

## 緑藻はどのようにヒドラと共生してきたか

御代川, 涼  
九州大学大学院地球社会統合科学府

小早川, 義尚  
九州大学基幹教育院

濱田, 麻友子  
岡山大学自然科学学域理学部附属牛窓臨海実験所

楠見, 淳子  
九州大学比較社会文化研究院環境変動部門生物多様性講座

<https://hdl.handle.net/2324/7174468>

---

出版情報 : BSJ-Review. 13, pp.13:13-13:30, 2022. 日本植物学会  
バージョン :  
権利関係 :

## 緑藻はどのようにヒドラと共生してきたか

御代川 涼<sup>1</sup>, 小早川 義尚<sup>2</sup>, 濱田 麻友子<sup>3</sup>, 楠見 淳子<sup>4</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院 地球社会統合科学府  
〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744

<sup>2</sup>九州大学 基幹教育院  
〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744

<sup>3</sup>岡山大学 自然科学学域 理学部附属牛窓臨海実験所  
〒701-4303 岡山県瀬戸内市牛窓町鹿忍 130-17

<sup>4</sup>九州大学 比較社会文化研究院 環境変動部門 生物多様性講座  
〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744

### How green algae have created a symbiotic relationship with *Hydra*

Ryo Miyokawa<sup>1</sup>, Yoshitaka Kobayakawa<sup>2</sup>, Mayuko Hamada<sup>3</sup>, Junko Kusumi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Integrated Sciences for Global Society, Kyushu University,  
Motooka 744, Nishi-ku, Fukuoka, 819-0395, Japan

<sup>2</sup> Faculty of Arts and Science, Kyushu University,  
Motooka 744, Nishi-ku, Fukuoka, 819-0395, Japan

<sup>3</sup> Ushimado Marine Institute, Okayama University,  
Kashino 130-17, Ushimado, Setouchi, Okayama 701-4303, Japan

<sup>4</sup> Department of Environmental Changes, Faculty of Social and Cultural Studies,  
Kyushu University,  
Motooka 744, Nishi-ku, Fukuoka, 819-0395, Japan

Keywords: *Chlorella*, *Chlorococcum*, *Hydra*, photosymbiosis

DOI: 10.24480/bsj-review.13a3.00221

#### 1. はじめに

刺胞動物は6億年ほど前に左右相称動物との共通祖先から分かれたと考えられており、クラゲ、イソギンチャク、サンゴなど主に海水棲の動物群からなるグループである。サンゴに代表されるように、光合成を行う藻類と共生（細胞内共生）している例が多くみられ、動物と藻類の共生メカニズムの研究材料として注目されている。本稿では、刺胞動物の中でも、長年の間再生の研究材料として用いられてきた淡水棲のヒドラと緑藻の共生について紹介する。以下、現在までのヒドラの解剖学、生態学的知見を紹介するとともに、共生に関連するこれまでの研究を概観する。また、ゲノム・トランスクリプトーム解析を用いた最近の研究から明らかになりつつある共生メカニズムについて、進化的考察を交えて紹介する。

#### 1-1. ヒドラとはどのような動物か

ヒドラ（ヒドラ属 *genus Hydra* に含まれる動物）は、高校の生物の教科書に無性生殖をする動物の例として挙げられることがある、もっぱら出芽によって増殖する淡水に棲む小さな体長1cm前後の刺胞動物（Cnidaria; サンゴ・イソギンチャク、クラゲの仲間）である。放

射相称のイソギンチャクのようなポリプ型の形態で水草などに付着しており、主にミジンコなどのプランクトンを捕食する。ポリプの上端部は頭部と呼ばれ、ドーム型の口丘 (hypostome) の中央に口が開き、その下側に6~10本ほどの放射状に分布する触手 (tentacle) からなる触手環がある。そこから下部は体幹 (body column) と呼ばれる円柱状の構造である。体幹の上から2/3ほどのところで出芽が起こり、その芽体 (bud) は成長すると親個体と同じ構造を形成し、やがて離脱して独立したポリプとなる。下端は足盤 (basal disk) と呼ばれ、そこから分泌した粘液で水草などに付着する。ヒドラの組織構造はシンプルなもの、その体壁は外表面を覆う一層の外胚葉上皮筋細胞 (ectodermal epitheliomuscular cell) 層と胃腔側を覆う一層の内胚葉上皮筋細胞 (endodermal epitheliomuscular cell) 層が細胞外基質の中膠 (mesoglea) によって結びつけられた2層構造から成っている。その上皮細胞の細胞間隙に、刺胞細胞 (nematocyte; ヒドラには4種類の刺胞細胞があり、それぞれ異なる構造と機能を持った刺胞; nematocyst を細胞内に形成している。図1右上) や神経細胞 (neural cell), 腺細胞 (gland cell), そしてそれらの幹細胞である間細胞 (interstitial cell; I-cell) が部位特異的に分布している。有性生殖をする時に出現する生殖細胞も間細胞から分化してくる。刺胞細胞は外胚葉上皮細胞に潜り込んで体表に機械刺激のセンサーである感覚毛 (ニドシル; cnidocil) を体表に出している。触手の表面を覆う上皮細胞はバッテリー細胞と呼ばれ、とりわけ多くの刺胞を取り込んで捕食に使っている (図1右上)。大型の貫通刺胞が発射されると管状の構造をした刺糸が餌となるミジンコなどのクチクラを突き破り毒液を注入する。小型の捲着刺胞が発射されると刺糸が餌に巻き付き捉える。その後、餌から漏出した体液に含まれるグルタチオンなどに反応して、触手を口の方へ曲げ、口が開きそこから餌を胃腔内に取り込む。腺細胞は内胚葉上皮細胞の間に散在し、捕食時に消化酵素を胃腔に放出する (図1右下)。

ヒドラは、アルテミアなどを餌として与えることで小さな容器で容易に飼育・増殖させることができる。1個体のポリプから出芽によって簡単に無性的に増殖するため、多量の単一クローンの個体群を得ることができる。よく知られている通り、ヒドラは再生力が強い。例えば、ポリプをコラゲナーゼ等によって処理して個々の細胞にまで解離しても、その細胞を集めておくとその集塊からポリプが再生してくる。また、ポリプの体幹中央で上下に切断すると上部はその下端に足盤を形成して小型のポリプとして再生し、下部はその上端に頭部を再生する。つまり、典型的な形態調節的再生 (morphallaxis) をする動物として知られている。そのため、その体制や組織構造の簡単さも相まって、ヒドラは発生生物学における細胞分化やパターンフォーメーションの研究材料として使われてきた。

刺胞動物は、刺胞 (nematocyst; ヒドラの刺胞についてはその捕食に関連させて説明したが、私たちがクラゲに刺されるとき実際に私たちの皮膚に刺さるのは発射された刺胞の刺糸。それは中空の管でそこを通過して毒液が注入される) と呼ばれる複雑な細胞内器官を持つ動物群で、およそ1万種が記載されているが、そのほとんどは海棲である。しかし、何故かごく少数のヒドロ虫綱 (Hydrozoa) に属するヒドラと真水クラゲの仲間だけが淡水に進出している (Bridge et al. 1995; Collins 2000, 2002; Collins et al. 2006)。現在記載されているヒドラの種数は100足らずであるが、その分布は広く南極大陸を除く世界中の淡水系に湖沼を中心に棲息している (Jankowski et al. 2008)。日本からも数種のヒドラが記載されている。また、生物の教科書では生活環の項目において刺胞動物は必ずと言って良いほど取り上げられ、ポリプ型だけの花虫綱 (Anthozoa, イソギンチャクやサンゴ)、ポリプ型とクラゲ型を持つ鉢虫類 (Scyphozoa) など多様である。とは言え、有性生殖をするときには、受精卵は

