

日本産のピレノイドを欠く単細胞性緑藻 クロロモナスの形態と系統

松崎令¹, 仲田崇志², 原慶明³, 野崎久義¹ (¹東大・院理・生物科学, ²慶応大・先端生命科学研, ³山形大・理・生物)

Introduction

Chloromonas は緑色植物門、緑藻綱、ボルボックス目に所属する単細胞性の淡水藻で、光学顕微鏡で観察したときに葉緑体中にピレノイドを欠く点で伝統的に *Chlamydomonas* と区別されてきており、これまでに 100 種以上が記載されている (e.g. Ettl 1983). Morita et al. (1998, 1999) は透過電子顕微鏡による微細構造の観察から、*Chloromonas* にはピレノイドを全くもたない種とデンプン鞘に囲まれていない非典型的なピレノイドをもつ種があり、ピレノイドやデンプン鞘の有無が CO₂ 濃縮機構に関する生理的特性と相関することを明らかにした。



デンプン鞘(左)に囲まれた典型的なピレノイド(Py) (右) 非典型的なピレノイド (Morita et al. 1999:21)

分子系統解析の結果 (Buchheim et al. 1997)、従来の定義による *Chloromonas* はピレノイドをもつ一部の *Chlamydomonas* と単系統群 (クロロモナス系統群 = *Chloromonadina*; Nakada et al. 2008) となることから、Pröschold et al. (2001) は光学顕微鏡による観察だけでこの単系統群を *Chloromonas* と再定義した。しかし、生理的特性が異なるピレノイドをもつものともたないものを同種にまとめるなどの点で、彼らの定義には問題が残る。その後の研究から、クロロモナス系統群には光学顕微鏡レベルで形態の異なる属 (*Chlainomonas*, Novis et al. 2008; *Gloeomonas*, Nozaki et al. 2010) や、寒冷適応した雪上藻のみで構成される独立したクレード (Hoham et al. 2002) が含まれることがわかり、属レベルでも分類学的混乱が生じている。しかし、これまでに培養株を用いて研究された種は少なく、種や属を定義するために必要と思われる電子顕微鏡レベルの形態情報は非常に限られている。

我々は日本の土壌試料から、培養株がなく、詳細な研究の行われていなかった *Chloromonas* 2 種の培養株を新たに確立し、光学顕微鏡・透過電子顕微鏡による観察と分子系統解析を行い、それぞれの微細構造と系統上の位置を調査した。

Materials and Methods

・培養株の作成と種同定

1. 土壌試料を採取
2. 乾燥させた土壌試料に水分を加え、緑藻を出現させる
3. ピペット分離法で緑藻を分離し、培養株を作成
EbCl-8: 神奈川県海老名市の水田土壌を使用
HjCl-3: 香川県綾川町にある北條池の底泥を使用
(培養条件: AF-6 培地・明期・暗期 = 14h: 10h・20°C)

4. *Chlorophyta* | *Phycomonadina* (Ettl 1983) 及び原記載から同定
EbCl-8 — *Chloromonas clathrata* (Pascher) Ettl
HjCl-3 — *Chloromonas hovassei* (Bouryly de Garloff) Ettl

・光学顕微鏡と透過電子顕微鏡による観察

・分子系統解析

18S rRNA 1809 塩基に *atpB*・*pseB* からコドンの 3 塩基目を除いた 1680 塩基を加えた合計 3489 塩基を使用

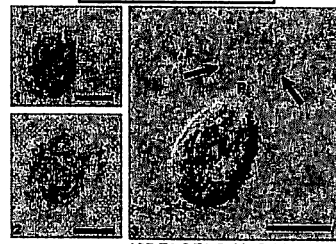
Conclusions

- ・*C. clathrata* と *C. hovassei* はともにクロロモナス系統群 (*Chloromonadina*) に含まれた。
- ・*C. clathrata* にピレノイドは観察されず、*Gloeomonas* を含むクレードの基部に位置し、典型的なピレノイドをもつ *C. augustae* と姉妹群となった。
- ・*C. hovassei* は独特な多角状の非典型ピレノイドをもつことが明らかになり、分子系統解析でも他の種から独立した新規系統群であった。
- ・今後、同様の解析を多くの種で実施することにより、クロロモナス系統群の微細構造の進化がより明瞭となり、本群内部の自然な属・種レベルの分類体系が構築されることが期待される。

