

## キセルガイの殻上に着生する藻類の分類学的研究

南波 紀昭 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 中山 剛 (筑波大学 生命環境系)

## 背景と目的

藻類は、系統的に極めて多様な生物群であるが、生息環境の多様性にも富んでいる。大部分は水生であるが、陸上や極限環境、他生物の内部、表面などの環境にも生育していることが知られている。特に他生物との関わりは、共生や寄生などの観点からいくつかの研究が行なわれている。

貝類の殻に生育する藻類はいくつか知られており、スガイに着生するカイゴロモ *Pseudocladophora conchophera* (アオサ藻綱シオグサ目) などがある。このように水生の貝の貝殻への藻類の付着は多く報告されているが、陸貝の付着藻に関する報告は非常に少ない。唯一、Geitler (1935) によりキセルガイの殻上から *Trypanochloris clausiliae* (黄緑色藻綱) が報告されている。そのような中、新潟県の森林において、ツムガタギセル *Pinguiphaedusa platydera* の殻上に藻類が付着・生育しているのを発見した。日本においては陸貝の殻上に生育する藻類は報告がないため、本研究では、形態観察および分子系統解析により、この藻類の同定を行うことを目的とした。

## 方法

本藻類は新潟県 (柏崎市米山) の森林内に生息していたツムガタギセルの殻上から採取された。殻上より分離した藻類は、倒立顕微鏡下でマイクロピペット法により単離し、BBM 液体培地および 1.5% 寒天培地上で培養した。本藻類の形態観察は光学顕微鏡を用いて、殻上より分離した直後のものと、単離培養したものの両方で行った。さらに詳細な微細構造や、殻上への付着様式の確認のために、走査型電子顕微鏡 (SEM) により観察を行った。SEM 観察に用いた試料は 2.5% グルタルアルデヒドおよび 1% 四酸化オスmiumによる二重固定をし、凍結乾燥させた。また本藻類の系統学的位置を明らかにするために、殻付着サンプルおよび培養株より抽出した DNA から 18S rDNA の配列決定をし、RAxML による最尤法系統樹の作成および、ブートストラップ法による検定を行った。

## 結果と考察

殻上に着生している本藻類は、緑色で可視サイズのコロニーを形成していた (Fig. 1)。光学顕微鏡を用いて観察したところ、殻から分離した直後の藻類は、個々の細胞がいびつな球状をしており、直径 5-15  $\mu\text{m}$ 、透明のゲル状物質やバクテリアなどと群塊を形成していた。数週間の培養を経ると、コロニーの外縁部分の細胞が、糸状に伸びて長さは 20  $\mu\text{m}$  ほどにまでなり、不規則に枝分かれしていた。コロニー中央部分は多数の球状細胞からなる細胞塊で構成されていた。各細胞は一つの板状葉緑体を持ち、ピレノイドが存在していた。また、培養の長期経過段階の細胞には、油滴状物質の存在も確認された。しかしながら今回は最適な培養条件を確立することができなかったため、重要な分類形質となる、コロニー形成までの過程や、遊走子の有無などについては十分な



Fig. 1. ツムガタギセルの殻上に形成された藻類コロニー (白矢印)

観察が行えなかった。今後は pH や温度、照度を変えるなど様々な条件で培養を行う必要がある。

SEM での観察を行った結果、コロニーはマット状構造を形成しており、そのマット状構造に埋め込まれるようにバクテリアと本藻類が存在した。比較的外側にバクテリアが多く集まっていることから地衣類などのように層状構造を形成している可能性がある。またカイゴロモとは異なり、本藻類がキセルガイの殻へ穿孔している様子はみられず、マット状構造の粘着により、殻上に付着していることが確認できた。さらに、付着がみられる殻の表面では炭酸カルシウムの層が露出していることも確認できた。

本研究によって得られた 18S rDNA 配列を BLAST 検索した結果、*Dilabifilum* 属に高い値で類似性を示した。これらの結果に基づき、系統樹を作製してみたところ、本藻類はアオサ藻綱アオサ目モツキヒトエ科に含まれ、中でも *Dilabifilum* 属に極めて近縁であった。これらの形態的特徴と分子データから、本藻類は *Dilabifilum* 属の一種であると考えられる。しかしながら、*Dilabifilum* 属の分類については、類似した分枝糸状性緑藻である *Pseudendoclonium* 属との関係も含めて議論が続いており、より詳細な検討が必要である。

## 今後の展望

本研究により、*Dilabifilum* 属の藻類がキセルガイの殻上という特殊環境に生育していることが初めて明らかになった。しかしながら、今回の培養条件では、種同定に必要な形質である生活環の詳細を明らかにすることができなかった。今後、培養条件の改善を行い、これらを明らかにする必要がある。また *Dilabifilum* 属を含めて分枝糸状性の緑藻については分類学的に未解明な部分が多く、類似属を含めて分類学的検討を行う必要がある。さらに本藻類が含まれるアオサ目には海水、淡水、陸上と、さまざまな環境に生育する種が知られており、これらの系統関係を明らかにすることで、藻類の陸上進出への新たな知見が見つかる可能性がある。また最も興味深い課題は、本藻類とキセルガイとの関係を明らかにすることである。緑色の藻類が付着したキセルガイはしばしば見られるが、これらが全て今回明らかにした *Dilabifilum* 属藻類によるものなのか否か、つまり両生物間の特異性の程度など、本藻類とキセルガイとの生態学的関係を明らかにすることができれば、と考えている。