

熱水噴出孔生物の代謝測定手法の検討

藤倉克則^{*1} 橋本 惇^{*1} 瀬川 進^{*2}

熱水噴出孔周辺に生息する生物の基本的生理特性および適応機能を解明することを目的に、酸素消費速度の測定について検討した。測定は、*in-situ* と船上（常圧）の両環境においてそれぞれ異なった手法で行った。*in-situ* では潜水調査船に取付けられる深海生物呼吸測定装置を開発し、船上実験では従来から一般的に用いられている手法に若干の改良を加えた。船上実験では少なくとも実験期間中は生物を生存させることが必要となることから、その可能性についても検討した。それらの結果、熱水噴出孔生物の数種（主に腹足類と甲殻類）については測定可能であることが判明した。

An Experiment of Measurements for Metabolic Rates at Hydrothermal Vents Animals

Katsunori FUJIKURA^{*3} Jun HASHIMOTO^{*3} Susumu SEGAWA^{*4}

The measurement method for oxygen consumption rates of hydrothermal vent animals was examined. The purpose of this experiment was understand the basal physiology and adaptive function of hydrothermal vent animals. The measurements of oxygen consumption rate were carried out under two different conditions. The first method examined *in-situ* measurement and the other was in the laboratory environment. In the case of *in-situ* measurements, the oxygen consumption rate was measured with the deep-sea respirometer mounted on the submersible *Shinkai 2000*, the method used in the laboratory was the water bottle and flow-through technique. The most important challenge of the laboratory experiment was to keep animals in good condition.

The results of this study indicate that it is possible to measure for oxygen consumption rates for some animals (mainly gastropods and crustaceans) of hydrothermal vent communities.

* 1 海洋科学技術センター 深海研究部

* 2 東京水産大学、海洋科学技術センター流動研究員

* 3 JAMSTEC, Deep sea Research Department

* 4 Tokyo Univ. of Fisheries, Guest Scientist of JAMSTEC

1. はじめに

深海生物に関する研究は、有人潜水調査船・無人探査機が本格的に活動する以前には、主に曳航式トロール・ドレッジや底曳漁業に混獲されるサンプルをもとに、動物分類学的研究を中心に進められてきた。しかし、20世紀後半からの有人潜水調査船・無人探査機の活用により、比較的容易に深海域にアプローチできるようになったことから、浅海域の海洋生物研究と同等の研究が可能となる足がかりが構築されてきた。そのような中で、海底から供給される化学物質（硫化水素・メタンなど）とそれをエネルギー源とする化学合成細菌を生態系ピラミッドの底辺に置いた特異な生態系で構成される熱水噴出孔生物群集および冷水湧出帯生物群集が発見された（Corliss *et al.*, 1979; Craske, 1985; Hessler, 1985; Suess, 1985; Tunnicliffe *et al.*, 1985）。日本周辺でも同様な特徴を有する群集は相次いで発見され、沖縄トラフ・小笠原諸島海域の数ヶ所で熱水噴出孔生物群集、相模湾・南海トラフ・日本海溝で冷水湧出帯生物群集が確認されている（Okutani and Egawa, 1985; 橋本 ほか, 1988, 1990; Hashimoto *et al.*, 1989; Fujioka and Taira, 1989）。そして、これらの群集に関する研究に有人潜水調査船・無人探査機が多く用いられるようになった結果、群集の分布・組成に関する博物学的側面からの研究について新たな知見が蓄積されつつある。しかし、このような研究が進められていく一方で、熱水噴出孔・冷水湧出帯生物群集の生理・生態学的な基本特性に関する知見は少ない。これらの生物群集は、特異な環境下に生息していることから、通常の深海生物や浅海生物とは異なる適応機能を有していることが考えられ、それを解明することは熱水噴出孔・冷水湧出帯生物群集の基本的生物学的特性を解明する上で必要不可欠である。特に熱水噴出孔周辺に生息する固有生物は、噴出孔の極近傍は高温で、少し離れると通常の深海域同様冷寒となる両極端な環境を往来していることから、急激な水温変化に対応する適応機能を有していると考えられる。

