

## ナカイムチョウウズムシ *Praesagittifera naikaiensis* の共生藻は何か？

竹歳 桃芳 (筑波大学 生物学類) 指導教員：石田 健一郎 (筑波大学 生命環境系)

### 【背景・目的】

動物と藻類の共生は様々な動物群で知られている。サンゴやイソギンチャクなどの刺胞動物への渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp. (褐虫藻) の細胞内共生や軟体動物のシャコガイへの褐虫藻の細胞外共生などはよく知られている。これらの多くは光合成産物などの物質のやりとりを介した関係を築いている。無腸動物 Convoluta 科のメンバーにおいても、藻類との共生が知られており、プラシノ藻の *Tetraselmis convolutae* を共生藻として持つ *Symsagittifera roscoffensis* や未同定の *Tetraselmis* 属藻類を共生藻として持つ *Convolutriloba longifissura*、褐虫藻を共生させている *Waminoa* 属の種などが報告されている(1)。ナカイムチョウウズムシ(*Praesagittifera naikaiensis*)も成長の初期に環境中から *Tetraselmis* 属藻類を取り込み共生させることが知られている(2)。

*Tetraselmis* 属は伝統的に、ピレノイドの形や鞭毛の毛の構造に基づき形態学的に分類がされてきたが、近年分子系統解析に基づき再分類が行われている。しかし、*S. roscoffensis* を除く Convoluta 科の無腸動物の *Tetraselmis* 属共生藻に関しては、培養株の確立がされておらず、系統分類学的位置も未だ決定されていない。すでに研究が進んでいる *S. roscoffensis* の共生藻と同じであるかどうかを含めて、これらの共生藻がどのような *Tetraselmis* 属藻類であるかを明らかにすることが、Convoluta 科における *Tetraselmis* 属との共生関係の進化を知るうえで重要である。

そこで本研究では、*Tetraselmis* 属藻類と共生する Convoluta 科の一種である *P. naikaiensis* の共生藻について、*S. roscoffensis* の共生藻と同一であるかどうかを確認し、Convoluta 科における共生藻獲得の進化に関する知見を得ることを目的として、共生藻の単藻培養株の確立と、それを用いた分子系統解析および鞭毛の毛の微細構造観察を行った。

### 【材料・方法】

広島県尾道市で採集された *P. naikaiensis* を、10 倍に薄めた ESM 培地を用いて、20°C、明暗周期 12h/12h で維持した。

共生藻の単離培養株を確立するため、*P. naikaiensis* を ESM 中で洗った後に押しつぶし、共生藻をピペット洗浄法で単離して ESM 培地を用いて 20°C、明暗周期 12h/12h で培養、維持した。

*P. naikaiensis* 及び確立された共生藻培養株から DNA を抽出し、PCR により共生藻の 18s rDNA を増幅し、塩基配列を取得した。mafft 及び trimAL によるアラインメント作製を経て、IQtree (TIME+R3 置換モデル) により分子系統解析を行った。また共生藻同定の決め手として、ホールマウント法により *P. naikaiensis* 共生藻の鞭毛の毛の微細構造を透過型電子顕微鏡で観察した。

### 【結果・考察】

本研究により、*P. naikaiensis* の共生藻の単藻培養株 2 株 (TKT-1、TKT-2) の確立に成功した。これら 2 株及び *P. naikaiensis* から直接配列取得した共生藻の 18S rDNA 配列を

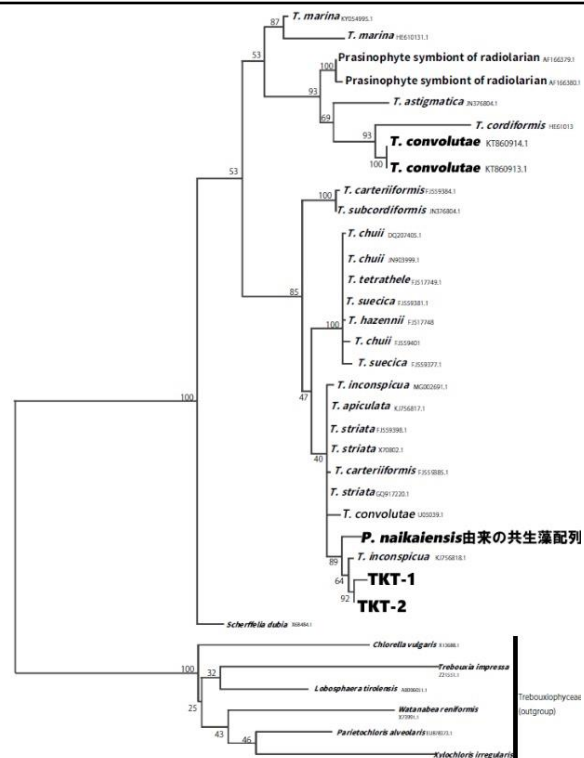


図1 *P. naikaiensis* 共生藻の系統樹

含む分子系統解析の結果、*P. naikaiensis* の共生藻は、*Tetraselmis* 属藻類の系統の中で *T. inconspicua* と共に一つのクレードを形成した(図1)。また、*P. naikaiensis* の共生藻は、*T. convolutae* とは異なるクレードに含まれた(図1)。

電子顕微鏡による観察の結果、TKT-1 および TKT-2 の鞭毛の毛には球形のサブユニットが 26 個あるものが多く観察された(図2、3)。これは、2 個または 30 個のサブユニットを持つ *T. convolutae* とは異なるタイプだと考えられる(3)。

これらのことから、*P. naikaiensis* の共生藻は *S. roscoffensis* の共生藻とは異なる *Tetraselmis* 属の一種であると考えられる。*S. roscoffensis* と *P. naikaiensis* はそれぞれ独立に共生藻との関係を築いたと考えられる。

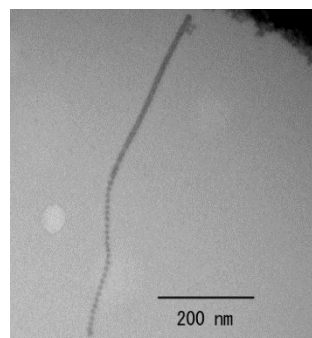


図2 TKT-1の鞭毛の毛

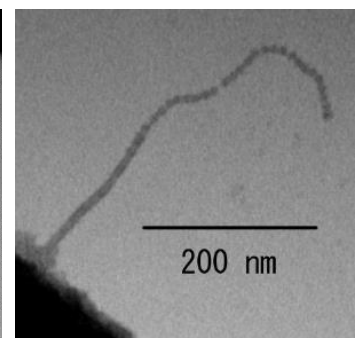


図3 TKT-2の鞭毛の毛

### 【引用文献】

- (1)Achatz et al., Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 48(1)9-32, 2009
- (2)Arimoto et al., GigaScience, 8-4 giz023, 2019
- (3)Marin et al., Phycologia, 32: 213-222, 1993