

〈第 38 回山崎賞〉

水生生物の共生～ホウネンエビと藻類～

静岡県立磐田南高等学校

生物部 2年 平松七葉 1年 落合穂花 古田善孝

1 動機・目的

ホウネンエビとは田に発生する 20 mmほどの甲殻類である（資料 1）。資料 1 の○印で示した部分を鰓脚（さいきゃく）といい、えらと遊泳運動器官を兼ねる。その鰓脚に資料 2 のように藻類が付着することがある。

ホウネンエビは藻類が光合成により放出した O_2 を利用できるのではないかと考え、この 2 種の間

藻類はホウネンエビから光合成に不可欠な CO_2 を得られるのではないかと考え、この 2 種の間

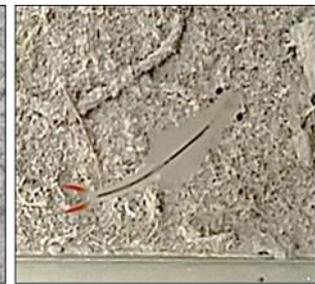
共生関係があるという仮説を立てた。ホウネンエビに付着する藻類の同定をし、共生関係解明への一歩として、藻類側からの利益を証明することが研究の目的である。



資料 1 鰓脚



↑藻類付着あり個体



↑藻類付着なし個体

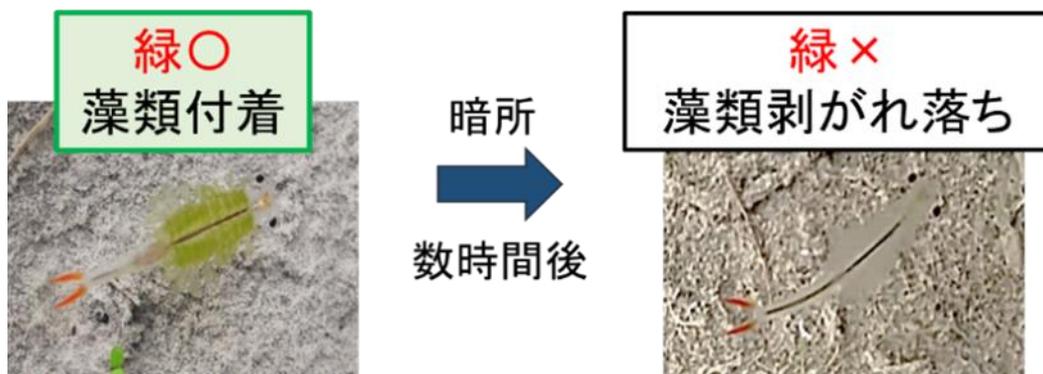
資料 2

2 ホウネンエビとは

田に発生する甲殻類である。5 月ごろに現れ、卵をうみ、7 月ごろまでに姿を消す。田に生まれた卵はその後、乾燥状態で冬を越す。資料 1 で示した部分を鰓脚といい、えらと遊泳運動器官を兼ねる。正の光走性を持つ。

3 予備実験〈ホウネンエビに藻類を付着させるためには〉

田の土を採取し、含まれる卵からホウネンエビを孵化させた。孵化から約 10 日後には藻類が付着した。また、藻類が付着して緑色になっていたホウネンエビを暗所に置くと、数時間で緑色でなくなることを確認された。



資料 3 予備実験

4 仮説

これらのことから3つの仮説を立てた。

仮説1：明所では光合成をする藻類は、ホウネンエビの呼吸により CO_2 を効率的に得られるという利益がある。

仮説2：暗所において、藻類も呼吸のみを行うため、双方にとって付着は不利益になる。

仮説3：ホウネンエビに付着する藻類は、ホウネンエビの条件により、自ら付着や剥がれ落ちを行う。

5 材料・機器

下記の材料・機器を用いて実験を行った。

ホウネンエビ *Branchinella kugenumaensis* ・藻類・

人工気象器・ボルテックス攪拌機・pH計・スマートフォンのカメラアプリ・

直径3cm シャーレ・顕微鏡・スポット・ガスバーナー・炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3) ・置き水(カルキ抜きをした水)

6 方法

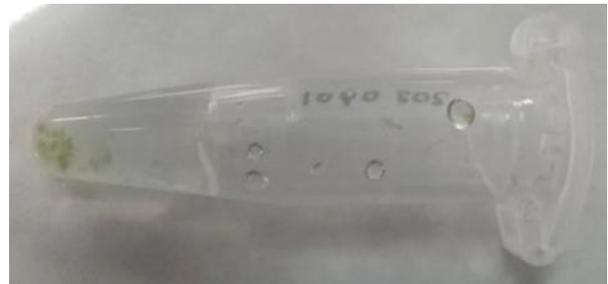
(1) 顕微鏡観察

付着した藻類の顕微鏡観察をし、藻類の同定のための試料とする。田から採取したホウネンエビと、田の土に含まれる卵からホウネンエビを孵化させ、田の土がある環境で飼育したホウネンエビを用意した。

