

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21840

研究課題名(和文)氷河生態系の鍵を握る雪氷藻類寄生性ツボカビの実態解明

研究課題名(英文)A study on parasitic chytrids on snow algae

研究代表者

竹内 望 (TAKEUCHI, NOZOMU)

千葉大学・大学院理学研究院・教授

研究者番号：30353452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：アラスカの氷河表面から採取された試料を分析した結果、氷河表面で繁殖する複数の藻類すべてにツボカビが感染していることが明らかになった。さらにツボカビの雪氷藻類への感染率を求めた結果、氷河の氷の表面よりも融解水が溜まったクリオコナイトホールで高い感染率であることがわかった。さらに北極域の他の地域の氷河の試料を分析した結果、どの地域でも藻類のツボカビ感染を確認することができた。日本の積雪の雪氷藻類を採取し、分析を行った結果、藻類に多数のツボカビが感染していることが明らかになり、ツボカビ感染は広く氷河積雪環境で起きていることがはじめて明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、北極圏の氷河を中心に雪氷藻類の繁殖域が拡大し、氷河表面を暗色に着色し融解速度が速まっていることが報告されている。本研究では、その雪氷藻類には、普遍的にツボカビが寄生していることが明らかになった。このことは、ツボカビは藻類による氷河の融解加速を抑制する効果があることを示唆している。今後さらに詳しい解析が必要であるが、氷河上の藻類とツボカビの関係を明らかにすることは、雪氷圏の将来予測に重要となる可能性がある。さらに、日本の積雪にも藻類に寄生するツボカビの存在が広く明らかになったことは、日本でもまだ理解の進んでいない積雪上の生態系解明に重要な意味をもつ。

研究成果の概要(英文)：Snow and glacier algae, which are photosynthetic microbes growing on snow and ice, are often observed to be infected by parasitic chytrid fungi. In this study, we described morphology of chytrid infecting glacier algae and quantified their prevalence of infection in different habitats on a mountain glacier in Alaska. A glacier alga, *A. nordenskioldii*, was dominant on the ablating ice surface of the glacier and was often infected by chytrids. Although the prevalence of infection did not significantly vary among the different elevations of the glacier, it was significantly higher for algae in cryoconite holes (20%) than those on ice surface (4%). This indicates that chytrid infection actively spread more in cryoconite holes compared with on the ice surface. Results suggest that cryoconite holes are hot spots of chytrid infection of glacier algae, and dynamics of cryoconite holes may affect the growth rate or mortality of the algae on glaciers.

研究分野：雪氷生物学

キーワード：氷河 積雪 ツボカビ 雪氷藻類 暗色化 寄生

1. 研究開始当初の背景

極地や高山に分布する氷河や積雪には、低温環境に適応した藻類を含む多様な生物が生息している。近年行われるようになった DNA 解析により、雪氷上にはカビやキノコの仲間である菌類も存在し、中でもツボカビが優占的に出現することが明らかになってきた。ツボカビは、藻類に寄生し藻類の大量死の原因となるため、湖沼や海洋などの水圏環境の生態系に大きな影響力をもつことが知られている。しかしながら、雪氷上のツボカビの生活史や生態（腐生性か寄生性か）など、その実態はほとんど明らかになっていない。応募者は雪氷藻類にツボカビが寄生している様子を確認しており（図）、氷河生態系の一次生産者である雪氷藻類の変動にツボカビが大きな影響を与えていると考えている。実際、このような雪氷上の藻類にも寄生するツボカビが、1940年代にすでに記載されているが（図）、単離培養が困難であることから、その後研究は全く進められていない。

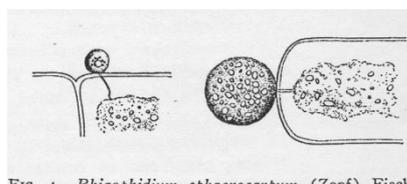
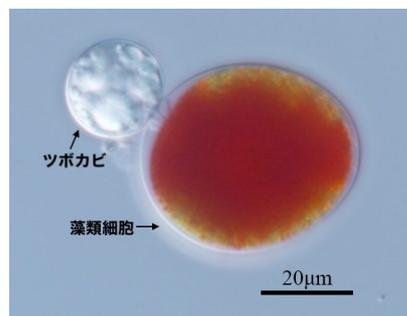


