九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

低温感受性の異なる3種類のChlorella ellipsoideaにおける同調培養に関する研究

貞包, 治夫
九州大学農学部食品衛生化学教室

川波, 利明
九州大学農学部食品衛生化学教室

今村, 裕明
九州大学農学部食品衛生化学教室

福本, 憲二
九州大学農学部食品衛生化学教室

他

https://doi.org/10.15017/23259

出版情報：九州大學農學部學藝雑誌. 32 (4), pp.161-168, 1978-03. 九州大學農學部
バージョン：
権利関係：

KYUSHU UNIVERSITY

九大農学芸誌 (Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ.)
第32巻 第4号 161-168 (1978)

低温感受性の異なる3種類の *Chlorella ellipsoidea* における同調培養に関する研究

貞包治夫・川波利明[*1]・今村裕明[*2]
福本憲二[*3]・河合義雄[*4]・波多野昌二
九州大学農学部食品衛生化学教室

(1977年12月5日受理)

Studies on Synchronous Culture in Three Strains of *Chlorella ellipsoidea* with Different Susceptibilities to Low Temperature

HARUO SADAKANE, TOSHIAKI KAWANAMI, HIROAKI IMAMURA, KENJI FUKUMOTO, YOSHIO KAWAI and SHOJI HATANO
Laboratory of Food Hygienic Chemistry, Faculty of Agriculture, Kyushu University 46-09, Fukuoka 812

緒言

単細胞緑藻は生育期間が比較的短く，生育条件の制御が容易であるなどの利点を持つので，光合成や細胞分裂など，植物生理学，植物生化学における重要な問題の研究に使われてきた．著者らはこの単細胞緑藻を植物の低温感受性研究の材料に用いることにし，*Chlorella* や *Scenedesmus* について検索した．その結果，低温処理によつて耐凍性が発現され，凍結しても死滅しなくなる藻株 (IAM C-27)，逆に，低温処理すると低温障害を起こし，光合成電子伝達系が切断される藻株 (IAM C-102)，また，低温感受性の小さい藻株 (T. I.) の3種類を同じ種の *Chlorella ellipsoidea* に見出した (Hatano *et al.*, 1976 a, 1976 b)．

Chlorella はその生活環の推移に伴つて生理機能が変化することが報告されている (Tamiya, 1966) ので，その低温感受性も生活環の各段階で異なると推定される．従つて，低温感受性を研究するには *Chlorella* を同調培養し，生活環の一定段階にある細胞を用いる必要がある．そのため，田宮らの同調培養法 (Tamiya *et al.*, 1953, 1961 ; Tamiya and Morimura, 1964 ; 森村, 1972 b) に準じて，低温感受性の異なる3藻株の同調培養を検討した．

本研究にあたりご懇篤なるご指導とご校閲の労を賜つた九州大学農学部渡辺忠雄教授に心からお礼申し上げます．また，本研究に対しご教示とご助言をいただいた宮崎医科大学佐々勤教授に深謝の意を表します．

なお，本研究のうち，IAM C-27 株の同調培養に関する報告の一部は既に公表済 (Hatano *et al.*, 1976 a) であるが，IAM C-27 株の結果を他の2藻株の結果と比較するために，本文中に引用して掲載した．

材料及び方法

(1) 材料

Chlorella ellipsoidea は東京大学応用微生物研究所藻株保存研究室 (東京都文京区弥生 1-1-1) より入手した IAM C-27 株と IMA C-102 株，並びに，名古屋大学農学部生化学制御研究施設より入手した T. I. 株を用いた．

培地は Myers-4N A_5 培地 (森村, 1972 a) を用いた．即ち，本培地 1 *l* 中には KNO_3 5.0 g, KH_2PO_4 1.25 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.5 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.8 mg, H_3BO_3 2.85 mg, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.81 mg, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.22 mg, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.078 mg,

[*1] 現在 武田食品工業 (株) 伊丹工場
[*2] 現在 (株) トーメン
[*3] 現在 江崎グリコ (株)
[*4] 現在 日本冷蔵 (株) 高槻食品工場

