

調査を行ったところ(半田ら 2007), 培地上に現れたコロニーは, トレボウクシア藻綱に属する種がほとんどであり, 中でもアパトコックスが最も多く出現した。また, クレブソルミジウムの出現頻度も高く, 気中藻類が気生藻を主体とすることが確かめられた。さらに, 地衣類の共生藻の出現頻度も高かった。

この研究の後, 気中藻類の季節変化や時間的変動などの調査を進めており, 降雪, 降雨の初期に高濃度であること, 調査回ごとの差は大きい種構成は類似していること, アパトコックスの出現率が高いことなどが確認されつつある。また, 調査によって特異的に出現する種がみられることも興味深い。あるとき, 遭遇した藪(あられ)を調べたところ, 何と珪藻の *Eunotia* が高濃度にみられた。珪藻の中には気生藻となっている種もいくつかあり, *Eunotia* も数種が報告されているが, その時の藪に含まれていたものは, 水際のコケなどの付着性種に類似していた。藪が降ったのは市街地で, 近くにそのような環境はみられない。竜巻などの突発的な現象で巻き上げられたものが, 遠くから飛来してきたのだろうか。気中藻類は, 地球規模での藻類の挙動に思いをはせることのできる壮大なテーマでもある。

## 引用文献

- Ahmadjian, V. 1959. The taxonomy and physiology of lichen algae and problems of lichen synthesis Ph.D. Dissertation. Harvard University, Cambridge, MA.
- Friedl, T. 1995. Inferring taxonomic positions and testing genus level assignments in coccoid green lichen algae: a phylogenetic analysis of 18S ribosomal RNA sequences from *Dictyochloropsis reticulata* and from members of the genus *Myrmecia* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae cl. nov.). J. Phycol. 31: 632–639.
- 半田信司 2002. 気生藻類: 堀輝三・大野正夫・堀口健雄編. 21世紀初頭の藻学の現況. 日本藻類学会. 山形, pp. 81–84.
- Handa, S., Nakahara, M., Tsubota, H., Deguchi, H. & Nakano, T. 2003. A new aerial alga, *Stichococcus ampulliformis* sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) from Japan. Phycol. Res. 51: 203–210.
- 半田信司・大村嘉人・中野武登・中原・坪田美保 2007. 降雪に含まれる大気中の微細緑藻類. *Hikobia* 15: 109–120.
- Lewis, L. A. & McCourt, R. M. 2004. Green algae and the origin of land plants. *Am. J. Bot.* 91: 1535–1556.
- Lokhorst, G. M. 1996. Comparative taxonomic studies on the genus *Klebsormidium* (Charophyceae) in Europe. –Cryptogamic Studies Vol. 5. Gustav Fischer, Stuttgart. 132pp.
- Mikhailiyuk, T. I., Glaser, K., Holzinger, A. & Karsten, U. 2015. Biodiversity of *Klebsormidium* (Streptophyta) from Alpine biological soil crusts (Alps, Tyrol, Austria, and Italy). J. Phycol. 51: 750–767.
- Sanders, W.B., Pérez-Ortega, S., Nelsen, M. P., Lücking, R. & de Los Ríos, A. 2016. *Heveochlorella* (Trebouxiophyceae): A little-known genus of unicellular green algae outside the Trebouxiiales emerges unexpectedly as a major clade of lichen photobionts in foliicolous communities. J. Phycol. 52: 840–853
- Sharma, N. K., Singh, S. & Rai, A. K. 2006. Diversity and seasonal variation of viable algal particles in the atmosphere of a subtropical city in India. *Environ. Res.* 102: 252–259.
- Škaloud P., Lukešová, A., Malavasi, V., Ryšánek, D., Hřčková, K. & Rindi, F. 2014. Molecular evidence for the polyphyletic origin of low pH adaptation in the genus *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta). *Plant Ecol. Evol.* 147: 333–45.
- Tibell, L. 2001. Photobiont association and molecular phylogeny of the lichen genus *Chaenotheca*. *Bryologist* 104: 191–198.
- Yamamoto, M., Handa, S., Kawachi, K., Miyamura, S., Nagumo, T., Hirata, A., & Kawano, S. 2016. Mother Cell Wall Cleavage during Filament Formation in *Stichococcus bacillaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Cytologia* 81: 35–39.

