

Undaria pinnatifida Suringar の孢子葉 (Sporophyll)の微細構造

奥 田 弘 枝

Fine Structure of Sporophyll of *Undaria pinnatifida* Suringar

Hiroe OKUDA

Abstract

The sporophyll is formed like an undulate wing at both side of the stipe when leaf of *Undaria pinnatifida* Suringar develops to 50cm in length. The sorus is formed at this region, and on the condition that temperature of water is about 14°C, the zoospores are liberated into the water.

Recently it is said that the polysaccharides which is included in sporophyll is effective to biological activities, though the chemical components and fine structure of the sporophyll are not known. In this experiment, the development and differentiation of fresh *Undaria pinnatifida* Suringar were studied by means of transparent electron microscope. The results revealed that the paraphysis is formed from developing epidermal cell. In the cytoplasm of paraphysis, there are a nucleus, nucleolus, several chloroplasts and many mitochondria. The Golgi body consist of well developed Golgi lamellae and vesicles. Many secreting vesicles are observed at the end of Golgi lamellae. The mucilage caps are stained pinkish by toluidine blue indicating to contain many mucoids.

The zoosporangial cell possess many nucleus, chloroplasts, Golgi bodies and many vesicles around mitochondria and nucleus. Some dense and osmiophilic bodies, which are suggestive of fucosan vesicles, are observed apical parts of paraphysis, basal cell and cortical cells. Many mucilaginous substances, which are stained violet-pinkish by toluidine blue and are suggested to contain many polysaccharides, are observed in the cell wall, intercellular spaces and mucilage caps.

I 緒 言

孢子葉 (sporophyll) は *Undaria pinnatifida* Suringar の葉長が50cm前後に成長すると、根に近い基状部に厚く短いひだ状の葉状器官として形成される。この部分に孢子嚢が形成され、水温が14°C前後に達する晩春や初夏になると、遊走子が放出される。非常に粘質性に富んだ部分で、メカブとろろや海とろろとして地域的に食されており、粕漬けや、みそ漬けなどにも加工

されている。胞子葉は奈良・平安時代には海藻根（マナカシ）と称され、朝廷への貢物に指定され、貢納価値はノリに次いで第二位の高さであったが、時代と共にその食用価値も変化し、大部分が切り取られて捨てられていた時代もあった。しかし、最近、胞子葉に抗ガン作用や動脈硬化予防作用があるとして注目されはじめている。Furusawa (1985) は胞子葉から抽出された抽出液がマウスに移植された Lewis 肺ガンに対して、抗ガン作用があると報告しており、他の制ガン剤との併用効果も認めている。また、Mori (1981) らは胞子葉から抽出した多糖画分が脂血清滯作用や血液凝固阻止作用があると報告している。このように有効な生物活性は、胞子葉に豊富に含まれている多糖類の働きによると推察されるが、含有されている化学成分の存在状態や微細構造は明らかにされていない。本報では胞子葉の基本的構造を究める基礎的研究の一環として、組織の微細解剖学的所見を得ることを目的とし、透過型電子顕微鏡（透過電顕）、光学顕微鏡（光顕）を用いて組織学的、細胞学的研究を行ったので報告する。

II 材料と実験方法

観察に用いた材料は、1980年11月から1981年6月にかけて、明石市東二見で養殖された葉長45～150cmの生鮮ワカメ（*Undaria pinnatifida* Suringar）の胞子葉（sporophyll）を用いた。採取後、胞子葉を0.1Mカコジル酸緩衝液（pH 7.4）で軽く洗い付着物を除去した後、胞子葉の葉長の中央部で、縁辺部から一片約2mmの小四角片を切り出し試料に用いた。試料は0.1Mカコジル酸緩衝液（pH 7.4）で稀釈した2%グルタルアルデヒドで前固定した後、1%オスミウム酸で後固定を行った。用いた試料は海水中に生育していることから浸透圧の変化が細胞の形態に与える影響を考慮して、まず10～40%のカコジル酸緩衝アルコールで脱水し、ついで50～60%のアルコール系列で順次脱水の後、エポン包埋した。LKBウルトラミクロトームで500～600Åの超薄切片を作成し、酢酸ウラニル液で約20分間、酢酸鉛液で10分間染色を施し、JEM100-B型透過電顕を用いて80kVで観察した。

光顕観察用試料は、前述のエポン包埋した試料から、厚さ5μmの切片を作製し、トルイジン青染色した後、観察した。

III 実験結果および考察

1. 胞子葉の発生と分化

胞子葉の発生は葉状部の葉長との関係が大きく、斎藤（1962）は原産地別で胞子葉を形成し始める葉長に差があり、天然体と養殖体では天然体の方が小さい葉長の時期から形成し始めたと言っている。

明石市東二見で養殖された *Undaria pinnatifida* Suringar は、葉長約45cm（胞子葉初期）の

時期に孢子葉が形成され始めた。葉長約80cmで、孢子葉の長さは約10cm (孢子葉中期) となり、側子が形成された。葉長約150cmで孢子葉の長さが約15cm (孢子葉後期) では遊走子囊群が形成されていた。そこで、葉長約45~150cmの茎状部に形成された孢子葉を用いて、その形態と組織化学的变化を光顕的に観察した。