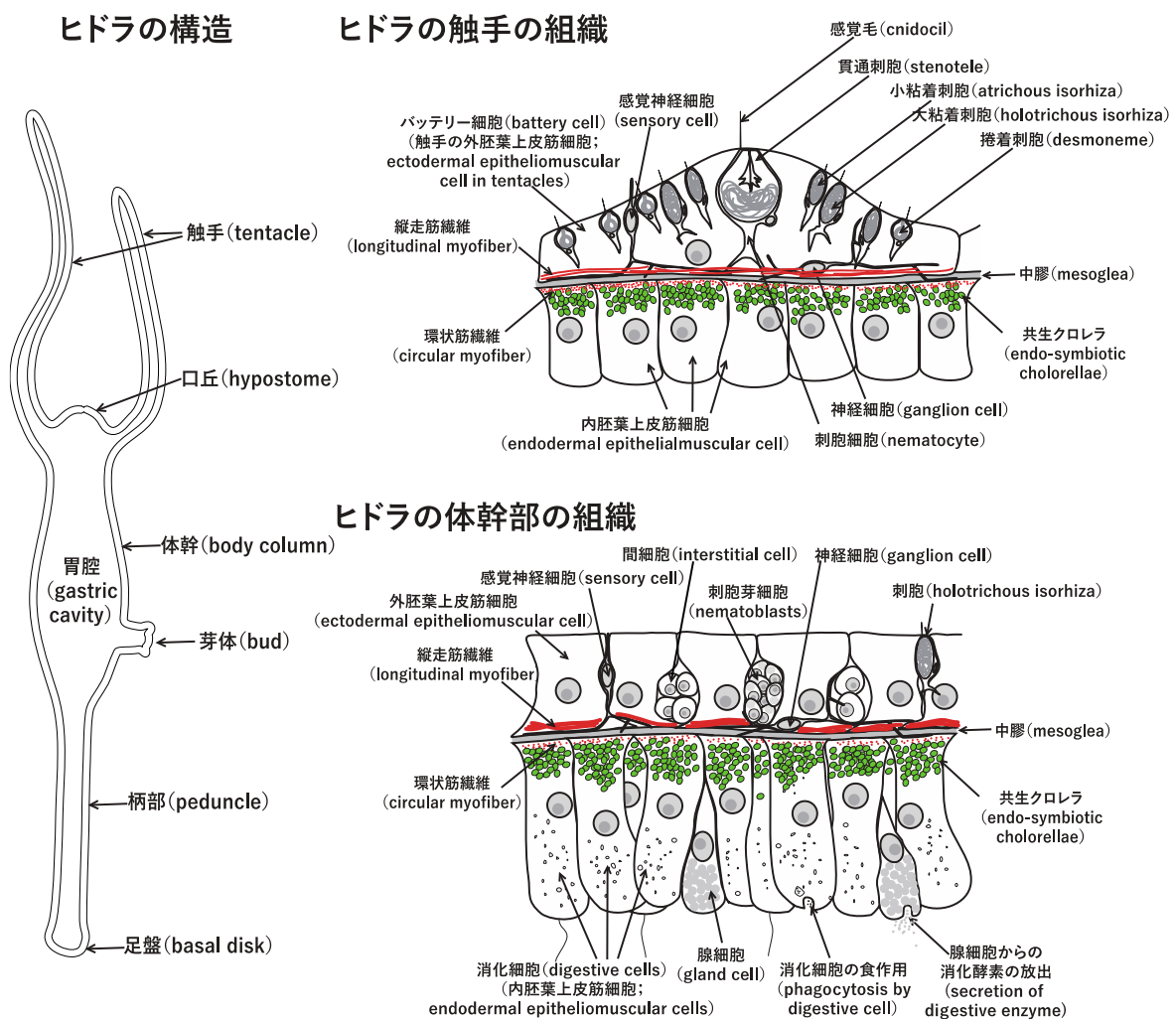


図 1. グリーンヒドラの構造と組織構成

ヒドラは左の図に示すようなポリプ型の着生性の淡水に棲む刺胞動物で、その体壁 (右の図) は、中膠を挟む内外2層の上皮筋細胞層 (上皮細胞と筋細胞の分化はない) から成っている。その間隙に分布する間細胞から刺胞細胞・神経細胞・腺細胞などが分化してくる。触手の外胚葉上皮筋細胞 (右上の図) はその中に多数の刺胞細胞を含み、バッテリー細胞と呼ばれる。

卵割・胞胚形成・原腸形成（その初期発生過程も多様である）を経てプラヌラ幼生となり、その後しばらく遊泳しポリプに変態することがほとんどの刺胞動物で共通して観られる。しかし、ヒドラは *aplanulata* という一群に分類されており (Nawrocki et al. 2013), 有性生殖の際には受精卵はその分泌物によって形成された卵鞘 (embryonic theca) の中で一定しない発生期間（孵化までの期間が数日から1年以上と幅広い）を経た後、直達発生的に小さなポリプが孵化してくる。

## 1-2. 緑藻とヒドラの共生

ヒドラ属は大きく4つの種群に分類されるが、その系統はまず *viridissima* 種群（グリーンヒドラと総称される）が他の3種群（*braueri* 種群, *oligactis* 種群, *vulgaris* 種群；合わせてブラウンヒドラと総称される）と分岐することが形態的特徴と塩基配列情報に基づく研究によって明らかにされている (Campbell 1983, 1987, 1989; Hemmrich et al. 2007; Kawaida et al. 2010; Martinez et al. 2010; Schwentner and Bosch 2015)。グリーンヒドラは、単細胞緑藻のクロレラが細胞内共生をしていることがこの種群の特徴（共有派生形質 *synapomorphy*）でありヒドラの種を同定するときのキーとされる (Campbell 1983)。人為的に共生クロレラを除去して *apo-symbiotic*（共生体なし）のポリプを作り出し維持することは可能であるが、野外においてクロレラと共生していないポリプ（個体）が発見・報告されたことはない（図2左）。また、その分布は広いが、日本から明確な記録はない。

一方、他の3種群の中では、*vulgaris* 種群と *oligactis* 種群に属する種に於いて野外で緑藻と共生するポリプがいることが日本からだけ報告されている (Ito 1947a,b)。また、その *vulgaris* 種群に観られる共生緑藻は、クロレラではなくクロロコッカムである (Rahat and Reich 1985a, 1986; Rahat and Sugiyama 1993; Kawaida et al. 2013 図2右)。この *vulgaris* 種群の特定の系統とクロロコッカムの共生はグリーンヒドラとクロレラの共生のように安定なものではなく、共生の初期段階（クロロコッカムの寄生？）にあると考えられている

(Ishikawa et al. 2016ab; Miyokawa et al. 2018, 2021)。つまり、「緑藻と動物の共生」という観点から、ヒドラは安定した細胞内共生を維持しているグリーンヒドラ-クロレラの共生系と一部のブラウンヒドラ-クロロコッカムの初期段階にある共生系という2つの発達段階の共生系を持つ興味深い研究対象である (Bosch 2012; Kovacevic 2012; Kobayakawa 2017)。

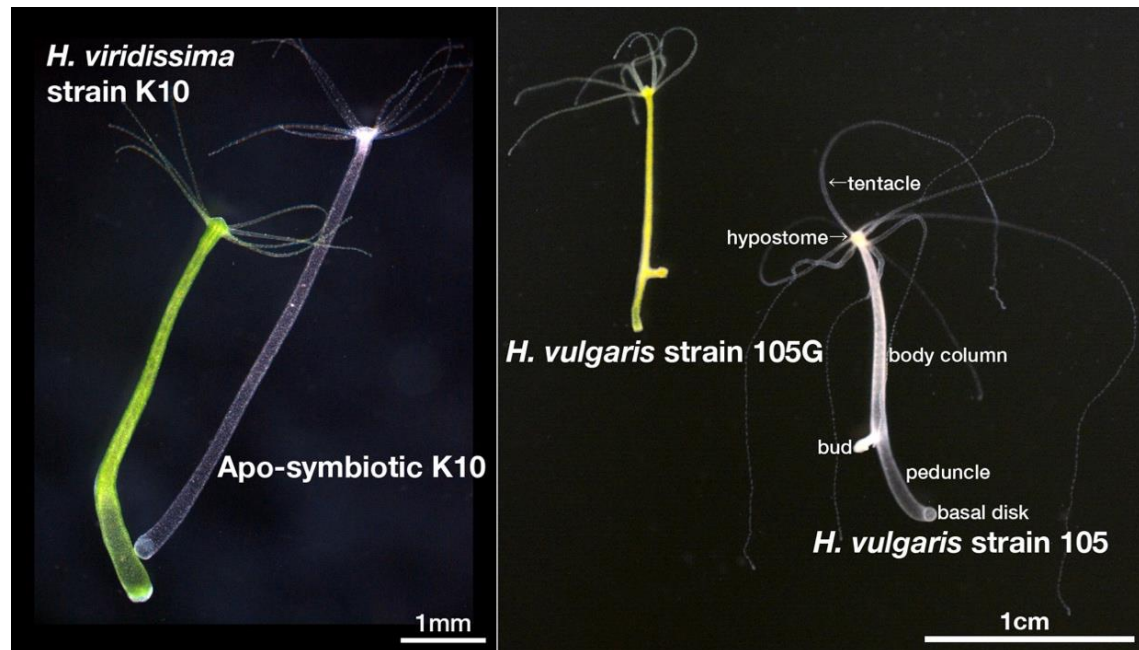


図2. ヒドラと緑藻に観られる2種類の共生

左の写真は、クロレラを細胞内共生させているグリーンヒドラの *H. viridissima* K10 とそれからクロレラを人為的に除去された *Apo-symbiotic* な K10。右の写真は、ブラウンヒドラの *H. vulgaris* 105 とそれに野外でクロロコッカムを細胞内共生させている *H. vulgaris* J10 のから水平伝搬によってクロロコッカムが共生した 105G。

