

植物の発芽・生長および動物（アルテミア）に関する 抗生物質・金属イオンの影響

－ 研究 A：アルテミアの発生と成長

研究 B：植物の発芽・生長への抗生物質の影響Ⅱ－

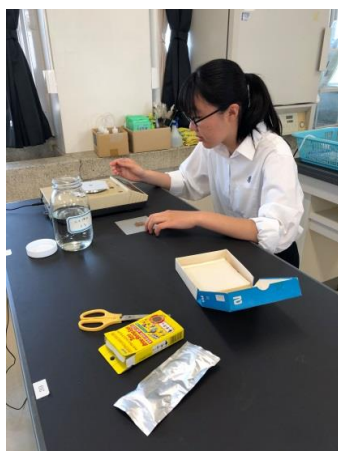
実施担当者 埼玉県立本庄高等学校
教諭 安齋 由佳

1 はじめに

本校の生物部員は、応用生物、地域環境分野に関わる職種や医療従事者として将来活躍したいと考えている。生徒は、普段の飼育活動などを通じて生物に対する責任感などを醸成しているが、その一方で、進路に関係した分野の研究を早い段階から始めたいという意欲をもっている。今回、科学教育振興助成をしていただき、2つの研究（研究 A, B）を実施することができた。研究プロセスにおいては次期学習指導要領の「アクティブ・ラーニング」の視点から「知っていることを使ってどのように社会・世界と関わり、よりよい人生を送るか」という生徒の本質的な学びを支援したいと考えた。1年間の活動を通じて生徒は試行錯誤しながらも考える力、表現する力を育成しながら本質的な学びに取り組めたと感じている。両研究とも埼玉県科学教育振興展覧会地区展に出展し、「アルテミアの発生・成長の研究」（優秀賞・県中央展選出）、「植物の発芽・生長への抗生物質の影響Ⅱ」（優良賞）を受賞することができた。

2 研究内容

2-1 研究 A：アルテミアの発生と成長



本研究は、水中環境によっておこるアルテミアの発生と成長の違いについての研究である。

船舶などの船底に銅化合物を塗り、海洋生物が船底に付着するのを避け、燃費向上に役立っている。¹⁾ このことから、銅イオンは海洋環境に何らかの影響を与えていることがわかる。我が国では金属イオンについて規制はされているものの、それらの流失の可能性は十分ある。また、アルテミアの生息する海、塩湖などは地球温暖化に伴う蒸発による塩類濃度の上昇など、人為的影響を受けている。²⁾ そこで、アルテミアが塩類濃度と金属イオンによってどのような影響を受けるのかを考察した。

本研究で行った実験は、実験1「どのくらいの塩類濃度で孵化、成長が可能なのか。また、濃度によるアルテミアの形状変化があるのか。」実験2「金属イオンの種類によって、孵化、生存に差があるのか。また、金属イオンの濃度による変化はあるのだろうか。」の2つである。

実験1の方法は、濃度が0%、2%、4%、6%、8%、10%の人工海水それぞれ600mLをビンに入れ、それに卵を50 μ gずつ入れて発生と生存率、成長を観察した。また餌としてシアノバクテリア

のマイクロシスティス エルギノーザ (*Microcystis aeruginosa*) を、シャーレに取出して水分をほとんど含まないようにしてから、マイクロピペットで 100 μ L ずつ加えた。ビンはすべてインキュベータ内に入れ 27°C に管理し、死骸が目立ってきたらそのつど取り除いた。また、実験開始から 3 週間後にオス個体のプレパラートを作成し形状を観察した。

実験 2 の方法は、実験 1 の結果から、一番孵化、成長が安定していた 4% の濃度の海水を使用した。金属は、銅イオン、アルミニウムイオン、亜鉛イオンをそれぞれ、0.1 ppm、1 ppm、10 ppm、100 ppm となるように 4% 人工海水に加えて調節した。また、比較用に 4% の人工海水を 3 つ用意した。その他の実験方法は実験 1 と同様とした。各種金属イオンについては、下記のとおりである。銅イオン：ヒトに対する毒性は低いが、水生生物への影響は大きい。低濃度であっても同じことが言える。化学物質排出把握管理促進法第一種指定化学物質に指定されている。銅及びその化合物は、水道水質基準が設定されている。また、水質汚濁防止法に基づく排出基準が銅含有量として設定されているほか、水質汚濁防止法の指定物質に指定されている。

アルミニウムイオン：生物環境の中で最も多く存在するイオンのひとつである。ただ、ヒトはかなり接触しているにもかかわらず、体内量が少ないため、中毒性はないとされている。水生生物にとっても同じことが言える。現在のところ水質規制は行われていないが、水産用水基準では 0.1 mg/L 以下、水道水の快適水質項目の目標値は 0.2 mg/L 以下となっている。

亜鉛イオン：生物の体を構成するためには欠かせない元素である一方、亜鉛の生態系への影響に着目した取り組みはまだ少ない。2016 年に水生生物保護を目的とした水質汚濁防止法・下水道法が改正され、亜鉛含有量の排水基準が 5 mg/L から 2 mg/L に引き上げられた。

