

南極産クマムシ *Macrobiotus harmsworthi* と  
センチュウ *Plectus antarcticus* の耐凍性

菅原裕規<sup>1</sup>・丹野皓三<sup>2</sup>・大山佳邦<sup>3</sup>・福田弘巳<sup>1</sup>

Freezing-tolerance of *Macrobiotus harmsworthi* (Tardigrada) and  
*Plectus antarcticus* (Nematoda) in the Antarctic Region

Hiromi SUGAWARA<sup>1</sup>, Kouzou TANNO<sup>2</sup>, Yoshikuni OHYAMA<sup>3</sup>  
and Hiromi FUKUDA<sup>1</sup>

**Abstract:** In early January of 1988, we collected mosses in the ice-free Yuki-dori Valley area of Langhovde, near Syowa Station in East Antarctica. The mosses were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  and shipped to Japan. After ten months of storage, *Macrobiotus harmsworthi* J. MURRAY (Tardigrada) and *Plectus antarcticus* DE MAN (Nematoda) were extracted from these mosses to test their freezing-tolerance. These extracted samples were cooled from  $-10^{\circ}\text{C}$  to  $-40^{\circ}\text{C}$  at  $-2^{\circ}\text{C}/\text{day}$ , as slow as cooling conditions similar to the natural habitats, then down to  $-80^{\circ}\text{C}$  rapidly at  $-20^{\circ}\text{C}/\text{hr}$ . At  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$ ,  $-32^{\circ}\text{C}$ ,  $-40^{\circ}\text{C}$  and  $-80^{\circ}\text{C}$  in the course of cooling, some individuals were taken out of the freezer and cultured at  $0^{\circ}\text{C}$ . The ratio of active individuals (RA) was assessed for the periods of two hours, four hours, two weeks and five weeks after thawing.

Most individuals of *M. harmsworthi* were dormant at low temperatures. RA of the individuals cooled to temperatures below  $-32^{\circ}\text{C}$  ranged from 80 to 100% in two hours after thawing. The values remained as high as 75~86% even after five weeks. The individuals cooled to  $-10^{\circ}\text{C}$  or  $-18^{\circ}\text{C}$  showed a smaller RA which was about 70% two hours later and only about 50% five weeks later. In *P. antarcticus* the RA values of four hours after thawing ranged from 46% ( $-32^{\circ}\text{C}$ ) to 100% ( $-10^{\circ}\text{C}$ ). Unlike *M. harmsworthi*, most of them quickly died during the incubation at  $0^{\circ}\text{C}$ ; RA of two weeks after thawing was 0% in the individuals cooled to  $-10^{\circ}\text{C}$  or  $-18^{\circ}\text{C}$  and 3~11% in the individuals cooled to  $-32^{\circ}\text{C}$  or below. In five weeks after thawing, all of them had died. Overall, *M. harmsworthi* and *P. antarcticus* were freezing-tolerant; moreover, they seemed more tolerant when cooled to lower temperatures.

**要旨:** 東南極に位置するラングホブデ露岩域の雪鳥沢で採取した蘚類を  $-20^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存して日本に持ち帰り (約 10 カ月にわたる保存中の生存率はクマムシで 49%, センチュウで 58%), その中から抽出したクマムシ (*Macrobiotus harmsworthi* J. MURRAY) およびセンチュウ (*Plectus antarcticus* DE MAN) を  $-10^{\circ}\text{C}$  から  $-80^{\circ}\text{C}$  まで冷却し,  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$ ,  $-32^{\circ}\text{C}$ ,  $-40^{\circ}\text{C}$ ,  $-80^{\circ}\text{C}$  における耐凍性を調べた. その際,  $-10^{\circ}\text{C}$  から  $-40^{\circ}\text{C}$  までは, 自然条件下での蘚類内温度の変化に近似させ

<sup>1</sup> 北海道大学大学院環境科学研究科. Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, Kita-10, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060.

<sup>2</sup> 北海道大学低温科学研究所. Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Kita-19, Nishi-8, Kita-ku, Sapporo 060.

<sup>3</sup> 国立極地研究所. National Institute of Polar Research, 9-10, Kaga, 1-chome, Itabashi-ku, Tokyo 173.

るため極めて遅い速度で冷却し (2°C/日), -40°C から -80°C にかけてはやや急速に冷却した (20°C/時). 耐凍性の目安として, 融解して 2 時間, 4 時間, 2 週間および 5 週間後の活動個体の割合 (RA 値) を求めた.

