

The Japanese Journal of PHYCOLOGY

CONTENTS

Michio Masuda: <i>Odonthalia kawabatae</i> sp. nov. (Rhodophyta, Rhodomelaceae) from the Kurile Islands	151
Akira Harada and Takaaki Yamagishi: Cytological studies on <i>Sirogonium</i> (Chlorophyceae) 2. Meiosis in <i>S. melanosporum</i> and <i>S. sticticum</i>	157
Terumitsu Hori: Ultrastructural studies on nuclear division during gametogenesis in <i>Caulerpa</i> (Chlorophyceae).....	163
P. M. Sivalingam and Rodziah Ismail: <i>Cladophora</i> spp. as a prominent global algal monitor for trace metal pollutants 1. High concentration stresses and modes of biodeposition	171
Shuzi Hino and Kazuo Ando: The influence of high molecular organic substances in sediment on the green alga <i>Chlorella pyrenoidosa</i> CHICK	181
Hiroimi Ashino-Fuse and Tomoyoshi Ikawa: Photosynthesis and carbon metabolism in <i>Tetraselmis</i> sp. (Prasinophyceae).....(in Japanese)	189
Shoji Saito: Decrease in cell length in two species of <i>Synedra</i> (Bacillariophyceae) in laboratory culture	197
Kazuo Ando: Moss diatoms in Japan (4).....(in Japanese)	201
Review	
Yasutsugu Yokohama: Green light-absorbing pigments in marine green algae, their ecological and systematic significance	209
◆ ◆	
Notes	
Isao Inouye and Takeo Horiguchi: Notes on microalgae in Japan (4).....	180
Yoshio Sakai: Institute of Algological Research, Faculty of Science, Hokkaido University.....	188
Mitsuo Chihara: Phycological research activities in China (1).....	207
Book Review	196
Announcement.....	223

日本藻類学会

日本藻類学会は昭和28年に設立され、藻学に関心をもち、本会の趣旨に賛同する個人及び団体の会員からなる。本会は定期刊行物「藻類」を年4回刊行し、会員に無料で頒布する。普通会員は本年度の年会費4,000円(学生は2,500円)を前納するものとする。団体会員の会費は5,000円、賛助会員の会費は1口15,000円とする。

入会、退会、会費の納入および住所変更等についての通信は 113 東京都文京区弥生 2-4-16「学会センタービル内」日本学会事務センター宛に、原稿の送付およびバックナンバー等については 305 茨城県新治郡桜村天王台 1-1-1 筑波大学生物科学系内日本藻類学会宛にされたい。

The Japanese Society of Phycology

The Japanese Society of Phycology, founded in 1953, is open to all who are interested in any aspect of phycology. Either individuals or organizations may become members of the Society. The Japanese Journal of Phycology (SÔRUI) is published quarterly and distributed to members free of charge. The annual dues (1981) for overseas members are 5,000 Yen (send the remittance to the Business Center for Academic Societies Japan, 4-16, Yayoi 2-chome, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan).

Manuscript for the Journal should be addressed to the Japanese Society of Phycology, c/o Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki-ken, 305 Japan.

昭和56, 57年度役員

会長: 千原 光雄 (筑波大学)
庶務幹事: 原 慶明 (筑波大学)
 横浜 康継 (筑波大学)
会計幹事: 井上 勲 (筑波大学)
評議員:

秋山 優 (島根大学)
広瀬 弘幸 (神戸大学)
加崎 英雄 (東京都立大学)
喜田和四郎 (三重大学)
小林 弘 (東京学芸大学)
右田 清治 (長崎大学)
三浦 昭雄 (東京水産大学)
中沢 信午 (山形大学)
西澤 一俊 (日本大学)
大森 長朗 (山陽学園短期大学)
奥田 武雄 (九州大学)
阪井与志雄 (北海道大学)
谷口 森俊 (三重大学)
舘脇 正和 (北海道大学)
梅崎 勇 (京都大学)
山岸 高旺 (日本大学)

編集委員会:

委員長 堀 輝三 (筑波大学)
幹事 渡辺 真之 (国立科学博物館)
委員 秋山 優 (島根大学)
" 有賀 祐勝 (東京水産大学)
" 巖佐 耕三 (大阪大学)
" 岩崎 英雄 (三重大学)
" 黒木 宗尚 (北海道大学)
" 小林 弘 (東京学芸大学)
" 正置富太郎 (北海道大学)
" 右田 清治 (長崎大学)
" 西澤 一俊 (日本大学)
" 吉田 忠生 (北海道大学)

Officers for 1981-1982

President: Mitsuo CHIHARA (Univ. of Tsukuba)
Secretary: Yoshiaki HARA (Univ. of Tsukuba)
 Yasutsugu YOKOHAMA (Univ. of Tsukuba)
Treasurer: Isao INOUE (Univ. of Tsukuba)

Members of Executive Council:

Masaru AKIYAMA (Shimane University)
Hiroyuki HIROSE (Kobe University)
Hideo KASAKI (Tokyo Metropolitan University)
Washiro KIDA (Mie University)
Hiromu KOBAYASI (Tokyo Gakugei University)
Seiji MIGITA (Nagasaki University)
Akio MIURA (Tokyo University of Fisheries)
Shingo NAKAZAWA (Yamagata University)
Kazutosi NISIZAWA (Nihon University)
Takeo OHMORI (Sanyo Gakuen Junior College)
Takeo OKUDA (Kyusyu University)
Yoshio SAKAI (Hokkaido University)
Moritoshi TANIGUCHI (Mie University)
Masakazu TATEWAKI (Hokkaido University)
Isamu UMEZAKI (Kyoto University)
Takaaki YAMAGISHI (Nihon University)

Editorial Board:

Terumitsu HORI (Univ. of Tsukuba), Editor-in-Chief
Masayuki WATANABE (National Science Museum), Secretary
Masaru AKIYAMA (Shimane University)
Yusho ARUGA (Tokyo University of Fisheries)
Kozo IWASA (Osaka University)
Hideo IWASAKI (Mie University)
Munenao KUROGI (Hokkaido University)
Hiromu KOBAYASI (Tokyo Gakugei University)
Tomitaro MASAKI (Hokkaido University)
Seiji MIGITA (Nagasaki University)
Kazutosi NISIZAWA (Nihon University)
Tadao YOSHIDA (Hokkaido University)

Odonthalia kawabatae sp. nov. (Rhodophyta, Rhodomelaceae)
from the Kurile Islands¹⁾

Michio MASUDA

*Department of Botany, Faculty of Science, Hokkaido University,
Sapporo, 060 Japan*

MASUDA, M. 1981. *Odonthalia kawabatae*. sp. nov. (Rhodophyta, Rhodomelaceae) from the Kurile Islands. Jap. J. Phycol. 29: 151-156.

A new species of *Odonthalia*, *O. kawabatae* MASUDA sp. nov. is described based on material collected from Shikotan Island, southern Kuriles. This alga is characterized by having narrow branches, midribs and broadly ovoid cystocarps with wide ostioles, and by a corymbose arrangement of cystocarps. A synoptical key is given for the species of *Odonthalia* with conspicuous midribs.

Key Index Words: *Odonthalia kawabatae*; *Odonthalia lyallii*; *Rhodomelaceae*; *Rhodophyta*; *taxonomy*.

KAWABATA (1936) reported *Odonthalia lyallii* (HARVEY) J. AGARDH from Shikotan Island, southern Kurile Islands. His voucher specimens preserved in the Herbarium of Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo (SAP) differ from genuine *Odonthalia lyallii* in several respects and are also distinguished from the other known species of this genus. Furthermore, the same alga was found in NAGAI's collection of algae from the Kurile Islands deposited in the Herbarium of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo (SAPA). The alga in question is described below as a new species, *Odonthalia kawabatae*.

Odonthalia kawabatae MASUDA, sp. nov.

Thalli plures erecti e disco basali communi effecti, omnino monopodiales, alterne-distiche ramosi (Figs. 2, 3), usque ad 10 cm in altitudine, specimen exsiccatum in colore atrorubrum et chartae adhaerens; axis principalis fere teres supra discum basalem et 600-800 μm in diametro, statim comprescens, extensus 1800-2300 μm latitudinem maximam ad partem mediam, costis solum ad partem infernam, ramis lateralibus in ramos sensim breviores usque ad 6-7 ordines divisus; rami laterales infra simplices, sed supra ramosi, costis solum ad partem infernam ramorum ordinis primarii in parte costata axis principalis portati (Figs. 4, 5); rami adventitii interdum in partibus infernis ad mediam axis principalis portati (Figs. 9, 10); costae primum in latus unum (Fig. 4) et demum utrinque crescentes (Fig. 5); ramuli procarpiferi polysiphonii, breves (Figs. 11, 12); cystocarpia in parte summa ramorum portata, corymbosa (Fig. 6), late ovoidea (Figs. 13-18), ostiolis latis (250-500 μm in diametro), 600-950 μm in longitudine et 600-950 μm in diametro, plerumque calcaribus (50-400 μm in longitudine); stichidia tetrasporangifera in parte summa ramorum portata, fasciculata (Fig. 7), leviter compressa, ad partem proximalem attenuata, 750-2300 μm in longitudine, 200-270 μm in diametro et 140-170 μm in crassitie; tetrasporangia in series longitu-

1) This study was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research No. 374218 from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

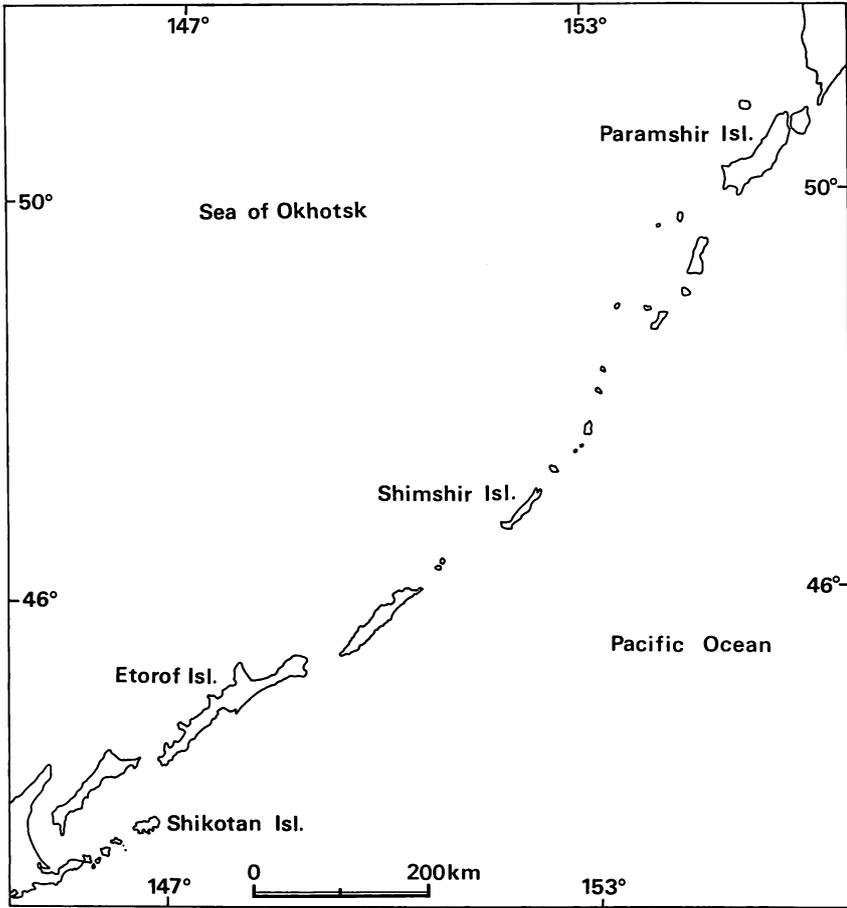


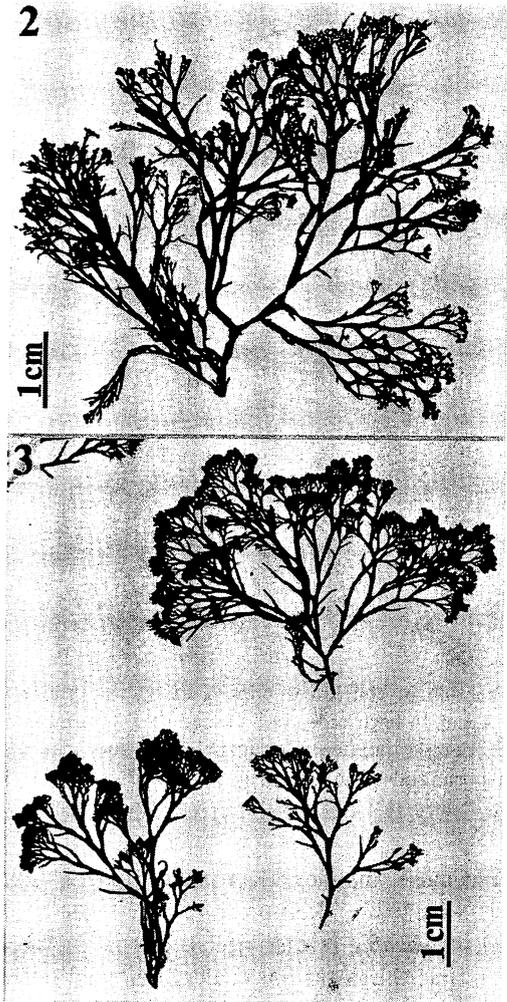
Fig. 1. Map of Kurile Islands, showing the four islands where the specimens of *Odonthalia kawabatae* was collected.

dinales duas (Fig. 8) ad 7-19 segmenta successiva stichidiorum formata, omnino cellulis obiectis duabus in latere instructa (Fig. 19), $100-120\ \mu\text{m} \times 100-130\ \mu\text{m}$, tetraedrice divisa; plantae spermatangiferae ignotae.

Holotypus: Specimen cystocarpiis (Fig. 2) ex insula Shikotan insularum Kurilensium australium lectum (SAP 15509A).

Several erect thalli issuing from a common basal disc, each thallus monopodial, alternate-distichously branched (Figs. 2, 3), up to 10 cm in height; dried specimen dark red in color and adhering to paper; main axis almost terete above the basal disc and $600-800\ \mu\text{m}$ in diameter, becoming immediately compressed, reaching a maximum breadth of $1800-2300\ \mu\text{m}$ at the middle por-

tion, with midribs only at the lower portion, with lateral branches divided into progressively shorter branches up to 6-7 orders; lateral branches simple below, but branched above, with midribs only at the lower portion of the first order branches borne on the costate portion of the main axis (Figs. 4, 5); adventitious branches sometimes borne on the lower to middle portions of the main axis (Figs. 9, 10); midribs appearing first on one side (Fig. 4) and later on both the sides (Fig. 5); procarp-bearing branchlets polysiphonous, short (Figs. 11, 12); cystocarps borne on the uppermost portion of branches, corymbose (Fig. 6), broadly ovoid (Figs. 13-18), with wide ostioles ($250-500\ \mu\text{m}$ in diameter), $600-950\ \mu\text{m}$ in length and $600-950\ \mu\text{m}$



Figs. 2-3. *Odonthalia kawabatae*. 2. Holotype specimen collected from Shikotan Island (cystocarpic, SAP 15509A) ; 3. Tetrasporangial specimens collected from Paramshir Island (SAPA).

in diameter, usually with calcars (50–400 μm in length); tetrasporangial stichidia borne on the uppermost portion of branches, fasciculate (Fig. 7), slightly compressed, attenuated to the proximal portion, 750–2300 μm in length, 200–270 μm in diameter and 140–170 μm in thickness; tetrasporangia formed in two longitudinal rows (Fig. 8) on 7–19 successive segments of the stichidia, each provided with two cover cells on the flank side (Fig. 19), 100–120 $\mu\text{m} \times 100$ –130 μm , divided tetrahedrally; spermatangial plants

unknown.

Holotype: Cystocarpic specimen (Fig. 2) collected from Shikotan Island, southern Kuriles, in July 1933 by S. KAWABATA (SAP 15509A).

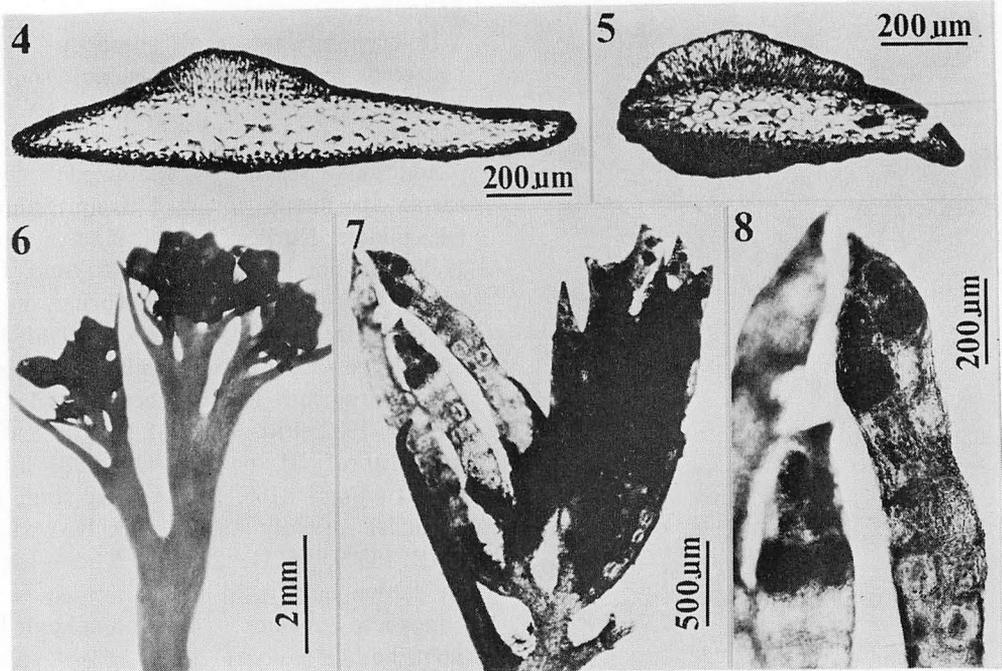
Additional specimens examined: Cystocarpic specimens collected from Shimshir Isl., middle Kuriles, by M. NAGAI (*Nagai* 1733, date not described, SAPA) and from Etorof (Iturup) Isl., southern Kuriles, on July 17, 1934 by M. NAGAI (*Nagai* 4161–4165, SAPA); tetrasporangial specimens collected from Paramshir Isl., northern Kuriles, on July 20, 1932 (Fig. 3) by M. NAGAI (SAPA), from Etorof Isl. on July 17, 1934 by M. NAGAI (*Nagai* 4160, SAPA) and from Shikotan Isl. in July 1933 by S. KAWABATA (SAP 15509, 15511, 22824). These islands are shown in Fig. 1.

Japanese name: Sikotan-nokogirihiba (nom. nov.)

The specific epithet *kawabatae* is dedicated to Dr. Seisaku KAWABATA who made the type collection of this species from Shikotan Island. According to KAWABATA (1936), this alga grows on rocks in the upper to middle intertidal zone. The description given above is based on materials collected from Shikotan Island. Other specimens gathered from Etorof Isl., Shimshir Isl. and Paramshir Isl. are similar in every respect to those from Shikotan Island. The distinction of this alga from other *Odonthalia* species is summarized below.

At present ten species are ascribed to the genus *Odonthalia*.¹⁾ These species can be divided into two groups on the basis of the nature of midribs. One group is characterized by conspicuously developed midribs. These include *O. dentata* (LINNAEUS) LINGBYE, *O. lyallii* (HARVEY) J. AGARDH, *O. ochotensis* (RUPRECHT) J. AGARDH, *O. kamtschatica* (RUPRECHT) J. AGARDH, *O. setacea* (RUPRECHT) PERESTENKO and *O. washing-*

1) *Odonthalia teres* PERESTENKO should be transferred to *Rhodomela* on account of the spiral branching and the presence of trichoblasts (MASUDA, unpublished).



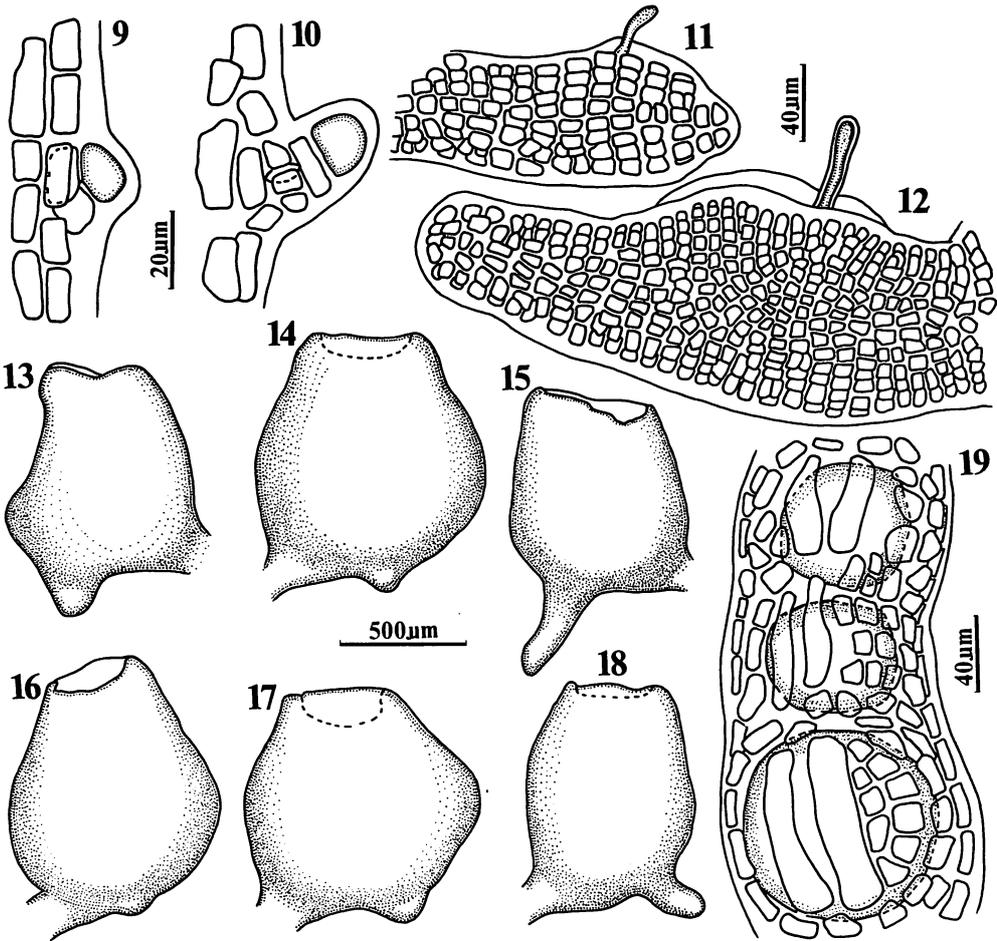
Figs. 4-8. *Odonthalia kawabatae*. 4, 5. Cross section of the lower portion of a first order branch, showing midribs developed on one side in 4 and on both sides in 5 (based on a specimen collected from Shikotan Island, SAP 15509); 6. Fertile portion of the holotype specimen, showing arrangement of cystocarps; 7, 8. Tetrasporangial stichidia borne on a plant collected from Shikotan Island (SAP 15509).

toniensis KYLIN. The other group has indistinct midribs or no midribs. These include *O. corymbifera* (GMELIN) GREVILLE, *O. floccosa* (ESPER) FALKENBERG, *O. oregona* DOTY and *O. annae* PERESTENKO. *Odonthalia kawabatae* is included in the first group and seems to be closely related to *O. ochotensis* on the basis of the narrow branches and the corymbose arrangement of cystocarps borne on the uppermost portion of ordinary branches (RUPRECHT 1850). However, *O. kawabatae* possesses large broadly ovoid cystocarps, but *O. ochotensis* bears small urceolate cystocarps. Cystocarpic features of *Odonthalia*, the shape, size, arrangement and position, have taxonomic significance at the species level (MASUDA and YAMADA, in press). *O. kawabatae* is distinguished from *O. kamtschatica* and *O. setacea* by the arrangement and shape of cystocarps. The latter two species have urceolate cystocarps arranged in a flexuose-

racemose manner (RUPRECHT 1850, PERESTENKO 1977, MASUDA and YAMADA 1980). *O. kawabatae* is distinguished from *O. lyallii* in that the latter has ecalcarate ovoid cystocarps with narrow ostioles (sometimes with slightly elevated necks) arranged in a flexuose-racemose manner (HARVEY 1862, MASUDA, unpublished). *O. kawabatae* differs basically from *O. dentata* and *O. washingtoniensis* in that reproductive structures of the latter two species are borne on special adventitious branches which characterize both the species (HARVEY 1846-51, NEWTON 1931, SETCHELL and GARDNER 1903).

The following synoptical key is given for the seven species with conspicuously developed midribs in the genus *Odonthalia*.

1. Reproductive structures borne on ordinary branches 2
1. Reproductive structures borne on special adventitious branches..... 3
2. Cystocarp arrangement corymbose.... 4



Figs. 9-19. *Odonthalia kawabatae*. 9-10. Young adventitious branches; 11-12. Procarp-bearing branchlets; 13-18. Mature cystocarps; 19. Portion of a tetrasporangial branch (flank-side view). Note two elongated cells in each segment being cover cells; 9, 10, 19, from a specimen collected from Shikotan Island (SAP 15509); 11-18, from the holotype specimen.

- 2. Cystocarp arrangement flexuose-racemose 5
- 3. Cystocarps pitcher-shaped *O. dentata*
- 3. Cystocarps globose.... *O. washingtoniensis*
- 4. Cystocarps small and urceolate
- *O. ochotensis*
- 4. Cystocarps large and broadly ovoid ..
- *O. kawabatae*
- 5. Cystocarps with well-developed calcars..
- *O. kamtschatica*
- 5. Cystocarps without calcars 6
- 6. Cystocarps ovoid with narrow ostioles
- *O. lyallii*
- 6. Cystocarps urceolate with wide ostioles

..... *O. setacea*

Acknowledgements

I wish to express my gratitude to Professor Munenao KUROGI, Hokkaido University, and Professor John A. WEST, University of California, Berkeley, for their criticism of the manuscript, and Professor Hideo TOYOKUNI, Shinshu University, for his correction of the Latin description. I am also grateful to Professor Eishiro SHIKATA, Hokkaido University, for permission to examine specimens of NAGAI's collection.

References

- HARVEY, W.H. 1846-51. *Phycologia britannica*. London.
- HARVEY, W.H. 1862. Notice of a collection of algae made on the north-west coast of North America, chiefly at Vancouver's Island, by David LYALL, 1859-61. *J. Proc. Soc. Linn. Bot.* 6: 157-177.
- KAWABATA, S. 1936. A list of marine algae from the Island of Shikotan. *Sci. Pap. Inst. Alg. Res. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ.* 1: 199-212.
- MASUDA, M. and YAMADA, I. 1980. On the identity of the so-called *Odonthalia aleutica* (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in Japan. *Jap. J. Phycol.* 28: 183-189.
- MASUDA, M. and YAMADA, I. Taxonomic notes on *Odonthalia ochotensis* (RUPR.) J. AG. and *O. kamschatica* (RUPR.) J. AG. (Rhodophyta). *Acta Phytotax. Geobot.* (in press)
- NEWTON, L. 1931. A handbook of the British seaweeds. British Museum (Natural History), London.
- PERESTENKO, L.P. 1977. *Odonthalia* LYNGB. in maribus orientis extremi. *Nov. syst. plant. non vasc.* 14: 33-41.
- RUPRECHT, F. J. 1850. Tange des Ochotskischen Meeres. MIDDENDORFF's sibirische Reise, vol. 1, part 2, Lieferung 2. pp. 193-435.
- SETCHELL, W. A. and GARDNER, N. L. 1903. Algae of northwestern America. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 1: 165-418.

増田道夫：千島列島産紅藻ノコギリヒバ属の新種について

KAWABATA (1936) が南千島の色丹島より採集し、*Odonthalia lyallii* (HARVEY) J. AGARDH として報告した藻が、真の *O. lyallii* 及び他の全てのノコギリヒバ属の種とも異なることが判明したので新種 *Odonthalia kawabatae*, sp. nov. (和名、シコタンノコギリヒバ) として記載した。本種は幅の狭い枝、中肋及び広卵形の嚢果を持つことと、嚢果が散房状に集合して生ずることが特徴である。本藻は故永井政次博士の千島産海藻の採集品のなかにも見いだされた。それによると、択捉島、新知島及び幌筈島にも生育する。ノコギリヒバ属のなかの中肋を持つ7種の検索表を与えた。(060 札幌市北区北10条西8丁目 北海道大学理学部植物学教室)

Cytological studies on *Sirogonium* (Chlorophyceae) 2. Meiosis in *S. melanosporum* and *S. sticticum*

Akira HARADA* and Takaaki YAMAGISHI**

*Seiyu Senior High School, Chizuka, Yao City, Osaka, 581 Japan.

**Biological Laboratory, College of Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University, Shimouma, Setagaya, Tokyo, 154 Japan

HARADA, A. and YAMAGISHI, T. 1981. Cytological studies on *Sirogonium* (Chlorophyceae) 2. Meiosis in *S. melanosporum* and *S. sticticum*. Jap. J. Phycol. 29: 157-162.

In this study, meiosis in *S. melanosporum* and *S. sticticum* was observed. The adhesion and fusion of the conjugated gametangial nuclei, the pairing of chromosomes, the N.O. chromosomes, the parallel separation of chromatids, and the abortion of three daughter nuclei were studied throughout the meiotic cycle.

Key Index Words: Chlorophyceae; chromosome; cytology; meiosis; N.O. chromosome; *Sirogonium*.

In the present paper, a detailed account of the meiotic division of *S. melanosporum* (RANDHAWA) TRANSEAU and *S. sticticum* (J.E. SMITH) KÜTZING are reported.

Materials and Methods

S. melanosporum was repeatedly collected from natural populations growing in the rice fields of Ikebe, Nara Prefecture, from September 1974 to August 1975. In the middle of August 1975, many young and mature zygospores were found in the collection. Fertile filaments of *S. sticticum* were also collected from rice fields in Ikaruga, Nara Prefecture, from December 1970 to April 1971, and in Higashiyama, Nara Prefecture, in August 1973.

Zygospores were used for observation of meiosis. Most of the zygospores were too young or too mature for good observation, so it was not possible to observe the meiotic process in all material.

Material was fixed with 1:3 acetic acid and ethyl alcohol and stored in the same solution. After fixation, the zygospores were stained with Wittmann's solution (Harada 1980). For staining, the zygospores were removed from conjugated filaments and put

on slide glass. Then the contents of the zygospores were squashed and stained on the slide glass.

Observations

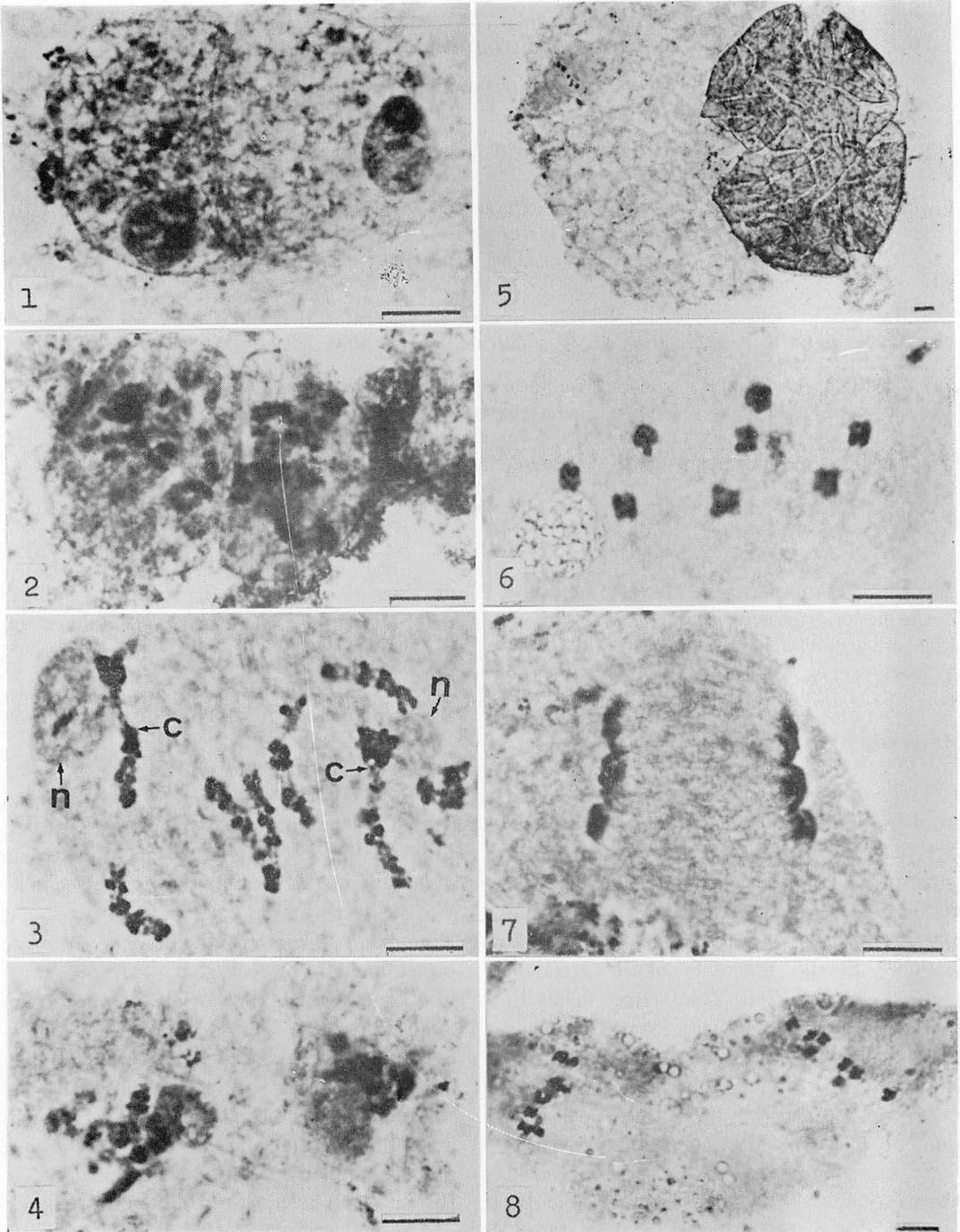
1 *Sirogonium melanosporum*

After conjugation of two gametangial cells, the contents of two cells (gametes) fused to form a zygospore in the female gametangial cell, but union of their nuclei was delayed for a considerable time. At leptotene, two nuclei, which remained quite intact and showed a sharp outline, came into contact with each other in the green zygospore.

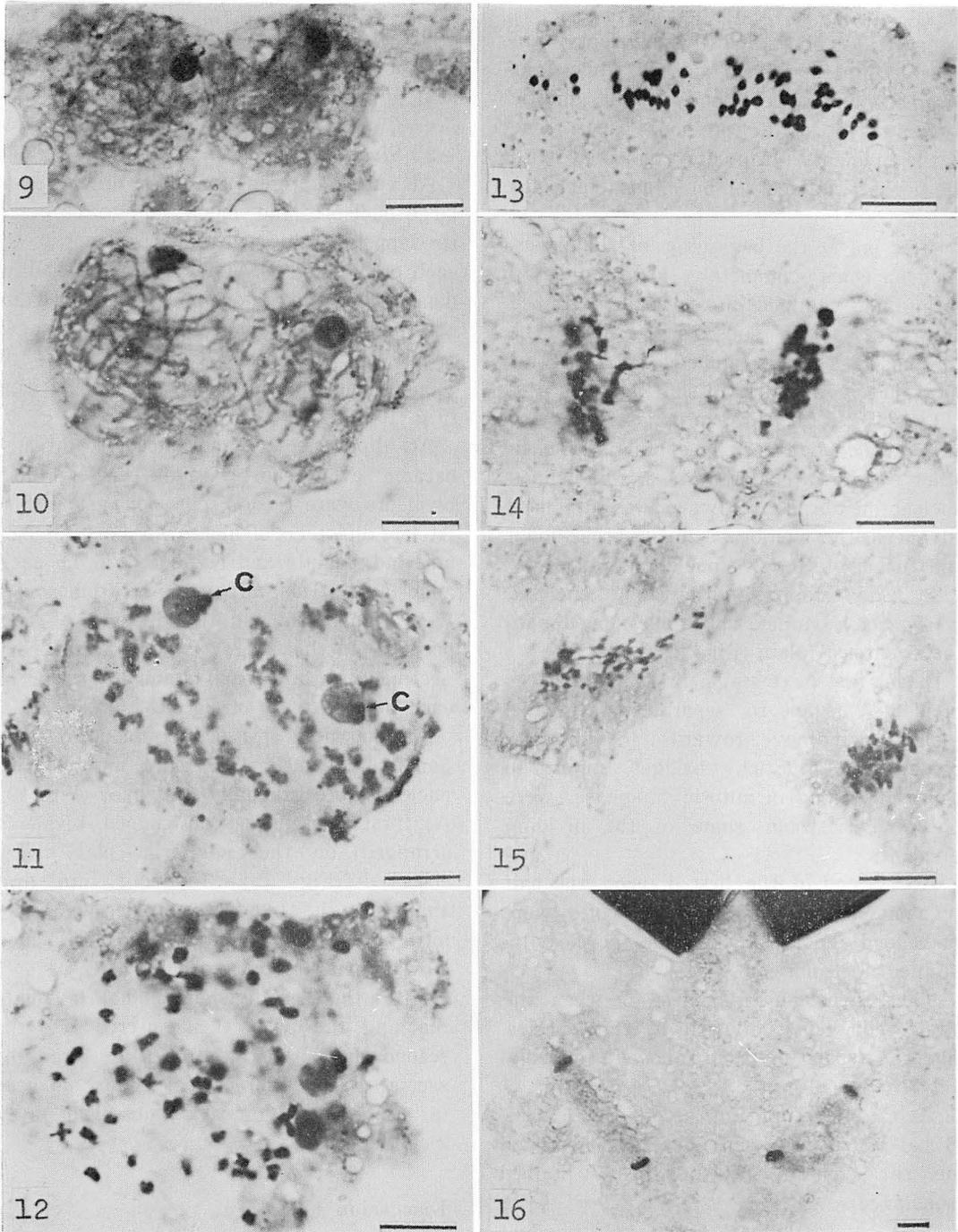
A large nucleolus was observed in each nucleus, and many thin chromatin threads scattered in the karyoplasm were distinguishable. In the nucleolus, two, or rarely one, densely stained regions, like those found in the mitotic nucleus, were observed (Fig. 1).

At the beginning of pachytene, thread-like chromonemata changed to string-shaped chromosomes. At this time, the two adhering nuclei remained unfused (Fig. 2).

At diplotene, bead-like chromatin linearly arranged along the chromosomes were



Figs. 1-8. *S. melanosporum* (Scale 10 μ m). 1. Leptotene: two nuclei adhering to each other in a young zygosporangium; nucleolus and fine chromatin in each nucleus; 2. Diplotene: chromosomes in each nucleus; 3. Diplotene: four bivalents in each nucleus; nucleoli (n) and N.O. chromosomes (c); 4. Late diplotene; 5. First metaphase: cell contents squashed out from zygosporangium (left side) and chromosomes arranged on equatorial plate; 6. First metaphase: eight bivalents; 7. First anaphase: chromatids and sticky threads between separating chromatids; 8. Second anaphase.



