

雪上から得られた原生生物 *Spumella* sp.に関する研究

春名紗季江 (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

積雪や氷河は低温や強光にさらされる環境であるが、そこに特異的に生育する生物も存在している。例えば動物としてユスリカやカワゲラ、クマムシなどが知られている。これらの動物の生存を支えているのが、雪氷藻とよばれる微細藻であり、さまざまなシアノバクテリアや緑藻、接合藻、黄金色藻などが知られている。また、近年は環境 DNA の研究などから分解者としてのバクテリアの存在も明らかになっている。こうした生物たちによって雪上では特異的な生態系が成り立っていると考えられる。

水界では動物、藻類、バクテリアに加えて従属栄養性の原生生物 (特にバクテリアを捕食する鞭毛虫やアメーバなど) が重要な働きを担っていることが知られており、雪上でもその可能性が考えられるが、まだその実態はほとんど明らかになっていない。

本研究では雪上にそのような従属栄養性原生生物が存在するのかを明らかにするとともに、低地に生育するその近縁種との比較を通して、雪上という低温環境での従属栄養性原生生物の特性を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

2012年5月16日、長野県四阿山の残雪を採集し、粗培養とマイクロピペット法により培養株 AZ9 株を確立した。TC1 株は2012年8月につくば市天久保の水田より作製された粗培養株を用いて、また、TC4 株は2012年9月20日に土浦市乙戸沼より作製された粗培養を用いて同様に確立した。3株は15°Cの暗条件で継続培養している。

以上の株を用いて (1) 光学顕微鏡観察、(2) 18S rRNA 遺伝子を用いた系統解析、(3) 異なる温度での培養実験をおこなった。

結果と考察

(1) 光学顕微鏡観察の結果、AZ9 株の細胞は卵形で貯蔵物質を持ち、細胞頂端付近から生じる2本の不等鞭毛をもっていった。また葉緑体を持たず、基質に着生または浮遊していた。このような形態的特徴から、この株は黄金色藻綱の *Spumella* 属の一種と同定した。TC1 株は球形の細胞で葉緑体を持たず、細胞頂端付近から生じる2本の不等鞭毛を持ち浮遊していたことから、AZ9 株と同様に *Spumella* 属の一種と同定した。また TC4 株は細胞頂端が平らな楕円形で、細胞頂端付近から生じる2本の不等鞭毛と小さな葉緑体を持ち、浮遊していた。これらの特徴から TC4 株は黄金色藻綱の光合成と捕食をおこなう *Ochromonas* 属の一種と同定した。

(2) AZ9 株と TC4 株について 18S rRNA 遺伝子の塩基配列を決定し、すでに公表されている黄金色藻綱の配列を合わせて最尤系統樹作製とブートストラップ解析を行った。その結果、形態的特徴から推定されたとおり、両株は黄金色藻綱に属することが示された。さらに AZ9 株は黄金色藻綱の中でも従属栄養性の *Spumella* 属、TC4 株は混合栄養性の *Ochromonas* 属とそれぞ

れ単系統であることが示された。黄金色藻綱内において *Spumella* 属と *Ochromonas* 属は多系統であることが知られているが、分布する温度環境によって属するクレードが異なる傾向にあることを示す先行研究も存在する。本研究では AZ9 株は低温環境に生育する種が多いクレード、TC4 株は温暖な環境に生育する種が多いクレードに属し、光学顕微鏡観察結果と先行研究を支持する結果が得られた。

(3) 雪上から得られた AZ9 株が実際に低温でもより適応的に活動しているのかを確かめるため、AZ9 株、TC1 株、TC4 株を 5°C と 15°C で暗条件のもとそれぞれ培養し、24 時間おきに細胞を固定して細胞数を計測した。3 株はともに AF6 + YT 培地を用いて 15°C で 5 ~ 8 日間培養したものを新しい培地に 1,500 ~ 1,800 cells / ml の濃度で植え継いだものを利用し、餌としては AZ9 株の培養液を AF6 + YT 寒天培地に散布して生じたコロニーから単離したバクテリアの培養株を毎日添加した。その結果、15°C ではすべての株が増殖したが、5°C では AZ9 株のみで増殖が見られた (図 1)。

以上の結果から、雪上で得られた従属栄養性原生生物 *Spumella* 属 (AZ9 株) は低温でも生育が可能であり、低地の *Spumella* 属 (TC1 株) や混合栄養性の *Ochromonas* 属 (TC4 株) よりも低温に対して適応的であることがわかった。積雪における生態系ではこのような従属栄養性原生生物が生育し、バクテリア捕食者として働いていると考えられる。

今後は実際に低温でも捕食による従属栄養的な生活をおこなっているのか、蛍光ビーズやバクテリアの添加観察もおこなっていく予定である。また、TC1 株でも 18S rRNA 遺伝子の塩基配列決定と系統的位置の確認をおこなう。

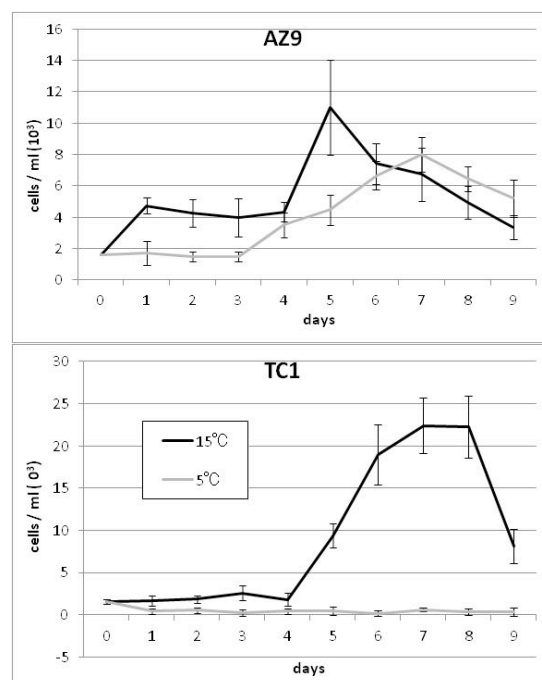


図 1：異なる温度での培養実験