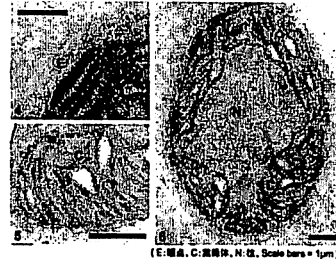
Results

・光学顕微鏡と透過電子顕微鏡による観察

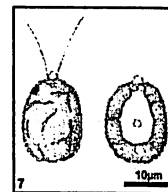
EbCl-8: *C. clathrata*



(矢印: 葉毛, E: 細胞, P: ピレノイド, Scale bars = 10µm)

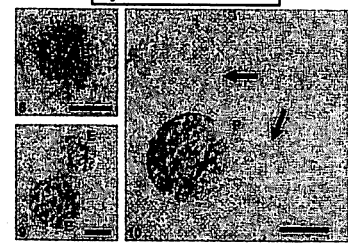


(E: 細胞, C: 葉緑体, N: 核, Scale bars = 1µm)

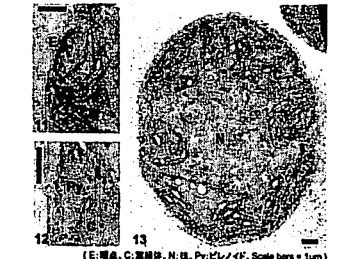


- ・細胞は卵形～楕円形
- ・パピラは半円形
- ・取縮筋は 2 つ
- ・葉緑体はカップ型
- ・葉緑体表面に裂け目
- ・眼点は細胞の肩
- ・眼点は 3 層の顆粒で構成
- ・ピレノイドを持たない

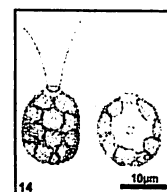
HjCl-3: *C. hovassei*



(矢印: 葉毛, E: 細胞, P: ピレノイド, Scale bars = 10µm)

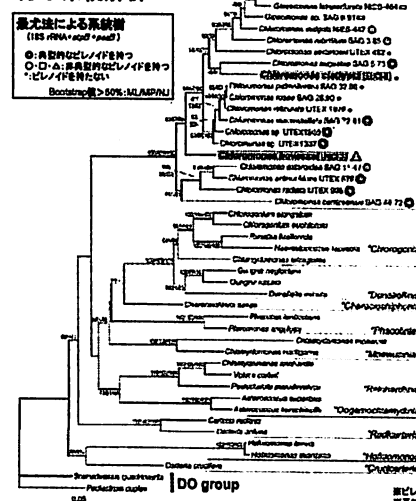


(E: 細胞, C: 葉緑体, N: 核, Py: ピレノイド, Scale bars = 1µm)

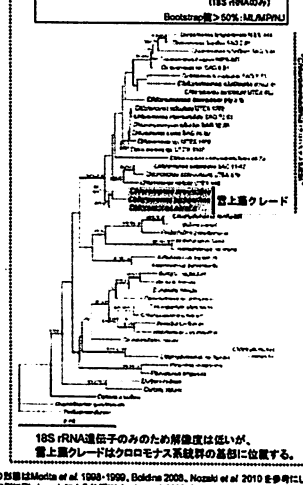


- ・細胞は卵形～楕円形
- ・パピラは窪んだ台形
- ・取縮筋は 2 つ
- ・葉緑体は細かく分裂する
- ・眼点は細胞の中心
- ・眼点は 1 層の顆粒で構成
- ・電子密度の低い、多角状の非典型ピレノイドを持つ

・分子系統解析



雪上藻クレードを含めた最大尤法による系統樹 (18S rRNA only)



References

Boldina, D. N. 2002. Bot. Zhurn. (Moscow & Leningrad) 93 (8): 894-901, with 4 pls. (in Russian with English Abstract).
 Buchheim, M. A. 1997. J. Phycol. 33:295-299.
 Ettl, H. 1983. Süsswasserflora von Mitteleuropa, Bd. 9. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp. i-iv, 1-807.
 Hoham, R. W. et al. 2002. J. Phycol. 38:1051-1054.
 Morita, E. et al. 1998. Planta 204:260-278.
 Morita, E. et al. 1999. Planta 208:385-372.
 Nakada, T. et al. 2008. Mol. Phylogenet. Evol. 48:261-261.
 Nozaki, H. et al. 2002. J. Mol. Evol. 55:414-430.
 Nozaki, H. et al. 2010. J. Phycol. in press.
 Novis, P. M. et al. 2008. J. Phycol. 44:1001-1012.
 Pröschold, T. et al. 2001. Protist 152:265-300.