

## 海産羽状珪藻 *Undatella quadrata* (Brébisson ex Kützing) Paddock & Sims の微細構造

長田 敬五

日本歯科大学新潟歯学部生物学教室 (951-8580 新潟市浜浦町 1-8)

Keigo Osada: Fine structure of the marine pennate diatom, *Undatella quadrata* (Brébisson ex Kützing) Paddock & Sims.

The fine structure of *Undatella quadrata* (Brébisson ex Kützing) Paddock & Sims collected from coastal waters in Japan has been examined by light (LM) and electron microscopy (SEM and TEM). The Japanese specimens agree fairly well as the type specimen and the original specimens of the species in the form of frustule and keel, the arrangement of fibulae, and the feature of chloroplasts. The following morphological features of the species are first revealed through this study; 1) the areolae occluded externally by hymens with regularly scattered perforations, 2) the fibulae not fused on the dorsal side of a keel, 3) the extension of ventral wall of the raphe sternum, and 4) the girdle bands distinguishable into 3 types mainly on the basis of the structure of pars exterior. The type 2 band, the second band, is especially distinctive, without the tubular structure.

Key Index Words : fine structure, marine diatom, morphology, taxonomy, *Undatella*

Department of Biology, The Nippon Dental University, School of Dentistry at Niigata, Hamaura-cho 1-8, Niigata, 951-8580, Japan

*Undatella* は、1980年に Paddock & Sims によって設立された比較的新しい属であり、背腹性のある被殻、せり上がった竜骨 (keel)、発達した十字節 (stauros)、および管状構造を持った多数の帯片 (band) などによって特徴付けられている。また、本属の設立に伴って、それまで *Amphora*, *Amphiprora* (= *Entomoneis*) あるいは *Auricula* に分類されてきた数種の珪藻が、*Undatella lineata* (Greville) Paddock & Sims, *U. quadrata* (Brébisson ex Kützing) Paddock & Sims および *U. magnifica* (Greville) Paddock & Sims の3種に整理された (Paddock & Sims 1980)。その後、*Undatella* に新たな分類群が追加されることはなく、本属は依然としてこの3種のみである。これらの種は、殻形、小骨 (fibula) の有無とその配列様式、および帯片の構造などの分類形質によって区別されている。

*U. quadrata* は、Kützing (1849) によってフランス Calvados 地方のカキ養殖場の試料から *Amphora quadrata* Brébisson として原記載されたものである。タイプ標本と原試料に基づいて詳細な観察を行った Paddock & Sims (1980) は、本種では縦溝に沿って配列する小骨を持つが、その配列が殻端付近に限定されること、および接殻帯片 (valvocopula) が被殻内部を横切って貫軸方向に連結しないことなどの特徴を明らかにした。そして、基礎異名の *Amphora quadrata* Brébisson ex Kützing と共に *Amphora ostrearia* var. *quadrata* (Brébisson ex Kützing) Van Heurck, *Amphora polyzontana* Castracane, および *Auricula staurophora* Karsten を *U. quadrata* のシノニムとした。さらに *U. quadrata* は、*U. lineata* とは上記の特徴に加え、背側の殻縁が波打たないことによって、また、*U. magnifica* とは殻帯部に多数の棘状構造を持たない点によって明らかに区別されている。

*U. lineata* と *U. magnifica* における葉緑体の数や形状については明らかにされていないが、*U. quadrata* では多数の円盤状の葉緑体を持つことが古くから知られている (Cleve 1895; as *Amphora quadrata* Brébisson, Karsten 1899; as *Auricula staurophora* Karsten, Paddock & Sims 1980, Round et al. 1990, Snoeijis & Potapova 1995)。本種に関する報告は、シノニムを考慮に入れても世界的に少なく、本邦でもこれまであまり知られていない。また、本種の被殻構造に関しては *Undatella* の総括的な研究において報告されているが (Paddock & Sims 1980)、微細構造の詳細はこれまで十分に解明されてきたとは言えない。

本研究では、本邦沿岸域から採集した *U. quadrata* と思われる個体群とその単種培養株に基づいて、細胞形態の詳細な観察と分類学的検討を行ってきた。その結果、本研究で用いた分類群は、被殻と竜骨の形態、小骨の位置および葉緑体の形状などの点でタイプ標本や原試料 (Paddock & Sims 1980) と非常によく一致した。また、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察および超薄切片などの透過電子顕微鏡 (TEM) 観察は、特殊な縦溝中肋 (raphe sternum) の構造および帯片の微細構造に関する新たな知見を提供すると共に、本種における被殻微細構造の詳細を明らかにした。