3 $(NH_4)_2O \cdot 7\,MoO_3 \cdot 4\,H_2O$ 0.171 mg を含み，NaOH で pH 5.8 に調整した．

培養容器は 50 ml 容量の小型扁平フラスコおよび 500 ml 容量の中型扁平フラスコを用いた（森村，1972 a）．

(2) 前培養

小型扁平フラスコ中の滅菌培地に藻体を無菌的に1白金耳接種した後，滅菌したグラスファイバー管でろ過除菌した1％炭酸ガスを含む空気を連続通気し，9～10 Klux 照射下に 25°C で7～8日間培養した．次いで，光をしや断して 2～3 日間培養し，*Chlorella* の生活環のうちで直径が最も小さい細胞（Ds 細胞）を主体とする培養液を得た．

(3) 同調培養

前培養の結果得られた Ds 細胞主体の培養液を新鮮な培地で $5\sim15\times10^9$ cells/*l* に希釈した後，中型扁平フラスコに移し，1％炭酸ガスを含む空気を通気しながら 9～10 Klux 照射下に 25°C で培養を行なつた．培養開始後，一定時間毎に培養液の一部を採取し，細胞数および細胞の大きさの変化を測定した．細胞数は Thoma 型の hemacytometer を用いて検鏡し，3回測定した平均値で示した（佐々，1972）．細胞の大きさは接眼用 micrometer を用い，細胞 200 個についてその直径を測定し，次式に従つて細胞の平均容積 $(\bar{v})$ を求めた（森村，1972 b）．

$$\bar{v} = 0.524 \sum n_i d_i^3 / 200$$

ここで，n_i は直径が $d_i\,\mu$ の大きさを持つた細胞の数を示す．

培養開始後，Ds 細胞は光照射下に生長し，連続光照射下に分裂を開始した．まず，各藻株について細胞数および平均細胞容積の経時変化を測定することで分裂開始の時期を求めた．次いで，その時期の前後に時間をずらして光照射を停止し，しや光下で培養した際に完全に4分裂できる時期を検討した．このようにして，しや光下に分裂した娘細胞が主体の培養液を得た．これが同調培養の第1サイクルである．この培養液を用いて第1サイクルと同様に第2サイクルの培養を，さらに，第3サイクルの培養を行なつた．

また，生活環の各段階における細胞の核数は Tamiya *et al.* (1961) の方法に従つて細胞を Feulgen 染色した後，200 個の細胞について測定した．

(4) 分画遠心

高い同調性が必要な場合は分画遠心を行なつた．すなわち，各サイクルの開始時の培養液を 400× g，1分間遠心して大きな細胞を沈降させた後，上澄の上層部を採取した．それをさらに 400× g，5分間遠心して上澄に残つた小さな細胞を除去し，細胞の大きさをそろえて同調培養の出発細胞とした．

結　　果

(1) *C. ellipsoidea* (←T. I.) の同調培養

低温感受性の小さい藻株の T. I. 株を同調培養した時の細胞数および平均細胞容積の経時的変化を測定した結果を Fig. 1 に示す．生活環の各段階の命名を Tamiya *et al.* (1961) に準じて行なうと，Fig. 1 から明らかなように，Ds 細胞から出発した第1サイクルは光照射下5～6時間で Da 段階，10～11 時間で D～L 段階，15～16 時間で L_1 段階，18～19 時間で L_2 段階，約 22 時間で L_3 段階に達した．Da 段階とは光合成が最も盛んな活動期の段階，D～L 段階とは D 細胞が L 細胞に移行する途中の段階，L_1 段階とは細胞は相当肥大しているが，しや光した時に分裂し得ない未成熟期の段階，L_2 段階とは L_1 よりも成熟が進み，しや光下に移した時一部の細胞が4分裂する半成熟期の段階，L_3 段階とは成熟が進んだ状態でしや光下に移した時に細胞は全て4個ずつに分裂する成熟期の段階である（Tamiya *et al.*, 1961）．L_3 段階の細胞は光照射を停止すると直ちに分裂を開始し，しや光下で 11 時間培養すると分裂を完了した．その時の分裂数 n（1個の母細胞より分裂して生じる娘細胞の数の平均値）は 4.0 であつた．連続光照射下では培養約 24 時間で分裂を開始し，約 35 時間で分裂を完了し，分裂数は 4.0 であつた．L_3 段階でしや光下に移し第1サイクルを終了させた結果，Dn 細胞（幼期暗細胞）を得た．

