



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ハネイギス(<i>Ceramium japonicum</i> Okamura)とイギス(<i>Ceramium kondoi</i> Yendo)の培養並びに細胞学的観察
Author(s)	能登谷, 正浩; NOTOYA, Masahiro; 藪, 颯 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 30(2), 129-132
Issue Date	1979-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23681
Type	departmental bulletin paper
File Information	30(2)_P129-132.pdf



ハネイギス (*Ceramium japonicum* Okamura) とイギス (*Ceramium kondoi* Yendo) の培養並びに細胞学的観察

能登谷 正 浩*・簀 薫*

Culture and cytology of *Ceramium japonicum* OKAMURA and
C. kondoi YENDO (Ceramiales, Rhodophyta)

Masahiro NOTOYA* and Hiroshi YABU*

Abstract

The life history of *Ceramium japonicum* Okamura and *C. kondoi* Yendo was completed within two months in the modified Grund media at 20°C under photoduration 12:12 hr (light: dark). The chromosome number found in the germling of tetraspore and in the spermatium formation showed to have $n \approx 30$ in *C. japonicum*, and that in the tetrasporangium and in the germlings of tetraspore showed to have $n=12-15$ in *C. kondoi*. In the germling of tetraspore of *C. japonicum* one characteristic O-shaped chromosome was observed. In their early development up to the 5-8 cell stage, the tetraspore germlings of both species were observed to have uninucleate cells in nearly half of the germlings and multinucleate cells in the other half.

緒 言

1973年 Edwards¹⁾ は英国産の3種のイギス属植物 *Ceramium shuttleworthianum*, *C. rubrum*, *C. pedicellatum* の培養を行って比較的短期間に生活史を完結させることに成功した。1978年には Garbary *et al*²⁾ がカナダ産の *Ceramium rubrum* と *C. rubriforme* を培養して同じく生活史を短期間で完結させ、日長と温度がこの二種の外部形態に著しく影響を及ぼすことを観察している。

筆者らは1978年5月以降函館産のハネイギス (*Ceramium japonicum* Okamura) とイギス (*C. kondoi* Yendo) について核相と生活史の関係を確かめる目的で培養を試みたところ両種共に培養開始後約2ヶ月で生活史を完結させることができた。培養は現在継続中であるが今迄に得た結果を報告する。

材料と方法

材料としては1978年5月17日に函館市立待岬で採集したハネイギスの四分孢子体と同年7月19日に同じく立待岬で採集したイギスの四分孢子体を用いた。採集した体は直ちに北大水産学部の実験室に持ち帰り孢子の放出を行なった。これらの孢子をマイクロピペットで吸い上げ滅菌海水中に移し入れ、この操作を数回繰り返した後孢子をスライドグラス上に付着させ、次いで容量30ccの管瓶中に移し入れ三洋恒温器 Model SHR-100 を用いて培養を開始した。ハネイギスの四分孢子は先ず予備実験として温度を5°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 照度を500lux, 1000lux, 2000lux, 4000lux, 8000

* 北海道大学水産学部水産植物学講座
(Laboratory of Marine Botany, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

lux, 光周期を12時間明期12時間暗期として10日間培養した。その結果、温度は20°C, 照度は2000luxで胞子の発生が良いことが判ったので以降はハネイギス, イギス共にこの条件で培養を行った。培養液としては modified Grund medium⁹⁾ を用い6日毎にその全量を換水した。材料並びに培養中の一部の発生体はアルコール, 酢酸(3:1)の液で固定し, Wittmann⁴⁾の方法で染色し細胞学的研究に供した。

観察結果

1. 生活史

イギス属植物の初期発生は既に *Ceramium rubrum* J. Ag. と *C. strictum* Harvey で Derick⁵⁾ が, *Ceramium rubrum* で Killian⁶⁾, Kylin⁷⁾, Inoh⁸⁾ が行い, イギス (*C. kondoi*), ハネイギス (*C. japonicum*) 等北海道産の種類について中村⁹⁾ が観察し, その発生型は何れも直立型であることが知られている。本研究に用いたハネイギスとイギスも四分胞子並びにその培養により得た雌性体から放出された果胞子は何れも正常な直立型の発生を行ったが (Pl. I, Figs. 1~6, Pl. II, Figs. 15~19, Pl. III, Figs. 22~25, Pl. IV, Figs. 36~39), 稀に頂端部からも仮根を生ずる畸形体が見られた (Pl. I, Fig. 5)。四分胞子の径はハネイギスでは37~43 μ m, イギスでは48~54 μ mあり, イギスの方が大きい。ハネイギスでは培養開始10日後に体は2mmの長さに達し, 成熟した雄性体を得られた (Pl. I, Figs. 9, 10)。35日培養したものでは体長は更に伸長して3~6mmとなり, この時に成熟した雌性体を得られた (Pl. II, Figs. 11~15)。本培養では約450個体の発生体のうち152個体が成熟し, そのうち78個体が雌性体, 74個体が雄性体でほぼ1:1の性比を示した。この時成熟中の雌性体を1個体ずつ小型シャーレに移し入れ培養を継続したところ, 1個の嚢果からは130~140個の果胞子(径40~45 μ m)が放出された (Pl. II, Fig. 14)。果胞子放出後17日経た時にはその発芽体は体長約2.5mmに成長し, 体中間部の皮層中に四分胞子嚢が形成された (Pl. II, Figs. 20, 21)。その3日後には胞子が放出されたが, その色彩, 大きさともに天然の体に形成される四分胞子と差異は認められない。

