

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07888

研究課題名(和文) 高速増殖型系統群を含む小型キートケロス属の分類に関する再検討と分布域の解明

研究課題名(英文) Distribution of marine diatom small *Chaetoceros* spp. in coastal area in Japan and the classification using the technique of molecular biology

研究代表者

一見 和彦 (ICHIMI, KAZUHIKO)

香川大学・農学部・教授

研究者番号：70363182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：北海道および九州南部以南では小型*Chaetoceros*属の分布を確認できなかったが、東北から九州北部の潮間帯で出現した藻体を単離、培養株を作成し、DNAバーコーディングにより28S-rDNA領域の塩基配列を解読した。その結果、我が国の浅海域に生息する小型*Chaetoceros*属は、単離海域により塩基配列にわずかな差異が認められるものの、種の多様度は小さく、一部を除いて*C. salsugineum*ないし*C. calcitrans*のいずれかのグループに分類された。また、本研究で得られた両グループの培養株はすべて高速増殖型であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高速増殖型の*Chaetoceros*属は、海域の一次生産者、高度な光合成活性を有する微細藻、遺伝子資源等の観点から重要な生物種であるが、種間の形態的特徴が酷似しており、種同定が非常に困難である。小型*Chaetoceros*は極めて多くの種が報告されている中で全世界的にもその分類が混乱しており、特殊な能力を有する生物群として整理する必要があった。本研究は小型*Chaetoceros*属が我が国に広く分布することを示すとともに、出現する種はほぼ2グループに限られることを明らかにした。またこれらがすべて高速増殖型であり、種名が特定されたカルチャーコレクションとして提供可能となった。

研究成果の概要(英文)：Small *Chaetoceros* spp. did not occur in the region in Hokkaido and southern Kyushu island, however, we could isolate the cells and make culture strains in the intertidal zone from northeast to northern Kyushu island in Japan. We analyzed the base sequence at the 28S-rDNA region of tested alga by DNA-barcoding. As a result, the small *Chaetoceros* spp. that distributed in shallow water in Japan showed small difference in the nucleotide sequence depending on the isolated sea area. The diversity of species was small. It was classified into two groups as *C. salsugineum* or *C. calcitrans*. In addition, the obtained culture strains of both groups showed rapid growth, and that two groups of *Chaetoceros* were widely distributed in coastal sea area in Japan.

研究分野：浅海域の低次生産に関わる生物群の生態と海域の物理化学環境

キーワード：植物プランクトン 珪藻 *Chaetoceros* 潮間帯 DNAバーコーディング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、瀬戸内海の河口干潟域において極めて高い増殖速度を有する小型 *Chaetoceros* を分離した (Ichimi et al., 2012)。本種の増殖速度は高水温、高照度の培養条件下で 10 分裂 / 日を超え、これまでに報告されてきた植物プランクトンの増殖速度と比較して桁違いに大きい。これら高速増殖型の小型 *Chaetoceros* 属は、周辺海域において極めて重要な一次生産者となっている可能性があると共に、高度な光合成活性を持ち、遺伝子資源としても全世界的に注目されつつある。一方、多種にわたる小型 *Chaetoceros* 属は、その形態が酷似することから、形態的な特徴のみで種の同定を行うことはきわめて困難であり、分子生物学的手法を用いて混乱する種の分類を再検討する必要がある。

2. 研究の目的

(1) 研究代表者が見出した高速増殖型の *Chaetoceros* 属を含め、我が国沿岸域に生息する小型 *Chaetoceros* 属について、様々な海域で小型 *Chaetoceros* を単離して培養株を作成し、カルチャーコレクションとして管理する。

(2) 分子生物学的手法を用い、小型 *Chaetoceros* を種同定し整理するとともに、我が国沿岸における分布特性を明らかにする。

(3) 種間および分布海域間によってどのように増殖能力が異なるのか、培養試験により明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 多様な水温帯にまたがる、北日本から南西諸島の様々な浅海域で試料海水を採取し、マイクロピペット法により出来る限り多くの小型 *Chaetoceros* を分離し、培養株を作成する。また研究機関等に保有されている既存の小型 *Chaetoceros* 属についても入手する。

(2) 得られた培養株について走査型・透過型電子顕微鏡を用いて精査し、各グループが有する特徴的な形態・微細構造を整理するとともに、*Chaetoceros* 属に関して先行研究例が多い 18S-rDNA および 28S-rRNA 領域を解読し、同一ないし類似する塩基配列を有するグループに区分する。以上から、小型 *Chaetoceros* 属の分類を再編成する。

(3) これらの培養株について水温および光強度に対する増殖応答を検証し、異なる種間および異なる海域で分離された株間により増殖特性がどのように異なるのか実験的に検証する。