## 2. ヒドラの2つの共生系

### 2-1. グリーンヒドラとクロレラの相利共生

さて、ヒドラは、17世紀にレーウエンフック (Antoni van Leeuwenhoek) によって最初に記載されたとされているが、ヒドラ属の記載はリンネ (Carl von Linné) によって1758年になされている。グリーンヒドラの最初の記載は、*Hydra viridissima* Pallas, 1766で (リンネもその直後に *Hydra viridis* Linnaeus, 1767として記載したが、現在ではシノニムとされている)、緑色のヒドラの存在は18世紀半ばから知られていることになる。しかし、その緑色の正体が細胞内共生する緑藻であることが判明し、共生研究の好材料とされるのは、20世紀後半に入ってからである。葉緑体やミトコンドリアの細胞内共生説で有名なマーギュリス (Lynn Margulis) もグリーンヒドラを研究対象としており、インスピレーションの元となったのかもしれない (Thorington and Margulis 1981)。20世紀初頭には、グリーンヒドラから緑色の粒子 (green body) を取り出し、除去するといった報告 (Whitney 1907) があるが、その正体は不明のままであった。

20世紀後半に入るとグリーンヒドラの光合成活性が確認され (Muscatine and Lenhoff 1963)、現在では遺伝子情報も含めて共生体がクロレラであることが判明している

(Douglas and Huss 1986; Huss et al. 1989, 1993/94, 1999; Lewis and Muller-Parker 2004; Kawaida et al. 2013)。グリーンヒドラの内胚葉上皮細胞内に共生体である個々のクロレラが symbiosome (共生胞) と呼ばれる膜で囲まれている。サンゴなどの共生体である褐虫藻も内胚葉細胞内に symbiosome の状態で存在し、刺胞動物における共通性が観察される。グリー

ンヒドラの共生クロレラは細胞の基部側（中膠側）に数十個（その密度は系統によって異なる）偏在している（Muscatine 1974; Habetha et al. 2003; Bosch 2012 ; 図3 K10 & M9）。その偏在はクロレラがヒドラの細胞内においてリソソームの融合による消化を避けることに役立ち、ヒドラに他の藻類が侵入して増殖することを抑制しているという報告がある（McAuley and Smith 1982）。また、一つのポリプに細胞内共生しているクロレラは一種類に限られ、複数種・系統のものが同一ポリプに混在していることはない（Rahat 1985）。つまり、特定のグリーンヒドラの系統には特定のクロレラの系統が共生するという特異性の高い宿主-共生体の組み合わせが形成・維持されている。

共生が相利的であるためには、宿主と共生体が相互に増殖にとっての利点を提供し合うことが重要である。グリーンヒドラとクロレラの共生においては、共生クロレラからマルトースやグルコース 6 リン酸などの糖が宿主であるヒドラの細胞へ移送されること（Muscatine 1965; Cernichiari et al. 1969; Mews 1980; Huss et al. 1993/94），逆にヒドラ側から共生クロレラにアミノ酸が移送されること（Thorington and Margulis 1981; McAuley 1986, 1987, 1991）が報告され、グリーンヒドラとクロレラは相利共生（mutualistic symbiosis）の関係にあることが示されている。実際に、グリーンヒドラは共生クロレラを除去されると飢餓に対する耐性が減少すること（Muscatine and Lenhoff 1965），光条件や給餌条件等にも依存するが共生クロレラを除去されると増殖率が減少すること（Habetha et al. 2003; Ishikawa et al. 2016a）も報告されている。また、ヒドラにとっての利点は単に栄養条件に関わるものだけではなく、金属イオン等の毒性に対する耐性が共生クロレラの存在によって増していることも報告されている（Karntanut and Pascoe 2002, 2005）。一方、共生体のクロレラについてフロリダ産のグリーンヒドラの共生クロレラを単離培養することを試みたがうまくいかず、単離直後のクロレラの微細構造を観察したところウイルスが感染しており、そのウイルスの感染と急激な増殖がクロレラを溶解するという報告がある（Meints et al. 1981）。クロレラはヒドラの細胞内に共生することによってこうしたウイルスの攻撃から守られている可能性も考えられる。さらに、共生クロレラを除去されるとグリーンヒドラは有性生殖時に卵形性が抑制されることも報告されている（Habetha et al. 2003）。

グリーンヒドラとクロレラの共生関係が安定的に維持されるには、ヒドラの細胞内におけるクロレラの密度は過不足ない必要がある。もちろん、共生クロレラの維持に光条件は重要であり、恒暗条件下では共生クロレラは増殖できず、長期にわたると完全に除去されることもある。当然のことながら弱光条件下での飼育ではクロレラの密度は低下する。一方で、ヒドラが十分に給餌されている条件下では共生クロレラの密度が下がり、飢餓条件下では密

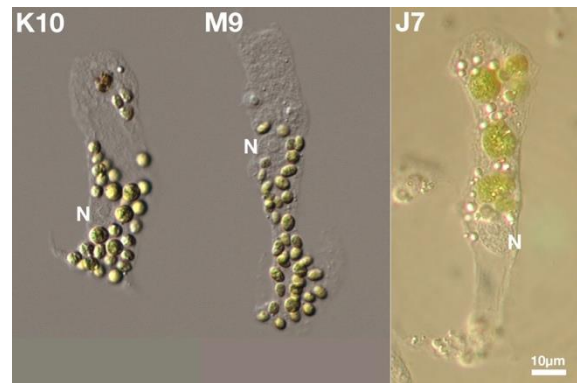


図3. ヒドラの個々の内胚葉上皮筋細胞内に共生する緑藻

K10, M9; グリーンヒドラに共生するクロレラ。系統間でクロレラの形態に違いがある。J7; ブラウンヒドラ, *H. vulgaris* J7 に共生するクロロコッカム。N はヒドラの細胞核。

度が上がることが報告されている。また、グリーンヒドラの増殖にとって適切な給餌条件・光条件の下では共生クロレラは過剰に増殖することが示唆されており、何らかのクロレラの増殖を抑制するメカニズムの存在が必要とされるが、その実態は不明である。増殖を抑制すること以外でもヒドラが採餌・消化する過程で共生クロレラを胃腔内に放出し、その数を調整しているという報告もある。また、symbiosome 内の pH 条件がクロレラの増殖に影響するという研究もある (McAuley 1981; Bossert and Dunn 1986; Dunn 1987; Muller-Parker and Pardy 1987; Fishman et al. 2008)。

共生関係の維持のためには、グリーンヒドラの増殖に伴った共生クロレラの世代を越えての垂直伝搬が必要である。無性生殖する場合には、親個体の体幹部の体壁の突出として出芽が起こり、その芽体が成長して形成される新しいポリプの内胚葉上皮細胞内には当然のことながら共生クロレラが受け継がれてゆく。また、有性生殖の場合には、卵形成の過程で卵細胞内にクロレラが取り込まれて経卵的に次世代へと共生体が垂直伝搬してゆく (Muscatine and McAuley 1983; Campbell 1990; Habetha et al. 2003; Bosch 2012; Kawaida et al. 2013)。ヒドラの卵形成過程では、外胚葉上皮の細胞間隙に間細胞が集合し、その中に卵母細胞が出現し、最終段階では周りの間細胞を取り込んで急激に成長し卵細胞と成る。この時、内胚葉上皮に細胞内共生しているクロレラがどのように卵母細胞へと取り込まれるのかは興味深いですが、その詳細は不明である。