そこで、水温変化に顕著に反応する酸素消費速度を指標とした生理生態学的側面からのアプローチを行い、それらの適応機能の解明に資すること

にした。そのためには、正確な酸素消費速度を測定することが不可欠であることから、*in-situ* の測定手法と船上における水温変化に伴う消費速度の測定の検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

2. *in-situ* 酸素消費速度の測定

通常、水生生物の酸素消費速度の測定実験は生息環境を再現した実験室内で行うことが一般的であるが（Segawa *et al.*, 1979; Mickel and Childress, 1982; 藤倉 ほか, 1988）、深海環境、特に熱水噴出孔周辺の環境を再現することは極めて難しいことから、環境に適合した熱水性の生物の正確な消費速度を測定するには *in-situ* で実験を行うことが最適である。そこで、潜水調査船や無人探査機による調査潜航で大型ベントスの酸素消費速度を1個体毎に測定可能なシステム（深海生物呼吸測定装置）を試作した。その構成図を図1に、仕様を以下に示した。

1. DO（溶存酸素）センサ：CTDにDOセンサを付加。測定レンジ0～10ml/l、精度±0.1ml/l、分解能0.005ml/l。

2. 実験チャンバー1、2：アクリル製透明容器。実験対象生物の大きさに併せて内容積の異なったものを装備する。実験生物を収納した後は外海水が入らないように密閉できる。

3. 変換ボールバルブ：実験チャンバー1、2のいずれかをDOセンサに接続する。潜水調査船や無人探査機のマニピュレータで操作する。

これらの各部位はチューブで連結され完全な閉鎖系として測定を行う。したがって現在のところ測定は1回の潜航で2個体について測定できる。

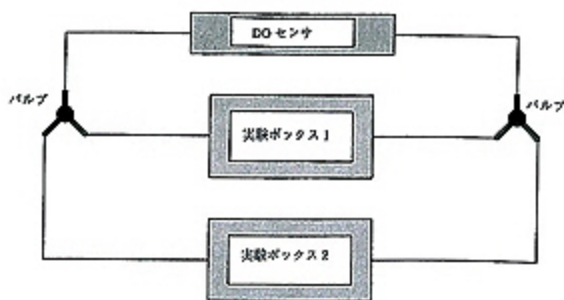


図1 深海生物呼吸測定装置構成図。

Fig. 1 Block Diagram of Deep-Sea Respirometer.

1991年7月16日、「しんかい2000」第559潜航で行った、小笠原諸島海域海形海山に生息するユノハナガニ（仮称）の *in-situ* 酸素消費速度計測例を図2に示す。実験チャンバーに収納後90分間は溶存酸素量の減少が大きく、それ以降は少なくなる。観察結果から、実験チャンバー収納直後はチャンバー内を激しく動きまわり、しばらくすると落ち着いた行動になる。通常ユノハナガニ（仮称）は、海底では活動的ではなく定位して摂食行動を示していることが多い。したがって、チャンバー収納後は捕獲によるストレスが大きいため消費速度が上昇し、収納後しばらくした値がより正確な酸素消費速度を表していると思われる。

これまで深海域において生物の酸素消費速度を *in-situ* で測定した例は極めて少なく、1個体あたりの測定ではなく一度に複数種・個体の動物プランクトンについて群集としての速度をもとめている程度である (Smith, Jr. 1982, 1985)。しかし、熱水噴出孔生物群集のバイオマスとしてはベントスの方が大きいことから、ベントス個体あたりの酸素消費速度を求め、それから群集へと反映させることも重要である。

