

原 著

ヒョウタンゴケの胞子の成長に対する光の影響

岩波洋造・大庭茂美・平賀保彦・真鍋勝司*

Effects of light on the growth of the spores of *Funaria hygrometrica*Yozo IWANAMI, Shigemi OHBA, Yasuhiko HIRAGA
and Katsushi MANABE*

(受付：1984年5月15日)

まえがき

コケの胞子の発生や形態、培養方法などについては、古くからよく調べられているが、胞子の発芽や発芽管の伸長についての生理学的な研究は、それほど多くは行われていない。筆者らは今まで主に花粉の研究を行ってきたが、最近コケの胞子の生理学的研究を始めた。花粉の成長と胞子の成長をくらべると、よく似ている点もあるが、ちがっていることも多い。たとえば花粉と胞子の発芽開始の様子は、顕微鏡でみても見分けがつかないほどよく似ている。しかし花粉の成長は細胞（栄養細胞）が伸長することによって行われるのに対して、胞子の成長は主に細胞分裂によって行われている。また、花粉は葉緑体をもっていないから、外部から有機物を吸収しながら生活するのに対して、胞子は葉緑体をもち、光合成を行って自分で有機物を合成しながら生きている。つまり栄養のとり方の面からみると、花粉は動物と同じであるが、胞子は明らかに植物である。

筆者らは、胞子の成長と光との関係について実験

を行い、幾つかの興味ある事実を見出したので、それらの結果について報告する。

I. 実験材料と方法

今回の実験に用いた植物は、世界中いたるところに生えているヒョウタンゴケ(*Funaria hygrometrica*)である。このコケは強光のあたる所では育たず、樹下などの弱い光があたっている場所に繁殖する。5～7月頃ヒョウタン型の胞子のうを作り、その中に胞子を生産する。胞子が成熟して黄褐色になった胞子のうを、柄の部分で切りとり、葉包紙につつんでプラスチックの容器中に入れ、冷蔵庫(5°C)中に貯えた。こうして低温中におくと、ヒョウタンゴケの胞子は、少なくとも2年間は正常に発芽するが、今回の実験では採取後6カ月以内のものを使用した。

胞子の培養にはクノップ液を寒天で固めた培地が使われた。まずクノップ液をつくり、それを蒸留水で2倍にうすめた。その液に寒天(1.5%)を加え、加熱して寒天を溶かした後に、液を正方形のガラス板(4×4 cm・厚さ2 mm)の表面に流した(厚さ

* 横浜市立大学生物学教室 〒236 横浜市金沢区瀬戸町

Biological Institute, Yokohama City University, Seto-cho, Kanazawa-ku, Yokohama 236

約 3 mm)。そのまま放置しておくと、5 分後には寒天液が固って寒天板になる。これが寒天培地である。培地の表面にヒョウタンゴケの胞子をばらばらに散布し、それを小型のシャーレに入れて培養した。培養中に培地の水分が蒸発し、培地の表面が乾き気味になると胞子が発芽しなくなる。それを防ぐため、図 1 のようにシャーレの底にクノップ液の 2 倍希釈液を入れ、寒天板の下部がその液に浸るようにして、シャーレのふたをした。

こうして胞子と培地を入れたシャーレを、25°C の恒温室中の蛍光灯の下 (約 1,000 lux) において培養すると、胞子は培養開始後 35 時間くらいで発芽をはじめ、48 時間後には発芽管の長さが胞子の直径の 5 ~ 8 倍の長さになる。光の照射には、ふつうは 20 W の白色蛍光灯を用いたが、実験の目的に応じて他にもいろいろの光源を用いた。胞子を回転させるには市販のシンクロナスモーターの軸に小さな円板をとりつけ、その板が水平になるようにモーターを固定し、板の上にシャーレをのせてモーターを回転させた。実験結果の記録は、顕微鏡写真撮影装置で写真にとると共に、各培地ごとに 10 か所で、それぞれ 100 個以上の胞子について、発芽したものの数をかぞえ、発芽率を算出して、その平均値をグラフに示した。

