

学位論文題名

LIFE CYCLE OF COILODESME JAPONICA  
(DICTYOSIPHONALES, PHAEOPHYCEAE)  
AND CONTROL OF MACROTHALLUS MORPHOGENESIS

[エゾブクロ(ウイキョウモ目、褐藻綱)の生活環と胞子体の形態形成制御]

学位論文内容の要旨

〈緒言〉 褐藻エゾブクロ(ウイキョウモ目)は、他の褐藻植物の真正着生藻として知られているが、その生活環及び大型囊状葉(胞子体)の形態形成要因は知られていない。本研究はこのエゾブクロについて、1)生態的観察、2)培養による生活環の解明、(a)細胞学的実験、(b)生化学的実験、3)大型囊状胞子体の形態形成の機作について調べ、新しいタイプの生活環の発見と胞子体の形態形成要因を明らかにした。

〈結果〉 1)生態的観察：北海道室蘭沿岸の潮間帯域において、2年間に渡って本種の宿主植物への着生条件と季節的変動を詳細に調べた。本種の大型囊状胞子体は、褐藻ウガノモク(ウガノモク科)、フシスジモク(ホンダワラ科)、そして稀にエゾヤハズ(アミジグサ科)の3種の藻体上にもみ生育する着生藻であるが、小囊状葉は2月下旬から3月下旬にかけて出現し、4-6月に繁茂して体高20-40cmに達する。成熟葉は5月下旬からみられ、7月下旬には完全に消失する。しかし宿主植物に着生する胞子体の総個体数は4月以降変動がなく、ある時期に着生したエゾブクロの生殖細胞のみが大型囊状の胞子体に発生できることが示唆された。

2)培養による発生・生活環：本種の囊状胞子体(MT)の核相は複相で、成熟すると皮層内に単子囊が発達するが、減数分裂を経て遊走子を形成し単相の遊走子を放出する。遊走子は発芽して微小な単列糸状体(mt)に発生する。従来この糸状体は複子囊を形成するが、その遊走細胞は発生して微小世代を繰り返すだけで、多列形成的な大型胞子体世代へは発達せず形態形成要因も不明であった。

本実験では個々の糸状体(mt)のクローン培養を5, 10, 14, 18, 22℃の長日条件(14h明期:10h暗期)及び短日条件(10h明期:14h暗期)の組合せで行ったが全ての培養条件下

で従来通りの微小世代を繰り返すのみであった。しかし5℃,中日条件(12h明期:12h暗期)で培養し複子嚢を形成させると、あるクローンで褐藻植物の雌性配偶子特有の性フェロモン臭が確認された。性フェロモンの放出株と非放出株との比は1:1であった。これらのクローンはいかなる組合せで接合を試みても有性生殖はみられなかったが、極めて限られた条件下でのみ性的分化が誘導されることが初めて明らかにされた。この制限条件下で微小世代を培養し、複子嚢を誘導した後に他の条件、例えば10-14℃の長日条件に移植すると、性フェロモン放出の有無にかかわらずに遊走細胞のあるものは微小世代に戻ることなく、多列形成的な嚢状体(MT)を形成する。この発生はまず遊走細胞は細胞質の大部分を液胞が占める球状細胞、或いは長い発芽管を伴った液胞化細胞に分化する。これら液胞化細胞はその表面に皮層細胞が発達し、それぞれ単子嚢を形成するが、特に後者において正常な嚢状胞子体に発達することを確認し、初めて本種の一生活環を完結した。

2-a)細胞学的実験:フィールド及び培養の胞子体(MT)は共に染色体数は24-26であり、微小糸状体世代(mt)の染色体数は12-13である。培養実験では全く有性生殖が確認されないことから複子嚢由来の遊走細胞のMTに発生する過程で体細胞の複相化が起っていることが示唆され、それを確認するために遊走細胞の発生を経時的に蛍光色素DAPIで染色し、顕微定量測光装置を用いて核内DNA量の変動を追跡した。その結果、遊走細胞から再び微小世代に発生する時は、DNA合成後に直ちに細胞分裂が起るのに対して、MTに発生する場合にはDNA合成が2回連続して起り、4倍量のDNA合成の後に細胞分裂するために細胞核の複相化が起る。つまり体細胞複相化は液胞化細胞の発芽時に進行することを初めて明らかにした。