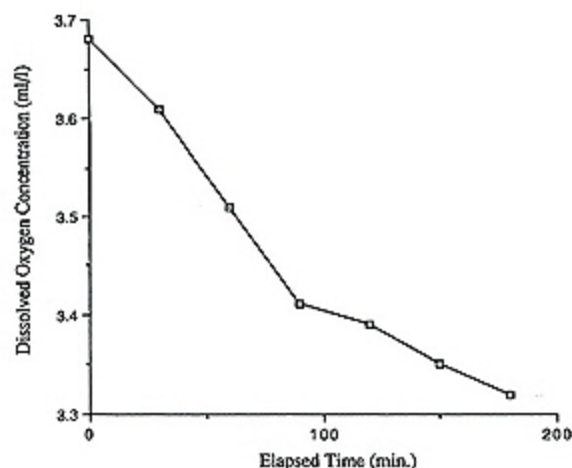


図2 ユノハナガニ（仮称）の実験例。溶存酸素量の経時変化。

Fig. 2 Experimental Example of Bythogeid Crab. Decreasing of Dissolved Oxygen Concentration with Elapsed Time.

3. 船上（常圧）による酸素消費速度の測定

船上における消費速度の測定は、2通りの手法で行った。1つは Flow Through Method (Segawa, 1991) と Water Bottle Method (大森・池田, 1976; Segawa and Hanlon, 1988) との混合法 (図3) により溶存酸素量をウインクラー法 (Strickland and Parsons, 1968) で滴定する方法で、実験開始時と終了時の溶存酸素量の相対値から消費速度を求める。もう一方は Water Bottle Method (Omori and Ikeda, 1984; Segawa and Hanlon, 1988) により実験容器内に DO センサをいれ溶存酸素の経時変化を常時モニターする方法である (図4)。両方法には、それぞれ一長一短があり、ウインクラー法による滴定は正確な溶存酸素量を定量できるが、実験開始時と終了時のみの溶存酸素量のみしかわからず途中の減少過程はモニターすることができない。それに対し、DO センサによる方法は溶存酸素量の精度は落ちるが溶存酸素の経時変化を常時モニターすることができる。したがって、比較的大型個体を実験対象とする場合は後者のほうが適切である。いずれの手法においても、熱水噴出孔生物の温度耐性を調べるためには、生息環境水温を基準に水温を上昇させ、それに伴う酸素消費速度を測定する必要がある。その結果から Q_{10} 値 (Prosser, 1973) を求め温度耐性について考察を行うことを考えている。

船上における酸素消費速度の測定に不可欠な条件は、対象生物が実験期間中は生存維持できなければならないことである。今のところ熱水噴出孔生物群集のうち限られた生物種しか飼育の可能性は検討していないが、腹足類および甲殻類のうち短尾類・異尾類は少なくとも1週間以上は生存維持することはできることが判明している (表1)。ハオリムシ類やシロウリガイ類・シンカイヒバリガイ類といった二枚貝類は、体内に化学合成細菌を共生させ、エネルギーを得ていると考えられることから新たな飼育技術の開発が必要である。しかし、相模湾初島沖の冷水湧出帯生物群集内から得られたシロウリガイ *Calyptogena soyoe* については、船上で数日間生存し酸素消費速度を測定した例があることから (小池 ほか, 1988)、それをもとに検討する予定である。また、代謝測定実験

