

# The Japanese Journal of PHYCOLOGY

## CONTENTS

- Kazutosi Nisizawa, Masato Ouchi, Ken Takahashi and Tadatake Oku:**  
Glutamine synthetase and glutamate synthase system of the marine  
green alga, *Bryopsis maxima* ..... 1
- Young-Meng Chiang and Chin Chen:** Studies on *Dotyophycus yamadae*  
(OHMI et ITONO) ABBOT et YOSHIZAKI (Nemalionales, Rhodophycophyta)  
from southern Taiwan ..... 10
- Denise de C. Bicudo and Carlos E. de M. Bicudo:** Three new species of  
*Salpingoeca* (Chrysophyceae) from southern Brazil ..... 16
- Singo Nakazawa:** Cell plate orientation in the first cleavage of *Fucus* eggs ..... 21
- Kiyoshi Tanaka and Masaaki Matsuura:** Studies on the growth and devel-  
opment in *Spirogyra* IV. A close relationship between the diurnal  
movement pattern and the photosynthetic rates of *Spirogyra* filaments ..... 24
- Masahiro Notoya and Mitsuhisa Asuke:** Influence of temperature on the  
zoospore germination of *Ecklonia stolonifera* OKAMURA (Phaeophyta,  
Laminariales) in culture ..... (in Japanese) 28
- Hiroyuki Yokochi:** Seasonal variation of spore-liberation and development of  
tetraspores of *Euclidean gelatinae* J. AGARDH (Gigartinales, Rhodophyta)  
at Iriomote Island ..... (in Japanese) 34
- Toshinobu Terawaki, Koji Nozawa and Iwao Shinmura:** Studies on morpho-  
genesis in the early stages of *Sargassum* (Phaeophyceae, Fucales). II.  
*Sargassum patens* ..... (in Japanese) 38
- Haruyoshi Takayama:** Studies on *Noctiluca scintillans* (Dinophyceae)-I.  
Tentacle and rod organ: their functions ..... (in Japanese) 44
- Masahiro Notoya:** Tetrasporophyte of *Gloeophycus Koreanum* I. K. LEE et  
YOO (Rhodophyta, Gloiosiphoniaceae) in culture ..... (in Japanese) 51
- ◆ • ◆
- Announcement ..... 53

## 日本藻類学会

日本藻類学会は昭和27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5,000円(学生は3,500円)を前納するものとする。団体会員の会費は8,000円、賛助会員の会費は1口20,000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 108 東京都港区港南4-5-7 東京水産大学水産植物学教室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 1952, 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 6,000 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 Laboratory of Phycology, Tokyo University of Fisheries, Konan 4 chome, Minato-ku, Tokyo, 108 Japan.

#### 昭和58, 59年度役員

会長: 岩本 康三 (東京水産大学)  
庶務幹事: 今野 敏徳 (東京水産大学)  
会計幹事: 高原 隆明 (専修大学)  
評議員:

秋山 和夫 (東北区水産研究所)  
秋山 優 (鳥根大学)  
有賀 祐勝 (東京水産大学)  
千原 光雄 (筑波大学)  
堀 輝三 (筑波大学)  
市村 輝直 (東京大学)  
岩井 寿夫 (三重大学)  
巖佐 耗三 (大阪大学)  
西澤 一俊 (日本大学)  
野沢 洽治 (鹿児島大学)  
奥田 武男 (九州大学)  
阪井與志雄 (北海道大学)  
谷口 森俊 (三重大学)  
月舘 潤一 (南西海区水産研究所)  
梅崎 勇 (京都大学)  
山本 弘敏 (北海道大学)

#### 編集委員会:

委員長 三浦 昭雄 (東京水産大学)  
幹事 庵谷 晃 (東京水産大学)  
委員 秋山 優 (鳥根大学)  
" 有賀 祐勝 (東京水産大学)  
" 千原 光雄 (筑波大学)  
" 堀 輝三 (筑波大学)  
" 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 1983-1984

President: Kozo IWAMOTO (Tokyo Univ. of Fisheries)  
Secretary: Toshinori KONNO (Tokyo Univ. of Fisheries)  
Treasurer: Takaaki KOBARA (Senshu University)

#### Members of Executive Council:

Kazuo AKIYAMA (Tohoku Reg. Fish. Res. Laboratory)  
Masaru AKIYAMA (Shimane University)  
Yusho ARUGA (Tokyo Univ. of Fisheries)  
Mitsuo CHIHARA (University of Tsukuba)  
Terumitsu HORI (University of Tsukuba)  
Terunobu ICHIMURA (University of Tokyo)  
Toshio IWAI (Mie University)  
Kozo IWASA (Osaka University)  
Kazutosi NISIZAWA (Nihon University)  
Koji NOZAWA (Kagoshima University)  
Takeo OKUDA (Kyushu University)  
Yoshio SAKAI (Hokkaido University)  
Moritoshi TANIGUCHI (Mie University)  
Junichi TSUKIDATE (Nansei Reg. Fish. Res. Laboratory)  
Isamu UMEZAKI (Kyoto University)  
Hirotohi YAMAMOTO (Hokkaido University)

#### Editorial Board:

Akio MIURA (Tokyo Univ. of Fisheries), Editor-in-chief  
Teru IORIYA (Tokyo Univ. of Fisheries), Secretary  
Masaru AKIYAMA (Shimane University)  
Yusho ARUGA (Tokyo Univ. of Fisheries)  
Mitsuo CHIHARA (University of Tsukuba)  
Terumitsu HORI (University of Tsukuba)  
Kozo IWASA (Osaka University)  
Hideo IWASAKI (Mie University)  
Munena KUROGI (Hokkaido University)  
Hiromu KOBAYASHI (Tokyo Gakugei University)  
Tomitaro MASAKI (Hokkaido University)  
Seiji MIGITA (Nagasaki University)  
Kazutosi NISIZAWA (Nihon University)  
Tadao YOSHIDA (Hokkaido University)

## 日本藻類学会第7回大会のお知らせ

日本藻類学会昭和58年度(第7回)大会を下記の要領で開催します。本大会は北海道大学理学部附属海藻研究施設創設50周年を記念して室蘭市で開催されます。遠いところで参加者各位には大変ご迷惑なものと存じますが、ふるってご参加されることを願います。

- (1) 期 日 昭和58年7月25日(月)～26日(火)  
 (2) 会 場 室蘭プリンスホテル 室蘭市中央町  
 1丁目4番9号 TEL 0143-22-5555

国鉄室蘭駅(室蘭本線終着駅下車, 函館方面から列車ご利用の方は東室蘭駅で乗り換え室蘭駅へ, 札幌及び千歳空港から電車L特急ライラックご利用の方は終着駅, 他の特急をご利用の方はやはり東室蘭駅で乗り換えて下さい。)から徒歩5分。東室蘭駅からバスご利用の方は道南バス東町ターミナル発, 中央町または室蘭駅行きて中央町下車(30分, 料金170円)ホテルの前に停車します。

なお, 30巻4号で会場は室蘭市文化センターとご案内しましたが, 今般都合により室蘭市プリンスホテルに変更になりましたのでご了承下さい。

(3) 研究発表 今回は会場の都合上, 発表形式を口頭発表のみとしますのでご了承下さい。発表は1演題につき討論を含め15分とします。

(4) 参加申込み 講演の有無にかかわらず, 大会に参加を希望される方は, 同封の振替用紙にてお申込み下さい。参加費は2,000円です。懇親会(7月25日夜開催)に出席希望の方はさらに会費2,000円を添えてお送り下さい。

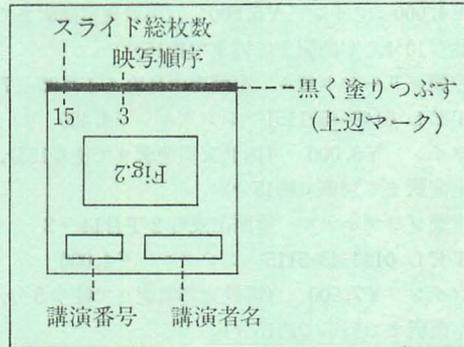
なお, 学会開催前日の7月24日(日)には海藻研究施設創設50周年記念の式典等が下記のとおり開催されます。大会参加者には, 参加申込み締切り後にあらためてご案内いたしますのでよろしくお願い致します。

公開講演会 午後1時 室蘭市労働会館  
 記念式典 午後4時 室蘭プリンスホテル  
 記念祝賀会 午後5時

(5) 講演申込み 講演ご希望の方は, 氏名(共同の場合は演者に◎印), 所属, 題名, 要旨(A4 400字詰原稿用紙横書き使用, 題名共600字以内)を添えて大会準備委員会までお申込み下さい。

(6) 発表方法 口頭発表に限ります。図・表はすべて35mmスライドに限り, スライド枠には, 下図のように講演者氏名, 講演者番号(後日大会プログラムに

てお知らせします。), スライド総枚数, 映写順序, 上辺マークを記入して下さい。同一図, 表をくり返し映写したい場合は, 同じものをそれに見合う枚数でご用意下さい。

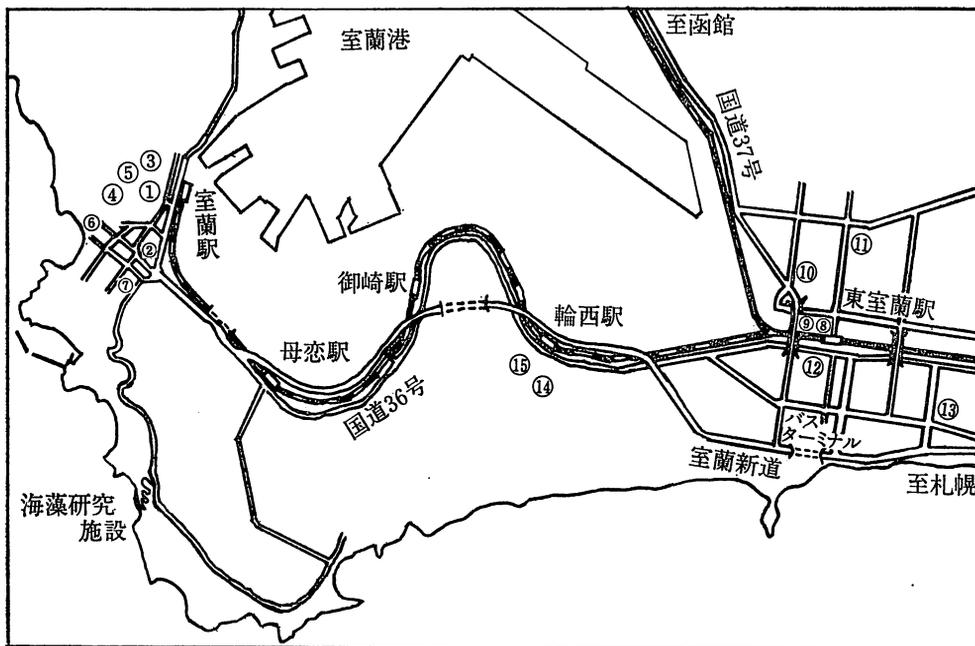


(7) 宿泊案内 下記の宿泊施設リストを参照し, 各自でお早めに直接申込んで下さい。

- ①室蘭プリンスホテル 室蘭市中央町1丁目4-9  
 TEL 0143-22-5555 シングル ¥6,500  
 ツイン ¥11,100 (大会会場, 学会員は優先予約できるよう配慮してあります。)
- ②室蘭パークホテル 室蘭市中央町3丁目3-10  
 TEL 0143-24-8090 シングル ¥4,000  
 ツイン ¥7,000 (徒歩10分)
- ③ホテルハーバー 室蘭市沢町4-11  
 TEL 0143-23-8888 シングル ¥4,000  
 ツイン ¥7,000 (徒歩5分)
- ④ふみ野旅館 室蘭市幕西町8-6  
 TEL 0143-22-8281 素泊り ¥3,500~4,000  
 朝食 ¥700 (徒歩3分)
- ⑤旅館清川 室蘭市幕西町7-17  
 TEL 0143-22-1871 素泊り ¥3,000 朝食  
 ¥500 (徒歩3分)
- ⑥ビジネスホテルオーシャン 室蘭市幸町14-19  
 TEL 0143-23-1191 シングル ¥4,000  
 (徒歩15分)
- ⑦ビジネスホテルつるや 室蘭市本町2丁目1-6  
 TEL 0143-23-2183 素泊り ¥3,000 朝食  
 ¥500 (徒歩15分)

- ⑧室蘭第一ホテル 室蘭市中島町3丁目21-6  
TEL 0143-43-8881 シングル ¥3,800  
ツイン ¥7,600 (国鉄東室蘭駅から室蘭駅まで列車で約15分)
- ⑨室蘭パレスホテル 室蘭市中島町3丁目5  
TEL 0143-43-0888 シングル ¥3,800  
(国鉄東室蘭駅から室蘭駅まで列車で約15分)
- ⑩ビジネスホテル室蘭ロイヤル 室蘭市中島町2丁目21-11 TEL 0143-44-8421 シングル ¥4,000 ツイン ¥6,800 (国鉄東室蘭駅まで徒歩10分, 室蘭駅まで列車で約15分)
- ⑪室蘭グリーンホテル 室蘭市中島町1丁目25-7  
TEL 0143-45-1151 シングル ¥4,400 ツイン ¥8,000 (国鉄東室蘭駅まで徒歩15分, 室蘭駅まで列車で約15分)
- ⑫室蘭プラザホテル 室蘭市東町2丁目14-2  
TEL 0143-43-5115 シングル ¥4,000 ツイン ¥7,500 (国鉄東室蘭駅まで徒歩5分, 室蘭駅まで列車で約15分)
- ⑬ビジネスホテル北海 室蘭市日の出町1丁目19-14 TEL 0143-44-4285 素泊り ¥3,400  
(日の出町2丁目バス停からバス東町バスターミナル乗り換え中央町まで約40分)
- ⑭旅館春日館 室蘭市輪西町1丁目16  
TEL 0143-44-2168 素泊り ¥3,500  
(輪西駅前バス停からバスで中央町まで約20分)
- ⑮大沢旅館 室蘭市輪西町1丁目7  
TEL 0143-44-3168 素泊り ¥3,000~4,000  
(輪西駅前バス停からバスで中央町まで約20分)
- (8) 大会参加申込み締切り  
昭和58年4月30日(木)
- (9) 申込み先, 要旨送り先  
〒051 室蘭市母恋南町1丁目13番地  
北海道大学理学部附属海藻研究施設内  
日本藻類学会第7回大会準備委員会  
振替 小樽9-18642  
電話 0143-22-2846

室蘭市宿泊施設案内図



## Glutamine Synthetase and Glutamate Synthase System of the Marine Green Alga, *Bryopsis maxima*\*

Kazutoshi NISIZAWA\*\*, Masato OUCHI\*\*, Ken TAKAHASHI\*\*  
and Tadatake OKU\*\*\*

\*\*Department of Fisheries, College of Agriculture and Veterinary Medicine,  
Nihon University, Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo, 154 Japan

\*\*\*Department of Agricultural Chemistry, the same College and University

NISIZAWA, K., OUCHI, M., TAKAHASHI, K. and OKU, T. 1983. Glutamine synthetase and glutamate synthase system of the marine green alga, *Bryopsis maxima*. Jap. J. Phycol. 31: 1-9.

The glutamine synthetase (EC 6.3.1.2) and the ferredoxin-dependent glutamate synthase (EC 1.4.7.1) of the marine green macro-alga, *Bryopsis maxima* were investigated. The enzyme system was extracted from chloroplasts, and the activities were quantitatively estimated by thin layer chromatography and with scanners. In addition, the glutamine synthetase activity was measured with an amino acid autoanalyzer. By an indirect method,  $\gamma$ -glutamyltransferase activity of the glutamine synthetase was also confirmed.

*Key Index Words:* *Bryopsis maxima*; *glutamate synthase*; *glutamine synthetase*; *thin layer chromatography*.

In place of glutamate dehydrogenase (GDH; NAD-dependent, EC 1.4.1.2 and NADP-dependent, EC 1.4.1.4), it has recently been claimed that glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GOGAT) mainly catalyze the first step of reductive amination of amino acids in green plants. This is based on the fact that the  $K_m$  values of GDH for ammonia are very high in general beyond its concentration in chloroplasts.

Historically, the GS (EC 6.3.1.2) from *Escherichia coli* was first extensively purified, and its enzymatic properties were studied in detail (WOOLFOLK *et al.* 1966). The enzyme has, in addition, been known to catalyze the transfer of the  $\gamma$ -glutamyl

group of glutamine to hydroxylamine added to the reaction mixture (O'NEIL and JOY 1974). A similar enzyme was also found in fission yeasts (BROWN *et al.* 1973).

On the other hand, a GOGAT by which glutamate and an amino acid are formed from glutamine and a 2-oxo acid in the presence of NADH or NADPH has been found to exist in *Aerobacter aerogens* (TEMPEST and MEERS 1970) and *Escherichia coli* (MILLER and STADTMAN 1972). The GOGAT of the latter bacterium was found, like GS, to be a high molecular weight enzyme whose classification number was first assigned to be EC 2.6.1.53 but is now changed to EC 1.4.1.13 (NADP).

More recently, it has been found that a ferredoxin-dependent GOGAT (EC 1.4.7.1) is existent in the chloroplasts of higher plants and that it catalyzes ammonia assimilation, being coupled with GS (LEA and MIFLIN 1974; ARIMA and KUMAZAWA 1977).

The algal GS and GOGAT system was

\* This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (Project No. 448017) from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan.

Abbreviations: EDTA, ethylenediaminetetraacetate; DTT, 1,4-dithiothreitol; BSA, bovine serum albumin.

investigated first using extracts from the blue-green algae, *Nostoc ellipsosporum* and *Anabena cylindrica* (LEA and MIFLIN 1975a) and also *Chlorella fusca* var. *vacuolata* (LEA and MIFLIN 1975b), using the whole cell as well as extracts from the latter alga. Most recently, this enzyme system was investigated in a green macro-alga, *Caulerpa simpliciuscula* (MCKENZIE *et al.* 1979).

In the meantime, we have investigated NADP-dependent GDH of *Bryopsis maxima*, which belongs to different family from the Caulerpaceae, and found that its  $K_m$  value for ammonia is much higher than that of *C. simpliciuscula* GDH (NADP) (GAYLER and MORGAN 1976) but far smaller than those reported in higher plants (NISIZAWA *et al.* 1978). Therefore, it was interesting for us not only to determine the kind of GS and GOGAT system in this macroalga, but also to compare its enzymatic property, if possible, with those of algae already reported. However, determination of the products by this enzyme system has been carried out after separation by paper electro-phoresis which seemed to be very complicated work (LEA and MIFLIN 1975a, LEA and MIFLIN 1975b, MCKENZIE *et al.* 1979).

Thus, we attempted to use the techniques of thin layer chromatography and amino acid autoanalysis without using isotopic technique for the determination of reaction products, and appreciable results were obtained.

## Materials and Methods

*Algal material:* *Bryopsis maxima* was collected, as necessary from the coast of Inubo Cape, Choshi, Chiba Prefecture in January to May, 1981. Fresh fronds were quickly brought back to laboratory in an ice box, and used as an enzyme source soon after or after culturing for several days in a water tank with clean seawater under aeration.

*Chemicals:* Ferredoxin spinach is the product of Sigma Chemical Comp. All other chemicals were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

*Extraction of enzyme:* Firstly, chloroplasts were isolated from algal fronds following the procedure of WRIGHT and GRANT (1978). Approximately 200 g of fresh fronds were chopped with scissors and ground in a mortar with 100 ml breaking medium in the presence of a small amount of quartz sand for 10 min. The breaking medium consists of 0.7 M NaCl, 50 mM Tricine, 50 mM  $MgSO_4$ , 1 mM  $MnCl_2$ , 2 mM EDTA, 5 mM sodium-ascorbate, 0.1 mM DTT and 0.2% (w/v) BSA, at pH 7.5. The debris was squeezed by hand through 4 layers of gauze, and the extract was centrifuged at  $1000\times g$  for 1 min. The dark green precipitate was washed with 100 ml resuspension medium, pH 7.5, and centrifuged at  $750\times g$  for 10 min. The same wash was repeated twice. The resuspension medium was the same composition as the breaking medium except that it contained 0.5% (w/v) BSA and no DTT. It was confirmed by microscopic examination that the precipitate thus obtained consists of clear chloroplast particles.

The chloroplast pellets were then suspended in 50 ml of 50 mM Tricine buffer, pH 7.5, containing 5 mM EDTA, 12.5 mM 2-mercaptoethanol, and were sonicated under icecooling 30 times for 30 sec each with a M.S.E. 150 W sonicator (Otake type 5202 PZT). The broken chloroplast suspension was centrifuged at  $12,000\times g$  for 20 min and the supernatant was dialyzed in a cellophane tube against 4 changes of 300 ml of 50 mM Tricine buffer, pH 7.5, containing 12.5 mM 2-mercaptoethanol for 1 hr each. To the dialyzed solution was added 40 mM  $MgCl_2$  and it was used as the enzyme solution for investigation.

This enzyme solution was available for experiment after storage at  $-40^\circ C$  for several days, though the activity decreased gradually. The enzyme was, however, mostly inactivated by storage for more than a week.

*Measurement of chlorophyll content in enzyme solution:* The enzyme solution (1 ml) was concentrated to dryness under reduced pressure, and extracted with 15 ml acetone at room temperature. The mixture was

centrifuged at  $1,000\times g$  for 5 min. The supernatant dissolving chlorophylls and other pigments in it was analyzed for total chlorophylls with a Shimadzu Photoelectric photometer UV-200 bas'ng on the following equation of ARNON (1949).

Total chlorophylls ( $\mu\text{g/ml}$ ) =  $20.2 A_{645} + 8.02 A_{663}$ , where the absorbance  $A$  was obtained by subtraction of the absorbance at 750 nm from the absorbances measured at 645 nm and 663 nm, respectively. The enzyme solutions prepared by the procedure described above contained ordinarily around  $80 \mu\text{g}$  total chlorophylls per ml.

*Enzyme assays.* a) *GS activity*: The reaction mixture consisted of 33.3 mM Tricine buffer, pH 7.5, 1.3 mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 3.3 mM L-glutamate, 26.7 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM ATP, and enzyme in a total volume of 3 ml. The enzyme reaction was carried out at  $30^\circ\text{C}$  together with the control which lacked L-glutamate. The reaction mixture contained around  $80 \mu\text{g}$  of total chlorophylls. The enzyme reaction was initiated by addition of ATP to the reaction mixture lacking ATP.

b) *GOGAT activity*: The reaction mixture consists of 30.8 mM Tricine buffer, pH 7.5, 4.8 mM L-glutamine, 4.8 mM 2-oxoglutarate, 8 mM amino oxyacetate, 0.16 mg ferredoxin, 9.6 mM sodium-dithionite, 19.2 mM  $\text{NaHCO}_3$  and enzyme in a total volume of 2.6 ml. The enzyme reaction was carried out at  $30^\circ\text{C}$  together with control which lacked L-glutamine. The reaction mixture contained around  $80 \mu\text{g}$  of total chlorophylls. The mixture of sodium-dithionite and  $\text{NaHCO}_3$  must be prepared just before the experiment. The enzyme reaction was initiated by addition of the dithionite mixture to the reaction mixture lacking this reagent.

c)  *$\gamma$ -Glutamyltransferase activity of GS*: According to the method of HUBBARD and STADTMANN (1967) for bacterial enzymes, the reaction mixture was prepared. It consisted of 0.1 M L-glutamine, 0.3 M  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ , 20 mM  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$ , 0.4 mM ADP 3 mM  $\text{MnCl}_2$ , 20 mM imidazole and enzyme in a total volume of 3 ml at pH 7.0. The mixture was incubated at  $30^\circ\text{C}$  together

with a blank with lacked the enzyme, and it contained around  $80 \mu\text{g}$  of total chlorophylls. Then, aliquots of the reaction mixture were removed at intervals and  $\gamma$ -glutamylhydroxamate formed was estimated by reading the absorbance at 540 nm with a Shimadzu Model UV-200S double-beam spectrophotometer.

d) *GDH activity*: The assay procedure was entirely identical to that used in a previous work (NISIZAWA *et al.* 1978). The enzyme reaction was carried out with an enzyme extract containing about  $0.65 \mu\text{g}$  protein.

*General procedure of thin layer chromatography (TLC)*: Kieselgel 60 F<sub>254</sub> glass plates ( $20\times 20$  cm) manufactured by the Merk Corp. were used, and the solvent was a mixture of phenol: water (3:1, v/v). Developing was stopped when the front of the solvent reached 10 cm in height. The TL chromatogram was dried at  $80^\circ\text{C}$  for 60 min. The spots were colored with ninhydrin or Fluorescamine (MENDEZ and LAI 1975) reagent by heating at  $120^\circ\text{C}$  for 5 min for the former or by standing at room temperature for the latter. Then, the chromatogram was subjected to autoanalysis by a Shimadzu Model CS-920 high speed TLC scanner for the ninhydrin-staining spots. For this, a 496 nm wavelength and a light bundle of  $1.25\times 1.25$  mm were used. When the Fluorescamine reagent was used, the analysis was made with a Shimadzu Model CS-910 double-beam TLC scanner at 365 nm wavelength and a light bundle of  $9.0\times 0.8$  mm. These scanners were in either case connected with a Shimadzu Model RIA chromatopack to record the data automatically.

*Determination of reaction products in GS and GOGAT reaction mixtures.*

a) *By TLC*: The reaction mixture together with the control soon after and 120 min after the incubation were heated at  $100^\circ\text{C}$  for 2 min. Then, they were concentrated in an Evapo Quick under reduced pressure to a syrup, and 10 ml acetone were added to each sample. After mechanical shaking for 5 min, the mixtures were centrifuged at  $1,000\times g$  for 10 min and the yellowish green superna-

tants were discarded. The precipitates were extracted with 1 ml water each at 80°C for 5 min and centrifuged at 1,000×g for 10 min. The supernatants were analyzed by TLC for the reaction products.

b) *With amino acid autoanalyzer*: The final aqueous solution of the reaction products, parts of which were applied to TLC analysis as described above, was diluted to an appropriate volume to contain 0.2–0.4 μM per ml of amino acids to be analyzed and subjected to analysis with a Hitachi Model KLA-5 amino acid autoanalyzer.

*Determination of protein*: Using crystalline bovine serum albumin as a standard, the protein in enzyme solution was estimated by LOWRY-FOLIN method (LOWRY *et al.* 1951).

## Results

*TL chromatograms of the reaction products by GS and GOGAT*: The spots of amino acids were colored with ninhydrin reagent. The resulting chromatograms are shown in Fig. 1. A large spot corresponding to L-glutamine occurs among the products after incubation with GS while the spot of L-glutamate appears among the products by GOGAT. In addition, faint spots like glycine and alanine are visible below the spots of glutamine in blanks as well as samples.

*GS activity measured by TLC scanner method*: From the two series of reaction mixtures of the same ingredients, TL chromatograms were prepared as in Fig. 1. Each was colored with ninhydrin or fluorescamine reagent and analyzed by TLC scanning. The results are shown in Tables 1 and 2. It is clear in Table 1 that the area of L-glutamate used as substrate decreased notably after incubation, whereas a fairly large area of L-glutamine appeared as a new spot of amino acid. A similar result was obtained in Table 2. However, far smaller amounts of L-glutamine were also found in blanks after incubation. This may be due to reactions between endogenous substrates preexistent in enzyme preparation.