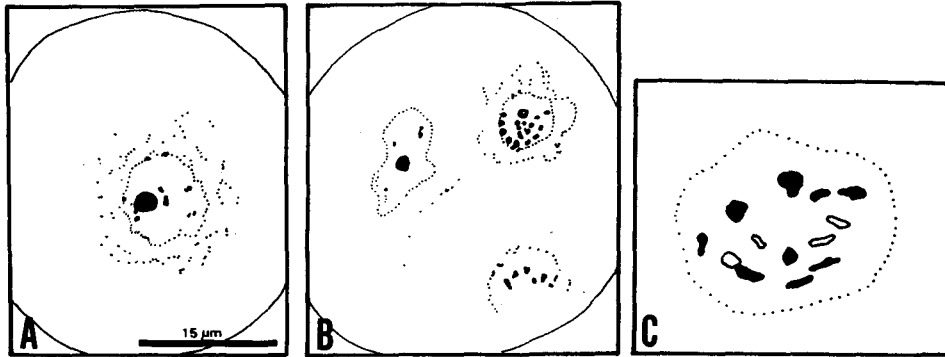
イギスは四分胞子放出15日後には体長約2~3mmに達し, 成熟した雄性体を得られ (Pl. III, Figs. 27, 28), 更に15日後には体は約4~5mmの長さとなり, 成熟した雌性体を得られた (Pl. III, Fig. 35)。1個の嚢果からは34~46個の胞子が放出され, ハネイギスの嚢果に形成される胞子の数より少ない。果胞子の大きさは径65~70 μ mあり, ハネイギスのものよりも大きい。果胞子は発芽後30日経て成熟した四分胞子体(体長4.8~5.4mm)を得ることができた (Pl. IV, Fig. 40)。四分胞子嚢の形成は(1)天然の四分胞子体に見られる如く主軸の枝に小枝を作り, その中に多数の胞子嚢を形成する場合 (Pl. IV, Fig. 42) と(2)主軸の皮層が膨れてその中に胞子嚢が形成される場合 (Pl. IV, Fig. 41) の2通りがあった。

現在のところハネイギス, イギスともに3~4回にわたって生活史を繰り返しているが, 本培養では僅か約2ヶ月の期間で生活史が完結した。成熟中の体を1個体ずつ別の小型容器に移し入れ培養を続けると四分胞子体, 有性体は何れも約2ヶ月後には平均体長約10cmに成長し, 生殖器官の形成も持続して行われた。この場合四分胞子体では生長が最も良いがあまり分枝せず, 雌性体ではやや小さいが最も分枝し, 雄性体ではそれよりも更に幾分小さいが四分胞子体よりも分枝する体となった。

2. 細胞学的観察

ハネイギスでは四分胞子発芽体とそれを培養して得た雄性体で, イギスでは採集した体に形成されていた四分胞子嚢内と培養した四分胞子発芽体とで核分裂を観察した。

ハネイギスの四分胞子発芽の際の第1回核分裂の初期では核は径5 μ mあり, その中央に1ヶの仁



Text-fig. 1.

- A. Nucleus at late prophase in one-cell-stage of tetraspore germling of *Ceramium japonicum* Okamura.
- B. Multinucleate cell in one-cell-stage of tetraspore germling of *Ceramium japonicum* Okamura.
- C. Nucleus at early metaphase in the first meiotic division in the tetrasporangium of *Ceramium kondoi* Yendo.

