

総説

鼓藻類の種分化における染色体構成の変動<sup>1)</sup>

市村輝宜<sup>2)</sup>・笠井文絵<sup>3)</sup>

<sup>2)</sup>東京大学応用微生物研究所 (113 東京都文京区弥生1-1-1)

<sup>3)</sup>国立公害研究所微生物系統保存施設 (305 茨城県つくば市小野川16-2)

ICHIMURA, T. and KASAI, F. 1989. Genome differentiation in speciation of desmids (Chlorophyta). Jpn. J. Phycol. 37: 305-319.

Genome differentiation in speciation of desmids is reviewed based on not only published but also unpublished information. The high chromosome numbers of desmids might be explained by the hypothesis held by some cytologists that chromosomes of desmids, like those of the Zygnemataceae, are polycentric. But recent studies on meiosis in some species of *Pleurotaenium*, *Micrasterias*, *Closterium* and *Triploceras* show clear evidence for the conventional type of meiosis and monocentric chromosomes. Genetic studies of mating type inheritance are consistent with the conventional type but not with the postreductional type of meiosis. Spontaneous, or artificially induced, giant cells have been studied to show their diploidy in some species of *Cosmarium*, *Closterium*, *Staurastrum* and *Pleurotaenium*. Mating systems (homothallism and heterothallism) and normal sexual expression are maintained undisturbed through ploidy changes in these desmids. Triploid zygospores in *Cosmarium* spp. are inviable because of irregular meiosis. However, those in the *Pleurotaenium mamillatum* and the *Closterium ehrenbergii* species complex are viable, although slightly less than the normal diploid zygospores. Studies on meiosis and F<sub>1</sub> viability in crosses within and between normal and giant-cell clones suggest that both the genomes of these two complexes are polyploid cytologically. Chromosome counts and cell size analyses show that speciation in the *Cl. ehrenbergii* complex appears to be accompanied by polyploidization and chromosome rearrangements. Genetic studies on mating type genes and some zygotic lethal factors indicate that homoeologous chromosome sets within the polyploid genome of each mating group (biological species) of the *Cl. ehrenbergii* complex are differentiated to such an extent that vegetative cells of these mating groups, including Group P of the highest level of polyploidy, appear to be haploid genetically.

*Key Index Words:* chromosomes—desmids—heterothallic—homothallic—mating type—polyploidy—speciation.

*Terunobu Ichimura, Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan*  
*Fumie Kasai, Microbial Culture Collection, National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Ibaraki, 305 Japan*

はじめに

鼓藻類の形態分類及び地理的分布に関する研究の歴史は古くRALFS (1848) に始まり、WEST and WEST (1904, 1905, 1908, 1912), WEST *et al.* (1923), KRIEGER (1933, 1935, 1937, 1939) 等の古典的モノグラフに続き、最近

では PRESCOTT *et al.* (1972, 1975, 1977, 1981, 1982) 及び RŮŽIČKA (1977, 1981) 等の大著も刊行されている。その他、各国や地方の鼓藻類相の著書や論文も多数存在し、鼓藻類の形態分類は概ね完成していると考えても良い状態である。他の微細藻類とは比較にならないほど精細な分類系が知られている鼓藻類は、種分化の研究にとって非常に良い研究材料であると我々は考えている。

種分化の研究には様々なアプローチや方法が考えられるが、我々は“種”を客観的に認識することが最も重要であり、種分化研究の出発点であると考え、主と

<sup>1)</sup> 黒木宗尚博士追悼論文 (Dedicated to the memory of the late Dr. Munenao KUROGI).

文部省科学研究費補助金一般研究 B No. 61480013 による。

して、交配実験に基づく生殖的隔離機構の研究を行いその大要を既に発表した(市村 1982)。本総説では、生殖的隔離機構によって認識された“種”の形態変異、地理的及び生態的分布の研究と平行した細胞遺伝学的研究より得られた最近の知見、即ち種分化に伴う染色体構成の変動及びそのような変動を生み出す機構についての大要を紹介したい。

### 鼓藻類の染色体数

鼓藻類の染色体数の研究は、一部減数分裂像によるものもあるが、大半は体細胞分裂像によるものである。SARMA (1982, 1983) によると約14属65種数変種の染色体数が報告されている。一般に鼓藻類の染色体は小型で非常に数が多く、正確な染色体数を知ることは困難であることから、上記の研究には更に検討を要する研究例も含まれていると思われる。鼓藻類の属の起源が非常に古いことに加えて、各属に含まれるごく一部の種類についてしか染色体数が知られていないことから、属の基本数については現在のところ全く解っていない。

比較的数の少ない例はチリモ *Desmidium aptogonum* の  $n=8$  (ABHAYAVARDHARI and SARMA 1982)、スポンディオロシウム *Spondylosium papillosum* の  $n=9$  (BRANDHAM 1965a)、ツヅミモ *Cosmarium formulosum* と *C. subtumidum* の  $n=10$  (NIZAM 1974) である。最も染色体数の多い例はネトリウム *Netrium digitus* のM系統の  $n \approx 592$  (KING 1960) であり、クンショウチリモ *Micrasterias americana* 及び *M. rotata* では  $n=200$  以上の系統が知られている。多くの鼓藻類は  $n=20 \sim 200$  で、ホンミドロ科と比較しても染色体数が多い種類が多い。微細藻類の中ではミドリムシ綱、渦鞭毛藻綱、クリプト藻綱でも同程度に染色体数が多い種類が多数知られているが、緑藻綱のオオヒゲマワリ目、クロコクム目、ヒビミドロ目、カエトフォラ目、サヤミドロ目では比較的染色体数の少ない種類が多い (SARMA 1982, 1983)。接合藻類で染色体が多いこと及び同一形態種に染色体数の異なる系統が多いことについて GODWARD (1966) 及び SARMA (1982, 1983) は次のように考えている。即ち、接合藻類ではこれらの現象に、通常知られている倍数性 (polyploidy) や異数性 (aneuploidy) の他に、接合藻類の染色体が特殊な構造(後述)をしていることから染色体の分断のみによって染色体数を増加させる agmatoploidy が大きく関与しているものと考えている。しかし、我々は、

agmatoploidy の可能性を全く否定するわけではないが、後述するように鼓藻類の種分化においても高等植物の進化におけるのと同様の過程によって倍数化と異数化が重要な役割を果たしてきたものと考えている。

### 鼓藻類の動原体は局在型か分散型か?

通常、ほとんどの真核生物では1個の染色体にはただ1個の動原体 (kinetochore 又は centromere) が存在し、局在型 (localized centromeric type) と呼ばれている。これに対して、昆虫の一部やイグサ (*Luzula*) 等の一部の植物では1個の染色体に動原体が複数又は染色体全域に広がって存在することが知られており、前者は多動原体型 (polycentric type)、後者は分散型 (diffuse 又は holocentric type) と呼ばれている (WHITE 1973)。しかし両者は実際上区別するのが難しく、同義に解釈されることが多い。分散型動原体生物では分裂中期から後期にかけて染色体が平行に分離することやX線等によって分断された染色体片が極に移動すること等が知られており、前述の agmatoploidy を生み出す要因と考えられている。又、局在型動原体生物とは異なり、分散型動原体生物の減数分裂では第一分裂が均等分裂であり、第二分裂において母方と父方の染色体が分離すると言う後還元減数分裂 (postreductional meiosis) を行うものが多いことが知られている (WHITE 1973)。GODWARD は1954年にアオミドロ *Spirogyra* の染色体が分散型動原体を持つと報告して以来 (GODWARD 1954)、ホンミドロ *Zygnema* 及びヒザオリ *Mougeotia* (PRASAD and GODWARD 1962, 1966) 等のホンミドロ科だけではなく鼓藻類 (KING 1960, BRANDHAM and GODWARD 1965b) を含めた接合藻類は分散型もしくは多動原体染色体を持つ生物の顕著な細胞学的特徴を示すと主張している (GODWARD 1966)。そして *Spirogyra crassa* (GODWARD 1961) 及び *Cosmarium botrytis* (BRANDHAM and GODWARD 1965b) の減数分裂を後還元型と解釈している。その後、電子顕微鏡の発達に伴いミカヅキモ *Closterium ehrenbergii* (BRANDHAM and GODWARD 1965c) を始めとしてかなりの数の鼓藻類を含めた接合藻類の核分裂中の染色体が観察されたが (PICKETT-HEAPS 1975)、明確な動原体構造が観察されたのは *Mougeotia sp.* (BECH-HANSEN and FOWKE 1972) と *Spirogyra majuscula* (MUGHAL and GODWARD 1973) の2例のみである。そしてこの2例においても1個の染色体に複数の動原体が認められたことから、分散型ではないとしても多動原体染色体が接合藻類一般の細胞学的特徴であるとす

る GODWARD の見解が、現在でも広く認められている (SARMA 1982, 1983, COESEL and MENKEN 1986, HOSHAW and MCCOURT 1988)。しかし、最近コウガイチリモ *Pleurotaenium mamillatum* (LING and TYLER 1976), *Micrasterias mahabuleshwarensis* 及び *M. thomasiana* var. *notata* (BLACKBURN and TYLER 1980, 1981), *Cl. ehrenbergii* (KASAI and ICHIMURA 1983), そしてオノカナボウ *Triploceras gracile* (ICHIMURA and KASAI 1989) 等の鼓藻類の減数分裂の研究において明確な局在型動原体の染色体像が観察されている。又、後述する交配型遺伝の研究結果は、少なくとも鼓藻類の減数分裂は後還元型ではなく、局在型動原体染色体を持つ多くの真核生物と同じ型であることを示している。