藻類が付着したホウネンエビの鰓脚を切り取り、ボルテックス(攪拌)して藻類の採取を試みた。採取した藻類は、静岡大学未来の科学者養成スクールにて同定をしていただく。



資料4 ボルテックスに使用した機器



資料5 採取した藻類

(2) 藻類の剥がれ落ち方：「明所と暗所」による差

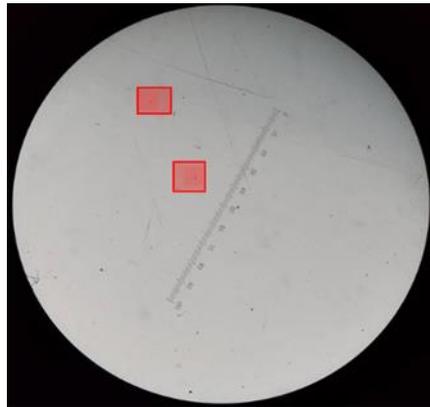
予備実験で、暗所に置くと緑色だったホウネンエビが緑でなくなることが確認されたため、暗所と明所での藻類の剥がれ落ち方について実験を行った。

ア 藻類の付着したホウネンエビを、1匹ずつ3cm シャーレに入れる。

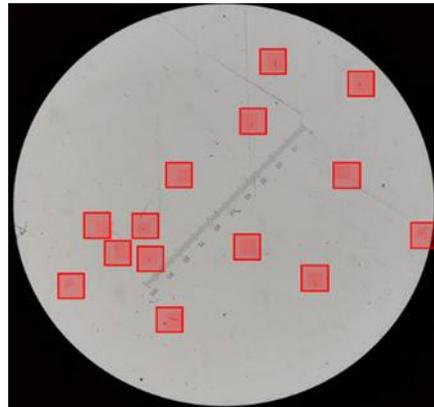
後に水中の藻類数を計測するため、小さいサイズのシャーレを使用した。

イ これらを暗所と明所に24時間おく。「暗所」には覆いをつけ、両方を恒明状態の人工気象器に入れた。このとき、ホウネンエビの活動の違いを観察したが、明所と暗所でホウネンエビの活動に大きな差は見られなかった。よって「明所」と「暗所」の代謝の差は小さく、実験に及ぼす影響は無視してよいと考える。

- ウ 水中の藻類数を計測する。倍率 100 倍で写真を撮り、写真の視野に入った藻類の数を 40 か所ずつ数え、平均を算出する。これにより、水中に剥がれ落ちた藻類数を数えたことになる。



明所



暗所

資料 6 倍率 100 倍顕微鏡視野の様子 (赤で示すのは藻類)

(3) 藻類の剥がれ落ち方：「明所での CO_2 量の違い」による差

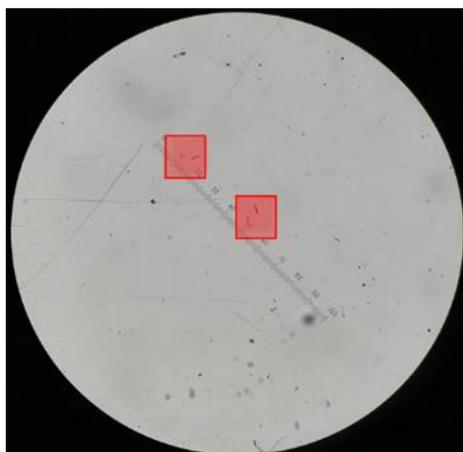
水中に十分な量の CO_2 があれば、藻類はハウネンエビに付着する利点が少なくなるのではないかと考え、 CO_2 を多く含む置き水を作成して、通常の置き水に入れたときと比較した。

NaHCO_3 を熱し、 CO_2 を発生させる。発生した CO_2 を置き水に通し、 CO_2 が溶け込ませることで、 CO_2 水を生成した。このとき pH を計測し、 CO_2 が溶け込んだことを確認した。

