

Undaria pinnatifida の粘液腺の発生とその微細構造

奥 田 弘 枝

Fine structure on the developing mucilage gland of *Undaria pinnatifida*

Hiroe OKUDA

Abstract

The fine structure of developing and differentiating mucilage gland of *Undaria pinnatifida* Suringar were observed. As the mucilage glands develop rapidly in the early stages of development, the observations were carried out by electron microscope when the leaves were 0.5–10.0 cm in length.

The materials were taken in Akashi city on December 1978. The results obtained were as follows. The early young leaf period was approximately 0.5 cm in length, and characterized by a monolayer of undifferentiated cells. The original cells of the mucilage gland were seen in these cells. The mucilage glands were developed by fusion between epidermal neighbor cells.

In the middle young leaf period of 3–5 cm, laminaria structures and mucilage glands were developed from the epidermal layer. The late young leaf period was approximately 10 cm in length.

The differentiation of the tissue was almost completed in the late young leaf period.

Even in these stages newly developing mucilage gland were observed in the epidermal layer.

I 緒 言

Undaria の特徴の一つである粘液腺は粘質物を包含し、これを分泌して体表面に粘性を与える役割を果たしている。筆者は成熟したワカメ葉体の粘液腺について形態学的観察を行った結果(奥田 1979, 1980), 粘質物の分泌, 蓄積, 排出等の様々な過程段階を示す内部構造

と内容の変化が粘液腺ごとに認められた。ワカメの粘液腺の発生過程については遠藤(1909), 笠原(1967)が光学顕微鏡(光顕)による形態学的観察結果を報告しており, 遠藤(1919), 笠原(1973)は *Alaria* の粘液腺の発達について報告しているが, いずれも微細構造は明らかにされていない。粘液腺は葉長が0.5cm前後において急速に発達中であることから, 幼葉の初期発生における粘液腺の発生分化とその微細構造を明らかにすることを目的とし, ワカメの葉体初期における成長段階を追って, 葉長0.5~10cmを中心に透過型電子顕微鏡(透過電顕)による観察を行ったのでその結果を報告する。

II 材料と実験方法

形態観察に用いた材料は, 1978年12月中旬から下旬にかけて, 明石市東二見から採取した葉長0.5~10cmまでの養殖ワカメの幼葉について, 幼葉前期(葉長約0.5cm), 幼葉中期(葉長3~5cm), 幼葉後期(葉長約10cm)に区分して用いた。葉長0.5~1cmは, ほぼ全葉体を試料とし, 3~10cmは葉体の先端部, 中央部および茎葉間成長点部分からそれぞれ1片約5mmの小四角片を切り出し試料とした。

透過電顕観察用試料の調整方法は, 0.1Mカコシル酸緩衝の2%グルタルアルデヒド固定液(pH7.4)によって5℃, 2時間前固定を行い, さらに同緩衝液中の1%オスミック酸で同様に2時間の後固定を行う二重固定法によった。次に10~40%のカコシル酸緩衝アルコールでそれぞれ試料を20分間浸漬脱水し, ついで50~90%のアルコール系列で各20分間脱水, その後100%アルコールで10分間, 2回脱水, 最後にプロピレンオキサイドで5分間2回置換した。脱水した試料をエポン812に包埋し, LKBウルトラミクロトームで400~600Åの超薄切片を作製した。

電子染色は, 2%酢酸ウラニル液で20分間染色し, 蒸留水で水洗後, Milloning(1961)の酢酸鉛液により, 室温で10分間二重染色した。

観察は, JEM100-B型を用いて80kVで行った。

光顕観察のための試料は, 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

1. 光顕による観察

(1) 幼葉初期（葉長約0.5cm）の葉体

光顕による観察では、葉長約0.5cmの幼葉初期の葉体先端は、円柱状の単層の細胞からなる。光顕観察では、将来粘液腺になる細胞と体細胞（Somatic cell）の区別がつきにくい。しかし、色素体が小型で少ない細胞が7個から13個の細胞に1つの割合で認められた。細胞の大きさや、細胞壁の厚さなどは他の細胞とあまり変わらない(Fig.1)。このような細胞は、幼葉初期には細胞数が少なく、隣接して観察されず、粘液腺の初期像と推察される。体細胞は分裂増殖し、細胞板が形成されている像も見られ、並層分裂(Fig.1, 矢印)と垂層分裂(Fig. 1, 二重矢印)によって、葉体の幅と長さが増大するものと考えられる。