(広島県環境保健協会)

## 気生藻の分類と生態 (2) —実習編— 半田信司

日本藻類学会第41回大会において企画されたワークショップII「クロレラと気生藻の魅力—採集・観察から分類・バイオマス生産」の実習編は, 3月26日に高知大学朝倉キャンパスとその周辺で行われた。参加者は, 講師, スタッフ含め26名で, 実際に野外で気生藻のサンプルを採取するとともに, 実験室での観察および培養の最初の段階である, 寒天培地への植え付け作業を行った。本稿では, 実習編の様子や成果を紹介する。

### 高知大学朝倉キャンパス

まずは, 学会会場となった高知大学朝倉キャンパス内での採集で, 身近な場所で気生藻がみられることを実感してもらうための企画でもある。正門を入るとすぐに朝倉キャンパスのシンボルともいえるワシントンヤシの並木がある。幹には

地衣類もついており, 茶色くなった部分もみられる。優占種は, トレボウクシア藻綱の *Elliptochloris* であった。また, 幹の下部では, スギの樹皮などによくみられるピロードスミレモが生育していた。

ソメイヨシノの樹皮で確認されたクレブソルミジウムは, 大型の *Klebsormidium crenulatum* で, ルーペでもはっきりと密生した糸状体が観察できる(図1-A)。また, 街路樹などの添え木が緑色になっている場合, たいていはアパトコックス群落であるが, キャンパス内でみられた添え木には, 子が器が密生した地衣類が生育していた。もしやアパトコックスを共生藻に持つ地衣の発見かと興奮したが, 培養を進めると共生藻は *Pseudococcomyxa simplex* プセウドココミクサのようである。

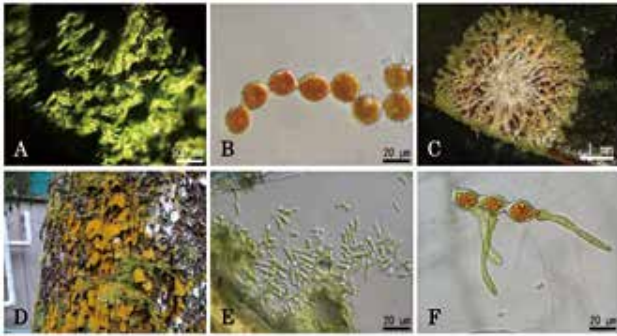


図1. A: 樹皮に付着する *Klebsormidium crenulatum* クレブソルミジウム。B: 朝倉神社で採取した *Trentepohlia monole* の数珠状の糸状体。C: 朝倉神社のサカキ葉上に寄生する *Cephaleuros* sp. ケファレウロスの一種。D: 中追溪谷でみられた *Trentepohlia arborum* ミノスミレモ。E: 中追溪谷の建物の軒に密生していた *Stichococcus* sp. スチコココクスの一種。F: 大型で楕円体のスミレモ類の細胞から、培養により細長い糸状体が伸びてくる様子。

## 朝倉神社

朝倉キャンパスから北西に徒歩5分のところにある朝倉神社は、創建は不詳だが本殿が1657年、付属の建物も1796年に再建ということで、歴史を経てきた様子は随所にかがえる。入り口の、昭和9年の文字が掘られた門柱は気生藻でまだらに着色し、太いスギの幹にはピロードスミレモ、そして石鳥居は緑（緑藻）、黒（藍藻）、茶（スミレモ類）と3色に色分けされている。普段は何気なく通り過ぎていたような参道でも、気生藻が溢れていることを認識してもらえたと思う（図2）。

境内に入り、手水舎（手洗い場）の囲いが茶色に着色しており、ルーペで確認したところ、小さなイクラのようなツブツブの細胞が連なる糸状体が見える。*Trentepohlia monile* ジュズスミレモであった（図1-B）。本種は地衣類のジュズスミレモドキの共生にもなっている（Ohmura *et al.* 2016）が、自由生活も行う。