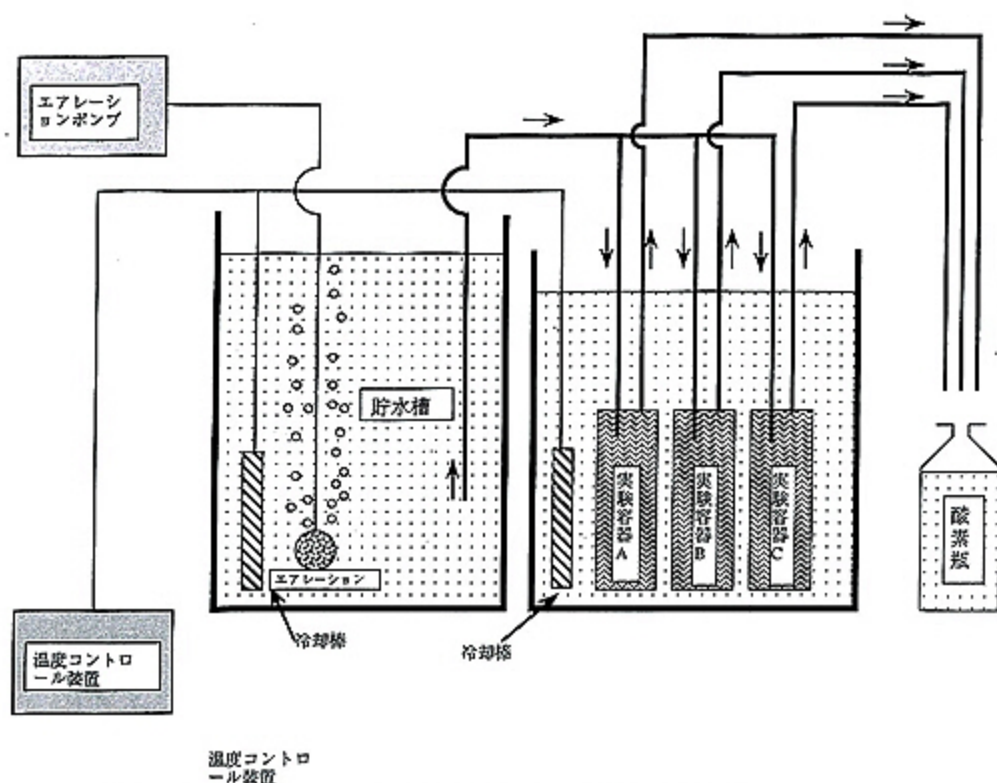


図3 ウィンクラー滴定法による酸素消費速度測定装置構成図。

Fig. 3 Diagram of Respiration System by Using Standard Winkler Technique.

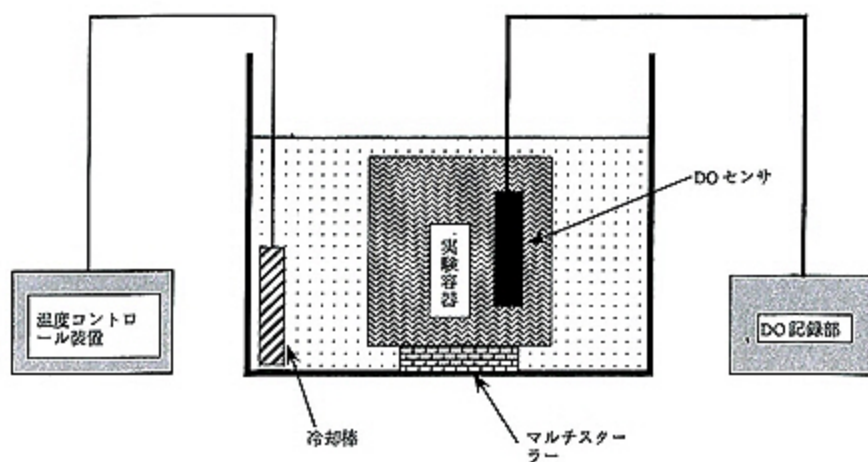


図4 DO センサによる酸素消費速度測定装置構成図。

Fig. 4 Diagram of Respiration System by Using DO Sensor.

を行う際には、実験対象生物の良好な健康状態の維持が重要であるため、採集時にはできる限り傷を負わせないようにしなければならない。潜水調査船で採集する時、短尾類や異尾類はベイトトラップで腹足類はマニピュレータで殻の丈夫な部位を掴むようにして採集を行っている。

4. 実験対象生物の選択

熱水噴出孔生物群集は多種多様な生物個体群から構成されているが、DO 測定センサの測定能力

・各生物の特徴・潜水調査船採集能力からすべて酸素消費速度の測定に適しているとは言えない。そこで測定実験に適している生物と不適のものとを分類した(表1)。

1. 腹足類: 日本周辺の熱水噴出孔生物群集から今まで確認されている腹足類は少なくとも9種認められているが、伊是名海穴・伊平屋海嶺に特有の種についてはサンプル個体数が少なく未検討であるため削除した。笠型の腹足類は一般的に基質に付着していることから単独での採集は困難で

表1 実験対象生物としての適性一覧表。

Table 1 List of Fitness as Experimental Animals.

