

Melosira moniliformis の有性生殖*

右 田 清 治

Sexual Reproduction of *Melosira moniliformis* AGARDH

Seiji MIGITA

The auxospores of centric diatoms had long been thought to be formed asexually. In recent years, our knowledge of the sexual reproduction and life history of the diatoms has been greatly advanced. Accordingly, STOSCH¹⁾ demonstrated auxospore formation by oogamy in *Melosira varians*, and then STOSCH²⁻⁵⁾ and DREBES^{6,7)} studied sexual reproduction in several species of Centrales.

In the present report, the author studied on the morphology and ecology of sexual reproduction of *Melosira moniliformis* AGARDH, using materials collected from the mouth area of the Hachiro River near Nagasaki. Some physical factors affecting gametogenesis of this alga, such as temperature, light intensity and chlorinity, were also studied experimentally. The results obtained are summarized as follows:

The formation of spermatogonia and oogonia was observed on narrow clones, ranging between 7μ and 20μ in diameter. The male cell, after one or two mitotic cell divisions, forms two or four spermatogonia, and then produces four spermatozoa in each spermatogonium.

The spermatozoa are globular or ovate in shape, being $10\sim 12\mu$ long and $5\sim 8\mu$ wide, poor in plastids, and they each possess one flagellum of about 18μ . The spermatozoa leave behind much of the cystoplasm and the plastids at the time of swimming.

The oogonia are developed directly from vegetative cells, accompanied by elongation of the cell and multiplication of plastids. One egg cell is formed in each oogonium. After fertilization, a zygote develops into an auxospore. Fully grown auxospores are enlarged 2.3 times the mother cells in mean diameter.

This alga is monoecious, one clone producing male and female gametes, like all centric diatoms hitherto studied.

The sexuality seems to be intimately connected with the phenomenon of cell size decrease in this species. The suitable size for producing male and female cells is shown in Fig. 4.

In reference to physical factors affecting sexual reproduction, temperature levels between 15° and 20°C were proved to be most effective. Especially, light intensity influenced on sex determination; female cells were mostly produced under strong light, whilst male cells were produced under weak light.

*内容の一部は日本海洋学会・日本プランクトン研究連絡会共催シンポジウム「プランクトンの生殖と生活史」(1967年4月, 東京)で発表した。

中心珪藻目の有性生殖については、Stosch¹⁾の *Melosira varians* での研究を契機として、多くの種類で卵配偶が観察され、その接合子が増大胞子に発生することが確かめられた。さらに Stosch²⁾はその後有性生殖により増大胞子をつくる種類でも無性的な栄養増大を行なうのを観察している。

付着珪藻 *Melosira moniliformis* の有性生殖については、すでに Stosch³⁾が精子形成について報告しているが、著者も1964年秋に精子放出を検鏡し、その後卵配偶による増大胞子形成を観察した。ここでは、有性細胞の形態や有性生殖の生態などについて、これまでの観察や実験の結果を報告する。

材 料 と 方 法

実験材料の *M. moniliformis* は、長崎市東長崎の八郎川汽水域でアナアオサ・オゴノリなどの海藻に付着しているものを分離した。

培養にあたり、これらの海藻をガラス板をしいたシャーレ中で洗って付着珪藻を落とし、3時間静置した後、珪藻の付着したガラス板を水道の流水でよく洗い新しい培養容器に移し、1cmぐらいに伸びた *M. moniliformis* を1群体毎に釣り上げて分離培養した。

培養液には、海水を比重1.015~1.020に水で稀釈して、その1ℓに硝酸ソーダ0.1g、第二リン酸ソーダ0.02g、珪酸ソーダ0.02g、ビタミンB₁₂ 0.1μgおよびキレートした数種の微量元素*を添加したものを使用した。培養容器には径3cm、高さ8cmの管瓶や100mlのビーカーを用い、とくに精子形成の観察には底にガラス板をしき、培養後それを静かに取上げてその上に沈着したものを検鏡するようにした。

有性生殖の形態については、あらかじめ細胞の直径の違った群体を幾つか培養しておき、そのうち有性細胞を形成したものを連続して観察した。また有性生殖の生態については、適当な大きさの群体を幾つかの培養容器に接種し、各条件下に短期間おいて、その後の有性細胞の出現率をしらべた。