さて、このように密接なグリーンヒドラとの相利共生関係を維持している共生クロレラはヒドラの細胞外で自由生活をするのが可能なのか？ これまで、いくつかのグリーンヒドラの共生クロレラを単離培養したという報告がある (e.g. Jolley and Smith 1978)。一方で、共生クロレラの長期にわたる単離培養は難しく未だ明確な成功例はないとする報告もある (e.g. Habetha and Bosch, 2005)。Kovacevic et al. (2010), Kovacevic (2012) は、グリーンヒドラの共生クロレラ複数系統を単離培養し継続培養できる 3 株を得て、その 18SrDNA の塩基配列情報に基づく系統解析を報告した。しかし、彼らは単離培養した株の由来元であるグリーンヒドラ内にいるクロレラを直接抽出してその塩基配列情報との比較による確認は行っていない。その報告に対して Kobayakawa (2017) は、これまで報告されたの共生クロレラ (グリーンヒドラ, ミドリゾウリムシなどの原生動物などに共生している系統) の 18SrDNA の塩基配列情報に基づく系統解析を行い、それらが *Chlorella* 属とその近縁系統とからなる単一のクレードに含まれることを示したが、Kovacevic et al. (2010), Kovacevic (2012) が報告した単離培養した 3 系統はそのクレードに含まれなかった。以上のことから、グリーンヒドラに共生しているクロレラは自由生活に戻ることはもはや困難であると推察される。それは、以下に述べるグリーンヒドラ系統 (*viridissima* 種群) の起源の古さとも整合する。



## 2-2. グリーンヒドラとクロレラの共生の起源と進化

クロレラには多くの共生性の種が知られており、上記の通りグリーンヒドラやミドリゾウリムシの共生クロレラのほか、海綿や扁形動物、太陽虫やアメーバなどの原生物に共生する種も見られる。これらの共生クロレラは多系統であり、共生性は独立に複数回出現したと考えられている (Hoshina et al. 2005; Hoshina and Imamura 2008; Kawaida et al. 2013)。グリーンヒドラとクロレラの共生の起源については、分子系統解析のデータが得られるようになって複数起源を示唆するデータ解析の報告 (Huss et al. 1993/94; Rajević et al. 2015) や単一起源と共種分化・共進化を示唆するデータ解析の報告 (Kawaida et al. 2013) が示されており、興味深い。複数起源を示唆する根拠は、複数系統のグリーンヒドラに共生するクロレラに自由生活する非共生クロレラを含めた分子系統解析を行った結果、グリーンヒドラに共生するクロレラが単系統群を形成しなかったこととされている。一方、単一起源を示唆する根拠としては、複数系統のグリーンヒドラの宿主ヒドラとそれぞれの共生体クロレラの分子系統解析を行った結果、その系統樹の分岐パターンが一致することが上げられている。また、グリーンヒドラの共生クロレラが単系統とならないことについては、共生の初期段階では一旦共生し

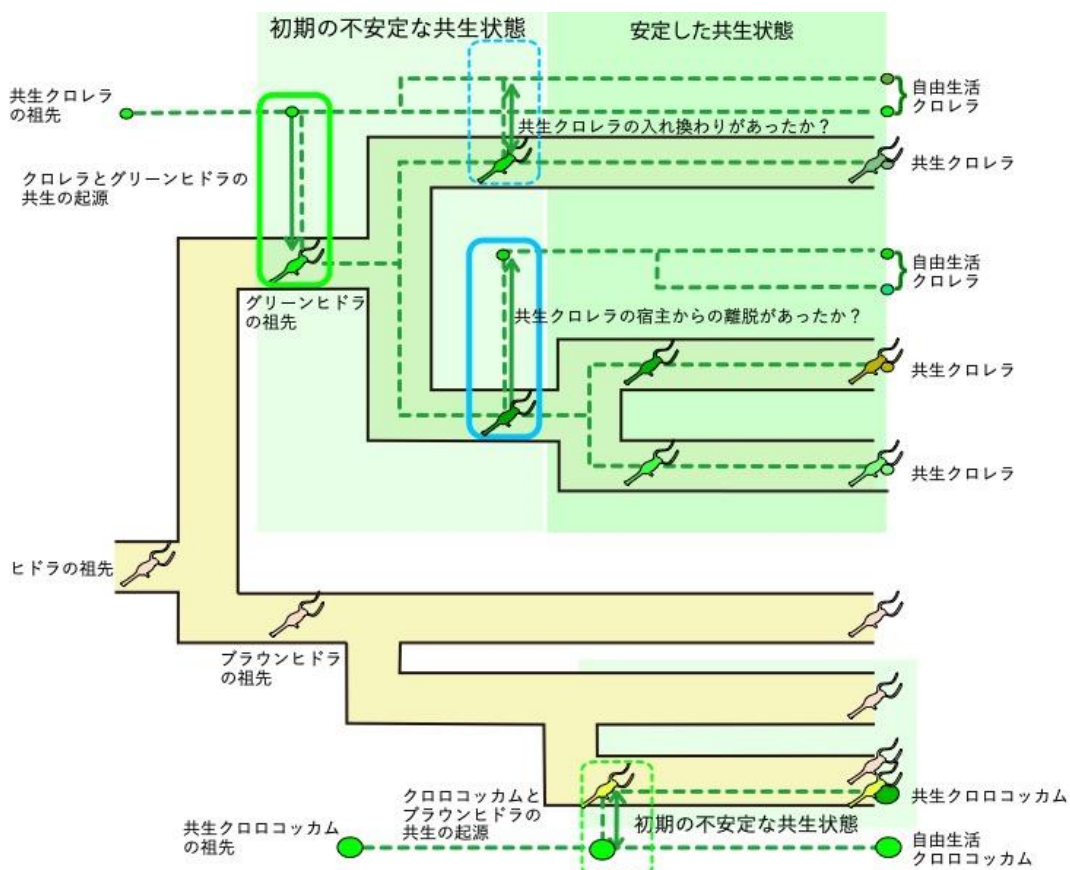


図4. 緑藻とヒドラの共生の起源と進化

グリーンヒドラとクロレラの共生の起源については諸説があるが、単一起源を考えてその後の共進化・共種分化を考えたモデル。共生の起源は古く、現在ではその共生関係は宿主と共生体相互にとって不可欠なものとなっている。クロロコッカムとブラウンヒドラの一部の系統との共生は、それとは全く別に後代に起こり、未だ未成熟で不安定な状態にあると考えられる。

たクロレラがヒドラから抜け出して自由生活に戻った可能性を上げている (図 4)。現生のグリーンヒドラにおいても、人為的に共生クロレラを除去した *apo-symbiotic* なグリーンヒドラに他系統のグリーンヒドラの共生クロレラや自由生活をしているクロレラを導入する実験が行われている。その結果から、グリーンヒドラに共生しているクロレラは本来の宿主ではない他系統の *apo-symbiotic* なグリーンヒドラとも共生関係を維持できること (Kawaida et al. 2013)、自由生活をしているクロレラでも酸性条件に耐性を持つ系統のクロレラは共生関係を維持できることが報告されている (Rahat and Reich 1984, 1985b; Kessler et al. 1988; Huss et al. 1993/94)。一方で、ブラウンヒドラの 3 種群のヒドラには、クロレラを人為的に導入し共生状態を維持することはできないと報告されている (Rahat and Reich 1986)。

宿主のヒドラと共生体の組み合わせに関して、グリーンヒドラのフロリダ系統とイギリス系統との間で共生クロレラを交換移植した実験の報告がある (Parady 1976)。フロリダ系統のグリーンヒドラに共生しているクロレラはイギリス系統のグリーンヒドラに導入されてもその形態に変化がなかったが、イギリス系統のグリーンヒドラに共生しているクロレラはフロリダ系統のグリーンヒドラに導入されると形態変化を起こしフロリダ系統のグリーンヒドラに本来共生していたクロレラと類似するようになった。また、筆者らはスイス系統のグリーンヒドラ (K10) とイスラエル系統のグリーンヒドラ (M9) の間で共生クロレラの交換実験を行い、K10 のグリーンヒドラに M9 のクロレラを共生させるとヒドラの細胞内においてクロレラが個々に単離されず集塊を作ることや、宿主のヒドラの刺胞が減少し増殖率が下がることなどの変化が起こることを観察している。しかし、M9 のグリーンヒドラに K10 のクロレラを共生させた場合には、そのようなクロレラの集塊や宿主の M9 のヒドラの変化は観察されなかった。この時、光学顕微鏡レベルでの観察ではクロレラの形態に宿主が替わったことに因る変化はなかった。これらの報告から、グリーンヒドラに共生するクロレラは、グリーンヒドラであれば宿主の系統が変わっても共生関係を維持することはできるが、そこには宿主・共生体ともに微妙な変化が起こる場合があり、自然状態では特定のグリーンヒドラの系統には特定のクロレラの系統が共生するという特異性の高い宿主-共生体の組み合わせが維持されてきたことが示唆される。