この Dn 細胞を第1サイクルの出発時と同じ濃度になるように培地で希釈した後，第2サイクルの培養を行なつた．その結果，Fig. 1 から明らかなように，光照射下約 13 時間で L_3 段階に達した．L_3 段階の細胞はしや光すると直ちに分裂を開始し，しや光下6時間で分裂を完了し，分裂数は 4.0 であつた．連続光照射下では培養約 15 時間で分裂を開始し，約 21 時間で分裂を完了し，分裂数は 4.1 であつた．第2サイクル終了時の Dn 細胞から出発した第3サイクルは，その生活環に要する時間が第2サイクルとほぼ同じであつた．第3サイクルではしや光下および光照射下に分裂した時の分裂数はともに 4.0 であつた．

Fig. 1 における同調性を検討するため，第1サイクル開始時から第3サイクル終了時までの間，細胞の直径の分布を経時的に測定した．そのうち，Ds, Dn,

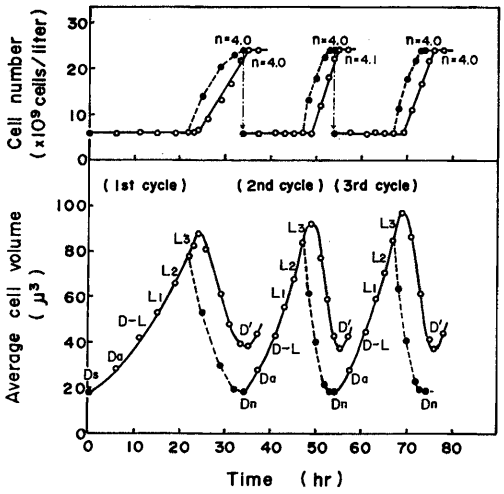

Fig. 1. Changes of cell number and average cell volume during synchronous growth of *C. ellipsoidea* (← T. I.). Solid and broken curves show, respectively, the processes occurring in the light and dark. Ds, Dn, Da, D-L, L_1, L_2, L_3 and D′ are designations of different stages (or cells) in the life cycle. After completion of cell division in each cycle, the culture was diluted to the original cell concentration (indicated by vertical arrows). n: division number. See text for further explanation.

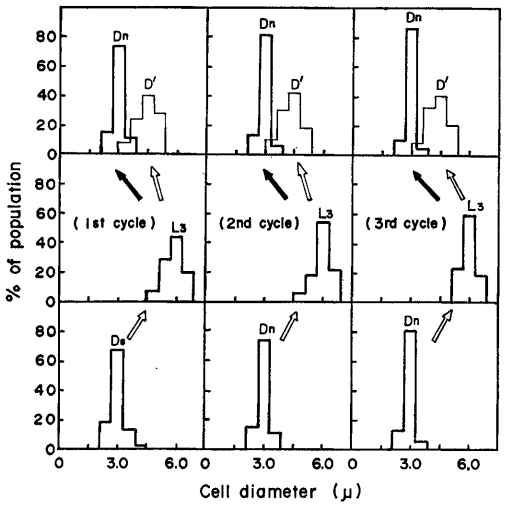

Fig. 2. Chages of statistical distribution of cell size observed in the life cycle shown in Fig. 1. White and black arrows indicate, respectively, the changes occurring in the light and dark.

D′（母細胞から光照射下に生じた娘細胞）および L_3 段階の結果を **Fig. 2** に示す. **Fig. 2** から明らかなように，直径 2.7～3.3 μ の細胞は第 1 サイクル開始時の Ds 段階では 67 %で同調性が低かつたが，Dn 段階においては第 1 サイクル終了時に 74 %，第 2 サイクル終了時に 81 %，第 3 サイクル終了時に 86 %となり，生活環を繰り返す毎に同調性が高くなつた. この Dn 段階と比べ，光照射下に分裂した D′ 段階は同調性が低く，その直径の分布は 3.0～5.4 μ であつた.

(2) ***C. ellipsoidea*** **(IAM C-102) の同調培養**

低温障害を発生する藻株の IAM C-102 株を同調培養した時の細胞数および平均細胞容積の変化を **Fig. 3** に示す. **Fig. 3** から明らかなように，Ds 細胞から出発した第 1 サイクルは光照射下約 23 時間で L_3 段階に達した. L_3 段階からしや光すると直ちに分裂を開始し，しや光下 12 時間で分裂を完了し，分裂数は 3.9 であつた. 連続光照射下では培養約 25 時間で分裂を開始したが，IAM C-102 株は T. I. 株と異なり，光照射下の方が分裂し易く，分裂を開始してから約 6 時間で分裂を完了し，分裂数は 3.3 であつた.