分類群名	種名(未記載種および分類学上不明種はその特徴)	生息海域	IN-SITU酸素消費速度測定の実験性			船上及び陸上実験の実験性 (飼育の可否)
			大きさ 小さい× 適当○	単独採集 困難× 可能○	可否 困難× 可能○	
腹足類	シンカイフネアマガイ <i>Shinkaillepas kaisensis</i>	海形海山	×	×	×	○
	歯舌を欠く腹足類(未記載種) <i>Provanna</i> タイプ	同上	×	×	×	△
	微小腹足類(未検討種)	同上	×	×	×	△
	シンカイサンショウガイ <i>Thermocollonia jamae</i>	南奄西海丘	○	○	○	○
	ハイカブリニナ類(未記載種) <i>Provanna</i> sp.	同上	×	×	×	△
	笠型の腹足類(未記載種) <i>Lepetodrilus</i> sp.	同上	×	×	×	飼育試験中
	エゾバイ類 <i>Neptunea</i> sp.	同上	○	○	○	○
二枚貝類	シンカイヒバリガイ類 (未記載種) タイプ1	海形海山	○	○	×	飼育試験中
	シンカイヒバリガイ類 (未記載種) タイプ2	南奄西海丘	○	○	×	△
	エンセイシロウリガイ(仮称)	同上	○	○	×	△
	イバラモエビ類1(未記載種) <i>Lebbeus</i> sp. 1	南奄西海丘	○	○	○	△
甲殻類	ヤツアシエビ類(未記載種) <i>Paracrangon</i> sp.	同上	○	○	○	△
	オハラエビ類(未記載種) <i>Alvinocaris</i> sp.	同上	×	×	×	△
	エンセイエゾイバラガニ <i>Paralomis jamae</i>	同上	○	○	○	○
	エゾイバラガニ類1(未記載種) <i>Paralomis</i> sp. 1	同上	○	○	○	○
	シンカイコシオリエビ類 <i>Munidopsis</i> sp.	同上	○	○	○	△
	ユノハナガニ類(未記載種) <i>Bythograea</i> Crab	海形海山	○	○	○	○
	オウギガニ類(未記載種) <i>Xanthid</i> Crab	同上	○	○	○	○
	アズマガレイ類(未記載種) <i>Symphurus</i> sp.	海形海山	○	スラップガンを活用すれば単独個体での採集は比較的容易	×	△
	ゲンゲ類(未記載種) <i>Zoarcid</i> Fish	南奄西海丘	○		×	△
	タマノカジカ <i>Psychrolutes inermis</i>	同上	○		×	△
ハオリムシ類	エンセイハオリムシ(仮称: 未記載種) <i>Vestimentifera</i>	南奄西海丘	○	○	×	△
多毛類	<i>Brachipolynoe pettiboeae</i>	海形海山 神縄トラフ	×	×	×	飼育試験中
	<i>Opisthotrochopodus japonicus</i>	海形海山	×	×	×	△

ある。また、小型のものについては複数個体同時の測定は可能であるが単独個体では消費量は少なすぎ、限られた時間内でDOセンサの分解能では溶存酸素の減少をモニターすることができない。これらの条件から測定可能な種は、現在のところシンカイサンショウガイ *Thermocollonia jamsteci* とエゾバイ属 *Neptunea* sp. であり、エゾバイ属については1992年5月24日「しんかい2000」第610潜航で測定を試み、結果は解析中である。

2. 二枚貝類：現状では二枚貝の酸素消費速度測定は難しいと思われる。その理由は、二枚貝はわずかのショックで殻を閉じてしまうことから、殻を閉じている間の呼吸は外套腔内に蓄えた水で行っており、その間外界水とは遮断された状態になる。よって必ずしも正常な状態ではなくなりデータのばらつきが大きくなってしまふことに起因する。しかし、これを解消する方法としては、(1)実験ボックス収納後、潜水調査船を完全に停止したまま殻を開けている間だけ溶存酸素の減少をモニターする。(2)実験ボックス収納後、深海生物呼吸測定装置ごと海底に設置し適当な時間後に装置を回収する。などの方法が考えられ将来実施する予定である。