以上のことから、グリーンヒドラの祖先とクロレラの共生によってグリーンヒドラ (*viridissima* 種群) が他のブラウンヒドラの 3 種群と分岐した後に宿主ヒドラと共生体クロレラの共種分化・共進化が起こったとしても、共生状態が安定しない初期においてはある系統において共生状態の消失や他系統のクロレラの再共生が起こったことも考えられる。グリーンヒドラは *vulgaris* 種群とともに特に分布が広く、且つ、種・系統も多い。また、*viridissima* 種群内での種・系統の分岐も古く 1 億年以前には種群内での種分化が始まったと推測されている (Kawaida et al. 2010; Schwentner and Bosch 2015)。今後、より多くの系統を対象に宿主と共生体の分子系統解析を行うこと、共生体の交換実験による組み合わせ特異性の解析をより詳細に行うことなどが待たれる。

## 2-3. ブラウンヒドラとクロロコッカムの共生

これまで述べてきたようにグリーンヒドラにとってクロレラとの共生は不可欠のものとなっている。しかし、他の3種群から成るブラウンヒドラにおいてはクロレラとの共生はこれまで全く報告されていない。また、人為的にクロレラをブラウンヒドラに導入し共生させようとした結果、共生関係が成り立たったという報告はない。しかし、先述したように *vulgaris* 種群と *oligactis* 種群に属する種で緑藻と共生するポリプがいることが報告されており (Ito 1947ab), その *vulgaris* 種群に観られる共生緑藻はクロロコッカムである (Rahat and Reich 1985a, 1989; Kawaida et al. 2013; 図2右)。グリーンヒドラの場合と同様に, *vulgaris* 種群のポリプに共生するクロロコッカムは内胚葉上皮筋細胞内に細胞内共生している。しかし, 細胞内における分布と密度はグリーンヒドラに共生するクロレラとは異なり, 個々のクロロコッカムはクロレラよりも大きく, 細胞全体に分布しており, その数も10足らずである (図3J7)。この特定の *vulgaris* 種群のヒドラに共生するクロロコッカムを他の系統のヒドラに導入すると共生関係の成立する系統としない系統があることが示されている (Rahat and Reich 1986)。さらに, 興味深いことに内胚葉上皮と外胚葉上皮が異なるキメラの *vulgaris* 種群のヒドラを作成した場合, 内胚葉上皮の由来がクロロコッカムと共生できる系統のヒドラ由来の場合は外胚葉が共生できない系統のヒドラ由来であっても共生が成立するが, 逆の場合は成立しないことが報告されている (Rahat and Sugiyama 1993)。この共生クロロコッカムの単離培養に成功したとの報告もあり, その飼育条件を変えることによって遊走子 (zoospore) を形成するとの報告がある (Rahat and Reich 1989, 1991)。Rahat and Reich は, これらのことから日本の野外におけるクロロコッカムを細胞内共生させている *vulgaris* 種群のヒドラの生息地では, 自由生活をするクロロコッカムがいるのではないかと示唆している。最近, 実際に実験室内の飼育において共生クロロコッカムが飼育液を介して水平伝搬することが確認されている (Miyokawa et al. 2018)。このクロロコッカムと *vulgaris* 種群のヒドラの共生については, 以下に紹介するように, 宿主側のクロロコッカムの共生時と非共生時におけるトランスクリプトームの比較解析が進められている (Ishikawa et al. 2016b; Miyokawa et al. 2021)。

## 3. ゲノム・トランスクリプトーム解析が紐解くヒドラ・緑藻の共生システム

### 3-1. 近年の共生性・非共生性刺胞動物, クロレラ, 緑藻のゲノム解析

2000年代後半に次世代シーケンサーが登場したことで, 非モデル生物でもゲノム・トランスクリプトーム解析が盛んに行われるようになった。共生生物もその例外ではなく, ゲノムから共生関係が理解されつつある。ブラウンヒドラ *H. vulgaris* 105 は古くから発生や再生のモデル動物であり, 2010年にゲノムが解読されていたが, グリーンヒドラでも *H. viridissima* A99 とその共生クロレラ *Chlorella* sp. A99 のゲノムが解読された (Hamada et al. 2018, 2020)。クロレラでは, ミドリゾウリムシの共生クロレラ *Chlorella variabilis* NC64A (Blanc et al. 2010) や *Micractinium conductrix* SAG 241.80 (Arriola et al. 2018), 非共生性のいくつかの種でゲノム情報が公開されている。このような共生性・非共生性の近縁種のゲノム情報

も利用した比較ゲノム解析によって、共生生物の普遍的特性やそれぞれの共生生物種の特異性を明らかにすることが可能となった。

### 3-2. ブラウンヒドラと共生クロロコッカムのトランスクリプトーム解析

日本で発見されたクロロコッカムと共生する *H. vulgaris* J7 および J10 では、共生時に飢餓耐性が減少すること報告されている (Ishikawa et al. 2016a)。また、恒暗条件で共生クロロコッカムが消失することや、明所下において必ずしも共生ヒドラの増殖が活発になっていないことを考えると (Ishikawa et al. 2016ab; Miyokawa et al. 2018, 2021), ブラウンヒドラと共生クロロコッカムの間には、グリーンヒドラと共生クロレラ間にみられるような栄養面での互恵的な依存関係が成立しているわけではなく、むしろ共生クロロコッカムがヒドラを寄主として利用している状態に近いのかもしれない。

しかし、前述した共生クロロコッカムの水平伝搬の効率は、*vulgaris* 種群内の系統間で異なっており、これは一方的にクロロコッカムが細胞内共生しているだけではなく、ヒドラ側にも共生クロロコッカムを受け入れ維持するメカニズムがあることを示唆している

(Miyokawa et al. 2018)。例えば、J7, J10 と系統的に近縁な 105 を J10 と同じ容器で飼育すると、30%の割合で 105 のポリプが共生クロロコッカムを獲得し、長期にわたって共生状態が維持されるのに対して、*vulgaris* 種群内の異なるサブグループの AEP, K6 では水平伝搬の割合は 5~10%にとどまる。この結果は、共生クロロコッカムを直接導入した実験結果とも一致する (Rahat and Reich 1986; Ishikawa et al. 2016b)。また、共生藻の獲得、維持に系統的な偏りがあることから、J7, J10 や 105 が属する系統では新たに共生系が構築されつつあるとも考えられる (Ishikawa et al. 2016b; Miyokawa et al. 2018)。

これを裏付けるように、J7 のトランスクリプトーム解析では、グリーンヒドラに比べると弱いものの、共生時において活性酸素除去に働くペルオキシダーゼ活性をもつ遺伝子の発現が増加することが報告されており、共生状態の維持に貢献していると考えられる (Ishikawa et al. 2016a)。J10 から飼育液を介した水平伝播により共生クロロコッカムを新たに獲得した 105G では、非共生ヒドラ (105) に比べ体サイズが小さくなるものの飼育環境下で安定して共生が維持される (図 5 上, Miyokawa et al. 2018)。この 105G のトランスクリプトーム解析の結果、先天性免疫応答に関与すると考えられるラムノース結合レクチンの遺伝子やリソソ-