Figs. 9-16. *S. sticticum* (Scale 10 μ m). 9. Pachytene: chromonemata and nucleoli in two adhered nuclei; 10. Late pachytene: thread-like chromosomes; 11. Late diplotene: nucleoli and bivalents grouped in each nucleus (left and right parts separated by oblique line); two N.O. chromosomes (c) connecting with the nucleolus; 12. Late diakinesis: bivalents and two remained nucleoli fused karyoplasm; 13. First metaphase: bivalents arranged on equatorial plate; 14. First anaphase: sticky bridges between the separating half bivalents; 15. Second metaphase; 16. Second telophase: chromatids in squashed half zygospore (under side).

observed. At this stage, four bivalents were clearly counted in each nucleus, while eight chromosomes were found in the mitotic cycle studied in the previous paper. One of the bivalents terminally connected with the densely stained region in each nucleolus (Fig. 3).

Later on, at the beginning of diakinesis, the nucleolus completely lost its sharp outline and changed into a heavily stained mass of nuclear substance. All of the chromosomes were embedded inside this substance at final diakinesis (Fig. 4).

Throughout the first prophase, the two nuclei which had been in contact with each other remained enclosed in a well-defined nuclear membrane. However, as prophase advanced, the membrane finally broke down and fusion of the two nuclei took place.

At first metaphase, 8 bivalents enclosed in the heavy-stained substance moved onto the equatorial plate (Figs. 5, 6).

During the next stage, first anaphase, the bivalents began to separate in parallel fashion and move towards the opposite poles (Fig. 7). Sticky bridges, similar to those appearing in mitotic anaphase, were observed between some of the dividing bivalents.

At the end of the first division, the half bivalents reaching towards the poles were embedded and arranged inside the heavily-stained nucleolar substance.

There was no interphase between the first and second division of this species, and the second division followed immediately (Fig. 8).

At the beginning of second metaphase, 8 half bivalents were observed arranged on the equator of the heavily-stained substance.

At second anaphase, each half bivalent divided into two chromatids and progressed into second telophase. Sticky bridges like those in mitosis were also observed between separating chromatids in this stage.

As second telophase proceeded, four daughter nuclei with membranes appeared. After the second division was complete the

gradual abortion of three nuclei occurred, and only one nucleus developed into the next generation.

2 *Sirogonium sticticum*

At early leptotene of first prophase, a large nucleolus and much minute chromatin appeared in two nuclei attached to each other (Fig. 9). Each nucleolus had a densely-stained region like that found in *S. melanosporum*. During the next stage, pachytene, thread-like chromosomes were seen around the nucleolus in each nucleus (Fig. 10).

At diplotene the chromosome threads became even shorter and thicker, and bivalents were recognized soon after this. At late diplotene, bivalents were distinguishable individually and numbered 26 in each adhering nucleus, although 52 chromosomes were found in mitotic division of this species. In this stage, two bivalents connecting with a densely-stained portion of each nucleoli were observed (Fig. 11).

As diakinesis proceeded, fusion of two gametangial nuclei took place, and the two nucleoli were gradually destroyed (Fig. 12). At first metaphase, dot-shaped bivalents arranged on the equatorial plate were observed (Fig. 13). Entering into first anaphase, the bivalents divided parallelly into two half bivalents (Fig. 14), which moved towards opposite poles.

After the first division, the half bivalents reaching the poles then entered into the second division (Figs. 15, 16). After the second division, three nuclei were aborted in the same manner as observed in *S. melanosporum*.

Discussion

During the meiotic cycle of *S. melanosporum* and *S. sticticum*, the most striking feature was the formation of bivalents. In young zygosporangia, two nuclei originating from gametangial cells remained connected with each other without fusion throughout first prophase.

Although certain meiotic stages—zygotene and pachytene in first prophase—could not be observed as distinctly as other stages in these two species, it may be said that the formation of bivalents occurred in each nucleus through first prophase.

Pairing of chromosomes was clearly seen in the diplotene stage of the two species (Figs. 3, 11). The nuclear membrane, however, broke down in later prophase, and fusion of two gametangial nuclei occurred (Figs. 4, 12).

KARSTEN (1908) and TRÖNDLE (1911) investigated meiosis in some species of *Spirogyra*, and found that the pairing of chromosomes occurred in each adhering nuclei during first prophase. This phenomenon, confirmed in the present study might be common in *Sirogonium* and *Spirogyra*, because adhering nuclei in young zygospores have been observed in other species of *Sirogonium* and *Spirogyra* (HARADA and YAMAGISHI, unpublished).

As far as we known, no reports have been published on the behaviour of the gametangial nuclei and the pairing of chromosomes in other haplonts. This is an interesting nuclear phenomenon and more research on other zygnetaceous algae should clarify this phenomenon.

The presence of nucleolar organizing chromosomes in mitosis was also confirmed in the diplotene stage of *S. melanosporum*, although these chromosomes were not so clearly observed in *S. sticticum* due to their rather minute size.

In the leptotene nucleus of *S. sticticum*, these chromosomes were seen connecting with the heavily-stained structures in the nucleolus. This probably represented the nucleolar organising track as it appeared in mitotic prophase.

Although the nucleolar substance in mitotic division has already mentioned in some species of *Spirogyra* (GEITLER 1935, DORAISWAMI 1946, GODWARD 1950), and also in *Sirogonium* (WAER 1966, WELLS 1969, HARADA 1980), its formation during the meiotic cycle has not been clearly

traced. However, a densely-stained mass of nuclear substance was usually seen around the chromosomes during the first and second metaphase of *S. melanosporum* and at second anaphase of *S. sticticum*. Furthermore, a remarkable parallel separation of chromatids was observed during the first and second anaphase (Figs. 7, 14), which suggested that the chromosomes were probably separated into two chromatids by bipartition of the mass enclosing the chromatids, such as occurred during mitosis in the two species previously investigated.

The wooly or sticky stainable substance covering the chromosomes (GEITLER 1930, GODWARD 1961), termed sticky bridges between the two separating chromatids in this study, was observed in some stage in the two species (Figs. 7, 14).

As soon as fusion of two gametes took place, a zygospore wall developed around the zygote while meiosis progressed. After meiosis was complete, one of the four daughter nuclei developed further, while the others gradually began to abort, and ripening of the zygospore proceeded.

Acknowledgements

The authors wish to thank prof. Dr. K. UEDA, Nara Women's University, for his valuable suggestions and useful discussion.

References

- GODWARD, M.B.E. 1961. Meiosis in *Spirogyra crassa*. *Heredity* 16: 53-62.
- GODWARD, M.B.E. 1966. *The Chromosomes of the Algae*. Edward Arnold Publ. Ltd., London.
- HARADA, A. 1972. Mitosis and meiosis in *Spirogyra crassa* No. 91 (n=6). *Seiyu High School Bull.* 3: 2-30 (in Japanese).
- HARADA, A. 1980. Cytological studies on *Sirogonium* (Chlorophyceae) 1. Mitosis in *S. sticticum* and *S. melanosporum*. *Jap. J. Phycol.* 29: 23-29.
- KARSTEN, G. 1908. Die Entwicklung der Zygoten von *Spirogyra jugalis* KÜTZ. *Flora* 99: 1-11.
- TRÖNDLE, A. 1911. Über die Reduktionsteilung in der Zygoten von *Spirogyra* und über die Bedeutung der Synapsis. *Zeitschr. Bot.* 3:

593-619.
WITTMANN, W. 1965. Aceto-Iron-Haematoxylin-

Chloral Hydrate for chromosome staining.
Stain Technol. 40: 161-163.

原田 彰*・山岸高旺**：シロゴニウム属（緑藻類）の細胞学的研究 2. *S. melanosporum* と *S. sticticum* の減数分裂

1報と同じく、奈良県下の水田から採集した2種のシロゴニウム属の2種を材料として、接合したあとで接合胞子内でおきる減数分裂の経過を調べた。接合した雌雄両配偶子の核は、若い接合胞子内では合体融合することなく、接着したままの状態第1分裂の前期が経過する。すなわち、接着した両核内で別々に染色体の対合、二価染色体の形成が進む。前期の終りに二価染色体が完成する頃に始めて両核が融合するのが観察された。これは誠に特異な現象で、このシロゴニウム属の生活史と核相との関連からみて興味のある点である。また、仁形成染色体、染色分体の平行分離が観察された。配偶子の接合直後から胞子膜は肥厚し始めるが、その中で減数分裂が進み、減数分裂完了のあと3核は退化して接合胞子は成熟する。（*581 大阪府八尾市千塚102 大阪府立清友高等学校 *154 東京都世田谷区下馬3 日本大学農獣医学部教養科生物学研究室）

-
- 賛助会員
- 北海道栽培漁業振興公社 060 札幌市中央区北4西6 毎日杉幌会館内
 阿寒観光汽船株式会社 085-04 北海道阿寒阿寒群町字阿寒湖畔
 海藻資源開発株式会社 160 東京都新宿区新宿1-29-8 財団法人公衆衛生ビル内
 協和醗酵工業株式会社農水産開発室 100 東京都千代田区大手町1-6-1 大手町ビル
 全国海苔貝類漁業協同組合連合会 108 東京都港区高輪2-16-5
 K. K. 白壽保健科学研究所・原 昭 邦 173 東京都板橋区大山東町32-17
 有限会社 浜野顕微鏡 113 東京都文京区本郷5-25-18
 株式会社ヤクルト本社研究所 189 東京都国立市谷保1769
 山本海苔研究所 143 東京都大田区大森東5-2-12
 秋山 茂商店 150 東京都渋谷区神宮前1-21-9
 弘学出版株式会社 森田悦郎 214 川崎市多摩区生田8580-61
 永田克己 410-21 静岡県田方郡韮山町四日町227-1
 全漁連海苔海藻類養殖研究センター 440 豊橋市吉田町69-6
 神協産業株式会社 742-15 山口県熊毛郡田布施町波野962-1
 有限会社 シロク商会 260 千葉県春日1-12-9-103
-

Ultrastructural studies on nuclear division during gametogenesis in *Caulerpa* (Chlorophyceae)*

Terumitsu HORI

*Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba,
Sakura-mura, Ibaraki, 305 Japan*

HORI, T. 1981. Ultrastructural studies on nuclear division during gametogenesis in *Caulerpa* (Chlorophyceae). Jap. J. Phycol. 29: 163-170.

The ultrastructural features of mitosis in the latter stages of male gametangial differentiation in the siphonous green alga, *Caulerpa brachypus* HARVEY, is described. The mitotic spindle is acentric and completely closed. No spindle microtubule nucleating material is visible, either inside or outside the nuclear envelope. A typical equatorial plate is formed and the chromosome separation towards the opposite poles proceeds synchronously.

The separation of the chromosomes in early anaphase is promoted by the shortening of chromosomal microtubules, concomitant with the extension of the nuclear envelope along the division axis. At late anaphase the nucleus continues to elongate, followed by the sharp constriction of the nuclear envelope, resulting in the formation of a long interzonal spindle connecting two daughter nuclei. The interzonal spindle contains many interzonal microtubules.

Key Index Words: *Caulerpa*; Chlorophyceae; *coenocyte*; *gametogenesis*; *green alga*; *nuclear division*.

The ultrastructure of cell division during vegetative and reproductive differentiation in various green algae has received much attention (see PICKETT-HEAPS 1975, STEWART *et al.* 1975 for reviews), but until recently comparable studies of the coenocytic green algae have been rather meager (BURR and WEST 1970, MUGUHAL and GODWARD 1973, HUDSON and WAALAND 1976, SCOTT and BULLOCK 1976, McDONALD and PICKETT-HEAPS 1976, HORI and ENOMOTO 1978 a, b, c).

A study of mitotic ultrastructure in the coenocytes is important since it is now clear that the ultrastructure of cell division is a valid indicator of phylogenetic affinities among the green algae (PICKETT-HEAPS

1975, STEWART and MATTOX 1975). Comparison of mitosis in the siphonous forms with that of other green algae could help resolve the relationship of the coenocytic algae to the other lines of chlorophycean evolution. Thus, as part of a series of investigations of the mitotic ultrastructure in the siphonous green algae, mitosis in the coenocytic alga *Caulerpa* was studied.

Materials and Methods

Caulerpa brachypus HARVEY was collected at Nemoto, Chiba in May, 1977 and was maintained under the following conditions: material was placed in 200 ml culture dishes in plain, filtered seawater and the seawater was changed daily. Dishes were kept on a table in the laboratory. After 15 days, the cytoplasm began to differentiate into networks (Fig. 1). Blades were immediately

* This work was supported by Grant-in-Aid No. 548011 and No. 534028 from the Scientific Research Fund of the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

fixed overnight in 3% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) containing 0.25 M sucrose. Next, the material was rinsed in buffer solution for 4 h, and at this time the sucrose content was gradually decreased in one-fifth step reductions by successive changes of the buffer. After this the blades were post-fixed for 20 h in 2% OsO₄. All steps were performed in a cold chamber (1–3°C).

Cultured materials of *C. racemosa* W. v. BOSSE var. *laete-virens* W. v. BOSSE were also preliminarily fixed for electron microscope observation (Figs. 12, 13). However the dividing telophase nuclei were observed only in the material fixed in 2% OsO₄ solution dissolved in seawater. This material was supplied by Dr. S. ENOMOTO (Kobe University), who originally collected it at Ayamaru-Misaki, Amami-Oshima Island, and maintained it in PROVASOLI'S Enriched Medium (McLachlan 1973) at 25°C and under a 16:8 h LD regime.

Observations

Gametes: Gamete formation takes place primarily in the blade portion of *Caulerpa brachypus*. As seen in Fig. 1, gametangial cytoplasm is characterized by a network formation and eventually produces biflagellated gametes. About a day before the release of gametes, the cytoplasm of the female

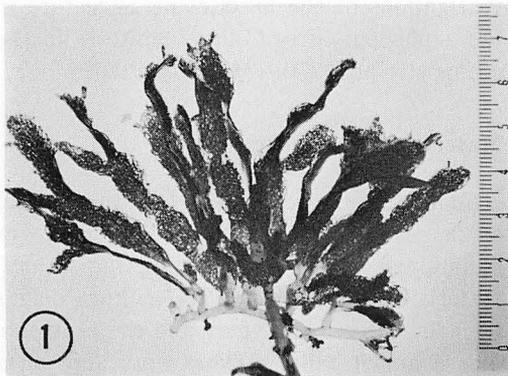


Fig. 1. Light micrograph of living specimens of *C. brachypus* showing the cytoplasm net-work which is differentiating to gametes.

plants changed to a greenish-yellow colour, in contrast to a lack of color change in the male plants. The female gametes produced are 6.0–8.5 μm long and 2.5–3.5 μm wide and have an eyespot (Fig. 2). The male gametes are 5.0–6.5 μm long and 2.0–2.5 μm wide and have no eye-spot (Fig. 3). These observations agree with those of MIYAKE and KUNIEDA (1937). The gametes of *C. brachypus* have cruciate flagellar roots with a 4–3–4–3 pattern (Fig. 4). As nuclei may undergo several successive divisions before gamete formation, the following account of mitosis is based on dividing nuclei in a small portion of the blade at the same stage of cytoplasmic differentiation.

Interphase: The interphase nuclei of *Caulerpa brachypus* are variously shaped, and usually contain a nucleolus which is composed of granular material. The chromatin material is not discernible, because of lack of electron density at interphase (Fig. 5). A single membrane-bound body, probably a microbody (ROTH and FRIEDMANN 1980), is usually present at the depression over the nuclear envelope (Fig. 6).

Prophase: As seen in Fig. 2, the prophase nucleus is spherical and gradually increases its volume, accompanying by the reduction of electron density in the nucleoplasm due to the disappearance of nuclear ribosomes. At this stage the intranuclear microtubules are not found, though cytoplasmic microtubules are still present in the cytoplasm (Fig. 5).

Metaphase: In the metaphase nucleus, the chromosomes line up at the equator and many microtubules connect the chromosomes and the poles (Fig. 8). The microtubules converge at the opposite poles in the nucleus and are attached or lie close to the inner surface of the nuclear envelope (Figs. 8–10). No special polar substance occurs here. No distinctly differentiated kinetochore is found on the chromosomes, but microtubules penetrate into a slightly less dense, homogeneous material in the granular chromosomal substance (Figs. 8, 9). During metaphase and anaphase, the spindle microtubules are never

observed to pass through the nuclear pores or nuclear envelope, the latter remaining completely intact during the nuclear division. Centrioles were not detected in the present material observed.

Anaphase-Telophase: At anaphase the nuclei begin to elongate and chromosomes migrate simultaneously towards the opposite poles (Fig. 9). Microtubules do not proliferate to any degree in the region between the separating sets of chromosomes as compared with the proliferation occurring between the chromosomes and poles (Fig. 9). At a later stage of division, the distance between the pole and chromosomes clearly decreases and many microtubules appear in the region between two separating sets of chromosomes (Fig. 11). It is noted that a significant extension of the nuclear envelope along the division axis occurs during this stage in contrast to the lack of a decrease of nuclear dimensions perpendicular to the long axis of division (Fig. 15).

An extension of the nuclear envelope towards the opposite poles appears to be important in the separation of chromosomes. After the chromosomes draw near to the opposite poles, the nucleus changes its form dramatically. The nuclear envelope of the two daughter nuclei becomes constricted and the long narrow cylindrical interzonal spindle develops between them (Figs. 12, 13). The interzonal spindle contains numerous long microtubules (Fig. 14). The last stage of abscission of the reforming daughter nuclei from the interzonal spindle is made by the sharp constriction of the inner nuclear membrane concomitant with the late synthesis of the outer membrane (Fig. 13). Information from the electron micrographs is schematically presented in Fig. 15.

Discussion

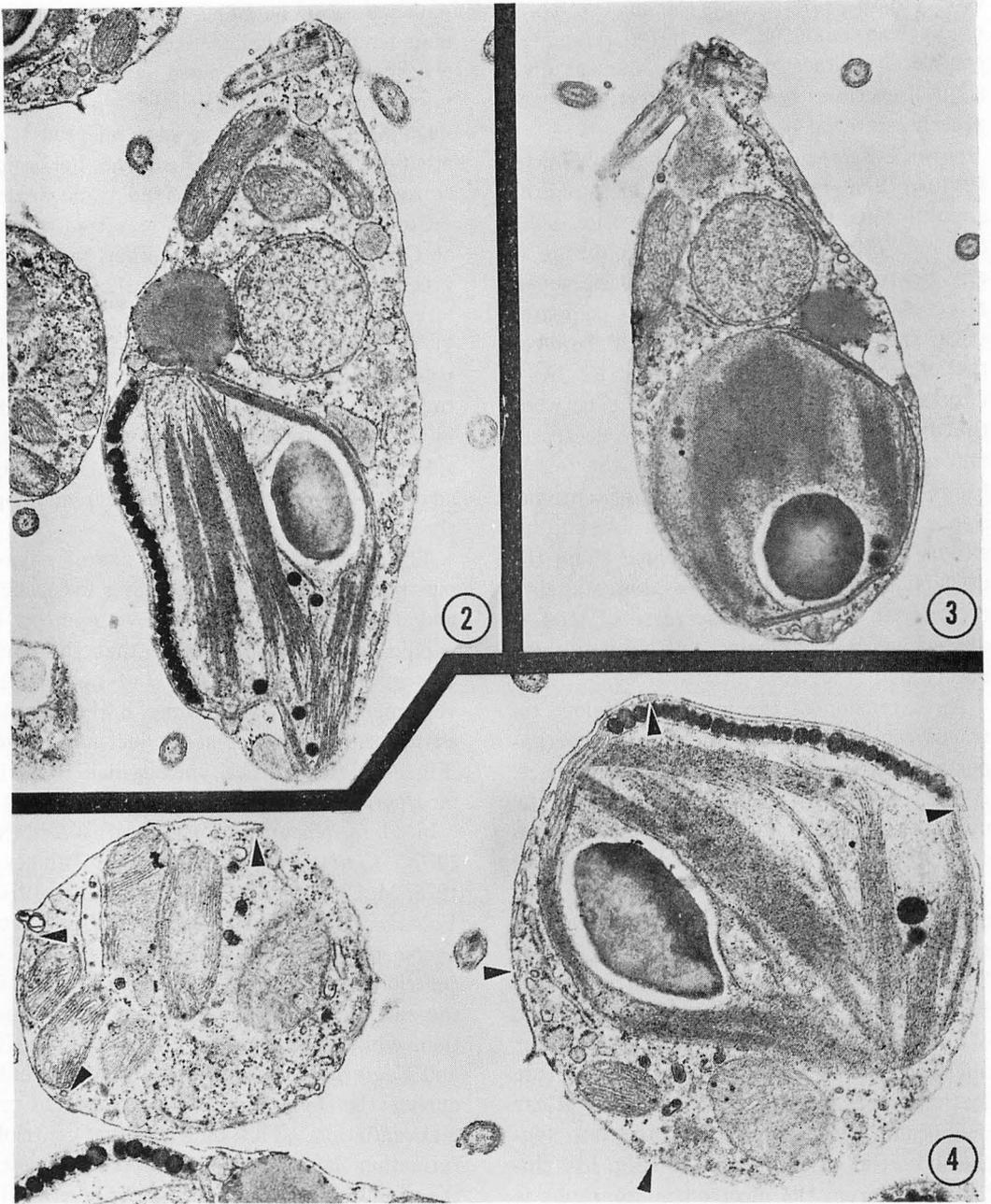
Almost all stages of nuclear division, exclusive of the latest telophase, were observed in nearly all sections cut from an EM block containing a small piece of blade where all areas of cytoplasm was differentiating into

gametes (Fig. 1). The development of remainder of the thallus fixed for the present observation was followed with the light microscope, and it was noted that male biflagellated gametes were later released from other living blades on the same horizontal rhizome from which the fixed blade arose.

Comparison of the mitotic ultrastructure of *Caulerpa* with that of other siphonous green algae so far investigated shows some interesting features characteristic of *Caulerpa*: 1) the absence of centrioles at the spindle pole, at least until the later stage of gametogenesis, 2) no appearance of visual spindle microtubule nucleating material either inside or outside the nucleus, and 3) the total complete retention of the nuclear envelope throughout nuclear division.

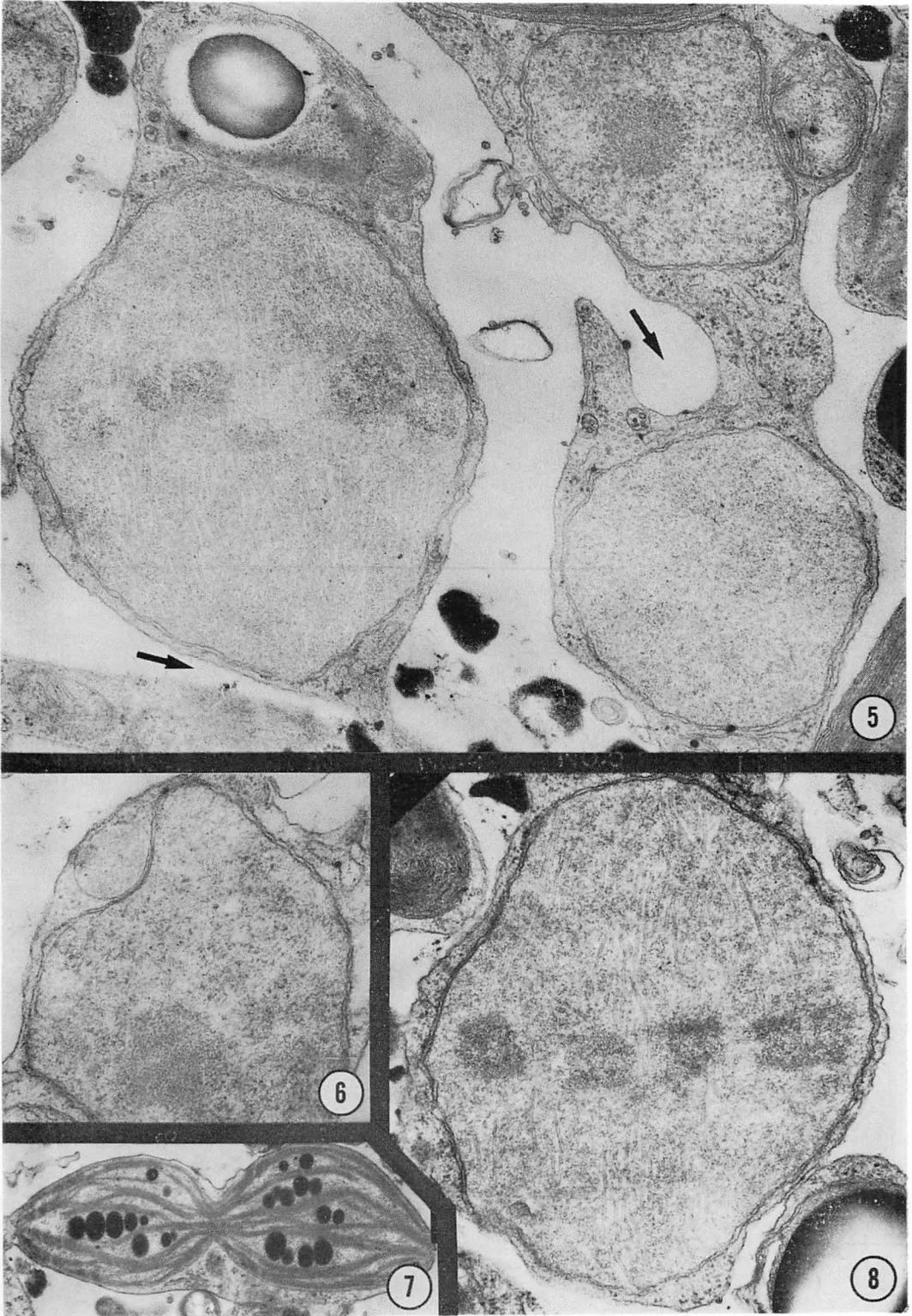
The great variation in the size of chloroplasts found in the differentiating cytoplasm, and the formation of a few number of papilla on the blade suggest that the blade was in a rather early stage of gamete development. As cytoplasmic differentiation advances, the chloroplasts divide many times (Fig. 7) into smaller ones which will be incorporated in the forming gametes.

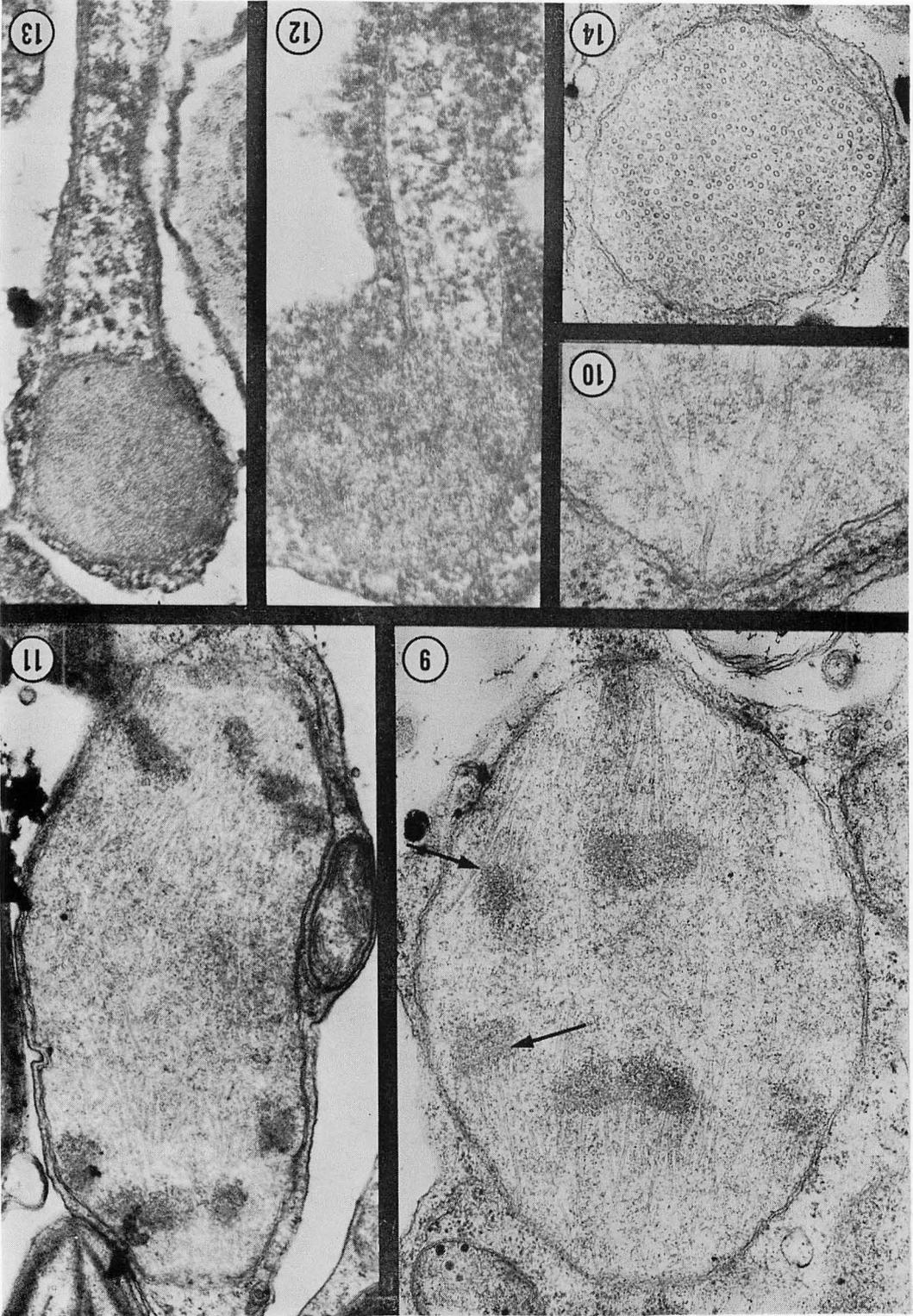
In *Acrosiphonia* (HUDSON and WAALAND 1976), *Cladophora* (SCOTT and BULLOCK 1976, McDONALD and PICKETT-HEAPS 1976), *Valonia* (HORI and ENOMOTO 1978a) and *Dictyosphaeria* (HORI and ENOMOTO 1978 c) centrioles occur near the nucleus even in the early stages of reproductive differentiation, while in *Batophora* (LIDDLE *et al.*, 1976) and *Caulerpa*, centrioles seem to appear only during the final stage of reproductive cell differentiation. This indicates that centriole formation is presumably suppressed until the final stage of swarmer production in some algae and that centrioles are not essential organelles for producing the spindle, but are necessary for flagella production. In *C. brachypus* centrioles are not found in the vegetative cytoplasm and the details of their origin and development during reproductive differentiation is unknown. It is known that in the dividing nuclei of other organisms that electron-dense areas exist in



Figs. 2-4. Electron micrographs of gametes of *C. brachypus*. 2. Female gamete. $\times 15000$; 3. Male gamete. $\times 15000$; 4. Cross section of female gametes showing the cruciate flagella roots (arrowhead). $\times 18000$.

Figs. 5-8. Electron micrographs of the nuclear division in *C. brachypus*. 5. Three phases of the nuclei, interphase (top right), prophase (lower right) and metaphase (large left) nuclei. Vacuolar invagination (arrows) results in the production of gametes. $\times 28000$; 6. Interphase nucleus. Single membrane bound body is present in a depression of the nucleus. Nucleolus is composed of closely aggregated granular material. $\times 26000$; 7. Dividing chloroplast. $\times 12000$; 8. Metaphase nucleus clearly showing a classical metaphase plate composed of four sets of paired chromosomes. $\times 24000$.





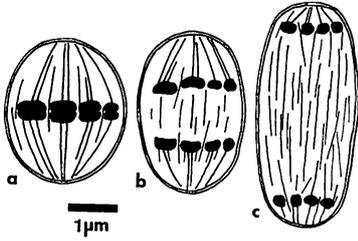


Fig. 15. Diagrammatic comparison of nuclear changes during the division in *Caulerpa*. Note the distinct expansion of the nuclear envelope along the division axis without significant decrease of the nuclear width in dimension. a, metaphase; b, early anaphase; c, late anaphase.

the regions which are in contact with the spindle microtubules (cf. PERKINS 1975, FRANKE and REAU 1973, HINCHEE and HASKINS 1980). In neither *Batophora* (LIDDLE *et al.*, 1976) nor in *C. brachypus* was a specially differentiated polar structure present, either inside and or outside the nuclear envelope, nor was any perinuclear substance from the nuclear envelope found which would suggest participation in spindle microtubule formation. Although nothing can be said at present about the origin of microtubules in the nucleus of *C. brachypus*, it may be reasonable to suspect that the microtubule nucleating substance, if present, is in a very diffusible form in this alga.

As was true for *Vaucheria litorea* (OTT and BROWN, Jr. 1972), *Cladophora glomerata* (MCDONALD and PICKETT-HEAPS 1976), *C. flexuosa* (SCOTT and BULLOCK 1976), *Valonia ventricosa* (HORI and ENOMOTO 1978 a) and *Dictyosphaeria cavernosa* (HORI and ENOMOTO 1978 c), *C. brachypus* prolongs the interzonal spindle after each chromosome set draws near to the opposite poles. This

suggests that the separation of chromosomes towards each pole has been substantially completed at early telophase. The interzonal spindle separation in *Vaucheria littorea* is known to be accomplished both by an invagination of the inner nuclear membrane and by what appears to be an abscission or depolymerisation of the nucleus (OTT and BROWN, Jr. 1972). The rotation of the late telophase nuclei might be instrumental in interzonal spindle separation in *C. flexuosa* (SCOTT and BULLOCK 1976) and *Valonia ventricosa* (HORI and ENOMOTO 1978 a). However the method of separation in *C. brachypus* remain unresolved.

The question arises why it is necessary to produce such a very long spindle in coenocytic nuclear division. Although there has been no reasonable interpretation for this feature, it may be due to the nature of the cytokinetic mechanism. Reproductive cytokinesis in the green coenocytes does not use either a phycoplast or a phragmoplast, unlike many other green algae. During swarmer differentiation in the green coenocytes, cytoplasm is gradually partitioned into small, multinucleate areas by vacuolar intrusions (BURR and WEST 1970, SCOTT and BULLOCK 1976, HORI and ENOMOTO 1978 b). This appears to be a rather unreliable mechanism, because such a form of cytokinesis may not necessarily produce an equal distribution of nuclei into all zooid units. In addition, the final process of cytoplasmic separation leading to the production of uninucleate zooids is also not necessarily by binary partition concurrent with nuclear division, but it appears to be a multiple partition which simultaneously produces

Figs. 9-14. Electron micrographs of anaphase and telophase nuclei in *C. brachypus* (9-11, 14) and *C. racemosa* var. *laete-virens* (12, 13). 9. Anaphase nucleus showing the progressive separation of chromosomes towards the opposite poles. Ill-defined structure of kinetochores (arrows). $\times 31000$; 10. Microtubules either closely approach to or impinge on the inner surface of nuclear envelope. $\times 52000$; 11. Late anaphase nucleus showing chromosomes close to the poles. $\times 21000$; 12. Telophase nucleus. The nuclear envelope of daughter nuclei sharply invaginate and develop a long interzonal spindle between two daughter nuclei. $\times 34000$; 13. Invagination of the inner nuclear membrane of daughter nucleus has just completed. $\times 32000$; 14. Cross section of interzonal microtubules that connect two daughter nuclei. $\times 33000$.

many zooids (HORI and ENOMOTO 1978 b). Thus, a long interzonal spindle may contribute to separating the two daughter nuclei at a great distance within the cytoplasm mass and may prevent the inclusion of more than one nucleus in each zooid unit at the final stage, ensuring the formation of uninucleate zooids.

References

- BURR, F. A. and WEST, J. A. 1970. Light and electron microscope observations on the vegetative and reproductive structures of *Bryopsis hypnoides*. *Phycologia* 9: 17-37.
- FRANKE, W. W. and REAU, P. 1973. The mitotic apparatus of a zygomycete, *Phycomyces blakesleeianus*. *Arch. Mikrobiol.* 90: 121-129.
- HINCHEE, A. A. and HASKINS, E. F. 1980. Closed spindle nuclear division in the plasmodial phase of the acellular slime mold *Echinostelium minutum*. *Protoplasma* 102: 235-252.
- HORI, T. and ENOMOTO, S. 1978a. Electron microscope observations on the nuclear division in *Valonia ventricosa* (Chlorophyceae, Siphonocladales). *Phycologia* 17: 133-142.
- HORI, T. and ENOMOTO, S. 1978b. Developmental cytology of *Dictyosphaeria cavernosa*. I. Light and electron microscope observations on cytoplasmic cleavage in zooid formation. *Bot. Mar.* 21: 401-408.
- HORI, T. and ENOMOTO, S. 1978c. Developmental cytology of *Dictyosphaeria cavernosa*. II. Nuclear division during zooid formation. *Bot. Mar.* 21: 477-481.
- HUDSON, P. R. and WAALAND, J. R. 1974. Ultrastructure of mitosis and cytokinesis in the multinucleate green alga *Acrosiphonia*. *J. Cell Biol.* 62: 274-294.
- LIDDLE, L., BERGER, S. and SCHWEIGER, H-G. 1976. Ultrastructure during development of the nucleus of *Batophora oerstedii* (Chlorophyta; Dasycladaceae). *J. Phycol.* 12: 261-272.
- MCDONALD, K. L. and PICKETT-HEAPS, J. D. 1976. Ultrastructure and differentiation in *Cladophora glomerata*. I. Cell division. *Amer. J. Bot.* 63: 592-601.
- MCLACHLAN, J. 1973. Growth media - marine. In J. R. STEIN (ed.) *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 25-52.
- MIYAKE, K. and KUNIEDA, H. 1937. On the sexual reproduction of *Caulerpa* (Preliminary note). *Cytologia* 8: 205-207.
- MUGHAL, S. and GODWARD, M. B. E. 1973. Kinetochore and microtubules in two members of Chlorophyceae, *Cladophora fracta* and *Spirogyra majuscula*. *Chromosoma* 44: 213-229.
- OTT, D. W. and BROWN, R. M. Jr. 1972. Light and electron microscopical observations on mitosis in *Vaucheria litorea* HOFMAN ex C. AGARDH. *Br. phycol. J.* 7: 361-374.
- PERKINS, F. O. 1975. Fine structure of the haploporidan Kernstab, a persistent, intranuclear mitotic apparatus. *J. Cell Sci.* 18: 327-346.
- PICKETT-HEAPS, J. D. 1975. Green algae. Structure, reproduction and evolution in selected genera. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass.
- ROTH, W. C. and FRIEDMANN, E. I. 1980. Taxonomic significance of nucleus-microbody associations, segregated nucleoli and other nuclear features in siphonous green algae. *J. Phycol.* 16: 449-464.
- SCOTT, J. L. and BULLOCK, K. W. 1976. Ultrastructure of cell division in *Cladophora*. Pregametangial cell division in the haploid generation of *Cladophora flexuosa*. *Can. J. Bot.* 54: 1546-1560.
- STEWART, K. D. and MATTOX, K. R. 1975. Comparative cytology, evolution and classification of the green algae with some consideration of the origin of other organisms with chlorophylls *a* and *b*. *Bot. Rev.* 41: 104-135.