有 性 細 胞 の 形 態

精子形成 *M. moniliformis* における栄養細胞の有性化は、すでに多くの珪藻で確かめられているように、或る程度縮小した群体で観察される。この実験を通じて、有性細胞は直径が20μ以下とくに15μ以下の細胞で多く形成され、それ以上大きな細胞ではほとんどみられなかった。

造精器は、栄養細胞が1、2回の普通の体細胞分裂を行なって2個または4個つくられる (Fig. 1, A~C, Plate I, A, B)。この際4個に分れるのは栄養細胞が大きいものようであった。分裂前の精母細胞は普通の栄養細胞と外見的な相違は認められないが2分裂後のものは染色体などの細胞内容が貧弱である (Fig. 1, B・C, Plate I, B)。造精器は、径10μのもので形成直後は長さ8~12μであるが、十分に伸長すると約17μの長さに達する。造精器の内容は引続く2回の分裂により4精子となる (Fig. 1, D・E,

*Na₂EDTA 3mg, FeCl₃・6H₂O 0.4mg, MnCl₂・4H₂O 0.3mg, ZnCl₂ 0.02mg, CuSO₄・5H₂O 0.0005mg, CoCl₂・6H₂O 0.0004mg

Plate I, C~E). なお造精器内では内容が2分裂の状態ですでにゆっくり運動している場合が多い。

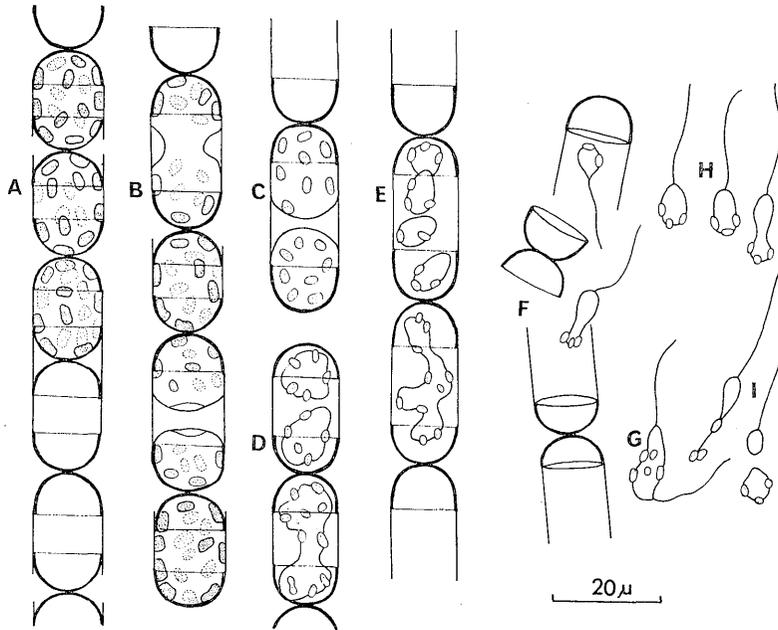


Fig. 1. Formation and liberation of spermatozoa in *M. moniliformis*. A, narrow vegetative cells, which develop into spermatogonia. B·C, spermatogonia produced by successive division of the narrow cells. D·E, formation of spermatozoa in each spermatogonium. F, liberation of spermatozoa. G, unseparated spermatozoa. H, liberated spermatozoa. I, spermatozoa leaving behind much of protoplasm.

M. moniliformis では造精器の内容がほとんどすべて精子に配分され、細胞内には残留物質は残らない。しかし、造精器の容積と比較すると精子はかなり小さく、細胞内に広いすきまができる (Fig. 1, E, Plate I, E)。

精子は、しばらく造精器内で動きまわっているが、やがて蓋殻と殻帯部がはなれて、そのすきまより泳ぎでる (Fig. 1, F, Plate I, D)。放出後の精子は、径5~8 μ 、長さ10~12 μ の卵形ないし長卵形で、先端に長さ18~20 μ の1本の鞭毛と後部に2、3の淡色の色素体を有する (Fig. 1, H, Plate I, F)。また2個あるいは4個の精子が結合したままで放出され、その後個々に分れる場合もある (Fig. 1, G)。なお精子は放出時または放出後の遊泳中に色素体などの原形質の1部を切り離して、径3~5 μ の透明な球状となって泳ぐようになり (Fig. 1, I)，そういう状態のものはさらに活発に運動する。