*GOGAT activity measured by TLC scanning method*: Two series of TL chromatograms were prepared in the same way as with GS, and each was stained with ninhydrin or Fluorescamine reagent. The results from their scanning analysis are shown in Tables 3 and 4. In contrast to the GS series, L-glutamine used as substrate is decreased after incubation whereas L-glutamate is increased far beyond the amount of the one endogenously formed in both Tables.

*γ-Glutamyltransferase activity of GS*: The result is shown in Table 5. The activity was clearly detectable after incubation

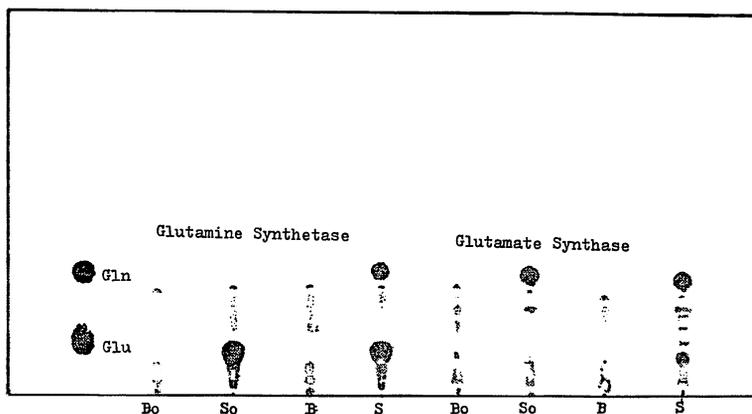


Fig. 1. TL chromatograms of reaction products by GS and GOGAT after staining with ninhydrin reagent. B<sub>0</sub> and B are blanks before and after (120 min) incubation, respectively. S<sub>0</sub> and S are sample reaction mixtures before and after (120 min) incubation.

Table 1. Reaction products\* by GS measured with a TLC scanner after coloring with ninhydrin reagent.

Marker	Amino acid	Scanning distance (mm)	Area coefficient
Glu	—	25.2	52725
Gln	—	45.3	42203
Spot			
B <sub>0</sub>			
Blank before incubation	—	—	—
B			
Blank after incubation for 120 min	Glu	26.0	160
S <sub>0</sub>			
Sample before incubation	Glu	24.6	50095
S			
Sample after incubation for 120 min	Glu	24.8	44005
	Gln	46.8	5162

\* Data for amino acids other than Glu and Gln are omitted in this Table.

Table 2. Reaction products\* by GS measured with a TLC scanner after coloring with Fluorescamine reagent.

Marker	Amino acid	Scanning time (min)	Area coefficient
Glu	—	1.04	25857
Gln	—	1.98	20723
Spot			
B <sub>0</sub>			
Blank before incubation	—	—	—
B			
Blank after incubation for 120 min	Glu	0.96	1924
	Gln	2.01	233
S <sub>0</sub>			
Sample before incubation	Glu	0.9	26465
S			
Sample after incubation for 120 min	Glu	0.94	21725
	Gln	1.94	4376

\* Data for amino acids other than Glu and Gln are omitted in this Table.

for 30 min under the present reaction condition. The reaction mixture lacking ADP and arsenate also produced a remarkable amount of  $\gamma$ -glutamylhydroxamate, while that lacking L-glutamate showed no appreciable

increase in the amount of this hydroxamate. Therefore, L-glutamine seemed to form under the present reaction condition some compound which shows a high absorbance at 540 nm or produce to  $\gamma$ -glutamylhydroxamate

Table 3. Reaction products\* by GOGAT measured with a TLC scanner after coloring with ninhydrin reagent.

Marker	Amino acid	Scanning distance (mm)	Area coefficient
Glu	—	28.8	50540
Gln	—	44.3	51423
Spot			
B <sub>0</sub>			
Blank before incubation	—	—	—
B			
Blank after incubation for 120 min	Glu	29.6	358
	Gln	46.4	48
S <sub>0</sub>			
Sample before incubation	Glu	28.8	132
	Gln	46.0	40498
S			
Sample after incubation for 120 min	Glu	28.1	775
	Gln	44.5	33030

\* Data for amino acids other than Glu and Gln are omitted in this Table.

Table 4. Reaction products\* by GOGAT measured with a TLC scanner after coloring with Fluorescamine reagent.

Marker	Amino acid	Scanning time (min)	Area coefficient
Glu	—	0.97	41288
Gln	—	1.80	39532
Spot			
B <sub>0</sub>			
Blank before incubation	—	—	—
B			
Blank after incubation for 120 min	Glu	0.98	547
S <sub>0</sub>			
Sample before incubation	Glu	1.0	1306
	Gln	1.85	11383
S			
Sample after incubation for 120 min	Glu	0.93	2835
	Gln	1.77	9751

\* Data for amino acids other than Glu and Gln are omitted in this Table.

Table 5.  $\gamma$ -Glutamylhydroxamate production\* from L-glutamine and hydroxamine during incubation (120 min) with GS. B; blank\*\*, S; sample reaction mixture.

Incubation time (min)	B	S	S—B
0	11.9	14.3	2.3
15	12.9	15.2	2.3
30	13.6	16.7	3.1
45	14.6	18.1	3.5
60	15.8	20.0	4.2
75	16.7	21.4	4.7
90	17.6	22.9	5.3
105	18.1	24.3	6.2
120	19.0	26.2	7.2

\*  $\mu\text{M}/\text{mg}$  protein in reaction mixture.

\*\* Lacks enzyme; other blanks which lacked glutamine or lacked glutamine, ADP and arsenate gave productions of only 0.5 to 1.0  $\mu\text{M}$   $\gamma$ -glutamylhydroxamate in reaction mixture. The blank that lacked ADP and arsenate, however, gave productions of 10.5 to 16.7  $\mu\text{M}$   $\gamma$ -glutamylhydroxamate during the same incubation periods.

Table 6. Amino acids\* determined with an autoanalyzer in reaction mixtures of GOGAT. B<sub>0</sub>, B, S<sub>0</sub> and S are same as in Fig. 1.

Amino acid	B <sub>0</sub>	B	S <sub>0</sub>	S
Lys	0.82	1.05	—	1.90
His	—	0.19	9.62	—
NH <sub>3</sub>	3.44	26.98	7.28	25.66
Asp	0.24	0.72	1.06	0.93
Gln	0.38	1.43	406.30	322.85
Thr	0.44	1.18	—	—
Glu	1.03	1.82	3.38	10.15
Gly	1.13	3.03	1.28	14.86
Ala	0.41	1.53	0.62	24.90

\*  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of aqueous solution containing the reaction products extracted from the reaction mixture.

itself.

*GOGAT activity measured with amino acid analyzer*: The result is shown in Table 6. It is clear that far more L-glutamate was produced after incubation than before whereas L-glutamine was notably decreased after incubation. Moreover, it is noticeable that glycine and alanine were also increased remarkably after incubation while no appreciable change was found with as-

partate. Ammonia was increased, too, but the extent was almost identical in both sample and blank.

*Km value of GS for ammonia*: Changing the concentration of NH<sub>4</sub>Cl in the reaction mixture of GS from 1 mM to 4 mM, the extents of L-glutamine production were determined by TLC scanner method. The amounts obtained were treated by the LINEWEAVER-BURK procedure and the Km of GS

for ammonia was estimated graphically to be 0.7 mM.

*GDH activity*: An enzyme solution extracted from chloroplasts of *B. maxima* in the same way as the extraction of GS and GOGAT was used as the enzyme source. The specific activity of GDH was 0.08 in terms of absorbance per  $\mu\text{g}$  protein per min.

## Discussion

In place of the electrophoretic separation (ATFIELD and MORRIS 1961) of reaction products hitherto employed in most cases, TLC scanner method was introduced into the detection of the GS and GOGAT system in the present work. The method seemed rather simple since the TLC scanner is disposable. In addition, the activity of this enzyme system was detected readily with the amino acid autoanalyzer, too. Although the applicability of this method was not examined further in the present work, it seems to be useful for the investigation of GS and GOGAT system in detail. In any case, however, it is shown by the present investigation that the GS and GOGAT system is present in the chloroplast of *B. maxima*. This is the second proof of the presence of these enzymes in macroalgae. However, we succeeded only in detecting the enzyme activity in the chloroplasts of this alga, so that use of such newly designed procedures remains in future for further enzymatic study.

The  $K_m$  for ammonia of GS from *B. maxima* was estimated to be 0.7 mM by TLC scanner method. The value is, however, very high as compared with that of pea leaves in which the values of  $1.9 \times 10^{-5}$  M was obtained. However this has been estimated by an indirect method in which liberated phosphate from ATP was measured by the FISKE-SUBBAROW assay (O'NEAL and JOY 1974). In contrast, the  $K_m$  of *Bryopsis*-GS was about 34 times lower than that was obtained for the GDH (NADP) of the same alga (NISIZAWA *et al.* 1978). In addition, the GDH activity of chloroplasts of this

alga was 0.08 per  $\mu\text{g}$  protein per min when expressed by decrease in the absorbance at 340 nm. The value suggests that the activity may be approximately 1/8 that of an extract from the whole algal fronds, by rough estimate from the data reported in our previous paper (NISIZAWA *et al.* 1978). Therefore, it is reasonable to assume that ammonia is reductively assimilated into amino acids catalyzed mainly by the GS and GOGAT system in the chloroplasts of *B. maxima*.

However, the above reasoning is inconsistent with that which has been proposed by GAYLER and MORGAN (1976) for the GDH (NADP) of *Caulerpa simpliciuscula*. From the fact that this enzyme localizes in the chloroplast and has a very low  $K_m$  for ammonia such as 0.4 to 0.7 mM, the authors have assumed that the enzyme plays a role in reductive amination independent of the GS and GOGAT of the alga. On the other hand, there is a report in which the *de novo* synthesis of GDH (NADP) of *Chlorella* was conspicuously enhanced when it was grown in high ammonia and low nitrate media (KRETOVICH *et al.* 1970).

Taking into account these results as well as our results from *B. maxima*, not only GDH but also GS and GOGAT seem to work under a complex relationship in ammonia assimilation. The mode of their physiological roles, therefore, seems more or less different from each other depending on plant species and/or on its physiological condition.

## Acknowledgements

We are deeply indebted to Mr. M. YOSHIZAKI, Department of Botany, Faculty of Science, Toho University, Funabashi, Chiba, for his kindness in collecting the algal material. We are also very grateful to Mr. H. AMANO, Yakult Company, Tokyo and Mr. Y. WATANABE, Banyu Pharmaceutical Company, Tokyo, for their assistance in preliminary experiments.

## References

- ARIMA, Y. and KUMAZAWA, K. 1977. Evidence of ammonium assimilation via the glutamine synthetase-glutamate synthase in rice seedling roots. *Plant & Cell Physiol.* 18: 1121-1129.
- ARNON, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.
- ATFIELD, G.N. and MORRIS, C. J. O. 1961. Analytical separation by high-voltage paper electrophoresis. Amino acids in protein hydrolysates. *Biochem. J.* 81: 606-614.
- BROWN, C.M., BURN, V. J. and JOHNSON, B. 1973. Presence of glutamate synthase in fission yeasts and its possible role in ammonia assimilation. *Nature* 246: 115-116.
- GAYLER, K.R. and MORGAN, W. R. 1976. An NADP-dependent glutamate dehydrogenase in chloroplasts from the marine green alga *Caulerpa simpliciuscula*. *Plant Physiol.* 58: 283-287.
- HUBBARD, J.S. and STADTMAN, E.R. 1967. Regulation of glutamine synthetase II. Patterns of feedback inhibition in microorganisms. *J. Bacteriol.* 93: 1045-1055.
- KRETOVICH, W. L., EUSTIGNEVA, Z. G. and TOMOVA, N.G. 1970. Effect of nitrogen source on glutamate dehydrogenase and alanine dehydrogenase of *Chlorella*. *Can. J. Bot.* 48: 1179-1183.
- LEA, P.J. and MIFLIN, B.J. 1974. Alternative route for nitrogen assimilation in higher plants. *Nature* 251: 614-616.
- LEA, P.J. and MIFLIN, B.J. 1975a. Glutamate synthase in blue-green algae. *Biochem. Soc. Trans.* 3: 381-384.
- LEA, P.J. and MIFLIN, B.J. 1975b. The occurrence of glutamate synthase in algae. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 64: 856-862.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., and RANDALL, R. J. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-273.
- McKENZIE, G. H., CH'NG, AIL. and GAYLER, K. R. 1979. Glutamine synthetase/glutamate:  $\alpha$ -ketoglutarate aminotransferase in chloroplasts from the marine alga *Caulerpa simpliciuscula*. *Plant. Physiol.* 63: 578-582.
- MENDEZ, E. and LAI, C. Y. 1975. Reaction of peptides with Fluorescamine on paper after chromatography or electrophoresis. *Anal. Biochem.* 65: 281-292.
- MILLER, R. E. and STADTMAN, E. R. 1972. Glutamate synthase from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 247: 7407-7419.
- NISIZAWA, K., ANZAI, H. and OKUGAWA, Y. 1978. Glutamate dehydrogenase of a green alga, *Bryopsis maxima*. *Jap. J. Phycol.* 26: 145-150.
- O'NEAL, D. and JOY, K. W. 1974. Glutamine synthetase of pea leaves. *Plant Physiol.* 54: 773-779.
- TEMPEST, D. W. and MEERS, J. L. 1970. Synthesis of glutamate in *Aerobacter aerogens* by a hitherto unknown route. *Biochem. J.* 117: 405-407.
- WOOLFOLK, C. A., SHAPIRO, B. and STADTMAN, E. R. 1966. Regulation of glutamine synthetase from *Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys.* 116: 177-192.
- WRIGHT, S. W. and GRANT, B. R. 1978. Properties of chloroplasts isolated from siphonous algae. Effects of osmotic shock and detergent treatment on intactness. *Plant Physiol.* 61: 768-771.

西澤一俊\*・大内正人\*・高橋 研\*・奥 忠武\*\*： 緑藻オオハネモのグルタミンシンターゼ (GS)-グルタメートシンターゼ (GOGAT) 系

マクロ藻における GS/GOGAT 系 (NH<sub>3</sub> の初期固定酵素系) の研究は極めて少ないので、オオハネモにおけるその存在を新しい検出法により証明した。まず、既に高等植物などで報告されている方法により、その新鮮藻体から葉緑体を抽出し、適当な条件下で超音波破壊をして酵素液を作った。酵素反応条件も従来の文献に従ったが、反応生成物 (GS の作用では Gln の生成、GOGAT の作用では Glu の生成) は、反応液からアセトンで沈殿させ、同時に光合成色素を除いた後、その水溶液から薄層クロマトグラフィーにより得たスポットを、ニンヒドリンやフルオレッサミンにて染色してからクロマトスキャンナーにかけて定量した。一方、反応生成物を自動アミノ酸分析でも定量した。薄層法で測定した GS の NH<sub>3</sub> に対する Km は 0.7 mM であった。

(\*154 東京都世田谷区下馬 3-34-1 日本大学農獣医学部水産学科 \*\*同農芸化学科)

**Studies on *Dotyophycus yamadae* (OHMI et ITONO) ABBOTT  
et YOSHIZAKI (Nemalionales, Rhodophycophyta)  
from southern Taiwan**

Young-Meng CHIANG and Chin CHEN

*Institute of Oceanography, National Taiwan University  
Taipei, Taiwan, Republic of China*

CHIANG, Y.-M. and CHEN, C. 1983. Studies on *Dotyophycus yamadae* (OHMI et ITONO) ABBOTT et YOSHIZAKI (Nemalionales, Rhodophycophyta) from southern Taiwan. Jap. J. Phycol. 31: 10-15.

*Dotyophycus yamadae* (OHMI et ITONO) ABBOTT et YOSHIZAKI is first reported for Taiwan. Studies on the material at hand showed that it possessed, in addition to the characteristics of this species, some features which had not been mentioned in the original description of this alga or elsewhere: it was dioecious and had a prominent fusion cell at basal portion of the mature cystocarp.

This study not only supports ABBOTT (1976) in that the carpogonial branch in *Dotyophycus* is equivalent to an entire assimilatory filament, but also interpretes each carpogonial branch in the cluster as being a branch equivalent to a branch of an assimilatory filament system.

*Key Index Words:* assimilatory filament; carpogonial branch; cystocarp; *Dotyophycus yamadae*; *Nemalionales*; *Rhodophycophyta*; Taiwan.

*Dotyophycus* was described by ABBOTT in 1976 on the basis of the material collected from deep-water of the Hawaiian Islands. She characterized the genus by the origin of the carpogonial branch, manner of the initiation of gonimoblast initial and the subsequent fusion of cells of the carpogonial branch and lower cells of the gonimoblast. So far only two species, *D. pacificum* ABBOTT the type species, and *D. yamadae* (OHMI et ITONO) ABBOTT et YOSHIZAKI reported from southern Japan and the Hawaiian Islands have been included in this genus.

In the course of a study on the family Helminthocladaceae of Taiwan, we have collected a number of noteworthy algae from southern Taiwan. Among these collections some of *Liagora*-like specimens were found having female reproductive structures similar to those of *Dotyophycus*, and they were identified as *D. yamadae*.

Subsequent examinations of our material

showed that it possessed some features which had not been mentioned in the original description of this alga or elsewhere.

#### Observations

The plants (Fig. 8) at hand are moderately incrustated with lime, but not very lubricous except near the apices. Fronds are caespitose, very often destituting lime at the very base, cylindrical, but somewhat compressed when dried, about 3-4 (6.5; 4.5) cm tall, 1.0-1.5 (1-2.5) mm wide (parenthetical numbers from descriptions of OHMI et ITONO and ABBOTT et YOSHIZAKI, respectively) and repeatedly ramified in a dichotomous manner with narrow axil or rarely in an irregular umbellate manner.

The central axis is composed of rather narrow filaments, and thinner rhizoidal ones. Cells of filaments are nearly cylindrical, about 16 to 32  $\mu\text{m}$  thick. Assimilatory filaments are 5 or 6 times dichotomous or trichotomous.

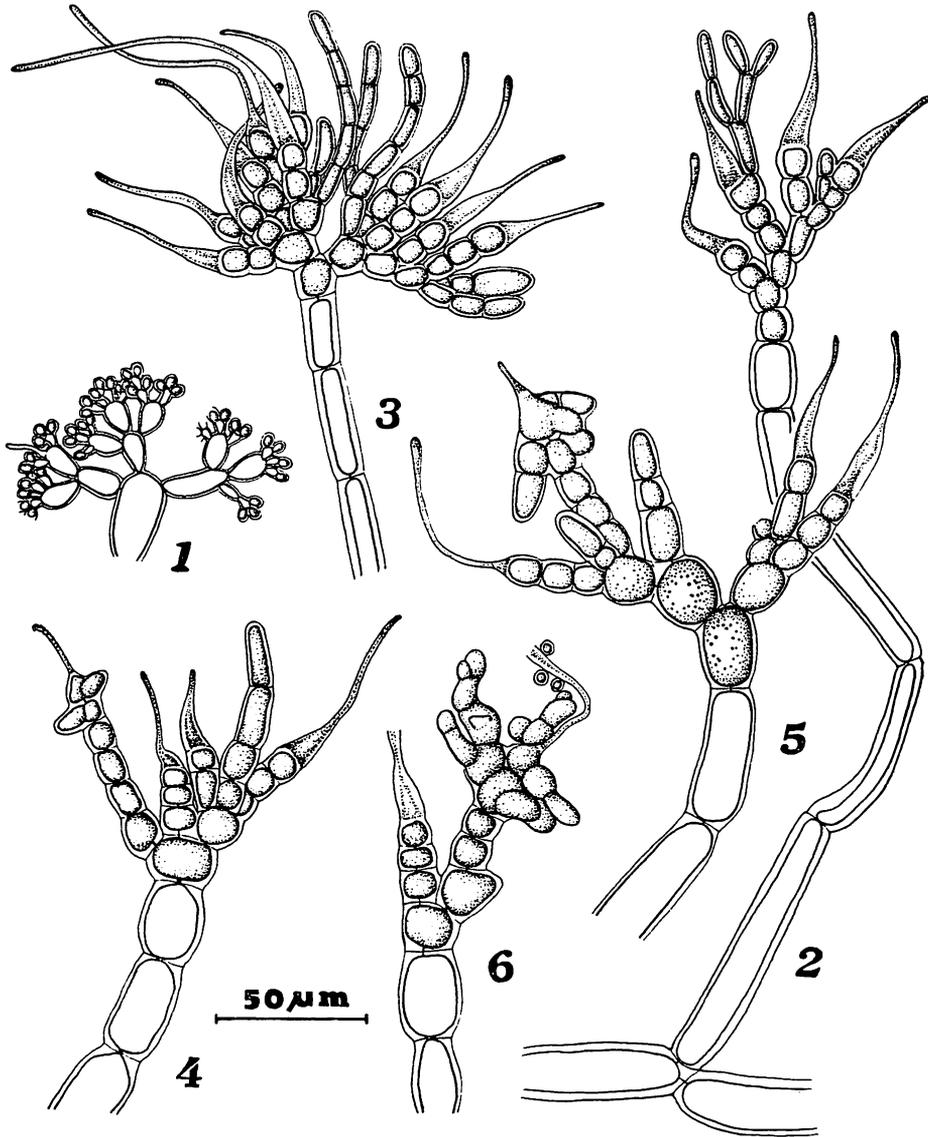


Fig. 1. Spermatangia.

Fig. 2. A cluster of carpogonial branches born on a medullary filament, showing an assimilatory filament arising from the hypogynous cell of a carpogonial branch of the third order.

Fig. 3. A cluster of carpogonial branches, showing as many as 11 carpogonial branches and several assimilatory filaments arising from a medullary filament.

Fig. 4. Gonimoblast initials arising from the two daughter cells of carpogonium, showing only one carpogonium in the cluster fertilized.

Figs. 5-6. Young stages of gonimoblast filaments, showing very little change in appearance of carpogonial branch after fertilization.

Cells in the lower and medial parts of the assimilatory filaments are usually large, inflated and irregular in shape, while those in the upper parts, ellipsoidal or obovoid.

Ultimate cells are often provided with short or long colorless hairs. (Fig. 9)

The species is dioecious. Like many species of *Helminthora*, *Liagora* and *Liagoropsis* (cf.

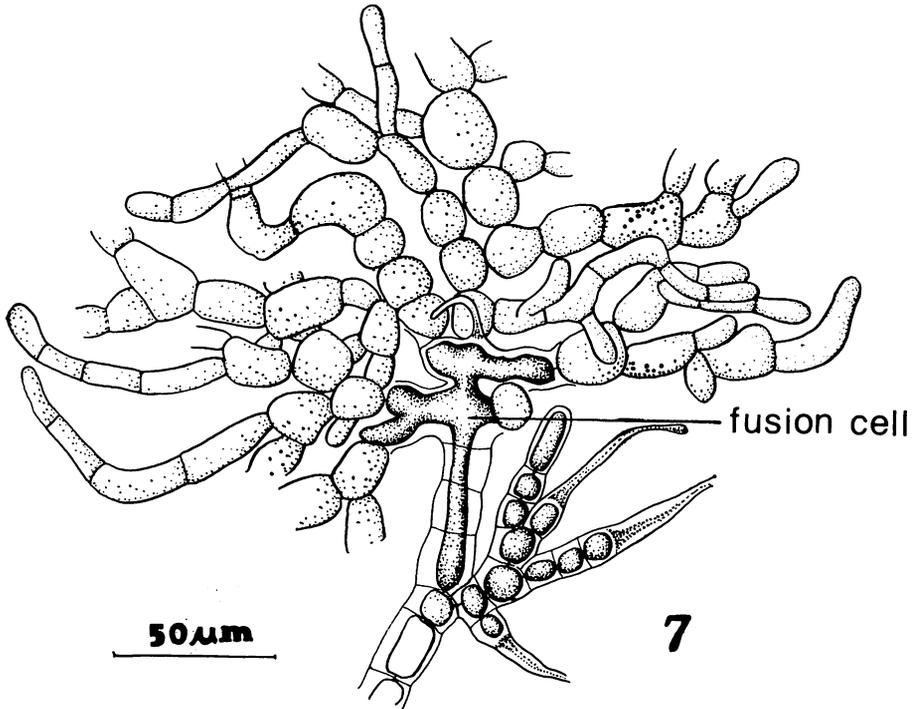


Fig. 7. Basal portion of mature gonimoblast, showing creeping filaments and irregularly branched fusion cell.

CHIANG, 1971), the spermatangia (Fig. 1) of this species are formed on the terminal part of the ultimate cell of the assimilatory filament and crowded in corymbose manner.

Carpogonial branches are composed of 2 to 7, mostly 3 to 5 (3 or 4) cells (parenthetical numbers from OHMI et ITONO's description) and are produced from a special unbranched filament arising directly from medullary filaments (Fig. 2). The supporting cell of the first order of carpogonial branch is usually round to ellipsoidal in shape (Figs. 2-6). From the supporting cell, usually 1 to 3 carpogonial branches, or an assimilatory filament, are produced (Figs. 3-5). In most occasions from the lowest or the cell second to the lowest one of the first order of carpogonial branches, one or two (rarely 3) secondary carpogonial branches, or an assimilatory filament or both are produced (Figs. 2-5). In the same manner the third and fourth orders of carpogonial branches may be laterally produced from

the carpogonial branch of the second order or from the assimilatory filament produced from the carpogonial branch (Figs. 2-5), making the number of carpogonial branches up to 10 or more in a medullary filament system (Fig. 3). On rare occasions a single carpogonial branch arising terminally from a branch of an assimilatory filament was also observed (Fig. 9).

Only one carpogonial branch in a cluster of carpogonial branches was fertilized (Figs. 4-7). After fertilization, the carpogonium divided transversely to form two daughter cells, and gonimoblast initials were laterally issued from them (Figs. 4-6). The gonimoblast initials divided to form a profusely branched, spreading gonimoblast mass (Figs. 6-7). Cells in the lower part of the gonimoblast are usually large, ellipsoidal to obovoid, about 20-25  $\mu\text{m}$  in size and lightly stained. Carposporangia are produced terminally from the upright branches of the gonimoblast (Fig. 11). They are ellipsoidal to ovoid,

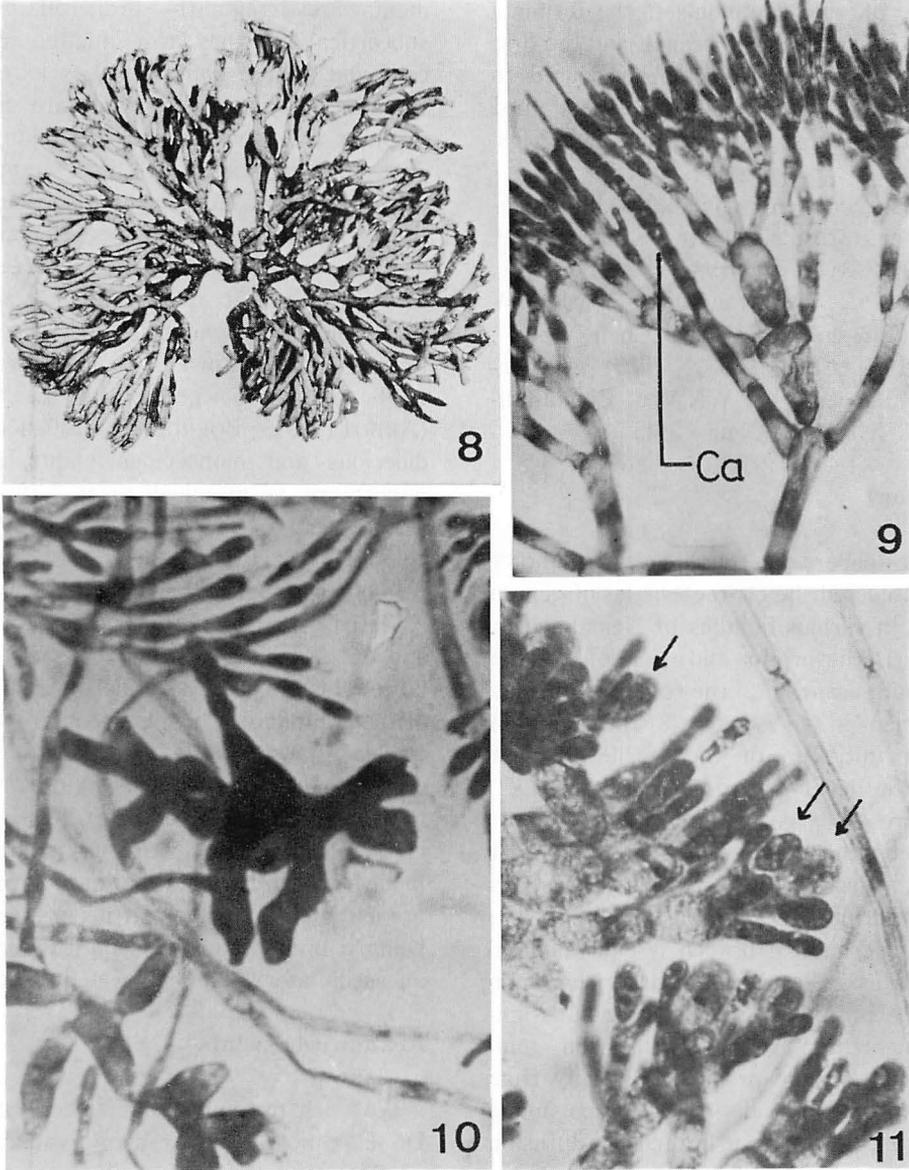


Fig. 8. Habit of a plant, collected at Chuan-fan-shih, Pingtung Hsien, Taiwan.  $\times 1$ .

