

新規寄生性ミドリムシの系統分類学的研究及び寄生様式の解明

加藤 孝一郎 (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

藻類といえば、水界の食物連鎖における生産者であり、一次消費者に捕食されるもの、という認識が一般的であろう。しかし実際は、藻類の中には独立栄養性種だけではなく、光合成と捕食どちらも行い混合栄養性種や、一度獲得した光合成能を二次的に失った捕食性や寄生性の従属栄養性種まで存在する。

寄生性の藻類は甲殻類や魚類、ヒトからも見つかっている。しかしながらこのような藻類は一般に宿主の体内で生活しているため見過ごされがちであり、未だに発見されていない種も数多く存在していると考えられる。藻類の多様性を明らかにしていく上で、動物の体内という環境に着目して新奇の藻類を探索していくことは非常に大切である。

本研究において、光学顕微鏡を用いてさまざまな水生動物を観察して着生・寄生藻類を探索したところ、大学近郊の水田に生息するカイミジンコ的一种から寄生性ミドリムシと思われる藻類を発見した。そこで、本藻類の系統分類学的位置及びカイミジンコへの寄生様式の解明を目的とした研究を行った。

方法

水田 (つくば市天王台 2 丁目) より採集してきたカイミジンコから感染個体を選別、一部は破碎して本藻類を採取した。光学顕微鏡により本種の形態を観察するとともに、カイミジンコへの寄生時の様子を連続で 60 時間観察した。また、本種の寄生が宿主特異的であるかを確かめるため、同所に生活する他の水生動物の体内からも本種の探索を行った。さらに、走査型電子顕微鏡 (SEM) と透過型電子顕微鏡 (TEM) により本種の形態及び微細構造の観察を行った。この際 SEM 試料及び TEM 試料作製では 5% グルタルアルデヒドと 1% 四酸化オスミウムによる二重固定を行った。また、本種の寄生場所を明らかにするため、本種が多量に寄生しているカイミジンコ体内の微細構造観察を行った。この際には、ブアン固定液 (ピクリン酸 : ホルマリン : 酢酸 = 15 : 5 : 1) と 1% 四酸化オスミウムの二重固定により TEM 試料を作製し、観察を行った。一次固定でブアン固定液を使用したのは硬いカイミジンコの殻を柔らかくし、超薄切片を作りやすくするためである。

分子系統解析では、採取した本種 1 細胞をマイクロピペット法により単離し、そこから 18S rDNA 配列の全長、28S rDNA 配列の一部を増幅し、配列を決定した。そして 18S rDNA、28S rDNA の複数遺伝子データセットを作成し、RAxML (ver.7.2.6) により最尤系統樹を作成、ブートストラップ解析も行った。

結果と考察

○系統分類学的研究

光学顕微鏡による形態観察、SEM・TEM による微細構造観

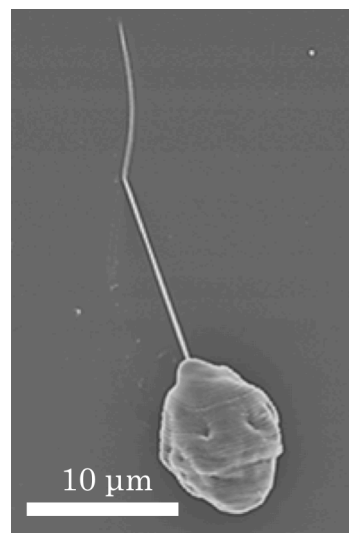
察により、一本の鞭毛・体表のペリクル・内部構造のパラミロン粒・すじりもじり運動など明らかなユーグレナ藻の特徴が観察された。眼点の確認されたこと、明瞭な葉緑体を持たないことから二次的に葉緑体を失い、寄生による吸収栄養生活を営んでいる生物であることが示唆された。また、分子系統解析の結果においても光合成性であるユーグレナ目内に位置することが示され、高いブートストラップ値により支持された。しかし、ユーグレナ目内においてはいずれの種とも高い支持の単系統群を形成しなかった。過去の寄生性ユーグレナ類の記載において今回のようなカイミジンコに寄生する種は報告されておらず、形態的特徴からも一致する既知種は存在しない。以上の結果から本種はユーグレナ目の新種であると結論づける。

○寄生様式の解明

カイミジンコの体内での生育・明らかな個体数の増加が確認できたこと、TEM による観察から本種はカイミジンコの殻の内部や体内の組織中にも存在するという驚くべき事実から本種はカイミジンコに寄生していることが明らかになった。一方で、カイミジンコの卵の中に存在しなかったこと、体外では鞭毛による遊泳行動が見られたことから、本種は垂直的な伝播ではなく、宿主の体内で増殖した後に体外へ出て水中を泳ぎ他のカイミジンコの体内へ侵入することが示唆された。また、他種のカイミジンコ・水生動物からは発見されなかったことから、本種は特定の種のカイミジンコに寄生して生活している可能性がある。

今後の展望

本研究ではミドリムシがカイミジンコに寄生するという、全く新しい寄生関係を発見できた。これからも動物の体内に注目して藻類を探索していくことが重要である。また、本種の株の確立、宿主特異性の有無に関する詳細な研究、寄生による宿主への影響の検討が望まれる。



新規寄生性ミドリムシの走査型電子顕微鏡(SEM)画像