

The Japanese Journal of PHYCOLOGY

CONTENTS

Michio Masuda and Yasuharu Hashimoto: Autecological studies on <i>Chondrus nipponicus</i> Yendo (Gigartinales, Rhodophyta)	99
Jiro Tanaka and Mitsunobu Kamiya: Reproductive structure of <i>Caloglossa ogasawaraensis</i> Okamura (Ceramiiales, Rhodophyceae) in nature and culture	113
Ichiro Mine and Masakazu Tatewaki: Life history of <i>Halosaccion yendoi</i> I. K. Lee (Palmariales, Rhodophyta) and interspecific spermatium inoculation with <i>Palmaria</i> sp. from Hokkaido, Japan	123
Hirotooshi Yamamoto and Tadahide Noro: <i>In vitro</i> life history and spermatangial type of <i>Gracilaria eucheumoides</i> (Gracilariaceae, Rhodophyta)	131
Hiroshi Yabu, Norishige Yotsukura and Tsuyoshi Sasaki: Male and female gametophytes of <i>Dictyopteris divaricata</i> (Okam.) Okamura (Phaeophyceae) developed from the cultured tetraspores.....(in Japanese)	137
◆◆◆	
Notes	
Sung Min Boo: Intermediately corticated species, <i>Ceramium puberulum</i> , (Ceramiaceae, Rhodophyta)	143
◆◆◆	
Review	
Kazuo Okuda and Shun Mizuta: Diversity and evolution of putative cellulose-synthesizing enzyme complexes in green plants(in Japanese)	151
◆◆◆	
Miscellanea	
Announcement	(in Japanese) 175
Regulation of the Society	(in Japanese) 185
Information for authors	186
Japan Science Council News	(in Japanese) 188

日本藻類学会

日本藻類学会は1952年に設立され、藻学に関心を持ち、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7,000円（学生は5,000円）を前納するものとする。団体会員の会費は12,000円、賛助会員の会費は1口20,000円とする。

庶務および会計に関する通信は、602 京都市上京区下立売通小川東入 日本藻類学会宛に、また「藻類」への原稿の送付は 184 小金井市貫井北町4-1-1 東京学芸大学生物学教室内 日本藻類学会編集委員会宛にされたい。

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.

Inquiries and other information regarding the society should be addressed to **The Japanese Society of Phycology, Shimotachiuri Ogawa Higashi, Kamikyoku, Kyoto, 602 Japan.** The annual dues (1993) for overseas members are 7,000 Yen (Send the remittance to The Japanese Society of Phycology at the above address).

Manuscript for publication should be submitted directly to the Editor-in-Chief, **Prof. I. Shihira-Ishikawa, Department of Biology, Tokyo Gakugei University, Nukuikita-machi, Koganei-shi, Tokyo, 184 Japan.**

1993-1994年役員

会 長：有賀 祐勝（東京水産大学）
庶務幹事：佐藤 博雄（東京水産大学）
会計幹事：能登谷正浩（東京水産大学）
評 議 員：

鯨坂 哲朗（京都大学）
千原 光雄（日本赤十字看護大学）
榎本 幸人（神戸大学）
原 慶明（筑波大学）
井上 勲（筑波大学）
喜田和四郎（三重大学）
右田 清治
大野 正夫（高知大学）
岡崎 恵視（東京学芸大学）
奥田 武男（九州大学）
田中 次郎（国立科学博物館）
谷口 和也（東北区水産研究所）
秋山 優
山本 弘敏（北海道大学）
横浜 康継（筑波大学）
吉田 忠生（北海道大学）

編集委員会：

委 員 長：石川依久子（東京学芸大学）
幹 事：真山 茂樹（東京学芸大学）
実行委員：片山 舒康（東京学芸大学）
川井 浩史（神戸大学）
前川 行幸（三重大学）
岡崎 恵視（東京学芸大学）
渡辺 信（国立環境研究所）
委 員：千原 光雄（日本赤十字看護大学）
藤田 雄二（長崎大学）
堀 輝三（筑波大学）
井上 勲（筑波大学）
加藤 哲也（京都大学）
喜田和四郎（三重大学）
小林 弘（東京珪藻研究所）
大野 正夫（高知大学）
舘脇 正和（北海道大学）
都築 幹夫（東京大学）
横浜 康継（筑波大学）
吉田 忠生（北海道大学）

Officers for 1993-1994

President: Yusho ARUGA (Tokyo University of Fisheries)
Secretary: Hiroo SATOH (Tokyo University of Fisheries)
Treasurer: Masahiro NOTOYA (Tokyo University of Fisheries)

Members of Executive Council:

Tetsuro AJISAKA (Kyoto University)
Mitsuo CHIHARA (The Japanese Red Cross College of Nursing)
Sachito ENOMOTO (Kobe University)
Yoshiaki HARA (University of Tsukuba)
Isao INOUE (University of Tsukuba)
Washiro KIDA (Mie University)
Seiji MIGHTA
Masao OHNO (Kochi University)
Megumi OKAZAKI (Tokyo Gakugei University)
Takeo OKUDA (Kyushu University)
Jiro TANAKA (National Science Museum)
Kazuya TANIGUCHI (Tohoku National Fisheries Research Institute)
Masaru AKIYAMA
Hirotoshi YAMAMOTO (Hokkaido University)
Yasutsugu YOKOHAMA (University of Tsukuba)
Tadao YOSHIDA (Hokkaido University)

Editorial Board:

Ikuko SHIHIRA-ISHIKAWA (Tokyo Gakugei University), Editor-in-Chief
Shigeki MAYAMA (Tokyo Gakugei University), Secretary
Nobuyasu KATAYAMA (Tokyo Gakugei University), Associate Editor
Hiroshi KAWAI (Kobe University), Associate Editor
Miyuki MAEGAWA (Mie University), Associate Editor
Megumi OKAZAKI (Tokyo Gakugei University), Associate Editor
Makoto M. WATANABE (National Institute for Environmental Studies), Associate Editor
Mitsuo CHIHARA (The Japanese Red Cross College of Nursing)
Yuji FUJITA (Nagasaki University)
Terumitsu HORI (University of Tsukuba)
Isao INOUE (University of Tsukuba)
Tetzuya KATO (Kyoto University)
Washiro KIDA (Mie University)
Hiromu KOBAYASHI (Tokyo Diatom Institute)
Masao OHNO (Kochi University)
Masakazu TATEWAKI (Hokkaido University)
Mikio TSUZUKI (University of Tokyo)
Yasutsugu YOKOHAMA (University of Tsukuba)
Tadao YOSHIDA (Hokkaido University)

日本藻類学会秋季シンポジウムのお知らせ

本年度の秋季シンポジウムを下記の通り開催します。機能性食品としての海藻の役割りは近年とみに注目を集めていますが、その中で特にノリにスポットをあててみました。多数の御来聴をお願いします。

海苔シンポジウム

海苔の機能性をめぐる諸問題

日 時：1993年10月29日（金）13:00～17:00

会 場：JA ホール（東京都千代田区大手町1-8-3 JAビル）

プログラム

挨拶	東京水産大学	有賀 祐勝
(1) 海苔マグネシウムの腎臓石灰化抑制作用	国立健康・栄養研究所	江指 隆年
(2) 海苔の血清コレステロール低下作用	北海道大学農学部	桐山 修八
(3) ボルフィランの血管新生抑制作用	東京都臨床医学総合研究所	芦野 洋美
（コーヒー・ブレイク）		
(4) ボルフィランの抗変異原性作用	日本大学農獣医学部	大川いづみ
(5) 海苔の抗腫瘍性活性	北里大学衛生学部	山本 一郎
(6) 食品加工から見た海苔	東北大学農学部	山内 文男
(7) まとめ（機能性食品としての海苔）	三重大学生物資源学部	野田 宏行

主 催 日本藻類学会

共 催 { 全国海苔問屋協同組合連合会
 全国加工海苔協同組合連合会
 全国漁業協同組合連合会
 全国海苔貝類漁業協同組合連合会

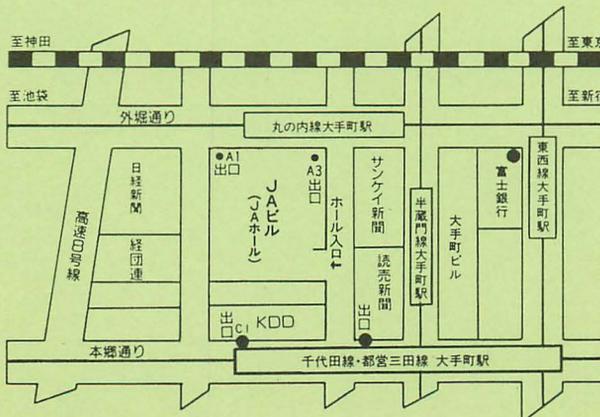
後 援 水 産 庁（申請中）

世話人：有賀祐勝・野田宏行・川合正允

問合先：〒108 東京都港区港南4-5-7 東京水産大学資源育成学科

有賀祐勝 (Tel. 03-3471-1251 内線 315 FAX. 03-3471-5794)

会場案内



Autecological studies on *Chondrus nipponicus* Yendo (Gigartinales, Rhodophyta)

Michio Masuda and Yasuharu Hashimoto

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

Masuda, M. and Hashimoto, Y. 1993. Autecological studies on *Chondrus nipponicus* Yendo (Gigartinales, Rhodophyta). Jpn. J. Phycol. 41: 99–111.

Seasonal fluctuations in biomass, blade size (stage class) and frequency of reproductive plants and reproductive blades, and the proportion of tetrasporophytes and gametophytes were investigated in *Chondrus nipponicus* Yendo (Gigartinales, Rhodophyta) growing in Oshoro Bay on the west coast of Hokkaido, Japan. The blade size of each individual plant fluctuates seasonally: from spring to summer larger blades increase in frequency and from autumn to winter they decrease. In accordance with this fluctuation the biomass of individual plants (and the population) changes, the maximum biomass being present in August and the minimum in January. Reproduction is seasonally restricted from July to March. Reproductive structures are formed on larger blades in summer and, progressively, on smaller blades in autumn. This seasonal fluctuation can be quantified according to a *R/T* (total individual reproductive biomass/total individual biomass) index. The proportion of tetrasporophytes and gametophytes is virtually 1 : 1.

Key Index Words: Autecology—*Chondrus*—*Chondrus nipponicus*—*Gigartinales*—*Gigartinales*—*life-history strategy*—*perennial alga*—*Rhodophyta*.

Carrageenan-producing algae are important seaweed resources. Many carrageenophytes (*Chondrus*, *Gigartina*, *Rhodoglossum*, *Mastocarpus*, *Ahnfeltiopsis*, etc.) grow in Japanese waters, but no autecological studies *in situ* have been carried out except for *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami (Hasegawa and Fukuhara 1952, 1955 as *Iridophycus cornucopiae*, Funano and Hasegawa 1964), which differs from *Iridaea cornucopiae* Postels et Ruprecht (Mikami 1965). In this study we have attempted to analyze the seasonal fluctuations in biomass, blade size (stage class) and frequency of reproductive blades per individual, and to determine the proportion of sporophytes and gametophytes of *Chondrus nipponicus* Yendo for the elucidation of nuclear phase composition in wild populations.

Chondrus nipponicus resurrected recently by Brodie *et al.* (1991) includes the alga previously known as *C. crispus* Stackhouse in Japan (Mikami 1965). This species differs from genuine *C. crispus* from the Atlantic in gross morphology, internal vegetative anatomy and

post-fertilization events in the developing carposporophyte (Brodie *et al.* 1991). *Chondrus nipponicus* is distributed mainly in areas influenced by the Tsushima Warm Current and its terminal branch, the Tsugaru Warm Current, viz, along the coasts of Sea of Japan of Honshu and Hokkaido and the Pacific coasts of northern Honshu and southern Hokkaido.

Morphological characteristics of *Chondrus nipponicus* have been described by Mikami (1965, as *C. crispus*) and Brodie *et al.* (1991). This species has a *Polysiphonia*-type life history in the laboratory (Brodie *et al.* 1991); however, it has been shown that the proportion of tetrasporophytes and gametophytes of species of *Chondrus* and the related genus *Iridaea* differs in wild populations. Tetrasporophyte dominance in *Iridaea cordata* (Turner) Bory populations has been reported by Hansen and Doyle (1976) at Monterey, California and Dyck *et al.* (1985) for sites along the coast of Oregon. Gametophyte dominance has been demonstrated for *I. cor-*

data populations in Washington (Dyck *et al.* 1985, May 1986) and British Columbia (Dyck *et al.* 1985). The proportion of both generations of *Chondrus crispus* changes along a vertical gradient with gametophytes being more abundant in the upper subtidal zone and tetrasporophytes dominant in deeper water in New Hampshire (Mathieson and Burns 1975) and in the Maritime Provinces of Canada (Craigie and Pringle 1978).

Materials and Methods

Field observations and collections of *Chondrus nipponicus* were made in Oshoro Bay ($43^{\circ}13'N$, $140^{\circ}52'E$) on the west coast of Hokkaido near the lectotype locality, Yagishiri Island (Brodie *et al.* 1991). Tidal range is narrow in Oshoro Bay as it is on shores facing the Sea of Japan. The daily tidal ranges are 20–35 cm throughout a year at Otaru near Oshoro Bay (Japan Meteorological Agency 1989). The monthly mean sea level is lowest in March (about 10 cm) and highest in Au-

gust (about 30 cm) and fluctuates between these extremes (Masuda and Horiuchi 1988). This species grows on rocks or ledges below low-water mark. The vertical growing range is within 1 m. Four study sites (–40 cm) were established in March 1989 (Fig. 1): 1, 2, moderately wave-exposed area; 3, fully wave-exposed area and 4, in a tidal pool at a sheltered locality. At each site, two *C. nipponicus* subpopulations growing on ledges were selected using an iron-frame quadrat of 50×50 cm. Corners of each quadrat were marked with nails hammered into the rock and tagged with colored plastic tape.

Collections of all plants from per unit holdfast area have chiefly been employed in previous studies of the autecology of *Chondrus* (Prince and Kingsbury 1973, Mathieson and Burns 1975) and *Mastocarpus* (Burns and Mathieson 1972, as *Gigartina*) species with dense growth forms and individual plants are impossible to identify within such populations. *Chondrus nipponicus*, however, does not form such dense populations at any study site

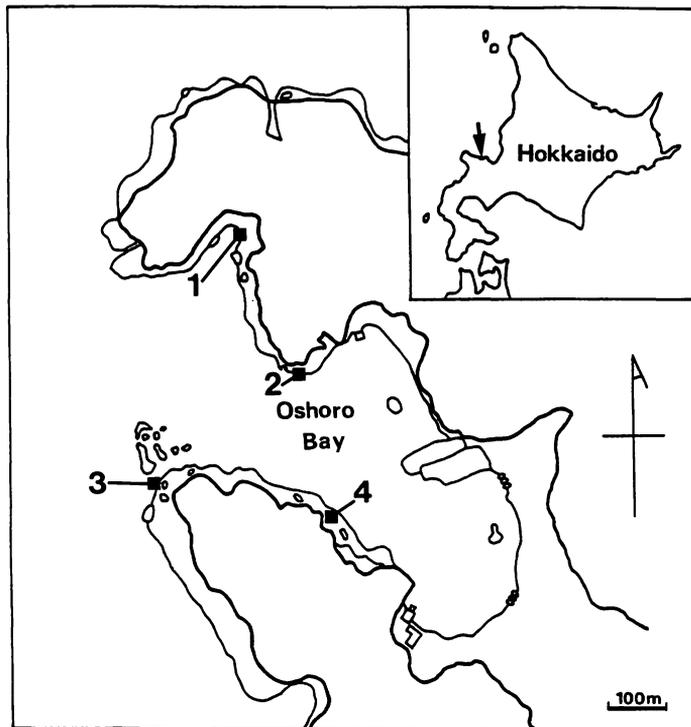


Fig. 1. Map of Oshoro Bay, showing four study sites.

and careful observations *in situ* with a water glass made the recognition of each individual composed of a holdfast and many upright blades possible. Plants growing in each quadrat were recorded: 50 and 32 individuals in each of quadrats at site 1, 54 and 28 at site 2, 56 and 21 at site 3 and 28 and 21 in site 4 at the beginning of this observation. Four-six individuals with holdfasts from each site were haphazardly sampled using scrapers at the beginning of each month from March 1989 to February 1990. Plants with very large numbers of upright blades (more than 100) were occasionally collected. Vertical sections of discoid holdfasts of such samples revealed a portion in which a holdfast was overgrown by another holdfast (Taylor *et al.* 1981). Such samples were excluded from our data.

Fresh specimens were measured individually as follows: 1) number of blades under a dissecting microscope, 2) length of each blade after removal from the holdfast, 3) number of branches on each blade. The presence or absence of proliferations and reproductive structure of each blade were also recorded. Procarpic blades were determined by the presence of refractive supporting cells at the tips of branches under a dissecting microscope and confirmed by sections of small portions under a compound microscope. Cystocarpic and tetrasporangial blades were determined by the protruding cystocarps and round to oval, non-protruding tetrasporangial sori, respectively, under a dissecting microscope. Younger cystocarps and tetrasporangial sori were distinguished by checking for procarps on the blades. Spermatangial blades were identified

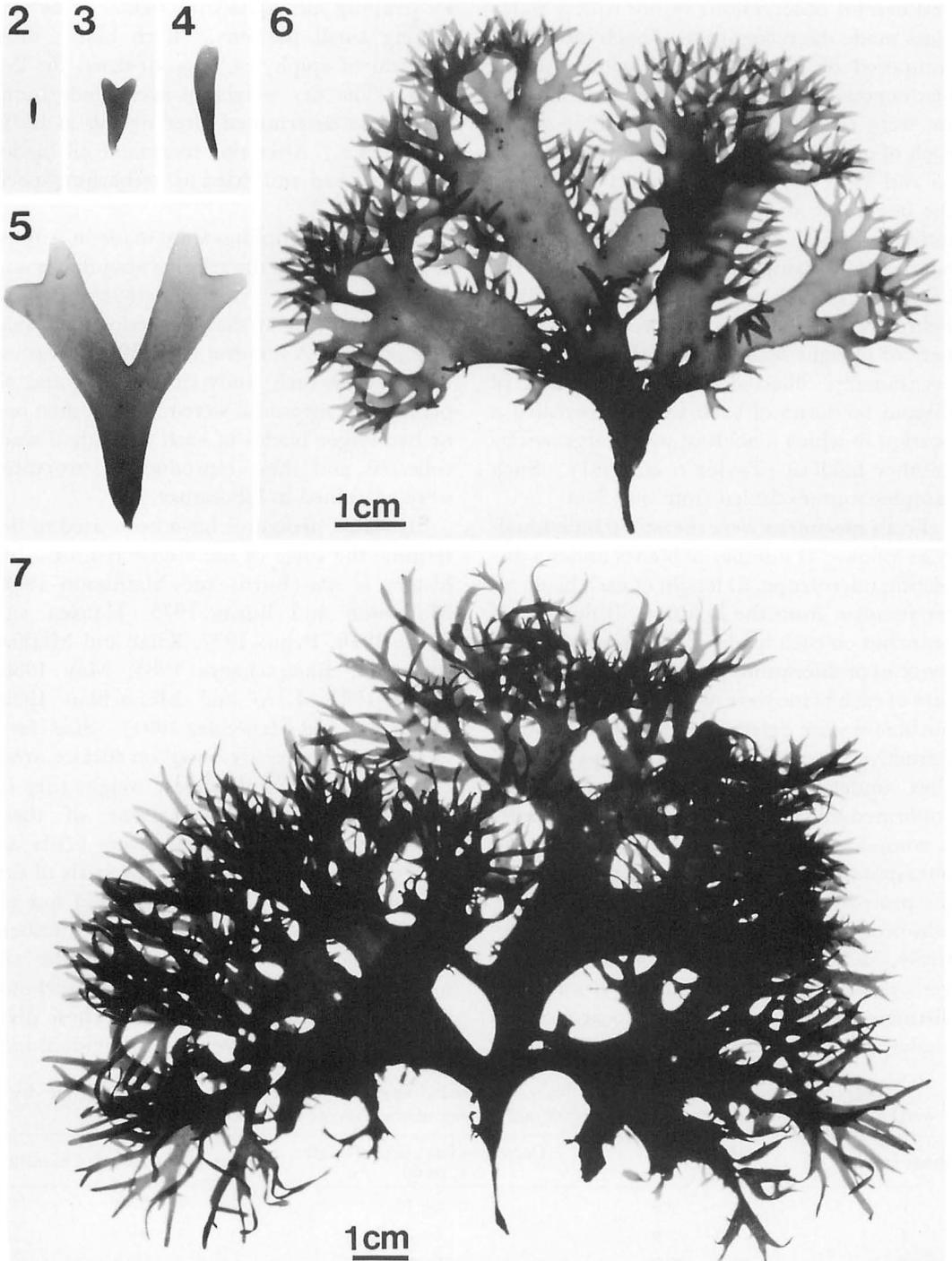
by scraping spermatia from blades or by sectioning small portions. Each blade, after removal of epiphytes, was air-dried for 2-3 days. The dry weight of each blade numbered was determined after drying at 85°C for 20-24 h. After this treatment all blades were re-soaked and dried as herbarium specimens.

Additional samplings were made in August 1990 to determine the relative abundance and the distribution of gametophytes and tetrasporophytes at their reproductively mature season. A quadrat (50 × 50 cm) was established on each study site (Fig. 1) and all plants of *C. nipponicus* were mapped, then one or two larger blades of each individual were collected and their reproductive structures were examined in laboratory.

Size class structures have been used to determine the stage of the foliose red algal life history *in situ* (Burns and Mathieson 1972, Mathieson and Burns 1975, Hansen and Doyle 1976, Pybus 1977, Kilar and Mathieson 1978, Bhattacharya 1985, May 1986, Sharp 1987, Lazo and McLachlan 1989, Fernández and Menéndez 1991). Size classes in these reports are based on surface areas of blades, lengths of blades, weight (dry or wet) or various combinations of these parameters. Upright blades were firstly assigned to one of 5 classes on the basis of dry weight (Table 1). This sorting did not always conform with blade length or numbers of branches (Table 1). Upright blades are usually divided dichotomously or subdichotomously with increase in length. These divisions result in an increase of individual bio-

Table 1. Stage classes of individual blades of *Chondrus nipponicus* discriminated on the basis of the dry weight. Corresponding ranges of blade length and number of branches are also given.

Stage class	Range (mg)	Corresponding range of length (mm)	Corresponding range of branches
1	- 0.9	2- 10	0- 1
2	1.0- 9.9	6- 28	0- 4
3	10.0- 99.9	18- 60	1- 8
4	100.0- 999.9	41- 94	1-14
5	1000.0-9999.9	76-120	12-14
6	eroded blade after spore or spermatial release		



Figs. 2-7. Living blades of *Chondrus nipponicus* collected in Oshoro Bay, showing representatives of the discriminated stage classes based on individual dry weight: 2, stage class 1; 3, 4, stage class 2; 5, stage class 3; 6, stage class 4; 7, stage class 5. Scale in Fig. 6 also applies to Figs. 2-5.

Table 2. Seasonal fluctuations in number of blade per individual (mean \pm SD), biomass per individual (dry weight, mean \pm SD), frequency of reproductive individuals (FRI), frequency of reproductive blades (FRB) and *R/T* index (total individual reproductive biomass to the total individual biomass) in Oshoro Bay population of *Chondrus nipponicus* during March 1989 and February 1990. Average seawater temperatures (ST) and daylengths (DL) were also given.

Month	Individuals examined	Number of blade	Biomass (mg)	FRI (%)	FRB (%)	<i>R/T</i> index (%)	ST ($^{\circ}$ C)	DL (h)
March	20	36.2 \pm 10.4	565 \pm 174	5	0.1	2	4.6	11.95
April	16	37.1 \pm 9.3	867 \pm 373	0	0	0	7.1	13.45
May	16	37.7 \pm 8.6	1185 \pm 600	0	0	0	10.3	14.68
June	14	38.3 \pm 13.8	1616 \pm 640	0	0	0	14.3	15.32
July	16	44.9 \pm 19.3	2083 \pm 677	63	10	52	19.1	15.02
August	14	45.5 \pm 21.7	2495 \pm 973	100	28	93	22.7	13.91
September	16	40.5 \pm 13.4	1852 \pm 980	100	24	98	20.3	12.53
October	14	40.7 \pm 12.1	870 \pm 420	100	20	86	15.7	11.04
November	18	37.8 \pm 14.8	560 \pm 400	100	15	80	11.5	9.74
December	16	38.1 \pm 19.6	313 \pm 220	88	11	59	8.0	8.71
January	16	35.6 \pm 16.6	249 \pm 112	38	4	20	4.9	9.41
February	20	35.6 \pm 18.4	413 \pm 181	15	3	16	3.8	10.53

mass of blade. Differences in biomass between blades with the same length are caused by the incidence of branching. The widths of blades probably also affect their biomass, although blade widths were not assessed. On the other hand, palmately divided blades are frequently found also. These blades have a higher incidence of branching than the dichotomously or subdichotomously divided blades with the same dry weight. The development of proliferations and an increase of thicknesses may contribute to an increase in biomass. Accordingly, the growth stage of blades of *C. nipponicus*, which are so much branched and produce numerous proliferations, is best shown by dry weight. Dry weight may allow meaningful comparisons between different populations of the species concerned and between different species. Selected blades of 5 stage classes are shown in Figures 2-7. Furthermore, wave-eroded blades after spore or spermatial release were frequently observed. In the previous reports these blades have been included in the smaller classes (Hansen and Doyle 1976, Kilar and Mathieson 1978). We provided these blades with one class (class 6 in Table 1). Thus, our class is not the size class but the stage class.

To quantify reproductive maturation the

relationship between the total individual reproductive biomass (*R*) to the total individual biomass (*T*) was investigated according to the formula *R/T* as proposed by Hansen (1977) for *Iridaea cordata*. The resulting value ranges from 0 to 1.0. As the value approaches 1.0, the component of reproductively mature biomass approaches 100% (Hansen 1977). The *R/T* index (*R/T* \times 100) is shown as a percentage (see Table 2).

Daylengths in Oshoro Bay were calculated according to a formula and table given by Suzuki (1987). Seawater temperatures were provided from Oshoro Marine Biological Station of Hokkaido University. Voucher specimens are preserved in the herbarium, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo (SAP).

Results

Seasonal fluctuations in biomass

Plants of *Chondrus nipponicus* growing at the four study sites did not show any spatial difference in biomass and in the pattern of seasonal fluctuation. For example, mean individual biomass of each study site in August is 2429 mg at 1, 2370 mg at 2, 2386 mg at 3 and 2369 mg at 4 and that in February is 391 mg

at 1, 392 mg at 2, 415 mg at 3 and 404 mg at 4. No significant differences in individual biomass between gametophytes and tetrasporophytes were found. In August mean individual biomass of male gametophytes is 2325 mg, that of female gametophytes 2821 mg and that of tetrasporophytes 2402 mg. The data from each site, including different generations, were totaled monthly and averaged. Annual fluctuations in average individual biomass is shown in Table 2. The minimum biomass was present in January and then increased from February to summer with a peak in August; it subsequently decreased.

Seasonal fluctuations in blade size

Each individual of *Chondrus nipponicus* is composed of many upright blades and a discoid holdfast. The number of blades varies according to individuals. The largest number recorded was 60-70 and the smallest 10-20; however, standard deviations are usually large (Table 2). No significant seasonal difference in the number of blades was found. [Comparison of means test between the largest number recorded month (August) and the smallest number recorded month (January), d.f. = 24, $t = 1.26$; $p > 0.2$.] Individuals with large blade numbers had larger holdfasts and individuals with small blade numbers had smaller holdfasts. The latter were collected during January and February and this may be an indication of different ages, but, as we could not carry out a demographic analysis of the population, ages of individual plants could not be determined.

The blades are different in size to each other. Figures 8 and 9 shows the seasonal change of stage class structures determined on the basis of the categories given in Table 1. No difference in this character was found according to study sites and generations. The data collected from each site were totaled monthly and averaged. There were general increases of larger blades and their frequency from January to August in accordance with an increase in biomass. In January, the largest blades belonged to stage class 4, but they

represented only a few percent of individual plants. Blades of this class increased in number from February onward. In June, larger blades belonging to class 5 began to appear and increased in number during the summer months. From September to January a decrease in the frequency of larger blades occurred. In any season the smallest blades of class 1 were found among larger blades on every individual.

From October, smaller individuals consisting of a small holdfast and a few upright blades less than 1 cm long began to appear. These were probably young plants derived from sporelings. However, it had been impossible to discriminate these plants from young *Chondrus yendoi* with certainty from October to December. The data from the plants during these months were therefore not included in our results. Their specific identity was established from January onward. These plants strongly suggested the occurrence of new sporelings.

Seasonal fluctuations of reproductive blades

Reproductive individuals appeared first in July and all individuals collected from August to November were reproductive. Reproductive individuals decreased in number during the winter months (Table 2).

The frequency of reproductive blades fluctuates seasonally: 10% in July, more than 20% during the following three months, and then decreasing until early spring (Table 2). The frequency of reproductive blades in each stage class is given in Figures 8 and 9. During August and January all blades more than 100 mg in dry weight (stage class 4) reached reproductive maturity. The frequency of reproductive blades between 10.0-99.9 mg (stage class 3), however, varied seasonally. These blades increased from August through November and then decreased. These fluctuations were quantified according to the *R/T* index shown in Table 2. In July, 52% of the total biomass among individual blade samples was reproductively mature. This percentage increased toward September when 98% of the total biomass formed reproductive struct-

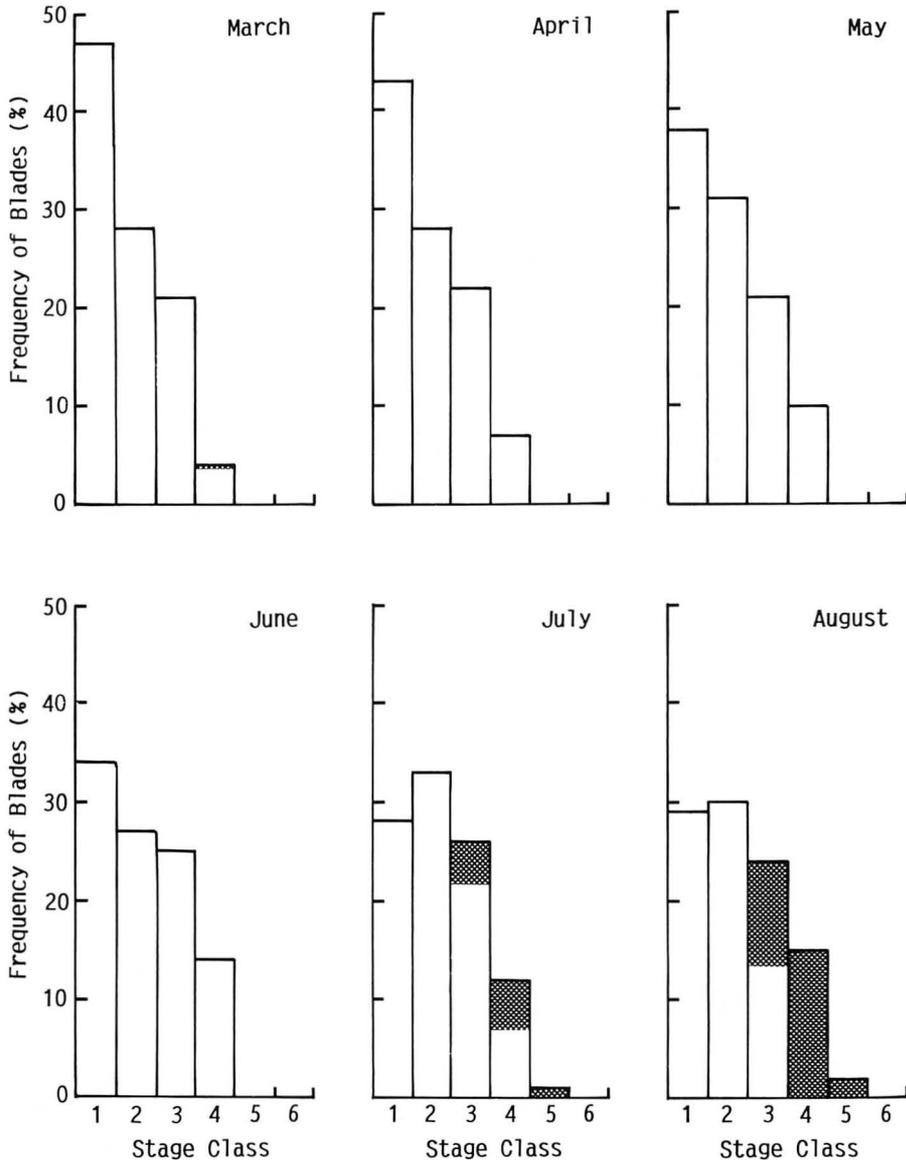


Fig. 8. Stage class structures of blades in Oshoro Bay population of *Chondrus nipponicus* from March to August. Shaded portions, showing the frequency of reproductive blades.

ures. Reproductive blades collected in February and March were only cystocarpic and had a few cystocarps. The occurrence of smaller, reproductive blades between 1.0-9.9 mg (stage class 2) was restricted during October and December. The smallest reproductive blade was 4.8 mg in dry weight and 15 mm in length.

Tetraspores and carpospores were released after the disintegration of the outer tissue

covering tetrasporangial sori or cystocarps and older reproductive blades had many holes. These blades were vulnerable to wave exposure. Spermata are released through the surface cuticle and the soral portion is also vulnerable, becoming eroded by wave action. Such eroded blades of tetrasporophytes and both gametophytes (stage class 6) began to appear in September, lasting until January, and then disappeared. Several of them

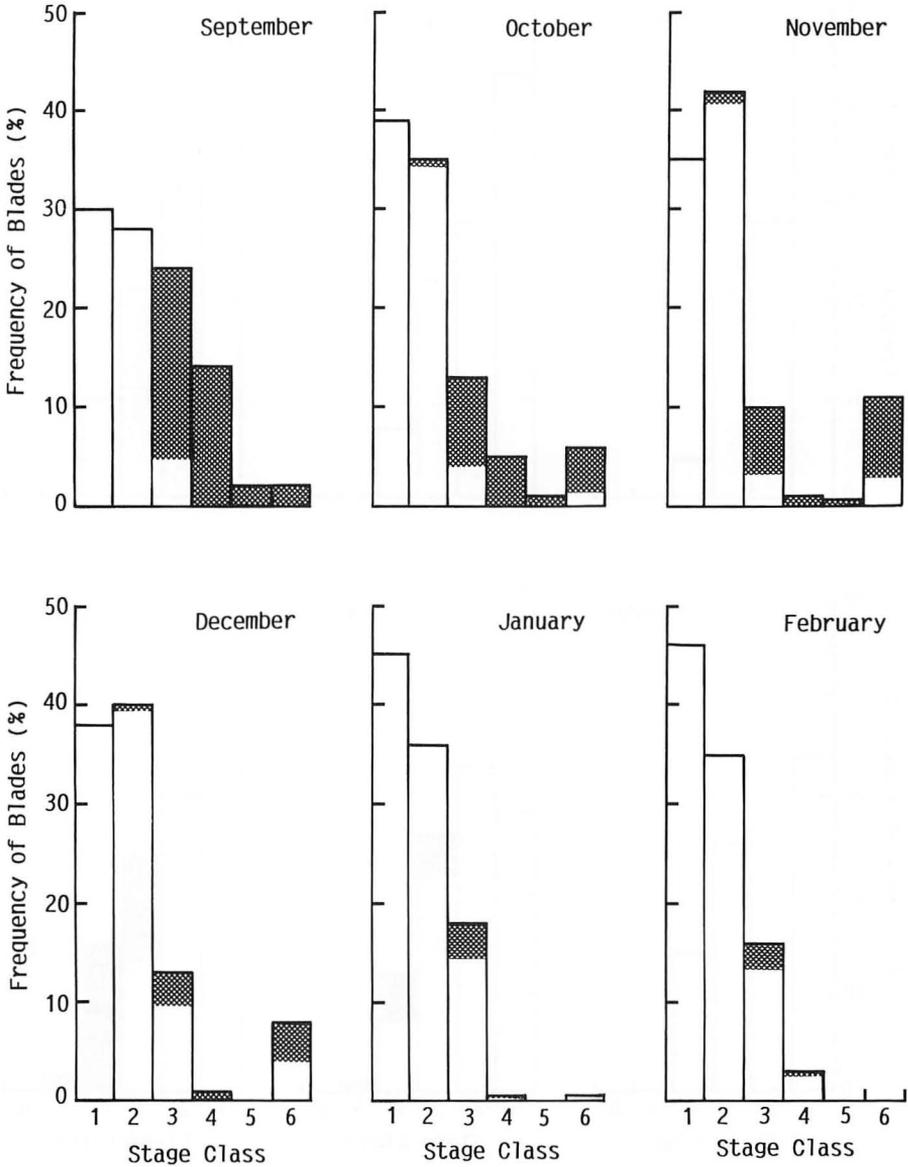


Fig. 9. Stage class structures of blades in Oshoro Bay population of *Chondrus nipponicus* from September to February. Shaded portions, showing the frequency of reproductive blades.

had no reproductive structures as a result of wave action. The loss of these blades from holdfasts during the winter months might be promoted by increased wave action resulting from increased winds in winter.

Tetraspore and/or carpospore release was tested from August to March. All plants examined released tetraspores or carpospores except for cystocarpic plants collected in February and March. These cystocarpic plants

were maintained in a culture room at 15°C, 8:16 h light : dark cycle—where gametogenesis, carposporophyte development and carpospore release were observed (Brodie *et al.* 1991)—for 4 days, but they did not release carpospores. In section the cystocarps appeared to be mature and have healthy carposporangia. Spore release studies were not carried out in July.

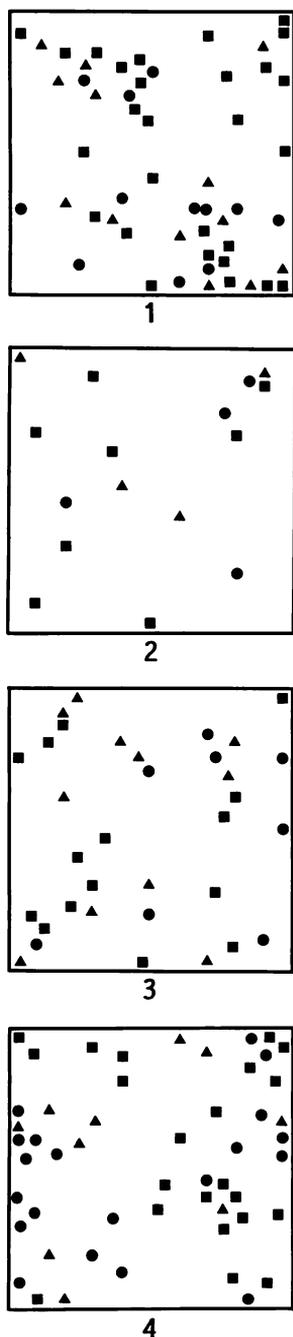


Fig. 10. Distribution of tetrasporophytes and gametophytes of *Chondrus nipponicus* in each quadrat of 2500 cm² at four study sites in Oshoro Bay. ■, tetrasporophyte; ●, female gametophyte; ▲, male gametophyte.

Proportion of tetrasporophytes and gametophytes

The relative abundance of tetrasporophytes and gametophytes in August 1990 at each study site is shown in Table 3. All these samples had an almost 1 : 1 ratio of tetrasporophytes and gametophytes. Their distribution is illustrated in Figure 10. In most cases tetrasporophytes, male and female gametophytes grew intermixed in each quadrat (2500 cm²).

Discussion

In Oshoro Bay, the occurrence of populations of *Chondrus nipponicus* with virtually equal numbers of tetrasporophytes and gametophytes and the appearance of new sporelings suggest that there is an *in situ* life history involving the regular alternation of both isomorphic generations and these generations have equal chances of becoming established. Plants of both generations have perennial holdfasts from which many upright blades are formed. This species maintains the population by means of the perennial holdfasts and sporeling recruitment.

Upright blade size on each holdfast (=per individual) fluctuates seasonally: from spring to summer larger blades increased in frequency and from autumn to winter they decreased. In accordance with this change, the biomass of individual plants and the whole population fluctuates: the minimum biomass is present in January and the maximum biomass in August. The majority of blades belong to smaller classes at any season (Figs. 8, 9) as reported for *Iridaea cordata* in California (Hansen and Doyle 1976). This can be equally applicable to other morphologically similar perennial species, such as *Chondrus crispus* (Pybus 1977, McLachlan *et al.* 1989) and *Mastocarpus stellatus* (Stackhouse in Withering) Guiry (Pybus 1977, as *Gigartina stellata*).

In Oshoro Bay from early spring to early summer when larger blades began to increase in number the seawater temperatures rose from 4.6°C to 14.3°C and the maximum biomass was evident in August when maximum

Table 3. Relative abundance of tetrasporophytes and gametophytes in the Oshoro Bay population of *Chondrus nipponicus*.

Reproductive phase	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Total
Tetrasporophytes	28 (54%)	8 (50%)	15 (44%)	22 (42%)	73 (47%)
Female gametophytes	11 (21%)	4 (25%)	8 (24%)	20 (38%)	43 (28%)
Male gametophytes	13 (25%)	4 (25%)	11 (32%)	10 (19%)	38 (25%)

temperatures were 22.7°C. The spring to early summer period was also associated with a corresponding increase in daylength with about 12 h in March and about 15 h in June. A decrease in biomass from autumn to winter is related to the loss of larger reproductive blades and the slow growth of smaller blades by decreasing temperatures and daylengths. According to Kanomata *et al.* (1986), who measured seasonal change in concentrations of nutrients at Yoichi (43°15'N, 140°47.2'E) near Oshoro Bay, ammonium, nitrite, nitrate and phosphate concentrations vary seasonally: high during December and March and low from April to November. Thus, no correlations between seawater nutrient levels and seasonal fluctuations in biomass were found.

The reproductive season of *Chondrus nipponicus* is restricted. Reproductive individuals appeared in July and increased in number during summer and autumn months. They decreased in number during winter months and no reproductive individuals were found from April to June (Table 2). Larger blades first became reproductive and subsequently smaller blades also became reproductive. The critical size of reproductive blades during the season concerned is 4.8 mg in dry weight and 15 mm in length. The delayed disappearance of cystocarpic blades may be due to slow growth of cystocarps during the cold winter months. These blades had a few cystocarps on the lower portions and no procarps on any portions, suggesting that they ceased gametogenesis after fertilization and grew vegetatively. It is questionable whether the cystocarpic blades found in February and March contribute to maintenance of the population studied, because no spores were released from these blades.

Reproductive phenology of the Oshoro

population of *Chondrus nipponicus* was described in an earlier paper (Brodie *et al.* 1991). That description was based on periodic collections during 1977-78 (by H. Kawai), 1984-85 (by K. Kobayashi) and 1988-89 (only winter months by M. Masuda). According to these collections, tetrasporangial plants first appeared in early June. Samples were not collected in late June in 1989. In 1989, tetrasporangium formation might have been delayed a few weeks (not a month), since tetrasporangial plants collected in early July in 1989 had larger sori. Seawater temperatures during the last twenty days of May in 1989 were 10-12°C and about 1°C lower than the corresponding season in 1977. This species may therefore require higher temperatures for tetrasporogenesis.

A laboratory culture experiment suggests that gametogenesis of *Chondrus nipponicus* is a short-day response (Brodie *et al.* 1991). The appearance of spermatangial and procarpic plants in early July is not at odds with such a short-day response. The daylengths in Oshoro Bay are 15.39 h in the last third of June and 15.30 h in the first ten days of July. Short-day plants growing at higher latitudes have longer critical day lengths: 16.5 h for a population of the flowering plant *Xanthium strumarium* L. at 45.5°N (Ray and Alexander 1966), 14 h for the brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Lyngbye) Link at 66°N (Lüning 1980), and 16 h for *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Harvey) Masuda at 45.3°N (Masuda unpublished observations). Gametogenesis (and also tetrasporogenesis) decreased from November onward when the daylengths were about 9-10 h (suitable for gametogenesis) and the seawater temperatures were 4-8°C. The photoperiodic response of this species may be only expressed over a particular temperat-

ure. Further studies are needed to clarify the critical levels of daylength and temperature for reproduction of *C. nipponicus*. Hasegawa and Fukuhara (1952) and Funano and Hasegawa (1964) reported the year-round occurrence of cystocarpic and tetrasporangial plants in *Chondrus yendoi* at five localities in Hokkaido. Plants bearing cystocarps and tetrasporangial sori are never totally absent from *Chondrus crispus* populations during a year at Plymouth, Massachusetts (Prince and Kingsbury 1973). The year-round occurrence of reproduction has been known for other geographically distant populations of *C. crispus* also (Tveter-Gallagher *et al.* 1980, McLachlan *et al.* 1988, Guiry personal communication). These two species do not show photoperiodic responses in laboratory cultures (Brodie *et al.* 1991, Masuda unpublished observations).

The frequency of reproductive individuals in the southern Gulf of St. Lawrence population of *Chondrus crispus* are 24% from May to September and that of reproductive blades is less than 10% (McLachlan *et al.* 1988). These may be characteristic of species with the year-round reproduction in a certain reproductive season. However, *Chondrus nipponicus* has much more abundant reproductive individuals and blades per individual (Table 2). Reproductive blades became eroded after spore or spermatial release. They were designated here as stage class 6 (Fig. 9). These blades lasted until January with a peak frequency in November and then disappeared without production of new proliferations, which suggests that most blades are semelparous (Pianka 1983), though individual plants being iteroparous (Pianka 1983), and have truncated life spans of less than two years. These blades are equivalent to the "stubs" of *Iridaea cordata* mentioned by Hansen and Doyle (1976). As to life spans of upright blades of perennial red algae with tenacious holdfasts, Hansen (1977) shows clearly on the basis of individually tagged blades of *Iridaea cordata* that all blades live for only one year or less. Bhattacharya (1985) described similar life spans for *Chondrus crispus*

blades.