生卵器と増大胞子形成 生卵器は、本来造精器ができる同じ群体上につくられるが、一般には造精器をつくるものよりやや太い群体でその形成が多かった。外見的に生卵器は栄養細胞が伸長してつくられ、細胞内容が濃く充実してくる (Fig. 2, A, Plate I, G)。その大きさは径12 μ の細胞で長さ30~40 μ であったが、母細胞の直径が大きいものほど伸

長の程度は小さい傾向がみられた。

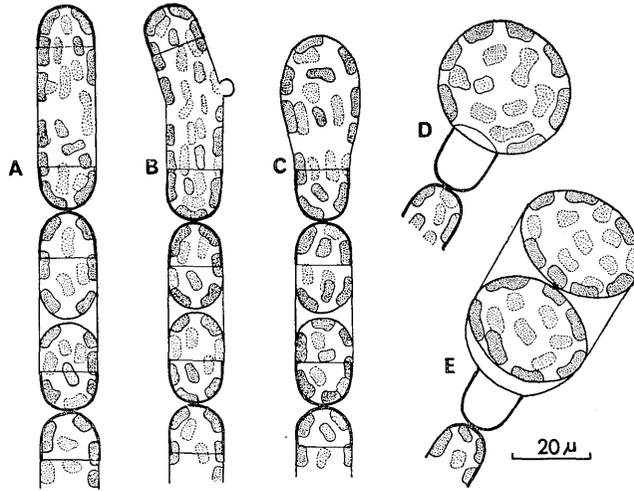


Fig. 2. Fertilization of oogonium and formation of auxospore in *M. moniliformis*.
A, stretched oogonium. B, fertilization of oogonium.
C, enlargement of zygote. D, fully grown auxospore.
E, cell division of auxospore.

生卵器の内容はそのまゝ1個の卵となり、受精は生卵器の殻帯部の内外殻のすきまより精子が進入して行なわれる (Fig. 2, B Plate I, H). 受精卵は直ちに肥大をはじめ増大胞子に生長する (Fig. 2, C ~ E, Plate I, I · J). その際、受精卵の内容は生卵器の古い被殻の中央部に肥大しながら移行し、その過程で内外殻の一方がはずれ、他方が増大胞子としばらく連結している場合が多い。

十分に生長した増大胞子 (実際には増大胞子が2細胞以上に分裂したとき) の直径とその母細胞 (生卵器) の直径を比較した結果は、Fig. 3 のようになり、直径の増大率は母細胞の1.8~2.7倍平均2.3倍となった。しかし、Fig. 3 の図中の記号はそれぞれ異なる培養実験の結果を示したもので、増大率にもやや相違がみられる。また大きい母細胞の増大率は細い母細胞のそれより小さい値となっている。

本種の造精器、生卵器細胞は小型で、

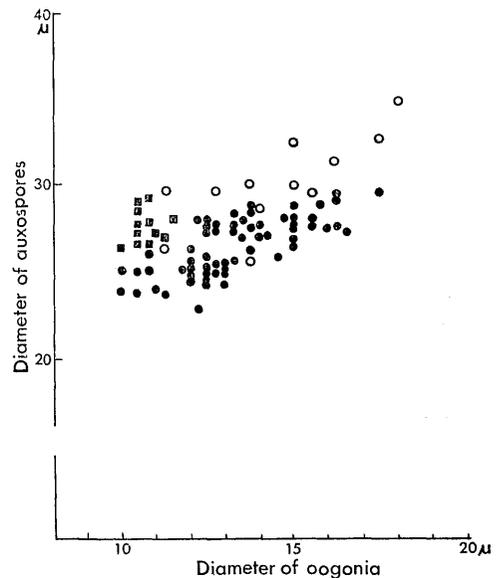


Fig. 3. Relation between diameter of oogonia and that of auxospores in *M. moniliformis*.
Culture periods ; ●...Nov. 2~9, 1965.
■...Jan. 10~16, 1966. ○...Apr. 15~21, 1966.