### 鼓藻類の倍数体

鼓藻類の各属の染色体の基本数が知られていないことから理解できるように、鼓藻類の種間又は系統間の倍数関係をj知ることは多くの場合非常に困難である。*Cosmarium turpinii* (STARR 1958), ホシガタモ *Staurastrum denticulatum* 及び *St. dilatatum* (BRANDHAM 1965b), *Pleurotaenium mamillatum* (LING and TYLER 1976), *Closterium siliqua* (BRANDHAM 1965b) 及び *Cl. ehrenbergii* (KASAI and ICHIMURA 1987) の栄養増殖又は接合胞子の発芽において偶然に、或は *Micrasterias* spp. を遠心又は低温処理で (KALLIO 1951), *C. turpinii* (BERLINER and WENG 1976) や *Cl. ehrenbergii* (KASAI and ICHIMURA in press) を高張液処理することによって、通常の栄養細胞より極端に大きな巨大細胞を得ることがある。*Cosmarium*, *Micrasterias* 及び *Staurastrum* では細胞の巨大化とともに放射相称 (radial symmetry) の程度も増加するが、細胞形態の外観や細胞壁上の模様などに関しては巨大細胞と正常細胞とはほぼ相似形である。*C. turpinii* (STARR 1958), *C. botrytis* (BRANDHAM 1965b), *Pleurotaenium mamillatum* (LING and TYLER 1976) 及び *Closterium ehrenbergii* (KASAI and ICHIMURA 1987) では染色体数から (後述)、他の例では間接的証拠から、正常細胞を1倍体 (haploid) とすると巨大細胞は2倍体 (diploid) であることが知られている。

### 倍数体接合胞子の減数分裂

倍数体の鼓藻類が接合することによって生じた3倍体又は4倍体の接合胞子は、正常な2倍体接合胞子と同様によく発芽する。しかし、発芽個体が生存できる

かどうかは、発芽時に起こる減数分裂が正常であるかどうかによっているようである。一般的に、高等動植物の奇数倍数体の減数分裂は異常を伴い、偶数倍数体では正常な減数分裂が観察されることが多い (STEBBINS 1971, WHITE 1978)。STARR (1958) の研究した *Cosmarium turpinii* の3倍体及び4倍体接合胞子、そして BRANDHAM (1965b) の *C. botrytis* の3倍体接合胞子からは生存能のある発芽個体は得られておらず、両者とも減数分裂の異常が観察されている。LING and TYLER (1974) はオーストラリアの Victoria 及び Tasmania 産の主として細胞の大きさ等で区別されるが類似した *Pleurotaenium* の個体群間の交配実験を行い、*P. ehrenbergii*, *P. mamillatum* 及び *P. coronatum* と同定される系統間でも自由に接合胞子が形成されることから、これら3種は同種であるとした。後に LING and TYLER (1976) はこれらの接合胞子を発芽させ、減数分裂を観察した結果を報告している。*P. ehrenbergii* と同定された系統間の接合胞子では常に正常な2価染色体が認められ、これらの系統は  $n=53$  の染色体を持つことが明かとなった。又これらの *P. ehrenbergii* の系統と *P. mamillatum* と同定された系統間の接合胞子でも53対の2価染色体が数えられ、*P. mamillatum* の系統も  $n=53$  であることが判明した。*P. ehrenbergii* の系統より生じた2倍体を用いた3倍体及び4倍体接合胞子の減数分裂もほぼ正常であり、正常な発芽個体が得られている。3倍体接合胞子では65~70の2価染色体、8~12の1価染色体と少数の多価染色体と思われるものが観察されるが、発芽個体の生存率は2倍体接合胞子に比較して僅かに下がる程度で、1倍体と2倍体の中間の大きさの  $F_1$  個体が得られている。4倍体接合胞子では106対の2価染色体が観察されており、発芽個体の生存率は3倍体接合胞子と同程度であった。これに対して *P. coronatum* と同定された系統は、接合過程の研究 (LING and TYLER 1974) から *P. ehrenbergii* 系統の2倍体であろうと推察されていた。即ち1個の *P. coronatum* 細胞に最大16個の *P. ehrenbergii* の細胞が接合しようと集合し、しばしば1個の *P. coronatum* と2個の *P. ehrenbergii* が接合突起を形成し、1個又は2個の接合胞子を形成する。又、*P. coronatum* は2倍体の *P. ehrenbergii* と細胞の大きさが同じであり、形態も先端の突起の数が少し異なるだけでよく似ている。ところが減数分裂による研究では *P. coronatum* の系統は  $n=145$  又は147の染色体数を持ち、2倍体の *P. ehrenbergii* の染色体数  $n=106$  より約40個染色体が多いことから、単純に *P. coronatum* は *P. ehrenbergii* の2

倍体であると断言するには問題があることが判明した。*P. coronatum* 系統間の接合胞子の減数分裂は *P. ehrenbergii* の4倍体接合胞子のそれと同様ほとんどが2価染色体であり、 $F_1$  個体も正常であった。*P. coronatum* 系統と *P. ehrenbergii* の2倍体間の接合胞子では減数第一分裂後期の染色体分離に乱れが生じる等のかなりの異常も観察されているが、生存能のある  $F_1$  個体が得られている。*P. coronatum* 系統の交配で得られた接合胞子では、まれではあるが融合していない核内で2価染色体形成が観察されることから、*P. coronatum* の栄養細胞には少なくとも2組の相同染色体が存在することが推察されている。このような *P. coronatum* 系統からも巨大細胞が発見され、2倍体得られており、*P. coronatum* の1倍体とは勿論のこと、*P. ehrenbergii* の1倍体及び2倍体とも接合し何段階かの倍数レベルの異なる接合胞子が得られ、発芽、減数分裂も観察されている。LING and TYLER (1976) はこれらオーストラリア産の *Pleurotaenium* はすべて同一の生物学的種 (*P. mamillatum*) と結論している。しかし我々は、同じ結論に至るには *P. coronatum* 系統についてなお今後の研究、特に  $F_1$  及び  $F_2$  世代の子孫の生存率を調べる必要があると考えている。(今後、我々は LING and TYLER (1976) の扱った *Pleurotaenium* を *P. mamillatum* 複合体と呼ぶ。) なお *P. ehrenbergii* と *P. coronatum* については、オーストラリア産とヨーロッパ産のものが形態的にも同一種でないという分類同定上の問題点が指摘されている。このように微細藻類の地理的分布と種分化の問題を研究する上で、*Pleurotaenium* は非常に興味深い鼓藻類である。我々が種分化の研究を行っている *Closterium ehrenbergii* 複合体でも *Pleurotaenium* と同様に3倍体接合胞子の減数分裂で専ら2価染色体が観察され、かなり高い生存率で  $F_1$  が得られており、 $F_1$  個体の大きさは1倍体と2倍体の中間の値に分散することが知られている (KASAI and ICHIMURA 1987)。

### 倍数体と性決定機構

鼓藻類の交配様式はクローン内で接合が起こるホモタリズム (homothallism) と交配型 (mating type) の異なるクローン間で接合が起こるヘテロタリズム (heterothallism) の2通りに大別できる。鼓藻類の倍数体でこれまでに有性生殖の知られている例では、倍数化に伴って上記の交配様式が変化したという例はない。ホモタリックの *Closterium siliqua* と *Staurastrum den-*

*ticulata* より得られた倍数体はそれぞれホモタリックであり、ヘテロタリックの *Cosmarium turpinii*, *C. botrytis*, *Pleurotaenium mamillatum* 及び *Cl. ehrenbergii* の倍数体はすべてヘテロタリックである (文献は前項に同じ)。又、*Pleurotaenium* と *Closterium* の3倍体接合胞子から生じる  $F_1$  個体には前述したような減数分裂像及び  $F_1$  個体の大きさの分布から、かなりの異数体が含まれているものと考えられる。しかし、生存した  $F_1$  個体には性表現を欠くものや明確なホモタリズムを示す個体は全く認められなかったことから、異数体もヘテロタリックであり、プラス又はマイナスの何れかの交配型を示すものと結論できる。

鼓藻類の交配型の遺伝はこれまでに *C. turpinii* (STARR 1954, 1959), *C. botrytis* (BRANDHAM and GODWARD 1965a), *Cl. moniliferum* (LIPPERT 1967), *Cl. ehrenbergii* (LIPPERT 1967, HAMADA *et al.* 1982, 市村 1982, ICHIMURA 1983, ICHIMURA and KASAI 1984a, KASAI and ICHIMURA 1987), *Cl. peracerosum-strigosum-littorale* 複合体 (WATANABE and ICHIMURA 1982) 及び *Netrium digitus* var. *lamellosum* (BIEBEL and REID 1965) 等のヘテロタリック株を用いて研究されている。これらの鼓藻類では、何れの種類でも1個の接合胞子より2個の発芽個体が生じること、及び減数分裂の観察されている種類では第二分裂後に娘核の何れか1個が退化し、非姉妹核の2核が生き残ることが知られている (KLEBAHN 1891, STARR 1954, LIPPERT 1967, BRANDHAM and GODWARD 1965b, DUBOIS-TYLSKI 1972, KASAI and ICHIMURA 1983)。上記の交配型遺伝の研究において、統計処理ができるほどの数の  $F_1$  個体が調べられているほとんどの例において、 $F_1$  個体の交配型はプラスとマイナスがほぼ1対1であり、又、大多数の接合子では交配型の異なる2個の発芽個体が出現し、少数の接合胞子でのみプラス又はマイナスの同じ交配型の2個が発芽個体として得られることが確認されている。このことは上記の細胞学的研究に基づいて、鼓藻類の性は交配型遺伝子座 (mating type locus) に存在する1組の遺伝子 (交配型プラス  $mt^+$  と交配型マイナス  $mt^-$ ) によって決定され、通常減数第一分裂においてプラスとマイナスの交配型遺伝子が分離するため、交配型の異なる2個の発芽個体が生じ、動原体と交配型遺伝子座間で乗り換え (crossing over) が起こる場合にのみ同じ交配型の2個の発芽個体が生じると解釈されている (STARR 1954, BIEBEL 1976, HAMADA *et al.* 1982)。前述の後還元減数分裂では上記の交配型遺伝解析の結果を解釈するのは困難である。BRANDHAM and GODWARD

