

単細胞紅藻チノリモの人工培養

野 沢 治 治

The Culture of Uni-Cellular Red Algae, *Porphyridium cruentum*

Koji NOZAWA

Abstract

The artificial culture media for the uni-cellular red algae, *Porphyridium cruentum*, were studied. The culture was carried out under following conditions: temperature of 18–22°C, illumination period of 9 hours per day by fluorescent lamps and aeration of 200–300 cc per minutes. The suitable concentrations in the media of the major constituents such as NaCl, KCl, MgSO₄ and CaCl₂ were examined. Sodium chloride in very wide concentrations gave a normal growth of the algae. The concentration of potassium chloride was closely related with that of sodium chloride and the favorable ratio of the two seemed to lie around 40:1. Magnesium sulfate was indispensable for the growth of the algae, although the requirement was small. Under the purity of used chemicals, the absence of calcium chloride allowed the growth of the algae. From the above, the author prepared an artificial medium for the culture of *Porphyridium cruentum*. The formula is presented in Table 11. The extra-cellular mucus produced by the algae was calculated about 26–30% of total organic materials. In the mass culture performed in the tube method and the 30 liter tank method, the yield of the alga was about 260 mg per liter per day in the former and 74.7 or 58.2 mg per m² per day in the latter.

チノリモ (*Porphyridium cruentum* NÄGEL.) は単細胞の紅藻で、その増殖は細胞の2分裂によってのみ行われる。日陰の湿った壁などに発生し、分布は非常に広く世界各地に産する。紅藻植物の生理を研究するためにチノリモを人工的に培養しようとするころみは、可成り古くから行われているが^{7), 13)}、長期間にわたって安定した生長を行なわせることは困難であった。最近になってチノリモの化学成分^{9), 10)}、光合成色素^{1), 2), 17)}等に関する研究が急速に行われるようになったが、生長条件を検討したものは少ない^{8), 11), 14)}。

淡水藻の無機養分要求に関しては Krauss¹²⁾の広範な研究及び綜説があるが、筆者は元来淡水藻であるチノリモを人工的に培養する際に、約半量の海水を含む培養液を用いることについて検討するため、海水の主要成分であるカリウム、ナトリウム、マグネシウム、カルシウムなどのカチオンのチノリモの生長に対する影響をしらべた。その結果可成り安定したチノリモの培養条件を定めることが出来、又大量培養などについても行なってみたのであわせて簡単に報告する。

本研究を行なうにあたり、終始暖かい御激励と御指導を頂いた東京大学の松江吉行教授に心からの感謝を捧げたい。

I 材 料 及 方 法

実験に用いたチノリモは、主として鹿児島市内の路溝に発生したものを分離したもの

で、Uni-algal culture ではあるが Bacteria free ではない。

培養液は subculture 用として、貯蔵海水を蒸溜水で 1/2 にうすめ、Allen-Nelson の 2 倍強度に強化したものに、重金属液として Provasoli の Pl-metal⁽⁶⁾ を 1cc/L、有機生長要素として Fish soluble を 5 mg-N/L、土壌抽出液 50 cc/L を加えたものを用いた。pH は特に調整はしなかったが、はじめは 6.3~6.5 であるのが培養が進むにつれて次第に上昇し、9 以上になる。培養装置は Kock (1953)⁽¹¹⁾ のものは取扱上種々の不便がある

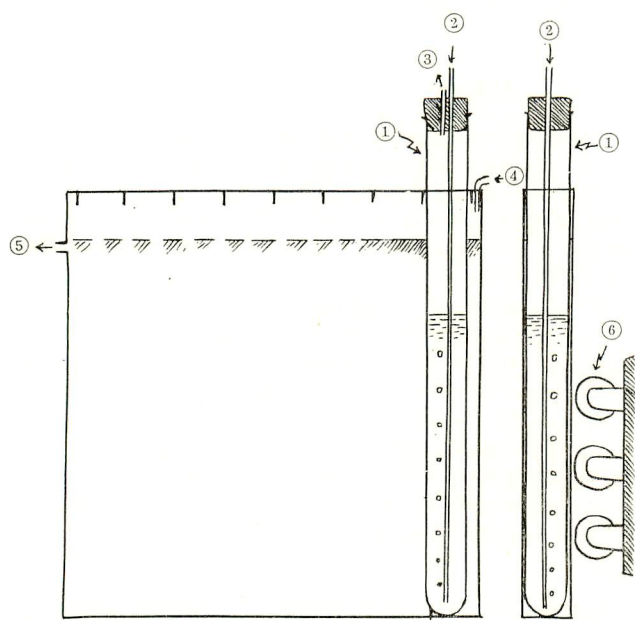


Fig. 2. Apparatus for culture.