All blades of the smallest class 1 (less than 1.0 mg in dry weight) remained vegetative. The majority of blades of stage class 2 and a few percent of blades between 10.0–99.9 mg (stage class 3) also remained vegetative (Figs. 8, 9). Is there an element of paradox therefore in the production of many blades? Photosynthetic products are not able to allocate sufficiently to reproduction, because too many blades are formed and the production of blades remaining vegetative is a waste of energy. The vegetative blades, however, may represent a stock of blades that can replace old reproductive and/or grazed blades and will become reproductive in the next season. Reproductive structures of *C. nipponicus* are restricted to small portions of blades (Mikami 1965, Brodie *et al.* 1991). This species can supply photosynthetic products for vegetative growth even during the reproductive season as does *Iridaea cordata* (Hansen 1977). An increase in biomass from July to August and the formation of new blades even during the summer reproductive months may support this assumption. Furthermore, some of photosynthetic products can be allocated to the formation of new blades, because this species has no storage organs. The allocation rate to small blades can be quantified by the *R/T* index (Hansen 1977). The maximum of reproductively mature biomass is 98% of the total individual biomass in September (Table 2), which indicates that a small quantity of photosynthetic products is required for the production of the remaining 2%. According to Bhattacharya (1985), who carried out a demographic study of *Chondrus crispus* blades, smaller blades exhibit higher survivorship than larger ones.

Allocation rates of photosynthetic products to reproduction and a stock of blades ("blade bank") can be approximately estimated by the *R/T* index proposed by Hansen (1977). The maximum *R/T* index of *Iridaea cordata* is 90% and the remaining 10% is allocated to a blade bank. The maximum *R/T* index of *C. nipponicus* is 98%. The *R/T* index of these species does not reach 100% and the remaining

photosynthetic products can be allocated to a stock of the next season. This feature is likely to be a general life-history strategy of perennial red algae. The maximum *R/T* index of annual red algae should, theoretically, be 100%, but such data have not been reported for annual species. The *R/T* index may be applied to *Dumontia contorta* (Gmelin) Ruprecht as described by Kilar and Mathieson (1978, as *D. incrassata*). In a New Hampshire population of this species blades are 100% vegetative during the early growing season (October through December). Reproductive blades appear from February onward, reaching 100% from May to July (*R/T* index=100%), and then all upright blades disappear suddenly. Thus, photosynthetic products of annual algae can be efficiently allocated to reproduction in the season concerned.

Numbers of *Chondrus nipponicus* plants collected in this study were not large and errors in haphazard samplings were unavoidable. However, our results may show the general tendency of seasonal fluctuations in the biomass, stage classes of upright blades and frequency of reproductive plants and blades in the Oshoro Bay population.

Acknowledgements

We are deeply indebted to Professor Tadao Yoshida, Hokkaido University, and Professor Michael D. Guiry, National University of Ireland, for their criticism of the manuscript. We are most grateful to the anonymous reviewer for his critical comments on the manuscript. We are also grateful to Mr. Kazuro Shinta, Oshoro Biological Station, for his help in collecting materials.

References

- Bhattacharya, D. 1985. The demography of fronds of *Chondrus crispus* Stackhouse. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **91**: 217–231.
- Brodie, J., Guiry, M. D. and Masuda, M. 1991. Life history and morphology of *Chondrus nipponicus* (Gigartinales, Rhodophyta) from Japan. *Br. phycol. J.* **26**: 33–50.
- Burns, R. L. and Mathieson, A. C. 1972. Ecological studies of economic red algae. III. Growth and reproduction of natural and harvested populations of *Gigartina stellata* (Stackhouse) Batters in New Hampshire. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* **9**: 77–95.
- Craigie, J. S. and Pringle, J. D. 1978. Spatial distribution of tetrasporophytes and gametophytes in four Maritime populations of *Chondrus crispus*. *Can. J. Bot.* **56**: 2910–2914.
- Dyck, L., De Wreede, R. E. and Garbary, D. 1985. Life history phases in *Iridaea cordata* (Gigartinales): relative abundance and distribution from British Columbia to California. *Jap. J. Phycol.* **33**: 225–232.
- Fernández, C. and Menéndez, M. P. 1991. Ecology of *Chondrus crispus* Stackhouse on the northern coast of Spain. II. Reproduction. *Botanica Marina* **34**: 303–310.
- Funano, T. and Hasegawa, Y. 1964. An ecological study of *Gloiopeltis furcata* Post. et Rupr. and *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami in Oshoro Bay, Hokkaido. *Bull. Hokkaido Regional Fisheries Res. Lab.* **29**: 75–84. (in Japanese)
- Hansen, J. E. 1977. Ecology and natural history of *Iridaea cordata* (Gigartinales, Rhodophyta): growth. *J. Phycol.* **13**: 395–402.
- Hansen, J. E. and Doyle, W. T. 1976. Ecology and natural history of *Iridaea cordata* (Gigartinales, Rhodophyta): population structure. *J. Phycol.* **12**: 273–278.
- Hasegawa, Y. and Fukuhara, E. 1952. Ecological studies on *Iridophycus cornucopiae* (P. et R.) Setchell et Gardner. 1. On the seasonal change of the number of gametophytes and sporophytes. *Bull. Hokkaido Regional Fisheries Res. Lab.* **3**: 20–30 (in Japanese).
- Hasegawa, Y. and Fukuhara, E. 1955. Ecological studies on *Iridophycus cornucopiae* (P. et R.) Setch. et Gardn. 5. On the seasonal and local variations in the weight of fronds. *Bull. Hokkaido Regional Fisheries Res. Lab.* **12**: 1–11 (in Japanese).
- Kanomata, I., Watanabe, T., Tanaka, I., Kotori, M. and Nasukawa, I. 1986. Seasonal change in concentrations of nutrients and chlorophyll *a* at a coastal station off Yoichi, Ishikari Bay, Hokkaido. *Sci. Rep. Hokkaido Fisher. Exp. Sta.* **28**: 1–10 (in Japanese).
- Kilar, J. A. and Mathieson, A. C. 1978. Ecological studies of the annual red alga *Dumontia incrassata* (O. F. Müller) Lamouroux. *Botanica Marina* **21**: 423–437.
- Lazo, M. L. and McLachlan, J. L. 1989. Reproduction of *Chondrus crispus* Stackhouse (Rhodophyta, Gigartinales) in sublittoral Prince Edward Island, Canada. *J. Appl. Phycol.* **1**: 359–365.
- Lüning, K. 1980. Control of algal life-histories by daylength and temperature. p. 915–945. *In* J. H. Prince, D. E. G. Irvine and W. F. Farnham [eds.] *The Shore Environment, Vol. 2. Ecosystems*. Academic Press, London.
- Masuda, M. and Horiuchi, K. 1988. Additional notes

- on the life history of *Nemalion vermiculare* Suringar (Nemaliales, Rhodophyta). Jpn. J. Phycol. 36: 231-236.
- Mathieson, A. C. and Burns, R. L. 1975. Ecological studies of economic red algae. V. Growth and reproduction of natural and harvested populations of *Chondrus crispus* Stackhouse in New Hampshire. J. exp. mar. Biol. Ecol. 17: 137-156.
- May, G. 1986. Life history variations in a predominantly gametophytic population of *Iridaea cordata* (Gigartinales, Rhodophyta). J. Phycol. 22: 448-455.
- McLachlan, J. L., Lewis, N. I. and Lazo, M. L. 1988. Biological considerations of *Chondrus crispus* Stackhouse (Rhodophyta, Gigartinales) in the southern Gulf of St. Lawrence, Canada. Gayana, Bot. 45: 29-54.
- McLachlan, J. L., Quinn, J. and MacDougall, C. 1989. The structure of the plant of *Chondrus crispus* Stackhouse (Irish moss). J. Appl. Phycol. 1: 311-317.
- Mikami, H. 1965. A systematic study of the Phylloporaceae and Gigartineae from Japan and its vicinity. Sci. Pap. Inst. Algol. Res. Fac. Sci. Hokkaido Univ. 5: 181-285.
- Pianka, E. R. 1983. Evolutionary Ecology. Third Edition. Harper & Row, New York.
- Prince, J. S. and Kingsbury, J. M. 1973. The ecology of *Chondrus crispus* at Plymouth, Massachusetts. II. Field studies. Amer. J. Bot. 60: 964-975.
- Pybus, C. 1977. The ecology of *Chondrus crispus* and *Gigartina stellata* (Rhodophyta) in Galway Bay. J. mar. biol. Ass. U. K. 57: 609-628.
- Ray, P. M. and Alexander, W. E. 1966. Photoperiodic adaptation to latitude in *Xanthium strumarium*. Amer. J. Bot. 53: 806-816.
- Sharp, G. J. 1987. Growth and production in wild and cultured stocks of *Chondrus crispus*. Hydrobiologia 151/152: 349-354.
- Suzuki, T. 1987. The sunrise, sunset, moonrise and moonset in Japan. p. 147-153. In Astronomical Yearbook in 1988, Seibundo-shinkosha, Tokyo (in Japanese).
- Taylor, A. R. A., Chen, L. C-M., Smith, B. D. and Staples, L. S. 1981. *Chondrus* holdfasts in natural populations and in culture. Proc. Int. Seaweed Symp. 8: 140-145.
- Tveter-Gallagher, E., Mathieson, A. C. and Cheney, D. P. 1980. Ecology and developmental morphology of male plants of *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyta). J. Phycol. 16: 257-264.

増田道夫・橋本康治：紅藻マルバツノマタ（スギノリ目）の個生態学

北海道忍路湾に生育するマルバツノマタ (*Chondrus nipponicus* Yendo) 個体群の生物体量・葉状体の大きさ・成熟個体と成熟葉状体頻度の季節変動及び四分孢子体と配偶体の出現割合を調査した。春季から夏季にかけて大きな葉状体の頻度が増し、秋季から冬季にかけては、それらの部分あるいは全体の流出によって減少した。この変動に伴って、個体と個体群の生物体量は変化した。最大量は8月で、最小量は1月であった。生殖季節は7月から3月に限定され、生殖器官は夏季から秋季にかけて大きな葉状体から小さな葉状体へと順次形成されていった。この季節変化はR/T指数（成熟葉状体量／全葉状体量）によって量的に把握し得た。四分孢子体と配偶体の出現割合はほぼ1：1であった。(060 札幌市北区北10条西8丁目 北海道大学理学部植物学教室)

(Received October 31, 1992; Accepted January 8, 1993)

Reproductive structure of *Caloglossa ogasawaraensis* Okamura (Ceramiales, Rhodophyceae) in nature and culture

Jiro Tanaka* and Mitsunobu Kamiya**

*Department of Botany, National Science Museum, Tokyo, 169 Japan

**Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, 305 Japan

Tanaka, J. and Kamiya, M. 1993. Reproductive structure of *Caloglossa ogasawaraensis* (Ceramiales, Rhodophyceae) in nature and culture. Jpn. J. Phycol. 41: 113–121.

Reproductive structures of *Caloglossa ogasawaraensis* Okamura are described based on the field and cultured plants from brackish areas in the Pacific coast of Japan. Tetrasporangia, carpogonia and cystocarps, and spermatangia develop on separate thalli in wild populations. Reproductive characteristics of cystocarpic and tetrasporic plants agree well with those given by Okamura. The spermatangium and carpogonial branch of this taxon are described for the first time. A carpogonial branch is composed of a four-celled filament arising on a supporting cell, which is a common feature in the Ceramiales. Tetrasporic, female and male plants obtained from culture produced tetrasporangia, many pseudocystocarps and abundant spermatangia respectively.

Key Index Words: *Caloglossa ogasawaraensis*—Ceramiales—Delesseriaceae—Morphology—red algae—Reproduction—Rhodophyceae—Taxonomy.

The genus *Caloglossa*, which comprises at least 6 species, is widely distributed not only in many marine or brackish habitats but also in the fresh-waters all over the world. Okamura (1897) established a new species, *Caloglossa ogasawaraensis*, based on the sterile plant from the fresh-waters in Ogasawara Islands, which could be distinguished from *Caloglossa leprieurii* by its narrower blades. It grows in brackish and fresh-waters in the temperate and tropical regions of the Indo-Pacific oceans and the southern Atlantic, such as South Africa (Goebel 1898 as *C. zanzibariensis*), Malaysia (Ratnasabapathy and Kumano 1982), India (Jose and Patel 1990), Perú (West 1991) and West Africa (Post 1966). There are several studies on taxonomical and morphological respects on *C. ogasawaraensis* (Post 1936, 1943, Fan 1952). This species is widely distributed along the south and middle parts of Japanese coasts, growing especially in brackish waters of estuaries (Umezaki 1962; Yoshizaki *et al.* 1985; Kamiya 1992).

In spite of the wide distribution of *Caloglossa*, reproductive plants, especially gameto-

phytes have rarely been observed. During the course of taxonomical study on Japanese *Caloglossa*, senior author (J. T.) collected reproductive plants of some species, and described female and male gametophytes in *Caloglossa leprieurii* f. *continua* (Tanaka 1992). In the present paper, the reproductive structure of *Caloglossa ogasawaraensis* obtained in nature and culture is described in detail.

Materials and Methods

The materials were collected and soon after they were fixed and preserved with 1 : 2 : 2 : 5 formalin-alcohol-glycerol-seawater solution, and deposited at the National Science Museum, Tokyo (TNS-AL). Photographs were taken from the slide preparations which were mounted with 50% sugar syrup after being stained with 1% aqueous cotton blue. A Nikon photomicroscope fitted with differential interference-contrast optic was used for some photomicrographs. A freezing Microtome (American Optical Co.) was used for sectioning the materials.

Sexual plants of *Caloglossa ogasawaraensis* were also obtained by culturing tetraspores released from the materials collected in Wakayama and Chiba Prefecture. Mature tetrasporic plants were obtained by 1 year culture of vegetative plants from Miyazaki Prefecture. Cultures were incubated in a photoperiod of 14 L : 10 D under $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ cool-white fluorescent lamps at 20°C. Cultures were grown in plastic cups with 20–30 ml of 40% Provasoli's Enriched Seawater (PES: Starr and Zeikus, 1987), and media were changed once a month.

Description

Caloglossa ogasawaraensis Okamura, Bot. Mag. Tokyo, **11**: 13, figs. A–D, 1897; Icon. Jpn. Alg. **1**: 183, pl. 37: figs. 1–11, 1908.

C. zanzibariensis Goebel, Flora **85**: 65, figs. 1–6, 1898.—Okamura, Icon. Jpn. Alg. **1**: 183, 1908.

Habitat: Growing on rocks and stems of a grass *Phragmites australis* and some other grasses growing in the river mouth, often mixed with *Caloglossa leprieurii* f. *continua* and *Bostrychia moritziana* in the upper to lower parts of the intertidal zone where are just above and overlapping with the growing zone of *C. leprieurii* f. *continua*.

Representative specimens examined: TNS-AL-6294 (tetrasporic plant) and TNS-AL-6295 (female and male), the mouth of Aono River, Minamiizu-machi, Shizuoka Pref., coll. J. Tanaka, Aug. 12, 1992; TNS-AL-6300 (male plant after 5 months culture), the mouth of Hiki River, Miyazaki Pref., coll. D. Honda, Apr. 14, 1992; TNS-AL-6301 (female plant after 10 months culture), the mouth of Kido River, Chiba Pref., coll. M. Kamiya, Nov. 22, 1991; TNS-AL-6309 (tetrasporic plant after 1 year culture), Aoshima, Miyazaki Pref., coll. M. Kawachi, May 31, 1991.

Vegetative field plant:

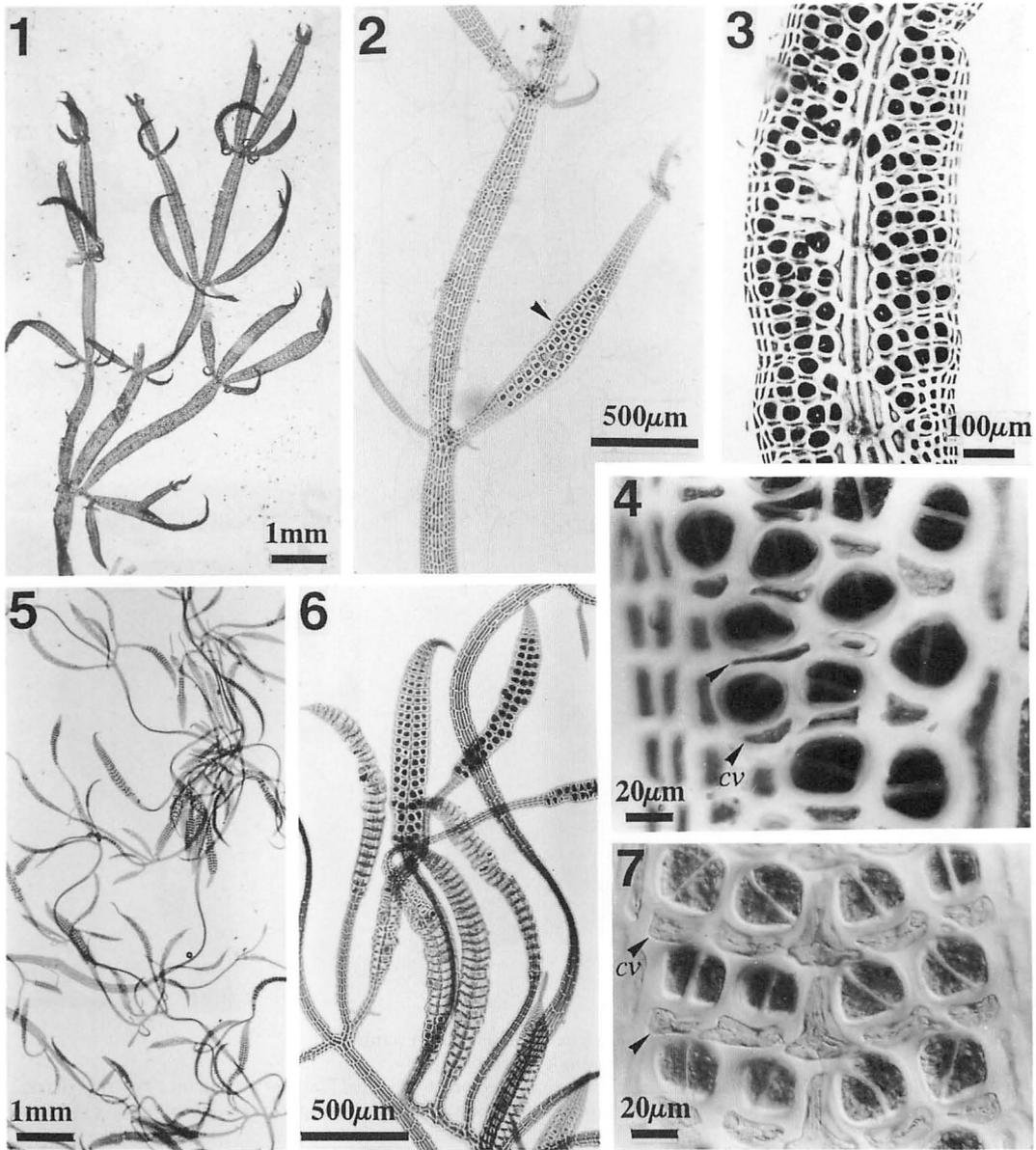
Thallus is spreading in one plane, sometimes forming a dense tuft, creeping at the basal part with rhizoids, dark violet, sub-

dichotomously divided at 5–10 times, sometimes tri- or tetrachotomously divided, 0.5–3 cm high, composed of many blades (Fig. 1). Each blade, lanceolate, 2–3 mm long in the lower part of a thallus and becomes shorter toward the apex, 200–350 μm wide at the middle part, constricted at the node. Secondary branches and rhizoids are often arising from the central cell of the nodes. Blade is composed of a central axis and one cell layer of wing cells which are regularly arranged in both sides of an axis. Central axis is composed of a longitudinal line of central cells and four pericentral cells around a central cell. Wing cells are composed of five or six cell rows of the second and third order arising from lateral pericentral cells. No intercalary cell divisions occur in the wing cells.

Three kinds of reproductive plants, sporophyte, male and female gametophytes occur simultaneously in wild population in Shizuoka Prefecture, but gametophytes were collected only in August. They are slightly different in general appearance, and can be distinguished from each other by their size of thalli and the shape of reproductive structures (Figs. 2, 8, 16).

Tetrasporophyte:

Field plant: Tetrasporophytes are bigger than gametophytes at least in natural populations, branches out up to ten times and becomes 3 cm high. Tetrasporangial sori are produced on both sides of a central axis in the upper and middle parts of a thallus, linear in shape, 400–900 μm long and 150–300 μm wide (Fig. 2). Tetrasporangia are cut off from the lateral pericentral cells (Fig. 2) and the cells of the second, and sometimes from the cells of third order (Figs. 3, 4) except 2–3 marginal cells. They are arranged in 2–5 rows from center to margin (Figs. 2, 3, 6). At first a lateral pericentral cell or a wing cell divides transversely to form a tetrasporangial mother cell on the upper side and a residual stalk cell. A stalk cell cuts out two cover cells towards the both surfaces. Tetrasporangial mother cells become larger in diameter, and when matured, tetrahedrally or cruciately



Figs. 1-7. Field and cultured plants of *Caloglossa ogasawaraensis*.

Figs. 1-4. Field plants.

Fig. 1. Habit of a field plant.

Fig. 2. A branch with a tetrasporangial sorus (arrowhead).

Fig. 3. Surface view of a tetrasporangial sorus formed on the both sides of a central axis.

Fig. 4. Divided tetrasporangia with cover cells (*cv*, arrowhead).

Figs. 5-7. Cultured plants.

Fig. 5. Habit of a tetrasporophyte with matured tetrasporangial stichidia.

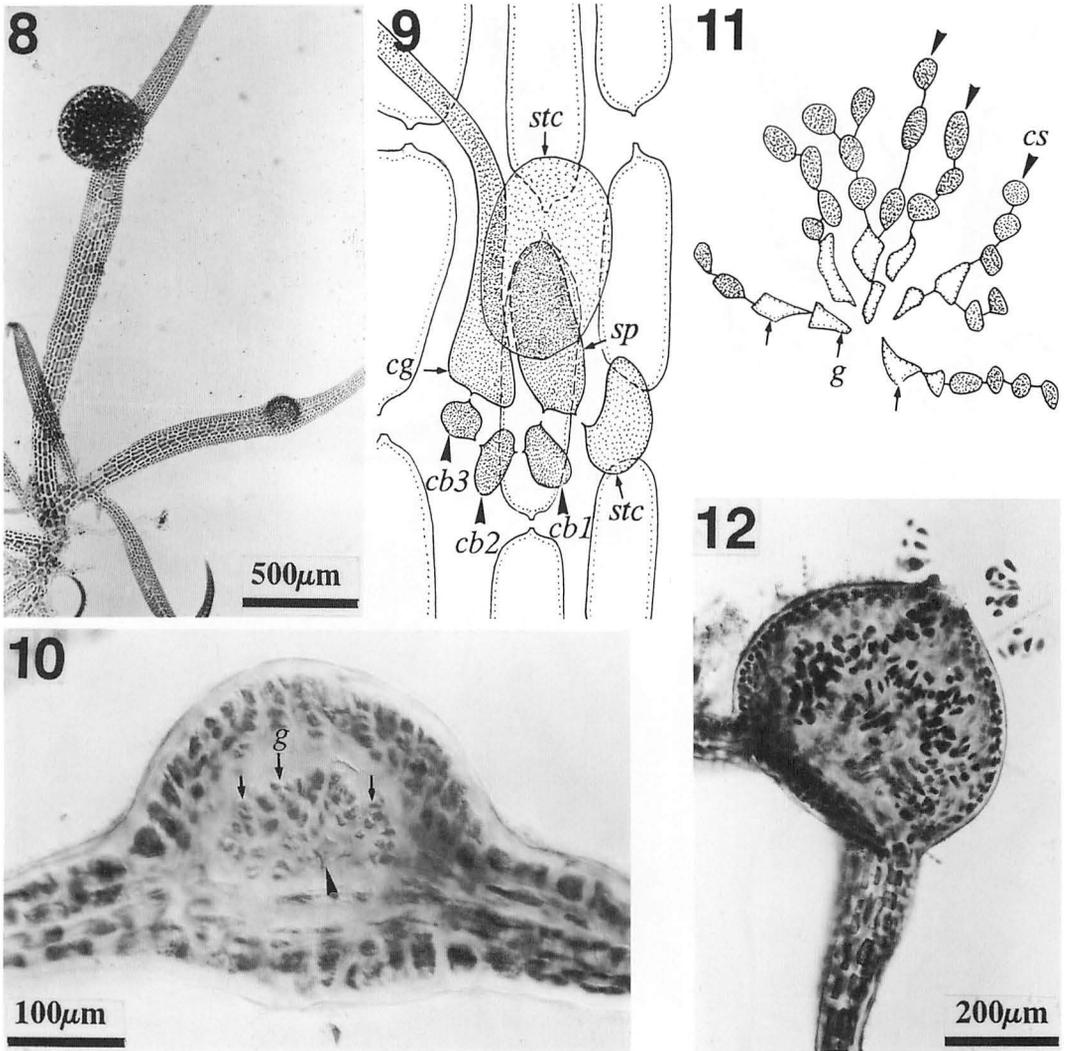
Fig. 6. Mature and emptied tetrasporangial sori in stichidia.

Fig. 7. Divided tetrasporangia with cover cells (*cv*, arrowhead).

divided to produce four tetraspores. Tetrasporangia are spherical, 35-40 μm in diameter (Fig. 4). Cover cells do not fully cover the

tetrasporangia (Fig. 4).

Cultured plant: Branches are much narrower than those of natural plants as shown in



Figs. 8-12. Female gametophyte of *Caloglossa ogasawaraensis* in nature.

Fig. 8. Branches with a mature and a young cystocarps.

Fig. 9. Surface view of a carpogonial branch composed of a four-celled filament arising on a central cell (*cg*: carpogonium; *cb1*, *cb2*, *cb3*: first, second and third cell of carpogonial branch, respectively; *sp*: supporting cell; *stc*: sterile cell).

Fig. 10. An immature cystocarp, showing a fusion cell (arrowhead) and gonimoblast cells (*g*, arrows).

Fig. 11. Gonimoblast cells (*g*, arrows) and immature carposporangia (*cs*, arrowheads).

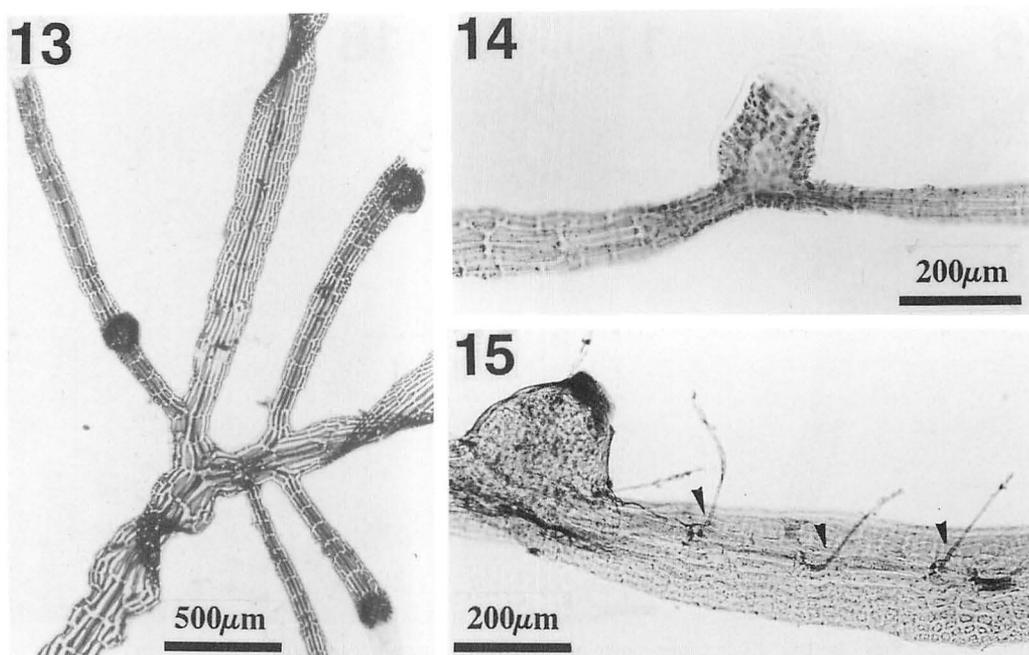
Fig. 12. A Mature cystocarp, showing carpospores discharging from a terminal ostiole.

Fig. 5. Tetrasporangial branches are abundantly formed, and tetrasporangia and cover cells are formed by the similar manner in natural plants (Figs. 6, 7).

Female gametophyte:

Field plant: Female plants are 5-8 mm high and 150-250 μm wide, smaller than tetrasporophytes, divide at 2-3 times, often oc-

curing with male plants, and distinguished from the male plant by possessing globular cystocarps (Fig. 8). Several procarps are produced at the upper part of a blade along a central axis. Before the formation of a carpogonial branch, a pericentral cell cuts on a sterile cell initial. A carpogonial branch initial is produced from a pericentral cell, which is called a supporting cell from then on. An



Figs. 13-15. Female gametophyte of *Caloglossa ogasawaraensis* in culture.

Fig. 13. Branches with pseudocystocarps.

Fig. 14. A pseudocystocarp. No gonimoblast cell is seen.

Fig. 15. A pseudocystocarp and several unfertilized carpogonial branches (arrowheads).

initial cell divided into 4 segments including a carpogonium with a long (about $100\ \mu\text{m}$) trichogyne. A procarp is finally composed of a four-celled carpogonial branch, a supporting cell and two mother cells of sterile groups (Fig. 9). One of these procarps develops to form a fusion cell giving rise to many elongated gonimoblast cells (Fig. 10). Many carposporangia are formed on gonimoblast cells in chains (Fig. 11). A cystocarp is subspherical, forming a conspicuous projection upon the central axis near the apex of a female blade, $500\text{--}800\ \mu\text{m}$ in diameter (Fig. 12). Many carpospores are produced in a cystocarp and they are teardrop-shaped and $28\text{--}40\ \mu\text{m}$ long and $15\text{--}25\ \mu\text{m}$ in diameter. Mature plants with cystocarps can be easily recognized in the field by the unaided eyes.

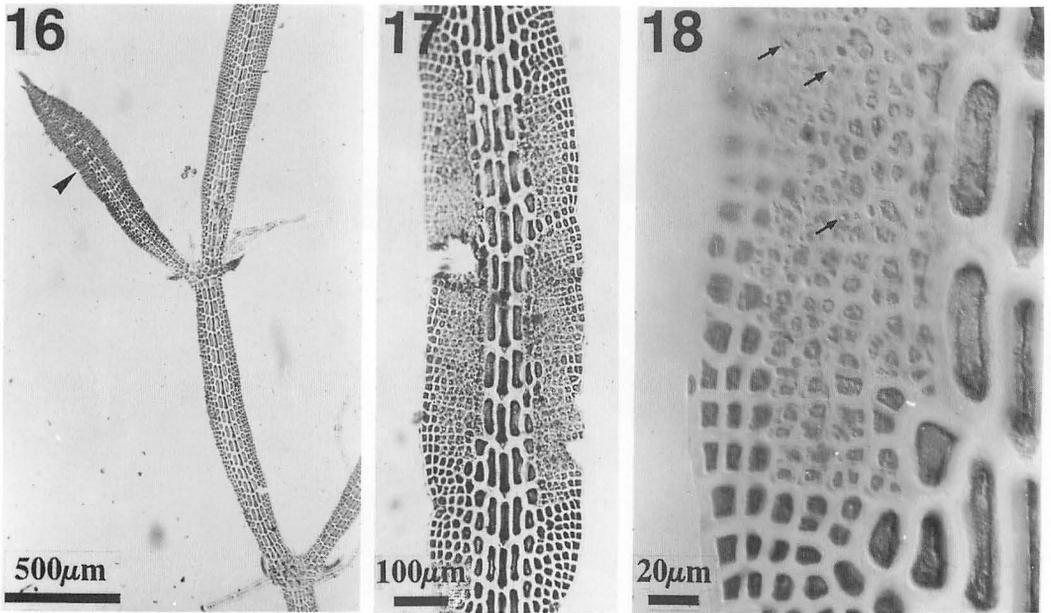
Cultured plant: Thalli grow up to 2 cm high and $200\text{--}400\ \mu\text{m}$ wide, longer and wider than field plants (Fig. 13). Many carpogonial branches were produced in a line along a central axis (Fig. 15). The trichogynes of a cultured plant are longer ($100\ \mu\text{m}$ or more)

than those of the field ones. One, sometimes two, of the carpogonial branches in a blade became pseudocystocarps parthenogenetically (Fig. 13). They could not function as the true cystocarps and not produce any gonimoblast cells or carpospores (Fig. 4).

Male gametophyte:

Field plant: Male plants are smaller than tetrasporophytes, 5-9 mm long. Spermatangial sori are produced on both sides of a central axis of at the upper to middle parts of a thallus, $300\text{--}900\ \mu\text{m}$ long and $100\text{--}220\ \mu\text{m}$ wide (Fig. 16). Spermatangia are cut off from almost of all wing cells except a few marginal cells (Figs. 17-18).

Cultured plant: Thalli more frequently branch than the field plants. Branches grow up to 3 mm long and $300\ \mu\text{m}$ wide, longer and wider than field plants (Fig. 19). After six months culture, most branches of a male plant were transformed into spermatangial sori on the whole surfaces except the central cells, pericentral cells and marginal cells (Fig.



Figs. 16–18. Male gametophyte of *Caloglossa ogasawaraensis* in nature.
 Fig. 16. A branch with a spermatangial sorus (arrowhead).
 Fig. 17. Spermatangial sori formed on the both sides of a central axis.
 Fig. 18. Surface view of a spermatangial sorus, showing spermatangia (arrows).

22). At first step in the formation of spermatangia, a wing cell cuts out four or more cortical cells on both surfaces. Then a cortical cell which functions as a spermatangial mother cell cuts out four to six spermatangia by oblique walls (Fig. 20). Each spermatangium differentiates a single spermatium. After the release of spermatia (Fig. 21), wing cells and spermatangial mother cells remained (Fig. 23), and soon these collapsed and disintegrated.

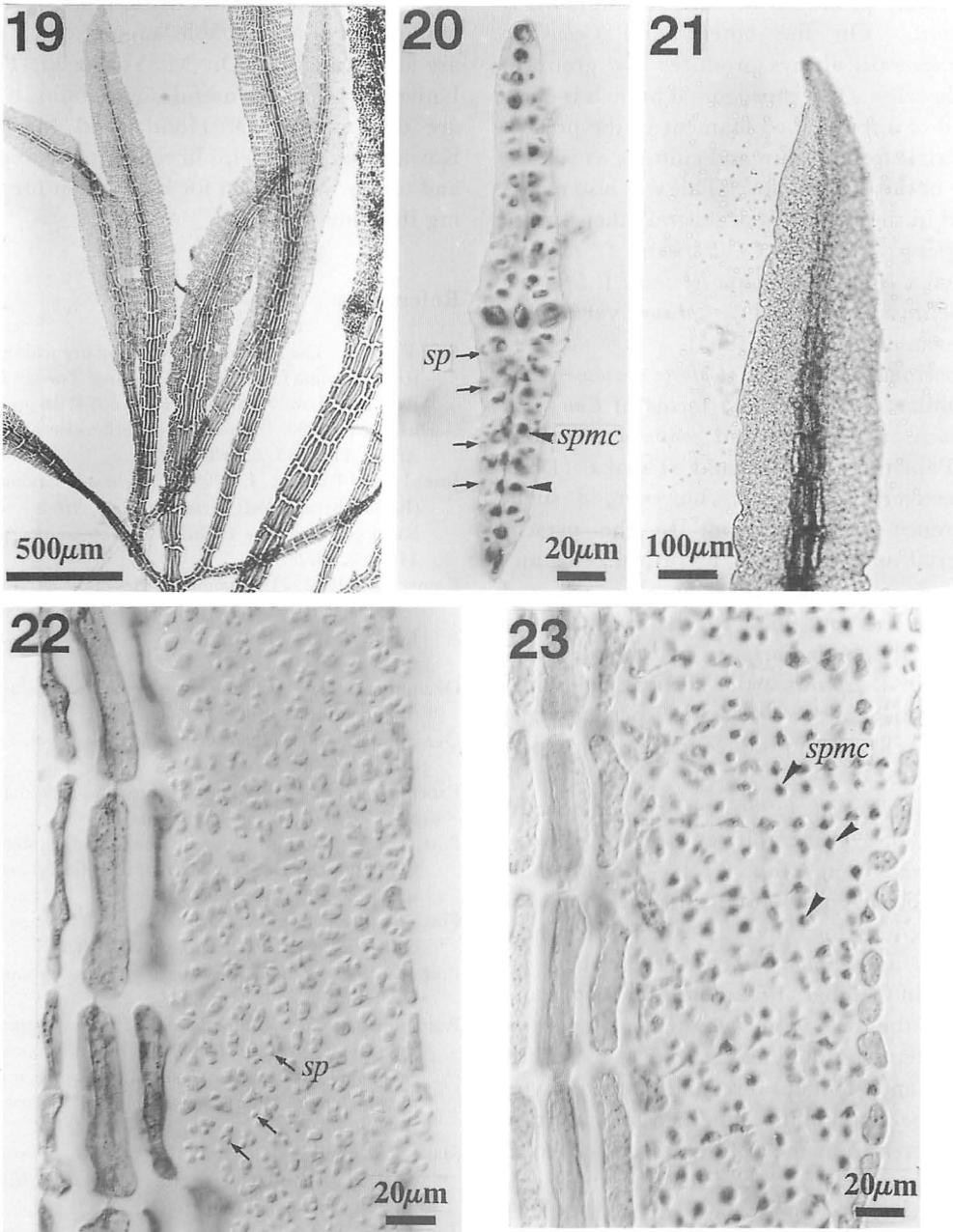
Discussion

Okamura (1897) newly described *Caloglossa ogasawaraensis* based on the sterile specimens from fresh water of the Ogasawara Islands, distinguished from the commonest species in Japan, *Caloglossa leprieurii* f. *continua* by its narrower (up to 1 mm wide) blade with clear constrictions at the nodes. Later Okamura (1908) described and figured the cystocarpic and tetrasporic plants of this species in detail. The present observation on female gametophytes and tetrasporophytes agree

well with the descriptions and figures given by Okamura. However, he did not describe the male plant and the procarys of female plant, which are described for the first time here.

As to the formation of tetrasporangia, the cultured plants irregularly branched and formed abundant terminal ultimate branches which transformed into the tetrasporangial stichidia. The formation of stichidia have been observed only under culture. While the field plants formed tetrasporangial sori on the middle part of the internodes of branches. Cover cells never completely cover the enlarging tetrasporangia which remain partially exposed on the surfaces in mature stage on both of the culture and field plants. This type of cover cell formation corresponds with the other *Caloglossa* species.

Carpogonial branch formation, the arrangement and number of carpogonial branch cells, the supporting cell and sterile cells agrees with that of *Caloglossa leprieurii* f. *continua* given by Tanaka (1992). According to Papenfuss (1961) a second sterile cell group



Figs. 19–23. Male gametophyte of *Caloglossa ogasawaraensis* in culture.

Fig. 19. Branches with spermatangial sori.

Fig. 20. Cross section of a spermatangial sorus, showing spermatangial mother cells (*spmc*, arrowhead) and spermatangia (*sp*, arrows).

Fig. 21. Release of spermatia from a sorus.

Fig. 22. Surface view of a spermatangial sorus, showing matured spermatangia (*sp*, arrows) developed on spermatangial mother cells.

Fig. 23. Surface view of an empty spermatangial sorus, showing spermatangial mother cells (*spmc*, arrowheads).

was rarely produced in *Caloglossa lepriurii* f. *lepriurii*. On the other hand *Caloglossa ogasawaraensis* always produces two group of sterile cells. The carpogonial branch is composed of a four-celled filament in the present materials from nature and culture, as is ordinary in the Ceramiales. This was also recognized in the materials of several other taxa of *Caloglossa*, such as *C. lepriurii* f. *continua* (Tanaka 1992), *Caloglossa lepriurii* f. *lepriurii* (Papenfuss 1961), and *C. lepriurii* var. *hookeri* (Tanaka and Chihara 1985).

Spermatogenesis of *Caloglossa ogasawaraensis* is similar to that in two forms of *Caloglossa lepriurii*, f. *lepriurii* and *continua* described by Papenfuss (1961) and Tanaka (1992) respectively. There is, however, a slight difference between them: In the present material and f. *continua*, a cortical cell functions as a spermatangial mother cell and directly cuts out four to six spermatangia toward the both surfaces by oblique wall. While in f. *lepriurii*, the cortical cell sometimes cuts out two to seven spermatangial mother cells which produce four or more spermatangia.

Yoshizaki *et al.* (1986) reported the occurrence of gametophytes of *Caloglossa ogasawaraensis* in Chiba Pref. Mature male plants occurred in June and October, but they account for only 1% among the whole samples, and female and cystocarpic plants occurred in October and account for 0.5%, and among the rest materials sterile plants are 30%, tetrasporophytes are 68%. On the other hand, female and male gametophytes could be abundantly obtained in culturing tetraspores from the field materials collected in Wakayama and Chiba Prefectures. In cultural materials, most parts of male blades were transformed into spermatangial sori. Soon after the release of matured spermatia, the blades disintegrated. The rare occurrence of the fertile male plants in nature is caused by their caducous blades.

Acknowledgement

We are grateful to Prof. J. A. West, Univer-

sity of California for his critical reading of the manuscript and valuable suggestions. We are also grateful to Dr. M. Yoshizaki, Toho University, for his useful suggestions. We are due to Mr. D. Honda and Mr. M. Kawachi for their helps in collecting materials and to Ms. N. Yazaki for her help in preparing the slide materials.

References

- Fan, F. 1952. The structure, methods of branching and tetrasporangia formation of *Caloglossa*. Taiwan Fish. Res. Inst. Lab. Hydrobiol. Rep. no. 4, 16 pp.
- Goebel, K. E. 1898. Eine Süßwasserfloridae aus Ost-Afrika. *Flora* **85**: 65–68.
- Jose, L. and Patel, R. J. 1990. *Caloglossa ogasawaraensis* (Rhodophyta, Delesseriaceae), a fresh water Rhodophyceae new to India. *Cryptogamie Algal.* **11**(3): 225–228.
- Kamiya, M. 1992. Taxonomic studies of the euryhaline red alga, *Caloglossa* (Ceramiales, Rhodophyceae) in Japan. 33 pp. (Master's Thesis in Tsukuba University)
- Okamura, K. 1897. On the algae from Ogasawara-jima (Bonin Islands). *Bot. Mag. Tokyo* **11**: 1–17.
- Okamura, K. 1908. Icons of Japanese algae vol. 1, no. 8, pp. 179–208.
- Papenfuss, G. F. 1961. The structure and reproduction of *Caloglossa lepriurii*. *Phycologia* **1**: 8–31.
- Post, E. 1936. Systematische und pflanzengeographische Notizen zur *Bostrychia-Calloglossa*-Assoziation. *Rev. Algal.* **9**(1): 1–84.
- Post, E. 1943. Zur Morphologie und Ökologie von *Caloglossa*. *Arch. Protistenk.* **96**: 123–220.
- Post, E. 1966. *Caloglossa ogasawaraensis* in Westafrika. *Hydrobiologia* **27**: 316–322.
- Ratnasabapathy, M. and Kumano, S. 1982. Studies on fresh water red algae of Malaysia I. Some taxa of the genera *Batrachospermum*, *Ballia* and *Caloglossa* from Pulau Tioman, West Malaysia. *Jpn. J. Phycol.* **30**: 15–22.
- Starr, R. C. and Zeikus, J. 1987. UTEX—the culture of algae at the University of Texas at Austin. *J. Phycol.* **23** (suppl.): 1–47.
- Tanaka, J. 1992. Reproductive structure of *Caloglossa lepriurii* f. *continua* (Ceramiales, Rhodophyceae) in Japan. *Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo*, ser. B. **18**: 123–131.
- Tanaka, J. and Chihara, M. 1985. Taxonomic studies of Japanese mangrove macroalgae II. Two taxa of *Caloglossa* (Ceramiales, Rhodophyceae). *Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo*, ser. B. **11**: 41–50.
- Umezaki, I. 1962. *Caloglossa ogasawaraensis* Okam. found in Wakasa Bay. *J. Jpn. Bot.* **37**: 366.
- West, J. A. 1991. New records of marine algae from

- Perú. Bot. Mar. 34: 459-464.
- Yoshizaki, M., Hatogai, T., Fujita, T. and Iura, K.
1985. Some observations on the two species of
Caloglossa from Kujūkurihama, Chiba Prefecture.
Chiba Seibutushi 34: 49-54. (in Japanese)
- Yoshizaki, M., Fujita, T., Hatogai, T. and Iura, K.
1986. Phenology on the three species of estuarine
red algae from the Kidogawa river mouth area,
Kujūkurihama, Central Japan. Chiba Seibutushi
35: 64-70. (in Japanese)

田中次郎*・神谷充伸**：日本産ホソアヤギヌの生殖体の構造

ホソアヤギヌ (*Caloglossa ogasawaraensis*) は、岡村 (1897) により小笠原島の淡水域から記載されたが、その後世界の亜熱帯を中心に広く分布していることが知られてきた。これまで雄や雌の生殖器官についての詳しい記載は行われていない。そこで日本産の天然、及び培養で得られた生殖藻体 (四分孢子体、雄と雌の配偶体、果孢子体) の形態を詳しく記載した。

本藻は、天然では有性の生殖藻体は四分孢子体の1%以下しか見つからない。一方、天然で得た四分孢子を培養すると、簡単に雄と雌の配偶体に生長する。天然藻体の生殖器官の形成方法およびその形態は、Tanaka (1992) が記載した日本産アヤギヌ (*Caloglossa leprieurii* f. *continua*) のものと基本的には同じである。しかし培養下では、以下のように天然のものと形態の異なる藻体を得られた。1) 四分孢子嚢は最末枝に形成される。2) 雌には擬似嚢果 (pseudocystocarp) が形成される。これには果孢子は形成されない。3) 精子嚢は最末枝のほぼ全面に形成される。(*169 東京都新宿区百人町3-23-1 国立科学博物館, **305 茨城県つくば市天王台1-1-1 筑波大学生物科学系)

(Received February 1, 1993; Accepted April 7, 1993)

Life history of *Halosaccion yendoi* I. K. Lee (Palmariales, Rhodophyta) and interspecific spermatium inoculation with *Palmaria* sp. from Hokkaido, Japan

Ichiro Mine and Masakazu Tatewaki

The Institute of Algological Research, Faculty of Science, Hokkaido University, Boko-minami, Muroran, Hokkaido, 051 Japan.