第 1 サイクルでしや光下に分裂して得られた Dn 細胞から出発した第 2 サイクルは，**Fig. 3** から明らかなように，光照射下 14～15 時間で L_3 段階に達した. L_3 段階からしや光すると直ちに分裂を開始し，しや光下 7～8 時間で分裂を完了した. 分裂数はしや光下に分裂した時は 4.0 で，光照射下に分裂した時は 4.1 であつた. 第 2 サイクル終了時の Dn 細胞から出発した第 3 サイクルは，その生活環の時間および分裂数が

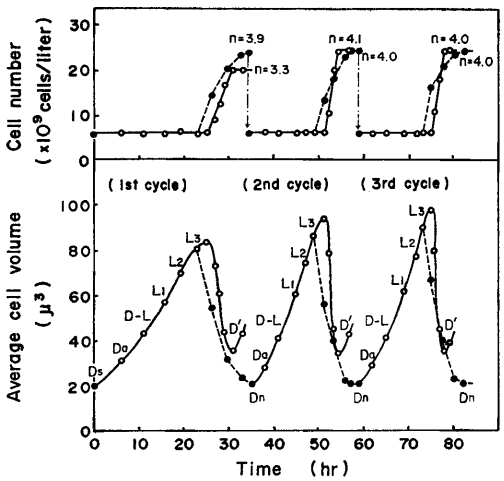

Fig. 3. Changes of cell number and average cell volume during synchronous growth of *C. ellipsoidea* (IAM C-102). Meanings of the symbols are the same as in Fig. 1.

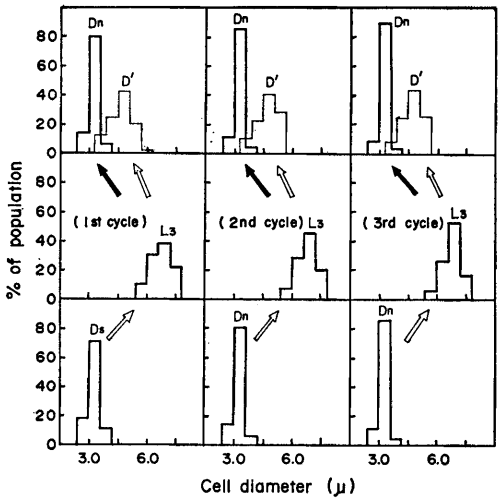

Fig. 4. Changes of statistical distributon of cell size observed in the life cycle shown in Fig. 3. Meanings of the symbols are the same as in Fig. 2.

第2サイクルとほぼ同じであつた.

Fig. 3 における同調性を検討するため, IAM C-102 株の第1サイクル開始時から第3サイクル終了時までの Ds, Dn, D′, および L_3 細胞の直径の分布を測定した結果を Fig. 4 に示す. その結果, 直径 3.0～3.6 μ の細胞は第1サイクル開始時の Ds 段階では 71 %であつたが, Dn 段階では第1サイクル終了時に 80 %, 第2サイクル終了時に 85 %, 第3サイクル終了時に 89 %となり, サイクルを繰り返す毎に同調性が高くなつた. この Dn 段階と比べ, 連続光照射下に分裂した D′ 段階は同調性が低く, その直径の分布は 3.3～5.7 μ であつた.

(3) ***C. ellipsoidea*** **(IAM C-27) の同調培養**

IAM C-27 株の前培養で得られた Ds 細胞は直径 2.7～3.3 μ の細胞が 65 %であつたが, 分画遠心により 80 %の同調性を得た. この Ds 細胞から出発した第1サイクルにおける細胞数および平均細胞容積の変化を経時的に測定した結果を Fig. 5 に, その時の細胞直径の分布を測定した結果を Fig. 6 に示す. Fig. 5 および Fig. 6 から明らかなように, 第1サイクルでは光照射下の培養約 35 時間で分裂を開始したが, その時期からしや光下で培養しても分裂しない細胞が約 20 %残つた. これを再度分画遠心して同調率を 80 %にした第2サイクルでは光照射下の培養 23～24 時間で分裂を開始したが, その時期からしや光下で培養した場合にも分裂しない細胞が約 20 %残つた. また,

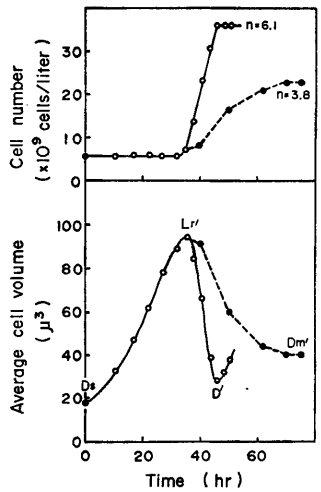

Fig. 5. Changes of cell number and average cell volume during synchronous growth of *C. ellipsoidea* (IAM C-27) at the first cycle. Lr′ stage: ripened stage at which some of cells begin to divide in the light. Dm′ cells: dark cells resulted from the divisions of Lr′ cells in the dark. Other meanings of the symbols are the same as in Fig. 1.