堀 輝 三: イワツタ属(緑藻類)における配偶子形成時の核分裂の微細構造

ヘライワツタ (*Caulerpa brachypus*) とスリコギツタ (*C. racemosa* var. *laete-virens*) の雄性配偶子形成過程にある材料を使って、イワツタ属植物の核分裂過程を電顕的に調べた。分裂核の極には中心体は存在せず、核分裂中も核包膜の消散は起らない。したがって紡錘糸微小管の形成中心は核内に存在すると思われるが、その構造的実体を見出すことはできなかった。染色体は典型的な中期核板を形成した後、両極へ分離する。染色体分離の原動力は、中期～後期では染色体微小管の短縮であるが、それ以降は核の変形と核包膜の伸長である。すなわち、各染色体組が染色体微小管の短縮によって核内の両極へ分離完了した後、分裂軸に沿って核は核包膜を伸長させながら長い亜鈴形に変化する。同時に娘核の間には両者の分離を助けるための長い中間紡錘糸微小管が発達する。このことによって、染色体物質相互のより遠い場所への分離と隔離が保証される。この特異な核分裂様式の意義について簡単な考察を行った。(305 茨城県新治郡桜村天王台 1-1-1 筑波大学生物科学系)

***Cladophora* spp. as a prominent global algal monitor for trace metal pollutants**

1. High concentration stresses and modes of biodeposition

P. M. SIVALINGAM and Rodziah ISMAIL

*School of Biological Sciences, University of Sciences Malaysia,
Minden, Pulau Pinang, Malaysia*

SIVALINGAM, P. M. and ISMAIL, R. 1981. *Cladophora* spp. as a prominent global algal monitor for trace metal pollutants. 1. High concentration stresses and modes of biodeposition. Jap. J. Phycol. 29: 171-179.

Cladophora fascicularis, a naturally occurring hardy algal species, was found to biodeposit the trace elements Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb and Zn in the order of ∞ , 258.2, 185, ∞ , ∞ , undetectable, 264.1, 32.43, 71.9 and 971.3 times, respectively, as compared to amounts of the metals prevalent in the coastal marine waters of its niche. Similarly, the relationship of the amounts biodeposited with sedimented levels demonstrated the trace elements of Cd, Co, Cr, Fe and Ni to be also greater by 1.12, 3.38, 2.0, 1.4 and 3.05 times, accordingly.

High concentration stresses and studies of biodeposition modes over an exposure period of 48 hr to the trace metals ranging between 50-500 ppms indicated the bioconcentration factors to be highest for 50 ppm stresses in most instances except for Cd, Co and Cr (100 ppm stresses): Cd; 275.68 (48 hr), Co; 208.53 (12 hr), Cr; 3.69 (48 hr), Cu; 406.27 (12 hr), Fe; 165.13 (24 hr), Mn; 2.22 (24 hr), Ni; 147.12 (48 hr), Pb; 176.53 (12 hr) and Zn; 624.64 (24 hr). The modes of biodeposition at higher concentrations generally reflected rapid biodeposition occurring during the 12-24 hr of exposure time followed subsequently by a depuration and then a gradual increase in the biodeposition processes.

Key Index Words: Biodeposit; bioindicator; *Cladophora*; high concentration stress; trace metal pollutants.

Evaluation of the pollution of the aquatic environment by trace elements employing both fauna (LORD 1974, PHILLIPS 1976, SCHULZ-BLADES 1975, SIVALINGAM 1979, SIVALINGAM and BHASKARAN 1978, SIVALINGAM *et al.* 1979, TAYLOR and BRIGHT 1973) and flora (BLACK and MITCHELL 1952, BRYAN 1969, GUTKNECHT 1965, SIVALINGAM 1978 & 1979, STOKES *et al.* 1973, THROWER and EUSTACE 1973) has been well demonstrated. Regarding marine fauna as a bio-monitor of pollutants, GOLDBERG (1965) had suggested that the "Mussel-Watch Programme" be carried out on a global basis. This, at the present moment, is drawing

much attention.

Cladophora or Atagib (Algoquian) (FJERDINGSTAD 1965), a common component of freshwater and marine environments (WHITTON 1970), has been classified as a water scavenger of certain radionuclides and a bioaccumulator of heavy metals (NEIL 1975) from the view point of aquatic flora bio-indicators. This approach has been verified further by the studies of STEVEN (1978), TAFT and KISHLER (1973) and KEENEY *et al.* (1976). It has also been postulated recently (KEENEY *et al.* 1976) that *C. glomerata* can act as an aquatic floral bioindicator of trace metals with a reasonably constant bio-

concentration factor (=BF) ranging from 1.0×10^3 to 49×10^3 for Zn, Cd, Pb and Cu. Studies by TAFT and KISHLER (1973) and FUNK (1973) have also positively indicated that the BF for Cu in *Cladophora* from Western Lake Erie (1×10^3) and Upper Spokane River (2.5×10^3) to be remarkably stable. These phenomena have been related to the high cationic exchange capacity of the cell wall imparted by high levels of pectin which might act as the factor for sorbing exotic metals (STEVEN 1978).

In view of both the fairly large tolerance of *Cladophora* spp. in general for high levels of biodeposited trace elements from the low concentrations existing in the medium and on the genus' global distribution, the local species in Malaysia, *Cladophora fascicularis* (MERT.) KÜTZING, is used in this study as an algal bioindicator for trace metals pollution in the Malaysian region, following the studies done on *Cladophora glomerata* by WHITTON (1970).

The authors have initiated three types of experiment using *Cladophora fascicularis* as the experimental material: a) high concentration stresses (50–500 ppms) of trace metals and their modes of biodeposition, b) low concentration stresses (2–10 ppms), their biodeposition and depuration (=biodischarge), and c) the complexing effects of trace metals. The goal is to comprehend the effects of trace metals on this algal species, keeping in mind its possible use as a global bioindicator of marine pollution. This paper presents only the first of the experiments. The other two sections will follow subsequently.

Materials and Methods

Cladophora fascicularis (MERT.) KÜTZING was harvested during low tides off the rocky shores of Batu Ferringhi, Penang Island (Fig. 1) between July–December, 1978. The harvested algae were brought back immediately to the laboratory in a plastic container. Prior to experimentation, the algal fronds were carefully cleaned of epiphytes and con-

taminants and washed thoroughly 3 times in membrane-filtered seawater. Adequate amounts of these thalli were cultured over a period of 48 hr in separate 1 liter Erlenmeyer flasks containing membrane-filtered seawater together with the relevant trace metals at high concentrations of 50, 100, 200, 300 and 500 ppms each, as salts of $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, CuCl , FeCl_3 , $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and ZnCl_2 , respectively. All culture flasks were incubated in a "Nikko Tron" growth chamber with a 12 hr light-dark periodicity and at a constant temperature of 20°C. Normally, triplicate experiments at each concentration of the trace metals were carried out. Actinic light with an intensity of 13,500 lux was used as the incubation light source.

To follow the rate of biodeposition, sampling was done at fixed time intervals of 3, 6, 12, 24 and 48 hr. The sampled fronds were initially thoroughly washed 3 times in 1 liter of membrane-filtered seawater followed by washing with distilled water of the same volume prior to drying at 100°C for 48 hr over an air oven.

The dried algae were then pulverized separately using a pestle and mortar. A given amount of the algal powder was then predigested overnight in 100 ml Kjeldahl flasks containing 10 ml of a solution of nitric: perchloric acid (2:1). The samples were further digested the following day under low heat followed by vigorous boiling over an electrothermal heater until white fumes evolved. The digest, on cooling, was diluted with distilled water and filtered through Whatman No. 1 filter paper. The filtrate was then made-up to 100 ml with distilled water, the value of which was determined through prior analysis using a Varian Techtron (AA 120) Atomic Absorption Spectrophotometer.

In addition, the trace metal content of the medium and sediments of the habitat of *C. fascicularis* was also analyzed for comparative purposes

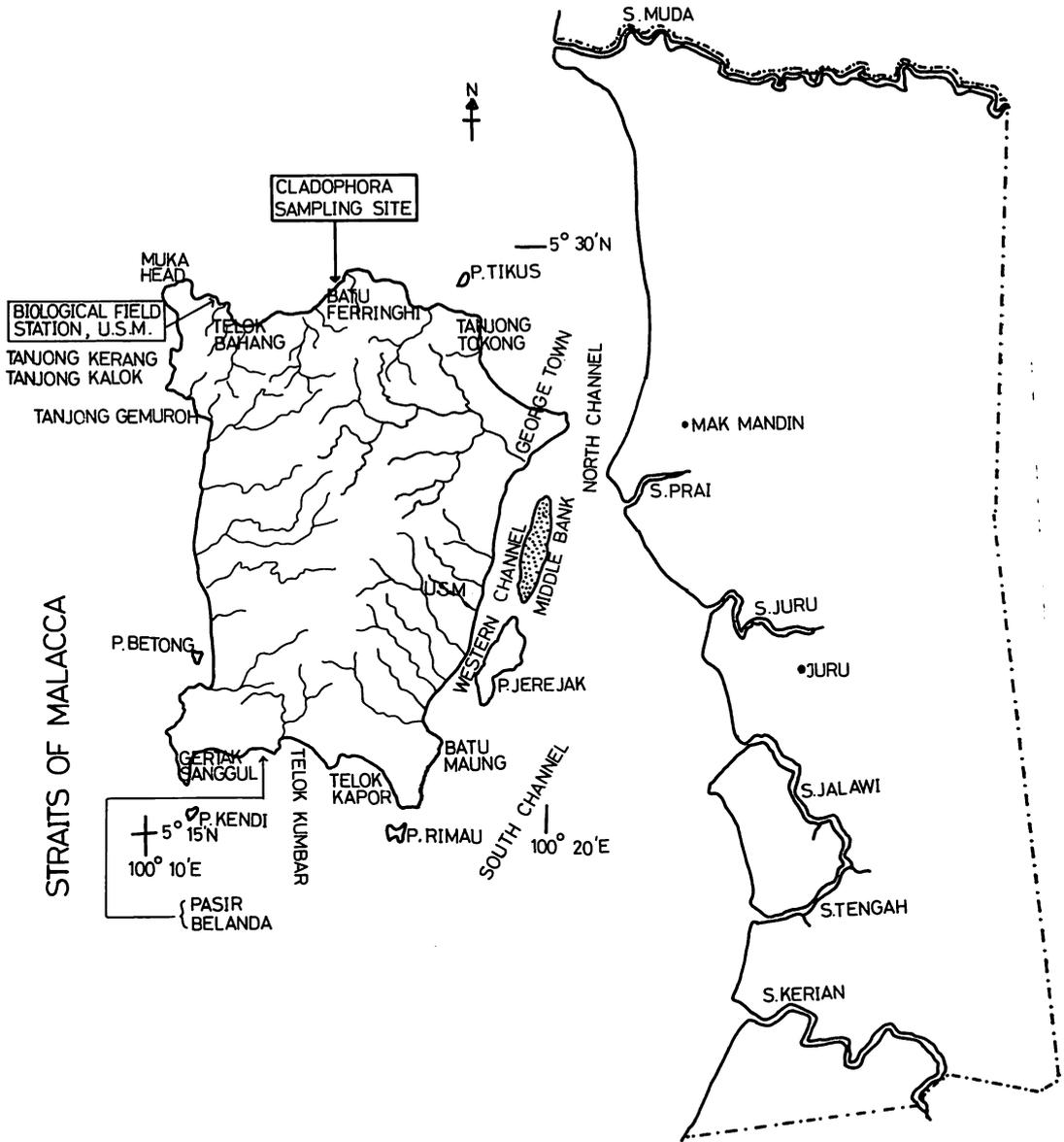


Fig. 1. Map illustrating the sampling site of *Cladophora fascicularis* (MERT.) KÜTZING on the Island of Penang.

Results

Table 1 indicates the results of the trace metals contents of *Cladophora fascicularis*, and of the water and sediment samples in its niche and oceanic waters. It is evident that the trace metal content in these coastal waters is comparatively high relative to

values for oceanic waters. However, they merely reflect the characteristics of normal coastal waters, and not of a highly polluted area. In contrast, the levels of trace metals in sediments are relatively high, in particular Fe, suggesting a high binding capacity by the precipitated particles possibly of organic origin (algae/humic acid) or by clay particles brought down by the river "Kuala Muda".

Table 1. Trace metal content of water samples, sediments, and *Cladophora fascicularis* (MERT.) KÜTZING obtained from the sampling site.

Samples	Cd	Co	Trace metals ($\mu\text{g. gm}^{-1}$)				Mn	Ni	Pb	Zn
			Cr	Cu	Fe	Hg				
<i>Cladophora fascicularis</i>	9.25	33.56	33.3	7.4	4,735.5	BDL	92.45	67.12	12.95	38.85
H ₂ O sample from sampling site (A)	BDL ⁺	0.13	0.18	BDL	BDL	BDL	0.35	2.07	0.18	0.04
Oceanic waters (B)	0.00011	0.00027	0.0005	0.003	0.01	BDL	0.002	0.0054	0.00004	0.01
(A)/(B)	BDL	481.48	360	BDL	BDL	—	175	383.33	6000	4
Sediments from sampling site										
1 cm depth	25	12	17.5	9	17,800	BDL	195	22.5	33.5	89.25
2 cm depth	BDL	7.75	23.25	4.5	18,325	BDL	150.5	30	32.25	51
3 cm depth	BDL	10	9	3.0	17,050	BDL	96.25	13.25	28.25	42

BDL⁺=Below detectable level.

Based on the foregoing (Table 1), it appears that from the fairly low levels of trace metals in the medium of its natural habitat, *Cladophora fascicularis* is capable of bioaccumulating Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb and Zn by ∞ , 58.2, 185, ∞ , ∞ , —, 264.1, 32.43, 71.9 and 971.3 times, respectively. On the contrary, in comparison with levels found in sediments the relative ratios are smaller, i.e., Cd; 1.12, Co; 3.38, Cr; 2.0, Cu; 1.4, Fe; 0.267, Hg; —, Mn; 0.628, Ni; 3.05, Pb; 0.413 and Zn; 0.64 times, respectively. This fact is quite conspicuous and facilitates further investigations with regard to the leaching effects of trace metals from sediments on a long-term basis.

Fig. 2 and Table 2 indicate the modes of biodeposition of the trace metals and their BF values during exposure. Generally, the trend of biodeposition appears initially as a sharp uptake during the first 12-24 hr of incubation. This uptake was then followed by either an increasing or decreasing trend thereafter for all the trace metals.

In the 50 ppm stresses, identical trends were observed for Cd, Co and Cr with a peak at 12 hrs followed by a decrease and then an increase in biodeposition thereafter. The uptake peaks of Cu, Fe, Mn and Pb at the 24 hr, on the other hand, is followed by a gradual decrease in uptake. However, Ni

and Zn were absorbed with each gradual increase and showed practically no peak in biodeposition at any time.

At 100 ppm stresses Cd, Co, Cr, Cu and Mn manifest a similar sharp uptake at 12 hrs followed by a decrease and gradual increase. The corresponding peaks for Fe and Pb were observed at 24 and 6 hr incubations, respectively, subsequently followed by a gradual decrease. The trends for Ni and Zn are different with only a gradual increase at any time.

Exposure to 200 ppm stresses indicate that Co, Cr, Fe, Mn and Ni have similar modes of biodeposition, i.e., a spiked uptake at 12 hrs followed by a decrease and gradual increase. The trends were similar for Pb and Zn except that no subsequent peaks were observed. In contrast, Cu and Ni have a plateau between 12-24 hr followed by a rapid increase in biodeposition. The initial rapid uptake of Cd continued to decrease thereafter.

Similarly, for the 300 ppm stresses the uptakes of Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn and Ni showed the initial peak at the 12 hr incubation followed by a decrease and gradual increase. That of Pb reached a maximum nearly at the same incubation period, but it displayed a gradual decrease continuously thereafter. In contrast, Zn uptake increased

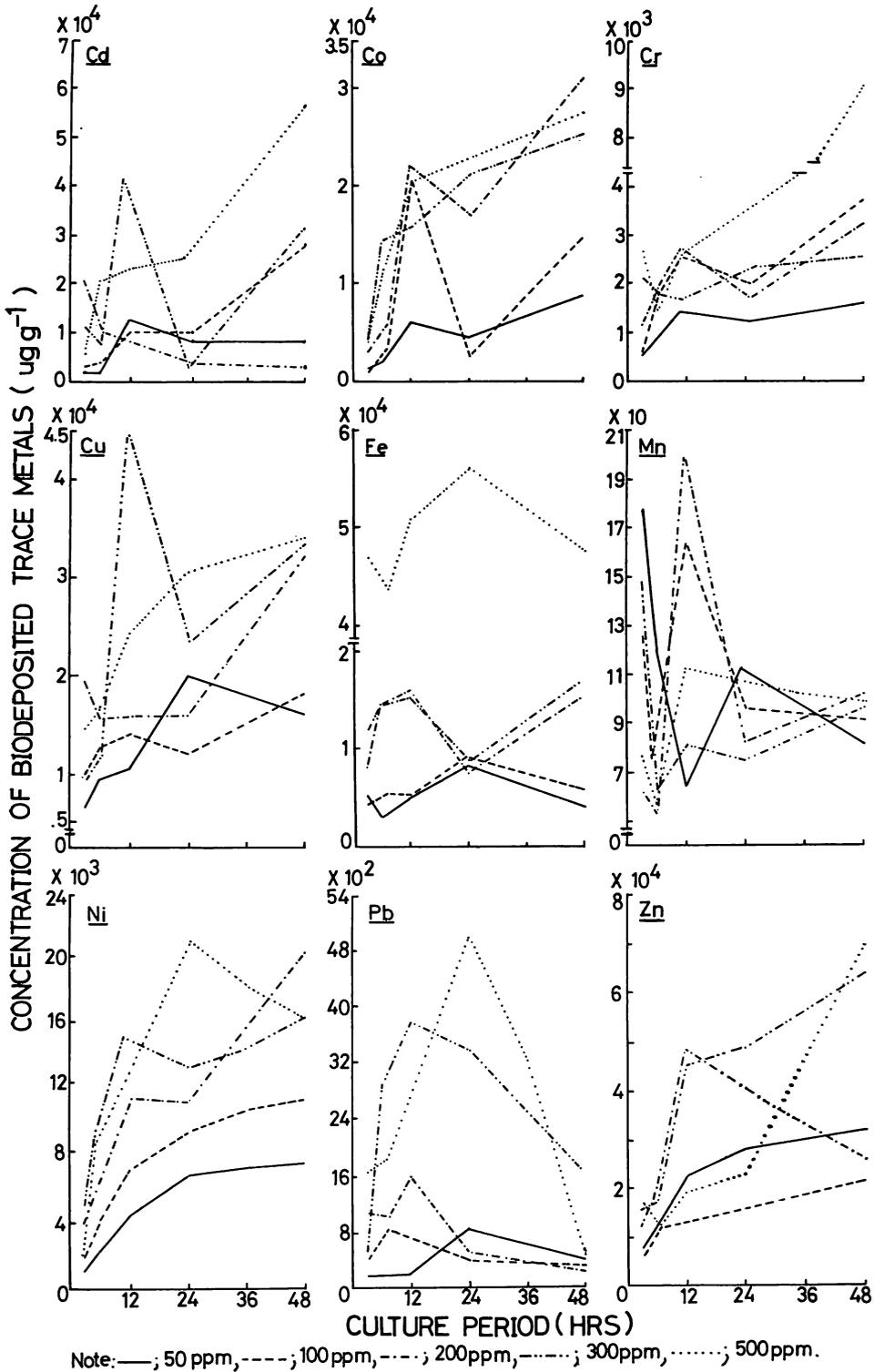


Fig. 2. Modes of bioaccumulation of trace metals in the Chlorophyta, *Cladophora fascicularis* (MERT.) KÜTZING, under various high concentration stresses.

Table 2. Bioconcentration factors of the various bioaccumulated trace metals by *Cladophora fascicularis* (MERT.) KÜRTZING under various high concentration stresses with incubation time.

Concentration of Heavy Metals (ppm)	Incubation Time (hrs)	Bioconcentration Factors ⁺								
		Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
50	3	32.90	24.88	1.02	127.39	100.93	3.55	24.03	41.04	163.62
	6	25.96	44.80	1.67	190.48	52.53	2.45	59.29	44.75	263.79
	12	<u>234.62</u>	<u>128.85</u>	2.78	<u>406.27</u>	108.5	1.31	96.91	44.96	446.65
	24	155.28	86.78	2.40	<u>216.87</u>	<u>165.13</u>	2.22	132.51	<u>176.53</u>	558.83
	36	159.31	98.12	2.81	275.18	145.19	1.87	141.32	83.12	598.21
	48	<u>165.69</u>	<u>167.80</u>	3.15	<u>318.07</u>	81.72	1.63	<u>147.17</u>	77.97	<u>624.64</u>
100	3	29.69	1.67	0.84	96.27	48.14	1.27	19.75	39.58	57.50
	6	34.60	31.57	1.74	128.04	58.42	0.77	40.67	90.74	116.18
	12	98.57	<u>208.53</u>	2.56	<u>136.72</u>	53.47	<u>1.64</u>	67.90	78.61	134.45
	24	98.51	27.19	2.01	124.37	<u>94.81</u>	0.96	90.39	41.28	159.47
	36	152.31	76.31	2.43	135.21	68.21	0.93	99.21	40.13	183.21
	48	<u>276.68</u>	<u>141.68</u>	3.88	<u>183.69</u>	60.90	0.91	<u>110.79</u>	36.73	<u>206.08</u>
200	3	<u>106.58</u>	13.24	0.56	<u>97.78</u>	41.18	0.31	20.10	56.13	62.28
	6	51.10	29.13	0.99	79.36	73.86	0.26	30.84	55.28	103.45
	12	41.75	<u>112.15</u>	1.37	79.16	<u>80.02</u>	<u>0.99</u>	<u>55.39</u>	<u>79.11</u>	<u>245.06</u>
	24	19.26	84.54	0.92	80.83	39.19	0.41	54.50	27.82	199.66
	36	17.31	131.21	1.35	88.21	70.31	0.49	71.31	14.31	121.31
	48	16.67	<u>155.56</u>	1.60	<u>100.56</u>	<u>81.85</u>	0.54	<u>101.09</u>	13.99	131.48
300	3	35.51	14.38	0.69	32.91	39.88	0.50	7.31	18.49	55.48
	6	23.43	47.92	0.61	39.54	49.32	0.21	30.59	102.18	63.34
	12	<u>139.12</u>	52.69	0.56	<u>146.75</u>	<u>51.32</u>	<u>0.27</u>	<u>49.75</u>	<u>133.83</u>	155.11
	24	<u>112.72</u>	71.63	0.77	78.03	29.30	0.25	43.82	130.69	164.54
	36	155.83	81.51	0.80	83.21	43.21	0.29	44.91	98.31	184.21
	48	<u>123.98</u>	<u>84.86</u>	0.85	<u>109.80</u>	<u>55.15</u>	<u>0.32</u>	<u>53.83</u>	47.78	<u>212.23</u>
500	3	10.86	7.37	0.54	29.00	94.47	0.15	9.23	33.14	39.09
	6	40.49	22.96	0.29	33.39	87.32	0.11	17.65	35.04	25.16
	12	45.02	41.84	0.47	48.66	101.78	<u>0.22</u>	22.47	57.62	36.95
	24	49.77	45.29	0.70	60.98	<u>111.57</u>	0.21	<u>42.69</u>	<u>97.35</u>	46.79
	36	61.31	47.31	0.98	64.21	104.31	0.20	35.31	52.31	111.31
	48	<u>131.98</u>	<u>54.50</u>	1.82	<u>67.97</u>	95.56	0.20	32.0	9.33	<u>138.16</u>

NOTE —————; indicates the highest concentration factor at the particular concentration and incubation time.

.....; indicates a peak of high concentration factor but lower than the highest concentration factor at the particular concentration and incubation time.

+; derived by the division of bioaccumulated trace metals with the relevant concentration in the medium.

gradually during the incubation.

For the highest 500 ppm concentration stresses Cd, Co, Cr, Cu and Zn only manifested a gradual uptake all the time, although slight variations in their lag period were noticeable. Nevertheless, Fe, Ni and Pb each showed maximum peaks at 24 hr incubation and their uptake decreased gradually thereafter. In the case of Mn, however, the maximum peak was found at 12 hrs incubation.

All the biodeposition patterns in Fig. 2 were listed precisely in terms of the bioconcentration factors in Table 2, in order to comprehend the algal biodeposition. The general patterns of biodepositional trends during incubation are shown graphically in Table 3.

From these Tables it is obvious that the BF's for Cd, Co and Cr are maximal at 100 ppm stresses (Cd; 275.68 (48 hr), Co; 208.53 (12 hr), Cr; 3.69 (48 hr)) while for the other trace metals at 50 ppm stresses (Cu; 406.27 (12 hr), Fe; 165.13 (24 hr), Mn; 2.22 (24 hr), Ni; 147.12 (48 hr), Pb; 176.53 (12 hr) and Zn; 624.64 (24 hr)).

Discussion

Biodeposition of heavy metals in *Cladophora fracta* was shown to be dependent on

the concentration of the elements in the media (GILEVA 1964), but little work has been done on the mechanisms of biodeposition of these elements. Similarly, BRYAN (1969) indicated a linear uptake relationship of Zn, Cu and Pb by *Laminaria digitata* depending on their concentration in the media. In this connection, SUTCHIFFE (1962) has indicated the uptake of cations by cells to commonly occur at two stages — an initial rapid, passive uptake and a slower uptake dependent on its mechanism. Further, another possible mechanism of trace metal uptake was suggested by HAGERHALL (1973) as one occurring via an irreversible accumulation over a membrane system.

It is obvious from the results of the experiments that under high concentration stresses between 50-500 ppms the modes of biodeposition vary according to the type of trace metal. This fact suggests that the pattern of biodeposition of trace metals is not so simple as explained by the various authors mentioned above with regard to low concentration stresses.

The biodeposition and depuration of trace metals in *Cladophora fascicularis* appears to be greatly dependent on potential variations within the membrane created by the trace metals and their toxicity to the enzyme systems of the algae leading to regulatory

Table 3. General patterns of biodeposition of the trace metals at the various stress concentrations.

Stress concentration. (ppm)	Patterns						
50					Cd, Co & Cr.	Cu, Fe, Mn, & Pb.	Ni & Zn.
100				Pb.	Cd, Co, Cr, Cu & Mn.	Fe.	Ni & Zn.
200	Pb & Zn.		Cu & Ni.		Co, Cr, Fe, Mn & Ni.		Cd.
300	Pb.				Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn & Ni.		Zn.
500	Mn.	Fe, Ni, Pb.					Cd, Co, Cr, Cu & Zn.

+ : indicates the maximum hr of biodeposition.
 ++ : indicates the plateau hr during biodeposition.
 +++ : incubation time from 3 hr (=A) to 48 hr (=B).

mechanisms. In most cases, the trace metals appear to have a rapid peaked uptake between 12-24 hrs of exposure up to 300 ppm stress, with a different tendency for 500 ppm stress — either a gradual continuous uptake (Cd, Co, Cr, Cu and Zn) or a maximum peaked uptake between 12-24 hrs for the remaining trace metals. Patterns other than a maximum between the 12-24 hrs of incubation are also observable in the 50-300 ppm stress groups depending both on the specific trace metal and its concentration (Table 3).

Based on the BF values of the high concentration stress experiments it is clear that most of the trace metals have their highest values in the 50 ppm lots excluding those for Cd, Co and Cr. The rate of their uptake at high concentration stresses is as follows: Zn > Cu > Cd > Co > Pb > Fe > Ni > Cr > Mn. On comparison with concentrations in naturally occurring *Cladophora fascicularis* in low complexed concentrations of trace metals in the natural medium, the patterns are fairly similar: Cd, Cu and Fe > / < Zn > Mn > Cr > Pb > Co > Ni > Hg. The difference in placement of the highest category could be attributed to the very low concentrations of Cd, Cu and Fe (=BDL) in the natural medium. Further, the fluctuations of Mn, Fe, Co and Pb could also be related to the existence of high concentrations of these trace metals in the medium and their influence on the various physiological and biochemical processes. The tendency of greatly biodepositing Zn, Cu, Cd, Co, Pb, Fe and Ni seem to be quite relevant to the statements of KEENEY *et al.* (1976), TAFT and KISHER (1973) and FUNK (1973) for Zn, Cu and Pb.

Another intriguing point to be mentioned here is the initial high values of absorption observed for the stress experiments during the 3 hr incubation period: Cu and Cd at 200 ppm, Mn at all concentrations, Cd at 300 ppm, Cr at 300 and 500 ppms, Fe at 50 ppm and Zn at 500 ppm (Fig. 2). To comprehend these mechanisms further studies are necessary at shorter time intervals between 0-3 hr at high concentrations.

Considering the high concentration stresses of trace metals in *Cladophora fascicularis* and observations of no physical damage to the alga, it appears that the algal species is a suitable biomonitor of trace metals in the local aquatic environment and these results may possibly be expanded to other related species on a global basis as a "*Cladophora* Monitoring Programme".

Acknowledgements

The authors wish to express their gratitude to the School of Biological Sciences, University of Sciences Malaysia, Pulau Pinang, Malaysia, for all the aid rendered during the course of this study.

References

- BLACK, W. A. P. and MITCHELL, R. L. 1952. Trace elements in the common brown algae and in sea water. *J. mar. biol. Ass. U.K.* 30: 575-583.
- BYRAN, G. W. 1969. The absorption of zinc and other metals by the brown seaweed *Laminaria dictata*. *J. mar. biol. Ass. U.K.* 49: 225-243.
- FJERDINGSTAD, E. 1965. Taxonomy and saprobic valency of benthic phytomicro-organisms. *Int. Revue Ges. Hydrobiol.* 50: 475-604.
- FUNK, W. H. 1973. Biological impact of combined metallic and organic pollution in the Coeur D'Alene-Spokane River drainage system, Washington State University and University of Idaho Report to OWRR, B-044 Wash. and B-015 IDA.
- GILEVA, E. A. 1964. Dynamics of the accumulation of chemical elements by the algae *C. fracta* and the dependence of the accumulation on the concentration of elements in solution. *Fisiologiva Rastem.* 11: 581-586.
- GOLDBERG, E. D. 1965. Minor elements in sea water. *In* Chemical Oceanography (Edited by RILEY, J. P. and SHIRROW, E. G.). Vol. 1, Ch. 5, Academic Press, New York.
- GUTKNECHT, J. 1965. Uptake and retention of Cs-137 and Zn-65 by seaweeds. *Limnol. Oceanogr.* 10: 58-66.
- HAGERHALL, B. 1973. Marine botanical hydrographical trace metal element studies in the Oresund area. *Bot. Mar.* 16: 53-64.
- KEENEY, W. L., BRECK, W. G., VANLOON, G. W.

- and PAGE, J. A. 1976. The determination of trace metals in *Cladophora glomerata*—*C. glomerata* as a potential biological monitor. *Water Res.* 10: 981-984.
- LORD, D. A. 1974. Trace elements in mussels and seston in the Kingston Basin of Lake Ontario. Ph. D. Thesis, Queen's University.
- NIEL, J. 1975. Analysis of *Cladophora*. In SHEAR, L. and KONASEWICH, D. E. (Eds.). *Cladophora in the Great Lakes*. Great Lakes Research Advisory Board, International Joint Commission, Windsor, Ontario, 93-100.
- PHILLIPS, D. J. H. 1976. The common mussel, *Mytilus edulis*, as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals. *Mar. Biol.* 38: 59-69.
- SCHULZ-BLADES, M. 1975. Lead uptake from seawater and food and lead loss in common mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 25: 177-193.
- SIVALINGAM, P. M. 1978. Biodeposited trace metals and mineral content studies of some common tropical marine algae. *Bot. Mar.* 21: 327-330.
- SIVALINGAM, P. M. 1979. Mercury contamination in tropical algal species of the Island of Penang, Malaysia. *Marine Pollution Bulletin*. 11: 106-108.
- SIVALINGAM, P. M. 1979. Bioaccumulated mechanisms of trace metals by the Malaysian rock oyster, *Saccostrea cucullata*, under high concentration stresses. *Proc. 2nd Symp. on Our Environment*, 14-16 Nov. 1979, Singapore. Session IV. Pollution and its Control (Part 3), Paper 2. pp. 342-355.
- SIVALINGAM, P. M. and BHASKARAN, B. 1980. Experimental insight of trace metal environmental pollution problems of mussel farming. *J. Aquacult.* 20: 291-303 (special issue).
- SIVALINGAM, P. M., YOSHIDA, T., KOJIMA, H. and ALLAPITCHAY, I. 1979. Trace metals biodeposition and its extent of pollution in molluscs, sediments and water samples from Penang Waters, Malaysia. *Proc. IV CSK Symp.*, 14-17 Feb., 1979, Tokyo, Japan. pp. 532-544.
- SIKES, C. S. 1978. Calcification and cation sorption of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 14: 325-329.
- STOKES, P. M., HUTCHINSON, T. C. and KRAUFER, U. 1973. Heavy metal tolerance in algae isolated from contaminated lakes near Sudbury, Ontario. *Can. J. Bot.* 51: 2155-2168.
- SUTCHIFFE, J. F. 1962. Mineral absorption in plants. Pergamon Press, Oxford, U.K.
- TAFT, C. E. and KISHLER, W. J. 1973. *Cladophora* as related to pollution and eutrophication in Western Lake Erie, Water Resources Center, The Ohio State University, Project Completion Report No. 332 x, 339 x.
- TAYLOR, D. D. and BRIGHT, T. J. 1973. The distribution of heavy metals in reef-dwelling groupers in the Gulf of Mexico and Bahama Islands. Department of Marine Resources Information, Texas A & M University.
- THROWER, S. J. and EUSTACE, T. J. 1973. Heavy metals accumulation in oysters grown in Tasmanian waters. *Food Technology in Aust.* Nov. 546-553.
- WHITTON, B. A. 1970. Biology of *Cladophora* in freshwaters. *Water Research.* 4: 457-476.

P. M. シバリングム・R. イスマイル：緑藻 *Cladophora* spp. による微量金属汚染の生物モニター 1. 高濃度圧と生物濃縮のモード

緑藻シオグサ属の一種、*Cladophora fascicularis* の体内の微量金属濃度は、本種が生息する海水中のそれと比較すると検出されなかった Hg を除いて Cd, Cu, Fe では ∞ , Cd で 258.2 倍, Cr で 185 倍, Mn で 264.1 倍, Ni で 32.43 倍, Pb で 71.9 倍, Zn で 971.3 倍もの濃度で濃縮されており、また沈澱物中のそれと比較しても Cd で 1.12 倍, Co で 3.38 倍, Cr で 2.0 倍, Fe で 1.4 倍, Ni で 3 倍もの濃度で濃縮されていることが判明した。

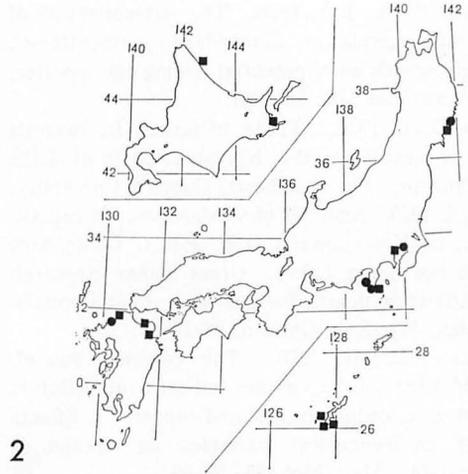
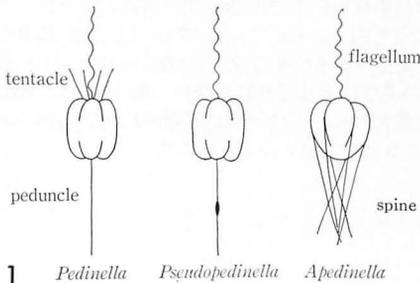
培地中に与えられた 50~500 ppm の高濃度の微量金属濃度 (高濃度圧) 下での 48 時間の暴露実験では、本種による生物濃縮は Cd, Co, Cr の微量金属類を除いて 50 ppm で最も高く、Cu で 406.27 倍 (暴露後 12 hr), Ni で 147.12 倍 (48 hr 後), Fe で 165.13 倍 (24 hr 後), Mn で 2.22 倍 (24 hr 後), Zn で 624.64 倍 (24 hr 後) の値を示し、また Cd, Co, Cr は 100 ppm の圧力下で高く、その濃度はそれぞれ 275.68 倍 (48 hr 後), 208.53 倍 (12 hr 後), 3.69 倍 (48 hr 後) であった。高濃度圧下での生物濃縮のモードは一般に暴露後 12~24 時間の間で迅速な濃縮を行い、その後放出過程がみられ、再び濃縮過程がおこるといったパターンを示した。

井上 勲・堀口健雄：微細藻類ノート(4). *Pseudopedinella pyriformis* CARTER および *Apedinella spinifera* (THRONSDEN) THRONSDEN (黄金色藻綱). Isao INOUE and Takeo HORIGUCHI: Notes on microalgae in Japan (4). *Pseudopedinella pyriformis* CARTER and *Apedinella spinifera* (THRONSDEN) THRONSDEN (Chrysophyceae).

ペディネラ目 (Pedinellales) は単細胞性で、6個の葉緑体と翼のついた特異な鞭毛を前端にもつことで、黄金色藻綱 (Chrysophyceae) の他のグループとは著しく異なる (HIBBERD 1976)。この目は *Pedinella*, *Pseudopedinella*, および *Apedinella* の3属よりなり、図1に模式的に表すように、触手様突起物 (tentacles), 柄 (peduncle), および棘 (spines) の有無によってそれぞれ区別される。

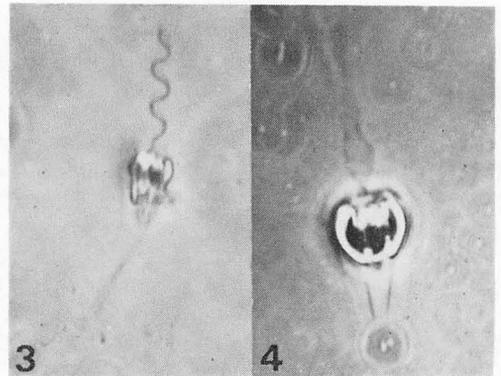
ペディネラ目のメンバーのうち、*Pseudopedinella* の基準種 *P. pyriformis* (図3) は、図2に■印で示すように、わが国各地の河口域に広く分布することが、筆者等の調査によって明らかになった。多くの場合、サンプリング時の個体数は限られているが、栄養物添加により容易に藻体を増殖させることができる (井上, 1980)。細胞はたる状で縦に規則正しく6列の隆起部があり、前端正面からみると全形はやや六角形にちかい。長さ5~8 μm, 幅4~8 μm である。葉緑体の変形しているために、細胞の後端部はしばしば不規則な形をとる。前端、後端ともにわずかな凹部があり、前端から1本の鞭毛が生じ、後端からは柄とよばれる尾状の付属物が伸びる。柄の中間部にはしばしばレンズ状の膨潤部がある。葉緑体は板状で6個あり、細胞の隆起部に沿って縦に並ぶ。ピレノイドは突出型で、葉緑体にそれぞれ1個ずつ存在し、内方に向けて位置する。眼点はみられない。

Apedinella は、細胞表面の棘の有無を分類形質として重視し、THRONSDEN が1971年に設立した属で、現在までに一種が知られている。基準種 *A. spinifera* (図4) は THRONSDEN (1969) によって最初 *Pseudopedinella spinifera* として記載されたものである。



わが国ではこの種は図2に●印で示すように、採集された場所はまだまだ数地点にすぎないが、採集地点が分散していることから考えると、分布はかなり広範囲に亘るものと想像される。本種の細胞は基本的には前述の *Pseudopedinella* に類似する。すなわち前端に6つの隆起部があり、前端の凹部から1本の鞭毛が前方に向かって伸びる、細胞の長さは8 μm, 幅は8 μm である。しかし、後端には凹部がなく、むしろ丸みをおびていること、および前端の凹部から通常6本の棘がそれぞれ6つの隆起部の間の凹部に沿って後方に伸びることによって区別される。棘の長さはいずれもほぼ等長で約12 μm である。葉緑体は6個で、6つの隆起部に沿って縦に位置し、それぞれ内方に突出したピレノイドをもつ。眼点はみられない。

Pedinella については、わが国における報告はない。



引用文献

HIBBERD, D. J. 1976. Bot. J. Linn. Soc. 72: 55-80.
井上勲 1981. 藻類 29: 6.
THRONSDEN, J. 1969. Nytt Mag. Bot. 16: 161-216.
THRONSDEN, J. 1971. Norw. J. Bot. 18: 47-64.

