

チノリモの観察 (II)

— 生殖と栄養細胞の運動 —

Observation of *Porphyridium cruentum* Naegeli (II)
Reproduction and Movement of Vegetative Cell

渡辺 成美・堀江 喜三郎*
Narumi Watanabe, Kisaburo Horie

チノリモは紅藻に属する球状の単細胞藻類で、特有の紅色色素をもち、淡水の湿地上に生育する。全て単相世代で複相世代は存在しないといわれている。Prescottによれば生殖は栄養細胞の分裂によってのみ行われるが、時にアキネート様の静止状態の細胞もあるという。

培養方法と材料

チノリモを固体培地上で培養すると、栄養細胞は光の方向に滑走運動を行うから、この運動性を利用すれば次の I 培地で純粋分離に導くことができる。得られた系統で継代培養されていたものが今回の実験材料である。

(I) 渡辺培地

KNO ₃	1.5g
KH ₂ PO ₄	0.05g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.4g
くえん酸鉄アンモニウム	0.005g
土壌浸出液	20ml
海水 (外房海岸)	500ml
純水	500ml

(pH7.0に調整, 寒天培地は1.5%)

この培地は Koch, W. により記載されたものの一部を改良したもので、Kochのくえん酸鉄をくえん酸鉄アンモニウムとし、その他の成分を各2倍量としたものである。なお小島は Koch の原論文に記載されたまゝの培地 (pH. 8.1) でも分離培養に成功している。

今回の実験には次の培地がもちいられた。

(II) 渡辺・堀江培地

KNO ₃	1.5g
KH ₂ PO ₄	0.05g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.4g
くえん酸	0.005g
くえん酸第二鉄	0.005g
尿素	2g
土壌浸出液	20ml
海水	500ml
純水	500ml

* 東京都荒川区立赤土小学校

この培地はHarder-Bederkeの記載する発育実験用B培地に尿素を加えたものである。これはチノリモの生育する場所が、窒素源にとむ日本式便所の汲みとり口や台所の流し口付近、或は幼児によってしばしば放尿された湿地上に限られている事実を利用したのである。Ⅱ培地は固体培地としてより、むしろ液体培地として使用の方が適している。培地のpHは6.0から8.0まで0.5段階別として調製されたが、いずれの段階のものもチノリモの生育には可能であり、このうちpH7.0の培地が最も良好で、細胞の色素も鮮となる。Ⅱ培地に接種したのち20W白熱電球の照光と17~23℃で、1週間の集積培養を行うと、培養液は肉眼的に紅色となる。この時期からさらに1週間以内の細胞を、新液体培地による懸滴培養法により継続観察がすすめられた。

観 察

1. 栄養細胞の大きさ

チノリモは明瞭な細胞壁と、その内部に紅色色素体を有するから懸滴培養の細胞は、無染色状態でも観察が可能である。ただしこの場合色素体と細胞壁との間の細胞質に存在しているという核は判然としない。Ⅱ培地で培養するとその生育は極めて良好で、形態的にも他の培地のものにくらべて大型となる。即ちⅠ培地(固体)の場合は細胞の直径は7~8 μ であるが、Ⅱ培地の場合は15~18 μ にまで生長し、時に20 μ に達する個体もみられる。この様な個体変異については、Prescottの最大24 μ の記録と全く一致する。この事実はまた無機質中心の培地よりも、有機質特に窒素源をふくむ培地がチノリモの生育に適していることを証するものといえよう。

2. 栄養細胞の分裂

(i) 均等分裂

細胞の分裂には時間的要因が強くはたらくためか、常時にこれを観察することは出来ない。液体培地による懸滴培養で、2~3日経過したものに複数の分裂中の細胞が観察されるが、この時期をすぎると分裂細胞はみあたらない。又培地のpHは7.0が最も適し、他のpHのものでは分裂細胞の数は少ない。

分裂の初期から完了までに要する時間は環境条件にもよるが、一般に40分から60分を必要とする。最短時間として、11月28日室温20℃のとき、20分で完了した場合もある。一方分裂進行中で6時間を経過しても、同じ状態を保ったままの個体も観察された。この原因については不明である。

