

宮城県で採集したゾウリムシとミドリゾウリムシ

柳 明¹

Strains of *Paramecium caudatum* and *Paramecium bursaria* collected in Miyagi prefecture

Akira YANAGI¹

¹Department of Human Education, Faculty of Human Studies, Ishinomaki Senshu University, Ishinomaki 986-8580, Japan

Abstract

Cells of *Paramecium caudatum* and *Paramecium bursaria* were collected in ponds and streams in Miyagi prefecture for ecological studies. This paper describes the results of the collected cells. In *P. caudatum*, the syngen of the collected cells was examined. As the result, cells of *P. caudatum* collected in Miyagi prefecture belonged to syngen 1 and 12.

1. 序論

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は、世界中に分布し、日本国内でも比較的容易に採集できる単細胞の真核生物であり、原生生物の繊毛虫と呼ばれる生物のグループに属している。ゾウリムシは、長年にわたり遺伝学や細胞生物学の研究材料として使われているが⁽¹⁻³⁾、その生態学的性質については必ずしも研究が進んでいるとは言えない⁽¹⁾。

また、ゾウリムシには、シンジェン (syngen) と呼ばれる生殖的に隔離された集団が存在している。これは、シンジェンが異なるゾウリムシの間では有性生殖である接合が起こらないということを意味している。ゾウリムシでは 16 のシンジェンが報告されており⁽⁴⁾、各シンジェンには 2 種類の相補的な性 (接合型と呼ばれている)、O 型と E 型がある。

ゾウリムシの有性生殖である接合は、同じシンジェンの O 型と E 型という相補的な接合型の細胞の間で起こる。同じシンジェンの O 型と E 型の細胞を混合すると、交配反応とよばれる細胞の凝集反応が起こる。この交配反応から接合過程が始まり、交配反応後 2 時間ほどで 2 つの細胞が接合 (接合) した接合対が形成される。このように交配反応を起こすことができる状態にある細胞は

交配活性があると言われる。

交配反応が起こるかどう、そして接合対が形成されるかどうかを調べることによって、採集したゾウリムシがどのシンジェンに属し、接合型が O 型と E 型のどちらなのかを明らかにすることができる。つまり、採集したゾウリムシを培養して確立した株のシンジェンや接合型を知りたい場合は、この株の細胞と接合型がわかっている株の細胞とを混合して交配反応を起こすかどうか、そして接合対が形成されるかどうかを調べる。そして、この時、交配反応を起こして接合対が形成されれば、採集したゾウリムシ株のシンジェンと接合型が明らかになる。

本論文では、宮城県の北部地域でゾウリムシを採集して、ゾウリムシが宮城県のどこでいつ採集されたのか、その生息状況について報告する。この報告は、単に宮城県におけるゾウリムシの生息状況を知るために役立つだけでなく、将来的に環境変化などが起こったときにゾウリムシの生息状況がどのような影響を受けて変化するかを調べるための基礎データとしても重要になる。また、ゾウリムシの生息状況を継続的に調べることで、ゾウリムシの生息状況が時間と共にどのように変化するかを知ることができる。

さらに、採集したゾウリムシがシンジェン 1, 3,

¹石巻専修大学人間学部人間教育学科

12に属しているか否か、そして接合型がO型とE型のどちらなのかについても調べた。この調査結果は、宮城県にどのシンジェンのゾウリムシが生息しているのかを把握するために重要である。

加えて、ゾウリムシを採集するときに同時に採集されたミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) が宮城県内のどこでいつ採集されたのかについても報告する。

2. 材料と方法

2.1 ゾウリムシとミドリゾウリムシの培養条件

ゾウリムシとミドリゾウリムシの培養は、基本的に Hiwatashi (1968) の方法に従ってレタスジュース培養液で行った。ただし、培養液に使用するドリル液⁽⁶⁾に含まれる NaH_2PO_4 を KH_2PO_4 に置き換えた。この NaH_2PO_4 を KH_2PO_4 に置き換えたドリル液を K-DS とよぶ。ゾウリムシとミドリゾウリムシは室温で培養したが、室温はエア・コンディショナーによって 25℃ 前後に制御されていた。

2.2 ゾウリムシとミドリゾウリムシの採集から試験管培養株の確立まで

ゾウリムシとミドリゾウリムシを採集し、その細胞を単離培養した。その後、単離培養した細胞を試験管培養に移して株を確立した。この一連の過程は以下のような手順で実施した。

