

学 位 論 文 題 名

褐藻ヒバマタ目植物 3 種,  
ウガノモク *Cystoseira hakodatensis* (Yendo) Fensholt,  
ヒジキ *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura,  
スギモク *Coccophora langsdorfii* (Turner) Greville の  
精子形成に関する細胞学的研究

学位論文内容の要旨

植物の精子が電子顕微鏡で観察された最初の報告は、Manton と Clarke (1950, 1951) によって英国産の褐藻ヒバマタ目植物 *Fucus serratus* について行われた。その後、Manton と Clarke (1956), Berkaloff と Rousseau (1979) 及び Evans (1982) が同種の精子内部微細構造を更に詳細に研究した。ヒバマタ目に属する他種の精子について電子顕微鏡による観察が行われているものは、英国産 *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata*, *Himanthalia lorea* (Manton *et al.* 1953), 英国産ウガノモク科 *Bifurucaria*, *Cystoseira*, *Halidorys* (Manton 1964), 米国産 *F. vesiculosus* (Bouck 1970), *Hormosira bankskii* (Forbes & Hallam 1978) 等で、眼点、鞭毛装置、前鞭毛に生ずる棘、後鞭毛に形成される膨らみ構造、又は精子前端に形成される特異な膜状構造体 Proboscis 等の微細構造上の特徴が報告されているが、邦産種についての詳しい研究はなされていない。又、褐藻類の核分裂に関する研究は極く少なく、*Zonaria forlowii* の頂端細胞 (Newshul & Dahl 1972), *Chorda tomentosa* と *Pilaiella littoralis* の単子嚢 (Toth & Markey 1974), *F. serratus* の造精器 (Berkaloff & Rousseau 1979) について報告されているが、核分裂過程を詳細に観察したものはなく、減数分裂についても、前期のシナプトネマ複合体あるいは中期での中心小体と核膜の存在が記載されているにすぎない。

本論文は、北海道函館市近郊に産するヒバマタ目植物 3 種、ウガノモク (*Cystoseira hakodatensis*)、ヒジキ (*Hizikia fusiformis*)、スギモク (*Coccophora langsdorfii*) を用い、光学顕微鏡で造精器内の核学的事象と精子形成過程を調べ、次いで電子顕微鏡を使用して造精器内核分裂と精子形成に伴う核、中心小体、微小管、色素体、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体等に

ついて詳細な観察を試みた。スギモクについては造精器内で特に減数分裂の過程をほぼ観察し、相同染色体の対合現象、染色体の形成と挙動、核分裂に伴う核膜と小孔の変化、分裂装置形成、核膜再生現象及びミトコンドリア、色素体分裂等を明らかにした。これらの結果を機能形態的観点より考察すると共にヒバマタ目植物精子についての既往の研究結果と比較検討を行った。

光学顕微鏡による観察：ウガノモクとスギモクでは、既に猪野と広江（1954）によって明らかにされているヒジキと同様に、造精器内で減数分裂が行われ、6回の分裂後、64個の精子が形成されることを確かめた。染色体については猪野と広江（1954）がヒジキの造精器で、又、Tahara（1929）がスギモクの生卵器で何れも  $n=32$  となることを報告しているが、今回、その2種とウガノモクで同じ値を示した。

精子は3種とも西洋ナシ型（長さ約  $4\ \mu\text{m}$ 、幅約  $2\ \mu\text{m}$ ）で2本の鞭毛を有して、右又は左へ自転しながら速度  $5-50\ \mu\text{m}/\text{秒}$  で遊泳する。走光性は認められなかった。鞭毛運動については、前鞭毛がしなやかに屈曲して前方から後方へ振り降ろす有効打と後方より前方へ戻る回復打を活発に繰り返す。精子の主な推進力となっている。後鞭毛は屈曲の程度が小さく、動きは著しく緩慢であった。3種の精子の鞭毛の長さ（前鞭毛：後鞭毛）は、ウガノモク  $12\ \mu\text{m} : 8\ \mu\text{m}$ 、ヒジキ  $11\ \mu\text{m} : 9\ \mu\text{m}$ 、スギモク  $12.5\ \mu\text{m} : 6\ \mu\text{m}$  であった。スギモクの精子の後鞭毛付着点の付近には橙色の眼点（径約  $1\ \mu\text{m}$ ）が1個存在するが、ウガノモクとヒジキにはこれが認められない。