細胞分裂は球状細胞が楕円形に変ることにはじまる。つづいて楕円中央で細胞壁が内方にく

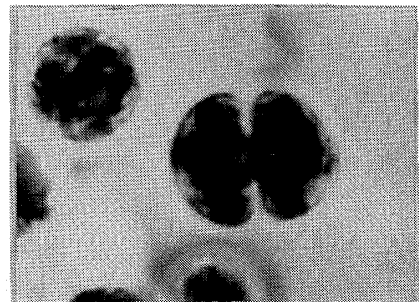


図1 左上の細胞はすでに分裂済みのもの $\times 1,000$
メチレン青液による生体染色標本

びれを生じ、これが次第に進行し、原形質は二分され同形同大の娘細胞となる。故に分裂の途中で緑藻のツツミモ (*Cosmarium*) をおもわせる形態をとる。娘細胞は共通の粘膜につつまれているが、娘細胞が互に遠ざかるにつれ、粘膜にも分裂面ができ分裂は終了する。このことは前報に記載した通りである。この場合観察された分裂はあくまで細胞質の分裂である。一般に細胞分裂には、先行すべき核分裂の過程が存在すべきであるが、チノリモの無染色標本の観察では、色素体の存在のため核分裂は明かでない。

(ii) 不均等二分分裂(膨出型分裂)

この分裂は均等分裂をする細胞と、培養時期を同じくする培地中に観察されることがあるが、液体懸滴培養のまま7~10日放置したもの、或は新培養液に接種して1ヶ月以上経過したもの

にあらわれる。

細胞の不特定の部分の細胞膜が膨出伸長し、この内部に母体の原形質が流入し、その先端部に集る。膨出部は突出して小体となり、内部の充実を伴い引きちぎれる様に母体から離れ、小楕円形を経て球状となる。母体と小球体との外部にある粘膜は、互に連絡しつつ引きのばされた形をとる。このため小球体が母細胞から離れ去るにつれ粘膜は細管を呈してくる。