- ① それぞれの採集地において、15 mL のチューブから 2 L のペットボトルまでの、いろいろな容量の容器で採水した。この水の中にゾウリムシやミドリゾウリムシが含まれている可能性がある。
- ② それぞれの採集地で採水した水を実体顕微鏡で観察してゾウリムシやミドリゾウリムシを見つけ出し、そのゾウリムシやミドリゾウリムシを K-DS で洗浄後、培養液を入れたデプレッションスライドの各穴の中に単離して培養した。
- ③ 単離培養したゾウリムシあるいはミドリゾウリムシがデプレッションスライドの各穴の中で十分に増殖したら、各穴で増殖したすべての細胞を、2 mL の培養液を入れた試験管に移し、培養した。

- ④ 試験管培養を開始した次の日に 4 mL の培養液を添加し、その次の日に 8 mL、さらにその次の日に 8 mL の培養液を添加した。この時点で、培養液量がほぼ試験管一杯まで達している。
- ⑤ 新しい試験管に 2 mL の培養液を入れた。この試験管に、④の試験管（試験管一杯まで培養液が達したもの）の中のゾウリムシあるいはミドリゾウリムシを含んだ液の一部をパスツールピペットで移した。
- ⑥ ④、⑤を繰り返して、試験管での培養を継続した。

2.3 ゾウリムシのシンジェンおよび接合型の特定

採集したゾウリムシは、試験管培養で培養液が試験管一杯まで達するたびに、シンジェン 1, 3, 12 に属しているか否か、そして接合型が O 型と E 型のどちらなのかを調べた。そのために、シンジェン 1, 3, 12 の相補的な接合型 (O 型と E 型) の株を使用した。使用した株は、シンジェン 1 の株として Mmn64(O¹) と Ai51 (E¹)、シンジェン 3 の株として TAZ0460 (O³) と TAZ046X-2 (E³)、シンジェン 12 の株として KNZ1209 (O¹²) と KNZ1207 (E¹²) である。

ここに示した 3 つのシンジェンの 6 株それぞれの細胞と、採集したゾウリムシを培養して確立した株の細胞とを、すべての組み合わせで混合し、交配反応の有無およびその後の接合対形成の有無を調べた。これによって、採集したゾウリムシがシンジェン 1, 3, 12 のどれかに属しているのか否か、接合型が O 型と E 型のどちらなのかを明らかにすることができる。たとえば、シンジェン 1 の Mmn64(O¹) の細胞と採集したゾウリムシ株の細胞とを混合したときに、交配反応を起こし接合対が形成された場合、その採集したゾウリムシ株はシンジェン 1 に属し、接合型が E 型であることがわかる。しかし、接合型がわかっている株 (たとえば、シンジェン 1 の Mmn64 (O¹) と Ai51 (E¹)、シンジェン 3 の TAZ0460 (O³) と TAZ046X-2 (E³)、シンジェン 12 の KNZ1209 (O¹²) と KNZ1207 (E¹²)) の細胞と採集したゾウリムシ株の細胞を混合しても交配反応が起こらな

い場合、その採集したゾウリムシ株のシンジェンと接合型はわからない。

3. 結果

3.1 宮城県で採集したゾウリムシ

宮城県の北部地域の9つの地点(図1)で、2004年頃から2020年までの間に採集したゾウリムシの結果をまとめて、表1に示した。表1に示したように、宮城県北部地域の各地でゾウリムシが採集された。採集したゾウリムシの中でシンジェンが特定できた株は、すべてシンジェン1と12に属していた(表1)。ただし、採集したゾウリムシの中には、シンジェンがわからないものも少なかった(表1)。

採集したゾウリムシの中でシンジェンおよび接合型が明らかになったゾウリムシの株を採集地点ごとにまとめて表2に示した。表2に示したように、シンジェン1のO型とE型の株が、①登米市津山町、②石巻市桃生町、⑤涌谷町の相野沼で採集された。シンジェン12のO型とE型の株が④大和町鶴巣付近、⑤涌谷町の相野沼で、シンジェン12のE型の株が⑥大崎市の切伏沼、⑧石巻市の押切沼公園で採集された。

また、シンジェン1と12のゾウリムシの分布をみると、シンジェン1のゾウリムシは9つの採集地点の北東側(①登米市津山町、②石巻市桃生町、⑤涌谷町の相野沼)で、シンジェン12のゾウ