Fig. 9. A cluster of assimilatory filaments, showing trichogyne-like hairs and a single carpogonial branch (Ca) which arises terminally from a branch of the cluster.  $\times 400$ .

Fig. 10. A fusion cell.  $\times 500$ .

Fig. 11. Upper portion of mature gonimoblast, showing carposporangia arising terminally from erect branches of the gonimoblast and also carposporangia (arrows) whose cytoplasm divides irregularly.  $\times 500$ .

about  $8-12 \times 14-18 \mu\text{m}$ . Very often the cytoplasm of the carposporangia divides transversely or obliquely in two, or irregularly into four, parts but without clear septation among them (Fig. 11). This phenomenon is

also illustrated in Fig. 9 by ABBOTT (1976). No widening of the pit connection between carpogonium and adjacent cells occurred at early stages of the development of the carposporophyte (Figs. 4-6), but at

maturity of the gonimoblast, the terminal cells of the carpogonial branch and the first formed cells of the gonimoblast fused to form an irregularly branched, darkly stained mass at the base of the carposporophyte (Figs. 7 and 10).

Material examined: Chuan-fan-shih, Ping-tong Hsien, (21°56'N, 120°48.9'E) 13. V. 1979, Chen 79098 ♀; 3. V. 1980, Chen 80267a ♂, Chen 80267b ♀. Nanwan (about 6 km WNW of Chuan-fan-shih), 12. V. 1979, Chen 79087 ♀; 18. XI. 1979, Chen 79133 ♀, 79134 ♀. Tantzuan (about 4.5 km WNW of Chuan-fan-shih), 13. XII. 1979, Chen 79145 ♀.

### Discussion

In her paper on *Dotyophycus*, ABBOTT (1976) discussed the characteristics of genera included in various families of Nemalionales. That is (1) the origin and position of the carpogonial branch; (2) the sequence of early development in the zygote; (3) the time and place of initiation of the sterile filament around the developing gonimoblast and (4) the nature of carposporangia.

Based on these four points, we found that our plants fit very well with the characteristics of the genus *Dotyophycus*. That is: (1) the carpogonial branch is equivalent to an entire assimilatory filament, arising from the medulla in the same fashion as an assimilatory filament; (2) after fertilization, gonimoblast initials are produced laterally from the two daughter cells of the carpogonium and divide to form a branched, diffusing gonimoblast mass; (3) no sterile filaments are produced in the vicinity of the developing gonimoblast, nor around the mature cystocarp and (4) carposporangia are produced terminally from the erect branches of the gonimoblast.

So far only two species, *D. pacificum* ABBOTT and *D. yamadae* (OHMI et ITONO) ABBOTT et YOSHIZAKI, are included in this genus. From ABBOTT and YOSHIZAKI (1981), we find that our plants resemble the latter in: (1) carpogonial branches which usually have several laterals; (2) assimilatory fila-

ments are irregularly branched; (3) the subcortical layer has large, inflated, irregular cells and (4) the gonimoblast is extensively spread. However our plants are dioecious whereas the Japanese ones are monoecious. A prominent fusion cell (Figs. 7 and 10) is usually present at the basal portion of the cystocarp in our plants whereas none or an obscure one (cf. ABBOTT et YOSHIZAKI 1981) are present in those collected from Japan and the Hawaiian Islands respectively. Since some species of *Trichogloea* (PAPENFUSS, 1946) and *Liagora*, such as *L. farinosa* (ABBOTT, 1945; BOERGESEN, 1949), have both dioecious and monoecious plants, and no importance is attached to it (ABBOTT et DOTY 1960). We thus regard our plants belonging to *D. yamadae*.

In our plants a carpogonial branch usually repeatedly issues other carpogonial filaments and/or assimilatory filaments to form a large cluster (Fig. 3) which is reminiscent of the assimilatory filaments constructing the cortical layer. This kind of carpogonial cluster not only supports ABBOTT (1976) that the carpogonial branch of *Dotyophycus* is equivalent to an entire assimilatory filament but also indicates that each carpogonial branch in the cluster can be interpreted as being a branch homologous with a branch of an assimilatory filament system.

### Acknowledgements

We wish to express our sincere thanks to Dr. I. ABBOTT for her many valuable suggestions and the loan of the manuscript of ABBOTT and YOSHIZAKI's paper.

### References

- ABBOTT, I. A. 1945. The genus *Liagora* (Rhodophyceae) in Hawaii. B. P. Bishop Mus. Occ. Rep. 18: 145-169.
- ABBOTT, I. A. 1976. *Dotyophycus pacificum* gen. et sp. nov., with a discussion of some families of Nemaliales (Rhodophyta). Phycologia 15: 125-132.
- ABBOTT, I. A. and DOTY, M. S. 1960. Studies in the Helminthocladiaceae. II. *Trichogloeoopsis*.

- Amer. J. Bot. 47: 632-640.
- ABBOTT, I. A. and YOSHIKAWA, M. 1981. A second species of *Dotyophycus* (Nemaliales, Rhodophyta) that emphasizes the distinctness of a diffuse gonimoblast. *Phycologia* (in press).
- BOERGESEN, F. 1949. Some marine algae from Mauritius. Additions to the parts previously published. *Kgl. Danske Vidensk. Selskab. Biol. Meddel.* 21: 1-48.
- CHIANG, Y. M. 1971. Observations on the development of spermatangia in some genera of the Helminthocladiaceae. *Phycologia* 10: 163-167.
- OHMI, H. and ITONO, H. 1976. A new species of the genus *Liagoropsis* (Rhodophyta) from southern Japan. *Journ. Jap. Bot.* 51: 199-203.
- PAPENFUSS, G. F. 1946. Structure and reproduction of *Trichogloea requienii* with a comparison of the genera of Helminthocladiaceae. *Bull. Torrey Bot. Club* 73: 419-438.

江 永棉・陳 晴：台湾産ニセコナハダ（紅藻ウミゾウメン目）

本種が台湾から初めて記載報告された。得られた標本では原記載を初めこれまでの報告で記述されていないくつかのことがわかった。すなわち雌雄異株であることと成熟した嚢果の基部に顕著な癒合細胞がある。この研究はニセコナハダのカルポゴン枝は同化系に相当し、各カルポゴン枝は同化系組織の枝に相当するという ABBOTT (1976) の見解を支持している。(中華民国台湾台北国立台湾大学海洋研究所)

## Three new species of *Salpingoeca* (Chrysophyceae) from Southern Brazil

Denise de C. BICUDO and Carlos E. de M. BICUDO

*Secção de Ficologia, Instituto de Botânica, Caixa postal  
4005, 01000-São Paulo, SP. BRASIL*

BICUDO, D. C. and BICUDO, C. E. M. 1983. Three new species of *Salpingoeca* (Chrysophyceae) from southern Brazil. Jap. J. Phycol. 31: 16-20.

Three new species of *Salpingoeca*, *S. ampullacea* D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov., *S. brevicollis* D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov., and *S. caudiculata* D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov. are described on the grounds of their lorica morphology and based on material collected from "Lago das Ninféas" (Lily Pond) in the City of São Paulo, southern Brazil. This is the first record of the occurrence of this genus of epiphytes in Brazil.

*Key Index Words:* Brazil; Chrysophyceae; epiphytes; Monosigales; *Salpingoeca ampullacea* sp. nov.; *Salpingoeca brevicollis* sp. nov.; *Salpingoeca caudiculata* sp. nov.; *Salpingoecaceae*; taxonomy.

In July of 1980, we began a survey of the epiphytic algae of the "Lago das Ninféas" (Lily Pond), located in the "Parque Estadual das Fontes do Ipiranga", in the City of São Paulo, southern Brazil. During the course of our investigation we came across three very distinct populations, each very homogenous, of *Salpingoeca* (Salpingoecaceae, Monosigales, Chrysophyceae), that we could identify with none of the species already described. They are thus proposed as new to science. Furthermore, this is the first record of the occurrence of *Salpingoeca* in Brazil.

### Description of the Species

#### 1. *Salpingoeca ampullacea* D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov. (Figs. 2-3)

Solitarii individui vel gregarii; lorica sessili, forma ampullacea, basi subglobosa, continuans abrupte longo collo, circa duos tertius longitudinem ab lorica, latetibus ab initio parallelis, post divergentes ample ad apicem cujus latitudinis proxime aequa parte subglobosa, 12.2-17.3  $\mu\text{m}$  long, 6.2-8.0  $\mu\text{m}$  lat.,

6.4-8.3  $\mu\text{m}$  lat. apert. celula implens totam lorica ad median colli, 14.0  $\mu\text{m}$  long. 7.3-8.0  $\mu\text{m}$  lat.; collo membranaceo lateribus rectis vel levissime convexis, modice divergentibus ad apicem, 6.6  $\mu\text{m}$  long., 6.5  $\mu\text{m}$  lat. apert.; flagello tres vel quattuor longitudinem cellulae, 50.0  $\mu\text{m}$  long.; unos vel duobus contractis vacuolis.

Origo: Brasilia, Status Sancti Pauli, Municipium Sancti Pauli, Sancti Pauli, "Parque Estadual das Fontes do Ipiranga", Hortus Botanicus, lacus Nimpharum, super pilos foliaries et folia modificata *Salvinia herzogii* de la Sota, lectus D. C. Bicudo, 30. IV. 1981.

Holotypes: Figurae nostrae 2-3.

Individual solitary or gregarious; lorica sessile, vase-like, base subglobose, suddenly projecting into a long neck about 2/3 of the total length of the lorica, sides at first parallel, then broadly divergent toward the apex whose width is approximately the same as that of the subglobose portion, 12.2-17.3  $\mu\text{m}$  long, 6.2-8.0  $\mu\text{m}$  broad at base, 6.4-8.3  $\mu\text{m}$  broad at opening; cell completely filling the lorica to half way up the neck, 14.0  $\mu\text{m}$  long, 7.3-8.0  $\mu\text{m}$  broad; collar with straight

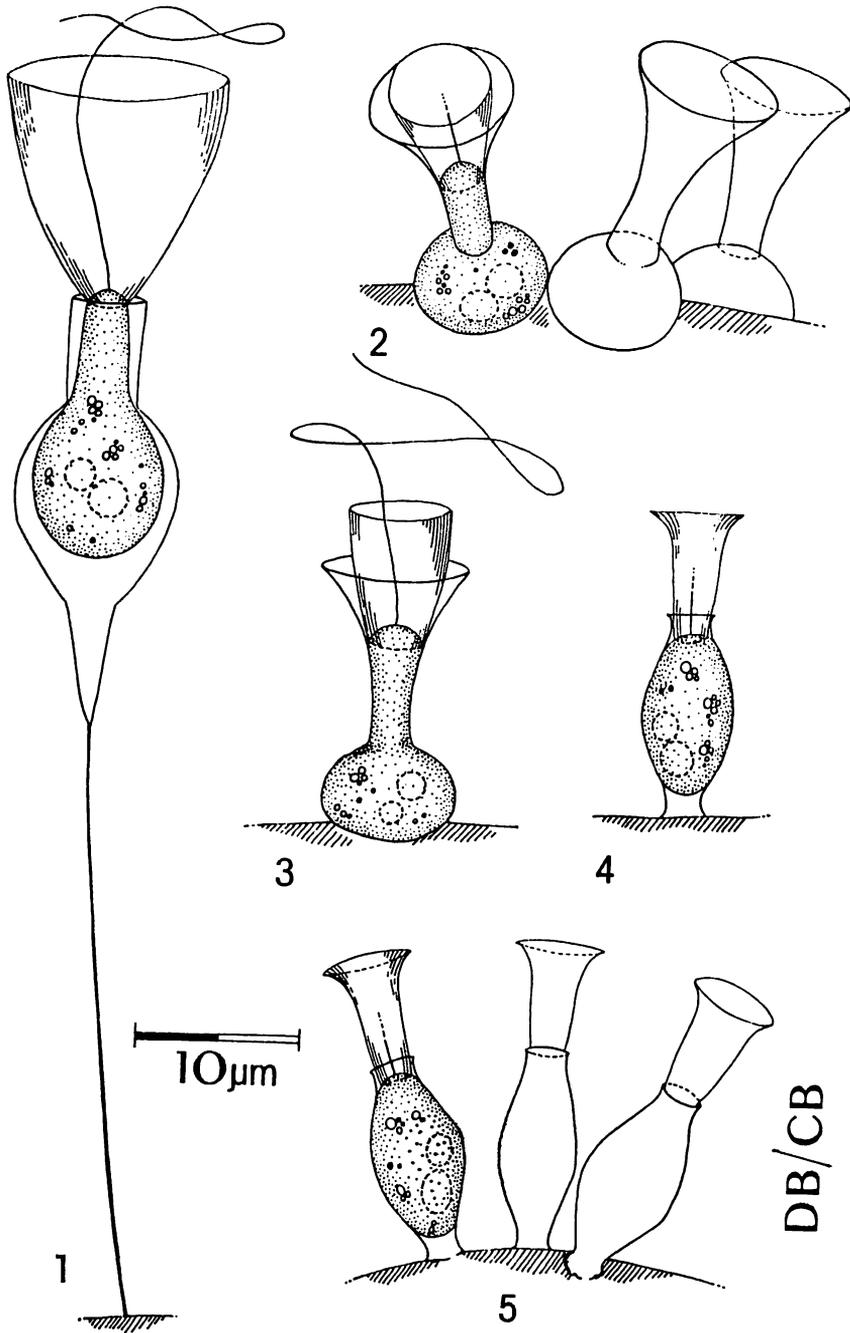


Fig. 1. *Salpingoeca caudiculata* D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov.; 2-3. *Salpingoeca ampullacea* D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov.; 4-5. *Salpingoeca brevicollis* D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov.

or slightly convex sides, moderately divergent toward the apex,  $6.6 \mu\text{m}$  long,  $6.5 \mu\text{m}$  broad at opening; flagellum 3-4 times as long as the cell,  $50.0 \mu\text{m}$  long; 1-2 contractile vacuoles.

**2. *Salpingoeca brevicollis*** D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov. (Figs. 4-5)

Solitarii individui vel gregarii; lorica sessile, ellipticus-fusififormis, polo posteriore constituens unam structuram fixam subcylindricam, brevem, lateribus concavis, polo anteriore formans collum brevem, circa unus decimus longitudinis loricae, lateribus rectis vel levissime concavis,  $10.0-13.6 \mu\text{m}$  long.  $5.5-6.7 \mu\text{m}$  lat.  $2.5-4.0 \mu\text{m}$  lat. apert.; cellula elliptica, implens quasi totam lorica,  $10.0-11.2 \mu\text{m}$  long.,  $5.5-6.7 \mu\text{m}$  lat.; collo membranaceo lateribus rectis, parallelis vel quasi maiore longitudine, ample divergens in apice,  $5.1-7.0 \mu\text{m}$  long.,  $2.1-3.3 \mu\text{m}$  lat.,  $4.3-6.5 \mu\text{m}$  lat. apert.; flagello non mensurato; duobus contracti vacuolis.

Origo: Brasilia, Status Sancti Pauli, Municipium Sancti Pauli, Sancti Pauli, "Parque Estadual das Fontes do Ipi-ranga", Hortus Botanicus, lacus Nimpharum, super pilos foliares et folia modificata *Salvinia herzogii* de la Sota, lectus D. C. Bicudo, 30. XI. 1980.

Holotypes: Figurae nostrae 4-5.

Individual solitary or gregarious; lorica sessile, elliptic-fusifiform, posterior end forming a very short, cylindrical attaching structure with concave sides, anterior end an extremely short neck, about 1/10 of the total length of the lorica, sides straight or slightly concave,  $10.0-13.6 \mu\text{m}$  long,  $5.5-6.7 \mu\text{m}$  broad at base,  $2.5-4.0 \mu\text{m}$  broad at opening; cell elliptic, almost completely filling the lorica,  $10.0-11.2 \mu\text{m}$  long,  $5.5-6.7 \mu\text{m}$  broad; collar with sides straight, parallel or almost so for the major part of its length, broadly divergent at the apex,  $5.1-7.0 \mu\text{m}$  long,  $2.1-3.3 \mu\text{m}$  broad,  $4.3-6.5 \mu\text{m}$  broad at opening; flagellum not measured; 2 contractile vacuoles.

**3. *Salpingoeca caudiculata*** D. BICUDO and C. BICUDO, sp. nov. (Fig. 1)

Solitarii individui; pedicellata lorica, basi napiforme, elongata, continuans in collo circa unus tertius longitudinis loricae, lateribus rectis, subparalleli,  $24.0-24.6 \mu\text{m}$  long.,  $10.0-10.5 \mu\text{m}$  lat.,  $5.0-5.1 \mu\text{m}$  lat. apert.; cellula obpiriforme, locata ab mediam superiorem basis loricae,  $15.1 \mu\text{m}$  long.,  $9.0 \mu\text{m}$  lat.; collo membranaceo lateribus convexis, ample divergentibus ad apicem,  $15.0 \mu\text{m}$  long.,  $13.0-14.0 \mu\text{m}$  lat. apert.; flagello minime bis longitudinis cellulae; uno vel duobus contractis vacuolis; pediculus  $25.0-40.0 \mu\text{m}$  long.

Origo: Brasilia, Status Sancti Pauli, Municipium Sancti Pauli, Sancti Pauli, "Parque Estadual das Fontes do Ipirange", Hortus Botanicus, lacus Nimpharum, super pilos foliares et folia modificata *Salvinia herzogii* de la Sota, lectus D. C. Bicudo, 30. IV. 1981.

Holotypes: Figurae nostrae 1.

Individual solitary; lorica pedicellate, base napiform, elongate, suddenly projecting to form a relatively short neck, about 1/3 of the total length of the lorica, sides straight, nearly parallel,  $24.0-24.6 \mu\text{m}$  long,  $10.0-10.5 \mu\text{m}$  broad at base,  $5.0-5.1 \mu\text{m}$  broad at opening; cell obpyriform, filling from the upper half of the base of the lorica up,  $15.1 \mu\text{m}$  long,  $9.0 \mu\text{m}$  broad; collar with convex sides, broadly divergent toward the apex,  $15.0 \mu\text{m}$  long,  $13.0-14.0 \mu\text{m}$  broad at opening; flagellum at least twice as long as the cell; 1-2 contractile vacuoles; pedicle straight,  $25.0-40.0 \mu\text{m}$  long.

### Discussion

The genus *Salpingoeca* was proposed by JAMES-CLARK (1868: 199) to accommodate some solitary or sometimes gregarious (but never colonial), non-pigmented, choanoflagellate individuals that possess a fixed, either sessile or pedicellate lorica. The protoplast corresponds in form and aspect to those of *Codosiga* and *Monosiga*, indicating in the great plasticity of their protoplast, as also in their solitary or at most gregarious habit, their closer affinity with the latter. The protoplast is mostly freely movable within and not permanently attached to the lorica,

but sometimes is united to the lorica by means of a pedicle-like extension of the cell body, or by several pseudopodes. The flagellum is single, and terminal, laterally encircled by a well-developed, membranous collar. Usually two or sometimes more very conspicuous contractile vacuoles are seen located in the posterior half of the protoplast.

The lorica wall is made of a single layer of chitin, or is calcareous, in the latter case sometimes impregnated with iron salts from the environment. This is the only solid difference between *Salpingoeca* and *Diploeca* ELLIS (ELLIS 1930: 78), in which the lorica wall is made of two concentric layers. Thus circumscribed, the genus *Salpingoeca* includes *Pachysoeca* ELLIS (ELLIS 1930: 80), where the lorica is brown and sessile. BOURRELLY (1981: 138) considers *Lagenoeca* SAVILLE-KENT (SAVILLE-KENT 1880: 359) synonymous with *Salpingoeca*. The free-swimming habit of the individuals of *Lagenoeca*, however, as far as we can judge guarantee its position as a distinct genus from *Salpingoeca*.

According to JAMES-CLARK (1868), reproduction is usually by transverse division, rarely by longitudinal division of protoplasts, or by subdivision of the entire protoplast into a small number of spores. ELLIS (1930: 66), however, described and illustrated that reproduction is by longitudinal division of protoplast, by its partial emergence at the collar of the lorica with the formation of a bulge from which, by fission, the young cell is produced; it is clumsy and often simulates, more or less closely, both gemmation and transverse division. Gemmation is of very rare occurrence, and sporulation has not been confirmed.

The definition of *Salpingoeca* species is mostly based on the shape of the lorica, but also on its colour, the presence or absence of a pedicle, the presence or absence of short pseudopodial filaments attaching the protoplast to the lorica, the shape and the size of the collar, and the shape of the cell.

*Salpingoeca ampullacea* D. BIC. and C. BIC., by the shape of its lorica resembles

*Salpingoeca longicollis* (ELLIS) BOURR., but it is readily distinct in the broadly divergent (flaring) sides of the neck, the very thin wall, and the much larger dimensions, also, because the cell completely fills the basal globose part of the lorica, never extending beyond the extreme upper limit of the neck. It could also be compared with the original figure of *Salpingoeca amphoridium* JAMES-CLARK var. *amphoridium* in JAMES-CLARK (1868: fig. 37), from which it differs in the broadly divergent (flaring) sides of the neck, the sudden, very conspicuous constriction in about the lower third of the lorica establishing a well-marked limit for the neck, the ratio between the maximum breadth of the lorica and its breadth at the opening, the ratio between the total length of the lorica and that of the neck, and the much smaller dimensions of the lorica. Furthermore, the cell completely fills the globose basal portion of the lorica and most of the neck, but never extends beyond the extreme upper limit of the neck. The circumscription of *Salpingoeca amphoridium* JAMES-CLARK, however, has been somewhat drastically altered along the years, up to a certain point in which some overlapping occurs between the latter, *Salpingoeca longicollis* (ELLIS) BOURR., and *Salpingoeca ampullacea* D. BIC. and C. BIC.

Among all sessile species of the genus, *Salpingoeca brevicollis* D. BIC. and C. BIC. is unique in having an extremely short neck, elliptic cell, and subcylindrical collar, which is broadly divergent only at the apex. Regarding the length of the neck, *Salpingoeca brevicollis* D. BIC. and C. BIC. somewhat approaches the illustration of *Salpingoeca fusiformis* SAVILLE-KENT in LEMMERMANN (1914: fig. 120), from which it differs in the subcylindrical shape of the base of the lorica, the elliptical shape of the cell, and in the basically cylindrical collar, broadly divergent at the apex. LEMMERMANN's figure, however, is markedly distinct from the original concept of *Salpingoeca fusiformis* SAVILLE-KENT (SAVILLE-KENT 1880: 346; 1882: pl. 5, figs. 27-31). According to its original

concept, *Salpingoeca fusiformis* SAVILLE-KENT is very different from *Salpingoeca brevicollis* D. BIC. and C. BIC.

Finally, *Salpingoeca caudiculata* D. BIC. and C. BIC., by having a pedicellate lorica with a napiform base, is very characteristic, and cannot be confused with any of the species already described.

### Acknowledgements

The authors acknowledge Mrs. Alzira Rossi MASCARENHAS for preparing the Latin diagnoses included in this paper; and Mr. Alasdair G. BURMAN for improving the English text. This study was supported in part by a "FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo" Research Grant n<sup>o</sup> 80/0691-8 given to the senior author.

### Resumo

Três espécies novas de *Salpingoeca*—*S. ampullacea* D. BICUDO & C. BICUDO, sp. nov., *S. brevicollis* D. BICUDO & C. BICUDO, sp. nov., e *S. caudiculata* D. BICUDO & C. BICUDO, sp. nov.—são descritas com base na morfologia da lórica e em material coletado no Lago das Ninféas, situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, cidade de São Paulo, SP, Brasil. O trabalho é, também, o primeiro documento da ocorrência desse gênero de epífitas no Brasil.

### ビクード D. C. ・ビクード C. E. M. : 南ブラジル産 *Salpingoeca* (黄金色藻) の 3 新種

ブラジル南部サンパウロ市内の池で採集した *Salpingoeca* 属の 3 新種, *S. ampullacea*, *S. brevicollis*, *S. caudiculata* をロリカの形態に基づいて記載した。なおこの属はブラジル新産である。(Secção de Ficologia, Instituto de Botânica, Caixa postal 4005, 01000-São Paulo, sp. Brazil)

### References

- BOURRELLY, P. 1981. Les algues d'eau douce, initiation à la systématique, 2: les algues jaunes et brunes—Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées. Paris: Société Nouvelle des Éditions Boubée. vol. 2, (réimpression revue et augmentée).
- ELLIS, W. N. 1930. Recent researches on the Choanoflagellata (Craspedomonadines) (fresh-water and marine) with description of new genera and species. *Annl. Soc. r. zool. Belg., Bruxelles*, 60: 49-88, fig. 1-31.
- JAMES-CLARK, H. 1868. On the Spongiae ciliatae as Infusoria flagellata; or observations on the structure, animality, and relationship of *Leucosolenia botryoides*, Bowerbank. *Ann. Mag. nat. Hist.: ser. 4, London*, 1: 133-142, 188-215, 250-264, pl. 5-7.
- LEMMERMANN, E. 1914. Pantostomatinae, Protomastiginae, Distomatinae. In PASCHER, A. ed. *Die Süßwasser-Flora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz*. vol. 1(1): Verlag von Gustav Fischer, Jena.
- SAVILLE-KENT, W. 1880. A manual of the Infusoria: including a description of all known flagellate, ciliate, and tentaculiferous Protozoa, British and foreign, and an account of the organization and affinities of the sponges. vol. 1: David Bogue. London.
- SAVILLE-KENT, W. 1882. A manual of the Infusoria: including a description of all known flagellate, ciliate, and tentaculiferous Protozoa, British and foreign, and an account of the organization and affinities of the sponges. vol. 3: David Bogue London.