粘液腺の初期像と推察されるこれらの細胞は、円柱状で色素体をもつ体細胞に対して、直径約 $20\mu m$ の球状に膨潤し、明らかに異なる形状を呈する(Fig.2)。細胞壁の厚さは不均一で、上・下部の細胞壁は厚く、左右の体細胞に接している細胞壁は薄く、細胞内には網目状の膜状物質が充満している。

分化がさらに進んだ細胞では上・下部の細胞壁が外側に弓なりにつき出し、色素体は Fig. 2で観察されたものよりさらに小型化し、細胞内に膜状物質が観察される(Fig.3)。このような膜状物質は、成熟した葉体の粘液腺内部でも見られた(奥田1980)。この膜状物質はトルイジン青染色によってメタクロマジアを示し、うす紫色に染まっていることから、粘質物と考えられる。隣接する左右の細胞との間にある細胞壁には、両方とも穴があき、粘質物の移動が観察されることから、粘液腺の増大が生じているものと考えられる。単層細胞中に3つの粘液腺が認められ、そのうちの1つは最外層の細胞壁が破れており、粘液腺からの粘質物の噴出が観察される(Fig.4, 矢印)。

葉長約0.5cmの幼葉初期の葉体中央部は、2～3層の表層細胞と3層の皮層細胞から構成され、表層細胞と皮層細胞では明確に細胞の大きさが異なり、表層、皮層の分化が見られる(Fig. 5)。1, 2層の細胞に比べて、3, 4層の細胞は大型で、色素体が少なく、次第に皮層細胞へ移行するものと考えられる。表層細胞は色素体の数が多く、細胞質の構造がち密で、表層部に粘液腺が観察される(Fig.5, 矢印)。なお、皮層細胞の分化が起きても同じような状態で表層細胞中に粘液腺が生じる。このような粘液腺は他の表層細胞より大きく、細胞内部の構造は粗で大部分は透明である。

葉長約0.5cmの幼葉初期の葉体と茎の移行部では、表層、皮層、髓層の分化が見られる。表層、皮層とも1～2層の細胞で形成され、髓層では長形の細胞が観察される。篩管は髓層に存在する細胞が分裂し、隣接する細胞との間にある隔壁が取れて、次第に形成される。また、ある細胞は初めから篩板を形成する機能を持っており、細胞分裂を繰り返して篩管が伸長し、篩板を備えた篩管を形成し成熟する(奥田1982)。

このような細胞分裂と組織器官の分化は葉体と茎の移行部から、垂直的に葉体の先端に向かって進んで行くが、垂直の方向における進み方が、水平方向の進み方より早い。

(2) 幼葉中期(葉長約3cm)の葉体

葉長約3cmの幼葉中期になると、組織は完全に分化し、葉体のどの部位でも髓層の中央部に篩管を認めることが出来る。葉体先端では表層、皮層、髓層の3層分化が明瞭である(Fig. 6)。表層は2～3層の細胞から形成されており、皮層細胞に比較して色素体が多く、ち密な構造である。皮層は1～2層の細胞からなり、表層の細胞に比較して2倍から数倍の大きさで色素体の数も少なく、細胞質の構造が粗である。髓層の篩管はまだ少なく、篩管細胞にはトルイジン青染色によって淡紫色に染色する粘質物を含有する。表層から髓層にかけて粘液腺(Fig. 6, 矢印)が観察される。最外層の細胞壁が開口し、粘質物を噴出しており、内部に膜状物質が観察される。

