下部に無分枝、長さ

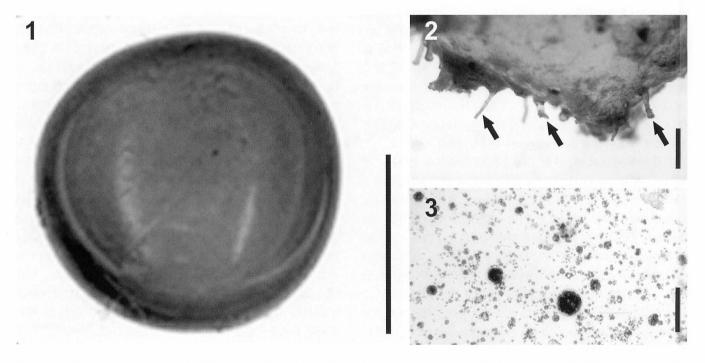
 $200 \sim 400~\mu m$ , 太さ約  $40 \sim 80~\mu m$  の短い糸状仮根が密生していた (Figs. 1, 2)。胞嚢と仮根基部との間にのみ隔壁が存在した。

久米島産とオアフ島産培養保存株(UTEX LB 2260)のオオバロニアの不動胞子 24 個の発生過程は、枯死した 1 個体を除き、すべて同様であった。

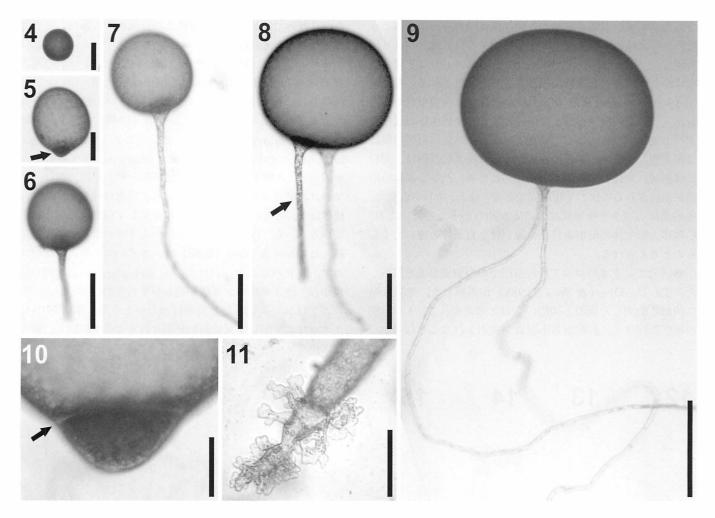
胞嚢に機械的刺激を与えると, 原形質が徐々に凝集し, 約 3時間後に球状の不動胞子が形成された。不動胞子の大きさ は変化に富み, 直径約  $30 \sim 150 \mu m$  であった (Fig. 3)。培 養開始直後, 直径約 120 μm であった不動胞子 (Fig. 4) は 球形のまま徐々に体積を増し、培養7日目には直径約190 μm になった。8 日目には直径約 200 μm となり、1 個のレ ンズ状細胞が反光源側に形成された (Fig. 5)。レンズ状細 胞は直径約75 µm, 高さ約50 µmの凸レンズ状で, 内部に は葉緑体が密集し、濃緑色を呈していた。レンズ状細胞と原 細胞との間には、隔壁 (septum) が形成されていた (Fig. 10)。翌日(9日目)、レンズ状細胞は伸長して1本の糸状仮 根となった (Fig. 6)。伸長した仮根の先端部では葉緑体が多 く見られたが、それ以外の部分では疎らでほぼ透明であった (Fig. 7)。原細胞は肥大成長を続けながら、16日目には新た な仮根を形成し (Fig. 8), 26 日目には直径約1 mm になっ た (Fig. 9)。36 日目, 肥大成長した原細胞は直径約2 mm になり、仮根先端には手のひら状の付着器 (hapteron ハプ テラ) を形成した (Fig. 11)。培養体のハプテラの多くは培 養容器底面から剥離し、剥離した仮根は再度伸長し、長さ3 mm 以上になった。培養体の仮根は稀に分枝したが、分岐点 で隔壁の形成は起こらなかった。

培養 44 日目,仮根の先端部で原形質が増加して太くなっているのが観察された(Fig. 12)。太くなった部分は,ところどころにくびれを生じながら,球形に肥大成長しはじめた(Fig. 13)。肥大成長にともない,くびれは深くなり,やがてくびれた部分で原形質が分離した(Fig. 14)。原形質が増加して太くなった部分は,ところどころで分離,球形化して小胞嚢となり,79 日目には,仮根内に複数の小胞嚢が形成された(Figs. 15-17)。各小胞嚢の間には,隔壁が見られた(Fig. 18)。培養期間中に,小胞嚢が仮根から離脱することはなかった。