### 材料と方法

本研究では、山形県水産試験場のアワビ養殖用水槽で採集した付着試料を主に使用した。また、この付着試料に由来する本種の単藻培養を行い、その培養細胞は超薄切片による微細構造の観察に用いた。培養には、50 mg Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> 9H<sub>2</sub>O / L を含むように改変した PES 培地 (Provasoli 1968) を用い、18

℃, 昼光色 2000 lux, 14/10 明暗周期の条件で行った。生試料は、有機物などを除去するために紫外線照射法 (Swift 1967) によって洗浄し、被殻の LM および SEM 観察と胞紋師板の TEM 観察に用いた。LM 観察は、常法 (長田・南雲 2001) に従った。SEM 観察は、試料を自然乾燥または臨界点乾燥した後、イオンスパッタコーターによって白金パラジウムを蒸着して日立 S-800 および日本電子 JSM-6330F を用いて行った。胞紋師板の TEM 観察には、フォルムパール支持膜を張ったグリッドに試料懸濁液を 1 滴載せた後に自然乾燥したものを用いた。被殻および細胞質の断面の観察は、Pickett-Heaps (1983) の方法に従って培養細胞の固定と脱水を行い、その後 Spurr 樹脂に包埋した (Spurr 1969)。超薄切片は、ウルトラミクロトーム LKB 8800 Ultratome-III に装着したダイヤモンドナイフで薄切し、フォルムパール支持膜を張ったグリッドに載せた。切片の電子染色は、酢酸ウランとクエン酸鉛を用いた。TEM 観察は、日本電子 1200EX を用いて行った。

### 結果と考察

光顕観察：観察した細胞は長さ 50-130  $\mu\text{m}$ , 幅 25-45  $\mu\text{m}$  で、多数の円盤状の葉緑体を持つ (Fig. 1)。被殻は、帯面観では四隅が丸くなった長方形に近い外形を示し、殻帯部に比較的明瞭に区別できる多数の帯片を持つ (Figs 1, 2)。殻は、殻幅が 5-7  $\mu\text{m}$  とかなり細く、左右不相称で、突出した先端を伴って弓形を示す (Figs 3, 4)。また、殻の腹側に竜骨の中心を持つ。中心域は殻の背側に伸び、肥厚して十字節となる (Fig. 4)。竜骨は二弓形で、両方の殻端付近に 1 列の小骨を持つ (Figs 2-4)。条線は平行で、非常に細かく、10  $\mu\text{m}$  に 30-33 本の割合で配列する。光顕レベルで区別できるこれらの形質は、Paddock & Sims (1980) によって提示されている Kützing のタイプ標本や原試料に含まれる個体の写真、および本種の基礎異名である *Amphora quadrata* の記載 (Cleve 1895) とよく一致した。

電顕観察：被殻は明瞭な背腹性を示し、腹側では竜骨を伴って僅かに凹み、背側では凸面状に盛り上がる (Figs 5, 6)。殻も同様に背と腹が明瞭に区別できる。つまり、殻は竜骨を境に腹側がかなり狭く、その殻縁は竜骨に沿って 2 回湾曲する (Figs 5, 8)。これに対し、背側は比較的幅広で、その殻縁は両殻端以外で僅かに膨らみ、中央ではさらに背側に突出する (Figs 5, 7, 9)。竜骨の中心は、中心節を伴って殻の腹側へ極端に偏心するが (Fig. 11)、殻面観における竜骨の走行は、ほとんど真っ直ぐかほんの僅かに背側に屈曲する (Figs 5, 8)。さらに、竜骨は殻の腹側でせり上がり、その頂上部に縦溝 (Figs 5, 10, 12, 23, 24) および両端付近の内面に小骨の列と縦溝管 (raphe canal) を持つが (Figs 15, 16), *Entomoneis* (Round et al. 1990, Osada & Kobayasi 1985, 1990a, 1990b, 1990c), *Perrya* (Paddock & Sims 1981) および *Thalassiophysa* (Round et al. 1990) などの竜骨に見られるような 2 列以上の小骨で支持された翼状の構造にはならない。本種は、小骨列を伴った竜骨が翼構造を持たずに弓形にせり上がる点で、*Auricula amphitritis* Castracane (Paddock & Sims 1980) や *A. densestriata*