クマムシの耐凍性は非常に高く, -80°C まで冷却された個体のほとんどが乾眠状態で生存し, RA 値は融解 2 時間後で 100%, 5 週間後でも 86% に達した. -40°C, -32°C まで冷却された個体もほぼ同様の傾向を示したが, -18°C と -10°C までしか冷却されなかった個体では RA 値がやや低く, 融解 2 時間後でそれぞれ 75% と 70%, 5 週間後で 40% と 60% にすぎなかった. センチュウの耐凍性も高く, 融解 4 時間後における RA 値は, -32°C 冷却個体における 46% を除くと, 79% (-80°C 冷却) ~100% (-10°C 冷却) に達した. しかし, 以後急速に死亡個体が増加し, 2 週間後の RA 値は 0% (-10°C, -18°C 冷却), 11% (-32°C), 5% (-40°C), 3% (-80°C) にすぎず, 5 週間後には全個体死亡した. 以上のように, クマムシ, センチュウともに, 高温冷却個体より低温冷却個体の方がやや高い耐凍性を示しているが, この高い耐凍性が極地環境においてこれらの種の生存を可能としているものと考えられる.

## 1. はじめに

東南極の露岩域は水分などの環境条件がととのえば, 蘚類や藻類群落の発達がみられる. その間隙水中には微小な水生動物がみられ, これまでに昭和基地周辺からワムシ 13 種, クマムシ 10 種, センチュウ 3 種が報告されている (MORIKAWA, 1962; SUDZUKI, 1964; SHISHIDA and OHYAMA, 1986; UTSUGI and OHYAMA, 1989). しかし, 南極における間隙水動物の研究は分類に関するものが主体であり, これらの生態・生理に関する知見はきわめて少なく, AOKI and KONNO (1961) が蘚類より分離したワムシの耐凍性を実験的に調べたものが唯一の研究である.

本研究では, 昭和基地付近の露岩域で採取した蘚類の冷凍標本を日本に持ち帰り, これより抽出したクマムシとセンチュウを用いて種々の低温条件下における耐凍性に関する実験を行った.

## 2. 材料と方法

### 2.1. 実験種

実験に用いたクマムシは, *Macrobotus harmsworthi* J. MURRAY である. この種は汎存種で, 昭和基地周辺の露岩域ではこれまで Rundbokshetta と EINSTÖINGEN から報告されている (UTSUGI and OHYAMA, 1989). 体色は無色ないしやや褐色がかった白色で体長約 490  $\mu\text{m}$  の大型種であり, この属は長命虫として知られている (青木, 1973).

センチュウは, 南極の固有種として大陸性および海洋性の両南極域から報告されている *Plectus antarcticus* DE MAN を用いた. この種はこれまでに昭和基地周辺の Rundboksheetta 露岩域において蘚類群落から採集されている (SHISHIDA and OHYAMA, 1986). 体色は無色で体長は 1 mm 内外である.

## 2.2. 藓類の採取および冷凍保存

実験種の抽出に用いた藓類の採取は、1988年1月上旬の夏季に昭和基地から南方に約25 km 離れた大陸上にあるラングホブデ露岩域内の雪鳥沢（南緯 69°14'30''，東経 39°46'00''）で行った。採取した藓類は、*Bryum pseudotriquetrum* と *Ceratodon purpureus* の2種が混在したものであり、雪鳥沢の上・中流域より採取した。

藓類試料は -20°C 内外の温度条件で冷凍標本として日本に持ち帰った。最初の試料の冷却は、昭和基地の 0°C 内外の外気温下で多数の試料を脱脂綿等で包んでから段ボール箱 (54×36×27 cm<sup>3</sup>) に梱包したのち、-20°C に設定された食料保存用冷凍庫に移して行った。この試料が冷凍庫内温度に冷却されるまで少なくとも約4日は必要とした。従って、この試料の冷却速度は非常に緩慢であると言える。その後、冷凍保存場所を観測船「しらせ」、国立極地研究所および北大低温科学研究所の各冷凍庫へと順次に移したが、いずれの場合も -20°C の温度条件下で試料を保存した。

## 2.3. 実験個体の抽出

実験に用いた個体は、-20°C の冷凍庫内に保存しておいた採取地点の異なる8藓類試料から抽出した。1藓類試料の容積は、表面積を 1×2 cm<sup>2</sup>，厚さを約 1 cm とした。抽出方法は、藓類サンプルを 0°C 条件の恒温槽内に移し数日間放置したのち、その融解した中から実験用の個体を、実験室にて冷光照明を用いた実体顕微鏡下で分離抽出した。なお、この抽出処理は1サンプルにつき1-2時間かけて行ったが、その時の室温は +16°C 内外であった。

この -20°C で10ヵ月冷凍保存後の藓類試料中でのクマムシおよびセンチュウの生存率を表1に示した。クマムシの生存率は49% 余りであり、センチュウの場合は58% であった。クマムシの生存率は、1個体しか得られなかった試料を除いても25~66% の範囲にあ

表1 -20°C で10ヵ月冷凍保存後のクマムシおよびセンチュウの生存率  
Table. 1. Survival rates of tardigrades and nematodes after ten month storage at -20°C.