孢子葉初期の形態は、最外層に波状形の細胞壁があり (Fig. 2), この部分が、トルイジン青によって薄紫色に染まっている。トルイジン青は粘質物を桃色~紫色に染める (L. リゾン1962) ことから、細胞壁は粘液性に富んだ多糖類 (炭水化物) を含んでいると考えられる。表層は横分裂によって上部細胞と下部細胞に分かれ (Ohmori, 1967), 上部細胞は後に側子となる。表層は葉状部 (奥田1980, 1982, 1985) や茎状部と異なり、10~20列の細胞単位で外側へ大きく湾曲していた。湾曲の著しい部分では表層と皮層の間に間隙が生じており、この部分に膜状物質が観察された (Fig. 2, 矢印)。湾曲していない表層では4~5層の細胞が見られた。

皮層の組織は10~13層の細胞で形成されており、葉状部の皮層に比べて5~6倍の厚さがあった。細胞内にはトルイジン青で青緑色に染色される細胞内物質が観察され、細胞壁は厚膜性であった (Fig. 2)。細胞壁や細胞間隙および髄層は紫色に染色されており、多くの粘質物が存在することを示唆している。

孢子葉の長さが約10cmの孢子葉中期は、表層細胞から分裂した上部細胞からさらに側子が形成され始めていた (Fig. 3, 矢印)。側子は basal cell の上部に細長く伸長し、海水面の方向に向かって互いに平行に配列した。側子側にはほとんど間隙は見られない。側子の先端部は一樣に黒く染色されており、オスミウム酸好性の物質の存在を示していた。側子の上部にある表層細胞は孢子葉の本体から離脱し、相互に遊離しているようにみられた。この時期、遊走子囊の母細胞の形成は認められなかった。皮層は11~13層の細胞からなり、孢子葉初期の形態と比べてほとんど変化が見られなかった (Fig. 3)。

孢子葉の長さが15cmの孢子葉後期では、側子や遊走子囊の形成が完了していた (Fig. 4)。側子は中期よりもさらに伸長し、頭部は半球状に大きく肥大していたが、基部 (proximal part) は細長く糸状体であった。側子の先端部は中期と同様にオスミウム酸で黒く一樣に染色されていた。棍棒状の遊走子囊が側子間に側子と同じ basal cell から形成されていた。Fig. 4 では様々な成長段階を示す遊走子囊が観察される。basal cell に突出部 (projection) が生じ、遊走子囊を形成し始めているものもあり、1個の basal cell から2~3個の遊走子囊が出る場合もあった。側子は遊走子囊よりも長く、40~75 μ mあり、先端に粘液帽を有した。粘液帽は桃色に染色されて粘液に富むことを示唆しており、互いに密接して粘液の層を形成し、遊走子囊群をおおってこれを保護していた。側子や遊走子囊の間には薄い膜状物質が存在し、トルイジン青で紫色に染色されることから、膜状物質は粘質物と考えられる。basal cell やこれに隣接する

皮層細胞にはオスミウム酸好性の物質が観察された。成熟したsorusの観察結果を模式図で示すと Fig. 1 のようになり、Ohmori (1967) の光顕による観察結果と一致した。

2. 孢子葉の超微細構造

次に孢子葉の発生に伴う超微形態の変化を透過電顕で観察した。

葉長約45cmの時期の孢子葉初期は、最外層に波状形の細胞壁を有し (Figs. 5, 6), その厚い部分は $5 \sim 8 \mu\text{m}$, 薄い部分は $2 \sim 3 \mu\text{m}$ あった。細胞壁は網目状の微小繊維からなり、電子密度は一様でなかった。微小繊維はセルロース (原, 1979) で構成されており、不規則な分散を示した。表層は、はじめ単層の表層細胞層であるが、横分裂 (transverse division, Fig. 5, 矢印)によって、上部細胞と下部細胞に分かれる。表層細胞は、隣接して配列する直径 $4 \sim 6 \mu\text{m}$ の立方形の細胞や、長径 $5 \sim 6 \mu\text{m}$, 短径 $2 \sim 4 \mu\text{m}$ の円柱状の細胞、およびくさび形の細胞からなり、細胞質の占める割合が高く、細胞壁の厚さは厚い部分で $0.5 \sim 0.8 \mu\text{m}$, 薄い部分で $0.2 \sim 0.3 \mu\text{m}$ であっ

た。隣接する細胞の細胞質間には多数の原形質連絡があり、細胞間情報伝達が盛んに行われていることを示唆している。細胞壁は成熟した葉状部の表層部とは異なり緻密ではなく、多数の空隙が観察された。胞体内には核、葉緑体、ミトコンドリア、ゴルジー体、オスミウム好性の大型の dense body, ミエリン構造、大小の液胞等の細胞小器官が認められた。これらの細胞小器官を包む膜状物質が細胞壁内へ陥入し、それを押し広げている像が観察され、細胞間連絡の形成初期像とも推察される (Figs. 5, 7)。核は長径約 $3 \mu\text{m}$, 短径約 $2 \mu\text{m}$ のほぼ楕円形で通常単核であった (Figs. 5, 7)。核は二重膜によって包まれており、核質は電子密度中等度の微細な顆粒状を呈した。核の中心部にはやや電子密度の高い直径約 $0.6 \mu\text{m}$ の球状の核小体が1個見られる場合が多かった。葉緑体は細胞当り1~2個存在し、長径 $2 \sim 3 \mu\text{m}$, 短径 $1 \sim 2 \mu\text{m}$ 前後の紡錘形で、成熟した葉状部の葉緑体よりやや小さく、その数も少なかった。葉緑体は二重