FIG. 4.—*Rhizophidium sphaerocarpum* (Zopf) Fisché
László Bérczi, new subspecies

図（上）雪氷藻類の細胞に寄生したツボカビの顕微鏡写真（下）氷河性の藻類細胞に寄生するツボカビのスケッチ（Kol, 1942）

2. 研究の目的

そこで本研究は、氷河や積雪上のツボカビの生活史や生態の解明を行い、この雪氷性のツボカビが雪氷藻類への寄生を通じて氷河生態系に与える影響を明らかにすることを目的とする。近年の地球温暖化は、世界各地の氷河や積雪の融解を加速し、雪氷上の生物群集にも大きな影響を及ぼしている。雪氷生物群集の地理的な分布や経年変動は、従来氷河の物理的または化学的要因の変化で説明されることが多かった。現在まで全く見過ごされてきたツボカビの寄生による大量死などといった生物間の関係の解明は、温暖化の影響で注目される氷河生態系の研究方向を大きく変革・転換させる潜在性を有する。

3. 研究の方法

本研究では「氷河や積雪上には、雪氷藻類に寄生する寒冷環境に適応した特殊なツボカビが存在し、その寄生率が雪氷上の藻類群集さらには氷河生態系に大きな影響を与える。」という作業仮説を検証する。そのための調査対象地域として、異なる雪氷藻類群集が存在する国内2地域、海外1地域の合計3地域を選定した。日本国内の2地域は富山県立山および山形県月山で、どちらの地域も日本有数の豪雪地帯であり、毎年春の融雪期には雪面が藻類の繁殖によって赤や緑に染まる彩雪現象が現れる。両地域では優占する雪氷藻類が異なり、主に立山では緑藻のクラミドモナス属、月山ではクロロモナス属が優占する。さらに、海外の調査地域としてアクセスの良いアラスカのグルカナ氷河を選定した。アラスカを含む北極地域の氷河には、日本では見られない氷河性の藻類が繁殖しており、特に代表的な接合藻類の1種、*Ancylonema nordenskiöldii* は古くからツボカビの寄生が報告されている。これらの地域で、それぞれ異なる藻類群集に存在するツボカビの実態を探るために雪氷試料を採取する。

採取した試料を用いて、雪氷藻類に寄生するツボカビの実態解明のための分析を行う。まず各調査地で採取した試料中の雪氷藻類および菌類の種構成を明らかにするため、ツボカビおよび藻類の DNA および RNA の 18rRNA および ITS 領域を対象にしたメタバーコーディング解析を行う。同時にツボカビと宿主藻類の種同定および対応関係を明らかにするため、顕微鏡下でツボカビが寄生した藻類の1細胞を採取し、その DNA 配列を解読するシングルセル解析を行う。以上の分析によって、各地域の雪氷上に生息するツボカビの種類およびそれぞれがどの藻類種に寄生しているのかの宿主特異性を明らかにする。さらにこれまで蓄積してきた世界各地の雪氷圏のゲノム配列データと照合し、雪氷上の藻類とツボカビの世界分布や出現頻度を明らかにし、世界的な寄生分布ネットワークの構造を明らかにする。

各採取試料中の雪氷藻類のツボカビの寄生率を求め、顕微鏡下で藻類細胞のツボカビ寄生の有無のカウントや、FISH 法によるツボカビの種特異的な蛍光染色を行い定量データを得る。藻類のツボカビの寄生率は、調査を行った場所、時期や雪氷の物理条件（積雪深、含水率、結晶サイズ、日射）や化学条件（pH、溶存化学成分、不純物量）と比較しながら、調査地点ごとにツボカビの寄生率を決める要因、藻類群集構造への影響およびツボカビの生活史を推定する。以上の研究を実施するため、本研究ではツボカビ、藻類、DNA 解析、および微生物群集の各専門家で構成される研究体制を整えた。野外調査および雪氷化学、生物分析を研究代表者の竹内が担当し、ツボカビの顕微鏡分析、分類、シングルセル解析を分担者の鏡味、氷河試料のメタゲノム