試料番号	クマムシ			センチュウ		
	生存 (個体数)	死亡	生存率 (%)	生存 (個体数)	死亡	生存率 (%)
1	13	33	28	18	12	60
2	53	27	66	68	27	72
3	48	45	52	56	55	51
4	0	1	0	12	9	57
5	3	5	38	8	11	42
6	5	15	25	25	23	52
7	21	23	48	22	13	63
8	24	21	53	43	32	57
合計	167	170	49	252	182	58

り、試料間における生存率の差は大きかった。一方、センチュウの生存率の範囲は 42-72% であり、試料間の開きが小さく各試料とも生存率はクマムシと比較すると高い値を示した。また、クマムシとセンチュウ共に、生存および死亡個体を合わせた生息個体数が 8 藓類試料間でかなり異なっており、試料番号 4 のような乾燥試料や、試料番号 5 の過湿な試料で生息個体数が低くなる結果が得られた。この結果は、生息個体数と藓類試料の含水量との間に、何らかの関係があることを示唆していると考えられる。ラングホブデ露岩域の雪鳥沢における、これら水生動物の生態分布に関するより詳細な結果は、別途報告する予定である。

また、抽出された生存個体は実験に使用するまでクマムシとセンチュウに分けられ、0°C 条件の恒温槽内で約 1 週間保存したが、この保存期間には特に餌物質を与えなかった。

#### 2.4. 凍結実験

凍結実験には、齢期の影響を少なくするために体長がほぼ同一の個体を用いた。藓類から抽出した生存個体のうち、クマムシは小型の個体を除き体長約 500  $\mu\text{m}$  のものを用いた。センチュウはほとんどの抽出個体が体長約 1 mm であったため、個体間における齢期の差はないものと考えられる。実験では、それぞれ約 20 個体ずつを別々に 2 cc のガラス管ビンに約 1.5 cc の蒸留水と共に入れ、クマムシで 6 本、センチュウで 8 本の合計 14 本の実験試料を用意した。これらの実験試料を同時にプログラム冷却式の冷凍槽内で -10°C, -18°C, -32°C, -40°C, -80°C の 5 温度段階まで冷却した。

南極での 1 月における外気温の冷却速度は 0.4°C/時 (AOKI and KONNO, 1961) 程度であることから、間隙水で満たされている藓類中の冷却速度はさらに緩慢になると考えられる。松田 (1964) は、日較差の大きい夏季における十分に湿った藓類内の温度変化率を 1-2°C/時と推定している。このことから、-10°C から -40°C までは自然条件下での藓類内温度の変化に近似させるため、きわめて遅い 2°C/日の速度で冷却した。また、耐凍性の高い動物は -30°C 内外の低温で予め凍らせておくと、さらに超低温まで急速冷却されても融解後に生存できるものが多く、朝比奈 (1959) はこのことをキクハガレセンチュウの凍結融解実験で確かめている。そこで、今回の実験では実験に要する経過日数の影響を抑え、低温にした場合の影響をみるために、-40°C から -80°C にかけては 20°C/時の速度でやや急速に冷却した。

今回の実験では -4°C までにすべてのガラス管ビン内の試料は、特に植氷しなくても自発凍結した。この事実は蒸留水でかなり希釈しても強い氷核活性を現すものが試料内に存在することを示している。このことは今回の実験目的からそれるが、興味ある今後の研究テーマの一つである。

#### 2.5. 融解後の観察

各所定温度で 1-2 本のガラス管ビンを冷凍槽より取り出し室温 (+16°C) で融解した後、耐凍性の目安として 2 時間、4 時間、2 週間および 5 週間後の実験個体中の活動個体の割

合 (RA; Ratio of active individuals) を求めた。その際 4 時間後の観察の後、試料は 0°C の恒温槽で保存してから 2 週間後と 5 週間後の観察を行った。

このときの活動の有無に関しては、クマムシは水中を泳ぐような脚の活動、センチウでは体全体で行う活発な前後動を活動の基準とした。不活動な個体も時間の経過につれ活動し始めることがあるため、2, 4 時間後の観察時の不活動状態の個体は必ずしも死亡を指しているものではない。しかし、2 週間以降の観察時における不活動状態のものは死亡個体と考えて良いものであろう。

### 3. 結 果

#### 3.1. クマムシ, *M. harmsworthi* の耐凍性

表 2 に、-10°C から -80°C まで 5 段階の温度で凍結した試料の融解してから 2 時間、4 時間、2 週間および 5 週間後の活動個体の割合 (RA 値) を示した。

表 2 凍結融解後における *Macrobiotus harmsworthi* の時間経過別に求めた活動個体の割合 (RA 値)

Table. 2. RA values of *Macrobiotus harmsworthi* after thawing.