Mine, I. and Tatewaki, M. 1993. Life history of *Halosaccion yendoi* I. K. Lee (Palmariales, Rhodophyta) and interspecific spermatium inoculation with *Palmaria* sp. from Hokkaido, Japan. Jpn. J. Phycol. 41: 123–130.

The palmariacean life history was demonstrated in laboratory culture of the marine red alga *Halosaccion yendoi* I. K. Lee, collected from Akkeshi and Muroran, Hokkaido. Attempts of intergeneric cross with *Palmaria* sp. from Muroran in the laboratory were made. The field-collected tetraspores of *H. yendoi* grew into macroscopic male gametophytes and microscopic female discs at a ratio of 1 : 1. After fertilization with field-collected spermatia of *H. yendoi*, the erect thallus of the diploid sporophyte developed from the carpogonium. The male gametophytes and sporophytes reached maturity in 5 months. Cytoplasmic fusion of spermatia with trichogynes in the intergeneric spermatium inoculation between *H. yendoi* and *P. sp.* resulted in nuclear fusion between the male nucleus from the fused spermatium and the carpogonial nucleus but no further development of the zygote was observed.

Key Index Words: gamete fusion—*Halosaccion*—heterologous zygote—intergeneric cross—life history—nuclear fusion—*Palmaria*—*Palmariaceae*—reproductive isolation—*Rhodophyta*.

The palmariacean algae exhibit a unique life history in which haploid tetraspores developed into macroscopic male gametophytes and into microscopic female gametophytes. Fertilization in these algae was observed between spermatia liberated from the male thalli and sessile carpogonia formed on the microscopic female germlings (van der Meer and Todd 1980, van der Meer 1981). Therefore, these algae can provide an excellent experimental system for studying the fertilization of red algae because it is easy to obtain a sufficient number of synchronously matured female gametes. Along the Japanese coast, the palmariacean life history has been so far reported only in *Palmaria* sp. (Deshmukhe and Tatewaki 1990 as *P. palmata*).

Among red algae, cross fertilization between different taxa or populations has been estimated by the degree of the development of carposporophyte after incubating female and male gametophytes in a common vessel under laboratory conditions. However, no study

exists on the attachment, cytoplasmic and nuclear fusions in fertilization between heterologous gametes of red algae. Only one exception was the laboratory experiments on the attachment of spermatia to trichogynes between *Aglaothamnion neglectum* and other species of related genera (Magruder 1984).

Here, we have reported on the second Japanese species, *Halosaccion yendoi* I. K. Lee, which shows the palmariacean life history and, using this species and *P. sp.*, we examined the attachment and fusion of gametes, and the fusion of nuclei in the fertilization between different genera.

Materials and Methods

Mature sporophytes and male gametophytes of *H. yendoi* were collected from intertidal zone at Aikappu, Akkeshi, Hokkaido on March 23–25, 1991, cast ashore at Tokkarisho, Muroran, on May 31, 1992, and *P. sp.* from Charatsunai, Muroran. They were

immediately transferred to the laboratory and kept thereafter under at a temperature of $10 \pm 2^\circ\text{C}$.

Tetraspores were harvested by agitating a small piece (ca. $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$) of a fertile sporophytic thallus in 5 ml of filtrated seawater using a rotary shaker. After removal of thallus, the released spores were pelleted by hand centrifuge and suspended in 5 ml $\text{ASP}_{12}\text{NTA}$ (Provasoli 1963). This suspension was dispensed in 25 μl aliquots, each containing about 200 spores, on individual coverslips and incubated in a humid atmosphere $10 \pm 2^\circ\text{C}$ under $45 \pm 5\ \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, continuous light provided with cool-white fluorescent lamps.

After 5–8 days from spore inoculation, germlings was inoculated with spermatia by agitating in a 500 μl spermatial suspension for 10 min. The spermatial suspension was prepared by agitating a wiped small piece of fertile male gametophytic thallus in 5 ml of $\text{ASP}_{12}\text{NTA}$ for up to 1 hr. After spermatium inoculation, coverslips were then washed in $\text{ASP}_{12}\text{NTA}$ briefly and soaked in PES (Provasoli 1966) and incubated under cool-white fluorescent lamps at $35 \pm 5\ \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, and a 14 : 10 light : dark photoperiod. The medium was changed once in every 2–4 weeks.

Intra- and interspecific spermatium inoculation between *H. yendoi* from Akkeshi and *P.* sp. from Muroran was carried out by agitating a coverslip with 5-day-old tetraspore germlings in 500 μl of spermatial suspension for 15 min. Coverslips were then washed by pipetting 10 times with ca. 3 ml of medium to remove loosely entangled spermatia. Beginning at the onset of spermatium inoculation, specimens after 180 min were fixed in 1% glutaraldehyde in seawater and stained with $0.5\ \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, Sigma) in seawater for observation of the spermatial nuclear state. Photographs were made with Kodak Tri-X film. A comparative experiment was conducted with coverslips of tetraspore germlings derived from a single tetraspore suspension and aliquots of a single spermatium suspension were

simultaneously inoculated.

Specimens for DNA microspectrofluorometry were prepared almost completely according to Goff and Coleman (1984) and Deshmukhe and Tatewaki (1993). Samples were fixed in Carnoy's fixative (3 : 1 mixture of 99.5% ethanol and glacial acetic acid) for more than 1 hr at 4°C , washed in running tap water for 1 hr, soaked in 50% (w/v) aqueous chloralhydrate for more than 2 hr, and squashed on uncoated coverslips and glass slides. Squashed samples attached to coverslips and glass slides were then dehydrated through alcohol series from 70 to 100% ethanol and air-dried. Dehydrated specimens were rehydrated in 200 mM KCl for 5–10 min and stained with 0.5 $\mu\text{g/ml}$ DAPI in McIlvaine's citrate buffer (pH 4.1).

The DNA fluorescence of nuclei was measured by Olympus OSP-1 system equipped with a MF450W band pass filter in addition to the filter combination used in fluorescence microscopy. An excited nucleus was quickly positioned inside the No. 5 pinhole (15 μm in diameter through a $100\times$ objective lens) and the emission from the nucleus was measured. Non-nuclear areas of 15 cells of a similar type were measured as the background and the average intensity was subtracted from each nuclear fluorescence.

Results

Life history of H. yendoi in laboratory.

Field-collected tetrasporophytes formed the palmariacean tetrasporangia in the cortex with a distinct stalk cell (Fig. 1). Tetraspores liberated from these sporophytes were about 12–14 μm in diameter (Fig. 2) and began to divide 1–2 days after being attached to the coverslips. The first division occurred uniformly in the attached spores. However, their subsequent development were different between the two groups of germlings segregated at a ratio about 1 : 1 (Fig. 3).

One was the female germling that formed a trichogyne from a carpogonium, one of the derivative cells of the first division (Fig. 4). Another derivative cell continued to be divid-

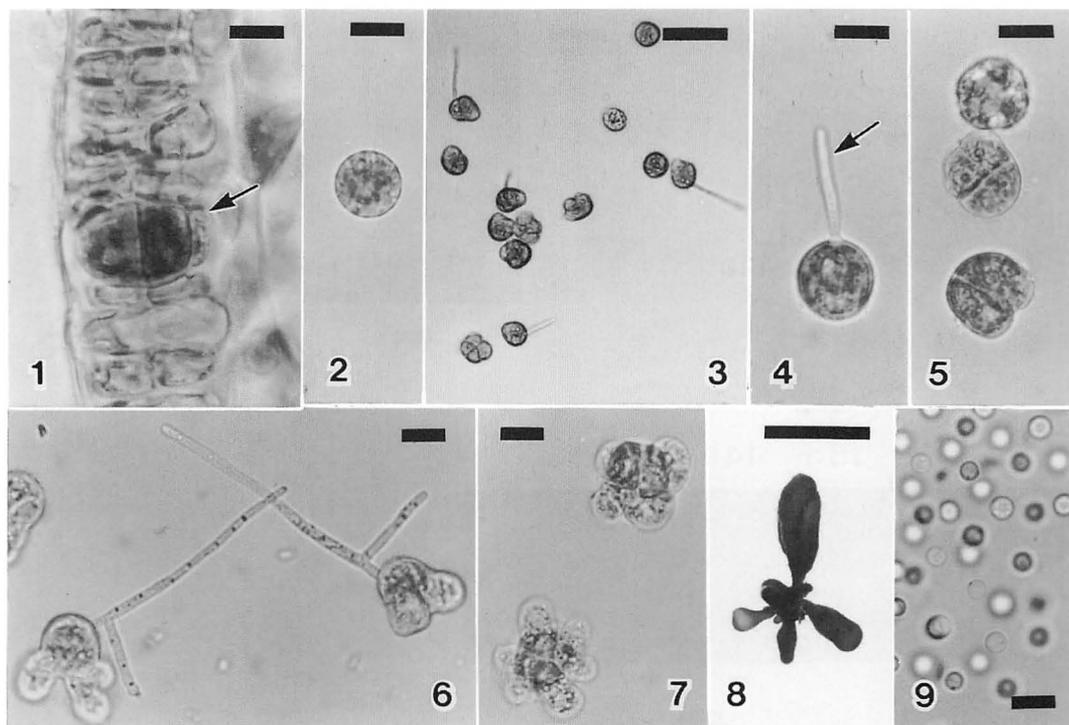


Fig. 1. Cross section of field-collected sporophyte of *Halosaccion yendoi* showing a tetrasporangium formed in the cortex. Arrow indicates the stalk cell. Scale = 10 μ m.

Fig. 2. Tetraspore liberated from the field-collected sporophyte. Scale = 10 μ m.

Figs. 3-5. Tetraspore germlings in a 4-day-old culture. Fig. 3. Female and male germlings. Scale = 50 μ m. Fig. 4. Female germling. Arrow indicates a trichogyne formed on a carpogonium. Scale = 10 μ m. Fig. 5. Male germlings. Scale = 10 μ m.

Fig. 6. Female germlings with branched trichogyne in a 6-day-old culture. Scale = 10 μ m.

Fig. 7. Male germlings in a 6-day-old culture. Scale = 10 μ m.

Fig. 8. Mature male gametophyte in a 5-month-old culture. Scale = 10 mm.

Fig. 9. Spermata liberated from the cultured male gametophyte. Scale = 10 μ m.

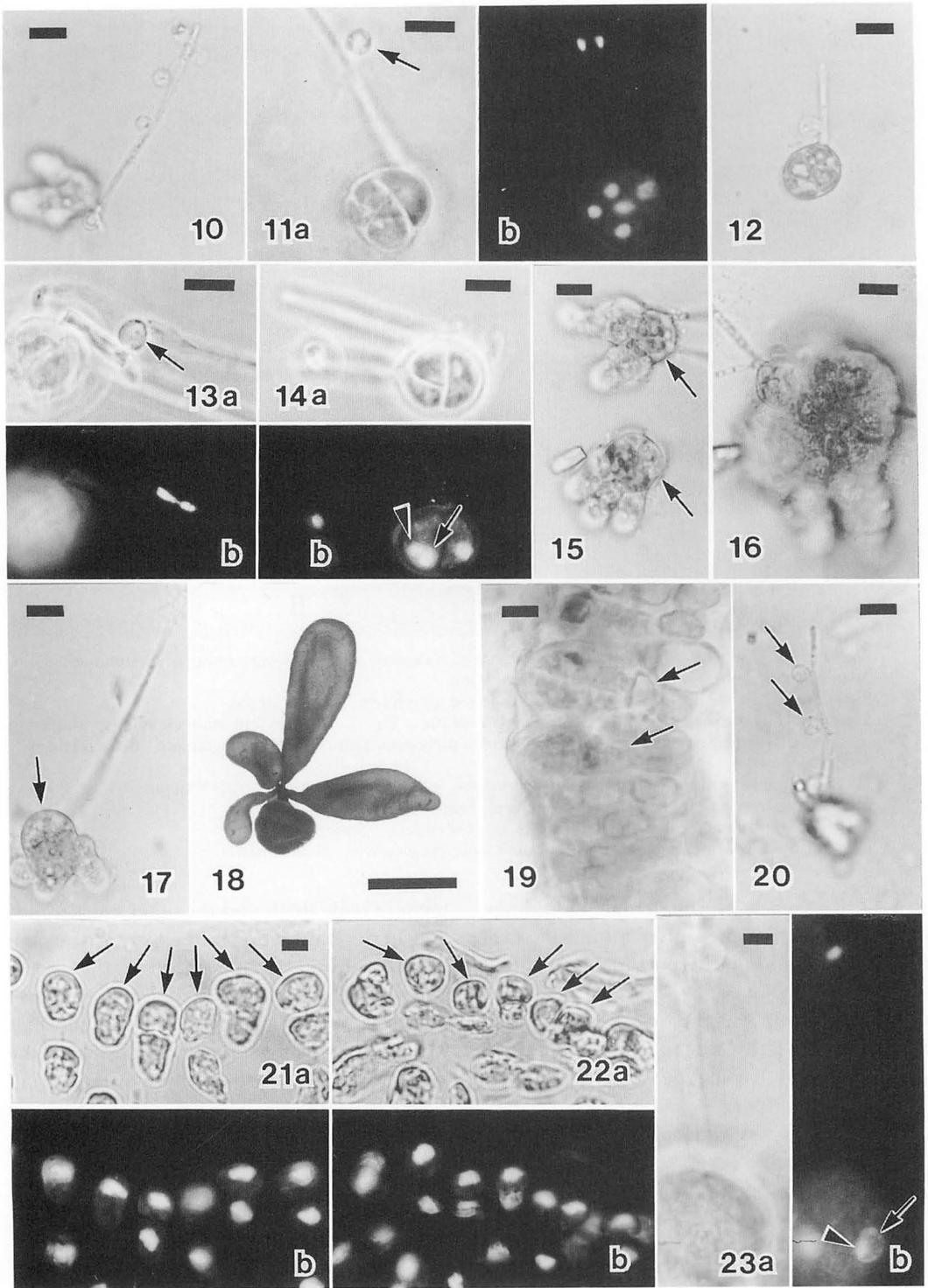
ed. Trichogynes of the female germlings often became branched after a long incubation (Fig. 6) and some carpogonia formed two trichogynes.

Another group was the male germling that developed into a disc due to the constant division forming no trichogyne (Fig. 5). After 5 days following spore inoculation, most germlings of both types developed into multicellular thalli having 2-5 prostrate projections (Figs. 6, 7).

The male germling developed erect, oblong thallus from a small prostrate disc. During the 2-month-culture, the erect fronds became 1-3 mm in length. Fifteen erect fronds on the coverslips, not inoculated with spermata, were picked up for observation of the develop-

ment of male thalli and the other erect fronds and undeveloped prostrates were discarded. The erect frond became saccate as they grew, and all of them became sexually mature in 4 months and began to liberate spermata (Fig. 9) morphologically similar to those from the field-collected male gametophytes. During laboratory culture, the erect, saccate thalli of male gametophytes were grown to 5-10 mm in size when they reached to maturity (Fig. 8).

Spermata from field-collected male gametophytes were spherical, about 5 μ m in diameter, and morphologically similar to those of *P. sp.* When introduced into 5-8 day-old germlings of field tetraspores, the spermata were easily attached to the trichogynes



formed on the female germlings (Fig. 10). During the fertilization processes, spermatial nuclear division (Fig. 11), cell fusion (Fig. 12), invasion and migration of derivative male nuclei in the trichogyne (Fig. 13), and fusion between male nucleus and carpogonial nucleus were observed (Fig. 14).

Initial development of the zygote was not detected clearly because it was difficult to distinguish derivative cells from the zygote and those from neighbor vegetative cells of the female gametophytic tissue. However, several days after spermatium inoculation, large, pigmented cells were cut off from basal cell bearing a trichogyne fused with spermatium (Fig. 15), later forming a mass of the cells on the female germling (Fig. 16). This cell mass was not formed on unfertilized female discs for a month (Fig. 17). Several female discs with a cell mass was left on the coverslips after removal of all the other germlings by needles, and the subsequent development of the zygote was observed.

The cell masses formed on the fertilized female germlings continued to grow, developed an erect projection and became hollow as they grew. They became reproductive about 5 months after spore inoculation and began to liberate tetraspores from tetrasporangia developed in their cortex (Fig. 19). The vegeta-

tive and reproductive structures were similar to those of field sporophytes. The cultured sporophytic fronds were relatively larger than those of male gametophytes, 12–18 mm in size at the time of maturity (Fig. 18). Tetraspores liberated from cultured sporophyte germinated in a similar fashion to those from the field sporophyte. When introduced to these germlings, the spermatia from the cultured male gametophytes fused with the trichogynes of mature female germlings developed from the tetraspores in culture (Fig. 20).

The outermost cortical cells and their nuclei of cultured sporophyte were apparently larger in size than those of cultured male gametophyte (Figs. 21, 22). It is easy to distinguish these two types of cells even when squashed and prepared on the same coverslips. Therefore, relative DNA fluorescence was compared between these cells prepared together using no control cell for standard DNA fluorescence. As shown in Figure 24, measured nuclear DNA fluorescence indicates that the sporophytic outermost cortical cells in culture has twice the nuclear DNA quantity of the male gametophytic ones.

Cross fertilization between H. yendoi and P. sp.

Experiments of intra- and interspecific fertilization were conducted several times and

Figs. 10–14. Fertilization of female germlings cultured from field-collected tetraspores with field-collected spermatia. Scales=10 μ m. Fig. 10. Attachment of spermatia to a trichogyne. Fig. 11. Nucleus of an attached spermatium (arrow) divided into two male nuclei before cytoplasmic fusion with trichogyne. DAPI-stained. a) Phase contrast. b) Epifluorescence. Fig. 12. Cytoplasmic fusion between a spermatium and trichogyne. Fig. 13. Invasion and migration of two male nuclei from a spermatium (arrow) into the trichogyne. DAPI-stained. a) Phase contrast. b) Epifluorescence. Fig. 14. Fusion between a carpogonial nucleus (arrow) and male nucleus (arrowhead). DAPI-stained. a) Phase contrast. b) Epifluorescence.

Fig. 15. Early development of zygote 3 days after spermatium inoculation. Large, pigmented cells (arrows) were cut off from the carpogonium. Scale=10 μ m.

Fig. 16. Further development of the zygote 10 days after spermatium inoculation. A mass of pigmented cells was formed on the carpogonium. Scale=10 μ m.

Fig. 17. Carpogonium not fused with a spermatium 10 days after spermatium inoculation. No further development of carpogonium (arrow) occurred. Scale=10 μ m.

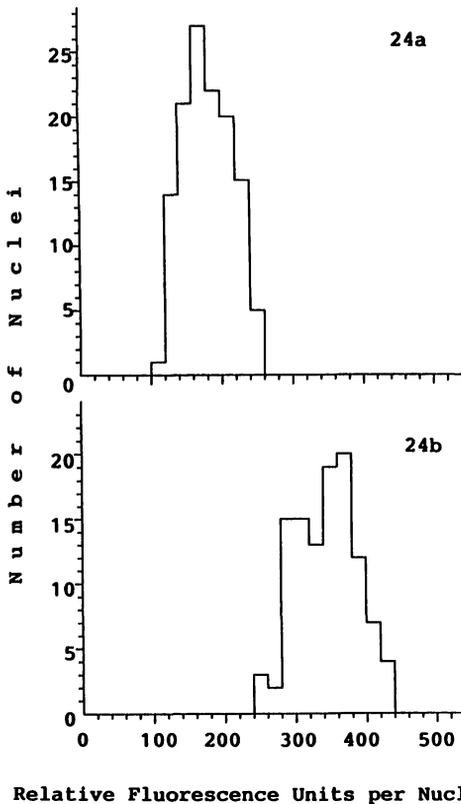
Fig. 18. Mature sporophyte in a 5-month-old culture. Scale=10 mm.

Fig. 19. Cross section of mature sporophyte in culture showing a tetrasporangia formed in the cortex. Arrows indicate stalk cells. Scale=10 μ m.

Fig. 20. Cytoplasmic fusion between spermatia (arrows) liberated from cultured male gametophyte and the trichogyne of female germling of tetraspore liberated from cultured sporophyte. Scale=10 μ m.

Figs. 21, 22. Outermost cortical cells (arrows) of *H. yendoi* in culture. Fixed and stained for DNA microspectrofluorometry. Scale (10 μ m) in 21 applies also to 22. Fig. 21. Sporophyte. a) Brightfield. b) Epifluorescence. Fig. 22. Male gametophyte. a) Brightfield. b) Epifluorescence.

Fig. 23. Female germling of *Palmaria* sp. from Muroran inoculated with spermatia of *H. yendoi* from Akkeshi 3 hr after spermatium inoculation. DAPI-stained. a) Brightfield. b) Epifluorescence. A carpogonial nucleus (arrow) fused with a male nucleus (arrowhead). Scale=5 μ m.



Relative Fluorescence Units per Nucleus

Fig. 24. Fluorescence values of DAPI-stained nuclei of outermost cortical cells of *H. yendoi* in culture. a) Male gametophyte. b) Sporophyte. The total number of measured nuclei (n), mean value (\bar{x}) and standard deviation (SD) are a) $n=110$, $\bar{x}=174.6$, $SD=27.9$. b) $n=110$, $\bar{x}=324.4$, $SD=42.3$.

results of a representative experiment are shown in Table 1. Data are presented as the numbers of trichogynes categorized into any

one of the following three states: State 1) trichogynes to which no spermatium was attached; State 2) trichogynes to which at least one spermatium was attached but no cytoplasmic fusion occurred; and State 3) trichogynes fused with at least one spermatium. The occurrence of cytoplasmic fusion was judged by the invasion of a male nucleus from fused spermatium into trichogyne cytoplasm.

As shown in the table, although the ratios were invariably lower than those of intraspecific fertilization, up to 27% of trichogynes fused with the spermatia of the species of different genus. Fusions between caropogonial and male nuclei were observed in only a few caropogonia fused with spermatia even in intraspecific fertilization in *H. yendoi*. In the experimental specimen of the table, the nuclei in two caropogonia of *P. sp.* were observed to fuse with the male nucleus of *H. yendoi* (Fig. 23). On the other hand, despite the numerous male nuclei invading into the trichogyne cytoplasm, no fusion was observed between *Palmaria* male and *Halosaccion* caropogonial nucleus.

Some coverslips inoculated with spermatia of different species were subsequently incubated under the same condition used in the life history study. However, further division of the caropogonium and formation of the cell mass from caropogonia fused with spermatia was not observed after incubating for more than 2 weeks after spermatium inoculation.

Table 1. Intra- and interspecific spermatium inoculation between *H. yendoi* from Akkeshi and *P. sp.* from Murooran. State 1) No spermatium attached; State 2) Spermatium attached, but not fused; State 3) Spermatium fused.

Female	Male	Total number of trichogynes	Number (%) of trichogynes of		
			State 1	State 2	State 3
<i>Halosaccion</i>	<i>Halosaccion</i>	102	30 (29)	11 (11)	61 (60)
		108	30 (28)	8 (7)	70 (65)
<i>Palmaria</i>	<i>Palmaria</i>	108	57 (53)	16 (15)	35 (32)
		103	57 (55)	16 (16)	30 (29)
<i>Halosaccion</i>	<i>Palmaria</i>	111	87 (78)	8 (7)	16 (15)
		118	80 (68)	6 (5)	32 (27)
<i>Palmaria</i>	<i>Halosaccion</i>	108	91 (84)	15 (14)	2 (2)
		106	80 (76)	16 (15)	10 (9)

Discussion

The present study is a completion of the life history of *H. yendoi* in culture for the first time. *H. yendoi* exhibited a typical palmariacean life history where the tetraspores developed into macroscopic male and microscopic female gametophytes. Almost a similar life history was reported previously in other two species of the genus *Halosaccion* (van der Meer 1981, Mittman and Phinney 1985). The fertilization processes, e.g., spermatial nuclear division after attachment to the trichogyne, at random migration of male nuclei in the trichogyne, and cytoplasmic polyspermy, was also observed in *P. sp.* (data not shown).

No obvious development of unfertilized carpogonium existed at least for a month. However, the possibility of the development of haploid sporophyte from female disc, which was observed in *H. ramentaceum* cultivated in tank for a longer period (van der Meer 1981), could not be abandoned because different conditions in laboratory culture were adopted.

Using the two species, *H. yendoi* and *P. sp.*, which exhibit the palmariacean life history, it is possible to carry out a comparative study on the attachment of spermatium to trichogyne in the fertilization of red algae between different taxa. The present results of the intergeneric spermatium inoculation show that the gamete attachment between different taxa was invariably lower than that of the intraspecific controls. An electron microscopic observation on the fertilization of *P. sp.* has revealed that covering of spermatium and trichogyne apparently mediate the attachment of these non-flagellated gametes (Mine and Tatewaki, unpublished observation). The difference in the gamete attachment may be related to the divergence in the biochemical nature of these covering materials between the two taxa. Studies on the adhesive nature of the covering of spermatium and trichogyne of the palmariacean algae were in progress in our laboratory.

Both cytoplasmic and nuclear fusion in the fertilization between species of different genera were readily observed in the present

study. In contrast to this, no binding was observed between the gametes of *Aglaothamnion neglectum* (Ceramiaceae) and other species of related genera (Magruder 1984). Thus the stages where the fertilization between different genera is blocked are different between the Palmariaceae and Ceramiaceae. This difference may be related in part to the absence of any specialized appendage on spermatium in *Palmaria* and *Halosaccion*, which was reported in the species of the Ceramiaceae (Magruder 1984, Broadwater *et al.* 1991) and binds specifically to trichogynes (Magruder 1984).

In the natural population in Muroran and Akkeshi, *H. yendoi* and *P. sp.* grow on the common rocky shore and the male gametophyte and sporophyte of both species are reproductive simultaneously for several months. Therefore, it is probable that, as observed in laboratory, the cytoplasmic and nuclear fusion between the gametes of the two taxa occurs in the field population. However, since there was no cell division and cell mass formation from the carpogonia inoculated with the spermatia of different taxon in the laboratory, it is suggested to be impossible that the hybrid between *H. yendoi* and *P. sp.* exists in the natural population. In fact, no individuals which are regarded as the hybrid of these two genera in external morphology and anatomical feature have been found in the field.

Among the red algae, it is generally recognized that the development of interspecific hybrids is, if any, abnormal and often results in a sterile progeny (van der Meer 1988, p. 517). The experimental hybridization between the northeast and northwest Atlantic *Palmaria palmata* yielded intraspecific hybrids with greatly reduced fertility (van der Meer 1987). The developmental deficiency of heterologous zygote of the red algae may be due to the genomic incompatibility, and this assures the reproductive isolation between *H. yendoi* and *P. sp.* along the Hokkaido coast.

In contrast to the certain frequencies of gamete fusion between *H. yendoi* and *P. sp.*, not a single fertilization was detected even in intrageneric crosses between Atlantic *P. palmata*

and *P. mollis* (van der Meer and Bird 1985). Though no crosses with species of different genera have been attempted in these Atlantic species, it is likely that fertilization would not occur with more remote taxa, i.e., species of the genus *Halosaccion*. Further investigations of the inter- or intrageneric fertilization with species of *Palmaria* of northeast Pacific or north Atlantic coast will reveal whether species differentiation in *Palmaria* was accompanied with barriers to heterologous fertilization at the level of gamete fusion.

Acknowledgments

We would like to thank Dr. K. Aketa and Mr. T. Sato, Akkeshi Marine Biological Station, for helping with the field collection of *H. yendoi* and for providing laboratory facilities.

References

- Broadwater, S., Scott, J. L. and West, J. A. 1991. Spermatial appendages of *Spyridia filamentosa* (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Phycologia* 30: 189-195.
- Deshmukhe, G. V. and Tatewaki, M. 1990. The life history and evidence of the macroscopic male gametophyte in *Palmaria palmata* (Rhodophyta) from Muroran, Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Phycol.* 38: 215-222.
- Deshmukhe, G. V. and Tatewaki, M. 1993. Occurrence of somatic diploidization in life history of *Coilodesme japonica* (Dictyosiphonales, Phaeophyta). *Phycologia* 32: 197-203.
- Goff, L. J. and Coleman, A. T. 1984. Elucidation of fertilization and development in a red alga by quantitative DNA microspectrofluorometry. *Dev. Biol.* 102: 173-194.
- Magruder, W. H. 1984. Specialized appendages on spermatia from the red alga *Aglaothamnion neglectum* (Ceramiaceae, Ceramiaceae) specifically bind with trichogynes. *J. Phycol.* 20: 436-440.
- van der Meer, J. P. 1981. The life history of *Halosaccion ramentaceum*. *Can. J. Bot.* 59: 433-436.
- van der Meer, J. P. 1987. Experimental hybridizations of *Palmaria palmata* (Rhodophyta) from the northeast and northwest Atlantic Ocean. *Can. J. Bot.* 65: 1451-1458.
- van der Meer, J. P. 1988. The genetic improvement of algae: progress and prospects. p. 511-528. *In* Lembi, C. A. and Waaland, J. R. [eds.], *Algae and Human Affairs*. Cambridge University Press, Cambridge.
- van der Meer, J. P. and Bird, C. J. 1985. *Palmaria mollis* stat. nov.: a newly recognized species of *Palmaria* (Rhodophyceae) from the northeast Pacific Ocean. *Can. J. Bot.* 63: 398-403.
- van der Meer, J. P. and Todd, E. R. 1980. The life history of *Palmaria palmata* in culture. A new type of the Rhodophyta. *Can. J. Bot.* 58: 1250-1256.
- Mitman, G. G. and Phinney, H. K. 1985. The development and reproductive morphology of *Halosaccion americanum* I. K. Lee (Rhodophyta, Palmariales). *J. Phycol.* 21: 578-584.
- Provasoli, L. 1963. Growing marine seaweeds. p. 9-17. *In* DeVirville D. and Feldmann J. [eds.], *Proc. Fourth Int. Seaweed Symp.* Pergamon Press, Oxford.
- Provasoli, L. 1966. Media and prospects for the cultivation of marine algae. p. 63-75. *In* Watanabe A. and Hattori A. [eds.], *Cultures and Collections of Algae*. Japanese Society of Plant Physiologists, Tokyo.

峯 一朗・館脇正和：紅藻ベニフクロノリの生活史とダルスとの属間媒精

北海道室蘭および厚岸産のベニフクロノリ *Halosaccion yendoi* I. K. Lee の室内培養でダルス型の生活史が観察され、また室蘭産のダルス *Palmaria* sp. との属間受精実験が試みられた。天然の四分胞子は大型の雄配偶体と矮性の雌配偶体とに、一対一の割合で発生し、雌配偶体に形成された造果器は天然の不動精子と受精した後、複相の大型胞子体に発生した。雄配偶体と胞子体は5カ月以内に成熟した。*H. yendoi* と *P. sp.* という異なる属の間でも、受精毛と精子の細胞融合が起こり造果器核と雄核の融合も観察されたが、属間接合子の発達は見られなかった。(051 室蘭市母恋南町1丁目13 北海道大学理学部附属海藻研究施設)

(Received January 8, 1993; Accepted March 2, 1993)

In vitro life history and spermatangial type of *Gracilaria eucheumoides* (Gracilariaceae, Rhodophyta)*

Hirotooshi Yamamoto** and Tadahide Noro***

**Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Minato-machi 3-1-1, Hakodate, Hokkaido, 041 Japan

***Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Shimoarata 4-50-20, Kagoshima, 890 Japan

Yamamoto, H. and Noro, T. 1993. *In vitro* life history and spermatangial type of *Gracilaria eucheumoides* (Gracilariaceae, Rhodophyta). Jpn. J. Phycol. 41: 131-135.

The spermatangial arrangements of *Gracilaria eucheumoides* Harvey were found to be multicavitated (*Polycavernosa* type) for the first time in the completion of the life history *in vitro*. This species can therefore be placed in *Hydropuntia* group of the genus *Gracilaria* on the basis of its spermatangial type. The life history showed the possible *Polysiphonia* type. Cultured fronds were almost terete, differing from compressed axes of wild fronds, and the cause of the morphological variation was discussed. Extended cells penetrating into pericarp of cystocarps were confirmed to be present. The nature of monosporangium-like cells, which appear in carpospore-derived fronds, was discussed, comparing with the observation of other researchers.

Key Index Words: Gracilaria—*Gracilaria eucheumoides*—life history—*Hydropuntia*—*Polycavernosa*—spermatangium—spermatangial type—Rhodophyta.

Since Harvey (1859) established *Gracilaria eucheumoides* on the basis of Japanese materials, many researchers have reported that this species grows widely in the regions from the southern part of Japan to southeast Asia, including the Caroline Islands (Weber van Bosse 1928, Trono 1969, Chang and Xia 1976, Yamamoto 1978, Trono *et al.* 1983, Meneses and Abbott 1987).

Chang and Xia (1976) described cystocarps and tetrasporangia on Chinese materials of this alga, and Trono *et al.* (1983) reported only tetrasporangia on Philippine collections. The features of the reproductive organs show that this species is a member of genus *Gracilaria*. However, the male structures which form the basis for grouping the species within the genus were not known. Additionally, although this alga is very abundant in the Philippines and also common in other regions, collected specimens that are fertile are very rare or are unknown in given regions, for example, in Japan.

A single mature cystocarpic frond was collected in the Philippines, and growth in culture conditions provided information on reproductive structures and the life history.

Materials and Methods

A mature cystocarpic frond (Fig. 1) was collected at Matabungkay Beach (Lian, Batangas, the Philippines) in November, 1989. At the Marine Station in Bolinao, the Marine Science Institute, the University of the Philippines (Diliman), the several cystocarps were cut off from the frond and shaken with sterile sand to remove the epiphytes and the other surface contaminations (*cf.* Yamamoto and Sasaki 1987). Each of these cystocarps was placed overnight in Petri dishes with sterile seawater for spore release. About ten spores released were transferred to each of 20 ml glass bottles by a pipette for establishing unialgal culture, and these bottles were brought back to Japan for culture. Sporelings of 2 mm length in about 60 days were detached from the bottom of 20 ml glass bottles and transferred into 500 ml flasks for free-living

* This work was supported by the International Scientific Research Program No. 01041067 of the Ministry of Education, Science and Culture in Japan.

culture.

Culture conditions were: a temperature of 28–29°C, *ca* 75 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{sec}$ of cool-white fluorescent lamps, a photoperiod of 14 h (light)–10 h (dark), and aeration (0.3 l/min) only in free-living culture. PES medium without vitamins was changed about once a week throughout the culture. Spores from cultured fronds were incubated under the same conditions.

Results

Carpospore-derived fronds grew up to a length of 7 cm to release spores* in about 19 months after carpospores were transferred to glass bottles (Fig. 2). Sporophytes* were almost terete or sometimes slightly compressed, irregularly branched and reddish brown to purplish red in color. Sporangia appeared on the fronds, undivided, up to 55 μm high, 20 μm wide, and brightly reddish. Each of them is connected with a mother cell by single pit connection and has single nucleus in it (Figs. 3, 4). The spores in turn gave rise to mature spermatangial and cystocarpic fronds of the length of 2–5 cm in about 6 months (Fig. 5). These gametophytes were almost terete and reddish brown to purplish red in color.

Male structures were formed only in the middle part of fronds and multicavities (*Polycavernosa* type in Chang and Xia 1963; *Henriquesiana* type in Yamamoto 1984), showing a group of 5–6 conceptacles in the extension of up to 180 μm deep, up to 100 μm wide in longitudinal sectional view (Figs. 6, 7).

Cystocarps appeared all over the fronds except basal and apical portions, up to 1,000 μm high, up to 1,000 μm in diameter (Fig. 5). Of 20 spore-derived fronds, 4 developed into cystocarpic fronds and 5 into spermatangial, and the other remained sterile

even in 5 months after the first cystocarp appeared. The released carpospores developed normally and completed the life history.

Discussion

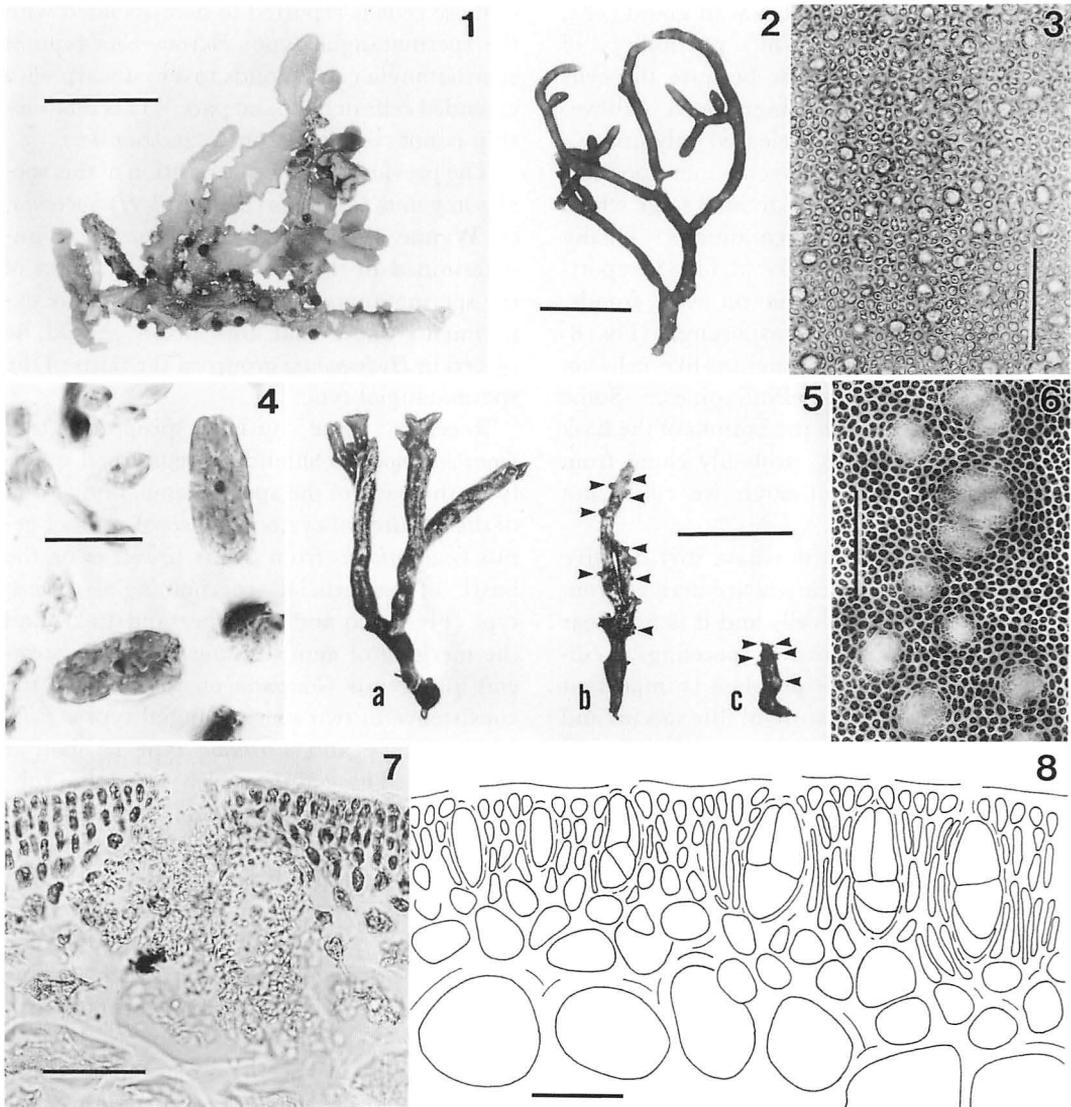
Main axes and branches of wild fronds are almost always compressed and sometimes almost flat (Fig. 1). However, the fronds raised in free-living culture are only slightly compressed or terete (Figs. 2, 5). The wild fronds have both dorsal and ventral sides because of their prostrate habit. In free-living culture, on the other hand, the fronds do not have such a fixed dorso-ventral orientation. Accordingly, the condition in which they grow appears to cause this morphological variation. Branching mode of wild fronds is alternate or pinnate. However, that of the raised fronds is irregular in all directions. This irregularity also appears to be induced by the lack of fixed sides.

Both sporophytes and gametophytes matured into much smaller frond size than wild fronds, which are usually 10 cm or more. Generally, reproductive organs tend to be formed in smaller frond size under the optimum culture conditions. Accordingly, this difference in the size does not present a taxonomic problem.

It was confirmed that the life history is probably *Polysiphonia* type. This fact is not consistent with rare occurrence of gametophytes in the field. In this experiment, about half of possible gametophytes kept on remaining sterile. This result suggests that the life history may not always be *Polysiphonia* type in the field. It is possible that the life history repeats only sporophyte generations. Accordingly, it is required to ascertain whether or not reduction division occurs in the formation of spores.

We can often observe monosporangium-like cells which are crowded in the cortical layer almost only on ventral side of wild fronds. Those cells are similar to undivided tetrasporangia in their appearance. A structure corresponding to such cells was also formed on carpospore-derived fronds raised

* We can not say at this time whether the released spores were tetraspores or not because divided sporangia have never been observed. Accordingly, "spore" or "sporophyte" are used in place of "tetraspore" or "tetrasporophyte" respectively in this paper.



Figs. 1-8. *Gracilaria euchemoides* from the Philippines. Fig. 1. A cystocarpic frond collected at Matabungkay, showing prominent cystocarps formed on ventral side of almost flat frond. Fig. 2. A carpospore-derived frond (sporophyte) raised *in vitro*, showing almost cylindrical axes and branches. Fig. 3. Surface view of the frond with monosporangium-like cells, showing crowded formation. Fig. 4. Monosporangium-like cells, showing a nucleus in each. Fig. 5. Spermatangial and cystocarpic fronds. a: Spermatangial frond raised *in vitro*. b and c: Cystocarpic fronds raised *in vitro*, showing cystocarps (arrowheads) formed all over the fronds. Fig. 6. Surface view of the male frond with multicavitated spermatangial conceptacles. Fig. 7. Sectional view of multicavitated spermatangial conceptacles. Fig. 8. Diagram of wild tetrasporangial frond, showing cruciately but often irregularly divided tetrasporangia. Scale bars = 1-2, 5: 2 cm, 3, 6-7: 100 μ m, 4, 8: 50 μ m.

in culture (Figs. 3, 4). We attempted to make spores release from both wild and raised fronds which have fully grown monosporangium-like cells but failed.

The nature of the monosporangium-like cells presents three possibilities: 1) gland

cells, 2) monosporangia and 3) tetrasporangia in undivided stage.

Trono *et al.* (1983) described these cells as gland cells. However, we have doubt on their opinion because the cells are formed only on carpospore-derived fronds and the

color is not yellowish as usual in gland cells, but brightly red. The possibility of monosporangia seems low because the cells never discharge as mentioned above. However, they could be released only under a particular condition. It seems more possible to be tetrasporangia in undivided stage which can divide under certain conditions. Chang and Xia (1976) and Trono *et al.* (1983) reported cruciate tetrasporangia on wild fronds. We also found a few tetrasporangia (Fig. 8) together with monosporangium-like cells on wild fronds from the Philippines. Some sporelings appeared on the bottom of the flask during culture. They probably came from the tetrasporangia, although we could not find them.

At this time, we do not have any decisive evidence that tetrasporangia are derived from monosporangium-like cells and it is not clear what kinds of spores the new sporelings in culture came from. This problem is important for making clear the nature of this species and these three possibilities on the peculiar "cells" are needed to be solved.

Spermatangia are formed in multicavities conceptacles. Although the conceptacles sometimes assume *Verrucosa* type, they must be in initial developmental stage because they are very small in size compared with multicavities conceptacles. The single-cavities conceptacles seem to develop finally into multicavities ones (*Polycavernosa* type). Typical *Verrucosa* type never develops into *Polycavernosa* type. Consequently, the spermatangial type of *G. eucheumoides* was concluded to be not a mixture of *Verrucosa* type and *Polycavernosa* type but just the latter judging from the final form.

Cystocarps raised in culture are much smaller compared with those of the parent or of ones described by Chang and Xia (1976) but this small dimension seems only to depend on the small frond size. They were able to release normal carpospores. Cell extensions exist both in upper and lower parts of a cystocarp as the figure of Chang and Xia (1976) shows, and some of them penetrate into the basal tissue. Generally, the location

of these cells is reported to be associated with the spermatangial type: *Polycavernosa* type of spermatangia corresponds to a cystocarp with extended cells in the basal part. This relationship is not recognized in *G. eucheumoides*.