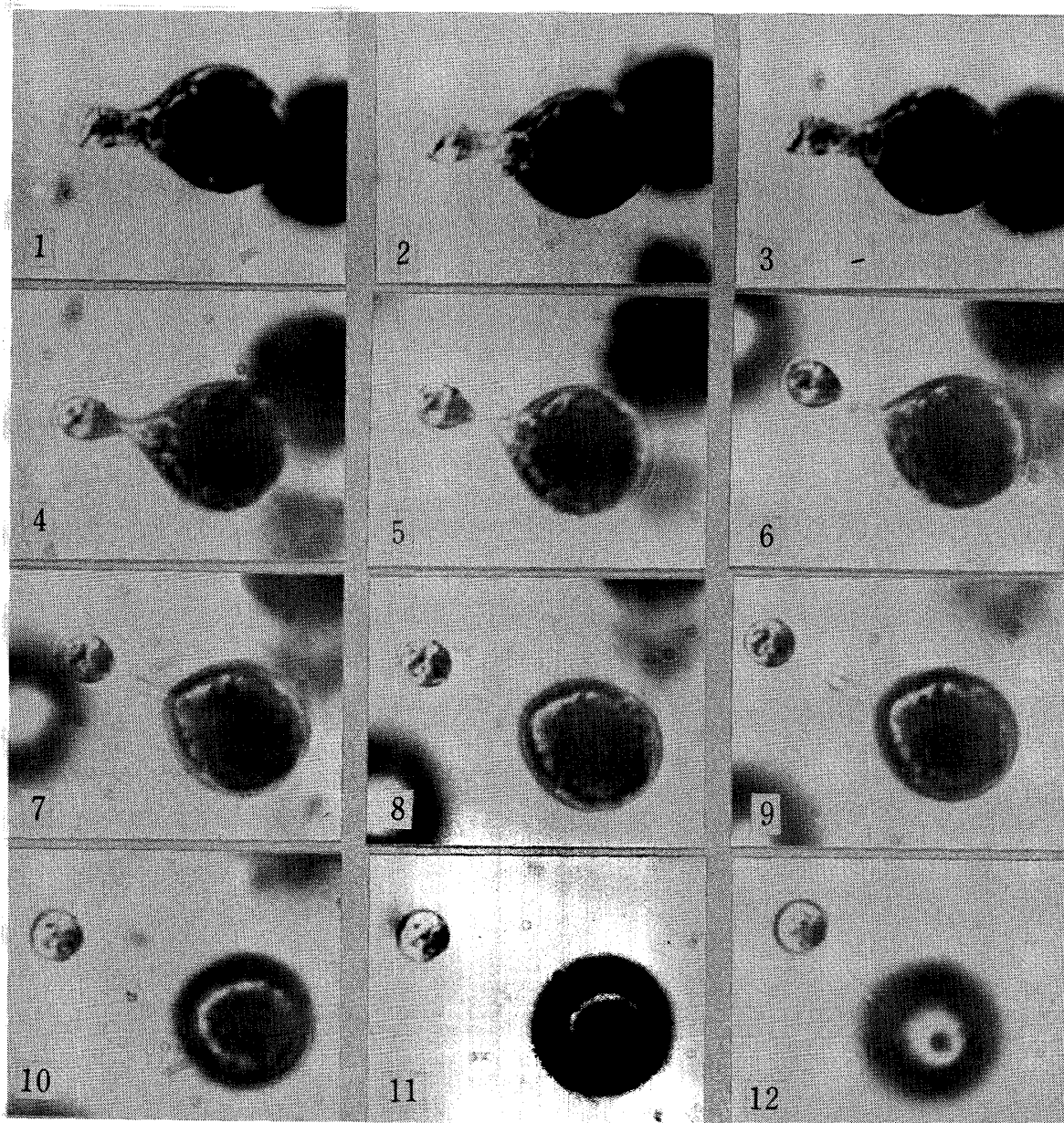


図2 10分ごと撮影 ×800

母細胞と小球体とは、5～8 μ の距離で静止状態を保つが、1時間後には両者は完全に分離し15 μ とはなれ、粘膜は単なる細い連絡管としてのみみられる。管の太さは均一であるが、その中央部に小さい膨らみが見られる。粘膜細管の膨大部以外は次第に消滅するらしく、陰影もなくなり、明瞭な観察の続行は不可能で、その将来性について予測することは困難である。しかし、おそらく膨大部は粘膜細管の切断される場所で、その凝集したものと解釈することが妥当であろう。

Prescottは正常二分分裂の結果生じた2個の娘細胞が、互に遠ざかり、その娘細胞間に細管状の粘膜の存在を图示しているが、筆者の観察結果は、Prescottのものより細く且つ均等管状を呈する点が異っている。

母細胞から完全に分離した新個体は、直径6~9 μ で普通の栄養細胞にくらべ1/2~1/3大で、粘膜も心持厚い。新個体は運動性を有し、母細胞から速かに移動する。このため長時間の継続追跡は不可能であった。この新個体が、その後如何なる経過をたどるかは不明であるが、有原形質・有粘膜・有運動性などから察すれば、栄養細胞へ移行するのではないかと推定できる。ただ同一培地中に、色素体を充分含んでいないため、一見空胞化した様にみえる同種の小球細胞が多数存在しているが、これらの生長については疑問視される点も少くない。いづれにしてもこの小球体は繁殖体の一種と記録されるべきものであろう。

この不均等分裂はpH6.5, 7.5, 8.0の各培地で発見されたが、観察例も多くないためその出現の適格な時期や条件については判然としない点がある。

(iii) 不均等多分裂 (出芽様分裂)

直径20~25 μ に達した栄養細胞の表面に、直径3~8 μ の複数の膨出球体が生じ、全形は凹凸状となる。ついで膨出球体は球形となり独立し次第に栄養母細胞から移動しきる。と同時に母細胞も亦もとの球状に復する。膨出球体形成のとき、細胞周囲の粘膜が前記の細管を呈するか否かは、両者の間隔が小さいため詳でない。