- ① Growth unit tube ④ Cooling water inlet
- ② Air inlet ⑤ Cooling water outlet
- ③ Air outlet ⑥ Fluorescent lamp

上部から挿入した。培養液量は 200 cc である (Fig. 1). 培養温度は Strain の違いによって多少異なるようであるが、筆者の分離した Strain では 20°C 前後が適温であった。光は蛍光灯 2 乃至 6 本を培養装置に密着させたが、黄色* や桃色** 光では連続照射、白色蛍光灯では 9 時間照射が良好であった。白色蛍光灯の連続照射は生長を阻害する。通気は 200 cc から 300 cc/min で行なった。これ以下では生長は制限され、又これ以上では過度である。尚炭酸ガスを加えた場合には通気量は可成り少くて良い (Table 1).

Table 1. The effect of aeration for the growth of *Porphyridium cruentum*

Aeration rate cc/min	0	20	50	100	150	200	300	500
Multiplication rate	0.05	0.29	0.41	0.68	1.42	1.50	1.52	1.25

接種は subculture から遠心沈澱し、蒸溜水で良く洗った藻体を、培養開始時の細胞濃度が約 400 cells/mm³ になるように加えた。はじめの接種濃度があまり小であると屢々生長初期に長短不定の lag phase があらわれ結果がはなはだしく変動する原因となる。又接種濃度が大きであると差が小さくあらわれて比較が困難になる。

* 白色蛍光管に市販の黄色セロファンを一重に巻いて用いた。セロファンは屢々換えないと波長が変わるようである。

** 東芝桃色蛍光灯。

測定は接種後3～4日目に光電比色計で540m μ のフィルターを用いて吸光度をはかり、あらかじめ作つて置いた細胞数と吸光度とのグラフから細胞数を算出した。実際には培養条件のちがひによって生産される粘質の多寡があつて、比色から算出した細胞数と実際に計数した細胞数の間には多少の誤差が生じるが、それは細胞濃度が可成り大である時に問題になる程度で、本実験の範囲では一応無視した。

チノリモの場合細胞の2分による増殖であるので、それが一定の環境で定期的に行なわれるとすると、 t 時間後の細胞数 N は次の式であらわされる。

$$N = N_0 2^{t/\tau} = N_0 \exp \{(t/\tau) \log_e 2\}$$

N_0 : $t = 0$ での細胞数

τ : 細胞分裂から細胞分裂までの時間

この式から $K = \frac{\log_e 2}{\tau}$ を実験的に求めて生長率として表わした。

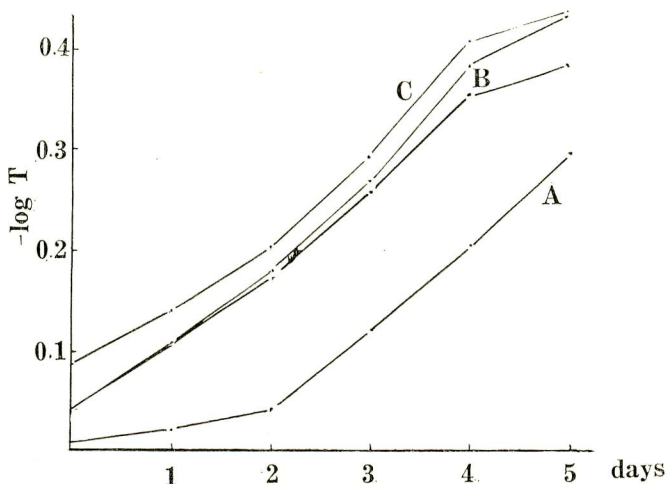


Fig. 1. Growth curve of *Porphyridium* in different population density of inoculation.

Initial algal population density of each line is 30 cells/mm³ (A), 120 cells/mm³ (B) and 250 cells/mm³ (C).