観察月日	処理温度 (°C)	実験個体数	融 解 後 の 経 過 時 間							
			2 時 間		4 時 間		2 週 間		5 週 間	
			活 動 個 体 数	RA 値 (%)	活 動 個 体 数	RA 値 (%)	活 動 個 体 数	RA 値 (%)	活 動 個 体 数	RA 値 (%)
XII 8	-10	20	14	70	20	100	19	95	12	60
XII 12	-18	20	15	75	17	85	17	85	8	40
XII 19	-32	20	16	80	17	85	16	80	15	75
XII 23	-40	22	22	100	22	100	22	100	17	81
XII 23	-80	42	42	100	42	100	39	93	36	86

2 時間: 冷凍槽より取り出したサンプルの水が融解し終り、室温よりも低い水温状態での観察結果を示している。-32°C, -40°C および -80°C の 3 条件で融解直後に体をたる形にまとめて乾眠している個体が多くみられ、特に -80°C まで冷却された個体のほとんどが乾眠状態であった。その後、徐々にそ生しはじめ -32°C の RA 値は 80% であり、-40°C および -80°C では全個体が活動していた。しかし、-10°C および -18°C の条件ではこのようなたる形となって乾眠している個体は観察されず、この 2 条件の RA 値はそれぞれ 70% および 75% で先の 3 条件よりも低い結果となった。

4 時間: サンプルの水温がほぼ室温にまで上昇したときの観察結果である。-10°C, -18°C および -32°C の 3 条件で活動個体は 2 時間後より増加していた。一方、-40°C および -80°C では 2 時間後の結果と同様に全個体が生存していた。

2 週間: 4 時間での観察後、サンプルを 0°C の恒温槽に移し 2 週間放置したときの観察結果である。4 時間後の観察時における活動個体数より -10°C および -32°C で共に 1 個

体,  $-80^{\circ}\text{C}$  で 3 個体の減少がみられた。

5 週間: 2 週間での観察後, さらにサンプルを  $0^{\circ}\text{C}$  の恒温槽に 3 週間放置したときの観察結果である。いずれの温度条件においても死亡個体の増加がみられたが,  $-32^{\circ}\text{C}$ ,  $-40^{\circ}\text{C}$  および  $-80^{\circ}\text{C}$  まで冷却された個体では RA 値が高く, それぞれ 75%, 81% および 86% に達した。一方,  $-10^{\circ}\text{C}$  と  $-18^{\circ}\text{C}$  までしか冷却されなかった個体では RA 値が低く, それぞれ 60% と 40% にすぎなかった。この時の水は若干白濁していた。

この実験で得られた各時間経過での RA 値は, 5 週間後の  $-10^{\circ}\text{C}$  および  $-18^{\circ}\text{C}$  での結果を除き, いずれも供試虫の抽出時に得られた生存率 (表 1) より高い値を示した。

### 3.2. センチュウ, *P. antarcticus* の耐凍性

表 3 に, クマムシと同様に  $-10^{\circ}\text{C}$  から  $-80^{\circ}\text{C}$  まで 5 段階の温度で凍結し, 融解してから 2 時間, 4 時間, 2 週間および 5 週間後の活動個体の割合 (RA 値) を示した。

表 3 凍結融解後における *Plectus antarcticus* の時間経過別に求めた活動個体の割合 (RA 値)

Table 3. RA values of *Plectus antarcticus* after thawing.

