

クマムシの乾燥耐性に関する食餌の成分分析

静岡サレジオ高等学校

1年 桐生有花

1 動機・目的

水不足や水質汚染などの水問題は世界中で深刻となっている。様々な国や地域で気軽にきれいな水を得るためにできることを考え、中学生の頃に生活排水処理用の循環型ろ過装置を試作した。そのろ過能力向上のために、下水処理場でも役立っている活性汚泥中の微小生物を利用したいと思った。しかし、汚泥が一時的に乾燥し、乾燥耐性を備えていない微小生物が死滅してしまう状況が想定された。この課題の解決のために、このような微小生物に耐性を獲得させることを考え、乾燥耐性を持つ水棲微小生物であるクマムシに関心を抱くようになった。

コケなどの乾燥が起こり得る環境に棲むクマムシ種は、乾燥環境下で自ら脱水した状態になり環境に耐える、乾燥耐性を備えている。一方、活性汚泥に棲むゲスイクマムシ (*Isohypsiobius myrops*) のように、生涯を水中で過ごす種は耐性を備えていない。この乾燥耐性メカニズムが解明できれば、これを獲得させることに応用できるのではないかと期待し、ゲスイクマムシに着目した研究を継続している。昨年度の研究では、乾燥耐性が強いモデル生物のヨコヅナクマムシ (*Ramazzottius varieornatus*) の食餌である生クロレラ V12 (クロレラ工業株式会社) をゲスイクマムシに投与することで、乾燥環境下での活動継続時間の延長に成功した。さらにその後の実験では、食餌が遺伝子に影響を及ぼす可能性を示唆する結果も得られた。

そこで本研究では、乾燥耐性に関連する食餌中の成分の特定を目指し、生クロレラ V12 に特に豊富に含まれる成分であるビタミン B12 (以下、VB12) と乾燥耐性の関連を調べた。

2 方法

ゲスイクマムシの VB12 添加給餌群と、無添加クロレラ給餌群を用意し、41 日間飼育した。VB12 添加給餌群は、VB12 を 0.05mg/50mL、0.1mg/50mL の濃度で超純水、無添加クロレラにそれぞれ添加した場合の計 4 種類用意した。なお添加する VB12 の濃度は文献*[1]を参考にして決定した。また、VB12 のみでは生存に必要な他の成分の不足により死滅してしまう可能性が想定されたため、無添加クロレラに VB12 を添加した個体群も用意した。無添加クロレラは、天然生産された八重山クロレラプレミアムパウダー (八重山殖産株式会社) 2.0g に対し超純水 100mL を加え攪拌した混合液の、粒が小さい上澄みを示す。

飼育時は個体数を数え、その増減を、増減率を算出して比較した。なお増減率は、「その日の個体数」から「飼育開始時の個体数」を減じて、その差をさらに「飼育開始時の個体数」で割った値を百分率にして算出した。飼育後、各個体群を分注し、1.5%寒天培地 (STAR Agar L-grade 01) の上で 3 日間乾燥させ、その後の様子を 5 段階で評価した (表 1 参照)。ただし、寒天培地自体が水分を含むため完全な乾燥状態ではなく、ここでいう乾燥とは、水分ができる限り少ない状態を指す。乾燥後、各個体群における各評価の割合を算出し、比較した。なお各評価の割合は、「その評価に値する個体数」を「分注した個体数」で割った値から求めた。ただし、飼育による個体数の増減の都合上、乾燥実験に用いた個体数は各個体群によって異なる。考察の際に比較のため、昨年度同様の方法で実験した生クロレラ V12 給餌群のデータも用いた。