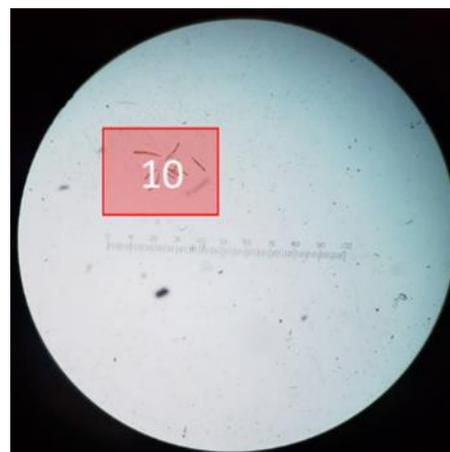
ア 藻類の付着したハウネンエビを、通常の置き水と生成した CO_2 水に入れる。

イ これらを恒明状態の人工気象器に入れ、24 時間おいた。このときハウネンエビの活動の違いを観察したが、置き水に入れたときと CO_2 水に入れたときでは、ハウネンエビの活動に大きな差は見られなかった。よって CO_2 水中の個体と置き水中の個体の代謝の差は小さく、実験に及ぼす影響は無視してよいと考える。

ウ 水中の藻類数を計測した。(2)と同じように、倍率 100 倍で視野に入った藻類の数を 20 か所ずつ数え、平均を算出する。



Normal



CO_2 水

資料 7 顕微鏡視野の様子 (赤で示すのは藻類)

6 結果

(1) 顕微鏡観察

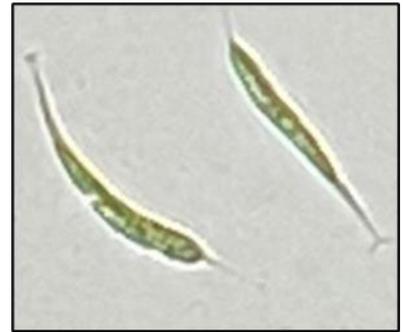
田から採取したホウネンエビには資料8のような藻類が、田の土に含まれる卵を孵化させたホウネンエビには資料9のような藻類が付着していた。これらは同様の藻類に見えた。このことからホウネンエビに付着する藻類は田の土に含まれていることがわかった。また、付着部分には資料10のような突起が見られた。これらは先行研究である園山博氏の「ホウネンエビの胸肢に付着する藻類」にホウネンエビに付着すると記載されている *Korshikoviella gracilipes* という藻類と類似していた。



資料8
自然のホウネンエビに
付着した藻類



資料9
飼育している個体に
付着した藻類



資料10 付着部分の突起

(2) 「明所と暗所」による差

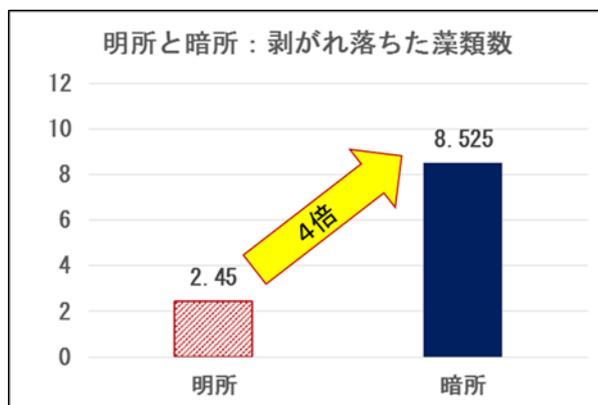
結果は資料11のようになった。

赤色で示したものが明所、青色で示したものが暗所である。暗所では、明所の4倍近い藻類が、鰓脚から水中に剥がれ落ちることがわかった。

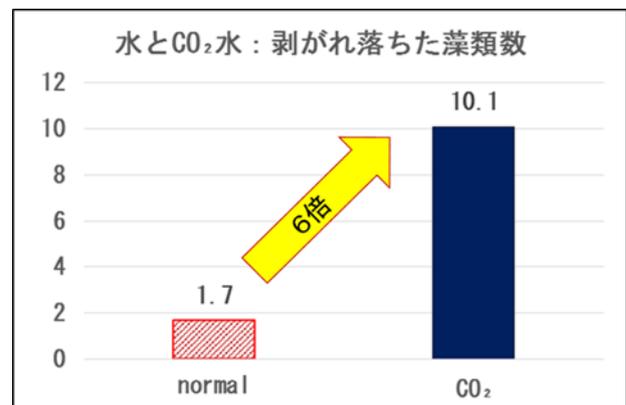
(3) 「明所での CO₂ 量の違い」による差

結果は資料12のようになった。

赤色が置き水、青色が CO₂ 水である。CO₂ 水中では、置き水の6倍近い数の藻類が剥がれ落ちることがわかる。藻類は、明所でも CO₂ 量が多ければ、ホウネンエビから剥がれ落ちることがわかった。