そのままでは核は観察できないので、酢酸アルコール(1:3)で30分~1時間固定し、10%鉄明ばん液で媒染後、酢酸カーミンで染色してみた。その結果では、核の詳細な行動は追究できなかったが、生卵器の核は精母細胞より大きい傾向がみられ(Plate I, A)造精器内に4核(Plate I, D・E)、生卵器に2核、3核の状態(Plate I, H・I)のものがみられた。これらのことより、造精器、生卵器では細胞分裂をとまわらない引続く2回の核分裂が行なわれるものとみなされる。

有性生殖の生態

有性細胞の大きさ *M. moniliformis* の栄養細胞が造精器、生卵器などの有性細胞に変わるのは、珪藻他の種類と同様に、或る程度直径が縮小したものに限られる。そこで

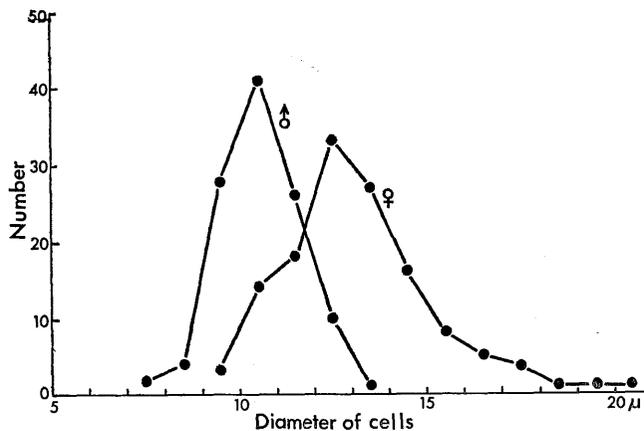


Fig. 4. Diameter of male and female cells in *M. moniliformis*.

これまでの実験で有性細胞形成時の細胞の直径を測定してみたところ、Fig. 4 のようになった。すなわち造精器は7~14 μ 、生卵器は9~21 μ の細胞でその形成がみられ、一般に前者は小さい細胞に後者はより大きい細胞に形成され易い傾向がある。

なお、雌雄細胞が同一群体上につくられるのも少なくないが、この実験では有性細胞形成後に群体が細断されていたので、測定時に雌雄両細胞を形成した群体が少なく、Fig. 4には図示していない。

温度・光・塩分の影響 有性細胞の形成に適した径10~14 μ の群体を同量ずつ接種して温度・光・塩分などの条件をかえて、短期間培養した場合の雌雄細胞の出現率をしらべてみた。この実験は1966年4月13日から18日まで行ない、結果は各培養容器毎の雌雄細胞形成群体数を全群体数の百分率でTable 1に示した。

まず温度については、実験範囲の10~25 $^{\circ}$ Cでいずれも有性細胞の形成がみられるが、雌雄細胞ともに15、20 $^{\circ}$ Cでその出現率が多くなっている。なお一般的な培養では7 $^{\circ}$ Cあるいは29 $^{\circ}$ Cなどの温度下でもまれに増大胞子をつくることがあった。

光は雌雄でその形成に違った影響を及ぼし、雌性細胞は1000lux以上の高照度で多く500lux以下の低照度ではほとんど形成されないが、雄性細胞は低照度でもよくつくられ

Table 1. Effect of some physical factors on gametogenesis of *M. moniliformis*.

I Temperature

Sexuality	Temperature °C			
	10	15	20	25
Female	6.3*	30.6	51.4	17.2
Male	1.3	10.2	13.0	7.6

II Light intensity

Sexuality	Light intensity lux			
	200	500	1000	2000
Female	0	0	35.8	36.5
Male	1.9	12.1	6.3	2.2

III Chlorinity of sea water

Sexuality	Chlorinity Cl %				
	4.3	8.0	11.8	15.0	18.0
Female	0	17.0	23.2	40.0	10.3
Male	0	8.0	2.8	2.7	2.3

* Percentage of clones bearing sexual cells in each culture.