(1965a) が後還元減数分裂と調和すると考えた *Cosmarium botrytis* の交配型遺伝の研究結果は、上に述べた他の多くの研究例とは相反している。

我々は *Closterium ehrenbergii* の交配群 (生物学的種) 内の交配における  $F_1$  個体の生存率を調べる間に稀に1個の接合胞子より2個の巨大細胞の発芽個体が出現することを発見し、その場合に必ず発芽個体の両方もが例外なくマイナスの交配型を示すことに興味を持った。染色体数を調べるとこれらの巨大細胞は明らかに2倍体であり、その出現の細胞学的過程を考えると、これらの2倍体は  $mt^+/mt^-$  のヘテロ接合体であると考えられることから、 $mt^-$  は  $mt^+$  に対して優性であるはずだと考えた (KASAI and ICHIMURA 1987)。又、 $mt^+$  1倍体のプラス株と  $mt^+/mt^-$  ヘテロ2倍体のマイナス株の交配によって得た3倍体接合胞子の  $F_1$  個体の交配型が1対1になることから、おそらく細胞学的には倍体であろうと考えられる *Cl. ehrenbergii* (後述) の性は優性の1遺伝子  $mt^-$  によって決定される (即ち  $mt^-$  を1個以上持つ個体はマイナスの交配型、 $mt^-$  を持たない個体はプラスの交配型を示す) のであろうと推論した。そこで交配型マイナスの栄養細胞を高張液処理し  $mt^-/mt^-$  のホモ接合体の2倍体のマイナス株を作出し、プラス株と交配を行い、その3倍体接合胞子の  $F_1$  個体の交配型を調べた。その結果、予想通りにマイナスの  $F_1$  個体が多く出現することから明らかに  $mt^-$  は  $mt^+$  に対して優性であり、上記の推論が正しいと言う結論に至った (KASAI and ICHIMURA in press)。

古くから多くの遺伝学者や細胞遺伝学者は両性生殖をする倍体 (bisexually reproducing polyploid) の性決定機構に強い関心を抱いてきた (MULLER 1925, WESTERGAARD 1958, STEBBINS 1950, WHITE 1978)。性染色体と常染色体の遺伝子のバランスで性が決定する *Drosophila* 型として知られている型の性決定機構を示すほとんどの動物やスイバ (*Rumex*) 等の高等植物では、倍数化によって子孫に不稔の間性個体を生ずるといふ不利のために倍数化が抑制されている。しかし優性Y型として知られるカイコ (*Bombyx*) や *Melandrium* (ナデシコ科マンテバの仲間) 等の植物ではY染色体が強い優性を示すことによって性が決定する。このような生物では倍数化によっても上記のような性の異常な個体が出現することがないので、倍数化による種分化は全く抑制されることなく、進化の過程で多くの倍数体の種を生み出してきた。種子植物、シダ植物、コケ植物の倍数体種のほとんどが雌雄同株 (monoecious) であるか無性又は栄養繁殖するという事実は、雌雄の

個体が遺伝的に決められる性決定機構は倍数化によって攪乱され易いことを物語っているようである。

鼓藻類と同じ程度に染色体数が多いシダ植物は高次の倍数体と考えられており、ほとんどの種類は1個の前葉体に雌雄の両方の生殖器官を形成する雌雄同株である (SOLTIS and SOLTIS 1987 参照)。ほとんどの鼓藻類もおそらく高次の倍数体と考えられるが (後述)、雌雄同株に対応するホモタリックのものだけでなく、雌雄異株 (dioecious) に対応するヘロタリックのものもかなり知られている (STARR and ZEIKUS 1987)。又、高等植物で倍数化が進んだ種類には無性生殖をするものが多いことと関連して、一部の鼓藻類は有性生殖を全く行わずに無性生殖のみを行っているのではないかと明言している研究者を想起することができる。FRITSCH (1930) はメソテニウム科やミカヅキモ及びペニウム *Penium* 等の比較的形態の単純な鼓藻類では頻繁に接合胞子が観察されるのに対して、ユウアストルム *Euastrum* やクンショウチリモ等の形態の複雑な属の中には、これまでに多数の報告があるにも拘わらず接合胞子が全く観察されていない種類が存在することから、これらの鼓藻類は進化の過程で形態を分化させる一方で有性生殖能を失ったのではないかと仮定している。COESEL (1974, 1988a), COESEL and TEIXEIRA (1974), 及び FRANCKE and COESEL (1985) 等は、野外観察だけでなく多数のクローン培養を行い有性生殖誘起を試みた結果、ヨーロッパ産の鼓藻類の一部には有性生殖能を失った個体群が存在すると主張している。上記の研究者達は性を失う要因として倍数性を考えているわけではない。しかし、少し問題が異なるかも知れないが、GODWARD (1966) は agmatoploidy による染色体数の異なる個体の出現と多くの鼓藻類で性が欠如することを直接関連づけて考えている。何れにしても、これまでに数多くの人達が野外で鼓藻類を採集し、多くの観察をしているにもかかわらず接合胞子が発見されていないことだけで、それらの鼓藻類で性が欠如していると断言するのは少し短絡的過ぎるように思われる。

形態種 *Closterium moniliferum* と *Cl. ehrenbergii* の栄養細胞はほぼ相似形であり、細胞の大きさや色素体内でのピレノイドの配列状態が異なることのみ区別されることから、前者より後者が進化したものと考えられている (RŮŽIČKA 1977)。接合胞子形成過程の研究 (LIPPERT 1967, ICHIMURA and KASAI 1984b) 及びアイソザイムの研究 (FRANCKE and COESEL 1985, COESEL and MENKEN 1988, COESEL 1988a, b, 1989) も両形態種が近

縁であることを示している。ところが、形態種 *Cl. ehrenbergii* 内に少なくとも12以上の交配群（生物学的種）が存在するだけでなく（市村 1982, 1985, ICHIMURA 1985 参照）、形態種 *Cl. moniliferum* 内にも複数の交配群が存在することが市村（1979）の予備調査で判明している。SARMA（1982, 1983）によると *Cl. moniliferum* の染色体数は系統により異なり  $n=70\sim 180$  である。*Cl. ehrenbergii* では交配群により異なり  $n\approx 100\sim 250$  である（後述）。このことは両形態種内に倍数化（及び異数化）を伴って種分化した複数の交配群が存在することを示しているようである。そして、*Cl. ehrenbergii* の一部の交配群は同じ形態種の他の交配群とよりも *Cl. moniliferum* の一部の交配群との方がより近縁な場合も考えられる。事実、上記のアイソザイム研究では、オランダ産の *Cl. ehrenbergii* の個体群は、英国産の同種の個体群とよりもオランダ産及び英国産の *Cl. moniliferum* の個体群との方がより近縁であるという結果が得られている。このように *Cl. moniliferum* から *Cl. ehrenbergii* への進化は生物学的種のレベルまで分化した多数の個体群が関与しており、その進化の過程は複雑であろうと思われるが、大きな流れから考えると、*Cl. moniliferum* から *Cl. ehrenbergii* に向かって倍数化が進んでいると考えてもさしつかえないように思われる。染色体数の比較的少ない *Cl. moniliferum* にホモタリズムとヘテロタリズムが観察され、染色体数の多い *Cl. ehrenbergii* ではヘテロタリズムの個体群がほとんどでホモタリズムの個体群は稀である。この事実は、鼓藻類では高等植物のように倍数化によって交配様式が雌雄同株に限定されるのではなく、倍数化によってもヘテロタリズムが維持されていることを示している。

ヘテロタリックの *Cl. ehrenbergii* のプラスとマイナスの性が1個の優性遺伝子  $mt^-$  で決定される機構は、外見上或は現象的には高等植物で知られているY優性型の性決定機構とよく似ている。おそらく他の鼓藻類のヘテロタリズムでも同様な機構が働いているのであろう。何故ならば、前述したように *Pleurotaenium mamillatum* 複合体では、数段階の倍数性の異なる系統間でもヘテロタリズムが正常に維持されており、交配型遺伝子の調べられた他の鼓藻類でも  $F_1$  における交配型の分離が正常に1対1となることが知られているからである。

鼓藻類以外の藻類の性決定機構と倍数性との問題に関して、クラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii* では、ずっと以前から  $mt^+/mt^-$  のヘテロ接合体の2倍体の配