解析を分担者の瀬川，微生物群集の解析を分担者の村上，さらに雪氷藻類の培養，分類を研究協力者の松崎が担当する．

4．研究成果

アラスカのグルカナ氷河で 2015 年に採取し保管してあったホルマリン固定の雪氷試料を使って分析を行なった．アラスカの氷河では，接合藻の 1 種 *Ancylonema nordensholdii* に寄生しているツボカビが古い文献に報告されている (Kol, 1948)．分析の結果，氷河上の標高の異なる 3 箇所の試料のすべてから，接合藻の 1 種 *Ancylonema nordensholdii* に寄生する多数のツボカビを確認することができた．ツボカビの形態を詳しく蛍光顕微鏡で観察したところ，孢子嚢や仮根の形態が異なる複数種が存在し，少なくとも 3 種に分けることができた (図 1) ．

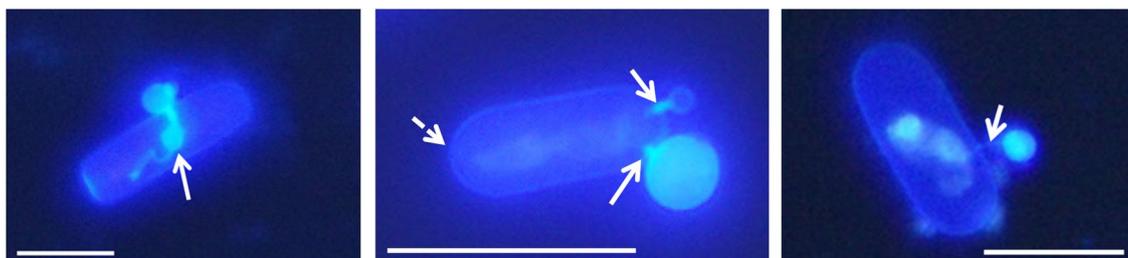


図 1 アラスカ・グルカナ氷河の藻類細胞に寄生していたツボカビ．矢印は禍根を示す．スケールバーは，10 μm

ツボカビの孢子嚢のサイズによる分類をした結果，藻類に寄生してまもないツボカビから，寄生後藻類内容物を吸い取って遊走子を放出したのものなど，ツボカビの生活史を段階的に辿ることができた．このような観察結果は，実際に氷河上でツボカビが雪氷藻類細胞に積極的に寄生して活動していることを示している．さらに氷河上の氷表面の試料とクリオコナイトホールと呼ばれる水溜りの試料の雪氷藻類のツボカビの被寄生率を求めた結果，クリオコナイトホールの藻類の方がツボカビに寄生されている割合が大きく，高いところでは 30% を超えることが明らかになった (図 2) ．このことは，クリオコナイトホールが氷河上の藻類のツボカビ感染のホットスポットとなっていることを示している．クリオコナイトホールで感染率が高いのは，安定な水環境があるためと考えられるが，くわしくは今後の調査が必要である．

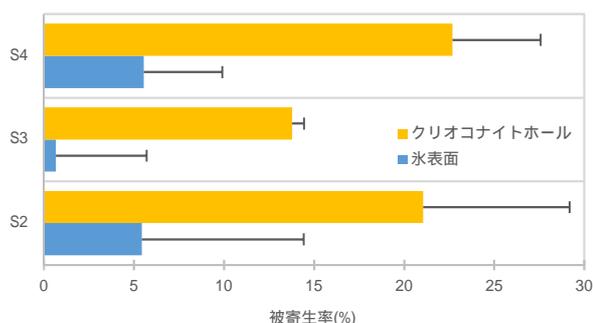


図 2 アラスカ，グルカナ氷河上の標高の異なる 3 箇所 (S2, S3, S4) での，クリオコナイトホールと氷表面の藻類 (*Ancylonema nordensholdii*) のツボカビ寄生率の比較