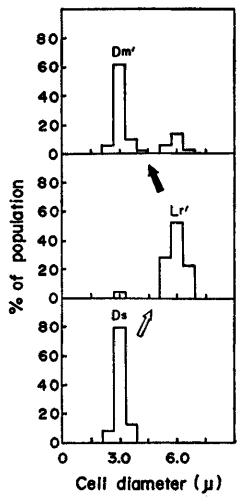

Fig. 6. Changes of statistical distribution of cell size observed in the life cycle shown in Fig. 5. Meanings of the symbols are the same as in Fig. 2.

光照射下に分裂を開始する時期の1～2時間前にしや光下に移して培養すると分裂しない細胞の残存率が上昇した.

このように, IAM C-27 株は他の2藻株と異なり, 光照射下に分裂を開始する前にしや光下に移しても完

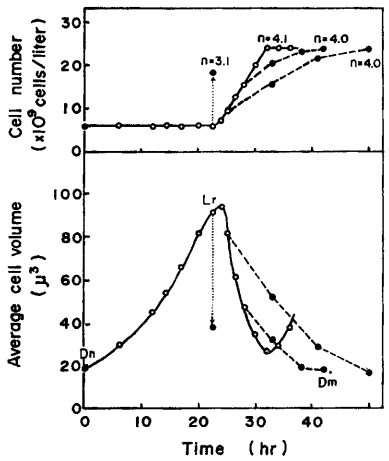

Fig. 7. Changes of cell number and average cell volume during synchronous growth of *C. ellipsoidea* (IAM C-27) at the third cycle. Solid circles indicated by vertical (dotted) arrows show the values obtained after dark incubaion (for 60 hrs) of Lr cells. Lr cells: ripened light cells. Dm cells: the mixture of Dn cells and the cells resulted from the division of Lr cells in light. Other meanings of the symbols are the same as in Fig. 1.

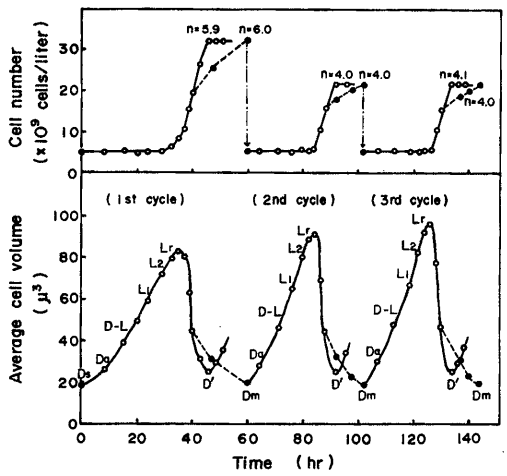

Fig. 8. Changes of cell number and average cell volume during synchronous growth of *C. ellipsoidea* (IAM C-27). Meanings of the symbols are the same as in Figs. 1 and 7.

全には分裂しなかつた．従つて，分裂開始の前後の時期について広くしや光を試み，同調性に及ぼす影響を検討した．すなわち，分画遠心して同調性を高めた第2サイクルの Dn 細胞を出発細胞として細胞数および平均細胞容積の変化を調べた．その結果，Fig. 7 から明らかなように，光照射下に分裂を開始する時期の1時間前，すなわち，培養 23 時間目に光照射を停止した場合はしや光下で 60 時間培養しても完全には分裂できなかつた．この段階は他の2藻株の L_3 段階に対応するが，これらの L_3 段階と異なりしや光下で完全には分裂しなかつた．従つて，成熟期 (ripened stage) の頭文字 (r) を採つて，この段階を Lr 段階とした．光照射下に一部の細胞が分裂を開始する培養 25 時間目からしや光すると完全に分裂したが，細胞が4分裂して分裂を終了するには 25 時間以上の培養が必要で，分裂後の細胞の平均細胞容積は培養開始時よりも小さかつた．一方，光照射下に約 30 %の細胞が分裂している培養 28 時間目から光照射を停止すると，しや光下 14 時間で完全に4分裂し，培養開始時の Dn 細胞と同じ平均細胞容積の細胞が得られた．この細胞中にはしや光下に分裂した Dn 細胞だけでなく，光照射下に分裂した細胞も混入していると考えられる．従つて，混合暗細胞 (mixture of dark cells) の頭文字 (m) を採つて，この段階を Dm 段階とした．

