Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ. Vol. 30 pp. 179~189 (1981)

大村湾産赤潮鞭毛藻

Gymnodinium sp. ('65年型)の超微細構造

野呂 忠秀・水野 純・野沢 沿治*

Ultrastructure of the Red Tide Dinoflagellate *Gymnodinium* sp. (type-'65) from Ohmura Bay, Japan

Tadahide Noro, Jun Mizuno and Koji Nozawa*

Abstract

A red tide phytoplankton, *Gymnodinium* sp. (type-'65), shows the general characteristics of the Dinophyceae, e.g. chloroplasts, mitochondria, golgi bodies and nucleus. This unarmored dinoflagellate has a cell covering composed of three membranes and many vesicles. A large number of vacuoles and lipid bodies occupy the peripheral area of the cytoplasm. The chloroplasts can contain either quasiradial or parallel lamellae, typically consisting of three thylakoids each. The pyrenoid is multiple-stalked and lacks a starch cap.

Key Index Words: chloroplast, dinoflagellate, Gymnodinium, pyrenoid, red tide, theca, ultrastructure.

序

1965年以降,長崎県大村湾をはじめとする西日本各地では渦鞭毛藻 Gymnodinium 属の一 種が発生し赤潮現象を呈してきた(水産庁漁場保全課瀬戸内海漁業調整事務所,1979).本 種は当初 Gymnodinium sp. (type-'65) と仮称されていたが(飯塚等,1966),安達(1973) は新種と認め Gymnodinium nagasakii と命名されるべきことを提唱した.しかし,この 命名は学会口頭発表であったため正式に用いることには問題が残されており,今尚本種は Gymnodinium sp. (type-'65) として取り扱われている.

これまで本種に関しては、その発生現象(飯塚、1972; IIZUKA、1979)や、生理特性(沼 口等、1972;小野等、1979;本城、1979)についての研究が知られている.しかし、形態学 的な観察は不十分で、本種の分類や生理機能を考察する上での残された問題となっている. 今回、筆者等は透過型電子顕微鏡(TEM)を用いて、本種の超微細構造に関する二、三の知 見を得ることができたので、その結果をここに述べたい.

材料と方法

実験に供した Gymnodinium sp. (type-'65) は長崎県大村湾から採取されたもので、長崎

^{*} 鹿児島大学水産学部海洋基礎生産学講座 (Lab. of Marine Botany, Fac. of Fisheries, Kagoshima Univ., 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima City 890, Japan)

大学水産学部教授,飯塚昭二博士より分与を受けた.

本種は NH-15 培地 (STEIDINGER, 1978), 温度 20°C, 照度 3~4,000 lux (白色螢光灯), 12:12時間 明暗周期下で培養された. 定常期に 達した 細胞を 遠心 分離後, 3% Glutalaldehyde+0.25 M NaCl+0.1 M Collidine Buffer と 1% OsO4+0.1 M Collidine Buffer で各々 一時間,室温固定し,エタノール脱水後エポン樹脂に 包埋した. 更にこの試料を Sorvall MT-1 ウラトラミクロトームで超薄切片とし,酢酸ウラニルと 硝酸鉛で電子染色後,日立 H-300 型透過型電子顕微鏡によって検鏡した.

結 果

光学顕微鏡による観察: Gymnodinium sp. (type-'65) は、体長 20~30 μ m、体幅 15~ 25 μ m で暗黄色を呈す.体は扁圧、前端はやや丸い.横溝は体の中央部よりやや前方に位置 し僅かに右旋する.縦溝は先端から後端にかけて真直ぐ伸び、場所により広狭を示す.細胞 中央から後半部にかけて位置する大型の核は径 5~10 μ m で、その周囲には十個程の葉縁体 がある (Figs. 1, 2).しかし、STEIDINGER (1978) が Gymnodinium breve (後に Ptychodiscus brevis と改称; STEIDINGER, 1979, 1980) で述べた先端突出部 ("apical process") と その凹みや、横溝の "ridge" は観察できなかった.

電子顕微鏡による観察: Fig. 4 に本種縦断面の電顕像を示した.細胞の左右と下部には, それぞれ横溝と縦溝の切れ込みがある.しかし細胞上部の溝様凹みは,縦溝の一部なのか apicall process の凹みなのか不明である.細胞中央には大きな核(N)が位置し,それを取 り囲むように,ピレノイド(p)の付着した葉緑体(ch)が散在する.また,これら細胞内小 器官の周囲は多数の液胞(v)によって占められる.

外皮 (theca). 外皮は三層の膜 (Fig. 5) と, その外側の小胞 (Fig. 5, 6) からなり, こ の三層膜のうちの最内層のものは原形質膜と推察された. 外皮上に一列に並んだ小胞は, 径 0.1 μm, 長さ 0.15 μm 程で, 稀に Fig. 6 のような突起部も観察される.