The influence of high molecular organic substances in sediment on the green alga *Chlorella pyrenoidosa* CHICK

Shuzi HINO and Kazuo ANDO

*Hokkaido Research Institute for Environmental Pollution
Kita-ku, Sapporo, 060 Japan*

HINO, S. and ANDO, K. 1981. The influence of high molecular organic substances in sediment on the green alga *Chlorella pyrenoidosa*. Jap. J. Phycol. 29: 181-187.

High molecular organic compounds in the sediment of the Barato River (Hokkaido Ishikari-gun Ishikari-cho) were extracted with 1N sodium hydroxide, and were found to stimulate the growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Three extracts were obtained, an alkali, an acid, and a water. The alkali extract was separated into four fractions by DEAE-cellulose chromatography. The D-1 (0.1M NaCl) fraction showed an observable stimulatory effect, whereas the D-4 (NaOH) fraction was inhibitory. After separating the D-1 fraction by Sephadex G-100, the growth stimulatory S-5 fraction was calculated as having a molecular weight of 24,000 by gel filtration. This fraction was composed of 32% sugars, 44% proteins, 0.31% iron, and 0.07% manganese. The growth inhibitory D-4 fraction contained gallic, protocatechuic, *p*-hydroxybenzoic, *p*-coumaric, and vanillic acids. All these phenolic compounds except for vanillic acid, which was not examined, were found to strongly inhibit the growth of *C. pyrenoidosa* at concentrations of 1 μ M or over.

Key Index Words: *Chlorella pyrenoidosa*; *Chlorophyta*; *growth-inhibitory compounds*; *growth-stimulatory compounds*; *organic substances*; *phenolic compounds*; *sediment*.

The effects of organic and inorganic substances in the sediments of rivers, lakes and sea upon growth rates of algae have been extensively investigated (PRAKASH and RASHID 1968, HONJO and HANAOKA 1973, 1974, IIZUKA and NAKASHIMA 1975, COOKSEY and COOKSEY 1978, JACKSON and HECKY 1980, ISHIO and KONDO 1980). The effect of high molecular substances on algae have been found to be inhibitory (PRAKASH and RASHID 1968, COOKSEY and COOKSEY 1978) or stimulatory (GIESY 1976). It is well known that the growth of algae is stimulated by adding sediment to the growth medium (PRINGSHEIM 1946, STARR 1964).

The present study attempts to determine which constituents of high molecular weight organic substances found in the sediment of a river in Northern Japan have a stimulatory effect on the growth of the green alga

Chlorella pyrenoidosa. Both stimulatory and inhibitory fractions were analyzed by ion exchange chromatography, and molecular sieve gel chromatography to clarify which substances were active.

Materials and Methods

Sediment; Samples of sediment were collected from the Barato River located in the center of Hokkaido, and kept in a cold room at 4°C in a wet state until use. This sediment was a fluffy precipitate and was black in color.

Alga; *Chlorella pyrenoidosa* (CHICK) was supplied by the Institute of Applied Microbiology, The University of Tokyo, and was used throughout the present experiments.

Extraction of organic substances; Organic substances were extracted from the sedi-

ment with distilled water, 1 N sodium hydroxide, or 1 N hydrochloric acid. Five hundred ml of each solvent was added to 100 g wet weight of the sediment and the mixture was incubated in a reciprocal shaker for 24 hr at room temperature. After shaking, the mixtures were centrifuged at 8,000 rpm for 20 min, and the pellets were discarded. After adjusting the supernatant to pH 7.0 with alkali or acid, solid ammonium sulfate was gradually added to 100% saturation. The precipitate was collected by centrifugation at 8,000 rpm for 20 min, and dissolved in 1 N sodium hydroxide for water and alkali extracts and 1 N hydrochloric acid for acid extract. These solutions were dialyzed against distilled water for 3 hr and then against 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) overnight. The dialyzed solutions were designated as water, alkali, and acid extracts respectively. These samples were kept in a cold room at 4°C until use.

Assay of algal growth; Bold's Basal Medium (Brown and Bold 1964) was poured into test tubes (10ml per tube) and autoclaved at 120°C for 20 min. Sample extracts used in these experiments were dialyzed. After sterilization with an Amicon filter, the samples were adjusted to the same absorbance at 280 nm, and 1 ml was poured into each test tube. One drop of *C. pyrenoidosa* pre-cultured in Bold Basal Medium for 5 days was inoculated into each of the test tubes with a micropipette. The inoculated test tubes were incubated at 20°C for one week under illumination at 2,000 lux. At the end of the experiment, algal growth was determined by measuring dry weight.

Determination of phenolic compounds; Phenolic compounds were extracted and purified following the method of KATASE and HANYA (1974), and determined with a Hitachi 635 A type high performance liquid chromatogram using a stainless steel column (0.4×15 cm) packed with Lichrosorb RP-18. The column temperature was ambient, the solvent was 5% acetonitrile and traced acetic acid, and the flow rate was 2.0 ml/min. A Hitachi UV monitor was used as a de-

tector.

Assay of sugars, proteins, iron, and manganese; Sugars were assayed by the Anthron method (DREYWOOD 1964) with glucose as a standard. Proteins were assayed by the method of LOWRY *et al.* (1951) with bovine serum albumin as a standard. Iron and manganese were assayed colorimetrically by a JIS 0102 (1979).

Separation of the alkali extract by DEAE-cellulose column chromatography; The alkali extract was loaded on a DEAE-cellulose column (2×30 cm) equilibrated with 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) containing 0.1 M NaCl and the column was eluted with a gradient concentration of NaCl. After elution with NaCl, the column was washed with distilled water, and residual substances were further eluted with NaOH. One of the fractions of 5 ml were collected.

Reseparation of the DEAE-cellulose fraction by Sephadex G-100 column chromatography; One of the DEAE-cellulose fractions was subjected to gel filtration with a Sephadex G-100 column (2×90 cm). Equilibration and elution were carried out with 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) containing 0.1 M NaCl. One of the fractions of 5 ml were collected.

Determination of molecular weight; The molecular weight growth stimulatory fraction was determined by gel filtration. Catalase (58,000), chymotrypsinogen (25,700), and cytochrome C (13,400) were added as marker proteins.

Degradation of the organic substances by C. pyrenoidosa; A closed dialysis tube containing the *C. pyrenoidosa* suspension, one of the Sephadex G-100 fractions, or both was immersed in 600 ml of the basal medium in 1 l flask with silicon cap. The medium was agitated with a magnetic stirrer at 20°C for 15 days. At intervals, a small amount of the medium was drawn out and the absorbance at 280 nm was measured.

Results

Effect of the extracts on C. pyrenoidosa; The three kinds of extracts were tested to ascertain their effects on the growth of *C. pyrenoidosa*. As shown in Table 1, the water and acid extracts stimulated growth 39% and 43%, respectively. The alkali extract stimulated growth 2.6 times the rate of the control.

Separation of the alkali extract by DEAE-cellulose column chromatography; The elution profile of the alkali extract is shown in Fig. 1. The extract was separated into at least four fractions (D-1 to D-4 fractions). The fractions were collected separately and their effects on algal growth were tested. The D-1 fraction stimulated the growth of *C. pyrenoidosa* (Table 2) two times that of the control. The D-2 fraction and D-3 fraction did not promote growth. Only the

Table 1. Effects of the three extracts on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*.

Substance	Algal growth	
	(mg/dry wt/l)	(%)
None (Control)	7.4	100
Water extract	10.3	139
Alkali extract	19.3	261
Acid extract	10.6	143

Control contained only Bold's Basal Medium.

D-4 fraction showed inhibitory effects, repressing growth 20% below that of the control.

Separation of the D-1 fraction by Sephadex G-100 column chromatography; This fraction was composed of at least six different molecular weights (Fig. 2). When these 6 fractions were tested for effects on algal growth rates, the S-5 fraction showed the

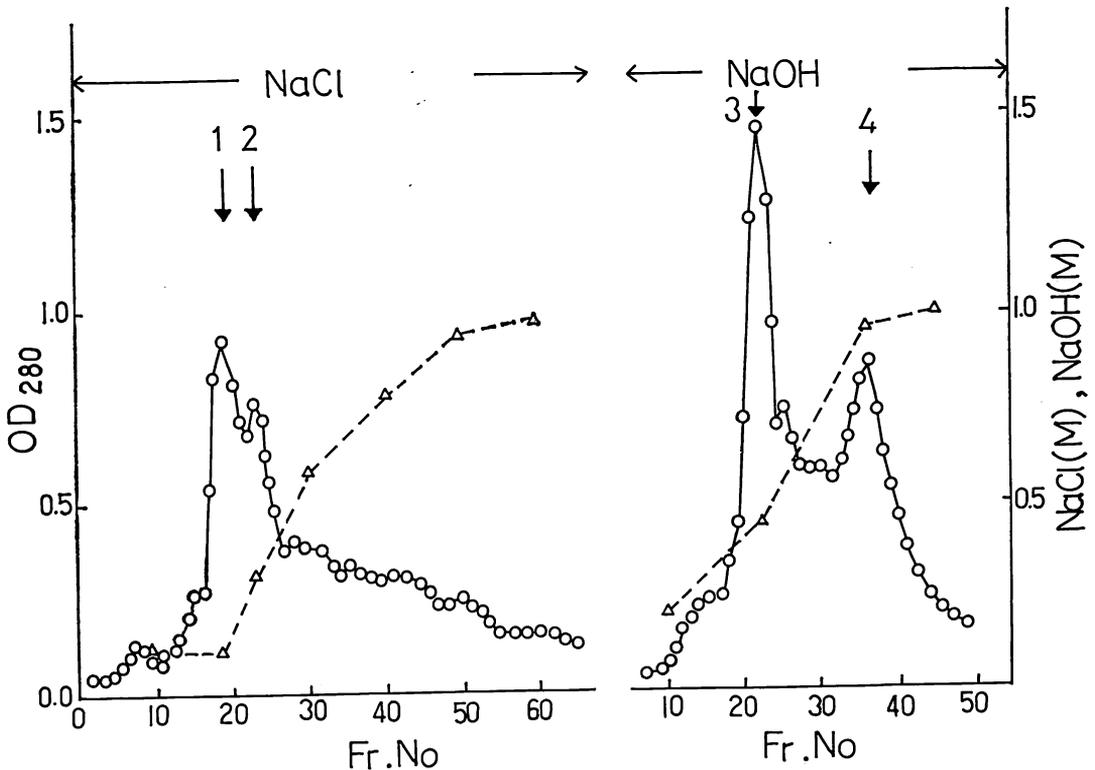


Fig. 1. DEAE-cellulose chromatography of the alkali extract. \circ = OD280; \triangle = concentration of sodium chloride or sodium hydroxide arrows: 1. D-1 2. D-2 3. D-3 4. D-4.

Table 2. Algal growth in the presence of each fraction separated by DEAE-cellulose column chromatography.

Fraction	Algal growth	
	(mg dry wt/l)	(%)
None (Control)	22.3	100
D-1 fraction (0.1 M NaCl)	43.1	193
D-2 fraction (0.3 M NaCl)	29.5	132
D-3 fraction (0.5 M NaOH)	24.2	109
D-4 fraction (1.0 M NaOH)	17.9	80.3

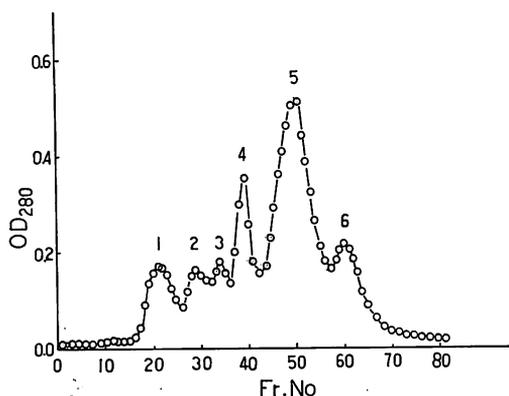


Fig. 2. Sephadex G-100 chromatography of the D-1 fraction (0.1 M NaCl).

Table 3. Algal growth in the presence of each fraction separated by Sephadex G-100 column chromatography.

Fraction	Algal growth	
	(mg dry wt/l)	(%)
Mixed	27.2	100
S-1 fraction	24.5	90.0
S-2 fraction	26.8	98.5
S-3 fraction	28.3	104
S-4 fraction	28.7	106
S-5 fraction	47.1	173
S-6 fraction	32.8	121

Fraction numbers are designated by the order of elution shown in Fig. 2. 'Mixed' was the sample before gel filtration.

maximum stimulatory effect (Table 3). The molecular weight of the fraction was determined to be about 24,000 by gel filtration.

Table 4. Composition of growth-stimulatory S-5 fraction.

Component	(%)
Sugars	32
Proteins	44
Iron	0.31
Manganese	0.07
Others	23.6

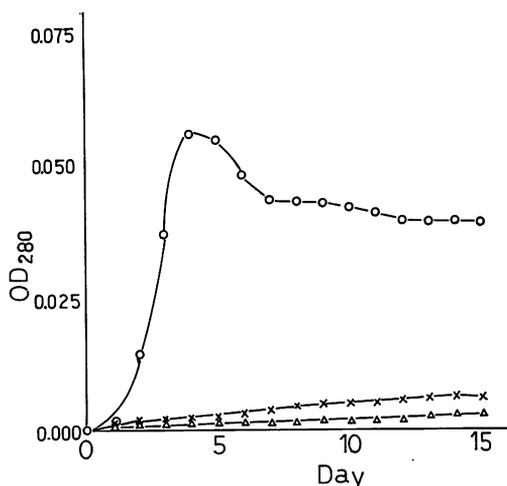


Fig. 3. Degradation of growth-stimulatory the S-5 fraction by *Chlorella pyrenoidosa*.

OD280=amount passed through dialysis tube ○=growth stimulatory S-5 fraction and *C. pyrenoidosa* suspension; △=growth-stimulatory S-5 fraction; ×=*C. pyrenoidosa*.

Components of S-5 fraction; The S-5 fraction was analyzed for sugars, proteins, iron, and manganese. As shown in Table 4, proteins were the most dominant component.

Degradation of the S-5 fraction by C. pyrenoidosa; We attempted to examine how the S-5 fraction interacted with the alga. If the fraction is degraded by the alga, smaller molecules should accumulate and be measurable. The results of our experiment are shown in Fig. 3. In the case of both the algal suspension and the S-5 fraction alone, absorbance did not change. After the S-5 fraction was added to the algal suspension, absorbance at 280 nm increased rapidly, indicating degradation of organic substances

in the S-5 fraction.

Growth inhibitory substances; As shown in Table 2, the D-4 fraction inhibited growth. The D-4 fraction showed two absorption peaks at 250 and 300 nm. After the fraction was hydrolyzed with 6 N NaOH and dialyzed, the dialysate was analyzed by high performance liquid chromatography. The results are shown in Fig. 4. Absorption spectra were recorded and compared with those of established standards and consequently the organic substances in the D-4 fraction were identified as gallic, protocatecic, *p*-coumaric, *p*-hydroxybenzoic, and vanillic acids.

Effects of phenolic compounds on alga; Standard samples of gallic, protocatecic, *p*-hydroxybenzoic, and *p*-coumaric acids were examined in respect to their effect on algal

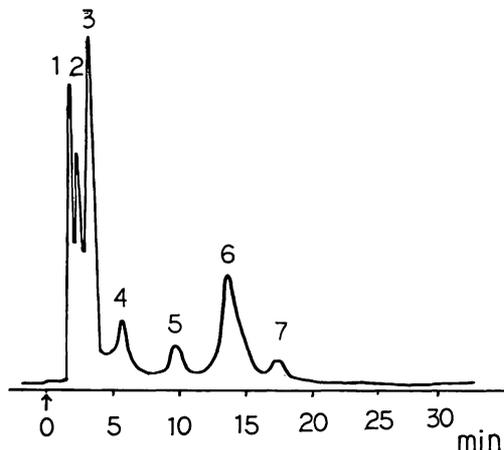


Fig. 4. High performance liquid chromatography of phenolic compounds. 1. gallic acid, 2. protocatecic acid, 3. *p*-hydroxybenzoic acid, 4. unknown, 5. vanillic acid, 6. *p*-coumaric acid, 7. unknown.

Table 5. Effects of phenolic compounds on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*.

Phenolic compounds (μM)	<i>p</i> -Coumaric acid	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	Protocatecic acid	Gallic acid
	Algal growth	Algal growth	Algal growth	Algal growth
	(%) relative growth	(%) relative growth	(%) relative growth	(%) relative growth
0	100			
1	84.3	57.5	86.4	92.3
10	29.9	15.0	27.0	38.4
100	8.5	0.6	4.3	15.0
1000	0.4	0.0	0.0	1.2

growth. As shown in Table 5, *p*-hydroxybenzoic acid inhibited growth about 40% at only 1 μM . The other phenolic compounds inhibited growth about 60-70% at 10 μM , and all compounds inhibited the algal growth almost completely at 1 mM.

Discussion

As shown in Fig. 1 and Table 2, the D-1 and D-2 fractions stimulated algal growth, whereas the D-4 fraction was inhibitory. The D-4 fraction is therefore assumed to have more groups such as phenols and carboxyls than the D-1 and D-2 fractions. The

D-4 fraction had two definite absorption peaks at 250 and 300 nm, consistent with the results obtained for phenolic compounds by GOLDSCHMIDT (1953). This fraction was analyzed and the presence of *p*-coumaric, vanillic, *p*-hydroxybenzoic, protocatecic and gallic acids was determined. COOKSEY and COOKSEY (1978) suggested that phenolic compounds (such as tannin) were present in sediment and inhibited algal growth in case of eluting with rain and sea water. We found that pure phenolic compounds inhibited the growth of *Chlorella pyrenoidosa* at or above 10 μM (Table 5). However, although the D-4 fraction contained large quantities

of phenolic compounds, it inhibited the algal growth to a lesser extent, only about 20% (Table 2). It is likely that in the D-4 fraction, the phenolic compounds may combine with some other substances such as protein, sugars, and lignin, so consequently the inhibitory effect may be decreased.

Some phenolic compounds have been reported to stimulate sporeling in red algae (BONEY 1967) as well as respiration of *Chlorella vulgaris* (DEDONDER *et al.* 1971), and to enhance the growth of *Goniotrichum elegans* when presented together or coupled to peptides (FRIES 1970, 1972, and 1973). Our research has found an inhibitory effect on algal growth rates, but we have not yet determined the role of these compounds in the river. This problem has to be solved in the near future.

The alkali extract showed a highly stimulatory effect on algal growth in our research. On the other hand, IWASAKI (1969), and IWASAKI *et al.* (1969) reported that the boiled extract of sediment had a remarkable stimulatory effect. HIRAYAMA and NUMAGUCHI (1972) reported that an acid extract had maximum stimulatory effect among the alkali, acid, and boiling water extracts. HONJO and HANAOKA (1973, 1974) reported that the acid extract had a stimulatory effect on algal growth. However, they did not investigate the effects of high molecular alkali extracts upon algal growth.

WARIS (1953), PRAKASH and RASHID (1968) suggest that low molecular humic acid extracted with alkali had a maximum growth stimulatory effect upon algae. GISEY (1976) suggested that humic acid extracted with alkali (M. W 30,000) had growth stimulatory effects, this due to chelating and other factors. Sediment and soil extract with alkali involve humic acid (GOLDSCHMIDT 1953). We separated the S-5 fraction from the alkali extract by several technique. The humic acid was included in the D-3 and D-4 fractions. The S-5 fraction was different from humic acid. The fraction composed of proteins and sugars was high stimulatory to algal growth. The humic acid dose not

affect algal growth on our experiments.

Our research showed that the S-5 fraction was utilized by *C. pyrenoidosa* (Fig. 3). We suggest that the growth stimulatory effect of the fraction might be due to the supply of carbon, nitrogen, and/or energy sources available for the alga after the degradation of high molecular weight fractions such as the S-5 fraction.

However, since we have not examined which component or combination is most effective in promoting growth, we cannot exclude the possibility that some component which was not determined in this study may be an essential stimulatory factor.

Acknowledgements

The authors are thankful to Miss. K. OSANAI for her technical assistance.

References

- BONEY, A. D. 1967. The effects of coumarin on the growth and viability of sporeling of red algae. *Planta (Berl.)* 74: 114-123.
- BROWN, R. M. and BOLD, H. C. 1964. Phycological studies. V. Comparative studies of the algal genera *Tetracystis* and *Chlorococcum*. Univ. Texas Pub. 6417.
- COOKSEY, K. E. and COOKSEY, B. C. 1978. Growth-influencing substances in sediment extracts from a subtropical wetland: Investigation using a diatom bioassay. *J. Phycol.* 14: 347-352.
- DEDONDER, A. and VAN SUMERE, C. F. 1971. The effect of phenolics and related compounds on the growth and respiration of *Chlorella vulgaris*. *Z. Pflanzenphysiol.* 65: 70-80.
- DREYWOOD, R. 1946. Sugar measurement. *Anal. Chem.* 18: 499-504.
- FRIES, L. 1970. The influence of microamounts of organic substances other than vitamins on the growth of some red algae in the axenic culture. *Br. phycol. J.* 5: 39-46.
- FRIES, L. 1972. The influence of phenolic compounds on the growth of *Goniotrichum elegans* (CHAUV.). *Proc. 7th Intl. Seaweed Symp.* p. 575-579.
- FRIES, L. 1973. Requirements for organic substances in seaweed. *Bot. Mar.* 16: 19-31.
- GOLDSCHMIDT, D. 1953. The effect of alkali and strong acid on the ultra violet absorption

- spectrum of lignin and related compounds. J. Am. Chem. Soc. 75: 3780-3786.
- GIESY, J.P. 1976. Stimulation of growth in *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae) by humic acids under iron limited conditions. J. Phycol. 12: 172-179.
- HIRAYAMA, K. and NUMAGUCHI, K. 1972. Growth of *Gymnodinium* Type-65 causative organism of red tide in Omura Bay, in medium supplied with bottom mud extract. Bull. Plankton Soc. Japan 19: 13-21.
- HONJO, T. and HANAOKA, T. 1973. Studies on the mechanisms of red tide occurrence in Hakata Bay (II). General features of red tide flagellate, *Heterosigma* sp. Bull. Plankton Soc. Japan 19: 75-81.
- HONJO, T. and HANAOKA, T. 1974. Studies on the mechanisms of red tide occurrence in Hakata Bay (III). The characteristics of effective bottom mud and its geographical distribution pattern. Bull. Plankton Soc. Japan 20: 126-130.
- IIZUKA, S. and NAKASHIMA, T. 1975. Response of red tide organisms to sulfide. Bull. Plankton Soc. Japan 22: 27-32.
- ISHIO, S. and KONDO, K. 1980. Studies on the scarcity of red tide in the eutrophicated waters of Ariake Bay (I). Dissolution of phosphate ion from bottom mud by hydrogen sulfide. Bull. Jap. Soc. Scient. Fishers. 46: 977-989.
- IWASAKI, H. 1969. Studies on the red tide dinoflagellates (III). On *Peridinium hangoei* SCHILLER appeared in Gokasho Bay, Shima Peninsula. Bull. Plankton Soc. Japan 16: 132-139.
- IWASAKI, H., OKADA, Y. and TANABE, S. 1969. Studies on the red tide dinoflagellates (IV). On *Rhodomonas ovalis* NYGAARD appeared in coastal area of Fukuyama. Bull. Plankton Soc. Japan 16: 140-144.
- Japanese Standards Association. 1979. Testing method for Industrial Water (JIS 0102). Japanese Standards Association, Tokyo.
- JACKSON, T.A. and HECKY, R.E. 1980. Depression of primary productivity by humic matter in lake and reservoir waters of the boreal forest zone. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 37: 2300-2317.
- KATASE, T. and HANYA, T. 1974. Microdetermination of *p*-coumaric acid in water by gas chromatography. Jap. Analyst. 23: 1211-1217.
- LOWRY, O.H., ROSEBROGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- PRAKASH, A. and RASHID, M.A. 1968. Influence of humic substances on the growth of marine phytoplankton dinoflagellates (*Gonyaulax*). Limnol. Oceanogr. 13: 598-606.
- PRINGSHEIM, E.G. 1946. Pure cultures of algae. Cambridge Univ. Press, London.
- STARR, R.C. 1969. Structure, reproduction and differentiation in *Volvox carteri* f. *nagarienses* IYENGAR, strains HK 9 and 10. Arch. Protistenk. 111: 204-222.
- WARIS, H. 1953. The significance for algae of chelating substances in the nutrient solution. Physiol. Plant. 6: 538-543.

日野修次・安藤和夫：河川堆積物に含まれる高分子有機物の緑藻 *Chlorella pyrenoidosa* CHICK に与える影響

北海道中央部に位置する茨戸川の堆積物に含まれる高分子有機物が、*Chlorella pyrenoidosa* に与える影響、およびその組成、性状を調べた。DEAE-Cellulose, Sephadex G-100 カラムクロマトグラフィー、および、高速液体クロマトグラフィーにより、糖質、蛋白質を主成分とする分子量約 24,000 の生長促進物質群と、フェノール化合物を主とする生長阻害物質群の存在が明らかにされた。また、促進物質群は *Chlorella pyrenoidosa* によって低分子化されることが判明した。(060 札幌市北区北19条西12丁目北海道公害防止研究所)

阪井與志雄：北海道大学理学部附属海藻研究施設 Yoshio SAKAI: Institute of
Algalogical Research, Faculty of Science, Hokkaido University

本研究施設は海藻の発生、生理、生態、分類などの研究を目的として、世界にさきがけて設立されたものである。現在は海藻の培養による発生、形態形成、栄養生理、系統分類に関する研究が進められている。

北大理学部設立3年後の昭和8年に室蘭市舟見町所在の元北海道水産試験場室蘭支場の土地・建物の寄附を受け、理学部附属海藻研究所として開設されたのが嚆矢である。その後昭和12年に舟見町モトマリ浜に庁舎を新築移転し、更に昭和33年通称チャラツナイ浜に移転し現在に至っている。

チャラツナイは噴火湾口に突出した室蘭半島（この半島全部とつけ根が室蘭市である）のほぼ中央にあり、太平洋に面し、対岸に駒ヶ岳を仰ぎ、噴火湾を一望に取める眺望絶佳の地である。本研究施設附近一帯の沿岸の環境は全く汚染されておらず、干潮時には広大な岩礁が干出し、沿岸動植物の採集に適している。

噴火湾は殆ど円形で直径約50 kmあり、低温・低塩分の千島寒流が2月から、高温・高塩分の津軽暖流が8月から夫々反時計回り、時計回りで湾内に流入し海況は非常に複雑である。本研究施設前浜の水温は最低2°C（2月）、最高22°C（8月）が平年値である。

このような海況のため、千島寒流地帯のミツイシコンブは室蘭半島の太平洋岸にかなり広く分布するが湾内では点々と狭い範囲で生育しているにすぎない。これに対して津軽暖流系のマコンブは湾内一帯に広く分布し、養殖対象種とされているが、室蘭附近では特にヤヤンコンブと呼ばれる特異な型をとるものが多い。ワカメ、テングサはここがわが国太平洋岸における分布

の北限であり、日本海特産の褐藻スギモクの群落が室蘭港入口附近にみられるのも興味深い。ヒバマタなどは分布の南限である。このほかエンドウコンブ、ガゴメなど特徴的なものもみられ、寒流系、暖流系の海藻がまじって種類の総数は約200種に達する。

本研究施設の敷地は56,869 m²で、延面積654 m²の本館と本年新設された仮設培養棟33.3 m²とからなっている。本館は3階建て、地階に実習室、培養室、ボイラー室、作業室、食堂、炊事場、浴室、控室があり、1階には教官研究室（2）、標本室、事務室、宿直室、和室（3）などがあり、2階には教官研究室、学生研究室、実験室（2）、滅菌室、図書室、暗室などがある。培養棟は本館と連絡されており、ここには温度・光の制御された培養室があり、その外10基の大形培養庫が配置されている。この外に船外機付磯舟があり、海藻採集に使用されている。

研究施設への順路は次のとおりである。室蘭本線室蘭駅で下車し、線路沿いに国道36号線を約1 kmもどり、市役所横から地球岬観光道路（坂道）に入り約2 kmの地点、地球岬に至る手前にチャラツナイ浜に下る道路があり、その海岸に研究施設がある。室蘭駅からこの間約3.5 km、歩いて約40分、車を使用すると約7分で研究施設に到着する。

本研究施設を利用されたい方は、利用の目的、人数、期間を明示して、〒051 室蘭市母恋南町1-13、北海道大学理学部附属海藻研究施設、施設長宛（電話0143-22-2846）に申しこんで下さい。7～8名の収容能力はありますが、食事は自炊です。

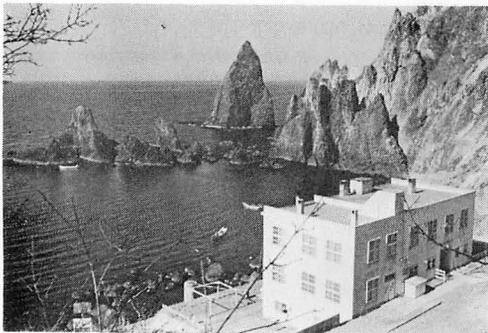


図1. 海藻研究施設全景

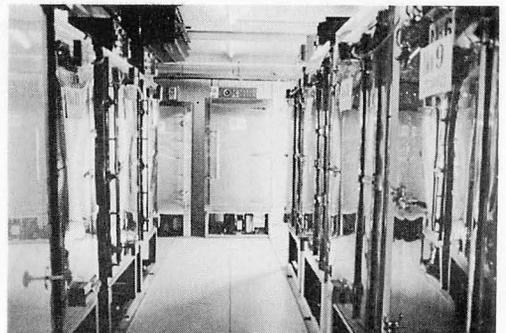


図2. 培養棟内部

テトラセルミス(プラシノ藻類)の光合成炭酸固定について¹⁾

布施洋美*. 猪川倫好**

* 千葉大学医学部生化学第一教室 (280 千葉市亥鼻 1 丁目 8-1)

** 筑波大学生物科学系 (305 茨城県新治郡桜村天王台 1 丁目 1-1)

ASHINO-FUSE, H. and IKAWA, T. 1981. Photosynthesis and carbon metabolism in *Tetraselmis* sp. (Prasinophyceae). Jap. J. Phycol. 29: 189-196.

Photosynthetic assimilation of $^{14}\text{CO}_2$ by free-living *Tetraselmis* sp., a brackish-water green flagellate belonging to the Prasinophyceae was investigated. After 1 minute of photosynthetic $^{14}\text{CO}_2$ fixation, 65% of the total radioactivity was incorporated into phosphorylated compounds such as 3-phosphoglycerate and some sugar phosphates. The percentage distribution of radioactivity incorporated in these initial products rapidly decreased during the rest of the light period. Concurrent with the decrease in the initial $^{14}\text{CO}_2$ fixation products, mannitol, oligosaccharide and glutamic acid were heavily labeled with ^{14}C . When the algal cells were preilluminated in the absence of CO_2 , dark $^{14}\text{CO}_2$ fixation was enhanced, and about 70% of the total radioactivity was incorporated into 3-phosphoglycerate after 30 second dark $^{14}\text{CO}_2$ fixation. The percentage distribution of radioactivity in 3-phosphoglycerate rapidly decreased during the rest of the dark period. Concurrent with the decrease in 3-phosphoglycerate, citric acid was heavily labeled with ^{14}C . Parallel measurements of two carboxylating enzymes showed that ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase was significantly greater than phosphoenolpyruvate carboxylase activity. In addition to these enzymes, the activities of ribulose-5-phosphate kinase, fructose-1, 6-bisphosphate aldolase, fructose-1, 6-bisphosphatase, mannitol-1-phosphatase, phosphorylase and amylase were detected in crude extracts from this alga. These results indicate that the pathway of photosynthetic CO_2 fixation in this alga is the reductive pentose phosphate cycle, or Calvin cycle.

Key Index Words; Carbon dioxide fixation; photosynthesis; photosynthetic carbon assimilation; Prasinophyceae; Tetraselmis.

Hiromi Ashino-Fuse, Department of Biochemistry, School of Medicine, Chiba University, Inohana, Chiba, 280 Japan; Tomoyoshi Ikawa, Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki, 305 Japan.

テトラセルミス (*Tetraselmis* = *Platymonas*) (NORRIS *et al.* 1980) は、クロロフィル *a* および *b* をもち、細胞はセルロースからなる細胞壁はなく外皮鞘でつままれ、鱗片でおおわれた 4 本の鞭毛をもつ単細胞の藻類で、CHRISTENSEN (1962) により緑藻綱 (Chlorophyceae) から独立してプラシノ藻綱 (Prasinophyceae) として設けられた分類群 1 属であり、系統的に極めて興味のある一群といわれる (千原・堀 1970, 堀・千原 1970)。

1) 本研究は文部省科学研究費補助金および日本学術振興会による日米科学協力研究補助金 (課題番号 5R052) の一部を使用した。

テトラセルミスの光合成産物については、CRAIGIE ら (1966) が 2 時間の光合成 $^{14}\text{CO}_2$ 固定産物の解析を行い、マンニットとデンプン様物質が主要産物であることを報告している。SUZUKI (1974) は *Tetraselmis* sp. (= *Platymonas* sp.) からデンプン様物質を単離・分析し、アミロースおよびアミロペクチンからなる緑藻や高等植物と同様のデンプンであることを明らかにした。また、KIRST (1975) や HELLEBUST (1976) は、それぞれ別種のテトラセルミスを用いて、マンニットが浸透圧調節物質となっていることを報告している。

さらに、KREMER (1975) は動物に共生する *Platy-*

monas convolutae と非共生の2種のテトラセルミスの光合成 $^{14}\text{CO}_2$ 固定について比較検討しているが、炭酸固定の機作については詳細には明らかにしていない。

本研究では、テトラセルミスの1種を用い、光合成 $^{14}\text{CO}_2$ 固定および前照射後の暗 $^{14}\text{CO}_2$ 固定産物の解析ならびにこれらの炭素代謝に関与する酵素の検出を行い、テトラセルミスの1種における光合成炭素代謝経路について考察を行った。

材料と方法

I. 実験材料

実験に用いたテトラセルミスの1種は千原光雄博士が1970年1月に静岡県下田市の鍋田湾において採集、保存培養されたものを用いた。培養は、人工海水ジャマリンU (ジャマリンラボラトリー製) を塩素濃度11%としたもの1lにつき、 NaNO_3 0.2g および Na_2HPO_4 0.04g を含む溶液4ml と PES 培地 (McLACHLAN 1973) 20ml を加えたものを培地として用い、18°C、4000 lux の照射下で16時間明期—8時間暗期で空気を通気し、無菌条件下で行った。

II. 実験方法

1. 溶存酸素の測定

光合成により発生する酸素量はクラーク型酸素電極 (YSI 社製 4004 型) を用いて測定した。光源はスライドプロジェクター (650 w ハロゲンランプ) を用い、1% 硫酸銅溶液を含む厚さ 5 cm のフィルターを通して照射した。

2. $^{14}\text{CO}_2$ 固定実験

(1) 光合成 $^{14}\text{CO}_2$ 固定実験: 培養藻体を 1000×g 10分間遠心分離して集め、0.1% NaCl を含む 2 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0) に懸垂し、この一定量を枝付試験管 (1.3×15 cm) に入れ、18°C の恒温槽中で、 CO_2 を除いた空気を細管を通して通気しながら、30000 lux の白色光で10分間前照射した。続いて藻体懸垂液 1 ml につき $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 溶液 (59.1 mCi / mM) 25 μCi 分を加え、前照射と同様の条件下で光合成を行わせた。一定時間光合成を行わせた後、速かに藻体懸垂液をワットマン GF/A 濾紙を敷いたガラス濾過器に移し、前記と同様の光を照射しながら吸引濾過し、濾紙上の藻体を濾紙と共に80%熱エタノール中に投入して $^{14}\text{CO}_2$ 固定反応を停止させた。これを沸騰水浴中で10分間加熱した後ミリポアフィルター HA を敷いたガラス濾過器で吸引濾過し、少量の80%エタノールを用いて濾過残渣を洗った。このようにして得た

濾液を集め、80%エタノール可溶画分とし、濾過残渣を不溶画分とした。

なお、光合成の時間は、 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ を加えてから熱エタノールで固定するまでに要した時間として表わした。

(2) 前照射後の暗 $^{14}\text{CO}_2$ 固定実験: (1) と同様の方法で10分間前照射を行い、消光直後に藻体懸垂液 1 ml につき 50 μCi の $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 溶液を加え暗 $^{14}\text{CO}_2$ 固定反応を開始させた。一定時間経過後、熱エタノールを終濃度が80%となるように加え、 $^{14}\text{CO}_2$ 固定反応を停止させた。これを沸騰水浴中で10分間加熱し抽出を行った後、酢酸溶液を加えて酸性とし、空気を通気して未反応の $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ を除去し、さらに (1) と同様の操作により濾過して80%エタノール可溶画分と不溶画分を得た。

3. ^{14}C -固定産物の分離と定量

アルコール可溶画分を 30°C 以下で減圧乾固し、80%エタノールで溶出した試料をワットマン 3 MM 濾紙にスポットした後、二次元展開を行った。展開溶媒はフェノール—酢酸—0.2 MEDTA—水 (369.5: 5.0: 50.0: 80.7 v/v) を一次元目に用い、n-ブタノール—水 (249: 16 v/v) とプロピオン酸—水 (207: 263) とを等量混合したもの (BENSON *et al.*, 1950) を二次元目の展開に用いた。濾紙を乾燥した後 X 線フィルム (富士工業用, N 型) を用いラジオオートグラフィーを行い、 ^{14}C -固定物質を検出した。 ^{14}C -固定量の測定は、ペーパークロマトグラムの ^{14}C -固定物質のスポットを切り取り、液体シンチレーションカウンタを用い測定した。

4. 酵素の抽出

培養藻体を 1000×g 10分間遠心分離して集め、1% NaCl 溶液に懸垂、遠心を2回くり返して洗った後藻体と等容量の、10 mM ジチオスレイトール (DTT) を含む 0.5 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) を加え、0°C において 10 kc で3分間超音波処理して細胞を破碎した。これを 2°C、17000×g で30分間遠心分離し、上清を酵素液として用いた。

5. 酵素活性の測定

(1) リブローズ-5-リン酸 (Ru5P) キナーゼ: 反応は 0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.3) 0.4 ml, 0.5 M Ru5P 0.2 ml, 0.1 M ATP 0.1 ml, 0.1 M MgCl_2 0.1 ml, 0.1 M システイン 0.05 ml および酵素液 0.15 ml を加え総量を 1.0 ml とし、38°C で行い (HURWITZ 1962)、遊離する無機リン酸を ALLEN 法 (ALLEN 1940) を用いて測定した。

(2) リブローズ-1,5-二リン酸 (RuBP) カルボキシルラーゼ: 1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.3) 0.1 ml, 0.05 M MgCl₂ 0.1 ml, 0.1 M 還元型 グルタチオン 0.05 ml, 0.1 mM NaH¹⁴CO₃ 0.1 ml (2 μCi) および酵素液 0.1 ml を加えて 30°C で10分間ブレインキューベートした後, 0.05 M RuBP 0.05 ml を加え反応を開始した (SUGIYAMA *et al.*, 1969)。一定時間反応した後酢酸 0.1 ml を加えて反応を停止させ, ¹⁴CO₂ を完全に除いた後反応液 0.2 ml を濾紙に吸着させ, 乾燥した後液体シンチレーションカウンタで放射能を測定した。

(3) ホスホエノールピルビン酸 (PEP) カルボキシルラーゼ: 反応は 1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.3) 0.1 ml, 0.2 M DTT 0.025 ml, 0.05 M グルタミン酸ナトリウム 0.025 ml, 0.05 M PEP 0.05 ml, 酵素液 0.1 ml および 0.1 mM NaH¹⁴CO₃ 0.1 ml (2 μCi) を加えて総量を 0.5 ml とし, 30°C で行った (SLACK and HATCH 1967)。反応の停止および ¹⁴C-固定量は (2) と同様の方法で行った。

(4) フルクトース-1, 6-二リン酸 (FBP) アルドラーゼ: 0.05 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) 1.0 ml, 0.05 M FBP 0.25 ml, 0.28 M 硫酸ヒドラジン溶液 (pH 7.0) 0.25 ml, 0.004 M FeSO₄ 0.25 ml, 酵素液 0.25 ml および水を加えて総量 2.5 ml とし 38°C で反応した後, SIBLEY and LEHNINGEN (1949) の方法に従って比色定量した。

(5) FBP ホスファターゼ: 反応は 0.5 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.7) 0.4 ml, 0.1 M MgCl₂ 0.1 ml, 0.4 mM EDTA 0.1 ml, 0.05 M FBP 0.2 ml, 酵素液 0.2 ml および水を加えて全量を 2.0 ml とし, 30°C で反応を行い, 遊離する無機リン酸を ALLEN 法で測定した。

(6) マンニトール-1-リン酸 (M1P) 脱水素酵素: M1P 脱水素酵素活性は, フルクトース-6-リン酸の還元および M1P の酸化の両反応について IKAWA *et al.*, (1972) の方法により測定した。

(7) M1P ホスファターゼ: 反応は 0.1 M Tris-酢酸緩衝液 (pH 7.0) 0.5 ml, 0.01 M MgCl₂ 0.1 ml, 0.1 M M1P 0.1 ml, 酵素液 0.1 ml および水を加えて総量を 1.0 ml とし, 30°C で反応を行い, 遊離する無機リン酸を Allen 法で測定した (IKAWA *et al.*, 1972)。

(8) アミラーゼ: 0.25 M クエン酸緩衝液 (pH 6.0) 0.5 ml, 0.2% アミロース 0.25 ml, 0.6% NaCl 0.1 ml および酵素液 0.15 ml を加え 30°C で反応を行

い, Blue value 法 (WANKA *et al.*, 1970) により比色定量した。

(9) ホスホリラーゼ: 反応は 0.25 M クエン酸緩衝液 (pH 6.0) 0.5 ml, 0.5 M グルコース-1-リン酸 0.1 ml, 5% 可溶性デンプン 0.2 ml, 酵素液 および水を加えて総量を 1.0 ml とし, 30°C で行い, 遊離する無機リン酸を ALLEN 法により比色定量した。

6. その他の定量法

クロロフィルの定量は IWAMURA *et al.*, (1970) の方法により, また, タンパク質の定量は LOWRY *et al.*, (1951) の方法により求めた。

結 果

1. 光合成に及ぼす光強度の影響

テトラセルミスの1種の光合成酸素発生に及ぼす光強度の影響について調べた結果, Fig. 1 に示すように約 30000 lux で飽和に達した。図には示していないが酸素発生速度は 100000 lux までほとんど変わらず, 強光による障害はみられなかった。

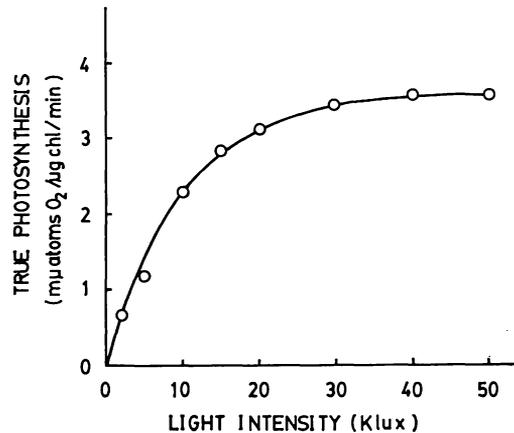


Fig. 1. Effect of light intensity on the rate of photosynthetic oxygen evolution of *Tetraselmis* sp. at 21% oxygen. Temperature was 18°C.