核分裂微細構造：Moses（1956）はザリガニの精母細胞に於いて相同染色体の対合する現象を電子顕微鏡によって初めて観察し、それをシナプトネマ複合体と称した。その後、この構造体はサンショウウオの精母細胞（Moses 1958）、ユリの花粉母細胞（Moens 1968）等、広く高等動植物に存在することが報告されている。海藻類では緑藻1種 *Ulva* の遊走子嚢（Bråten & Nordby 1973）、褐藻3種 *Chorda* と *Pilaiella* の単子嚢（Toth & Markey 1974）及び *Fucus* の造精器（Berkaroff & Rousseau 1979）、紅藻2種 *Jankzewskia*（Kurgens & West 1972）と *Dasya*（Broadwater *et al.* 1986）の四分孢子嚢でその微細構造が記載されている。

本研究では、スギモク造精器内の減数第一分裂前期に以下の特徴を示す軸芯及びシナプトネマ複合体を認めた。細糸期に出現する軸芯は何れも高電子密度物質からなるリボン状（幅約  $70\ \text{nm}$ 、厚さ約  $20\ \text{nm}$ ）で、長さは  $3\ \mu\text{m}$  に達するものがみられ、その末端部位の一端で核内膜とほぼ垂直に付着する。軸芯の周囲は厚さ  $250-500\ \text{nm}$  のクロマチン塊が覆う。対合期に各2本の軸芯が核中央領域から核膜方向へファスナー状に接合し、シナプトネマ複合体を形成する。その大きさは全幅約  $160\ \text{nm}$ （側方成分の幅約  $30\ \text{nm}$ 、中間部約  $100\ \text{nm}$ 、中心成分  $35\ \text{nm}$ ）で、各側方成分の外側には必ずクロマチン塊が密着していた。これらの値は *Jankzewskia*、*Fucus* のものと

ほぼ同一であった。その後、シナプトネマ複合体は短縮して核膜より離脱し、ディアキネシス期には垂鈴形の二価染色体（径約0.8–1  $\mu\text{m}$ ）となり、核内に分散していた。

Korenberg (1974) は、クロマチンの基本構造はDNA二重らせん上に球形のヒストンタンパクが配列するものと考え、これをヌクレオソームモデルとして提唱した。今回、スギモクの軸芯に付随するクロマチン繊維を観察した結果、径約2–5 nmの微細繊維に径約10 nmの高電子密度の顆粒状物質が30–100 nmの間隔でビーズ状に配列する物体が存在し、これが次第に太くなり凝縮して径約30 nmのクロマチン繊維に変化することを認めた。

有糸分裂時に染色体の動向と密接な関係があるとされる動原体は、藻類ではPickett–HeapsとFowke (1970) が緑藻サヤミドロで、又、Scottら(1980) が紅藻イトグサで観察しているが、今まで、褐藻類についてはその存在が確かめられていない。今回、ウガノモク、ヒジキ、スギモクの3種の造精器内の中期から後期の間、染色体上に動原体の存在することを認めた。これらの何れの種についても動原体は幅200–250 nm、厚さ120–160 nmで、3層構造よりなり、中期で板状、後期では弓状を呈する傾向にあった。内層と外層は染色体クロマチンよりも電子密度の高い顆粒状物質からなり、中間層は、低電子密度の物質で構成される。又、その最外層には極方向より伸長した微小管が2–3本付着していた。

スギモクの第1回と第2回分裂の中期から後期に観察し得た動原体微小管と極間微小管の構造は、ともに径約25 nmの管状で、複数の短い微小管（長さ0.5–2  $\mu\text{m}$ ）が接合して比較的長い微小管を形成していた。動原体微小管は後期に縮小し染色体を極へ誘引するが、動原体周辺には微小管性の不定形物質が存在することから、動原体微小管の脱重合が動原体内部で生じ、染色体運動の原動力は動原体にあることが示唆された。両極より伸長した極間微小管は、核中央領域において融合又は重合して両極をつなぐ束状となり、これが後期に極間距離を押し広げていた。

スギモクの核内微小管は前期末に核膜が切断され、核質と細胞質リボソームが混在した際に出現することが明らかとなった。

同種の減数第1分裂と第2分裂に於いて、核膜再生現象を調べたところその形成様式に以下の微細構造上の相違が認められた。①第1分裂後期末に極に達した染色体群では、小胞（径約0.1–0.3  $\mu\text{m}$ ）がこれに密着し、小胞の膜融合が行われ、そのため膜は二重となる。②第2分裂後期末では、中期から後期に間に切断された核膜小片（長さ2–4  $\mu\text{m}$ ）数枚が、染色体群を緩く覆い、互いに融合して核膜を再び形成した。再生直後の核膜には、何れも小孔がないが、第1分裂終期に於いて次の変化が生じることを観察し得た。凝縮していた染色体の一部では弛緩が始まり、クロマチン繊維（径約30 nm）が微細繊維（径約2–5 nm）へ変換した際、小孔複合体が