(3) 幼葉後期(葉長約10cm)の葉体

葉長約10cmの幼葉後期の表層は、2～3層の細胞からなり、皮層には1～2層の細胞が見られる。髓層の厚みが増し、幼葉中期よりさらに篩管細胞が増加している。茎葉間成長点では、成葉の粘液腺と形状の類似する洋梨形の粘液腺が観察される(Fig. 7)。粘液腺は表層、皮層、髓層にかけて存在し、表層細胞および皮層細胞と比較してかなり大きい。また、表層の最外部の細胞壁が開口し、粘質物が外部へ噴出しており、粘液腺内部には膜状物質が観察される。

2. 透過電顕による観察

(1) 幼葉初期(葉長約0.5cm)の葉体

透過電顕による観察では、葉長約0.5cmの幼葉初期先端部の単層細胞は、長径約 $10\mu m$ 、短径 $8\mu m$ 前後の方形を呈する(Fig. 8)。成熟した葉体の表層細胞は、長径 $5\sim 6\mu m$ 、短径 $4\sim 5\mu m$ であることから、約2倍の大きさである。細胞壁は、厚いところで $3\mu m$ 、薄いところで $0.35\mu m$ で平均約 $1.45\mu m$ である。細胞中央部の直径約 $3\mu m$ の核に隣接して、ゴルジ体や10数個のミトコンドリアが観察される。細胞内にはやや電子密度の低い無定形な物質が

存在する。葉緑体は1個の細胞断面に通常6～7個、多いもので10個存在し、長径 $3\mu m$ 、短径 $2\mu m$ の紡錘形である。成熟した葉体の皮層細胞に見られる葉緑体の数とその大きさには殆ど差違が認められない。

葉長約0.5cmの幼葉初期の葉体中央部には、粘液腺の起源細胞が観察される (Fig.9)。細胞の形は不定形で、大きさは長径 $13\mu m$ 、短径 $10\mu m$ であり、前述の体細胞に比較してやや大きい。Fig.9では葉緑体は観察されないが、他の起源細胞では8個前後の葉緑体が認められる。葉緑体は小型で形は一定しない。細胞内には電子密度の高い直径約 $3\mu m$ の核と、直径 $0.95\mu m$ の核小体が観察される。また、細胞質には不定形で電子密度中等度な膜状物質が発達している。

(2) 幼葉中期 (葉長約3cm) の葉体

葉長約3cmの幼葉中期の葉体先端部の粘液腺は、円形、楕円形、西洋梨形をしており、長径 $15\sim 17\mu m$ 、短径 $12\mu m$ で、細胞壁の厚さは $0.7\sim 1\mu m$ である。Fig.10は粘液腺の一部分を示す。細胞内全体に膜状物質が大きさの異なる小胞を形成し、互いに密着して連続した網目構造を呈し、内部は電子透明である。小胞の大きさは、平均して長径 $3.8\mu m$ 、短径 $2.2\mu m$ で、大きいものは長径 $6\mu m$ 、短径 $4.3\mu m$ 、小さいものは直径 $1.7\mu m$ で、大きさと形が不揃いである。葉緑体は楕円形、紡錘形のもの数個存在する。大きさは平均長径 $2.1\mu m$ 、短径 $0.7\mu m$ で、皮層細胞に見られる葉緑体より小型である。表層、皮層細胞の葉緑体に比べてチラコイドが不明瞭である。ストロマにはやや電子密度の高い顆粒が10数個観察される。これらの葉緑体やミトコンドリアは膜状物質に包まれ、網目状構造の一部に組み込まれている。同じ試料の別の切断面では、外側に面した粘液腺の細胞壁の一部が約 $2.5\mu m$ にわたって欠落し、そこから小胞を形成していた膜状物質が壊れて、外部へ噴出している (Fig.11)。これまでの観察結果から、これらの電子密度が中等度な膜状物質は、粘質物であると推定される。粘液腺内部には細胞壁に沿って、細長い紡錘形をした葉緑体が数個観察されるが、隣接する表層細胞の葉緑体に比較して形が小さく、チラコイドも不明瞭で退化している。Fig.12の粘液腺の細胞壁にU字形に付着している物質は、長さが $4.2\mu m$ 、幅は最大 $0.83\mu m$ 、最小 $0.13\mu m$ である。この物質はその形状から葉緑体と考えられる。粘液腺の開口部が生じ、第1回の粘質物の噴出の際には、葉緑体およびミトコンドリアと思われる物質も一緒に排出されるものと考えられる。