た。

塩分の影響は Cl 11.8, 15.0% で有性細胞が多く出現し, Cl 4.3% の低鹹水ではその形成がみられなかった。

なお, これらの実験を通じて雌性細胞に比べて雄性細胞の出現率が小さい値となっているのは, 材料の *M. moniliformis* の群体が雌性化に適した大きさであったものとみなされる。

考 察

中心珪藻で精子と卵の受精により増大胞子が形成されることを STOSCH¹⁾ が *Melosira varians* で実証して以来, STOSCH^{ら²⁻⁶⁾} は中心珪藻目の数種で同様の事実を観察し, この *Melosira moniliformis* についても STOSCH³⁾ の精子形成に関する研究が報告されている。

有性細胞の形態については, この研究で本種の栄養細胞が 1, 2 回の体細胞分裂を経て 2 または 4 個の造精器をつくり, 各造精器に 1 鞭毛をもつ 4 精子が形成されることは, STOSCH³⁾ の *M. moniliformis* での観察とよく一致し, また *Stephanopyxis turris*⁶⁾ *S. palmeriana*⁷⁾, *Skeletonema costatum*⁸⁾ の精子形成の様子とも類似している。ただ STOSCH³⁾ の観察では本種の造精器は 20 μ 以上の直径であるのに, この実験での造精器は大きいもので 14 μ でありかなり小さくなっている。このことは産地が違えば同一種においても有性細胞を形成する大きさに幾らか相違があることを示唆しているように思う。

一方、生卵器は本来造精器をつくる同じ群体に形成されるが、一般にはより直径の大きい細胞でその形成が多い。生卵器には1卵細胞がてき、受精卵は直ちに肥大して増大胞子に発生することなどは、他の種類でのこれまでの観察結果とほぼ同様である。十分に肥大した増大胞子の直径は母細胞の1.8~2.7倍で、これは *Skeletonema costatum*⁶⁾ の増大率(平均3.4倍)よりかなり小さい値であり、種類によって増大率には差があるものと考えられる。また本実験では培養時期によって増大率に幾らか差がみられたことなどから、培養条件や母細胞の大きさでも増大率は相違するものようである。

M. moniliformis の有性細胞は小型であって、生きている状態で核の形や行動は観察できなかった。しかし酢酸カーミンによる染色では、造精器で4核か生卵器で2核3核の状態がみられたことから、Stosch¹⁾ の *M. varians*, Drebbs⁷⁾ の *Stephanopyxis palmeriana* などでの観察と同様に、造精器で4精子が形成され、生卵器で連続2回の核分裂で娘核の1つずつが退化し1卵核がつくられる際に減数分裂が行なわれるものと考えられる。したがって本種の核相は、栄養細胞が複相で精子・卵細胞が単相であり、しかも雌雄同体であると推察される。

有性生殖の生態に関しては、有性生殖を行なうための条件としてまず細胞の縮小という内部的条件か外部的環境条件に先行することが考えられる。すなわち *M. moniliformis* で生卵器は20 μ 以下とくに10~15 μ 、造精器は15 μ 以下とくに8~12 μ の細胞で多く形成される傾向がみられた。ところで、増大胞子の平均増大率を2.3倍とし、比較的に大きい生卵器の直径を17 μ とすれば、その増大胞子に由来する大きい群体の直径は39 μ となり、本実験の材料採集地で1年を通してみられた最大細胞の直径38 μ とほぼ一致する。しかし本種では径60, 70 μ の大型個体の記載もあるので^{9, 10)}、より大きな細胞でも有性生殖を行なわなければならないことになり、実際 Stosch³⁾ の観察では20 μ 以上の細胞が精子を形成していることをみても、有性細胞の大きさは前述したように産地によって相違すると考えざるをえない。

培養条件の有性生殖に及ぼす影響として、まず温度は10~25°Cあるいはより広い範囲で雌雄細胞がつくられるが、とくに15, 20°Cでその形成が多いことから、温度と増大胞子形成とはかなり密接な関係があると考えられる。また光は雌雄細胞でその形成に違った影響がみられ、生卵器は高照度でのみつくられるのに、造精器は低照度でも形成される。このような光の生決定に及ぼす影響は *Lithodesmium sp.*⁵⁾ や *Skeletonema costatum*⁶⁾ などでもみられる傾向のようである。さらに Cl 4.3% くらいの極度の低鹹においては、栄養細胞の有性化が阻害されるようである。これは、水域にもよく生育する本種の分布を規制する要因となるものと考えられる。