II. 実験結果と考察

1) 光の強さと発芽

ヒョウタンゴケの胞子を培地にまき、暗黒中に 24 時間おいた後に、いろいろの強さの光を 24 時間照射し、ふたたび暗黒中に移して、24 時間後に発芽率を調べた。培養開始後 24 時間たってから光の照射を行ったのは、予備実験によって吸水直後の胞子は光に対する感受性が低いことがわかっていたからである。光の強さの調節は、光源 (20 W の白色蛍光灯) と胞子との距離をいろいろにかえることによって行われた。実験の結果が図 2 に示されている。

このグラフからヒョウタンゴケの胞子は光をあてないとまったく発芽しないこと、および光をあてると発芽するようになり、2,750 lux では 60% 以上の

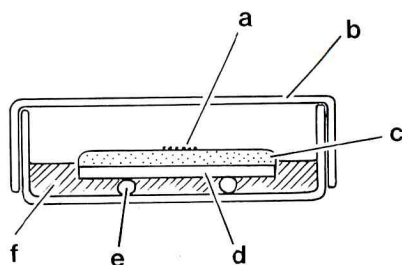


図 1 ヒョウタンゴケの胞子の培養方法

a—胞子、b—小型シャーレ、c—寒天培地 (クノップ液の 2 倍希釈液使用)、d—ガラス版、e—ガラス棒、f—クノップ液の 2 倍希釈液

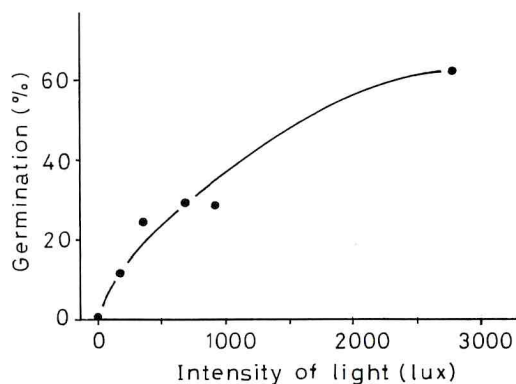


図 2 ヒョウタンゴケの胞子の発芽と光との関係 (暗黒中で 24 時間吸水させた後、いろいろな強さの光を 24 時間あて、ふたたび暗黒中において 5 日後の結果)

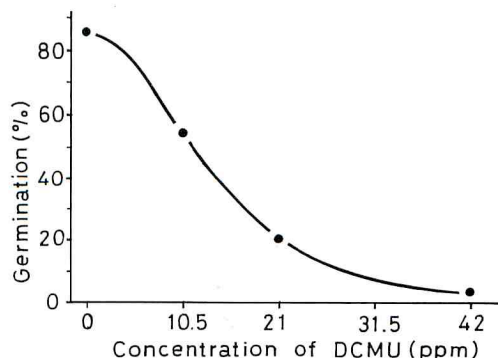


図 3 ヒョウタンゴケの胞子の発芽に対する DCMU (光合成阻害剤) の影響 (連続照明下の発芽率)

胞子が発芽することがわかる。なお、光の強さを3,000 lux 以上にすると、発芽率はそれ以上高くならず、10,000 lux 以上になると発芽率は逆に低くなることが認められた。

2) 光合成阻害剤の DCMU の影響

前の実験でヒョウタンゴケの胞子が発芽するには光が必要であることがわかったが、光が必要な理由に、胞子が発芽に必要な有機物を光合成によって合成することが考えられる。このことを確かめるために、ショ糖、ブドウ糖、果糖、および非代謝糖のペンタエリスリトールの4種類(0.05M)を、別々に加えた培地をつくり、それぞれにヒョウタンゴケの胞子をまいて、暗黒中で発芽するかどうかを調査した。その結果が表1に示されている。