が明瞭に認められるが同一核内に2~3個の仁を有することがある(Pl. V, Fig. 43)。更に核分裂が進むと核内に染色体が現われてくるが染色体は粒状で極めて小さい(Text-fig. 1-A, Pl. V, Fig. 44)。胞子発芽体の約半数は第1回核分裂終了後には隔膜が形成され各細胞は夫々1個ずつの核を有するようになるが、他の半数のものは核分裂終了後に隔膜が形成されず引き続いて核が分裂し細胞は多核となる(Text-fig. 1-B, Pl. V, Figs. 45~47)。このように多核の場合には細胞内では核分裂は同時的に行われる。Pl. V, Fig. 45は同一細胞に2核が存在し核は分裂前期に入っているものを示す。片方の核には幾分大きい1個の仁と4個の小仁が存在し、極めて細い染色糸が観察される。発芽体内の核分裂後期の像では0状を呈し、他のものよりも幾分大きい1個の染色体が認められた(Text-fig. 1-B, Pl. V, Fig. 46)。7~8個以下の細胞より成る発生体では各細胞は未だ単核を有するものが多いが(Pl. V, Fig. 48)、その後更に発生が進むに従い細胞は次第に多核を有するようになってくる(Pl. V, Fig. 49)。核分裂中期の像は多数観察されたが、極には中心体は認められない。雄性体では精子器と放出された精子内で染色体が容易に得られた(Pl. V, Fig. 50)。これらの染色体は四分胞子発芽体内で現われる染色体よりも幾分大きい。四分胞子発芽体と雄性体の精子には約30個の染色体が数えられた。

イギスの四分胞子形成の際の第1回分裂の終りと中期の初めで染色体が得られたが、その数は12~15であった。図に示す如く染色体の大きさには差異がある(Text-fig. 1-C, Pl. V, Fig. 51)。第1回核分裂中期には稀に紡錘糸が明瞭に認められることがあったが中心体は観察されない(Pl. V, Fig. 52)。

四分胞子の発芽体内ではハネイギスの発芽体と同様にその発生初期に於いて細胞は単核を有する場合と多核を有する場合の両者が見られた。

論 議

材料を採集した函館の立待岬では、ハネイギス、イギス共に4月から9月にかけて成熟体を得られた。それらの多くは四分胞子体で、雌性体は少なく、雄性体はイギスでは極く少数採集することがで

きたが、ハネイギスでは得ることができなかつた。本培養ではハネイギス、イギスは何れも有性体、四分胞子体共に体長 0.2~6mm に達した時に成熟した。これらの体を新しい容器に入れて培養を続行すると、その後約 2ヶ月で何れも約 10cm の体となり、立待岬での採集結果とは異なり容易に雄性体を得ることができた。

イギス属植物では雄性体は四分胞子体並びに雌性体よりも小さいことが知られている⁹⁾。本研究に於いても長時間培養した際には雄性体は四分胞子体と雌性体に比べて小さかつた。

イギス属植物で細胞学的に研究された種類としては *Ceramium deslongclanpris* と *C. rubrum* がある。その染色体数は前者では $2n=40^{10)}$ 、後者では $n=6\sim 9^{11)}$ 、 $n=?^{8)12)}$ 、 $n=34^{13)}$ 、 $2n=\text{約} 64^{14)}$ と報告されている。筆者らの今回観察した染色体数はハネイギスでは $n=\text{約} 30$ 、イギスでは $n=12-15$ であった。

引用文献

- 1) Edwards, P. (1973). Life history studies of selected British *Ceramium* species. *J. Phycol.* **9**, 181-184.
- 2) Garbary, D.J. Grund, D. and J. McLachlan (1978). The taxonomic status of *Ceramium rubrum* (Huds.) C. Ag. (Ceramiales, Rhodophyceae) based on culture experiments. *Phycologia* **17**(1), 85-94.
- 3) McLachlan, J. (1973). Growth media-marine. In: *Handbook of Phycological Methods* (Ed. by J.R. Stein), pp. 25-57. *Cambridge University Press*, New York.
- 4) Wittmann, W. (1965). Aceto-iron-haematoxylin-chloral hydrate for chromosome staining. *Stain Tech.* **40**, 161-164.
- 5) Derick, C.M. (1899). Notes on the development of the holdfast of certain Florideae. *Bot. Gaz.* **28**, 246-263.
- 6) Killian, K. (1914). Ueber die Entwicklung einiger Florideen. *Zeits. für Bot.* **1**, 209-279.
- 7) Kylin, H. (1917). Ueber die Keimung der Florideen Sporen. *Archiv. für Bot.* **14**, 1-23.
- 8) Inoh, S. (1947). *Kaiso no Hasei*. Hokuryu-kan, Tokyo.
- 9) Nakamura, Y. (1954). The structure and reproduction of the genus *Ceramium* and *Camphylaephora* in Japan, with special reference to criteria of classification. *Sci. Pap. Inst. Alg. Res. Fac. Sci. Hokkaido Univ.* **4**(1), 15-62.
- 10) Damann, H. (1930). Entwicklungsgeschichtliche und zytologische Untersuchungen an Helgolander Meeresalgen. *Wiss. Meeresuntersuh., Abt. Helgoland*, **18** (4), 1-36.
- 11) Grubb, V.M. (1925). The male organs of the Florideae. *J. Linn. Soc. Bot.*, **47**, 177-255.
- 12) Peterson, H.E. (1928). Nogle Lagttagelser over Cellekenerene hos *Cermainium* (Roth.) Lyngbye. *Dansk bot. Ark.*, **5** (10), 1-5.
- 13) Austin, A.P. (1965). Chromosome counts in the Rhodophyceae. *Nature, Lond.*, **178**, 370-371.
- 14) Magne, F. (1964). Recherches caryologiques ches les Floridées (Rhodophycées). *Cah. Biol. mar.* **5**, 461-671.