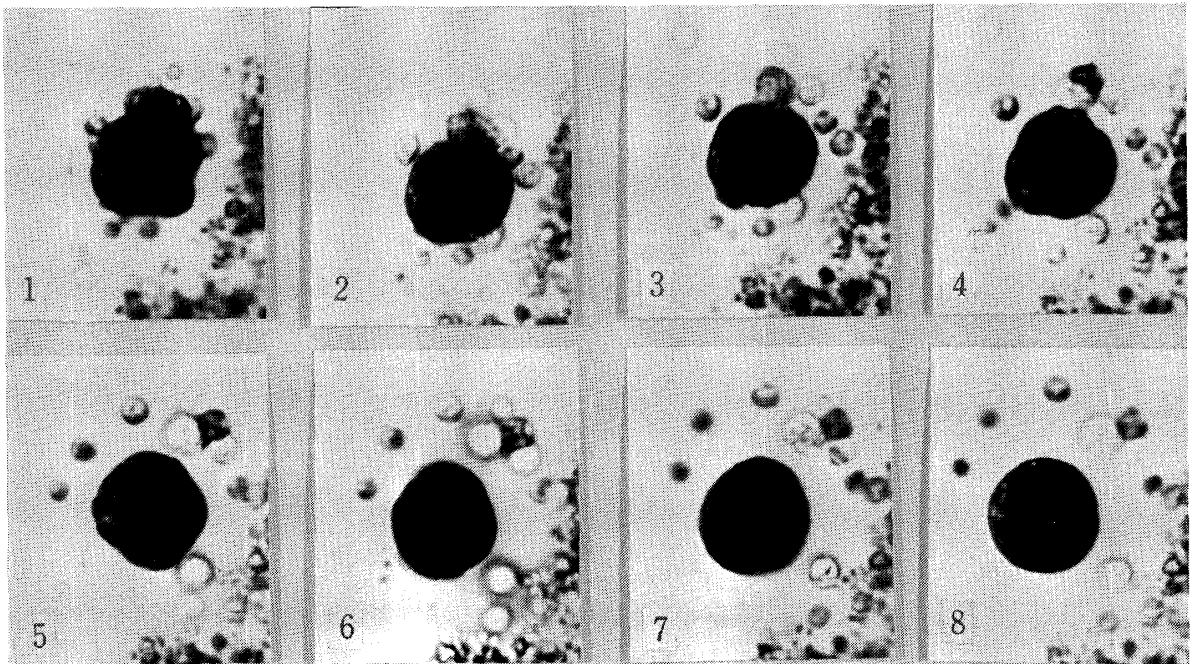