実験開始当初、実験 1 に対して、アルテミアの乾燥卵が浸透圧により海水の水分を取り込んで孵化するため、極端に高濃度である場合孵化が阻害されると考えていた。小山田氏、村上氏、安江氏の論文による「アルテミアの孵化は、塩湖の濃度が雨水などで薄まり 8% 前後で行われている」と結論づけている。³⁾ 形状についても、極端に高濃度だと、鱗などを持たないアルテミアは生存ができないため、大きな変化があると期待していた。そして実験 2 に対し、銅イオンは実際に船舶に利用しているため影響は大きく、アルミニウムイオン、亜鉛イオンは、環境に対する対策はあまり取られていないため、影響は少ないと予想していた。

実験 1 の結果は、予想と同様に高濃度では孵化が阻害されていた。また、高濃度になると孵化までに要する時間が伸びることも分かった。生存率では、高濃度のほうが長く生き残るという結果が得られたが、発生したアルテミアの個体数によるものだと推測できる。形状については 8% と 10% で変化が見られ、予想したように鱗のようなものが観察された。^{図 1)} また、6% 以上の高濃度になると個体の大きさが 2% と比べて 2 分の 1 ほどになっていた。

図 1



実験 2 では、いずれのイオンにおいても、3~4 日後に生存率が著しく低下した。しかしこの結果については、金属イオンを加えたものが必ずしも生存率が低いということではなかったため、金属イオンの影響であると一概には言えない。しかし、すべてにおいて成長が遅かったため、金属イオンが生物の成長に確実に影響を及ぼしているといえる。また、金属イオンを加えたものは、加えていないものに比べ孵化が阻害されていた。すべての濃度において亜鉛イオンが最も孵化を阻害し、反対にアルミニウムイオンは大きな影響を及ぼしていなかった。

本研究を通して、アルテミアは塩類濃度が高くなっても孵化および生育は可能であるが、孵化率や形状に影響を及ぼすため、地球温暖化による濃度上昇に関心を向け続ける必要があることが分かった。金属イオンについても、成長には確実に影響を及ぼしていることが分かった。特に亜鉛イオンについては、工業的な使用・処理に関して適切な対応が求められる。船舶に使用している銅イオンも、高い影響力を持っているため、使用には十分注意が必要であることが分かった。

2-2 研究B：植物の発芽・生長への抗生物質の影響Ⅱ



抗生物質は、工場排水への混入、うなぎ等の養殖での使用で環境への影響が心配されている。現在の排水処理技術では抗生物質を徹底的に取り除くことは難しく、最終的には自然界へと流出され汚染が広がっていく。このことは、動物への影響はもちろんであるが、植物への影響も十分に考えられる。そこで、本研究では抗生物質が植物の発芽、生長にどのような影響を与えているのかを調べることにした。実験に使用した抗生物質はペニシリン、ストレプトマイシン硫酸塩、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、ポリミキシンB硫酸塩の5種類で、使用した種子は、アブラナ科のハツカダイコンとキク科のシュンギクである。

実験方法は、ハイポネックス 0.1%水溶液に抗生物質を加え、それぞれ 1000 ppm、100 ppm、10 ppm、1 ppm、0.1 ppm、0.01 ppm の溶液を作った。各溶液とハイポネックス 0.1%のみ (0 ppm) の計 7 種類を使用して実験を行った。試験管 1 本につき種を 3 粒入れた各

溶液をそれぞれ試験管 5 本ずつ用意した。種は水面上にメッシュを張ったリングをセットし、そこに乗せた。⁴⁾ リングの高さまで溶液を入れ、インキュベーター内で 10 日間発芽・生長の様子を観察した。観察中に溶液がメッシュの高さを下回ったら、蒸留水を加え調節した。その際に 30 秒以上試験管を振り攪拌した。10 日後、植物の重さ葉の長さ、根の長さ、発芽率を測定した。

実験結果は、

ポリミキシンB硫酸塩：ハツカダイコン、シュンギクともに発芽率は濃度が高くなるにつれて低くなる傾向がある。ハツカダイコンの発芽率は 1000 ppm で 0 となった。シュンギクでは 1000 ppm で 35%ほどが発芽するが、発芽後の生長が著しく乏しい傾向にある。シュンギクは 0 ppm よりも重さでは 1 ppm、葉の長さでは 0.01 ppm、根の長さでは 0.1 ppm が上回り、ハツカダイコンも重さでは 1 ppm が上回る結果となった。

ストレプトマイシン硫酸塩：シュンギクの発芽率は濃度による違いがあまり見られないが、1000 ppm では発芽しても非常にもろく、茎も細かった。一方、ハツカダイコンは 1000 ppm で発芽率が 7%と低くなるが 100 ppm では 80%となる。またハツカダイコン、シュンギク双方に高濃度で葉が黄色くなる現象がおきた。