建物の板塀は、スミレモ類の付着により緑茶色になっているところが多い。糸状体は明確ではなく塊状になって付着しており、*Trentepohlia umbrina* サビスミレモに近縁なスミレモ類と思われるが、採取したサンプルの培養形質はサビスミレモとは異なるものであった。このグループには多様な種が含まれており、朝倉神社のものも、これまでに採取したことのない特異な系統かもしれない。

境内の植え込みでは、サカキなどの葉にスミレモ科の *Cephaleuros* ケファレウロス属がみられた（図1-C）。ケファレウロスは葉のクチクラ層内に寄生し、常緑広葉樹などにごく普通にみられる。日本では5種が報告されているが、沖縄などではさらに異なる種が生育している可能性も高く、また、樹種による形態変異もみられるなどの問題点もあり、今後の遺伝子レベルでの検討も含めた研究が望まれる。



図2. 朝倉神社参道での調査風景。

## 中追溪谷

吾川郡いの町にある中追溪谷は、土佐湾に注ぐ一級河川仁淀川の支流にあたる勝賀瀬川の上流に位置し、かつては温泉施設もあった景勝地である。本地点に向かったのは22名、大学のバスで溪谷までおよそ40分、福祉施設の駐車場を利用させてもらい、さっそく駐車場近辺が観察ポイントとなった。

まずは、周りの古い建物の壁面などが茶色になっているのを確認。コンクリート部分では、今回の実習では初めての観察となる *Trentepohlia aurea* コガネスミレモを発見した。別の壁面にも複数種のスミレモ類が生育しており、単離培養による同定を進めている。上流方向に向かう林道を進むと、藍藻が膜状に繁茂して岩に張り付いている様子や、糸状性スミレモ類が密生したイタビカズラの葉などが観察できた。また、駐車場から谷に下る歩道では、崖の岩肌で地衣類の *Racodium* イワゴケ属を確認した。この地衣類は黒色の毛状で、菌糸がスミレモ類を包んでいて、これまで幾度か培養を試みてきたが、共生藻の単離には至っていない。このほかに、サクラの樹皮にみられた *Trentepohlia arborum* ミノスミレモ（図1-D）、建物の柱や軒の全面に緑色に密生した *Stichococcus* sp. スチコココクス（図1-E）などを観察した。

## 実験室での観察

持ち帰ったサンプルは、実験室において、観察と単離培養のプレート作りに取り掛かった。作業の流れは、実体顕微鏡でのサンプルの観察、目的の藻類をピックアップして生物顕微鏡で観察、分取したサンプルを寒天培地上に接種という手順を踏む。接種にはいろいろな手法があるが、今回は希釈法のうち、懸濁したサンプルを超音波洗浄して寒天培地上に噴

霧するスプレー法を実習した。用いた培地は、気生藻のほとんどに適合するBBM培地(Bischoff & Bold 1963)である。また、野生状態と培養状態で形態が大きく異なる種もあり(図1-F)、単離作業においては、培養プレートを経中段階で観察しつつ、コロニーが目的の藻類から生じたことを確認する重要性についても説明した。参加者それぞれが興味ある内容に取り組むということで、雑然とした中で作業は進んだが、何とか各自培養プレートを作ることができた様子であった。初めての試みではカビだらけになったり、藻類が繁茂しすぎて単離が難しくなったり、藻類のコロニーがほとんど出ない失敗もあるかもしれない。参加者それぞれの培養プレートの、その後の様子が楽しみである。

本実習に当たり実験室の準備や大学バスの調達など尽力い

ただいた高知大学教育研究部の峯一朗准教授、並びに協力していただいたスタッフ一同に感謝申し上げます。

## 引用文献

- Bischoff, H. W. & Bold, H. C. 1963. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. *Phycological studies* IV. Univ. Texas Public. No. 6318: 1-95.
- Ohmura, Y., Mizobuchi, A., Handa, S. & Lücking, R. 2016. *Coenogonium moniliforme* (Coenogoniaceae, lichenized Ascomycota) new to Japan, with taxonomic notes of the photobiont in culture. *J. Jpn. Bot.* 91: 74-78.