観察月日	処理温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	実験 個体数	融 解 後 の 経 過 時 間							
			2 時 間		4 時 間		2 週 間		5 週 間	
			活 動 個体数	RA 値 (%)	活 動 個体数	RA 値 (%)	活 動 個体数	RA 値 (%)	活 動 個体数	RA 値 (%)
XII 8	$-10$	22	17	77	21	100	0	0	0	0
XII 12	$-18$	20	13	65	18	90	0	0	0	0
XII 19	$-32$	19	0	0	6	46	2	11	0	0
XII 23	$-40$	57	45	79	50	88	3	5	0	0
XII 23	$-80$	39	37	95	31	79	1	3	0	0

2 時間:  $-32^{\circ}\text{C}$  の温度では融解後に活動している個体が全く観察されなかった。しかし, 他の温度条件では 65-95% の個体が活動し, 特に  $-40^{\circ}\text{C}$  と  $-80^{\circ}\text{C}$  において RA 値が高く, それぞれ 79% と 95% を示した。

4 時間:  $-32^{\circ}\text{C}$  冷却個体の RA 値は 46% にすぎないが, 他の温度条件では RA 値は 79% ( $-80^{\circ}\text{C}$  冷却)~100% ( $-10^{\circ}\text{C}$  冷却) に達している。

2 週間:  $0^{\circ}\text{C}$  の恒温槽に 2 週間放置しておいたサンプルの水は水質の悪化をもたらし, かなり白濁状態であった。いずれの温度条件においても急速に死亡個体が増加し, RA 値は 0% ( $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$ ), 11% ( $-32^{\circ}\text{C}$ ), 5% ( $-40^{\circ}\text{C}$ ), 3% ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) にすぎなかった。

5 週間: サンプルの水は完全に白濁し, いずれの温度条件においても全個体死亡した。

以上の結果と抽出時の生存率 (表 1) とを比較すると, 4 時間までは,  $-32^{\circ}\text{C}$  条件を除いた 4 温度条件での RA 値はいずれも供試虫抽出時の生存率より高かった。しかし, 2 週間から 5 週間にかけては融解後に活動個体が全くみられなくなり, この時の水は上述したように白濁状態であった。

## 4. 考 察

### 4.1. 抽出時の生存率

−20°C の温度で冷凍標本とした蘚類からのクマムシおよびセンチウの抽出時における生存率は、凍結融解後の各温度段階におけるそれらの活動個体の割合 (RA 値) と比較すると、センチウにおける −32°C での 2 時間後を除くと、明らかに低い数値を示した。

この抽出時の生存率と凍結融解後の活動個体の割合が異なる原因の一つとして、処理の時間が考えられる。時間経過に伴う RA 値は明らかに 2 時間後より 4 時間後において高い数値を示した。このことは凍結から回復して活動状態に入るまでには少なくとも 4 時間以上の時間経過が必要なことを示している。抽出処理は 0°C で融解後 1-2 時間内に行っており、凍結実験における 2 時間後の結果より回復時間が短い結果である。このことは生存しておりながら十分に回復していない個体を死亡個体とみなした可能性がある。その結果、実際よりも低い生存率として示されたのであろう。また、このことは耐凍性の調査を行う場合に少なくとも融解後 4 時間以上の時間経過を必要とすることを示唆している。

他の大きな要因として、蘚類を採取した時期が南極の夏季、すなわちこれらクマムシおよびセンチウの活動期にあたるためではないかと考えられる。蘚類の採取が行われた 1 月は、昭和基地における過去 25 年余りの気象記録によると月平均気温が 0°C 内外である (国立極地研究所, 1985)。また、この夏季における蘚類内の温度変化をみると、1 月上旬には日中に +10°C 以上になり、最も高いときには +19°C にまで上昇することもある。そして夜間には 0°C 以下 −10°C ぐらいまで低下することもある。こういった温度変化を示す蘚類はスノードリフトからの融水によって間隙水で満たされ、1 日の間に間隙水の凍結と融解を繰り返す (松田, 1964; MATSUDA, 1968)。このような蘚類中に生息するクマムシおよびセンチウは活動期にあたるため、こういった温度および水分条件の変動によって多くの個体が耐凍性のある程度失っていると考えられる。この時期に採取直後の蘚類を比較的遅い速度ではあるが、−20°C の冷凍庫内で凍結したため、この耐凍性の低下した個体が凍結による傷害を受ける割合が高くなり、抽出時に生存率が低下する原因となったのであろう。

一方、今回の実験に用いたクマムシおよびセンチウは、−20°C で冷凍した蘚類標本から抽出した生存個体であるため、耐凍性を持っているものと考えられる。一般に越冬昆虫では低温によるハードニングは通常 0°C 内外の温度で行われることが多いが (朝比奈・竹原, 1964)、今回の実験でもこれら 2 種は実験に使用されるまでの間、0°C 内外の温度条件で保存されていたものである。従って、実験ではすでにハードニングされた個体の耐凍性を調べたことになり、その結果として高い活動個体の割合を示した可能性がある。