## Cell plate orientation in the first cleavage of *Fucus* eggs

Singo NAKAZAWA

*Department of Biology, Faculty of Science, Yamagata University,  
Yamagata, 990 Japan*

NAKAZAWA, S. 1983. Cell plate orientation in the first cleavage of *Fucus* eggs. Jap. J. Phycol. 31: 21-23.

Fertilized eggs of *Fucus evanescens* were cultured in the state of being attached to glass slides kept in natural sea water, and in experimental media: (a) sea water containing 0.005 M sodium nitroprusside, (b) sea water containing 75 µg/ml chloramphenicol, (c) sea water containing 0.005 M gossypitrin, (d) sea water containing 0.1 M KCl, and (e) sea water containing 0.2 M KI. As a result, the eggs developed ordinarily in natural sea water, while in media (a) to (e) the first division occurred without bulging of the rhizoid, and the cell plate always formed perpendicular to the glass surface to which the egg was attached. This was independent of gravity. A kind of contact stimulation may take part in the orientation of the cell plate.

*Key Index Words:* cell plate; *Fucus* eggs; spindle axis.

In development of *Fucus* eggs (zygotes), ordinarily, first occurs bulging of the rhizoid pole, then the egg divides into two daughter cells. At this time, if the egg is cultured under uniform illumination or in the dark, the cell plate is formed perpendicular to the longitudinal axis of the elongated egg and perpendicular to the surface of the substratum to which the egg is attached. This may be explained that the bulging of the rhizoid pole took place parallel with the surface of the substratum, so the egg elongated in that direction, and the spindle developed along the longitudinal axis of the egg. If this is true, how would it be if the cleavage took place before bulging of the rhizoid pole as in cases reported by INOH (1935) and NAKAZAWA (1977a). For this question, the present experiments were carried out.

### Material and Method

Receptacles of *Fucus evanescens* were collected at Charatsunai, Muroran, Japan. Fertilized eggs were obtained according to ABE's method (ABE 1970). One hour after

being fertilized, the eggs were transferred to experimental media contained in petri dishes 9 cm in diameter, and were cultured under diffuse light of the laboratory at about 18° C. The control medium was natural sea water. The experimental media were (a) sea water containing 0.005 M sodium nitroprusside, (b) sea water containing 75 µg/ml chloramphenicol, (c) sea water containing 0.005 M gossypitrin, (d) sea water containing 0.1 M KCl, and (e) sea water containing 0.2 M KI. The concentration of the experimental agents was designed by reference to preliminary experiments and former reports (NAKAZAWA 1977b, 1978). In the petri dish was laid a glass slide horizontally, on which were sown the eggs. In 5 hours, the eggs were attached to the slide with their own mucilage, then some of the slides were vertically transferred to deeper vessels for testing the influence of gravity on the egg development. 60 to 80 eggs were cultured on the same slide. 24 hours after fertilization, the culture was examined under the microscope. 200 to 300 eggs were observed in each of the culture media. Experi-

ments were repeated twice, and almost the same results were obtained.

## Results

Cultured in natural sea water, more than 90% eggs formed rhizoid in 24 hours, and divided into 2 cells (Fig. 1A). Their rhizoids were all bulged out and elongated almost parallel with the plane of the glass slide irrespective of whether the slide was set horizontally or vertically. The cell division took place forming a cell plate perpendicular to the longitudinal axis of the egg, that is, perpendicular to the plane of the glass slide irrespective of gravity.

In the experimental media (a), (b), (c) and (d), most of the eggs did not form rhizoids, but cell division took place (Fig. 1B).

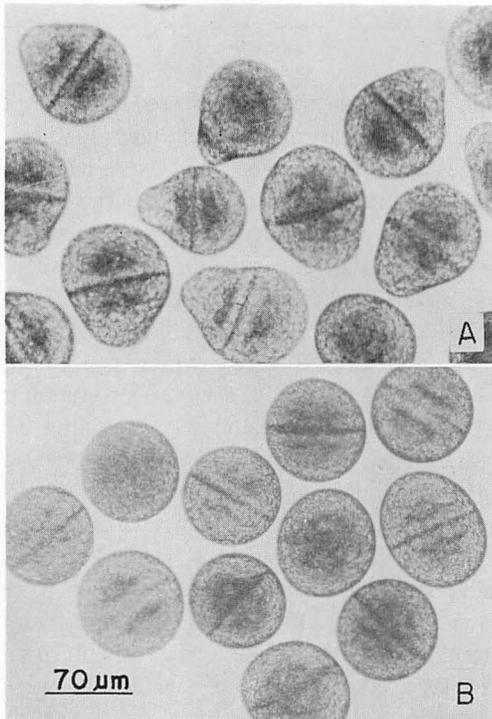


Fig. 1. The first division of *Fucus* eggs forming cell plate perpendicular to the glass surface to which the egg is attached. A. Division after bulging of the rhizoid in natural sea water; B. Division before bulging of rhizoid cultured in sea water containing  $75 \mu\text{g/ml}$  chloramphenicol.

The spindle was formed just parallel with the plane of the glass slide. As a result, the cell plate was perpendicular to it, independent of gravity. In (e) medium, nuclear division did occur, but further processes did not proceed. In this case, the spindle remained for a long time, and all of the spindles were oriented parallel with the slide, suggesting the cell plate would be formed at right angles to it.

## Discussion

In ordinary mitosis, the cell plate is formed perpendicular to the spindle axis. As to the orientation of the spindle, there is the classical hypothesis presented by HERTWIG and HERTWIG (1884). According to it, the spindle axis develops in the direction of the longitudinal axis of the cell. This is certain in case of division after elongation of the *Fucus* egg, as seen in ordinary development. But the same cannot be applied to the case of division before elongation as in the above (a) to (e) media, because the division took place in the spherical egg. According to COOK and PAOLILLO (1980), the cell plate develops in the plane so as to make it be the minimal area. In the present case, however, the cell plate develops through the center of the spherical egg, to which the minimal area hypothesis cannot be applied. In addition, the cell plate always develops perpendicular to the glass slide surface to which the egg is attached, while the direction toward which the cell plate is faced is random. In the shake-cultured cells of *Sequoia*, the single cell is divided by the plane parallel with the glass surface if the cell is placed on a glass slide (BALL 1963).

In the state of being attached to a substratum, some contact stimulations are supposed. Moreover, there will develop some intracellular gradients between the attached side and the free side. For instance, metabolites will diffuse out of the cell surface on the free side, while it is difficult on the attached side, so that, concentration gradients of some metabolites will be set up in a direc-

tion perpendicular to the surface of the substratum. And it seems that in some cases the spindle axis develops in the direction of such gradients like in cultured cell of *Sequoia* (BALL 1963), but in some other cases, in a direction perpendicular to it, as in the present experiments. What determines which, however, is yet unknown.

The present experiments were carried out at the Institute of Algological Research, Hokkaido University, Muroran.

## References

- ABE, M. 1970. A method of inducing egg liberation in *Fucus evanescens*. Bot. Mag. Tokyo 83: 254-255.
- BALL, E. 1963. An optically efficient method for observing single plant cells from shake cultures during growth and division. Nature 197 (1862): 103-104.
- COOK, T. J. and PAOLILLO, Jr., D. J. 1980. The control of the orientation of cell division in fern gametophytes. Amer. J. Bot. 67(9): 1320-1333.
- HERTWIG, O. and HERTWIG, R. 1884. Untersuchungen zur Morphologie und Physiologie der Zelle. G. Fischer, Jena.
- INOH, S. 1935. Embryological studies on *Pelvetia wrightii* Yendo and *Fucus evanescens* A. J. Sci. Hokkaido Univ. Ser. V, 5: 9-23.
- NAKAZAWA, S. 1977a. Notes on Fucales 9. Discrimination between rhizoid formation before and after cleavage in *Fucus* eggs (in Japanese with Eng. summary). Bull. Jap. Soc. Phycol. 25: 24-26.
- NAKAZAWA, S. 1977b. Development of *Fucus* eggs, as affected by iodine, lithium and nitroprusside. *Ibid.* 25 (Suppl.): 215-220.
- NAKAZAWA, S. 1978. Notes on Fucales 10. Inhibition of rhizoid formation and division by gossypitricin in *Fucus* egg. Jap. J. Phycol. 26: 5-7.

### 中沢信午：ヒバマタ卵の第1分裂における細胞板の方向決定

ヒバマタ (*Fucus evanescens*) の受精卵をスライドガラス面に付着させ、これを自然海水および (a) 0.005 M のニトロプルシドナトリウムを含む海水、(b) 75  $\mu\text{g/ml}$  のクロラムフェニコールを含む海水、(c) 0.005 M のゴシピトリンを含む海水、(d) 0.1 M の KCl を含む海水、および (e) 0.2 M KI を含む海水で培養した。その結果、自然海水では正常に発生したが、(a)~(e) の液では仮根が生ずることなく、すべてガラス面に直角な細胞板を形成して分裂がおこった。これは重力の方向とは関係ない、細胞板の方向決定には一種の接触刺激が作用するかもしれない。(990 山形市小白川町 1-4-12 山形大学理学部生物学教室)

**Studies on the growth and development in *Spirogyra* IV.  
A close relationship between the diurnal movement pattern  
and the photosynthetic rates of *Spirogyra* filaments**

Kiyoshi TANAKA and Masaaki MATSUURA

*Department of Biology, Faculty of Science, Hirosaki University,  
Hirosaki, 036 Japan*

TANAKA, K. and MATSUURA, M. 1983. Studies on the growth and development in *Spirogyra* IV. A close relationship between the diurnal movement pattern and the photosynthetic rates of *Spirogyra* filaments. Jap. J. Phycol. 31: 24-27.

A relationship between the pattern of diurnal movement of *Spirogyra* filaments and their photosynthetic activities was quantitatively investigated.

The light type movement occurred at 1500-3600 lux, the intermediate type at 750-850 lux, and the dim light type at 400 lux, with a decline in photosynthetic rates in correspondence to the decrease in light intensities. At 3600 lux, DCMU suppressed the photosynthetic rate and transformed the movement pattern from the light type to the lower light-intensity type depending on the concentrations. These results suggest a close connection between the level of some photosynthetic substance(s) and the determination of the type of movement pattern.

*Key Index Words:* DCMU; diurnal movement; photosynthesis; *Spirogyra*.

OJIMA and TANAKA (1970, 1971) found that filaments of *Spirogyra* exhibited their characteristic diurnal movement only under the influence of light-dark cycles. Their movement patterns could be divided into three types—the light type, the intermediate type, and the dim light type—depending upon the light intensity of the light phase part of the cycle. These patterns could also be transformed from the light type to the lower light-intensity types by the application of DCMU (3-(3, 4-dichlorophenyl)-1, 1-dimethylurea), a photosynthetic inhibitor (TANAKA *et al.* 1977).

In this study, to obtain additional information on the correlation between the movement pattern of *Spirogyra* filaments and their photosynthetic processes, *Spirogyra* photosynthetic rates, under the influence of various light conditions and under the effect of various concentrations of DCMU were measured. These measurements were then compared

with *Spirogyra* movement patterns observed under the same conditions.

#### **Materials and Methods**

Filaments of *Spirogyra* sp. were cultured in a growth room under a constant temperature ( $17 \pm 1^\circ\text{C}$ ) and with a 14 hr light period (8:00-22:00).

Light irradiation was provided by white fluorescent tubes (NATIONAL FL-40 SW) positioned above the alga. Tap water was used as the culture medium, but 0.06% ethanol/tap water<sup>1)</sup> was chosen as the control medium for the DCMU experiments. Containers used for culture and movement observation were glass aquaria (12×10×2cm). WINKLER's oxygen bottles were used for

1) This mixture had been proved in preliminary tests to have no effect on either the movement or oxygen evolution of *Spirogyra* filaments.

the measurement of oxygen content changes in the media.

The photosynthetic rate was calculated by measuring oxygen content changes in the media during a 3 hr incubation period (10:20–13:20) after about 18 hr preincubation under the respective culture conditions. These changes were measured according to the WINKLER method using  $MnCl_2$ ,  $KI-NaOH$ ,  $HCl$ , and  $Na_2S_2O_3$  solutions.

## Results and Discussion

*Movement pattern and photosynthetic rates of Spirogyra under various light conditions:* Filaments were cultured at intensities of 3600, 2000, 1500, 850, 750, and 400 lux, and their movements at each intensity were recorded. As shown in Fig. 1, the light

type, intermediate type, and dim light type movements occurred at intensities of 1500–3600 lux, 750–850 lux, and 400 lux, respectively<sup>2)</sup>. Photosynthetic rates at the respective light intensities were then measured (Fig. 2). These results, presented in Figs. 1 and 2, reveal that a change in movement pattern from the light type to the intermediate type or the dim light type was accompanied by a decrease in the photosynthetic rate.

*Effect of DCMU upon the movement pattern and photosynthetic rates of Spirogyra under the light type condition:* Filaments were cultured under the light type condition in media containing various concentrations of

- 2) Detailed explanations of the characteristics of each type were presented in Table 1 of our previous paper (TANAKA *et al.* 1977).

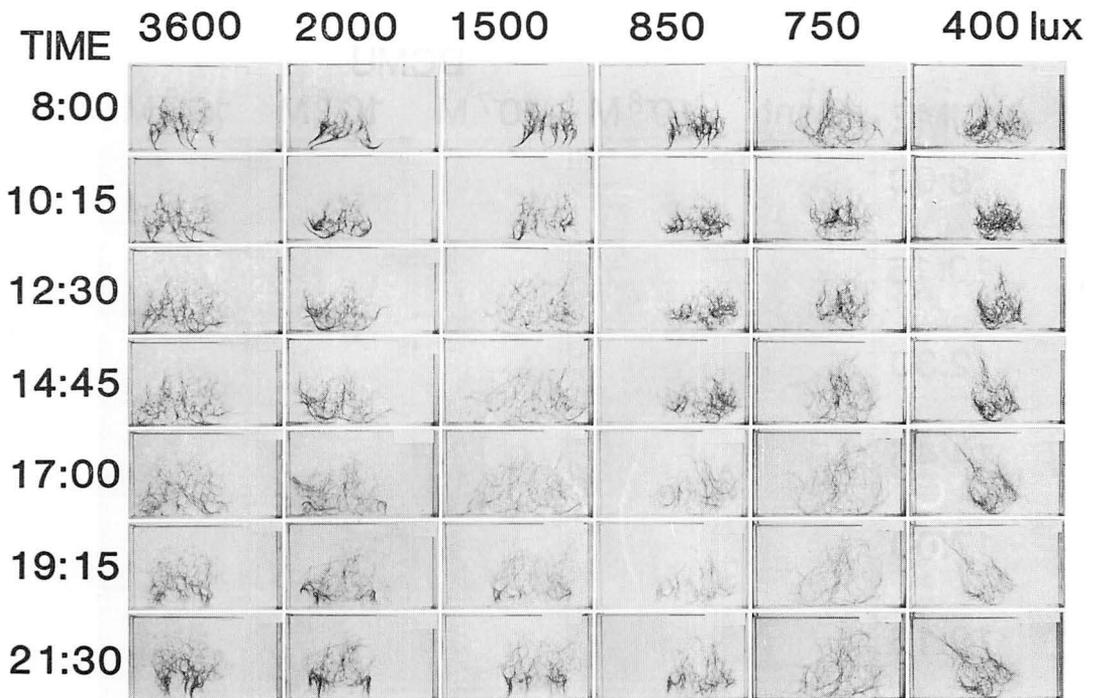
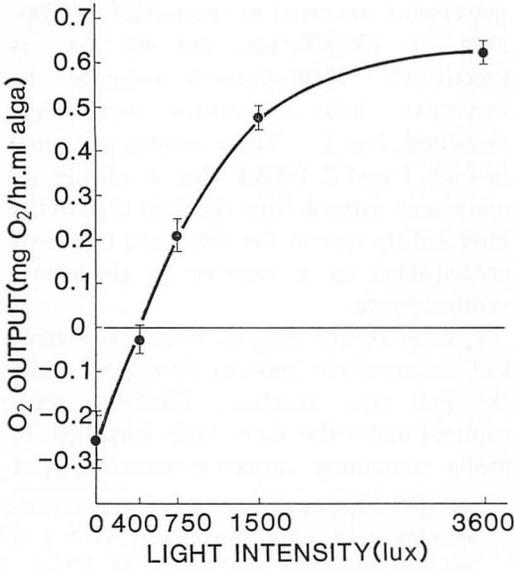


Fig. 1. Filament movements under various light conditions. Light period: 14 hr (8:00–22:00). Temperature:  $17 \pm 1^\circ C$ . Photographs: movements on the 3rd day (18 Dec. 1980) of incubation (one of three replicates with identical results). At 1500–3600 lux: light type movement—a group of filaments spreads in the first half of light period, but filament tips bend downwards to form a mountain-shape in the second half<sup>2)</sup>. At 400 lux: dim light type movement—a group of filaments shrinks in the first half of light period, but spreads again in the second half, and filament tips direct almost upwards all the day<sup>2)</sup>. At 750 and 850 lux: intermediate type movement—the dim light type in the first half of light period, but the light type in the second half<sup>2)</sup>.



DCMU, and their movement patterns were then recorded (Fig. 3). The results were as follows: light type movement in both the control medium and  $10^{-8}$  M of DCMU; intermediate type in  $10^{-7}$  M; and continuous dark type movement<sup>3)</sup> in  $10^{-6}$ - $10^{-5}$  M. Photo-

3) Characteristics of the continuous dark type movement: lack of periodical movement, lack of shrinking phase and upwardly directed filament tips all day.

Fig. 2. Photosynthetic activities of filaments under various light conditions. Light period: 14 hr (8:00-22:00). Temperature:  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ . After an approximate 18 hr preincubation period under the respective light conditions, oxygen measurements were taken using WINKLER's bottles. Incubation period in WINKLER's bottle: 3 hr (10:20-13:20, 20 Dec. 1980). Points indicate mean values of three replicates, vertical bars show the SD.

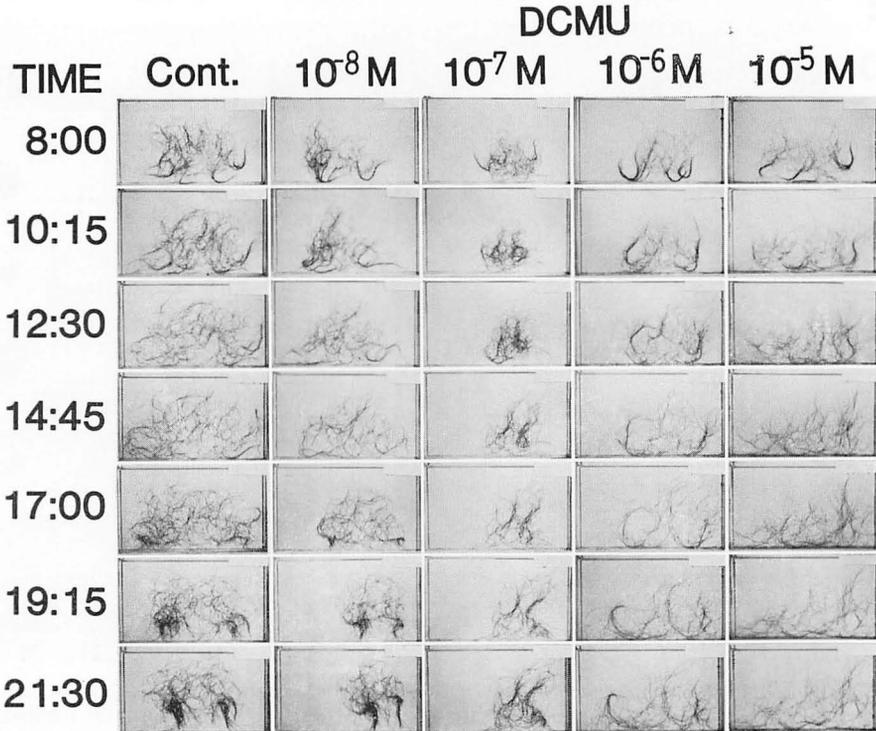


Fig. 3. Effect of DCMU on filament movements under the light type condition. Light period: 14 hr (8:00-22:00), 3600 lux. Temperature:  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ . Photographs: movements on the 3rd day (19 Dec. 1980) of incubation (one of three replicates with identical results). Cont. and at  $10^{-8}$  M: light type movement<sup>2)</sup>. At  $10^{-7}$  M: intermediate type movement<sup>2)</sup>. At  $10^{-6}$  and  $10^{-5}$  M: continuous dark type movement<sup>3)</sup>.

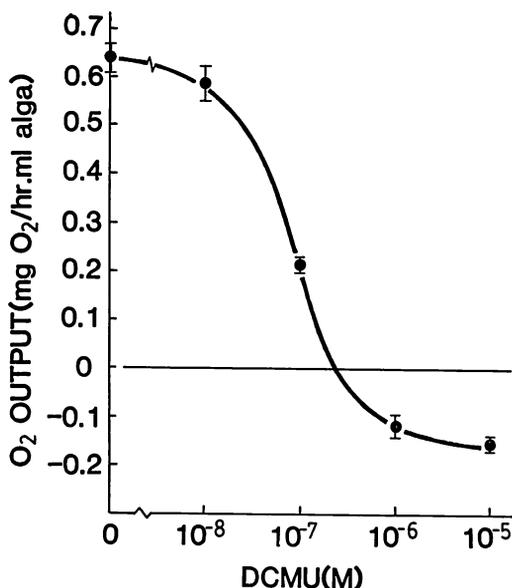


Fig. 4. Effect of DCMU on filament photosynthetic activities under the light type condition. Light period: 14 hr (8:00-22:00), 3600 lux. Temperature:  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ . After an approximate 18 hr preincubation period in the respective concentrations of DCMU, oxygen measurements were taken using WINKLER's bottles. Incubation period in WINKLER's bottles: 3 hr (10:20-13:20, 22 Dec. 1980). Points indicate mean values of three replicates, vertical bars show the SD.

synthetic inhibition caused by the presence of DCMU in the media was then measured. As shown in Fig. 4, filament oxygen evolution was barely affected by  $10^{-8}$  M of DCMU; slightly reduced by  $10^{-7}$  M; and markedly reduced by  $10^{-6}$ - $10^{-5}$  M to a rate less than that obtained under 400 lux illuminance without DCMU where dim light type move-

ment occurred (Figs. 1 and 2). Since DCMU at  $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M, had no effect upon *Spirogyra* dark respiration (data not shown), the observed reduction in oxygen evolution (Fig. 4) could be accredited to DCMU's ability to suppress photosynthetic activity.

Thus, by comparing the effects of DCMU (Figs. 3 and 4) with the effects of various light conditions (Figs. 1 and 2) upon the diurnal movement and photosynthetic activity of *Spirogyra* filaments, it becomes obvious that there is a precise relationship between the movement patterns and photosynthetic rates. The existence of such a relationship suggests the possibility that the movement patterns of *Spirogyra* filaments are intimately related with some substance(s) of the photosynthetic process. Measurements of diurnal changes in the levels of the photosynthetic products under various culture conditions are now in progress.

## References

- OJIMA, S. and TANAKA, K. 1970. Studies on the growth and development in *Spirogyra* I. Diurnal movement of the filaments. Sci. Rep. Hirosaki Univ. 17: 15-26.
- OJIMA, S. and TANAKA, K. 1971. Studies on the growth and development in *Spirogyra* II. Diurnal movement of the filaments (2). Sci. Rep. Hirosaki Univ. 18: 27-35.
- TANAKA, K., KATO, S. and YOMO, S. 1977. Studies on the growth and development in *Spirogyra* III. Three types in the pattern of diurnal movement of *Spirogyra* filaments and transformation of the movement pattern by DCMU. Plant Sci. Lett. 10: 31-39.

### 田中 清・松浦正明：アオミドロにおける生長と分化に関する研究 IV. アオミドロ糸状体の日周期運動の型と光合成速度との密接な関係

前報で推定した「日周期運動の型と光合成の関係」を量的に確めるために、14時間明期で、(1)種々の強さの光 (3600-400 lux) の下での運動を記録するとともに、その光合成速度を測定し、また、(2) 3600 lux の明型条件 (明型の運動をする光条件) の下で、種々の濃度 ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M) の DCMU を与えて、同じく、運動の型を記録し、光合成速度を測定した。その結果、(1) 及び (2) の両実験を通して、光合成速度の高い順から、明型、中間型、薄明型、連続暗黒型の運動を示し、その対応関係は、きわめて精密であった。このことは、糸状体の運動の型の決定に、ある光合成関連物質の消長が比較的密接に関係している可能性を推定させる。(036 弘前市文京町 3, 弘前大学理学部生物学科)

## ツルアラメの発生におよぼす温度の影響

能登谷正浩・足助光久

青森県水産増殖センター (039-34 青森県東津軽郡平内町茂浦字月泊10)

NOTOYA, M. and ASUKE, M. 1983. Influence of temperature on the zoospore germination of *Ecklonia stolonifera* OKAMURA (Phaeophyta, Laminariales) in culture. Jap. J. Phycol. 31: 28-33.

Germination of zoospores in *Ecklonia stolonifera* OKAMURA was observed under five temperature regimes (10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C), with a light intensity of 4000-5000 lux, and a 12:12 photoperiod in modified GRUND and PESI media. The formation and development of both gametophyte and sporophyte germlings were shown to be basically similar to those reported in other genera of the Laminariales. The zoospore germlings grew at 10°C-25°C temperature tested, but growth of both gametophytes and sporophytes was maximum at 20°C. The length of sporophytes up to 400 μm in culture correlated very highly with the width ( $L=2.53W-5.13$ ,  $r=0.969$ ).

*Key Index Words:* culture; *Ecklonia stolonifera*; growth; Laminariales; Phaeophyta; temperature; zoospore germination.

Masahiro Notoya and Mitsuhsa Asume, Aquaculture Center, Aomori Prefecture, Moura, Hiranai-cho, Aomori-ken, 039-34 Japan.