3ヶ月間の培養観察の結果,本種の不動胞子は,肥大成長した後にレンズ状細胞を形成すること,レンズ状細胞は伸長して仮根となること,すなわち,レンズ状細胞は仮根原基(発芽管原基)であること,仮根先端部にハプテラを形成することが明らかになった。枯死した 1 個体を除いた 23 個体は,培養開始から 10 日目までに 20 個体が,残りはそれぞれ,11 日目,15 日目,25 日目にレンズ状細胞を形成した。レンズ状細胞は,直径約  $70\sim120~\mu{\rm m}$  で,レンズ状細胞が形成された胞嚢(原細胞)は,直径  $250~\mu{\rm m}$  前後まで肥大成長していた。仮根における小胞嚢の形成は,23 個体すべてで観察され,80 日後には多数の小胞嚢が形成されていた。仮根内での小胞嚢の形成は,仮根先端部で始まり,最終的には仮根全体に複数の小胞嚢が形成され,最大で仮根 1 本あたり 9 個形成された。



Figs. 1-3. Ventricaria ventricosa. 1. Wild plant collected from Kume Island, southern Japan. Scale bar: 1 cm. 2. Filamentous rhizoids (arrows) at the lower part of a wild plant. Scale bar:  $500 \mu m$ . 3. Aplanospores derived from a mother vesicle. Scale bar:  $100 \mu m$ .



Figs. 4-11. Development of an aplanospore of *Ventricaria ventricosa*. 4. Aplanospore. Scale bar:  $100 \ \mu m$ . 5. Germling formed a lenticular cell (arrow) which will grow up to a rhizoid. Scale bar:  $100 \ \mu m$ . 6, 7. Juvenile vesicle with a filamentous rhizoid from a lenticular cell. Scale bar:  $200 \ \mu m$ . 8. Juvenile vesicle formed the secondary filamentous rhizoid (arrow). Scale bars:  $200 \ \mu m$ . 9. Juvenile vesicle, 26 days after taking out an aplanospore. Scale bar:  $500 \ \mu m$ . 10. Magnification of the lenticular cell. Arrow showing a septum between the vesicle and the lenticular cell. Scale bar:  $100 \ \mu m$ . 11. Haptera formed at the apex of a rhizoid. Scale bar:  $100 \ \mu m$ .

### 考察

千原(1959)は、タマゴバロニア Valonia macrophysa の生活史に関する研究の中で、オオバロニア(不動胞子)の発芽体は「アオモグサやキツネノオなどと本質的には同様で、基部に隔壁を持つ盤状根直立型である」と述べた。榎本ら(1994)は、本種の胞嚢全体が遊走子嚢に変化して4鞭毛の遊走子を放出し、着底後、反光源側に発芽管を形成すること、発芽管は伸長、分枝して糸状仮根となり、光源側は肥

大成長して球形になることを報告した。また, 榎本ら (1994) は不動胞子の発生についても遊走子の発生と同様な過程を図示している。

本研究でのオオバロニアの不動胞子の発生観察の結果は、 千原(1959)が述べたオオバロニアの不動胞子の発芽体お よび、榎本ら(1994)が観察したオオバロニアの遊走子の 発生とは少し異なるものであった。すなわち、本種の不動胞 子は、まず球形のまま肥大成長し、後に仮根(発芽管)原基

Table 1. Comparison of the observation of Ventricaria ventricosa.

12	Murray (1893)	Børgesen (1913)	Kanda (1940)	Olsen & West (1988)	Enomoto et al. (1994)	This study
Lenticular cell		+	+	-		+
Aplanospore	+	+	+	+	+	+
Juvenile vesicle				+		+

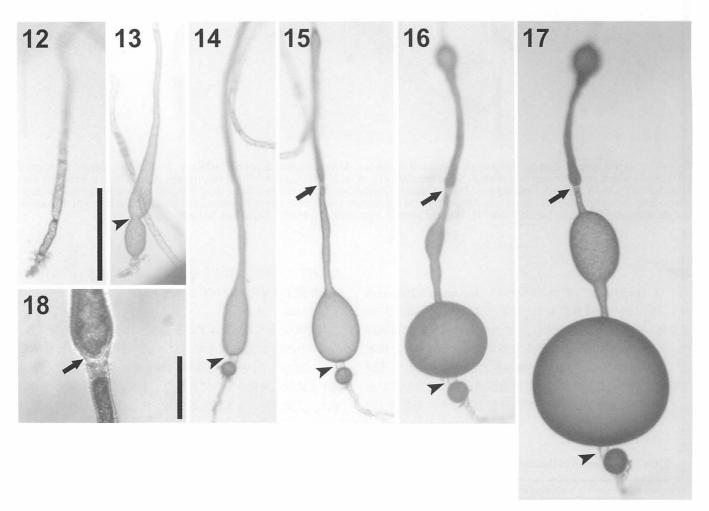
<sup>+</sup>: present, -: absent. The blanks show that there is no observation.