Table 2. The variation of multiplication rate (for 4 days)

Experiment No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Multiplication rate	1.59	1.57	1.55	1.62	1.58	1.54	1.51	1.67

生長とその変動については Fig. 2 及び Table 2 に示すように、良好な条件では生長は大體 $K = 1.50 \sim 1.60$ であり、その変動も非常に小さい。

II 人工培養液について

1) 基本培養液：実験をはじめるに先立って、対称となるカリウム，ナトリウム，マグネシウム，カルシウム，等の量を容易に目的に応じて調整することの出来るような，人工培養液を見つけ出さなくてはならない．その解決法の一つとして今までに多くの人々によって考案された人工海水の中から比較的に作り方の簡単な Herbst の人工海水，Levring の人工海水，Provasoli の ASP series¹⁶⁾，SWI，U，等について検討してみた．

Table 3. The multiplication rate of *Porphyridium* in different artificial sea water

Herbst's sea water	Levring's sea water	Provasoli's ASP 6	Droop's SW 1	Droop's U
1.28	1.37	1.48	1.47	1.08

その結果は Table 3 に示すようにいずれも良く生長し，懸濁状態もきわめてよかった．これ等の結果を参考にし，調製上の便利さも考えて，Table 4 に示すような組成のものを基本培養液とした．

Table 4. Basal artificial culture medium in this investigation

NaCl	10.0 g	Pl-metal	1 cc
MgSO ₄ ·7H ₂ O	4.0	Fish soluble	3 mg-N/L
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.1	Tris	0.5 g
KCl	0.3	H ₂ O	1,000 cc
NaNO ₃	0.2	pH	8.1
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0.05		

2) NaCl 濃度とチノリモの生長：NaCl は海中に含まれる塩類を代表するものであるが，この塩が植物の養分として多量に要求されているとは考えられない．それは主として浸透圧に関連していると思われる．Provasoli 等¹⁵⁾の研究もこのような観点から行われている．ここでは人工培養液を作る際に NaCl 量をどの位にしたら良いかと云うことを検討するために，NaCl 濃度とチノリモの生長との関係をしらべた．

試験培養液は基本培養液から NaCl を除いたものを作り，NaCl が，2.40%，1.92%，1.44%，1.20%，0.96%，0.48%，0%，になるように夫々調製し，各々の NaCl 濃度におけるチノリモの生長を比較した．上記のパーセントの系列は，自然海水の NaCl 含量を 2.4% とした時の，海水 100%，80%，60%，50%，40%，20%，0%，である．

Table 5. The effect of NaCl concentration for the growth of *Porphyridium cruentum*

NaCl concentration g/L	0	4.8	9.6	12.0	14.4	19.2	24.0
Multiplication rate	0.40	0.92	1.13	1.48	1.65	1.61	1.43

結果は Table 5 に示してあるように，大体 1.44%，即ち 60% 海水にあたる NaCl 濃

度がもっとも生長が良いが、この人工培養液の比重は約 17.5 で自然海水より可成り低く、この結果から自然海水の場合も 60 %海水が良いとは云えない。しかし NaCl の濃度変化に対してチノリモの生育の許容度は非常に大きいことが認められる。

3) **NaCl 以外の主要成分濃度とチノリモの生長**：Na 以外の主要成分、即ち K, Mg, Ca 等は、夫々単独に必要な要素としてはたらくと同時に、お互に拮抗している。従って各カチオンの個々について検討する前に、Na に対する他のカチオン全部の関係についてしらべて見た。即ち K, Mg, Ca の比率は一定にしたままその濃度を変えてチノリモの生長に対する影響を見た。

方法は基本培養液から MgSO_4 , CaCl_2 , KCl を除いたものを作り、これに Table 6 に

Table 6. The amounts of major constituents in the experiment (grs per liter)

Major elements Experiment No.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	KCl
1	0	0	0
2	0.5	0.0225	0.04375
3	1.0	0.045	0.0875
4	2.0	0.09	0.175
5	4.0	0.18	0.35
6	8.0	0.37	0.7

示するような割合に MgSO_4 , CaCl_2 , KCl を加えた系列を作った。これは基本培養液に対して MgSO_4 , CaCl_2 , KCl 等が夫々 0, 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, 1 となっている。又これ等の成分と NaCl との関係を確かめるため、NaCl 24g/L, 12g/L, 6g/L の3つの場合について実験を行なった。