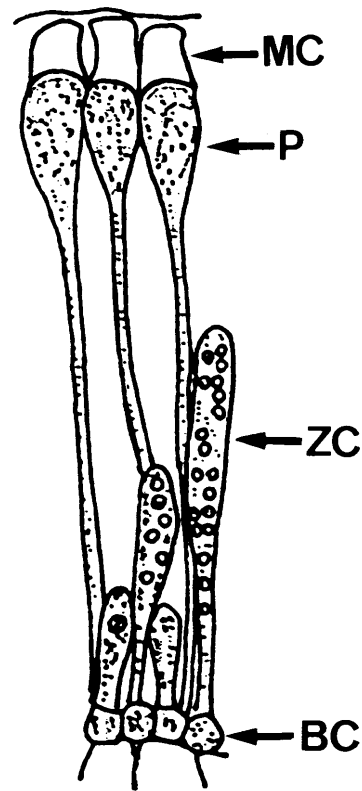


Fig.1. Schema of Sorus of *Undaria pinnatifida*. Mucilage cap (MC), Paraphysis (P), Zoosporangial cell (ZC) and basal cell (BC) are shown.

の葉緑体包膜で包まれ、チラコイドは葉緑体の長軸にほぼ沿って平行に配列しており、葉状部の葉緑体と同様に6枚の膜が単位となつて一つのバンドを形成していた。1個の葉緑体に6～10条のバンドが認められ、ある部位では隣接するバンド間で、2～4条のチラコイドの移行が認められた。*Polysiphonia morrowii* Harvey (植田1979) の葉緑体に見られるようなチラコイドのガードルバンドは認められなかった。また、ピレノイドに関して、Hori(1971) は本邦における多くの褐藻類のピレノイドの有無を調べて、一般に生殖方法として同形配偶子接合(isogamy) または異形配偶子接合(anisogamy) をとるものはピレノイドを有し、卵受精(oogamy) のものはピレノイドを有しないと述べているが、葉状部の葉緑体と同様に見い出すことが出来なかった。ミトコンドリアは普通1個の細胞に5～8個存在し、その大きさは葉状部のミトコンドリアとほぼ等しく、長径約 $0.5\sim 0.6\mu\text{m}$ 、短径 $0.3\sim 0.4\mu\text{m}$ の楕円形を呈し、葉緑体の周辺に近接して見られた(Figs. 5～7)。クリステは管状でその数が多かった。ゴルジー体が発達しており、核や葉緑体に近接して観察された。葉状部と異なり、オスミウム好性のdense bodyが存在し、細胞質のかなりの部分を占めていた(Fig. 6)。その大きさは直径 $0.2\sim 2\mu\text{m}$ と変化に富み、ほぼ円形ないし楕円形を呈するものが多かった。これらのdense bodyの電子密度はやや不均一であった。表面構造は滑らかではなく、やや粗い状態が推察された。最外層の細胞壁に近い細胞上部の葉緑体の周辺部に多く認められた(Figs. 5, 6)。細胞内には小胞が存在し、その内部にはやや電子密度の高い、円形の数個の小型intracisternal granuleが認められた。これらの小胞内部には同心円状の膜を持ったミエリン構造も観察された。

皮層組織は、10～13層の細胞で形成されており、その大きさは平均長径 $10\sim 18\mu\text{m}$ 、短径 $6\sim 10\mu\text{m}$ 前後で、表層の細胞に比較して2～3倍の大きさであった(Fig. 8)。細胞壁は網目状の微小繊維で構成され、厚い部分で $0.8\sim 1.0\mu\text{m}$ 、薄い部分で $0.4\sim 0.6\mu\text{m}$ あり、表層細胞の細胞壁よりやや厚めであった。細胞内には1～2個の葉緑体、数個のミトコンドリア、オスミウム好性のdense bodyや液胞等が観察された。内皮層の細胞では、縮小した葉緑体や、不鮮明で乱れが生じたチラコイドが認められた。また、ミトコンドリアやゴルジー体等の細胞小器官が減少し、液胞が細胞内の大部分を占めるようになり、細胞質は細胞壁に沿った部分だけに存在した。液胞は一重のトノプラストに包まれており、部分的に細胞壁に接していた。内皮層の細胞にもオスミウム好性のdense bodyが観察された。

孢子葉の長さが約10cmの孢子葉中期の表層は、2～3層の細胞から形成されており、細胞壁の一部は非常に薄く、容易に千切れ易くなっていた。また、ある細胞は細胞壁が崩壊して、細胞小器官や細胞内物質が細胞外へ流出して、細胞間隙が形成された(Figs. 9, 10)。こうした細胞では葉緑体の輪郭や、バンドが不鮮明となり、細胞質の周辺部に多くのライソゾームが観察された。崩壊現象の見られない表層細胞もあり、この細胞では孢子葉前期と同様、正常な細胞