Osada (Osada 1997) などと類似性を持つように思われる。

両殻端を除く竜骨の頂上部では、縦溝中肋の背側の壁が折り返るように伸長し、竜骨の背側に管状構造を形成することが明らかとなった (Figs 10, 23, 24)。また、中心節の付近では、縦溝中肋の背側の壁が腹側方向にも張り出て、外裂溝の一部や外面の中心側縦溝末端 (central raphe ending) を覆う (Fig. 10)。一方、殻の中心部の内面では、中心側縦溝末端が背側に僅かに屈折して終わり、発達した十字節が背側殻縁の周辺で強く隆起する (Fig. 11)。縦溝は、殻端の内面では小さな蝸牛舌 (helictoglossa) で終わり (Fig. 13)、その外面は背側に曲がる極裂 (terminal fissure) となる (Fig. 12)。

本種の小骨は、特徴的な分布様式と形態を示す。すなわち、小骨の配列は殻端付近に限定され、これ以外の部分では小骨を欠く。また、全ての小骨は、竜骨の腹側内面において中心部から殻端付近まで縦溝に沿って縦走する隆起部 (longitudinal ridge) と融合して背側に伸長するが、竜骨の背側の壁とは融合しない (Figs 11, 15, 16)。これと同様な形態を示す小骨は、*Undatella lineata* で報告されているが (Paddock & Sims 1980)、その分布様式は本種のものとは全く異なる。

条線は、それぞれ 1 列の胞紋 (areola) で構成される。各胞紋は孔状胞紋 (poroid areola) で、殻内面に円形の開口をもち、殻外面では薄皮 (hymen) によって閉塞される (Figs 10, 11)。薄皮は、ドーム状に僅かに盛り上がり (Fig. 24)、規則的散在型 (regular scatter: Mann 1981) の穿孔を持つ (Fig. 14)。

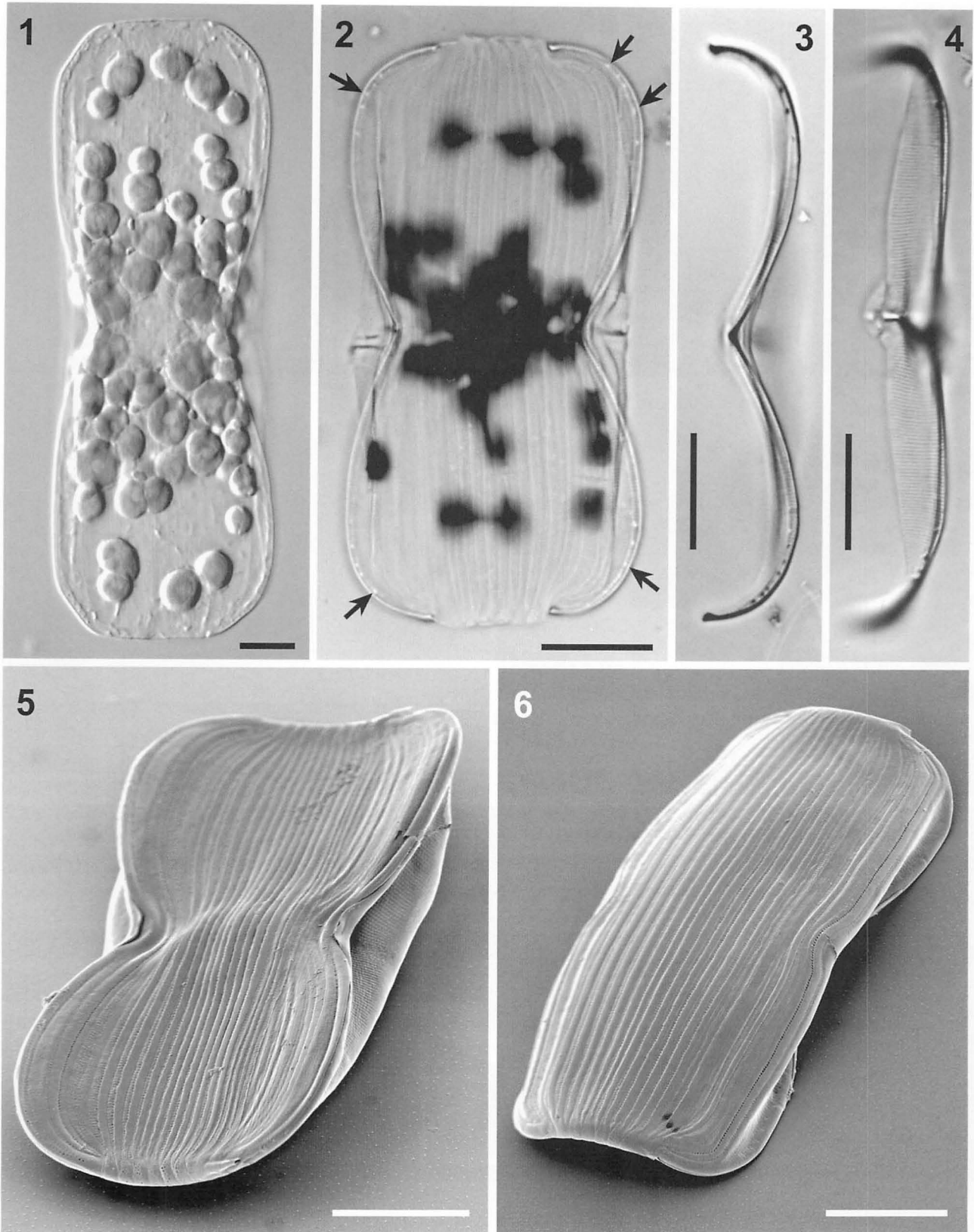
半殻帯 (cingulum) は、少なくとも 18 枚の帯片を持つことが明らかとなった (Fig. 17)。何れの帯片も胞紋列を伴った開放型帯片 (open band) で、半殻帯の両極において開放端 (open end) と閉鎖端 (closed end) が交互に配置する (Figs 17, 20)。帯片の胞紋は、円形、方形または長方形で、内面に開口し、外面では薄皮によって閉塞される (Figs 17, 19, 22)。この薄皮は、殻の胞紋にある薄皮と同様、規則的散在型の穿孔を持つ (Fig. 21)。Paddock & Sims (1980) は、本種の殻帯が管状の帯片で構成され、帯片は全て同様な構造で接殻帯片とその他の帯片には顕著な区別がないことを記述している。しかし、本研究によって、半殻帯を構成する帯片は、その微細構造によって以下の 3 タイプに区別できることが明らかとなった。