3. 甲殻類：甲殻類のうち短尾類・異尾類のほとんどについては、採集の容易さや適度なサイズから酸素消費速度の測定を行いやすい。実際に、小笠原諸島海域の海形海山に生息するユノハナガニ（仮称）と沖縄トラフの南奄西海丘に生息するエゾイバラガニ類について、測定を試みている。

4. 魚類：潜水調査船用に開発された吸引式深海生物採集器（スラップガン）（橋本 ほか、1992）によって、遊泳力を有するベントスの採集が可能となった。今のところ熱水噴出孔生物群集内に生息する3種の魚類は（表1）、いずれも海底に定位していることが多くスラップガンによる採集は容易である。したがって、このシステムを活用し、実験チャンバー内に実験個体を収納できるようにすれば測定は可能である。

5. ハオリムシ類：南奄西海丘に生息するエンセイハオリムシ（仮称；未記載種）は、単独で生息することは少なくほとんどが絡みあって生息していることから、1個体を分別して採集することは困難である。したがって、複数個体についての

測定はできると思われるが実験チャンバーが大きくなることが予想される。

6. 多毛類：沖縄トラフおよび海形海山の熱水噴出孔に生息する多毛類は、*Brachipolynoe pettiboneae* と *Opisthotrochopodus japonicus* が知られているが（Miura and Hashimoto, 1991）、2種とも小型で *in-situ* 測定は難しいと思われる。

5. おわりに

現在、熱水噴出孔・冷水湧出帯生物群集の生息要因を解明するために、生物学的側面のみならず地球科学・化学・物理学など様々な側面から研究が進んでいるが、最も基本的な生物学的特性についてさえ未解明な部分が多い。今回の代謝測定の手法を活用し、多くの生物について測定を行った結果得られるデータは、生物活性の基本となる指標ばかりでなく、熱水噴出孔生物の温度耐性やその他の環境適応機能を解明する上でも重要である。今回の試みにより、熱水噴出孔生物の数種について酸素消費速度を *in-situ* および船上で測定することが可能になった。しかし、当然のことながら異種間やさらに高次分類群では代謝特性が異なり温度耐性やそれに伴う適応機能も様々であると思われる。今後、多くの生物種について実験を行うことによって、それらを解明する手掛かりが得られることを期待する。

6. 謝 辞

今回の調査を行うにあたり、海洋科学技術センター深海研究部各位には適切な御助言・御指導を賜った。また、「しんかい2000」・「しんかい6500」運航チーム、支援母船「なつしま」・「よこすか」乗組員には多大な協力をいただいた。以上の方々に深く感謝する。

参考文献

- Corlis J. B., Dymond J., Gordon L. I., Edmond J. M., von Herzen R. P., Ballard R. D., Green K., Williams D., Bainbridge A., K. Crane and T. H. van Andel, 1979, Submarine Thermal Springs on the Galapagos Rift. *Science*, 203, 4385, 1073-1083.
- 藤倉克則・瀬川 進・奥谷喬司, 1988, イシガイ