小器官が観察された。核は直径約 $4\mu\text{m}$ で大きな体積比を占めており、核質は微細な顆粒物質がほぼ均一に分布していた。核小体はやや電子密度が高く、直径が約 $1\mu\text{m}$ あった。葉緑体は細胞当り 4～5 個観察され、胞子葉前期よりも数が増加していたが、バンドは 4～5 条で少なく、中にはバンドが不鮮明なものや、萎縮しているものも見られた。ミトコンドリアは、胞子葉前期と大きさはあまり変わらないが、一般的にその数が多く、10 数個観察される細胞もあり、エネルギー代謝が活発であることが推察された。ゴルジー体は、胞子葉前期よりもさらに *cisternae* が発達しており、ゴルジー囊の形成がなされ、分泌小胞（黒住, 1973）が活発に作られていることを示唆した。オスミウム好性の *dense body* は直径 $0.4\sim0.7\mu\text{m}$ の円形や、長径 $0.7\sim1.1\mu\text{m}$ 、短径 $0.4\sim0.7\mu\text{m}$ の楕円形をしており、大きさは胞子葉前期とあまり変わらないが、細胞の表層側（海水側）に偏在している場合が多かった。ある表層細胞は長径約 $12\sim13\mu\text{m}$ 、短径約 $3.5\sim4\mu\text{m}$ の細長い細胞に成長しており、側子への移行細胞と考えられた (Fig. 11)。細胞内には直径約 $3.5\sim4\mu\text{m}$ の単核と、直径約 $1\mu\text{m}$ の核小体が観察された。葉緑体は少なく、1～2 個しか存在せず、大きさは長径約 $2\mu\text{m}$ 、短径約 $1\sim1.5\mu\text{m}$ のやや小型で、バンドの不明瞭なものも観察された。核に隣接して存在するゴルジー体は *cisternae* の外縁部分が大きく膨化し、分泌小胞の形成が活発であった。ミトコンドリアは数個存在し、オスミウム好性の *dense body* は細胞の表層側（海水側）に偏在していた。内部に多数の小型の顆粒をもつ小胞が存在し、液胞が細胞の体積の約 $2/3$ を占めている細胞もあった。

葉長約 150cm の胞子葉後期になると側子は、長さが $40\sim75\mu\text{m}$ の細長い細胞に成長しており、頭部は直径 $4\sim6\mu\text{m}$ の半球状の形で、細胞壁の厚さは $0.1\mu\text{m}$ であった (Fig. 12)。側子の基部は細長く直径 $2\sim3\mu\text{m}$ の糸状体 (filamentous) となっており、*basal cell* に近い部分の細胞断面は円形、楕円形、細長い楕円形やムスビ形など一定していなかった (Fig. 20)。側子の細胞壁の厚さは部位によって異なり、中間部で $0.3\sim0.5\mu\text{m}$ 、最下部で $0.8\sim1.3\mu\text{m}$ となり、*basal cell* に近くなるほど厚く、この部分では形質膜の外側に電子密度のやや低い厚さ約 $0.1\sim0.3\mu\text{m}$ からなる内壁と、電子密度のやや高い厚さ $0.4\sim0.8\mu\text{m}$ の外壁の二重構造の細胞壁が観察された。細胞内には直径約 $2.5\mu\text{m}$ の単核と直径約 $0.5\mu\text{m}$ の核小体が存在し、核質は微細な顆粒物質からなった (Figs. 13, 14)。核に隣接して存在するゴルジー体は 8～10 枚の発達した *cisternae* が観察され、その端が膨化して盛んに分泌小胞をつくっていた (Fig. 14)。紡錘形の葉緑体が数個存在し、大きさは長径約 $3\sim4\mu\text{m}$ 、短径約 $1\sim1.3\mu\text{m}$ あり、バンドは 4～8 条見られたが (Fig. 13)、バンドの不明瞭な葉緑体もあった。ミトコンドリアは 10 数個観察され、葉緑体やオスミウム好性の *dense body* に近接して見られる場合が多く、その大きさは普通長径 $0.5\sim0.8\mu\text{m}$ 、短径 $0.3\sim0.5\mu\text{m}$ の楕円形、円形や水滴形を呈した (Figs. 13, 14)。クリステは多く、短い小管状構造であった。中には、長径 $1.3\sim1.5\mu\text{m}$ 、短径 $0.5\mu\text{m}$ の棍棒状をした大型の

ミトコンドリアも存在し、活発なエネルギー代謝を示唆していた。細胞内には数多くの小胞が観察され、小さいものは直径 $0.025\sim0.1\mu\text{m}$ から、大きいものは長径 $0.5\sim0.6\mu\text{m}$ 、短径 $0.3\sim0.5\mu\text{m}$ あり、内部にはやや電子不透明で無定形な物質が存在するものと、空胞状態のものがあった。ミエリン構造の形成が見られ、大きさは直径 $9\mu\text{m}$ 、短径 $6\mu\text{m}$ で、中等度な電子密度の7～8枚の一重の膜が同心円状に存在した。側子の頭部の先端部にはオスミウム好性のdense bodyが観察された(Figs. 12～17)。これらのdense bodyは非常に電子密度が高く、頭部のみに偏在しており、形は円形、楕円形、釣鐘状等で小さいものは直径 $0.2\sim0.5\mu\text{m}$ 、大きいものは直径 $0.8\sim1\mu\text{m}$ であった。これらを強拡大で観察すると、電子密度は一様ではなく、濃淡があるが、大きさによる違いは見られなかった(Fig. 15)。dense bodyは幅約 $0.04\sim0.05\mu\text{m}$ の一重の膜に包まれており、この膜はオスミウム好性の微小顆粒物で形成されていた。さらに膜の外周には多数のリボゾームが付着していた。これらのdense bodyはゴルジー体由来の物質でcisternaeの内部に観察された(Fig. 15, 矢印)。さらにゴルジー体の周辺には不定形の電子密度の高い物質が存在した。これらはその形態や大きさ等からfucosan vesiclesあるいはphysodes (Bisalputra 1967, 芦田1979)の可能性が考えられる。その内容物は、fucosanあるいは褐藻タンニンと称され、組織化学的にはタンニン様物質、炭水化物、脂肪、配糖体あるいは精油を含んでいると考えられている。fucosan vesiclesは、褐藻類のLaminariales, Ectocarpales, Fucales等の細胞中に存在することが知られている(Ogino 1957, 芦田1979)。褐藻類はタンニンを海水中に放出していることが報告されており(芦田1979)、これらのことから、タンニンを含むfucosan vesiclesが側子の先端の海面に近い細胞壁まで移動していることと、その機能面での関係が推察されるがこれらの点については今後更に組織化学的、生化学的検討を要する。タンニンの生体内での作用はまだ不明であるが、抗菌、殺藻作用があるのではないかと推測されている。側子は先端部に粘液帽(mucilage cap)をかぶっている。この粘液帽はトリジン青により、桜の花片のような桃色に染色され(Fig. 4)、非常に粘質性に富んだ部分であり、互いに密着して外部から見ると一枚の粘液層になっている。孢子葉は非常に粘稠な粘質物を持っており、藻体を切断したり、熱水で煮沸したりすることによって、粘液帽、細胞間隙、髄層や細胞壁間に存在している粘質物が著しく粘稠な状態で溶出してくる。この粘質物中にはfucoidin(褐藻硫酸多糖)が含有されていることが報告されている(森1983)。fucoidinはフコースのほかにガラクトース、マンノース、キシロース、グルクロン酸やエステル型硫酸多糖を含むのが特徴である(富士川(a)(b)1975, 森1983, 西沢1979)。これらのfucoidinの生物活性は、エステル硫酸の存在によるヒト血液に対する血液凝固阻止作用(Bernardi et al. 1962)や食飼性高脂血症のラットの静脈内投与による脂血清澄作用(Springer et al. 1957, Schuler et al. 1957)があるとされている。また、マウスの移植ガン(Sarcoma 180やEhrlich-carcinoma)に対する