### 4.2. クマムシ, *M. harmsworthi* の耐凍性

*Macrobiotus* 属のクマムシ類では環境条件が悪化すると体をたる形にまらめて乾眠に入り、仮死状態で生命を保つことが知られている (青木, 1973)。実験では、−32°C, −40°C および

-80°C の 3 温度条件で融解直後にこのたる形の個体が観察され、大半が乾眠状態であった。

一般に越冬昆虫の前蛹や幼虫等で耐凍性の高いものは -30°C 内外の温度で予備凍結しておくとし、自然条件下では起こりえない -196°C といった温度でも生存できる (朝比奈・青木, 1958; 丹野, 1968; 朝比奈ら, 1972)。これは予備凍結中に細胞内凍結を起こす水分が細胞内から出てしまい、その後、超低温まで急速冷却しても細胞内凍結による凍害を引き起こす水分が細胞内に残っていないためだといわれている (ASAHINA, 1969)。実験では、虫体を 2°C/日のきわめて遅い冷却速度で徐々に冷却している間に、凍結脱水が十分に行われ徐々に低温乾燥されたため乾眠したものであろう。その結果、-32°C 内外の温度から乾眠状態に入った -40°C 条件の低温冷却個体は、-80°C まで 20°C/時の速度でやや急速に冷却されても融解後に凍害を受けることなく、高い活動個体の割合を示したものと考えられる。一方、-10°C および -18°C での高温冷却個体は、凍結脱水が不十分であったため融解後に活動個体の割合が低くなったのであろう。

#### 4.3. センチュウ, *P. antarcticus* の耐凍性

センチュウでは予備凍結ばかりでなく、予備乾燥によっても耐凍性が高まり、低温下での凍結融解後に生存できることが観察されている (GEHENIO and LUYET, 1947, 1951)。GEHENIO and LUYET (1947) はセンチュウの 1 種を 16-48 時間かけてゆっくりと脱水し、引き続いて -77°C まで急速に冷却しても、急速融解後にはかなりのセンチュウが生存することを観察した。その後、GEHENIO and LUYET (1951) はやはりこの種を用いて予備乾燥条件を相対湿度 90%、95% および 98% の 3 条件に定めて脱水の程度を調節し、-77°C までの急速冷却および室温までの急速加温を行って生存率を調べている。その結果、相対湿度 95% 条件が最も耐凍性を高める効果を持ち、この条件に 16 時間さらした場合には 90% の生存率が得られている。しかし、この予備乾燥を行わずに凍結すると、わずか 1% 足らずの生存個体しか得られていない。相対湿度 90% の条件は予備乾燥自体が死亡をもたらし、相対湿度 98% では脱水が不十分なため凍結融解後の死亡率が高くなるという結果を示している。これらの結果は、低温の -77°C にさらすまでに時間をかけて適度に脱水されていれば、急速冷却したとしても細胞内凍結を起こすことなく融解後に生存し得ることを示唆している。実験では -4°C で凍結後 -40°C まで 2°C/日のきわめて遅い速度で徐々に低温乾燥したが、この過程は、センチュウの 1 種を -77°C の低温にさらす前の予備乾燥時における適度な脱水と同様な効果をもっていると考えられる。その結果、低温冷却のうち -32°C 条件のように 2・4 時間後に他の温度条件より低い活動個体の割合を示す場合もあるが、2 週間後には -10°C および -18°C 条件での高温冷却個体はすべて死亡したのに対して、-32°C、-40°C および -80°C の低温冷却条件では数個体なりとも生存できたのであろう。

センチュウでは、融解後の経過時間別の活動個体の割合が 2 週間後に急激な低下を起こし、5 週間後には全個体死亡することが観察された。DE CONINCK (1951) は自由生活性センチュウ



ユウを  $+28^{\circ}\text{C}$  の温度条件で飼育したところ、数週間後には全個体が死亡することを観察している。また、この種を用いて凍結融解実験を行い、 $-192^{\circ}\text{C}$  の超低温下で急速凍結後、 $+30^{\circ}\text{C}$  の水中で急速加温し、生存個体をそのサンプル水ごと置いておくと、数時間後には全個体が死亡することを観察している。彼はこの原因について、超低温の  $-192^{\circ}\text{C}$  でも生存できるバクテリアの増殖にともなう水質の悪化を示唆している。今回の実験では2週間後に水がかなり白濁しだし、5週間後では水は完全に白濁して水質の悪化が観察された。この水の白濁原因を確認することはできなかった。しかし、 $-4^{\circ}\text{C}$  までにすべての試料が自発凍結したことも考え合わせると、試料中に何らかの水核活性を現す物質の存在、例えば、DE CONINCK (1951) によって示唆されたような超低温下においても生存しうるバクテリア等が存在する可能性の検討が必要である。また、クマムシではほとんどみられなかった水質の悪化がセンチユウに強く現れた原因についての検討も必要であろう。