4. 研究成果

(1) 小型 *Chaetoceros* は北海道および、九州南部以南の海域では出現せず、培養株を得ることはできなかったが、東北から九州北部海域ではいずれかの小型 *Chaetoceros* が出現した。培養株が得られた海域は、仙台湾、鳥の海、東京湾、三河湾、瀬戸内海東部から西部、有明海であり、小型 *Chaetoceros* は我が国沿岸域に普遍的に生息していることが明らかとなった (図 1)。

(2) 18S-rDNA 領域および 28S-rDNA 領域を解読した結果、18S 領域では詳細な分類が出来ず、*Chaetoceros* 群の種同定には 28S 領域が有効と考えられた。得られた解析結果から作成した系統樹を図 2 に示す。分離した海域によってごくわずかな塩基配列の差異が認められたものの、我が国沿岸では大きなグループとして *C. salsugineum* と *C. calcitrans* の 2 種類の小型 *Chaetoceros* 属が卓越していると考えられた。また *C. calcitrans* は東日本で卓越し、*C. salsugineum* は西日本で卓越する分布傾向が認められた。小型 *Chaetoceros* 属には多くの種類が報告されているが、本研究の結果は、我が国沿岸に分布する小型 *Chaetoceros* 属の種組成は多様ではなく、遺伝子多型を含めた 2 種によって特徴付けられることが明らかとなった。



図 1 サンプルング地点と出現した小型 *Chaetoceros* 種

種組成は多様ではなく、遺伝子多型を含めた 2 種によって特徴付けられることが明らかとなった。

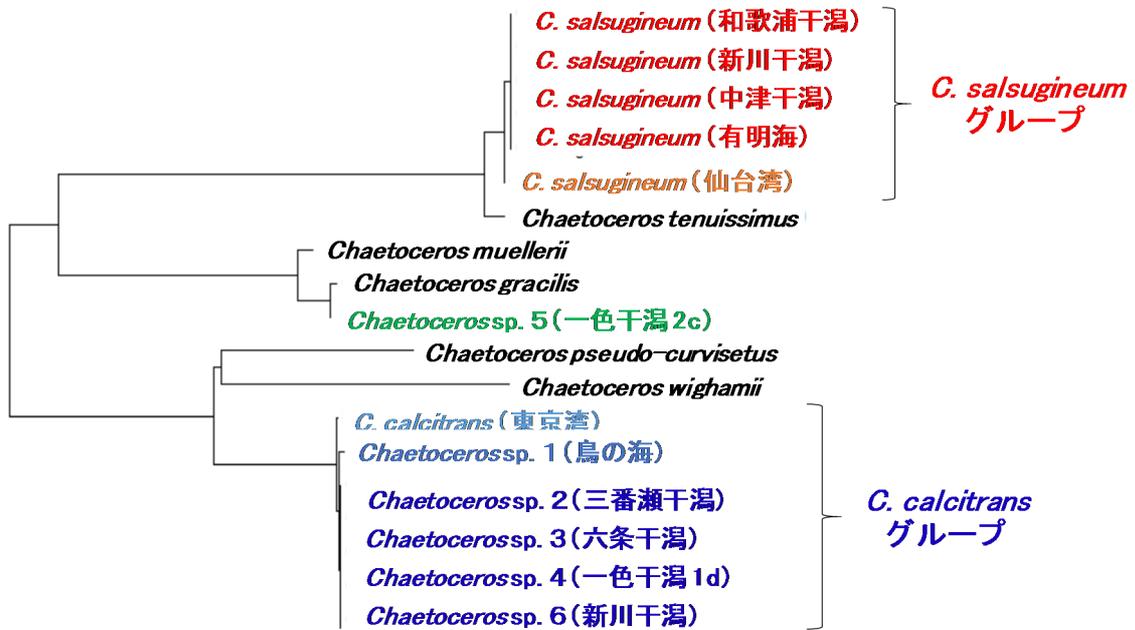


図2 28S-rDNA領域の解析により作成した小型 *Chaetoceros* 培養株の系統樹。和歌浦干潟、新川干潟、中津干潟は瀬戸内海のサンプリング地点（以上、*C. salsugineum*）を示す。同様に、鳥の海は宮城県沿岸、三番瀬干潟は東京湾、六条干潟、一色干潟は三河湾のサンプリング地点（以上、*C. calcitrans*）を示す

(3) 各株の温度応答について検証した結果、瀬戸内海・新川干潟で分離された *C. salsugineum* は、仙台湾で分離された *C. salsugineum* と比較して明らかに高温に適応しており、40 付近まで高い増殖速度を維持していた（図3）。*C. calcitrans* についても同様に、瀬戸内海・新川干潟で分離された株は、東京湾で分離された株と比較して明らかに高温適応であり、本株も40 付近まで高い増殖速度を維持していた（図3）。この増殖特性は環境傾斜の大きな干潟環境に適応した戦略と推察される。