リムシは南西側(④大和町鶴巣付近、⑤涌谷町の相野沼、⑥大崎市の切伏沼、⑧石巻市の押切沼公園)で採集される傾向を示した(図1、表2)。

⑤涌谷町の相野沼では、2012年8月から継続的にゾウリムシの採集を行ってきた(表1)。その結果、相野沼では、常にシンジェン12のゾウリムシが採集された。加えて、シンジェン1のゾウリムシも時々採集された。

3.2 宮城県で採集したミドリゾウリムシ

宮城県の北部地域で採集したミドリゾウリムシの結果を表3に示した。表3に示したように、ミドリゾウリムシは、⑤涌谷町の相野沼、⑧石巻市の押切沼公園、⑨大崎市の蕪栗沼付近の田んぼで採集された。

4. 考察

本論文で報告したゾウリムシの採集結果から、宮城県では容易にゾウリムシを採集できることがわかった(表1)。しかし、ここで報告した結果では、採集したゾウリムシはすべてシンジェン1と12に属していた(表1)。この傾向が正しく宮城県ではシンジェン1と12のゾウリムシだけが生息しているのか、あるいは他のシンジェンのゾウリムシも宮城県内に生息しているがたまたま採集できなかっただけなのかはわからない。このことを明らかにするためには、採集範囲を広げたり採水する水の量を増やすなどして、くり返しゾウリムシを採集する必要がある。

さらに、採集したゾウリムシの中にはシンジェンが不明なものも含まれていた(表1)。今後、これらのシンジェンが不明なゾウリムシの株についてはどのシンジェンに属しているのかを明らかにする必要があるが、どうして採集したゾウリムシの中にシンジェンがわからないものが含まれていたのであろうか。この原因の一つとして、採集したゾウリムシが未熟期であった可能性が考えられる。ゾウリムシは接合後およそ50回分裂するまでの間、交配活性を示さず接合できない。この期間を未熟期と呼んでいる。従って、採集したゾウリムシが未熟期であれば交配活性を示さないため、シンジェンを特定することはできない。しかし、採集したゾウリムシは培養を続けて行けば未

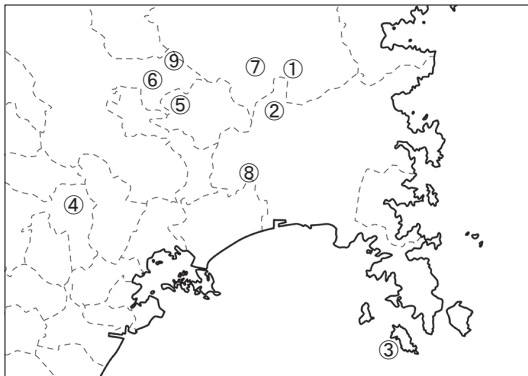


図1. ゾウリムシの採集地点を示した宮城県北部地域の地図。宮城県北部地域の地図の中にゾウリムシを採集した①～⑨の地点を示した。この地図の①～⑨は、表1～3の①～⑨と同じ場所を示している。なお、この地図は宮城県北部地域の一部を示しており、右下の半島が牡鹿半島である。

宮城県で採集したゾウリムシとミドリゾウリムシ

表 1 宮城県で採集したゾウリムシ

採集年月日	採集地*	シンジエン	接合型	株数	株数合計
2004 年頃	①宮城県登米市津山町	1	O	1	2
			E	1	
2004 年頃	②宮城県石巻市桃生町	1	O	1	2
			E	1	
2009 年 5 月 10 日	③宮城県石巻市、網地島	不明		10	10
2011 年 5 月 16 日	④宮城県黒川郡大和町鶴巣付近の川	12	O	3	5
		12	E	1	
		不明		1	
2012 年 8 月 20 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	12	O	7	10
		12	E	2	
		不明		1	
2012 年 11 月 2 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	1	O	1	27
		1	E	1	
		12	O	9	
		12	E	5	
		不明		11	
2013 年 5 月 7 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	1	O	2	16
		1	E	1	
		12	O	5	
		12	E	4	
		不明		4	
2014 年 5 月 14 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	12	O	9	23
		12	E	8	
		不明		6	
2015 年 6 月 18 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	1	O	1	4
		12	O	2	
		12	E	1	
2015 年 6 月 18 日	⑥宮城県大崎市、切伏沼	12	E	1	1
2019 年 2 月 18 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	12	O	3	4
		12	E	1	
2019 年 4 月 28 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	12	O	6	14
		12	E	7	
		不明		1	
2019 年 7 月 30 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	12	O	1	8
		12	E	1	
		不明		6	
2019 年 11 月 6 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	12	O	1	1
2020 年 6 月 9 日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	12	O	1	9
		12	E	2	
		不明		6	
不明	⑦宮城県登米市、平筒沼	不明		3	3
不明	⑧宮城県石巻市、押切沼公園	12	E	1	2
		不明		1	