#### 4.4. 蘚類中におけるクマムシおよびセンチユウの生存

南極露岩域においてクマムシ、センチユウ等の間隙水動物は、主として蘚類および藻類群落に生息するが、その生息環境要因として重要な群落内の微気象については数例の報告があるにすぎない (松田, 1964; MATSUDA, 1968; KANDA, 1987)。松田 (1964) は、昭和基地のある東オングル島で南西部斜面に分布する蘚類内の温度、気温、砂礫地の表面温度および地中 10 cm の深さでの温度等を 1961 年 2 月から 1962 年 1 月まで測定し、蘚類の生育条件およびその中に生息する間隙水動物の生存条件としての温度について考察している。この東オングル島の蘚類群落周辺は冬季の 5 月から 9 月までは雪 (スノードリフト) におおわれており、蘚類内温度ばかりではなく他の測定点も日変動が少ない。このようなスノードリフトにおおわれた蘚類内の温度は常に気温よりも高い傾向があり、気温が  $-40^{\circ}\text{C}$  になっても蘚類内の温度は  $-20^{\circ}\text{C}$  以下にはならない。しかし、ラングホブデ露岩域の裸出したままの蘚類では、冬季の 5 月に気温が  $-29^{\circ}\text{C}$  のとき蘚類内温度も  $-29^{\circ}\text{C}$  であることが観察されている。また、KANDA (1987) は 1983 年の冬期間にあたる 8・10 月にラングホブデ露岩域の雪鳥沢で蘚類内温度と気温を測定した。その結果、この冬季における蘚類内の温度は、1 日の気温変動内に納まり外気温と同じ温度にまで低下することを報告している。実験用の蘚類試料を採取したラングホブデ露岩域の雪鳥沢において、1987 年の 8 月から 11 月にかけて不定期ながら月に 1 度のダニ類の生態調査を行った際の観察によれば、スノードリフトは岩や小石の下流側に付着しており、沢中央部の蘚類上には積雪がほとんどみられないことが多かった。これは沢上流の大陸氷側から海岸側に沢づたいに強風が吹き下ろすために、雪が吹き飛ばされるためと考えられる。こういった冬季における裸出した蘚類の温度環境としての最低気温を、昭和基地で観測されたデータからみると、1987 年の最低気温は  $-35.4^{\circ}\text{C}$  であった (金戸ら, 1990)。また、1957 年から 1982 年にかけての最低気温は  $-45.3^{\circ}\text{C}$  を記録している (国立極地研究所, 1985)。以上のことから、実験用の蘚類を採取

した沢の中央部では、冬季の蘚類内温度は気温との較差が小さく  $-40^{\circ}\text{C}$  内外にまで低下し、その蘚類は低温乾燥状態で越冬している可能性がある。従って、このような蘚類内に生息するクマムシとセンチュウは  $-40^{\circ}\text{C}$  内外の低温条件に耐え得る種と考えられる。

一方、夏季の1月と3月には蘚類が完全に裸出して蘚類内温度の著しい日周変化がみられ、スノードリフトからの融雪水で十分に湿った蘚類内は凍結と融解を繰り返すようになる。しかし、この時の蘚類内における温度の変化率はせいぜい  $1-2^{\circ}\text{C}/\text{時}$  であり、松田は生物の生存にとって致命的影響はないであろうと結論している(松田, 1964; MATSUDA, 1968)。今回の実験での  $2^{\circ}\text{C}/\text{日}$  という冷却速度は、日較差の大きい夏季において松田(1964)が推定した温度変化率よりもさらに緩慢なものである。従って、このきわめて遅い速度で凍結させたことによって、個体への傷害がなく低温乾燥状態に入ったことで高い活動個体の割合を示したものであろう。

また、こういった温度条件の変化に対応した蘚類の水分条件の変化をみると、蘚類は夏季にはスノードリフトの融雪水から水分の供給を受けるが、1月半ば過ぎから徐々に乾燥しはじめて、秋季から冬季にかけては低温乾燥状態となり、冬季には凍結してしまう(松田・星合, 1973)。その結果、蘚類は一年の大半を乾燥または凍結状態で過ごすことになる。こういった水分条件的には過酷な環境でありながら蘚類内には数多くのクマムシとセンチュウが生息している。今回の実験ではきわめて遅い速度での冷却が穏やかな低温乾燥の進行をもたらした。クマムシおよびセンチュウの高い割合での活動個体が得られた。従って、南極の自然環境下においても蘚類群落内では、夏季後半から冬季へかけての緩慢な温度低下に伴う乾燥とそれに続く凍結が、これらの動物の生存を可能としているものと考えられる。