タイプ 1: 接殻帯片。“フラップ型”の管状構造を持つ。この構造は、殻に近い壁から第 2 帯片 (the second band) に向かって伸長したフラップが帯片表出部 (pars exterior) と結合することによって形成される (Fig. 25)。また、フラップは貫殻軸方向に配列する小孔を伴う (Figs 10, 17, 22)。

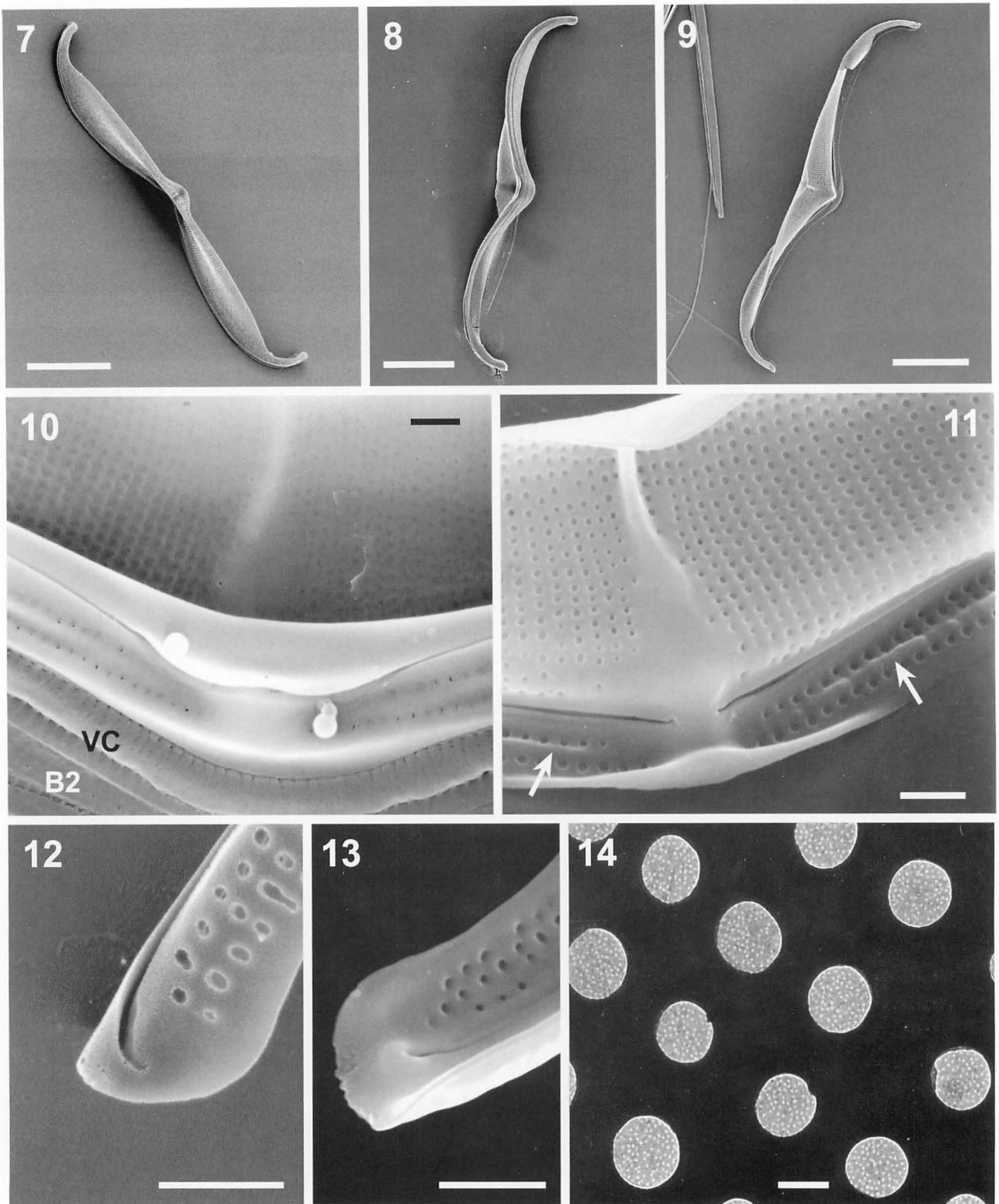
タイプ 2: 第 2 帯片。帯片表出部は平板状で、管状構造を欠く (Figs 23, 25, 26)。