偶子が交配型マイナスの性を表現することが知られていた（EBERSOLD 1967）。最近になって葉緑体遺伝の研究に関連して、 $mt^+$  は葉緑体遺伝を、 $mt^-$  は配偶子の性表現を制御していることが、細胞融合による倍数体作成だけでなく種々の遺伝学的解析からも明かとなってきた（GILLHAM *et al.* 1974, MATAGNE and MATHIEU 1983, EVES and CHIANG 1984, Tsubo and MATSUDA 1984, 松田 1982）。そして、*Ch. reinhardtii* では、配偶子の分化、受精、接合胞子形成に関する種々の突然変異株を用いた遺伝、生化学、分子生物学的研究から、交配型遺伝子は単一の遺伝子ではなく、 $mt^+$  及び  $mt^-$  はともにいくつかの構造遺伝子と制御遺伝子を含む遺伝子群から構成されていると考えられている（GOODENOUGH and FERRIS 1987）。クラミドモナスで知られている遺伝子制御系を念頭において考えると、ミカヅキモにおける  $mt^-$  による性決定機構はさらによく理解できると思われる。（クラミドモナスとミカヅキモの交配型の優劣が同じであるのは偶然の一致である。）

#### 近縁種の形態変異と分布域

互いに近縁と考えられるいくつかの種が存在する場合、各々の種の形態変異の範囲や地理的分布を研究することにより、種分化の機構や道程を解明する糸口が与えられる場合が多いと考えられる。又、比較的研究が進んでいる高等動植物等では、近縁の種の間でも分布域の広い種や狭い種が知られていたり、種分化に伴って形態が著しく変異する場合とそうでない場合や、種間で形態変異の程度が著しく異なる場合が知られている（STEBBINS 1950, MAYR 1963, GRANT 1981, 館岡 1983）。これに対して微生物では、一般に伝播能力が強く分布域は世界的な規模の広さと考えられていたり、その系統進化の位置が示すような進化的制約（evolutionary constraint）から種分化に伴う形態変異の程度は高等動植物と比較すると著しく小さいため、上記のような研究成果はまだほとんど得られていない。

微細藻類ではアストレフォメネ *Astrephomene*（BROOKS 1966）、*Chlamydomonas*（WIESE 1974, WIESE and WIESE 1977, 1978）、クリプセコディニウム *Cryptothecodinium*（BEAM and HIMES 1977, 1982, HIMES and BEAM 1978）、ユードリナ *Eudorina*（GOLDSTEIN 1964）、ゴニウム *Gonium*（STEIN 1958, 1965, STEIN and McCAULEY 1976, NOZAKI 1989）、クワノミモ *Pandorina*（COLMAN 1977）、ボルブリナ *Volvolina*（CAREFOOT 1966）等

の鞭毛藻類の形態種の中に、性的隔離機構によって区別される複数の生物学的種が存在する場合でも、それらの間の形態的差異は認識されていない。但しオオヒゲマワリ的一种 *Volvox carteri* では、生殖的に隔離した個体群間である程度の形態的差異が認められ、しかも地理的分布もある程度限られているようである。このような *V. carteri* の変異個体群は品種 (formae) レベルの分類群として分類されているが (NOZAKI 1988), 生物学的種概念からすると独立の種と考えるべきものであろう。

鼓藻類では上記の鞭毛藻類の研究結果とは異なり、生殖的隔離機構の発達した個体群間で形態的差異が認められる研究結果が多いように思われる。しかし、

*Cosmarium turpinii* (STARR 1959), *C. botrytis* (BRANDHAM and GODWARD 1965a), *Closterium ehrenbergii* (LIPPERT 1967, ICHIMURA 1981, ICHIMURA and KASAI 1982) 及び *Cl. montiferum* (LIPPERT 1967) 等の初期の研究では、生殖的隔離の現象を同一形態種内の個体群間で認めるだけで形態変異についてはほとんど研究されていない。ICHIMURA and WATANABE (1974) は初めて形態種 *Cl. calosporum* 内に、細胞の大きさや形で区別できる複数の個体群が存在することを交配様式や接合孢子形成の条件の相違と関連づけて報告している。後に WATANABE (1978, 1979) は、*Cl. calosporum* の個体群について生理生態的研究と合わせた精細な形態変異の分析を行い、3種7変種に分類することを提唱してい

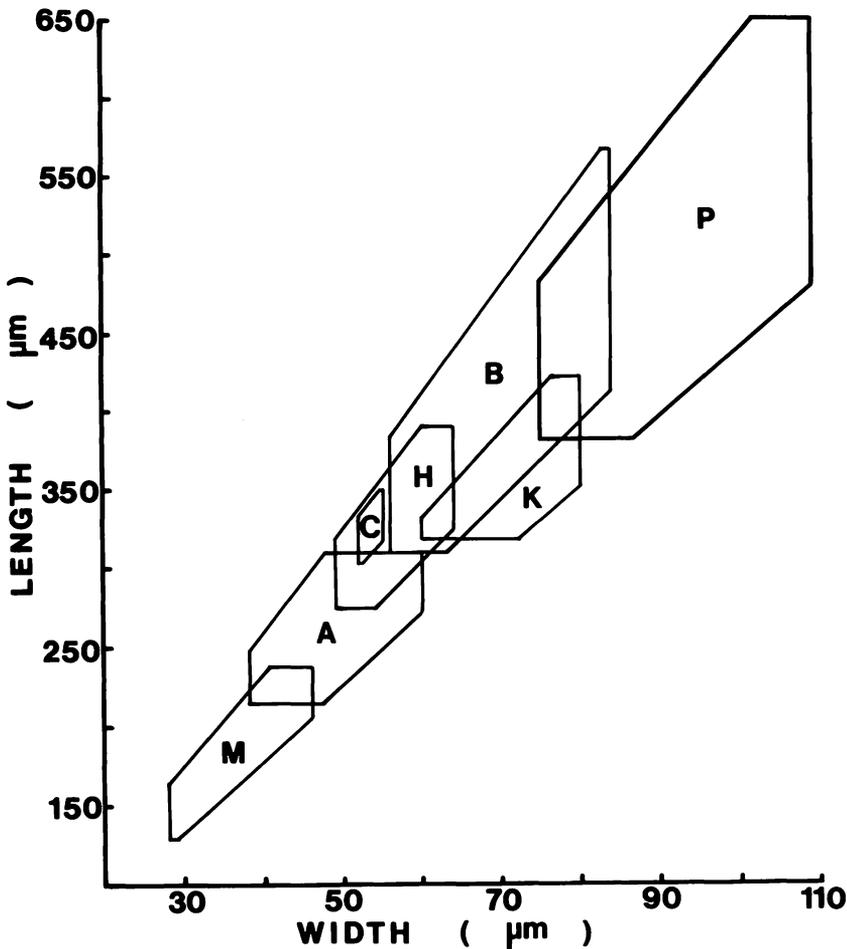


Fig. 1. Variation ranges in cell size for seven closely related mating groups of the *Closterium ehrenbergii* species complex. A, Group A from Japan and Australia; B, Group B from Japan and Taiwan; C, Group C from Japan; H, Group H from Nepal; K, Group K from Japan and Australia; M, Group M from Japan and Nepal; P, Group P from Japan, Denmark and U.S.A.

る。又一方, WATANABE and ICHIMURA (1978a, b, 1982) は *Cl. peracerosum-strigosum-littorale* 複合体のヘテロタリックの個体群について, 生殖的に隔離された個体群間で明確な形態的差異が存在することを報告している。最近 KASAI and ICHIMURA (1986) は *Cl. ehrenbergii* の交配群 (生物学的種) の中で, 遺伝学的にも細胞学的にも研究が進んでおり, かなり多くの試料が整っている A, B, H 群の形態変異の比較研究を行っている。その大要は次の通りである。3 群とも細胞の大きさ等の変異の範囲は, これまで形態分類学者が種又は変種レベルで認めていた範囲と比較すると遙かに小さく, 3 群の平均値は明確に異なる。又, 同所的分布をする A 群と B 群は細胞の大きさと湾曲度によってはっきりと区別されるのに対して, A 及び B 群とは異所的に分布する H 群は, 細胞の大きさは A 群と B 群の中間の値を示し, 形は概ね B 群と似ていることから, 地理的分布の

情報がない場合には, 交配実験以外に 3 群を明確に識別することはできない。

交配群 A, B, H はすべて平滑壁の接合胞子を形成し, 交配実験によって群間でもかなりよく接合胞子が得られることから, これら 3 群は特に近縁の交配群と考えられている (市村 1982, 1985, ICHIMURA 1985)。交配群 C, K, M, P もすべて平滑壁の接合胞子を形成し, 上記 3 群ほどではないが群間で接合胞子の得られる場合もあるし, 少なくともかなりの性的反応を示す。このことからこれら 4 群も上記の 3 群と近縁であると思われる。また試料不足の交配群もあるが, 未発表データに基づいてこれら 7 群の形態変異と地理的分布について考察を行いたい。群内又は群間の分類形質の変異を統計的に解析するために, 各クローンを一定条件 (温度に関しては P 群のみ 15°C, 他は 25°C, 他の条件は KASAI and ICHIMURA 1986 と同じ) で培養し, 50 又は