抗腫瘍効果や延命効果が報告されている (Yamamoto et al. 1974, 1977, 1981, 中沢ら 1974, 1976, Ito 1976, Usui et al. 1980, 鈴木ら 1980)。粘液帽は、先端部分の直径が約 $8 \sim 9.3 \mu\text{m}$ 、側子につながる部分が直径約 $5 \sim 5.5 \mu\text{m}$ あり、上部に向かってやや扇状に広がっていた (断面はほぼ円形)。その超微細構造は電子密度中等度な微小繊維が均質な網目構造を形作っていた (Fig. 16)。その最外部にはやや電子密度の高い幅約 $0.16 \sim 0.2 \mu\text{m}$ の層が観察された (Fig. 17)。隣接する粘液帽の間は、非常に粗な微小繊維の網目構造によってつながっていた。粘液帽と側子の間には両者をつなぐ特別な構造は見られず、粘液帽から直接側子の先端部の細胞壁へつながっていた (Fig. 16)。

遊走子嚢は棍棒状をしており、先端部分は半球状の直径約 $9 \sim 10 \mu\text{m}$ の大きさで太く、最も基部に近い部分は直径約 $1.5 \sim 3 \mu\text{m}$ で細い。細胞内には遊走子の母体となる3個の核が観察されるが (Fig. 18)、最終的には5回の核分裂によって32個の核が形成される (Ohmori 1967)。遊走子の放出は、遊走子嚢の先端部が破れて始まり (須藤 1952)、放出最盛期は平均水温 $17 \sim 20^\circ\text{C}$ の頃と報告されている (斎藤 1956, 1962)。遊走子の母体となる核は、円形または楕円形をしており、直径約 $1.5 \sim 2.5 \mu\text{m}$ 、長径約 $2.5 \sim 3 \mu\text{m}$ 、短径約 $1.5 \sim 2 \mu\text{m}$ の大きさで、核質は微細顆粒であった (Figs. 17~19)。核のほぼ中央部に電子密度のやや高い直径約 $0.3 \mu\text{m}$ の核小体が1個観察された。核をとり囲むように $8 \sim 10$ 枚の cisternae からなるゴルジー体があり、外側面の cisternae の小胞が著しく膨潤していた。葉緑体は一つの遊走子嚢に $3 \sim 5$ 個が細胞壁にそって観察された (Figs. 17~19)。他の細胞と同様に典型的な紡錘形のものもあるが、歪んだ形に変形しているものも見られた。小さいものは長径約 $1.25 \sim 2 \mu\text{m}$ 、短径 $0.4 \sim 0.6 \mu\text{m}$ しかなく、核の体積よりも小さいものもあった。大きいものは長径約 $3.5 \sim 3.8 \mu\text{m}$ 、短径約 $0.8 \sim 1 \mu\text{m}$ で、側子や成熟した葉状部の葉緑体の大きさとほぼ同じであったが、バンドの数は少なく $2 \sim 4$ 条か、多いものでも $6 \sim 7$ 条しか観察されず、バンドの不明瞭なものもあることから、遊走子嚢においては光合成はさほど活発には行われていないと推測される。ある部位では隣接するバンド間の $1 \sim 2$ 条のチラコイドの移行が観察されるものもあった。ミトコンドリアは $5 \sim 10$ 個、核の周辺や葉緑体の近くに観察された (Fig. 19)。形は概ね円形や楕円形をしており、大きさは直径約 $0.4 \sim 0.6 \mu\text{m}$ 、長径約 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ 、短径約 $0.4 \sim 0.5 \mu\text{m}$ であった。クリステは他の細胞のミトコンドリアと同様に多く、太さが約 $0.03 \mu\text{m}$ の小管状構造であった。核の周囲をとり囲むように内部に微小顆粒をもつ、多数の小胞体が観察された (Figs. 18, 19)。さらにその周囲には小さいもので長径約 $0.08 \sim 0.16 \mu\text{m}$ 、短径約 $0.05 \sim 0.12 \mu\text{m}$ 、大きいもので長径約 $1.5 \sim 2 \mu\text{m}$ 、短径 $0.6 \sim 1 \mu\text{m}$ の数10個以上の小胞が存在しており、細胞質の約 $2/3$ の体積はこれらの小胞によって占められていた。小胞の内部にはわずかに電子不透明で無定形な物質が観察されるものや、多胞小胞が見られた (Figs. 17~19)。また、細胞内には側子と同様に同心円状の一