*Ecklonia stolonifera* OKAMURA ツルアラメの発生に関しては、神田 (1939) がアラメ、カジメとともに報告しているが、温度等の培養条件を変えて発生をしらべた報告はない。そこで筆者らは、青森県の日本海沿岸に産するツルアラメを用いて、配偶体の生長、成熟過程および幼孢子体の生長におよぼす温度の影響についてしらべたので、ここに報告する。

### 材料と方法

子嚢斑をつけたツルアラメを青森県深浦町田野沢で1981年11月26日に採集した。遊走子を得るため、藻体から子嚢斑形成部分を切り取り、滅菌海水でよく洗い、直径 20 cm のシャーレに滅菌海水とともに入れ、約 20°C, 3000 lux の下に約 3 時間放置した。遊走子の放出を確かめた後、藻体を取り除き、ピペットで遊走子液 1-2 ml を取り、新たな滅菌海水を満たしたシャーレの一端から静かに注いだ。数分後、遊走子液を注いだ反対側の一端から、再びピペットで遊走子の浮遊した海水を吸い取って別のシャーレへ移し入れる、という操作を 3 回行った後、スライドグラスを敷いたシャーレに遊走子液を入れ遊走子の付着を待った。遊走

子がスライドグラス上に付着したのを確かめ、更に滅菌海水で夾雑物を洗い流した後、温度調節をした培養器に入れた。

温度は 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C の 5 段階とし、照度は 4000-5000 lux で 12 時間ごとの明暗周期とした。このほかに、20°C で光を全く照射しない培養も実施した。

液は改変 GRUND (McLACHLAN 1973) と PESI (SANBONSUGA and HASEGAWA 1969) の 2 培養液を用い、2-3 日目ごとに換水した。

観察はホルマリンで固定したもので実施し、スケッチにはアッペ氏描画装置を用いた。

### 結果と考察

1. 遊走子の発生: 遊走子の形態は幅 4-5 μm, 長さ 9-10 μm で一端のところが卵形を示し、1 個の色素体と長短 2 本の鞭毛を持つ。コンブ科植物では *Laminaria religiosa* ホソメコンブ (井狩 1921) と *Saccorhiza polyschides* (KAIN 1969) で眼点の存在することが報告されているが、ツルアラメでは神田 (1939) の報告と同様に、ここでも認められず、明らかな走光

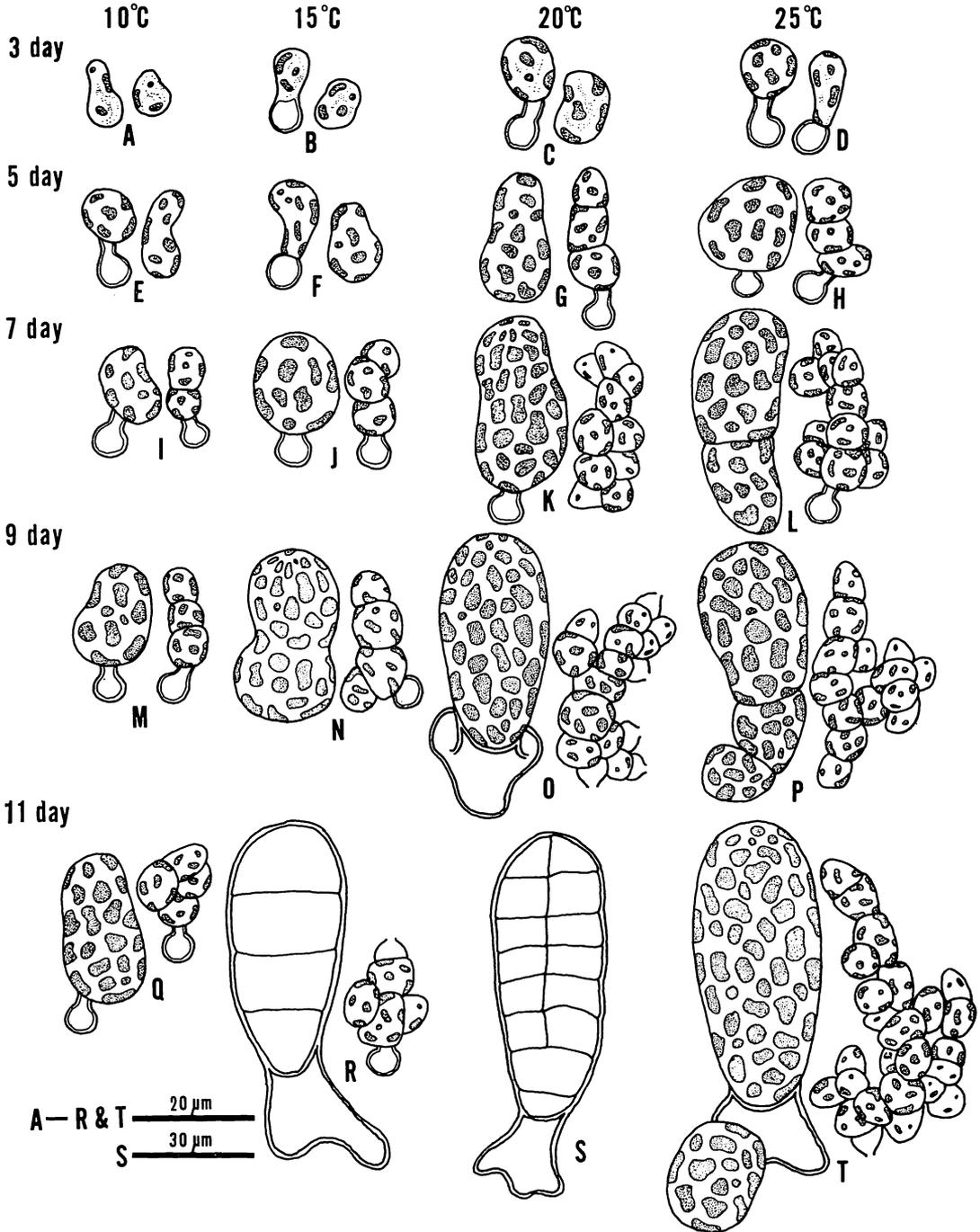


Fig. 1. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Successive stages of zoospore germination and development under 4000-5000 lux, 12: 12 photoperiod, and four temperature regimes. Each pair of germlings represents a female (left) and male (right) gametophyte (except S). A-D. 3-day-old germlings; A and B. Formation of germ tubes; C and D. The first cell-division stages; E-H. 5-day-old germlings. G and H. Morphologically distinguishable female and male gametophytes; I-L. 7-day-old gametophytes. Male and female gametophytes are clearly distinguished by their appearances; M-P. 9-day-old germlings; O. An egg developed from one-celled female gametophyte and male gametophyte with antheridia; Q-T. 11-day-old gametophytes. Q. Gametophytes at 10°C remaining immature; T. Gametophytes at 25°C showing an egg resting on the opening of the oogonium and male gametophyte with antheridia; R. Gametophytes at 15°C forming 4-celled sporophyte with an empty oogonium and mature male gametophyte; S. Gametophyte at 20°C forming young sporophyte.

性も見られなかった。

遊走子の発生は 10°C から 25°C の間で支障なく進んだが、30°C では、培養後 2 日目までにすべてが枯死した。

10°C から 25°C までの発生経過を、培養 3 日目から 1 日おきに観察した結果を Fig. 1 に示した。この発生過程はコンブ科植物 (神田 1939, 1946) で知られるものと基本的に一致しているが、以下に説明するように、温度によって発生速度や発芽体の形態に相違が認められた。すなわち、活発に泳いでいた遊走子は数時間以内に基質に付着して球形となり、鞭毛も消失する。その後 3 日目の観察ですでに温度条件による形状の差異が認められた。10°C では発芽管を伸長し始めたばかり (Fig. 1A) なのに、15°C では原胞子部分の細胞内容は発芽管へ移動し始め、その部分は空になったものもある (Fig. 1B)。20°C と 25°C では細胞内容物が発芽管に移行した後に細胞壁が生じて原胞子部分と隔てられ、細胞はやや大きくなった。それとともに色素体は数を増し、輪廓も明瞭に観察された (Figs. 1C, D)。培養 5 日目、20°C と 25°C では雌雄の両配偶体の区別がつくようになり、雌性配偶体は普通 1 個細胞から成り、卵形または球形で、色素体は雄性配偶体に比べて大きい。雄性配偶体は数個の細胞から成り、各細胞は雌性配偶体に比べてかなり小さかった (Figs. 1G, H)。培養 7 日目になって 10°C と 15°C の発芽体は雌雄の判別がつくようになった (Figs. 1I, J)。この時期、20°C では雌性配偶体は 1 個細胞のまま体積を増加させ、それとともに上部が膨らみ、そこへ細胞内容物が移動し始める。雄性配偶体は細胞数を 6—10 個まで増加し、細胞列の末端に形成された色素の減少した細胞が造精器となる (Fig. 1K)。25°C の雌性配偶体は 1—2 個細胞になり、雄性配偶体では十数個細胞まで増加するが、精子器の形成は認められなかった (Fig. 1L)。培養 9 日目、10°C では両配偶体ともゆっくりと生長をつづけ (Fig. 1M)、15°C では雌性配偶体は上部が膨らみ始めるが、雄性配偶体は 3—5 個細胞で細胞数は少なく、造精器の形成は未だ見られなかった (Fig. 1N)。20°C では雌性配偶体は卵形成を完了し、雄性配偶体も完全して、数個の造精器と、すでに精子を放出して空になった細胞が見られた (Fig. 1O)。しかし、25°C では未だ両配偶体とも成熟せずに生長をつづけ、雌性体で 2—4 個、雄性体で 10—15 個と細胞数を増加させた (Fig. 1P)。培養 11 日目、10°C では未だ成熟しなかった (Fig. 1Q) が、15°C では生長の早い個体ですでに 4 個細胞の幼胞子

体が形成され、雄性配偶体では成熟しているものの、数個細胞にとどまり、造精器や精子放出後の細胞も少なく、それぞれ 1—2 個見られる程度であった (Fig. 1R)。20°C では発達した幼胞子体が多数観察でき、最も大きく生長した体では 14 個細胞で葉長 72  $\mu\text{m}$ 、葉幅 30  $\mu\text{m}$  に達した (Fig. 1S)。25°C では少数の雌性配偶体に卵の形成が観察され、一般に 15°C や 20°C で形成される卵に比べて大きかった。また、雄性配偶体では細胞数がかかなり多くなったが、精子を形成したものは少なかった (Fig. 1T)。その後、10°C の発芽体は培養 14 日目まで両配偶体の成熟が観察された。以上の結果から、雌性配偶体は 10°C から 20°C では 1 個細胞で成熟して卵が形成されるが、25°C では 2—3 個細胞になる。雄性配偶体では、温度の高い程細胞数の増加する傾向が見られたが、精子形成数は 20°C で最も多い。従って卵の形成までの期間や、雄性体の成熟状況から 20°C 付近が最も良好な温度条件と考えられる。これは種々のコンブ属植物で知られる生長、成熟に対する温度条件 (殖田 1929, YABU 1964, KAIN 1969, LUNING and NEUSHUL 1978) に比べると、本種の方がより高温で成熟し、栄養生長に対する水温もより高いものと推測され、それは本種の分布域 (岡村 1936) からも納得できる。

また、20°C の暗黒条件下で培養した発芽体は、細胞の伸長は示さないが、1 か月間の培養にも枯死することなく生存し、その後、明条件下に移すことによ

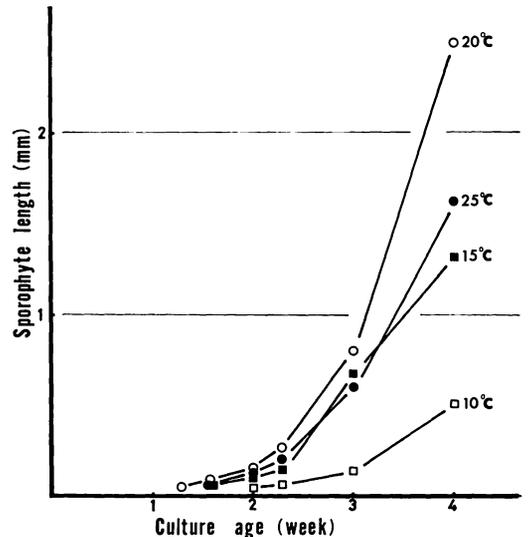


Fig. 2. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Growth of sporophytes cultured at different temperature.

て生長が再開された。これは *Laminaria hyperborea* (KAIN 1964) や *L. digitata*, *L. saccharina* (KAIN 1969) で報告されたものと似た結果といえよう。

2. 胞子体の生長：卵形成以降も、引き続き各温度条件下で培養を続けたところ、Fig. 2 に示すように

10°C, 15°C, 20°C と順次生長は速くなるが、25°C ではおくれた。また、胞子体の形態は 10°C から 20°C まで差異は認められないが、25°C では葉体の縁辺部が波状を呈し、変形する個体が見られた。

Fig. 3 に 20°C での胞子体の生長過程を示した。初期の胞子体は 2 細胞から 8 細胞前後までは長軸に直

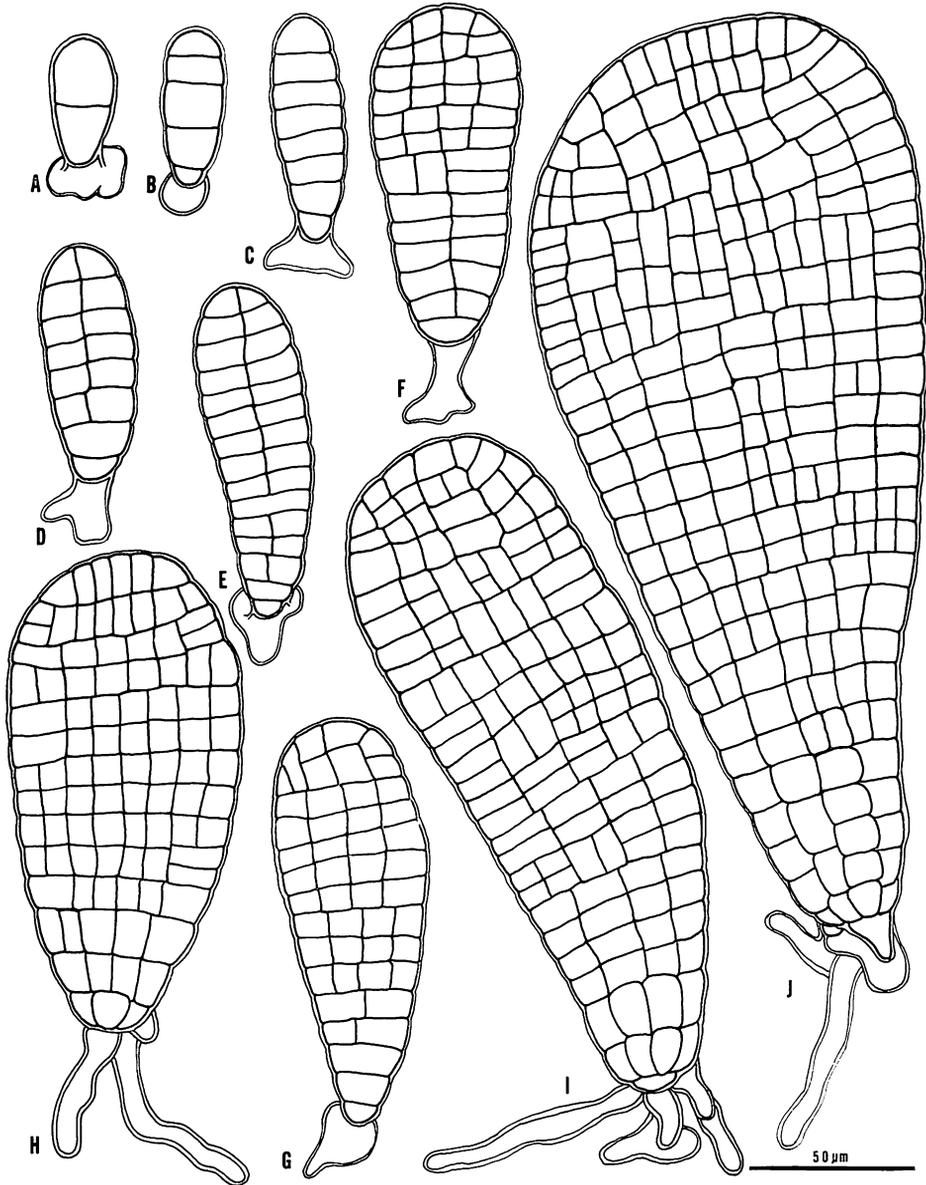


Fig. 3. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Developmental stages of young sporophytes. A-C. 2-8-celled sporophytes divided by transverse walls; D-E. First longitudinal cell divisions at 14-17-celled stages; F-G. 39 and 47-celled sporophytes; H. Early rhizoid formation and initial three dimensional divisions in the basal cells of 92-celled sporophytes; I-J. 122 and 255-celled sporophytes with many rhizoids and two layers of cells at the basal portion.

交する方向にのみ分裂して体を伸長させる。しかし、ごくまれに5細胞の体でも頂端細胞で長軸に平行な分裂を行う体も見られた。この時期の葉長、葉幅はそれぞれ 36-73  $\mu\text{m}$ , 20-27  $\mu\text{m}$  であった (Figs. 3A-C)。その後、基部に近い細胞を残して、長軸に平行な分裂によって体のはぼ中央に隔壁が形成され、細胞数は 14-30細胞となり、葉長は 68-100  $\mu\text{m}$ , 葉幅は 25-35  $\mu\text{m}$  となった (Figs. 3D, E)。更に葉体は長軸に平行または直交する分裂を繰り返し、基盤目状に分裂が進み (Figs. 3F, G), 80-90細胞になると基部細胞は葉体面に平行な分裂を始め、2層細胞の部分形成し始めた。この頃には、仮根の発出も見られ、葉体は葉長約 150  $\mu\text{m}$ , 葉幅約 65  $\mu\text{m}$  の大きさになった (Fig. 3H)。葉体は更に葉長、葉幅を増加させながら生長し、基部に発生した2層部分は上部へも広がる (Fig. 3I)。そして、250細胞前後の葉体では、基部はやや円柱状

を呈するようになった (Fig. 3J)。このように初期孢子体における仮根の形成は、コンブ属 (神田 1946) におけるよりおそいが、葉体基部から2層細胞の形成される時期はリシリコンブ (金子 1973) やホンメコンブ (阪井・船野 1964) より早い。

20°C で培養した葉長 400  $\mu\text{m}$  前後までの発芽体48個体について、葉長 (L) と葉幅 (W) を測定し、Fig. 4 に図示した。これから回帰直線を求めると  $L=2.53W-5.13$  となり、相関係数 0.969 となって明らかに正の相関を示した。この時期までの葉体では、リシリコンブ (金子 1973) と同様に直線回帰した。しかし、葉体の幅はホンメコンブやリシリコンブ (阪井・船野 1964, 金子 1973) より幅広い形態を示す。

改変 GRUND の培地と PESI の両培地で、配偶体と孢子体の発生を比較したが、著しい差異は見られないものの、PEI で培養した配偶体の方が球形に近い形を示す傾向が見られた。

本稿の校閲と御指導をいただいた北海道大学水産学部の齋藤譲博士に感謝の意を表します。

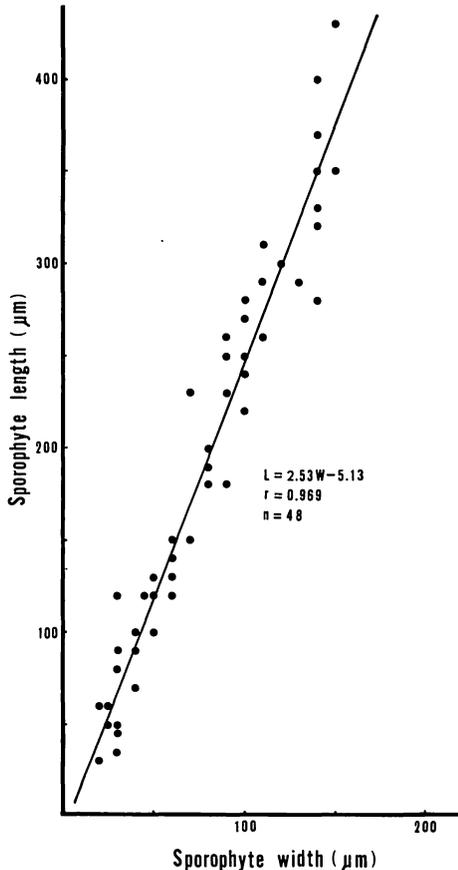


Fig. 4. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Relationship between width and length of sporophytes cultured at 20°C.

#### 引用文献

- 井狩二郎 1921. ホンメコンブの発生について。植物学雑誌 35: 207-218.
- KAIN, J.M. 1964. Aspects of the biology of *Laminaria hyperborea*. III. Survival and growth of gametophytes. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 44: 415-433.
- KAIN, J.M. 1969. The biology of *Laminaria hyperborea*. V. Comparison with early stage of competitors. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 49: 455-473.
- 神田千代一 1939. 暖海産昆布科植物の遊走子培養に就て。服部報公会研報 8: 317-343.
- 神田千代一 1964. 北海道沿岸産昆布族植物の発生学的研究。函館水産研報 1: 1-44.
- 金子 孝 1973. リシリコンブの天然における雌性配偶体および幼体の形態。北水試報告 15: 1-8.
- LÜNNING, K. and NEUSHUL, M. 1978. Light and temperature demands for a growth and reproduction of Laminarian gametophytes in southern and central California. Mar. Biol. 45: 297-309.
- McLACLAN, J. 1973. Growth media-marine, p. 25-51. In J.R. STEIN (ed.) Handbook of Phycological Methods. Cambridge University Press, London.
- 岡村金太郎 1936. 日本海藻誌。内田老鶴圃, 東京.
- 阪井與志雄・船野 隆 1964. 忍路湾におけるホンメ

コンブの雌性配偶体と孢子体。北水試報告 2: 1-6.

SANBONSUGA, Y. and HASEGAWA, Y. 1969. Studies on *Laminariales* in culture II. Effects of culture conditons on the zoosporangium formation in *Costaria costaria* (TURN.) SAUNDERS. Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab. 35: 198

-202.

殖田三郎 1929. ほそめこんぶノ発生ト温度トノ関係ニ就テ。水産講習所試験報告 24: 174-180.

YABU, H. 1964. Early development of several species of *Laminariales* in Hokkaido. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 12: 1-72.

## 西表産カタメンキリンサイの四分胞子の放出期とその発生

横 地 洋 之

東海大学海洋研究所西表分室 (907-15 沖縄県八重山郡竹富町字崎山 165)

YOKOCHI, H. 1983. Seasonal variation of spore-liberation and development of tetraspores of *Eucheuma gelatinae* J. AGARDH (Gigartinales, Rhodophyta) at Iriomote Island. Jap. J. Phycol. 31: 34-37.

Seasonal variation of tetraspore-liberation of *Eucheuma gelatinae* was observed in Amitori Bay, Iriomote Island, South Okinawa during the period from April 1979 to March 1980. Culture experiments were conducted using the germinating tetraspores of *E. gelatinae* for a period of 54 days.

Tetraspore-liberation occurred throughout the year with the peak in November. Liberated tetraspores were spheroidal, 15-25  $\mu\text{m}$  in diameter. They germinated in the manner of the immediate discal type, and the germlings reached 1.6 mm in length after 54 days.

*Key Index Words:* aquaculture; edible seaweed; *Eucheuma Gigartinales*; *Rhodophyta*.

*Hiroyuki Yokochi, Iriomote Marine Research Station, Tokai University, Taketomi-cho, Yaeyama-gun, Okinawa, 907-15 Japan.*

琉球諸島には7種のキリンサイ属の分布が知られている(瀬川・香村 1960)。その中でカタメンキリンサイ *Eucheuma gelatinae* J. AGARDH は鹿児島以南で最も普通に見られる種である(岡村 1916 1936)。

本種は西表島では西部を中心に多く産し、一般に“つのまた”と呼ばれ、古くから糊料又は食用とされ、その乾燥品は鹿児島や大阪方面へ出荷されている。八重山漁協によれば昭和54年には 16,400 kg の水揚げがあり、この地方の漁業者の貴重な収入源となっている。

キリンサイ類の増養殖については、近江・新村 (1976), DOTY (1973, 1979) らの報告がある。カタメンキリンサイについては、昭和30年頃から当時の西表漁協により、サンゴの破片を浅い海底に敷きつめ、これに胞子を付着、生育させる方法で増殖が試みられ、効果があったとされている(藤森 1964)。現在では施肥や移植などにより本種の増産が試みられているが、増養殖の手法はまだ確立されていない。

筆者はカタメンキリンサイの増養殖を目的とし、それに関する基礎的な調査を行っているが、これまでに四分胞子の放出期及びその発生様式について2, 3の知見を得たので、ここに報告する。

### 材料及び方法

調査は沖縄県西表島の西部に位置する網取湾において行った。ここではカタメンキリンサイはサンゴの骨格や岩などに付着し、1年に数回干出するリーフ内に周年にわたり生育している。調査を行った場所は東海大学海洋研究所西表分室附近である (Fig. 1)。この附近の海面水温は Fig. 2 に示したように、冬季でも 20°C 以上である。

1. 四分胞子の放出期: 調査期間は1979年4月から1980年3月までの1年間で、このうち4, 5, 6月は月1回、それ以降は月2回の調査を行った。調査地から毎回20株を採集し、現場の海水に浸したまま西表分室の実験室に持ち帰り、直ちに実験に供した。材料には、四分胞子嚢を最も多く形成している藻体の先端に近い部分を 3~5 cm 切り取ったものを用いた。これをろ過海水と筆を用いて洗浄した後、スライドグラスに1個ずつのせ、ろ過海水を満たした大型シャーレに入れ、室内の直射日光の当たらない場所に静置した。20~24時間後に藻体を取り除き、20枚のスライドグラスについて、各々18カケル 24 mm の面積内における胞子の放出数を検鏡により求めた。

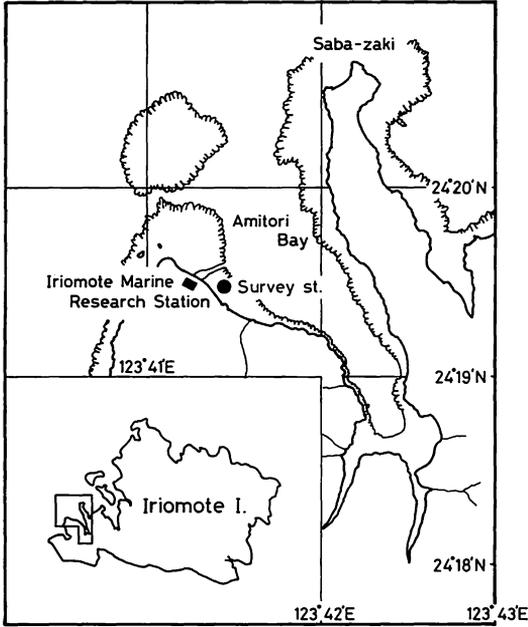


Fig. 1. Map of Amitori Bay, Iriomote Island, showing the survey station.

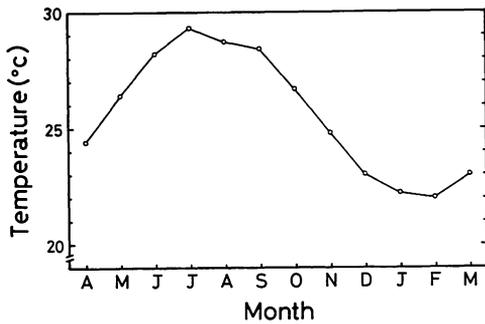


Fig. 2. Seasonal change of water temperature at Amitori Bay, Iriomote Island.

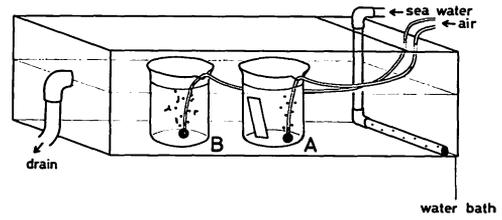


Fig. 3. Culture equipment of *Eucheuma gelatinae*.