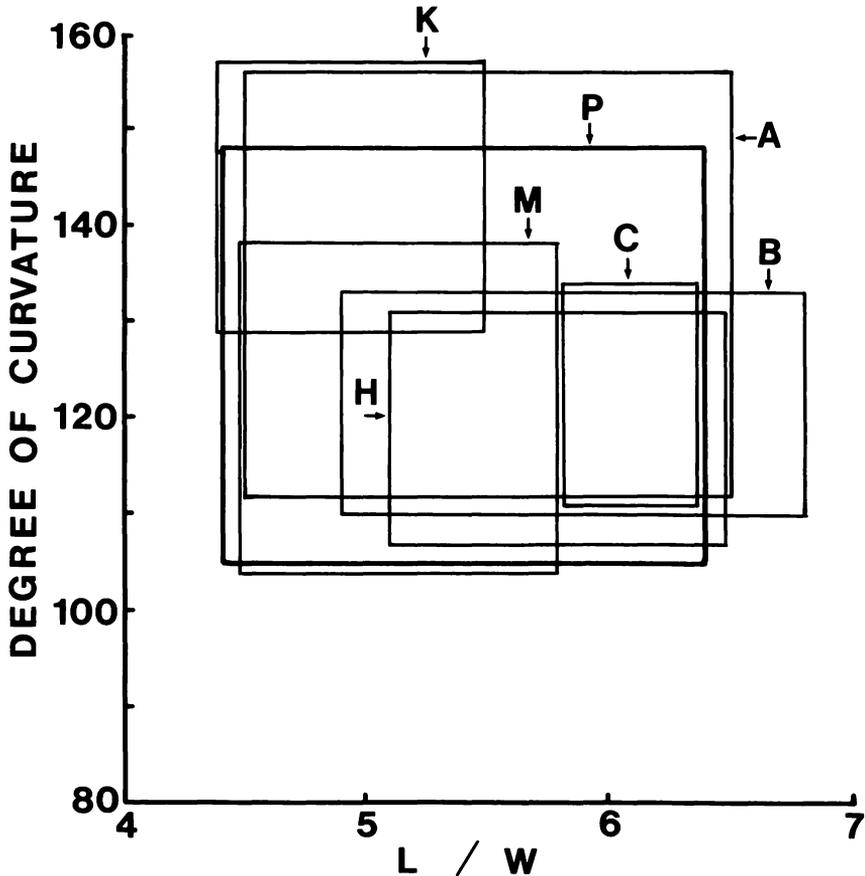


Fig. 2. Variation ranges in cell shape for seven closely related mating groups of the *Closterium ehrenbergii* species complex. A-P, see Fig. 1.

Table 1. Morphological characters of seven closely related mating groups of the *Closterium ehrenbergii* species complex.

Mating groups	Width ( $\mu\text{m}$ )			Length ( $\mu\text{m}$ )			L/W			Curvature ( $^{\circ}$ )		
	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD
A (47)*	38-60	50	4.2	216-310	250	21.6	4.5-6.5	5.0	0.4	112-156	137	8.4
B (44)	56-84	67	5.2	311-567	404	52.5	4.9-6.8	6.0	0.4	110-133	122	4.8
C (9)	52-55	54	1.0	303-350	323	13.6	5.8-6.4	6.0	0.2	111-137	121	8.0
H (38)	49-64	57	3.2	276-390	333	27.2	5.1-6.5	5.8	0.4	107-131	121	5.1
K (20)	60-80	73	5.4	317-420	363	26.6	4.4-5.5	5.0	0.3	129-157	145	7.6
M (17)	28-46	36	4.1	130-238	183	23.6	4.5-5.8	5.1	0.4	104-138	124	9.7
P (30)	75-109	93	7.7	381-650	513	62.4	4.4-6.4	5.5	0.5	104-148	126	10.1

\* Number of clones measured.

20細胞について、細胞の幅、長さ、幅と長さの比及び湾曲度を計測し、それぞれの平均値を各クローンの値として用いることにした。交配群 A, B, C, H, K, M 及び P の栄養細胞の大きさを比較するために細胞の幅と長さの変異の範囲を Fig. 1 に、形を比較するために細胞の幅と長さの比と湾曲度の範囲を Fig. 2 に示す。

地理的分布に関して、A群は日本とオーストラリア、B群は日本と台湾、C群は日本、H群はネパール、K群は日本とオーストラリア、M群は日本とネパール、P群は日本、デンマーク、米国に分布することを我々はこれまでに確認している。又、COESEL とその共同研究者が種生物学的研究 (COESEL 1988a, b, 1989, COESEL and MENKEN 1988) に用いた英国及び北フランスの *Cl. ehrenbergii* の多数の株の分与を昨年 COESEL 博士より受けた結果、P群が広く北ヨーロッパに分布することが明らかになってきた。

日本には分布していないH群を除くと、日本に同所的分布する(細胞の小さい順に)M, A, C, K, B, P の6群は細胞の大きさが相互にかなり明確に異なっていることが Fig. 1 から理解できる。又、この図からも細胞の幅と長さの比がほぼ一定で細胞の大きさが増大していることも読み取ることができる。しかし、各群の細胞の形の比較は Fig. 2 を見るとさらによく理解できる。A群とP群の細胞の形は変異にとみ、最も大きな範囲に広がっている。その原因は、P群では世界の広い範囲から試料が集められていること、又A群では日本産の個体群ではこれほど大きな変異を示さないがオーストラリア産の個体群に細胞の形態の変異が非常に大きなものが含まれていることによると思われる。(後者については KASAI and ICHIMURA 1986 を参照されたい。前者については論文準備中である。) A群とP群以外では形の変異の範囲が比較的小さいので、ある程

度個々の交配群の細胞の形の特徴を把握することができる。最も特徴的なのはK群であり、太くて(細胞の長さとの比 L/W が小さい)強く湾曲している。これに対してM群はK群と同程度に太いがそれほど湾曲していない。C群は細長く(L/W が大きい)、それほど湾曲していない。B群とH群は前述したように形が似ており、湾曲度はそれほどでもないが、やや太いものから細長いものまで少し変異が認められる。以上のようにこれら *Cl. ehrenbergii* の近縁交配群間では、細胞の形については細胞の大きさほど明確な差異は認められない。しかし、大きさと形を組み合わせると、同所的分布をする上記6群の交配群は形態的にある程度まで正確に同定することができる。参考のために各交配群の分類形質の平均値、標準偏差及び最大最小値と測定に供した各交配群のクローン数を Table 1 に示す。

#### 近縁種の染色体構成

一般に細胞の大きさと核の大きさ及び DNA 量とは正の相関があり、真核単細胞生物では0.92の相関係数が得られている (CAVALIER-SMITH 1985)。このことに関してミカヅキモだけが例外であるとは考えられないことから、先に Fig. 1 で示した細胞の小さなM群から大きなP群の順に DNA 量は増加しているものと考えられる。染色体数についてはA群は  $n=100\sim 106$ 、B群は  $n=97\sim 104$ 、H群は  $n=105\sim 127$ 、P群は  $n=181\sim 246$  であることが調べられているが (KASAI and ICHIMURA 1984, 未発表)、他の交配群についてはまだ研究されていない。細胞の大きさに従って DNA 量が異なるであろう A, B, H の3群がほぼ同じレベルの染色体数であるのは染色体の大きさが異なるためであろうと思われる。しかし、実際にはこれら3群の染

Table 2. Viability and mating type of F<sub>1</sub> progeny in crosses within Japanese populations of Group A.

Cross Plus × minus	Individuals isolated	Percent survival	Mating type (+ : -)	No. of pairs		
				(+ -)	(+ +)	(- -)
M-16-4a × M-16-4b	418	94.0	191 : 202	183	1	2
× R-11-16	250	96.4	121 : 120	116	1	0
× R-13-20	128	93.0	57 : 62	54	0	1
80-1-2 × M-16-4b	212	84.0	89 : 89	82	0	0
GN-4-29 ×	44	84.1	17 : 20	16	0	0
J5-48-19 ×	320	94.7	153 : 150	144	0	0
× R-13-20	146	94.5	67 : 71	65	0	0
R-11-4 × M-16-4b	444	91.0	208 : 196	183	3	2
R-13-131 ×	422	97.4	202 : 209	195	2	4
× 80-1-1	102	94.1	49 : 47	45	0	0
× R-13-20	76	88.2	35 : 32	30	0	0
Subtotal	2562	93.2	1189 : 1198	1113	7	9
M-16-4a × J6-73-4	102	70.6	34 : 38	23	1	0
R-11-4 ×	72	75.0	25 : 29	20	0	1
J6-73-3 × M-16-4b	76	60.5	21 : 25	12	1	1
× 80-1-1	24	54.2	5 : 8	2	0	0
× R-11-16	164	64.6	53 : 53	33	0	1
Subtotal	438	66.4	138 : 153	90	2	3
M-16-4a × J5-48-2	238	67.7	77 : 83	51	1	1
80-1-2 ×	32	68.8	14 : 8	7	1	0
J5-48-19 ×	108	50.9	19 : 36	13	0	0
R-13-131 ×	100	56.0	30 : 26	12	0	0
Subtotal	478	61.3	140 : 153	83	2	1
Total	3478	85.4	1467 : 1504	1285	11	13

色体は何れも非常に小型であるために、現在の我々の技術では定量的には区別できないほどの差異である。A, B, H の3群と比較するとP群は明らかに染色体数

Table 3. Viability and mating type ratio of F<sub>1</sub> progeny in crosses involving clones with or without a genetic factor causing lethality and mating type aberration.

Plus	Minus		
	M-16-4b	R-13-20	J5-48-12
M-16-4a	94.0	93.0	67.7
	191 : 200	57 : 62	77 : 83 (12)*
R-13-131	97.4	88.2	56.0
	202 : 207	35 : 32	30 : 26 (4)*
J5-48-19	94.7	94.5	50.9
	153 : 150	67 : 71	19 : 36

**G = 5.34, P < 0.025**

\* Number of selfing minus F<sub>1</sub> clones.

