

ノ ー ト

市村輝宜：ネパール産 *Oocystaenium elegans* の無菌培養* Terunobu
ICHIMURA: Axenic culture of *Oocystaenium elegans* from Nepal*.

本藻は、Bombay 市郊外 Goregaon にて、夏期の頃雨水が溜った所に繁殖しているのを、GONZALVES と MEHRA¹⁾ によって最初に発見され、一属一種の新しい分類群 (taxon) として報告された。また、同じくインドのデカン高原の中央部にある Nagpur 市の小さな水溜りに、8月から11月にかけて本藻が良く繁殖しているのを KAMAT²⁾ が報告している。本報告は、本藻についての第3番目の報告であり、インド以外の国にも本藻が棲息していることを最初に確認したものである。

筆者は、1965年9月末から12月初めにかけて Nepal の中央部の水田・水溜りなどから採取した土壌サンプル約80点を調べていたところ、その中の1点より本藻を発見した。しかし、その後同国より得られた約50点、韓国、マレーシア、メキシコなどより数点の他に、日本の各地より採取した同様なサンプル多数を調べているが、上記の他にはまだ本藻を発見することができない。本藻は単細胞ではあるが、比較的大きく調和のとれた美しい紡錘形をした特徴のある藻であることから、世界中の多くの淡水産藻類研究者の目をのがれることはまずないと思われる。にもかかわらず、このように報告例がごくまれな理由は、本藻の棲息条件の幅が狭く、分布範囲も限られているためと思われる。

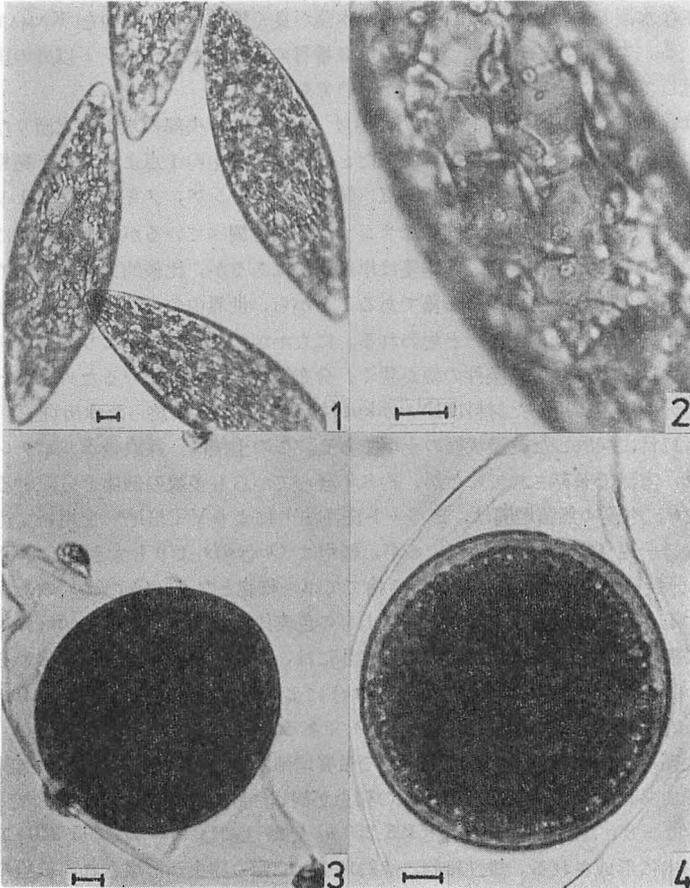
本藻の分離培養に用いた材料は、Nawakot村近くの稲刈りの終わった水田(標高1,120m)より10月11日に採取した乾燥状態の土壌である。この土壌は、採取後ポリエチレンの容器に入れ、室温で保存されていたが、約8年経ってからも多数の個体を分離することができた^{3),4)}。本藻の無菌培養は、ピペット洗浄法⁵⁾によりVT培地⁶⁾を用いて行った。