タイプ 3: 第 3 帯片 (the third band) およびそれ以降の帯片。“折り返し型”の管状構造を持つ。この管は、帯片表出部が外側に折り返るように伸長することによって形成される (Figs 18, 23, 26)。また、折り返しの部分の外表面は滑らかで、小孔を持たない。

どちらの管状構造においても、フラップあるいは折り返しの部分は、1 列の短い肋 (short costa) によって帯片表出部と

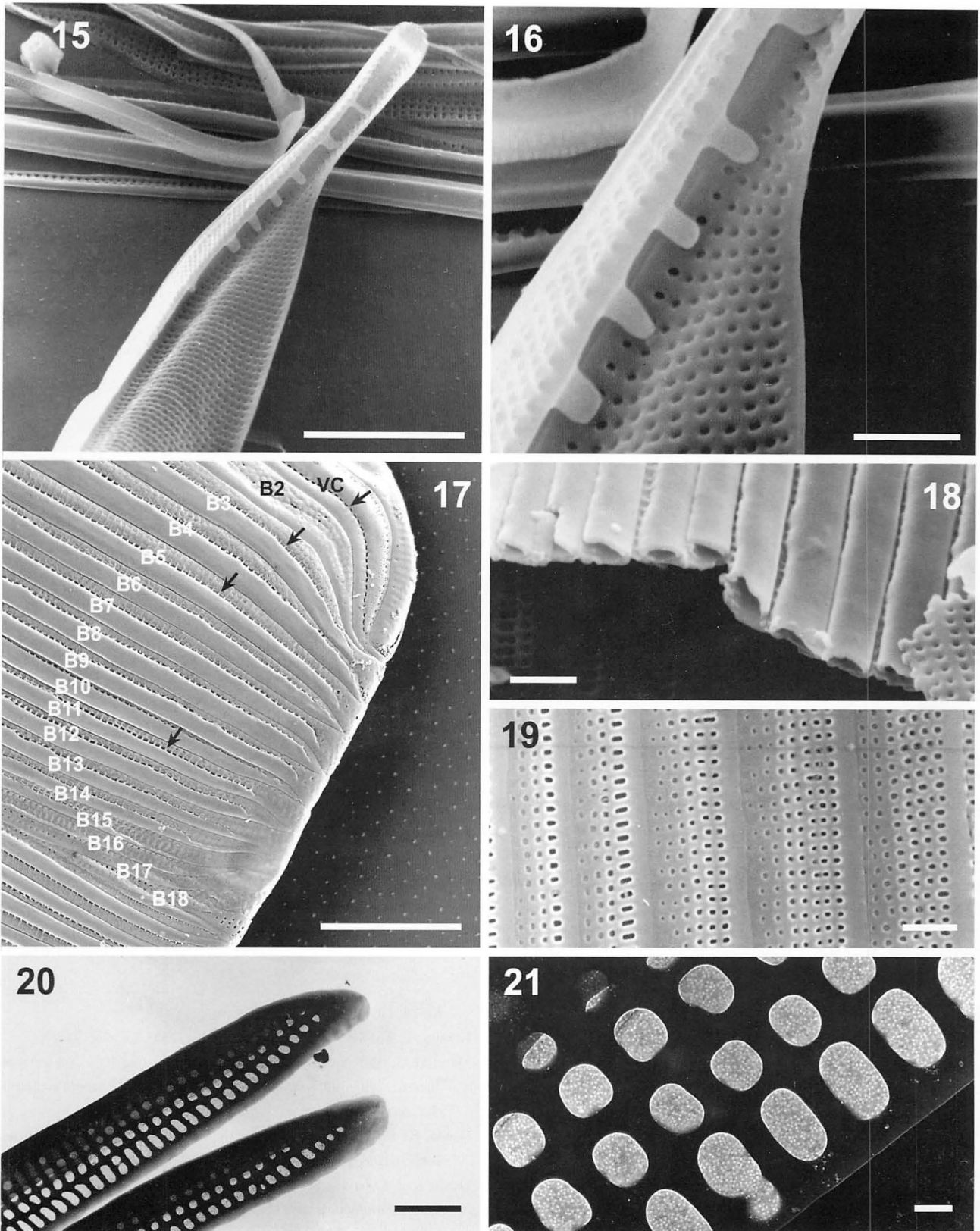


Figs 1-6. *Undatella quadrata*. Figs 1-4. LM. Figs 5, 6. SEM. Fig. 1. Girdle view of the live cell having numerous chloroplasts each with a central pyrenoid. DIC optics. Fig. 2. Girdle view of frustule. Note the fibulae (arrows) localizing only at the apical corner of the keel. Fig. 3. Ventral view of valve. Fig. 4. Dorsal view of valve. Fig. 5. Oblique view of the ventral side of the frustule, showing the concave girdle with numerous bands and the dorsiventral valves with a raised keel. Fig. 6. Oblique view of the dorsal side of the frustule, showing the convex girdle composed of numerous bands. All scale bars = 10  $\mu$ m.