## 謝 辞

本報告をまとめるにあたり、野外調査や材料採取等の研究活動に対し、多大なるご協力とご支援を頂いた第28次南極地域観測隊長の星合孝男博士、並びに隊員の方々に深く感謝する。特に、ラングホブデ観測小屋滞在中、気象担当の荻原裕之隊員には材料採取等の野外調査と生活面で並々ならぬご援助を頂いた。また、実験に用いたクマムシおよびセンチュウの同定に際し、労を惜しまずご協力下された東京女子医科大学の宇津木和夫博士、並びに札幌医科大学の鬼頭研二博士にお礼申し上げる。

## 文 献

- AOKI, K. and KONNO, H. (1961): Frost-resistance of the rotifer in Antarctic region. *Bull. Mar. Biol. Stn. Asamushi, Tohoku Univ.*, **10**, 247-250.
- 青木淳一 (1973): 土壤動物学. 東京, 北隆館, 814 p.
- 朝比奈英三 (1959): キクハガレセンチュウの耐凍性. *低温科学, 生物編*, **17**, 51-62.
- ASAHINA, E. (1969): Frost resistance in insects. *Adv. Insect Physiol.*, **6**, 1-49.
- 朝比奈英三・青木 廉 (1958): 耐凍性昆虫を超低温で凍結生存させる一つの方法. *低温科学, 生物編*, **16**, 55-63.

- 朝比奈英三・竹原一郎 (1964): イガラ前蛹の耐凍性 I. 低温科学, 生物編, **22**, 79-90.
- 朝比奈英三・大山佳邦・高橋恒夫 (1972): エゾシロチョウの耐凍性 I. 低温科学, 生物編, **30**, 91-98.
- DE CONINCK, L. A. P. (1951): On the resistance of the free-living nematode *Anguillula silusiae* to low temperatures. *Biodynamica*, **7**, 77-84.
- GEHENIO, P. M. and LUYET, B. J. (1947): Improved method for obtaining the survival of vinegar "eels" after their solidification at low temperatures. *Biodynamica*, **6**, 141-149.
- GEHENIO, P. M. and LUYET, B. J. (1951): Effect of a preliminary slight dehydration on the survival of "vinegar eels" frozen at  $-77^{\circ}\text{C}$ . *Biodynamica*, **7**, 41-52.
- KANDA, H. (1987): Moss vegetation in the Yukidori Valley, Langhovde, East Antarctica. *Papers on Plant Ecology and Taxonomy to the Memory of Dr. Satoshi NAKANISHI*, 197-204.
- 金戸 進・菅原英敏・萩原裕之・山本 哲 (1990): 第 28 次南極地域観測隊気象部門報告 1987. 南極資料, **34**, 15-45.
- 国立極地研究所編 (1985): 気象. 南極の科学 9 資料編, 東京, 古今書院, 67-100.
- 松田達郎 (1964): 南極東オングル島におけるセン類群落の微気象について. 南極資料, **21**, 12-24.
- MATSUDA, T. (1968): Ecological study of the moss community and microorganism in the vicinity of Syowa Station, Antarctica. *JARE Sci. Rep., Ser. E (Biol. Med. Sic.)*, **29**, 1-58.
- 松田達郎・星合孝男 (1973): 極地の生態. 東京, 共立出版, 109 p (生態学講座 29).
- MORIKAWA, K. (1962): Notes on some Tardigrada from the Antarctic region. *Biol. Res. JARE*, **17**, 1-6.
- SHISHIDA, Y. and OHYAMA, Y. (1986): A note on the terrestrial nematodes around Syowa Station, Antarctica. *Mem. Natl Inst. Polar Res., Spec. Issue*, **44**, 259-260.
- SUDZUKI, M. (1964): On the microfauna of the Antarctic region. I. Moss-water community at Langhovde. *JARE Sci. Rep., Ser. E (Biol. Med. Sic.)*, **19**, 1-41.
- 丹野皓三 (1968): ポブラハバチの耐凍性 V,  $-196^{\circ}\text{C}$  での傷害. 低温科学, 生物編, **26**, 79-83.
- UTSUGI, K. and OHYAMA, Y. (1989): Antarctic tardigrada. *Proc. NIPR Symp. Polar Biol.*, **2**, 190-197.
- (1990 年 8 月 13 日受付; 1990 年 9 月 15 日改訂稿受理)