- Unio Douglasiae* の酸素消費速度及びアンモニア態窒素排泄速度, 日本貝類学会誌, 47 (3), 207-211.
- Fujioka K. and A. Taira, 1989. Tecno-Sedimentary Setting of Seep Biological Communities—a Synthesis from the Japanese Subduction Zones—Sedimentary Facies in the Active Plate Margin. Terra Scientific Publishing Co., Tokyo, 577-602.
- Grassle J. F., 1985. Hydrothermal Vents Animals : Distribution and Biology. Science, 229, 4715, 713-717.
- 橋本 惇・藤倉克則・堀田 宏, 1990, 南奄西海丘における深海生物群集の観察, 第6回「しんかい2000」研究シンポジウム報告書, 167-179.
- 橋本 惇・藤倉克則・青木太郎・月岡 哲, 1992, 「しんかい2000」用吸引式深海生物採集器(スラップガン)の開発, 第8回しんかいシンポジウム報告書, 367-372.
- 橋本 惇・仲 二郎・満澤巨彦・堀田 宏, 1988, 海形海山中央火口丘における深海生物群集, 日本海洋学会秋季大会講演要旨集, 300.
- Hashimoto J., Ohta S., Hotta H., S. Matsuzawa and H. Sakai, 1989. Deep-Sea Communities Dominated by the Giant Clam, *Calyptogena soyoe*, along the Slope Foot of Hatsushima Island, Sagami Bay, Central Japan. Palaeo. Palaeo. Palaeo., 71, 179-192.
- Hessler R. R., W. M. Smithey and C. H. Keller, 1985. Spatial and Temporal Variation of Giant Clams, Tube Worms and Mussels at Deep-sea Hydrothermal Vents. Biol. Soc. Wash. Bull., 6, 411-428.
- 小池勲夫・白山義久・蒲生俊敬・酒井 均, 1988, 相模湾初島沖より得られたシロウリガイの呼吸速度, 第4回「しんかい2000」研究シンポジウム報告書, 233-237.
- Mickel T. J. and J. J. Childress, 1982. Effects of Temperature and Pressure, and Oxygen Concentration on the Oxygen Consumption Rate of the Hydrothermal Vent Crab *Bythograea thermohydron* (Brachyura). Physiol. Zool., 55, 2, 199-207.
- Miura T. and J. Hashimoto, 1991. Two New Brachiopod Scale-Worms (Polynoidae : Polychaeta) from the Hydrothermal Vent of the Okinawa Trough and the Volcanic Seamount Off Chichijima Island. Proc. Biol. Soc. Wash. 104 (1), 166-174.
- Okutani T. and K. Egawa, 1985. The First Underwater Observation on Living Habit and Thanatocoenoses of *Calyptogena soyoe* in Bathyal Depth of Sagami Bay. Venus, 44 (4), 285-289.
- 大森 信・池田 勉, 1976, 動物プランクトンの呼吸と排泄, In: 動物プランクトン生態研究法, 共立出版, 東京, pp.145-176.
- Prosser C. L., 1973. Comparative Animal Physiology (3rd ed.), 363-364.
- Segawa S., 1991. Body Size and Oxygen Consumption Rate of the Oval Squid *Sepioteuthis lessoniana*. Nippon Suisan Gakkaishi, 57, 9, 1651-1656.
- Segawa S., M. Kato and M. Murano, 1979. Oxygen Consumption of the Antarctic Krill. Trans. Tokyo Univ. Fish., 3, 113-119.
- Segawa S. and R. T. Hanlon, 1988. Oxygen Consumption and Ammonia Excretion Rates of the Antarctic Krill, *Euphausia superba* Dana. Trans. Tokyo Univ. Fish., 5, 177-187.
- Strickland J. D. H. and T. R. Parsons, 1968. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Bull. Fish. Res. Bd. Canada., 14, 103-158.
- Suess E., Carson B., Ritger D., Moore J. C., Jones M. L., L. D. Kulm and G. R. Cochrane, 1985. Biological Communities at Vent Site along the Subduction Zone Off Oregon. Biol. Soc. Wash. Bull., 6, 475-484.
- Smith Jr. K. L., 1982. Zooplankton of a Bathyal Benthic Boundary Layer : *In-situ* Rates of Oxygen Consumption and Ammonium Excretion. Limnol. Oceanogr., 27, 3, 461-471.
- Smith Jr. K. L., 1985. Macrozooplankton of a Deep Sea Hydrothermal Vent : *In-situ* Rates of Ox-

xygen Consumption Limnol. Oceanogr., 30, 1,
102-110.

Tunnicliffe V., S. K. Juniper and M. E. de Burgh,
1985, The Hydrothermal Vent Community on
Axial Seamount, Juan de Fuca Ridge. Biol.
Soc. Wash, Bull., 6, 453-464.