

北海道大黒島の土壌繊毛虫の同定

熊谷 朋子, 三部 光夫, 明石 典之, 島野 智之 (宮城教育大学・EEC)

Taxonomic study of soil ciliates in Daikoku-island, Hokkaido, Japan

Tomoko KUMAGAI, Mitsuo SANBE, Noriyuki AKEISHI and Satoshi SHIMANO

(EEC, Miyagi University of Education)

SUMMARY

In recent years, soil protists of different regions have been researched, and their species diversity analyzed. A faunistic study of soil ciliates from Daikoku Island, Hokkaido, Japan was done in 2005. Some strains of ciliate were isolated and successfully cultured. We tried to identify these with impregnations and sequence analysis of SSU rDNA by single-cell PCR. They were identified as Class Spirotrichea, Subclass Stichotrichia, and considered to belong to three species in three genera.

[目的] 近年, 様々な地域で土壌原生生物相の解明が行われており, それぞれの地域の種組成が明らかにされてきている。北海道釧路市, 厚岸町の海に位置する大黒島における土壌原生生物のうち, 土壌繊毛虫 (soil ciliates) に焦点を当て, 大黒島の様々な場所から採集してきた土壌よりどのような種を確認できるかを, 培養, 染色等の実験により調査した。

[材料と方法] 本研究では, 2005年, 10月17日に大黒島の, N 42° 57' 21", E 144° 52' 06"の海岸地点付近より, 採集した様々な土壌試料から出現した繊毛虫について単離培養を試み, 培養株を作ることのできた繊毛虫を対象とした。培養方法は, シャーレに1.5%寒天培地を引いたものに土壌サンプル, 蒸留水を加え, そこから観察できた繊毛虫について単離培養をおこなった。単離培養は24穴シャーレと培液 (KCMt (石井, 1999), 土壌浸出液, KCMtと土壌浸出液を1:1で混合したもの) を使用し, 餌には *Chlorogonium* sp. (鞭毛虫) を用いた。以上のような方法で培養できた繊毛虫を同定するために, 光学顕微鏡による観察では, 生細胞観察と固定染色細胞の観察の2つの方法を用いた。生細胞の観察では, メチルセルロース法とワセリン法による観察方法を用いた。また, 固定染色細胞の観察では, 酢酸カーミンによる核染色とプロタルゴール法による繊毛基部の

染色 (Wilbert, 1975) をおこない, 得られた情報から同定を試みた。また, 培養株について, Single-cell PCRにより, SSU rDNAの塩基配列の解析を行い, 解析結果とデータベースの検索により想定された近縁種の情報も同定の参考とした。

[結果] 寒天培地にまいた土壌サンプルより観察できた繊毛虫より, 単離培養を試みた26種の株のうち, *Chlorogonium* sp.での培養に成功したのは5株であった。これらの形態観察の結果, 形態的特徴を整理した。また, SSU rDNAの塩基配列の解析により, 推定される種として可能性の高いものとの比較を行った。

[考察] 培養した株は, 形態的特徴においてどれも繊毛を持ち, 口部周辺に目立ったAZM (Adoral zone of membranelles) が見られることから繊毛虫門 (Ciliophora), 旋毛綱 (Spirotrichea) と考えられる。また, 棘毛を細胞表面に持っていることから棘毛亜綱 (Stichotrichia) と判断した。

棘毛亜綱 (Stichotrichia) を目 (Order) レベルで同定するにはAZM周辺の棘毛, FVC (Frontoventral cirri) の特徴が決め手となる。培養株4は, FVCがライン状で, なおかつジグザグになっていたためOrderはUrostyletidaと判断した。株4以外は, FVCがライン状

ではなかったため、Order はSporadotrichidaと判断し
た。 ゆきたい。

5株それぞれの形態の特徴と文献(高次分類群を例
にすれば, Berger, 1999; Lee, et al., 2000など)に基づ
いて、FVCなどの棘毛の配列, 体長や, AZMの大き
さが体長に占める割合などの比較, およびSSU rDNA
の結果の総合的な検討より, 株3, 株13は同種の
*Oxytricha granulifera*であると同定した。また, 株9,
株20については*Sterkiella histriomuscorum*と同定し
た。

株4については, 現在, 種を同定できるほどの
*Anteholosticha*属の情報との検討が充分ではないた
め, *Anteholosticha* sp. にとどめておくこととした。今
後は, さらに大黒島の土壌繊毛虫相の解明を行って

[文献]

- 1) Berger, H. (1999) Monograph of Oxytrichidae [Ciliophora, Hypotrichia]. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- 2) 石井圭一 (1999) アメーバ図鑑. 金原出版株式会社, 東京.
- 3) Lee, J.J. et al. (2000) The illustrated guide to the protozoa second edition. Allen Press, USA.
- 4) Wilbert, N. (1975) Eine verbesserte Technik der Protargolimpräparation für Ciliaten. *Mikrokosmos*, 64, 171-179.