Fig. 7 の結果に基き，30 %の細胞が光照射下に分裂する時期に光照射を停止する方法を用いて，分画遠心を行なわずに培養を行なつた．その培養中の細胞数および平均細胞容積の変化を経時的に測定した結果を Fig. 8 に示す．Fig. 8 から明らかなように，Ds 細胞から出発した第1サイクルは光照射下の培養 33～34 時間で Lr 段階に達し，35～36 時間で分裂を開始し，約 40 時間で 30 %の細胞が分裂した．培養 40 時間目から光照射を停止すると，しや光下約 20 時間で完全に Dm 細胞に分裂し，分裂数は 6.0 であつた．連続光照射下では培養約 46 時間で完全に分裂し，分裂数は 5.9 であつた．

第1サイクルでしや光下に分裂して得られた Dm 細胞から出発した第2サイクルは，Fig. 8 から明らかなように，光照射下約 23 時間で Lr 段階に達した．Lr 段階の約1時間後から光照射下に分裂を開始し，培養 28 時間目に約 30 %の細胞が分裂した．この時期から光照射を停止すると，しや光下 14 時間で完全に Dm 細胞に分裂し，分裂数は 4.0 であつた．連続光照射下では培養約 32 時間で完全に分裂し，分裂数は 4.0 であつた．第2サイクル終了時の Dm 細胞から出発した第3サイクルは，その生活環に要する時間および分裂数が第2サイクルとほぼ同じであつた．

Fig. 8 における同調性を検討するため，IAM C-27 株の第1サイクル開始時から第3サイクル終了時までの Ds, Dm, D', および Lr 細胞の直径の分布を

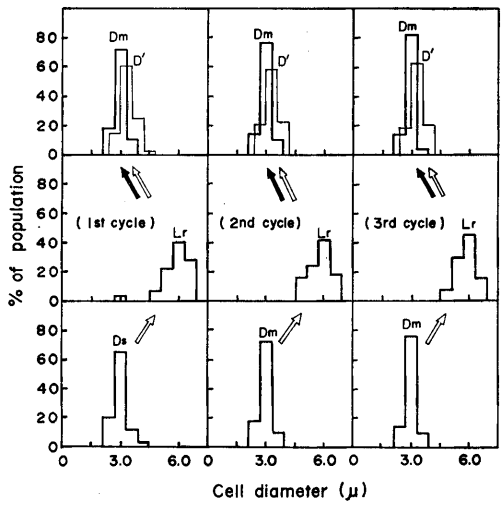

Fig. 9. Changes of statistical distribution of cell size observed in the life cycle shown in Fig. 8. Meanings of the symbols are the same as in Fig. 2.

測定した．その結果，Fig. 9 から明らかなように，直径 2.7～3.3 μ の細胞は第1サイクル開始時の Ds 段階では65％であつたが，Dm 段階では第1サイクル終了時に72％，第2サイクル終了時に76％，第3サイクル終了時に82％となり，サイクルを繰り返す毎に同調性が高くなつた．このように，IAM C-27 株においても，分画遠心を行なうことなく，第3サイクル終了時に80％以上の同調性を得ることが出来た．IAM C-27 株は他の2藻株と異なり，連続光照射下に分裂した D′ 細胞は約60％の同調性を保持しており，その直径の分布は 2.4～4.2 μ であつた．

Fig. 8 では，細胞分裂数は第1サイクルで 5.9～6.0 であつたが，第2サイクル以降で 4.0～4.1 であつた．このように，IAM C-27 株は第1サイクルで異常分裂したので，各サイクルにおける Lr 細胞および分裂して生じた Dm, D′ 細胞の均一性を検討した．すなわち，細胞を Feulgen 染色し，それぞれの核数を比較した．Table 1 から明らかなように，第1サイクルの Lr 細胞中には核数が8個以上の異常細胞が存在したが，第2サイクルおよび第3サイクルの Lr 細胞中には4核以上の細胞は認められなかつた．また，Dm 細胞はどのサイクルにおいても全てが1核であつた．Tamiya *et al.* (1961) によると D′ 細胞には2核以上の異常細胞が混入するとされているが，Table 1 の結果から，IAM C-27 株の D′ 細胞はほとんど1核であつた．

Table 1. Changes of statistical distribution of nuclear number during synchronous growth of *C. ellipsoidea* (IAM C-27).