The previous taxonomic position of this species in genus *Gracilaria* (including *Hydropuntia*, *cf.* Wynne 1989 and *Gracilariopsis*) was undetermined in the absence of information of the spermatangia. However, our culture experiments show that this taxon should be placed in *Hydropuntia* group on the basis of the spermatangial type.

Recently some authors proposed that *Gracilaria* species should be regrouped mainly on the basis of the spermatangial types and of the features of cystocarps: separation of genus *Gracilariopsis* from genus *Gracilaria* on the basis of superficial spermatangia—*Chorda* type (Fredericq and Hommersand 1989) and the merging of genus *Hydropuntia* (*Polycavernosa*) into genus *Gracilaria* on the basis of the coexistence of two spermatangial types: *Polycavernosa* type and *Verrucosa* type (Abbott *et al.* 1991). These authors also stated that subgenera *Textoriella* and *Gracilaria* (*cf.* Yamamoto 1975) might not be separable because both spermatangial types (*Textorii* type and *Verrucosa* type) coexist on the same frond of *G. blodgettii*. However, the *Verrucosa* type which appears together with *Polycavernosa* type is almost restricted around branch tips (Abbott *et al.* 1991). As we observed on *G. eucheumoides*, it seems reasonable that *Verrucosa* type which is recognized in *Polycavernosa* type species is only on a developmental process to final stage (*cf.* Abbott *et al.* 1991, p. 20).

In spite of exceptional or indistinguishable cases in *G. blodgettii* and in *G. mixta*, spermatangial type is still a helpful criterion for grouping the species of *Gracilaria* because almost all the species have distinctive spermatangial types. *G. blodgettii* appears to be a species bridging two groups in the progress.

The relationship among genera (or groups) *Gracilariopsis*, *Gracilaria* and *Hydropuntia* (*Polycavernosa*) is important for systematics. Bird *et al.* (1992) studied the phylogenetic

relationships in the Gracilariales on the basis of DNA sequences, and suggested that *Hydropuntia* is a subgenus of *Gracilaria*. Their experiments could offer a new criterion for the systematics of *Gracilaria*. However, more detailed information on the developmental process of male and female organs of various species is required. Accordingly, at the present time, we place *G. eucheumoides* as a member of genus *Gracilaria*.

Acknowledgements

We sincerely thank Dr. I. A. Abbott, University of Hawaii, for critical reading of the manuscript.

References

- Abbott, I. A., Zhang, J. F. and Xia, B. M. 1991. *Gracilaria mixta*, sp. nov. and other western Pacific species of the genus (Rhodophyta: Gracilariaceae). *Pac. Sci.* 45: 12-27.
- Bird, C. J., Rice, E. L., Murphy, C. A. and Ragan, M. A. 1992. Phylogenetic relationships in the Gracilariales (Rhodophyta) as determined by 18S rDNA sequences. *Phycologia* 31: 510-522.
- Chang, C. F. and Xia, B. M. 1963. *Polycavernosa*, a new genus of the Gracilariaceae. *Stud. Mar. Sin.* 3: 119-126.
- Chang, C. F. and Xia, B. M. 1976. Studies on Chinese species of *Gracilaria*. *Stud. Mar. Sin.* 11: 91-163.
- Fredericq, S. and Hommersand, M. H. 1989. Comparative morphology and taxonomic status of *Gracilariopsis* (Gracilariales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 25: 228-241.
- Harvey, W. H. 1859. Characters of new algae, chiefly from Japan and adjacent regions, collected by Charles Wright in the north Pacific exploring expedition under Captain John Rodgers. *Proc. Amer. Acad. Arts and Sci.* 4: 327-335.
- Meneses, I. and Abbott, I. A. 1987. *Gracilaria* and *Polycavernosa* (Rhodophyta) from Micronesia. *Micronesica* 20: 187-200.
- Trono, G. C., Jr. 1969. The marine benthic algae of the Caroline Islands, II. Phaeophyta and Rhodophyta. *Micronesica* 5: 25-119.
- Trono, G. C. Jr., Azanza-Corrales, R. and Manuel, D. 1983. The genus *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) in the Philippines. *Kalikasan, Philipp. J. Biol.* 12: 15-41.
- Weber van-Bosse, A. 1928. Liste des algues du Siboga IV, Rhodophyceae, troisieme partie, Gigartinales et Rhodymeniales. *Siboga-Expeditie LIX d.* 393-533.
- Wynne, M. J. 1989. The re-instatement of *Hydropuntia* Montagne (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Taxon* 38: 476-479.
- Yamamoto, H. 1975. The relationship between *Gracilariopsis* and *Gracilaria* from Japan. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 26: 217-222.
- Yamamoto, H. 1978. Systematic and anatomical study of the genus *Gracilaria* in Japan. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 25: 97-152.
- Yamamoto, H. 1984. An evaluation of some vegetative features and some interesting problems in Japanese populations of *Gracilaria*. *Hydrobiologia* 116/117: 51-54.
- Yamamoto, H. and Sasaki, J. 1987. Crossing experiments between populations of so-called *Gracilaria verucosa* (Huds.) Papenfuss from two localities, Shinori and Kikonai in Hokkaido. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 38: 335-338.

山本弘敏*・野呂忠秀**：培養によるリュウキュウオゴノリ (*Gracilaria eucheumoides*)

の生活史と雄性生殖器官

リュウキュウオゴノリの属内での分類上の位置は、雄性生殖器官が不明なため確定されずにいた。1989年11月、フィリッピンで得た果孢子から培養することにより生活史はほぼイトグサ型であること、雄性生殖器官は多穴型 (*Polycavernosa* type) であることを確認し、本種をオゴノリ属の *Hydropuntia* グループに位置づけた。培養体は扁平な野生体とは異なり円柱状になったが、この原因について培養条件と関係づけて考察した。また、野生体、培養体双方に形成される単孢子状の細胞の本質について、1) 腺細胞、2) 単孢子囊、3) 分裂しない段階の四分孢子囊の可能性を想定し検討した。多穴型の雄性生殖器官を持つ種の囊果中の伸長細胞 (extended cell) は下方のみ向うとされているが、本種では上方にも向い、果皮に侵入する程に伸長することを確認した。(*041 函館市港町 3-1-1 北海道大学水産学部, **890 鹿児島市下荒田4-50-20 鹿児島大学水産学部)

(Received September 14, 1992; Accepted March 24, 1993)



褐藻エゾヤハズ四分胞子の培養による雌雄配偶体の形成

籾 瀬・四ツ倉典滋・佐々木 剛

北海道大学水産学部 (041 函館市港町3-1-1)

Yabu, H., Yotsukura, N. and Sasaki, T. 1991. Male and female gametophytes of *Dictyopteris divaricata* (Okam.) Okamura (Phaeophyceae) developed from the cultured tetraspores. Jpn. J. Phycol. 41: 137-141.

Tetraspores of *Dictyopteris divaricata* (Okam.) Okamura (Dictyotales, Phaeophyceae) were cultured in the modified Grund's medium and the filtered seawater with 0.01% SLP (Squid Liver Protein Powder) extract at 10°C and 20°C under 2000 lux light intensity. They grew well into minute leafy plantlets after about one month culture in the modified Grund's medium at 20°C. Some of them bore male and female reproductive organs. The leafy plantlets developed from tetraspore germlings under the other culture conditions did not grow well, and did not mature. The female gametophytes liberated oospores, while sperms were not seen to be liberated from male plantlets, suggesting the necessity to grow both male and female gametophytes in nature.

Key Index Words: culture—*Dictyopteris divaricata*—*Dictyotales*—gametophyte—tetraspore germination. Hiroshi Yabu, Norishige Yotsukura and Tsuyoshi Sasaki, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate Hokkaido, 041 Japan

褐藻エゾヤハズ (*Dictyopteris divaricata* (Okam.) Okamura) は晩春から秋にかけて北海道西岸の潮間帯で極く普通に見られ、忍路湾では毎年夏期に大きな群落を形成する。本種については通常四分胞子体が生育し、現在迄に松永 (1966) が1964年夏に室蘭で雌性配偶体を見出した記録がある。しかし、未だ雌性配偶体を採集したという報告はない。著者らは本種の四分胞子を培養したところ約1ヶ月後に微小な雌雄配偶体を得ることができた。さらに、雌性配偶体上の生卵器から卵胞子が放出されること、雄性配偶体上に造精器が形成されることを確認した。

材料と方法

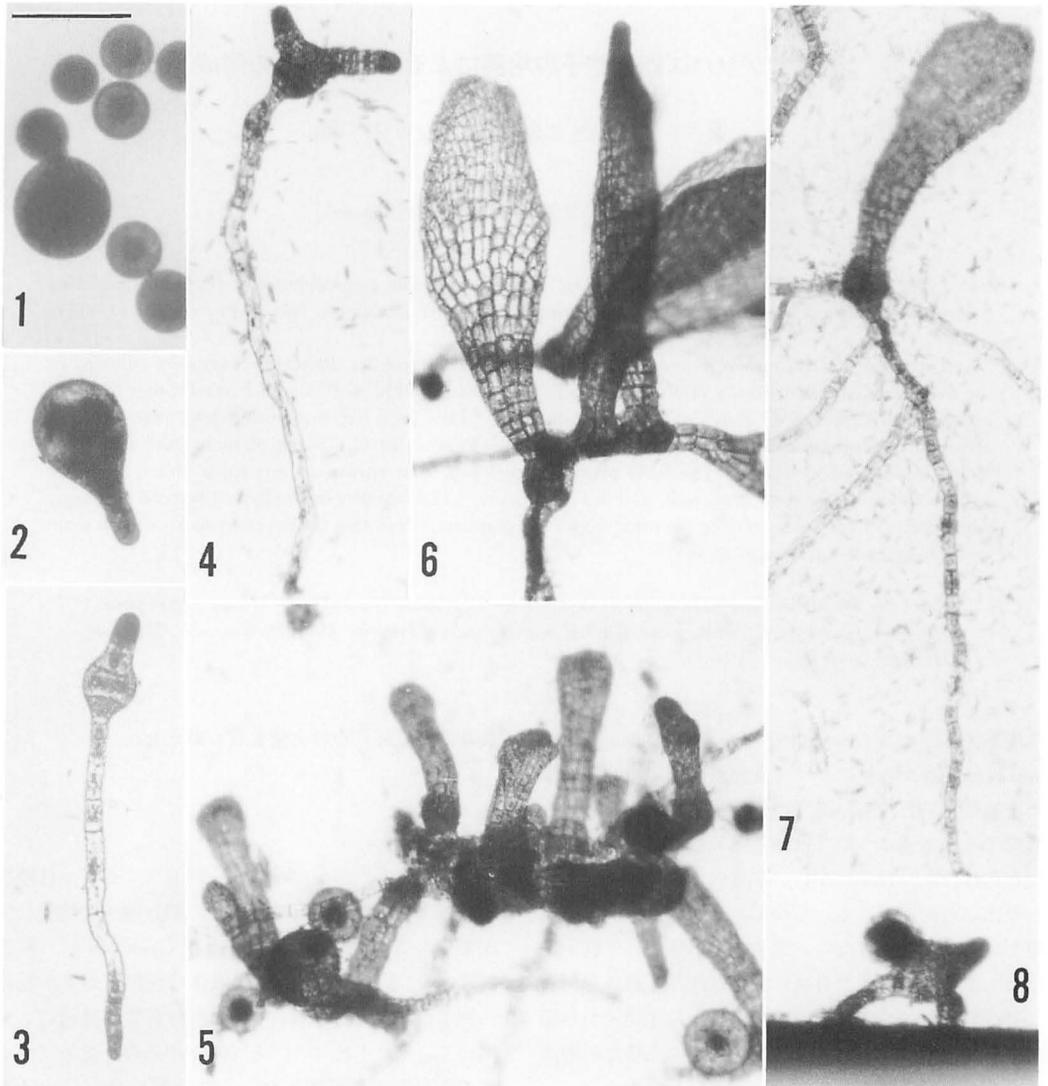
1991年7月14日北海道南茅部郡臼尻で採集したエゾヤハズの四分胞子体を、函館に持ち帰り、北大水産学部の実験室内で四分胞子をスライド上に放出・付着させ、培養を開始した。培養液は改変 Grund 液 (McLachlan 1973) と SLP エキスを0.01%添加した濾過海水 (籾ら, 1984) を用いた。本実験はスライドグラスに付着させた発芽体を、高さ4.5 cm、径18 cm のガラス製シャーレの中に移し、温度は10°Cと20°C、照度は2000 lux、光周期は、12時間明期、12時間暗期とした恒温器 (三洋, MIR-551 型) で培養した。培

養液は5日毎にその全量を取り換えた。

結 果

籾ら (1981) がエゾヤハズと同じアミジグサ目植物であるアミジグサとコモングサの四分胞子を培養して成熟した配偶体を得ている改変 Grund 液と、籾ら (1984) により褐藻ワカメ配偶体の成熟に効果が認められている SLP エキスを0.01%含有する濾過海水を用いて、それぞれ10°Cと20°Cの条件下でエゾヤハズの四分胞子を培養した。その結果、改変 Grund 液20°C下での生育が最も良く、直接糸状型の初期発生様式を示す四分胞子発芽体 (Figs. 1-4) は、培養約10日以後、そこから生じた仮根細胞の多くがその大きさを増し、次いで分裂を開始して直立する葉状体を生じた (Figs. 5, 6)。発芽体が濃密に付着した場所では仮根細胞が枯死し始めたが、生存している仮根の一部の細胞は、培養器内のスライドグラス上に残存するか、又は離脱して培養液中に浮遊し、再びスライドグラス上の他の場所に付着した。その後これらの仮根細胞は葉状体まで生長した (Fig. 8)。

培養開始1ヶ月後に葉状体の多くは長さ2-3 mmに生育し (Fig. 16)、その時約2%の葉状体に単子嚢が生じ、卵の形成を開始した (Figs. 9, 10)。さらに1週間



Figs. 1-8. Liberated tetraspores and their germlings of *Dictyopteris divaricata* (Okam.) Okamura in culture with modified Grund's medium at 20°C (Figs. 1-6, 8) and, with filtered seawater containing 0.01% SLP extract at 20°C (Fig. 7). Bar=0.2 mm.

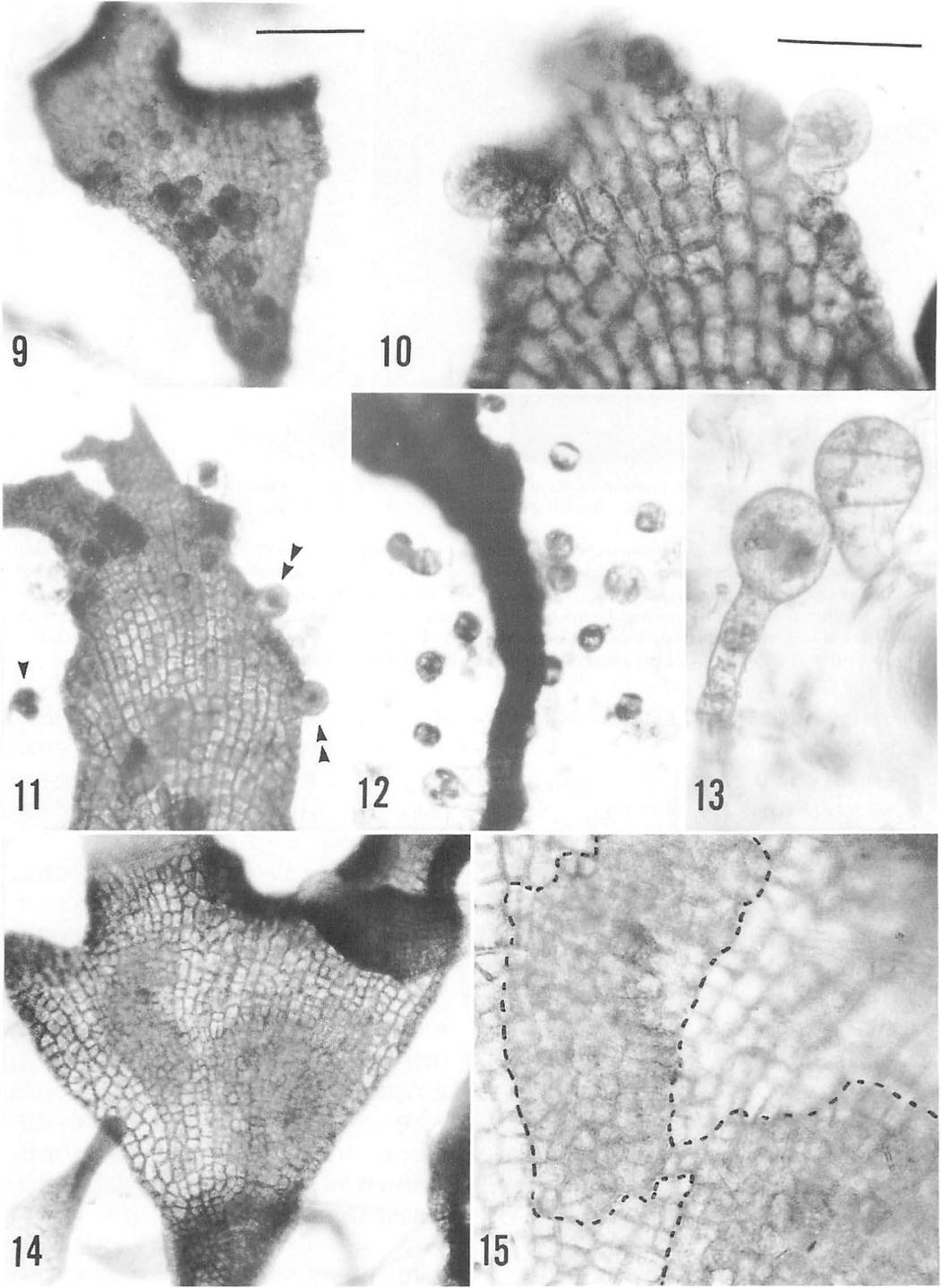
Fig. 1. Liberated tetraspores (1-day culture). Fig. 2. Tetraspore germling (2-day culture). Fig. 3. Tetraspore germling (3-day culture). Fig. 4. Tetraspore germling (4-day culture). Figs. 5, 6. Tetraspore germlings (10-day culture). Fig. 7. Tetraspore germling (10-day culture), producing rhizoidal filaments from the basal part of frond. Fig. 8. Side view of frond from the rhizoidal filaments attached to a slide-glass (10-day culture).

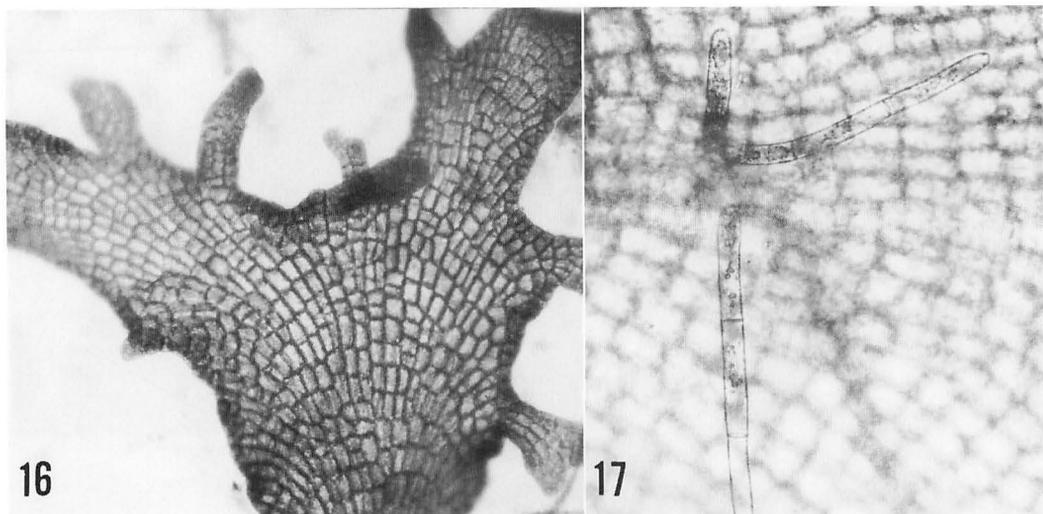
後に卵胞子の放出が認められた (Figs. 11, 12)。卵胞子は径 50~100 μm で、四分胞子 (80~140 μm) より小さく、発芽に際しては、卵の一方に径約 30 μm の発芽管を生じ、それを伸長させ、分裂を行って数個細胞よりなる仮根を形成した。この頃に多くの原細胞は数個の細胞に分割していた (Fig. 13)。

培養開始約40日後にわずか3例ではあるが葉状体の

一部が幾分濃い褐色を帯び、活発に分裂し、造精器を形成した (Figs. 14, 15)。しかし、これらのいずれの体の造精器も完熟せず、精子の放出も認められず、それらの葉状体はそのまま枯死した。

その他の未熟の葉状体は体長約 3.5 mm の大きさまで生長したが、培養後約50日には次第に枯死し始めた。この時、約20%の葉状体ではその先端部付近の細





Figs. 9-17. Further development stages of cultured *Dictyopteris divaricata* (Okam.) Okamura in culture with modified Grund's medium at 20°C. Bar=0.2 mm in Fig. 9 (Figs. 11, 12, 14, 16.), and 0.1 mm in Fig. 10 (Figs. 13, 15, 17).

Figs. 9, 10. Parts of female gametophytes bearing unilocular reproductive organs (30-day culture). Fig. 11. A part of developed female gametophyte (37-day culture). Oospore liberation (indicated by a single arrowhead) and unilocular oosporangia (double arrowheads) are seen. Fig. 12. Liberated oospores from the female gametophyte (38-day culture). Fig. 13. Germinated oospores (40-day culture). Figs. 14, 15. A part of male gametophyte with initiatives of antheridia, which are indicated by dotted lines in Fig. 15 (40-day culture). Fig. 16. Immature thallus (30-day culture). Fig. 17. Upper part of the thallus bearing three hairy filaments (47-day culture).

胞から無色の毛状細胞列（径約 15 μm ）を 1～5 本 (Fig. 17) 生じていた。

改変 Grund 液 10°C と、SLP エキスを 0.01% 含有する濾過海水の 20°C (Fig. 7) と 10°C の条件下では改変 Grund 液 20°C と比べ、四分孢子発芽体の生育は劣り、しかも葉状体の発達や仮根細胞の増殖はみられたものの生殖器の形成・成熟は認められなかった。SLP エキス含有濾過海水 20°C の下で、培養開始 20 日を経た葉状体から生ずる仮根は他の培養条件下のものよりも著しく長くなり、盛んに分枝した。それらの細胞内では通常その両極付近に 1 個ずつの油滴が、その間の細胞質に多数の微小なフーコーサン胞が認められた。これらの仮根の形状や細胞内の特徴は時田ら (1953) の天然における同種の四分孢子体下部に生じる根様系と称した部分に酷似していた。さらに仮根から生じてくる葉状体の形成過程も時田ら (1953) が行った根様系の濾過海水での培養実験の結果とよく一致した。

考 察

エゾヤハズ四分孢子子の培養は Inoh (1936), 西林・猪

野 (1945), 大森・橋田 (1982) によって行われており、このうち西林・猪野 (1945) は初期発生を詳細に図示している。著者らの行った培養でも四分孢子子の初期発生 (Figs. 1-4) は西林・猪野の結果とよく一致した。籾ら (1981) はエゾヤハズの属するアミジグサ目植物でアミジグサとコモングサの四分孢子子を培養し、アミジグサでは約 1 ヶ月、コモングサでは約 3 ヶ月で何れも微小な葉状体の段階で成熟した雌雄の配偶体の形成を誘導することに成功している。著者らはこれらの実験で行った方法に準拠してエゾヤハズの四分孢子子を培養し、約 1 ヶ月で少数ではあるが微小な葉状体上（体長 2-3 mm）に雌雄の生殖器官を形成すること、及び造精器からの精子の放出と受精を観察していないが完熟した生卵器からの卵胞子の放出と発芽を確認した。これらの事実から、アミジグサ目植物のなかには配偶体に微小な葉状体の段階で成熟する性質をもつことが示唆される。

一方、エゾヤハズの属するヤハズグサ属植物において現在迄に天然から四分孢子子体と同形の成熟した配偶体を得た例としては、Johnson (1891) が *Dictyopteris polydiodioides* で雌雄配偶体の体を、又、Tanaka (1960) が *D. fucoides* で同じく雌雄配偶体を、そして松永

(1966) がエゾハヤズで雄性配偶体を報告したにすぎない。著者の一人である籾は、エゾハヤズがよく繁茂する北海道南茅部町臼尻を中心に約30年にわたって同種の配偶体を探し求めてきたが、未だに1個体も見出すことはできていない。今回の培養結果とこれまでの天然における観察から、臼尻近辺では例年夏期の海水温度は 20°C 以上に上昇しているため孢子体から放出された四分孢子は天然においても葉状体が孢子体と同じ大きさまで生長する前に成熟し、微小な配偶体として存在していることも考えられる。

文 献

- Inoh, S. 1936. On tetraspore and its germination in *Dictyopteris divaricata* Okam., with special reference to the mode of rhizoid formation. Sci. Rep. Inst. Algol. Research Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. 1: 213-219.
- Johnson, T. 1891. On the systematic position of the Dictyotaceae, with special reference to the genus *Dictyopteris* Lamour. Jour. Linn. Soc. London Bot. 27: 463-470.
- 松永圭朔 1966. エゾハヤズとアミジグサの雄性生殖器官について. 藻類 14: 8-11.
- McLachlan, J. 1973. Growth media-marine. p. 25-51. In: J. R. Stein (ed.), Handbook of Phycological Methods. Cambridge Univ. Press, New York.
- 西林長朗・猪野俊平 1945. アミジグサ科植物の生活史について I. アミジグサ, エゾハヤズ, オキナワウチワの四分孢子発生. 植物学雑誌 72: 261-268.
- 大森長朗・橋田順子 1982. エゾハヤズの四分孢子の発生機構の解析 VII. 四分孢子発生におよぼすコルヒチンの影響. 藻類 30: 155-158.
- Tanaka, T. 1960. Studies on some marine algae from Southern Japan, III. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ. 9: 91-105.
- 時田 郁・正置富太郎・籾 熙 1953. 褐藻エゾハヤズの根様系について. 北大水産彙報 4: 149-156.
- 籾 熙・安井 肇・高木幹也 1984. SLP エキス (イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液) 添加によるワカメ配偶体の培養. 北大水産彙報 35: 195-200.
- 籾 熙・能登谷正浩・杉本 清 1981. アミジグサとコモングサの培養と細胞学的研究. 藻類 29: 129-134.

(Received August 21, 1992; Accepted February 24, 1993)

Sung Min Boo: Intermediately corticated species, *Ceramium puberulum* (Ceramiales, Rhodophyta)

Key Index Words: Ceramiales—*Ceramium puberulum*—*Mesoceramium*—*Rhodophyta*—Taxonomy.
Sung Min Boo, Department of Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Ceramium Roth is a well-known genus of morphological variability and taxonomic instability in the Rhodophyta. The species occur on most coasts of the world and about 190 species have been credited in the world (Boo and Lee 1993). The taxonomy has been based on vegetative features and tetrasporangial disposition (J. Agardh 1894, Dixon 1960), which have been used in subgeneric grouping as well as description of new taxa. As some diagnostic features were, however, shown to be inconsistent in a species or to be inadequate for a synthetic character, the subgeneric groups proposed by J. Agardh (1894) as well as in the modified scheme (De Toni 1903) have been accepted to be untenable (Hommersand 1963, Womersley 1978). Nakamura (1950) regarded *Ceramium* as a polymorphic genus and separated it into three subgenera; *Hormoceras* with partial cortication, *Mesoceramium* with intermediate cortication and *Euceramium* with full cortication. He gave no satisfactory explanations on *Mesoceramium*, that is probably due to the absence of the members in his material. Although many studies have been carried out on either the *Hormoceras* or the *Euceramium* species in the field as well as in culture (see Boo and Lee 1993), there are few reports on the detailed structure and reproduction of the *Mesoceramium* species.

Ceramium puberulum was originally described by Sonder (1845) from Western Australia. It occurs from Dongarra, West Australia, to Wilson's Promontory, Victoria and northern Tasmania (Womersley 1978, p. 217). The plants are usually epiphytic on seagrasses, *Posidonia* and *Amphibolis* species. The species is characterized by the intermediate cortication in main axis and primary to

secondary spines on the whole plant. In addition to the description by Womersley (1978), the present paper gives further observations on the structure and reproduction of *C. puberulum* and discusses the taxonomic significance.

During July 1987, material for observation was collected on Aldinga beach, South Australia. Some 81 specimens, all of which were epiphytic on *Posidonia sinuosa* Cambridge et Kuo, were collected, comprising 45 cystocarp-bearing female, 16 male, 9 tetrasporic and 11 sterile plants (Boo, July 1987: Herbarium of the Department of Biology, Chungnam National University, Daejeon, 001027). For microscopic examination, materials were stained with 0.5% aniline blue and acidified with about 1% hydrochloric acid. Herbarium specimens were also available: the Agardh herbarium, LD; the Thuret herbarium, PC; AD. Herbarium abbreviations are according to Holmgren *et al.* (1990).

Observations: Plants (Fig. 1A) are 5–10 cm long and light to dark red in color. They are attached by rhizoids to *Posidonia* and are erect and much branched. Rhizoids are produced from periaxial, inner and outer cortical cells. They aggregate and form a compact discoid holdfast. Plants are pseudodichotomously branched and 25 to 30 lateral branches are produced on a main axis.

Main axis consists of axial, periaxial and cortical cells. Axial cells are produced from the oblique division of apical cells. The diameter including cortical cells ranges from 162 to 440 μm with a mean of $269 \pm 63 \mu\text{m}$ and the length from 162 to 580 μm with a mean of $376 \pm 87 \mu\text{m}$ ($n=55$) in the middle between the 8th and the 11th dichotomy from apex. Seven to eight periaxial cells are alternately formed from each axial cell (Fig. 4B).

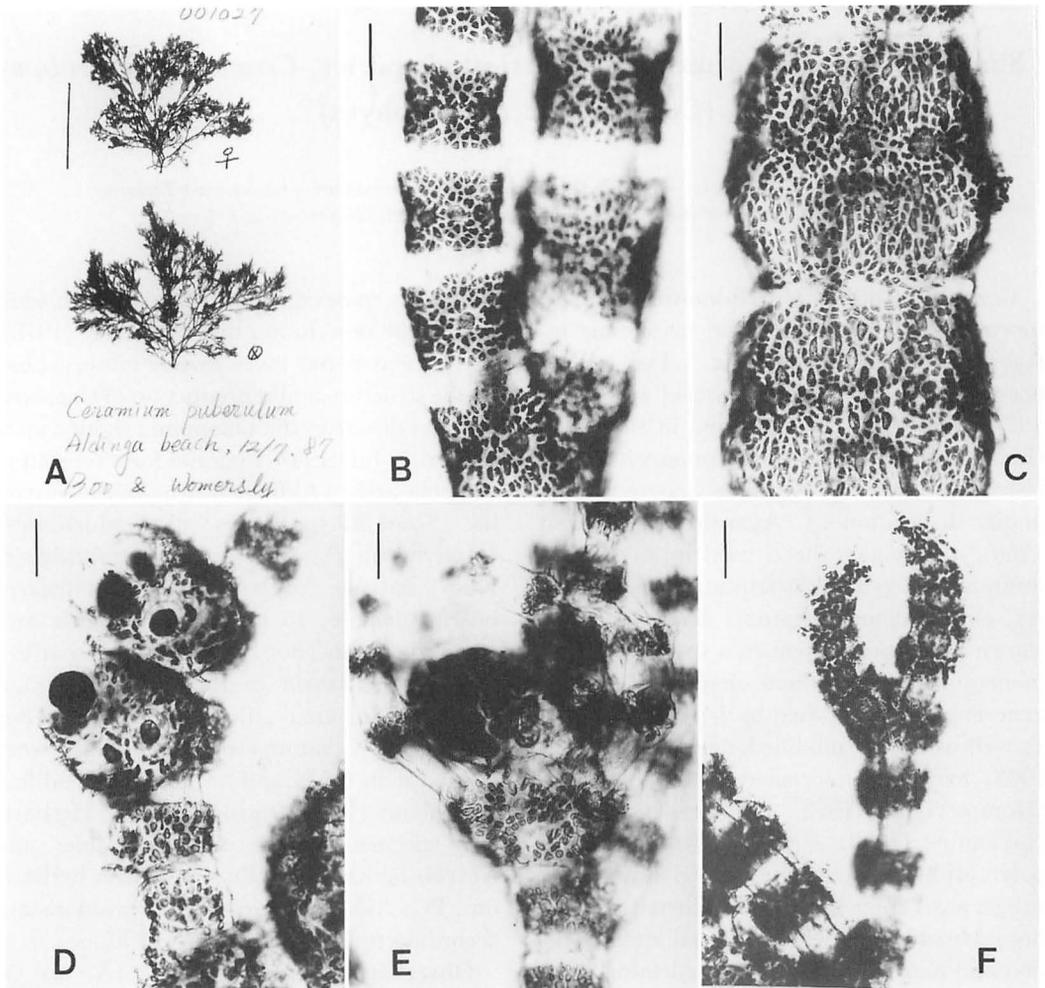


Fig. 1. *Ceramium puberulum* (Herbarium of the Department of Biology, Chungnam National University, 001027). A: habit of a cystocarp-bearing female and a tetrasporic plant (Scale bar 2 cm). B: Partly corticated node. C: fully corticated node. D: Tetrasporangial branch. E: Cystocarp and involucre branches. F: Spermatangial branch (Scale bars 100 μ m).

Cortical cells are produced in basipetal and acropetal directions from the periaxial cells (Fig. 2A-D). Inner cortical filaments are well developed from periaxial cells in the lower axis, and are elongate, slender and branched dichotomously. Cortical cells envelope only the nodes in upper branches while inner and outer cortical cells entirely cover the lower whole axis (Fig. 1B-C). The ratio of the length of the cortical band to the length of the axial cell, which is taken from the middle node in each dichotomy, shows that the axes from apex to the thirteenth or fourteenth

dichotomy are incompletely corticated while completely corticated below it (Fig. 3).

Spines are produced from periaxial cells in upper branches (Fig. 4A). They are one to several in a node and up to five-celled. In the lower axis, small spines are produced from cortical cells and are one- to two-celled.

Branches are formed at irregular intervals of 3-5 nodes. Branching pattern is pseudodichotomous to alternate. Adventitious branches are frequently produced from periaxial cells. They are short and occur at very irregular intervals.

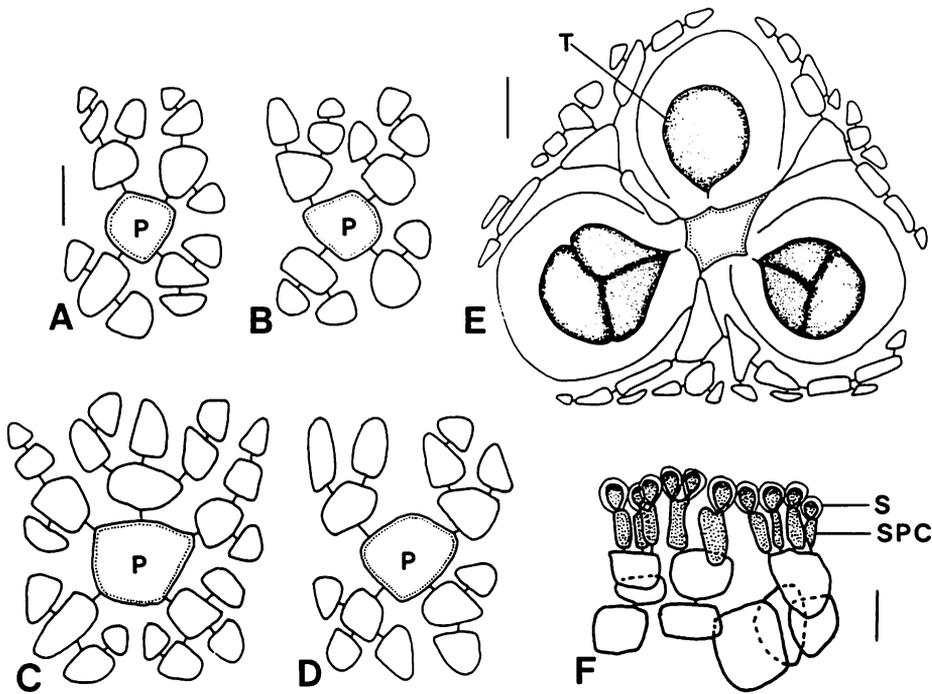


Fig. 2. *Ceramium puberulum*. A-D: Development of cortical cells from a periaxial cell (Scale bars 50 μm). E: Formation of three tetrasporangia from a tetrasporangial mother cell (Scale bar 50 μm). F: Spermatangial formation (Scale bar 80 μm) (P: periaxial cell, S: spermatangium, SPC: spermatangial parent cell, T: tetrasporangium)

Tetrasporangia are usually produced from the middle to upper region of main branches, but rarely occur on the lower fully corticated axis. They are at first single but later several per node, and are normally in unilateral and abaxial rows (Fig. 1D). The first-formed periaxial cell produces several cortical cells and becomes a tetrasporangial mother cell. One to three tetrasporangia are formed from a single periaxial cell (Fig. 2E) and form a rounded tetrasporangial group. All tetrasporangia are entirely enveloped by small cortical cells and become prominent on nodes, with no naked regions between the nodes. The tetrasporangia measure $95 \pm 11 \mu\text{m} \times 82 \pm 7 \mu\text{m}$ ($n=33$) including sheath and $71 \pm 13 \mu\text{m} \times 62 \pm 9 \mu\text{m}$ excluding sheath. The division is tetrahedral.

Carpogonial branches are usually produced in the abaxial side of the upper region of main branches (Fig. 4A). A vegetative cell group is at first produced from the first-formed periaxial cells (Fig. 4B) and consists of two to

several cells. It stops growth after fertilization and remains attached even until the formation of gonimolobes. Carpegonium

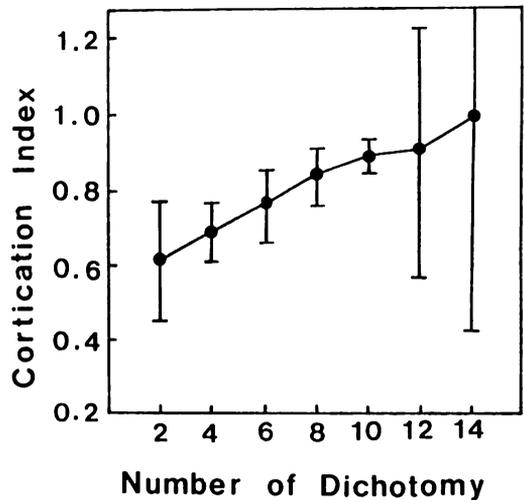


Fig. 3. Cortication index in the middle node of each dichotomy in plants ($n=21$) with about twenty-seven dichotomous branches (mean \pm SD). Below the 14th dichotomy, main axes are completely corticated.

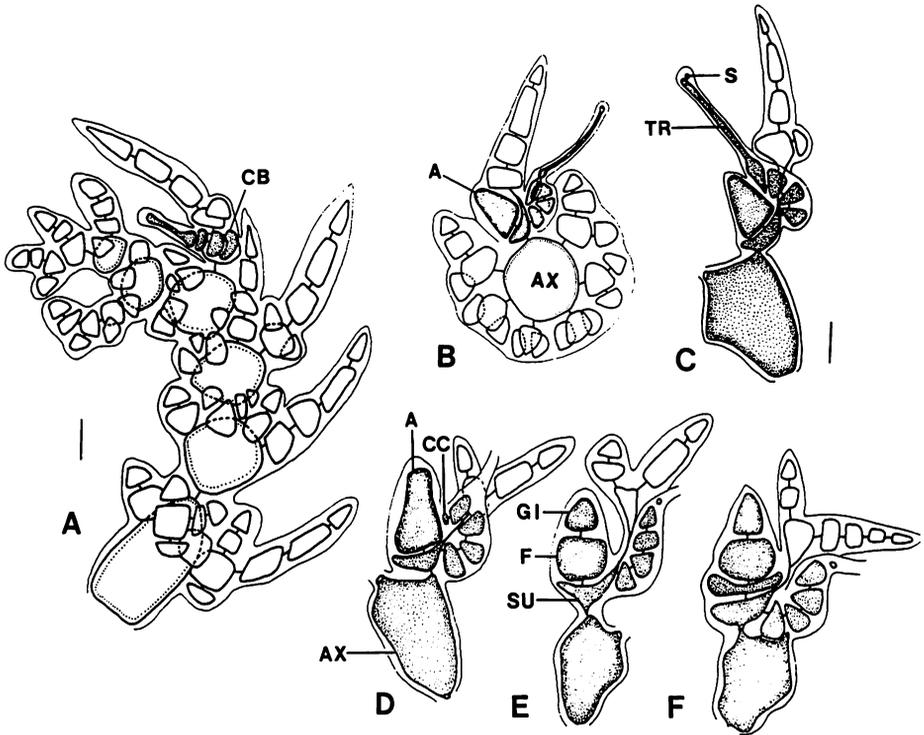


Fig. 4. *Ceramium puberulum*. A: Young branch with a carpogonial branch (Scale bar $50\ \mu\text{m}$). B: Cross section of cortical node with a carpogonial branch. C: A spermatium attached on trichogyne. D: A connecting cell cut off from carpogonium. E: Formation of a foot cell and a gonimoblast initial. F: The first division of a gonimoblast initial (Scale bars $60\ \mu\text{m}$). (A: auxiliary cell, AX: axial cell, CB: carpogonial branch, CC: connecting cell, F: foot cell, GI: gonimoblast initial, P: periaxial cell, S: spermatium, SU: supporting cell, TR: trichogyne)

always originates from the same first-formed periaxial cells and carpogonial branch is four-celled with a long slender trichogyne (Fig. 4B). When a spermatium is attached on the trichogyne apex and fertilization is completed, the supporting cell produces an upper auxiliary cell (Fig. 4C). The carpogonium synchronously produces a small connecting cell toward the auxiliary cell (Fig. 4D) and this connecting cell fuses with the auxiliary cell. The auxiliary cell divides into an upper gonimoblast initial and a lower foot cell (Fig. 4E). In later stages, axial cell fuses with the supporting and the foot cell and the fusion cell mechanically supports gonimoblasts. The gonimoblast initial (Fig. 4F) produces two to three gonimolobe initials which divide to become gonimolobes of a spherical carposporophyte (Fig. 1E), measuring $250 \pm 42\ \mu\text{m} \times 232 \pm 44\ \mu\text{m}$ ($n=37$). They are surround-

ed by (5)–(7) involuclral branchlets, which are produced from the periaxial cells below the axial cell bearing gonimolobes.

Spermatangia are produced from the middle to the upper region of main branches, which are partly corticated at the nodes, while absent on the growing apex or on the fully corticated lower axis. They initially occur on the adaxial side of branches and later cover the whole cortical nodes, forming dense patches (Fig. 1F). All cortical cells at upper branches can lose plastids and become spermatangial parent cells. Each spermatangial parent cell produces one to two spermatangia as clavate protrusions (Fig. 2F). Spermatangia are colorless, elliptical to spherical and measure $2\text{--}4\ \mu\text{m} \times 3\text{--}6\ \mu\text{m}$.

Discussion: Rhizoidal morphology has been known as a diagnostic character for separating *Ceramium* from the related genus,

Campylaeophora. According to Nakamura (1950, 1954, 1965), filamentous rhizoids occur in the former genus while discoid ones occur in the latter genus. *Ceramium puberulum* has a compact discoid holdfast, that may imply the relationship to *Campylaeophora* species. It is probable that the discoid holdfast is developed as a result of an epiphytism on seagrasses and other hard plants, that requires reappraisal on the diagnosis of *Campylaeophora*.

The pattern of cortical development is one of the most important characters in the genus *Ceramium* and the taxonomic importance has fully been discussed by Dixon (1960) and Womersley (1978), with detailed observations on many species. Recent culture studies, however, have shown the plasticity in cortication degree in different culture conditions (Cormaci and Motta 1987, Garbary *et al.* 1978). *C. puberulum* typically shows partial cortication on upper branches while elongate and slender inner cortical cells are well developed on lower axis and, with small and round cortical cells, entirely cover it. The cortication index also implies that the cortication is gradually developed from the upper portion to the lower portion of thallus, as seen in Figure 2. Many specimens are deposited in the Agardh herbarium (LD 20728-85), LD, the Thuret herbarium (numbers not given), PC and AD (A43888 and others), from within the geographic range from Western Australia to Tasmania. The herbarium material shows the same habit and cortical morphology as the plants from Aldinga beach. The intermediate form of cortication is considered to be a consistent and good character for *C. puberulum*, but culture studies would be valuable.

There are two types of spines in the genus *Ceramium*; the primary spines from periaxial cells and the adventitious ones from cortical cells (Dixon 1960). Although only one type of spines occurs in most species, primary spines in *C. puberulum* are three- to five-celled on young branches while the adventitious ones are one-celled on older axes. In this point, it is related to *C. flabelligerum* J. Agardh, but the latter species is distinguished

by being fully corticated.

Tetrasporangial division and disposition should be assessed with caution for the diagnostic value and taxonomic utility in *Ceramium* species. Tetrasporangia of *C. puberulum* divide tetrahedrally and are unilaterally arranged. Tetrasporangia in *Ceramium* show a consistent form of division (Hommersand 1963, Boo 1985), but often divide tetrahedrally to cruciately in a single species (Rosenvinge 1924, Dixon 1960, Womersley 1978). Furthermore, in two Australian species, opposite to unilateral tetrasporangia are found in the different portions of main branches (Womersley 1978).

