

コケ類胞子と茎葉体，およびアルテミア卵の極限環境耐性 - クマムシの実験も含めて -

三枝誠行 1), 西平直美 2), 進藤明彦 2), 藤井暁子 3), 南慶典 4), 中野弘子 4), 廣澤美樹 4), 森嘉久 4), 財部健一 4), 小野文久 4), 松島康 1), 山下雅道 5), (1:岡山大理学部, 2:岡山一宮高校, 3:高知大理学部, 4:岡山理科大理学部, 5:Jaxa)

Resistibility of several organisms against extreme environmental conditions

M. Saigusa¹, N. Nishihira², A. Shindo², A. Fujii³, Y. Minami⁴, H. Nakano⁴, M. Hirose⁴, Y. Mori⁴, K. Takarabe⁴, F. Ono⁴, Y. Matsushima¹, M. Yamashita⁵ [1: Faculty of Science, Okayama Univ, 2: Okayama Prefectural High School, 3: Kochi University, 4: Okayama Rika University, 5: JAXA]

Abstract: Life on the earth often could survive under extreme environmental conditions. To determine their limit of their resistibility, a tardigrade (*Milnesium tardigradum*), pores and leaves of three kinds of moss, dormant spores of *Artemia* were exposed to three kinds of extreme conditions: vacuum (1×10^{-3} Pa), nitrogen-exchanged air (1 Pa; >99.5%), and ultrahigh pressure (7.5 GPa). The ratio of budding in moss spores and survival ratio of moss leaves exposed to vacuum and nitrogen-exchanged air for 1 year was not different from that of the control groups exposed to the air even for 1 year. Twenty (20) % of spores survived against ultrahigh pressure (exposed for 12 hrs). Moss spores and leaves and dormant spores of *Artemia* showed stronger resistibility against these extreme conditions than the 'tun' of *Milnesium tardigradum*. These animals may be a very good material to test the resistivity of the life on earth against extreme environmental conditions in space.

Key words: Moss spore and leaves, *Artemia*, *Milnesium tardigradum*, vacuum, nitrogen-exchanged air, ultrahigh pressure, resistivity

コケ類は，地球上のさまざまな環境に生息しており，胞子や茎葉体は極度の乾燥条件に耐性があることが知られている。また，アルテミアは多くの塩湖に生息する甲殻類（鰓脚綱：Branchiopoda）で，その休眠卵は何年間も乾燥条件に耐えることが知られている。さらに，陸生のクマムシ（Eutardigrada）は「樽」にすると乾燥条件に対して強い耐性が発現することがわかっている。

これらの生物が宇宙環境にどの程度耐えられるかを明らかにすることは，宇宙空間における生物体の移動の可能性を考えることができるばかりでなく，将来人類が宇宙環境で生存するための基礎的データや，中等教育における宇宙生物学実験のすぐれた材料を提供するものとして注目されている。

地球型生命の極限環境耐性の限界とそのメカニズムを知るために，コケ類胞子のうと茎葉体，アルテミア卵，およびオニクマムシの樽を，真空(1×10^{-3} Pa)，置換窒素(1 Pa; >99.5%)，および超高压(7.5 GPa)に曝露し，生存率を調べた。

材料と方法

1. コケ類胞子の発芽率と茎葉体の生存率

実験に使用したコケ類は主に3種類で，ギンゴケ，ヒナノハイゴケ，タチゴケである。それぞれの種類を表1に示したスケジュールで真空および置換窒素に曝露し，胞子の発芽率と茎葉体の生存率を調べた。

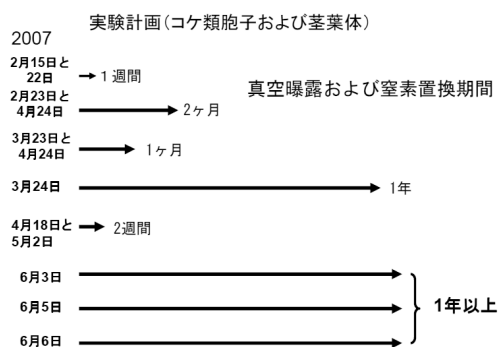


Table 1. Experimental schedule of vacuum and nitrogen exposure.

極限環境耐性の実験には，胞子の発芽率や茎葉体の生存率を正確に求めることが必要で

ある。コケ類の胞子は培地に蒔いた後、徐々に体積が増加する (Fig. 1)。4 日目あたりから発芽が始まる。

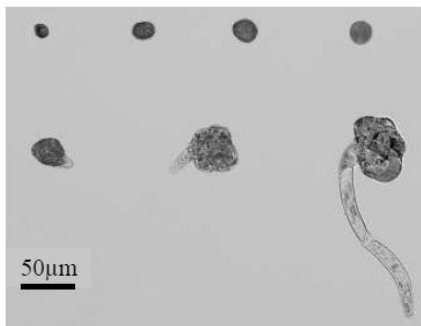


Figure 1. Budding of the spores incubated on the medium.