重の膜をもつ小型 (長径約 $1.3\sim1.4\mu\text{m}$, 短径 $1\mu\text{m}$) のミエリン構造が観察されるものもあった。細胞質基質中には電子密度中等度なリボソームが密に存在した (Figs. 17~19)。細胞壁は微小繊維の網目構造で形成されており, 細胞断面はほぼ円形であったが, 楕円形をしたものも見られた (Fig. 20)。細胞壁の厚さは側子の頭部の細胞壁とほぼ同じ約 $0.08\sim0.1\mu\text{m}$ であったが, basal cell に近い部分はこれよりもさらに薄く約 $0.005\mu\text{m}$ であった。側子間, 側子と遊走子嚢の間は細胞壁等を構成している微小繊維よりも太い繊維からなる非常に粗な網目構造であった (Fig. 21)。このような組織構造は葉状部では見られず, 遊走子が放出され易い構造であると推測される。遊走子嚢と側子の基底部には basal cell との細胞間連絡が見られた (Fig. 22, 矢印)。

basal cell は長径約 $4.5\sim8\mu\text{m}$, 短径約 $2\sim7\mu\text{m}$ の大きさで, 細胞壁は約 $0.3\sim0.6\mu\text{m}$ の厚さであり, 孢子葉前期の表層細胞に類似していた (Fig. 23)。核は直径約 $3\mu\text{m}$ の円形か, 長径約 $3.3\sim4\mu\text{m}$, 短径約 $2\mu\text{m}$ の楕円形をしており, 中心部にやや電子密度の高い直径約 $0.8\mu\text{m}$ の核小体が1個見られた。ミトコンドリアは核の近くに $4\sim8$ 個存在し, 円形のものは直径約 $0.4\sim0.5\mu\text{m}$, 楕円形のものは長径約 $0.8\sim1\mu\text{m}$, 短径 $0.3\sim0.4\mu\text{m}$ であった。孢子葉前期の表層細胞と同様に, オスミウム好性の dense body が核と葉緑体の間に観察され, 直径約 $0.4\sim1\mu\text{m}$ のほぼ円形状のものや, 長径約 $0.8\sim1\mu\text{m}$, 短径約 $0.6\sim0.9\mu\text{m}$ の楕円形や, 釣鐘状であった。また, 同心円状の一重の膜をもった直径約 $0.9\mu\text{m}$ のミエリン構造も観察された。basal cell と孢子葉前期の表層細胞は細胞の形態や細胞小器官等の微細構造に多くの類似点が見られた。

皮層細胞は, 葉状部の皮層細胞と同様に伸展拡張していた。細胞の形態も葉状部の皮層細胞に類似しており, 細胞の大きさにややバラつきがあったが, 平均して長径約 $11\sim18\mu\text{m}$, 短径約 $9\sim13\mu\text{m}$ で細胞壁の厚さは厚く, 約 $0.5\sim0.7\mu\text{m}$ であった。また, 孢子葉前期の皮層細胞とも類似していた。葉緑体は細胞当り $2\sim3$ 個存在しており, 長径約 $3\mu\text{m}$, 短径約 $1.5\mu\text{m}$ のものや, なかには小型で萎縮したものも見られた。チラコイド・バンドは $4\sim8$ 条観察されるものもあったが, チラコイドの膜構造が不鮮明なものや, 膜が崩壊してわずかに痕跡を残すだけのものもあり, 葉状部の内皮層の細胞の葉緑体とその形態が類似していた。ミトコンドリアは円形および楕円形をしており, 多いもので1個の細胞に15個観察された。大きさは直径約 $0.4\mu\text{m}$ 前後のもの, 長径約 $0.4\sim0.9\mu\text{m}$, 短径約 $0.3\sim0.5\mu\text{m}$ で, クリステは小管状構造をしており, 孢子葉の他の細胞のミトコンドリアと類似した形態であった。ゴルジ体が核に隣接して観察されたが, 側子や遊走子嚢のゴルジ体の cisternae に見られたような外縁部分の膨化は見られず, 分泌小胞の形成は活発に行われていないと推測された。特徴のある所見として, basal cell に隣接する皮層細胞には, 側子の先端部や, basal cell で観察されたものと同様のオスミウム好性の dense body が観察された。形はほぼ円形のものが多かったが, 楕円形, 三日

月形および不定形のものもあり、核に隣接するもの、細胞の中心部に塊まっているものや細胞中に点在しているものなど、規則性は見られなかった。皮層細胞では一重の膜で包まれた液胞が細胞の体積の2/3~3/4 を占めていた。今回の試料では葉状部に見られたような粘液腺の定形的なものは見られなかった。

IV 要 約

本研究は、*Undaria pinnatifida* Suringar の孢子葉 (sporophyll) の発生分化と成熟した孢子葉の微細構造を光顕、透過電顕により明らかにした。

1. 細胞壁、細胞間隙、髓層および粘液帽はトルイジン青によって桃色～紫色に染色され、粘質物 (fucoidin 含有) が多く存在した。

2. 側子は表層細胞が細長く伸長することによって形成され、細胞内に核、葉緑体、ミトコンドリア、ゴルジー体、ミエリン構造や大小の液胞等の細胞小器官の他にオスミウム好性の dense body が存在した。