用を通常処法の半量加えたものを使用し、1週間ごとに全量を交換した。また、培養期間中の水温は19.3~25.0°Cの範囲であった。

## 結 果

1. 四分胞子の放出期：四分胞子嚢は体の主として片面にあるとげの表面に集中して形成され、その部分は成熟したもほど明瞭な黒い点として認められた。四分胞子嚢は Fig. 4 に示すように環状に分割する。

四分胞子の放出量を4階級に分け、各階級の出現度を百分率で求め、それらの結果を Fig. 5 に示した。この図から四分胞子は周年にわたって放出がみられるが、10月から1月にかけて放出量が多く、特に11月では最大の放出量が見られ、四分胞子放出の最盛期であることがわかる。

2. 四分胞子の発生：放出された四分胞子は直径15~25 μm、平均19.8 μmの球形で、全体はやや暗緑色がかっており、内部に不定形の紅褐色の色素体と中央附近に核と思われる淡色部位が見られた (Fig. 6A)。着生後ほとんどの胞子は24時間以内に2細胞、48時間以内に3~4細胞に分割した (Figs. 6B-D)。3日後には5~6細胞に分割し、一部には周辺に柔細胞の突出がみられた (Fig. 6E)。その後細胞数と直径を増しながら半球状に盛り上がり、5日後にはその最大直径は30 μmに達した (Fig. 6F)。この頃から発芽体は深紅色を呈し始め、8日後には45 μm (Fig. 6G)、13日後には100 μmとなり、また周辺から毛の伸長がみられ始めた (Fig. 6H)。そして17日後には直径0.1 mm、高さ0.2 mmの円柱状の幼体となった (Fig. 6I)。この頃から珪藻類等の繁茂が著しく、脱落したり枯死したりする発芽体のみられ始めたので、24日目からはスライドガラスから剝離して浮遊状態で培養した。発芽体は33日後には直径0.3 mm、高さ1.1 mm、54日後には直径0.4 mm、高さ1.6 mmに生長した

2. 四分胞子の発生：1979年10月1日及び11月11日に採集した四分胞子体を用い、前述と同様の方法でスライドガラスに胞子を着生させた。これを1 l ビーカーに移し、温度の安定を計るために海水を通した透明の硬質塩化ビニール製の水槽内に入れ、北向の窓際で通気培養した (Fig. 3)。培養中珪藻類等に覆われて枯死する個体が出始めた場合は、スライドガラスから発芽体ははずし、浮遊状態で培養を継続した (Fig. 3)。このようにして、54日間にわたり培養実験を行った。培養液はろ過海水に栄養源として新ノリマックス前期

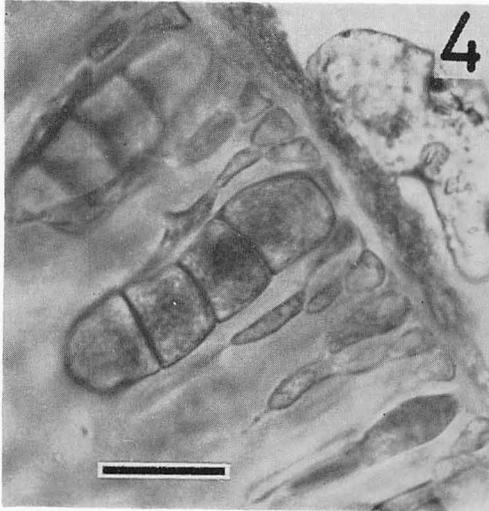


Fig. 4. A tetrasporangial sorus with zonate tetraspores of *Eucheuma gelatinae* (scale: 20  $\mu$ m).

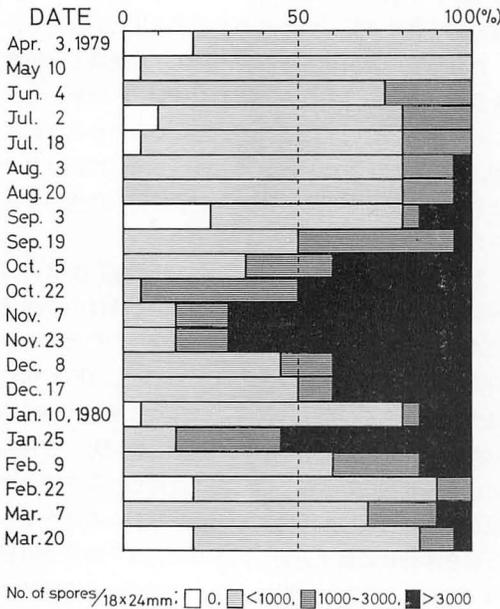


Fig. 5. Seasonal change of tetraspore-liberation of *Eucheuma gelatinae*.

(Figs. 6J-K). その後の生長は、発芽体上に珪藻類等の着生が著しくなったため、鈍くなった。そして約9ヶ月後には 5~15 mm に達したが、やがて軟化、脱色し始めて枯死した。なお、円盤状の発芽体の直径が 100  $\mu$ m (着生後13日目) に達した頃からみられた毛は、生長に伴いその数と長さを増したが、高さ 1.5

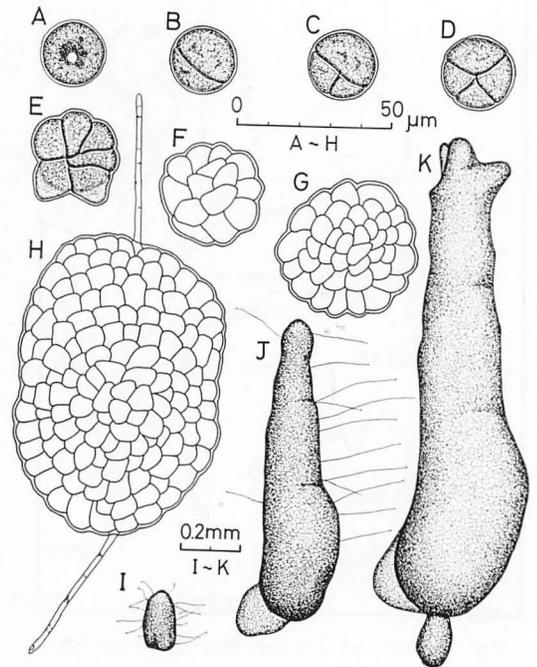


Fig. 6. Development of the germinating tetraspores of *Eucheuma gelatinae*. A. liberated tetraspore; B. 1-day-old germling; C-D. 2-day-old; E. 3-day-old; F. 5-day-old; G. 8-day-old; H. 13-day-old; I. 17-day-old; J. 33-day-old; K. 54-day-old germling.

mm (50日目以降) になる頃にはすべて消失した。

考 察

以上のように、本種の四分胞子は周年にわたって形成され、その放出最盛期は11月であった。また、四分胞子の発生様式は、猪野 (1947) の直接盤状型と一致する。新村 (1975) によると、近縁種のアマクサキリンサイ *E. amakusaensis* の四分胞子は、7月に最も多く放出され、またその発生様式は直接盤状型であるという。本種とはその四分胞子の大きさ並びに発生様式が極めてよく一致したが、四分胞子の放出期に関しては異なる結果が得られた。一方 DAWES ら (1974) はフロリダのキリンサイ属3種について研究を行った結果、胞子形成時期は日照時間と日射量の減少する晩秋から初冬であると報告している。この結果は本種の四分胞子放出期とほぼ一致する。

なお、筆者の一ヶ年間にわたる継続的な観察結果によれば、カタメンキリンサイは周年にわたって生育し、

そのほとんどは四分孢子体で、果孢子体は見られない。新村 (1975) によると、アマクサキリンサイは、9月に藻体が消失する一年生海藻で、またわずかではあるが果孢子体が見られるという。このように、本種とアマクサキリンサイとは、その生育年限や配偶体の有無に関して相異点がみられた。

## 謝 辞

本研究の動機を与えられた前東海大学海洋研究所西表分室長永井 彰教授、本稿の作成に当たり、有益な助言と原稿の校閲を賜った東海大学海洋学部林田文郎教授および鹿児島大学名誉教授田中 剛博士に厚く御礼申し上げます。また研究の過程で終始激励と教示をいただいた東海大学海洋学部工藤盛徳教授に感謝申し上げます。

## 引用文献

- DAWES, C. J., MATHIESON, A. C. and CHENEY, D. P. 1974. Ecological studies of Floridian *Euclidean* (Rhodophyta, Gigartinales). I. Seasonal growth and reproduction. Bull. Mar. Sci. 24: 286-299.
- DOTY, M. S. 1973. Farming the red seaweed, *Euclidean*, for carrageenans. Micronesica 9: 59-73.
- DOTY, M. S. 1979. Status of marine agronomy, with special reference to the tropics. Proc. Int. Seaweed Symp. 9: 35-58.
- 藤森三郎 1964. 水産増殖面から見た 琉球沿岸漁業振興方策。琉球政府経済局。
- 猪野俊平 1947. 海藻の発生。北隆館、東京。
- 近江彦栄・新村 巖 1976. 養殖によるアマクサキリンサイの生長。藻類 24: 98-102.
- 岡村金太郎 1916. 日本藻類名彙。成美堂、東京。
- 岡村金太郎 1936. 日本海藻誌。内田老鶴圃、東京。
- 瀬川宗吉・香村真徳 1960. 琉球列島海藻目録。琉球大学教務部普及課。
- 新村 巖 1975. アマクサキリンサイに関する二、三の知見。藻類 23: 47-52.

## ホンダワラ類の初期形態形成に関する研究—II. ヤツマタモク<sup>1)</sup>

寺脇利信\*・野沢治治\*\*・新村 巖\*\*\*

\* 電力中央研究所生物環境技術研究所水域生物部 (270-11 千葉県我孫子市我孫子1646)

\*\* 鹿児島大学水産学部 (890 鹿児島市下荒田 4-50-20)

\*\*\* 鹿児島県水産試験場生物部 (892 鹿児島市錦江町11-40)

TERAWAKI, T., NOZAWA, K. and SHINMURA, I. 1983. Studies on morphogenesis in the early stages of *Sargassum* (Phaeophyceae, Fucales). II. *Sargassum patens* C. AGARDH. Jap. J. Phycol. 31: 38-43.

This paper presents results of studies on morphogenesis in the early stages of *Sargassum patens* cultured in the sea. Embryos developed the first primary leaf which showed narrow spatulate shapes in the culture tank but was subcylindrical in the sea. When plants attained about 2 cm in total length, primary leaf divided dichotomously or pinnately with dentate margin. These primary leaves were arranged spirally on the stem. Thereafter, old primary leaves fell off successively. When plants attained 3 cm in total length, main branches developed in a spiral arrangement at the top of the stem. Young main branches were similar to divided primary leaves. Leaves formed in distichous arrangement at the apex of main branches. Leaves on the lower part of main branches were linear-lanceolate with dentate margin, but those on the upper part were divided a few times. When total length of plants reached 20 cm, lateral branches and vesicles were observed on main branches. Plants attained their maturity in 13 months.

*Key Index Words:* Fucales; growth; morphogenesis; Phaeophyceae; Sargassum; Sargassum patens.

Toshinobu Terauaki, Aquatic Biology Department, Bio-Environment Laboratory, Central Research Institute of Electric Power Industry, 1646 Abiko, Chiba, 270-11 Japan; Koji Nozawa, Laboratory of Marine Botany, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima, 890 Japan; Iwao Shinmura, Biology Department, Kagoshima Prefectural Fisheries Experimental Station, 11-40 Kinko-cho, Kagoshima, 892 Japan.

著者らは前報 (寺脇他 1982) において、ホンダワラ属の *Phyllotricha* 亜属に分類されているマメタワラ *Sargassum piluliferum* の初期形態形成について報告した。今回は *Schizophycus* 亜属のヤツマタモク *Sargassum patens* について報告する。

### 材料と方法

培養方法および観察方法は前報 (寺脇他 1982) と同じ要領で行った。

1) 本論文は寺脇の鹿児島大学大学院修士論文の一部である。

母藻は昭和54年5月26日、鹿児島湾々口部の山川町金比羅鼻において採集したヤツマタモクで、生殖器床の表面に多数の放出卵ないし幼胚を保有していた。採集した母藻を大型クーラーで保冷し、鹿児島県水産試験場へ持ち帰った。翌5月27日、水槽底へ沈着した幼胚を集め、ピペットで養殖網へ採苗後、4トン水槽で育苗し、7月6日 (採苗後41日) その養殖網を坊津町久志地先へ沖出しして海中養殖を開始した。

### 結 果

培養経過: 採苗後の培養経過を Fig. 1 に示した。

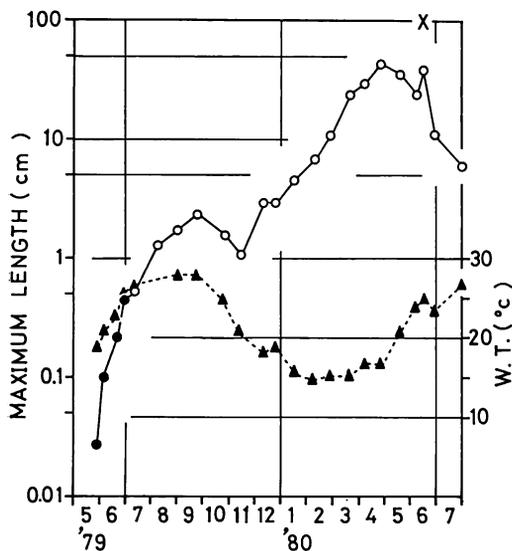


Fig. 1. Growth of *Sargassum patens*. ●—●: cultured in the tank; ○—○: cultured in the sea; ×: receptacle formation; ▲—▲: water temperature.

放出卵には8核が散在しており、楕円形ないし卵形で (Fig. 2), 30個体平均の大きさが  $220(\pm 25) \times 167(\pm 22) \mu\text{m}$  であった。採苗5日後には、幼胚の下端から16本の第1次仮根が伸出していた (Fig. 3)。採苗後のタンク内育苗は施設の制約等もあって、光、温度、流量等に関しては、必ずしも適正条件を満たしたものでなかったが、9日後1.0 mm, 22日後2.2 mmそして35日後には4.6 mmに達した。7月6日の抽出後は順調な生長を示し9月上旬に1.7 cmに達した。その後、葉体の損傷や減少、生長停滞が認められ、魚類による食害と推察されたため、11月9日に瀬々串漁場へ移植した。移植後は生長を回復したが、9~11月に得られた試料のほとんどは先端の切れた不完全なもので、形態観察に用いることができなかった。翌年4月25日には最大42 cmに達し、その後、6月12日に生殖器床を有する藻体(最大38 cm)が観察されるまでの各採集時には全長30 cm前後であった。7月上旬以降は主枝の基部を残して流失し、一方、若い主枝の萌出が認められ、2年目の生長期に入った。

**観察結果:** 生長経過における長さ別の形態的特徴は、概略以下の通りであった。

全長約1 mm: 第1初期葉の形態はやや扁平した円柱形で、葉幅が0.2 mm程度であった (Fig. 4)。

全長2~3 mm: 第1初期葉はやや扁平の度合いを増し、葉幅が0.3 mm程度となっていた (Fig. 5)。

全長4~5 mm: 第1初期葉はタンク内育苗中に葉幅が0.5~0.7 mmと広くなり、扁平さを増し、狭いへら形を示すものがみられた (Figs. 6, 20)。しかし、養殖網を冲出した後は、第1初期葉が葉幅0.4 mm程度のやや扁平した円柱形を示し、第2初期葉が形成され始めているものもみられた (Figs. 7, 21)。

以後、次々と線形で単条の初期葉が形成され、ある期間後に下部のものから脱落した。一個体上の初期葉数は次第に増加し、全長1~2 cmの試料で最高8~9枚みられるものもあった。

全長約1 cm: 単条の初期葉のみを有するものから、先端が分裂し縁辺がやや波状を呈する初期葉を形成するものまでみられた (Fig. 8)。以後、初期葉は次第に葉幅が広くなり、縁辺が歯状を呈し、隆起する中肋が明らかとなった。

全長約2 cm: 初期葉はほとんどのものが叉状ないし羽状分裂し、裂片の最大幅が2~3 mmで、縁辺が粗い歯状を呈し、茎上にらせん状に配列されていた (Figs. 9, 22)。

全長約3 cm: 長さ3~4 cm、裂片の最大幅5~6 mmとなった初期葉と、茎の先端から形成された主枝を備えていた (Fig. 10)。主枝は扁平し、先端に葉芽がみられ (Fig. 11)、主枝全体の輪廓が分裂している初期葉と酷似していた。

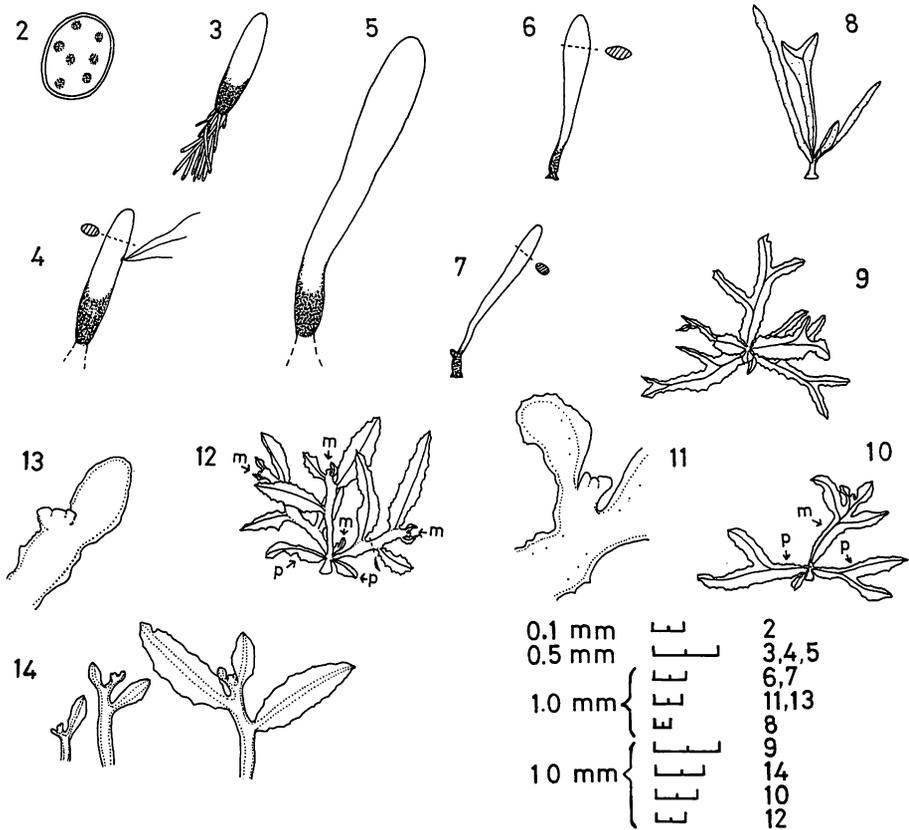
全長約5 cm: 2枚の初期葉と4条の主枝を備えている試料が得られた (Figs. 12, 23)。初期葉には弱ったり、先端の切れているものもみられた。主枝のうち1条は形成開始直後であったが、先端に葉芽が認められ、初期葉とは容易に区別できた (Figs. 13, 24)。

主枝は伸長につれ両縁から葉を2列に互生\*し (Figs. 14, 25)、葉が発達して披針形ないし広線形となり、隆起する中肋と縁辺の歯状が明らかとなっていくのが認められた。

全長約10 cm: 初期葉は主枝形成以後次第に数が減少し、先端の切れているものが増えていた (Fig. 15)。主枝は最大幅3~4 mmとなり、先端で葉芽を2列に互生していた (Figs. 16, 26)。葉は線状披針形を示し、主枝上部では分裂するものもみられた。

全長20~30 cm: 初期葉がほとんど全て脱落し、茎が長さ5~10 mmとなり、主枝を4~5条備えて

\* 2列互生: 1つの節に1枚ずつ葉がつく互生葉序のうち、前節の葉の真上に重なって次々に配列する場合。



Figs. 2-14. Morphogenesis of *Sargassum patens*. 2. Egg released from receptacle; 3. 5 days after sowing; 4. After 9 days, development of first primary leaf; 5. After 17 days, first primary leaf subcylindrical in shape; 6. After 35 days, first primary leaf narrow spatulate in shape in the culture tank; 7. After 55 days, first primary leaf subcylindrical in shape again in the sea; 8. After 76 days, development of dichotomously divided primary leaves; 9. After 98 days, plant with dichotomously or pinnately divided primary leaves with dentate margin; 10. After 213 days, development of main branch; 11. Apex of young main branch; 12. After 236 days, plant with four main branches; 13. Development of main branch; 14. Various stages of main branches.

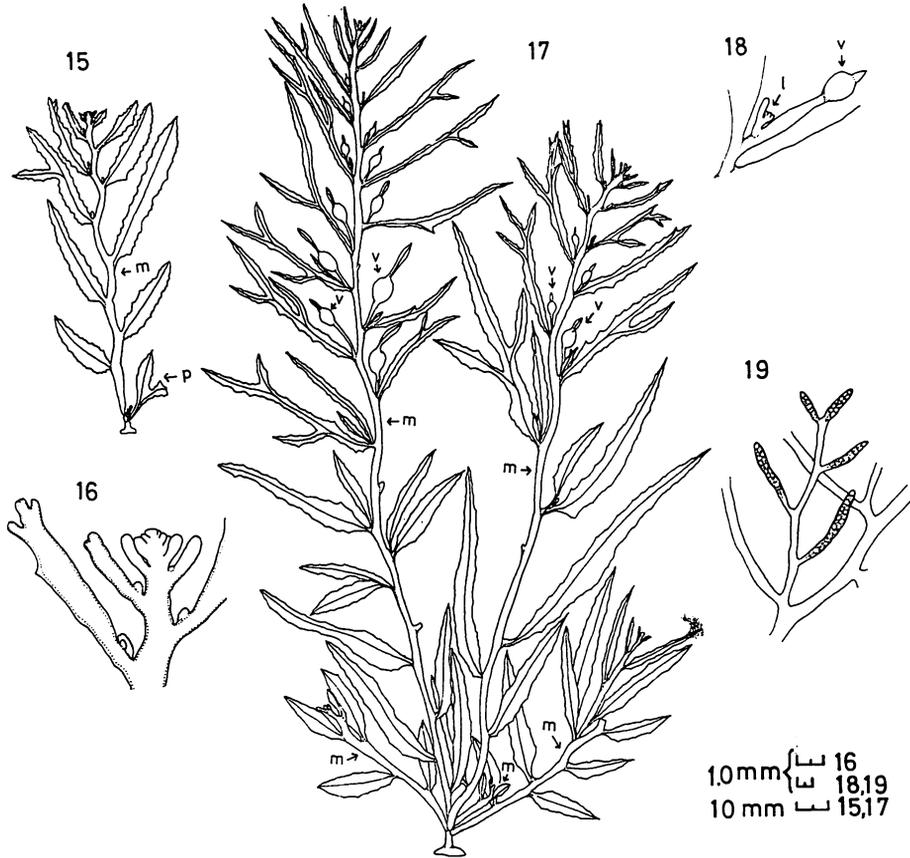
いるものがみられた (Figs. 17, 27)。葉は主枝の基部付近では単条であり、主枝上部では1~2回分裂しているものが多く、いずれも縁辺がやや粗い歯状を呈し、各裂片まで中肋が明らかであった。葉腋には側枝と気胞が形成され始めていた。気胞は葉の中部が膨大して形成され (Fig. 18)、楕円形ないし倒卵形で、線形の冠葉を有していた。

以上のように、全長が約 20 cm に達したものでは、生殖器床を除けば、母藻の有する形質を表わしていた。その後養殖を続けた結果、6月12日にこれら養殖藻体の最末小枝上に生殖器床が観察された (Figs. 19, 28)。それらの生殖器床は十分に発達してはいなかつ

たが、形態が母藻のそれと一致し、ヤツマタモクであることが確認された。一方、付着器は多数の仮根が束状ないし塊状に癒合して形成された。本種の付着器は表面が平滑な盤状であるが、全長が伸長するにつれ養殖網を包み込むように発達し、全長約 40 cm の試料では着生基質の 4.2 mm ロープをほぼ半周していた。

## 考 察

本種は、猪野 (1947) によると放出卵が楕円形で大きき  $218 \times 177 \mu\text{m}$  であり、幼胚の下端に16本の第1次仮根を形成する。今回の観察結果もそれと一致し



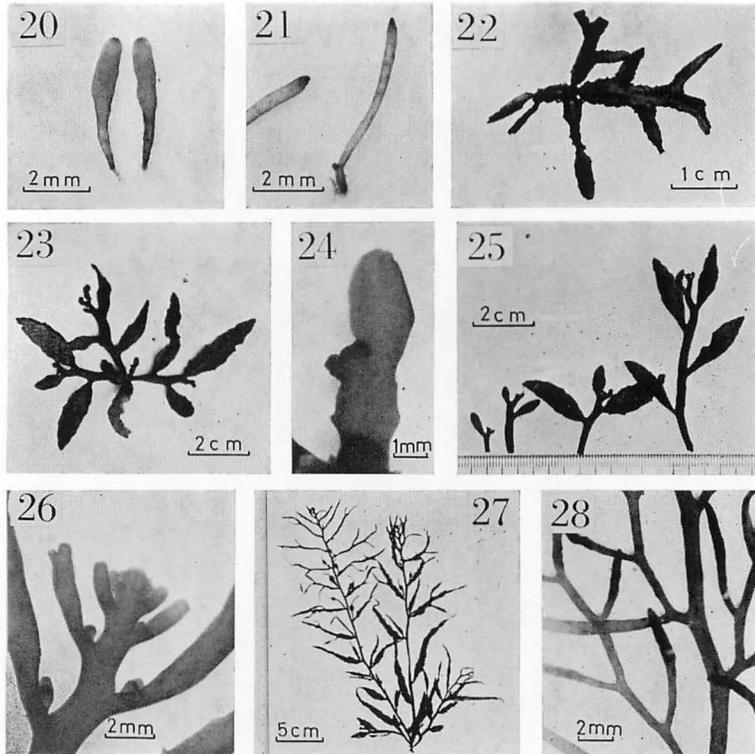
Figs. 15-19. Morphogenesis of *Sargassum patens*. 15. After 275 days; 16. Apex of main branch with buds formed distichously; 17. After 317 days, plant with five main branches and vesicles; 18. Development of lateral branch and vesicle; 19. Receptacle of cultured plant. Lateral branch (l); main branch (m); primary leaf (p); vesicle (v).

た。その後の形態形成に関する報告は、ヤツマタモクに関しては見当たらないようであるが、本研究によりその概要を明らかにすることができた。すなわち、本種の初期形態形成の特徴は、ほぼ次のようにまとめられる。

幼胚から形成された第1初期葉は、全長 1~2 mm の間は円柱形であったが、タンク内育苗中に全長 4~5 mm に達したもので、葉幅が 0.5~0.7 mm と広くなり、扁圧して狭いへら形を示すものがみられた。しかし、養殖網を冲出した後は、再び葉幅 0.4 mm 程度の扁圧した円柱形となっていた。この変化は、ヤツマタモクの第1初期葉の生長過程における普遍的性質であるのか、環境の変化によるものであるのか分らなかった。以後、扁圧した単条で線形の初期葉を形成するが、全長 1~2 cm に達すると、次第に葉幅が広く、分裂し、縁辺が波状ないし歯状を呈する初期葉を

形成するようになる。初期葉は叉状または羽状分裂し、全長 10~20 cm に達した個体では、弱ったり、先端の切れたものが多くなっている。これら初期葉はらせん葉序を示して形成され、生長に伴って古いものから順次脱落していき、次第に茎が伸長していく。

全長 3 cm に達するころから、茎の先端には、初期葉に代って主枝が形成され始める。初期葉に続いて形成された最初の主枝は、形成初期には全体の輪廓が初期葉と酷似している。その後、主枝は形成開始直後でも、先端に認められる葉芽によって、初期葉とは容易に区別できるようになる。主枝に形成される葉は、主枝の両縁から2列互生し、線状披針を示し、主枝上部では分裂するものもみられ、縁辺が歯状を呈し、中肋が明らかである。全長 20 cm に達すると、側枝や気胞が形成され始め、成体の形態的特徴を表わしてくる。主枝の形成後は、主枝の伸長が旺盛であり、茎の



Figs. 20-28. Morphogenesis of *Sargassum patens*. 20. After 35 days, first primary leaf narrow spatulate in shape in the culture tank; 21. After 55 days, first primary leaf subcylindrical in shape in the sea; 22. After 122 days, development of dichotomously or pinnately divided primary leaves with dentate margin; 23. After 236 days, plant with four main branches; 24. Development of main branch; 25. Various stages of main branches; 26. Apex of main branch with buds formed distichously; 27. After 317 days, plant with five main branches and vesicles; 28. After 383 days, receptacle of cultured plant.