(広島県環境保健協会)

## クロレラ分類の現在 保科 亮

球状緑色藻「クロレラ」は、健康食品として長年愛されるものとも知られた藻類のひとつである。しかし、分類学的にみると、*Chlorella* 属はきわめて複雑な経緯をへて現在に至っている。本稿ではクロレラ類の分類の変遷と問題点について触れていきたい。なお、本稿では広義のクロレラ=球状緑色藻(近似系統群を含む)と、分類学的意味としての*Chlorella*を区別して記述する。

クロレラが記載されたのは*Chlorella*としてではなく、動物内にいる緑の藻類、すなわち、共生藻として記載された*Zoochlorella* (Brandt 1881)が始まりである。Brandtは同論文で同様に共生する黄色の藻類、*Zooxanthella*も記載している。*Chlorella*が記載されるのは9年後の1890年となる。Beijerinck (1890)は、*Zoochlorella*と同様の藻類が、ふつうに淡水中に存在することが分かったため、新属*Chlorella* (タイプ種: *Ch. vulgaris*)を立ち上げ、*Zoochlorella*は*Chlorella*の一部である、とした。当時、学名のPriorityがどうなっていたのか不明だが、学名としての*Zoochlorella*は徐々に使用されなくなっていった。現代的な分類学的処置としては、Silva (1990)が*Chlorella*と*Zoochlorella*はシノニムとみなすことができ、また*Zoochlorella*にPriorityがあるが、*Chlorella*属があまりに有名なため*Chlorella*を保存名とし、*Zoochlorella*を廃棄している(ICBN 2000, Appendix IIIA)。なお、現在でも生態学的な意味においては、原生動物等の内部にいる球状緑色藻を*Zoochlorella* (属名扱いとは異なる)と称す。

クロレラの典型的な特徴は、直径5 μm前後の球状緑色藻で自生孢子による無性生殖。鞭毛や刺、ゼリーなどの装飾が一切ない、スムーズな細胞壁をもち、群生せず単細胞状態を保つ。葉緑体はペリフェラルな一枚で、多くはカップ状。光学顕微鏡では目立たない場合もあるが、葉緑体の内部にピレノイドを有す。

このピレノイドはデンプンで囲まれ、二重のチラコイドメンブレンが貫入する。現在では、このような形態種を、クロレラ型、あるいは*Chlorella-like*と称す。

クロレラは、様々な研究や産業上の重要種であったことから、生理特性や成分分析等によりその多様性が示され、100種以上が記載された。しかし、形態的差異はほとんどなく、また有性生殖しないため、その分類や同定は困難をきわめた。特に、分類形質の一部として採用されてきた量的差異は、わずかな培養条件の差、培養者や施設による影響によることも多く、また、長期培養で性状が変化する種もいる(e.g., Shihira & Krauss 1965)。こうしたクロレラ類を整理・統合してきたのがドイツ人研究者らで、特にKessler氏やHuss氏らの功績は大きい。その彼らが分子系統解析に着手して以降、クロレラの分類観は大きく変貌していく。Huss, Kessler *et al.* (1999)はSSU rDNAで系統樹を構築し、クロレラがトレボウクシア藻綱と緑藻綱の両綱に散在することを示した。すなわち、クロレラと呼ばれる球状緑色藻は他人の空似であり、タイプ種とクラスターを形成する4種(*Ch. vulgaris*, *Ch. lobophora*, *Ch. sorokiniana*, *Ch. kessleri*)のみを「真のクロレラ」とした。ところが、シークエンスデータが増えるに従い、真のクロレラ系統群の中に様々な形態種が入り混じることが分かってきた。Krienitz, Huss *et al.* (2004)はSSU rDNAにITS2: Internal transcribed spacer 2を加えて系統解析をおこない、これらが明瞭に2系統に分かれ、タイプ種*Ch. vulgaris*を含む方を*Chlorella-clade*、もう一方のクレードに入る*Ch. kessleri*の属名を変えて*Parachlorella-clade*とし、双方併せてクロレラ科と定義している。これ以降、クロレラ分類はKrienitz氏を中心としたグループによって進められていくことになる。

*Chlorella-clade*内には刺を持つ藻類*Mircactinium pussillum*