Table 7. The multiplication rate in various concentration of major constituent

Experiment Concentration of NaCl g/L	Experiment No.	1	2	3	4	5	6
24		0.21	1.15	1.45	1.48	1.49	1.32
12		0.32	1.22	1.43	1.45	1.39	1.25
6		0.54	0.95	1.03	1.01	1.08	1.11

結果は Table 7 に示すように、この実験の濃度の範囲では、大した差は認められず、Mg, Ca, K, の比率が一定であればその量はあまり鋭敏に影響しないようである。

4) **KCl 濃度とチノリモの生長**：カリウムは全植物を通じて不可欠であり、これが不足すると種々の病的症状を示すことが知られている。代謝については細胞分裂、ナトリウムの排出、鉄の供給、糖の代謝等に関与していると云われ、又生理的には透過性についてカルシウムと拮抗作用があると云われている。人工海水を調製する際に、カリウムを欠除させたものは動植物に対して害作用を示すが、少量の KCl を加えることによってこの害がなくなることは古くから知られている顕著な事実である。前項の実験におけるカリウムの濃度を変えた場合のチノリモの生長に対する影響を見た。

方法は基本培養液から KCl を除いたものを作り、後から KCl を加えて求める濃度の試験液を調製した。又ナトリウムとの拮抗作用を見るために NaCl 量 24g/L, 12g/L, 6g/L の三つの場合について実験した。

Table 8. The effect of KCl concentration for the growth of *Porphyridium*

NaCl concentration g/L \ KCl concentration g/L	0	0.004	0.012	0.04	0.12	0.4	1.2	4.0	12
24	0.54	0.76	1.19	1.31	1.46	1.49	—	—	—
12	0.42	0.82	1.14	1.23	1.34	1.53	1.36	—	—
6	0.25	0.83	1.17	0.95	1.04	1.03	1.09	1.13	0.86

結果は Table 8 に示した通り、カリウムは非常に低濃度においてチノリモの生長に鋭敏に影響し、その欠除はチノリモの生長を完全に停止させる。又 NaCl との間にも拮抗作用が認められ、更に詳細な実験を行なえば、チノリモの生長に適する一定の比率があると思われる。

5) Mg 濃度とチノリモの生長：マグネシウムはすべての植物に不可欠であるが、特に藻類の培養液には多量の硫酸マグネシウムを含んだものが多い。*Chlorella vulgaris* ではマグネシウムが欠乏すると、細胞分裂が衰え、これにマグネシウムを与えるとマグネシウムの濃度に比例して分裂が盛んになると云う。チノリモに対する Kock の処方¹¹⁾も 1/2 濃度の海水に 0.04 % の硫酸マグネシウムを加えているが、それを加えた理由については触れていない。ここではチノリモに対して果して多量のマグネシウムが必要であるかどうか、1/2 濃度の海水を使う理由の一つにマグネシウム量が関係しているかどうかを検討した。

実験方法は、硫酸マグネシウムを除いた基本培養液を作り、種々の濃度に硫酸マグネシウムを加えてそのチノリモの生長に対する影響を見た。又 NaCl との関連を見るため、NaCl 24g/L, 12g/L, 6g/L について実験を行なった。

Table 9. The effect of MgSO₄ concentration for the growth of *Porphyridium*

NaCl concentration g/L \ MgSO ₄ concentration g/L	0	0.00004	0.0004	0.004	0.04	0.4	4	40
24	0.12	—	1.37	1.32	1.24	1.23	1.30	1.46
12	0.29	0.43	0.91	1.04	1.29	1.25	1.45	1.47
6	0.22	0.32	0.33	0.72	0.87	1.02	1.06	1.11

結果は Table 9 に示すように Mg 欠乏ではチノリモは生長しないが、Mg を加えた場合は NaCl 濃度 24g/L においては可成り微量な場合から相当多量の場合まであまり顕著な差はないようである。しかし NaCl 濃度が 6g/L の場合には Mg 濃度の低い所では生長抑制が見られ、浸透圧との関連が考えられる。

6) Ca の濃度とチノリモの生長：カルシウムも菌類を除いては一般に植物には不可欠であるとされている。藻類に関しては古くは Molish (1895) が淡水の *Protococcus* の培養にカルシウムは不必要であると云い、その後も *Chlorella* はじめ多くの藻類について、カルシウムは不必要であると云う報告は少くない。しかしその後 Pirson, Waren, Mast and Pace, 等は非常に微量のカルシウムが藻類の生長に必要であることを認め、特に

