

菅平高原におけるプロトステリウム類の分布と餌資源の嗜好性

岩本 祥明 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 出川 洋介 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

粘菌とは生活環の中で子実体を作るアメーバの総称で、巨大な多核単細胞の変形体を作る変形菌類や、アメーバが集合して多細胞の偽変形体や子実体を作るタマホコリカビ類に代表される。プロトステリウム類はその中でも最も原始的な粘菌だと考えられており、柄と1~4個の胞子からなる単純な子実体を作る。変形菌類、タマホコリカビ類、プロトステリウム類はアメーボゾアに所属し、その中で最も原始的な子実体を作るプロトステリウム類は粘菌の進化を理解する上で重要な生物群である。プロトステリウム類には現在プロトステリウム綱として、1目4科16属36種が知られており、生活環における遊泳細胞や変形体の有無、子実体やアメーバの形態に基づいて分類されている。

日本では変形菌類やタマホコリカビ類の多様性についての調査は行われてきたが、プロトステリウム類についてのまとまった調査は行われてこなかった。また、一部の変形菌類やプロトステリウム類、エクスカバータに所属する細胞性粘菌のアクラシス類では餌となるバクテリアや酵母に嗜好性があることが知られている。しかし、プロトステリウム類に関する餌資源の嗜好性は、培養下での限られた材料について検討されたに過ぎず、生態的な調査は行われてこなかった。本研究では、菅平高原におけるプロトステリウム類の多様性を解明するとともに、それらの生息地と餌資源の関係を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

1) 温室培養法

野外から採集した植物遺体を蒸留水に40分間浸し、wMY 寒天培地 (0.02 g malt extract, 0.02 g yeast extract 0.75 g K_2HPO_4 , 15.0 g agar, 1.0 L deionized water) に接種し、2週間、長焦点顕微鏡で観察を続けた。

2) 釣菌法

菅平高原実験センター内で採取した3種類の基質 (ススキ稈, アカマツ樹皮, ミズナラ樹皮) の2 mm 四方の断片を8個ずつネットに入れ、センター内4地点 (ススキ草原, アカマツ林, ミズナラ林, 大明神の滝) のリター上に設置した。サンプルは8月7日、10月18日の2回設置し、3週間後に回収した。回収したサンプルは蒸留水に40分間浸し、wMY 寒天培地に接種し、2週間長焦点顕微鏡で観察を続け、それぞれの地点、基質についてプロトステリウム類の子実体が出現した基質の断片数を記録した。

3) 培養株の確立と餌資源の嗜好性試験

1) 温室培養法と 2) 釣菌法で出現したプロトステリウム類の子実体を培地上のバクテリアと共に分離し、粗培養した。粗培養上で形成した子実体から胞子を分離し、それぞれの粗培養から分離して純粋培養したバクテリアと共に二員培養を行い、胞子の発芽と子実体形成を指標とし、プロトステリウム類の餌資源の嗜好性を観察した。また、分離したバクテリアについて16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列を決定し、遺伝子解析により同定した。

結果

1) 温室培養法

アジサイ、未同定の双子葉草本、ワラビの空中リターよりプロトステリウム類の二員培養株を確立した。そのうち、前二者から得られた株は継代できなかつた。ワラビの空中リターから得られた1株は子実体の形態的特徴および生活環に変形体を持つことから *Schizoplasmodiopsis pseudoendospora* と同定された。

2) 釣菌法

各地点に設置した基質上に出現したプロトステリウム類の頻度はススキ草原において他の3地点よりも有意に高く、ススキ稈上ではミズナラ樹皮上よりも有意に低かつた (Fisher の正確確率検定; $p < 0.05$; Table 1)。

釣菌法により4培養株が確立し、うちススキ草原に設置したミズナラ樹皮より得られた2株は *Protostelium arachisporum*、大明神の滝に設置したミズナラ樹皮より得られた1株は *S. pseudoendospora* と同定された。大明神の滝に設置したアカマツ樹皮より得られた1株は十分な量の菌体を得られず同定できなかった。

3) 培養株の確立と餌資源の嗜好性試験

温室培養法で得られた1株、釣菌法で得られた4株中3株は、ススキ草原に設置したミズナラ樹皮より得られたバクテリア *Rhizobium* sp. により、釣菌法で得られた4中1株は大明神の滝より得られたバクテリア *Sphingobium* sp. により二員培養できた。餌資源の嗜好性試験の結果については目下調査中である。

考察

釣菌法による基質・生息地別の頻度算出の結果、ススキ草原でのプロトステリウム類の出現頻度が最も高かつた。これは、ススキ草原より得られた *Rhizobium* sp. により培養できた株が多かつたことと一致するため、即ちススキ草原にはプロトステリウム類が好むバクテリアが多いと解釈される。今後、各地点に生息する餌資源がプロトステリウム類の分布に与える影響を、餌資源に対する嗜好性を通して明らかにしていきたい。また、ススキ稈からの出現頻度はミズナラ樹皮よりも多かつた。餌資源となるバクテリアの基質の嗜好性についても今後調査が必要である。

Table 1. 菅平高原実験センター内4か所に設置した3種類の基質のうちプロトステリウム類の子実体が出現した基質断片数

場所	基質			計
	ススキ稈	アカマツ樹皮	ミズナラ樹皮	
ススキ草原	3	6	12	21 a
アカマツ林	1	0	1	2 b
ミズナラ林	0	2	1	3 b
大明神の滝	0	2	2	4 b
計	4 b	10 ab	16 a	30

異なるアルファベット間、基質間、場所間で有意に出現頻度に差がある事をそれぞれ示す (Fisher の正確確率検定; $p < 0.05$)