As is seen in Figure 2C, two to three tetrasporangia in *C. puberulum* originate at a same time from a single periaxial cell (Fig. 2C) and form a rounded tetrasporangial group. This is the same with the figure (as *Celeceras monilis* Kützing) of Kützing (1862, pl. 95b, d), according to Womersley (1978), which must have been mis-interpreted as galls by Dixon (1960, p. 347). Since the previous reports on the genus show that a single tetrasporangium originates from a single periaxial or a cortical cell (Dixon 1960, Hommersand 1963), the taxonomic value of tetrasporangial formation in *C. puberulum* needs further comparative studies with other taxa.

The sexual reproductive organs agree well with the previous descriptions on other *Ceramium* species (Miranda 1929, Hommersand 1963, Itono 1977, Gillis and Coppejans 1982, Boo and Lee 1985). Although two carpogonial branches are reported to occur on a basal cell (Janczewski 1876, Rosenvinge 1924, Dammann 1930, Dixon 1960), a single carpogonial branch is found on a basal cell in *C. puberulum*, as is the case of most species of the genus. The fertilized carpogonium is connected with the auxiliary cell by a small connecting cell; this agrees well with *C. flabelligerum* (Miranda 1929) but not with American species which have connecting filaments (Hommersand 1963). There is also a report that supporting cell functions directly as the auxiliary cell (Nakamura 1954). The sper-

matangial features show no differences with those of other *Ceramium* species (e.g. Hommersand 1963).

As indicated in the introduction, Nakamura (1950) established the subgenus *Mesoceramium*, which was typified with *Ceramium fruticulosum* Kützinger. He argued that the primitive cortication type in *Hormoceras* [as in *C. codii* (Richards) G. Mazoyer] progressed through an intermediate type in *Mesoceramium* to the ultimate development in *Euceramium*, that seems to give a phylogenetic relationship to the cortication degree. The subgenera were adopted in his later publications (Nakamura 1954, 1965) and by Itono (1981), but *Hormoceras* and *Euceramium* were already not recognised by Womersley (1978). There have, however, been no comments on the included taxa and circumscription of *Mesoceramium*.

Ceramium fruticulosum, which occurs on the European coast, is distinguished by the intermediate cortication, the absence of spines and two carpogonial branches on a single supporting cell (Rosenvinge 1924, Boo unpublished). There are no detailed studies on the nodal cortication in the field, but it depended on the culture conditions (Garbary *et al.* 1978). According to Feldmann-Mazoyer (1940), *C. flabelligerum* var. *mediterraneum* Debray from Europe has the intermediate cortication and spines, that shows the close relationship to *C. puberulum*. Because of insufficient materials of Debray, she didn't reach any conclusion. I tried to find Debray's herbarium, but without success. *C. puberulum* also belongs to *Mesoceramium* on the basis of intermediate cortication, but other vegetative and reproductive features accord with the general description of *Ceramium*. Except for these three taxa, there are few other species with the intermediate cortication in the genus. The present information on *Ceramium* is too insufficient to conclude which feature is more significant in evolution and phylogeny. There are also no discussions on the phyletic relationships in the *Ceramium* species. The above facts show that the establishment of the subgenus *Meso-*

ceramium, which should be circumscribed by the cortication degree only, is unreasonable.

Acknowledgements: This study was supported by KOSEF and was carried out during his short visit to Adelaide in 1987 and to Paris in 1992. The author thanks Prof H. B. S. Womersley, Dr F. Ardré, Prof S. Snogerup for hospitality in Adelaide, Paris and Lund. Many thanks are extended to Prof Womersley for critical reading of this manuscript and Mrs Womersley for field collection with the author.

References

- Agardh, J. G. 1894. *Analecta algologica. Observationes de speciebus algarum minus cognitiss earumque dispositione. Continuatio II.* Acta Univ. Lund **30**: 1-99.
- Boo, S. M. 1985. A systematic study on six tribes of Ceramiaceae (Rhodophyta, Ceramiales) in Korea. Unpublished Ph. D. Thesis, Seoul National University, Seoul.
- Boo, S. M. and Lee, I. K. 1985. A taxonomic reappraisal of *Ceramium fastigiatum* Harvey (Ceramiaceae, Rhodophyta). Korean J. Bot. **28**: 217-224.
- Boo, S. M. and Lee, I. K. 1993. *Ceramium* and *Campylaeophora* (Ceramiaceae, Rhodophyta). In: Akatsuka, I. (ed.), *Biology of Economic Seaweeds*. SPB Academic Publishing, Hague. in press.
- Cormaci, M. and Motta, G. 1987. Osservazioni sulla morfologia di *Ceramium rubrum* (Hudson) C. Agardh (Rhodophyta, Ceramiales) in coltura e considerazioni sulla sua tassonomia. Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat. **20**: 239-251.
- Dammann, H. 1930. Entwicklungsgeschichtliche und zytologische Untersuchungen an Helgoländer Meeresalgen. Wiss. Meeresunter. Abt. Helgoländer **18**: 1-35.
- De Toni, G. B. 1903. *Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum. Vol. 4. Florideae. Sect. 3.* 775-1525. Padua.
- Dixon, P. S. 1960. Studies on marine algae of the British Isles: the genus *Ceramium*. J. mar. biol. Ass. U.K. **39**: 331-374.
- Feldmann-Mazoyer, G. 1940. Recherches sur les Céramiacées de la Méditerranée occidentale. Minerva, Alger.
- Garbary, D., Grund, D. W. and McLachlan, J. 1978. The taxonomic status of *Ceramium rubrum* (Huds.) C. Ag. (Ceramiales, Rhodophyta) based on culture experiments. Phycologia **17**: 85-94.
- Gillis, J. and Coppejans, E. 1982. Les structures de reproduction femelle de quelques Ceramiales (Rhodophyta) des côtes du nord de la France. Bull. Soc. r. Bot. Belg. **115**: 209-227.

- Holmgren, P. K., Holmgren, N. H. and Barnett, L. C. 1990. Index Herbariorum, Part 1: The herbaria of the world. ed 8. Regnum veg. 120: 1-693.
- Hommersand, M. H. 1963. The morphology and classification of some Ceramiaceae and Rhodomelaceae. Univ. Calif. Publs Bot. 35: 165-366.
- Itono, S. 1977. Studies on the ceramiaceous algae (Rhodophyta) from southern parts of Japan. Bibliotheca Phycologia 35: 1-499.
- Itono, S. 1981. Taxonomic and distributional accounts on the ceramiaceous algae (Ceramiiales, Rhodophyta)—VI. Aquabiology 3: 69-73.
- Janczewski, E. 1876. Notes sur le développement du cystocarpe dans les Floridées. Mém. Soc. Sci. nat. Cherbourg 20: 109-144.
- Kützing, F. T. 1862. Tabulae Phycologicae. Vol. 12. Nordhausen.
- Miranda, F. 1929. El desarrollo del cistocarpio en una Ceramiacea (*Ceramium flabelligerum* J. Ag.). Bol. Soc. esp. Hist. nat. 29: 47-52.
- Nakamura, Y. 1950. New *Ceramium* and *Campylaephora* from Japan. Sci. Pap. Inst. Algol. Res. Fac. Sci. Hokkaido Univ. 3: 155-172.
- Nakamura, Y. 1954. The structure and reproduction of the genera *Ceramium* and *Campylaephora* in Japan with special reference to criteria of classification. Sci. Pap. Inst. Algol. Res. Fac. Sci. Hokkaido Univ. 4: 15-62.
- Nakamura, Y. 1965. Species of the genera *Ceramium* and *Campylaephora* especially those of Northern Japan. Sci. Pap. Inst. Algol. Res. Fac. Sci. Hokkaido Univ. 14: 52-71.
- Rosenvinge, L. K. 1924. The marine algae of Denmark. Vol. I. Part III. Rhodophyceae III (Ceramiiales). K. danske vidensk. Selsk, Raekke 7, 7: 287-486.
- Sonder, O. G. 1845. Nova algarum genera et species, quas in itinere ad oras occidentales Novae Hollandiae collegit L. Preiss. Bot. Ztg. 3: 49-57.
- Womersley, H. B. S. 1978. Southern Australian species of *Ceramium* Roth (Rhodophyta). Aust. J. Mar. Freshwat. Res. 29: 205-257.

S. M. Boo : 部分的に皮層を持つ種, *Ceramium puberulum* (イギス科, 紅藻) について

部分的に皮層をもつ種である *Ceramium puberulum* Sonder の形態及び生殖について, 南オーストラリアアルディンガ海岸より採取した材料と Agardh ハーバリウム, Thuret ハーバリウムからの標本をもとに, 詳細に比較・観察した。その結果, 単一の四分孢子母細胞から 1-3 ケの四分孢子囊が形成されるのを除くと, 他の栄養細胞及び生殖細胞の特徴は *Ceramium* 属にみられるものとよく一致した。最近, 皮層化の程度の *Ceramium* 属における系統進化上の重要性については否定的な見解がなされていることも考慮すると, 皮層化の程度で設立された亜属 *Mesoceramium* の存続はあまり意味のないものと思われる。(Department of Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)

(Received October 15, 1992: Accepted April 16, 1993)

緑色植物におけるセルロース合成酵素複合体の多様性と進化

奥田一雄・水田 俊

高知大学理学部生物学教室 (780 高知市曙町2-5-1)

Okuda, K.* and Mizuta, S. 1993. Diversity and evolution of putative cellulose-synthesizing enzyme complexes in green plants. Jpn. J. Phycol. 41: 151-173.

A current summary of putative cellulose-synthesizing enzyme complexes in green plants is presented, and particular emphasis on the evolutionary trends of terminal complexes is given.

Cellulose, the most abundant biopolymer on earth, is found widely in various organisms such as land plants, algae, fungi, protists, prokaryotes and animals. Cellulose is a linear homopolymer composed of β -1,4-linked D-glucopyranosyl units, and it forms crystalline microfibrils by intrachain- and interchain-hydrogen bonds and van der Waals interaction of the units. The major cellulose-producing green plants have cellulose in the form of crystalline microfibrils in their cell wall. Cellulose microfibrils are believed to be assembled by plasma membrane-bound enzymes. Using freeze-fracture technique, particle aggregates associated with the terminus of cellulose microfibril impressions on the plasma membrane leaflets (EF and PF) have been revealed. They are designated terminal complexes (TCs), which are assumed to function as cellulose-synthesizing enzyme complexes. Four distinct types of TCs have been found in various green plants. Linear TCs are composed of tightly packed particles forming multiple linear rows, and they are observed on only EF in chlorococcalean algae such as *Oocystis*, or on both EF and PF in siphonocladalean algae such as *Valonia*. Rosette/globule TCs have two components complementary to one another in the plasma membrane, a rosette consisting of six particles on PF and a globule on EF. Rosette/globule TCs occur not only in zygnematalean and charalean algae such as *Micrasterias* and *Nitella*, but also in all land plants so far examined. The other TC type is found in *Coleochaete scutata*, composed of octagonally arranged particles on PF complementary to a cluster of many closely packed particles on EF. Based on the number of glucan chains calculated from the size of cellulose microfibrils, the particle subunits of TCs are assumed to contain 6-10 cellulose synthases, each of which polymerizes one glucan chain. The size of cellulose microfibrils in *C. scutata* (5.5×3.1 nm) is slightly broader than elementary fibrils (3.5×3.5 nm) assembled by solitary rosette/globule TCs. The elementary fibrils are much smaller than cellulose microfibrils assembled by linear TCs (20×17 nm in *Valonia*), but hexagonal arrays or linear rows of rosette/globule TCs are organized so that broad microfibrils may be formed by lateral association of the elementary fibrils in some zygnematalean algae. Cellulose $I\alpha$ allomorph occurs in the cellulose microfibrils assembled by linear TCs, whereas cellulose $I\beta$ allomorph occurs in the elementary fibrils. Green plants are divided into five groups according to TC types, the location of linear TCs in the plasma membrane and the presence or absence of the packed arrays of rosette/globule TCs: chlorococcalean algae; siphonocladalean (cladophoralean) algae; *Coleochaete scutata*; zygnematalean algae except for *Mougeotia*; *Mougeotia*, charalean algae and land plants.

Based on the hypothesis that the origin of cellulose synthase is the same among green plants, the evolutionary trends of TCs to assemble distinct cellulose microfibrils are postulated: The initial stage of TC evolution may have been the aggregation of 6-10 cellulose synthases to form a TC subunit. In the second stage, components that linked TC subunits to organize TCs were acquired, and there were two distinctive modes to arrange TC subunits. One led to a linear row of the TC subunits, which crystallized cellulose $I\alpha$ allomorph and deposited thin, ribbon-like microfibrils. The other led to a rosette consisting of six TC subunits, which crystallized cellulose $I\beta$ allomorph and deposited elementary fibrils. The third stage was the acquisition of factors to be involved in the specific arrangement and consolidation of TCs. Some of the single linear row of the TC subunits were arranged in parallel to organize linear TCs consisting of multiple rows of the TC subunits, which assembled thick cellulose microfibrils. The organization of the packed arrays of the rosettes was responsible for the formation of broad cellulose microfibrils. The TCs of *Coleo-*

* Correspondence.

chaete scutata were derived from the rosettes. Finally, advanced TCs acquired elements to connect with cortical cytoskeletons, and they were involved in mechanisms that controlled cell growth and differentiation.

Cellulose synthase might be one of the most ancient molecules that primitive living organisms had acquired, since some extant procaryotes such as *Acetobacter* synthesize cellulose. There is the concept of multiple origins of cellulose synthase, where the genes involved in cellulose biogenesis in eucaryotic cells had been brought by symbiotic captures from different ancestral procaryotes independently.

Key Index Words: cellulose—cellulose biogenesis—cellulose microfibril—putative cellulose-synthesizing enzyme complexes—evolution—freeze fracture—green plants—terminal complexes.

Kazuo Okuda and Shun Mizuta, Department of Biology, Faculty of Science, Kochi University, Akebono-cho, Kochi 780, Japan

セルロースは生物によって毎年約1兆トン合成され、地球上で最も大量に生合成されるポリマーの一つである (Franz and Blaschek 1990)。セルロースを原料として、紙、衣類、セルロイド、写真フィルムなどの重要な工業製品が生産され、その量はすでに265億トン存在していると見積もられている。しかし、人類ははまだセルロースを厳密な意味で化学的に合成することができない (Kobayashi *et al.* 1991)。

セルロースは植物のみならずバクテリアから動物まで生物界の広い範囲で分布する。グラム陰性菌 (Deinema and Zevenhuizen 1971) や藍藻ネンジュモ (Frey-Wyssling and Stecher 1954, Winder *et al.* 1990) 等の原核生物、細胞性粘菌や卵菌等の菌類 (Parker *et al.* 1963)、緑藻、褐藻、紅藻等の藻類 (Cronshaw *et al.* 1958)、及び陸上植物はセルロースをもつことが知られている。また、ホヤの皮嚢細胞はセルロースを含み (Wardrop 1970)、皮膚硬化症という皮膚病に冒された人間の細胞はセルロースを合成すると報告されている (Hall *et al.* 1960)。これらの中で、セルロースの生合成に最も寄与しているのは藻類と陸上植物である。

植物の細胞壁の中で、セルロースは結晶化したセルロース微繊維 (セルロースマイクロフィブリル) の形で存在している。細胞壁は、植物の成長や形態形成のコントロールに重要な役割を果たす。即ち、細胞がその形を保つためには細胞壁は細胞の膨圧に耐えるだけの強度をもつことが必要であり、また逆に、細胞が伸長するとき、あるいはその形を変えるときには細胞壁は緩まなければならない。細胞壁を構成する多くの成分の中で、セルロース微繊維は細胞壁の骨格として細胞壁の強度を維持し、またセルロース微繊維の配列の方向が細胞の伸長方向を規定すると考えられている (Green 1980)。一般的に、セルロース微繊維が細胞壁に沈着する位置や方向は、原形質膜直下に分布している間期細胞表層微小管によって制御されている (Seagull 1989)。

セルロース微繊維は、原形質膜で合成される

(Haigler 1985, Delmer 1991)。他の細胞壁多糖類へミセルロースとペクチンはゴルジ体で合成された後、ゴルジ小胞のエクソサイトシスによって原形質膜外に分泌される (Moore *et al.* 1991) のに対して、セルロース微繊維の合成は原形質膜上で直接起こる。生化学的に単離された原形質膜及びその原形質膜を溶解して得られる蛋白質がUDP-グルコースを基質としてセルロースを合成する活性をもつので、セルロースの合成は原形質膜に結合したグリコシルトランスフェラーゼを含むセルロース合成酵素によって起こると考えられている (Okuda *et al.* 1993)。

フリーズフラクチャー法 (凍結切断法) は、原形質膜に結合している蛋白質の顆粒を電子顕微鏡で観察することを可能にした。1976年には、フリーズフラクチャー法によって初めて、淡水緑藻オオキスチス (*Oocystis*) の原形質膜内表面にセルロース微繊維の先端に位置する顆粒の集合体が発見された (Brown and Montezinos 1976)。この顆粒の集合体はTCs (terminal complexes) と名付けられ、セルロース微繊維を形成するセルロース合成酵素の複合体であると仮定された。以来TCsは他の多くの植物種でも見いだされ、その結果、TCsには形態の異なるいくつかのタイプがあって、同じ系統群に属する植物種は同じタイプのTCsをもつことがわかってきた。

本論では、セルロース微繊維及びTCsの観察方法と形態をできるだけわかりやすく解説した後、緑藻とジャジク藻を含む緑色植物のTCsの多様性と進化について考察する。なお、セルロース微繊維の形成、および藻類のセルロース性細胞壁の構造と形成については、すでに伊東 (1986) と水田 (1987a, b) の総説がある。また、もっと詳しく知りたい読者のために、セルロースの構造に関しては Preston (1974)、French (1985) を、セルロース微繊維の配列方向の制御、および植物細胞の成長制御に関しては Heath and Seagull (1982)、Seagull (1989)、Emons *et al.* (1992) を、セルロースの *in vitro* 合成に関しては Delmer (1987)、Read and

Delmer (1991), Ross *et al.* (1991) を、TCs に関しては Brown (1985), Itoh (1989), Quader (1991), Emons (1991) を参照されたい。

1. セルロースの構造

Franz and Blaschek (1990) に従って、セルロースの構造を簡単に述べる。セルロースは、D-グルコースが β -(1 \rightarrow 4) 結合で重合した直鎖状の多糖、即ち (1 \rightarrow 4)- β -D-グルカンである。このグルカン鎖(セルロース分子)は、セロビオシル単位の繰り返しからなる (Fig. 1)。 β -(1 \rightarrow 4) 結合のまわりに形成される2つの水素結合によって、両側のグルコース分子は自由に回転しないので、(1 \rightarrow 4)- β -D-グルカン鎖はまっすぐに伸び

たりボン状の形をとる。また、このようなグルカン鎖がそのリボンと同一の面で平行に同じ方向に並ぶとき、両者のグルカン鎖の間にも水素結合が形成される (Fig. 1)。その結果、平行なそれぞれのグルカン鎖はその配置が固定され、それぞれがひとつの平面 (002) 上に配列するようになる (Fig. 2)。さらに、向かい合う平行な平面 (002) に配列するグルカン鎖の間に、疎水結合(ファンデルワールス力)が形成される。このように、グルカン鎖分子内及び分子間に形成される水素結合、さらにはグルカン鎖分子間の疎水結合によって、多数のグルカン鎖が全体として整然と配列する構造を、一般にセルロース微繊維と呼ぶ (Fig. 2)。セルロース微繊維は、それを構成するグルカン鎖が周期的な分子配列をとっているため、結晶である(実際は

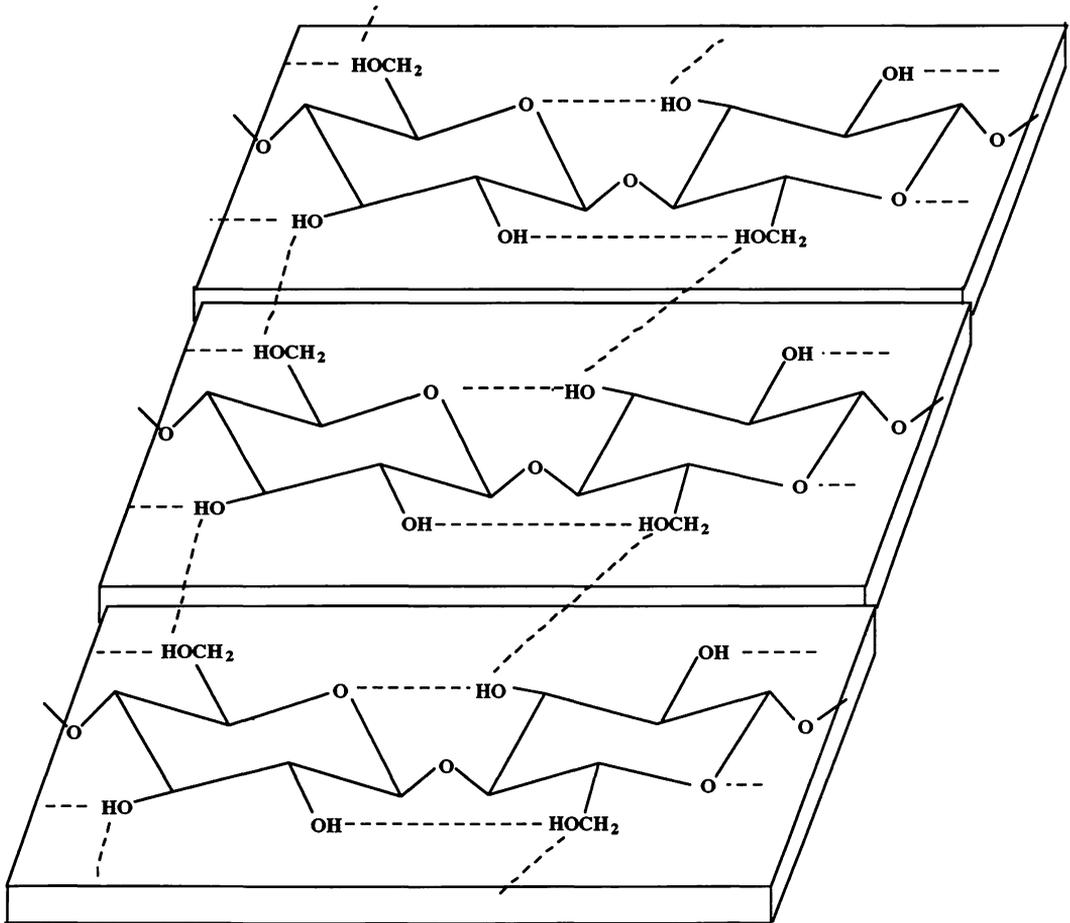


Fig. 1. Structure of native cellulose showing hydrogen-bonding network in the sheet parallel to the (002) plane. Hydrogen bonds are shown by dashed lines. Ribbon-like, β -1,4-linked glucan chains are arranged in sheets, stabilized by hydrogen bonds in two directions: the OH-3' \cdots O-5 and OH-2 \cdots OH-6' intrachain hydrogen bonds along the chain, and the intermolecular OH-6' \cdots OH-3 hydrogen bonds, approximately perpendicular to the chain axis. (Modified after Franz and Blaschek 1990.)

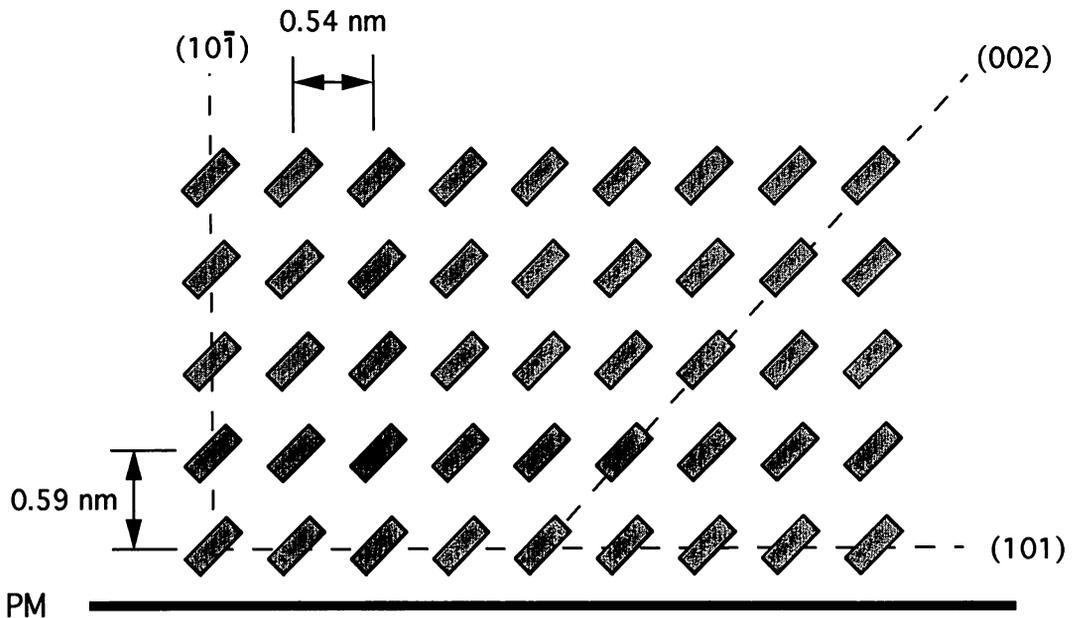


Fig. 2. Schematic drawing of the cross-section of a native crystalline cellulose microfibril. Each rectangle showing the cross-section of ribbon-like glucan chains. Crystalline lattice planes (101, $10\bar{1}$ and 002) are presented, plane distances being 0.59 nm between (101)-planes, 0.54 nm between ($10\bar{1}$)-planes and 0.39 nm between (002)-planes (not shown). PM, plasma membrane. (an original drawing by K. Okuda and S. Mizuta, adopting interplanar d-spacings in Franz and Blaschek 1990.)

非結晶部分も含んでいる)。このことがセルロース微繊維が強固であり、細胞壁に強韌性を与える所以となっている。

セルロースは、結晶構造の異なるいくつかの同質異形体（セルロース I, II, III, IV）を造る（Blackwell 1982）。一部の例外を除いて、天然セルロースは、セルロース I 同質異形体である。天然セルロースを水酸化ナトリウム水溶液で処理すると、セルロース II に不可逆的に変化する。それゆえ、天然セルロースは熱力学的に不安定な結晶構造をとっていると考えられている。人造繊維の一種、レーヨンはセルロース II 同質異形体である。最近、 ^{13}C -NMR と低エネルギー電子線回折によって、天然セルロースは、結晶構造が微妙に異なるセルロース I α （三斜晶）とセルロース I β （単斜晶）の 2 つの同質異形体を含むことが明らかにされた（杉山 1992）。

セルロース微繊維の大きさとは形は、セルロース微繊維を構成するグルカン鎖の数と配列によって決まる（Brown 1989）。例として、合計 45 本のグルカン鎖からなるセルロース微繊維を Fig. 2 に示した。(101) 平面の 5 本のグルカン鎖は 0.59 nm 間隔で配列するのに対して、($10\bar{1}$) 平面の 9 本のグルカン鎖は 0.54 nm 間隔

で配列する（各平面間の距離は、Franz and Blaschek (1990) による）。したがって、このセルロース微繊維の断面は、縦 3.0 nm (0.59 \times 5)、横 4.9 nm (0.54 \times 9) の長方形に近い平行四辺形を示す。また、これとは逆に、セルロース微繊維の大きさと形がわかれば、それを構成するグルカン鎖の数と配列を推定することができる（後述）。多くの場合、セルロース微繊維は (101) 面が原形質膜と平行になるように合成される（Brown 1989）。

セルロース微繊維を観察するためのいくつかの方法がある。その 1 つは、セルロース微繊維の型を取るレプリカ法である（詳細は Okuda and Mizuta 1985 を見よ）。Figure 3 は、ミドリゲ目に属する海産の多核緑藻、タンポヤリ (*Chamaedoris*) の細胞壁の内側表面から取ったレプリカの電子顕微鏡写真である。セルロース微繊維が層をなして沈着するのが観察される。2 つ目は、フリーズフラクチャー法である（後述）。Figure 4 は、フリーズフラクチャー法によって観察されたクロコックム目に属するエremosphaera (*Eremosphaera*) の細胞壁の破断面を示す。セルロース微繊維は、平行にほとんど隙間なく配列し、細胞壁が互いに直交するセルロース微繊維の層からなることがわかる。3 つ目の方法は、ネガティブ染色である。レプリカ法とフリー

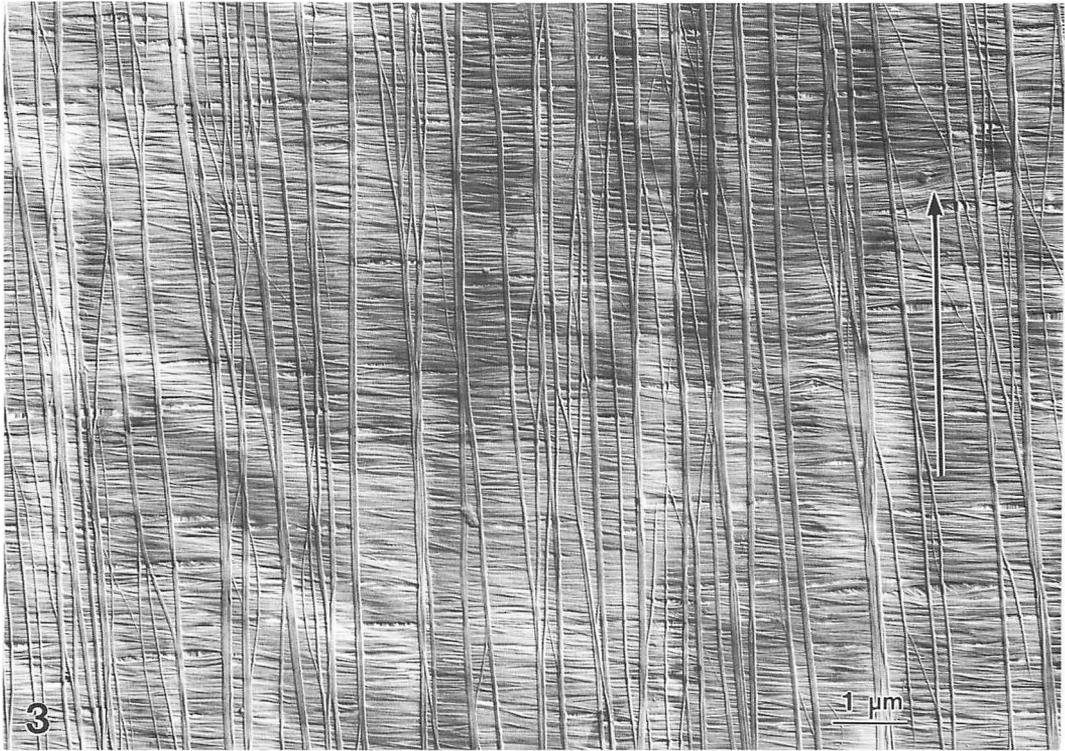


Fig. 3. An inner-surface replica of a cell wall in a siphonocladalean alga, *Chamaedoris orientalis*. Two layers of cellulose microfibrils are visible, other layers being present deeper in the wall. Each layer provides strength in the direction parallel to the microfibrils. Other wall components have been dissolved away to reveal the cellulose microfibrils. Arrow, the longitudinal axis of a cell. (Micrograph by K. Okuda and S. Mizuta, unpublished.)

ズフラクチャー法においては、セルロース微繊維のレプリカを観察するのに対し、ネガティブ染色においては、観察する試料にセルロース微繊維そのものが含まれている。コレオケーテ目に属するコレオケーテ (*Coleochaete*) の細胞壁からセルロース微繊維を分離し、これを1.5%の酢酸ウラン水溶液でネガティブ染色して電子顕微鏡で観察した (Fig. 5)。コレオケーテのセルロース微繊維は、タンポヤリやエレモスフェラのセルロース微繊維よりかなり細いことがわかる。

上に述べた方法によって、セルロース微繊維の形が観察され、その大きさも測定される。タンポヤリと同じミドリゲ目に属するタマゴバロニア (*Valonia macrophysa*) のセルロース微繊維の断面は、平均して、縦 17 nm 横 20 nm の大きさがある (Itoh and Brown 1984)。エレモスフェラと同じクロロコックム目に属するオオキスチスのセルロース微繊維の大きさは、平均して、厚さ 8-10 nm 幅 25 nm である (Preston 1974)。コレオケーテのセルロース微繊維は、3.1 nm × 5.5 nm の断面を示す (Okuda and Brown 1992)。また、陸上植

物のセルロース微繊維は、直径約 3.5 nm で、エレメンタリーフィブリルと呼ばれる (Frey-Wyssling and Mühlethaler 1963, Herth 1983)。(これらそれぞれのセルロース微繊維の断面の形は、Fig. 14 を参考にせよ)。前述したように、セルロース微繊維の大きさから、そのセルロース微繊維を構成するグルカン鎖の数が計算される (Brown 1989)。タマゴバロニアにおいては、セルロース微繊維の断面の縦 (厚さ) 方向に配列するグルカン鎖は29本 (17/0.59)、横 (幅) 方向に配列するグルカン鎖は37本 (20/0.54) と計算されるので、合計約1070本 (29 × 37) のグルカン鎖がバロニアのセルロース微繊維を構成すると推定される。同様に、オオキスチスのセルロース微繊維は630-790本、コレオケーテのセルロース微繊維は72本、エレメンタリーフィブリルは36本のグルカン鎖からなると思積られる。

2. フリーズフラクチャー法

TCs (セルロース合成酵素複合体) を観察するため

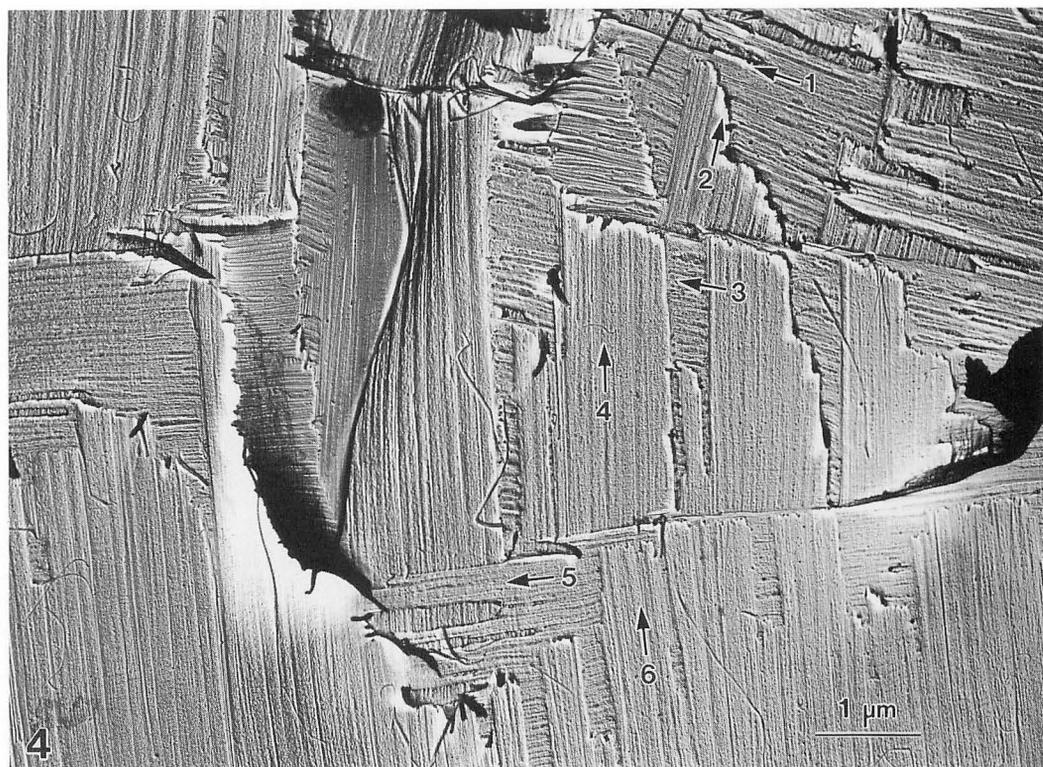


Fig. 4. A fracture plane through the cell wall of an autospore in *Eremosphaera viridis*. Successive lamellation showing six different orientations of cellulose microfibrils (arrows with serial number) in the wall. (Micrograph by K. Okuda and R. M. Brown, Jr., unpublished.)

の試料は、フリーズフラクチャー法によって作られる (Fig. 6)。まず、組織や細胞を水にけんだくし、金属のホルダーにマウントする。ただちにそのホルダーを液体プロパンなどに一気に投入して、細胞を急速凍結し、これを液体窒素中に一時保存する。ホルダーを、真空蒸着装置のなかにある液体窒素の温度に冷却された試料台に載せ、真空排気する。適当な真空度 (2×10^{-4} Pa) に到達した後、ホルダーを開いて細胞を切断 (フラクチャー) する。この時、凍結細胞の切断面が露出して、含まれていた水が昇華し始める。切断面のレプリカをとるために、白金でシャドウイングし、次いで炭素で蒸着する。ホルダーを真空蒸着装置から取り出し、水に浸してレプリカ膜 (白金を含む炭素の膜) を水面に浮かべる。レプリカ膜に付着した細胞を硫酸などで溶解した後、レプリカ膜をグリッドに載せて、これを電子顕微鏡によって観察する。詳細な手順については (Robards and Sleytr 1985) を参照されたい。細胞を急速に凍結固定することによって、細胞内の微細構造、とくに膜の蛋白質粒子の配列が保存される。

原形質膜等の生体膜は、脂質二重層と、それに結合する蛋白質などからなる。流動モザイク説 (Singer and Nicolson 1972) によれば、膜結合の蛋白質は脂質二重層のなかで自由に移動することができる。細胞が急速凍結されると、膜の流動が止められ、膜結合の蛋白質はその位置で固定される。前述したようにホルダーを開けることによって、細胞のまわりの氷が破壊され、同時に原形質膜が切断される (Fig. 7)。原形質膜は、脂質二重層の疎水面で、内層と外層が剥がされるように切断され、PF 面または EF 面が裸出する (Branton *et al.* 1975)。この時、膜結合の蛋白質もその姿を現わす。セルロース合成酵素複合体、TCs は膜結合の蛋白質である。凍結固定されている TCs の構造を写し取るために、PF 面と EF 面の型 (レプリカ) を作製する。このように、フリーズフラクチャー法によって、細胞が生きているときとほぼ同じ状態の TCs の構造や分布を観察することができる。

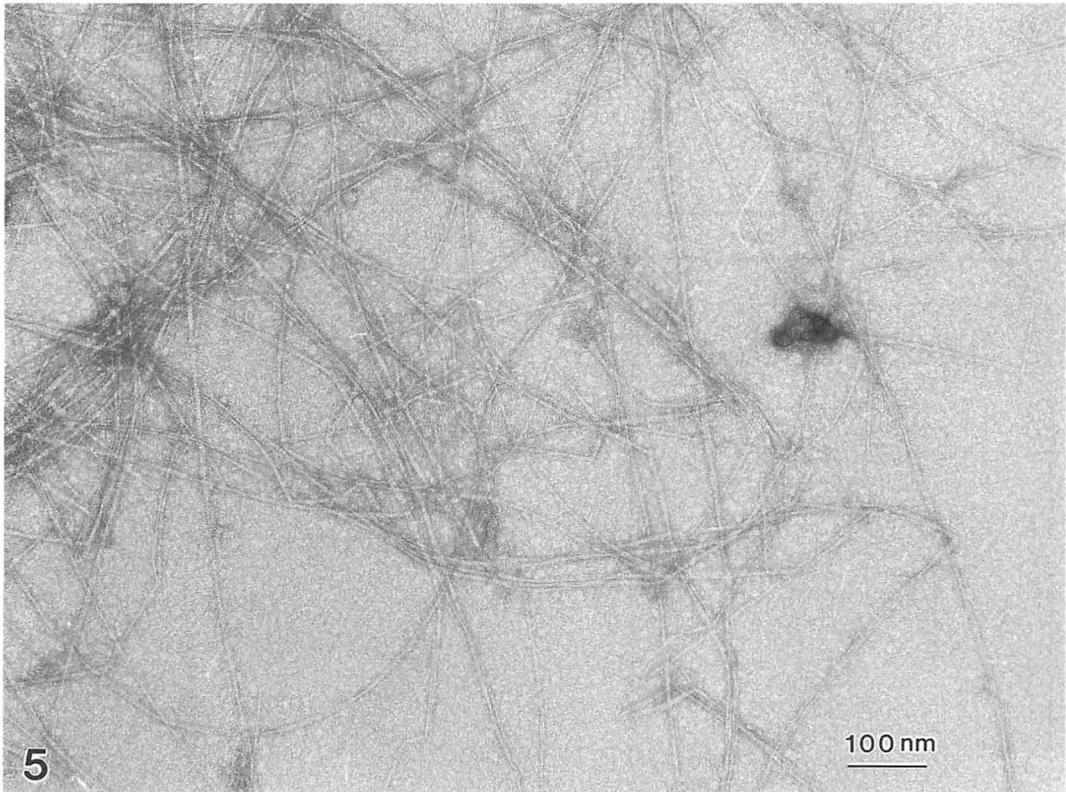


Fig. 5. A negative staining of cellulose microfibrils from a *Coleochaete scutata* cell wall. (Micrograph by K. Okuda and R. M. Brown, Jr., unpublished.)

3. セルロース合成酵素複合体 (TCs) の構造

初めて TCs が発見されたのは、淡水産の緑藻オオキスチスにおいてであった (Brown and Montezinos 1976)。オオキスチスの母細胞の中で形成された自生孢子 (autospores) は、ただちにセルロース微繊維を合成しはじめる。Figure 8 は、オオキスチスの自生孢子の原形質膜 EF 面を示す。即ち、この面の奥にセルロース微繊維を含む細胞壁が存在する。EF 面全体に分布している顆粒は、膜結合の蛋白質であるが、個々の機能はわからない。直線状の筋は、細胞の膨圧によってセルロース微繊維が膜に押しつけられてできた膜の盛り上がりである。EF 面では、セルロース微繊維そのものが観察されることはまれである。しかしながら、セルロース微繊維の末端部分に対応する膜の盛り上がりの末端部分には、細かい顆粒の集団が観察される。一方、単離されたいくつかのセルロース微繊維のどちらか一方の末端部分では、繊維の太さが徐々に細くな

っていたので、セルロース微繊維はその末端で伸長する、即ち、セルロース微繊維の末端はセルロース微繊維の合成の場所と考えられた (Schnepf *et al.* 1966)。そして、セルロース微繊維の末端部分に対応する膜に付着している細かい顆粒の集団が、セルロース微繊維の合成に関係する蛋白質の複合体、つまりセルロース合成酵素複合体 (ターミナルコンプレックス, terminal complexes=TCs) であると考えられた (Brown and Montezinos 1976)。TCs を構成する個々の顆粒を、TCs のサブユニットという。オオキスチスの TCs は、サブユニットがセルロース微繊維に沿って直線状に配列するので、リニア TCs と呼ばれる。Brown and Montezinos (1976) によれば、オオキスチスのリニア TCs は、直径 7 nm のサブユニットが直線状に 3 列平行に配列し、平均総数 108 個のサブユニットからなる。また、オオキスチスの TCs は、原形質膜の EF 面にのみ観察されることが特徴である。

ミドリゲ目に属するマガタマモ (*Boergesenia*)、オオバロニア (*Ventricaria ventricosa*)、タマゴバロニア、アオモ

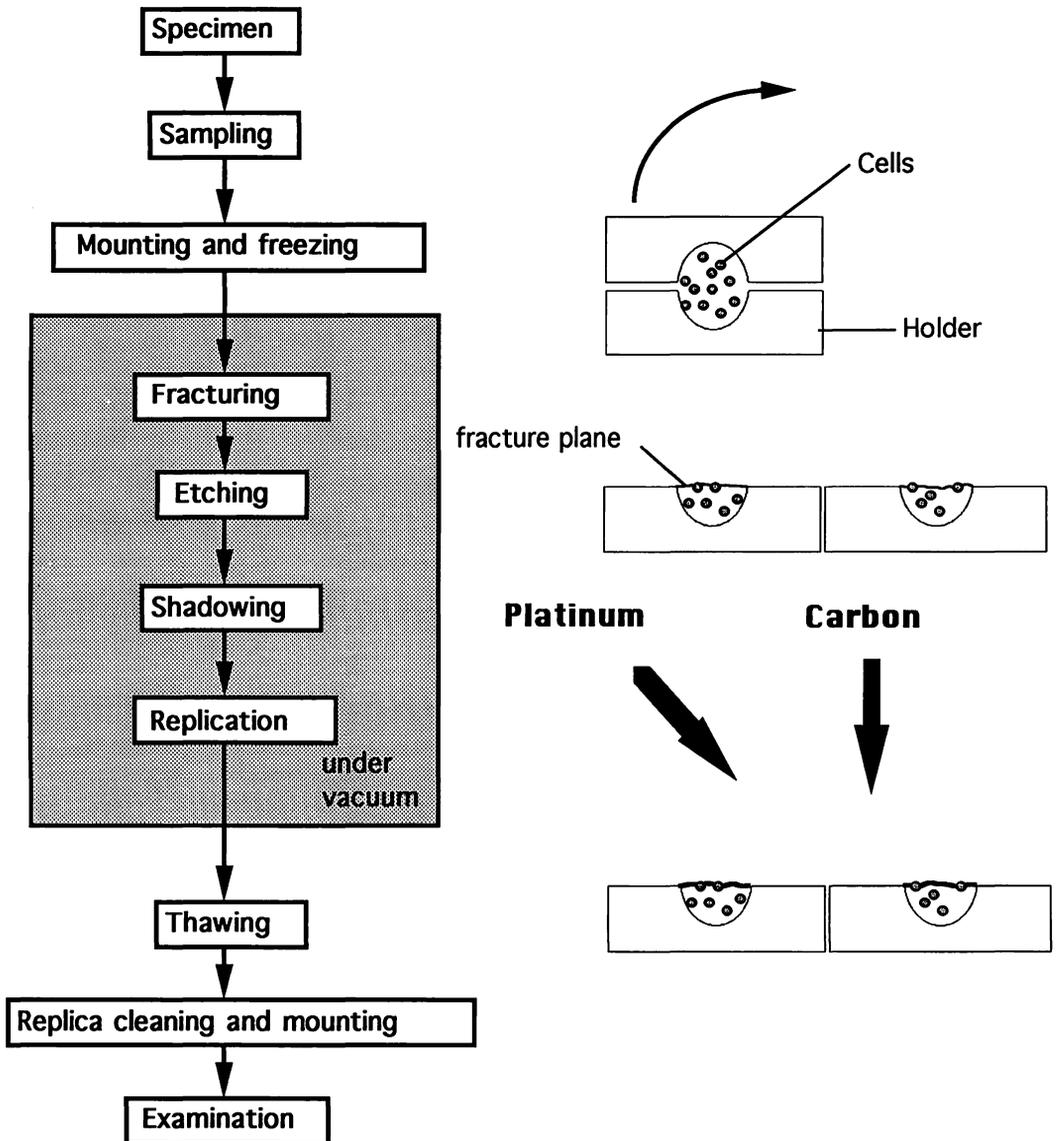


Fig. 6. Freeze-fracture flow diagram. (Redrawn and modified after Robards and Sleytr 1985.)