Stegmann は *Chlorella pyrenoidosa* についてきわめて厳密な実験を行ない、必要とするカルシウムが非常に微量であることを確かめた。陸上植物ではカルシウムは必要養分としてのほか、土壌の性質を良い状態に保つ上に重要な働きをするので、可成り多量に与える。海水中にもカルシウムは多量に含まれ、藻類の培養液を調製する際にも加えるカルシウムは決して少なくない。これは溶液中の種々のイオンの拮抗を調整したり、特に炭酸の調整に重要な役割をしていると考えられている。チノリモについても栄養要素としての要求量と、環境要素としての要求量が考えられる。

実験方法は前述のマグネシウムの場合と同様で、マグネシウムの代りにカルシウムの濃度を変化させた。

Table 10. The effect of CaCl_2 concentration for the growth of *Porphyridium*

NaCl concentration g/L	CaCl_2 concentration g/L	0	0.00004	0.0004	0.004	0.04	0.4	4	12
24		1.42	1.39	1.40	1.47	1.61	1.52	1.42	—
12		1.50	1.46	1.64	1.57	1.50	1.35	1.38	1.17
6		1.05	1.12	0.99	1.08	1.11	1.01	0.97	1.10

その結果は Table 10 に示すようにカルシウム欠除の場合もカルシウムを加えた場合も殆んど差がなく、又カルシウム欠除の培養液に十数代植え次いでもカルシウム欠乏と考えられるような生長抑制は認められなかった。この実験の精度の範囲ではカルシウムの不可欠性は認められなかった。しかしはじめに述べたように藻類によるカルシウム要求はきわめて微量であると云われているので、この場合使用した薬品（化学試薬一級）に含まれる量で充分であったのであろう。又環境要素としての影響も明瞭なものは認められなかった。NaCl 濃度との関係も特に認めることは出来ない。Provasoli et al¹⁵⁾ はカルシウムとマグネシウムの比率が藻類の生長に大きな影響を及ぼすと注意しているが、チノリモに関してはそれ程鋭敏ではないようである。

7) チノリモのための人工培養液：以上の諸結果を総合して見ると、NaCl, KCl については可成りはっきりした好適濃度が求められるが、マグネシウム、カルシウムについてはあまりはっきりしない。Eppley^{3), 4), 5), 6)} は *Porphyra* について K の吸収と Na, 其の他のカチオンとの関係について詳細な研究を行ない、K と Na との関係の重要性についてのべているが、チノリモについても同様なことが認められる。人工培養液を作製する際に Mg, Ca の濃度に関して特にはっきりした基準が得られなかったが、従来使用されている

Table 11. The artificial culture medium for *Porphyridium cruentum*

NaCl	12.0 g	Pl-metal	1 cc
KCl	0.4	Fish soluble	3 mg-N/L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.0	Tris	0.5 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.2	H_2O	1,000 cc
NaNO_3	0.5	pH	8.1
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	0.05		

種々の培養液、或は自然海水や人工海水等に含まれる Mg や Ca を参考にするのが無難であると考え、Table 11 に示すような処方のもを作った。これが完全無欠なものであるとは云えないが、現在のところ長期にわたってきわめて安定した生長が得られている。

III チノリモの分泌する粘質

チノリモを培養していると、チノリモの細胞濃度が大になるに従って培養液は粘稠になり、終には寒天状となる。これはチノリモから分泌された粘質のためで、この粘質のためにチノリモの細胞はよく懸濁し長く静置しても沈澱しない。しかしこの懸濁液は 3,000 r/min 5 分の遠心沈澱で容易にチノリモを分離することが出来る。上澄液は透明無色であるが、バリタ水を加えてからアルカリ性にするか或は苦土とアムモニア水を加えると粘質は凝集沈澱して相当量が回収される。又リバノールを加えることによってこの粘質は凝集析出して来る。この粘質は Haxo¹⁰⁾によって Polysacchalide の硫酸エステルであろうと云われている。この粘質の生産量とチノリモの生長との間に関係があるかどうかを検討して見た。