(3) 幼葉後期 (葉長約10cm) の葉体

葉長約10cmの幼葉後期の茎葉間成長点の観察によると、表層細胞は円形、楕円形で長径 $7\mu m$ 、短径 $4\mu m$ であり、成熟した葉体の表層細胞の大きさとほとんど変わらない。細胞壁の

厚さは約 $0.55\mu\text{m}$ である。細胞内の葉緑体の数は、1～5個で平均長径 $3\mu\text{m}$ 、短径 $2\mu\text{m}$ であり、15～18条のバンドが認められる。葉緑体の大きさやバンドの数は、成熟した表層細胞内の葉緑体とほとんど変わらない。皮層細胞は方形、楕円形あるいは不定形をしており長径 $15\mu\text{m}$ 、短径 $9\mu\text{m}$ で、細胞壁の厚さは $0.8\mu\text{m}$ である。細胞の大きさは、成熟した葉体の皮層細胞よりやや小さいが、細胞壁の厚みはほとんど同じである。粘液腺は円形、楕円形、西洋梨形をしている (Fig.13)。これらの粘液腺は直径約 $4\mu\text{m}$ の外部への開口部をもち、大きさは直径約 $25\mu\text{m}$ である。細胞壁の厚さは厚いところで $1.4\mu\text{m}$ 、薄いところで $0.4\mu\text{m}$ あり、十分に成熟した粘液腺の小型のものに属する大きさまで増大している。粘液腺の細胞壁の内側に張付いた状態で存在する波状形の連続した膜状物質が観察される。膜状物質の形や幅は不均一で、幅の広いところは約 $1\mu\text{m}$ 、狭いところは $0.2\mu\text{m}$ である。これを高倍率で観察すると8～10層からなる発達したゴルジ体が内部に認められた (Fig.14)。また、これらの膜状物質の内部には、直径 $0.4\sim 0.6$ のミトコンドリアが観察される (Fig.15)。葉緑体は観察されなかった。核も確認出来なかったが、膜状物質の中に包み込まれた形で残存する可能性も考えられる。

IV 考 察

ワカメ幼葉の初期発生における、粘液腺の発生分化を明らかにした。葉長約 0.5cm の幼葉初期においては、葉体先端部および縁辺部は単層、葉体中央部は数層の未分化円柱状細胞で構成されているが、葉長 $3\sim 5\text{cm}$ の時期は、単層部分が数層の円柱状細胞になり、葉体の全部位で表層、皮層、髓層の3層への発達が見られた。また、髓層中に篩管の形成が見られることなどから、ワカメの組織分化は、すでに葉長約 3cm の幼葉中期に起ることが明らかになった。葉長約 10cm に成長すると、葉体基部の両側に櫛葉状の切れ込みが出現すると共に、髓層では、篩管細胞が増加して厚みを増し、葉体としての分化がほぼ完成すると考えられる。

粘液腺は、幼葉初期の単層細胞中にすでにその起源細胞が見られた。この細胞は、大きさでは体細胞とあまり変わらないが、細胞内の葉緑体の数が少なく、小型で未発達である点で体細胞と区別される。Yenda (1911) は葉長 2.5cm の葉体の葉の両面 1mm^2 当たり120個の粘液腺を数えている。さらに、粘液腺はその発達の全過程中、中肋上を除いて葉体に一様に広がっていたとしている。また、細胞内にはトルイジン青染色でメタクロマジアを起こす膜状物質が発達し、発生のかかなり早期に粘質物が作られることが確認された。これらの粘質物の化学的性質はアルギン酸質とフェノール系化合物（フコーザン）が結合し、共存している（安