表1. 乾燥後の活動の様子の評価基準

1	見つからなかった。
2	溶けた跡が見られる。
3	体表が溶けているが、活動している。
4	樽状態になった。
5	体表が溶けている様子はなく、活動している。

3 結果

飼育した各個体群を、以下表2のように表記する。

表2. 飼育した個体群の表記

	A群	B群	C群	D群	E群
無添加クロレラ	有	無	有	無	有
添加したVB12	0.05mg/50mL		0.1mg/50mL		無添加

飼育による個体数変動の比較を図1に示した。

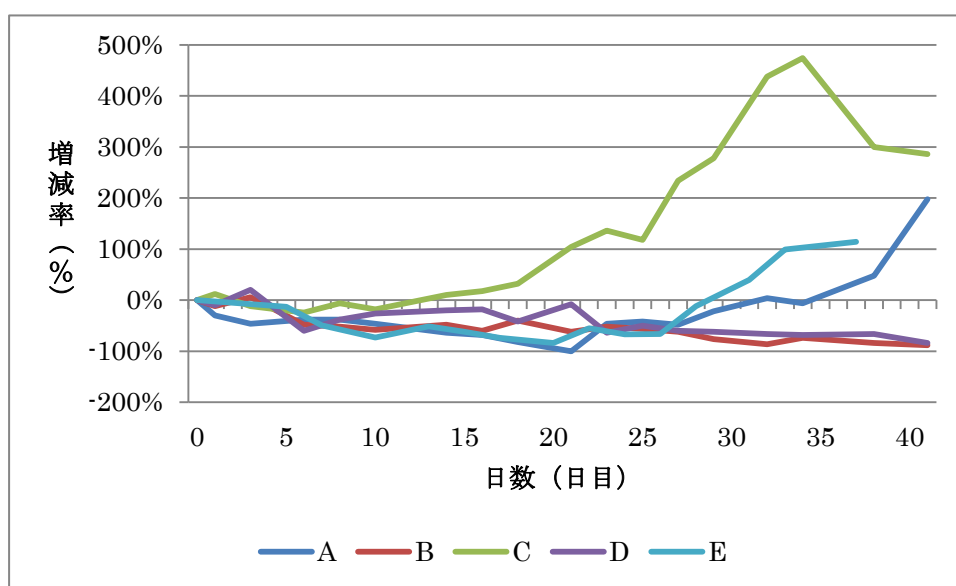


図1. 飼育した個体群の増減率の比較

添加したVB12の濃度に着目すると、0.05mg/50mLの2個体群(A, B)はともに緩やかに減少していたが、クロレラ有の個体群(A)は最後に増加した。0.1mg/50mLの2個体群(C, D)は全く異なり、クロレラ有の個体群(C)が著しく増えた一方、クロレラ無の個体群(D)は緩やかに減少し続けた。

クロレラの有無に着目すると、クロレラ有の3個体群(A, C, E)はいずれとも初めよりも増加した一方、クロレラ無の2個体群(B, D)はほぼ同じように緩やかに減少した。

クマムシを3日間乾燥させた後の評価は、図2のようになった。また参考データとして、ゲスイクマムシの生クロレラV12給餌群をF群として記載した。

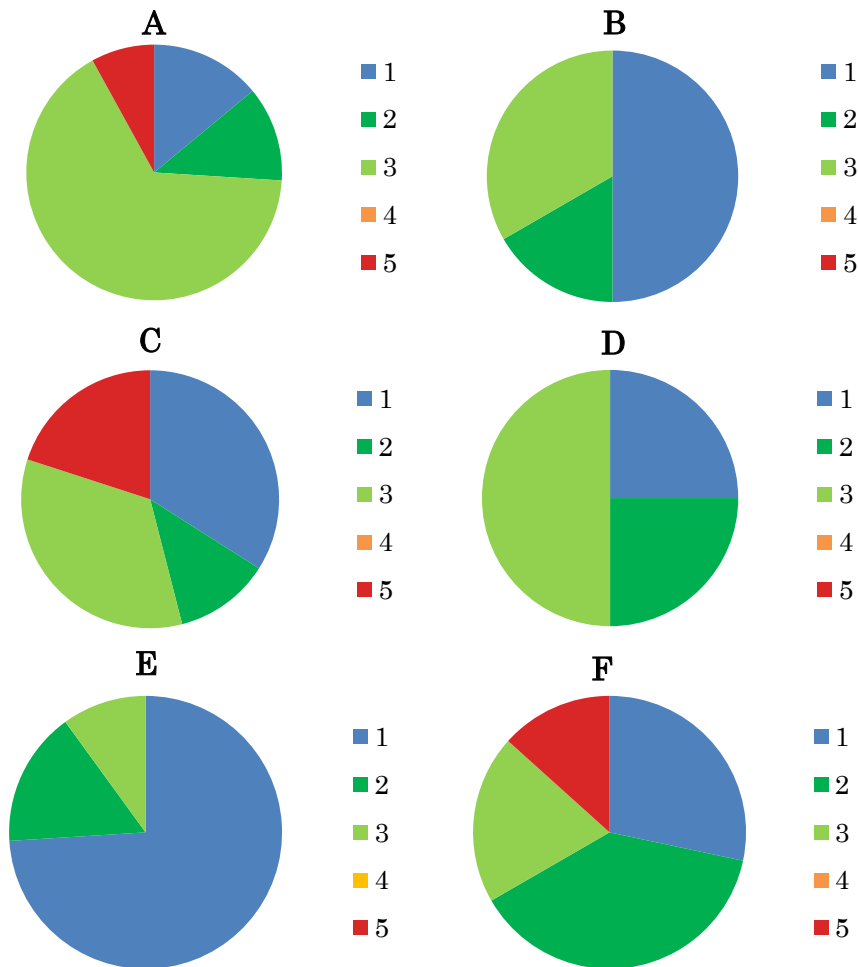


図2. 各個体群の乾燥後の様子の各評価の割合 (表1参照)