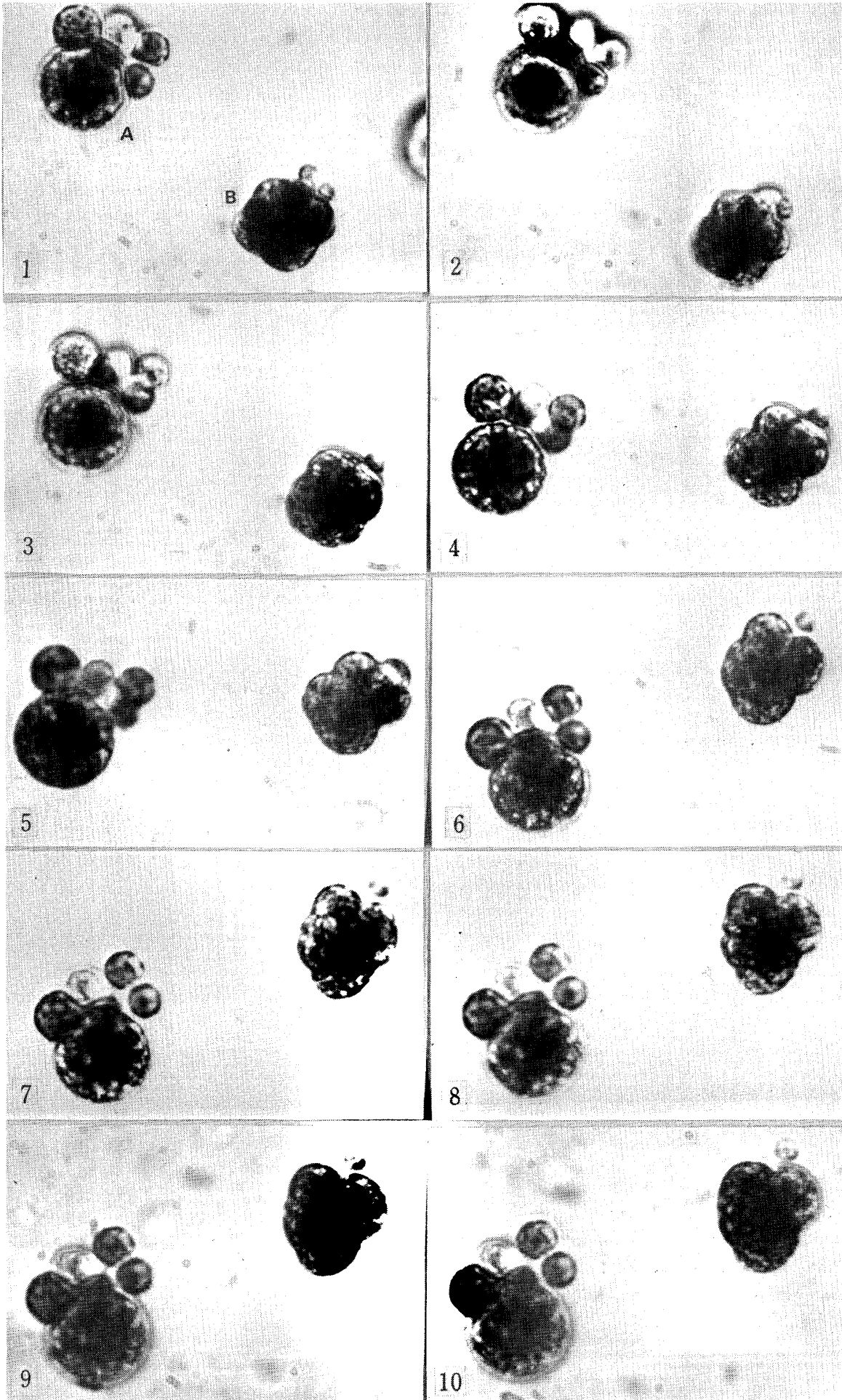