Figure 2 に示されているように、発芽する割合は急激に増加し、7 日以降に最大になる。発芽した胞子の数は、胞子が単独で蒔かれた場合には容易であるが、複数になると、8 日目や 9 日目になると、判別がしにくくなった。そのため、発芽胞子は、培地に蒔いてから 7 日後にカウントした。

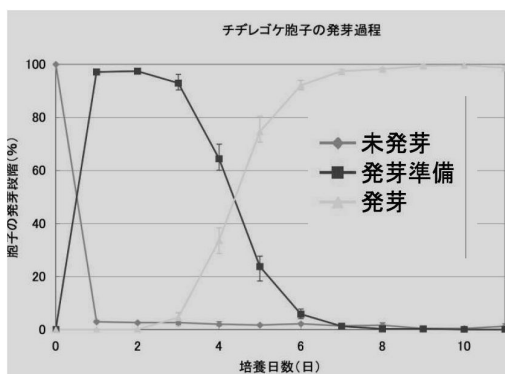


Figure 2. Ratio (%) of budding in the spores incubated in the medium.

茎葉体に関しては、封入されたサンプルを取り出し、光学顕微鏡で観察した。細胞の生死は、蛍光をあてて葉緑体が赤色になるかどうかで判定した。

2. オニクマムシ (7.5GPa)

オニクマムシの樽の超高压耐性を調べるため、成体を乾燥させて樽を作り、7.5GPa の高压に 20 分、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間曝露してから水に戻し、蘇生率とその後の生存率を調べ、高压を加えなかったグループと比較

した (Fig. 3)。

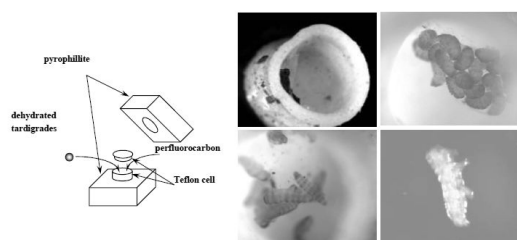


Figure 3. *Milnesium tardigradum*.

3. アルテミアのシスト (7.5GPa)

設定圧力までの加圧に要する時間は約 20 分であり、実験は 7.5GPa の設定圧力で 5, 12, 24, 36, 48 時間維持し、その後約 20 分かけて常圧に戻した。実験温度は 23~25°C であった。超高压加圧後海水に入れ、24 時間後の孵化率を調べた (Fig. 4)。

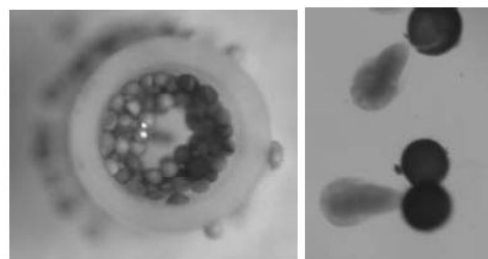


Figure 4. Hatching of *Artemia* larva after exposure to 7.5 GPa.

結果

1. 真空耐性 (1×10^{-3} Pa) と置換窒素耐性 (1Pa)

Table 2 は、チヂレゴケ胞子を 1 年間真空状態に置いたときの発芽率を示している。コントロールは、野外から採取したコケ胞子を室温で乾燥させ、1 年後に発芽率を調べたものである。真空条件に置かれたチヂレゴケの胞子の発芽率は、91% でコントロール実験での発芽率と比べ、ほとんど違いは見られなかった。

真空および置換窒素中に1年置いた後の発芽率(チヂレゴケ)	
真空 (1×10^{-3} Pa)	311/342 (90.9%)
置換窒素 (99.5%)	870/910 (95.6%)
コントロール (乾燥)	645/667 (96.7%)

Table 2. Budding of moss spores after 1-year exposure to vacuum.