2. 光合成 ¹⁴CO₂ 固定について

光合成による ¹⁴CO₂ 固定速度を 80% エタノール可溶画分と不溶画分について調べた。その結果 Fig. 2 に示すように, アルコール可溶画分への ¹⁴C のとり込み速度は10分までほぼ直線的に増加したが, それ以後は次第に低下した。一方, アルコール不溶画分への ¹⁴C のとり込み速度は30分まで直線的に増加し, それ以後は次第に低下する傾向を示したが, この画分への

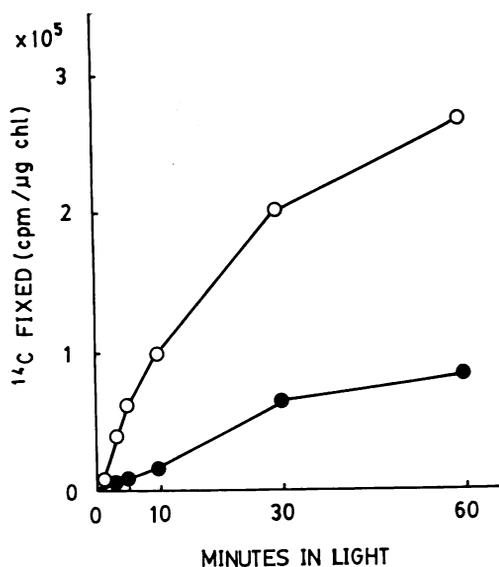


Fig. 2. Time courses of ^{14}C incorporation into ethanol soluble and insoluble fractions under photosynthetic conditions. —○—, ethanol soluble fraction; —●—, ethanol insoluble fraction.

^{14}C のとり込み量は30分以後では全 ^{14}C 固定量の約30%に達した。この画分の成分については詳細に検討しなかったが、大部分の ^{14}C は酸加水分解により容易に可溶化されグルコースが検出されることから、そのほ

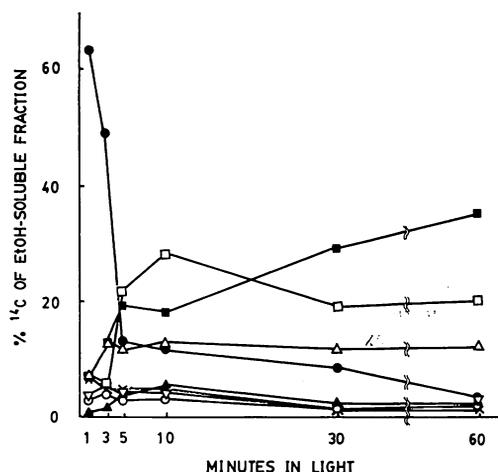


Fig. 3. Distribution of ^{14}C compounds in the ethanol soluble fraction during photosynthesis in *Tetraselmis* sp. —●—, phosphate esters; —■—, mannitol; —□—, oligosaccharide; —○—, aspartic acid; —×—, alanine; —▽—, citric acid; —▲—, glycine and serine; —△—, glutamic acid.

とんどはデンプンからなるものと推定した。

アルコール可溶画分中の ^{14}C -固定産物の分布を調べるため二次元ペーパークロマトグラフィーを行い、 ^{14}C 固定産物の時間的変動を調べた。その結果, Fig. 3 に示すように, 3分までの比較的短時間の光合成では, 3-ホスホグリセリン酸 (PGA) や糖リン酸化合物を含むリン酸化合物に50%以上の ^{14}C がとり込まれ, 時間と共にその割合は急激に減少した。この傾向とは対照的に, マンニットとオリゴ糖への ^{14}C のとり込みは時間と共に急激に増加し, 60分後ではマンニットへの ^{14}C のとり込み量はアルコール可溶画分中の約35%にまで達した。一方, アミノ酸ではアスパラギン酸やセリン, グリシンへのとり込みは少なく, グルタミン酸へのとり込みが顕著であった。グルタミン酸へのとり込みは3分間の光合成で12%に達し, この割合はその後も変わらず60分まで継続した。また, 有機酸では, クエン酸へのとり込みがみられたが, リンゴ酸へのとり込みはほとんどみられなかった。

3. 前照射後の暗 $^{14}\text{CO}_2$ 固定について

緑色植物では, CO_2 を含まない気相中で光照射し, 照射停止直後に $^{14}\text{CO}_2$ を与えると暗所での CO_2 固定能が著しく促進されることが報告されている (MIYACHI 1979)。テトラセルミスにおいても Fig. 4 に示すよう

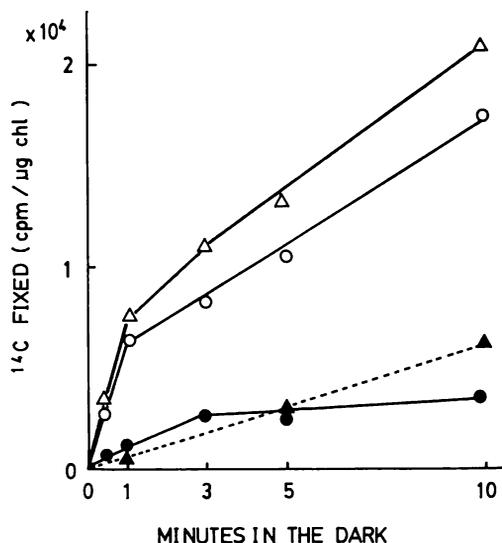


Fig. 4. Time courses of dark $^{14}\text{CO}_2$ fixation. Solid lines, enhanced dark $^{14}\text{CO}_2$ fixation after preillumination; dotted line, dark $^{14}\text{CO}_2$ fixation without preillumination. —△—, —▲—, total radioactivity; —○—, ethanol soluble fraction; —●—, ethanol insoluble fraction.

に、10分間の前照射後の暗¹⁴C固定速度は、前照射なしの完全な暗¹⁴C固定速度に比べて著しく促進された。この促進効果は1分以内の短時間に限られ、それ以後は完全な暗固定の速度とほぼ等しくなった。このうち、アルコール可溶画分へのとり込み量は、藻体の全¹⁴Cとり込み量とほぼ同様の傾向を示したが、アルコール不溶画分への¹⁴Cのとり込みは3分以後はほとんど増加しなかった。

アルコール可溶画分中の¹⁴C固定産物の分布を調べてみると、Fig. 5に示すように、前照射後の暗固定30秒では全体の¹⁴Cの65%がPGAにとり込まれ、時間と共に急激に減少した。これと対照的にクエン酸へのとり込みの割合が顕著に増加し、3分以後はほぼ一定となった。このほかアスパラギン酸やグルタミン酸へのとり込みもクエン酸の増加に遅れて15%前後のとり込みがみられた。

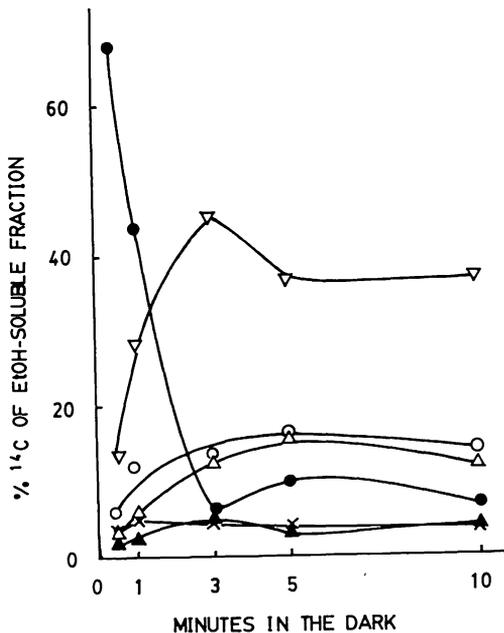


Fig. 5. Distribution of ¹⁴C compounds in the ethanol soluble fraction during light enhanced dark ¹⁴CO₂ fixation. —●—, 3-phosphoglyceric acid; —○—, aspartic acid; —×—, alanine; —△—, glutamic acid; —▽—, citric acid; —▲—, unidentified compound.

4. 炭素代謝に関与する酵素について:

CO₂固定に関与する酵素として RuBP カルボキシルラーゼと PEP カルボキシルラーゼの検出を試みた。その結果 RuBP カルボキシルラーゼ活性は、PEP カルボ

Table 1. Activities of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxylase in *Tetraselmis* sp.

Enzymes	Enzyme activity (¹⁴ CO ₂ fixed, cpm/min/mg protein)
RuBP Carboxylase	3733
PEP Carboxylase	839

Table 2. Detection of enzymes seeming to participate in the metabolic pathway of mannitol and starch in *Tetraselmis* sp.

Enzymes	Activity
Ribulose-5-phosphate kinase ¹	18.2
Fructose-1,6-bisphosphate aldolase ²	0.17
Fructose-1,6-bisphosphatase ¹	28.0
Mannitol-1-phosphate dehydrogenase ³	0
Mannitol-1-phosphatase ¹	18.4
Phosphorylase ¹	12.3
Amylase ⁴	2.3

1 ΔO. D. at 530 nm/min/mg protein

2 ΔO. D. at 340 nm/min/mg protein

3 units/min/mg protein

4 Inorganic phosphate liberated μg/min/mg protein

キシルラーゼ活性に比べて約 4.4 倍高い値が検出された (Table 1)。このほか炭素還元回路に関与する酵素として、FBP アルドラーゼ、FBP ホスファターゼおよび Ru5P キナーゼについて調べた結果いずれの酵素活性も検出された (Table 2)。

また、マンニット合成に関与する酵素として M1P 脱水素酵素と M1P ホスファターゼについて調べた (Table 2)。M1P 脱水素酵素活性はフルクトース-6-リン酸の還元反応および M1P の酸化反応の両反応について検討したが、いずれの場合にも活性を検出することはできなかった。また、フルクトースおよびマンニットの酸化還元酵素についても検討したがいずれも検出できなかった。しかし、M1P ホスファターゼ活性は高い活性が検出された (Table 2)。この酵素活性の最適 pH は 7 にあり (Fig. 6)、この pH において基質特異性を調べてみると、粗酵素の段階でも M1P に対し極めて特異性が高いことが示された (Table 3)。

このほかデンプンの分解反応に関与する酵素としてホスホリラーゼとアミラーゼについて調べた結果、両酵素とも存在することが明らかになった (Table 2)。

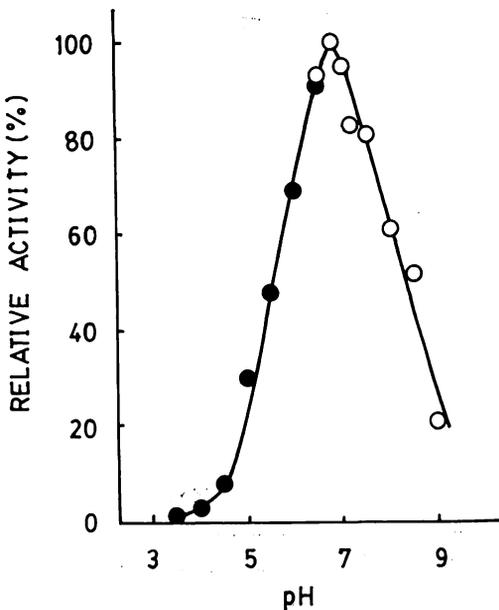


Fig. 6. Effect of pH on the mannitol-1-phosphatase activity of *Tetraselmis* sp. Assay conditions are as described in the text, except for variation in the buffer used. —●—, acetate buffer; —○—, Tris-acetate buffer.

Table 3. Substrate specificity of the mannitol-1-phosphatase of *Tetraselmis* sp.

Substrate	Inorganic phosphate liberated ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$ protein)
Mannitol-1-phosphate	6.0
Glucose-1-phosphate	0
Glucose-6-phosphate	0
Fructose-6-phosphate	0.5
Fructose-1,6-bisphosphate	1.1
Glycerate-3-phosphate	0
<i>p</i> -Nitrophenylphosphate	0

Reaction mixtures were incubated for 5 min under standard conditions as described in the text, except that mannitol-1-phosphate at a concentration of $10 \mu\text{moles}$ in 1 ml of the reaction mixture was replaced by equimolar amounts of the other phosphates indicated.

考 察

テトラセルミスの1種 (*Tetraselmis* sp.) における光合成 ^{14}C 固定産物の時間的な変動を調べた結果、光合成1分間でアルコール可溶画分中に固定された

^{14}C の65%がPGAや糖リン酸化合物を含むリン酸化合物として検出され、時間と共にその割合は急激に減少し、アスパラギン酸やリンゴ酸など C_4 ジカルボン酸へのとり込みは非常に僅かであった (Fig. 3)。この結果は、炭素還元回路により CO_2 固定を行う C_3 植物にみられる結果とよく類似している。

一方、*Chlorella* や *Anacystis* などの藻類やホウレンソウなどの C_3 植物では、 CO_2 を含まない条件下で前照射を行い、消光直後に $^{14}\text{CO}_2$ を与えると暗 $^{14}\text{CO}_2$ 固定能の著しい促進があり、初期 ^{14}C 固定産物としてPGAが検出され、一方 C_4 ジカルボン酸回路をもつ C_4 植物では、この効果によりアスパラギン酸やリンゴ酸が初期 ^{14}C 固定産物として検出されることが報告されている (HOGETSU and MIYACHI 1970, MIYACHI 1979)。テトラセルミスでは、前照射後の暗 $^{14}\text{CO}_2$ 固定30秒で全 ^{14}C 固定量の70%がPGAにとり込まれた (Fig. 5)。これらの結果から、テトラセルミスは炭素還元回路による C_3 植物型の CO_2 固定を行っているものと推定される。さらにこのことは、RuBPカルボキシラーゼ活性がPEPカルボキシラーゼ活性に比べてはるかに高く、炭素還元回路に関与するFBPアルドラーゼ、FBPホスファターゼ、Ru5Pキナーゼなども十分高い活性が検出されたこと (Table 2, 3) などからも裏付けられる。

光合成貯蔵性産物については、光合成の時間と共にマンニットやアルコール不溶画分への ^{14}C のとり込みが顕著に増加すること (Figs. 2, 3) から、マンニットやデンプンが貯蔵性物質となっているものと思われる。このことはCRAIGIE (1966) やKREMER (1975) らの結果とも一致している。テトラセルミスにおける多量のマンニットの蓄積は、KIRST (1975) やHELLEBÜST (1976) らの報告にあるように浸透圧の調節に関与しているほか、呼吸基質や多糖合成への一時的貯蔵物質となっているものと考えられる。マンニットの生合成経路については、今回M1P脱水素酵素活性の検出には成功しなかったが、M1Pホスファターゼの高い活性が認められたことから、褐藻 (YAMAGUCHI *et al.* 1969, IKAWA *et al.* 1972) と同じくフルクトース-6-リン酸→M1P→マンニットの経路で行われているものと考えられるが、詳細については今後さらに検討が必要である。このほかテトラセルミスではオリゴ糖への ^{14}C のとり込みもマンニットについて多く、光合成30分以後では約20%で一定の割合になっている。このオリゴ糖についてはまだ詳しく検討していないが、比較的早い時間に一定値に達することからデン

ブシ合成の中間体となっている可能性も考えられる。また、デンプン代謝についても十分検討していないが、ホスホリラーゼやアミラーゼが存在することから、高等植物と同様これらの酵素によって分解利用されているものと考えられる。

一般に高等植物や *Chlorella* などの緑藻および海藻 (KAREKAR and JOSHI 1973), らん藻 *Anacystis* (MIYACHI and OKABE 1976) などにおいては、光合成により生成されるアミノ酸はセリン, グリシン, アスパラギン酸, アラニンなどが多く, グルタミン酸の生成はあまりみられない。テトラセルミスの1種では光合成によるグルタミン酸への¹⁴Cのとり込みが特徴的であった (Fig. 3)。これは CRAIGIE *et al.* (1966) による *Tetraselmis* sp. の2時間の光合成の結果とよく似ている。テトラセルミスの1種ではグルタミン酸のほかクエン酸への¹⁴Cのとり込みもみられ (Fig. 3), とくに前照射後の暗 CO₂ 固定では顕著であった (Fig. 5)。この前照射後の暗 CO₂ 固定の結果は *Chlorella* などの結果 (MIYACHI 1979) とは大きく異なるものであり, テトラセルミスには *Chlorella* とは異なった炭素代謝の制御機構が存在するものと考えられる。

本研究に用いた藻株のご分譲をいただき, 終始有益なご助言を賜った筑波大学生物科学系千原光雄教授に深く感謝の意を表する。

引用文献

- ALLEN, R. J. L. 1940. The estimation of phosphorous. *Biochem. J.* 34: 858-865.
- BENSON, A. A., BASSHAM, J. A., CALVIN, M., GOODALE, T. C., HAAS, V. A. and STEPKA, W. 1950. The path of carbon in photosynthesis. V. Paper chromatography and radioautography of the products. *J. Am. Chem. Soc.* 72: 1710-1718.
- 千原光雄・堀 輝三 1970. 最近のブラシノ藻綱の研究 (I). *藻類* 18: 33-42.
- CHRISTENSEN, T. 1962. Alger. In T. W. BÖCHER, M. LANGE and T. SØRENSEN (ed.) *Systematisk Botanik*. Vol. 2, No. 2. Munksgaard, Copenhagen: 178.
- CRAIGIE, J. S., McLACHLAN, J., MAJAK, W., ACKMAN, R. G. and TOCHER, C. S. 1966. Photosynthesis in algae II. Green algae with special reference to *Dunaliella* spp. and *Tetraselmis* spp. *Can. J. Bot.* 44: 1247-1254.
- HELLEBUST, J. A. 1976. Effect of salinity on photosynthesis and mannitol synthesis in the green flagellae *Platymonas suecica*. *Can. J. Bot.* 54: 1735-1741.
- HOGETSU, D. and MIYACHI, S. 1970. Effect of oxygen on the light-enhanced dark carbon dioxide fixation in *Chlorella* cells. *Plant Physiol.* 45: 178-182.
- 堀 輝三・千原光雄 1970. 最近のブラシノ藻綱の研究 (II). *藻類* 18: 88-95.
- HURWITZ, J. 1962. Phosphoribulokinase. p. 258-261. In S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN (ed.) *Methods in Enzymology*. Vol. 5. Academic Press, New York.
- IKAWA, T., WATANABE, T. and NISIZAWA, K. 1972. Enzymes involved in the last steps of the biosynthesis of mannitol in brown algae. *Plant & Cell Physiol.* 13: 1017-1029.
- IWAMURA, T., NAGAI, H. and ICHIMURA, S. 1970. Improved methods for determining contents of chlorophyll, protein, ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 55: 131-147.
- KAREKAR, M. D. and JOSHI, G. V. 1973. Photosynthetic carbon metabolism in marine algae. *Bot. Mar.* 16: 216-220.
- KIRST, G. O. 1975. Beziehungen zwischen Mannitkonzentration und osmotischer Belastung bei der Brackwasser-alge *Platymonas subcordiformis* HAZEN. *Z. Pflanzenphysiol.* 76: 316-325.
- KREMER, B. P. 1975. ¹⁴CO₂-Fixation by the endosymbiotic alga *Platymonas convolutae* within the Turbellarian *Convoluta roscoffensis*. *Mar. Biol.* 31: 219-226.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. and RANDALL, R. J. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- McLACHLAN, J. 1973. Growth media—marine. In J. R. STEIN (ed.) *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University Press, Cambridge: 25-52.
- MIYACHI, S. and OKABE, K. 1976. Oxygen enhancement of photosynthesis in *Anacystis nidulans* cells. *Plant & Cell Physiol.* 17: 973-986.
- MIYACHI, S. 1979. Light-enhanced dark CO₂ fixation. p. 68-76. In M. GIBBS and E. LATZKO (ed.) *Encyclopedia of Plant Physiology* New series Vol. 6. Photosynthesis II. Photosynthetic carbon metabolism and related processes. Springer-Verlag Berlin.
- NORRIS, E. R., HORI, T. and CHIHARA, M. 1980. Revision of the genus *Tetraselmis* (Class Prasinophyceae). *Bot. Mag. Tokyo* 93: 317-339.

- SIBLEY, J. A. and LEHNINGER, A. L. 1949. Determination of aldolase in animal tissues. *J. Biol. Chem.* 177: 859-872.
- SLACK, C. R. and HATCH, M. D. 1967. Comparative studies on the activity of carboxylase and other enzymes in relation to the new pathways of photosynthetic carbon dioxide fixation in tropical grasses. *Biochem. J.* 103: 660-665.
- SUGIYAMA, T., MATSUMOTO, C., AKAZAWA, T. and MIYACHI, S. 1969. Structure and function of chloroplast proteins VII. Ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase of *Chlorella ellipsoidea*. *Arch. Biochem. Biophys.* 129: 597-602.
- SUZUKI, H. 1974. Starch-type polysaccharide and mannitol in *Platymonas*. *Phytochemistry* 13: 1159-1160.
- WANKA, F., JOPPEN, M. J. and KUYPER, C. H. M. A. 1970. Starch-degrading enzymes in synchronous cultures of *Chlorella*. *Z. Pflanzenphysiol.* 62: 146-157.
- YAMAGUCHI, T., IKAWA, T. and NISIZAWA, K. 1969. Pathway of mannitol formation during photosynthesis in brown algae. *Plant & Cell Physiol.* 10: 425-440.

新刊紹介

ペレストenko, L. P. 1980. ビヨトル大帝湾の海藻 (Перестенко, Л. П. Водоросли залива Петра Великого <Наука> Ленинград, 1980), 232 頁, 404 図, (日本での購入価格は約 4,500 円)

本誌 27(2): 104, 28(1): 28 でも紹介したようにソ連科学アカデミー・コマロフ植物研究所 (レニングラード) の海藻学研究室では最近極東地方の海藻の分類に力を注いでおり, ビノグラドーフ博士による緑藻の著書に続き, 今回, ペレストenko 博士によるビヨトル大帝湾の海藻と題する著書が刊行された。

ビヨトル大帝湾はウラジオストックを中心にいくつかの湾を含む広い海域で, その地理的位置からみて, ソ連邦日本海沿岸の海藻を知る上で重要な地域であり, また海洋生物の研究所を設けられていることなどから従来よりよく調査されてきた沿岸でもある。また, 同時に, 舟橋 (1966, 本誌 14: 127-145) によって述べられたように日本の海藻フロラとの共通性も大きいことなどから, 本書は我々にとっても重要な資料となる。

この仕事は主として1965年著者自身の調査採集, 1965, 1966年に動物研究所が行ったウラジオストック南方のポシエタ湾での調査で持帰った標本, E. S. Zinova 等による1920~30年代の採集品などによって行われている。

内容は分類と日本海沿岸の植生概要の項に分れているが力点は分類におかれている。まず, 分類の項では紅藻, 褐藻, 緑藻の順で計65科, 161属, 225種について記載し巻末に図を与えている。この中で次の8新種, 1新品種が記載された。紅藻5種 (*Porphyra inaequicrassa*, *Hollenbergia asiatica*, *Tokidaea hirta*, *Rhodomela munita*, *Laurencia saitoi*), 褐藻2種 (*Climacosorus pacificus*, *Ralfsia longicellularis*), 緑藻1品種 (*Enteromorpha clathrata* subsp. *asiatica* f. *leptoclada*)。沿岸植生の項は日本海沿岸の潮間帯, 亜潮間帯の主要な帯状分布を中心に次の6細目に分けて述べている。1. 潮間帯の帯状分布, 2. ビヨトル大帝湾潮間帯の海藻群落と分布, 3. ポシエタ湾潮間帯の海藻群落, 4. 亜潮間帯の帯状分布, 5. ビヨトル大帝湾の亜潮間帯海藻群落と分布, 6. ポシエタ湾の亜潮間帯海藻群落。これら亜潮間帯海藻群落ではアマモ, スガモなどの海産植物の群落についても詳述されている。ソ連の研究報告には地図が入っていないものが多いが, 本書もその例に洩れず一葉の地図も入っていない。我々外国人にとってはこの点が著しく不便である。

(小樽商大 山田家正)

培養した *Synedra* 属 2 種における殻長の減少

斉藤 昭二

神奈川県水道局谷ヶ原浄水場 (220-01 津久井郡城山町川尻 842)

SAITO, S. Decrease in cell length in two species of *Synedra* (Bacillariophyceae) in laboratory culture. Jap. J. Phycol. 29: 197-200.

Decrease in cell length in two species of *Synedra* were examined. Five clones of *Synedra acus* with different cell lengths and a clone of *S. ulna* var. *danica*, isolated from Sagami Reservoir, were cultured for 645 days by transferring them into filtered reservoir water every 10 days. The average rate of cell length decrease was 10.3-12.5 μm per 100 days in *S. acus* and 19.7 μm per 100 days in *S. ulna* var. *danica* during the initial 308 days. Afterwards extremely small cells, which did not follow the rate of decrease, were increasingly observed in all the cultures except the No. 5 clone of *S. acus*. Numerous abnormal cells curved in the central region of the frustule were observed in *S. acus* near the end of the culture period. It is suggested that in some cases two or more different populations in the same species may possibly be distinguished when the seasonal dynamics of phytoplankton populations in Sagami are discussed.

Key Index Words: Bacillariophyceae; cell length; culture; decrease; *Synedra acus*; *Synedra ulna* var. *danica*.

Shoji Saito, Tanigahara Purification Plant, Kanagawa prefectural Water Works Bureau, Kawashiri 842, Shiroyama-cho, Tsukui, Kanagawa, 220-01 Japan.

斉藤・日露野(1980)は、相模湖に出現する *Synedra acus* KÜTZ. を相互に関連のない2つの個体群、すなわち 200 μm 以上の大型と 200 μm 以下の小型に区別し、前者は4~6月頃、後者は5月以後秋季に到るまで出現することを明らかにした。しかし、小型細胞の増加は大型よりも少し遅れてあらわれる年が多く、その原因は大型が小型化するためとも考えられた。そこで、その可能性を検討するために、相模湖水から分離した *S. acus* 及び *S. ulna* var. *danica* (KÜTZ.) GRUN. を645日間継代培養し、縮小化に関する観察を行ったので、その結果を報告する。

材料と方法

S. acus 及び *S. ulna* var. *danica* は、いずれも相模湖水から分離したもので、分離後1年以内の異なる保存株の中から、それぞれ1細胞を再分離し培養実験に用いた。*S. acus* は殻長の異なる No. 1~No. 5の5株(すなわち No. 1 から順に 233, 193, 176, 153, 133 μm) を、*S. ulna* var. *danica* は殻長 345 μm の1株を用いた。

培養は、12時間明期(蛍光灯、5000-7000 lux)、12時間暗期のサイクルで、20°C の恒温室内で行った。培養液は、実験開始から100日目頃までは相模湖放流水(浄水場原水)を、それ以後は水質が比較的安定な流入水(桂川の水)をメンブランフィルター(ミリポア HA, 孔径 0.45 μm) でろ過して用いた。なお、この培養液を用いた場合の最終到達濃度は、他の実験で得た値から推定すると、*S. acus* では20000~40000 cells/ml, *S. ulna* var. *danica* では7000~10000 cells/ml 程であろう。植え継ぎには10 ml の培養液を滅菌したふたつきのバイレックス試験管(内径 18 mm)に取り、そこへ増加した *Synedra* を含む培養液をメスピペットで、*S. acus* では0.4 ml, *S. ulna* var. *danica* では1 ml 接種した。植え継ぎは、*S. acus* では10日及び20日おき、*S. ulna* var. *danica* では10日おきに行った。

殻長の計測は20日おきに行い、植え継ぎ用の細胞をスライドグラス上に取り、光学顕微鏡で接眼マイクロメーター(10 mm 100等分)を用い、*S. acus* は400倍、*S. ulna* var. *danica* は100倍の下で、それぞれ30~50細胞について計測した。

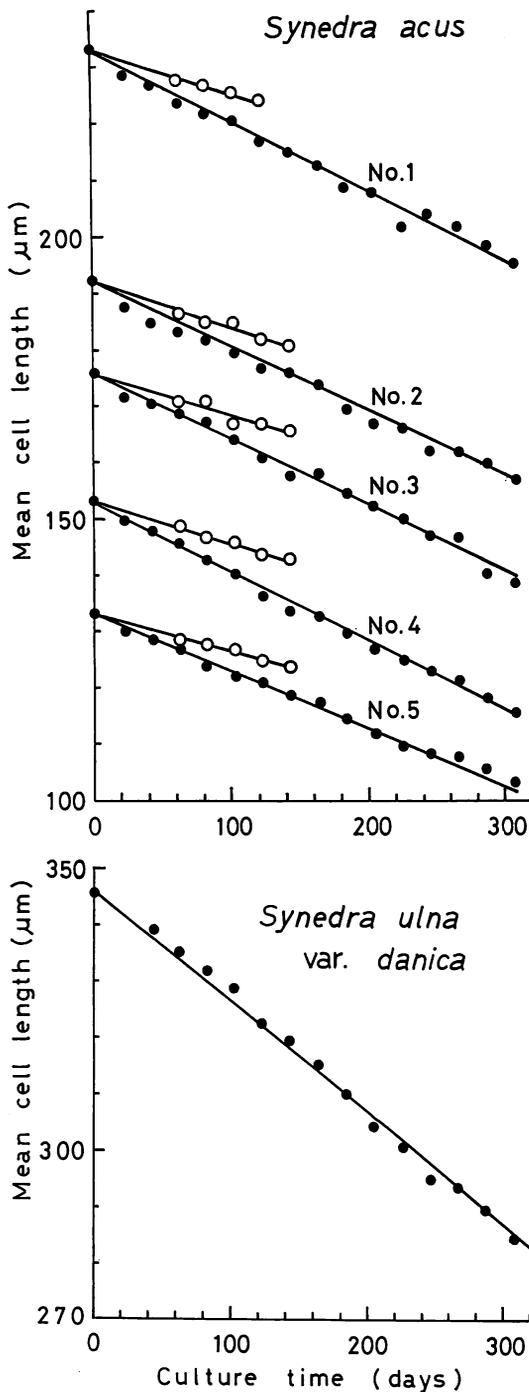


Fig. 1. Decrease in cell length in five clones of *Synedra acus* and a clone of *S. ulna* var. *danica* in culture when transferred into new media every 10 days (solid circles) or every 20 days (open circles).

Synedra 属の同定は小出 (1971) に従った。なお、斉藤・日露野 (1980) の中で、*S. ulna* としたのは *S. ulna* var. *danica* の誤りである。

結 果

Fig. 1 は、実験開始後 308 日間の *S. acus* および *S. ulna* var. *danica* に見られた殻長の減少を示す。10 日おきに植え継いだ場合、*S. acus* における 100 日当りの殻長減少は、No. 1 株から No. 5 株まで順に平均 12.5, 11.4, 11.7, 12.2, 10.3 μm となり、いずれも近い値を示した。*S. ulna* var. *danica* では、100 日当りの殻長減少は平均 19.7 μm となり、*S. acus* より大きかった。一方、20 日おきに植え継いだ場合には、100 日当りの縮小率は *S. acus* では No. 1 株から No. 5 株まで順に 8.1, 8.1, 7.7, 7.4, 6.6 μm となり、10 日おきに植え継いだ場合に比べて低い値であった。なお、20 日おきの植え継ぎでは枯死する細胞が多かったので、140 日で実験は中止した。

Fig. 2 は、*S. acus* No. 1 株と *S. ulna* var. *danica* の培養で 308 日後及び 577 日後における殻長分布を示す。*S. acus* No. 1 株の 308 日後における 150~155 μm の細胞や、*S. ulna* var. *danica* の 577 日後における 140 μm 前後の細胞は、Fig. 1 に示した培養細胞の殻長範囲と比較すると、いずれの場合も著しく小型である。このような著しく小型の細胞は、*S. acus* の No.

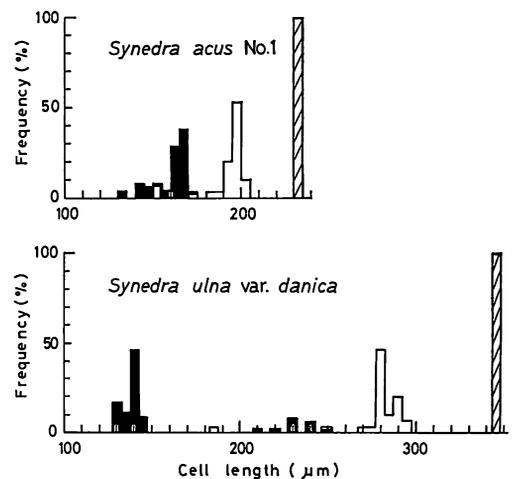


Fig. 2. Comparison of the distribution of cell lengths of *Synedra acus* (clone No. 1) and *S. ulna* var. *danica* at the start (hatched histograms), 308 days (open histograms) and 577 days (solid histograms) of growth.

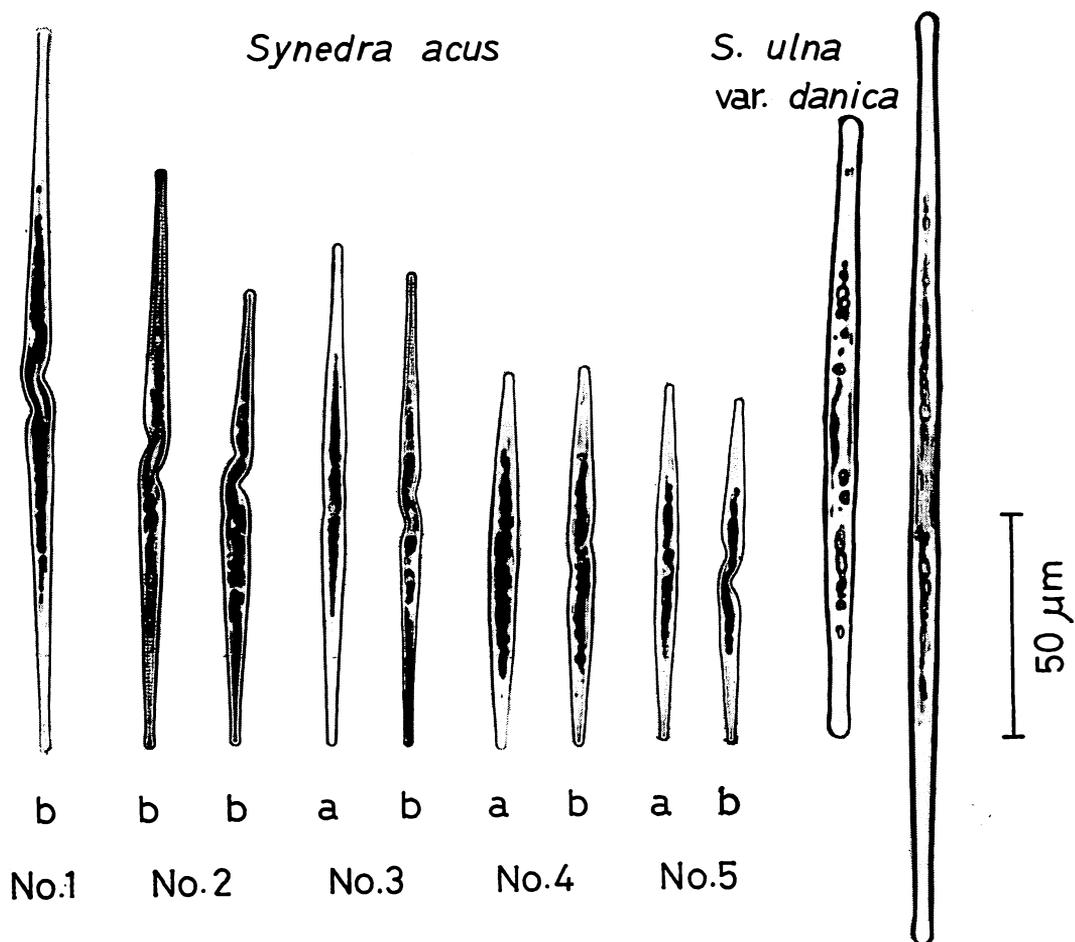


Fig. 3. Comparisons of the normal and abnormal cells seen in five clones of *Synedra acus* after 645 days of growth. a: normal cell, b: abnormal cell. A remarkably short cell and a long cell of *S. ulna* var. *danica* after 645 days of growth are also showed in the right.