表にみられるように、ヒョウタンゴケの胞子はショ糖、ブドウ糖、果糖などの代謝に使われる糖があれば、光のない所でも発芽するが、非代謝糖のペンタエリスリトールの場合、暗黒・無糖と同じように発芽しないことが確かめられた。この実験の結果から、胞子は光合成で作られる糖を発芽に利用していると考えられるが、このことをさらに確認するために、光合成阻害物質の DCMU (3,4-Dichlorophenoxy 1,1-dimethylurea—光合成の光化学系IIからIへの電子の流れを止める作用をもつ)を培地に加え、ヒョウタンゴケの胞子の発芽に対する影響を調べた。図3はいろいろの濃度の DCMU を含む培地に胞子をまき、3,000 lux の光をあてたときの胞子の発芽率を示している。

グラフにみられるように、胞子は光が十分あっても、DCMU があると発芽しなかった。したがって発芽時に与えられる光は、光合成を通して胞子の発芽に影響を与えていると考えられる。

4) 赤色光と近赤外光の影響

今までの実験によって、胞子の発芽には光が必要であり、その光は光合成を通して胞子の発芽に役立っていることがわかったが、一方、糖を含む培地上で光を与えずに育てたときの発芽率が、光を与えたときほどは高くないこと(表1)から、光は光

合成以外においても、胞子の発芽を進めるのに役立っているのではないかと考えられる。そこで次に、胞子に赤色光と近赤外光を照射したときの発芽の様子を調べた。

赤色光の照射は20 Wの白色蛍光灯2本と胞子との間に1.3 mmの厚さの赤色プラスチックフィルター(Toray glass)をおき、560 luxの強さの赤色光が胞子にあたるようにした。近赤外光の場合は、タングステンランプに近赤外光用のフィルターを用い、240 luxの強さの近赤外光が胞子にあたるようにした。なお後者の場合には、光源とフィルターとの間に水を入れた水槽をおいて、断熱フィルターのかわりにした。

胞子を暗黒中で24時間培養した後、赤色光を照射し、暗室中にもどして24時間培養した後、発芽率を

表1 ヒョウタンゴケの胞子の発芽に対する4種類の糖の影響(暗黒中で48時間後の発芽率)

濃度 (M)	Sucrose	Glucose	Fructose	Pentaerythritol
(無糖)	0	0	0	0
0.001	5.5	6.2	—	0
0.01	9.6	17.4	—	0
0.03	6.7	—	7.4	0
0.06	5.9	5.2	3.7	0
0.1	5.4	12.1	—	0
0.5	0	0	0	0
1	0	0	0	0

表2 ヒョウタンゴケの胞子の発芽に対する赤色光(R)と近赤外光(FR)の影響

光の条件	発芽率 (%)
無照射(暗黒中)	3.2
R	14.8
FR	3.6
R-FR	7.4
FR-R	21.6
R-FR-R	18.1
FR-R-FR	1.8

調べたところ、赤色光を10分間照射するだけで、孢子が発芽するようになった。そこで次に、赤色光と近赤外光とを交互に与えてみたところ、赤色光による発芽力は近赤外光によって消去され、その孢子に赤色光をあてると、ふたたび発芽するようになることがわかった。表2にこれらの実験結果が示されている。

ヒョウタンゴケの孢子に対する赤-近赤外可逆性については、すでに Bauer and Mohr (1959) によって観察されている。彼らの結果では、対照の暗黒中の孢子が50%近く発芽していて、3時間赤色光を照射すると発芽率が、対照に比べて60%上昇したにすぎない。筆者らの実験結果では、赤色光を照射した場合の発芽率が、対照(暗黒)の5倍にも達した(ただ表2で、赤色光を最後にあてたときの発芽率がそれほど高くならなかったが、これは赤色光照射時間を10分間と限ったためと思われる)。

以上の実験結果から、ヒョウタンゴケの孢子は光を光合成に利用しているだけでなく、フィトクロームを通して発芽の調節にも利用していることがわかる。つまり光は光合成と光形態形成の両方に使われていると考えられる。

5) 発芽管の伸長方向と光

ヒョウタンゴケの孢子を培地にまき、横から光が孢子にあたるようにしておくと、発芽した孢子の発芽管は、真すぐ光の方に向かって伸びてゆく(図4の1)が、管の成長の途中で光源の位置を動かすと、発芽管は伸長の向きを変え、光源に向かって伸びてゆく。図4の2は成長の途中で光源を90°ずつ4回、図4の3は60°ずつ2回移動させたときの発芽管の伸長状態を示している。孢子はこのような確実に光源の位置をとらえ、光源の方向に向かって伸びるから、光源を今までと正反対の方向に移動させる(180°移動させる)と、発芽管は完全にUターンをする。