なお、本研究の培養実験を通して、Stosch^{6, 7)} が *Stephanopyxis* で報じた休眠胞子や Stosch²⁾ が *Biddulphia*, *Ditylum* などと確かめた栄養増大と思われる特殊な生殖法は観察できなかった。

摘 要

付着性中心珪藻 *Melosira moniliformis* を分離培養し、有性細胞の形態や有性生殖の生態について研究した。

1. 造精器および生卵器は7~20 μ の細い群体上につくられた。
2. 造精器は、栄養細胞が1, 2回の体細胞分裂により2または4個形成され、各造精器には4精子がつくられる。
3. 精子は、径5~8 μ 長さ10~12 μ の卵形、長卵形で2, 3個の小さい色素体と先端に約18 μ の1本の鞭毛を有し、遊泳途中に細胞質と色素体の一部を切り離す場合が多い。
4. 生卵器は栄養細胞が伸長してつくられ、細胞内容も充実してくる。受精は生卵器の殻帯部内外殻のすきまより精子が進入して行なわれる。
5. 受精卵は直ちに肥大して増大胞子となるが、十分に生長した増大胞子の直径は母細胞の平均2.3倍であった。
6. 雌雄細胞は同一群体上につくられるので、これまでに判明した他の中心珪藻と同様に、本種は雌雄同株である。
7. 本種の有性化は細胞の縮小と関係が深く、雄は7~14 μ 雌は9~21 μ の直径の細胞でそれらの形成がみられた。
8. 環境条件として、温度は15, 20°Cで有性細胞の形成が多かった。とくに光は性決定に影響し、生卵器は高照度(1000lux以上)でのみ形成されるのに、造精器は低照度(500lux以下)でもつくられた。

終りに、この研究を行なうにあたり種々便宜を与えられた長崎大学高良夫教授、種の査定や文献などのご教示をいただいた東海区水研高野秀昭博士、長崎大学飯塚昭二助教授に厚くお礼申し上げる。

文 献

- 1) STOSCH, H. A. v. : Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. 1. Die Auxosporenbildung von *Melosira varians*. *Arch. Microbiol.* **16**, 101—135 (1951)
- 2) ——— : Manipulierung der Zellgrösse von Diatomeen im Experiment. *Phycologia.* **5**, 21—44 (1965)
- 3) ——— : Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. 3. Die spermatogenese von *Melosira moniliformis* AGARDE. *Arch. Microbiol.* **31**, 274—282 (1958)
- 4) ——— : ———. 2. Geschlechtszellenreifung, Befruchtung und Auxosporenbildung einiger grundbewohnender Biddulphiaceen der Nordsee. *Arch. Microbiol.* **23**, 327—365 (1956)
- 5) ——— : Die Oogamie von *Biddulphia mobiliensis* und die bisher bekannten Auxosporenbildungen bei den Centrales. *Rapp. Comm. 8 ième Congr. Int. Bot. (Sect.)* **17**, 58—68 (1954)
- 6) STOSCH, H. A. v. und DREBES, G. : Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. 4. Die Planktondiatomee *Stephanopyxis turris*, ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte. *Helgoland. Wiss. Meeresunt.* **11**, 209—257 (1964)
- 7) DREBES, G. : On the life history of the marine plankton diatom *Stephanopyxis palmeriana*. *Helgoland. Wiss. Meeresunt.* **13**, 101—114 (1966)
- 8) 右田清治 : *Skletonema costatum* の有性生殖について。日水誌, **33**, 392—398 (1967)
- 9) CUPP, E. E. : Marine plankton Diatoms of the west coast of North America. *Bull. Scrip. Inst. Oceanog. Univ. Calif.* **5**, 39 (1934)
- 10) 小久保清治 : 浮游珪藻類, 恒星社厚生閣 (1960)

Explanation of Plates

Plate I. Sexual reproduction and auxospore formation in *M. moniliformis*.

- Fig. A : Narrow vegetative cells which will later develop into male or female cells.
 - Fig. B : Young spermatogonia.
 - Fig. C : Division of cell content in spermatogonia.
 - Fig. D · E : Four spermatozoa formed in each spermatogonium, showing liberation of them in Fig. D.
 - Fig. F : Liberated spermatozoon, having one flagellum.
 - Fig. G : Oogonium.
 - Fig. H : Fertilization of oogonium.
 - Fig. I : Enlargement of zygote.
 - Fig. J : A fully grown auxospore.
- (A~F, × ca 1500. G~J, × ca 1000)

Plate II. Nucleus of sexual cell in *M. moniliformis*, stained by acetocarmine.