G, value in the G-test (likelihood ratio test) for goodness of fit; P, probability.

が倍加している。P群の個体群は、これまでの我々の調査では冷涼な流水にほとんど分布が限られており、室内実験でもP群の最適増殖温度は5~15°Cの範囲にあり、A, B, H群が20~30°Cであるのと明らかに異なっている。最近の COESEL (1989) の報告によると、北フランスではP群の個体群は第二次大戦時の爆弾投下によって生じた浅い水溜りにも生息することが確認されている。このことは、この地域にA, B, H群等のように好んで止水に生息する近縁の交配群が存在していないためであろうと思われる。P群が世界中の北方地域に広く分布すること、他の多くの交配群が好んで生息する温暖な止水域ではなく冷涼な流水域を好む性質と合わせて、その染色体数の多さから、氷河期以後に開けた生態的場に侵入し拡大分布した倍数体の高等植物の種とP群を対比できるのではないかと我々は考えている。そしてP群には染色体数がかなり異なる個体が含まれていたり、減数分裂における染色体対合を低下させる遺伝因子を持っている個体が含まれているこ

となどから、P群は比較的歴史の新しい倍数体であることが推察されている。

交配群A, B, Hの群間交配で得られた雑種接合胞子の減数分裂では、染色体の対合はかなり異常で、1価及び2価染色体とかなり多数の多価染色体が観察される(KASAI and ICHIMURA 1984)。しかし、交配群A内の3倍体接合胞子(前述)の減数分裂では少数の1価染色体を除いてほとんどが2価染色体である(KASAI and ICHIMURA 1987)。このように群間交配で多価染色体が形成され、群内の奇数倍数体の減数分裂が正常であることから考えると、A, B, Hの3群の栄養細胞は細胞学的には倍数体であると結論することができる。そうするとP群はさらに高次の倍数体ということになる。ところが交配型遺伝子や接合胞子形成に関与する遺伝子の遺伝解析をすると、A, B, H, Pの4群とも遺伝学的には1倍体と考えざるを得ない結果が最近得られている(市村・笠井未発表)。*Closterium ehrenbergii*の各交配群は、*Cl. moniliferum*等の小型の祖先種からおそらく雑種形成をも伴った倍数化によって進化した、その過程で前述した性決定機構が有効に働いてきたと思われる。しかし、上記のような遺伝学的結果から、倍数化したゲノム間の分化はかなり進んでおり、P群をも含めた交配群の栄養細胞には機能的に有効な遺伝子は1組しか含まれていないと考えられる。

小型で多数の染色体を持つミカヅキモの近縁交配群の個体群について、種分化の結果生じた染色体構造の差異や、種分化の要因として働く可能性のある染色体構造の変化を、直接細胞学的に調べることは現在ほとんど不可能と思われる。しかし、高等植物でも外見上染色体構造が非常に似ており減数分裂においても正常な染色体対合を示す近縁種間の染色体が、小さな染色体部位の重複(duplication)、欠失(delation)、逆位(inversion)又は転座(translocation)等によって構造が必ずしも全く同じでないことが、種間又は同種の生態型間の雑種の花粉の稔性の低下から推論されている(STEBBINS 1950, 1971)。高等植物の花粉の稔性とミカヅキモの接合胞子からの発芽個体の生存率は、両者ともその減数分裂の正常さの度合と1倍体世代の持つゲノムの適応度に依存している。Table 2に我々がこれまでに得た交配群A内の種々のクローンの組合せの交配で得た接合胞子からのF<sub>1</sub>個体の生存率を示す。上段11組の交配では約85%以上の生存率を示しており、これらのクローンの相同染色体はほぼ同じ構造をしていると考えられる。中段の5組では約55~75%、下段の4組では約50~70%とかなり生存率が低下してい

る。中段ではプラス株J6-73-3及びマイナス株J6-73-4が生存率の低下要因となっていると思われるが、残念ながらまだJ6-73-3×J6-73-4の交配結果が得られていない。これに対して下段の4組ではマイナス株J5-48-2が生存率低下の遺伝要因を持っていることがTable 3から明かである。このJ5-48-2株の持つ遺伝因子はF<sub>1</sub>個体の生存率の低下だけでなく交配型の分離や性表現の異常にも影響を与えていることから、交配型遺伝子を含む染色体の構造に何等かの変化があるのではないかと推察される。

## おわりに

鼓藻類の形態分類学者の中には、鼓藻類、特に形態分化の著しい種類では有性生殖は鼓藻類の進化にとってそれほど大きな役割を果していないと考えている人がかなりいる。一方で鼓藻類には染色体数が多い種類が多いことは以前からよく知られていた。無性生殖でいくらかでも個体群を増加させることができる鼓藻類にとって、倍数化又は異数化は高等植物と比較するとそれほど大きな障害なく種分化を促進させてきたとも考えられる。STEBBINS and HILL (1980)によると接合藻類の起源となった生物は陸上の湿った環境で生まれ、その後進化してきたシダ植物やコケ植物との生存競争によって、二次的に水の中に住むようになった生物群が現生の接合藻類であろうと考えられる。もしそうだとすれば、現生の多くの鼓藻類が浅い水溜りを好むように、鼓藻類は年に少なくとも1度は完全に水分が無くなるような環境で進化してきたと思われる。鼓藻類がその様な環境に適応するためには、乾燥に強い耐久胞子を形成する必要がある。多くの種類では有性生殖によってのみその様な耐久型の接合胞子を形成する。有性生殖によらない種類では単為胞子(parthenospore)又は偽似接合胞子(azygospore)と呼ばれる耐久細胞を形成する。これは、その名が示すように正常な接合過程における2個の配偶子の融合過程が省略されたものである。このように耐久細胞形成と有性生殖過程が細胞分化を制御する機構でよく結合していることから考えると、鼓藻類の進化において有性生殖が重要な働きをしてきたことは明白であろう。又、鼓藻類の接合胞子は栄養増殖に不適な環境に耐えるだけではなく、環境が好転したときや新しい環境に運ばれた場合に、減数分裂を経て、その場、その時に適応した新しい遺伝子の組合せの変異個体を生むという重要な役割を果している。染色体数が多い生物は、当然、少ない生物よ

りも遺伝的組換えの頻度が高く、生物の集団遺伝学的特性や進化のパターンはその生物の染色体数によって大きく影響されると考えられる。鼓藻類の種類の多さ、形態変異の多様さはその染色体数の多さと無関係ではないように思われる。