孢子の発芽管が光の方に伸びること自体はすでにヒョウタンゴケの孢子(Jaffe and Etzold 1965)やシダ類の孢子(Etzold 1965)について観察されているが、それらは光の誘導の機構に関する研究の一部

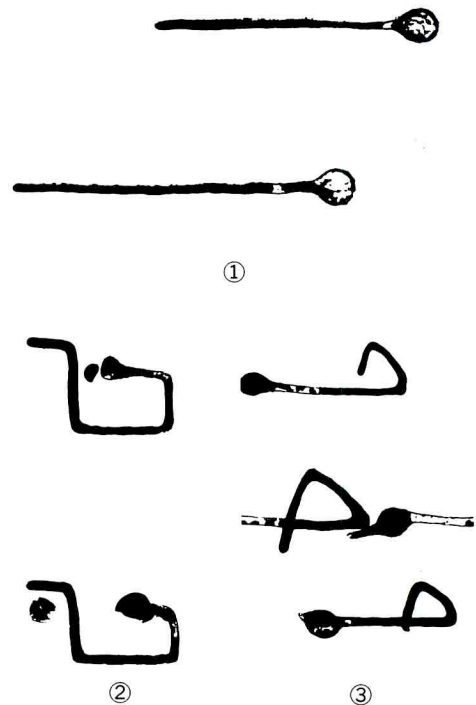


図4 ヒョウタンゴケの成長に対する光の影響。1—左から光をあてて発芽させたとき、2—右から光をあてて発芽させ、途中で光源を90°ずつ4回移動させたとき、3—右から光をあてて発芽させ、途中で光源を60°ずつ3回移動させたとき

として行われたものである。筆者らは孢子の光屈性(屈光性)が、自然界での孢子の成長とどんな関係にあるかを調べるために、動いている光源に対してヒョウタンゴケの孢子の発芽管がどのような伸長の仕方をするかを調べた。

自然界において孢子が受ける強い光といえば、太陽の光であろう。しかし太陽は常に動いている(実際には地球が自転している)。孢子は動いている太陽の光をどのようにとらえ、反応しているのであろうか。このことを調べるために、孢子と培地が入っているシャーレを、いろいろな早さで廻る(1/24 hr、1/12 hr、1/8 hr)シンクロナスモーターにとりつけた円板の上におき、顕微鏡用の光源の光(500 lux)を横からあてながらモーターを廻転させた。図5に



図5 光源を固定し、胞子を回転させたときの発芽管の伸長

1—24時間に1回転(太陽と同じ早さ)のときは真円を描く、2—12時間に1回転、3—8時間に1回転

その実験の結果が示されている。

図5の1の写真は、胞子を地球と同じ早さ(24時間に1回転)で回したときの管の伸長状態である。このように発芽管は完全な真円を画いて伸びた。この結果は、ヒョウタンゴケの胞子は太陽と同じ早さで動く光なら、それを追いかけて伸びることができるということを示している。図5の2は12時間に1回転、図5の3は8時間に1回転させたときの発芽管の伸長状態である。発芽管が真円を画かず乱れた形になっているのは、光を追いかけて伸ばすが追いつけないためであろう。

次に、光の中だけで回転させるのではなく、明と暗(夜と昼)を与えながら胞子を回転させてみた。シャーレの半分を黒紙でつつみ、それをシンクロナスモーターを使って24時間に1回転の早さで回すと、地球の表面で太陽の光を受けていると近い状態になる。図6は、これらの実験の結果を整理して示したものである。