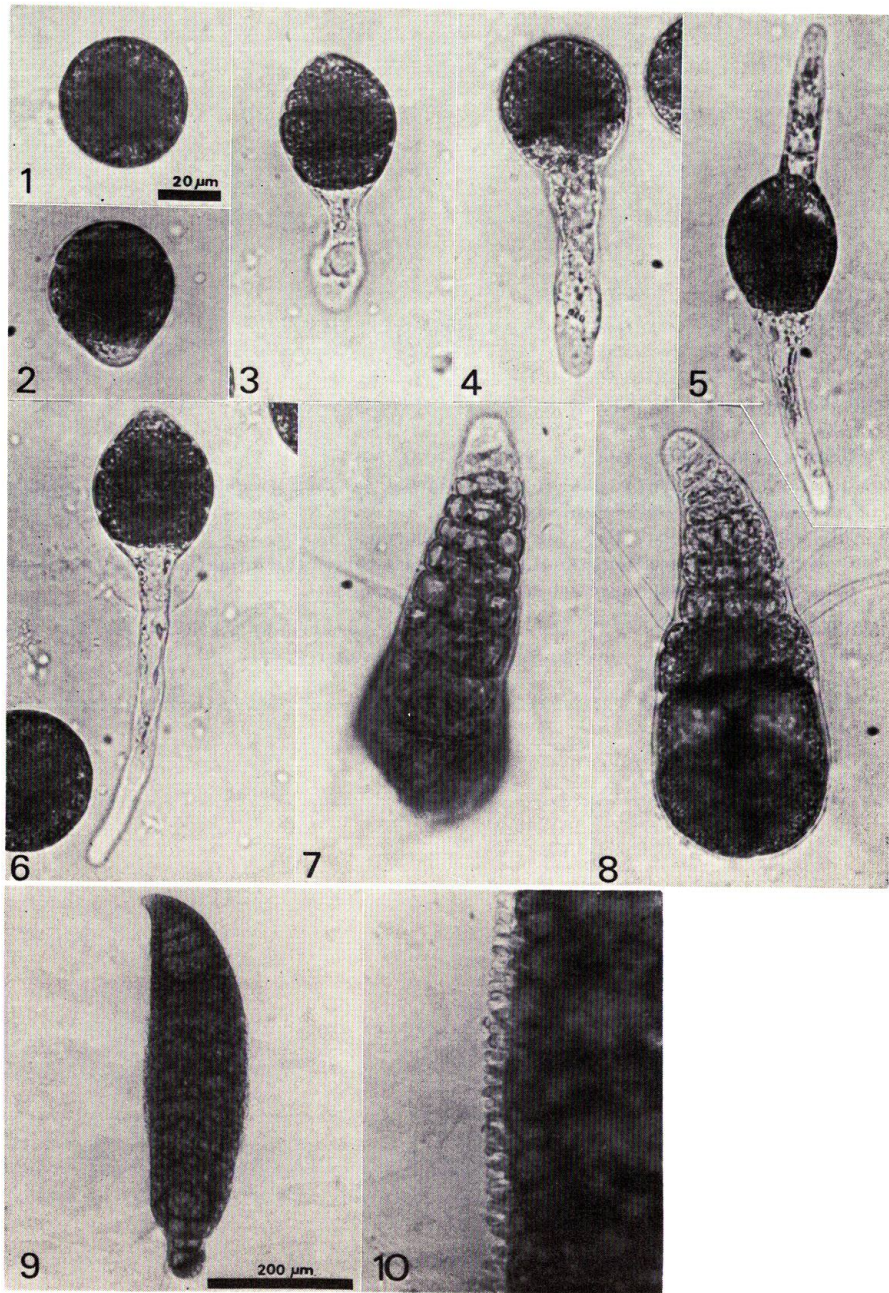
EXPLANATION OF PLATES

PLATE I

Morphological phases in the life history of *Ceramium japonicum* Okamura in culture.