## 文 献

- ABHAYAVARDHANI, P. and SARMA, Y.S.R.K. 1982. Karyological studies on some desmid taxa (Conjugales, Chlorophyceae). *Phycologia* 21: 131-136.
- BEAM, C.A. and HIMES, M. 1977. Sexual isolation and genetic diversification among some strains of *Cryptothecodinium cohnii*-like dinoflagellates. Evidence of speciation. *J. Protozool.* 24: 532-539.
- BEAM, C.A. and HIMES, M. 1982. Distribution of members of the *Cryptothecodinium cohnii* (Dinophyceae) species complex. *J. Protozool.* 29: 8-15.
- BECH-HANSEN, C.W. and FOWKE, L.C. 1972. Mitosis in *Mougeotia* sp. *Can. J. Bot.* 50: 1811-1816.
- BERLINER, M.D. and WENC, K.A. 1976. Osmotic pressure effects and protoplast formation in *Cosmarium turpinii*. *Microbios Letter* 2: 39-45.
- BIEBEL, P. 1976. Genetics of Zygnematales. p. 198-209. In R.A. LEWIN, (ed.), *Genetics of Algae*. Blackwell Sci. Publ. Oxford.
- BIEBEL, P. and REID, R. 1965. Inheritance of mating types and zygospore morphology in *Netrium digitus* var. *lamellosum*. *Proc. Pennsylvania Acad.* 39: 134-137.
- BLACKBURN, S.I. and TYLER, P.A. 1980. Conjugation, germination and meiosis in *Micrasterias mahabuleshwarsensis* HOBSON (Desmidiaceae). *Br. phycol. J.* 15: 83-93.
- BLACKBURN, S.I. and TYLER, P.A. 1981. Sexual reproduction in desmids with special reference to *Micrasterias thomasi* var. *notata* (NORDST.) GRONBLAD. *Br. phycol. J.* 16: 217-229.
- BRANDHAM, P.E. 1965a. Some new chromosome counts in the desmids. *Br. Phycol. Bull.* 2: 451-455.
- BRANDHAM, P.E. 1965b. Polyploidy in desmids. *Can. J. Bot.* 43: 405-417.
- BRANDHAM, P.E. and GODWARD, M.B.C. 1965a. The inheritance of mating type in desmids. *New Phytol.* 64: 428-435.
- BRANDHAM, P.E. and GODWARD, M.B.C. 1965b. Meiosis in *Cosmarium botrytis*. *Can. J. Bot.* 43: 1379-1386.
- BRANDHAM, P.E. and GODWARD, M.B.C. 1965c. Ultrastructure of the nucleus of the green alga *Closterium ehrenbergii*. *J. Roy. Microsc. Soc.* 84: 499-507.
- BROOKS, A.E. 1966. The sexual cycle and intercrossing in the genus *Astrephomene*. *J. Protozool.* 13: 367-375.
- CAREFOOT, J.R. 1966. Sexual reproduction and intercrossing in *Volvulina steinii*. *J. Phycol.* 2: 150-156.
- CAVALIER-SMITH, T. 1985. Cell volume and the evolution of eukaryote genome size. p. 105-184. In T. CAVALIER-SMITH (ed.) *The Evolution of Genome Size*. John Wiley & Sons, Chichester.
- COESEL, P.F.M. 1974. Notes on sexual reproduction in desmids. I. Zygospore formation in nature (with special reference to some unusual records of zygotes). *Acta Bot. Neerl.* 23: 361-368.
- COESEL, P.F.M. 1988a. Biosystematic studies in the *Closterium moniliferum/ehrenbergii* complex (Conjugatophyceae, Chlorophyta) in western Europe. II. Sexual compatibility. *Phycologia* 27: 421-424.
- COESEL, P.F.M. 1988b. Biosystematic studies in the *Closterium moniliferum/ehrenbergii* complex (Conjugatophyceae, Chlorophyta) in western Europe. III. Morphological variability. *Cryptogamie, Algol.* 9: 165-172.
- COESEL, P.F.M. 1989. Biosystematic studies in the *Closterium moniliferum/ehrenbergii* complex (Conjugatophyceae, Chlorophyta) in western Europe. IV. Distributional aspects. *Cryptogamie, Algol.* 10: 133-141.
- COESEL, P.F.M. and MENKEN, S.B.J. 1986. Allozymic evidence for aneuploidy in *Closterium ehrenbergii* MENEHINI (Desmidiaceae, Chlorophyta). *Phycologia* 25: 579-582.
- COESEL, P.F.M. and MENKEN, S.B.J. 1988. Biosystematic studies in the *Closterium moniliferum/ehrenbergii* complex (Chlorophyta, Conjugatophyceae) in western Europe. I. Isozyme patterns. *Br. phycol. J.* 23: 193-198.
- COESEL, P.F.M. and TEIXEIRA, R.M.V. 1974. Notes on sexual reproduction in desmids. II. Experiences with conjugation experiments in uni-algal cultures. *Acta Bot. Neerl.* 23: 603-611.
- COLEMAN, A.W. 1977. Sexual and genetic isolation in the cosmopolitan algal species *Pandorina morum*. *Amer. J. Bot.* 64: 361-368.
- DUBOIS-TYLSKI, T. 1972. Le cycle de *Closterium moniliferum* in vitro. *Soc. bot. Fr., Mem.* 1972, 183-200.
- EBERSOLD, W.T. 1967. *Chlamydomonas reinhardi*: Heterozygous diploid strains. *Science* 157: 447-449.
- EVES, E.M. and CHIANG, K.-S. 1984. Genetics of *Chlamydomonas reinhardtii* diploids. II. The effects of diploidy and aneuploidy on the transmission of non-Mendelian markers. *Genetics* 107: 563-576.
- FRANCKE, J.A. and COESEL, P.F.M. 1985. Isozyme variation within and between Dutch populations of *Closterium ehrenbergii* and *C. moniliferum* (Chlorophyta, Conjugatophyceae). *Br. phycol. J.* 20: 201-209.
- FRIJSCH, F.E. 1930. Über Entwicklungstendenzen bei Desmidiaceen. *Zeit. f. Bot.* 23: 402-418.
- GILLHAM, N.W., BOYNTON, J.E. and LEE, R.W. 1974. Segregation and recombination of non-Mendelian genes in *Chlamydomonas*. *Genetics* 78: 439-457.

- GODWARD, M.B.E. 1954. The diffuse centromere or polycentric chromosomes in *Spirogyra*. *Ann. Bot.* **18**: 143–156.
- GODWARD, M.B.E. 1961. Meiosis in *Spirogyra crassa*. *Heredity* **16**: 53–62.
- GODWARD, M.B.E. 1966. The Chlorophyceae. p. 1–77. In M.B.E. GODWARD (ed.), *The Chromosomes of the Algae*. Edward Arnold Ltd., London.
- GOLDSTEIN, M. 1964. Speciation and mating behaviour in *Eudorina*. *J. Protozool.* **11**: 317–344.
- GOODENOUGH, U.W. and FERRIS, P.J. 1987. Genetic regulation of development in *Chlamydomonas*. p. 171–189. In W. LOOMIS (ed.), *Genetic Regulation of Development*. Alan R. Liss, Inc., New York.
- GRANT, V. 1981. *Plant Speciation*. Columbia Univ. Press, New York. 563 pp.
- HAMADA, J., YOSHIZAWA-KATO, T. and TSUNEWAKI, K. 1982. Genetic study on mating type genes by a new type of tetrad analysis in *Closterium ehrenbergii*. *Bot. Mag. Tokyo* **95**: 101–108.
- HIMES, M. and BEAM, C.A. 1978. Further studies of breeding restrictions among *Crypthecodinium cohnii*-like dinoflagellates. Evidence of a new interbreeding group. *J. Protozool.* **25**: 378–380.
- HOSHAW, R.W. and MCCOURT, R.M. 1988. The Zygnemataceae (Chlorophyta): a twenty year update of research. *Phycologia* **27**: 511–548.
- 市村輝宜 1979. 緑藻ミカヅキモ. p. 213–218. 西沢一俊, 千原光雄 (編) 藻類研究法. 共立出版.
- ICHIMURA, T. 1981. Mating types and reproductive isolation in *Closterium ehrenbergii* MENECHINI. *Bot. Mag. Tokyo* **94**: 325–334.
- 市村輝宜 1982. ミカヅキモの種分化と生殖的隔離機構. *藻類* **30**: 332–343.
- ICHIMURA, T. 1983. Hybrid inviability and predominant survival of mating type minus progeny in laboratory crosses between two closely related mating groups of *Closterium ehrenbergii*. *Evolution* **37**: 252–260.
- 市村輝宜 1985. ミカヅキモの種生物学的研究. 種生物学研究 **9**: 128–136.
- ICHIMURA, T. 1985. Geographical distribution and isolating mechanisms in the *Closterium ehrenbergii* species complex (Chlorophyceae, Closteriaceae). p. 295–303. In H. HARA (ed.), *Origin and Evolution of Diversity in Plants and Plant Communities*. Academia Scientific Book Inc., Tokyo.
- ICHIMURA, T. and KASAI, F. 1982. New mating groups, Group H and Group I, of *Closterium ehrenbergii* from Kathmandu Valley and Terai Plains of Nepal. Reports on the Cryptogamic Study in Nepal, March 1982 (Miscellaneous Publication of the Nat. Sci. Mus., Tokyo). p. 61–73.
- ICHIMURA, T. and KASAI, F. 1984a. Post-zygotic isolation between allopatric mating groups of *Closterium ehrenbergii* MENECHINI (Conjugatophyceae). *Phycologia* **23**: 77–85.
- ICHIMURA, T. and KASAI, F. 1984b. Time lapse analyses of sexual reproduction in *Closterium ehrenbergii* (Conjugatophyceae). *J. Phycol.* **20**: 258–265.
- ICHIMURA, T. and KASAI, F. 1989. Life cycle of homothallic and heterothallic clones of *Triploceras gracile* BAILEY (Desmidiaceae, Chlorophyta). *Phycologia* **28**: 212–221.
- ICHIMURA, T. and WATANABE, M. 1974. The *Closterium calosporum* complex from the Ryukyu Islands. Variation and Taxonomical problems. *Mem. Nat. Sci. Mus. Tokyo* **7**: 89–102.
- KALLIO, P. 1951. The significance of nuclear quantity in the genus *Microsterias*. *Ann. (bot.-zool.) Soc. zool.-bot. fenn. Vanamo* **24**: 1–120.
- KASAI, F. and ICHIMURA, T. 1983. Zygosporic germination and meiosis in *Closterium ehrenbergii* MENECHINI (Conjugatophyceae). *Phycologia* **22**: 267–275.
- KASAI, F. and ICHIMURA, T. 1984. Meiotic anomalies in intergroup crosses between closely related mating groups of *Closterium ehrenbergii* MENECHINI (Conjugatophyceae). *Phycologia* **23**: 508–510.
- KASAI, F. and ICHIMURA, T. 1986. Morphological variabilities of three closely related mating groups of *Closterium ehrenbergii* MENECHINI (Chlorophyta). *J. Phycol.* **22**: 158–168.
- KASAI, F. and ICHIMURA, T. 1987. Stable diploids from intragroup zygospores of *Closterium ehrenbergii* MENECH. (Conjugatophyceae). *J. Phycol.* **23**: 344–351.
- KASAI, F. and ICHIMURA, T. (in press). A sex determining mechanism in the *Closterium ehrenbergii* (Chlorophyta) species complex. *J. Phycol.*
- KING, G.C. 1960. The cytology of the desmids: the chromosomes. *New Phytol.* **59**: 65–72.
- KLEBAHN, H. 1891. Studien über Zygoten. I. Die Keimung von *Closterium* und *Cosmarium*. *Jb. wiss. Bot.* **22**: 415–443.
- KRIEGER, W. 1933. Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der aussereuropäischen Arten. In Rabenhorst's Krypt.-Fl. Dt. Osterr. Schweiz. **13** (2) 1. Teil Lief 1, p. 1–223.
- KRIEGER, W. 1935. Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der aussereuropäischen Arten. In Rabenhorst's Krypt.-Fl. Dt. Osterr. Schweiz. **13** (2) 1. Teil Lief 2, p. 225–375.
- KRIEGER, W. 1937. Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der aussereuropäischen Arten. In Rabenhorst's Krypt.-Fl. Dt. Osterr. Schweiz. **13** (2) 1. Teil Lief 3–4, p. 377–712.
- KRIEGER, W. 1939. Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der aussereuropäischen Arten. In Rabenhorst's Krypt.-Fl. Dt. Osterr. Schweiz. **13** (2) 2. Teil p. 1–117.
- LING, H.U. and TYLER, P.A. 1974. Interspecific hybridity in the desmid genus *Pleurotaenium*. *J. Phycol.* **10**: 225–230.
- LING, H.U. and TYLER, P.A. 1976. Meiosis, polyploidy and taxonomy of the *Pleurotaenium mamillatum* complex. *Br. phycol. J.* **11**: 315–330.