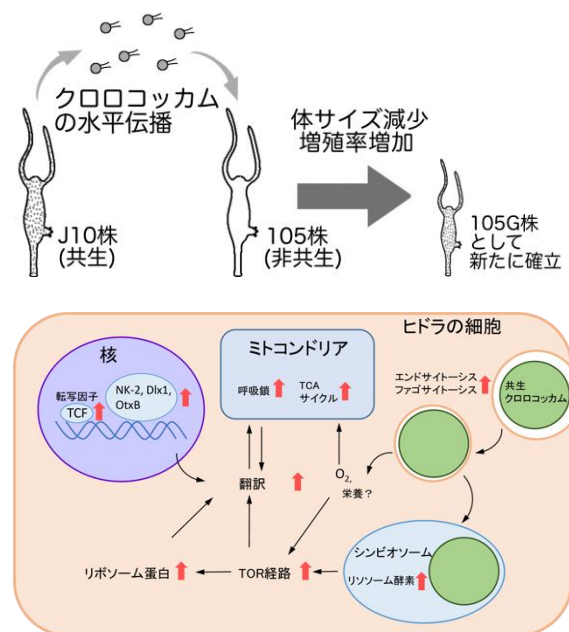


図 5. 水平伝搬により共生クロロコッカムを獲得したヒドラの遺伝子発現解析

新たに確立した共生ヒドラ 105G では、共生システムに関連すると考えられる遺伝子群の発現変動が起こっていた。(Miyokawa et al. 2021 より転載)

ム酵素の遺伝子発現増加、刺胞に関連する遺伝子の発現減少など、共生と関連すると考えられる遺伝子群において J7 と共通する発現変動が見られた (図 5 下, Miyokawa et al. 2021)。それに加え、共生時における翻訳や呼吸系に関連する遺伝子の発現増加など、グリーンヒドドラや J7 とは異なる遺伝子発現変動も見出されており、細胞内共生が確立する初期の状態では、安定した共生系とは異なる遺伝子発現パターンを持つことを示唆している。特に、細胞代謝の制御が変化していることは非常に興味深いものの、この変化が共生メカニズムとどう関わるのかは未解明のままである。また、ブラウンヒドドラとクロロコッカムの共生系については、宿主側の解析が進んでいる一方で、共生時にクロロコッカムがどのような応答を行なっているのかは全く明らかになっていない。ブラウンヒドドラとクロロコッカムの共生系における共生の成立、維持機構に関わる因子の解明には、今後の共生クロロコッカムのゲノム解析や詳細なトランスクリプトーム解析が待たれるところである。

### 3-3. グリーンヒドドラと共生クロレラのゲノム・トランスクリプトーム解析

グリーンヒドドラの共生系では、*H. viridissima* A99 とその共生クロレラのゲノム・トランスクリプトーム解析が行われ、その結果は、ヒドドラ-共生クロレラ間の栄養面での依存関係を明確に反映していた (Hamada et al. 2018)。通常の共生状態のグリーンヒドドラと、共生藻の除去や暗所飼育、光合成阻害剤処理を行ったグリーンヒドドラの遺伝子発現を比較したところ、共生クロレラから光合成産物であるマルトースがグリーンヒドドラに供給されることで、グリーンヒドドラのグルタミン合成酵素などの遺伝子発現が上昇することが明らかになった。このことは、クロレラからヒドドラに光合成産物が供給されることで、ヒドドラのアミノ酸合成が活性化され、それをクロレラに窒素源として供給するというギブ&テイクの関係があることを示唆している (図 6)。また、人工的にゾウリムシの共生クロレラを共生させたグリーンヒドドラではこのような遺伝子発現変化は起こらず、この相利的關係には種特異性があると考えられる。

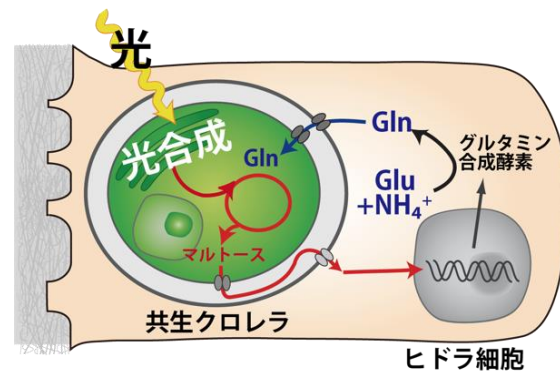


図6 ヒドラ細胞内における共生クロレラとの相互作用

共生クロレラは光合成産物としてマルトースを合成し、ヒドドラに供給する。マルトースはヒドドラのグルタミン合成酵素の遺伝子発現を上昇させ、クロレラにグルタミンが栄養として供給される。

この共生クロレラのゲノムを解析したところ、驚くべきことに、一般に植物では窒素代謝に重要な役割を果たすことが知られている亜硝酸還元酵素や硝酸トランスポーターの遺伝子が欠失していることがわかった。このような硝酸同化経路の退化は、この共生クロレラがヒドドラの体外では生きられず、培養も困難である理由の一つであろう。その一方、低分子の中性アミノ酸を取り込むアミノ酸トランスポーター遺伝子が他の緑藻類に比べて多く、ヒドドラから供給されるグルタミンなどのアミノ酸を効率的に取り込むことが可能であると考えら

れる。このアミノ酸トランスポーター遺伝子はクロレラクレードで共通で多い傾向があり、クロレラ共通祖先で既に遺伝子重複によりこのような遺伝子が増加していたと考えられる。このことは、クロレラクレードで独立かつ頻繁に共生性が出現した理由かもしれない (図7)。ゾウリムシの共生クロレラ *Chlorella variabilis* NC64A も *Chlorella* sp. A99 と同様にアミノ酸要求性である。硝酸同化遺伝子の欠失は見られないが、自由生活クロレラで見られる硝酸塩による硝酸還元酵素や亜硝酸還元酵素の活性の上昇が起こらないことから、これらの遺伝子調節領域に変異がある可能性が示唆されている (Kamako et al. 2005)。*Chlorella variabilis* NC64A と *Chlorella* sp. A99 は系統的に離れており、これらで見られる硝酸同化システムの退化は、類似の共生環境中でそれぞれ独立に起こった収束進化であろう (図7)。

同様に、ホストの *H. viridissima* A99 でも失われている遺伝子を探したが、今のところ主要な代謝経路で失われている遺伝子は見つっていない。逆に、多く存在する遺伝子を探したところ、細胞内異物認識レセプターとして自然免疫に関わることが知られている Nod-like

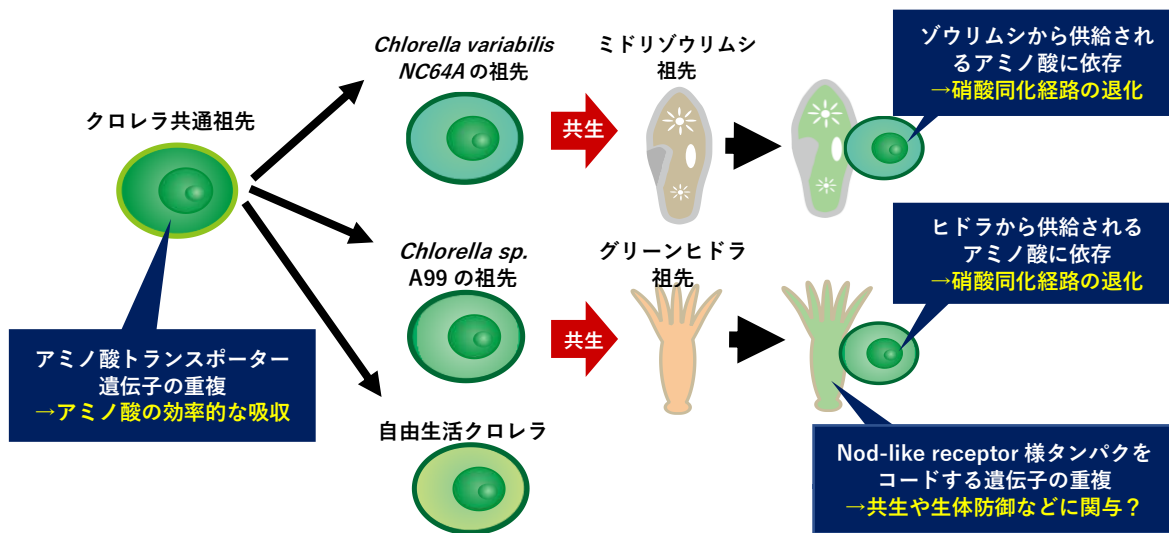


図7 ヒドラークロレラ共生進化の道筋

クロレラの共通祖先において、アミノ酸トランスポーター遺伝子の重複が起こり、効率的なアミノ酸の取り込みが可能となった。このことは細胞内での共生生活に適した性質であったと考えられる。その後、ヒドラやゾウリムシなどとの共生生活を行うものや遊泳生活を続けるものへと種分化した。共生クロレラでは、ホストから供給される栄養であるアミノ酸に依存した結果、エネルギーコストのかかる硝酸同化経路は退化してしまったのであろう。

receptor (NLR) に似たタンパクをコードする遺伝子が多く見つかった (Hamada et al. 2020)。NLR 遺伝子の大規模な重複はサンゴ *Acropora digitifera* でも特異的に見られたことから (Hamada et al. 2013)、共生性刺胞動物で共通の特徴であると考えられる。その機能は未だ不明であるが、共生や生体防御など独自の環境応答機構が存在する可能性がある。

