

令和元年 12 月 9 日

ArCS サブプロジェクトディレクター
齊藤 誠一 殿

氏 名 小野 誠仁

終了報告書

- ・ 派遣支援先 機関名： アダム・ミツキエヴィチ大学 (国名：ポーランド)
- ・ 受入研究者 Krzysztof Zawierucha
- ・ 研究課題名 (和文・英文)
 - (和文) 北極地域における雪氷中のクマムシの地理的分布と多様性
 - (英文) Diversity and geographical distribution of water bears (Tardigrada) in snow and ice in Arctic region
- ・ 派遣支援期間： 令和元年 9 月 18 日 ~ 令和元年 11 月 25 日

1. 派遣支援期間中の研究実施状況及びその成果実施概要

本派遣では、ポーランドの Adam Mickiewicz University、Department of Animal Taxonomy and Ecology に滞在し、北極圏のクマムシ研究を進めている Zawierucha 博士と雪氷環境のクマムシに関する共同研究を行った。この共同研究では、派遣対象者が採取した日本とアラスカの雪氷環境に生息するクマムシ試料についての顕微鏡観察・DNA 分析を行い、これまで報告されている北極域各地の氷河のクマムシとの比較から、雪氷環境のクマムシの地理的分布と多様性を明らかにすることを目的とした。分析の結果、日本の積雪から採取したクマムシは 2 種が含まれており、どちらも北極圏に生息するクマムシと形態的に類似していた。また、アラスカの氷河で採取したクマムシは、1 種のみが含まれ、形態は他の北極圏のものとは異なり、ヨーロッパやヒマラヤの氷河で採取したクマムシと類似していた。ミトコンドリア COI 遺伝子の分析結果では、アラスカの氷河のクマムシは他の北極圏の氷河のクマムシと遺伝的に近いことが明らかになった。滞在中に、日本の積雪に生息するクマムシの研究成果についてセミナー発表を行った。さらにセミナーに参加していたイタリアの University of Milano の研究グループの教員や、チェコの大学院生等と情報交換を行い、お互いの研究についての議論を行った。今後は、今回分析を行わなかった他の遺伝子の DNA 配列を分析し、北極圏を含む世界各地の氷河性クマムシと多角的に比較を行うことで、

引き続き氷河性クマムシの地理分布および生活史の解明を目的に研究を進めていく予定である。

● 研究の背景と目的

氷河や積雪といった雪氷環境には、バクテリアや藻類、無脊椎動物などを含む寒冷環境に適応した特殊な生物が生息している。雪氷生物と呼ばれるこれらの生物は、雪氷環境以外では生息することが出来ないため、気候の温暖化による雪氷環境の減少の影響を直接的に受ける。しかしながら、雪氷生物の種分類や生活史、生態に関しては、まだ多くの生物で明らかになっていない。雪氷環境という地球温暖化による影響が最も敏感に現れる環境の生物について研究することは、北極圏の将来の環境予測に新しい視点を提供できると考えられる。

緩歩動物門に分類される微小な無脊椎動物であるクマムシは、北極域を含む世界各地の氷河から報告されている雪氷生物の一つである。氷河に生息するクマムシは、一般に氷河の裸氷域に形成される、クリオコナイトホールと呼ばれる円柱状の水たまりの中に生息しており、クリオコナイトホール中で繁殖する雪氷藻類を食べ、その生活史の全てを氷河上で完結していると考えられている。近年では、寒冷環境に特有の種が氷河環境から報告されているが(ex. Zawierucha et al, 2018)、その地理的分布は特定の地域からの報告であり、限定的である。

派遣対象者は、いままでクマムシの報告がなかった北米アラスカ州のグルカナ氷河や、さらに日本の樹林帯の積雪で活動するクマムシを発見した。そこで本研究では、ポーランドの Adam Mickiewicz University の Krzysztof Zawierucha 博士との共同研究として、派遣対象者が 2019 年に山形県月山の積雪とアラスカ州のグルカナ氷河から採取した個体試料の種の同定と形態の特徴を明らかにすることを目的に、顕微鏡観察及び DNA 解析を行った。得られた結果を北極圏の雪氷環境に生息するクマムシと比較し、氷河性クマムシの地理的分布と多様性の考察をおこなった。

● 使用したデータと解析方法

顕微鏡観察及び DNA 解析に使用した個体試料は、山形県月山の積雪及びグルカナ氷河から採取したものである。サンプル採取は、山形県月山が 2019 年 4 月 20 日と 5 月 21 日、アラスカ州のグルカナ氷河が 2019 年 7 月 7 日から 21 日に行った。採取したサンプルは 70 %のエタノールで保存した。

採取したサンプルから、実体顕微鏡を用いてマイクロピペットでクマムシを採取した。採取したクマムシの体長(L)と幅(D)を測定し、Hallas and Yeaste (1972)に基づいて以下の計算式からバイオマス(乾燥重量, W)を推定した。個体資料の L:D 比が 2.5-3.4:1 の場合は式①を、3.5-4.4 の場合は式②を用いて推定した。

$$W = L^3 \times 0.051 \times 10^{-6} \quad \dots \textcircled{1} \quad W = L^3 \times 0.033 \times 10^{-6} \quad \dots \textcircled{2}$$

その後、位相差顕微鏡と走査型電子顕微鏡を用いて形態的特徴を記載した。位相差顕微鏡で観察

を行うために、固定液(ホイヤー氏液)を使用してクマムシ試料を固定し、スライドガラスを作成した。走査型電子顕微鏡で観察を行うために、試料をエタノールからアセトンに置換した後、臨界点乾燥法を用いて試料を乾燥させ観察用の試料を得た。