5株を除いてすべての株で出現したが、その割合は577日後に *S. ulna* var. *danica* では約80%と多く、*S. acus* ではNo. 1株が約25%、No. 3株が約10%、その他の株では5%以下であった。なお、Fig. 1で308日以後の結果を記入しなかったのは、このような小型細胞の割合が増え始めたからである。

Fig. 3は、*S. acus* の培養で645日後に見られた異常細胞の写真である。どの株においても中央部が曲っている。645日後のこのような異常細胞の割合は *S. acus* のNo. 1株からNo. 5株まで順に100, 96, 62, 72, 56%であった。*S. ulna* var. *danica* の培養では形態上の異常は見られなかった。

考 察

珪藻類の細胞分裂に伴う細胞縮小化の実験では、その結果をHOSTETTER and HOSHAW (1972) のように細胞分裂回数当りの縮小率として表示するのが適当と思われるが、本培養実験ではそのような表示するための資料をとるのは技術的に困難であった。しかし、*S. acus* 及び *S. ulna* var. *danica* を用いた他の実験から推定した植え込み時と植え継ぎ時の濃度から、10日間あたりの分裂回数は *S. acus* で4~6回、*S. ulna* var. *danica* で4~5回程度であろう。従って *S. acus* と *S. ulna* var. *danica* の縮小率のちがいは、細胞分裂回数のちがいによるのではなく、種特有のものと考えられる。

珪藻類の細胞分裂に伴う縮小化のメカニズムについては、まだ十分な説明がされておらず (ROUND 1973), 本実験結果からも言及できない。しかし, 300 日目までの直線的な殻長の縮小経過からみて, *S. acus* 及び *S. ulna* var. *danica* は細胞分裂に伴う縮小化が行われるものと考えられる。一方, *S. ulna* var. *danica* で顕著にみられた著しく小型の細胞は, 細胞分裂に伴って必ず起る縮小化とは別の急激な縮小化によって出現してきたものと思われる。このような著しい小型細胞の出現は, *Asterionella formosa* や *Fragilaria crotonensis* などを継代培養しても普通にみられる現象である。本培養実験に用いた *Synedra* 属 2 種については, 以上の 2 通りの縮小化があるようである。

齊藤・日露野 (1980) は, 相模湖における *S. acus* 個体群を 200 μm 以上の大型細胞とそれ以下の小型細胞に区別し, 大型が 5~6 月に, 小型が 6 月以降に増加する傾向があることを明らかにした。例えば, 1977 年には 220~260 μm の大型が 4~6 月に増加し, 120~180 μm の小型が 6 月と 7~8 月に大増加した。1978 年には, 200~270 μm の大型が 5~6 月上旬に, 110~140 μm の小型が 5 月下旬~6 月に大増加した。もし大型細胞の縮小化によって小型細胞が出現したと仮定すると, 上記の急激な縮小化によるとしか考えられない。その場合, 相模湖においては大型は活性が低下して数が減少し, 縮小化した個体群は活性が高く大増加したことになる。しかし, 本培養実験において栄養が欠乏した古い培養液中での細胞の活性状態を顕微鏡で観察しても両者であまり差がみられなかった点

や, それらを新しい培養液に植え継いだ場合, 小型ばかりが著しく増加したこともなかった点や, 相模湖では小型は大増加する前の春季はじめ頃から少数ながら存在していた点などを考えあわせると, 両者は少なくとも大増加する時期においては別の個体群と考えられる。

植物プランクトンの季節的消長については, 種類単位での計数に基づいた調査が慣習化している。しかし, その機構解明に当っては, 同種間でも個体群を区別して取り扱うことが必要な場合もあることをこれらの結果は示唆するものであろう。

本稿の御校閲を賜った東京水産大学, 有賀祐勝助教授, 珪藻類の培養法を御指導頂いた神奈川県水道局, 有井鈴江技師に深く感謝申し上げます。

引用文献

- HOSTETTER, H.P. and HOSHAW, R.W. 1972. Asexual developmental patterns of the diatom *Stauroneis anceps* in culture. J. Phycol. 8: 289-296.
- 小出悟郎 1971. 浮遊性珪藻 *Synedra* の増殖傾向ならびに形態の変異. 日本理生学誌 7: 1-9.
- ROUND, F.E. 1973. The problem of reduction of cell size during diatom cell division. Nova Hedwigia 23: 291-303.
- 齊藤昭二・日露野昭好 1980. 谷ヶ原浄水場における *Synedra* 属による過閉塞の特徴. 用水と廃水 22: 43-48.

日本産コケ付着ケイソウ(4)

安藤 一 男

埼玉県立豊岡高等学校 (358 入間市豊岡 1-15-1)

ANDO, K. 1981. Moss diatoms in Japan (4). Jap. J. Phycol. 29: 201-207.

In the present paper, six moss diatoms collected from various localities in Japan are discussed from the taxonomical and autoecological viewpoint. These are *Terpsinoe musica*, *Diatomella balfouriana*, *Navicula hambergii*, *Pinnularia intermedia*, *P. obscura* and *Amphora normanii*. The fine structure of *Terpsinoe musica* is studied using scanning electron microscopy.

Key Index Words: *Amphora normanii*; *Diatomella balfouriana*; moss diatoms; *Navicula hambergii*; *Pinnularia intermedia*; *Pinnularia obscura*; taxonomy; *Terpsinoe musica*.

Kazuo Ando, Toyooka Senior High School, Toyooka, Iruma-shi, Saitama-ken, 358 Japan.

(28) *Terpsinoe musica* EHR.; HUST. Kies. 1: 898. f. 540. 1927-1930. (Figs. 1-6. and 7-9)

HUSTEDTによると、縦軸約35—250 μm、横軸25—50 μm となっているが、本邦産の個体の測定値は縦軸109—128 μm、横軸36—47 μm であり、記載されているような大型の個体は見出せなかった。殻面を外側から見た電顕像を Figs. 2, 5, 6 に示したが、殻壁は、胞紋の底が単孔をもつ師板となっている偽小箱 (pseudolocus) 構造をしていることがわかる。この構造は CHIA-WEI and YOUNG-MENG (1977) が示した *Hydrosera triquetra* の殻壁構造と同様のものである。また、殻の中央部近くの1つの胞紋の底は唇状の形態を示す (Fig. 5) が、これは唇状突起の外部への開口である。これを内側から見た電顕像が Fig. 9 であるが、当種の唇状突起はまゆ形状に突出し、その中央部には斜めに走る裂口が存在する。Figs. 1, 3, 4, 8 を比較すると、光顕下で横軸にはほぼ平行に見える肋線は、膜状の偽隔壁があるためであり、この偽隔壁の先端は彎曲していることがわかる。

HUSTEDT (1937) は西ジャバで、流水中の石や、水が滴る壁面のコケから当種を見出し、その生態性について「当種は水でうるおされている岩面を特に好んで生育する。このためその生態性は多分 *Hydrosera triquetra* や *Biddulphia pangeroni* と類似するも

のである」と記している。今回の調査では、本土ではまったく見出せなかったにもかかわらず、小笠原諸島ではコケ付着の状態ではしばしば豊富に見られた。当種に関する記録としては、セイロン (SKVORTZOW 1930) フィリピンのルソン島やハワイのオアフ島、カウアイ島 (HUSTEDT 1942)、シナイ半島 (HUSTEDT 1949)、カリブ海のグアドループ島 (MANGUIN 1952) などがある。このうちシナイ半島の記録はハリガネゴケから見出されたものである。これらのことから判断すると、当種は亜熱帯ないし熱帯地域に分布し、また、コケ付着のような状態でもよく生育するものと思えた。——東京都小笠原〔湿岩上のオオサワゴケ *Philonotis turneriana* (SCHWAEGR.) MITT.〕。

(29) *Diatomella balfouriana* GREV.; HUST. Bacill. 214. f. 312. 1930. (Figs. 10, 11, 15)

中間帯は Fig. 10 のように穴が3つあいている隔壁をもつのが当種の特徴で、このため帯面観では中間帯の部分は Fig. 15 のような独特の模様を示す。縦溝は糸状で、中心孔は互に離れている。

FOGED (1959) は貧塩—不定、pH—不定、好気性で、泉や滝など急速に流れ、よく換気されている水域の指標種であるとし、HUSTEDT (1962) は「湿ったコケや水でうるおされている岩上に広く分布するが、石灰岩上には存在しないようにみえる」と記している。また、PATRICK and REIMER (1966) は「山岳地域でし

ばしば見られ、冷水を好む」と記している。本邦では HUSTEDT (1927) によって青木湖から、岩城 (1956, 1968) によって豊平川と五十鈴川から、奥野・黒沢 (1959) によって三段峡からすでに報告されている。これらのうち、特に三段峡にあつては、シノブゴケ *Thuidium yezoanum*, オオトラノオゴケ *Thamnium sandei*, マルバハネゴケ *Plagiochila ovalifolia*, オオバチ ヨウチンゴケ *Mnium maximowiczii*, ジャゴケ *Conocephalum conicum* からの優勢な出現が報告されている。本調査でも次に示すように多くの地域のコケから見出されたが、特に、ホソバミズゼニゴケとホウオウゴケの仲間から見出されることが多かった。好気性で、コケに付着した状態でもよく繁殖し得るものと思ふ。——埼玉県十文字峠〔濡岩上のツボゴケ *Plagiomnium cuspidatum* (HEDW.) KOP.〕, 埼玉県麻生〔湿岩上のアサイトゴケ *Pseudoleskeopsis japonica* (SULL. et LESQ.) IWATS.〕, 埼玉県中津峡〔濡岩上のオオバチ ヨウチンゴケ *Plagiomnium vesicatum* (BESCH.) KOP., 水が滴り落ちている岩面のホソバミズゼニゴケ *Pellia endiviaefolia* (DICKS.) DUM., 湿土上のジャゴケ *Conocephalum conicum* (L.) DUM., および、湿岩上のチビッコホウオウゴケ *Fissidens minutulus* SULL.〕, 埼玉県名郷〔濡岩上のジャゴケ〕, 埼玉県久須美〔濡岩上のタチチ ヨウチンゴケ *Orthomniopsis dilatata* (MITT.) NOG.〕, 埼玉県有間谷〔湿土上のジャゴケ, 湿岩上のハネゴケの仲間とナガヒツジゴケ *Brachythecium buchananii* (HOOK.) JAEG.〕, 千葉県三石山〔濡れた泥岩壁のホソバミズゼニゴケ〕, 千葉県清澄山〔湿岩上のシノブゴケ属の一種 *Thuidium* sp.〕, 東京都日原〔濡岩上のコスギゴケ *Pogonatum inflexum* (LINDB.) LAC. とコクシサワゴケ *Philonotis socia* MITT.〕, 神奈川県丹沢山〔空中に垂れ下っている濡れたジャゴケと水が流れている岩面のマキノゴケ *Makinoa crispata* (STEPH.) MIYAKE〕, 静岡県船原川沿いの山地〔水が滴る空中に垂れ下っているホソバミズゼニゴケ, 濡岩上のホソバミズゼニゴケとスズゴケ *Forsstroemia trichomitria* (HEDW.) LINDB.〕, 静岡県浄蓮の滝〔水が流れる石垣上のホソホウオウゴケ *Fissidens grandifrons* BRID. var. *planicaulis* (BESCH.) NOG. と、湿土上のシノブゴケの一種〕, 静岡県カニ滝〔水が滴る岩面のコホウオウゴケ *Fissidens adelphinus* BESCH.〕, 静岡県下賀茂〔濡れたコンクリート壁のスズゴケ〕, 静岡県子浦〔濡岩上のコホウオウゴケ, ジャゴケ, チジミクチヒゲゴケ *Trichostomum crispulum* BRUCH

および、カマサワゴケ *Philonotis falcata* (HOOK.) MITT.〕, 静岡県初景滝〔濡岩上のヒメシノブゴケ *Thuidium cymbifolium* (DOZ. et MOLK.) DOZ. et MOLK.〕, 静岡県釜滝〔濡岩上のホソバミズゼニゴケとコホウオウゴケ〕, 静岡県猫越川沿いの山地〔濡岩上のアサイトゴケ〕, 静岡県万城の滝〔湿岩上のホウオウゴケ *Fissidens japonicus* DOZ. et MOLK.〕, 静岡県娑婆羅峠〔湿岩上のタニゴケ *Brachythecium rivulare* B. S. G.〕, 三重県御在所山〔湿岩上のツクシナギゴケ *Eurhynchium polystictum* PAR.〕, 徳島県祖谷溪〔濡岩上のホソバミズゼニゴケ〕。

(30) *Navicula hambergii* HUST. Naturw. Untersuch. d. Sarekgeb. in Schwed.-Lappl. 3: 562. pl. 17, f. 2. 1924; SCHMIDT, Atlas pl. 400. f. 12-15. 1934. (Figs. 12-14)
Synonym *Navicula quadripartita* HUST.

中央の条線が長く伸び、その両側の条線は極めて短いため、殻の中央部は十字形の模様を示すのが当種の特徴である。軸域は披針形であるが、中央部でわずかに狭くなる。当種に類似の種類として *Navicula paanaensis* A. C-E. があるが、当種の殻端はわずかに嘴状に突出するのに対し、*N. paanaensis* のは突出しないこと、および、軸域の形の違いによって区別できる。また、当種は CHOLNOKY (1957) が記載した *Navicula anassae* にも類似する。しかし、当種の条線配列は中央部で粗、殻端で著しく密となるのに対し、*N. anassae* のは中央と殻端で条線配列の粗密にあまり差がないので区別できる。PATRICK and REIMER (1966) や、VANLANDINGHAM (1975) は HUSTEDT (1937) が原記載した *Navicula quadripartita* を *N. hambergii* の Synonym とした。両種の原記載、および、その説明図を比較検討してみると、*N. hambergii* の条線配列の方がわずかに密であるが、このこと以外は相違が認められなかったので VANLANDINGHAM らの見解に従った。

HUSTEDT は当種の生態性について「貧塩性、好気性で、なかでも水辺のコケのマットで特によく生育する。最適 pH 範囲は 7-7.5 である」と記している。また、PATRICK and REIMER も「コケのはえている水辺の岩上を好む」としている。当種に関する報告は本邦からはないようであるが、今回の調査では次に示すような地点でしばしば見られた。コケ付着の状態でも広く分布しているものと思われる。——福島県赤川〔湿土上のツルチ ヨウチンゴケ *Plagiomnium maximoviczii* (LINDB.) KOP.〕, 新潟県湯沢〔湿土上の群類〕,

埼玉県中津峡〔湿岩上のジャゴケ *Conocephalum conicum* (L.) DUM.〕, 千葉県清澄山〔湿岩上のミヤマサナダゴケ *Plagiothecium nemorale* (MITT.) JAEG. と, 乾いた岩上のヒツジゴケの仲間〕, 静岡県婆娑羅峠〔湿岩上のシノブゴケ属の一種 *Thuidium* sp.〕, 静岡県釜滝〔濡岩上のホソバミズゼニゴケ *Pellia endiviaefolia* (DICKS.) DUM.〕, 徳島県祖谷溪〔濡れた木材上のサワゴケ *Philonotis fontana* (HEDW.) BRID.〕。

(31) *Pinnularia intermedia* (LAGST.) Cl. Kgl. Sve. Vet.-Akad. Handl. 27 (3): 80. 1895; PATRICK and REIMER, Diat. U.S. 1: 617. pl. 58. f. 10. 1966. (Figs. 19, 20)

CLEVE は殻形について線状随円形と記しているが, PATRICK & REIMER は, 殻は線形でその殻側は中央でわずかに凹むとしている。本調査で得られた個体の殻形はいずれも線形であった。BOCK (1975) や CLEVE は当種を *Distantes* 節, FOGED (1959) は *Capitatae* 節, PATRICK & REIMER や LUND (1946) は *Divergentes* 節としてそれぞれ扱っている。筆者は次の *P. obscura* とともに *Divergentes* 節に含めるのがよいと考えている。

Foged は当種の生態性を貧塩—不定, pH—不定としている。PETERSEN (1935) はデンマークと東グリーンランドの土壤藻のリストに当種をあげるとともに, この種類はハンガリー, スウェーデン, フィンランド, そして, ノールウェイでも森林土壌中から見出されていると記している。また, LUND は英国の土壤ケイソウを調査して, 当種は最も普通な土壤ケイソウの1つであることを確認している。本邦では福島 (1950) によって埼玉県新河岸川々跡沼から報告されているが, これ以外の記録はないようである。しかし, 本調査では下記に示すように, 主として湿岩上や濡岩上のコケに広く分布していた。また, 乾藻に近い状態のコケからも見出されている。土壌やコケ附着のような環境を特に好む種類と思われる。——埼玉県熊倉山〔湿岩上のミヤマサナダゴケ *Plagiothecium nemorale* (MITT.) JAEG.〕, 埼玉県中津峡〔湿岩上のアサイトゴケ *Pseudoleskeopsis japonica* (SULL. et LESQ.) IWATS. と, 湿岩上のジャゴケ *Conocephalum conicum* (L.) DUM.〕, 埼玉県麻生〔溪流に洗われている岩上のツクシナゴケモドキ *Eurhynchium hians* (HEDW.) S. LAC.〕, 東京都日原〔乾いた岩上の藓類〕, 東京都川苔谷〔溪流の水面上に出ている岩上の藓類〕, 神奈川県丹沢山〔湿岩上のアサイトゴケと, 湿岩上のヨ

コグラハネゴケ *Plagiochila yokogurensis* STEPH.〕, 静岡県船原川沿いの山地〔湿岩上のホソバミズゼニゴケ *Pellia endiviaefolia* (DICKS.) DUM.〕, 静岡県エビ滝付近〔湿岩上のシノブゴケ属の一種 *Thuidium* sp.〕, 静岡県子浦〔乾いた岩上のナメリチョウチンゴケ *Mnium laevinerve* CARD.〕, 静岡県婆娑羅峠〔湿岩上のシノブゴケ属の一種〕。

(32) *Pinnularia obscura* KRASSKE, Hedwigia 72: 117. pl. 3. f. 22. 1932. (Figs. 21-23)

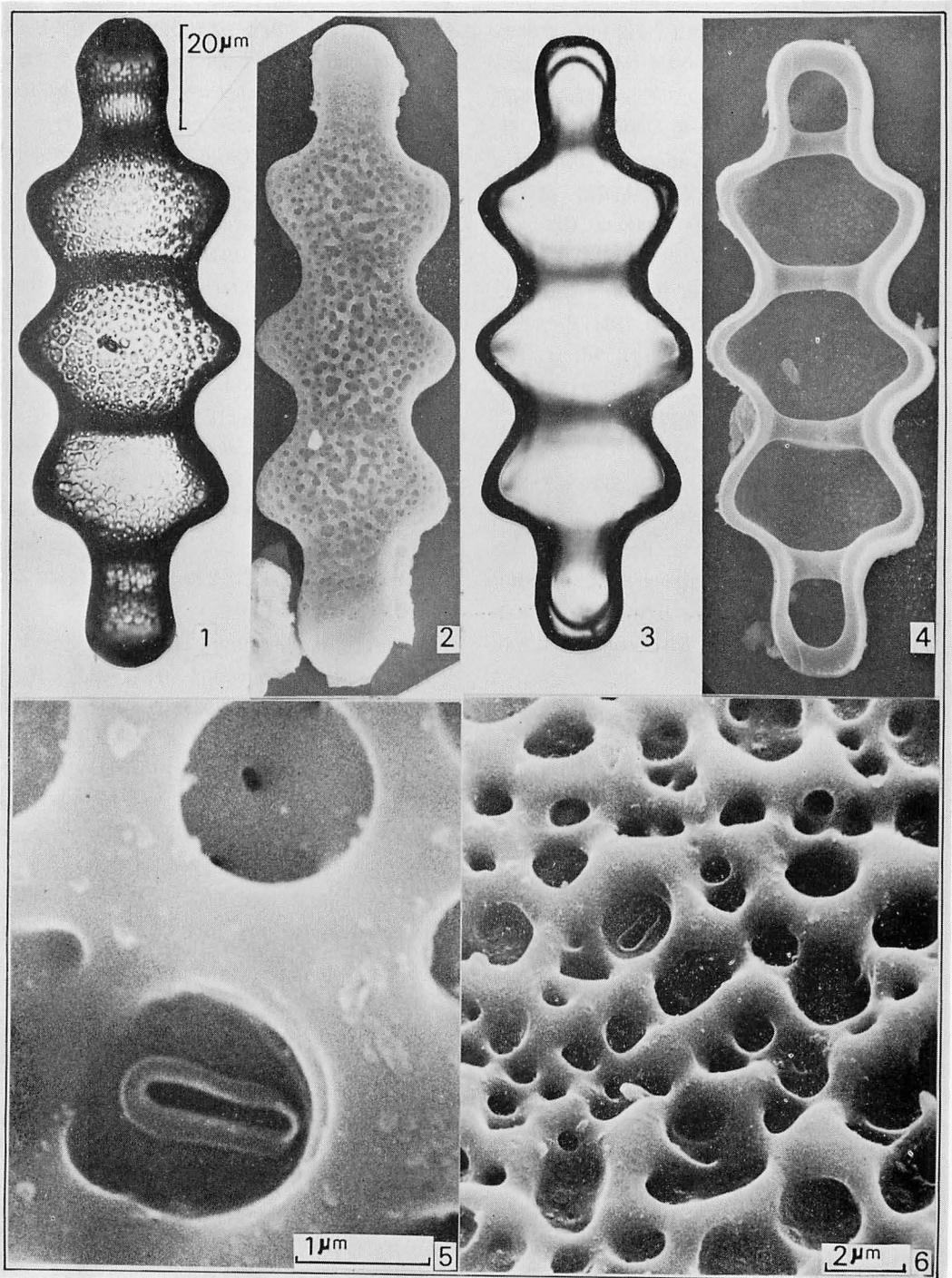
当種は *Pinnularia intermedia* と非常に近い関係がある。この場合, LUND (1946) はこの両者を同一分類群とし, *P. obscura* を *P. intermedia* の中に含めている。しかし, VANLANDINGHAM (1978) は両者をそれぞれ独立の種として扱い, PATRICK and REIMER (1966) は, *P. obscura* の方が小型で条線配列も密であり, また, 殻端の条線は強い逆放射となることで両者は区別できるとしている。筆者が本調査で得られた個体を精査したところ, PATRICK and REIMER の見解に従って, 2つの分類群に識別することができた。

当種は最初アルプス山中の湿った崖のタマゴケ (*Bartramia pomiformis*) から採取され原記載された。その後, PETERSEN (1935) はデンマークと東グリーンランドの土壤藻を調査して当種を見出し, 真土壌性ケイソウとして報告した。HUSTEDT (1957) は水面にあるコケから当種を見出した。その生態性は貧塩—不定, pH—不定としている。本調査では下記の所から見出されたが, その出現量はいずれも少なかった。——神奈川県丹沢山〔濡岩上のアサイトゴケ *Pseudoleskeopsis japonica* (SULL. et LESQ.) IWATS.〕, 静岡県船原川沿いの山地〔水が滴る崖面のジャゴケ *Conocephalum conicum* (L.) DUM.〕, 静岡県下賀茂〔濡れた岩壁面のヤノネゴケ *Bryhnia novae-angliae* (SULL. et LESQ.) GROU〕, 静岡県婆娑羅峠〔湿岩上のシノブゴケ属の一種 *Thuidium* sp.〕。

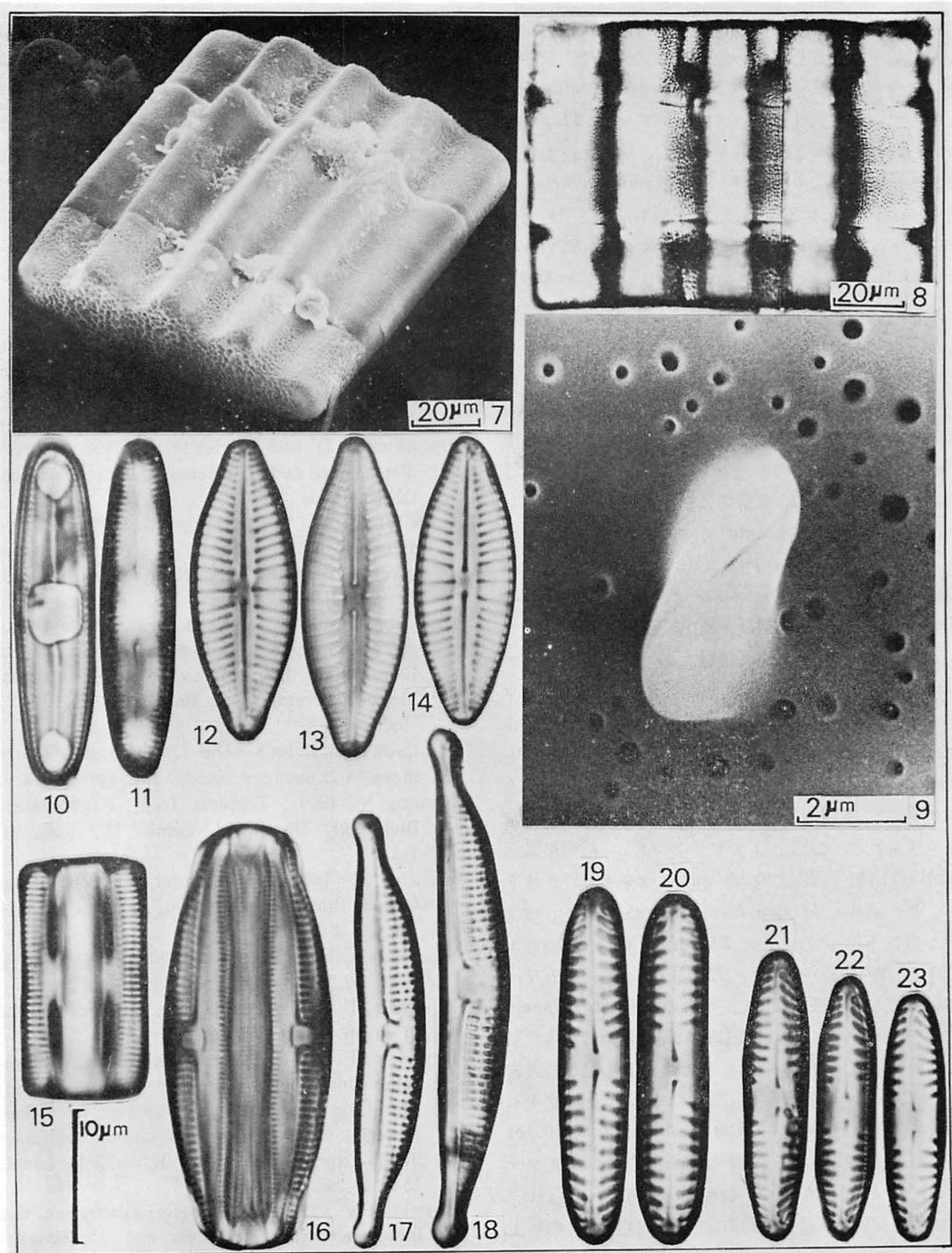
(33) *Amphora normanii* RABH.; HUST. Bacill. 343. f. 630. 1930. (Figs. 16-18)

HUSTEDT は殻長 16—40 μm , 被殻幅 10—14 μm としているが, 本調査では殻長 48 μm , 被殻幅 17 μm ほどの個体も見出されている。

当種の生態性について FOGED (1964) は貧塩—嫌塩, pH—不定性, 主に山岳地域の流水中のコケで見出されるとし, HUSTEDT (1957) は好気性で, 水でうるおされている藓類で特によく生育するとしている。今回の調査でも次に示すように多くの所で見出された



Figs. 1-6. *Terpsinoe musica* EHR.



Figs. 7-9. *Terpsinoe musica* EHR. Figs. 10, 11, 15. *Diatomella balfouriana* GREV. Figs. 12-14. *Navicula hambergii* HUST. Figs. 16-18. *Amphora normanii* RABH. Figs. 19, 20. *Pinnularia intermedia* (LAGST.) CL. Figs. 21-23. *P. obscura* KRASSKE.

が、特に、鐘乳洞中の湿った石灰岩上のコケから豊富に見出されることが多かった。好気性でコケ付着のような環境を特に好むものと思われる。——埼玉県中津峡〔湿岩上のタニゴケ *Brachythecium rivulare* B. S. G. と、濡岩上のオオバチョウチンゴケ *Plagiomnium vesicatum* (BESCH.) KOP.〕、埼玉県麻生〔湿岩上のナガミチョウチンゴケ *Aulacomnium heterostichum* (HEDW.) B. S. G.〕、埼玉県有間谷〔湿岩上のアサイトゴケ *Pseudoleskeopsis japonica* (SULL. et LESQ.) IWATS. と、水が滴る岩面のジャゴケ *Conoccephalum conicum* (L.) DUM.〕、埼玉県久須美〔乾いた岩上のセンボンゴケの仲間と、湿岩上のエダウロコゴケモドキ *Fauriella tenuis* (MITT.) CARD.〕、神奈川県丹沢山〔濡岩上のタチチョウチンゴケ *Orthomniopsis dilatata* (MITT.) NOG. と、湿った倒木上のホンシノブゴケ *Bryonoguchia molkenboeri* (LAC.) IWATS. et INOUE〕、東京都日原〔湿岩上のヒムロゴケ *Pterobryum arbuscula* MITT. と、ヒメヤナギゴケ *Amblystegium serpens* (HEDW.) B. S. G.、水が滴る岩面のホソバミズゼニゴケ *Pellia endiviaefolia* (DICKS.) DUM.〕、千葉県三石山〔濡れた泥岩壁のジャゴケ〕、千葉県清澄山〔濡岩上のチョウチンゴケ *Mnium* sp.〕、静岡県釜滝〔水が流れる石垣のコカヤゴケ *Rhynchostegium pallidifolium* (MITT.) JAEG.〕、静岡県子浦〔濡岩上のコホウオウゴケ *Fissidens adelphinus* BESCH.〕、静岡県娑婆羅峠〔湿岩上のタニゴケ〕、静岡県土肥〔水が滴るコンクリート壁のタニゴケと、湿岩上のアサイトゴケ〕、静岡県猫越川沿いの山地〔濡岩上のホソホウオウゴケと、ナメリチョウチンゴケ *Mnium laevinerve* CARD. と、空気中に垂れ下るシノブゴケ *Thuidium* sp.〕、静岡県エビ滝〔湿岩上のハマキゴケ *Hyophila propagulifera* BROTH.〕、静岡県下賀茂〔湿岩上のハイゴケ *Hypnum plumaeforme* WILS.〕、岐阜県飛騨鐘乳洞〔湿った石灰岩上の蘚類〕、岐阜県関ヶ原鐘乳洞〔湿った石灰岩上の蘚類〕、山口県秋芳洞〔湿った石灰岩上のツボゼニゴケ *Plagiochasma intermedium* LINDENB. et GOTT.〕、山口県大正洞〔湿った石灰岩上のミヤマサナダゴケ *Plagiothecium nemorale* (MITT.) JAEG.〕、徳島県大歩危〔湿岩上の蘚類〕、徳島県祖谷溪〔濡岩上のコツボゴケ *Plagiomnium trichomanes* (MITT.) KOP. と、ホソバミズゼニゴケ〕、福岡県牡鹿鐘乳洞〔湿った石灰岩上のシノブイトゴケ *Floribundaria floribunda* (DOZ. et MOLK.) FL.〕、福岡県千仏鐘乳洞〔水が滴る岩面のハリイシバイゴケ *Molendoa*

sendtneriana (B. S. G.) LIMPR.〕、大分県風連鐘乳洞〔濡れた石灰岩上のトサカホウオウゴケ *Fissidens cristatus* MITT.〕。

終りに、日頃から御指導をいただいている東京学芸大学小林弘教授、一部のコケの同定をしていただいた国立科学博物館井上浩博士、走査型電子顕微鏡の撮影について御援助いただいた日本歯科大学南雲保氏に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- BOCK, W. 1975. Distantes (Pinnularia-Bacillariophyceae) Eine kritische Zusammenstellung. Nachr. Nat. Mus. Stadt Aschaffenburg 83: 1-46.
- BOURRELLY, D. and MANGUIN, E. 1952. Algues d'eau douce de la Guadeloupe et dependences. CNRS, Paris.
- [CHIA-WEI, L. and YOUNG-MENG, C. 1977. The fine structure of the frustule of a centric diatom *Hydrosera triquetra* Wallich. Br. Phycol. J. 12: 203-213.
- CHOLNOKY, B. J. 1957. Neue und seltene Diatomeen aus Afrika 3. Diatomeen aus dem Tugela Flusssystem, hauptsächlich aus den Drakensbergen in Natal. Öst. Bot. Zeitschr. 104: 25-99.
- CHOLNOKY, B. J. 1968. Die Ökologie der Diatomeen in Binnengewässern. J. Cramer, Lehre.
- FOGED, N. 1959. Diatoms from Afghanistan. Biol. Skr. Dan. Vid. Selsk. 11: 1-95. pl. 1-13.
- FOGED, N. 1966. Freshwater Diatoms from Ghana. Biol. Skr. Dan. Vid. Selsk. 15(1): 1-169. pl. 1-25.
- FUKUSHIMA, H. 1950. 埼玉県新河岸川々跡沼の藻類第2報. 医学と生物学 17: 176-178.
- HUSTEDT, F. 1927. Bacillariales aus dem Aokiko in Japan. Arch. Hydrobiol. 18: 155-172.
- HUSTEDT, F. 1937. Systematische und ökologische Untersuchungen über die Diatomeen-Flora von Java, Bali und Sumatra nach dem Material der Deutschen Limnologischen Sunda-Expedition. Arch. Hydrobiol. Suppl. 15: 131-295.
- HUSTEDT, F. 1942. Süßwasser-Diatomeen des indomalayischen Archipels und der Hawaii-Inseln. Internat. Rev. Hydrobiol. 42: 1-252.
- HUSTEDT, F. 1949. Diatomeen von der Sinaihalbinsel und aus dem Libanongebiet. Hydrobiologia 2: 24-55.
- HUSTEDT, F. 1957. Die Diatomeenflora des Flusssystemes der Weser im Gebiet der Hansestadt

- Bremen. Abh. naturw. Ver. Bremen 34: 181-440.
- HUSTEDT, F. 1962. Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz unter Berücksichtigung der übrigen Länder Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete. In Rabenhorsts, L. (ed.) Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz 7: 433-576.
- 岩城住江 1956. 豊平川の珪藻. 藤女子短大紀要 1956: 51-107.
- 岩城住江 1968. 五十鈴川の珪藻. 藻類 16: 21-51.
- LUND, J. W. G. 1946. Observations on soil algae 1. The ecology, size and taxonomy of British soil diatoms. 2. New Phytol. 45: 56-110.
- 奥野春雄・黒沢喜一郎 1959. 三段峡 および 八幡高原の珪藻. 三段峡と八幡高原総合学術調査研究報告 265-275. pl. 1-4.
- PATRICK, R. and REIMER, C. W. 1966. The diatoms of the United States 1. Philadelphia.
- PETERSEN, J. B. 1935. Studies on the Biology and Taxonomy of Soil Algae. Dansk Bot. Arkiv 8: 1-183.
- SKVORTZOW, B. V. 1930. Notes on Ceylon Diatoms 1. Ann. Roy. Bot. Gard. Per. 2: 251-260.
- VANLANDINGHAM, S. L. 1975, 1978. Catalogue of the fossil and recent genera and species of diatoms and their synonyms 5, 7. J. Cramer, Lehre.

千原光雄：中国における藻類研究の現状 (1) Mitsuo CHIHARA: Phycological research activities in China (1)

昭和56年1月半ばから2月初めにかけて、日本学術振興会の御好意と中国科学院 (Academia Sinica) の招きで中国に滞在し、幾つかの研究機関を訪れ、専門を同じくする人達と交流を深める機会を持つことができた。日中両国の国交が昭和47年9月に正常化されて以来、日本からの訪中者、中国からの来訪者あるいは留学生は年々増加の一途を辿っているが、日中間の共同研究のための人物交流は必ずしも盛んとは言いがたい。私達は、かつて多くを学んだ中国について余りにも知らないことが多いといえる。日本学術振興会においては、日中の共同研究について深い関心を持たれ、昭和54年より、中国科学院との間に日中共同研究のための研究者交換制度を発足させ、日本からの研究者の派遣と中国からの訪問者の受入れに努力されている。今回の私の訪中の課題は、中国の藻類研究の現状を視察し、将来の日中間の共同研究のための資を得ることであった。滞在期間が3週間の予定であったので、私は訪問する主な研究機関として次の4つを選んだ。すなわち (1) 国立植物研究所 (北京), (2) 国立海洋研究所 (青島), (3) 国立水生生物研究所 (武漢), (4) 国立華南植物研究所 (広州) である。これらの機関はいずれも中国科学院に所属する。

以下、藻類に関することを中心に、中国における研究活動の現状の一端を報告したい。この小文が日中間の今後の藻学研究に役立てば幸いである。なお、掲載誌の都合上、この小文を幾つかに分割することをお許しを願いたい。

稿を進めるに当たり、訪中の機会を与えて下さった日本学術振興会と中国科学院に厚くお礼を申し上げる。

1. 中国科学院植物研究所 (北京) Institute of Botany, Academia Sinica (Peking) 北京西直門外大街 141 号

この研究所は当初は植物分類研究所として発足したが、その後機構が変り、現在は10研究室、職員数約400名をもつ植物学の総合研究所となっている。それぞれの研究室名と研究者等の数を記すと次のようである。

- 1) 植物分類研究室, 総職員数69名 (内 研究者及び技術者の数60名),
- 2) 古植物研究室, 29名 (23名),
- 3) 植物生態研究室, 45名 (39名),
- 4) 植物化学研究室 40名 (35名),
- 5) 植物形態研究室 21名 (14名),
- 6) 植物細胞研究室 24名 (20名),
- 7) 生物固気研究室 (窒素固定研究室) 25名 (20名),
- 8) 光合成研究室 36名 (25名),
- 9) 植物生理研究室 50名 (45名),
- 10) 植物誌編纂室 7名。



図 1. 白克智氏とアカウキクサより分離した藍藻アナベナの培養。図 2. 藍藻ネンジュモ類の窒素固定の研究に従事する王友珠氏（左）と共同研究者。中国科学院植物研究所にて。

この研究所が植物分類研究所として出発したこと及び現在中国は中国全土の植物誌の完成を目指していることなどのゆえか、上記の研究室中最大のものは植物分類部門である。この研究室はさき出版された中国高等植物図鑑（5巻、1972-1976、各巻1000頁余）の作成の中心的役割を果たしたが、さらに中国産維管束植物のすべてを含む中国植物誌の完成を目指し、他の国立植物研究所、省立研究所及び大学の関係研究者達と共同して研究を進めている。標本資料室は充実し、管理も行き届いている。所蔵標本数は以下のようなものである。標本総数約120万点、標本の種類の内訳（被子植物25,000種、裸子植物700種、シダ植物2,600種、コケ植物2100種）。なお、藻類と菌類の標本はここにはなく、藻類のうち、海藻は国立海洋研究所（青島）、淡水藻は国立水生生物研究所（武漢）、そして菌類は主に国立微生物研究所（北京）にそれぞれ保管される。従って分類を専門とする藻類研究者はここにはいない由である。しかし、藻類を使って光合成や窒素固定の研究を進める二つのグループがいる。一つは水生のシダ植物アカウキクサ（*Azolla*）の葉に内生する藍藻アナベナ（*Anabaena*）の光合成や窒素固定の研究に携わる白克智（K.-Z. Bai）氏と共同研究者のグループ、他の一

つは食用としてよく知られる髮菜（ファツサイ）を含めて、ネンジュモ（*Nostoc*）などの仲間の窒素固定の研究を進める王友珠（F. C. Wang）氏と共同研究者のグループである。白氏はアナベナの分離と培養に成功し、生理学的な面の成果がかなり出始めてきたとのことであり、王氏のグループは蒙古方面から多量に採集してきたファツサイの培養に努力中とのことであった。両氏共に日本の藻学者や植物生理学者との論文別刷の交換を熱心に希望していた。

既によく知られるように、中国は1978年（昭和54年）以降は海外との交流を積極的に進め、研究分野における海外の文献蒐集にも努力を示している。しかし、長期に及んだ戦禍や文革の影響は大きく、必要図書は必ずしも充分ではないとのことである。実際に幾つかの研究所の図書室を見た印象もその通りであった。研究者達の話では、個人の外国の学会への入会や海外からの図書や雑誌の購入は財政的な関係から一般には困難であるという。本会会員の諸氏からの中国研究者への別刷の送付をお願いしたいと思う。

北京では中国科学院植物研究所の匡副所長をはじめ所員の方達に高配をいただいた。お礼申し上げます。

（筑波大学 生物科学系）

総 説

海産緑藻における緑色光吸収色素, その生態的意義と系統的意義*

横 浜 康 継

筑波大学下田臨海実験センター (415 静岡県下田市 5-10-1)

YOKOHAMA, Y. 1981. Green light-absorbing pigments in marine green algae, their ecological and systematic significance. Jap. J. Phycol. 29: 209-222.