実験方法はチノリモの生長した懸濁液とこれを遠心沈澱した上澄液との COD を測定しその比から粘質の生産量を見た。COD の定量は過マンガン酸カリ消費量によった。又培養液には屢々亜硝酸イオンが多量に存在することがあるので窒化ナトリウムを加える Alsterberg 法を用いた。

Table 12. The mucus production of *Porphyridium*

Time (days)	Cell concentration cells/mm ³	COD of suspension (A)	COD of supernatant (B)	B/A
0	790	44.0 ppm	13.2 ppm	0.30
1	790	63.2	24.8	0.39
2	1,540	94.4	29.1	0.31
0	1,520	54.4	15.4	0.28
1	1,590	90.6	25.9	0.29
2	1,840	112.0	32.3	0.29
0	2,160	79.5	20.5	0.26
1	2,310	125.6	32.2	0.26
2	2,240	136.3	35.2	0.26

結果は Table 12 に示すように大体懸濁液の COD と上澄液の COD とは平行して増加するようであり、同一の培養では生長中にその比率がほぼ一定であるが、培養を異にするとその比率も変っている。その原因については色々考える事が出来るが、粘質の分泌は培養条件の微妙な差によって変動し易いのであろう。

この程度の培養濃度は特に濃厚であると云う程のものではないが、COD から多糖類として計算すると約 25mg/L の生産量となる。

IV 大量培養試験

Chlorella の大量培養は非常に研究が進んでいるが¹⁸⁾、ここではチノリモの大量培養の可能性を検討し、或程度規模を大きくした場合に起る障害についてしらべ、更に藻体の化学分析をするための試料を得ることなどを目的として簡単な実験を行なった。

培養槽は $45 \times 30 \times 30$ cm の熱帯魚用のガラス水槽で、これに 30 l の培養液を入れ、通気と攪拌を併用した。又培養は冬期に行なったのでサーモスタットとヒーターで液温を大体 20°C に保つようにした。通気はあまりはげしくすると泡沫が出来るのでやや制限し、その代り攪拌をはげしく行なった。光は自然光であるが、培養槽を東向きの窓際に設置したために、午前 10 時頃までは直射光、12 時頃まではやや明るく、午後は日蔭となつやや弱光であった。藻体の回収は全培養液の $1/6$ 、即ち 5 l を取って遠沈した。培養槽には同量の新しい培養液を加えた。尚発生状態の不良な時は細胞濃度が高くなるまで回収を中止した。生産量の計算に培養槽の受光面積 43cm (横巾から枠の巾を差引いたもの) $\times 24\text{cm}$ (液の高さ) $= 1,032\text{cm}^2$ を計算し易いように近似値 $1,000\text{cm}^2$ を用いれば、生産量 = 収量 $\times 1,000\text{cm}^2/\text{m}^2 = \text{収量} \times 1/10$ になる。受光面に対して液層が厚いため光の利用効率は非常に悪く、良い結果は得られなかったが、2 回の試験に於て Table 13 及び Table 14 の

Table 13. Yield of the alga in tube method

Days	0	1	2	3	4	5	6
Yield mg/L	350	380	—	410	300	—	400

Table 14. Yield of the alga in tank method

Days	Yield mg/5l	Productivity mg/m ²	Days	Yield mg/5l	Productivity mg/m ²
1	975	97.5	1	1,030	103.0
2	1,025	102.5	2	—	—
3	—	—	3	995	99.5
4	875	87.5	4	—	—
5	1,100	110.0	5	970	97.0
6	—	—	6	—	—
7	1,000	100.0	7	1,045	104.5
8	925	92.5	8	885	88.5
9	825	82.5	9	—	—
			10	890	89.0
Mean	747	mg/m ² -day 74.7	Mean	582	mg/m ² -day 58.2

ような結果が得られた。これは自然光下における *Chlorella* の生産量の $1/100$ 以下であってきわめて低生産であるが、培養装置の改良、培養濃度の濃密化などによって今後向上するものと考えている。最近 Golueke⁸⁾ は廃水の生物酸化にチノリモを用い可成り大量の培養試験を行なっている。

要 約

単細胞紅藻チノリモを人工的に培養するために必要な諸条件について検討し、培養を容易且つ安定ならしめるための要因を明らかにした。即ち適温 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、桃色蛍光灯の連続照射或は白色蛍光灯の 9 時間照射、通気によるガス補給及び攪拌、等の環境条件が要求される。培養液は可成り広い適応範囲を持っているが、もっとも影響の大きいのは NaCl