図3 10分間ごと撮影 ×800

さらに、直径7~12 μ の数個の小球体が、母細胞の1箇所に積み重なる様に、集まって密着しているものもみられる。なおこれら小球体間には、ほとんど大きさの差がみられない(図4のA細胞)。小球体は後に母細胞から移動して離れることが確かめられるから、塊状として集合しているのは、それが形成された後、一箇所に移動して来て或る期間だけこの状態を保っているものであろう。事実小球体の中には母細胞上を移動するものも観察された。小球体と母細胞の粘膜については、個々が密着しているため、全体が一つの粘膜につつまれているか、個々の細胞のものかは判然としない。小球体は、その大きさ、形態、色素体及びその行動などから、少くと



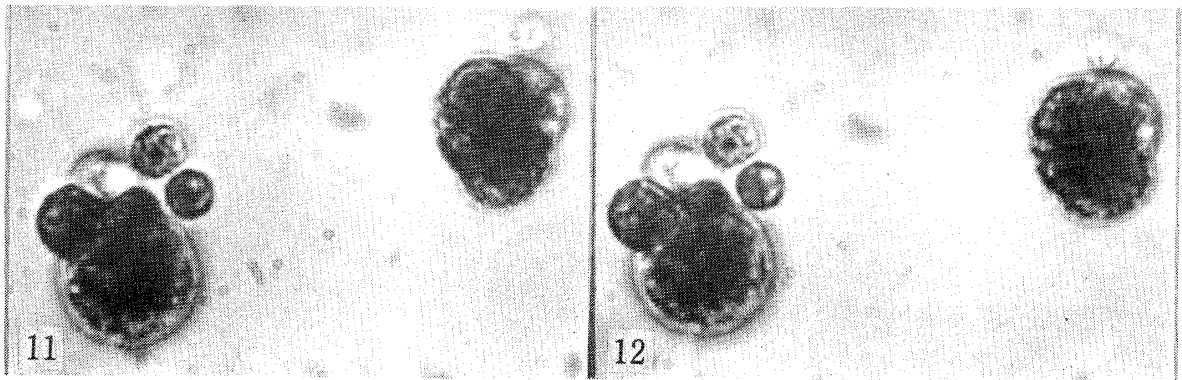


図4 20分ごと撮影 ×900

も栄養細胞への生長の可能性をもつ繁殖体と推定出来る。

このほか、母細胞から生じたとおもわれる直径 $12\sim 15\mu$ の数個の球形細胞が、互に分離することなく、接着し全体として凹凸ある塊状をなし、同時に母体より膨出した小球体を付着させているのがみられる(図4のB細胞)。この母体からの凸出部は出芽様分裂をすることなく、後に、逆に母体に取り込まれる様にして消失し、その結果全形は球状に変ってくる。この変化が行われると同時に膨出小球体のなかには、母体に吸収されて消失するものもある。

この種の分裂については明かでない点が極めて多いが、少なくとも、不均等分裂の更に複雑化したものか、或は写真図で判断される様に、次にのべる多分裂例ではないかとも考えられる。

(iv) 細胞質分裂

栄養細胞の細胞質が分裂し、多くは等大の4個体をつくる。その各々は放射状に配列し、同一粘膜中におさまる全形 $20\sim 30\mu$ の球状となる。各個体についてみると、その動きは少ない。

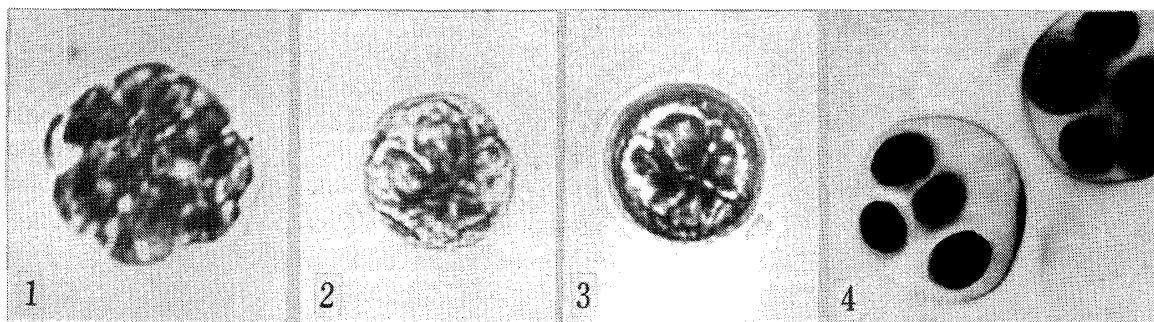


図5 1. 2. 3は無染色標本, 4はメチレン青液で生体染色
1 ×1,200 2. 3. 4 ×1,000

龍崎によれば培地が乾燥してくると、栄養細胞に4分裂又はその変形の3分裂がみられるという。渡辺は前報で、同一粘膜につつまれている完成した4個の栄養細胞を記録し、その原因については不明であるとのべたが、今回の観察と比較検討すれば、母細胞の分裂により4個の娘細胞が形成されるものと推定してよからう。この場合4個の娘細胞は n か $2n$ かの問題が生ず

るが、実験は懸滴培養による非染色細胞の継続観察のため、核分裂の有無や、その行動については明らかでなく、今後の問題として残したい。末松のいう“分裂による4個の娘細胞形成”や、殖田の指摘する“自生孢子形成”と相通ずる現象であろう。