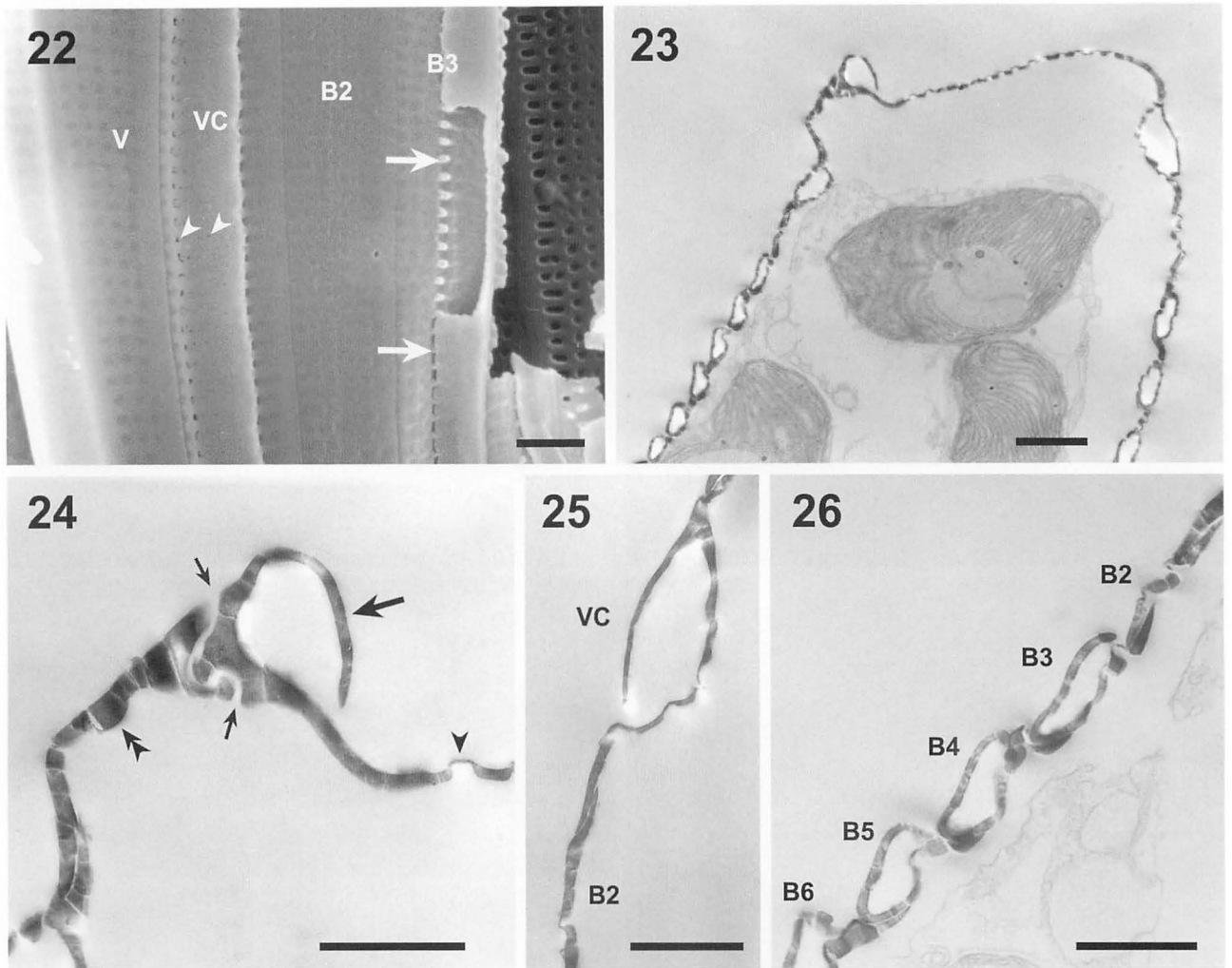


Figs 7-14. *Undatella quadrata*. Figs 7-13. SEM. Fig. 14. TEM. Fig. 7. External dorsal view of valve. Fig. 8. External ventral view of valve showing an eccentric keel. Fig. 9. Internal dorsal view of valve. Fig. 10. External ventral view of the frustule center showing the raphe fissure on the keel top, the extension of the ventral wall of the raphe sternum, the first band (valvocopula) (VC) with fine pores, and the second band (B2). Fig. 11. Internal view of the valve center showing a prominent stauros, the central raphe endings, the longitudinal ridge (arrows) on the ventral side of the keel, and the rows of poroid areolae. Fig. 12. External view of valve apex showing the terminal fissure curved toward the dorsal side. Fig. 13. Internal view of valve apex showing the raphe fissure terminating in a small helictoglossa. Fig. 14. Valve areolae occluded by hymens with regularly scattered perforations. Scale bars = 10  $\mu\text{m}$  (Figs 7-9), 1  $\mu\text{m}$  (Figs 10-13), 0.1  $\mu\text{m}$  (Fig. 14).





Figs 15-21. *Undatella quadrata*. Figs 15-19. SEM. Figs 20, 21. TEM. Fig. 15. Internal view of valve showing a row of fibulae confined to the apical region of the keel. Fig. 16. Enlargement of Fig. 15, showing the fibulae completely fused to the longitudinal ridge on the keel, their free ends on the dorsal side, and the raphe canal separated by the fibulae. Fig. 17. External dorsal view of frustule pole showing the epicingulum composed