さらに，グルカナ氷河の *Ancylonema nordensholdii* 以外の藻類種に寄生するツボカビの分析を行なった．その結果，積雪に赤雪現象を引き起こすことで知られる *Sanguina nivaloides* や，裸氷域で繁殖し暗色素をもつ *Ancylonema Alaskana* にも，ツボカビが感染していることが明らかになった．感染率を求めたところ，5-50%と場所や季節によって異なることがわかった．また，いずれの藻類もクリオコナイトホール中が，もっとも感染率が高いことがわかった．以上の結果から，氷河上では，藻類のツボカビ感染は種に関わらず普遍的に起きていること，またクリオコナイトホール内で最も感染率が高いことが明らかになった．

アラスカ以外の北極域のグリーンランド，スバルバル，シベリアの氷河の試料についても同様に藻類に寄生するツボカビの顕微鏡観察を行った．その結果，どの氷河でも藻類 *Ancylonema nordensholdii* に寄生するツボカビが確認できた．このことから，氷河上藻類のツボカビ感染は，北極域全域で普遍的に起きていることが明らかになった．

ツボカビの系統的な種を解明するために，アラスカ，グリーンランド，スバルバル，シベリアの氷河の冷凍試料を用いて，シングルセル DNA 配列の解析を試みた．その結果，どの試料を用

いても PCR で増幅することができず，DNA 配列を読むことができなかった．原因ははっきりとはわからないが，試料が古いためかまたはツボカビの細胞壁がうまく破壊できずに DNA が抽出されなかった DNA データベースに登録されたツボカビが限定的である可能性があるが，引き続き抽出作業を工夫し DNA 解析を試みる予定である．

国内積雪について山形県の月山の積雪の調査を 2021 年 5 月に行った．月山のブナ林に林床の緑雪を採取し，藻類細胞に寄生しているツボカビについて分析を行った．その結果，5 月に積雪表面で繁殖している緑藻類(クロロモナス属)に，多数のツボカビが感染していることが明らかになった．このツボカビのシングルセル DNA 解析を行ったところ，数サンプルで成功し，その配列は世界各地の積雪から報告されているツボカビ(Snow clade)に近い系統であることが明らかになった．このことは，世界各地の積雪上で繁殖するツボカビが，系統的に近い関係にあることを示している．