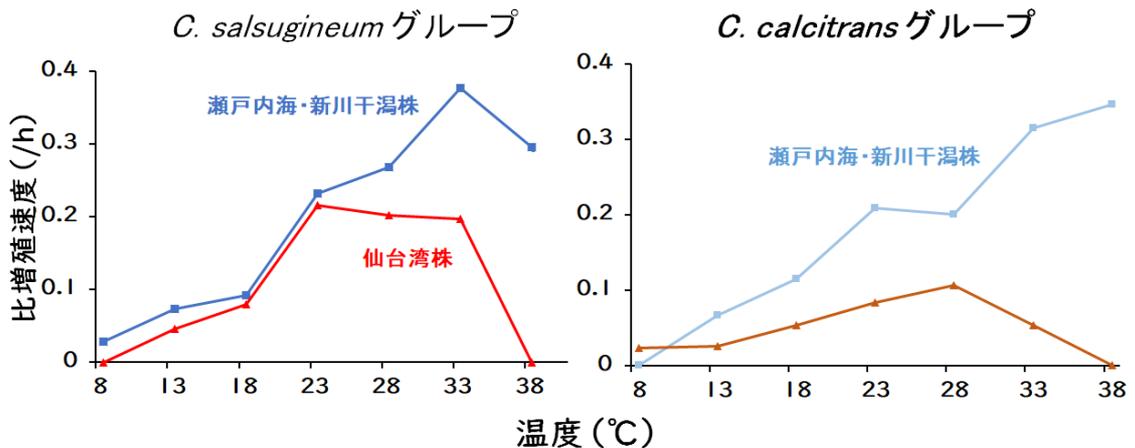


図3 *C. salsugineum* および *C. calcitrans* の各グループに分類される培養株の温度に対する増殖応答

同様に、各株の光強度に対する応答について検証した結果、瀬戸内海・新川干潟で分離された *C. salsugineum* は、仙台湾で分離された *C. salsugineum* と比較して高い光強度で高い増殖速度を示した（図4）。*C. calcitrans* はその傾向がさらに強くなり、瀬戸内海・新川干潟で分離された株は、東京湾で分離された株と比較して明らかに強光に適応しており、東京湾株は強光下でむしろ増殖速度が低下した（図4）。この増殖特性も環境傾斜の大きな干潟環境に適応した戦略と推察される。

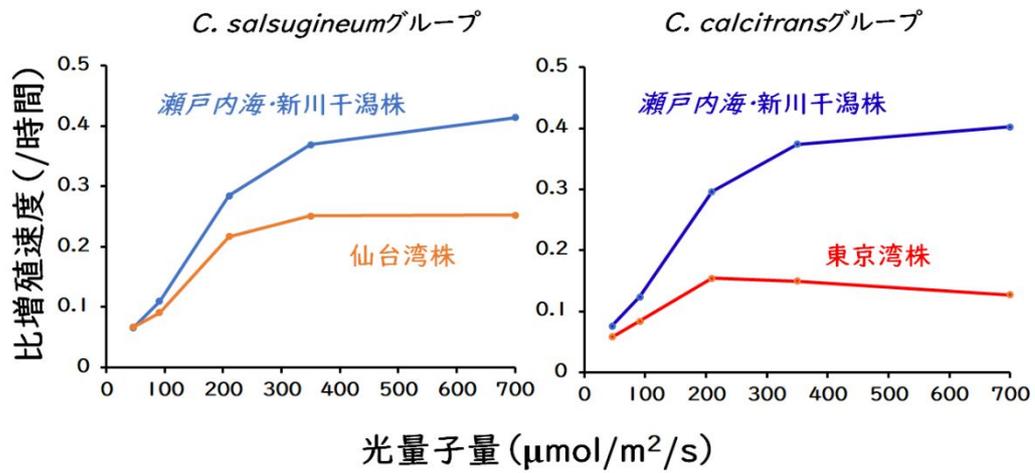


図4 *C. salsugineum* および *C. calcitrans* の各グループに分類される培養株の光強度に対する増殖応答

C. salsugineum および *C. calcitrans* のいずれのグループにおいても、比較した株間にはその増殖特性に明瞭な差異が認められたが、28S-rDNA 領域の塩基配列には約 500 塩基中に数塩基の違いしか認められず、同種間でありながら、生息海域によって増殖特性が大きく異なっていることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 一見和彦, 野村美加, 山口一岩, 多田邦尚
2. 発表標題 高速増殖能力を有する小型Chaetoceros属
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野智也, 山口一岩, 多田邦尚, 一見和彦
2. 発表標題 高速増殖珪藻小型Chaetoceros属の屋外培養
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野智也, 山口一岩, 多田邦尚, 一見和彦
2. 発表標題 高速増殖珪藻小型Chaetoceros calcitransの屋外培養
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 一見和彦, 山崎貴登, 野村美加
2. 発表標題 DNAバーコーディングによる小型Chaetocerosの分類と増殖特性
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----