チノリモの栄養細胞では均等二分分裂のみが、正常なものとして成書に記載され、それ以外の分裂については記述されることはない。このため観察された均等二分分裂以外のものは、いわば異常分裂であるか、或は生活上のある一断面の現象でありうるか、興味ある問題であるが、チノリモの生活史が明らかでない現在では、これについて論及することはできない。

3. 栄養細胞の運動

紅藻は一般に栄養細胞・生殖細胞を問わず、非運動性であることが大特徴とされるから、チノリモが紅藻である以上例外であることを免れられない筈である。しかしチノリモの運動能力については賛否両論が報告されている。

R. C. Starr や L. Geitle は、チノリモに光に関係する滑走運動能力のあることを認め、一方 O. Pringsheim は寒天培地上でも、顕微鏡標本でも、滑走運動を認めることはできないという。これに対して渡辺・小島・佐藤・龍崎らは栄養細胞に有運動性の見解をとっている。

すなわち、佐藤は運動中の栄養細胞の内部構造観察から、一種のアーバ状運動に類似したものを推定し、龍崎は寒天培地に移植された栄養細胞に、一定の方向から照光すれば、増殖個体は光を求めて移動することが多く、普通は円形であるべき細胞が運動中は楕円形を呈するという。なお運動中の細胞内の色素体の形は殆んど変化しないから、おそらく色素体と細胞壁との間の透明な細胞質が、運動に関与するのではないかと付け加えている。小島は栄養細胞の運動は寒天培地に接種して2日後ぐらいが最も活発であり、培地表面のみならず寒天内部でも移動することが確かめられたと報告する。

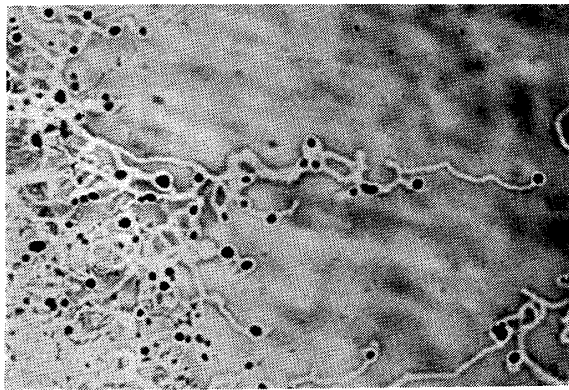


図6 寒天培地に接種後8日目
光は右からあたえられる。

継続観察の結果、細胞の移動は二分分裂後の娘細胞が、互に分離移動して行く事実によって明らかにされたが、各細胞の動きの速さや方向は異り、ほとんど不動のものから確実に移動のみられるものまで多様で、時間の経過と共に進行する。特に光が一方向から与えられると、その光にむかって、細胞は寒天培地に深く溝となった非直線的な劃線を動跡として移動し、その先行部に本体として存在している。これは200倍程の低倍率でも充分観察することができる。この劃線としての粗溝こそ、細胞が自体の回転による滑走運動をおこなったものと解されよう。なお高倍率によって観察すれば、細胞の滑走運動は前報でのべた様に、細胞の変形や回転、さらに細胞質の細胞内部での移動などを伴うことが明らかにされる。

参 考 文 献

- Ernst, G. und Olga Pringsheim 1956. Kleine Mitteilungen über Flagellaten und Algen IV.
Arch. Mikrobiol. **24**. 169
- G. W. Prescott Algae of the western great lake area 1975
——— The Algae A Review 1965
- 渡辺成美 1973. チノリモの培養と観察 採集と飼育 **35** (No. 10) 238
- 小島庸三・佐藤春江・龍崎邦雄 チノリモの観察 千葉大学教育学部卒業論文 (未発表)

Summary

1. Though *Porphyridium cruentum* generally multiply by cell division, sometimes they reproduce by the small globular bodies which are formed as the style of bulgeness from the vegetative mother cell.
2. Vegetative cells move in a irregular way when they are cultured on agar medium. It is assumed that this movement is caused by the rotation of the cell.