In this paper are summarized the results obtained by the present author and his co-workers about the function of siphonaxanthin and its ester siphonein in marine benthic green algae, and the pigment contents of about 50 species of green algae collected from different sites are also reported. The discussion deals with the ecological and systematic significance of the distribution of lutein, loroxanthin, siphonaxanthin and siphonein.

Siphonaxanthin and its ester siphonein were regarded as photosynthetic pigments absorbing green light prevailing in coastal deep waters. The distribution of siphonaxanthin seems to be ecologically significant in the case of the Ulvales, the Cladophorales and the Siphonocladales since it was detected only in the algae collected from deep waters or shaded sites. The distribution of siphonaxanthin and siphonein seems, however, to be systematically significant in the case of the Siphonalean orders, the Codiales, the Derbesiales, the Caulerpales and the Dichotomosiphonales, since those pigments can be found in almost all the members of those orders. This fact seems to imply that not only the deep-water members but also the shallow-water members of the Siphonales originated in deep waters.

There are some deep-water species in the Cladophorales and the Siphonocladales which lacked siphonaxanthin, regardless of our expectation that they would have siphonaxanthin as a photosynthetic pigment essential for them to grow in deep waters or shaded-sites. Recently we found that those species contained loroxanthin, which is the precursor of siphonaxanthin, but did not absorb green light *in vivo*.

Lutein, the precursor of loroxanthin and siphonaxanthin, seems essential to shallow-water green algae since it is abundant in the thalli of all of them while hardly detected in the thalli of deep-water species having siphonaxanthin or loroxanthin. Deep-water species having loroxanthin might have derived from those having siphonaxanthin by failing to oxidise loroxanthin into siphonaxanthin. In the same fashion shallow-water species having abundant lutein might have derived from deep-water ones having loroxanthin.

Yasutsugu Yokohama, Shimoda Marine Research Center, The University of Tsukuba, Shimoda, Shizuoka-ken, 415 Japan.

緑藻の藻体にも緑色光を特異的に吸収する光合成色素が含まれている。そんな話は初耳だという読者も多いであろう。深所産の緑藻が緑色光を特異的に吸収する色素をかなり多量に含有していること、しかもそれが効率のよい光合成補助色素として機能していることなどを示す証拠が得られたのはごく最近のことなのである。

緑藻や高等植物にとって緑色光は利用しにくい光とされている。高等植物の葉やアオサなどの緑藻の藻体が緑色に見えるのは、それらに当たった可視光のうちの緑色光以外の部分がほとんど吸収されるからで、それゆえそのような緑色の葉や藻体にとって、緑色光は最も吸収しにくい光であるということになる。海中の光は深さと共に質的にも変わり、沿岸部では深くなるほど緑色光の占める割合は増すという(JERLOV 1968)。それゆえ沿岸の深所では、緑色の植物は効率のよい光合成を行なうことができないはずである。それにひき

* 下田臨海実験センター業績 No. 382.
文部省科学研究費補助金 No. 534027 および No. 534028 による

かえ、褐藻や紅藻の場合、緑色光を吸収する光合成補助色素として、前者はフコキサンチンを、後者はフィコエリスリンをそれぞれ含むため、沿岸深所の光も効率よく吸収して光合成に利用することができるものと考えられている。

ENGELMANN (1883, 1884) は、種々の色彩の藻類を用いて、それらが自身の体色と補色の関係にある色の光を最もよく光合成に利用するという事を見出し、赤色の藻は深所での生育に適し、逆に緑色の藻は十分な赤色光の到達する浅所での生育に適していると唱えた。補色適応説と呼ばれるこの考えに従うと、緑藻をすべて緑色の藻と解釈した場合、それらは沿岸の深所に生育するのが苦手な仲間であるということになる。しかし実際には深所にも多くの緑藻の生育がみられる。たとえば、殖田・岡田 (1938) によれば、100 m をこす深所からもヤブレグサやフジノハツタをはじめ多くの緑藻が採集されるという。

このような深所にも緑藻が生育している事実に対して、LEVRING (1967, 1969) は沖合の清澄な海域では

深所海中光が青色になることとクロロフィルが青色部にも吸収帯を有することから、緑藻も沖合の深所ならそこに到達する光の大部分を占める青色光を効率よく吸収して光合成を行なうことができると解釈している。しかし沿岸部の海底にも多くの緑藻が分布しているという事実は、多くの人の知るところである。伊豆の下田湾口附近の水深 10 m から 20 m ぐらいの海底にもヤブレグサやタマミルが豊富に生育しているが、Fig. 1はこの地点の海底に到達する光の大部分が緑色光であることを示している。すなわち LEVRING の解釈は深所産緑藻のすべてにあてはまるとは限らないということになる。一方 STEEMANN NIELSEN (1975) は深所に分布する *Chaetomorpha melagonium* の藻体が黒色に見えるほどにクロロフィルを高濃度に含有することを指摘し、緑色光をあまり吸収できないクロロフィルも、高濃度で存在すれば緑色光を十分光合成に利用できると説明している。また RAMUS *et al.* (1976a, 1976b) はアオサやミルを用いた実験で、深所の光環境がクロロフィル濃度を増加させるという結果を得たと報告している。

深所産の緑藻が緑色光を特異的に吸収する光合成色素を含有するなどということは、従来予想もされなかったようである。本稿では緑藻藻体内の緑色光吸収色素の存在がどのようにして証明されたのか、またその色素の緑藻内における分布やその生態的および系統的意義について述べてみたいと思う。

深所性緑藻ヤブレグサ藻体の色

深所産緑藻ヤブレグサと同属の浅所種アナアオサとの間の体色の比較が研究の端緒となった。深所産であるためにヤブレグサは打揚げ採集で手に入ることが多い。浜に打揚げられたこの海藻は生気のない色に見えるが、打揚げられて鮮度が低下した為と考えてしまう。しかし、深度 10 m ほどの海底に潜って新鮮なヤブレグサの藻体を採集してみると、その体色が打揚げ品よりはるかに濃くはあるが、やはりアナアオサのような鮮緑色ではなくにごった暗緑色であることに気づく。クロロフィル濃度もヤブレグサの方でかなり高いことも事実であるが、ヤブレグサの色がアナアオサの色を濃くしただけのものでないことが、実際に藻体の色を比較すれば分かり、ヤブレグサの色とアナアオサの色とは濃さばかりでなく質的にも異っていると言えるのである。

このような両種の藻体の体色の相違を両者の生育深

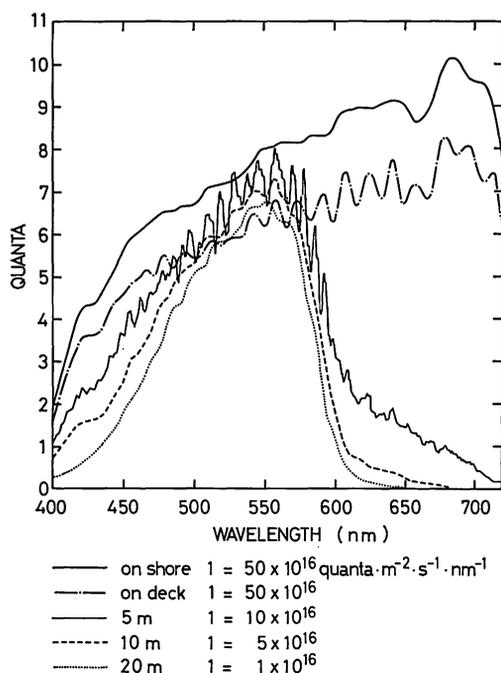


Fig. 1. Spectral distributions of light quanta on deck and underwater at Shimoda Bay, August 20, 1976 and on shore near Shimoda Marine Research Center, August 21, 1976, determined with a Techum Quanta Spectrometer QSM-2500 devised by HALLDAL and HALLDAL (1973) (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1977).

度の相違と関連づけて調べてみることは大変魅力的なことに思えたが、筆者の所属する臨海実験所の設備では、はじめ手も足も出ない状況であった。そしてヤブレグサ藻体の吸収スペクトルの測定が実現したのは、1971年になってからのことであった。ちょうど前年に日立と島津から相次いで廉価なダブルビーム自記分光光度計が発売されたため、それまでは全くの高根の花であった自記分光光度計が、教官定員3名の臨海実験所の総力を結集すればなんとか手の届きそうなところへ来たのである。そして当時の所長の英断によってその購入が実現したのであるが、今日では学生実習にも日常的に使われるようなこの装置が、臨海実験所と呼ばれる施設に設置されたことは、当時としては全国的な意味でも画期的なことであったのである。

Fig. 2はヤブレグサとアナアオサの生藻体の吸収スペクトルである。双方の曲線の極大値が重なるようにして表わしてあるが、両者が緑色部で著しく離れていることが分かるであろう。すなわちアナアオサは緑色部に深い谷を持った曲線を示しているのに対して、ヤブレグサの方はその部分にかなり顕著なふくらみを持っている。その附近における両者の差をとってみると、ちょうど緑色部の中央にあたる535 nmを極大とする曲線が得られる。このことは、ヤブレグサの藻体の方には緑色光を吸収する色素がかなり多量に含まれていることを示しているのである。その極大は下田湾口の深所の海中光 (Fig. 1) の極大とほぼ一致するので、この緑色光吸収色素が光合成色素であるとするれば、ヤブレグサがそのような深所の海中光の下で生育できる理由がより合理的に説明できることになる。

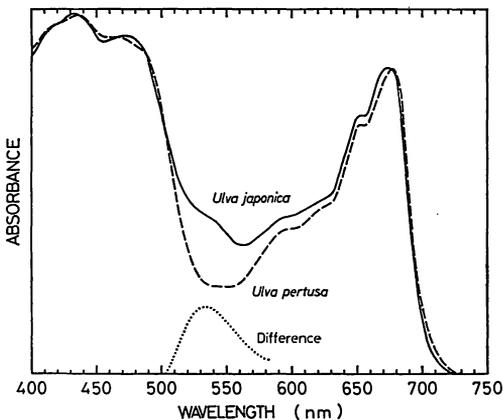


Fig. 2. *In vivo* absorption spectra of *Ulva japonica* and *U. pertusa* (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1977).

緑色光吸収色素の正体

この色素がどんな物質であるか、また本当に光合成色素であるかという疑問に対して解答が得られるまでにはなお数年を要した。その間に自記分光光度計に次いで光のエネルギーを測定できる装置が購入されたため、色光線を用いた光合成測定を実施し、ヤブレグサが緑色光を白色光とほとんど同じ効率で吸収利用できることを示す結果が得られている (横浜 1973)。このことによって、ヤブレグサの藻体に含まれている緑色光吸収色素が光合成色素である可能性が暗示されたわけで、この色素の正体を明らかにしようという情熱も一段とかきたてられることになった。

しかしこの色素の正体を明らかにする作業は、その入口でつまづいてしまった。生物体に含まれる物質を同定しようとする場合、まずその抽出を行なうわけであるが、メタノールやアセトンを用いた抽出液の吸収スペクトルには、生藻体にみられた緑色部のふくらみが見当たらないのである (Fig. 3)。問題の色素が残渣の方に残ったわけではないということは、残渣が完全に無色になっていることから判断できる。それゆえその色素は抽出の段階で分解してしまったということになる。

ところがヤブレグサのくすんだ暗緑色の藻体をメタノールやアセトンに浸すと一瞬にして鮮やかな緑色に変るが、この様子は褐藻の藻体をメタノールなどに浸した時とよく似ている。また生きた褐色のワカメを味噌汁の具として熱湯に投じた場合などにも、藻体が一瞬にして緑変するが、このことは海岸近くならどこの家庭の主婦でも知っていることである。このような現象

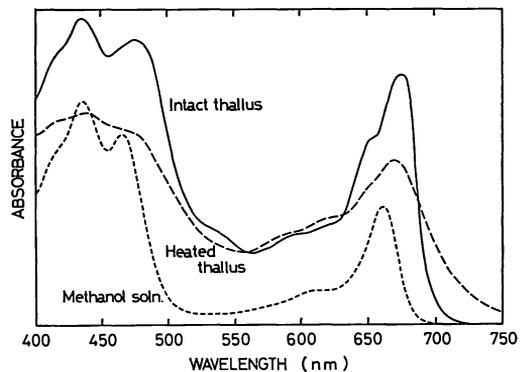


Fig. 3. Absorption spectra of the living thallus and the heated one of *Ulva japonica* and of the total pigment extracted from the living thallus in methanol.

は、褐藻に多量に含まれる光合成補助色素フコキサンチンの存在状態が、生藻体における場合とメタノールや熱で処理された藻体とで異なるためと説明されている。すなわちフコキサンチンは遊離の状態たとえば有機溶媒に溶けた状態などでは吸収極大が450 nm 附近にあるが、生きたクロロプラスト内ではそれが550 nm 附近に移動した状態で存在しているというのである (GOEDHEER 1970)。それはクロロプラストのタンパクと結合した状態と考えられているのであるが、このような色素がタンパクと結合してその吸収波長域を変えるという現象としては、黄色のレチナールと無色のオプシンというタンパクが結合して赤色のロドプシンが形成されるというようなきわめて身近な例もある。またエビヤカニの類の甲らの中にはアスタキサンチンとタンパクの結合体が多量に存在しており、エビヤカニを熱した時に赤変するのは、熱によってアスタキサンチンが遊離するからであるという。すなわち熱した時にワカメが緑変するのとエビヤカニが赤変するのは同じ型の現象であると言えるのである。

以上のように種々の色素がタンパクと結合して吸収波長域を変える場合、その変化が長波長すなわち赤色部側へ向かって起るのであるが、このような現象は赤方偏移 (red shift) と呼ばれている。暗緑色のヤブレグサ藻体は熱湯に浸すと一瞬にして鮮やかな緑色に変わった。Fig. 3 中に描かれている吸収スペクトルは90°Cで5秒間処理した藻体について得られたもので、青色部と赤色部にみられるクロロフィルの吸収極大も低くなっているが、緑色部のふくらみすなわち緑色光吸収色素の吸収帯が消えてしまっていることが分かるであろう。

ヤブレグサの緑色光吸収色素が何らかの色素とタンパクとの結合体いわゆる色素タンパク複合体として存在しているなら、その色素すなわち発色団とタンパクとの結合を切らないように注意して色素タンパク複合体としてとり出した後に、その複合体から発色団をはずして同定するという手法をとらなければならない。このような作業はきわめて煩雑であるというのが今日の常識で、褐藻からフコキサンチンを多量に含むオレンジ色の色素タンパク複合体すなわちフコキサンチン-クロロフィル a/クロロフィル c-タンパクが単離されたのもごく最近のことなのである (ANDERSON and BARRETT 1979)。しかしクロロプラストから色素タンパク複合体が簡単に抽出できる例外的なケースが渦鞭毛藻の仲間について知られている。PRÉZELIN and HAXO (1976) は *Glenodinium* と *Gonyaulax* から

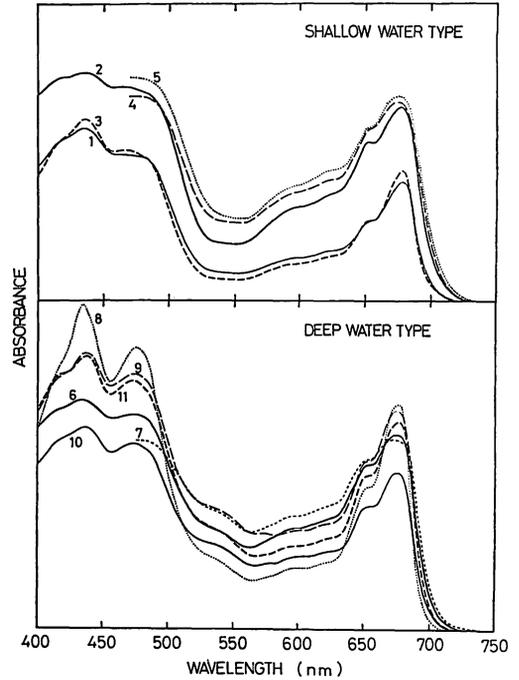


Fig. 4. *In vivo* absorption spectra of various green algae. Samples were collected at Shimoda (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1977).

Tris buffer によって赤色の色素タンパクを抽出した後、Sephadex カラムクロマトグラフィーによって単離して、それがペリジニンとクロロフィル a を 4:1 の分子比で含む分子量35,000ほどの色素タンパク複合体であり、緑色光をかなり吸収する性質を持っていることをつきとめている。これによって遊離の状態では主に青色光を吸収するペリジニンが生きたクロロプラスト内ではタンパクと結合して赤方偏移し、主に緑色光を吸収する働きをしていることが明瞭に示されたわけである。遊離のペリジニンは黄色のカロチノイドであるが、緑色光を吸収する状態にある時は赤色を呈しているはずである。カキ養殖上問題となっている赤変ガキは、渦鞭毛藻の多量な摂食によって生ずると考えられ、事実赤変ガキから黄色のペリジニンが多量に抽出されるようである。カキの体内でもペリジニンはタンパクと結合した状態で存在し、赤色を呈しているとみなすことができる。

ヤブレグサの緑色光吸収色素は、残念ながら渦鞭毛藻の場合のようにタンパク複合体のまま簡単に抽出できるものではないことが、何回かの試みで分った。そこで赤方偏移した状態の色素タンパク複合体の抽出はひとまずあきらめて、その発色団を捕えてみることに

した。それはメタノールやアセトンの抽出液中に溶けているはずであるが、その吸収極大は青色部でクロロフィルやカロチノイドのそれとほとんど重なっているものと予想され、カロチノイドの1種であろうと考えられた。そこでアナアオサには含まれずにヤブレグサの方にだけ含まれるカロチノイドが見つければ、それがヤブレグサの緑色光吸収色素の発色団である可能性がある。しかしヤブレグサとアナアオサの2種間で比較しただけでは説得力に欠ける。ここまで考えてから、ヤブレグサ以外にも深所産の緑藻なら緑色光吸収色素を含有しているのではないかとおそまきながら筆者等は気づいた。

深所型緑藻と浅所型緑藻

ヤブレグサと同様に吸収スペクトルの緑色部にふくらみを持ったものが何種類か見つかった。Fig. 4 中にはヤブレグサとアナアオサを併せて11種の緑藻の藻体の吸収スペクトルが描かれているが、そのうち6種 (No. 6~11) が緑色部にふくらみを持ち、他の5種 (No. 1~5) はそれを持たないことが分かる。すなわち緑藻藻体の吸収スペクトルがはっきりと2型に分かれたのであるが、緑色部にふくらみを持つ6種のうちNo. 11のミル以外の5種は深所または陰地から得られた種であって深所性緑藻とみなされ、一方そのようなふくらみを持たない5種はすべて浅所の陽地から得られたものであるため、前者の型を深所型 (deep-water type)、後者の型を浅所型 (shallow-water type) と呼ぶことにした。調べた深所性緑藻がすべて深所型の吸収スペクトルを示しているということは、それらの深所性緑藻すべてに緑色光吸収色素が含まれていることを意味しているのであり、緑色光吸収色素が深所での生活上重要な役割を演じていることを示唆していると言える。

これらの11種の緑藻の色素組成を調べてみて、深所型の種の藻体にだけ存在する色素が1種類だけ見つければ、それを緑色光吸収色素の発色団とみなすことができるのである。Fig. 5はそれら11種の緑藻から抽出した色素のセルロース薄層クロマトグラムである。左側の5種が浅所型、右側の6種が深所型であるが、深所型種のすべてに浅所型種にみられない色素 (Fig. I) のみられることが分かるであろう。他にこのような分布を示す色素は見当たらないため、Fig. Iを緑色光吸収色素の発色団とみなすことができる。また最右端から3番目まで (No. 9~11) はミル属の種のものであるが、これらだけに別の色素 (Fig. II) がみられる。

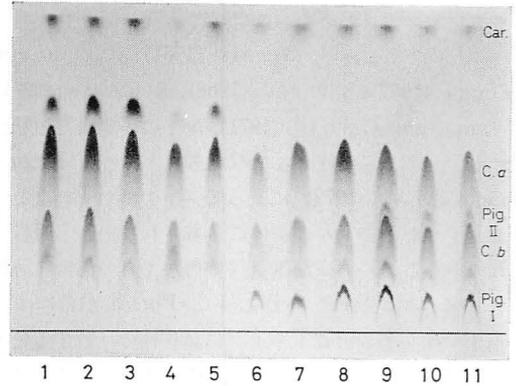


Fig. 5. Cellulose thin-layer chromatograms of pigments from various green algae. Samples are the same as those in Fig. 4. The developing solvent: n-hexane, diethyl ether and n-propanol (50: 50: 0.5, v/v/v). Car.=carotenes; C. a=chlorophyll a; C. b=chlorophyll b (YOKOHAMA *et al.*, 1977).

緑色光吸収色素の発色団

Fig. I と Fig. II は共に フコキサンチンに似たオレンジ色の色素であった。両者が共に藻体内にかなりの濃度で含有されていることはクロマトグラム上の濃さからも分かる。それゆえ両者共一部の緑藻にその存在の知られているカロチノイドであることはまちがいないと思われた。1つはシホナキサンチンではないかという示唆を千原と猪川から得たが、この示唆は筆者等に大いに労力を省かせてくれた。ミルから得たFig. I と Fig. II の吸収スペクトル (Fig. 6) はそれぞれシ

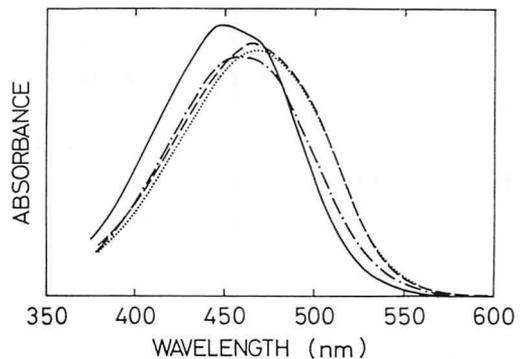


Fig. I in ethanol — in chloroform ---
Fig. II in ethanol -·- in chloroform ·····

Fig. 6. Absorption spectra of Fig. I and Fig. II in ethanol and chloroform (YOKOHAMA, *et al.*, 1977).

ホナキサンチンとそのエステルであるシホネインのものに一致することが、STRAIN (1951), KLEINIG and EGGER (1967), JEFFREY (1968), RICKETTS (1971), WEBER and CZYGAN (1971) などによる報告と照合することによって分かったのである。さらに WEBER and CZYGAN (1972) によってシホナキサンチンとシホネインが共にミルの藻体に含有されていると報告されていること、および筆者等の得たミルの色素の薄層クロマトグラム上には Fig. I と Fig. II の他にはシホナキサンチンとシホネインに諸特性の一致する色素が見出されなかったことから、Fig. I をシホナキサンチン、Fig. II をシホネインと同定したのである。

Fig. 6 からシホナキサンチンが青色部の450nm 附近に吸収極大を有することが分かるが、このカロチノイドが生きた深所型緑藻のクロロプラスト内では540nm 附近の緑色光を吸収していると考えられるのである。

用いた11種の緑藻に限ればシホナキサンチンの分布が明らかに深所あるいは陰所に生育する種に偏っている。シホナキサンチンを発色団とする緑色光吸収色素が深所性緑藻に偏って分布しているという事実は、このカロチノイドが、沿岸深所の緑色光下に生育するこれらの緑藻にとって重要な光合成色素であるということ、すでに示唆していると言えよう。

シホナキサンチンの機能

深所性の緑藻に偏在する緑色光吸収色素の発色団がシホナキサンチンと同定されたことから、従来クダモ類 (Siphonales) を特徴づける特殊なカロチノイドとみなされていただけのこのカロチノイドにとって“我こそは深所性緑藻にとって深所での生活に欠くことのできない重要な光合成色素なり”と名乗る機会が訪れたと言えよう。

管状緑藻50種についてカロチノイド組成を調べた KLEINIG (1969) は、いわゆるクダモ類のミル目・ツユノイト目・イワヅタ目のすべての種にシホナキサンチンとシホネインの双方が、またクダモより下等とされる管状藻のシオグサ目とミドリゲ目一部の種にシホナキサンチンの方だけがみられ、さらにクダモ中最も高等とされるチョウチンミドロにはシホネインの方だけがみられるということを知り、これら2種のカロチノイドの分布が管状緑藻の分類上の手がかりとなると考えている。たとえばシオグサ目やミドリゲ目中にあってシホナキサンチンを含有する種は、シホナキサンチンとそのエステルのシホネインを含有するクダモ

類への移行型であるとみなしている。すなわち管状緑藻では高等になるにつれてシホナキサンチンが出現し、次いでそれが部分的にエステル化し、さらに最も高等なチョウチンミドロではシホナキサンチンのすべてがエステル化してしまっていると解釈するのである。

これに対して筆者等は、シホナキサンチンの機能に注目し、このカロチノイドの分布を生態的な面から眺めようとしているわけである。下田産の11種の緑藻を調べた限りでは、シオグサ目やミドリゲ目に属しているながらシホナキサンチンを含有している種は深所種 (チャシオグサ・タマゴバロニア) である。非管状藻であるヤブレグサがシホナキサンチンを含有し、しかもこの種が非管状緑藻中では貴重な深所種であるという事実は大きな意味を持っている。

これらの事実はシホナキサンチンが深所海中光の主成分である緑色光を吸収する光合成色素であることをすでに示唆しているのであるが、更に直接的な証拠が得られないものだろうか。そのためには HAXO and BLINKS (1950) がアオサの一種などの藻体について行なった吸収スペクトルと光合成作用スペクトルとの比較を、ヤブレグサなどの深所型緑藻の藻体について行なってみればよいのである。ところがこれは、彼等の得た結果の1例 (Fig. 7) を眺めただけでも容易な作業でないことが分かる。今日では吸収スペクトルは自記分光光度計によって数分間で得られるが、作用スペクトルは種々の波長ごとのエネルギーと酸素発生との関係を表す直線の勾配をグラフにプロットして得られるのであるから、気の遠くなるような作業である。

しかし筆者等の目的はシホナキサンチンが光合成色素であること、すなわちシホナキサンチンの吸収した光エネルギーの少くとも一部がクロロフィル *a* に伝達

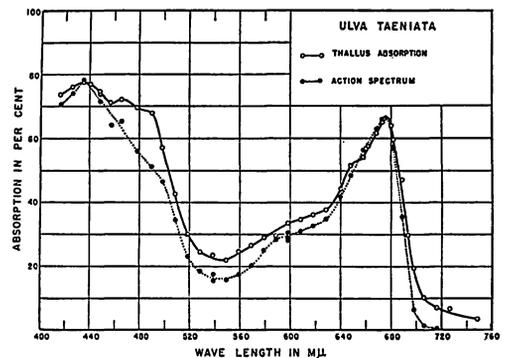


Fig. 7. Spectra of thallus absorption and photosynthetic action in a green alga *Ulva taeniata* (HAXO and BLINKS 1950).

されることを知ることなのである。補助色素から光合成活性中心クロロフィル *a* に励起エネルギーが伝達された場合、その一部がクロロフィル *a* から赤色の蛍光となって発生することが今日では分かっている。そして電子伝達系の阻害剤である DCMU を加えて蛍光発生が増大するようにした植物体やクロプラストに、エネルギーを一定にした種々の波長の光を当てて、蛍光発生量を測定し、いわゆる蛍光励起スペクトルを得るという手法が開発されている。そのために必要な自記蛍光分光光度計はとてども臨海実験所の予算で手がとどくような代物ではなかったが、幸い東大海洋研究所に設置されたばかりの装置を使わせてもらうことになり、ヤブレグサやアナオサを海水と共に入れたクーラーボックスを下田から東京まで担いで行き、測定が実現したのである。

Fig. 8 は蛍光励起スペクトルの測定に先立って得られたヤブレグサとアナオサの藻体からの蛍光のスペクトルである。それぞれの藻体に青色光を当てたのであるが、685 nm に極大を持つ光すなわち赤色光が藻体から放射されることが分かる。この実験は室温で行なったが、ここで得られた蛍光スペクトルは他の植物について報告されている室温における生体内クロロフィル *a* の蛍光スペクトル (DUYSENS 1952, GOEDHEER 1964, MURATA *et al.* 1966a, 1966b) とよく一致し

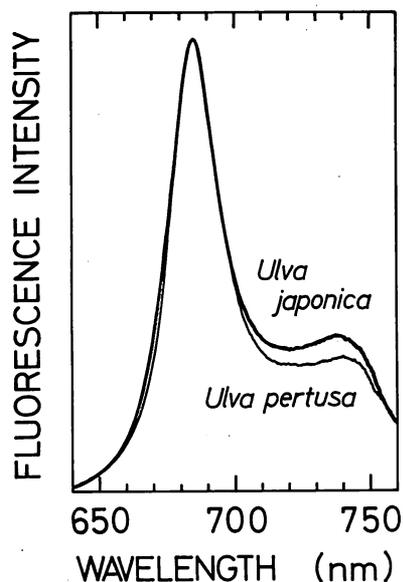


Fig. 8. Fluorescence spectra at room temperature (23°C) of thalli of *Ulva japonica* and *U. pertusa*. Excitation light, 480 nm (KAGEYAMA *et al.*, 1977).

ている。それらは 685 nm 附近に吸収極大を持ち、720~740 nm に広い肩を持つと形容されている (村田 1968)。

クロロフィル *a* から放射される 685 nm 附近の蛍光の発生に対する各波長の光の効果を表わすいわゆる蛍光励起スペクトルが、ヤブレグサとアナオサについて得られた (Fig. 9)。これらの曲線は、蛍光分光光度計の試料室に藻体をセットした後、励起光の走査を開始すれば数分間で描かれる。記録計の奥から送り出されて来る記録紙の上に、短波長測から曲線を描き始めるペンの動きによって、光合成色素であるか否かが決まるといふ、シホナキサンチンにとって一世一代のドラマが海洋研究所の一室で展開されたのである。それはほんの数分間のドラマなのでクライマックスはアッという間にやって来る。試料室内のヤブレグサ藻体に当たる励起光が緑色部にさしかかる 500 nm あたりで、下降しつつあったペンが、ほとんどそのままの勾配で下降して行ってしまえば、シホナキサンチンが光合成色素である望みはなくなってしまうが、徐々に勾配を緩めて、540 nm 附近を中心とするふくらみを描けばこの色素が光合成色素であることが証明されたことになるのである。

期待通りの結果が得られたことが Fig. 9 から分かるであろう。すなわち吸収スペクトルの場合と同様にアナオサのスペクトルが深い谷を形成している緑色

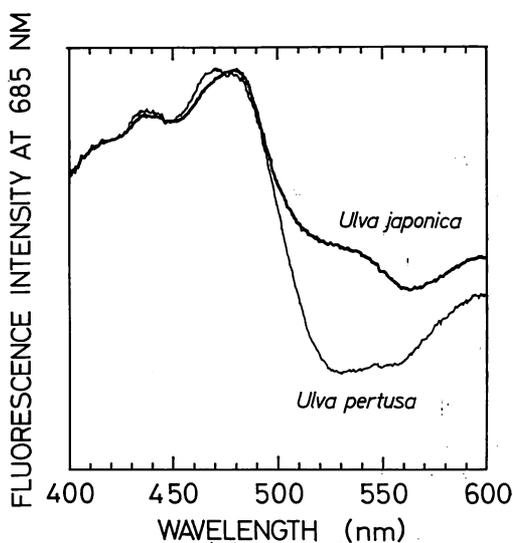


Fig. 9. Excitation spectra of 685 nm fluorescence of the thalli of *Ulva japonica* and *U. pertusa* measured at room temperature (KAGEYAMA *et al.*, 1977).

部で、ヤブレグサのスペクトルは顕著なふくらみを形成している。このようにヤブレグサの蛍光励起スペクトルの緑色部に、吸収スペクトルのそれに酷似したふくらみがみられるということは、ヤブレグサ藻体内の緑色光吸収色素の吸収した光のエネルギーが確かにクロロフィル *a* へ伝達されていることを示しているのである。それゆえ緑色光吸収色素の発色団とされるシホナキサンチンは褐藻などのフコキサンチンと同様に光合成色素とみなせるのである。すなわち深所産の緑藻は緑色光を主に捕獲する光合成色素であるシホナキサンチンを含有することによって、沿岸深所の緑色の海中光の下でも生育できると解釈できるのである。

シホネインの機能

深所型緑藻の中のミルの仲間の藻体にシホナキサンチンと共存して、そのエステルであるシホネインが含まれていることを知ったが、この色素は知られるかぎりでは *Caulerpa filiformis* を唯一の例外として (STRAIN 1965), ミル目・ツユノイト目・イワツタ目のすべての種の藻体内にシホナキサンチンと共存して含まれている (KLEINIG 1969)。*Caulerpa prolifera* から得られたシホネインはラウリン酸によってエステル化されたものであることが KLEINIG and EGGER (1967) によって報告されている。

シホナキサンチンが緑色光を吸収する光合成色素として機能しているのなら、そのエステルは何をしているのだろうか。シホナキサンチンを含むがシホネインは含まないヤブレグサと、双方を含むミルについて吸収スペクトルを比較してみても、目立った相違がみられないことから、シホネインの生藻体内における吸収極大はシホナキサンチンのそれとほとんど重なってしまっているか、青色部で他のカロチノイドやクロロフィルの吸収極大と重なり合っているかのどちらかであるといえる。それゆえシホネインがシホナキサンチンと共存しているミルのような藻体を用いたのでは、シホネインの生体内における吸収帯の位置を知ることさえ不可能である。しかしヤブレグサなどの場合とは逆にシホネインを含むがシホナキサンチンは含まないような藻体が手に入りさえすれば、その吸収スペクトルと蛍光励起スペクトルを調べるだけで、シホネインの機能が明らかになるかもしれない。

そんな緑藻はどこの海にも生育が知られていないのであるが、意外にも陸水にたった1種(あるいは1属)だけ生育しているという。それはチョウチンミドロと

いうクダモの1種であるが、KLEINIG (1969) によって、シホネインを含むがシホナキサンチンは含まないと報告されていることはすでに述べた。これは世界中でもごく限られた湖などでその生育が知られているだけであるが、幸いにして我が国の沖縄にも生育しているという。その現場は海岸近くのサトイモのような作物を栽培している田んぼであった。水がごく浅くはられた田の土壌の表面に、それは黒っぽいマットを形成していた。

Fig. 10 はシホナキサンチンもシホネインも含まないヒトエグサ、シホナキサンチンを含むがシホネインは含まないウシュクアオサ、シホナキサンチンとシホネインの双方を含むヒラミルと、シホネインを含むがシホナキサンチンは含まないというチョウチンミドロの各藻体から得られた色素の薄層クロマトグラムであるが、チョウチンミドロがヒラミルと同様にシホネインを含み、ヒラミルとウシュクアオサに含まれているシホナキサンチンは含まないということを明瞭に示している。

Fig. 11 はチョウチンミドロ・ウシュクアオサおよびヒトエグサの藻体の吸収スペクトルである。チョウチンミドロのスペクトルがウシュクアオサのスペクトル

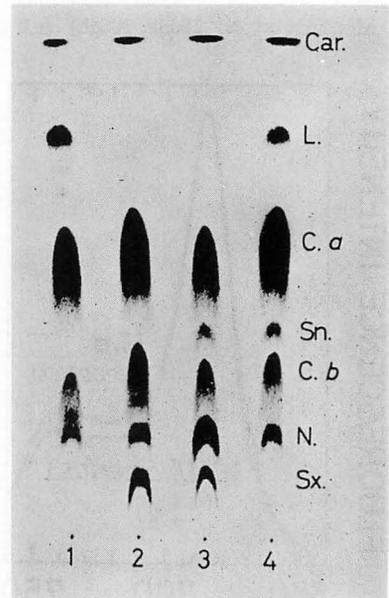


Fig. 10. Cellulose thin-layer chromatograms of pigments from *Monostroma nitidum* (1), *Ulva amamiensis* (2), *Codium latum* (3) and *Dichotomisiphon tuberosus* (4). The developing solvent was the same as that in Fig. 5 (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1978).

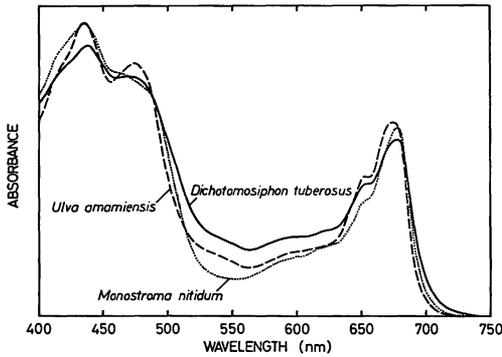


Fig. 11. *In vivo* absorption spectra of *Monostroma nitidum* lacking siphonaxanthin and siphonoin, *Ulva amamiensis* containing siphonaxanthin without containing siphonoin and *Dichotomosiphon tuberosus* containing siphonoin without containing siphonaxanthin (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1978).