藤1951, 1955, 1958 a, 1958 b)。さらに発生が進み、明瞭なラミナリア構造になると、粘液腺の起源細胞は表層中に現われ、粘液腺に分化することを明らかにした。しかし、同じ Laminariales でも種属によって粘液腺の起源を異にしており、表層細胞を起源にするもの、皮層細胞を起源にするもの、および両層細胞を起源にする3つの型があると考えられる。表層細胞を起源にするものには、*Alaria esculenta* (Sauvageaw, 1916) が報告されている。表層、皮層の両層細胞を起源にするものに *Alaria crassifolia* と *Alaria angusta* (Kasahara, 1973) が、皮層細胞を起源にするものに *Laminaria* と *Kjellmaniella* (Kasahara, 1973), *Macrocystis pyrifera* (Grenvill ら, 1982), *Nereocystis luetkeana* (Walker ら, 1977) がそれぞれ報告されている。従って、ワカメの粘液膜は *Alaria esculenta* と同一の型に属するものと考えられる。

粘液腺は、細胞分裂によらないで、隣接する細胞間の隔壁が消失して、細胞同士が融合することによって成長分化する。

分化がさらに進んだ粘液腺では、細胞内全体に膜状物質が大きさの異なる網目状に連続した小胞を形成する。退化、萎縮した葉緑体やミトコンドリアは、この膜状物質に包み込まれる。やがて、小胞を形成する膜状物質の一部が崩壊して、粘液腺の上部にある最外層の細胞壁の開口部から外部へ粘質物が噴出される。このような粘質物の噴出と共に萎縮した葉緑体やミトコンドリアも排出された。笠原 (1967) は光顕観察で、細胞内の葉緑体はいずれも不規則に崩れ、次第に数も減り、色素も分解して遂には完全に消失するし、粘質物の腺外への噴出はないと述べている。しかし、筆者の観察からは、葉緑体などは粘液腺の内部で分解、消失するのではなく、その一部は粘質物と共に外部へ噴出されるものと考えられる。

粘質物の噴出した粘液腺内部では、波状形の膜状物質が細胞壁に張りついた状態で存在する。この膜の内部に8~10層からなる無傷のゴルジー体や、ミトコンドリアが観察され、細胞膜によって包まれた薄い細胞質が細胞壁に付着して残っていると思われる。ゴルジー体の残存は、粘質物の再生産の可能性を示すものと考えられる。また、核の存在を確認することは出来なかったが、細胞膜の内部に残存している可能性が十分に考えられる。

V 要 約

ワカメ (*Undaria pinnatifida* Suringar) 幼葉の初期発生における粘液腺の発生分化とその微細構造を明らかにした。

1. 形態観察の材料は、葉長0.5~10cmまでの生鮮な幼葉を用いた。固定は、グルタールア

ルデヒドとオスミツク酸の二重固定を施し、エタノールにて脱水後、エポン包埋して光顕、電顕観察した。

2. 葉長約 0.5cm の幼葉前期は、未分化な単層細胞期で、単層細胞中に粘液腺の起源細胞が見られた。

3. 粘液腺は、隣接する細胞の融合によって発達した。

4. 粘液腺の上部にある最外層の細胞壁の開口部から外部へ粘質物が噴出した。噴出される粘質物中には、萎縮した葉緑体やミトコンドリアなどの細胞小器官の一部が見い出されるが、噴出後の腺に無傷でゴルジー体が細胞質に残され、粘質物の再生産が示唆された。

5. 葉長 3～5 cm の幼葉中期では発生が進み、明瞭なラミナリア構造になると、粘液腺の起源細胞は表層中に現われ、粘液腺に分化した。

6. 粘液腺は、円形、楕円形、西洋梨形をしており、十分に成熟した粘液腺の小型のものに属する大きさまで増大していた。

7. 葉長約 10cm の幼葉後期には、組織の分化がほぼ完成した。分化の完了した組織においても、新たに粘液腺が表層細胞中に生じた。

終りに、終始御懇切な御指導を頂いた元広島大学 川上いつゑ教授、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。