- 1-4 & 6-9. Successive stages from the liberated tetraspore to the formation of male gametophyte.
- 5. Abnormal tetraspore-germling with rhizoidal cells from its apical portion.
- 10. Part of the male gametophyte bearing spermatangia.

Magnification: Figs. 2-8 & 10 are in the same scale as shown by the bar in Fig. 1.



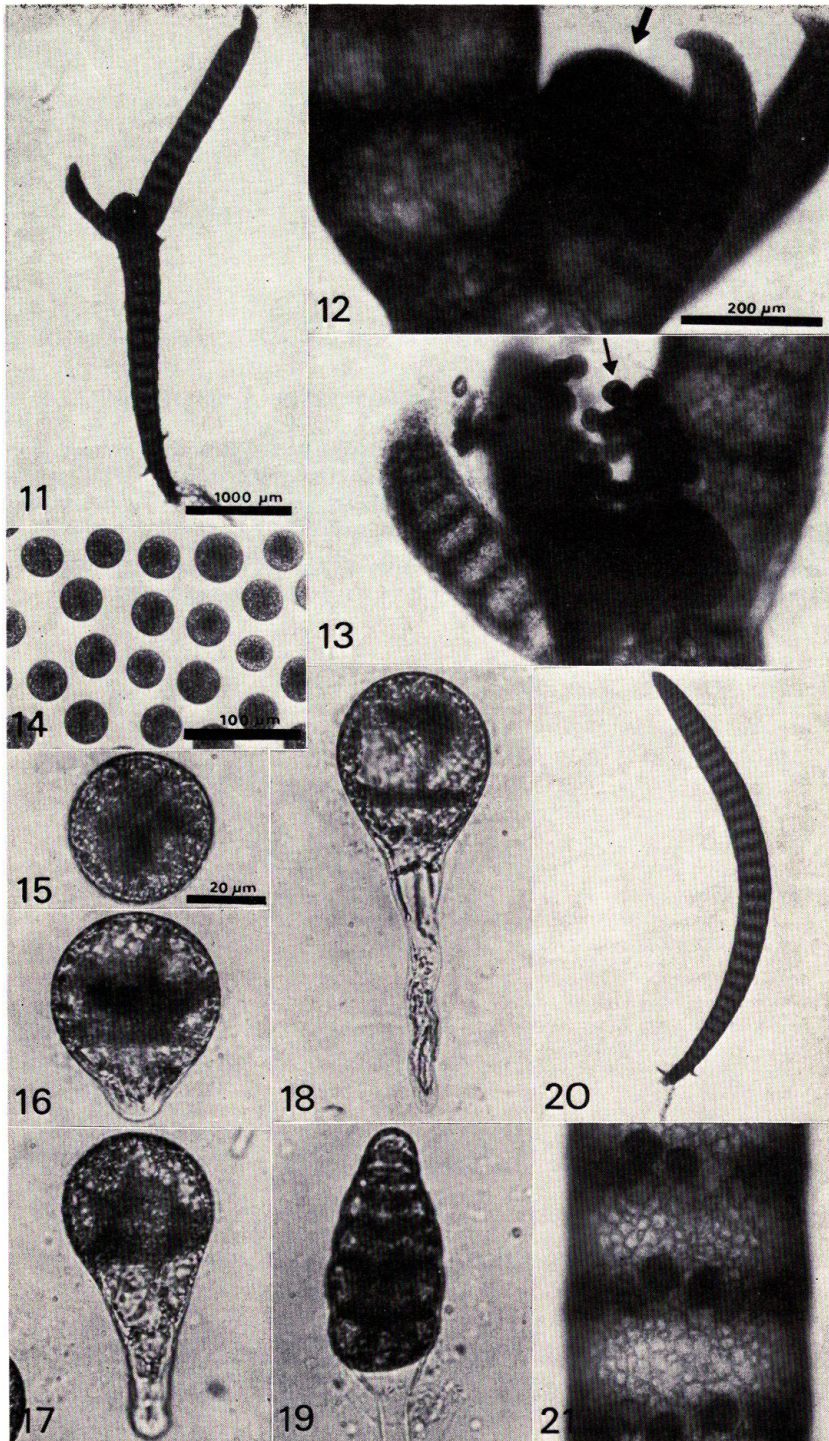
NOTOYA & YABU: Culture and cytology of *Ceramium*

PLATE II

Morphological phases in the life history of *Ceramium japonicum* Okamura in culture.

11. Female gametophyte bearing cystocarp.
- 12-13. Part of the female gametophyte bearing cystocarp. Carpospores just liberated (pointed by arrow) are visible in Fig. 13.
14. The carpospores on a slide, just after adhering.
- 15-20. Successive stages from the liberated carpospore to the formation of tetrasporophyte.
21. Part of the tetrasporophyte bearing tetrasporangia.