であるレンズ状細胞を形成する発芽様式であった。このような凸レンズ状の小細胞を形成する細胞分裂様式は、レンズ状細胞分裂(lenticular cell division)とされ、バロニア属の枝形成時および仮根形成時に生じることが報告されている(神田 1940, Leliaert et al. 2007)。培養体で、仮根原基であるレンズ状細胞が反光源側に形成されること、野生体の仮根もすべて藻体下部に密生していたことから、本種の仮根形成には屈光性、屈地性があるとみられる。レンズ状細胞は、翌日には糸状に伸長して仮根となっていたため、凸レンズ状の形態が維持されるのはごく短期間である。また、本種の仮根は、先端部にハプテラを形成することが明らかとなった。なお、培養体と野生体の仮根の長さの違いは生育条件の違いによるものと考えられる。

本研究で、オオバロニアの仮根内での小胞嚢形成を観察した。これは、Olsen & West (1988) が観察した、栄養繁殖に関わる肥大した仮根と同様のものと考えられる。3ヶ月間の観察期間中に、仮根から小胞嚢が放出されることは無かっ

たが、野外では波の影響などにより、仮根から離脱して新個 体となると考えられる。

オオバロニアのレンズ状細胞について、いくつかの報告がある(Table 1)。Børgesen(1913)はオオバロニアの藻体基部に形成される、多数のレンズ状の小細胞から仮根が形成されることを報告した。神田(1940)は、タマバロニア Valonia aegagropila、フサバロニア(新称)Valonia fastigiata、オオバロニア Valonia ventricosa の3種の形態を観察し、3種すべてでレンズ状細胞を観察した。彼は、タマバロニアとフサバロニアのレンズ状細胞は伸長して新しい枝となり、オオバロニアのものは伸長して仮根になると述べている。一方、本種をバロニア属からオオバロニア属に組み換えた Olsen & West(1988)は、オオバロニア、タマバロニア、フサバロニア、バロニア V. utricularis の形態観察結果から、後3種はレンズ状細胞分裂を行うのに対し、オオバロニアはレンズ状細胞分裂を行うのに対し、オオバロニアがレンズ状細胞分裂を行うことを確認し、形成



Figs. 12-18. Formation of new juvenile vesicles in a rhizoid. Arrow heads showing the first constriction to form septum. Arrows showing the second one. All the figures showing the formation on the same rhizoid. 12. Elongated rhizoid, after 44 days. Scale bar:  $500 \mu m$  for Figs. 12-17. 13. First constriction formed (arrow head), after 53 days. 14. A septum (arrow head) formed at the constriction, after 58 days. 15. Second constriction formed (arrow), after 63 days. 16. Many juvenile vesicles formed, after 73 days. 17. After 79 days. 18. Magnification of the septum (arrow) in Fig. 17. Scale bar:  $200 \mu m$ .

されたレンズ状細胞が伸長することによって仮根となることを明らかにした。この結果は、Børgesen(1913)と神田(1940)の結果を支持するもので、Olsen & West (1988)の観察結果とは異なるものであった。

Olsen & West (1988) は、タマバロニア、フサバロニア、 バロニアがレンズ状細胞、テナキュラ細胞(tenacular cell) を持ち、分割型細胞分裂 (segregative division) を行わな いのに対し、オオバロニアがレンズ状細胞、テナキュラ細胞 を欠き,不動胞子形成時に変則的分割型細胞分裂 (modified segregative cell division) を行うこと, さらに, タンパク 質の免疫学的距離に基づく系統関係から、オオバロニアを バロニア属から新属オオバロニア属へ組み換えた。分割型細 胞分裂は、オオバロニア属が所属するミドリゲ目の特徴の一 つとされている (Bold & Wynne 1985, 吉田 1998)。この 細胞分裂は、原形質が凝集して多数の塊に分かれ、各原形 質塊が肥大成長して新しい細胞を形成する体細胞(栄養細 胞) 分裂様式の一つで、クダネダシグサ属 Siphonocladus (Børgesen 1905), キッコウグサ属 Dictyosphaeria (Enomoto & Okuda 1981, Enomoto et al. 1982) などで知られている。 Olsen & West (1988) が述べた変則的分割型細胞分裂は, 不動胞子形成の際に起こる細胞分裂を指している。しかし、 オオバロニアやマガタマモの不動胞子形成は、機械的刺激に よる藻体内でのプロトプラスト形成であり、分割型細胞分裂 とは区別するべきである。