クロラムフェニコール：ハツカダイコン、シュンギクともに濃度が高いほど生長が乏しくなる傾向があり、ハツカダイコンは 0.01 ppm で生長に関する数値が低下する現象がおこる。シュンギクの場合は特に 1000ppm で発芽しても非常にもろく、茎も細かった。またストレプトマイシン硫酸塩同様、ハツカダイコン、シュンギクともに高濃度で葉が黄色くなる現象がおきた。

テトラサイクリン：5種類の抗生物質の中で発芽・生長に対する影響が最も顕著であった。ハツカダイコンの発芽率は 100 ppm 以上で 0%、シュンギクは 1000 ppm で 0%となった。ハツカダイコンと比べシュンギクの方がテトラサイクリンに対する耐性がある。またどちらもこの濃度を境に低濃度になるとハツカダイコンでは発芽率 90%、シュンギクは 60%と非常に高くなった。ストレプトマイシン硫酸塩、クロラムフェニコール同様、ハツカダイコン、シュンギクとも高濃度で葉が黄色くなる現象がおきた。

ペニシリン：他の溶液と比較するとハツカダイコン、シュンギクの発芽・生長ともに濃度による影響を受けにくい。シュンギクでは、重さ、葉・根の長さともにあまり変わらない。一方、ハツカダイコンでは、濃度によるばらつきが見られた。

3 まとめ

研究 A では、実験方法を確立するまでに 2 か月ほど要した。アルテミアの飼育は酵母菌を餌にするのが一般的だが、不純物をこまめに取り除いても実験に適した生存率まで上げることができなかつた。その中で、他の部員の協力もありマイクロキスティスが発生した容器では生育が安定していることを発見し本研究に至ることができた。生徒が一人でとことん考える一方でチームとして取り組む大切さを実感できたこの経験は今後の大学での研究活動にも通じる貴重なものになったと感じる。また、一般化されている銅イオンの船舶使用やアルテミアの孵化が可能な限界塩類濃度についても検証実験を行い、「知っていることを使ってどのように社会・世界と関わり、よりよい人生を送るか」という観点で生徒は自分の学びを深められたことにも意義を感じた。

研究 B では、ストレプトマイシン硫酸塩、クロラムフェニコール、テトラサイクリンにはハツカダイコン、シュンギク双方に似たような発芽・生長阻害、光合成色素への阻害の傾向が見られた。これについては、3 つの抗生物質に共通しているリボソームでのタンパク質合成阻害によるものと考えられる。また 3 つとも濃度が高い溶液で葉が黄色くなり、葉緑体への影響が確認された。^{5)、6)} 真核生物であるハツカダイコン、シュンギクに原核生物のリボソーム 30s サブユニットの阻害をするストレプトマイシン硫酸塩、テトラサイクリンとリボソーム 50s サブユニットの阻害をするクロラムフェニコールがなぜ作用したのか。これには共生説の関与が考えられる。⁷⁾ ポリミキシン B 硫酸塩は細菌の細胞膜透過性を変化させ破壊する作用があるが、これらが真核生物であるハツカダイコン、シュンギクに影響を与えたのも共生説が関与していると考えられる。⁷⁾ ペニシリンは、細菌の細胞壁合成を阻害することにより細菌の増殖を抑制する。ペニシリンが、ハツカダイコン、シュンギクともに発芽・生長阻害がないのは、細胞壁阻害は原核生物のみで真核生物の細胞壁への阻害はないこととミトコンドリア、葉緑体にも影響がないことが原因だと考えられる。高校の「生物基礎」で既習した共生説について、本生徒が関心をもった抗生物質と結びつけながら高いレベルで考える実験を行うことができた。

謝 辞

本研究において、中谷医工計測技術振興財団にご支援頂いただけましたこと、日本薬科大学の先生方にご指導頂きましたこととお礼申し上げます。

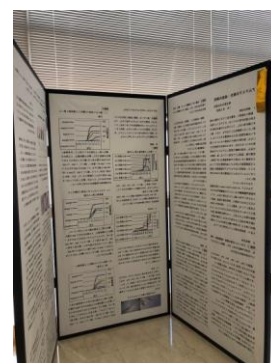
参考文献

研究 A :

- 1) 山口良隆 他 日本の海域で適応可能な Biotic Ligand Model の構築
- 2) 京都市青少年科学センター 塩湖の不思議な生物「アルテミア」
- 3) 小山田溪乃 他 最強のシェルター！アルテミアの耐久卵を孵化させるには？

研究 B :

- 4) 和田重雄、庭野純、熊本隆之、堀江均 2017 種子の発芽・発根への化学物質の影響を観察できる環境教育教材の開発と教育実践
- 5) 伊藤寿、田中歩、田中亮一 2012 クロロフィル合成系の多様性はいかにして生まれたか？
- 6) 小林康一 2012 高等植物のクロロフィル合成系の制御
- 7) 遠山益 葉緑体の進化的起源—共生説の立場から



以上