of eighteen open bands, and short costae (arrows) on the valvocopula (VC) and other bands (B3-B18). Fig. 18. Broken cingulum showing the tubular structure of the bands. Fig. 19. Internal view of cingulum showing the areolar openings of the bands. Fig. 20. Open ends of a band. Fig. 21. Band areolae occluded by hymens with regularly scattered perforations. Scale bars = 5  $\mu\text{m}$  (Figs 15, 17), 1  $\mu\text{m}$  (Figs 16, 18-20), 0.1  $\mu\text{m}$  (Fig. 21).



Figs 22-26. *Undatella quadrata*. Fig. 22. SEM. Figs 23-26. TEM. Fig. 22. External ventral view of valve (V), valvocopula (VC) with fine pores (arrowheads), the second band (B2), and the tubular structure of the third broken band (B3) with short costae (arrows). Fig. 23. Cross section at the middle portion of the cell, showing the bands bearing tubular structure. Fig. 24. Enlargement of the keel in the section of Fig. 23, showing the cross section of the flap-like extension (large arrow) of the raphe sternum wall accompanied by a raphe slit (small arrows), the hymens (arrowheads) occluding externally the areolae, and the longitudinal ridge (double arrowhead) on the ventral wall of the keel. Fig. 25. Cross section of the valvocopula (VC) and the second band (B2). Fig. 26. Enlargement of the bands in the section of Fig. 23, showing the second band (B2) with flat structure, and four abvalvar bands (B3, B4, B5, B6) each with tubular structure. Scale bars = 1  $\mu\text{m}$  (Figs 22, 23), 0.5  $\mu\text{m}$  (Figs 24-26).