- Fig. A : Oogonia and spermatogonia, showing that the nucleus of oogonium is larger than that of spermatogonium.
 - Fig. B · C : Spermatogonia, one of them having two nuclei.
 - Fig. D · E : Spermatogonia, one of them having four nuclei.
 - Fig. F · G : Oogonium having one nucleus.
 - Fig. H · I : Two oogonia, one of them having three nuclei.
- (All figures × ca 1200)

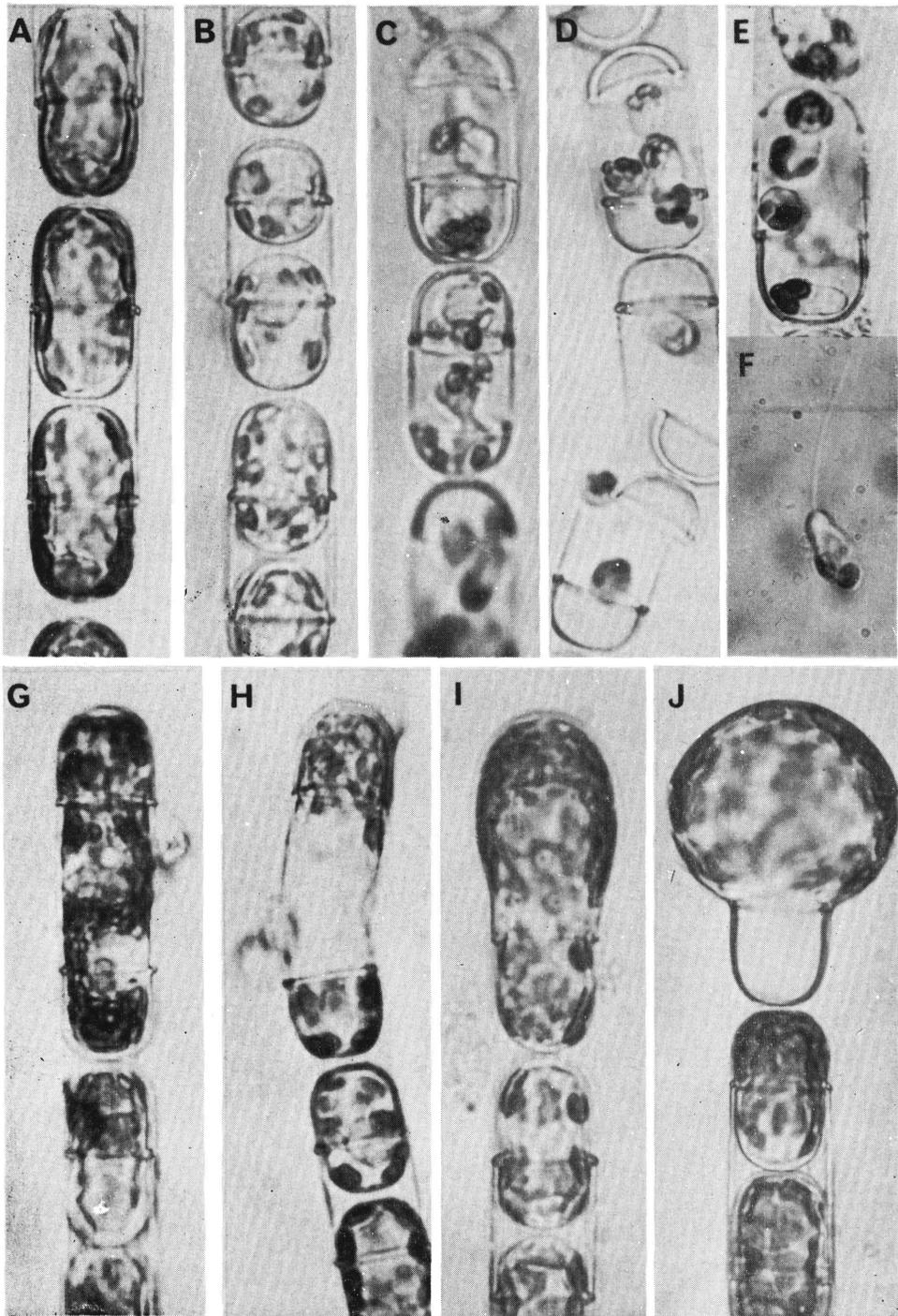


Plate I

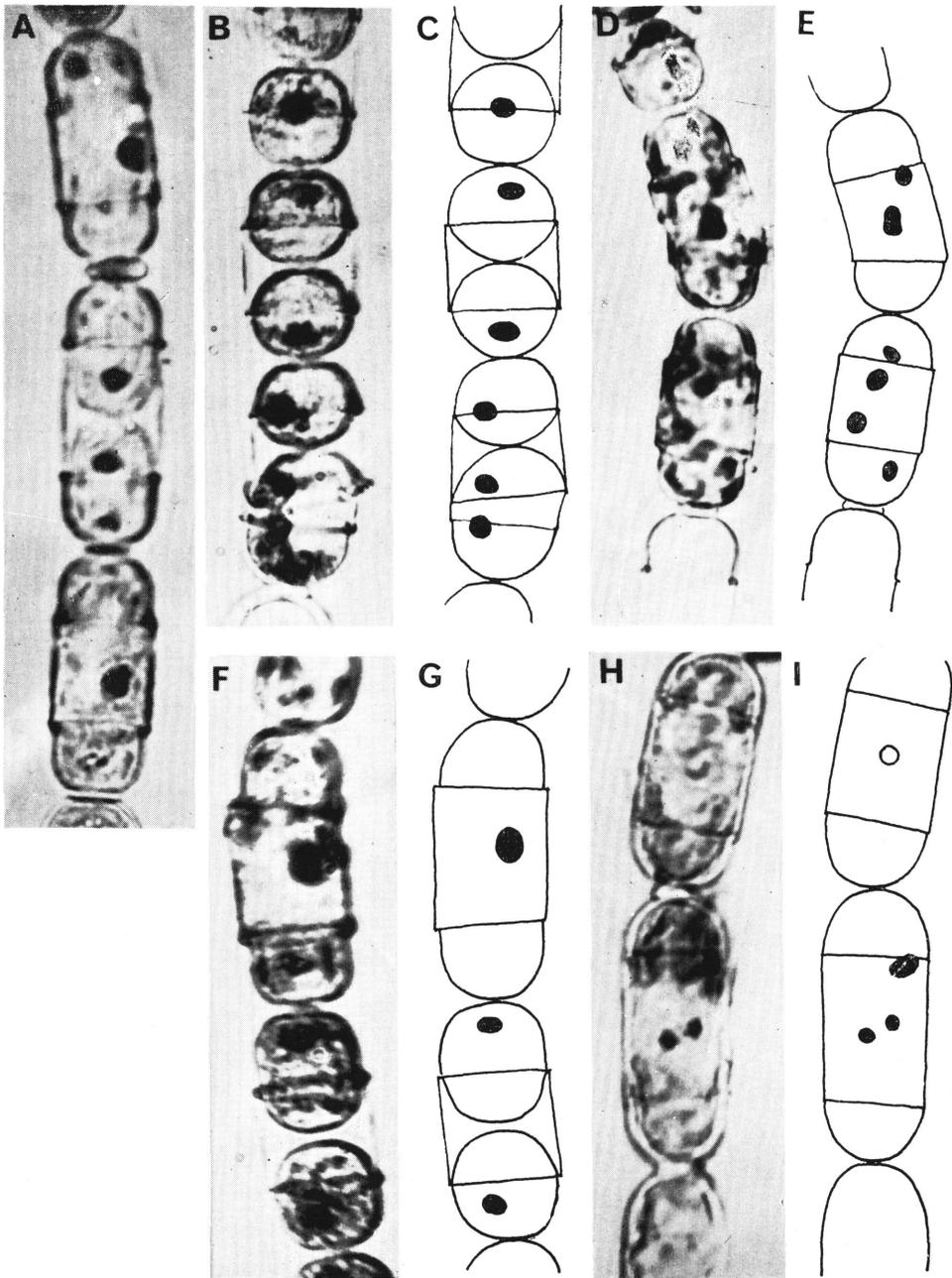


Plate II