Magnification: Figs. 13 and 21 are in the same scale as shown by the bar in Fig. 12. Figs. 16-19 are in the same scale as shown by the bar in Fig. 11.



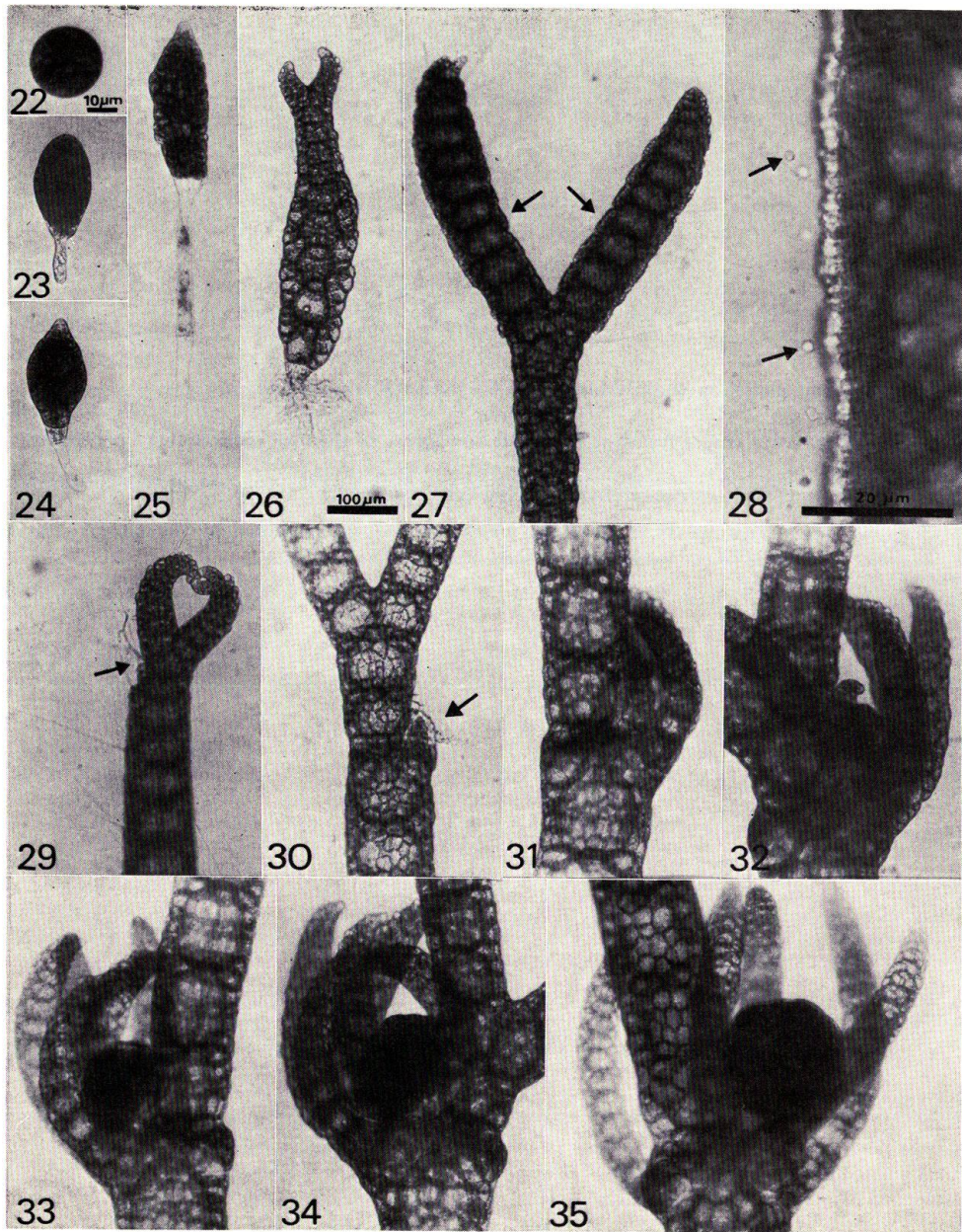
NOTOYA & YABU: Culture and cytology of *Ceramium*

PLATE III

Morphological phases in the life history of *Ceramium kondoi* Yendo in culture.

22-35. Successive stages from the liberated tetraspore to the formation of male (Figs. 27-28) and female (Figs. 29-35) gametophytes. The spermatium forming portion in Fig. 27, the liberated spermatia in Fig. 28, the tricogyne in Fig. 29 and early stages in the development of cystocarp in Fig. 30 are indicated by arrows, respectively.