本藻は、一見 *Oocystis* と似ているが、細胞は *Oocystis* よりも大きく(55-58×185-205 μ), 分裂後すぐに親の細胞壁を脱ぎ捨てて単一細胞となり、*Oocystis* のような群体を形成することはない。細胞には200以上もの色素体が含まれ、時には *Eremosphaera* のように網目状に配列する。円盤状の色素体には、1個のピレノイドが見られる。無性生殖は2または4個のオート孢子 (autospore) による。有性生殖は、精虫 (antherozoid) と卵 (egg) の受精による卵接合 (oogamy) である。

有性生殖の誘起は、約1ヶ月VT培地で栄養増殖させたものを接合培地⁶⁾に移すのが効果的であった。操作後2日目で多数の精虫が観察された。本藻は同株接合 (homothallic) であり、雄性細胞 (37-43×125-250 μ) と雌性細胞 (67-73×205-240 μ) が同一クローン内に形成される。雄性細胞には約16また32個の精虫が形成され、細胞の一方の端から放出される。雌性細胞は、その濃緑色の内容がすべて一塊りとなり、1個の卵を

* Contributions from the Tethys Society, No. 22.

形成する。受精卵すなわち接合子は、厚膜形成を行い、レンガ色したカロチン様の同化物質を貯えた休眠細胞である。接合誘起に用いた強光の条件下 (10000 lux, 16:8, 25-27 C) では、VT培地で培養を続けていても、数ヶ月後にはレンガ色の接合子が試験管の底に溜ることから、本藻は同条件下では自然と有性生殖が起るものと考えられる。得られた無菌クローンの代表株 N-11-2 は、1973年5月30日に単一細胞の分離を行って以来、弱光下 (3000 lux, 12:12, 20 C) で栄養増殖をさせ、継代培養を続けている。



Figs. 1-4. *Oocystaenium elegans* GONZALVES et MEHRA. Fig. 1. Vegetative cells cultured in VT medium. Fig. 2. Numerous discoid chloroplasts with a pyrenoid in a vegetative cell. Fig. 3. An immature zygospore with remnant antherozoids. Fig. 4. A mature zygospore with brick-red storage substances. A bar in each figure indicates 10 μ m.

Summary

Oocystaenium elegans was recorded for the first time from Nepal. Previously, this alga had been recorded only twice in India^{1,2)}. A soil sample collected on Oct. 11, 1965 near Nawakot in the central part of Nepal was used for isolating⁴⁾ several axenic clones. The sexual reproduction could be induced by transferring the vegetative cells grown in VT medium for a month into MI medium⁶⁾ (pH 8.5) and culturing them for a few days under high light conditions (10000 lux, 16:8, 25-27 C). Male and female cells appeared in the same clonal populations. Approximately 16 or 32 antherozoids were produced from a male cell. By the time of fertilization, the whole cytoplasm of a female cell differentiated into an egg. Confirmation of oogamy in this alga agrees well with the results of the previous investigators which were studied with natural samples or crude cultures. In aged cultures in VT medium, all of the clones obtained yielded many brick-red zygospores under the high light conditions. Thus, homothallism was shown in this alga for the first time. Vegetative cultures of the representative clone, N-11-2, have been maintained in VT medium under weak light conditions (3000 lux, 12:12, 20 C). Also, it was recorded that zygospores contained in the original soil sample had been viable for at least 8 years.

文 献

- 1) GONZALVES, E. A. & MEHRA, K. R. (1959) *Oocystaenium*, a new genus of the Chlorococcales. *Hydrobiologia*, **13**: 201-206.
- 2) KAMAT, N. D. (1969) Life history of *Oocystaenium elegans* GONZALVES et MEHRA. *Rev. Algol.* **3**: 231-235.
- 3) 市村輝宜 (1971) 微細藻類の培養に関するあれこれ (1). *遺伝* **25**(12): 69-75.
- 4) STARR, R. C. (1973) Special methods—dry soil samples, In *Handbook of Phycological Methods* (J. R. STEIN, ed.), Cambridge Univ. Press, Cambridge: 159-167.
- 5) 市村輝宜 (1972) 微細藻類の培養に関するあれこれ (2). *遺伝* **26**(1): 97-100.
- 6) ICHIMURA, T. & WATANABE, M. (1974) The *Closterium calosporum* complex from the Ryukyu Islands—variations and taxonomical problems. *Mem. Natn. Sci. Mus.*, Tokyo **7**: 89-102.

(東京大学応用微生物研究所)