- LIPPERT, B.E. 1967. Sexual reproduction in *Closterium moniliferum* and *Cl. ehrenbergii*. J. Phycol. 3: 182-198.
- MATAGNE, R.F. and MATHIEU, D. 1983. Transmission of chloroplast genes in triploid and tetraploid zygospores of *Chlamydomonas reinhardtii*: Roles of mating-type gene dosage and gametic chloroplast DNA content. Proc. Natl. Acad. Sci. 80: 4780-4783.
- 松田吉弘 1982. クラミドモナスの性発現と葉緑体遺伝. 遺伝 36 (10): 11-17.
- MAYR, E. 1963. Animal Species and Evolution. The Belknap Press of Harvard Univ. Press, New York. 797 pp.
- MUGHAL, S. and GODWARD, M.B.E. 1973. Kinetochore and microtubules in two members of Chlorophyceae, *Cladophora fracta* and *Spirogyra majuscula*. Chromosoma 44: 213-229.
- MULLER, H.J. 1925. Why polyploidy is rarer in animals than in plants. Amer. Natr. 59: 346-353.
- NIZAM, J. 1974. Cytological studies in certain desmids. Advancing Frontiers in Cytogenetics. A collection of papers in honour of Prof. P.N. Mehra, 259 pp.
- NOZAKI, H. 1988. Morphology, sexual reproduction and taxonomy of *Volvox carteri f. kawasakiensis* f. nov. (Chlorophyta) from Japan. Phycologia 27: 209-220.
- NOZAKI, H. 1989. Morphological variation and reproduction in *Gonium viridistellatum* (Volvocales, Chlorophyta). Phycologia 28: 77-88.
- PICKETT-HEAPS, J.D. 1975. Green Algae. Sinauer, Massachusetts. 606 pp.
- PRASAD, B.N. and GODWARD, M.B.E. 1962. Cytological studies in the genus *Mougeotia*. Br. Phycol. Bull. 2: 111-115.
- PRASAD, B.N. and GODWARD, M.B.E. 1966. Cytological studies in the genus *Zygnema*. Cytologia 31: 375-391.
- PRESCOTT, G.W., BICUDO, C.E.M. and VINYARD, W.C. 1982. A Synopsis of North American Desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae, Section 4. Univ. of Nebraska Press, Lincoln. 700 pp.
- PRESCOTT, G.W., CROASDALE, H.T. and VINYARD, W.C. 1972. North American Flora. Series II, Part 6. Desmidiales, Saccodermae, Mesotaeniaceae. New York Botanical Garden, New York. 84 pp.
- PRESCOTT, G.W., CROASDALE, H.T. and VINYARD, W.C. 1975. A Synopsis of North American Desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae, Section 1. Univ. of Nebraska Press, Lincoln. 275 pp.
- PRESCOTT, G.W., CROASDALE, H.T. and VINYARD, W.C. 1977. A Synopsis of North American Desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae, Section 2. Univ. of Nebraska Press, Lincoln. 413 pp.
- PRESCOTT, G.W., CROASDALE, H.T., VINYARD, W.C. and BICUDO, C.E.M. 1981. A Synopsis of North American Desmids Part II. Desmidiaceae: Placodermae, Section 3. Univ. of Nebraska Press, Lincoln. 720 pp.
- RALFS, J. 1848. The British Desmidiaceae. Reeve, Bemhan and Reeve, London. 226 pp.
- RŮŽIČKA, J. 1977. Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1, 1. Lieferung. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. 291 pp.
- RŮŽIČKA, J. 1981. Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1, 2. Lieferung. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. p. 293-736.
- SARMA, Y.S.R.K. 1982. Chromosome number in algae. Nucleus (Calcutta) 25: 66-108.
- SARMA, Y.S.R.K. 1983. Algal karyology and evolutionary trend. p. 177-223. In A.K. SHARMA and A. SHARMA (eds.), Chromosomes in Evolution of Eukaryotic Groups. Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- SOLTIS, D.G. and SOLTIS, P.S. 1987. Polyploidy and breeding systems in homosporous Pteridophyta: a reevaluation. Amer. Natr. 130: 219-232.
- STARR, R.C. 1954. Inheritance of mating type and a lethal factor in *Cosmarium botrytis* var. *subtimumidum* WITTR. Proc. Natl. Acad. Sci. 40: 1016-1063.
- STARR, R.C. 1958. The production and inheritance of the triradiate form in *Cosmarium lupinii*. Amer. J. Bot. 45: 243-248.
- STARR, R.C. 1959. Sexual reproduction in certain species of *Cosmarium*. Arch. Protistenk. 104: 155-164.
- STARR, R.C. and ZEIKUS, J.A. 1987. UTEX-The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. J. Phycol. 23 (Suppl.): 1-47.
- STEBBINS, G.L. 1950. Variation and Evolution in Plants. Columbia Univ. Press, New York. 643 pp.
- STEBBINS, G.L. 1971. Chromosome Evolution in Higher Plants. Addison-Wesley, Reading, Massachusetts. 216 pp.
- STEBBINS, G.L. and HILL, G.J.C. 1980. Did multicellular plants invade the land? Amer. Natr. 115: 342-353.
- STEIN, J.R. 1958. A morphological and genetic study of *Gonium pectorale*. Amer. J. Bot. 45: 664-672.
- STEIN, J.R. 1965. Sexual populations of *Gonium pectorale* (Volvocales). Amer. J. Bot. 52: 379-388.
- STEIN, J.R. and MCGAULEY, M.J. 1976. Sexual compatibility in *Gonium pectorale* (Volvocales, Chlorophyceae) from soil of a single pond. Can. J. Bot. 54: 1126-1130.
- 館岡亜緒 1983. 植物の種分化と分類. 養賢堂. 269 pp.
- TSUBO, Y. and MATSUDA, Y. 1984. Transmission of chloroplast genes in crosses between *Chlamydomonas reinhardtii* diploids: Correlation with chloroplast nucleoid behavior in young zygotes. Current Genet. 8: 223-229.
- WATANABE, M. 1978. A taxonomic study of the *Closterium calosporum* complex (1). Bull. Nat. Sci. Mus., Ser. B (Bot.) 4: 133-154.
- WATANABE, M. 1979. A taxonomic study of the *Closterium calosporum* complex (2). Bull. Nat. Sci.

- Mus., Ser. B (Bot.) 5: 1-23.
- WATANABE, M.M. and ICHIMURA, T. 1978a. Biosystematic studies of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex II. Reproductive isolation and morphological variation among several populations from the northern Kanto area in Japan. Bot. Mag. Tokyo 91: 1-10.
- WATANABE, M.M. and ICHIMURA, T. 1978b. Biosystematic studies of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex III. Degrees of sexual isolation among the three population groups from the northern Kanto area. Bot. Mag. Tokyo 91: 11-24.
- WATANABE, M.M. and ICHIMURA, T. 1982. Biosystematic studies of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex IV. Hybrid breakdown between two closely related groups, Group II-A and Group II-B. Bot. Mag. Tokyo 95: 241-247.
- WEST, W. and WEST, G.S. 1904. A Monograph of the British Desmidiaceae, Vol. 1. Ray Society, London. 224 pp.
- WEST, W. and WEST, G.S. 1905. A Monograph of the British Desmidiaceae, Vol. 2. Ray Society, London. 204 pp.
- WEST, W. and WEST, G.S. 1908. A Monograph of the British Desmidiaceae, Vol. 3. Ray Society, London. 274 pp.
- WEST, W. and WEST, G.S. 1912. A Monograph of the British Desmidiaceae, Vol. 4. Ray Society, London. 191 pp.
- WEST, W., WEST, G.S. and CARTER, N. 1923. A Monograph of the British Desmidiaceae, Vol. 5. Ray Society, London. 300 pp.
- WESTERGAARD, M. 1958. The mechanism of sex determination in dioecious flowering plants. Advances in Genetics 9: 217-281.
- WIESE, L. 1974. Nature of sex specific glycoprotein agglutinins in *Chlamydomonas*. Ann. New York Acad. Sci. 234: 383-395.
- WIESE, L. and WIESE, W. 1977. On speciation by evolution of gametic incompatibility: A model case in *Chlamydomonas*. Amer. Natr. 111: 733-742.
- WIESE, L. and WIESE, W. 1978. Sex cell contact in *Chlamydomonas*, a model for cell recognition. p. 83-104. In A.S.G. CURTIS (ed.), Cell-cell Recognition. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- WHITE, M.J.D. 1973. Animal Cytology and Evolution (3rd ed.). Cambridge Univ. Press, Cambridge. 961 pp.
- WHITE, M.J.D. 1978. Modes of Speciation. W.H. Freeman and Company, San Francisco. 455 pp.