Magnification; Figs. 23-25 are in the same scale as shown by the bar in Fig. 22. Fig. 27 and Figs. 29-35 are in the same scale as shown by the bar in Fig. 26.



NOROYA & YABU: Culture and cytology of *Ceramium*

PLATE IV

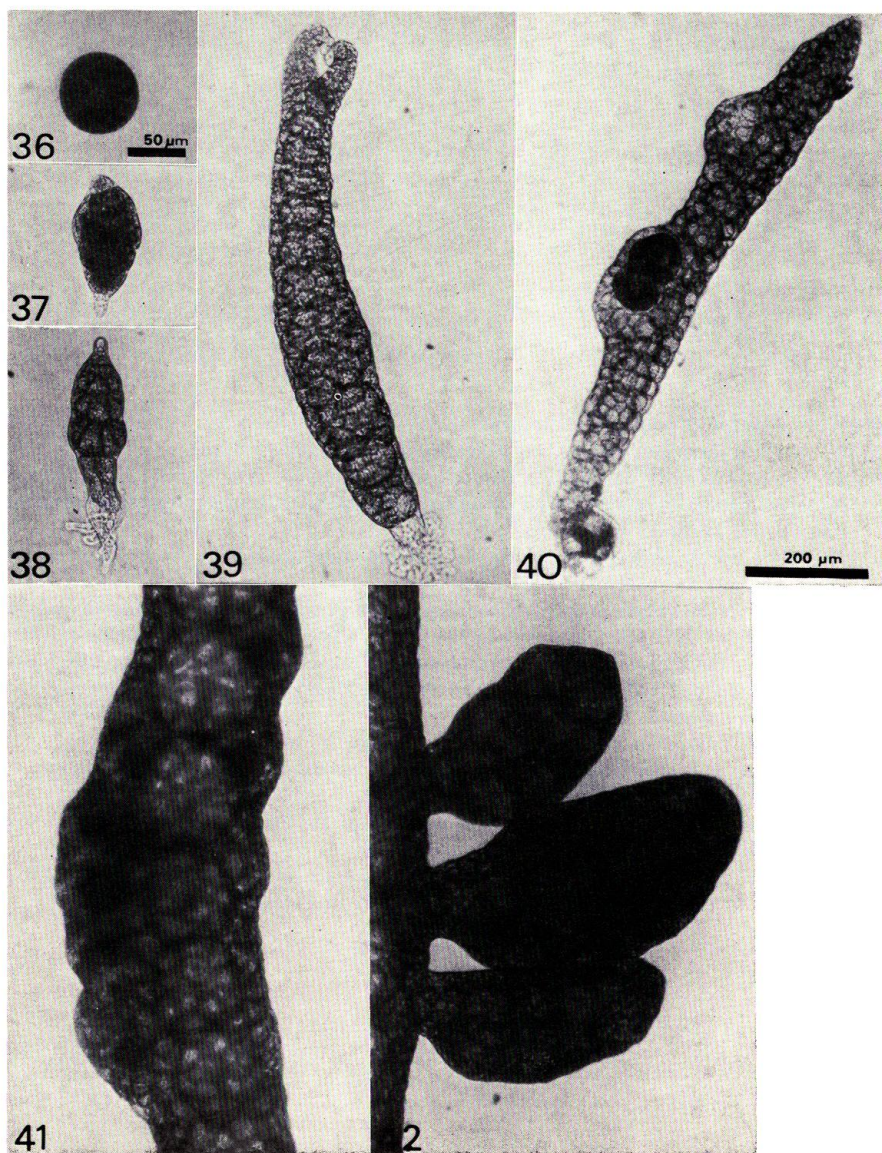
Morphological phases in the life history of *Ceramium kondoi* Yendo.

36-40. Successive stages from the liberated carpospore to the formation of tetrasporophyte in culture.

41-42. Part of the tetrasporophyte bearing tetrasporangia.

Magnification: Figs. 37-38 & 41-42 are in the same scale as shown by the bar in Fig.

36. Fig. 39 is in the same scale as shown by the bar in Fig. 40.



NOTOYA & YABU: Culture and cytology of *Ceramium*

PLATE V

43-50. *Ceramium japonicum* Okamura.

43-49. Nuclear divisions in the early stages of tetraspore-germling;

43. Nucleus at early prophase in one-cell-stage germling. 44. Nucleus at late prophase in one-cell-stage germling. The chromosomes appear within the nuclear cavity. The same figure is shown in text-fig. 1-A.

45. Two nuclei at early prophase in one-cell-stage germling. One large and four small nucleoli are visible in one of the nuclei.