伸長は極めて緩慢である。全長 30~40 cm に達した個体の茎の高さは 1 cm 以下である。

本種の初期葉の形態形成は、*Phyllotricha* 亜属のマメタワラ (寺脇他 1982) との間に共通性が認められた。すなわち、茎にらせん状に形成される初期葉が単条のものから分裂するものに代わり、その後、主枝が形成され始めると初期葉は形成されない。ただ、本種の初期葉は、マメタワラのものに比べ、幅が広く、縁辺の波状ないし歯状が明瞭である。岡村 (1956) は、本種の主枝を、形成初期には葉とみなし、伸長して羽状裂片を互生した状態から、葉 (羽状裂片) を備えた主枝とみなしている。本種は主枝が扁平しており、縁辺から葉を 2 列互生して、平面的に発達するため、今回の観察でも、特に、初期葉に続いて形成される主枝は、初期葉と区別しにくい場合があった。また、*Eusargassum* 亜属の *Sargassum swartzii* (CHAUHAN

and KRISHNAMURTHY 1971) でも、初期葉と主枝の区別が不明瞭である。このことは、*S. swartzii* (ひらえもく) でも主枝が扁平で、葉と側枝が主枝の縁辺から 2 列互生する (山田 1942) ことから、ヤツタマモクと同様に、初期葉と形成開始時の主枝とが、形態的に類似していたためではないかと想像される。

終りに、御校閲をいただいた北海道大学理学部助教 吉田忠生博士に厚くお礼を申しあげる。また、本論文を作成するにあたり、有益な御助言と御配慮をいただいた電力中央研究所生物環境技術研究所長中村宏博士および同水域生物部長下茂繁博士に謝意を表する。

#### 引用文献

- CHAUHAN, V. D. and KRISHNAMURTHY, V. 1971.  
Ecology and seasonal succession of *Sargassum*

*swartzii* in Indian waters. *Phykos* 10: 1-11.  
猪野俊平 1947. 海藻の発生。北隆館，東京。  
岡村金太郎 1956. 日本海藻誌 第2版。内田老鶴圃，  
東京。  
寺脇利信・野沢治治・新村 巖 1982. ホンダワラ類

の初期形態形成に関する研究—I マメタワラ。  
藻類 30: 305-310。  
山田幸男 1942. 南日本産 ホンダワラ 属の種類に就て  
(1)。植研 18: 369-381。

## ヤコウチュウの研究—I.

### 触手と桿状体の機能

高山 晴 義

広島県水産試験場 (737-12 広島県安芸郡音戸町音戸 5233-2)

TAKAYAMA, H. 1983. Studies on *Noctiluca scintillans* (Dinophyceae)-I. Tentacle and rod organ: their functions. Jap. J. Phycol. 31: 44-50.

*Noctiluca scintillans* (MACARTNEY) is a very characteristic dinoflagellate, whose body is inflated by hydrostatic vacuoles. In addition, it possesses specified organelles such as a tentacle, a rod organ and a projecting tooth, but the functions of these organelles have not been well known. In this paper, the results of some observations on the function of these organelles are described.

The tentacle is the most prominent organelle of *Noctiluca*. Usually, it beats toward the oral pouch slowly and repeatedly, and the distal end reaches to the cytostome. While the tentacle is moving repeatedly, food organisms adhere to the distal end of the tentacle, on which some adherent substances are probably excreted. It seems that the tentacle plays an important role in capturing food and carrying it to the cytostome.

Subsequently, the food captured on the tentacle is ingested within the body of *Noctiluca* through the cytostome. In the beginning of ingestion, the food is carried toward the apex, where the rod organ is located, by protoplasmic streams of protoplasmic processes connecting the central protoplasmic mass and the rod organ. The surface of the apex may be pulled inside the body when *Noctiluca* takes food, especially large food such as copepods or fish eggs. On those occasions, the apex may be depressed and *Noctiluca* could probably not take food into the body, if the surface of apex was flexible. The rod organ is the stoutest organelle of *Noctiluca*. It appears that the rod organ supports the apical surface and it may support the intake of food.

As mentioned above, it appears that the tentacle and the rod organ play important roles in the capture and ingestion of food organisms. However the function of the projecting tooth is still unknown.

*Key Index Words:* Dinophyceae; *Noctiluca*; rod organ; tentacle.

Haruyoshi Takayama, Hiroshima Fisheries Experimental Station, 5233-2 Ondocho, Aki-gun, Hiroshima, 737-12 Japan.

無殻渦鞭毛藻(虫)の1種とされるヤコウチュウ *Noctiluca scintillans* (MACARTNEY) は、体内に著しく大きい液胞をもち、さらに触手、桿状体、菌状突起などの細胞器官を有すなど、その形態は特徴的である。しかし、これら諸器官の機能については、いまだ未知のことが多い。著者は、赤潮構成主要生物としてのヤコウチュウに注目し、ここ数年その生態や生殖について研究を行っている。前報(高山1977, 1979)では、触手が捕食器官としての機能をもつことを報告したが、その後の観察の結果、桿状体も摂餌に関与する

と推察するに至った。本報では、ヤコウチュウの捕食行動と、触手および桿状体との関係について報告する。

### 材料と方法

観察に供したヤコウチュウは、広島湾内で採集し、高山(1977)の方法に従って *Heterosigma inlandica* を餌料として培養したものである。

光学顕微鏡観察には、福代ら(1977)の渦鞭毛藻の cyst 培養用スライドガラスを改変したものをを用いた。

このスライドグラスにヤコウチュウと各種餌料を封入して、その摂取過程を観察した。

走査電子顕微鏡 (SEM) 観察試料は、固定・脱水・臨界点乾燥・炭素の真空蒸着・金のイオンスパッタコーティングの各処理を施して作製した。前報 (高山 1981 a) でヤコウチュウの SEM 試料を作製する場合、イオンスパッタコーティング中に体表にシワを生じることがあるので、その前に炭素の真空蒸着を施すなど、体表を補強する工夫が必要であることを示唆した。今回、炭素蒸着を行った結果、比較的良好な試料を得ることができた。

観察に使用した SEM は日立製作所製 S-430 型である。

## 結果と考察

ヤコウチュウの SEM 写真を Figs. 1-6 に示す。

ヤコウチュウは渦鞭毛藻のなかでも特異な形状をしているので、その体制方向 (orientation) の解釈が研究者によってかなり異なっている。KOFOID (1920) および KOFOID and SWEZY (1921) は、細胞口が存在する深い窪み (oral pouch) が他の渦鞭毛藻の縦溝に相当し、触手の生ずる部分が縦溝の後端であると解釈している。つまり、oral pouch のある方が腹側となり、桿状体の存存する方が細胞の上側にあたることになる (Figs. 1, 2)。本報ではこの解釈に従って各器官の位置や方向を説明する。

### 1. 触手の運動と機能

触手の基部は円筒形であるが、基部を除く大部分の横断面はほぼ半円形である。なお、丸みのある腹面には縞状構造がある (Fig. 5)。

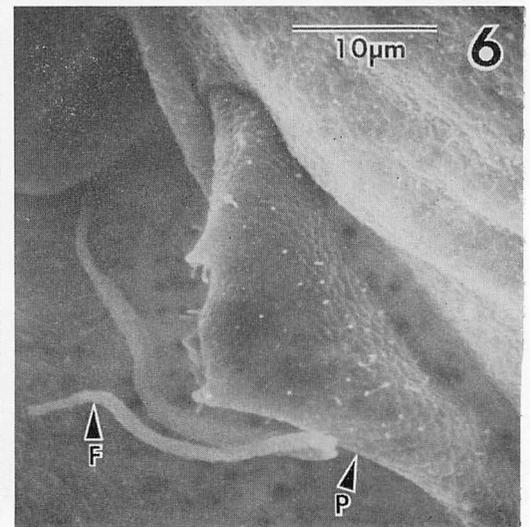
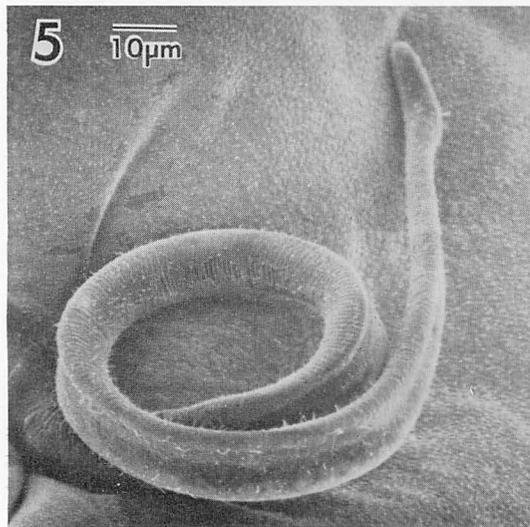
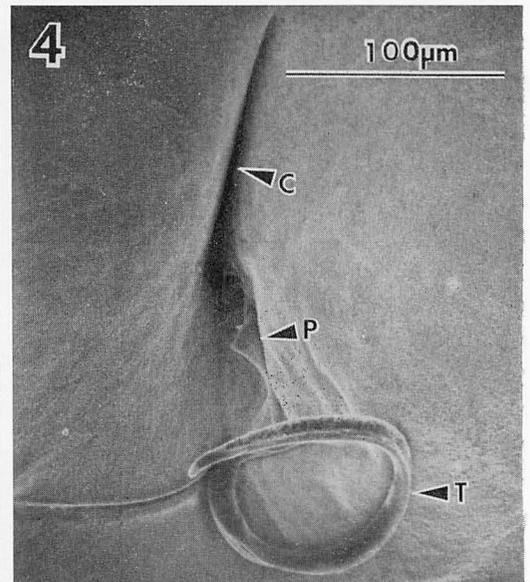
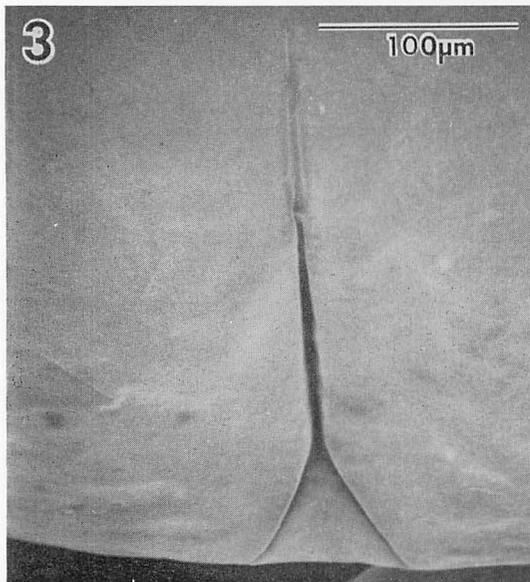
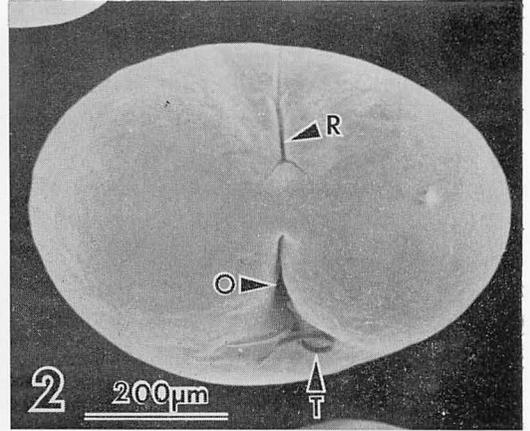
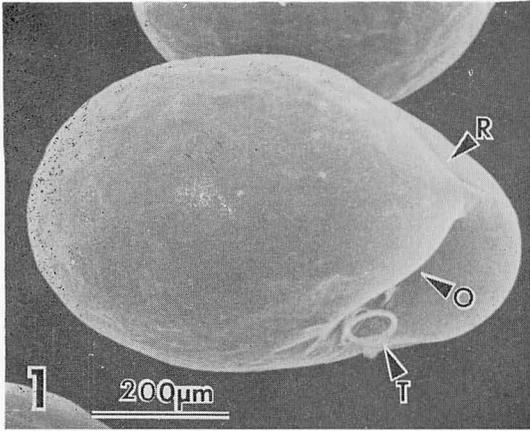
先端部が基物等に付着したり、あるいは二分裂後間もない個体の完全に成長していない触手などは、多少不規則な運動をするが、通常、触手は規則的な運動をする。Fig. 7 は触手の基本的な運動の状態を模式的に示したものである。体の下方または後方に大きく弓なりに伸びた触手 (Fig. 7 の 1) は、基部から1/3ないし1/2の部位が Fig. 7 の 2 から 6 の順序で口部の方向に屈曲し、結局、先端部が口部に達する。このとき、口部に先端を押しつけるような運動がしばしば観察され、まれに細胞口内に触手を挿入することもある。口

部の方向に屈曲した触手は、次に先端を内側に巻き込むようにしながら順次引き伸ばされる (Fig. 7 の 7-12)。ヤコウチュウの活力が低下すると、触手の運動の頻度や振幅が小さくなるが、活力の高い個体は、このような運動を1分間に5~6回繰り返す。そして運動を繰り返しながら、先端部分に餌をつぎつぎと付着させる。Fig. 8 に触手上に *Dunaliella* sp.\* を捕獲した状態を示した。餌を触手上に捕獲しても直ちにこれを摂取するとは限らず、餌を付着させたまま触手を何回も動かすことが多い。また、一旦捕獲された餌が触手上から離脱することも多い。前報 (高山 1979) で報告したように、触手の付着力はそれほど強くないので、遊泳力の弱い餌ほどヤコウチュウは摂取しやすいと思われる。

GROSS (1934) は *Chlamydomonas* sp. を餌料としたヤコウチュウの培養を行い、ヤコウチュウが *Chlamydomonas* を捕食する過程について詳細に報告している。特に触手の機能について、その先端部から粘液物質 (Klebsubstanz) を分泌し、*Chlamydomonas* をつぎつぎに付着させ、それらをひも状または球状の塊にすると述べている。しかし、その付着させる力はそれほど強くなく、*Chlamydomonas* の細胞の塊は容易に触手上から離脱し、塊のなかの各細胞はやがて遊泳力を回復して離散するとも述べている。このGROSSの報告と同様の現象が、*Dunaliella* を与えた本研究の場合にも観察された。一般に、餌は触手に密着していることが多いが、触手と捕獲された餌とが少し離れていることがある。この場合、触手と餌が粘性性の糸様物質で結ばれているらしく、触手の運動とともに餌も動く状態がみられた。Fig. 9 は、シオミズツボムシ *Brachionus plicatilis* を捕獲した状態を示す。最初、触手はシオミズツボムシと密着していたが、ワムシが盛んに遊泳したため徐々に両者の間隔が広がった。しかしこの状態でも両者は連結しており、ヤコウチュウはワムシにひきずられた。これは粘着物質が長く伸びたために起こる現象と推定され、ヤコウチュウの触手から粘着物質が分泌されることはほぼ確実と思われる。

\* 前報 (高山 1977, 1979) では *Chlamydomonas* sp. として引用したが、その後筑波大学原 慶明博士により *Dunaliella* sp. と同定された。

Figs. 1-6. Scanning electron micrographs of *Noctiluca scintillans*. 1. Oblique right side view; 2. Ventral view; 3. Apical view of the rod organ; 4. Ventral view of the oral pouch; 5. The tentacle; 6. The flagellum and the projecting tooth. (C: cytostome. F: flagellum. O: oral pouch. P: projecting tooth. R: rod organ. T: tentacle.).



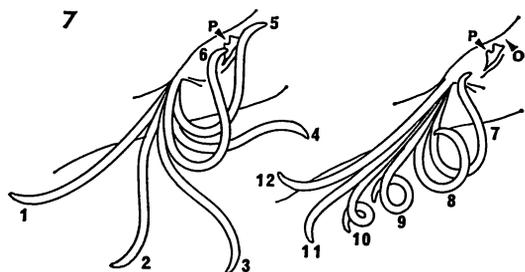


Fig. 7. Schematic representation of movement of the tentacle. (1-6: effective stroke. 7-12: recovery stroke. O: oral pouch. P: projecting tooth.).

前述のように、触手は基本的には細胞口に向って反復運動を行い、餌を捕獲してそれを細胞口に運ぶ機能を有している。羽田 (1979) は、触手は2個体のヤコウチュウが接合する場合に両個体の橋渡しをするのに役立つ、すなわち生殖に関係のある器官であり、餌料摂取には無関係であると述べている。著者は、ヤコウチュウの接合を観察したことがないので、触手が生殖器官としての機能をもつか否かについて論議できないが、捕食器官としての機能を有することは疑いのない事実である。

## 2. 桿状体の機能

桿状体はヤコウチュウの上頂表面に存在する溝状構造物で、始端部は漏斗状に広がっている (Fig. 3)。ヤコウチュウの細胞器官のなかでは特に強固な構造物で、HOFKER (1930) が述べているように、多くの原形質系 (Plasmafäden) によって細胞口の背後に存在する中央原形質 (Zentralplasma) と連絡している (Fig. 11)。

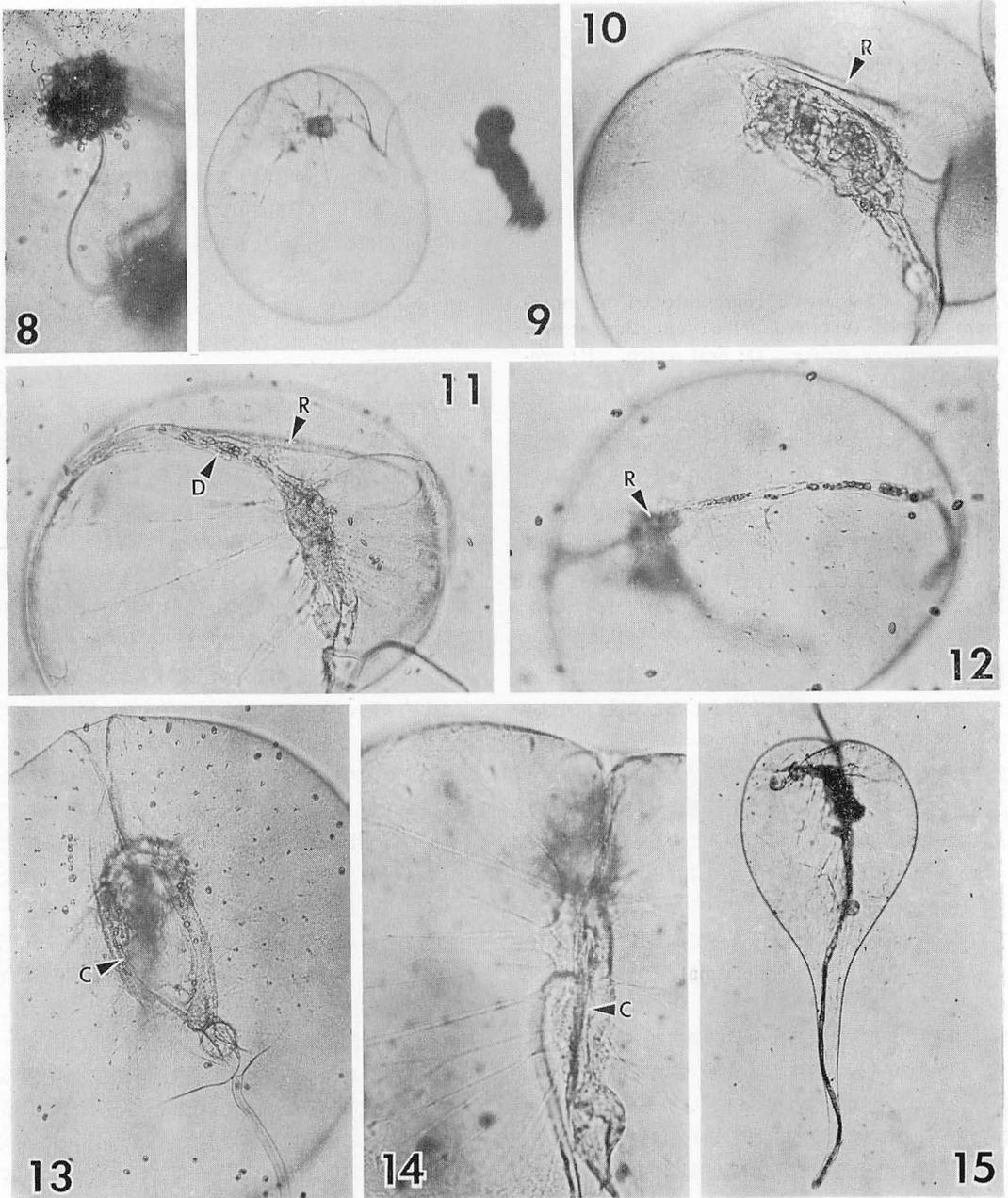
触手上に捕獲された餌はやがて細胞口から摂取される。Figs. 10-12 に各種餌料が摂取される様子を示した。食胞の形状は餌料の違いにより異なる (高山 1979)。餌の摂取に際しては、まず餌は桿状体のある体上頂に引き入れられ (Figs. 10, 11)、その後、桿状体に沿って背側方向に運ばれる (Fig. 12)。ヤコウチュウの体内には常に弱い原形質流動がみられるが、細胞口に餌が入ると、細胞口から桿状体、さらに背側方向に向う原形質流動が急に速くなる。シオミズツボウムシなどのような大形の餌を摂取する場合には、細胞口付近にある中央原形質の一部が、桿状体に連絡する原形質とともに桿状体の方向に収縮するようにして餌を体内に引き入れる。これらの現象から判断すると、餌を体内に取り込みさらに移動させる原動力は原形質

流動と考えられる。

ヤコウチュウが魚類や橈脚類の卵、あるいは多毛類や橈脚類など、かなり大型のプランクトンを摂取することはよく知られており (GROSS 1934, ENOMOTO 1956, SEKIGUCHI and KATO 1976, HATTORI 1962)、綿花の繊維のように自身よりも長大な餌を摂取すると外形が変形する (Fig. 15)。石川 (1898) も *Rhizosolenia alata* と思われる藻類を摂取して、著しく変形したヤコウチュウの図を示している。このような大型の餌を摂取する場合には、ヤコウチュウの上頂部にかかなり大きな力加わるものと推定される。もし、上頂部が軟弱であると、強い力が加われば上頂部が逆に凹み餌の摂取は不可能になると考えられる。このようなことから、桿状体は強固な構造物であり、餌を摂取する際の足場になっているものと推定される。

HOFKER (1930) は、桿状体に連絡する原形質系が収縮することで細胞口が広がると、報告している。これに対し GROSS (1934) は、原形質それ自体に収縮能力があるかどうか疑問であり、ヤコウチュウには細胞口を能動的に拡大する能力はなく、体内に引き入れられつつある餌の圧力によって開口するとしている。しかしながら、現在では原形質流動をする原形質に収縮能力があることはよく知られ (泰野 1976)、また、Fig. 13 に示すように、摂餌とは関係なく開口することも認められる。これらは、能動的に細胞口を開口できるとする HOFKER の説を支持するものといってよい。しかし、二分裂途中の個体で、桿状体がみられないものでも、細胞口を広げて未消化物を排出することもあるので、細胞口の開口は桿状体に連絡している原形質系ではなく、細胞口から左右に放射する原形質系 (Fig. 14) が関与するものと推察される。また、HOFKER (1930) は、大きく開口した細胞口からヤコウチュウ体外に原形質が出て、その原形質が餌を包んで細胞内に飲み込むと述べているが、本研究では原形質が体外に出る状態は観察できなかった。

KOFOID (1920) は、ヤコウチュウの oral pouch は縦溝と相同の器官であるとし、桿状体も縦溝の一部であるとしている。つまり KOFOID は、ヤコウチュウの縦溝は oral pouch と桿状体との2部分からなるとしている。著者 (1981b) は、さきに *Gymnodinium* や *Gyrodinium* などの無殻渦鞭毛藻には、縦溝と横溝とのほかに、上錐溝 (apical groove) と呼ぶ溝構造があると報告した。桿状体は縦溝の一部とするよりはむしろ、上錐溝が発達したものとする方が妥当とも考えられる。もし、桿状体が上錐溝に相当する構造で



Figs. 8-15. Light micrographs of *Noctiluca scintillans*. 8. Capturing of *Dunaliella* sp. on the tentacle; 9. Capturing of *Brachionus plicatilis*; 10. Ingestion of *Brachionus* (R: rod organ); 11. Ingestion of *Dunaliella* (D: *Dunaliella* being taken in *Noctiluca*. R: rod organ); 12. Ingestion of *Heterosigma inlandica* (R: rod organ); 13. Opening of the cytotome (C: cytotome); 14. Protoplasmic processes connected with the cytotome (C: cytotome); 15. *Noctiluca* taking of a cotton fiber.