		Nuclear number				
		1	2	4	6	8
1st cycle	Ds cells	99[a]	1	0	0	0
	Lr cells	8	32	46	8	6
	D′ cells	98	2	0	0	0
2nd cycle	Dm cells	100	0	0	0	0
	Lr cells	10	41	49	0	0
	D′ cells	99	1	0	0	0
3rd cycle	Dm cells	100	0	0	0	0
	Lr cells	7	42	51	0	0
	D′ cells	98	2	0	0	0
4th cycle	Dm cells	100	0	0	0	0

[a] Percentage of cells with the nuclear number indicated above per cells of each stage at the different life cycles.

考　　察

Tamiya *et al.* (1961) によると，*C. ellipsoidea* はその生活環の L_3 段階からしや光下で培養すると，全ての細胞が4分裂し高い同調性を示すが，連続光照射下に分裂した細胞は4分裂するにもかかわらず，異常細胞が多く同調性が低いとされている．T. I. 株と IAM C-102 株の同調培養についてはこれと同様な結果が得られた．これに対し，IAM C-27 株は，Fig. 7 から明らかなように，生活環の成熟期から光照射を停止し，しや光下60時間培養した後でも完全には分裂しなかつた．また，Fig. 9 および Table 1 から明らかなように，光照射下に分裂して得られた D′ 細胞はほとんどが1核で異常細胞がほとんどなく，約60％の同調性を保持していた．さらに，再現性のある高い同調培養を行なうためには，約30％の細胞が分裂するまで光照射が必要であつた．この結果から，光照射下に分裂した細胞は異常細胞が多く，同調性も低いとする田宮らの概念があてはまらない藻株が *C. ellipsoidea* 中に存在することが明らかになつた．

以上のように，T. I. 株および IAM C-102 株の2藻株と IAM C-27 株とでは同調培養中の光の要求性や細胞分裂の様相が大きく異なつていることが明らかになつたが，T. I. 株と IAM C-102 株との間でも細胞分裂の完了に必要な時間が異なつていた．すなわち，連続光照射下で分裂を完了するのに必要な時間は，T. I. 株ではしや光下での分裂時間と等しかつたのに対し，IAM C-102 株ではしや光下の分裂時間の約半分であり，IAM C-102 株は光照射下で分裂し易

い藻株であつた.

また, T. I. 株, IAM C-102 株, および IAM C-27 株は, それぞれ, 生活環の第 1 サイクルにおける連続光照射下の分裂数にも差があつた. すなわち, T. I. 株は連続光照射下に 4 分裂したが, IAM C-102 株および IAM C-27 株の分裂数は, それぞれ, 3.3 および 5.9 であつた. しかし, 第 2 サイクル以降は, いずれの藻株も 4 分裂し, 分裂数の差は認められなかつた.

このように, *C. ellipsoidea* の 3 藻株は同じ藻種に属するにもかかわらず, 増殖の様相に差異があるという興味ある結果が得られた. また, これらの藻株は低温感受性も異なつており, 増殖の差異との関連性が考えられるが, 各藻株の低温感受性の差異と生長および分裂の様相の差異が共通の原因によるのか否かは今後解明すべき課題であろう.

要　　約

異なつた低温感受性を持つ *C. ellipsoidea* の 3 藻株について, 同調培養を行なうとともにその生活環を検討した.

低温感受性の小さい藻株の T. I. 株は L_3 段階（生活環の成熟期）から光照射を停止すると細胞分裂を開始した. L_3 細胞はしや光下で培養すると, 均一な大きさの 4 つの娘細胞（Dn）に分裂したが, 光照射下で培養して得られた娘細胞は種々の大きさであつた. また, 細胞分裂の開始はしや光下よりも光照射下の方が遅かつた. しかしながら, 完全な細胞分裂に要する時間は光照射下もしや光下も同じであつた.

低温障害を受ける藻株の IAM C-102 株の生活環は T. I. 株と類似していたが, 細胞分裂に必要な時間が T. I. 株と異なつており, しや光下よりも光照射下の方が分裂時間が短かつた.