3. 細胞小器官を包む膜状物質が細胞壁内へ陥入し、これをおし広げる。

4. 表層細胞の一部が崩壊することによって、側子や遊走子嚢の形成や成長に要する細胞間隙が形成された。

5. 側子の先端部、basal cell やこれに隣接する皮層細胞には、一重の膜で包まれたオスミウム好性の dense body が存在し、膜の外周にはリボゾームが付着していた。

6. オスミウム好性の dense body はゴルジー体由来の二次生成物であり、fucosan vesicles と推測される。

7. 遊走子の母体となる核は二重の核膜で包まれ、その周囲は小胞体と小胞によって囲まれていた。

8. 孢子葉前期から孢子葉後期を通して、表層細胞、側子や遊走子嚢の核の近傍には、よく発達したゴルジー体が位置し、cisternae が膨化して、分泌小胞の形成が活発であった。

9. basal cell は表層細胞に由来する細胞であることが示唆された。

10. 皮層の細胞では葉緑体、ミトコンドリア、ゴルジー体の退縮が目立ち、液胞が細胞内の大部分を占め、細胞の老熟現象が見られた。

終りに、終始御懇切な御指導を頂いた広島大学 川上いつゑ元教授、広島大学原爆放射能医学研究所 佐藤幸男教授に深く感謝申し上げます。試料採取に御援助を頂いた兵庫水産試験場の山内幸児氏に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究の一部は文部省科学研究費一般C (58580063) の援助による。

引用文献

- Furusawa, E. and Furusawa, S. Anticancer activity of a natural product, Vita-Natural, extracted from *Undaria pinnatifida* on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma. *Oncology*. 1985. **42**: 364-369.
- Mori, H. Kamei, H. Nishide, E and Nisizawa, K. Sugar constituents of some sulfated polysaccharides from the sporophylls of Wakame (*Undaria pinnatifida*) and their biological activities. *proc. 10th Intern. Seaweed Symp. Walter de Gruyter, Berlin*, in press.
- 斎藤雄之助 ワカメの増殖に関する基礎的研究. 東大水産実験所業績. 1962. **3**: 3-7.
- Lison, L. 組織化学および細胞化学 (今泉正編). 1972. 398-402. 白水社. 東京.
- Ohmori, T. Morphogenetical studies on laminariales. *Biological Journal of Okayama University*. 1967. **13** (1-2): 53-55.
- 奥田弘枝 ワカメの成熟葉体の電子顕微鏡的観察. 藻類. 1980. **28**: 255-263.
- 奥田弘枝 ワカメの成熟葉体の電子顕微鏡的観察. 特に毛巢, 毛の微細構造について. 藻類. 1982. **30**: 237-240.
- 奥田弘枝 ワカメの微細構造と化学成分に関する研究. 1985. 15-18. 岡正印刷. 広島.
- 原 慶明 藻類研究法 (西澤一俊, 千原光雄編). 1979. 354-355. 共立出版株式会社. 東京.
- 植田勝巳 植物の構造. 1979. 116. 培風館. 東京.
- Hori, T. Survey of pyrenoid distribution in brown algae. *Bot. Mag. Tokyo*. 1971. **84**: 231-242.
- 黒住一昌 細胞学大系 小器官Ⅱ (小川和朗ら編). 1973. 295-354. 朝倉書店. 東京.
- Bisalputra, T. and Bisalputra, A.A. Chloroplast and mitochondrial DNA in a brown alga *Egregia menziesii*. *The Journal of cell Biology*. 1967. **33**: 511-520.
- 芦田勝朗 藻類研究法 (西澤一俊, 千原光雄編). 1979. 687-693. 共立出版株式会社. 東京.
- Ogino, C. *Physiology and biochemistry of algae* (ed. Leuvin, R.A.). 1962. 437-443. Academic press. New York and London.
- 森 宏枝 海藻の生化学と利用 (日本水産学会編). 1983. 33-43. 恒星社厚生閣. 東京.
- 富士川龍郎・阿武尚彦・和田正太 ㉑ ワカメ *Undaria pinnatifida* 葉状部の硫酸多糖について. 農化. 1975. **49**: 667-669.
- 富士川龍郎・中島克子 ㉒ 褐藻におけるフコイダン様多糖の分布. 農化. 1975. **49**(9): 455-461.
- 西澤一俊 藻類研究法 (西澤一俊, 千原光雄編). 1979. 616-617. 共立出版株式会社. 東京.
- Bernardi, G. and Springer, G.F. Properties of highly purified fucan. *J. Biol. Chem.* 1962. **237**: 75-80.
- Springer, G. F. Wurzel, H. A. Mcneal, G. M. Ansell, N. J. and Doughty, M. F. Isolation of anticoagulant fractions from crude fucoidin. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 1957. **94**: 401-409.
- Schuler, W. Springer, G. F. Experimentelle antilipämiewirkung von fucoidin. *Naturwissenschaften*. 1957. **44**: 265.
- Yamamoto, I. Nagumo, T. Yagi, K. Tominaga, H. and Aoki, M. Antitumor effect of seaweeds I. Antitumor effect of extracts from *Sargassum* and *Laminaria*. *Japan. J. Exp. Med.* 1974. **44**: 53-546.
- Yamamoto, I. Nagumo, T. Fujihara, M. Takahashi, M. Ando, Y. Okada, M. and Kawai, K. Antitumor effect of seaweeds II. Fractionation and partial characterization of the polysaccharide with antitumor activity from *Sargassum fulvellum*. *ibid.* 1977. **47**: 133-140.
- Yamamoto, I. Nagumo, T. Takahashi, M. Fujihara, M. Suzuki, Y. and Izima, I. Antitumor effect of seaweeds III. Antitumor effect of an extract from *Sargassum kjellmanianum*. *ibid.* 1981. **51**: 187-189.
- 中沢昭三・黒田浩之・安部史紀・西野武志・大槻雅子・梅崎 勇 海藻成分の抗腫瘍作用に関する研究

第1報. Chemotherapy. 1974. 22: 1435-1442.