あるとするならば、桿状体の存在する側が体上部とする KOFOID (1920) および KOFOID and SWEZY (1921) の解釈と一致することになる。ヤコウチュウの桿状体は始端部が漏斗状に広がるなど、他種の上錐溝と異なる点があるが、上記の考察は比較形態学上の観点からも興味が持たれよう。

羽田 (1976, 1979) は、ヤコウチュウの摂餌行動についてつぎのように説明している。すなわち、鼓動運動により海水とともに餌を細胞口から飲み込み、ついで体内に懸垂している原形質が、アメーバのように餌を包み込んで食胞を形成するという。また、口孔を通過しないほどの大型の餌を摂取する場合は、口孔外に偽足を伸ばして餌の原形質を吸収し、採餌が終了すると伸長させた偽足を切り捨てる、とも述べている。本研究では、これらの点について、特に注意深く観察を続けた結果、この羽田の説にはつぎの3点で疑問を持つに至った。(1) ヤコウチュウが鼓動運動をして、細胞口から海水が出入するような現象は観察されない。(2) ヤコウチュウが体外に原形質を伸長させ、それにより餌料摂取を行うことは観察されない。(3) 一般には体内(液胞中)に餌生物が浮遊することはなく、細胞口から摂取された餌は直ちに原形質に取り包まれて食胞が形成される。ヤコウチュウ体内に、ある種の藻類が寄生または共生するために、いわゆる「緑色のヤコウチュウ」という現象が起こることがあると報告されている(遠藤 1918, 谷津 1918)が、羽田(1939)は、ヤコウチュウ体内に寄生(共生)したこの藻類(*Chlamydomonas*)を原形質が捕えて栄養物として消化すると述べている。著者は、この「緑色のヤコウチュウ」を観察したことがないので断定はできないが、この現象は摂餌とは別の現象ではないかと推定している。たとえこのような摂餌が行なわれることがあっても、一般的な餌料摂取方法とは考えられない。

以上述べたように、触手と桿状体は餌料摂取に関与する重要な細胞器官であると推察される。両器官のほかにヤコウチュウは歯状突起(Figs. 4, 6)と呼ばれる外部器官をもつが、これまでの観察では、歯状突起が摂餌に関与するかどうか確認されなかった。その機能は不明である。また、石川(1898)は鞭毛(Fig. 6)が食物を口の中に送るはたらきがあると述べており、KOFOID and SWEZY (1921)も餌の捕獲と摂取に関与していると述べているが、そのような現象は確認されなかった。

謝辞：本稿をとりまとめるに当り種々御指導を賜わり、草稿を校閲していただいた三重大学水産学部岩崎

英雄教授に厚くお礼申し上げる。餌料生物の同定をしていただいた筑波大学原 慶明博士に厚くお礼申し上げます。

## 引用文献

- 遠藤吉三郎 1918. 緑色の夜光虫について。動物学雑誌 30: 31-33.
- ENOMOTO, Y. 1956. On the occurrence and food of *Noctiluca scintillans* (MACARTNEY) in the waters adjacent to the west coast of Kyushu, with special reference to the possibility of the damage caused to the fish eggs by that plankton. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 22: 82-88.
- 福代康夫他 1977. 海産渦鞭毛藻の cyst に関する研究-I. *Protooperidinium minutum* (KOFOID) LOEBLICH. 日本プランクトン学会報 24: 11-18.
- GROSS, F. 1934. Zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Noctiluca miliaris*. Arch. f. Protistenk. 83: 178-197.
- 羽田良禾 1939. 藻琴沼のプランクトン。特に夜光虫に就て。植物及動物 7: 360-366.
- 羽田良禾 1976. 赤潮プランクトン。広島修道大学商業経済研究所報 13: 23-48.
- 羽田良禾 1979. 赤潮プランクトンと夜光虫体の微細構造。広島修道大学研究叢書, 第3号, 広島修道大学総合研究所, 広島。
- 泰野節司 1976. 原形質流動。東京大学出版会, 東京。
- HATTORI, S. 1962. Predatory activity of *Noctiluca* on anchovy eggs. Bull. Tokai. Reg. Fish. Res. Lab. 9: 211-220.
- HOFKER, J. 1930. Über *Noctiluca scintillans* (MACARTNEY). Arch. f. Protistenk. 71: 57-78.
- 石川千代松 1898. 夜光虫に付て。動物学雑誌 10: 273-283.
- KOFOID, C. A. 1920. A new morphological interpretation of the structure of *Noctiluca*, and its bearing on the status of the Cystoflagellata (HAECKEL). Univ. Calif. Publ. Zool. 19: 317-334.
- KOFOID, C. A. and SWEZY, O. 1921. The free-living unarmored dinoflagellata. Mem. Univ. Calif. 5.
- SEKIGUCHI, H. and KATO, T. 1976. Influence of *Noctiluca*'s predation on the *Acartia* population in Ise Bay, Central Japan. J. Ocean. Soc. Japan 32: 195-198.
- 高山晴義 1977. ヤコウチュウ *Noctiluca scintillans* (MACARTNEY) の培養とその観察。日本プランクトン学会報 24: 159-162.
- 高山晴義 1979. ヤコウチュウ *Noctiluca scintillans* MACARTNEY に関する観察-I. 捕食行動につい

て。広島水試研報 10: 27-34.  
 高山晴義 1981a. 赤潮プランクトンの走査電子顕微鏡  
 試料作製法。広島水試研報 11: 101-112.  
 高山晴義 1981b. 走査電子顕微鏡による *Gymnodini-*

*um* 属 2 種の観察。日本プランクトン学会報 28:  
 121-129.  
 谷津直秀 1918. 緑色の夜光虫。動物学雑誌 29: 298.

---

**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 毎日札幌会館内  
 阿寒観光汽船株式会社 085-04 北海道阿寒郡阿寒町字阿寒湖畔  
 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 バイオ事業本部 バイオ開発部 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 静岡県田方郡菰山町四日町 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

---

## オトヒメモズクの四分胞子体

能登谷 正 浩

青森県水産増殖センター(039-34 青森県東津軽郡平内町茂浦字月泊10)

NOTOYA, M. 1983. Tetrasporophyte of *Gloeophycus koreanum* I.K. LEE et YOO (Rhodophyta, Gloiosiphoniaceae) in culture. Jap. J. Phycol. 31: 51-53.

The life history of *Gloeophycus koreanum* I.K. LEE et YOO was studied in culture using the material collected at Tanosawa, Aomori Prefecture, Japan. In culture for two weeks, this material formed spermatangia, gonimoblasts and parasporangia on a single frond. Carpospores developed from the gonimoblast germinated into crustose fronds. After two months, the crustose fronds reached about 3 mm in diameter at 20°C under 1000 lux with 14:10 (light and dark). When the crustose fronds were transferred to 10°C under dark condition, those fronds formed tetrasporangia after two weeks. The culture study revealed that *G. koreanum* has an erect monoecious gametophyte and a crustose tetrasporophyte.

*Key Index Words:* crustose tetrasporophyte; *Gloeophycus koreanum*; life history; Rhodophyta.

Masahiro Notoya, Aquaculture Center, Aomori Prefecture, Moura, Hiranai, Aomori Prefecture, 039-34 Japan.

最近, LEE and YOO (1979) は韓国西岸の Gyeo-kryeolbi 諸島の Gungsido から新属, 新種として *Gloeophycus koreanum* I.K. LEE and YOO を記載した。翌年, KANEKO *et al.* (1980) は日本の北海道北西岸の数か所から同種を得て体構造, 生殖器官について原記載と比較, 考察し, 和名をオトヒメモズクとした。

筆者は1981年9月24日に青森県の西海岸, 深浦町田野沢 (Fig. 1) で高さ1 cm 前後の本種の未成熟体を得た。四分胞子体世代については未だ報告はないので生活史を完結させる目的で, 室内培養を続けたところ, 本種は雌雄同株で, 配偶体は受精によって果胞子を形成した。その果胞子は発芽して小さな殻状体となり四分胞子嚢を形成した。したがって, 本種はイトフノリ *Gloiosiphonia capillaris* (HUDSON) CARMICHAEL (EDELSTEIN 1970, EDELSTEIN and McLACHLAN 1971, DeCEW *et al.* 1981) と同様の生活史を示すようであり, これまでに得られた結果を以下に報告する。

### 観 察

青森県田野沢で採集したオトヒメモズクの藻体は未成熟体であったので, 汚れの少ない体の先端数ミリメー

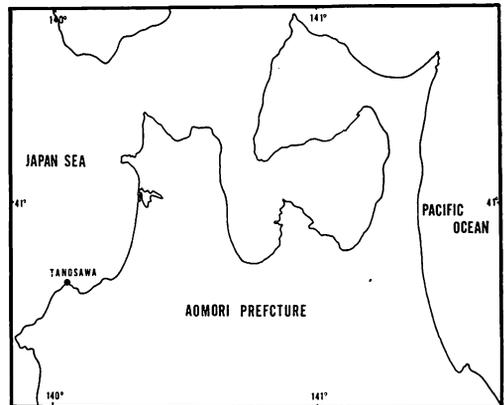


Fig. 1. A map showing the sampling site of *Gloeophycus koreanum* I.K. LEE et YOO.

トルを切り取り, GRUND 改変培地 (McLACHLAN 1973) を用いて 15°C, 1000 lux, 12時間ごとの明暗周期の条件下で2週間培養した。その結果, 体は1 cm 前後に生長するとともに有限枝の先端には多数の精子器, また基部近くにはプロカルブや成熟した嚢果が観察された。枝胞子の形成に関してはこれまでの報告 (LEE and YOO 1979, KANEKO *et al.* 1980) には見られないが, 本材料では有限枝の先端に枝胞子の形成

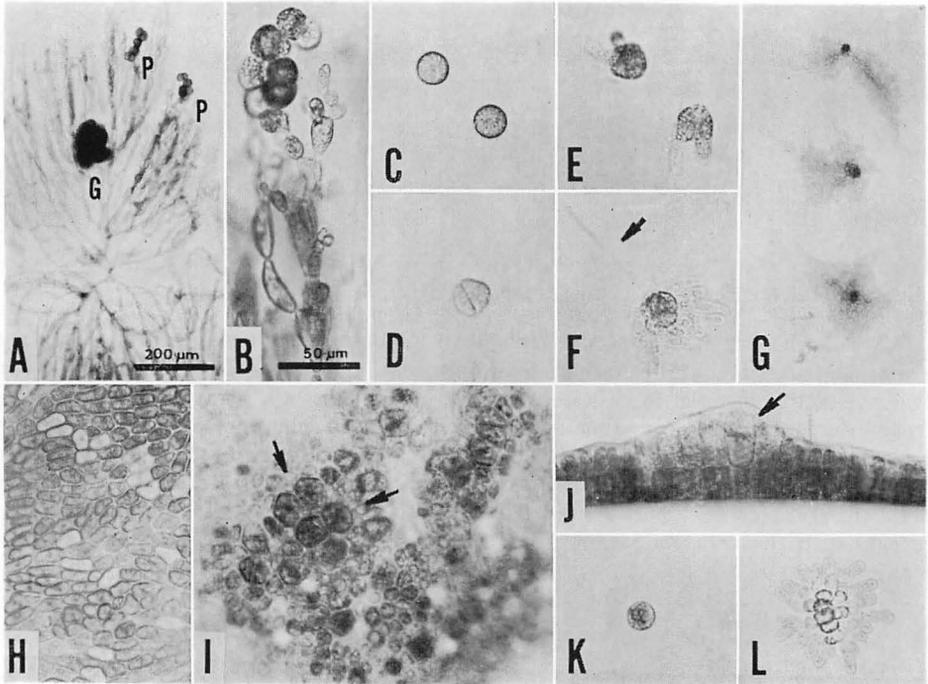


Fig. 2. Several stages of life history of *Gloeophycus koreanum* I.K. LEE et YOO. A. Gametophyte showing gonimoblast (G) and parasporangia (P); B. A part of gametophyte with parasporangia; C-J. Successive developmental stages of tetrasporophyte; C. Carpospores; D. First division of carpospore; E. 3-day-old germlings; F. 5-day-old germlings showing hair cell (indicated by the arrow); G. 11-day-old crustose germlings; H. Surface view of a crustose germling showing transparent cells; I. Surface view of mature tetrasporophyte showing tetrasporangia (indicated by arrows); J. Transverse section of mature tetrasporophyte showing a tetrasporangia (indicated by the arrow); K. Tetraspore liberated from cultured material; L. 6-day-old tetraspore germling. (Scale: 200  $\mu\text{m}$  in A for G, 50  $\mu\text{m}$  in B for C-F and H-L).

が認められた (Figs. 2A, B)。現在この体から果胞子と枝胞子は培養中であるが、ここでは果胞子の発生と四分胞子体の形態について述べる。

果胞子は直径 17.5-22.5  $\mu\text{m}$ 、平均 20.3  $\mu\text{m}$  の球形で紅色を呈していた (Fig. 2C)。培養開始後 2 日目に初めて分割が起り、原胞子が 2 分された (Fig. 2D)。3 日目には発芽体の周囲数方向へ匍匐する細胞を発出させ (Fig. 2E)、発芽後 5 日目には毛状細胞の形成が認められた (Fig. 2F 矢印)。11 日目、数方向へ軸様細胞を伸長させるとともに、その両側に匍匐細胞を広げて盤状発芽体となり、中心部分で数細胞の厚さをもつようになる (Fig. 2G)。発芽体の細胞中には色素体の少ない透明な細胞が所々に見られた (Fig. 2H)。

培養 2 か月後、殻状発芽体の直径は約 3 mm、中央の厚い所は 3-4 細胞層よりなり、厚さ約 30  $\mu\text{m}$  に達したが、四分胞子囊の形成は認められなかった。そ

こで、殻状発芽体を 10°C の暗黒条件下に移してさらに 2 週間培養を行なったところ、四分胞子囊の形成が見られ、胞子の放出も認められた。

四分胞子囊の直径は約 25  $\mu\text{m}$ 、高さ約 40  $\mu\text{m}$  で十字状分割によって胞子を形成した (Figs. 2I, J 矢印)。放出された四分胞子は直径 12.5-17.5  $\mu\text{m}$ 、平均 15.0  $\mu\text{m}$  の球形で紅色を呈していた (Fig. 2K)。四分胞子は発芽して培養 6 日後には果胞子発芽体と同様に毛状細胞の発出した盤状発芽体となった (Fig. 2L)。

以上の結果から、本培養では直立する雌雄同株の配偶体から受精によって果胞子が形成され、この果胞子は発芽して盤状の四分胞子体となり、形態の異なる 2 世代の交代を示すものと推測された。今後、培養で得た四分胞子発芽体の生長、成熟を追跡するとともに、枝胞子についても培養を続け、生活史の完結をはかりたい。

本稿の校閲をいただいた北海道大学水産学部の齋藤讓博士，ならびに材料を同定していただいた北海道立中央水産試験場の金子孝氏に感謝の意を表する。

## 引用文献

- DECEW, T. C., WEST, J. A. and GANESAN, E. K. 1981. The life histories and developmental morphology of two species of *Gloiosiphonia* (Rhodophyta: Cryptonemiales, Gloiosiphoniaceae) from the Pacific Coast of North America. *Phycologia* 20: 415-423.
- EDELSTEIN, T. 1970. The life history of *Gloiosiphonia capillaris* (HUDSON) CARMICHAEL. *Phycologia* 9: 55-59.

- EDELSTEIN, T. and MCLACHLAN, J. 1971. Further observation on *Gloiosiphonia capillaris* (HUDSON) CARMICHAEL in culture. *Phycologia* 10: 215-219.
- KANEKO, T., MATSUYAMA, K. and YAMADA, I. 1980. On *Gloeoptychus koreanum* I. K. LEE et YOO (Rhodophyta, Gloiosiphoniaceae) in Hokkaido. *Jap. J. Phycol.* 28: 97-104.
- LEE, I. K. and YOO, S. A. 1979. *Gloeoptychus koreanum* gen. et sp. nov. (Rhodophyta, Gloiosiphoniaceae) from Korea. *Phycologia* 18: 347-354.
- MCLACHLAN, J. 1973. Growth media-marine. p. 25-51. In J. R. SREIN (ed.) *Handbook of Phycological methods*. Cambridge Univ. Press. London.

## —学会録事—

## 日本藻類学会 30 周年記念事業実行委員会報告

このたび日本藻類学会が創立30周年を迎えるにあたり，記念事業のための募金をお願いいたしましたところ，皆様方から多大の御理解と御援助をいただき，別記のように目標額を遙かに上回る資金の調達をすることができました。御厚志に厚く御礼を申し上げます。本誌第30巻4号（30周年記念号）で御報告申し上げましたように，予定しました事業はすべて遂行することができました。なお，索引（含記念講演集）は，200部を委員会が買上げ，頒布のために学会に寄付しました。ここに記念事業委員会決算書を添えて御報告と御礼を申し上げる次第でございます。

剰余金は日本藻類学会に寄付いたし，学会の基金として活用いただく所存でございます。

昭和58年2月15日

## 日本藻類学会 30 周年記念事業

実行委員長 千原光雄

募金委員長 黒木宗尚

## 日本藻類学会 30 周年記念事業会計決算報告

収入の部 (円)		支出の部 (円)	
寄付金 (271件 489口)	2,445,000	記念号刊行費	2,164,165*
筑波大学生命科学委員会より	30,000	印刷費	1,883,525
預金利息	3,738	編集費	202,900
		通信費	57,380
		発送費	20,360
		趣意書印刷代	32,000
		記念講演会費用	66,310
		郵便振替払込料	13,870
		換金手数料	1,350
		剰余金	201,043**
計	2,478,738	計	2,478,738

\* 日本藻類学会へ寄付の索引（含記念講演集）200部代を含む

\*\* 日本藻類学会に寄付

昭和57年12月31日

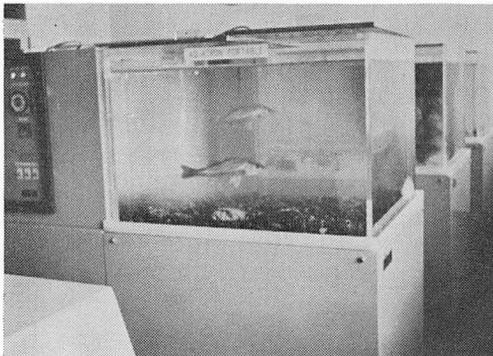
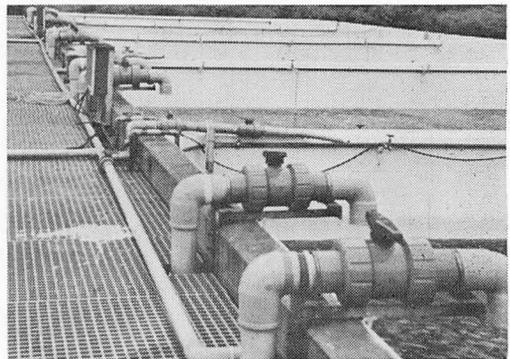
# 試験研究 栽培漁業 **アクアトロンシステム**

試験研究用・生産養殖用に安定的に調温水を供給し、温度・流量・換水率・流水方式・エア補給量等水生生物生育の主要因を、飼育目的に合わせて、様々な条件に設定することができ、安定した生育環境が得られます。そのため長期にわたる育成においても、その再現性の良さにより、優れた試験養殖が可能です。

## ◎アクアトロン施設

大規模な飼育設備である程、その目的と、装置とのトータルバランスを考えねばなりません。

小系のアクアトロン施設は、そのバランスの良さもさることながら、省エネルギーをも考え合わせて設計されており、コスト・パフォーマンスの高いシステムとなっております。



## ◎アクアトロン・ポータブル

小中規模ながら、高精度条件を要求される施設に合った、小型水温調節装置です。海水・淡水の区別なくお使いになれるので、設置場所を選びません。

〈仕様例〉 型式 APU-253A

温度 10~35°C ±0.5°C

水槽 500ℓ

エア 送水スプレー式エアレーション

目的にあった使いやすいシステム創り----- 私たちは追求します

**Kōito**

**小系工業株式会社**

**環境調節  
事業部**

営業部：〒108 東京都港区港南2-6-10三矢ビル ☎(03)472-3921(代表)

☎大阪支店(06)362-9391

☎広島支店(082)262-1341

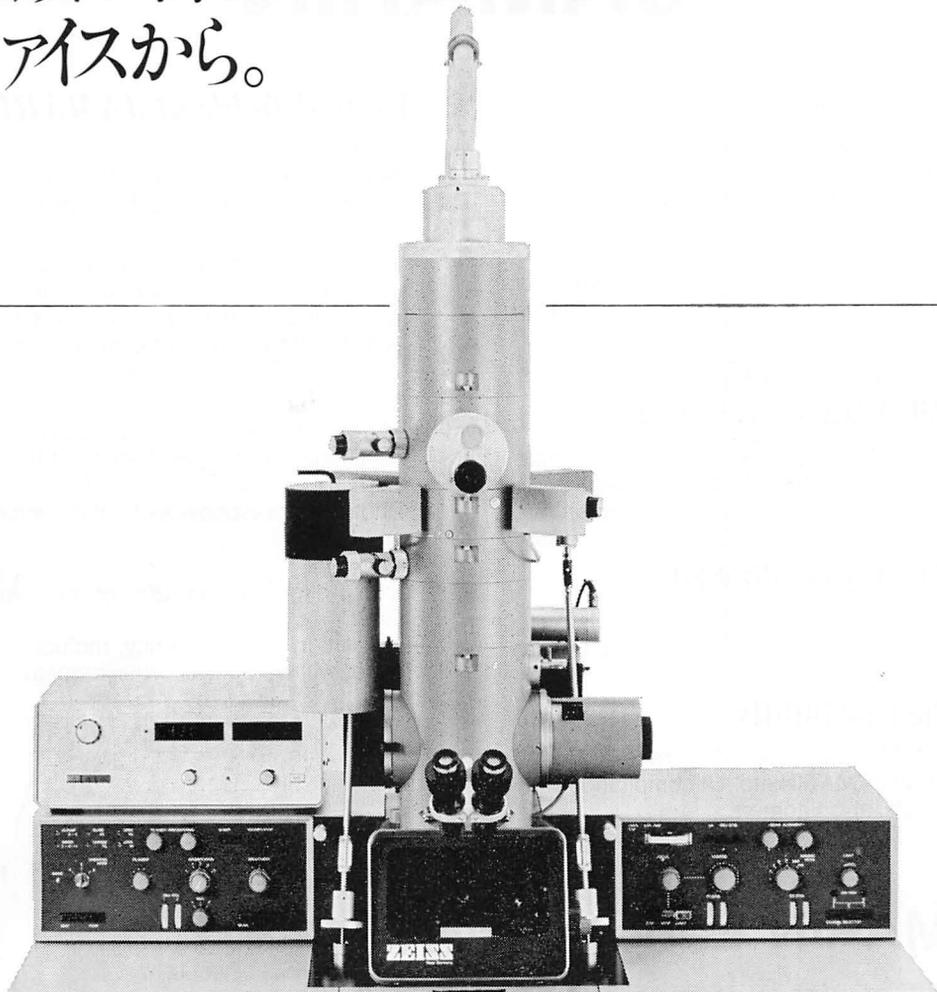
☎札幌支店(011)231-0460

☎九州支店(092)431-0838

☎仙台支店(0222)25-7954

☎筑波業務所(0298)51-2311

電顕の新しいコンセプト。  
ツァイスから。



**ZEISS**

West Germany

透過電子顕微鏡

**EM 109**

光顕レベル(150×)で高解像を実現

透過電子顕微鏡EM109は、光学顕微鏡レベルの倍率、たとえば、150×では200Åの解像力を保証します。そして、ボタンひとつで3000×あるいは400,000×まで拡大でき、3.44Åの解像力を実現します。

高画質のためのアイデア

MDF(微量線量フォーカス): 新しい自動フォーカスシ

テムにより、試料の損傷が避けられます。固定フォーカスズームシステムにより、焦点合わせが非常に早く簡単になりました。

TFP(トランス ファイバー オプティック): カメラは真空外に置かれているため、フィルムの交換が容易です。

IGP(イオンゲッター ポンプ)で、クリーンな真空が得られます。

カール ツァイス株式会社  
器械部 EM課

本社/〒160 東京都新宿区本塩町22番地  
大阪営業所/〒542 大阪市南区南船場2-2-11 南船場ビル  
名古屋営業所/〒461 名古屋市東区代官町35-16 第一富士ビル  
福岡営業所/〒810 福岡市中央区赤坂1-15-27 赤坂ハイツ  
仙台営業所/〒980 仙台市木町通り1-8-18 田村ビル

☎(03) 355-0331(代)  
☎(06) 262-0128(代)  
☎(052)931-6811(代)  
☎(092)713-7821(代)  
☎(0222)25-7531(代)

Synthetic Sea Water for Research Use

# JAMARIN®

## Characteristics

1. Formulated according to the analytical results of ocean water.
2. High uniformity of the original mixture. Hence possible to use partially.
3. Completely soluble.
4. Amply proved to be a good medium for marine life researches. (see the list below)

## Kinds of JAMARIN

### 1. JAMARIN U(unsterilizable)

Readily soluble. Concentration up to triple strength of sea water can be prepared.

Per cent of gastrulation in the sea urchin, *Anthocidaris crassispina*.....98%

### 2. JAMARIN S(sterilizable)

Can be autoclaved.

Per cent of gastrulation in the sea urchin, *Anthocidaris crassispina*.....96.3%

### 3. Modified JAMARINs

Ca-free JAMARIN, Ca, Mg-free JAMARIN, Sulfate-free JAMARIN etc., in compliance with the requests of customers.

## Applied fields of JAMARIN

Bacteria:

Separation and culture of marine bacteria. Isolation of antibiotics from marine bacteria.

Algae:

Reassembly of dissociated components in *Bryopsis*. Isolation of enzymes in carbohydrate metabolism in *Platymonas* sp.

Nitrate and Nitrite metabolism in the red alga, *Porphyra yezoensis*.

Invertebrates:

Meiotic division in starfish oocytes. Branchial regeneration in Polychetes. Strobilation of *Aurelia aurita*.

Phototactic responses of a flatworm, *Convoluta* sp.

Price: 1 pkg. (makes 20l of sea water) U.S. \$10.00

Price list in your currency, including shipping charge, will be sent on your request. Inquiries invited.

## JAMARIN Laboratory

11-5, Shigino-Nishi 2 chome,  
Johto-Ku, Osaka, 536 Japan.  
Phone 06-961-6007

学術研究用人工海水

ジャマリン®

### 特 長

1. 品質にバラツキがない。
2. はやく、完全に溶ける。
3. 分割使用できる。
4. ほとんどすべての海の生物に使える。

### 製品の種類

1. Jamarin U 一般研究用。
2. Jamarin S オートクレーヴィングできる。
3. Ca-free Jamarin
4. Ca,Mg-free Jamarin
5. Sulfate-free Jamarin

価 格 20ℓ用 1ヶ 1600円 (送料別)

ジャマリン ラボラトリー

〒536 大阪市城東区鳴野西2-11-5 電話 06-961-6007

## 誤植訂正

第30巻4号の表紙の年代に印刷の誤りがありましたので、下記のラベルを使って訂正をお願い致します。

### Erratum

On the cover of issue No. 4 of Vol. 30, The Japanese Journal of Phycology, the year 1982 was misprinted as 1892. Please correct by attaching the following new label:

---

**Vol. 30 No. 4 15 December 1982**



## 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、会員各号1,250円、非会員各号2,000円、30巻4号(1-30巻索引付)のみ会員3,750円、非会員5,000円、欠号：1巻1-2号、5巻1号、6-9巻全号。
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。1-30巻、会員2,500円、非会員3,000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月に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 Laboratory of Phycology, Tokyo University of Fisheries, Konan 4chome, Minato-ku, Tokyo, 108 Japan.

1. Back numbers of the Japanese Journal of Phycology (Vols. 1-28, Bulletin of Japanese Society of Phycology). Price, 1,500 Yen per issue for member, or 2,500 Yen per issue for non member, price of Vol. 30, No. 4, with cumulative index (Vol. 1-30), 4,500 Yen for member, or 6,000 Yen for non member. Lack: Vol. 1, Nos. 1-2; Vol. 5, No. 1; Vol. 6-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. Vol. 1 (1953)-Vol. 30 (1982). Price 3,000 Yen for member, 3,500 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. ¥ 6,000 (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. ¥ 4,000 (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. ¥ 700 (incl. postage, surface mail).

昭和58年3月10日 印刷  
昭和58年3月20日 発行

©1983 Japanese Society of Phycology

禁 転 載  
不 許 複 製

編集兼発行者

三 浦 昭 雄

〒108 東京都港区港南4-5-7  
東京水産大学 水産植物学教室内

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

〒108 東京都港区港南4-5-7  
東京水産大学 水産植物学教室内  
振 替 東 京 4 1 3 9 1 7 6

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

西澤一俊・大内正人・高橋 研・奥 忠武：緑藻オオハネモのグルタミンシンテターゼ (GS)-グルタメートシンターゼ (GOGAT) 系 …………… (英文)	1
江 永棉・陳 晴：台湾産ニセコナハダ (紅藻ウミゾウメン目) …………… (英文)	10
D. C. ビクード・C. E. M. ビクード：南ブラジル産 <i>Salpingoeca</i> (黄金色藻) の 3 新種 …………… (英文)	16
中沢信午：ヒバマタ卵の第 1 分裂における細胞板の方向決定 …………… (英文)	21
田中 清・松浦正明：アオミドロにおける生長と分化に関する研究Ⅳ. アオミドロ糸状体の日周期運動の型と光合成速度との密接な関係 …………… (英文)	24
能登谷正浩・足助光久：ツルアラメの発生におよぼす温度の影響 ……………	28
横地洋之：西表産カタメンキリンサイの四分胞子の放出期とその発生 ……………	34
寺脇利信・野沢治治・新村 巖：ホンダワラ類の初期形態形成に関する研究-II. ヤツマタモク ……………	38
高山晴義：ヤコウチュウの研究-I. 触手と桿状体の機能 ……………	44
能登谷正浩：オトヒメモズクの四分胞子体 ……………	51
◆ ◆ ◆	
学会録事 ……………	53