低温処理すると耐凍性を発現する藻株である IAM C-27 株は生活環の様相が他の 2 藻株と大きく異なつていた. すなわち, 生活環の成熟期からしや光下で 60 時間培養しても細胞分裂は完全でなく, 完全な細胞分裂には十分な成熟段階まで光照射が必要であつた. 再現性のある高い同調性を得るには, 光照射は 30 %の細胞が分裂するまで行なわねばならなかつた. また, 細胞分裂の速度は光照射下よりもしや光下の方がかなり遅かつた.

文　　献

Hatano, S., H. Sadakane, M. Tutumi and T. Watanabe 1976 a Studies on frost hardiness in *Chlorella ellipsoidea*. I. Development of frost hardiness of *Chlorella ellipsoidea* in synchronous culture. *Plant & Cell Physiol.*, **17** : 451–458

Hatano, S., H. Sadakane, M. Tutumi and T. Watanabe 1976b Studies on frost hardiness in *Chlorella ellipsoidea*. II. Effects of inhibitors of RNA and protein synthesis and surfactants on the process of hardening. *Plant & Cell Physiol.*, **17** : 643–651

森村祐次　1972 a　微細藻類の培養法, 一般操作. 田宮博・渡辺篤編 : 藻類実験法, 南江堂, 東京, 46–67 頁

森村祐次　1972 b　生育生理, 同調培養法. 田宮博・渡辺篤編 : 藻類実験法, 南江堂, 東京, 203–210 頁

佐々　勤　1972　生育生理, 微細藻類の生育. 田宮博・渡辺篤編 : 藻類実験法, 南江堂, 東京, 185–202 頁

田宮　博　1963　クロレラの生活環における生化学的諸現象. 生化学, **35** : 1–10

Tamiya, H. 1966 Synchronous cultures of algae. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **17** : 1–26

Tamiya, H., T. Iwamura, K. Shibata, E. Hase and T. Nihei 1953 Correlation between photosynthesis and light-independent metabolism in the growth of *Chlorella*. *Biochim. Biophys. Acta*, **12** : 23–40

Tamiya, H. and Y. Morimura 1964 Synchronous cultures of *Chlorella* starting from a homogeneous population. *In* "Synchrony in Cell Divition and Growth", ed. by E. Zeuthen, John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 565–569

Tamiya, H., Y. Morimura, M. Yokota and R. Kunieda 1961 Mode of nuclear division in synchronous cultures of *Chlorella*. *Plant & Cell Physiol.*, **2** : 384–403

Summary

The mode of growth and cellular division during synchronous culture has been studied in three strains of *Chlorella ellipsoidea* with different susceptibilities to low temperature.

Cells of the strain T. I., which has little or no susceptibility to low temperature, completely divided only when the illumination was interrupted at the L_3 stage (ripening phase in the life cycle). When the L_3 cells were incubated in the dark, they divided into four daughter cells (Dn) with homogeneous size, while they were incubated in the light, their daughter cells were various in their size. The beginning of cell division in the light was later than that in the dark at the L_3 stage. However, the time required for complete cell division in the light was the same as that in the dark. These results are similar to those reported by Tamiya *et al.* The culture for the first cycle was subjected to a 23-hr light-12-hr dark regime. Good synchronization of algal cells was obtained after a second or a third cycle of 13-hr light-7-hr dark regime.

The strain IAM C-102, which is sensitive to chilling injury, was different from the strain T. I. in the time required for growth and cell division. The time required for cell division in the light was shorter than that in the dark. The culture for the first cycle was subjected to a 23-hr light-12-hr dark regime. Good synchronization of algal cells was obtained after a second or a third cycle of 14-hr light-8-hr dark regime.

The strain IAM C-27, which becomes hardy during low temperature treatment, remarkably differed from two strains in the mode of growth and cellular division. The cells at the ripening phase in the life cycle did not divide completely after 60 hrs incubation in the dark. They completely divided only when the illumination was continued until fully ripened stage. To obtain good and repetitive synchronous culture, the illumination was continued until 30 percents cells divided. The daughter cells obtained in this manner were homogeneous in their size. The time reqired for cell division in the dark was much slower than that in the light. The culture for the first cycle was subjected to a 40-hr light-20-hr dark regime. Good synchronization of algal cells was obtained after a second or a third cycle of 28-hr light-14-hr dark regime.