どの個体群においても、樽状態に移行した個体は見られず、乾燥耐性の獲得には至らなかった。

EとFの比較より、無添加クロレラ給餌群よりも生クロレラV12給餌群のほうが活動している個体が多かったことがわかる。また、A,CとFを比較すると、評価3と5を合わせた割合は、VB12を添加したA,Cのほうが高い。クロレラの有無で比較すると、クロレラ無の2個体群(B,D)では評価5が見られなかったが、クロレラ有の個体群(A,C)では評価5の個体も見られ、クロレラ無の場合よりも評価1と2が少なかった。

4 考察

飼育時の個体数変動について、ゲスイクマムシの繁殖と添加したVB12の濃度との関連は確認できなかった。一方、VB12の濃度に関わらず、クロレラ有の個体群は最終的に個体数が増えていたことから、生存に必要な成分はVB12以外に存在すると考えられる。

食餌の乾燥耐性への影響について、無添加クロレラ給餌群と生クロレラV12給餌群を比較すると、生クロレラV12給餌群のほうが活発に活動したことから、生クロレラV12に特化して豊富に含まれる成分が乾燥環境下での活動継続時間の延長に関わることが確認できた。

樽状態に移行した個体は見られず、乾燥耐性獲得の実現には至らなかった。しかし、VB12を添加しなかった個体群と、VB12添加給餌群を比較すると、VB12を添加したことで、乾燥により溶けた個体が減少し、活動を継続した個体が増加したことがわかる。すなわち、乾燥環境下での活動継続時間のさらなる延長を確認することができた。この結果から、VB12は乾燥耐性に関連する成分であると考えられる。

添加したVB12の濃度による乾燥後の様子の違いは見られなかったが、クロレラを投与したA,C,E,Fにおい

て、クロレラそのものに含まれる VB12 も考慮した VB12 の濃度と乾燥後の様子の評価を比較すると、濃度は $F \geq C > A > E$ であり、評価 5 の割合は $C > F > A > E$ の順に並んでいた。ここから、VB12 の濃度が高いほど乾燥環境下での活動が活発になる可能性があると考えられる。

一方、VB12 添加給餌群のうち、クロレラの有無で比較すると、クロレラ有の 2 個体群のみにおいて体表が溶けずに活動していた個体が見られたことから、VB12 以外にも、乾燥耐性に関連する成分が食餌中に存在する可能性があるため、今後、他の関連成分の特定も進めたい。

5 展望

対照実験や遺伝子解析実験を重ね、VB12 以外にも乾燥耐性に関連する成分を調べたい。一方で、ゲスイクマムシの個体数は安定しにくく、飼育環境が不安定であるため、食餌や成分の効果をより正確に調べることができるよう、飼育条件についても今後さらに明らかにしていきたい。

本研究の継続、発展は乾燥耐性発現技術の実現につながると信じており、これは研究の動機となった循環型ろ過装置に限らず、臓器の乾燥保存や、生鮮食品の乾燥保存による輸送エネルギーの削減に盗用でき、医療分野への貢献や産業の活性化、経済発展が期待される。

6 参考文献

*[1] ジャパン・アルジェ株式会社 スピルリナとクロレラ成分比較. (最終閲覧日 : 2021/12/30)
http://www.sp100.co.jp/spirulina/spirulina_2.html

*[2] 鈴木忠「クマムシ?! 小さな怪物」. 岩波書店. 2006

*[3] 堀川大樹「クマムシ研究日誌 : 地上最強生物に恋して」. 東海大学出版部. 2015

7 謝辞

丁寧に実験の御指導をしてくださった静岡大学の宮澤俊義様、研究方法の検討や論文執筆に際し御指導くださった竹内浩昭教授、また実験に御協力頂いた静岡大学の皆様に厚く御礼申し上げます。ヨコヅナクマムシを御提供いただいた東京大学の國枝武和准教授に心から感謝申し上げます。また、研究の場を設けてくださった JST-GSC 未来の科学者養成スクール関係者の皆様に感謝いたします。そして最後に、ずっと支えてくれた家族と応援してくださった学校の先生方、本当にありがとうございました。