鞭毛 (flagella). 鞭毛の表面には独特の 縞模様 (striated strand) が存在する.しかし, 鞭毛の内部構造や基部の構造,毛 (hair)の有無については観察し得るに至らなかった (Fig. 3).

核 (nucleus). 本種の 核は 核膜に包まれた 球形で,その内部 は 渦鞭毛藻特有の 螺旋状 DNA を含む染色体 (chromosome) によって占められている (Figs. 7, 8). この染色体は一 断面あたり20個程見られたが、仁 (核小体) は観察できなかった.

葉緑体 (chloroplast). 通常,一断面あたり5~10個程の葉緑体が観察できた (Fig. 4). これら葉緑体は長さ5 μ m 以下の楕円体で,2~3層のチラコイド (thylakoid) が重なって できたラメラ (lamellae) が,平行あるいは放射状に配列している (Figs. 9, 10). また,葉 緑体外膜 (chloroplast envelope) の内側に沿って扁平な小胞がある (Fig. 9).

ピレノイド (pyrenoid). 周囲を膜で包まれたピレノイドは、少なくとも二本の短い柄 (stalk) によって葉緑体と連らなる. しかし、葉緑体のチラコイドがピレノイド中に貫入す ることはない (Fig. 9, 10).

液胞系 (vesiculation). 本種の細胞中には多数の液胞 (v) が存在し, 核・葉緑体・原形

質は、この液胞系の中に浮遊するかの観を呈する (Figs. 4, 7, 10).

その他の細胞内小器官. 液胞の間隙をぬってミトコンドリア (mitochondria), ゴルジ 体 (Gelgi body) を含む原形質部が散在する (Figs. 11, 12). ミトコンドリアは2層の外膜に 包まれ,内部に多数のクリステ (cristae) を含む. ゴルジ体は3~7層のゴルジ嚢と,その 周辺のゴルジ小胞からできている (Fig. 12). また原形質内には,繊維物質を入れた繊維小 胞 (fibrous vesicle) (Fig. 11) があり,これは鞭毛の hair の前駆物質であろうと推測され る. 一方,外皮付近には,電子密度の高い物質が膜で包まれた油球 (lipid body) (Fig. 13) や,分泌小胞 (exocytotic visicle) (Fig. 14) と思われる小器官も観察できる. しかし刺胞 (trichocyst) や水嚢 (pusule)の観察には至らなかった.

考 察

今回観察した Gymnodinium sp. (type-'65)の核や葉緑体は、渦鞭毛藻特有の形態を示した. 渦鞭毛藻に共通の細胞内小器官としては、この他にも刺胞や水嚢が挙げられているが、 本研究においては十分な観察をするには至らなかった.

Dodge 等(1970)は渦鞭毛藻10属の外皮構造を調べ、8タイプに分けるとともに、その 構造が属固有の特徴となり得ることを述べている. これによれば Gymnodinium 属は 扁平 な小胞と プラグを組み合せた独特の外皮構造を示した. 一方、STEIDINGER 等(1978) は Gymnodinium breve (= Ptychodiscus brevis)の外皮構造を調べ、2 層の膜にはさまれた扁平 な小胞構造からなることを明らかにしている. しかし、本種 Gymnodinium sp. (type-'65) の外皮構造は前述のいずれとも異なった. 渦鞭毛藻類の外皮構造に関する知見は、まだ不十 分であり、今後は Gymnodinium 属および、その近縁種間での比較検討が必要であろう.

Gymnodinium 属のピレノイドについては, G. fuscum や G. simplex での研究から, その 存在が否定されていた (Dodge 等, 1969; Dodge 1974). しかし本種では G. breve (=P. brevis) と同様のピレノイドが観察された. このピレノイドの存否も前述の外皮同様, 今後 の比較検討を必要とする.

G. breve (= P. brevis) 同様,本種でも細胞内に占める液胞の割合が多く,原形質の割合の 多い G. fuscum や G. simplex とは対照的である.そのため本種は浸透圧の変化によって変 形し易く,細胞の固定操作を難しくしている.

以上のように、本種の細胞内構造に関して得られた知見を近縁種のそれと比較してみると、 本種は多くの点で、G. breve(=P. brevis) と類似していた.しかし、外皮構造には明らかな 相違も認められた.

STEIDINGER (1979) は, 横溝の "ridge" 構造と頂端の "apical process" の存在を理由に G. breve を Ptycodiscus 属へ移し, P. brevis とした. 従って P. brevis と近縁関係にあると思 われる本種の 分類学的 位置を 明確にするためには, 横溝, 縦溝, "apical process" 及び "ridge" を詳細に観察する必要がある. そのためには走査型電顕 (SEM) 等を用いての外部 構造の比較研究が待たれる. 本稿を終えるにあたり, 試料を供与下さり, その他援助を賜わった長崎大学水産学部教授, 飯塚昭二博士に厚く御礼申し上げる.