グサ (*Boodlea*) などの多核緑藻は、細胞が切断されると多数のプロトプラストを形成する (Enomoto and Hirose 1972)。これらのプロトプラストは、ただちにセルロース微繊維を含む細胞壁を合成する (Mizuta and Wada 1981) ので、多核緑藻の TCs は、もっぱらこれらのプロトプラストを使って調べられた (Itoh and Brown 1984, Mizuta 1985a, b)。Figure 9 は、細胞壁を形成しているマガタマモのプロトプラストにおける原形質膜 PF 面を示す。この面の奥が細胞の内部である。PF 面では、セルロース微繊維それ自体は観察

されず、セルロース微繊維の存在を示す膜の刻印が直線状の筋としてみえる。この場合、セルロース微繊維による膜の刻印は、EF 面における膜の盛り上がりとは逆に、膜の凹みであることに注意せよ。膜の刻印の末端部分に観察される細かい顆粒の集団が、マガタマモの TCs である。マガタマモの TCs は、オオキスチスと同様に、サブユニットの配列が直線状であるので、リニア TCs である。しかしながら、マガタマモの TCs は、オオキスチスの TCs と違って、原形質膜 PF 面と EF 面の両方で観察される (Mizuta 1985a)。タマ

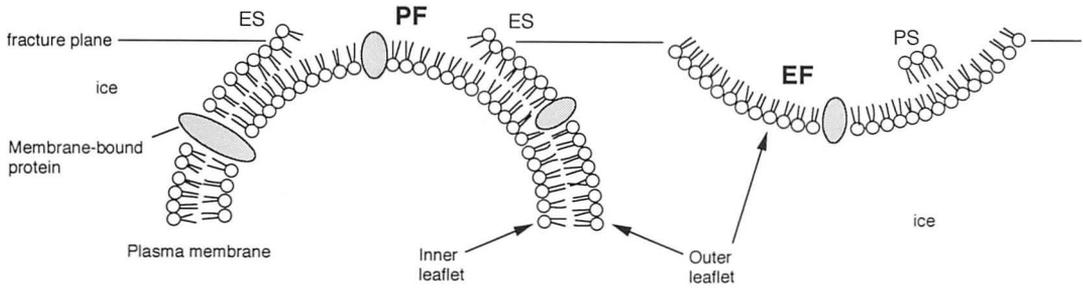


Fig. 7. Diagram showing four views of the plasma membrane which are exposed by freeze-fracturing and etching. Two fracture faces are produced by splitting the plasma membrane: PF, fracture face of the inner half of the membrane associated with the protoplasm; EF, fracture face of the outer half of the membrane associated with the extra-cellular space. The other two, PS and ES are etch faces exposed by sublimation of ice away from the surfaces of the membrane halves associated with the protoplasmic and extra-cellular sides, respectively. (Redrawn and modified after Montezinos 1982.)

ゴパロニアの TCs においては、直径 9-12 nm のサブユニットが 3 列に配列し、サブユニットの平均総数は 90-120 であるという (Itoh and Brown 1984)。TCs は、それが合成するセルロースの重合と結晶化によって生じる力で、原形質膜上を移動すると考えられている。マガタマモとオオパロニアにおいては、サブユニット

が原形質膜上で集合することによって TCs が構築される (Itoh and Brown 1988)。

一方、陸上植物では、オオキスチスやマガタマモのリニア TCs とは異なるタイプの TCs が見つけられた (Mueller and Brown 1980)。原形質膜 EF 面では、直径 24 nm のグロビュールと呼ばれる顆粒が、セルロース

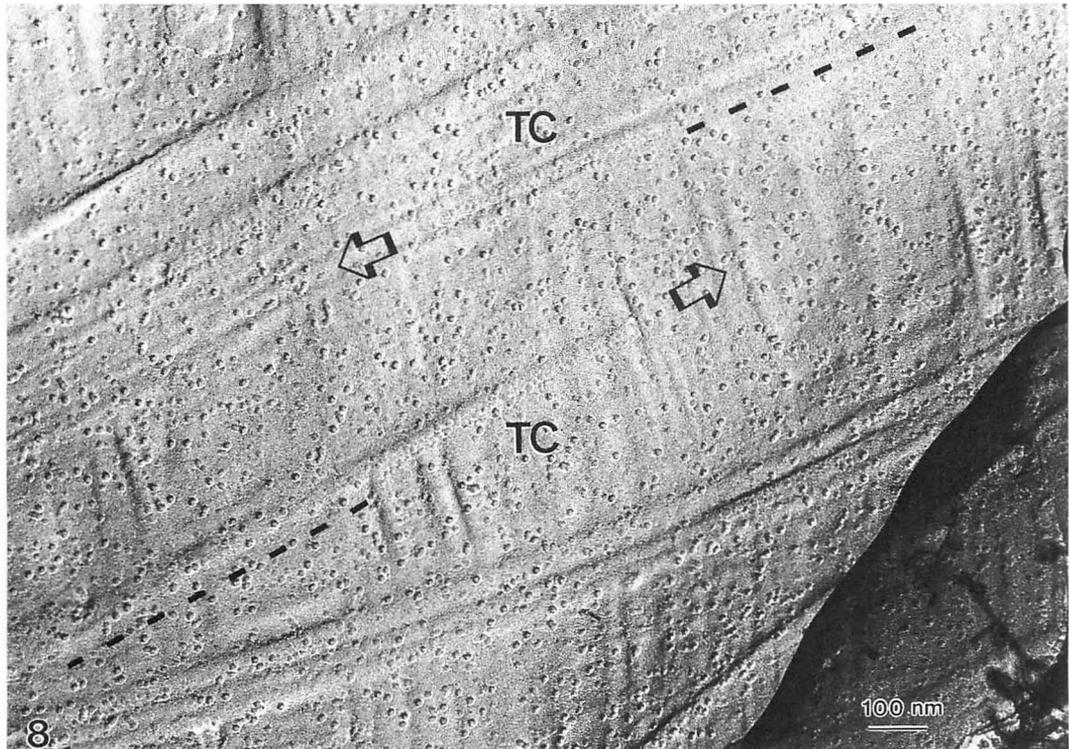


Fig. 8. An EF face of the plasma membrane of *Oocystis apiculata*. Note linear TCs (TC) associated with the impression of cellulose microfibrils indicated by the upper side of the dashed line. Arrows, the direction where TC moves. (Unpublished micrograph kindly provided by T. Fujino.)

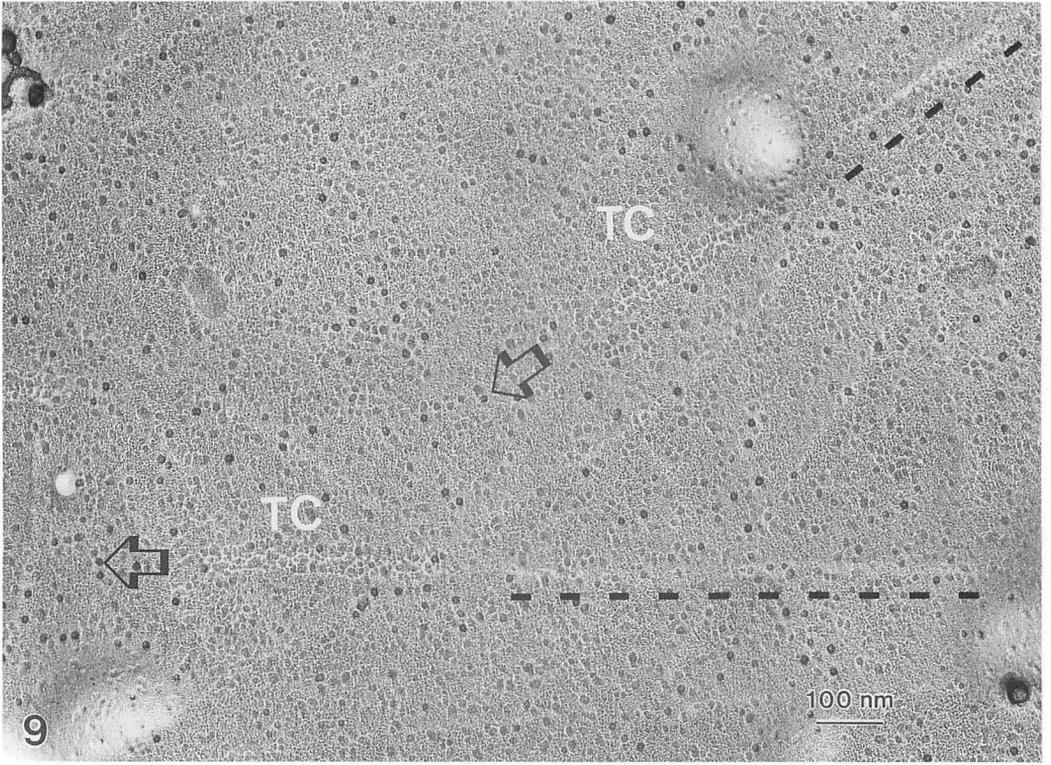


Fig. 9. A PF face of the plasma membrane of *Boergesenia forbesii*. Note linear TCs (TC) associated with the impression of a cellulose microfibrils indicated by the upper side of the dashed line. Arrows, the direction where TC moves. (Micrograph by K. Okuda and R. M. Brown, Jr., unpublished.)

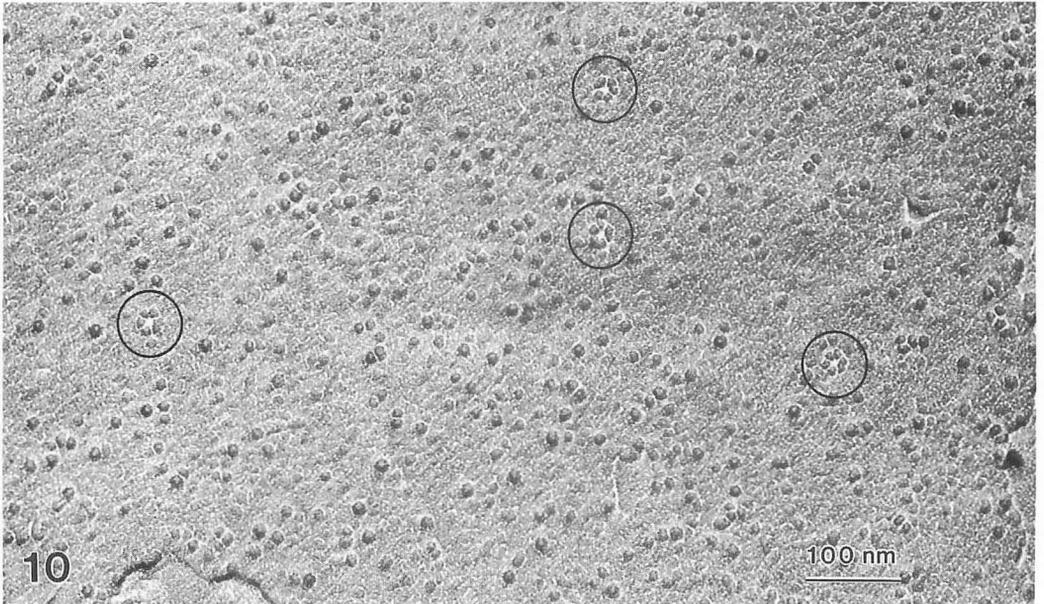


Fig. 10. A PF face of the plasma membrane of the hornwort *Anthoceros formosae*, showing several particle rosettes (encircled), each of which consists of six particles arranged in a circle. (Micrograph by K. Okuda, unpublished.)

微繊維の存在を示す膜の膨らみの先端に観察された。それに対して、原形質膜 PF 面では、直径 8 nm の小さな顆粒が 6 個、直径 24 nm の円周内に接するように配列するロゼットと呼ばれる顆粒の集まりが観察された (Fig. 10)。ロゼットとグロビュールは、原形質膜の中でお互いに相補的に結合してロゼット/グロビュール TCs を構築すると考えられている (Mueller and Brown 1980)。陸上植物のロゼット/グロビュール TCs は、常の一つずつ単独で分布し、エレメンタリーフィブリルを合成する。原形質膜上の 6 つのサブユニットからなるロゼットは、ER のシスターネの中 (Rudolph 1987)、またはゴルジ体のシスターネの中 (Haigler and Brown 1986) で、すでにその形を構築しながら合成され、ゴルジ小胞による輸送、及び原形質膜との融合によって細胞内から供給される。

ロゼットは、接合藻チリモ類、クンショウチリモ (*Micrasterias denticulata*) やミカヅキモ (*Closterium*) でも発見された (Giddings *et al.* 1980, Staehelin and Giddings 1982)。一般にチリモ類は、2 つの同じ大きさの対称的な半細胞 (semicell) からなる単細胞で、細胞の二分

裂によって無性生殖する (Bold and Wynne 1985)。細胞の二分が 2 つの半細胞の間の狭部 (isthmus) で起こった後、それぞれの蕨細胞 (母細胞の半細胞であった部分) は、新しい半細胞を形成して、もとの対称的な 2 つの半細胞からなる形態に発達する。新しく形成される半細胞が成長しているとき形成される細胞壁を一次細胞壁といい、半細胞の成長が止った後に形成される細胞壁を二次細胞壁という。Giddings *et al.* (1980) によれば、クンショウチリモのロゼットは、細胞が一次細胞壁を形成するとき、陸上植物と同様に個々に単独で存在するが、細胞が二次細胞壁を形成するとき、集団となって出現する (Fig. 11)。この集団は、ロゼットのヘキサゴナルアレイと呼ばれる。クンショウチリモの二次細胞壁には、数本のセルロース微繊維が同じ間隔で平行に配列した扁平な束が観察された (Giddings *et al.* 1980)。その束のなかでは、中央に位置するセルロース微繊維が最も幅が大きく、端に位置するセルロース微繊維ほど幅が小さくなった。一つのロゼットは、一本の細いエレメンタリーフィブリルを形成するが、ロゼットが列をなすとき、それぞれのロゼット

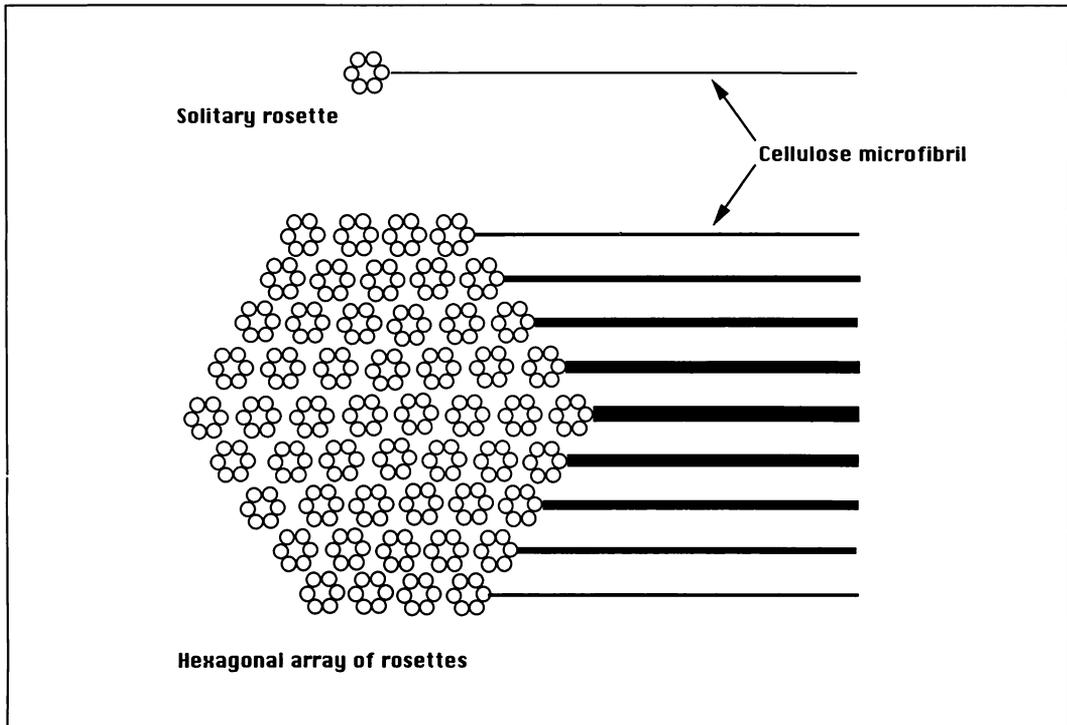
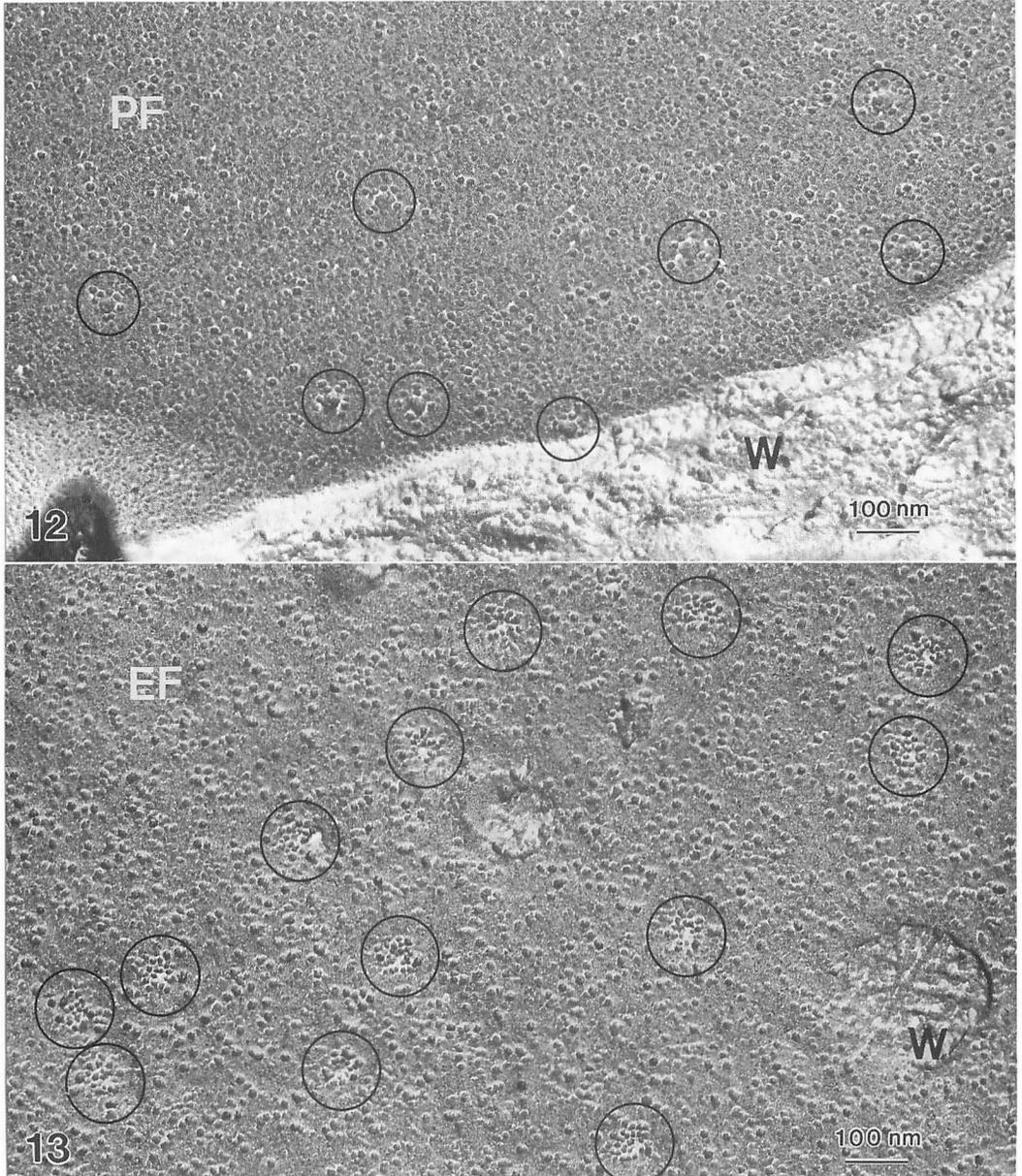


Fig. 11. A relationship between rosette arrangement and cellulose microfibril size. Each rosette synthesizes an elementary fibril. A row of rosettes forms a set of elementary fibrils that aggregate laterally through hydrogen-bonding to form the larger cellulose microfibrils during secondary wall formation in zygnematalean algae such as *Micrasterias* and *Spirogyra*. (Redrawn and modified after Giddings *et al.* 1980.)

が形成するエレメンタリーフィブリルの側方結合によって、より幅の広いセルロース微繊維が形成されると仮定された (Fig. 11)。ロゼットのヘキサゴナルアレイがセルロース微繊維の扁平な束を形成するとき、ヘキサゴナルアレイの中央を横切るロゼットの列は、最も

多数のロゼットを含み、最も幅の広いセルロース微繊維を形成する (Fig. 11)。中央から端の方に配列するロゼットの列ほど、列を構成するロゼットの数が少なくなるとともに、形成するセルロース繊維の幅が小さくなる。また、ヘキサゴナルアレイの中で、それぞれの



Figs. 12 and 13. PF (Fig. 12) and EF (Fig. 13) faces of the plasma membrane of *Coleochaete scutata*. Fig. 12, particle aggregates (encircled), which consist of an 8-fold symmetrical arrangement of small particles circumferentially arranged around a large central particle. W, cell wall. Fig. 13, a cluster of closely packed particles (encircled), where particle arrangement is random. Cellulose microfibrils in the cell wall (W) visible through the patches of the membrane. (Micrographs by K. Okuda and R. M. Brown, Jr., unpublished.)

ロゼットの列が等間隔でお互いに平行に配列しているので、形成されるセルロース微繊維は整然と平行配列する。このように、ヘキサゴナルアレイにおけるロゼットの配列パターンから、二次細胞壁中のセルロース微繊維のサイズと形態が明快に説明される。個々のロゼットの配置が保たれたロゼットの集団として、ヘキサゴナルアレイ全体が、セルロース微繊維を形成しながら原形質膜上を動くと考えられている (Giddings *et al.* 1980)。また、ミカヅキモの二次細胞壁形成時においても、ロゼットの集団が観察された (Stachelin and Giddings 1982)。ミカヅキモのロゼットの集団は、ロゼットが直線状に一列に配列する構造を示す。

ジャジク藻類の一種、フラスコモ (*Nitella*) もロゼットを持つ (Hotchkiss and Brown 1987)。フラスコモのロゼットは、陸上植物のロゼットと同様に一つずつ単独で分布し、集団を構築しない。

淡水の緑藻、コレオケーテの一種 (*Coleochaete scutata*) の TCs は、リニアタイプでもなく、ロゼット/グロビュールタイプでもない (Okuda and Brown 1992)。コレオケーテの TCs の PF 面に見られる構造は、直径 28 nm の中心顆粒と、直径 10 nm の周辺顆粒とからなっている (Fig. 12)。周辺顆粒の数は 4-8 の間で変化するが、それぞれの顆粒は、8 面相称になるように配置されている。これに対して、EF 面で見られる構造は、ランダムに配列する直径 5-17 nm の顆粒の集合体で、ほぼ中央に穴があいている (Fig. 13)。これら PF 面と EF 面で見られる構造は、原形質膜で相補的に結合し、コレオケーテの TCs を構成すると推察された。

4. TCs とそれが合成するセルロース微繊維

Figure 14 は、いままでに述べた TCs の構造と、それが合成するセルロース微繊維の断面の形を模式的に示す。ロゼット/グロビュール TCs は、単独で、直径 3.5 nm のエレメンタリーフィブリルを合成する。しかしながら、クンショウチリモにおけるロゼットの集団ヘキサゴナルアレイは、エレメンタリーフィブリルの側方結合によって、幅 20 nm までの扁平なセルロース微繊維を合成する (Giddings *et al.* 1980)。ロゼット、またはグロビュールのどちらのサブユニットがセルロースの合成に関与すると考えるのか議論があるが、本論では、ロゼットがセルロースを合成する役割を果たすとみなした。コレオケーテの TCs は、エレメンタリーフィブリルより多少扁平なセルロース微繊維

を合成する。コレオケーテの TCs においては、原形質膜の PF 面で見られる 8 面相称の周辺顆粒がセルロースの合成に関係するサブユニットであると考えられている (Okuda and Brown 1992)。リニア TCs は、ロゼット/グロビュール TCs とコレオケーテの TCs が合成するセルロース微繊維より、かなりサイズの大きなセルロース微繊維を合成する。しかしながら、オオキスチスのリニア TCs は、原形質膜の外側の層(細胞壁側)に偏在しているのに対して、タマゴバロニアのリニア TCs は、原形質膜の外側と内側の両方にまたがって分布している。なお、参考のために原核生物、酢酸菌の一種 (*Acetobacter xylinum*) における TCs とセルロース微繊維の模式図も示した (Fig. 14)。酢酸菌の TCs は、細胞膜に固定され、直線状に一列に並ぶ多数のサブユニットからなり、非常に扁平なリボン状のセルロース微繊維を合成する (Brown *et al.* 1976)。酢酸菌は、細胞壁成分としてではなく細胞外分泌物としてセルロース微繊維を合成し、合成されるセルロースが微繊維として結晶化する力によって、菌体自身が移動する。この事実が、植物(真核生物)における TCs がセルロース微繊維を合成することによって原形質膜上を動くという考えの基礎となっている。

セルロース合成に関係するとされる個々の TC サブユニットが、何本のグルカン鎖を合成するのか計算されてきている (Herth 1985b, Brown 1989)。先に述べたように、エレメンタリーフィブリルは、36本のグルカン鎖からなる。もしロゼットがセルロース合成に関わるならば、6つのサブユニットはそれぞれ6本のグルカン鎖を合成すると考えられる (Herth 1985b)。同様にして、72本のグルカン鎖からなるコレオケーテのセルロース微繊維は、それぞれが9本のグルカン鎖を合成する8つのサブユニットによって形成される (Okuda and Brown 1992)。タマゴバロニアの場合は、サブユニットの平均総数を105、セルロース微繊維に含まれるグルカン鎖の平均総数を1050とすると、個々のサブユニットは10本のグルカン鎖を合成することになる (Brown 1989)。オオキスチスの TCs サブユニットの平均総数は108であり、セルロース微繊維を構成するグルカン鎖の平均総数を750とすると、個々のサブユニットは7本のグルカン鎖を合成すると計算される。

天然のセルロースは、セルロース I α とセルロース I β の2つの異なる結晶成分からなることはすでに述べた。酢酸菌やバロニアのリニア TCs が合成するセルロース微繊維は、セルロース I α を主成分とするの

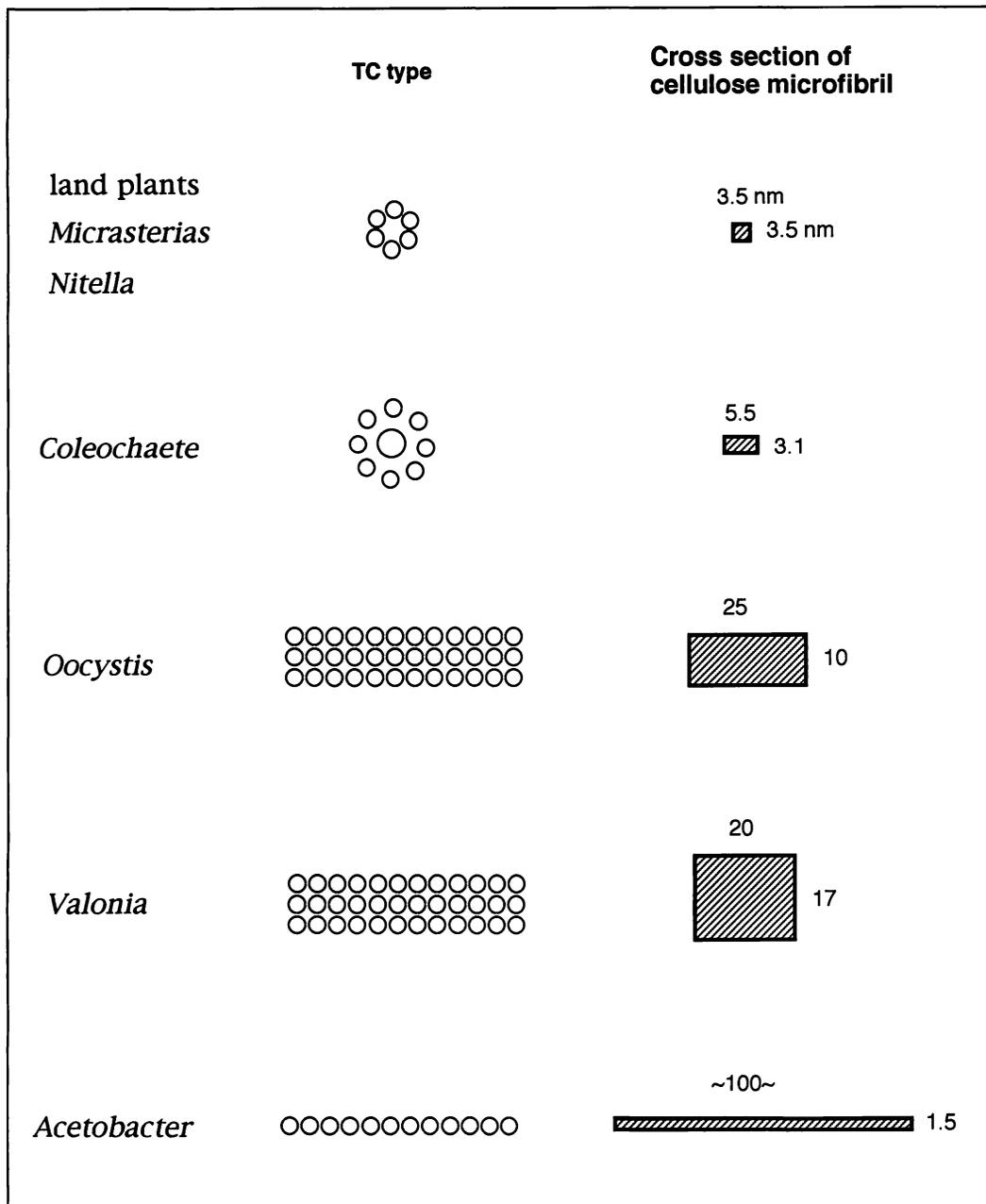


Fig. 14. Schematic drawing of TCs and the cross section of cellulose microfibrils that each of the TCs synthesizes. (Drawn from data presented in Frey-Wyssling and Mühlethaler 1963, Okuda and Brown 1992, Preston 1974, Itoh and Brown 1984 and Kuga and Brown 1989.)

に対して、陸上植物のロゼット／グロービュール TCs (1989)。
 が合成するセルロース微繊維は、ほとんどセルロース
 Iβのみからなる (Atallah 1984)。このことは、TCs の
 サブユニットの配列が、合成されるセルロース微繊維
 の結晶形に関係することを示唆する (Kuga and Brown

5. 緑色植物における TCs の分布

Table 1 は、現在までに調べられた緑藻、シャジク

Table 1. Occurrence of TCs in green plants.

Organism	Habitat ^a	TC type	TC location	Consolidation ^b	References ^c
Chlorococcales					
<i>Oocystis</i>	F	Linear	EF	—	2, 30
<i>Eremosphaera</i>	F	Linear	EF	—	1
Siphonocladales					
<i>Ventricaria</i>	S	Linear	EF & PF	—	19, 26
<i>Boergesenia</i>	S	Linear	EF & PF	—	19, 21, 23, 25
<i>Dictyosphaeria</i>	S	Linear	EF & PF	—	18, 19
<i>Siphonocladus</i>	S	Linear	EF & PF	—	18, 19
<i>Valonia</i>	S	Linear	EF & PF	—	20
<i>Valoniopsis</i>	S	Linear	EF & PF	—	19
<i>Boodlea</i>	S	Linear	EF & PF	—	19, 24, 26
<i>Ernodesmis</i>	S	Linear	EF & PF	—	18, 19
<i>Struvea</i>	S	Linear	EF & PF	—	18, 19
<i>Microdictyon</i>	S	Linear	EF & PF	—	1
<i>Chaetomorpha</i>	S	Linear	EF & PF	—	1, 19, 26
Coleochaetales					
<i>Coleochaete</i>	F	Octagonal/random	PF/EF	—	29
Zygnematales					
<i>Micrasterias</i>	F	Rosette/globule	PF/EF	+	7, 28, 35
<i>Closterium</i>	F	Rosette/globule	PF/EF	+	8, 15, 37
<i>Spirogyra</i>	F	Rosette/globule	PF/EF	+	9
<i>Mougeotia</i>	F	Rosette/globule	PF/EF	—	17
Charales					
<i>Chara</i>	F	Rosette/globule	PF/EF	—	22
<i>Nitella</i>	F	Rosette/globule	PF/EF	—	16
Bryophyta					
<i>Anthoceros</i>	L	Rosette	PF	—	unpublished
<i>Funaria</i>	L	Rosette	PF	—	31, 33, 34
Tracheophyta					
<i>Psilotum</i>	L	globule	EF	—	1
<i>Equisetum</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	5
<i>Ophioglossum</i>	L	globule	EF	—	1
<i>Adiantum</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	38
<i>Ginko</i>	L	globule	EF	—	1
<i>Pinus</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	27
<i>Lepidium</i>	L	Rosette	PF	—	6, 11
<i>Raphanus</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	39, 41
<i>Cucurbita</i>	L	Rosette	PF	—	6
<i>Glycine</i>	L	Rosette	PF	—	13
<i>Phaseolus</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	27, 39
<i>Vigna</i>	L	Rosette	PF	—	10
<i>Acer</i>	L	Rosette	PF	—	4
<i>Daucus</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	3, 4
<i>Zinnia</i>	L	Rosette	PF	—	14
<i>Hydrocharis</i>	L	Rosette	PF	—	6
<i>Limnobium</i>	L	Rosette	PF	—	6, 12
<i>Lilium</i>	L	Rosette	PF	—	32
<i>Allium</i>	L	Rosette	PF	—	1
<i>Avena</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	1
<i>Hordeum</i>	L	Rosette	PF	—	39
<i>Zea</i>	L	Rosette/globule	PF/EF	—	27, 36

^a fresh water (F), sea water (S), land (L).

^b single row of rosettes (+), hexagonal array of rosettes (H).

^c 1, Brown 1985; 2, Brown and Montezinos 1976; 3, Brown *et al.* 1983; 4, Chapman and Staehelin 1985; 5, Emons 1985; 6, Emons 1991; 7, Giddings *et al.* 1980; 8, Giddings and Staehelin 1988; 9, Herth 1983; 10, Herth 1984; 11, Herth 1985a; 12, Herth 1985b; 13, Herth and Weber 1984; 14, Haigler and Brown 1986; 15, Hogetsu 1983; 16, Hotchkiss and Brown 1987; 17, Hotchkiss and Brown 1989; 18, Itoh 1989; 19, Itoh 1990; 20, Itoh and Brown 1984; 21, Itoh *et al.* 1984; 22, McLean and Juniper 1986; 23, Mizuta 1985a; 24, Mizuta 1985b; 25, Mizuta *et al.* 1985; 26, Mizuta and Okuda 1987; 27, Mueller and Brown 1980; 28, Noguchi *et al.* 1981; 29, Okuda and Brown 1992; 30, Quader and Robinson 1981; 31, Reiss *et al.* 1984; 32, Reiss *et al.* 1985; 33, Rudolph and Schnepf 1988; 34, Rudolph *et al.* 1989; 35, Schmid and Meindl 1992; 36, Schneider and Herth 1986; 37, Staehelin and Giddings 1982; 38, Wada and Staehelin 1981; 39, Willison 1983; 40, Willison and Brown 1977; 41, Willison and Grout 1978.

藻, 陸上植物の種類, 及びそれらが持つ TCs のタイプを示す。クロロコックム目に属するオオキスチスとエレモスフェラは, 淡水産の緑藻で, 原形質膜の EF 面だけに観察されるリニアタイプの TCs を持つ。ミドリゲ目, またはシオグサ目に属するオオバロニア, マガタマモ, キッコウグサ (*Dictyosphaeria*) などは, すべて海産の多核緑藻で, EF, PF の両面に観察されるリニアタイプの TCs を持つ。コレオケーテ目のコレオケーテは, 淡水産の緑藻で, 8 面相称/ランダムな TCs を持つ。このタイプの TCs は, 今のところ *Coleochaete scutata* 一種のみで知られている。ホシミドロ目に属するクンショウチリモなどの淡水産の緑藻は, ロゼット/グロビュールタイプの TCs を持つ。それらの中で, クンショウチリモ, ミカヅキモ, アオミドロ (*Spirogyra*) は, 二次細胞壁形成の時ロゼットが列をなして集団を構築するが, ヒザオリ (*Mougeotia*) には, ロゼットの集団が見られない。シャジクモ目に属するシャジクモ (*Chara*), フラスコモは, 淡水産のシャジク藻類で, ロゼット/グロビュールタイプの TCs を持つ。コケ植物, シダ植物, 裸子植物, 被子植物を含む陸上植物は, 今まで調べられた全ての種がロゼット/グロビュール TCs を持つ。なお, PF 面にロゼット, または EF 面にグロビュールのどちらか一方が観察された種は, ロゼット/グロビュール TCs を持つとみなし

た。Table 1 によれば, 緑色植物は, 生育場所, TCs の種類, TCs の分布する原形質膜の位置, TCs の集団構築の有無によって, 5 つのグループに分けることができる。即ち, (1) クロロコックム目のグループ; (2) ミドリゲ目のグループ; (3) コレオケーテ; (4) ヒザオリを除くホシミドロ目のグループ; (5) ヒザオリ, シャジクモ目, 及び陸上植物のグループである。

緑藻植物は, 有性生殖器官の構造, 核分裂と細胞質分裂の様式, 生殖細胞の鞭毛基部装置の構造, グリコール酸代謝に関わる酵素によって, 3 つの分類群に分けられる (千原 1983)。これにシャジク藻類を加えた 4 つの分類群に, 前記の 5 つのグループをあてはめ, それぞれのグループが持つ TCs のタイプと特徴を書き加えたのが Table 2 である。単独のロゼット/グロビュール TCs はシャジク藻綱, 列集団を構築することのできるロゼット/グロビュール TCs 及びコレオケーテの TCs はコレオケーテ綱, 原形質膜 EF 面にだけ見られるリニア TCs は緑藻綱, EF 面と PF 面の両方に見られるリニア TCs はアオサ綱のそれぞれの分類群に対応した。コレオケーテ綱とシャジク藻綱に属する分類群は, 陸上植物と共通の祖先を持つと考えられている (千原 1983, Graham and Delwiche 1991)。今まで調べられた全ての陸上植物の TCs が, コレオケーテ綱植物とシャジク藻綱植物と同じロゼット/グ

Table 2. Classification of green algae*.

characters	Charophyceae	Coleochaetophyceae	Chlorophyceae	Ulvophyceae
sexual organ	multicellular	unicellular	unicellular	unicellular
nuclear division	interzonal mitotic spindle persistent at telophase	interzonal mitotic spindle persistent at telophase	interzonal mitotic spindle collapsing at telophase	interzonal mitotic spindle collapsing at telophase
cytokinesis	a phragmoplast-associated cell plate	a phragmoplast-associated cell plate	a phycoplast-associated cell plate	a furrow of the plasma membrane
basal bodies	associated with a multi-layered structure, from which a microtubular band extending along one side of a cell	associated with a multi-layered structure, from which a microtubular band extending along one side of a cell	connected with striated fibers; microtubular root system cruciate	connected with non-striated fibers; microtubular root system cruciate
glycolic acid pathway	glycolate oxidase	glycolate oxidase	glycolate dehydrogenase	glycolate dehydrogenase
TC type (remarks)**	rosette (solitary)	rosette (solitary & array) octagonal	linear (EF)	linear (EF & PF)
algal groups classified	Charales	Chlorokybales Klebsormidiales Zygnematales Trentepohliales Coleochaetales	Volvocales Tetrasporales Chlorococcales Chlorosarcinales Oedogoniales Chaetophorales Ulotrichales	Ulvales Acrosiphoniales Cladophorales Siphonocladales Codiales Dasycladales

* Based on Chihara (1983)

** Data from Table 1

ロビュールタイプであることは、この考えを支持する。このことは、コレオケーテ綱、シャジク藻綱、陸上植物のそれぞれが進化してきた過程で、これらの共通の祖先が持っていたロゼット／グロビュール TCs の基本的な構造が、系統的に引き継がれてきたことを意味する。緑藻綱とアオサ綱の分類形質は、コレオケーテ綱とシャジク藻綱の分類形質と大きく異なる (Table 2)。しかしながら、緑藻綱とアオサ綱が共にリニア TCs とグリコール酸脱水素酵素を持ち、それらの生殖細胞が交叉型の微小管根を持つことは、両者の系統関係が、それらとコレオケーテ綱またはシャジク藻綱の間の系統関係ほど遠くない事を示唆する。

6. ロゼット／グロビュール TCs から派生したコレオケーテ TCs

フラグモプラストを発達させるコレオケーテ綱植物とシャジク藻綱植物は、コレオケーテ以外はロゼット／グロビュール TCs を持つ (Table 2)。コレオケーテの TCs の起源は、2つの可能性が考えられている (Okuda and Brown 1992)。1つは、コレオケーテタイプの TCs が、ロゼット／グロビュール TCs と独立して進化した場合である。Hotchkiss and Brown (1987) によれば、ロゼット／グロビュール TCs は、それを持つ植物群がフラグモプラストを獲得する以前に進化したので、この場合、コレオケーテの祖先はコレオケーテタイプの TCs を進化させた後、独自にフラグモプラストを獲得したことになる。もう1つの可能性は、コレオケーテタイプの TCs がロゼット／グロビュール TCs から進化した場合である。この可能性を支持する2つの理由がある。1つは、コレオケーテのセルロース微繊維のサイズは、ロゼット／グロビュール TCs が合成するエレメンタリーフィブリルのサイズに近いことである (Fig. 14)。コレオケーテのセルロース微繊維は、エレメンタリーフィブリルより幅が広いが、これは、コレオケーテの TCs におけるグルカン合成するサブユニットの数が、ロゼット／グロビュール TCs より2つ多いことによるのかも知れない。コレオケーテ綱植物の中で、幅の広いセルロース微繊維を合成するために、クンショウチリモはロゼット／グロビュール TCs をそのまま使ってロゼットの集団ヘキサゴナルアレイを構築する機能を獲得したのに対して、コレオケーテはロゼット／グロビュール TCs の構造を変化させて新しいタイプの TCs、コレオケーテの TCs を進化させたと想像される。もう1つの理

由は、コレオケーテがカロースを合成することである (Graham and Taylor 1986)。カロースは、維管束植物の篩管細胞や傷害を受けた細胞で合成されることが知られているが、陸上植物だけでなくシャジク藻類や接合藻類もカロースを合成する能力をもつ (Sluiman 1985)。これらの植物は全てロゼット／グロビュール TCs をもつ。また、カロースを合成する酵素はロゼット／グロビュール TCs に含まれているらしい (Delmer 1987)。これらのことから、コレオケーテの TCs は、その起源となったロゼット／グロビュール TCs のカロース合成能力を受け継いでいることが想像される。以上の2つの理由から、筆者らは、コレオケーテの TCs がロゼット／グロビュール TCs と独立して進化したという可能性よりも、フラグモプラストを獲得した植物群のうちコレオケーテの祖先が、ロゼット／グロビュール TCs からコレオケーテの TCs を進化させた可能性のほうが高いと考える。

7. 緑色植物における TCs の起源と進化

今まで述べてきたように、緑色植物の TCs は、2つのリニアタイプ、ロゼット／グロビュール、コレオケーテタイプの4種類ある。このことから、ある人は、セルロースを生産する緑色植物は非常に多数存在するのにもかかわらず、なぜセルロース微繊維を合成する機械に相当する TCs がたった4種類しかないのかと疑問に思うかも知れない。また、他の人は、セルロースという同じ分子を合成するために、なぜ4種類もの異なった TCs が存在しているのかと不思議に思うかも知れない。TCs の構造と機能における普遍性または多様性がどのように起こったかという問題は、現時点では単に想像によってでしか解答されない。しかしながら、TCs は、多数のセルロース合成酵素からなる複合体であるので、TCs の構造と機能の進化は、セルロース合成酵素の複合体構築における進化とみなすことができる。セルロース合成に関わる遺伝子の起源と進化を考えるうえで、セルロース合成酵素が複合体を構築した過程を説明するモデルを提出することは意義があると思われる。もし緑色植物のセルロース合成酵素が単一の起源をもつと仮定するならば、セルロース合成酵素における複合体の構築は Figure 15 に示される過程で起こっただろう。以下に、筆者らが現在考えているセルロース合成酵素における複合体構築の進化の仮説を述べるが、この仮説の基本的な部分は Herth (1985b) に拠った。緑色植物の TCs の起源は、

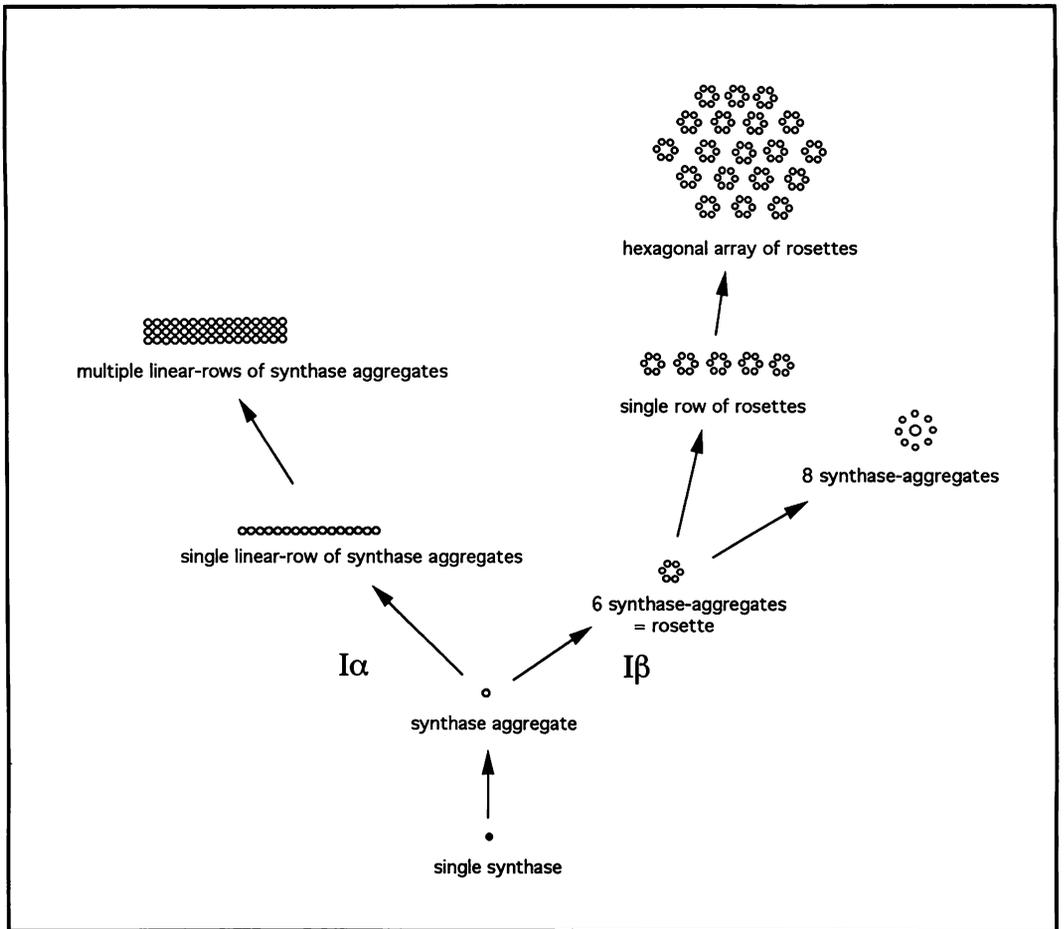


Fig. 15. Schematic drawing for the hypothetical evolutionary lines of TCs in green plants. (Redrawn and modified after Herth 1985b, adding data from Okuda and Brown 1992.)