図6の左はシャーレをそのまま横から光をあてながら回転させたとき、右はシャーレの半分を黒紙でつつんで回転させたときの発芽管の伸長の仕方である。シャーレを半分黒紙でつつみ、夜と昼をつつて回転させたとき、胞子の発芽管は半円を連ねたメガネ橋のような形に伸長した。これは筆者らの誰も予想しなかった結果であったが、よく考えてみると、発芽管は半日光を追いかけて半円を描き、夜になると光がないために伸長を停止する。その間にも胞子は回り続けるが、光がないから発芽管はそのまま止まっている。やがて12時間が過ぎると、ふたたび光(朝日)があたり始めるが、この時には反対の方向からあたり始める(太陽は西に落ちるが、朝日は東から登る)。そのため発芽管は引き返すような形になって、また半日間光を追いつづけて半円を描く。したがって発芽管がメガネ橋のような形に伸びるのは当然のことであるといえる。

シャーレを回す速度を大にするとメガネ橋の形が

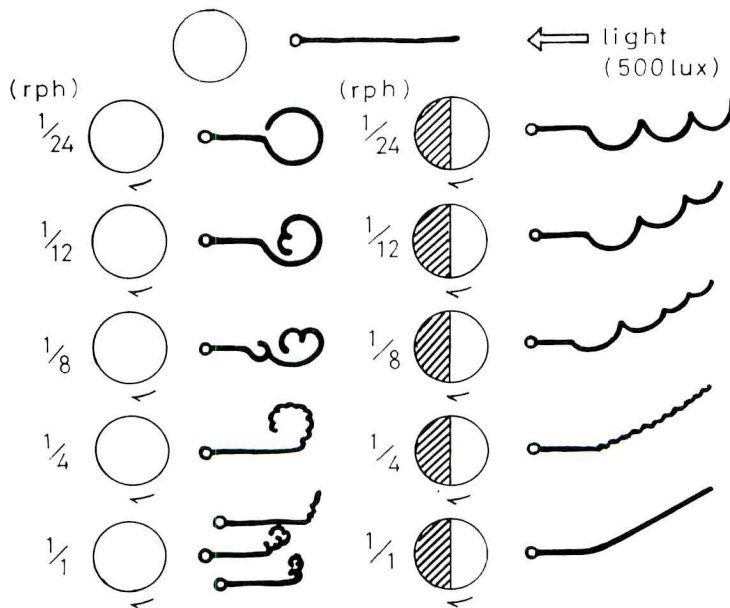


図6 右から光を照射しながらヒョウタンゴケの胞子を回転させたときの発芽管の伸び方、数字は回転の早さ、斜線部はシャーレの半分を黒紙でおおって回転させた(地球のヒルとヨルの状態を作った)ことを示す

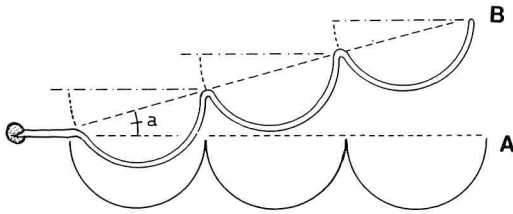


図7 明暗の環境を与えながら24時間で1回転させたときの孢子の発芽管の伸長の仕方の説明図。(Aは理論的に予想される伸び方、Bは実際の伸び方)

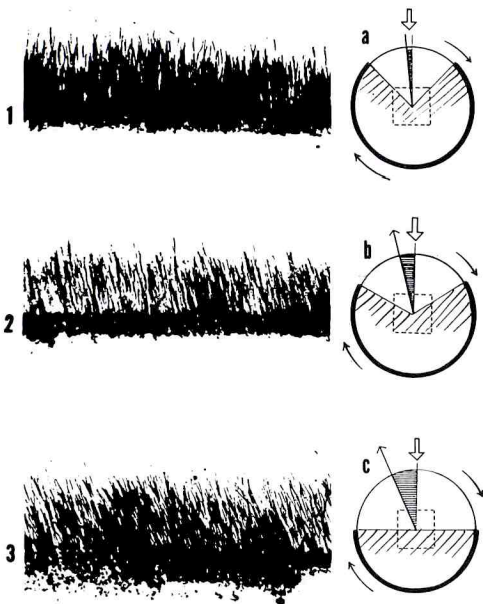


図8 シャーレを黒紙でおおい、開口部を90°、120°、180°にして回転させた(1時間に20回)ときのヒョウタンゴケの孢子の発芽管の伸長方向(矢印は光の方向)