引用文献

安達六郎, 1973, 日本水産学会秋季大会講演要旨(昭和48年10月鹿児島)

DODGE, J. D. 1974. A redescription of the dinoflagellate *Gymnodinium simplex* with the aid of electron microscopy. J. mar. biol. Ass.U. K. 54: 171-7.

- DODGE, J. D. and R. M. CRAWFORD.1969. The fine structure of *Gymnodinium fuscum* (Dinophyceae). New Phytol. 68: 613-8
- DODGE, J. D. and R. M. CRAWFORD. 1970. A survey of thecal fine structure in the Dinophyceae. Bot. J. Linn. Soc. 63: 53-67.
- 平山和次・飯塚昭二・米司 隆, 1972, 1971年夏季の大村湾海水による赤潮プランクトン Gymnodinium '65 年型種の培養、長崎大学水産学部研究報告 33:11-20.
- 本城凡夫, 1979, Gymnodinium 属の増殖と底泥溶出物質との関係に係わる研究, ---Gymnodinium 属 赤潮の挙動と増殖機構の解明に関する研究」報告書、水産庁・環境庁.
- 飯塚昭二, 1972, 大村湾における Gymnodinium '65 年型種赤潮の発生機構, 日本プランクトン学会報 19(1):22-23.
- IIZUKA, S. 1979. Maximum growth rate of natural population of a *Gymnodinium* red tide. In: Toxic Dinoflagellate Blooms. Taylor/Seliger, eds. p. 114-4. Elsevier North Holland, Inc.
- 飯塚昭二・入江春彦,1966,1965年夏季大村湾赤潮時の海況とその被害-II. 後期赤潮とその生物学的特 徴について、長崎大学水産学部研究報告、21:67-101.
- 沼口克之・平山和次, 1972. 大村湾赤潮原因種 Gymnodinium '65 年型種の培養に好適な pH と塩分に ついて、長崎大学水産学部研究報告、33:7-10.
- 小野知足・吉松定昭・山田達夫, 1979, Gymnodinium 属の生育条件,「Gymnodinodinium 属赤潮の挙 動と増殖機構の解明に関する研究」報告書、水産庁・環境庁.
- STEIDINGER, K. A. 1979. Quantitative ultrastructural variation between culture and field specimens of the dinoflagellate *Ptychodiscus brevis*. Ph. D. Dissertation. Univ. of South Florida, Tampa, Florida, 70 pp.
- STEIDINGER, K. A. and E. R. Gox. 1980. Free-living dinoflagellates. In: Phytoflagellates, E. R. Cox, ed. Elsevier North Holland, Inc.
- STEIDINGER, K. A., E. W. TRUBY and C. J. DAWES. 1978. Ultrastructure of the red tide dinoflagellate Gymnodinium breve. I. General description. J. Phycol. 14: 72-9.
- 水産庁漁場保全課瀬戸内海漁業調整事務所, 1979, Gymnodinium 属赤潮の発生と被害に関する情報の 整理解析,「Gymnodinium 属赤潮の挙動と増殖機構の解明に関する研究」報告書,水産庁・環境庁.



Figs. 1, 2. Light micrographs of Gymnodinium sp. (type-'65). Ventral view showing transverse fold and longitudinal fold.

Figs. 3–14. Electron micrographs of *Gymnodinium* sp. (type-'65). Fig. 3. Longitudinal section of flagellum (fl) with striated strands (st).

183



Fig. 4. Longitudinal section of *Gy.nnodinium* sp. (type-'65) showing nucleus (N), chloroplasts (ch), pyrenoids (p), vacuoles (v) and lipid bodies (lip).



Fig. 5. Cell covering (cc; theca) with three membranes and vesicles (ve). Fig. 6. Cell covering with a spinous projection.



Fig. 7. Interphase nucleus (N) showing the characteristic appearance of mesocaryotic nucleus found in the Dinophyceae.

Fig. 8. Highly magnified chromosomes in both transverse and longitudinal sections. Note the arrangement of the DNA fibrils of which the chromosomes are composed.



Fig. 9, 10. Quasi-radially arranged lamellae of chloroplast. External to girdle band is the chloroplast envelope (ce). Attenuated pyrenoid connecting chloroplast lobes; note attachment points (arrow).



Fig. 11. Cytoplasmic region where vesicle occurs with tubular contents (fv). Mitochondria (m) showing a two-membrane envelope and tubular cristae.Fig. 12. Horizontal section through the Golgi body (g).

188



Fig. 13. The vesicular cortex containing lipid bodies (lip). Fig. 14. Exocytotic vesicle (ev) situated within cell covering.