資料11



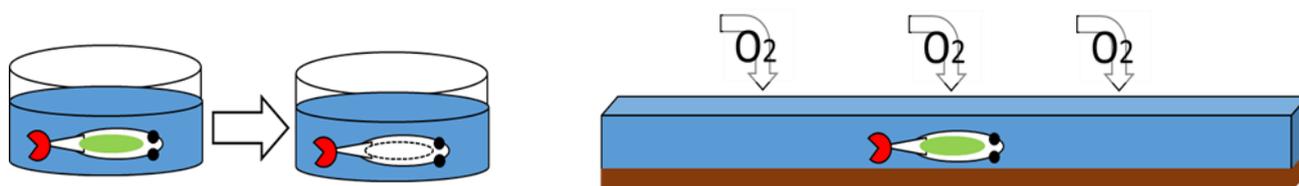
資料12

7 考察

(1) 「明所と暗所」による差

「明所と暗所」による差の実験では、暗所でより多くの藻類が剥がれ落ちた。暗所では藻類もホウネンエビも呼吸のみを行い O_2 を消費する。藻類にとって、 O_2 が減少した鰓脚への付着は不利益になり、藻類が剥がれ落ちたと考えられる。

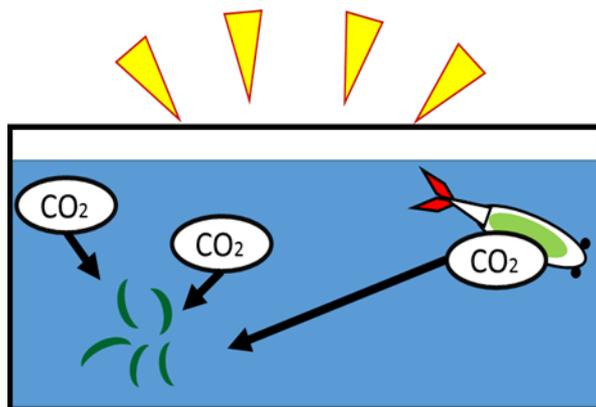
また、夜の間ホウネンエビの鰓脚に付着した藻類は剥がれ落ちるのか疑問に思い、夜間の田でホウネンエビを観察したところ、緑をしていることが確認された。その理由を、資料 13 に示すホウネンエビ 1 匹あたりの水量の違いに着目して考えた。実験で使用したシャーレの容量は 6 ml と少ないため、ホウネンエビの活動の影響を受けやすく、水中の CO_2 濃度や O_2 濃度は変化しやすくなる。一方自然界の田んぼや普段使用している大きめの飼育ケースではホウネンエビ 1 匹に対する水量が多いことに加え、水面と空気との接触面積が大きく O_2 が溶け込みやすいため、ホウネンエビの活動が自身の周辺の環境に与える影響が小さくなる。そのため自然界では、ホウネンエビと藻類が同時に呼吸を行ったとしても周囲の O_2 濃度は下がりにくく、付着の不利益が軽減されるため、藻類が剥がれ落ちないと考えられる。



資料 13 ホウネンエビ 1 匹あたりの水量の違い

(2) 「明所での CO_2 量の違い」による差

「明所での CO_2 量の違い」による差の実験では、明所でも CO_2 の量が多ければ、藻類は鰓脚から水中へ剥がれ落ちることがわかった。明所において、藻類は光合成をするため、 CO_2 を必要とする。資料 14 に示すように、 CO_2 水中では、水から CO_2 が供給されるので、ホウネンエビに付着する利点が少なくなったと考えられる。



資料 14 CO_2 水中での剥がれ落ち

以上の結果から、藻類について、仮説 1 「明所での利益」、仮説 2 「暗所での不利益」は、非常に可能性が高いと考えられる。しかし、仮説 3 の「条件により藻類自ら付着や剥がれ落ちを行う」は証明されていない。

8 今後の課題

- (1) 藻類が自ら剥がれ落ちる可能性を調べるために、藻類の移動に必要な鞭毛や繊毛の出現する時期があるのか、さまざまな条件下で観察する。
- (2) 共生関係を示す為には藻類側からだけでなくホウネンエビ側からの利益も証明する必要がある。しかし、今回の実験ではホウネンエビ側からの利益を示せていないため、明所で藻類が付着した際の、ホウネンエビ側のメリットを調べていく。具体的には、藻類の付着したホウネンエビとしていないホウネンエビを密閉状態にし、生存率を比較することを考えている。

9 参考文献

園山博「ホウネンエビの胸肢に付着する藻類」遺伝 2004年11月号 (58巻6号)

10 謝辞

静岡大学 未来の科学者養成スクール (F S S) 道羅英夫先生
適切なお助言を賜り、藻類の遺伝子解析などのご協力をいただきました。
道羅先生に感謝いたします。