崩れ、次第に直線状になった。この実験でもう一つ、まったく予想されなかった現象があらわれた。それは半円の連続、あるいは小さな半円の連続の直線状

の発芽管が伸びてゆく方向が、明の時間の真中(正午の太陽の方向)ではなく、それより左(図5の場合は上方)に向かっていただことである。この原因について、まだ十分に説明することはできないが、筆者らは今のところ、次のように考えている。ヒョウタンゴケの孢子の発芽管は、暗黒中では伸びられず、光があたると伸長を始めるが、暗から明に変わってもすぐには伸長を始めることができない。つまり伸長を再開するには一定の準備時間が必要である。ところがその準備のための時間中にも光は動いているので、理論的に考えられる方向と、実際の伸長方向との間にずれが生ずるのであろう。図7はそのことを説明している。

図8の写真は、孢子の入っているシャーレを黒紙でつつみ、一部を切りとることによって光が入る部分(開口部)の広さをいろいろに変えて早い速度(1時間に20回転)で回転させたときの孢子の発芽管の伸長の状態を示している。この場合、孢子は培地の中央部に直線状に密に散布された。これらの孢子の発芽管は一斉に開口部に向かって伸びたが、この場合にも開口部の中央よりかなり左の方向に向かって伸びた。しかも、写真にみられるように開口部が広いときほど、左に向かう角度が大きくなっていった。このことについては今のところ上手に説明することはできないが、この場合も管の伸長が明暗の変化についてゆけないことが、原因の一つになっていると思われる。

以上のようにヒョウタンゴケの孢子の光に対する反応には不可解なことも多いが、今回の実験で孢子が予想以上に光に敏感に反応することが明らかになった。中でも、発芽管が動く光を追いかけて伸びることは大へん興味深い。孢子の発芽管の先にはレーダーのようなもの(高度な光受容体)があり、それがいつも光源の位置をとらえて、発芽管をその方向に伸長させているのであろう。孢子がもっているレーダーの正体は何か? 発芽管はどんな仕組みで光を追いかける作業をしているのか? これらはいずれも、今後の重要な研究テーマとなる。

参 考 文 献

1. 尾田義治：植物の光形態形成。東大出版会（1976）
2. Sugai, M. and M. Furuya: Plant & Cell Physiol. 8. 737 (1967)
3. 古谷雅樹：植物生理学講座。4（朝倉書店）（1976）
4. 井上浩：シダ，コケ類の生態と観察。築地書店（1975）
5. 井上浩：コケ（北隆館）（1975）
6. 根平邦人：こけの発生。遺伝 27. 3（1973）
7. Bauer, L. and H. Mohr. Planta 54. 68 (1959)
8. Jaff, L and H. Etzold. Biophys. J. 5. 715 (1965)
9. Etzold, H. Planta 64. 254 (1965)

Summary

Effects of light on spore germination of moss, *Funaria hygrometrica* were investigated. The spore did not germinate in darkness when it was incubated with inorganic medium. Additions of metabolic sugars, such as sucrose, glucose and fructose in the medium induced the dark germination, whereas pentaerythritol (non-metabolic sugar) had no effect. Continuous white light illumination promoted the germination. The light promotion effect was inhibited by DCMU; a photosynthetic inhibitor. These results indicate that the promotion effects of light on the germination are at least partially photosynthetic.

The spore germination was also partially regulated through phytochrome, as reported earlier (Bauer and Mohr 1959). In our experimental system, the red/far-red reversibility on the germination was more clearly observed than the earlier results.

Phototropic response of the chloronema was also examined. The chloronema grew to search for the direction of the illumination when the direction of the light was constantly rotated. As a result, the chloronema grew to make a round hoop each day, when the moss in a petridish was raised on a rotated turntable (1 revolution per day) with unilateral illumination from a fixed light source. In the same experiment as above, but in this case the moss being in a half shaded petridish the chloronema grew to make a round arch each day.