以上のようにグリーンヒドラは藻類との共生という生存戦略で繁栄し、そのユニークな生態はゲノム中に刻まれていることが明らかになった。一方、ブラウンヒドラの *vulgaris* 種群や *oligactis* 種群は体の大型化や捕食器官である刺胞の能力のアップによって、捕食能力を増加させる戦略を取ったと考えられる。このことからボディプランに関わる遺伝子の違いが予想されたが、意外なことに体サイズに関係することが知られている Wnt や TGF-beta

pathway などの転写因子・シグナル分子をコードする遺伝子の構成はブラウンヒドラとグリーンヒドラで違いがなく (Mortzfeld et al. 2019; Hamada et al. 2020) , 未だ体サイズの違いを生み出す原因はわからない。今後は遺伝子構成だけでなく、遺伝子発現調節メカニズム等も調べることで、異なる生存戦略を取るに至った種分化メカニズムも解明できるかもしれない。今や共生生物を含め、多くの非モデル生物のゲノムも解読され、大規模な比較解析が可能となった。これを利用することで、共生を含め、生物の生存戦略の普遍性や多様性がより詳細に明らかになることだろう。

## 引用文献

- Arriola MB, Velmurugan N, Zhang Y, Plunkett MH, Hondzo H, Barney BM (2018) Genome sequences of *Chlorella sorokiniana* UTEX 1602 and *Micractinium conductrix* SAG 241.80: implications to maltose excretion by a green alga. *Plant J* 93: 566-586
- Blanc G, Duncan G, Agarkova I, Borodovsky M, Gurnon J, Kuo A, Lindquist E, Lucas S, Pangilinan J, Polle J et al. (2010) The *Chlorella variabilis* NC64A genome reveals adaptation to photosymbiosis, coevolution with viruses, and cryptic sex. *Plant Cell* 22: 2943-55
- Bosch, TCG (2012) What Hydra Has to Say About the Role and Origin of Symbiotic Interactions. *Biol Bull* 223: 78-84
- Bossert P and Dunn KW (1986) Regulation of intracellular algae by various strains of the symbiotic *Hydra viridissima*. *J Cell Sci* 85: 187-19
- Bridge D, Cunningham CW, DeSalle R, Buss LW (1995) Class-level relationships in the phylum Cnidaria: molecular and morphological evidence. *Mol Biol Evol* 12: 679-689
- Campbell RD (1983) Identifying *Hydra* species. In: Lenhoff HM (ed) *Hydra: Research Methods*, Plenum Press, New York, pp 9-28
- Campbell RD (1987) A new species of *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa) from North America with comments on species clusters within the genus. *Zool J Linn Soc-Lond* 91: 253-263
- Campbell RD (1989) Taxonomy of the European *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa): a re-examination of its history with emphasis on the species *H. vulgaris* Pallas, *H. attenuata* Pallas and *H. circumcincta* Schulze. *Zool J Linn Soc-Lond* 95: 219-244
- Campbell RD (1990) Transmission of symbiotic algae through sexual reproduction in *hydra*: movement of algae into the oocyte. *Tissue & Cell* 22: 137-147
- Cernichiari E, Muscatine L, and Smith DC (1969) Maltose Excretion by the Symbiotic Algae of *Hydra viridis*. *Proc R Soc Lond B* 173: 557-576
- Cook CB (1981) Adaptations to endosymbiosis in green-hydra. *Ann NY Acad Sci* 361: 273-283
- Collins AG (2000) Towards understanding the phylogenetic history of Hydrozoa: hypothesis testing with 18S gene sequence data. *Sci Mar* 64: 5-22
- Collins AG (2002) Phylogeny of the Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles. *J Evol Biol* 15: 418-432

- Collins AG, Schuchert P, Marques AC, Jankowski T, Medina, M, Schierwater B (2006) Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models. *Syst Biol* 55: 97–115
- Douglas AE and Huss VAR (1986) On the characteristics and taxonomic position of symbiotic *Chlorella*. *Arch Microbiol* 145: 80-84
- Dunn K (1987) Growth of endosymbiotic algae in the green-hydra, *Hydra viridissima*. *J Cell Sci* 88: 571-578
- Fishman Y, Zlotkin E, Sher D (2008) Expulsion of symbiotic algae during feeding by the green-hydra - a mechanism for regulating symbiont density? *PLoS One* 3: e2603
- Habetha M, Erxleben FA, Neumann K, Bosch TCG (2003) The *Hydra viridis*/*Chlorella* symbiosis. Growth and sexual differentiation in polyps without symbionts. *Zoology* 106: 101–108
- Habetha M, Bosch TCG (2005) Symbiotic *Hydra* express a plant-like peroxidase gene during oogenesis. *J Exp Biol* 208: 2157-2164
- Hamada M, Shoguchi E, Shinzato C, Kawashima T, Miller DJ, Satoh N (2013) The complex NOD-Like receptor repertoire of the coral *Acropora digitifera* includes novel domain combinations. *Mol Biol Evol* 30: 167-176
- Hamada M, Satoh N, Khalturin K (2020) A reference genome from the symbiotic Hydrozoan, *Hydra viridissima*. *G3* 10: 3883-3895
- Hamada M, Schröder K, Bathia J, Kürn U, Fraune S, Khalturina M, Khalturin K, Shinzato C, Satoh M, Bosch TCG (2018) Metabolic co-dependence drives the evolutionarily ancient *Hydra*-*Chlorella* symbiosis. *eLife* e35122
- Hemrich G, Anokhin B, Zacharias H, Bosch TCG (2007) Molecular phylogenetics in *Hydra*, a classical model in evolutionary developmental biology. *Mol Phylogenet Evol* 44: 281–290
- Hoshina R, Imamura N (2008) Multiple Origins of the Symbioses in *Paramecium bursaria*. *Protist* 159: 53-63
- Hoshina R, Kato Y, Kamako S, Imamura N (2005) Genetic Evidence of “American” and “European” Type Symbiotic Algae of *Paramecium bursaria*. *Ehrenberg Plant Biology* 7: 526–532
- Huss VAR, Rahat M, Kessler E (1989) DNA base compositions of "zoochlorellae" hosted by three strains of *Hydra viridis* show them to be different. *Endocytobiosis & Cell Res* 6: 109-112
- Huss VAR, Holweg C, Seidel B, Reich V, Rahat M, Kessler E (1993/94) There is an ecological basis for host/symbiont specificity in *Chlorella*/*Hydra* symbioses. *Endocytobiosis & Cell Res* 10: 35-46
- Huss VAR, Frank C, Hartmann EC, Hirmer M, Kloboucek A, Seidel BM, Wenzeler P, Kessler E (1999) Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus *Chlorella sensulato* (Chlorophyta). *J Phycol* 35: 587-593
- Ishikawa M, Yuyama I, Shimizu H, Nozawa M, Ikeo K, Gojobori T (2016a) Different Endosymbiotic Interactions in Two *Hydra* Species Reflect the Evolutionary History of Endosymbiosis. *Genome Biol Evol* 8: 2155–2163
- Ishikawa M, Shimizu H, Nozawa M, Ikeo K, Gojobori T (2016b) Two-step evolution of endosymbiosis between *Hydra* and algae. *Mol Phylogenet Evol* 103: 19–25