以上の通り，本研究では北極圏の氷河表面，および国内積雪の表面に繁殖する藻類に寄生するツボカビの分析を行った．その結果，雪氷藻類へのツボカビの寄生は，氷河や積雪もふくめて，普遍的に起きている現象であることが明らかになった．今後の課題として，各ツボカビの種を DNA 分析で解明すること，藻類とツボカビの種依存性の有無を確認すること，藻類の個体群動態にツボカビがどの程度影響しているのかを明らかにすることである．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Fiolka Marta J., Takeuchi Nozomu, Sofiska-Chmiel Weronika, Wjciak-Mieszawska Sylwia, Irvine-Fynn Tristram, Edwards Arwyn	4. 巻 11
2. 論文標題 Morphological and spectroscopic analysis of snow and glacier algae and their parasitic fungi on different glaciers of Svalbard	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-01211-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hotaling Scott, Lutz Stefanie, Dial Roman J., Anesio Alexandre M., Benning Liane G., Fountain Andrew G., Kelley Joanna L., McCutcheon Jenine, Skiles S. McKenzie, Takeuchi Nozomu, Hamilton Trinity L.	4. 巻 220
2. 論文標題 Biological albedo reduction on ice sheets, glaciers, and snowfields	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Earth-Science Reviews	6. 最初と最後の頁 103728 ~ 103728
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.earscirev.2021.103728	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Kagami Maiko, Seto Kensuke, Nozaki Daiki, Nakamura Takaki, Wakana Hirano, Wurzbacher Christian	4. 巻 66
2. 論文標題 Single dominant diatom can host diverse parasitic fungi with different degree of host specificity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Limnology and Oceanography	6. 最初と最後の頁 667 ~ 677
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/lno.11631	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Song P, Yi R, Tanabe S, Goto N, Seto K, Kagami M, Ban S	4. 巻 87
2. 論文標題 Temporal variation in community structure of zoospore fungi in Lake Biwa, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Aquatic Microbial Ecology	6. 最初と最後の頁 17 ~ 28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3354/ame01970	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoneya K, Miki T, den Wyngaert SV, Grossart HP, Kagami M	4. 巻 -
2. 論文標題 Non-random patterns of chytrid infections on phytoplankton host cells: mathematical and chemical ecology approaches	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Aquatic Microbial Ecology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3354/ame01966	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Klawonn Isabell, Dunker Susanne, Kagami Maiko, Grossart Hans-Peter, Van den Wyngaert Silke	4. 巻 -
2. 論文標題 Intercomparison of Two Fluorescent Dyes to Visualize Parasitic Fungi (Chytridiomycota) on Phytoplankton	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbial Ecology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00248-021-01893-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小林綺乃, 竹内望, 鏡味麻衣子
2. 発表標題 アラスカ・グルカナ氷河における雪氷藻類に寄生するツボカビの感染率
3. 学会等名 雪氷研究大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林綺乃, 竹内望, 鏡味麻衣子
2. 発表標題 アラスカ・グルカナ氷河における 雪氷藻類に寄生するツボカビに関する研究
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野誠仁, 薄羽珠ノ介, 竹内望
2. 発表標題 積雪中を垂直移動する雪氷微生物の日周期
3. 学会等名 雪氷研究大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木拓海, 竹内望, 小野誠仁
2. 発表標題 山形県月山の高山帯における赤雪の分布
3. 学会等名 雪氷研究大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木拓海, 竹内望
2. 発表標題 山形県月山の積雪に現れる雪氷藻類による彩雪現象の高度分布と季節変化
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野誠仁, 薄羽珠ノ介, 竹内望
2. 発表標題 雪氷環境に適応した雪氷微生物の積雪内における垂直移動の日周期
3. 学会等名 日本陸水学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木拓海, 高橋翼, 瀬戸大貴, 薄羽珠ノ介, 竹内望
2. 発表標題 富山県立山劔沢雪渓における秋季の雪氷藻類による彩雪現象
3. 学会等名 日本山の科学会秋季研究大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鏡味麻衣子
2. 発表標題 見えると楽しい! 目に見えない水中の微生物 (みんなのジュニア生態学講座)
3. 学会等名 日本生態学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鏡味麻衣子, 望月学, 寿路, 橋爪達郎, 中西博亮, 栗山尚子, 勝原向日葵, 瀬戸健介
2. 発表標題 プランクトンの相互作用を紐解く ~ 単離・培養・実験方法 ~
3. 学会等名 個体群生態学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鏡味麻衣子
2. 発表標題 藻類にとりつく様々な菌類たち: 宿主寄生者関係と生態系への影響
3. 学会等名 日本藻類学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林綺乃, 竹内望, 鏡味麻衣子
2. 発表標題 アラスカ州グルカナ氷河における雪氷藻類に寄生するツボカビに関する研究
3. 学会等名 雪氷研究大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 占部 城太郎、日浦 勉、辻 和希、鏡味 麻衣子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 共立出版	5. 総ページ数 192
3. 書名 植物プランクトン研究法	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鏡味 麻衣子 (Kagami Maiko) (20449250)	横浜国立大学・大学院環境情報研究院・教授 (12701)	
研究分担者	村上 正志 (Murakami Masashi) (50312400)	千葉大学・大学院理学研究院・教授 (12501)	
研究分担者	瀬川 高弘 (Segawa Takahiro) (90425835)	山梨大学・大学院総合研究部・講師 (13501)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	松崎 令 (Matsuzaki Ryo)	筑波大学 (12102)	
研究協力者	小林 綺乃 (Kobayashi Kino)	千葉大学・大学院融合理工学府・修士課程 (12501)	
研究協力者	小野 誠仁 (Ono Masato)	千葉大学・大学院融合理工学府・博士課程 (12501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
ポーランド	Maria Curie-Skodowska University		