本研究における不動胞子発生の観察結果から、レンズ状細胞がオオバロニアにも存在することが明らかとなり、Olsen & West (1988) がバロニア属とオオバロニア属の識別形質の一つとしたレンズ状細胞の有無は両属の識別形質とならないことが判明した。Leliaert et al. (2003) は、部分的LSUrRNA遺伝子配列に基づく系統樹から、オオバロニアとバロニア属のタマバロニア、フサバロニア、バロニアは近縁であることを示した。Kraft (2007) は彼らの研究結果を評価し、オオバロニア属はバロニア属に再統合される可能性を示唆した。本研究の結果は、彼らの考えを支持するものであった。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、材料の採集にご協力いただいた本 学藻類学研究室の小林明日香氏に深くお礼申し上げる。また、 終始ご指導いただいた長谷川和清博士、孫 忠民博士、渡辺 剛博士に心よりお礼申し上げる。

#### 引用文献

- Agardh, J. G. 1887. Till algernes systematic. Nya bidrag. (Femte afdelningen.). Lunds. Univ. Årsskr. 23 (2): 1–174, pls. 1–5.
- Børgesen, F. 1905. Contributions á la connaissance du genre *Siphonocladus* Schmitz. Overs. K. Danske Vidensk. Selsk. Forhandl. 1905: 259-291.
- Børgesen, F. 1913. The marine algae of the Danish West Indies. Part 1. Chlorophyceae. Dansk bot. Arkiv. 1 (4): 1-158.
- Bold, H. C. & Wynne, M. J. 1985. Introduction to the Algae. 2nd ed. Prentice-Hall. New Jersey.
- 千原光雄 1959. 本邦暖海産緑藻類に関する研究 (9) タマゴバロニアの生活史についての追報. 植物研究雑誌 34: 257-266.
- Enomoto, S. & 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.
- Enomoto, S. & Okuda, K. 1981. Culture studies of *Dictyosphaeria* (Chlorophyceae, Siphonocladales) I. Life history and morphogenesis of *Dictyosphaeria cavernosa*. Jpn. J. Phycol. 29: 225-236.
- Enomoto, S., Hori, T. & Okuda, K. 1982. Culture studies of *Dictyosphaeria* (Chlorophyceae, Siphonocladales) II. Morphological analysis of segregative cell division in *Dictyosphaeria cavernosa*. Jpn. J. Phycol. 30: 103-112.
- 榎本幸人・宮里禧美子・奈島弘明 1994. Ventricaria ventricosa (J. Agardh) Olsen et West (オオバロニア). 堀輝三 (編) 藻類の生活 史集成 第1巻 緑色藻類. pp. 256-257. 内田老鶴圃. 東京.
- Hori, T. & Enomoto, S. 1978. Electron microscope observations on the nuclear division in *Valonia ventricosa* (Chlorophyceae, Siphonocladales). Phycologia 17: 133-142.
- 神田千代-1940. パラオ産バローニアに就いて. 科学南洋 3:107-116.
- Kraft, G. T. 2007. Algae of Australia: Marine benthic algae of Lord Howe Island and the Southern Great Barrier Reef, Green algae. ABRS, Canberra & CSIRO Publ., Melbourne.
- Leliaert, F., Rousseau, F., De Reviers, B. & Coppejans, E. 2003. Phylogeny of the Cladophorophyceae (Chlorophyta) inferred from partial LSU rRNA gene sequences: is the recognition of a separate order Siphonocladales justified? Eur. J. Phycol. 38: 233-246.
- McLachlan, J. 1973. Growth media-marine. In: J. R. Stein (ed.), Handbook of Phycological Methods: Culture methods and growth measurements. pp. 25-51. Cambridge Univ. Press., Cambridge.
- Murray, G. 1893. On *Halicystis* and *Valonia*. In: G. Murray (ed.), Phycological memoirs. Part 2. London. pp. 47-52, pl. 13.
- Olsen, J. & West, J. A. 1988. *Ventricaria* (Siphonocladales-Cladophorales complex, Chlorophyta), a new genus for *Valonia ventricosa*. Phycologia 27: 103-108.
- 吉田忠生 1998. 新日本海藻誌. 内田老鶴圃. 東京.
- 吉田忠生・嶌田智・吉永一男・中島泰 2005. 日本産海藻目録(2005 年改 訂版). 藻類 53: 179-228.

(Received December 8, 2008; Accepted May 21, 2009)