中沢昭三・安部史紀・黒田浩之・河野啓三・東 忠英・梅崎 勇 海藻成分の抗腫瘍作用に関する研究
第2報. *Sargassum horneri*について. Chemotherapy. 1976. 24: 443-447.

Ito, H. and Sugiura, M. Antitumor polysaccharide fraction from *Sargassum thunbergii*. Chem. Pharm. Bull. 1976. 24: 1114-1115.

Usui, T. Asari, K. and Mizuno, T. Isolation of highly purified "Fucoidan" from *Eisenia bicyclis* and its anticoagulant and antitumor activities. Agric. Biol. Chem. 1980. 44: 1965-1966.

鈴木勇司・山本一郎・梅沢 巖 海藻の制癌作用, なが昆布由来多糖体画分の部分精製とその抗◆瘍効果.
ibid. 1980. 28: 165-170.

須藤俊造 ワカメ, カジメ, 及びアラメの遊走子の放出についてⅡ. 日本誌. 1952. 18(1): 1-5.

斎藤雄之助 ワカメの生態に関する研究Ⅰ「配偶体の発芽, 生長について」. 日本誌. 1956. 22(4): 229-234.

Explanation of the Figures

- Fig. 2.** Light microscopic picture of early stage of sporophyll. The length of leaf is about 45cm. Membrane coat materials (\uparrow), epidermal (E), cortical (CL) layer cells are observed. ($\times 1350$)
- Fig. 3.** Light micrograph of middle stage of sporophyll 10cm in length. The length of leaf is about 80cm. Developing paraphysis (\uparrow), cortical (CL) and medullary (ME) layers are noticed. ($\times 900$)
- Fig. 4.** Light micrograph of late stage of sporophyll 17cm in length. The length of leaf is 150cm. Mucilage cap (Mc), paraphysis (P), zoosporangial cell (ZC) are formed. BC: Basal cells CL: Cortical layer cells. ($\times 1100$)
- Figs. 5-8.** Electron microscopic pictures of cortical layer cells of early stage of sporophyll. The length of leaf is 45cm. In the epidermal cell (E), transverse division (\uparrow) are observed (Fig. 5). Nucleus (N), some chloroplasts (C), mitochondria (M), dense body (DB) and intercellular communication (*) are seen (Figs. 5, 7)
(Fig. 5 $\times 6300$), (Fig. 6 $\times 9400$), (Fig. 7 $\times 6450$)
- Fig. 8.** Electron micrograph of cortical layer cell of sporophyll. Vacuole (V) occupied most part of cells. ($\times 10800$)
- Figs. 9-11.** Electron micrographs of middle stage of sporophyll 10cm in length. Physiological irregular cell arrangement are seen. (Fig. 9 $\times 5800$), (Fig. 10 $\times 5400$)
- Fig. 11.** Transforming epidermal cell (E) to the paraphysis. Well developed cisternae of Golgi body (G) are noticed. ($\times 7200$)
- Fig. 12.** Transverse section of paraphysis of late stage of sporophyll 17cm in length. At the apical part of paraphysis osmiophilic dense bodies (DB) are observed. ($\times 18000$)
- Figs. 13-14.** Longitudinal figures of the paraphyses. At the apical part of the paraphysis dense bodies (DB) are observed. The secreting vesicles are formed in the well developed cisternae of Golgi body (\uparrow). W: Cell wall. (Fig. 13 $\times 11700$), (Fig. 14 $\times 31500$)
- Fig. 15.** High magnification of dense bodies in paraphysis. Electron dense opaque materials are noticed in the cisternae of Golgi body (arrows). ($\times 88850$)
- Fig. 16.** Apical part of the paraphysis and mucilage cap (MC). Dense bodies (DB) are surrounded by single membrane (\uparrow). ($\times 28500$)
- Fig. 17.** Figure shows the apical part of paraphysis (P), a part of zoosporangial cell (ZC) and a mucilage cap (MC). ($\times 9600$)
- Fig. 18.** Transverse section of zoosporangial cells. Near the nucleus (N), some endoplasmic reticulum (ER), and vesicles (V) are seen. The lamellae bands of the chloroplast (C) are not so developed. ($\times 14450$)
- Fig. 19.** Longitudinal section of zoosporangial cell. Nucleus (N), nucleolus (Nu), chloroplast (C), mitochondria (M) and many vesicles (V) are observed. ($\times 16400$)
- Fig. 20.** Transverse figure of zoosporangial cell (ZC) and basal part of the paraphysis (P). In the zoosporangial cells nucleus (N), nucleolus (Nu), some chloroplasts (C), many vesicles (V) and myelin figures (\uparrow) are seen. ($\times 7500$)
- Fig. 21.** Net work of the fine filaments between paraphysis and zoosporangial cells. C: Cut surface of a cell. ($\times 14000$)
- Fig. 22.** Protoplasmic connections (\uparrow) between basal part of the paraphysis (P). CM: Cell matrix. ($\times 8000$)
- Fig. 23.** Basal cells of paraphysis. Nucleus (N), chloroplasts (C), mitochondria (M), dense bodies (DB) and myelin figures (\uparrow) are observed. ($\times 6800$)