採取したクマムシの DNA を、DNeasy Blood & Tissue kit を用いて単離したのち、PCR 法で DNA を増幅させ、ミトコンドリア COI 遺伝子(505 bp)のシーケンスを行った。そして、他の氷河に生息するクマムシとの p-distance を推定し、系統樹を作成した。

最後に、得られたクマムシの形態的特徴と系統樹から、積雪と氷河のクマムシと、雪氷環境に生息する他のクマムシとの比較を行った。

● 得られた成果

顕微鏡観察の結果、月山の積雪には表皮に突起構造の有無で形態の異なる透明な *Hypsibius* が 2 種類 (図 1-2)、グルカナ氷河には大きな目、ブラウン色の *Hypsibius* の 1 種が生息していることが明らかになった (図 3)。*Hypsibius* は、左右非対称な爪が特徴的な種である。バイオマスは月山の積雪のクマムシの 1 種が 0.2-3.1 μg 、グルカナ氷河のクマムシが 1.1-2.1 μg であった。

ミトコンドリア COI 遺伝子のシーケンスの結果、グルカナ氷河のクマムシのシーケンスデータを得ることが出来た (505 bp)。一方、月山のクマムシについては、コンタミネーションの影響が大きかったため、信頼できる結果を得ることができなかった。グルカナ氷河のクマムシについて、得られたシーケンスを基に、他の氷河に生息するクマムシとの p-distance を推定し、系統樹を作成した結果、遺伝的には南極やヨーロッパ、ヒマラヤの氷河に生息するクマムシに比べ、北極域に生息するクマムシと近いことが明らかになった。

以上の結果から、グルカナ氷河のクマムシの特徴的な形態は、遺伝的ではなく環境条件によって決定される可能性が示唆された。また、グルカナ氷河のクマムシは、他の北極域の氷河のクマムシ

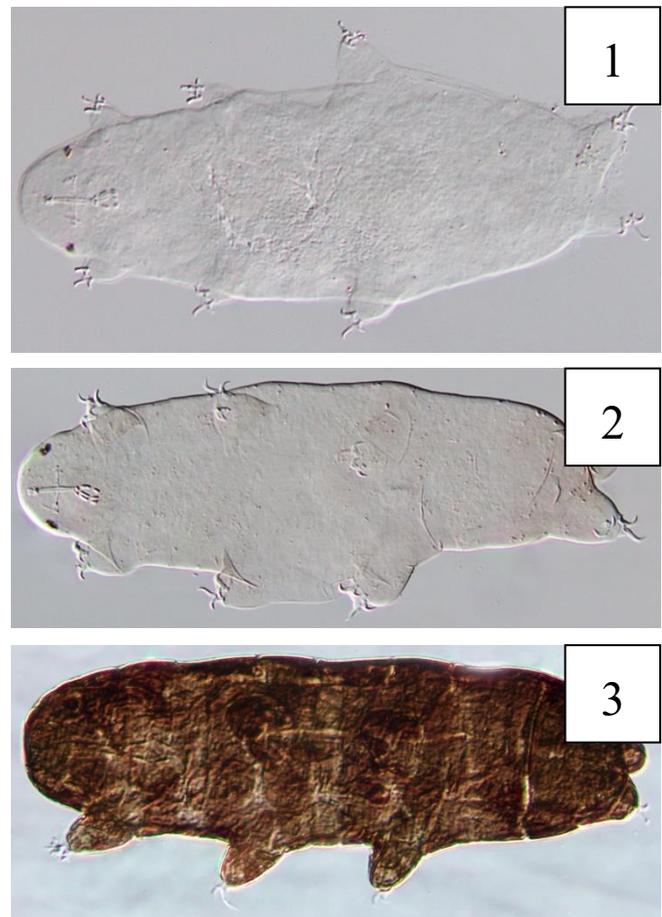


図 1-2. 山形県の積雪で採取したクマムシの顕微鏡写真
図 3. アラスカの氷河で採取したクマムシの顕微鏡写真

とは異なる種であったことから、北極域に生息するクマムシはコスモポリタン種ではないことが明らかになった。今後は、本派遣で得ることのできなかつた積雪のクマムシのシーケンスデータを得るとともに、積雪環境を含めた雪氷環境に生息するクマムシの地理的分布を明らかにし、その分散過程を明らかにしていく予定である。

2. 派遣支援期間中の研究発表

Seminar “Role of Animals in Shaping Cryoconite Ecosystems”での発表

(2019年11月8-10日、Adam Mickiewicz University で開催)

発表タイトル：「Biomass and densities of invertebrates in a snow pack in Mt. Gassan, Japan」

3. 派遣支援期間中の受賞歴：なし

4. 派遣支援期間中のアウトリーチ活動

Lublin の Biskupiak 高校で日本文化についての講義

(2019年10月18日、Biskupiak 高校で実施)

引用文献

- ・ Z Krzysztof, D Stec, D Lachowska-Cierlik, N Takeuchi, Z Li and Ł Michalczyk., 2018, High Mitochondrial Diversity in a New Water Bear Species (Tardigrada: Eutardigrada) from Mountain Glaciers in Central Asia, with the Erection of a New Genus *Cryoconicus*.: *Annales Zoologici* **1**, 68: 179-201. doi:10.3161/00034541ANZ2018.68.1.007.
- ・ TE Hallas and GW Yeates, 1972, Tardigrada of soil and litter of a Danish beech forest: *Pedobiologia* **12**: 287-304.