Figure 5 は、1 年間真空に置かれたチヂレゴ

ケの茎葉体で細胞が生存しているかどうかを蛍光顕微鏡下で調べたものである。左側の図が普通の光源で観察された細胞、右側の図が蛍光顕微鏡で観察された細胞を示している。

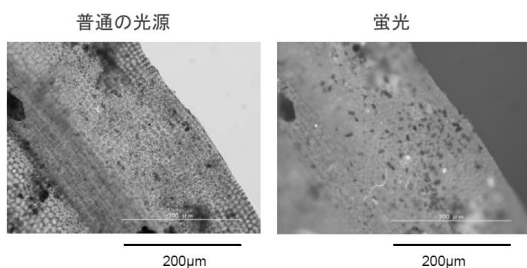


Figure 5. Survival of leaf cells after exposure to vacuum and nitrogen changed air for 1 year.

蛍光顕微鏡下で観察された細胞は赤色光を発しており、明らかに生存していることがわかった。さらに置換窒素に置いたサンプルも、発芽率は 96% でコントロールと変わらず (Table 2)、茎葉体も明らかに生存していることがわかった。

アルテミアに関しては、現在真空と置換窒素に封入されており、来年度のシンポジウムで結果が示されるだろう。

2. 超高压 (7.5GPa)

1) アルテミア

7.5GPa-24 時間まで加圧した耐久卵は 80% の孵化率を示し、加圧しないコントロールとまったく同率であった。7.5GPa-36 時間加圧のものも、70% と高率で孵化したが、48 時間加圧した場合は全く孵化しなかった。孵化後の生存期間もコントロールに比べて大きな差は無かった。

オニクマムシが 7.5GPa の超高压下で約 13 時間まで耐えられるという結果に対し、アルテミアはその倍以上の超高压耐久時間を持つことがわかった。この圧力は地球では上部マントル中の地下 180 km の圧力に相当する。

2) クマムシ

20 分および 3 時間超高压に置かれた個体は、正常な蘇生が可能であったが、6 時間あるいは 12 時間曝露すると付属肢が痙攣を起し、歩行が困難だった。これらの個体は、飼育を続けても歩行の回復は不可能であった。さらに、24 時間 7.5GPa においた場合には、全部

死亡していた。これらの結果から、7.5GPa に対するオニクマムシの耐性限界は、せいぜい 3 時間程度であることが予想された。

3) コケ類

7.5GPa において 6 時間超高压暴露した胞子については 81% の発芽率であり、加圧しないコントロールとほとんど同率であった。しかし、7.5GPa-9 時間加圧の試料の発芽率は 19% に低下し、7.5GPa-12 時間加圧後ではわずかに 1.3% となった。さらに 7.5GPa-24 時間加圧後のものも、低率ではあるが、2~5% の発芽率であった。昨年の高圧討論会で発表したクマムシが 7.5GPa の超高压下で約 13 時間まで耐えられるという結果に対し、チジレゴケはやや超高压耐性が弱いことがわかった。しかし、チジレゴケも 7.5 GPa の超高压下で生命が維持できることは確実となった。

議論

地球型生命の持つ極限環境耐性を明らかにするために、始めはオニクマムシ (*Milnesium tardigradum*) の「樽」を使った実験を行ったが、クマムシ類の耐性は強力ではないことが判明した。そのため、クマムシに代わる実験材料としてコケ類胞子と茎葉体、ならびにアルテミアのシスト (卵) を使って、真空耐性、無 (低) 酸素状態、および高压耐性の実験が行われた。

私たちの研究では、これらの極限環境への耐性の程度を判定するために、胞子の発芽率や茎葉体の生存率を定量的に求める方法を開発した (Figs. 1 と 2)。

これらの方法を使って、3 種類のコケ (チジレゴケ、ヒナノハイゴケ、およびタチゴケ) の胞子と茎葉体のそれぞれについて、真空、窒素置換した空気、および高压に対する耐性を調べた。その結果、真空や窒素置換した空気に 2 ヶ月間程度曝すぐらいでは、チジレゴケやヒナノハイゴケの胞子の発芽率や茎葉体の生存率はコントロールと全く変わらないことがわかった。さらに、1 年間の真空曝露や置換窒素暴露実験でも、コントロールと全く変わらずに組成することが明らかになった。このように強力な極限環境耐性は、オニクマ

ムシでは見られなかった。

一方、コケ類の胞子といえども、6年間も乾燥状態に保存されると、発芽率は10%以下に低下する。つまり、自然の状態においても劣化していることがわかる。宇宙環境への耐性を考える前に、大きな問題が立ちはだかっている。極限環境耐性の発現機構はこれから研究が進んでゆくと思われる。

アルテミアのシストに関しては、現在真空と置換窒素に封入が続けられており、来年度のシンポジウムでその結果を報告する予定である。

(謝辞) 本研究の成果は JAXA 研究班 (生物衛星利用重力生物学研究グループ) の活動報告として第 25 回宇宙環境利用シンポジウム (H21・1・15) で発表された。