出現して、その箇所で核体積が膨張する。この反応が引き続き生じることによって2娘核は球形の休止期核(径約6  $\mu$ m)に回復した。上記事象は、凝縮状態から解かれた染色体DNAによって小孔の形成と機能の発現が制御されることを示唆する。

精子形成に伴う微細構造の変化：スギモクでは精子変態が始まった初期には色素体内に高電子密度の顆粒が生じ、これが蓄積して偏平な眼点に分化するが、ウガノモクとヒジキではこれらの顆粒がないか、又は2-3個の小型の顆粒が出現する段階で停止して、眼点を生じない。その他の微細構造上の変化は以下に示すようにほぼ同じ結果となった。

それぞれの核では付随する平行配列した2個の中心小体が存在して、これが鞭毛基部となり、ここから前後2本の鞭毛が形成される。鞭毛の成長に伴い、鞭毛基部の構成角度は幾分広がるが、100度を越えることはなかった。前鞭毛表面には後鞭毛と相対する側にも細毛が生じた。前後両鞭毛の内部構造は同じで、周辺にダブルット微小管9対、中心の2本のシングルット微小管が配列する典型的な9+2様式を示した。球形であった核は細長く変形し、鞭毛装置の存在する側へ屈曲し、1精子当たり1個の色素体(又は眼点)が鞭毛基部の幾分後方の精子内腹面に配置し、これに1枚の細胞膜を介して必ず後鞭毛が近接した。色素体と後鞭毛基部の間にはしばしば微小管性の帯状構造が認められた。最後に、精子核と色素体(又は眼点)の間隙に1-3個のミトコンドリアが進入して精子は完成する。

成熟精子の微細構造：ウガノモク、ヒジキ、スギモクの3種は、何れも前の部分は幾分偏平となり、後部は丸く厚い。これらの精子には *Fucus* (Manton & Clarke 1950, 1951, 1956, Bouck 1970, Berkaloff & Rousseau 1979, Evans 1982), *Ascophyllum*, *Pelvetia* 及び *Himanthalia* (Manton *et al.* 1953) の精子で報告されている Proboscis はない。精子前方の腹面はスカート状構造の合わせ目付近から後鞭毛が生じ、腹面と密着したまま後方へ伸びる。精子内部構造において、前端部付近に約8本、側方の後端には6本の微小管がリボン状に平行配列していることを確かめ、これらがスカート状構造を含む精子全体の骨格として機能していることが推察された。

ウガノモク、ヒジキ、スギモク3種の精子の観察結果と既往の *Fucus* 精子の微細構造に関する報告を比較すると次の5点を相異点として挙げる事ができる。

- ① 3種共 Proboscis は存在せず、精子前方腹面がスカート状構造となり、前鞭毛がこの溝に沿って安定運動を行える。
- ② 両鞭毛基部の構成角度は *Fucus* (180度) の約1/2と狭い。
- ③ スギモクの精子は *Fucus* と同様に眼点を形成するが、ウガノモクとヒジキではそれを生じない。

④ 内部微細構造の調べられたヒバマタ目植物精子では、何れも後鞭毛の眼点に密接する部位は著しい膨らみ構造を形成するが、本研究の3種では20-25 nmの肥厚が痕跡的に認められるのみで、膨らみ構造にはならない。

⑤ 鞭毛の長さは、*Fucus* で後鞭毛が前鞭毛より約2倍長く、3種の精子では前鞭毛は*Fucus* とほぼ等長(約12  $\mu$ m)であるが、後鞭毛は常に前鞭毛より短い。

*Fucus* 精子と相異のみられた上記微細構造は、何れも精子運動に対して働きの少ないもの(約180度の鞭毛基部構成角度、後鞭毛)、又は機能の不明なもの(Proboscis, 眼点、後鞭毛の膨らみ構造)であり、*Fucus* よりも分類学上明らかに上位にあるウガノモク、ヒジキ、スギモクに於いて精子内部の特定の器官が形成途中で停止したままか、退化する傾向を示すことは興味深い現象である。