2-b)生化学的実験:5℃,中日条件でのみ性的分化が誘導されることから、放出される性フェロモンについて閉鎖ループシステムで、フェロモン放出株を大量培養し、揮発成分を活性炭吸着した後、ジクロロメタンに溶出し、高速液体クロマトグラフィーを用いて分離同定を試みた。その結果、主な化合物はエゾブクロと近縁種のウエキヨウモの性フェロモンとして知られるフィナバレンであることを明らかにした。

3)嚢状胞子体(MT)の形態形成の制御:本種の培養による生活環及びそのMTの形態形成は温度と日長条件によって完全に制御できた。遊走子由来の微小糸状世代(mt)は、5℃,12h明期:12h暗期の中日条件で約2週間培養することで性フェロモン放出株と非放

出株の性的分化が最も誘導される。これに近い日長条件の11h明期:13h暗期または13h明期:11h暗期でも僅かに誘導される。性的分化が誘導された遊走細胞は有性生殖が行われないし、またこれらの誘導条件下ではMTの形態形成は進行しない。つまり性的誘導に引き続いて、5℃より高い10-14℃の温度条件に移行させて初めて液胞化細胞の発生と体細胞の複相化が起り、それらの発芽体は複相の囊状胞子体(MT)に発生することを明らかにした。

〈考察〉フィールドでの観察結果と合せて、褐藻エゾブクロの生活環及び形態形成を次の様に考察した。

エゾブクロの大型囊状体(MT)は明らかに複相の胞子体であり、5-7月にかけて成熟し単子囊を形成する。減数分裂を経て遊走子を放出し、遊走子は単相の単列糸状体に発生する。夏季から秋季の高温期間は複子囊形成の微小世代を繰り返し、冬期低温短日下でもこの微小世代は継続されるが、2月下旬から3月下旬にかけて低温(5℃)中日条件の限られた短期間のみ、性的分化が誘導される。ただしこれらの遊走細胞間では有性生殖は行われない。その代り液胞化した発芽体において体細胞の複相化が起り囊状体を形成する。春季長日条件に移行すると共に、囊状体は急速に生長して大型胞子体に発達する。以上のことから胞子体の単子囊において減数分裂が起る生活環の核相交代も矛盾無く説明できる結果を得た。

〈結論〉本実験において従来不明であった褐藻エゾブクロ属植物の生活環と胞子体の形態形成要因を明らかにした。1)エゾブクロでは極めて限られた温度、日長条件で性フェロモンを放出する性的分化が起ること、2)性的分化がみられても有性生殖は行われない。しかしこの不完全な性的分化によって次世代の胞子体世代に移行する引きがねになること、3)胞子体に発生する際に体細胞の複相化が起ること、更に4)微小単列糸状体から生じる性フェロモン放出・非放出のクローンが1:1の割合で生じることは、褐藻植物、特に有性生殖が報告されていない種の生活史の再検討の必要性を提起するものであり、更に進化の過程において有性生殖を失っていく一つのモデルとして重要であることを明らかにした。

# 学位論文審査の要旨

主査 教授 舘 脇 正 和  
副査 教授 吉 田 忠 生  
副査 教授 石 川 鑛  
副査 助教授 増 田 道 夫

## 学 位 論 文 題 名

LIFE CYCLE OF COLLODESME JAPONICA (DICTYOSIPHONALES, PHAEOPHYCEAE)  
AND CONTROL OF MACROTHALLUS MORPHOGENESIS

[エゾブクロ (ウイキョウモ目、褐藻綱) の生活環と胞子体の形態形成制御]