*採集地の番号は、図 1 の番号と一致している。

表2 シンジェン・接合型が特定できたゾウリムシの採集地

採集地*	シンジェン	接合型
①宮城県登米市津山町	1	O, E
②宮城県石巻市桃生町	1	O, E
④宮城県黒川郡大和町鶴巣付近の川	12	O, E
⑤宮城県涌谷町、相野沼	1	O, E
	12	O, E
⑥宮城県大崎市、切伏沼	12	E
⑧宮城県石巻市、押切沼公園	12	E

*採集地の番号は、図1の番号と一致している。

表3 宮城県で採集したミドリゾウリムシ

採集年月日	採集地*	株数
2012年1月	⑧宮城県石巻市、押切沼公園	2
2012年5月30日	⑨宮城県大崎市、蕪栗沼付近の田んぼ	1
2014年5月14日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	1
2015年6月18日	⑤宮城県涌谷町、相野沼	1

*採集地の番号は、図1の番号と一致している。

熟期が終了して交配活性を示すようになるため、いずれ採集したゾウリムシのシンジェンを明らかにすることができる。

採集したゾウリムシのシンジェンがわからなかった別の原因として、採集したゾウリムシが、シンジェン1, 3, 12以外のシンジェンに属している可能性がある。本研究では、採集したゾウリムシがシンジェン1, 3, 12に属しているかどうかについては調べているが、それ以外のシンジェンに属しているかどうかについては調べていない。従って、シンジェン1, 3, 12以外のゾウリムシが採集された場合、そのゾウリムシがどのシンジェンに属しているのかを特定することはできない。現在、シンジェン1, 3, 12以外のシンジェンのゾウリムシについてもシンジェンを調べるができるようにするためにシンジェン4, 6, 13の相補的な接合型の株を培養している。しかし、これらのシンジェン4, 6, 13の株の細胞は交配活性がないかあるいは弱いいため、採集したゾウリムシがシンジェン4, 6, 13に属しているのかどうかを調べるのが困難な状況にある。

また、宮城県で採集したシンジェン1と12のゾウリムシは、その分布が偏る傾向を示していた(図1、表2)。つまり、シンジェン1のゾウリムシは9つの採集地点の北東側(①登米市津山町、②石巻市桃生町、⑤涌谷町の相野沼)で、シンジェン12のゾウリムシは南西側(④大和町鶴巣付近、⑤涌谷町の相野沼、⑥大崎市の切伏沼、⑧石巻市の押切沼公園)で採集されるという傾向を示した。この傾向が正しいのかどうかを明らかにするためには、宮城県内のさらに広い範囲でゾウリムシを採集する必要がある。

一方、ミドリゾウリムシは、ゾウリムシほど宮城県で採集されなかった(表3)。これは、おそらくミドリゾウリムシの増殖速度が関係しているのではないだろうか。実験室で培養すると、ミドリゾウリムシはゾウリムシに比べて増殖速度が遅い。このことが自然界でも正しいとすると、採集地点で採水するときにその水の中に含まれるミドリゾウリムシはゾウリムシより少ないことが予想される。その結果として、ミドリゾウリムシはゾウリムシほど採集できなかったのではないだろうか。

5. 文献

- (1) Görtz, H.-D. (ed) (1988) *Paramecium*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- (2) 樋渡宏一編 (1999) 「ゾウリムシの遺伝学」東北大学出版会
- (3) Wichterman, R. (1986) *Biology of Paramecium* (Second Edition). Plenum Press, New York
- (4) Tsukii, Y. (1988) Chapter 4 Mating-Type Inheritance. In: H.-D. Görtz (ed) *Paramecium*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 59-69.
- (5) Hiwatashi, K. (1968) Determination and inheritance of mating type in *Paramecium caudatum*. *Genetics*, **58**, 373-386.
- (6) Dryl, S. (1959) Antigenic transformation in *Paramecium aurelia* after homologous antiserum treatment during autogamy and conjugation. *J. Protozool.*, **6**, 25.