セルロース 1 分子を合成する 1 つのセルロース合成酵素であった。そのセルロース合成酵素が複数個 (6-10 個) 集まって、セルロース合成酵素の集合体、即ち TCs を構成する 1 つのサブユニットとなった。この後、さらにいくつかのサブユニットが集まってサブユニットの集合体、即ち TCs を構築したが、その構築の様式が 2 つあった。1 つは、サブユニットが直線状に配列してリニア TCs を構築する様式であった。サブユニットが 1 列に配列するリニア TCs は原核生物、酢酸菌で起こり、扁平なリボン状のセルロース微繊維を合成する。その後、サブユニットの 1 列配列のリニア TCs がいくつか平行に集合することによって、サブユニットが数列直線状に配列するリニア TCs が構築された。オオキスチスやパロニアが合成するセルロース微繊維の断面は、扁平ではなく長方形であるの

で、リニア TCs におけるサブユニットの複数列化は、より厚みのあるセルロース微繊維の合成を可能にしたのかも知れない。TCs の構築におけるもう 1 つの様式は、6 つのサブユニットが円周状に配列したことであった。6 つのサブユニットの集合によって、ロゼット/グロビュール TCs が構築された。ロゼット/グロビュール TCs は、単独で微細なエレメンタリーフィブリルを合成した。ロゼット/グロビュール TCs が直線状に 1 列に集合することによって、より幅の広いセルロース微繊維が合成された。ロゼット/グロビュール TCs の直線状配列の構築は、ミカヅキモで起こる。クンショウチリモヤオミドロでは、ロゼット/グロビュール TCs がもっと高度に集団化され、ロゼット/グロビュール TCs のヘキサゴナルアレイが構築された。一方、ロゼット/グロビュール TCs に

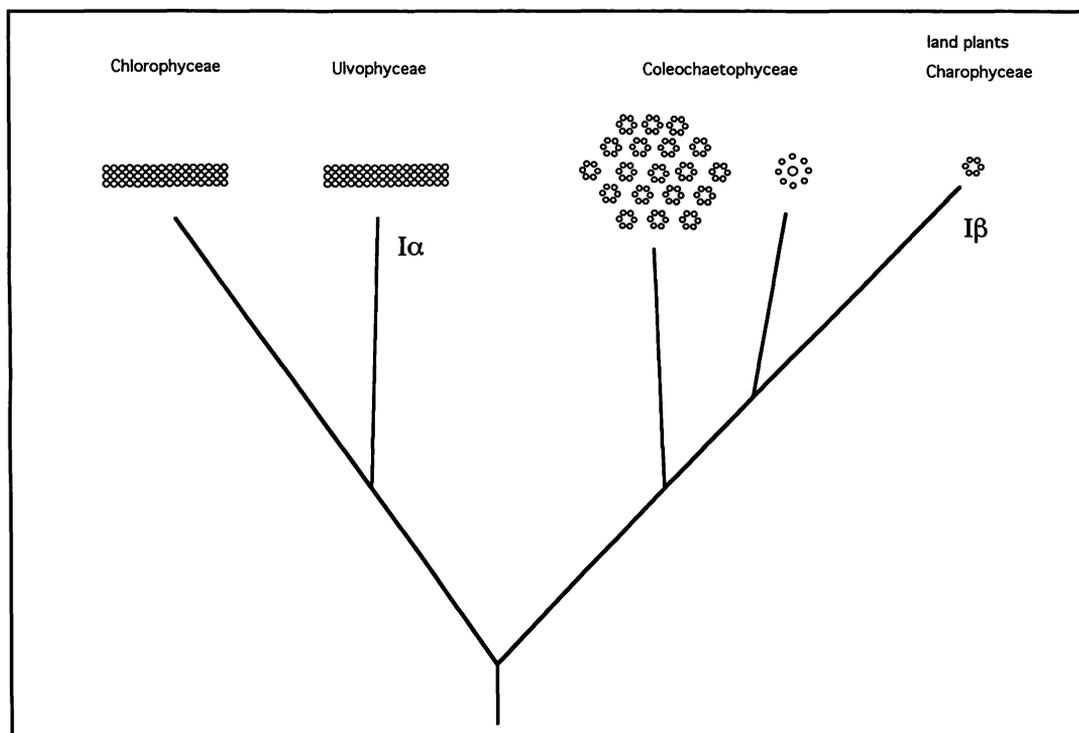


Fig. 16. Schematic drawing for the hypothetical phylogeny of TCs in green plants. (an original drawing by K. Okuda and S. Mizuta, based on Fig. 15.)

さらに2つのサブユニットが付加することによって、8つのサブユニットをもつコレオケーテタイプのTCsが構築された。サブユニットがTCsを構築する様式の違いは、TCsが合成するセルロース微繊維の結晶形に反映した。リニアTCsはセルロースI α 、ロゼット／グロビュールTCsはセルロースI β を合成した。セルロース合成酵素の複合体構築は、多分、よりサイズの大きなセルロース微繊維を合成する方向に進化した。複合体構築の進化の重要な段階は、TCsを構築するサブユニットどうしを連結する因子の獲得であったと推察される。その因子の違いが、リニアタイプとロゼット／グロビュールタイプの2種類のTCsの派生をもたらした。さらには、それぞれのTCsの進化の過程で、TCsの複数列化、または集団化を構築する未知の構造が獲得されたと推察される。また、TCsの進化は、TCsの分布や移動方向を制御する因子との関わりをも含む。例えば、高等植物の管状要素において二次肥厚がおこるとき、多数のロゼット／グロビュールTCsが局所的に分布してセルロース微繊維を厚く沈着させるが、この時ロゼット／グロビュールTCsの分布する位置と移動方向は間期細胞表層微小

管によって規定される (Schneider and Herth 1986)。このように、TCsは、細胞の成長や分化を制御する機構の一部にもなった。しかし、今までに緑色植物において、サブユニットが一行に配列するリニアTCsは見つけられてきていないし、1つのサブユニットだけでセルロースを合成するという証拠もない。

上で述べたセルロース合成酵素における複合体構築の進化のモデルにしたがって、筆者らが推測する緑色植物におけるTCsの系統を示した (Fig. 16)。緑色植物の起源は、TCs内のサブユニットの構築様式によって、まず2つの系統に分岐した。リニアTCsをもった系統は、アオサ綱と緑藻綱に分類される植物群に進化した。ロゼット／グロビュールTCsをもった系統は、コレオケーテ綱と車軸藻綱及び陸上植物に分類される植物群に進化した。コレオケーテ綱植物では、ロゼット／グロビュールTCsの集団化や改変されたTCsが起こるのに対して、車軸藻綱植物と陸上植物では、単独のロゼット／グロビュールTCsだけが起こる。このことは、車軸藻綱植物と陸上植物がセルロース微繊維の合成において最も原始的な状態のロゼット／グロビュールTCsを受け継いできていることを意

味する。

8. おわりに

TCs は、緑色植物だけでなくほかの植物群においても発見されてきている。褐藻植物エゾイシゲ属 (*Pelvetia*) の一種は、サブユニットが1列に配列するリニア TCs をもつ (Peng and Jaffe 1976, Gilkey and Staehelin 1989)。黄金藻植物フシナンミドロ属 (*Vaucheria*) の一種は、サブユニットが楔状に配列するリニア TCs をもつ (Mizuta *et al.* 1989)。紅藻植物エリスロクラディア属 (*Erythrocladia*) の一種は、サブユニットが4列に配列するリニア TCs をもつ (Tsekos and Reiss 1992)。これらの TCs は全てリニアタイプの範疇にはいるが、それぞれの TCs はサブユニットの構築様式によって明確に区別される。離れた分類群の間で TCs の構造が異なる事実は、TCs の進化がそれぞれの分類群の中で独立して起こったことを示唆する。しかしながら、セルロースを合成する能力、即ちセルロース合成酵素は、緑藻植物、褐藻植物、紅藻植物、黄金藻植物のそれぞれの祖先によって独立して獲得されたのかという問題がある。また、植物以外にセルロースを合成する菌類や動物も存在している。植物、菌類、動物を含む真核生物におけるセルロース合成能は、原核生物由来であるとする仮説がある (Brown 1990)。この仮説によれば、真核生物の祖先がセルロース合成能を獲得した経路は3つある。1つは、紅色細菌の祖先がミトコンドリアとして真核細胞の祖先に細胞内共生した経路である。なぜなら、現生の紅色細菌の数がセルロース合成能をもつからである。この経路でセルロース合成能を獲得した真核生物は、菌類と動物であると仮定された。2つ目は、セルロースを合成する藍細菌の祖先のいくつかが葉緑体として真核細胞の祖先に細胞内共生した経路である。光合成をする藻類がこの経路でセルロース合成能を獲得したと仮定された。3つ目は、プラスミドを介して真核細胞の祖先に形質導入された経路である。このように、セルロース合成能は、原核生物から真核生物へと複数の経路を通して受け渡されたという。真核生物のセルロース合成能が異なるいくつかの原核生物を起源とするかどうかは、セルロース合成に関わる遺伝子の構造が解析されるまでわからない。しかしながら、セルロース合成が原核生物を含めた生物界の広い範囲で起こることは、セルロース合成系の遺伝子は、その起源が非常に古く、地球上に出現した種々の原始的な生物が最初に

獲得した重要な遺伝子の一つであったと推察される。

本論は、1992年度日本植物学会第57回大会の関連集會、藻類を材料とする若い研究者の集いにおいて著者の一人 (KO) が発表した「緑藻コレオケーテ (*Coleochaete*): セルロース合成酵素複合体の起源と進化を考えるキー植物の1つとして」の内容を基礎にした。

謝 辞

フリーズエッチング装置を使わせていただいた京都大学木質科学研究所の伊東隆夫教授に御礼申し上げます。オオキスチスの TCs の写真を提供していただいた高知大学理学部生物学科の藤野猛史氏に感謝いたします。ツノゴケを採集し、同定してくださった高知大学理学部の出口博則教授と松井透博士に感謝申し上げます。また、TCs の進化について議論し、貴重なご意見を頂戴したテキサス大学の R. M. Brown, Jr. 教授に感謝申し上げます。

参考文献

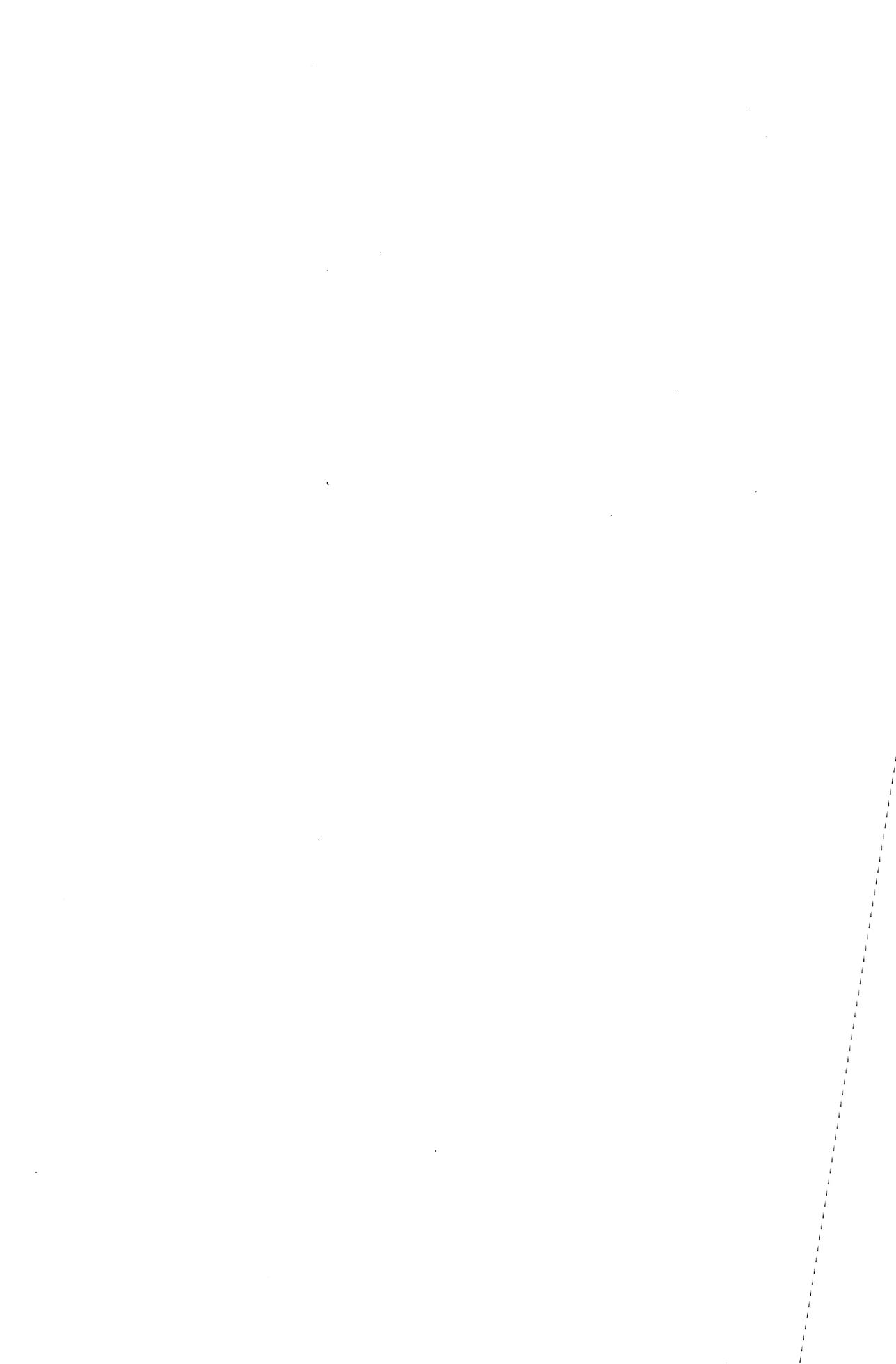
- Atallah, R. H. 1984. Polymorphy in native cellulose: Recent developments. p. 381-391. *In* W. M. Dugger and S. Bartnicki-Garcia [eds.] Structure, function and biosynthesis of plant cell walls. Proc. VII Ann. Symp. Bot. Riverside Amer. Soc. Plant Physiologists, Rockeville, Maryland.
- Blackwell, J. 1982. The macromolecular organization of cellulose and chitin. p. 403-428. *In* R. M. Brown, Jr. [ed.] Cellulose and other natural polymer systems. Plenum Press, New York London.
- Bold, C. B. and Wynne, M. J. 1985. Introduction to the algae. 2nd edition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Branton, D., Bullivant, S., Gilula, N. B., Karnovsky, M. J., Moor, H., Muhlethaler, K., Northcote, D. H., Packer, L., Satir, B., Satir, P., Speth, V., Staehelin, L. A., Steere, R. L. and Weinstein, R. S. 1975. Freeze-etching nomenclature. *Science* **190**: 54-56.
- Brown, R. M. Jr. 1985. Cellulose microfibril assembly and orientation: recent developments. *J. Cell. Sci.* [Suppl.] **2**: 13-32.
- Brown, R. M. Jr. 1989. Cellulose biogenesis and a decade of progress: a personal perspective. p. 639-657. *In* C. Schuerch [ed.] Cellulose and wood-chemistry and technology. Wiley, New York.
- Brown, R. M. Jr. 1990. Algae as tools in studying the biosynthesis of cellulose, nature's most abundant macromolecule. p. 20-39. *In* W. Wiessner, D. G. Robinson and R. C. Starr [eds.] Experimental phycology, vol. 1, cell walls and surfaces, reproduc-

- tion, photosynthesis. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo.
- Brown, R. M. Jr. and Montezinos, D. 1976. Cellulose microfibrils: visualization of biosynthetic and orienting complexes in association with the plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**: 143-147.
- Brown, R. M. Jr., Willison, J. H. M. and Richardson, C. L. 1976. Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: visualization of the site of synthesis and direct measurement of the *in vivo* process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**: 4565-4569.
- Brown, R. M. Jr., Haigler, C. H., Suttie, J., White, A. R., Roberts, E., Smith, C., Itoh, T. and Cooper, K. 1983. The biosynthesis and degradation of cellulose. *J. Appl. Poly. Sci. Appl. Poly. Symp.* **37**: 33-78.
- Chapman, R. L. and Staehelin, L. A. 1985. Plasma membrane "rosettes" in carrot and sycamore suspension culture cells. *J. Ultrastr. Res.* **93**: 87-91.
- 千原光雄 1983. 緑藻類の分類系. 遺伝 **37**(5): 2-15.
- Cronshaw, J., Myers, A. and Preston, R. D. 1958. A chemical and physical investigation of the cell walls of some marine algae. *Biochim. Biophys. Acta* **27**: 89-103.
- Deinema, M. H. and Zevenhuizen, L. P. T. M. 1971. Formation of cellulose fibrils by gram-negative bacteria and their role in bacterial flocculation. *Arch. Mikrobiol.* **78**: 42-57.
- Delmer, D. P. 1987. Cellulose biosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **38**: 259-290.
- Delmer, D. P. 1991. The biochemistry of cellulose synthesis. p. 101-107. In C. W. Lloyd [ed.] The cytoskeletal basis of plant growth and form. Academic Press, London.
- Emons, A. M. C. 1985. Plasma-membrane rosettes in root hairs of *Equisetum hyemale*. *Planta* **163**: 350-359.
- Emons, A. M. C. 1991. Role of particle rosettes and terminal globules in cellulose synthesis. p. 71-89. In C. H. Haigler and P. J. Weimer [eds.] Biosynthesis and biodegradation of cellulose. Marcel Dekker, New York.
- Emons, A. M. C., Derksen, J. and Sassen, M. M. A. 1992. Do microtubules orient plant cell wall microfibrils? *Physiol. Plant.* **84**: 486-493.
- Enomoto, S. and Hirose, H. 1972. Culture studies on artificially induced aplanospores and their development in the marine alga *Boergeresia forbesii* (Harvey) Feldmann (Chlorophyceae, Siphonocladales). *Phycologia* **11**: 119-122.
- Franz, G. and Blaschek, W. 1990. Cellulose. p. 291-322. In P. M. Dey [ed.] Methods in plant biochemistry, vol. 2, carbohydrates. Academic Press, London.
- French, A. D. 1985. Physical and theoretical methods for determining the supramolecular structure of cellulose. p. 84-111. In T. P. Nevell and S. H. Zeronian [eds.] Cellulose chemistry and its applications. Ellis Horwood Limited, West Sussex, England.
- Frey-Wyssling, A. and Mühlethaler, K. 1963. Die Elementarfibrillen der Cellulose. *Makromol. Chem.* **62**: 25-30.
- Frey-Wyssling, A. and Stecher, H. 1954. Über den Feinbau des Nostoc-Schleimes. *Zeitschrift für Zellforschung* **39**: 515-519.
- Giddings, T. H. and Staehelin, L. A. 1988. Spatial relationship between microtubules and plasma-membrane rosettes during the deposition of primary wall microfibrils in *Closterium* sp. *Planta* **173**: 22-30.
- Giddings, T. H., Brower, D. L. and Staehelin, L. A. 1980. Visualization of particle complexes in the plasma membrane of *Micrasterias denticulata* associated with the formation of cellulose fibrils in the primary and secondary cell walls. *J. Cell Biol.* **84**: 327-339.
- Gilkey, J. C. and Staehelin, L. A. 1989. A new organelle related to osmoregulation in ultrarapidly frozen *Pelvetia* embryos. *Planta* **178**: 425-435.
- Graham, L. E. and Taylor, C. 1986. The ultrastructure of meiospores of *Coleochaete pulvinata* (Charophyceae). *J. Phycol.* **22**: 299-307.
- Graham, L. E. and Delwiche, C. F. 1991. Phylogenetic connections between the 'green algae' and the 'bryophytes'. *Advances in Bryology* **4**: 213-244.
- Green, P. B. 1980. Organogenesis—a biophysical view. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **31**: 51-82.
- Haigler, C. H. 1985. The functions and biogenesis of native cellulose. p. 30-83. In T. P. Nevell and S. H. Zeronian [eds.] Cellulose chemistry and its applications. Ellis Horwood Limited, West Sussex, England.
- Haigler, C. H. and Brown, R. M. Jr. 1986. Transport of rosettes from the Golgi apparatus to the plasma membrane in isolated mesophyll cells of *Zinnia elegans* during differentiation to tracheary elements in suspension culture. *Protoplasma* **134**: 111-120.
- Hall, D. A., Happey, F., Lloyd, P. F. and Saxl, H. 1960. Oriented cellulose as a component of mammalian tissue. *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B* **151**: 497-516.
- Heath, I. B. and Seagull, R. W. 1982. Oriented cellulose fibrils and the cytoskeleton: a critical comparison of models. p. 163-182. In C. W. Lloyd [ed.] The cytoskeleton in plant growth and development. Academic Press, London.
- Herth, W. 1983. Arrays of plasma-membrane "rosettes" involved in cellulose microfibril formation of *Spirogyra*. *Planta* **159**: 347-356.
- Herth, W. 1984. Oriented "rosette" alignment during cellulose formation in mung bean hypocotyl. *Naturwissenschaften* **71**: 216-217.
- Herth, W. 1985a. Plasma membrane rosettes involved in localized wall thickening during xylem vessel formation of *Lepidium sativum* L. *Planta* **164**: 12-21.
- Herth, W. 1985b. Plant cell wall formation. p. 285-310. In A. W. Robards [ed.] Botanical microscopy.

- Oxford University Press, Oxford.
- Herth, W. and Weber, G. 1984. Occurrence of the putative cellulose-synthesizing "rosettes" in the plasma membrane of *Glycine max* suspension culture cells. *Naturwissenschaften* **71**: 153-154.
- Hogetsu, T. 1983. Distribution and local activity of particle complexes synthesizing cellulose microfibrils in the plasma membrane of *Closterium acerosum* (Schrank) Ehrenberg. *Plant Cell Physiol.* **24**: 777-781.
- Hotchkiss, A. T. and Brown, R. M. Jr. 1987. The association of rosette and globule terminal complexes with cellulose microfibril assembly in *Nitella translucens* var. *axillaris* (Charophyceae). *J. Phycol.* **23**: 229-237.
- Hotchkiss, A. T. and Brown, R. M. Jr. 1989. Evolution of the cellulosic cell wall in the Charophyceae. p. 591-609. *In* C. Schuerch [ed.] Cellulose and wood-chemistry and technology. Wiley, New York.
- 伊東隆夫 1986. セルロースミクロフィブリルの形成. 電子顕微鏡 **21**: 121-128.
- Itoh, T. 1989. Biogenesis of cellulose microfibrils and the role of microtubules in green algae. p. 257-277. *In* G. L. Norman and M. G. Paice [eds.] Plant cell wall polymers. Biogenesis and biodegradation. ACS Symposium Ser. 399. American Chemical Society, Washington DC.
- Itoh, T. 1990. Cellulose synthesizing complexes in some giant marine algae. *J. Cell Sci.* **95**: 309-319.
- Itoh, T. and Brown, R. M. Jr. 1984. The assembly of cellulose microfibrils in *Valonia macrophysa* Kütz. *Planta* **160**: 372-381.
- Itoh, T. and Brown, R. M. Jr. 1988. Development of cellulose synthesizing complexes in *Boergesenia* and *Valonia*. *Protoplasma* **144**: 160-169.
- Itoh, T., O'Neil, R. and Brown, R. M. Jr. 1984. Interference of cell wall regeneration of *Boergesenia forbesii* protoplasts by Tinopal LPW, a fluorescent brightening agent. *Protoplasma* **123**: 174-183.
- Kobayashi, S., Kashiwa, K., Kawasaki, T. and Shoda, S. 1991. Novel method for polysaccharide synthesis using an enzyme: the first in vitro synthesis of cellulose via a nonbiosynthetic path utilizing cellulase as catalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **113**: 3079-3084.
- Kuga, S. and Brown, R. M. Jr. 1989. Correlation between structure and the biogenic mechanisms of cellulose: new insights based on recent electron microscopic findings. p. 677-688. *In* C. Schuerch [ed.] Cellulose and wood-chemistry and technology. Wiley, New York.
- McLean, B. and Juniper, B. E. 1986. The plasma membrane of young *Chara* internodal cells revealed by rapid freezing. *Planta* **169**: 153-161.
- Mizuta, S. 1985a. Evidence for the regulation of the shift in cellulose microfibril orientation in freeze-fractured plasma membrane of *Boergesenia forbesii*. *Plant Cell Physiol.* **26**: 53-62.
- Mizuta, S. 1985b. Assembly of cellulose synthesizing complexes on the plasma membrane of *Boodlea coacta*. *Plant Cell Physiol.* **26**: 1443-1453.
- 水田 俊. 1987a. 藻類におけるセルロース性細胞壁 I. 構造と形成. 藻類 **35**: 45-59.
- 水田 俊. 1987b. 藻類におけるセルロース性細胞壁 II. ミクロフィブリルの形成と配向変換の調節. 藻類 **35**: 130-143.
- Mizuta, S. and Okuda, K. 1987. A comparative study of cellulose synthesizing complexes in certain cladophoralean and siphonocladalean algae. *Bot. Mar.* **30**: 205-215.
- Mizuta, S. and Wada, S. 1981. Microfibrillar structure of growing cell wall in a coenocytic green algae, *Boergesenia forbesii*. *Bot. Mag. Tokyo* **94**: 343-353.
- Mizuta, S., Roberts, E. M. and Brown, R. M. Jr. 1989. A new cellulose synthesizing complex in *Vaucheria hamata* and its relation to microfibril assembly. p. 659-676. *In* C. Schuerch [ed.] Cellulose and wood-chemistry and technology. Wiley, New York.
- Mizuta, S., Sawada, K. and Okuda, K. 1985. Cell wall regeneration of new spherical cells developed from the protoplasm of a coenocytic green alga, *Boergesenia forbesii*. *Jpn. J. Phycol.* **33**: 32-44.
- Montezinos, D. 1982. The role of the plasma membrane in cellulose microfibril assembly. p. 147-162. *In* C. W. Lloyd [ed.] The cytoskeleton in plant growth and development. Academic Press, London.
- Moore, P. J., Swords, K. M. M., Lynch, M. A. and Staehelin, A. S. 1991. Spatial organization of the assembly pathways of glycoproteins and complex polysaccharides in the Golgi apparatus of plants. *J. Cell Biol.* **112**: 589-602.
- Mueller, S. C. and Brown, R. M. Jr. 1980. Evidence for an intramembrane component associated with a cellulose microfibril-synthesizing complex in higher plants. *J. Cell Biol.* **84**: 315-326.
- Noguchi, T., Tanaka, K. and Ueda, K. 1981. Membrane structure of dictyosomes, large vesicles and plasma membranes in a green algae, *Micrasterias crux-melitensis*. *Cell Struct. Funct.* **6**: 217-229.
- Okuda, K. and Mizuta, S. 1985. Analysis of cellulose microfibril arrangement patterns in the cell wall of new spherical cells regenerated from *Boodlea coacta* (Chlorophyceae). *Jpn. J. Phycol.* **33**: 301-311.
- Okuda, K. and Brown, R. M. Jr. 1992. A new putative cellulose-synthesizing complex of *Coleochaete scutata*. *Protoplasma* **168**: 51-63.
- Okuda, K., Li, L., Kudlicka, K., Kuga, S. and Brown, R. M. Jr. 1993. β -glucan synthesis in the cotton fiber I. Identification of β -1,4- and β -1,3-glucans synthesized *in vitro*. *Plant Physiol.* **101** (in press)
- Parker, B. C., Preston, R. D. and Fogg, G. E. 1963. Studies of the structure and chemical composition of the cell walls of Vaucheriaceae and Saprolegniaceae. *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B* **158**: 435-445.
- Peng, H. B. and Jaffe, L. F. 1976. Cell wall formation

- in *Pelvetia embryos*. A freeze fracture study. *Planta* **133**: 57-71.
- Preston, D. G. 1974. The physical biology of plant cell walls. Chapman and Hall, London.
- Quader, H. 1991. Role of linear terminal complexes in cellulose synthesis. p. 51-69. In C. H. Haigler and P. J. Weimer [eds.] Biosynthesis and biodegradation of cellulose. Marcel Dekker, New York.
- Quader, H. and Robinson, D. G. 1981. *Oocystis solitaria*: a model organism for understanding the organization of cellulose synthesis. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **94**: 75-84.
- Read, S. M. and Delmer, D. P. 1991. Biochemistry and regulation of cellulose synthesis in higher plants. p. 177-200. In C. H. Haigler and P. J. Weimer [eds.] Biosynthesis and biodegradation of cellulose. Marcel Dekker, New York.
- Reiss, H. D., Schnepf, E. and Herth, W. 1984. The plasma membrane of the *Funaria caulonema* tip cell: morphology and distribution of particle rosettes and kinetics of cellulose synthesis. *Planta* **160**: 428-435.
- Reiss, H. D., Herth, W. and Schnepf, E. 1985. Plasma-membrane "rosettes" are present in the lily pollen tube. *Naturwissenschaften* **72**: 276.
- Robards, A. W. and Sleytr, U. B. 1985. Low temperature methods in biological electron microscopy. In Glauert, A. M. [ed.] Practical methods in electron microscopy, vol. 10. Elsevier, Amsterdam New York Oxford.
- Ross, P., Mayer, R. and Benziman, M. 1991. Biochemistry of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum*. p. 219-243. In C. H. Haigler and P. J. Weimer [eds.] Biosynthesis and biodegradation of cellulose. Marcel Dekker, New York.
- Rudolph, U. 1987. Occurrence of rosettes in the ER membrane of young *Funaria hygrometrica* protonemata. *Naturwissenschaften* **74**: 439.
- Rudolph, U. and Schnepf, E. 1988. Investigations of the turnover of the putative cellulose-synthesizing particle "rosettes" within the plasma membrane of *Funaria hygrometrica* protonema cells. I. Effects of monensin and cytochalasin B. *Protoplasma* **143**: 63-73.
- Rudolph, U., Gross, H. and Schnepf, E. 1989. Investigations of the turnover of the putative cellulose-synthesizing particle "rosettes" within the plasma membrane of *Funaria hygrometrica* protonema cells. II. Rosette structure and the effects of cycloheximide, actinomycin D, 2,6-dichlorobenzonitrile, biofluor, heat shock, and plasmolysis. *Protoplasma* **148**: 57-69.
- Schmid, V. H. R. and Meindl, U. 1992. Microtubules do not control orientation of secondary cell wall microfibril deposition in *Micrasterias*. *Protoplasma* **169**: 148-154.
- Schneider, B. and Herth, W. 1986. Distribution of plasma membrane rosettes and kinetics of cellulose formation in xylem development of higher plants. *Protoplasma* **131**: 142-152.
- Schnepf, E., Koch, W. and Deichgräber, G. 1966. Zur Cytologie und taxonomischen Einordnung von *Glaucozystis*. *Archiv für Mikrobiologie* **55**: 149-174.
- Seagull, R. W. 1989. The plant cytoskeleton. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* **8**: 131-167.
- Singer, S. J. and Nicolson, G. L. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membrane. *Science* **175**: 720-731.
- Sluiman, H. J. 1985. A cladistic evaluation of the lower and higher green plants (Viridiplantae). *Plant Syst. Evol.* **149**: 217-232.
- Stachelin, L. A. and Giddings, T. H. 1982. Membrane-mediated control of cell wall microfibrillar order. p. 133-147. In S. Subtelny and P. B. Green [eds.] Developmental order: its origins and regulation. Liss, New York.
- 杉山淳司 1992. 微細部電子回折による天然セルロースの結晶構造. *電子顕微鏡* **27**: 24-29.
- Tsekos, I. and Reiss, H. D. 1992. Occurrence of the putative microfibril-synthesizing complexes (linear terminal complexes) in the plasma membrane of the epiphytic marine red alga *Erythrocladia subintegra* Rosenv. *Protoplasma* **169**: 57-67.
- Wada, M. and Stachelin, L. A. 1981. Freeze-fracture observations on the plasma membrane, the cell wall and the cuticle of growing protonemata of *Adiantum capillus-veneris* L. *Planta* **151**: 462-468.
- Wardrop, A. B. 1970. The structure and formation of the test of *Pyura stolonifera* (Tunicata). *Protoplasma* **70**: 73-86.
- Willison, J. H. M. 1983. The morphology of supposed cellulose-synthesizing structures in higher plants. *J. Appl. Poly. Sci. Appl. Poly. Symp.* **37**: 91-106.
- Willison, J. H. M. and Brown, R. M. Jr. 1977. An examination of the developing cotton fiber: wall and plasmalemma. *Protoplasma* **92**: 21-41.
- Willison, J. H. M. and Grout, B. W. W. 1978. Further observations on cell-wall formation around isolated protoplasts of tobacco and tomato. *Planta* **140**: 57-58.
- Winder, B., Stal, L. J. and Mur, L. R. 1990. *Criminalium epipsammum* sp. nov.: a filamentantous cyanobacterium with trichomes composed of elliptical cells and containing poly- β -(1, 4) glucan (cellulose). *J. Gen. Microbiol.* **136**: 1645-1653.

(Received February 24, 1993; Accepted April 16, 1993)



— 学 会 録 事 —

1. 日本藻類学会第17回大会

1993年3月30日・31日の両日、東海大学海洋学部8号館において第17回大会を開催した。大会会長は山田信夫氏（東海大学）で、参加者は131名であった。講演は60題の一般講演（うち展示講演11題）があった。

大会第1日目に同会場において「日本藻類学会誌の改革について」の討論会が2時間にわたって行われた後、引き続き同大学4号館で懇親会を開催した。懇親会は林田文郎氏（東海大学）の司会により、山田信夫大会会長の挨拶、有賀祐勝学会長の乾杯の音頭で始まり、109名という多数の参加で、盛会裡に終了した。第2日目には総会が開催された。東海大学の本会関係者ならびに学生諸君には大会運営にあたっていろいろご協力頂き、厚くお礼申し上げます。

懇親会参加者：

安井 肇・秋岡英承・川嶋昭二・坂西芳彦・吉田忠生・斎藤 譲・小河久朗・斎藤捷一・谷口和也・山本弘敏・有賀祐勝・石川依久子・出井雅彦・岡崎恵視・加崎英男・片平幸枝・片山舒康・北山太樹・小林 弘・須田彰一郎・高原隆明・高村典子・立沢秀高・宮地和幸・宮村新一・山本鎔子・吉崎 誠・吉武佐紀子・渡辺 信・綿貫知彦・澤田 威・鈴木章方・藤田大介・堀口健雄・横浜康継・鯉坂哲朗・川井浩史・喜田和四郎・清沢桂太郎・瀬戸良三・半田信司・村瀬 昇・大野正夫・奥田一雄・宝諸武士・当真 武・田中次郎・千原光雄・長島秀行・野崎久義・能登谷正浩・原 慶明・山崎嘉也・三浦昭雄・梶田泰司・栗本なるみ・竹下俊治・日野修次・藩野恭子・前川行幸・湯澤 篤・藤森 泰・真山茂樹・山田信夫・林田文郎・嵯峨直恒・金井塚恭裕・申 宗岩・浪岡日左雄・飯間雅文・御園生 拓・佐藤博雄・種倉俊之・細田 節・大竹敏博・中嶋 泰・吉永一男・中山 恭・山中良一・二宮早由子・平井真一・恵良田真由美・山岸高旺・四ツ倉典滋・相馬咲子・石田健一郎・杉山孝一・中山 剛・二羽恭介・原田美穂・本多大輔・松村元美・松山和世・神谷充伸・土井考爾・駒崎 健・長嶋美香子・神林友広・鷹取 信・久保文靖・清水陽子・飯田高明・大西綾美・芹沢如比古・田井野清也・富永春江・Anong Chirapart・Danilo Largo・Jacqueline Rebello。

2. 編集委員会・評議員会

第17回大会の前日、3月29日に東海大学海洋学部1号館会議室において編集委員会および評議員会を開催した。評議員会では1993年度総会に提出する報告事項・議題などの審議を行った。審議の内容については総会の項を参照されたい。

編集委員会出席者：有賀祐勝、石川依久子、小林弘、前川行幸、川井浩史、吉田忠生、岡崎恵視、大野正夫、加藤哲也、都筑幹夫、渡辺 信、喜田和四郎、片山舒康、真山茂樹。

評議員会出席者：有賀祐勝、石川依久子、喜田和四郎、大野正夫、田中次郎、谷口和也、原 慶明、岡崎恵視、鯉坂哲朗、吉田忠生、山本弘敏、能登谷正浩、佐藤博雄。

3. 1993年度総会

1993年3月31日（大会第2日目）の講演終了後、東海大学海洋学部8号館において総会を開催した。有賀祐勝学会長の挨拶に続いて、横浜康継氏を議長に選出して議事に入った。

I. 報告事項

1. 庶務関係

(1) 会員状況（1993年3月現在）：名誉会員3名、普通会员539名、学生会員57名、団体会員47名、賛助会員11名、外国会員105名、購読50件、寄贈・交換27件。(2) 1992年度文部省科学研究費刊行助成金「研究成果公開促進費」交付額は970千円で、責任頁は360頁である。なお、1993年度については補助要求額2,722千円、責任頁360頁を申請した。(3) 第16回大会を1992年3月30・31日に東京水産大学で開催した。(4) ワークショップ「海苔栽培業見学会」を1992年3月27・28日に千葉県にて実施した（藻類40巻2号を参照）。(5) 1992年度秋季シンポジウムを1992年9月16日に帝塚山短期大学で「藻類の遺伝学」をテーマに開催した（藻類40巻4号参照）。(6) 第2回日本藻類学会賞は井上 勲・原慶明・千原光雄の3氏に授与されることになった。対象論文は39巻4号掲載の Further observations on *Olisthodiscus luteus* (Raphidophyceae, Chromophyta): the flagellar apparatus ultrastructure である。

2. 会計関係

(1) 12月31日現在の1992年度の会費納入率は、普通会員92%、学生会員83%、賛助会員82%、団体会員52%、外国会員58%である。(2) 1992年度一般会計と同山田幸男博士記念事業基金特別会計の決算は、片山舒康(東京学芸大学)、市村輝宜(東京大学)の両会計監事により1993年3月10日監査が行われ、適正であると承認された。

3. 編集関係

(1) 1992年度に発行した「藻類」第40巻第1～4号は、総頁数432頁、掲載論文数28編(内、英論文25編、和論文3編)、短報13編(内、英短報10編、和短報3編)、総説1編、雑録25編であった。頁当たりの平均経費は11,330円であった。掲載論文の超過頁は56頁であった。(2) 1993年3月10日に発行した第41巻第1号は、掲載論文数4編(内、英論文4編、和論文0編)、短報3編(内、英短報1編、和短報2編)、総説0編、雑録6編で、98頁であった。(3) 1993年3月28日現在の論文投稿状況は、受理済み3編、却下1編、期限切れ2編、著者取消5編、著者改訂依頼中15編、審査中13編である。

II. 審議事項

1. 庶務関係

以下のことが審議され、承認された。(1)「藻類」第41巻第1～4号を発行する。(2) 会員名簿を発行する。(3) 学会賞を授与する。(4) 秋季シンポジウムとし

て、海苔シンポジウム：海苔の機能性をめぐる諸問題(仮題)(1993年10月29日 東京)を開催する。(5) 日本藻類学会第18回大会を富山大学で、富山地域の会員のお世話で開催してもらうよう計画を進める。(6) つくば国際藻類フォーラム「藻類研究の今日と展望(Phycological Sciences ~ Today and Tomorrow)」(1993年8月23～26日 筑波)を後援する。

2. 会計関係

(1) 1992年度一般会計の決算報告および同監査報告は表-1のとおり承認された。(2) 1992年度山田幸男博士記念事業特別会計の決算報告および同監査報告は表-2のとおり承認された。(3) 1993年度一般会計および山田幸男博士記念事業特別会計の予算は表-3のとおり承認された。

3. 監事選出および評議員交代

1993-1994年の監事として大森正之氏(東大教養学部)と都築幹夫氏(東大応微研)を選出した。また、中国・四国地区評議員月舘潤一氏の転出に伴い、秋山優氏を繰り上げることとした。

4. その他

(1) 学会誌改革ワーキンググループ(委員長：石川依久子)から提出された最終答申(本号 p. 180～181 参照)の改革案について説明があり、審議の結果その大筋が承認され、今後は実施上の具体的事項の検討を行うことになった。(2)「藻類」の寄贈依頼2件について審議が行われ、承認された。

表-1 1992年度一般会計決算 (92.1.1 - 92.12.31)

収入の部 (円)		支出の部 (円)	
会費	5,020,904	印刷費	5,531,658
〔普通会員	3,636,000〕	〔印刷代	4,894,560〕
〔学生会員	225,000〕	〔別刷代	637,098〕
〔外国会員	474,904〕	編集費	338,416
〔団体会員	465,000〕	〔英文校閲料	100,000〕
〔賛助会員	220,000〕	〔編集補助費	50,000〕
販売	1,052,700	〔通信連絡費	160,464〕
〔定期購読	899,400〕	〔事務用品費	27,952〕
〔バックナンバー	153,300〕	会誌発送費	394,748
別刷代	715,400	庶務費	844,118
超過頁負担金	672,000	〔事務用品費	0〕
広告代	180,000	〔会議費	0〕
受取利息	68,100	通信・印刷費	383,788
プログラム代	36,560	事務整理補助費	4,000
文部省刊行助成金	970,000	幹事旅費補助	0
雑収入	12,360	幹事手当	160,000
寄付金	10,000	〔諸雑費	296,330〕
		事務業務委託費	1,483,200
		第16回大会補助費	120,000
		秋季シンポジウム会場費	50,000
小計	8,738,024	小計	8,762,140
前年度繰越金	5,899,334	次年度繰越金	5,875,218
合計	14,637,358	合計	14,637,358