褐藻エゾブクロ属植物は世界で10種類記載され、主に他の大型褐藻植物の着生藻として知られている。この属は有性生殖がみられないことと、培養では複相多列形成の胞子体からの遊走子は単相単列形成糸状の微小世代ばかりを繰り返して、一生活環が完結できない種類が多い。特に日本産エゾブクロ (Coilodesme japonica) はその生活環及び体高40cm以上に生長する囊状胞子体の形態形成要因が全く知られていない不可解な海藻の一つとされていたものである。本研究はこの種についての生態的観察を基にして、厳密な温度・日長条件下で培養を行い、細胞学及び生化学的実験手法を用いて、性的分化の誘導から性フェロモンを同定し、体細胞の複相化などを明らかにして胞子体の形態形成の要因を解明し、初めて生活環を完結することに成功している。

まず、2年間にわたり、潮間帯域においてエゾブクロ胞子体のホスト植物への着生条件と季節的変動を詳細に調べている。本種のホスト植物は3種のみであり、囊状幼体は2月下旬から3月下旬に出現し、4-6月に繁茂して7月に消失するパターンを示すが、ホスト植物上に着生する胞子体の総個体数は4月以降変動がないことから、

ある限られた時期に着生した生殖細胞のみが大型胞子体に発生することを見出している。この観察にもとづいて培養実験を行い、フィールドで本種の囊状胞子体が出現する2-3月の温度・日長条件を設定し、特に5℃、12h 明期：12h 暗期の中日条件下で遊走子由来の微小世代の糸状体を少なくとも2週間培養した時にのみ、糸状体に形成される複子囊の遊走細胞に褐藻植物の雌性配偶子特有の性フェロモン臭を放出する株が得られることを確認し、性フェロモン放出及び非放出株が1:1である性的分化が誘導されることを明らかにしている。しかしこれら性フェロモン放出・非放出株間のいかなる組み合わせでも有性生殖は見られない。このことから遊走細胞の単為的発生の過程で体細胞の複相化が考えられるが、それを証明する実験を行っている。性フェロモン放出株が生じた時点で非放出株共々それらからの遊走細胞を10-14℃、長日条件に移植することによって、ある発芽体に液胞の発達した液胞化細胞が生じ、皮層細胞が形成され、特に仮根を生じたものが正常な囊状胞子体に発生することを明らかにしている。さらに遊走細胞の発生を経時的に蛍光色素DAPIで染色し、顕微定量測光装置を用いて核内DNA量の変動を追跡し、遊走細胞から再び微小世代を繰り返す時は、DNA合成後直ちに細胞分裂が起こるのに対して、胞子体世代に発生する時にはDNA合成が2回連続して起こり、4倍量のDNA合成後に細胞分裂するために染色体の倍数化が起こる。つまり液胞化細胞が形成されその発芽時に体細胞の複相化が起こることを初めて証明している。また、性フェロモンについては、5℃、中日条件下の閉鎖ループシステムでフェロモン放出株を大量培養して、揮発成分を活性炭に吸着させてからジクロロメタンに溶出しHPLCを用いて分離し、主な化合物として本種と近縁種のウイキョウモの性フェロモンと同じフィナバレンであることを明らかにし、褐藻植物の新しいタイプの生活環の解明に成功している。

本研究は、単に今まで不明とされていた褐藻エゾブクロ属植物の生活環の完結と大型胞子体の形態形成要因を明らかにしただけでなく、従来、褐藻植物で有性生殖が報告されていない多くの種類の生活史の再検討及び研究法を提起し、さらに藻類の進化の過程において有性生殖を失っていく一つのモデルとしての重要性を示したものであり、植物学各研究分野における貢献度も高い。なお、本研究論文の一部は既に国際専門誌に受理され印刷中である。よって審査員一同は、本論文の内容及び申請者の学力とともに、博士（理学）の学位を受けるに十分な資格があるものと認めた。