“新生”西之島から最初に発見された藻類：その同定と侵入種としての特性

武 彩海（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】

西之島は、小笠原諸島の火山島である。陸地から遠く離れた無人島（父島からおよそ 130 km）で、2019 年末からの火山活動により、島全体が溶岩や火山灰に覆われ、生物相がリセットされた。この“新生”西之島は、生態系の一次遷移を観察するのに適した島として、無人探査を中心としたモニタリングが継続的に行われている。このような島での生態系の遷移について、藻類に注目した研究はほとんど行われていない。

2022 年、“新生”西之島で初めて光合成生物のコロニーが発見された。コロニーは降雨時に水流が生じると思われる火山灰表面に生息しており、採取後に培養株（Handa-4259-d 株）として確立された。本研究では、Handa-4259-d 株の同定を行うとともに、侵入種としての特徴を明らかにすることを目的とした。

【方法】

<同定>

淡水培地 AF-6 で培養した Handa-4259-d 株から DNA を抽出し、18SrRNA 遺伝子を PCR で増幅して塩基配列を取得した。BLAST 検索の結果、緑藻 *Micractinium* の一種だと判明したため、*Micractinium* の同定に用いられる ITS1-5.8S-ITS2 領域の塩基配列から最尤系統樹を作成した。系統樹は IQtree (SYM+I+G4 モデル) を使用して作成した。

また、ITS 領域の二次構造も *Micractinium* 内の種の同定に用いられるため、ITS1,2 領域の二次構造を構築した。

<乾燥耐性>

ろ紙に細胞懸濁液を撒き、シャーレ内で 1、3、5、7 日間乾燥させてから液体培地を入れたチューブ内で濾紙を洗い、細胞を培地に懸濁した。その後 20°C、124 $\mu\text{mol photons} / \text{m}^2 / \text{s}^{-1}$ に静置し、培地に細胞を入れた直後と、7、28 日間培養した後に細胞数を計測した。細胞数を計測する際には 2.5% グルタルアルデヒドで固定した。また、乾燥後液体培地で 7 日間培養したものを 2.5% グルタルアルデヒドで固定し、蛍光顕微鏡を用いて葉緑体の自家蛍光を観察した。

<塩耐性>

淡水培地 AF-6 を構成する水の部分を、それぞれ 0,10,25,50,75,100% ろ過海水に置き換えた培地を用いた。6 穴プレートの穴にそれぞれの培地を入れ、 2.0×10^6 個 / mL の濃度になるように細胞を加えた。20°C、24 $\mu\text{mol photons} / \text{m}^2 / \text{s}^{-1}$ で 28 日間静置培養し、7 日間ごとに細胞数を計測した。細胞数を計測する際にはグルタルアルデヒドで固定した。

【結果】

<同定>

ITS1-5.8S-ITS2 領域の系統樹を作成した結果、Handa-4259-d 株は緑藻 *Micractinium thermotolerans* のクレードに位置した。

M. thermotolerans の記載論文 Krivina et al. (2023) を参考にして ITS 領域の二次構造を構築した結果、Handa-4259-d 株と *M. thermotolerans* の間には種の区別に用いられる CBC (二次構造において結合している 2 つの塩基の両方が変化すること) はなかったため、Handa-4259-d 株は *M. thermotolerans* だと同定した。

<乾燥耐性>
1 日以上乾燥させたサンプルでは、28 日間培養しても最大で初期細胞密度の 2.96 倍の増殖に留まり、対照区 (乾燥なし) の 18.51 倍と比較して明確な増殖はなかった。自家蛍光は全てのサンプルで観察できた。

<塩耐性>

対照区 (0% 海水) と比較すると増殖率は低いが、全ての海水濃度で Handa-4259-d 株の増殖がみられ、海水とほぼ同じ塩濃度の培地でも、21 日間で初期細胞密度の 9.67 倍にまで増殖した。

【考察と展望】

本研究の分子系統解析および ITS 領域の二次構造比較により、Handa-4259-d 株は最近新種記載された *M. thermotolerans* と同定された。これは、“新生”西之島において初期に侵入し生育した藻類の一つとして初めて同定されたものである。

“新生”西之島のような一次遷移初期に生物が侵入し定着するためには、ある程度厳しい環境への適応あるいは耐性が必要だと考えられる。*M. thermotolerans* はこれまでに温泉と砂漠で存在が確認されており、実験により熱耐性があることが報告されている (Krivina et al. 2023)。これは、太陽の光を遮るものがない一次遷移初期の環境で生き延びるのに適した性質だと考えられる。

また、塩耐性については、今回 Handa-4259-d 株が 100% 海水濃度の培地でもある程度増殖することが示されたことから、本藻は海水を介して、あるいは海水に晒される状態で“新生”西之島に侵入することが可能だと考えられる。したがって、*M. thermotolerans* は少なくとも、熱耐性と塩耐性の面で、“新生”西之島の一次遷移初期の侵入者として適した性質を有していると考えられる。

本研究ではもう一つ乾燥耐性についても検証を試みたが、葉緑体の自家蛍光は観察できたものの細胞の増殖は確認できなかった。これは、今回細胞を急激に乾燥させすぎたことが原因の可能性はある。

今後は、乾燥耐性について、より緩やかに乾燥させて再検証することに加えて、Handa-4259-d 株が西之島に定着するために重要であると考えられる他の特性についても検証していきたい。例えば、火山灰の上にコロニーを形成したことから低 pH への耐性、火山島であることから硫化水素や重金属への耐性などを調べ、Handa-4259-d 株の一次遷移における初期侵入種としての特性をさらに詳しく解明していきたい。