結合し、この肋と肋の間に小さな開口を持つ (Figs 17, 22)。

本種の葉緑体に関しては、各葉緑体に1個のピレノイドを持つことが明らかになり (Fig. 1), 本種の異名である *Auricula staurophora* Karsten の記載 (Karsten 1899) とよく一致した。

本種の分布は広く、亜寒帯から少なくとも亜熱帯水域におよぶことが示唆されている (Paddock & Sims 1980)。本邦では、山形県水産試験場の養殖水槽の他に、京都府若狭湾沿岸および山形県鶴岡市沿岸などの水域において本種の出現を確認することができた。

#### 引用文献

- Cleve, P. T. 1895. Synopsis naviculoid Diatoms. Kongl. Sven. Vet. - Akad. Handl. 27 (3): 1 - 219.  
 Karsten, F. 1899. Die Diatomeen der Kieler Bucht. Wiss Meeressunters. Abt.

Keil 4: 17 - 205.

- Kützing, F. T. 1849. Species Algarum. Brockhaus, Leipzig. 922pp.  
 Mann, D. G. 1981. Sieves and flaps: siliceous minutiae in the pores of raphid diatoms. 279 - 300. In Ross, R. (ed.), Proceedings of the 6th symposium on recent and fossil diatoms. Otto Koeltz, Koenigstein.  
 Osada, K. 1997. Fine structure of the marine pennate diatom *Auricula densestriata* sp. nov. Diatom Research 12: 287 - 297.  
 Osada, K. & Kobayasi, H. 1985. Fine structure of the brackish water pennate diatom *Entomoneis alata* (Ehr.) Ehr. var. *japonica* (Cl.) comb. nov. Jpn. J. Phycol. 33: 215 - 224.  
 Osada, K. & Kobayasi, H. 1990a. Observations on the forms of the diatom *Entomoneis paludosa* and related taxa. 161 - 172. In Simola, H. (ed.), Proceedings of the 10th international diatom symposium. Sven Koeltz, Koenigstein.  
 Osada, K. & Kobayasi, H. 1990b. Fine structure of the marine pennate diatom *Entomoneis decussata* (Grun.) comb. nov. Jpn. J. Phycol. 38: 253 - 261.

- Osada, K. & Kobayasi, H. 1990c. *Entomoneis centrospinosa* sp. nov., a brackish diatom with raphe-bearing keel. *Diatom Research* 5: 387 - 396.
- 長田敬五・南雲保. 2001. 珪藻研究入門. 日本歯科大学紀要. 2001: 131 - 142.
- Paddock, T. B. B. & Sims, P. A. 1980. Observations on the marine diatom genus *Auricula* and two new genera *Undatella* and *Proboscidea*. *Bacillaria* 3: 161 - 196.
- Paddock, T. B. B. & Sims, P. A. 1981. A morphological study of keels of various raphe-bearing diatoms. *Bacillaria* 4: 177 - 222.
- Pickett-Heaps, J. D. 1983. Valve morphogenesis and the microtubule center in three species of the diatom *Nitzschia*. *J. Phycol.* 19: 269 - 281.
- Provasoli, L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. 63-75, In A. Watanabe & A. Hattori (eds.), *Cultures and collections of algae; Proceedings of U.S. Japan conference in Hakane 1966*. Japanese Society of Plant Physiology.
- Round, F. E., Crawford, R. M. & Mann, D. G. 1990. *The diatom, biology and morphology of the genera*. Univ. Press, Cambridge. 747 pp.
- Snoeijs, P. & Potapova, M. 1995. Intercalibration and distribution of diatom species in the Baltic Sea. Volume 3. *Opulus Press, Uppsala*. 125pp.
- Spurr, A. R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastructure Research* 26: 31 - 43.
- Swift, E. 1967. Cleaning diatom frustules with ultraviolet radiation and peroxide. *Phycologia* 6: 161 - 163.

(Received 6 Aug. 2002, Accepted 15 Sept. 2002)