46. Four nuclei at late prophase in one-cell-stage germling. Chromosomes are visible in the nucleus at the upper right side in the figure. The same figure is shown in text-fig. 1-B. 47. Four nuclei at midprophase in one-cell-stage germling. 49. More advanced stage of the germling than in Fig. 48. Most of the cells in the germling come to have multi-nuclei.

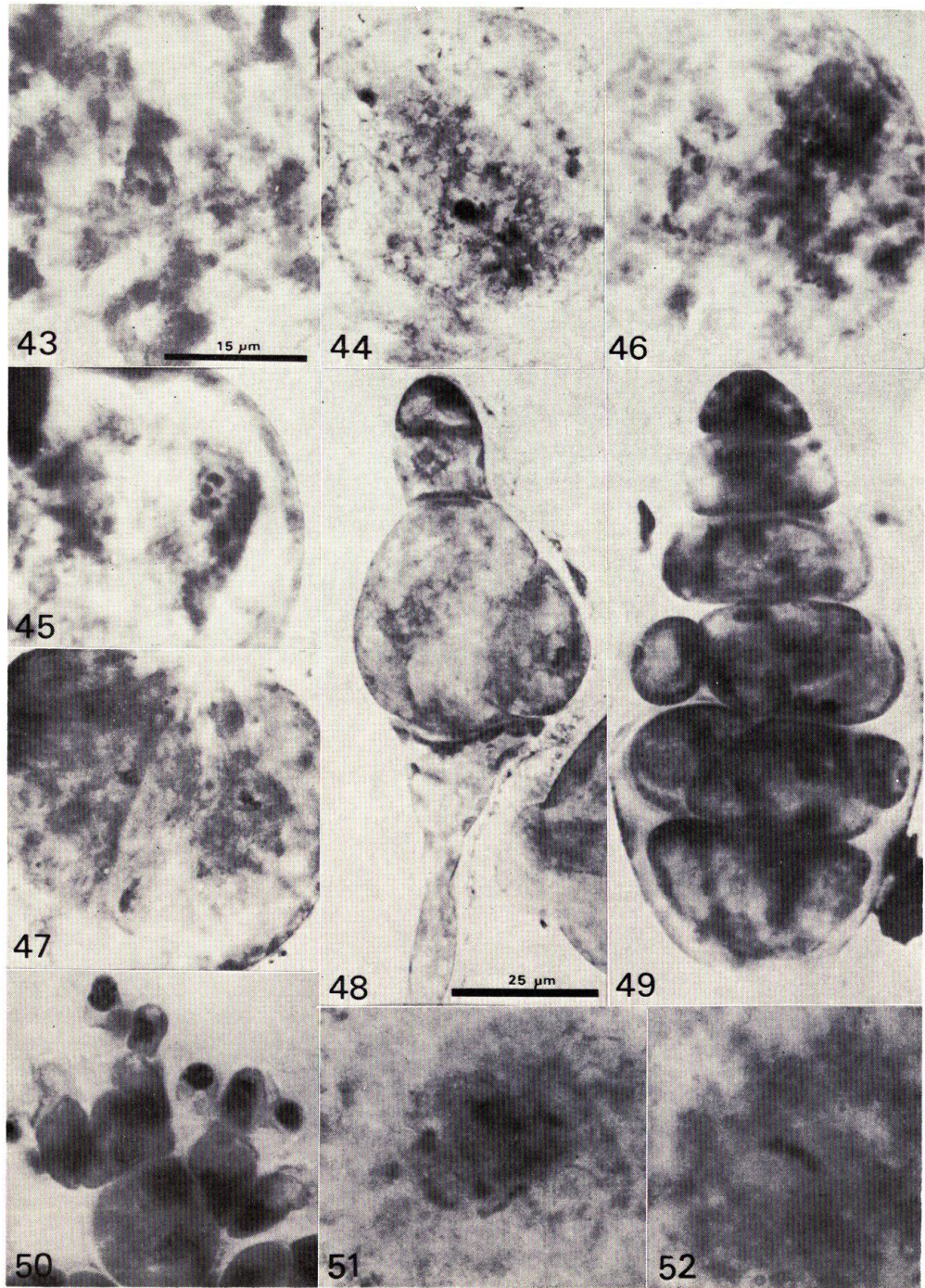
50. Nuclear divisions in the spermatium formation in male gametophyte.

51-52. *Ceramium kondoi* Yendo. The first nuclear divisions in the tetrasporangium from the plant in nature.

51. Early metaphase. The same figures are shown in text-fig. 1-C. 52. Side view of metaphase.

Magnification: Figs. 44-47 & 50-52 are in the same scale as shown by the bar in Fig. 43.

Fig. 49 is in the same scale as shown by the bar in Fig. 48.



NOTOYA & YABU: Culture and cytology of *Ceramium*