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

- 奥田弘枝・請川琴子 ワカメの粘液腺について、広島女学院大学論集、1979、29：179—189。
奥田弘枝 ワカメ成熟葉体の電子顕微鏡的観察。特に表層、皮層細胞および粘液腺の微細構造について。藻類、1980、28(4)：255—263
Yendo, K. On the mucilage glands of *Undaria*. Ann. Bot. 1909.23：613—623.
笠原和男 ワカメ (*Undaria pinnatifida*) の粘液腺の分化について。Bot. Mag. Tokyo 1967.80：279—287.
Kasahara, K. The development of the mucilage gland of two Japanese species of *Alaria*. Bot. Mag. Tokyo 1973. 86：169—181.
Yendo, K. A monograph of the genus *Alaria*. Jour. Coll. Imp. Univ. Tokyo 1919. 43：1—145.
Milloning, G. J. Biophys and biochem. Cytol. 1961. 11：736.
Yendo, K. The development of *Costaria*, *Undaria* and *Laminaria*. Ann. Bot. 1911. 25：691—715.
安藤芳明 海藻 (*Dictyopteris divaricata*) のいわゆる Fucosan に就いて。植物学雑誌、1951、64：192—195。
安藤芳明 昆布科藻類の粘液細胞におけるメタクロマジー。医学と生物学、1955、31：21—25。
Ando, Y. Studies on physoden I. Jap. J. Phycol. 1958a. 6(1)：28—30.

- Ando, Y. Studies on physoden II. Jap. J. Phycol. 1958b. 6(2) : 1-6.
- Sauvageau, M. Sur les "glandes á mucilage" de certaines Laminaires. C. R. Acad. Sci. Paris 1916 : 162 : 921-924.
- Grenville, D. J., Peterson, H.L. Barrales and Gerrath, J.F. Structure and development of the secretory cells and duct system in *Macrocystis pyrifera* (L.) C. A. Agardh. J. Phycol. 1982. 18 : 232-240.
- Walker, D.C. and Bisalputra, T. A re-examination of the mucilage duct system of *Nereocystis luetkeana* (Mertens) Postel and Ruprecht (*Phaeophyta*). Protoplasma. 1977. 93 : 109-126.

Explanation of the Figures

- Fig.1 The tip of the leaf about 0.5cm in length. Periclinal (arrow) and anticlinal divisions (double arrow) are seen. ×400
- Fig.2 The tip of the leaf 0.5cm in length. Primitive developing mucilage gland is observed. ×2000
- Fig.3 The tip of the leaf 0.5cm in length. Intercellular connection between neighbouring cells through openings of cell wall are seen. ×800
- Fig.4 The tip part of the leaf 0.5cm in length. secretion of the mucus from mucilage gland is observed (arrow). ×570
- Fig.5 The middle portion of the leaf 0.5cm in length. Epidermal and cortical layers are differentiated. A mucilage gland is seen in epidermal layer (arrow). ×300
- Fig.6 The tip part of the leaf 3cm in length. Epidermal, cortical and medullary layers are seen. Mucilage glands (arrows) are also seen. Sieve tubes are seen in the medullary layer. ×800
- Fig.7 The stipo-frondal growing point of the leaf 10cm in length. A pear like mucilage gland is observed (arrow). ×300
- Fig.8 The tip of the leaf 0.5cm in length. Nucleus (N), several chloroplasts (C) and Golgi body (G) are seen. ×3000
- Fig.9 The middle part of the leaf 0.5cm in length. Nucleus (N), nucleolus (NO) and membrane substances (arrow) are observed. ×4800
- Fig.10 The tip of the leaf 3cm in length. Variable vesicles are formed by membranous materials. Chloroplasts (C) and mitochondria (M) are packed by the membrane. ×5600
- Fig.11 The tip of the leaf 3cm in length. Secretion of mucus through the pore of cell wall of the mucilage gland is seen. ×5000
- Fig.12 The tip part of the leaf 3cm in length. High magnification of the opening of the mucilage gland. Ejaculating chloroplast (C) and mitochondria (M) are seen. ×8100
- Fig.13 The stipo-frondal growing point of the leaf 10cm in length. A pear like mucilage gland and the opening about 4μm in diameter are observed. ×2700
- Fig.14 Golgi bodies (G) are seen in the membrane system. ×13000
- Fig.15 A mitochondrion (M) is seen in the membranous materials. ×18000