これらの知見を総合すると、現在迄に精子微細構造の明らかにされているヒバマタ目植物のうちでは、邦産のウガノモク並びにヒジキは最も進化した状態にあり、スギモクはこれに次ぐものであろうと結論した。

## 学位論文審査の要旨

主査	教授	藪	熙
副査	教授	山崎	文雄
副査	教授	斎藤	譲
副査	助教授	山本	弘敏

褐藻ヒバマタ目植物精子の微細構造は現在迄に、英国産 *Fucus serratus* (Manton & Clarke 1956, 1951, 1956; Berkaloff & Rousseau 1979; Evans 1982), 英国産 *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata*, *Himanthalia lorea* (Manton *et al.* 1953), 英国産 *Bifurucaria*, *Cystoseira*, *Halidrys* (Manton 1964), 米国産 *Fucus vesiculosus* (Bouck 1979), *Hormosira banksii* (Forbes & Hallam 1978) を用いて、眼点、鞭毛装置、前鞭毛に生ずる細毛、後鞭毛に形成される膨らみ構造、精子前端部に形成される特異な膜状構造体 (Proboscis) についての微細構造上の特徴が報告されているが、邦産種についての研究はない。

申請者は、北海道函館市近郊に産するヒバマタ目植物3種、ウガノモク (*Cystoseira hakodate-nsis*), ヒジキ (*Hizikia fusiformis*), スギモク (*Cocophora langsdorfii*) を用い、先ず光学

顕微鏡で造精器内の核学的事象と精子形成過程を調べ、次いで電子顕微鏡を使用して造精器内核分裂と精子形成に伴う核、中心小体、微小管、色素体、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体等について詳細な観察を試みた。又、スギモクについては造精器内で特に減数分裂の過程をほぼ観察し、相同染色体の対合現象、染色体の形成と挙動、核分裂に伴う核膜と小孔の変化、分裂装置形成、核膜再生現象及びミトコンドリア、色素体分裂等を明らかにした。これらの結果を機能形態的観点より考察すると共にヒバマタ目植物精子についての既往の研究結果と比較検討を行っている。本論文は120頁からなり、表2、挿図11、図版55を含んでおりその大要は下記の通りである。

光学顕微鏡による観察：① ウガノモクとスギモクでは、既に猪野と広江（1954）によって明らかにされているヒジキと同様に、造精器内で減数分裂が行われ、6回の核分裂後、64個の精子が形成される。② 染色体数は兩種共にも $n=32$ であった。

電子顕微鏡による観察：① スギモクの造精器内第1回分裂前期で細糸期に出現した軸芯が、対合期にシナプトネマ複合体（全幅約160 nm、中間成分約100 nm）を形成し、次いでこれが短縮し二価染色体（径0.8–1.0  $\mu\text{m}$ ）となることを確かめた。② 使用した3種共に、中期又は後期の染色体上に動原体が明瞭に観察された。③ 3種共精子前端部に膜状構造体は存在せず、精子前方腹面がスカート状構造となり、前鞭毛がこの溝に沿って安定運動を行える。④ 精子変態の初期にスギモクでは色素体内で高電子密度の顆粒が生じてこれが眼点に分化するが、ウガノモクとヒジキではこの変化は認められずこのため眼点は形成されない。⑤ 内部微細構造の調べられたヒバマタ目植物精子では、何れも後鞭毛の眼点に密接する部位は著しい膨らみ構造を形成するが、本研究の3種では20–25 nmの肥厚が痕跡的に認められるのみで、膨らみ構造にはならない。⑥ 3種の精子共に微小管によって構成される細胞骨格を形成する。⑦ 精子の前後両鞭毛の基部に於ける構成角度は他のヒバマタ科植物についての報告では約180度と言われているが使用した3種共約90度であった。⑧ 3種共に精子の前鞭毛の表面に細毛が存在するが後鞭毛には細毛はない。⑨ 鞭毛の長さは、*Fucus*で後鞭毛が前鞭毛より約2倍長く、3種の精子では前鞭毛は*Fucus*とほぼ等長（約12  $\mu\text{m}$ ）であるが、後鞭毛は常に前鞭毛より短い。⑩ これら3種の精子に関する観察結果に基づき、各精子について形態を克明に図示している。

上記のうち、微細構造についての研究結果は、本邦産ヒバマタ目植物精子形成に関する初めての詳細な観察に基づくものであり、学術上重要な知見を得ており、審査員一同は博士（水産学）の学位を得るに十分な資格を有するものと確定した。