と KCl の濃度及び比率で, Mg, Ca 等の濃度は直接にはあまり大きな影響を示さない。このような結果を参考にしてチノリモ用の培養液の処方を作った。

チノリモの分泌する粘質は藻体の生長と平行して増加し, その分泌量は有機物量として計算した場合生産された全有機物量の 30~26 %を占めている。

大量培養に関する簡単な実験では, Tube method では $8.8 \text{ g/m}^3/\text{day}$, Tank method では $74.7 \text{ mg/m}^2\text{-day} \sim 58.2 \text{ mg/m}^2\text{-day}$ であった。

文 献

- 1) BRODY, M., and R. EMERSON (1959) : The effect of wavelength and intensity of light on the proportion of pigments in *Porphyridium cruentum*. *Am. J. Bot.*, **46**, 433-440.
- 2) ——— (1959) : The quantum yield of photosynthesis in *Porphyridium cruentum*, and the role of chlorophyll a in the photosynthesis of red algae. *J. Gen. Physiol.*, **43**, 251-264.
- 3) EPPLEY, R. W. (1958) : Sodium exclusion and potassium retention by the red marine alga, *Porphyra perforata*. *J. Gen. Physiol.*, **41** (5), 901-911.
- 4) ——— (1958) : Potassium-dependent sodium extrusion by cell of *Porphyra perforata*, a red marine alga. *J. Gen. Physiol.*, **42** (2), 281-288.
- 5) ——— (1959) : Potassium accumulation and sodium efflux by *Porphyra perforata* tissues in lithium and magnesium sea water. *J. Gen. Physiol.*, **43** (1), 29-38.
- 6) ——— (1960) : Cation regulation and survival of the red alga, *Porphyra perforata*, in diluted and concentrated sea water. *Biol. Bull.*, **118** (1), 55-65.
- 7) GAIDUKOV, N. (1899) : Zur Morphologie und Physiologie der Alge *Porphyridium cruentum* Naeg. *Trav. Soc. Imp. Nat. St. Petersburg*, **30**, 205-207.
- 8) GOLUEKE, C. G. (1961) : The mass culture of *Porphyridium cruentum*. *Applied Microbiol.*, **10** (2), 102-107.
- 9) HAXO, F. T., C. O'HEOCHA, and P. NORRIS (1955) : Comparative studies of chromatographically separated phycoerythrins and phycocyanins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **54**, 162-173.
- 10) HAXO, F. T., and C. O'HEOCHA (1956) : Some constituents of *Porphyridium cruentum*. In "Proceedings of second international seaweed symposium, Trondheim, July 1955" (Braarud and N. A. Sorenson, eds.) 23-24. (Pergamon Press, London).
- 11) KOCK, W. (1953) : Untersuchungen an bakterianfreien Massenkulturen der einzelligen Rotalge *Porphyridium cruentum* Naegeli. *Arch. Mikrobiol.*, **18**, 232-241.
- 12) KRAUSS, R. W. (1958) : Physiology of the fresh water algae. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **9**, 207-244.
- 13) KUFFERATH, H. (1913) : Note sur la physiologie et la morphologie de la *Porphyridium cruentum* Naegeli. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique*, **52**, 286-290.
- 14) PRINGSHEIM, E. G., and O. PRINGSHEIM (1956) : Kleine Mitteilungen über Flagellaten und Algen, IV. *Porphyridium cruentum* und *Porphyridium marinum*. *Arch. Mikrobiol.*, **24**, 169-173.
- 15) PROVASOLI, L., J. J. A. McLAUGHLIN and I. J. PINTNER (1954) : Relative and limiting concentrations of major mineral constituents for the growth of algal flagellates. *Trans. N. Y. Acad. Sci., Ser. II.*, **16** (8), 412-417.
- 16) PROVASOLI, L., J. J. A. McLAUGHLIN and M. R. DROOP (1957) : The development of artificial media for marine algae. *Arch. Microbiol.*, **25**, 392-428.
- 17) SIBATA, K., A. A. BENSON and M. CALVIN (1954) : The absorption spectra of suspensions of living microorganisms. *Biochim. et Biophys. Acta*, **15**, 461-470.
- 18) TAMIYA, H. (1957) : Mass culture of algae. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **8**, 309-334.