貸借対照表 (92.12.31 現在)

借方 (円)		貸方 (円)	
定期預金 (第一勧業銀行)	1,000,000	未払金	2,196,322
普通預金 (第一勧業銀行)	4,128,828	前受会費	264,000
普通預金 (住友銀行)	51,220	前期繰越金	5,899,334
〔本部	51,220〕	当期剰余金	△24,116
普通預金 (山梨中央銀行)	68,979	次期繰越金	5,875,218
〔編集室	68,979〕		
郵便振替貯金	1,266,166		
小口現金	246,783		
〔事務局	162,893〕		
〔本部	83,890〕		
受取小切手	204,986		
カード	58,880		
〔UCカード	58,880〕		
〔アメリカンエクスプレス	0〕		
未収金	1,180,820		
*仮払金	128,878		
合計	8,335,540	合計	8,335,540

*第17回大会補助費前払い及び山田基金支払立替え分 (賞状代)

1993年3月10日

会長 有賀 祐勝 ㊟
会計幹事 能登谷 正浩 ㊟

本会計決算報告は適正である事を認める。

1993年3月10日

会計監事 市村 輝宜 ㊟
会計監事 片山 舒康 ㊟

表-2 1992年度山田幸男博士記念事業特別基金会計決算 (92.1.1 - 92.12.31)

収 入 の 部 (円)		支 出 の 部 (円)	
山田追悼号売上金	7,000	賞 状 代	8,569
(内 未収金	7,000)	送金手数料	309
コンプ類売上金	1,000	小切手換金手数料	1,000
受 取 利 息	108,930		
小 計	116,930	小 計	9,878
前年度繰越金	2,189,543	次年度繰越金	2,296,595
合 計	2,306,473	合 計	2,306,473

貸借対照表 (92.12.31現在)

借 方 (円)		貸 方 (円)	
定期預金 (住友銀行)	1,900,000	未 払 金	8,878
普通預金 (住友銀行)	384,473	前期繰越金	2,189,543
現 金	1,000	当期剰余金	107,052
郵便振替貯金	13,000		
未収金	7,000	次期繰越金	2,296,595
合 計	2,305,473	合 計	2,305,473

1993年3月10日

会 長 有 賀 祐 勝 ㊤

会計幹事 能登谷 正 浩 ㊤

本会計決算報告は適正である事を認める。

1993年3月10日

会計監事 市 村 輝 宜 ㊤

会計監事 片 山 舒 康 ㊤

日本藻類学会第17回大会決算報告

1993年4月13日

収 入 (円)		支 出 (円)	
大会参加費	490,000	人件費 (アルバイト賃など)	432,000
普通会員	4,000×97人=388,000	プログラム印刷費 (150部)	30,940
学生会員	3,000×34人=102,000	消耗品費 (文具・立看板など)	72,469
懇親会費	327,000	茶・菓子代	21,423
大会補助費	120,000	懇親会費	339,000
		会 議 費	35,399
		通 信 費	5,769
合 計	937,000	合 計	937,000

表-3 1993年度一般会計予算

収 入 の 部 (円)		支 出 の 部 (円)	
会 費	4,743,000	印 刷 費	5,412,000
普通会員	3,208,000	印刷代(400頁)	4,622,000
学生会員	243,000	別 刷 代	790,000
外国会員	625,000	編 集 費	407,000
団体会員	480,000	英文校閲料	100,000
賛助会員	187,000	編集補助費	50,000
販 売	777,000	通信連絡費	222,000
定期購読	677,000	事務用品費	35,000
バックナンバー	100,000	会誌発送費	358,000
別 刷 代	790,000	庶 務 費	860,000
超過頁負担金	200,000	事務用品費	20,000
広 告 代	180,000	会 議 費	60,000
受 取 利 息	50,000	通信・印刷費	467,000
プログラム代	30,000	事務整理補助費	0
雑 収 入	10,000	諸 雑 費	100,000
刊行助成金	970,000	幹事旅費補助	53,000
寄 付 金	1,000	幹 事 手 当	160,000
		学会業務委託費	1,483,000
		名 簿 代	227,000
		第17回大会補助費	120,000
		秋季シンポジウム会場費	50,000
小 計	7,751,000	小 計	8,917,000
前年度繰越金	5,875,218	予 備 費	4,709,218
合 計	13,626,218	合 計	13,626,218

1993年度山田幸男博士記念事業特別基金会計予算

収 入 の 部 (円)		支 出 の 部 (円)	
山田追悼号売上金	7,000	学 会 賞	20,000
コンプ類売上金	1,000		
日米セミナー売上金	4,000		
受取利息	50,000		
小 計	62,000	小 計	20,000
前年度繰越金	2,296,595	予 備 費	2,338,595
合 計	2,358,595	合 計	2,358,595

1993年3月30日

ワーキンググループ委員の構成

委員長：石川依久子（東京学芸大学）

幹事：原慶明（筑波大学），増田道夫（北海道大学），渡辺信（国立環境研究所）

出版社渉外班：野崎久義（国立環境研究所），井上勲（筑波大学），川井浩史（神戸大学），田中次郎（国立科学博物館），真山茂樹（東京学芸大学）

外国渉外班：川井浩史（神戸大学），鯉坂哲朗（京都大学），堀口健雄（信州大学）

和文誌検討班：藤田大介（富山県水産試験場），岡崎恵視（東京学芸大学），前川行幸（三重大学），須田彰一郎（日本ロシヤ株式会社）

本ワーキンググループは1992年3月の日本藻類学会大会の総会決議を受けて発足し、以来3つの班で検討を続けるほか、4回の全体会議を行い、さらに検討を重ねてきた。この間「藻類」40巻4号にその中間答申を掲載し、またその答申に基づくアンケート調査を行い、その結果について「藻類」41巻1号に報告した。これらの結果を踏まえて、ここに日本藻類学会誌改革について最終答申を行う。

本ワーキンググループはまず渡辺・井上両評議員の提案書の指摘にある「藻類」の現状に関する問題点につき再検討し以下の認識にいたった。

1) 「藻類」の現状における問題点

- * 学術雑誌としての評価をおこなううえで、掲載された論文の引用、別刷りの請求などが一つの評価の基準となるが、現状ではその数は非常に少なくなっている。その理由の1つとして外国会員が少なく、特に図書館などで購読が少ないため「藻類」に掲載された論文が、そもそも外国の研究者の目にとまる機会が少ないことがあげられる。
- * 外国会員の数は現在100名程度であり、真の国際誌と呼ぶには全体の会員数（約750名）から考えてあまりにも少い。特に外国を含む購読は50件程度と非常に少ない。現在さらには減少傾向にある。外国の会員が少ない理由としては、円高のためあって藻類学関係の他の学会の会費と比べて日本藻類学会の会費が高いこと、「藻類」では英文と和文が混在しているため雑誌としてのレベルも実状以下にみられ購読意欲をそそられないこと、大会参加などのメリットがないことなどが考えられる。今日 J. Phycology や Phycologia などの雑誌が年6回の刊行となり、また掲載される論文の量も増えていることをふまえると、今後「藻類」

とこれらの国際誌との格差がますます開いていくものと予想される。

- * 最近では Current Contents などの抄録誌や学術データベースが情報の検索に大きな役割をはたしている。また、これらのデータベースに基づき調査される論文引用数 (Citation index) がそれぞれの論文の学術的な評価を行う上で大きな要素となってきた。しかしながら、現在「藻類」は主な抄録誌に掲載されておらず、現状のままでは今後も掲載される可能性が非常に低い。このことは「藻類」に掲載される論文の評価のみならず「藻類」への優れた論文の投稿意欲を著しく低める要因となっている。
 - * 「藻類」における和文論文の比率が減少してきたが、それにとまって会員間の情報交換、啓蒙誌としての機能を果たしにくくなってきている。
 - * 現状では投稿論文数が少ないため、学会誌としてのレベルの維持が困難な状況にあり、また経済的理由などから英語のチェックを十分におこなって英語論文をよりよいものとするにも困難がある。
 - * 現在は論文の審査はほとんど国内で行っているため、必ずしもその投稿論文の内容に関する適当な専門家のところへ審査を依頼できるわけではない。そのため審査の内容が十分でない場合もあり、この点に関する不満もある。
 - * 「藻類」における和文論文の比率が減少してきた。その理由の一つとしては英文・和文が混在していることにより、和文論文は英文論文に劣るといった印象を与えていることが考えられる。
 - * 地球環境問題やマリンバイオテクノロジー等がクローズアップされている現在、生物群としての藻類は今後有望な生物資源として、また生物の多様性といった観点からも、以前より大きな注目を集めている。これにとまない藻類学の領域や研究者の幅は国内でも拡大しているはずであるが、「藻類」はそのような国内需要に十分対応できていないと考えられる。
- 以上のことをまとめると、1) 外国会員・購読が少ない。海外への普及が悪いため論文の投稿数が少なく掲載論文の質が向上しない。その結果として外国会員・購読が伸びない。2) 和文論文数が急激に減少し、それにとまない、会員間の情報交換や啓蒙誌としての機能が果たせなくなり、国内の会員や購読も伸びない。この二重の悪循環を解決するためには、1) 雑誌の質を高められるよりよい編集体制の確立、2) 外国会員と購読（特に大学図書館などの公的機関）の拡大、3) 投稿論

文の量と分野の拡大および質の向上、4) 和文論文や国内会員間の情報交換および啓蒙活動の一層の充実、をめざした抜本的な改革が必要であるとの認識で一致し、これを中間答申にまとめた。

2) 「藻類」の改革案

中間答申を「藻類」40巻4号に掲載し、この内容に関して全会員を対象に雑誌の改革に関するアンケートを行った。その結果、多くの回答者が学会誌を英文誌と和文誌に分けることに賛成し、また英文誌については国際的な商業的出版社との契約のもとで出版することに賛成していた。さらに、雑誌の体裁・出版回数については英文誌 A4 版、年 4 回・和文誌 B5 版、年 2 回ないしは 4 回が多数を占めていた。

そこで本委員会はこのアンケート結果も踏まえて、学会誌の改革について討議を行い、次のような結論に達した。

i) 英文誌

英文誌は編集の国際化、外国会員・購読の拡大をめざし、具体策として編集委員としての外国人会員の参画による学会誌の出版にふみきる。将来的には現在機運の高まっている太平洋西部地区での藻類学会連合などの設置と、この学会連合による共同編集・出版も考慮すべきである。

- * 大学図書館などの購読の拡大を考えると、実績のある国際的商業出版社からの出版は非常に効果的である。このことには出版社のネームバリューに加えて出版社自身のプロモーションも期待できる。
- * 英文の校閲、印刷スタイルの編集、英文の初期校正など日本人のスタッフだけでは困難な作業を国際的な出版社の編集スタッフが加わることで適切に行うことができるようになる。このことは雑誌の対外的な評価を高める上で大きな効果がある。
- * 雑誌の体裁、契約内容、購読など非会員への販売数にもよるが出版社からの出版の方が学会からの出版より少ない経費ですむ可能性がある。この場合、雑誌の体裁を現状の B5 版から A4 版に拡大し、名称をより一般的なもの(地域名を含まないもの)に変更する。年 4 回各号 60-70 ページとし、用紙・印刷の質などは少なくとも現状を維持することを前提とする。
- * 学会の主な動向につき掲載する。

ii) 和文誌

- * 和文誌は会員間の情報交換、啓蒙誌としての機能を充実させるため和文論文(英文要約をつける)のほか、速報、総説、口絵写真、解説(検索表)、採集地案内、採集記録、研究機関案内、関係論文リスト、学会記事、計報、会員短信などを掲載する。
- * 編集体制は英文誌編集との重複を避け、現状程度の

規模で行うが、印刷の形態については経費削減のため、DTP(デスクトップパブリッシング)を導入し完全版下の作成をおこなう。

- * 雑誌の名称は「藻類」を継承し、体裁は現状のまま B5 版とし、ニュースの速報性とこれまでの和文論文などの掲載頁数を維持・充実し年 3 回各号 64 ページ発行とする。

以上のことを踏まえ、国際的商業出版社 3 社および従来の中西印刷に経費について見積をさせた(出版社との契約条件と見積回答については資料参照のこと)。その結果、英文誌を Blackwell Scientific 社に、また和文誌を中西印刷に委託することで現状の会計規模で英文誌と和文誌を出版することが可能であると判断した。

iii) 英文誌・和文誌分割後の編集体制

- * 英文誌・和文誌編集のためにそれぞれの独立した編集局をつくる。
- * 英文誌編集局は新体制が軌道にのるまで固定する。
- * 英文誌編集局は会計上の問題を除き独立させる。
- * それぞれの編集局の組織は下記のようにする。

1) 英文誌

基本的に以下の体制とするが出版社とも協議のうえ決定する。

Editor-in-chief	1 名
Associate Editor	日本人 3 名, 外国人 3 名
Managing Editor	1 名
Editorial Board	外国人を含む約 10 名

2) 和文誌

基本的には従来の編集体制を踏襲する。

編集委員長	1 名
編集実行委員	2 名
編集幹事	1 名
編集委員	英文誌の日本人 Editorial Board が兼ねる。

iv) その他

- * 出版助成金に関しては、文部省への打診の結果、1 学会で 1 機関誌のみ対象となる。名称の変更は可能であるので英文誌を対象に継続申請する。他の学会組織との共同出版となった場合には再申請ということになる可能性が高く、発行形態についてはさらに検討を要するが、出版社からの発行自体には問題はない。
- * 外国会員には英文誌のみ受け取る制度を設け、会費を安くする。
- * 英文誌、和文誌の分離にともなう経費の増大に対処するため、事務業務委託内容の見直し、賛助会員会費の見直し、オークション・講習会などの学会事業の展開を検討する。学会事業の展開は財政的なゆとりの有無だけでなく、学会活動の活性化にもつながるので積極的に進めるべきである。

— 会 員 移 動 —
新 人 会

住 所 変 更

訃 報

本会会員 豊国秀夫氏（長野県）は1992年9月26日に逝去されました。

本会会員 稲垣貫一氏（神奈川県）は1992年12月22日逝去されました。

本会会員 北見秀夫氏（新潟県）は1993年3月6日逝去されました。

謹んで哀悼の意を表します。

日本藻類学会

退 会

日本藻類学会々則

第1条 本会は日本藻類学会と称する。

第2条 本会は藻学の進歩普及を図り、併せて会員相互の連絡並に親睦を図ることを目的とする。

第3条 本会は前条の目的を達するために次の事業を行なう。

1. 総会の開催（年1回）
2. 藻類に関する研究会、講習会、採集会等の開催
3. 定期刊行物の発刊
4. その他前条の目的を達するために必要な事業

第4条 本会の事務所は会長が適当と認める場所に置く。

第5条 本会の事業年度は1月1日に始まり、同年12月31日に終わる。

第6条 会員は次の4種とする。

1. 普通会員（藻類に関心をもち、本会の趣旨に賛同する個人で、役員会の承認するもの）
2. 団体会員（本会の趣旨に賛同する団体で、役員会の承認するもの）
3. 名誉会員（藻学の発達に貢献があり、本会の趣旨に賛同する個人で、役員会の推薦するもの）
4. 賛助会員（本会の趣旨に賛同し、賛助会員会費を納入する個人又は団体で、役員会の推薦するもの）

第7条 本会に入会するには、住所、氏名（団体名）、職業を記入した入会申込書を会長に差出すものとする。

第8条 1. 普通会員は毎年会費7,000円（学生は5,000円）を前納するものとする。但し、名誉会員（次条に定める名誉会長を含む）は会費を要しない。外国会員の会費は7,000円とする。会長の承認を得た外国人留学生は帰国前に学生会費の10年分を前納することができる。団体会員の会費は12,000円とする。賛助会員の会費は1口20,000円とする。

2. 本会の趣旨に賛同する個人又は団体は、本会に寄付金又は物品を寄付することができる。寄付された金品の用途は、第11条に定める評議員会で決定する。

第9条 本会には次の役員を置く。

会長 1名 幹事 若干名 評議員 若干名 会計監事 2名

役員は任期は2カ年とし重任することが出来る。但し、会長と評議員は引続き3期選出されることは出来ない。役員選出の規定は別に定める（付則第1条～第4条）。本会に名誉会長を置くことが出来る。

第10条 会長は会を代表し、会務の全体を統べる。幹事は会長の意を受けて日常の会務を行う。会計監事は前年度の決算財産の状況などを監査する。

第11条 評議員は評議員会を構成し、会の要務に関し会長の諮問にあずかる。評議員会は会長が招集し、また文書をもって、これに代えることが出来る。

第12条 1. 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。

2. 「藻類」の編集・刊行のために編集委員会を置く。

3. 編集委員会の構成・運営などについては別に定める内規による。

第13条 1. 本会は会員の研究奨励のため、「藻類」に掲載された優秀な論文の著者に日本藻類学会賞を授与する。

2. 日本藻類学会賞受賞者の選考は別に定める内規による。

（付則）

第1条 会長は国内在住の全会員の投票により、会員の互選で定める（その際評議員会は参考のため若干名の候補者を推薦することが出来る）。幹事は会長が会員中よりこれを指名委嘱する。会計監事は評議員会の協議により会員中から選び総会において承認を受ける。

第2条 評議員選出は次の二方法による。

1. 各地区別に会員中より選出される。その定員は各地区1名とし、会員数が50名を越える地区では50名までごとに1名を加える。
 2. 総会において会長が会員中より若干名を推薦する。但し、その数は全評議員の1/3を越えることは出来ない。
- 地区割は次の8地区とする。北海道地区、東北地区、関東地区、東京地区、中部地区（三重を含む）、近畿地区、中国・四国地区、九州地区（沖縄を含む）。

第3条 会長、幹事及び会計監事は評議員を兼任することは出来ない。

第4条 会長および地区選出の評議員に欠員を生じた場合は、前任者の残余期間次点者をもって充当する。

第5条 会員がバックナンバーを求めるときは各号1,750円とし、非会員の予約購読料は各号3,000円とする。

第6条 本会則は1991年3月31日より改正施行する。

投 稿 案 内

I. 編集の方針 本誌には藻学と応用藻学に関する会員の未発表の、論文・総説・短報（短い調査報告など）・速報・雑録（採集地案内・分布資料・ニュース・所見・新刊紹介など）を掲載します。論文はデータや考察の独創性の有無に重点を置いた編集委員会の審査を経たのち受理されます。原稿の取舍、掲載順序、体裁などは編集委員会および編集幹事で決めます。原稿は和文または英文とし、論文は刷上り英文10頁、和文6頁、総説16頁、短報4頁、雑録2頁以内を無料とします。頁の超過は制限しませんが、超過頁については1頁当たり12,000円が必要です。折り込み、色刷りなどの費用は著者負担となります。また、速報は2頁以内と制限があり、有料で1頁12,000円の掲載料が必要です。和文原稿では5枚（ワープロでは2枚）が、英文原稿では2枚が刷上り1頁となる見当です。

II. 報文の書き方 和文原稿は400字詰原稿用紙（横書きB5またはA4）に、当用漢字、新仮名使い（生物名は片仮名）を用い楷書体で書き、ワープロの場合は1行35字、28行に隙隙に印字して下さい。英文原稿は厚手タイプ用紙を用い、ダブルスペースで1行65字、28行にタイプまたはワープロで印字し、十分な英文添削または校閲を経たのち提出して下さい。新種の発表や学名の記載に当たっては国際植物命名規約に従って下さい。なお、アラビア数字・メートル法・摂氏温度を用い、学名などのイタリック体には下線1本、スモールキャピタルには下線2本、ゴシック体には波状線1本を記入して下さい。

例：Batrachospermum ectocarpum Sirod., Summary, sec, min, hr, nm, μ m, mm, cm, m, μ l, ml, l, μ g, mg, g, N, M, ppm, lux, g (gravity), 25°C など。

原稿は、標題・英文要約（和文・英文原稿共）・本文・引用文献・和文摘要（英文原稿のみ）・表と図とその説明（英文）の順にまとめて1組とし、コピー共3組（写真は現物1組と現物または写真コピー2組、電子複写などは不可）にお送り下さい。

- (1) 標題と要約 英文原稿では、欄外見出し・標題・著者名・宛先・要約の順に、和文原稿では、欄外見出し（英）・標題・著者名・宛先（和と英）・要約（英）の順に記入して下さい。要約は著者名・標題・雑誌名・まとめ（200語・必要に応じて400語まで）・アルファベット順のキーワード（5～10語）の順に記入し、研究費に対する謝辞は脚注に入れて下さい。
- (2) 本文 標題紙に記した以外の謝辞は、なるべく本文の末尾に入れて下さい。表と図は必ず本文中に引用し（Fig. 1, Table 1のように）、文献の引用は次の例にならって、著者名と出版年および必要に応じて頁（単行本の場合）を明示して下さい。

例：……aquatic ecosystems (Welch 1972, 1974), Liebig's (1840 p. 23) "low of the minimum" is……, ……が知られている (Yamada 1949), 岡村 (1907 p. 56) は、

- (3) 引用文献 本文中で引用した文献のみを、別紙にアルファベット順に列挙して下さい。引用は、①原著の引用と、②図書目録を見て目的の書物を捜し当てるための引用の2本立てとし、それぞれが イ) 著者名 ロ) 出版年 ハ) 標題（巻次を含む） ニ) 対照事項（頁・図など） ホ) 出版事項（出版者・出版地）のうちの必要部分からなるよう順を追って下例にならって記入して下さい。

(単行本) ①, ②共通 広瀬弘幸^{イ)} 1959.^{ロ)} 藻類学総説.^{ハ)} 内田老鶴圃, 東京.^{ニ)}

(単行本中の1章) ①Drebes, G.^{イ)} 1977.^{ロ)} Sexuality.^{ハ)} p. 250-283.^{ニ)} ②In D. Werner [ed.]^{イ)} The biology of diatoms.^{ロ)} Blackwell Sci. Publ., London.^{ハ)}

(叢書中の分冊) ①Hustedt, F.^{イ)} 1930.^{ロ)} Bacillariophyta.^{ハ)} ②In A. Pascher [ed.]^{イ)} Süswasser-Flora Mitteleuropas. ed. 2. No. 10.^{ロ)} Gustav Fischer, Jena.^{ハ)}

(雑誌の中の1論文) ①筒井 功・大野正夫^{イ)} 1992.^{ロ)} 和歌山県白浜産クロメの成長・成熟と形態の季節的变化.^{ハ)} ②藻類 40^{ロ)}: 39-46.^{ニ)}

①Yoshida, T. and Silva, P. C.^{イ)} 1992.^{ロ)} On the identity of *Fucus babingtonii* Harvey.^{ハ)} ②Jpn. J. Phycol. 40^{ロ)}: 121-124.^{ニ)}

- (4) 和文摘要 英文原稿の場合のみ、和文で、著者名・標題・宛先も入れ400字以内にまとめて下さい。
- (5) 表と図およびその説明 英文で書き、表と図は原寸大（印刷頁の寸法は14×20.5 cm、片段のときは幅6.6 cm）またはA4版程度に仕上げ、図には倍率を示すスケールを入れ、線や記号、文字、数字はレタリング用具などを用いて鮮明に記入し、そのまま印刷に廻せるようにして下さい。なお、特に表の組版を希望の場合はその旨明記して下さい。表と図の上には割付、指定、レタリングや写真の脱落防止の必要上、必ずトレーシングペーパーを付け、その下端に著者名・番号・希望縮尺を記入して下さい。表と図の説明は別紙とし、それを入れる場所を本文原稿右欄外に明示して下さい。

III. 校正と別刷 著者校正は初校のみとし、印刷所から送りますので、3日以内に校正して同封の別刷申込書に所定の事項を記入し編集委員会宛に返送して下さい。別刷代は、論文・総説・短報に限って50部を学会で負担します。

Information for Authors (Revised March 1993)

Members of the Society are invited to contribute original research reports, short communications, review articles and rapid communications in Japanese or English on all aspects of phycology. Every research paper is read and criticized by reviewers on the basis of its originality and the discussion presented. Where appropriate, reviewers other than those on the Editorial Board are consulted. Final responsibility for selection and published order of papers rests with the Editor. Research reports not longer than 10 printed pages in English and 6 printed pages in Japanese including figures and tables, short communications within 4 printed pages and review articles within 16 printed pages will be published without excess charge (exclusive of reprints); additional published pages will be charged to the author (12,000 Yen per single printed page). Rapid communications acceptable within 2 printed pages will be published in the possible earliest issue with charge at 12,000 Yen per single printed page.

The manuscript should conform exactly to the following instructions. The **manuscript** should be typewritten, double-spaced in 65 letters per line and 28 lines, on thick paper of 21.5 × 28 cm or A4 size. Symbols, units and nomenclature should conform to international usage. The metric system (sec, μm , μg , M, °C etc) should be used for all numerical data. Words to be printed in italics should be underlined. The original copy and two duplicates are required. The first page should have only the title, full name(s) of the author(s) and institution with address, and any necessary footnote. A short running title should be included. Acknowledgements preferably follow the text but precede the references. Tables and legends for figures should be on separate pages and be placed after the references.

An **abstract** of not more than 200 words is required. At the end of the abstract, 5–10 Key Index Words should be given alphabetically for aid in indexing. A Japanese abstract will be provided by the Editor from translation of the abstract.

References. Citations in the text should read thus: Liebig's (1840 p. 23) ... or ... (Welch 1972, 1974). In the list at the end of the paper, references should be typed in alphabetical order. Each reference should be given in the following order: Name, Initials, Date, Title, Journal Volume: first page-last page. Example:

Mikami, H. 1978. On *Laingia hookeri* (Rhodophyceae, Delesseriaceae) from New Zealand. *Jap. J. Phycol.* 26: 65–68.

A book title should be followed by the name of publisher and place of publication. Example:

Abbott, I. A and Hollenberg, G. J. 1976. Marine algae of California. Stanford Univ. Press, Stanford.

Tables should be numbered with Arabic numerals, have a title, and be referred to in the text.

Figures, whether line drawings or photographs, should be numbered consecutively in Arabic numerals, and referred to in the text. The maximum size for a full page figure is 14 × 20.5 cm. Line drawings should be made with black ink on white paper or blue-lined graph paper. Letters and numerals should not be made by hand, but should be made neatly with a lettering device (not a typewriter) and be of such size that the smallest character will not be less than 1 mm high when reduced. The original drawing and two sets of clear copies are required. Photographs must be of good quality. They should be grouped to conform to the page style and format of the Journal and preferably be submitted at a size that permits reproduction without reduction. Photographs should be submitted in triplicate (or 1 original and 2 photocopies *neq* Xerox copies). Coloured plates may be printed at the expense of the author. The insertion of tables and figures in the text should be indicated on the right-hand margin of the sheet.

Proofs should be checked carefully and should be returned by airmail to the Editor within three days of receipt. The author will receive 50 offprints free of charge. Additional copies can be ordered at cost on the reprint ordering form sent with the proofs.

「アジア学術会議(仮称)」の開催決まる

平成5年3月 日本学術会議広報委員会

「アジア学術会議(仮称)」の開催経費を含む日本学術会議の平成5年度予算が決まりましたので、その概要についてお知らせします。

平成5年度日本学術会議予算

日本学術会議の第15期活動計画の大きな柱である「学術研究の国際貢献の重視」の具体的方策の一環として、「アジア学術会議(仮称)」の開催が、平成5年度予算によって実現することとなりました。その内容は、学術研究が環境問題等の諸課題を克服し、人類の繁栄と世界の平和に寄与するとの認識に立って、本年秋に東京で、我が国と地理的・文化的に関係の深いアジア各国を代表する学術研究者が一堂に会して、各国における学術研究の現状、アジア地域

における連携・協力のあり方などに関し意見を交換する場として開催するものです。我が国を含め10か国程度のアジア諸国から、代表者を招へいする予定です。

その他、平成5年度予算では、国際分担金の25団体に対する単価アップが認められ、国際会議の国内開催費については、アジア社会科学、植物科学、太平洋学術、電波科学、純粋・応用物理学、気象・水分、の6国際会議の開催を予定しています。また、世界各地で開催される学術関係国際会議への代表派遣や二国間交流に必要な経費が計上されております。

平成5年度予算概算決定額表は、下記のとおりであります。

(単位：千円)

事 項	前年度 予算額 A	平成5年度 予算額 B	比較増 △減額 C=B-A	備 考
日本学術会議の運営に 必要な経費	1,042,482	1,095,827	53,345	対前年度比較 105.1%
審 議 関 係 費	248,789	265,525	16,736	○地球圏—生物圏国際協同研究計画 (IGBP)シンポジウム、公開講演会等
国際学術交流関係費	198,514	221,254	22,740	
国際分担金	67,089	74,722	7,633	
国内開催	80,596	73,543	△ 7,053	
代表派遣	44,006	44,006	0	
二国間交流	6,823	6,823	0	
アジア学術会議	—	22,160	22,160	
会員推薦関係費	21,216	19,574	△ 1,642	
一般事務処理費	573,963	589,474	15,511	

日本学術会議第16期会員の推薦について

日本学術会議の会員は、従来、科学者を有権者とする直接選挙によって選出されてきましたが、日本学術会議法の一部を改正する法律（昭和58年法律65号）により、第13期（昭和60年7月22日）から、学術研究団体を基盤とする推薦・任命制に改められました。来年7月で、この推薦制度も三期9年を経過することとなります。

この会員選出制度のあらましは、次のとおりです。

- ① 日本学術会議は、一定の要件を備える学術研究団体を、その申請により登録する。
- ② 登録学術研究団体は、その構成員である科学者のうちから、会員の候補者を選定し、及び会員の推薦に当たる推薦人を指名し、それぞれ、日本学術

会議に届け出る。

- ③ 推薦人は、会員推薦管理会がその資格があると認定した会員の候補者のうちから、会員として推薦すべき者及び補欠の会員として推薦すべき者を決定し、日本学術会議を経由して内閣総理大臣に推薦する。
- ④ 内閣総理大臣は、上記③の推薦に基づいて、会員を任命する。
- ⑤ 学術研究団体の登録、会員の候補者の資格の認定その他会員の推薦に関する所要の事務は、日本学術会議に置かれる会員推薦管理会が行う。

以上の概要を第16期（平成6年7月～平成9年7月）の会員選出日程によると、次表のようになり、これに従って今後の事務処理が行われる予定になっています。

日本学術会議第16期会員選出手続日程

平成5年	5月31日(月)まで	学術研究団体の登録申請の締切り
	9月上旬	登録審査結果の通知
	不登録通知を受けた日の翌日から20日以内	不登録通知を受けた団体からの異議の申出受付
	9月上旬	関連研究連絡委員会についての意見聴取*
	10月下旬	〈団体関係〉異議の申出に対する決定
	11月30日(火)まで	関連研究連絡委員会の指定*
平成6年	12月上旬	会員の候補者の選定及び推薦人の指名の依頼
	1月31日(月)まで	会員の候補者の届出の締切り
	2月21日(月)まで	推薦人（予備者を含む）の届出の締切り
	3月20日(日)まで	会員の候補者の資格の認定等の通知
	3月下旬	推薦人に会議開催等の通知発送
	不認定通知を受けた日の翌日から20日以内	会員の候補者の資格の不認定通知を受けた学術研究団体又は会員の候補者からの異議の申出受付
	4月20日(水)まで	〈会員の候補者関係〉異議の申出に対する決定
	5月中旬から6月上旬まで	推薦人会議（会員及び補欠の会員として推薦すべき者を決定）
6月中旬	日本学術会議を経由して内閣総理大臣へ推薦	
7月22日(金)	第16期日本学術会議会員の任命	

注：*は、日本学術会議会長が意見聴取し、指定する。

日学双書の刊行について

日本学術会議主催公開講演会及び公開シンポジウムの記録をもとに編集した、次の日学双書が刊行されました。

日学双書第15刊 「文明の選択－都市と農業・農村の共存を目指して－」

定価1,000円（消費税込み、送料240円）

日学双書第16刊 「子どもの人権を考える」

定価1,000円（消費税込み、送料240円）

日学双書第17刊 「首都機能の一極集中問題」

定価2,000円（消費税込み、送料310円）

（問い合わせ先）

〒106 東京都港区西麻布3-24-20

交通安全教育センター内

財団法人日本学術協力財団

☎03-3403-9788

御意見・お問い合わせ等がありましたら、下記までお寄せください。

〒106 東京都港区六本木7-22-34

日本学術会議広報委員会 電話03(3403)6291



賛助会員

北海道栽培漁業振興公社 060 札幌市中央区北3条西7丁目
北海道第二水産ビル4階

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
株式会社 シロク商会 260 千葉市春日1-12-9-103

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
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

田崎真珠株式会社田崎海洋生物研究所 779-23 徳島県海部郡日和佐町外ノ牟井
神協産業株式会社 742-15 山口県熊毛郡田布施町波野962-1

理研食品株式会社 985 宮城県多賀城市宮内2丁目5番60号

株式会社白寿保健科学研究所 原 昭邦 351 朝霞市栄町3-3-7

日本の赤潮生物

写真と解説

福代康夫・高野秀昭 編
千原光雄・松岡数充

B5判(上製函入) 424頁
定価13,390円(〒360円)

赤潮の発生を防除するためには、赤潮の発生原因となる種をできるだけ正確に分類、同定することが必要である。本書は、主に日本近海および日本の海水域に出現する200種の赤潮生物を収録したものであり、その貴重な顕微鏡写真、録画、解説、文献等と共に、赤潮生物の分類・同定に必携の書である。本書のえとなつた「赤潮生物シート」(水産庁1979~1984)は6年間にわたって集めたものを、今回改めて分類群別に編集し、近年の新知見を加えて現状にあう書とした。

〔特色〕収録種は、藍藻8種、クリプト藻2種、渦鞭毛藻70種、珪藻80種、ラフィド藻9種、黄金色藻6種、ハプト藻4種、ユーグレナ藻8種、ブラシノ藻5種、緑藻1種原生動物2種の計200種。★1種見開き2頁にまとめられており、まず写真・図があり、続いて写真説明、和文記載、英文記載、文献が記述されている。★写真は研究者秘蔵のもの、および本書のために新しく製作した。★写真・図はA,B,C……と記号が付けられ、和文説明が記されている。★和文記載は以下の特徴が記されている。①細胞の性状、外形と大きさ ②細胞構造 ③生殖法、生活史 ④生態と分布 ⑤類似種との比較、分類学的位置、学名の変遷 ⑥その他(呈内容見本)

藻類の生態

秋山 優・有賀祐勝 共編
坂本 充・横浜康継

A5判(上製函入) 640頁
定価13,184円(〒410円)

1 水界生態系における藻類の役割—有賀祐勝* 2 水界環境と藻類の生理—藤田善彦* 3 藻類の生活圏—秋山優* 4 海洋植物プランクトンの生産生態—有賀祐勝* 5 湖沼における植物プランクトンの生産と動態—坂本充* 6 自然界における藻類の窒素代謝—和田英太郎* 7 植物プランクトンの異常増殖—飯塚昭二* 8 海藻の分布と環境要因—横浜康継* 9 河川底生藻類の生態—小林弘* 10 汽水域の藻類の生態—大野正夫* 11 土壌藻類の生態—秋山優* 12 海水中の藻類の生態—星合孝男* 13 藻類と水界動物の相互作用—成田哲也* 14 藻の/バソジーン—山本谿子* 15 藻類の細胞外代謝生産物とその生態的役割—大和田紘一* 16 藻類の生活史と生態—中原紘之* 17 藻類群集の構造と多様性—宝月欣二

各章末に掲載の多数の文献は読者にとって貴重な資料となろう。

シートでみる種の同定・分類 淡水藻類写真集

Photomicrographs of the Fresh-water Algae

山岸高旺・秋山優編集

B5判・各100シート・ルーズリーフ式
第1巻・第2巻 各4,120円 送料360円
第3巻~第10巻 各5,150円

日本淡水藻図鑑

廣瀬弘幸・山岸高旺編 日本ではじめて創られた本格的な図鑑。淡水藻類の研究者や水に関係する方々にとっては貴重な文献である。定価37,080円

植物組織学

猪野俊平著 植物組織学の定義・内容・発達史から研究方法を幅広く詳述した唯一の書。

定価15,450円

藻類学総説

廣瀬弘幸著 藻類の分類と形態を重点に置いて、克明な図により丁寧に解説する。定価10,300円

ナマコとウニ

—民謡と酒のさかなの話—
大島廣著 B6・定価1,009円

内田老鶴圃

東京・文京区大塚3-34-3 Tel 03-945-6781 FAX 03-945-6782 (価格は税込)

Seaweed Ecology & Algal Farming

図鑑 海藻の生態と藻礁

編者=徳田 廣・川嶋昭二・大野正夫・小河久朗

本書は、天然の海で海藻がどのような姿で生えているのかをつぶさに見てとることの出来る海藻生態図鑑であると同時に、人為的に投入した藻礁に如何にして海藻を生やすか、を紹介した世界に例のない図鑑でもある。

生態編では、緑藻42種、褐藻72種、紅藻80種、海草6種の総計200種をオールカラーで紹介。藻礁編では、藻礁、すなわち藻場造成用人工礁の構造や沈設位置を図示し、海中での藻礁上の海藻の生育状態、あるいは動物の蜻集状態を経時的に撮影した82点に及ぶカラー写真で示した。

藻場造成にかかわる方々はもちろんのこと、海洋環境の保全に意欲と関心をお持ちの一般の方々にも、本書は幅広く受け入れられるであろう。

■B5判 上製 総ページ 198p
カラーページ 179p
定価 14800円(税込/送サービス)



緑書房

〒171 東京都豊島区池袋2-14-4
☎03-3590-4441

情報処理印刷

ワープロ・データベース フロッピー・磁気テープが印刷へ直結

中西印刷株式会社

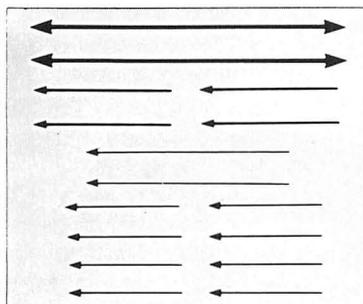
取締役社長 中西 亮

京都本社 602 京都市上京区下立売通小川東入ル
tel.075-441-3155 fax.075-441-3159
東京連絡所 113 東京都文京区本郷一丁目21-5
tel.東京03-3815-7465

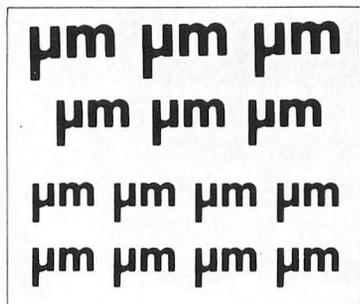
||||| 新製品ご案内!! |||||

レタリングシート (ブラック アンド ホワイト)

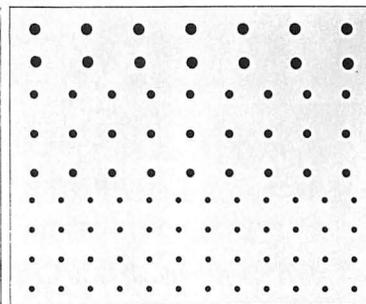
EMI NO.82014



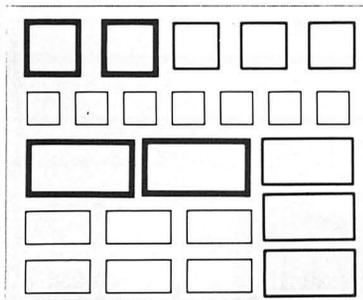
EMI NO.82016



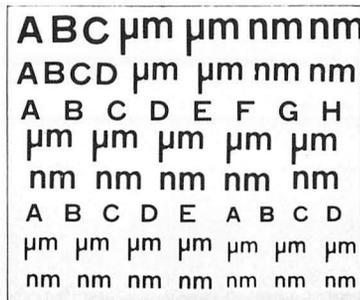
EMI NO.86626



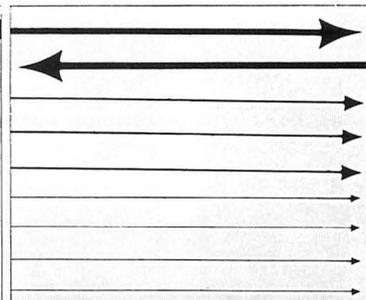
EMI NO.86627



EMI NO.86902

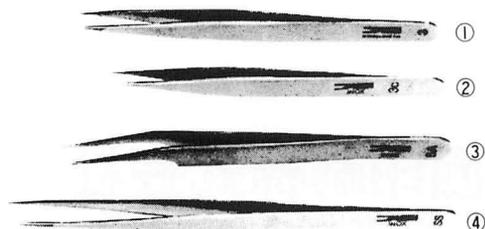


EMI NO.86916



※レタリングシートの総合カタログが出来ました。下記の住所へカタログをご請求下さい。

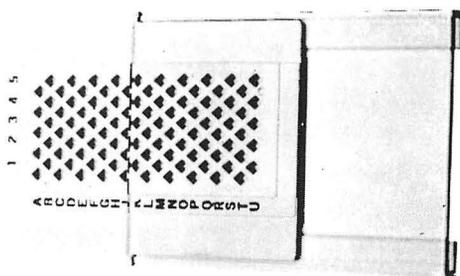
西独製 精密ピンセット



- ①時計ピンセット
- ②3Cピンセット
- ③5型変形ピンセット
- ④SS型ピンセット

各1本：¥2,200

EMグリッドボックス



1個：¥1,800 10個：¥15,000



EM資材直販センター

〒274 千葉県船橋市三山5-6-1 TEL.0474(75)5783
東京営業所：TEL.03(988)9906

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 1,750円、非会員各号 3,000円、30巻4号(創立30周年記念増大号、1—30巻索引付)のみ会員 5,000円、非会員 7,000円、欠号：1—2号、4巻1、3号、5巻1—2号、6—9巻全号。

2. 「藻類」索引 1—10巻、価格、会員 1,500円、非会員 2,000円、11—20巻、会員 2,000円、非会員 3,000円、創立30周年記念「藻類」索引、1—30巻、会員 3,000円、非会員 4,000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 7,000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 4,000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 1,000円。

Publications of the Society

Inquiries concerning copies of the following publications should be sent to the **Japanese Society of Phycology, Shimotachiuri Ogawa Higashi, Kamikyoku, Kyoto, 602 Japan.**

1. **Back numbers of the Japanese Journal of Phycology** (Vols. 1–28, Bulletin of Japanese Society of Phycology). Price, 2,000 Yen per issue for member, or 3,500 Yen per issue for nonmember; price of Vol. 30, No. 4 (30th Anniversary Issue), with cumulative index (Vols. 1–30), 6,000 Yen for member, or 7,500 Yen for nonmember (incl. postage, surface mail). Lack: Vol. 1, Nos. 1–2; Vol. 4, Nos. 1, 3; Vol. 5, Nos. 1–2; Vol. 6–Vol. 9, Nos. 1–3.

2. **Index of the Bulletin of Japanese Society of Phycology.** Vol. 1 (1953)–Vol. 10 (1962), Price 2,000 Yen for member, or 2,500 Yen for nonmember; Vol. 11 (1963)–Vol. 20 (1972), Price 3,000 Yen for member, or 4,000 Yen for nonmember. Vol. 1 (1953)–Vol. 30 (1982), Price 4,000 Yen for member, or 5,000 Yen for nonmember (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. 8,500 Yen (incl. postage, surface mail).

4. **Contribution 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. 5,000 Yen (incl. postage, surface mail).

5. **Recent Studies on the Cultivation of *Laminaria* in Hokkaido** (in Japanese). 1977. 65 pages. Four papers followed by discussion are included, which were presented in a symposium on *Laminaria*, sponsored by the Society, held in Sapporo, September 1977. 1,200 Yen (incl. postage, surface mail).

1993年6月15日 印刷

1993年6月20日 発行

©1993 Japanese Society of Phycology

禁 転 載
不 許 複 製

編集兼発行者

石 川 依 久 子

〒184 小金井市貫井北町 4-1-1
東京学芸大学生物学教室内
Tel. 0423-25-2111 内線 2665

印 刷 所

中 西 印 刷 株 式 有 限 公 司

〒602 京都市上京区下立売通小川東入
Tel. 075-441-3155

発 行 所

日 本 藻 類 学 会

〒602 京都市上京区下立売通小川東入
Tel. 075-441-3155
振替口座：京都 1-50488

Printed by Nakanishi Printing Co., Ltd.

本誌の出版費の一部は文部省科学研究費補助金「研究成果公開促進費」による。

Publication of The Japanese Journal of Phycology has been supported in part by a Grant-in-Aid for Publication of Scientific Research Result from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

藻類

目次

増田道夫・橋本康治：紅藻マルバツノマタ（スギノリ目）の個生態学	（英文） 99
田中次郎・神谷充伸：日本産ホソアヤギヌの生殖体の構造	（英文） 113
峯 一朗・舘脇正和：紅藻ベニフクロノリの生活史とダルスとの属間媒精	（英文） 123
山本弘敏・野呂忠秀：培養によるリュウキュウオゴノリ (<i>Gracilaria eucheumoides</i>) の生 活史と雄性生殖器官	（英文） 131
藪 潔・四ツ倉典滋・佐々木剛：褐藻エゾヤハズ四分胞子の培養による雌雄配偶 体の形成	137
◆◆◆	
ノート	
Sung Min Boo：部分的に皮層を持つ種, <i>Ceramium puberulum</i> (イギス科, 紅藻) につ いて	（英文） 143
◆◆◆	
総 説	
奥田一雄・水田 俊：緑色植物におけるセルロース合成酵素複合体の多様性と進化	151
◆◆◆	
雑 録	
学会録事	175
学会会則	185
投稿案内	186
日本学術会議だより	188