ルと同様に540 nm 附近の緑色部で顕著なふくらみを形成していることが分かるが、このことから、シホネインがチョウチンミドロの藻体内で緑色光を吸収する状態にあると言える。チョウチンミドロからは他のカロチノイドとしてカロチン・ルテイン・ヒオラキサンチン・ネオキササンチンが検出されたが、それらはすべて緑色部にふくらみのない吸収スペクトルを示すヒトエグサの藻体にも多量に含まれているので、チョウチンミドロの藻体内に多量に存在する緑色光吸収色素の発色団としてはシホネイン以外のものは考えられないのである。

上記3種の緑藻の藻体について得られた蛍光励起スペクトルが Fig. 12 である。チョウチンミドロのスペクトルが緑色部で明らかにふくらんでいることから、

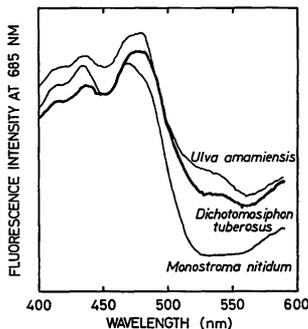


Fig. 12. Excitation spectra of 685 nm fluorescence of the thallus of *Monostroma nitidum*, *Ulva amamiensis* and *Dichotomosiphon tuberosus* (KAGEYAMA and YOKAHAMA 1978).

シホネインも緑色光を捕獲する光合成色素であると判断することができる。

シホネインが光合成色素であることを証明してくれたチョウチンミドロは、数奇な経歴の持主らしい。現在この種類は陸水にしか見出されないが、新崎(1953)によれば太古には海産であった可能性があるという。この藻の現在の分布はきわめて不連続なのであるが、現産地が古生代初期の海岸線または浅海底と推定されるところに乗るといふ。すなわち5億年ほど昔には海産であったものが、その後の地殻変動によって陸封されたと考えられることのできるものである。沖縄では田んぼの日当りのよい場所に生えているこの藻が、沿岸の深所での生活を有利にする緑色光吸収色素を含むということも、この藻が海中で生活していたことを暗示しているのではないだろうか。いずれにしてもシホネインの機能を明かにしてくれる資格を具えた唯一の生物であるチョウチンミドロは、激しい地殻変動の洗礼を受けながらも、絶滅せずに5億年ほどの間“異郷”で細々と生きながらえたのである。

緑藻における緑色光吸収色素の分布

チョウチンミドロを採集するために訪れた沖縄で、ついでに暖海産の緑藻を多数採集したが、それらの緑藻の色素の分析結果は、筆者等を当惑させた。沖縄の浅所陽地から採集された緑藻の多くがシホナキササンチンとシホネインを含有していたのであり、そしてそれゆえ当然のことながらそれらは深所型の吸収スペクトルを示した。それらはすべてクダモ類に属する種であったが、KLEINIG (1969) は用いたクダモがすべてシホナキササンチンやシホネインを含有していたという事実を報告しているのである。色素組成を分類的に眺めようとした KLEINIG は、用いた材料の生育環境については何も記していないが、彼の分析したクダモの中に浅所陽地産のものに含まれている可能性を筆者等は初め意識しなかった。シホナキササンチンとシホネインを深所での効率よい光捕獲に必要な光合成色素であるとする考えからすれば、それらのカロチノイドが浅所陽地産の多くの緑藻から検出されたということは具合の悪いことに思えた。

とにかく筆者等の分析結果を眺めてみよう。Fig. 13は海産緑藻50種近くについて、採集地点の環境、クロフィル *b*・シホナキササンチンおよびシホネインのクロフィル *a* に対する分子比、シホネインとシホナキササンチンの分子比などを表わしている。分類群とし

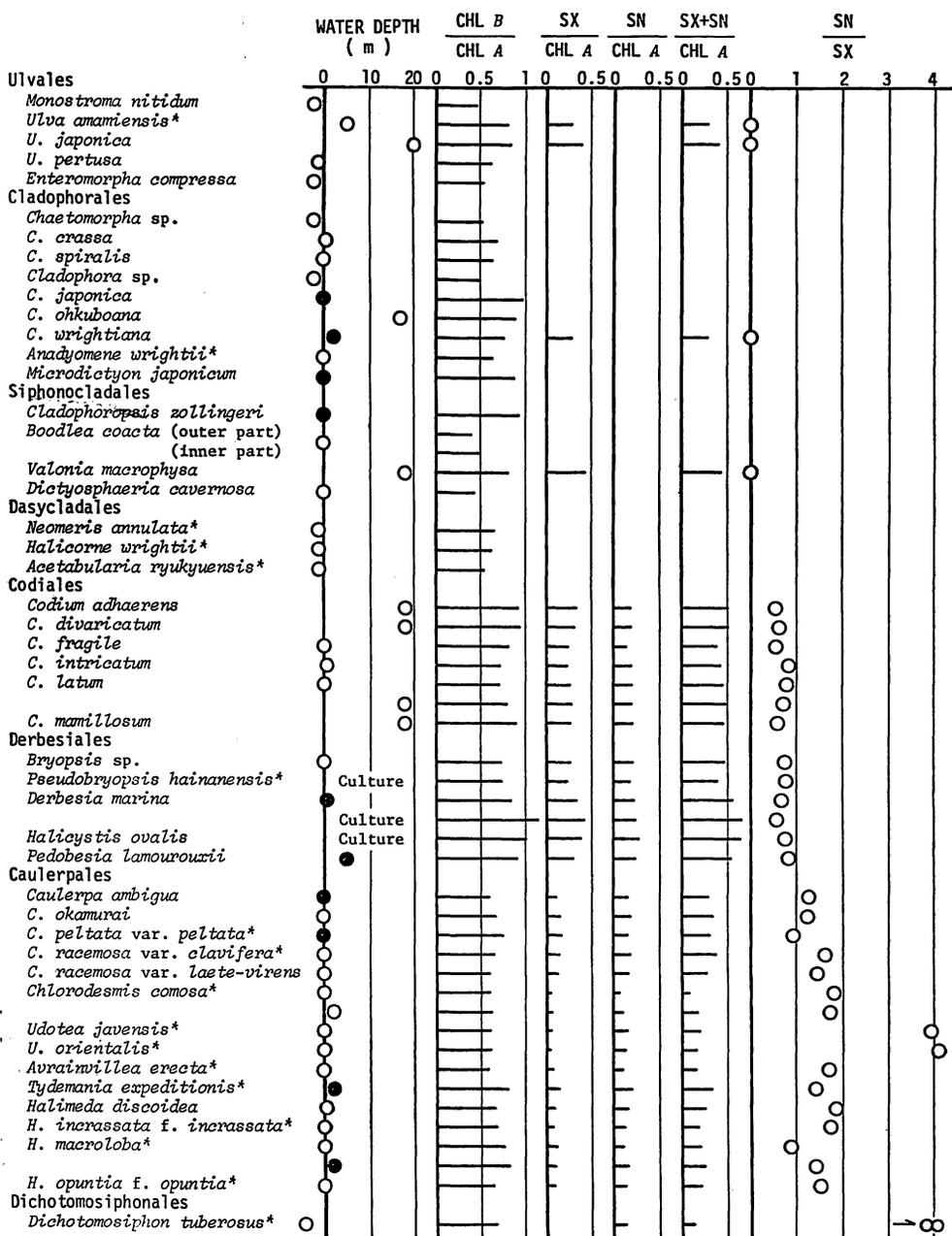


Fig. 13. Relative pigment composition of benthic green algae in different habitats. *Collected at Okinawa or Amami, and others at Shimoda. **Cultured for more than one month under 2 Klux of fluorescent light with the day length of 14hr at 20°C. Open circle denotes sunny site, while closed one shaded site. Chl. a=chlorophyll a; Chl. b=chlorophyll b; Sx=siphonaxanthin; Sn=siphonoin (YOKOHAMA, unpublished)

ては8目に亘っているが、アオサ目(Ulvales)は単核細胞組織性、シオグサ目(Cladophorales)とミドリゲ目(Siphonocladales)は多核細胞有隔管状、カサノリ目(Dasycladales)は単核管状、ミル目(Codiales)・ツヌノイト目(Derbesiales)・イワツタ目(Caulerpales)およびチョウチンミドロ目(Dichotomosiphonales)は多核細胞無隔管状という特徴をそれぞれ持っていて、下段の群ほど高等とされている。クダモ類とは多核細胞無隔管状の緑藻のことであり、最後の4目がこれに該当するのである。

この図を詳細に眺めると、シホナキサンチンの分布の意義が、カサノリ目を境にして、その上方と下方とで異なるように見える。すなわち上方の3目ではシホナキサンチンは深所か陰所から得られたものにしか含有されていないのに対して、下方の4目中チョウチンミドロを除く3目では、シホナキサンチンとシホネインが生育環境に関係なくすべての種に存在し、最下段のチョウチンミドロは陸水の陽地から得られたにもかかわらずシホネインを含有している。

上方の3目ではシホナキサンチンの分布に明らかに生態的意義が認められるのになぜ下方の4目では生育環境にかかわらずすべての種にシホナキサンチンなどが含有されているのだろうか。この事実から、クダモ類がもともと深所性の群であり、浅所の陽地に生育しているクダモにとっては、シホナキサンチンやシホネインは、過去に必要とした痕跡器官の存在と考えることができるのではないだろうか。事実現在知られている深所産緑藻のほとんどはクダモなのである。

Fig. 13中で最下段の最も高等な位置を占めているチョウチンミドロが実は海産ではないのであるが、地殻変動によって陸封されたとも考えられると新崎によって指摘されたことはすでに述べた。クダモ類が深所から浅所へ分布域を広げつつある群であるとするれば、海からとび出してクダモ類の中では最も高い位置に生育するようになったチョウチンミドロが最も高等な種であるということは、単なる偶然ではないように思える。このように考えると、チョウチンミドロでシホナキサンチンがすべてエステル化してシホネインになってしまっていることも、生態的に意味があるように思えてくる。

KLEINIGが管状緑藻では高等になるに従ってシホナキサンチンのエステル化が進行すると考えていることはすでに述べたが、シホネイン対シホナキサンチンの比をとってみるとミル目とツヌノイト目では1より小、イワツタ目では1より大、チョウチンミドロ目

は無限大となって、KLEINIGの指摘したエステル化の傾向が一層明瞭になる。しかしこれは単に分類的に意味があるだけでなく、クダモ類の浅所化と並行しているように見える。各群内の種間で比較しても、両者は相関しているように見える。各色素のクロロフィルaに対する比は、深所や陰所から得られたものほど大きくなるという傾向に気づくが、シホナキサンチンのエステル化の度合はそれらとは負の相関関係にあって、浅所産のものほど大きいように見える。シホナキサンチンのエステル化が浅所化と相関しているとするなら、シホナキサンチンとシホネインの間には機能上の何らかの相違が存在するはずであるが、今のところ不明である。

深所性の浅所型緑藻

Fig. 13の上方の3目をもう一度よく眺めてみよう。それらではシホナキサンチンが深所か陰所から得られたものにしか含まれていないことはすでに述べたとおりであるが、逆に深所や陰所に生育するものが必ずしもすべてシホナキサンチンを含んでいるわけではないことに気づくであろう。オオシオグサ・カタシオグサ・アミモヨウ・ミドリゲの4種がそれに該当するが、これらの藻体の吸収スペクトルは浅所型であった。このような緑藻の存在は、シホナキサンチンを深所の生活に必要な光合成色素であるとみなしている筆者等を再び当惑させることとなった。

しかしこれらの緑藻ではクロロフィルb対クロロフィルaの比がきわめて大きい。この比は深所や陰所のものほど大きいのであるが、クロロフィルbの吸収特性からも、このクロロフィルを多く含むことが深所での光利用上有利なことと考えられるのである(YOKOHAMA and MISONOU 1980)。深所や陰所に生育しているカタシオグサやミドリゲなどが、クロロフィルb/a比という点では明らかに深所や陰所の光環境に適応しているのに、そのような環境での光利用の効率化にはクロロフィルbよりはるかに有効であるシホナキサンチンを欠いているのは奇異なことに思える。

ところがそれらのうちアミモヨウを除く3種で特殊な色素が検出されたのである。それはルテインに似た吸収曲線を示すが、クロマトグラム上のRfから極性のさらに大きなキサントフィルであることが分かる。それらの緑藻に含まれていそうなキサントフィルで、吸収特性がこの色素と一致するキサントフィルとして、ロロキサントフィルが候補に挙がった。ロロキサントフィルは

ごく限られた緑藻から検出されているだけであるが、海産のシオグサの数種には多量に含有されているという (AITZETMÜLLER *et al.* 1969)。それゆえこの色素がカタシオグサなどに含有されていてもおかしくない。また何よりも魅力的なことは、このキサントフィルがシホナキサントチンの直接の前駆物質であることである。すなわちシホナキサントチンはルテインを経て生成されるのであるが、ルテインが酸化するとまずロロキサントチンとなり、これがさらに酸化してシホナキサントチンが生ずるのである (Fig. 14)。

AITZETMÜLLER *et al.* によってロロキサントチンを含有することが報告されているシオグサ属の種は手に入らなかったが、淡水産の単細胞緑藻 *Scenedesmus obliquus* もこのキサントフィルを含むことが確認されているので、この藻を東大応用微生物研究所から分けてもらって培養し、謎の色素とロロキサントチンとの同一性を検定することにした。Fig. 15 は謎のキサントフィルを多量に含むミドリゲ (*Cldophoropsis zol-*

lingerii) のキサントフィル分画と対照のためのヒラアオノリ・タマゴバロニア・セネデスマスのキサントフィル分画のセルロース薄層クロマトグラムである。セネデスマスは4種のキサントフィルを含有していることが分かるが、そのうちの3種はルテイン・ビオラキサントチンおよびネオキサントチンと同定されるので、残る1種すなわち図中の×の位置の色素がロロキサントチンに該当する。それゆえこれに一致しているミドリゲの謎の色素はロロキサントチンと同定されるのである。まアオサ目・シオグサ目・ミドリゲ目においてロロキサントチンの分布を調べたところ、この色素がジュズモ属の3種やヒトエグサなど浅所の陽地に産するものにもわずかながら含有されていることが分かったが、やはり深所や陰所から得られる上記の3種には多量に含まれ、クロロフィル *a* に対するこの色素の分子比がチャシオグサなどにおけるシホナキサントチンのそれに匹敵するほどであることが分かったのである (Fig. 16)。

緑藻の故郷

深所や陰所に生育しているカタシオグサやミドリゲが、シホナキサントチンを含有している方が有利と思われるのにそれを含有せず、その直接の前駆物質で緑色光を捕獲する機能のないロロキサントチンを多量に含有しているということは、それらの緑藻の祖先がシホナキサントチンを含有していたこと、そしてロロキサントチンをシホナキサントチンへ酸化する機能を失ったことなどを想像させる。もしそうであるならそれらはなぜシホナキサントチンを失った後も深所や浅所にとどまっていたのだろうか。それらの生殖細胞が浅所陽地に達しても、そこで生育できない事情があるにちがいない。初め深所種はシホナキサントチンを含有するものばかりと考えたが、ロロキサントチンを多量に含有するものも深所種の仲間入りをしたのである。そして色素組成上におけるそれらの共通点は、シホナキサントチンとロロキサントチンの前駆物質であるルテインをほとんどあるいは全く含んでいないことである。では逆にシホナキサントチンもロロキサントチンも含んでいない浅所種はルテインを多量に含有しているのだろうか。今のところ肯定的な結果が得られつつあり、さらに深所型であるクダモでも、そのうちの浅所種はルテインをかなり含有しているという結果も得られている。それゆえ浅所陽地で生活する緑藻はルテインを多量に含有している必要があるのではないかと思われるのである。

Fig. 15 は型の異なる緑藻のキサントフィル組成を

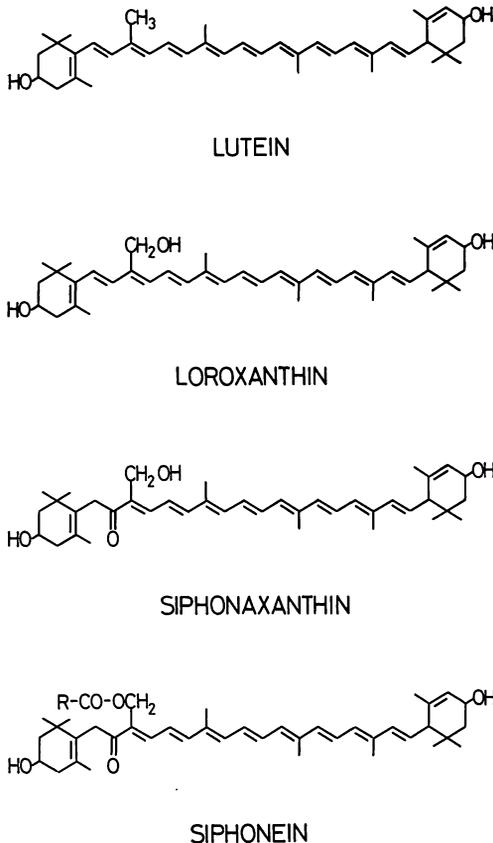


Fig. 14. The structure of lutein, loroxanthin, siphonaxanthin and siphonein.

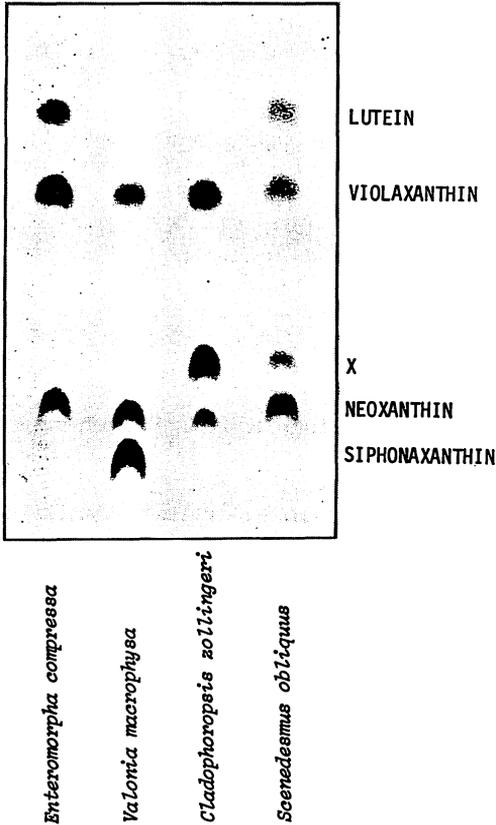


Fig. 15. Cellulose thin-layer chromatograms of xanthophylls from *Enteromorpha compressa*, *Valonia macrophysa*, *Cladophoropsis zollingeri* and *Scenedesmus obliquus*. The developing solvent: n-hexane and methyl ethyl ketone (4: 1, v/v) (YOKOHAMA, unpublished).

示したものとも言える。いずれの型にもピオラキサントニンとネオキサントニンは存在するが、ルテイン・ロロキサントニンおよびシホナキサントニンは相補的で、とくに左側の3型ではそれらのキサントフィルのうちのどれか1種類しかみられないことが分かる。ルテインのみられる左端(ヒラアノリ)が典型的な浅所性の浅所型、その隣(タマゴパロニア)が深所性の深所型、さらにその隣(ミドリゲ)が深所性だが藻体吸収スペクトルからは浅所型と判断されてしまう型と言える。右端のセネデスムスのようにルテインとロロキサントニンが共にみられる中間型は、海産緑藻の中にも該当するものがある。前記のヒトエグサやジュズモがこれに当たるのである。

ロロキサントニンを多量に含有する型は、シホナキサントニンを多量に含有する型から、ロロキサントニンをシ

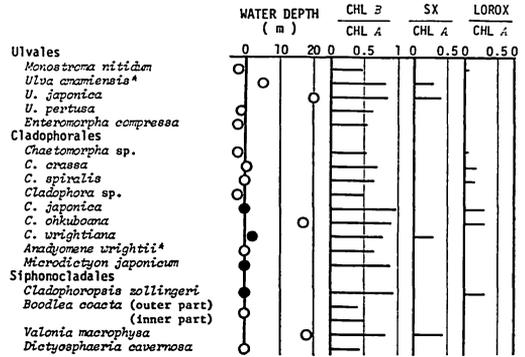


Fig. 16. Relative pigment composition of various algae of the Ulvales, the Cladophorales and the Siphonocladales. The value of loroxanthin was calculated using the molar absorption coefficient for pyrenoxanthin proposed by YAMAMOTO *et al.* (1969) because that for loroxanthin has not been proposed and the similarity between both the pigments was pointed out by GOODWIN in 1976 (YOKOHAMA, unpublished).

ホナキサントニンに酸化する機能を失うことによって生じたものと考えられる。そうするとシホナキサントニンもロロキサントニンも持たず、その代わりにルテインを多量に含有する浅所型の緑藻は、ミドリゲのようにロロキサントニンを多量に含有する型から、ルテインをロロキサントニンへ酸化する機能を失うことによって生じたものと考えたくなる。ジュズモやヒトエグサはそのような過程の中間段階にある種と考えることもできよう。

ルテインが浅所での生活に密接にかかわっていることは確かであると思われるが、浅所性の緑藻が上記のようにして生まれたのであるとすれば、それらは深所での生活に必要なシホナキサントニンの生成機能を失った結果、その前駆物質として蓄積したルテインの機能によって、浅所陽地での生活が可能になったというように解釈することができる。ロロキサントニンを多量に含有するミドリゲのような緑藻は、そのような過程で生まれた中間型を未だに保持している残存種みたいなものなのではないだろうか。

クダモ類が深所から浅所へ生活圏を広げつつある仲間とみなせるということはすでに述べた。ところがクダモ以外の緑藻の祖先も、シホナキサントニンを多量に含有した深所型だったのではないかと考えられるのである。このような見方をすると、少なくとも海産緑藻の起源はすべて深所に求められることになるが、緑藻が出現したとされる頃の地球の環境からも、その方が妥

当であるように思える。すなわち緑藻の出現した年代は少くとも10億年前までさかのぼるといえるが、その頃は太陽の紫外線を遮るオゾン層が未発達であったため、生物は海中の深所か陰所でなければ生きてゆけなかったらしいのである。

現在浅所陽地に生育している緑藻には、浅所性のクダモのようにシホナキサンチンとルテインとを共存させているものと、クダモ類以外の浅所種のようにシホナキサンチンを全く含有せずにルテインを含有しているものがある。前者は後者よりかなり遅れて浅所化したのであろうという見方も成り立つ。後者が岩盤を占めているのに対して、前者が主に暖海の礁湖の砂地などという、他の類の海藻の定着できない場所に進出しているということも、前者の浅所への出足の遅さを物語っているように思えるのである。

深所産のヤブレグサの色に対する興味から始めた仕事が意外な方へ発展してしまった。その中味は勝手な空想のような部分の方が多いように思えるが、空想もたまには事実となることもあろうかとも思う。ヤブレグサが緑色光を吸収する光合成色素を本当に持っていることが分かったことなど、その数少ない事例の1つと言えよう。あまり空想ばかりがふくらんでしまってはと、この辺で反省し筆をおくことにする。

引用文献

- AITZETMÜLLER, K., STRAIN, H. H., SVEC, W. A., GRANDOLFO, M. and KATZ, J. J. 1969. *Phytochemistry* 8: 1761-1770.
- ANDERSON, J. M. and BARRETT, J. 1979. *Chiba Foundation Symp.* 61. P. 81-104.
- 新崎盛敏 1953. *科学* 23: 530-531.
- DUYSSENS, L. N. M. 1952. *Transfer of excitation energy in photosynthesis*. Thesis, Utrecht.
- ENGELMANN, TH. W. 1883. *Bot. Zeitg.* 41: 1-32.
- ENGELMANN, TH. W. 1884. *Bot. Zeitg.* 42: 81-112.
- GOEDHEER, J. C. 1964. *Biochim. Biophys. Acta* 88: 304-317.
- GOODWIN, T. W. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. Academic Press, London.
- HALLDAL, P. and HALLDAL, K. 1973. *Norw. J. Bot.* 20: 99-108.
- HAGER, A. and STRANSKY, H. 1970. *Arch. Mikrobiol.* 72: 68-83.
- HAXO, F. T. and BLINKS, L. R. 1950. *J. Gen. Physiol.* 33: 389-422.
- JEFFREY, S. W. 1965. *Biol. Bull.* 135: 141-148.
- JEFFREY, S. W. 1968. *Biochim. Biophys. Acta* 162: 271-285.
- JERLOV, N. G. 1968. *Optical Oceanography*. Elsevier Publishing Co. Amsterdam-Oxford-New York.
- 影山明美・横浜康継 1977. *藻類* 25: 168-175.
- KAGEYAMA, A. and YOKOHAMA, Y. 1978. *Jap. J. Phycol.* 26: 151-155.
- KAGEYAMA, A., YOKOHAMA, Y., SHIMURA, S. and IKAWA, T. 1977. *Plant & Cell Physiol.* 477-480.
- KLEINIG, H. 1969. *J. Phycol.* 5: 281-284.
- KLEINIG, H. and EGGER, K. 1967. *Phytochemistry* 6: 1681-1686.
- KLEINIG, H., NITSCHKE, H. and EGGER, K. 1969. *Tetrahedron Lett.* No. 59: 5139-5142.
- LEVRING, T. 1967. *Bot. Mar.* 11: 72-80.
- LEVRING, T. 1969. *Proc. 6th Int. Seaweed symp.* p. 235-244.
- MURATA, N., NISHIMURA, M. and TAKAMIYA, A. 1966. *Biochim. Biophys. Acta* 112: 213-222.
- MURATA, N., NISHIMURA, M. and TAKAMIYA, A. 1966. *Biochim. Biophys. Acta* 126: 234-243.
- 村田紀夫 1968. *生化学* 40: 875-889.
- PRÉZELIN, B. B. and HAXO, F. T. 1976. *Planta (Berl.)* 128: 133-141.
- RAMUS, J., BEALE, S. I., MAUZERALL, D. and HOWARD, K. L. 1976a. *Mar. Biol.* 37: 223-229.
- RAMUS, J., BEALE, S. I. and MAUZERALL, D. 1976b. *Mar. Biol.* 37: 231-238.
- RICKETTS, T. R. 1971. *Phytochemistry* 10: 155-160.
- STEEMANN NIELSEN, E. 1975. *Marine Photosynthesis with Special Emphasis on the Ecological Aspects*. Elsevier Publishing Co. Amsterdam-Oxford-New York.
- STRAIN, H. H. 1951. *Manual of Phycology* (G. M. SMITH [ed.]) p. 243-262.
- STRAIN, H. H. 1965. *Bil. Bull.* 129: 366-370.
- 殖田三郎・岡田喜一 1938. *日本水産学会誌* 7: 229-236.
- WEBER, A. and CZYGAN, F.-C. 1972. *Arch. Mikrobiol.* 84: 243-253.
- YAMAMOTO, Y., YOKOYAMA, H. and BOETTGER, H. 1969. *J. Org. Chem.* 34: 4207-4208.
- 横浜康継 1973. *藻類* 21: 70-75.
- YOKOHAMA, Y., KAGEYAMA, A., IKAWA, T. and SHIMURA, S. 1977. *Bot. Mar.* 20: 433-436.
- YOKOHAMA, Y. and MISONOU, T. 1980. *Jap. J. Phycol.* 28: 219-223.

—学会録事—

新入会

住 所 変 更

本会会員石島渉氏は去る昭和 55 年 7 月 19 日逝去されました。

本会会員小林一雄氏は去る昭和 55 年 9 月 3 日逝去されました。

本会会員猪野俊平氏は去る昭和 56 年 7 月 4 日逝去されました。

ここに謹んで哀悼の意を表します。

日 本 藻 類 学 会

時代を先どりした標準生物顕微鏡

CFシステムの採用により、結像性能が飛躍的に向上しました。



OPTIPHOT ● 対物レンズ・接眼レンズには好評の光学系、CFシステムを採用。より鮮鋭な像が観察・撮影できます。● 照明系には、理想ケーラー照明装置・輝度の高い12V50Wハロゲンランプを採用。低倍から高倍まで切り換えなしで、自然色で明るいシャープな像が得られます。● 三眼鏡筒Fは、双眼部と連動したプリズムはねのけ式により、鮮鋭な写真が撮影できる設計です。

LABOPHOT ● Xシリーズの特長を保ちながら、シンプルで操作性の高い、コンパクトな顕微鏡です。● CFシステム、6V20Wのハロゲンランプの採用。内面反射によるフレア、ゴーストの除去など優れた光学系を備えています。● YF-21型は、三眼鏡筒Fにより、写真撮影も可能です。● ハロゲンランプがベース本体に内蔵され、机上スペースをとらないコンパクトサイズです。

Nikon 日本光学工業株式会社

本社・100東京都千代田区丸の内3-2-3(富士ビル)(03)214-5311(大代表)

大阪営業所・542大阪市南区安堂寺橋通3-58奥国ビル(06)251-7021(大代表)

● カタログご希望のかたは誌名と製品名をご明記のうえ本社宣伝課までどうぞ。

Nikon

生物顕微鏡

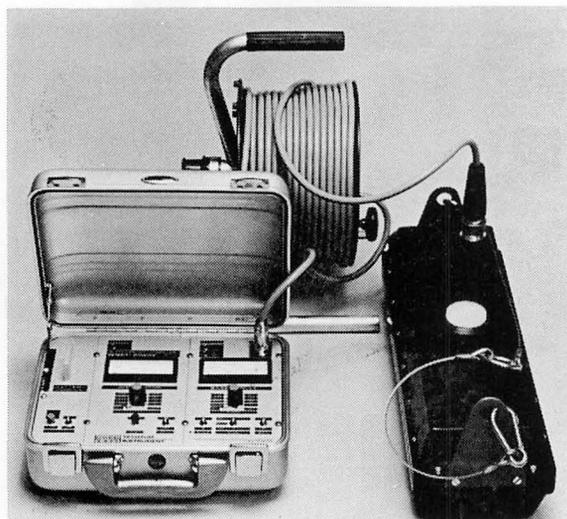
TECHTUM INST. SWEDEN

QUANTA SPECTROMETER QSM-2500

自記分光光量子計

可視域のスペクトル組成が

34秒の自動走査で測定できます。



特 徴

- ★ 測定波長範囲 400~740nm
- ★ 自動走査時間 10nmごと1秒(計34秒)
- ★ 受光面は余弦補正
- ★ AC、DC駆動
- ★ $Q \cdot \text{nm}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$ 、 nm^{-1} 単位で直読
- ★ 積分値は $Q \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$ の単位で直読
- ★ 水中容器は耐深150m
- ★ 野外用容器、ファイバガラス受光器

ACC-5 TECHTUM 藻類培養コントローラー 光栄養培養微生物の培養器

- ★ 藻類の対数的生育課程が得られる
- ★ 明暗誘導の同期培養ができる
- ★ 異種菌による汚染を防ぐ
- ★ 5種類までの独立培養を連続制御

詳しいカタログは御請求あり次第御送り致します。尚、照度、輝度、三刺激値、エネルギー量、光量子、日射量等の各種光測器がありますので御気軽に御問合せ下さい。

KYOKKO KYOKKO KYOKKO KYOKKO KYOKKO KYOKKO KYOKKO KYOKKO KYOKKO KYOKKO



日本総代理店

旭光通商株式会社

〒106 東京都港区東麻布1-5-2
飯倉ビル4階

TEL: 03-586-5251(代)

TLX: 2427093 KYOKKO J

環境科学の一大変革期におくる名著集!

環境と人間の科学

現代は環境科学の成立を促す一大転機の時代と言ってよい。本シリーズは、人類の科学の歴史がややもすれば見落しがちな面を、現代生活の周辺から取り上げ、境界領域を学際領域として意図し、環境の科学をスケッチしてみようとするものである。生物学、地学をベースにしつつ広く自然科学分野、さらに人文・社会科学領域へとテーマを広げ、科学的認識を図ろうとする。

■四六判・平均330ページ
〈既刊5冊・以降続刊〉

●環境と人間の科学 1

胞子と人間

——パリノロジーの世界——

川崎次男著 1,000円
旧来の古生物学に挑戦し、近代科学としての地球生物学の方法を、パリノロジーの権威である著者が斬新に展開している。

●環境と人間の科学 2

都市の環境

——日本の都市像——

正井泰夫著 1,000円
人間生活の場としての世界の都市の実態から、日本の都市のイメージを位置づけ、具体的な例証を豊富に示して人間のための都市を考察。

●環境と人間の科学 3

生きている渚

——海岸の科学——

荒巻 孚著 1,600円
日本列島の生命線である渚—海岸—の姿を、自然と社会生活の両面から科学的に解明。海と人間の原点を探る。

●環境と人間の科学 4

日本の水

——その風土の科学——

新井 正著 2,300円
水のもつ問題の底の深さについて、大気・大地・水の三者の関係をエネルギー収支の観点から解明。新しい環境観・地球観を提唱する。

●環境と人間の科学 5

海 藻

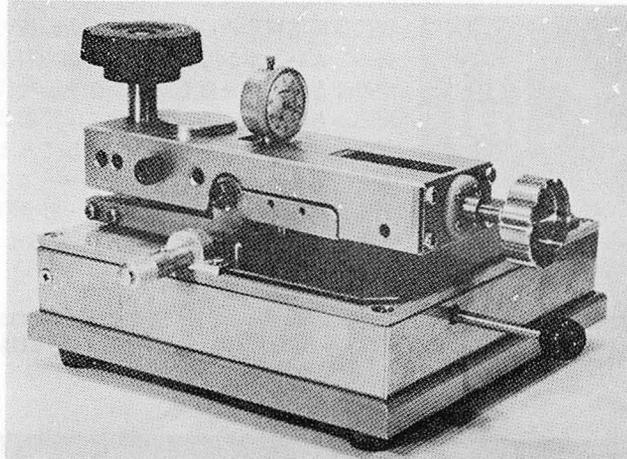
〈近刊〉

——その生理と生態——

横浜康継著 予1,800円
海藻という無名のものたちのもつ謎を平易に解き明かし、何億年も生き抜いた地球環境保身の知恵を学ぼうとする。

新製品の御案内

電子顕微鏡超薄切片用ガラスナイフ作製機



その他の
電子顕微鏡諸材料
写真用諸資材も
販売しておりますので
御用命下さい。

GK-1型
(意匠登録申請中)

EM資材直販センター

〒274 千葉県船橋市三山町5-6-1

☎ 0474(75)5783番

地方発送も行なっておりますので御用命下さい。

欧文学術文献専門

全国各大学紀要
各研究所報告
並に各学会報告

英・独・仏語・凡て迅速正確に印刷します
御用命を御願ひ致します

学術図書印刷株式会社

取締役社長 富田 潔

東京都練馬区豊玉北2の13 電話(991)3754 (992)2050

学 会 出 版 物

下記の出版物をご希望の方に頒布致しますので、学会事務局までお申し込み下さい。(価格は送料を含む)

1. 「藻類」バックナンバー 価格、会員は各号1,000円、非会員には各号1,500円、欠号：1巻1-2号、5巻1号、6巻1-3号、7巻1-3号、8巻1-3号、9巻1-3号。
2. 「藻類」索引 1-10巻、価格、会員1,000円、非会員1,500円。11-20巻、会員1,500円、非会員2,000円。
3. 山田幸男先生追悼号 藻類25巻増補, 1977. A 5版, xxviii+418頁。山田先生の遺影・経歴・業績一覧・追悼文及び内外の藻類学者より寄稿された論文50編(英文26, 和文24)を掲載。価格5,500円。
4. 日米科学セミナー記録 Contributions to the systematics of the benthic marine algae of the North Pacific. I. A. ABBOTT・黒木宗尚共編, 1972. B 5版, xiv+280頁, 6図版。昭和46年8月に札幌で開催された北太平洋産海藻に関する日米科学セミナーの記録で、20編の研究報告(英文)を掲載。価格3,000円。
5. 北海道周辺のコンブ類と最近の増養殖学的研究 1977. B 5版, 65頁。昭和49年9月、札幌で行なわれた日本藻類学会主催「コンブに関する講演会」の記録。4論文と討論の要旨。価格700円。

Publications of the Society

Inquiries concerning copies of the following publications should be sent to the Japanese Society of Phycology, c/o Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki-ken, 305 Japan.

1. Back numbers of the Japanese Journal of Phycology (Vols. 1-28, Bulletin of Japanese Society of Phycology). Price, 1,250 Yen per issue for members, or 1,800 Yen per issue for non member. Lack: Vol. 1, Nos. 1-2; Vol. 5, No. 1-2; Vol. 6, Nos. 1-3; Vol. 7, Nos. 1-3; Vol. 8, Nos. 1-3; Vol. 9, Nos. 1-3. (incl. postage, surface mail)
2. Index of the Bulletin of Japanese Society of Phycology. Vol. 1 (1953)-Vol. 10 (1962), Price 1,500 Yen for member, 2,000 Yen for non member, Vol. 11 (1963)-Vol. 20 (1972). Price 2,000 Yen for member, 2,500 Yen for non member. (incl. postage, surface mail)
3. A Memorial Issue Honouring the late Professor Yukio YAMADA (Supplement to Volume 25, the Bulletin of Japanese Society of Phycology). 1977, xxviii+418 pages. This issue includes 50 articles (26 in English, 24 in Japanese with English summary) on phycology, with photographs and list of publications of the late Professor Yukio YAMADA. Price, 6,000 Yen. (incl. postage, surface mail)
4. Contributions to the Systematics of the Benthic Marine Algae of the North Pacific. Edited by I. A. ABBOTT and M. KUROGI. 1972, xiv+280 pages, 6 plates. Twenty papers followed by discussions are included, which were presented in the U.S.-Japan Seminar on the North Pacific benthic marine algae, held in Sapporo, Japan, August 13-16, 1971. Price 4,000 Yen. (incl. postage, surface mail)
5. Recent Studies on the Cultivation of *Laminaria* in Hokkaido (in Japanese). 1977, 65 pages. Four papers followed by discussions are included, which were presented in a symposium on *Laminaria*, sponsored by the Society, held in Sapporo, September 1974. Price 700 Yen. (incl. postage, surface mail)

昭和56年9月17日 印刷
昭和56年9月20日 発行

©1981 Japanese Society of Phycology

禁 転 載
不 許 複 製

編集兼発行者

堀 輝 三

〒305 茨城県新治郡桜村天王台 1-1-1
筑波大学生物科学系内

印刷所

学術図書印刷株式会社

〒176 東京都練馬区豊玉北2丁目13番地

発行所

日本藻類学会

〒305 茨城県新治郡桜村天王台 1-1-1
筑波大学生物科学系内
振替 宇都宮 4887

Printed by GAKUJUTSU TOSHO Printing Co.

本誌の出版費の一部は文部省科学研究費補助金(研究成果刊行費)による。

藻 類

目 次

増田道夫：千島列島産紅藻ノコギリヒバ属の新種について……………(英文)	151
原田 彰・山岸高旺：シロゴニウム属(緑藻類)の細胞学的研究 2. <i>S. melano-</i> <i>sporum</i> と <i>S. sticticum</i> の減数分裂……………(英文)	157
堀 輝三：イワヅタ属(緑藻類)における配偶子形成時の核分裂の微細構造……………(英文)	163
P. M. シバリンガム・R. イスマイル：緑藻 <i>Cladophora</i> spp. による微量金属汚染 の生物モニター 1. 高濃度圧と生物濃縮のモード……………(英文)	171
日野修次・安藤和夫：河川堆積物に含まれる高分子有機物の緑藻 <i>Chlorella pyre-</i> <i>noidosa</i> ЧИСК に与える影響……………(英文)	181
布施洋美・猪川倫好：テトラセルミス(ブラシノ藻類)の光合成炭酸固定について……………	189
斎藤昭二：培養した <i>Synedra</i> 属 2 種における殻長の減少……………	197
安藤一男：日本産コケ付着ケイソウ (4)……………	201
総 説	
横浜康継：海産緑藻における緑色光吸収色素，その生態的意義と系統的意義……………	209



ノ ー ト

井上 勲・堀口健雄：微細藻類ノート (4)……………	180
阪井与志雄：北海道大学理学部附属海藻研究施設……………	188
千原光雄：中国における藻類研究の現状 (1)……………	207
新刊紹介……………	196
学会録事……………	223