- Ito T (1947a) A new fresh-water polyp, *Hydra magnipapillata*, N. SP. from Japan. Science reports of The Tohoku Univ: 4th Ser. (Biology), 18: 6–10
- Ito T (1947b) Description of a new *Pelmatohydra* from Japan. Science reports of The Tohoku Univ: 4th Ser. (Biology), 18:11–16
- Jankowski T, Collins AE, Campbell R (2008) Global diversity of inland water cnidarians. *Hydrobiologia* 595: 35–40.
- Jolley E, Smith DC (1978) The green-hydra symbiosis. I. Isolation culture and characteristics of the *Chlorella* symbiont of “European” *Hydra viridis*. *New Phytol* 81: 637-645
- Kamako S, Hoshina R, Ueno S, Imamura, N (2005) Establishment of axenic endosymbiotic strains of Japanese *Paramecium bursaria* and the utilization of carbohydrate and nitrogen compounds by the isolated algae. *Eur J Protistol* 41:193–202
- Karntanut W, Pascoe D (2002) The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa). *Chemosphere* 47: 1059–1064
- Karntanut W, Pascoe D (2005) Effects of removing symbiotic green algae on the response of *Hydra viridissima* (Pallas 1776) to metals. *Ecotoxicol Environ Safety* 60: 301–305
- Kawaida H, Shimizu H, Fujisawa T, Tachida H, Kobayakawa Y (2010) Molecular phylogenetic study in genus *Hydra*. *Gene* 468: 30–40
- Kawaida H, Ohba K, Koutake Y, Shimizu H, Tachida H, Kobayakawa Y (2013) Symbiosis between hydra and chlorella: Molecular phylogenetic analysis and experimental study provide insight into its origin and evolution. *Mol Phylogenet Evol* 66: 906-914
- Kessler E, Huss VAR, Rahat M (1988) Species-specific ability of *Chlorella* strains (Chlorophyceae) to form stable symbioses with *Hydra viridis*. *Plant Syst Evol* 160: 241- 246
- Kobayakawa Y (2017) SYMBIOSIS BETWEEN GREEN ALGAE AND HYDRA. In: Grube M, Seckbach J, Muggia L (ed) *ALGAE and CYANOBACTERIA SYMBIOSES*, Chapter11, World Scientific, pp 347–369 [https://doi.org/10.1142/9781786340580\\_0011](https://doi.org/10.1142/9781786340580_0011)
- Kovacevic G, Franjevic D, Jelencic B, Kalafatic M (2010) Isolation and cultivation of endosymbiotic algae from green-hydra and phylogenetic analysis of 18S rDNA sequences. *Folia biologica* (Kraków) 58: 135-143
- Kovacevic G (2012) Value of the *Hydra* model system for studying symbiosis. *Int J Dev Biol* 56: 627-635
- Lewis LA, Muller-Parker G (2004) Phylogenetic placement of "zoochlorellae" (Chlorophyta), algal symbiont of the temperate sea anemone *Anthopleura elegantissima*. *Biol Bull* 207: 87-92
- Martinez DE, Iñiguez AR, Percell KM, Willner JB, Signorovitch J, Campbell RD (2010) Phylogeny and biogeography of *Hydra* (Cnidaria: Hydridae) using mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol* 57: 403–410
- McAuley PJ (1981) Control of cell division of the intracellular *chlorella* symbionts in green-hydra. *J Cell Sci* 47: 197-206
- McAuley PJ, Smith DC (1982) The green-hydra symbiosis. VII. Conservation of the host cell habitat by the symbiotic algae. *Proc R Soc Lond B* 216: 415-426

- McAuley PJ (1986) Glucose uptake by symbiotic *Chlorella* in the green-hydra symbiosis. *Planta* 168: 523-529
- McAuley PJ (1987) Quantitative estimation of movement of an amino acid from host to *Chlorella* symbionts in green-hydra. *Biol Bull* 173: 504-512
- McAuley PJ (1991) Amino acids as a nitrogen source for *Chlorella* symbiotic with green-hydra. *Hydrobiologia* 216/217: 369-376
- Meints RH, Van Etten JL, Kuczmarski D, Lee K, Ang B (1981) Viral Infection of the Symbiotic *Chlorella*-like Alga Present in *Hydra viridis*. *Virology* 113: 698-703
- Mews LK (1980) The green-hydra symbiosis. III. The biotrophic transport of carbohydrate from alga to animal. *Proc R Soc Lond B* 209: 377-401
- Miyokawa R, Tsuda T, Kanaya HJ, Kusumi J, Tachida H, Kobayakawa Y (2018) Horizontal Transmission of Symbiotic Green Algae Between Hydra Strains. *Biol Bull* 235: 113-122
- Miyokawa R, Kanaya HJ, Itoh TQ, Kobayakawa Y, Kusumi J (2021) Immature symbiotic system between horizontally transmitted green algae and brown hydra. *Scientific Reports* 11: Article number 2921
- Mortzfeld BM, Taubenheim J, Klimovich AV, Fraune S, Rosenstiel P, Bosch TCG (2019) Temperature and insulin signaling regulate body size in *Hydra* by the Wnt and TGF-beta pathways. *Nat Commun* 10: 3257
- Muscatine L, Lenhoff HM (1963) Symbiosis: On the Role of Algae Symbiotic with *Hydra*. *Science* 142: 956-958
- Muscatine L (1965) Symbiosis of hydra and algae. III Extracellular products of the algae. *Comp. Biochem Physio* 16: 77-92
- Muscatine L, Lenhoff HM (1965) Symbiosis of hydra and algae. II. Effects of limited food and starvation on growth of symbiotic and aposymbiotic hydra. *Biol Bull* 129: 316-328
- Muscatine L (1974) Endosymbiosis of cnidarians and algae. In: Lenhoff HM, Muscatine L (eds) *Coelenterate Biology: Reviews and New Perspectives*, Academic Press, New York, pp 359–395
- Muscatine L, McAuley PJ (1983) Transmission of symbiotic algae to eggs of green-hydra. *Cytobios* 33: 111–124
- Muller-Parker G, Pardy RL (1987) Response of green-hydra to feeding and starvation at four irradiances. *Biol Bull* 172: 46-60
- Nawrocki AM, Collins AG, Hirano YM, Schuchert P, Cartwright P. (2013) Phylogenetic placement of *Hydra* and relationships within *Aplanulata* (Cnidaria: Hydrozoa). *Mol Phylogenet Evol* 67: 60–71
- Pardy RL (1976) The morphology of green-hydra endosymbionts as influenced by host strain and host environment. *J Cell Sci* 20: 655-669
- Rahat M, Reich V (1984) Intracellular infection of aposymbiotic *Hydra viridis* by a foreign free-living *Chlorella* sp.: initiation of a stable symbiosis. *J Cell Sci* 65: 265-277
- Rahat M (1985) Competition between *Chlorella* in chimeric infections of *Hydra viridis*: the evolution of a stable symbiosis. *J Cell Sci* 77: 87-92

- Rahat M, Reich V (1985a) A new alga/hydra symbiosis: *Hydra magnipapillata* of the 'nonsymbiotic' *Vulgaris* group hosts a *Chlorococcum-Yikt* alga. *Symbiosis* 1: 177-184
- Rahat M, Reich V (1985b) Correlations between characteristics of some free-living *Chlorella* sp. and their ability to form stable symbioses with *Hydra viridis*. *J Cell Sci* 74: 257-266
- Rahat M, Reich V (1986) Algal endosymbiosis in brown-hydra: host/symbiont specificity. *J Cell Sci* 86: 273-286
- Rahat M, Reich V (1989) *Symbiococcum hydrae* gen. et sp. nov. (Chlorosarcinales, Chlorophyta): an endosymbiotic green alga from cells of the Japanese *Hydra magnipapillata* (Coelenterata). *Phycologia* 28: 181- 187
- Rahat M, Reich V (1991) Zoospore formation by *Symbiococcum hydrae* (Chlorosarcinales, Chlorophyta), an alga endosymbiotic in *Hydra magnipapillata* (Coelenterata). *Phycologia* 30: 226-230
- Rahat M, Sugiyama T (1993) The endodermal cells of some "brown" hydra are autonomous in their ability "to host or not to host" symbiotic algae: analysis of chimera. *Endocytobiosis & Cell Res* 9: 223-231
- Rajević N, Kovačević G, Kalafatić M, Gould SB, Martin WF, Franjević D (2015) Algal endosymbionts in European *Hydra* strains reflect multiple origins of the zoochlorella symbiosis. *Mol Phylogenet Evol* 93: 55-62
- Schwentner M, Bosch TCG (2015) Revisiting the age, evolutionary history and species level diversity of the genus *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa). *Mol Phylogenet Evol* 91: 41-55
- Thorington G, Margulis L (1981) *Hydra viridis*: Transfer of metabolites between hydra and symbiotic algae. *Biol Bull* 160: 175-188
- Whitney DD (1907) Artificial removal of the green bodies of *Hydra viridis*. *Biol Bull* 13: 291-299