

水温上昇によるシロウリガイの放卵放精の誘導

藤原 義弘*¹ 塚原 潤三*² 橋本 惇*¹
藤倉 克則*¹ 岩瀬 良一*¹

深海生物の放卵放精誘導因子を明らかにするために、潜水調査船を用いて現場検証実験を実施した。シロウリガイ *Calyptogena soyoae* は相模湾の水深 1,000 m 付近に生息する化学合成生物群集の構成種である。長期ステーションによる観察から、シロウリガイは海水温度上昇時に放卵放精することが示唆された。このため、潜水調査船「しんかい 2000」を用いてシロウリガイ周辺の海水を加温した結果、複数個体の放卵放精を視認し、回収した加温海水中に多数の精子を観察した。水温上昇により誘導される放卵放精は深海化学合成生物群集にとって一般的な繁殖戦略かもしれない。

キーワード：シロウリガイ，放卵放精，現場加温実験，化学合成生物群集，相模湾

Induction of *in situ* Spawning of a Vesicomid Clam by Increasing the Water Temperature

Yoshihiro FUJIWARA*³ Junzo TSUKAHARA*⁴ Jun HASHIMOTO*³
Katsunori FUJIKURA*³ Ryoichi IWASE*³

The vesicomid clam, *Calyptogena soyoae*, is a conspicuous species at the deep-sea seep sites in Sagami Bay, Japan. The spawning behavior of the clam was observed using a deep-sea observatory off Hatsushima Island in Sagami Bay. Spawning events occurred independently of season or lunar period. Only water temperature showed any correlation to spawning. In order to elucidate the spawning cue for the clam, a heating experiment was performed on a vesicomid clam bed by the "Shinkai 2000." Spawning commenced 5 minutes after heat was applied. Water from the heating device was collected after the spawning of several males. Many spermatozoa were observed in the precipitates from the heated water. The potential benefit derived from synchronized spawning induced by water temperature changes suggests that the strategy may be widespread in deep-sea chemosynthetic communities.

Key words : Vesicomid clam, Spawning, *In situ* heating experiment, Chemosynthetic community, Sagami Bay

* 1 海洋科学技術センター深海研究部

* 2 鹿児島大学理学部

* 3 Deep Sea Research Department, Japan Marine Science and Technology Center

* 4 Faculty of Science, Kagoshima University

1. はじめに

受精は生物の繁殖にとって重要なプロセスで、効率的に受精を行うための繁殖戦略が多くの生物で知られている。体外受精の場合、放卵放精が何らかの環境因子に同調して行われることはその一例である。放卵放精の同調はいくつかの浅海性の動物種で報告されており、強烈な日光や月齢、植物プランクトンの濃度、嵐、日の出、日の入り、温度変化、波動は放卵放精を引き起こす環境因子として知られている (Young and Echelbarger, 1994)。しかし、深海生物では放卵放精現象やそれを誘導する環境因子に関する報告はほとんどない (Young and Echelbarger, 1994)。深海生物の放卵放精の観察例はわずかで、東太平洋海嶺の熱水噴出域に生息するガラパゴスハオリムシ *Riftia pachyptila* の放卵放精行動は貴重な観察例である (Van Dover, 1994)。

シロウリガイ *Calyptogena soyoe* は相模湾の水深 1000 m 前後の硫化物に富んだ底泥中に一部埋没して生息している二枚貝である (Okutani and Egawa, 1985; Hashimoto *et al.*, 1989)。透過型電子顕微鏡観察により、本種の鰓細胞中には細菌が確認されており、他のシロウリガイ類と同様に、硫黄細菌との共生関係を営んでいると考えられている (Endow and Ohta, 1990)。相模湾初島沖に設置した長期観測ステーションによって、シロウリガイの放卵放精現象が約 1 年 6 ヶ月の間に 11 日間観察された (門馬ほか, 1995)。海洋生物の放卵放精には季節や月齢との相関が認められる場合が多いが、シロウリガイではそれらとの相関は認められなかった。長期ステーションで計測した塩分濃度、水深、水温、地中温度、流向、流速、地震データと放卵放精との関係を解析した結果、放卵放精は水温の上昇との相関が高く、それ以外のデータとの明らかな相関は認められなかった。

本論では、放卵放精が温度上昇により引き起こされるか否かを検証するために、潜水調査船「しんかい 2000」を用いて実施した現場加温実験の結果を報告する。

2. 材料・方法

シロウリガイの加温実験は 1995 年 11 月 25 日に潜水調査船「しんかい 2000」第 831 潜航で実施した (写真 1)。相模湾初島沖の長期ステーション近傍のシロウリガイ群生地 (34°59.99'N, 139°13.69'E, 水深 1,175 m) を加温地点とした。加温器の構成は、熱源として水中ハロゲンライト (DEEPSEA POWER & LIGHT, SL-120/250)、加温空間として直径 23 cm のポリカーボネート製の半球、加温海水を採水するためのハンドポン

プ、採水した加温海水を回収するためのポリエチレンバッグであった (写真 1)。加温器設置の影響を考慮して、設置後、加温しない状態で加温器を 1 時間静置した。加温による温度変化を計測するため、自己記録式温度計 (離合社 RMT 温度計) を加温器内に設置した。また「しんかい 2000」第 834 潜航 (1995 年 11 月 30 日) で加温実験実施地点とはほぼ同一のシロウリガイ群生地の上に上記の加温器を設置し、加温しない状態の海水をコントロールとして採水した。

採水した加温海水及び非加温海水を常温で 2 % 海水フォルマリンを用いて前固定し、それらの遠沈物を人工海水で 2 回洗浄後、1 % 四酸化オスミウム固定液による後固定を 0°C で実施した。更に遠沈物を脱水し、第三ブチルアルコールに置換して凍結乾燥した。この試料に白金・パラジウム合金を蒸着して、走査型電子顕微鏡 (HITACHI S-4100) で観察した。

また精巣の一部を 2.5 % グルタルアルデヒド固定液で 3 時間、室温で前固定し、重クロム酸カリウム緩衝液で 3 回洗浄後、0°C で 30 分間、1 % 四酸化オスミウム固定液による後固定を実施した。脱水後の組織をスパーレジンに包埋した後に超薄切片とし、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で染色して透過型電子顕微鏡 (HITACHI H-600) で観察した。

3. 結 果

シロウリガイは加温から 5 分後に放精を開始した。加温器内の水温は加温前には周囲と同じ 2.8°C で、放精時には 5°C まで上昇した (図 1)。加温時間は計 70 分で、その間、19 回の放卵放精を観察した。潜水船からの視界が不十分で正確な個体数は不明であるが、加温器中のシロウリガイのうち、少なくとも 5 個体が放精もしくは放卵し、その中の数個体は繰り返し放精を行った。個々の放卵放精時間は約 1 分であった。数個体の放精を確認した後、加温器中の海水を採水した。放精行動は採水時に一時停止したが、約 20 分後に再開した。採水後に最初の放卵を確認した。加温器内の対流や加温器外部からの海水の流入のため、配偶子の浮遊性を断定することはできないが、配偶子は中性浮力のようにであった。また加温器外部でも、加温器の下流側で放卵放精を確認した。

回収した加温海水中の遠沈物を走査型電子顕微鏡で観察した。その中には多数の精子が存在し (写真 2)、頭部の長さは 3 μm 、頭部の直径は 1.5 μm であった。加温海水から採集した精子の外形及びサイズは、シロウリ

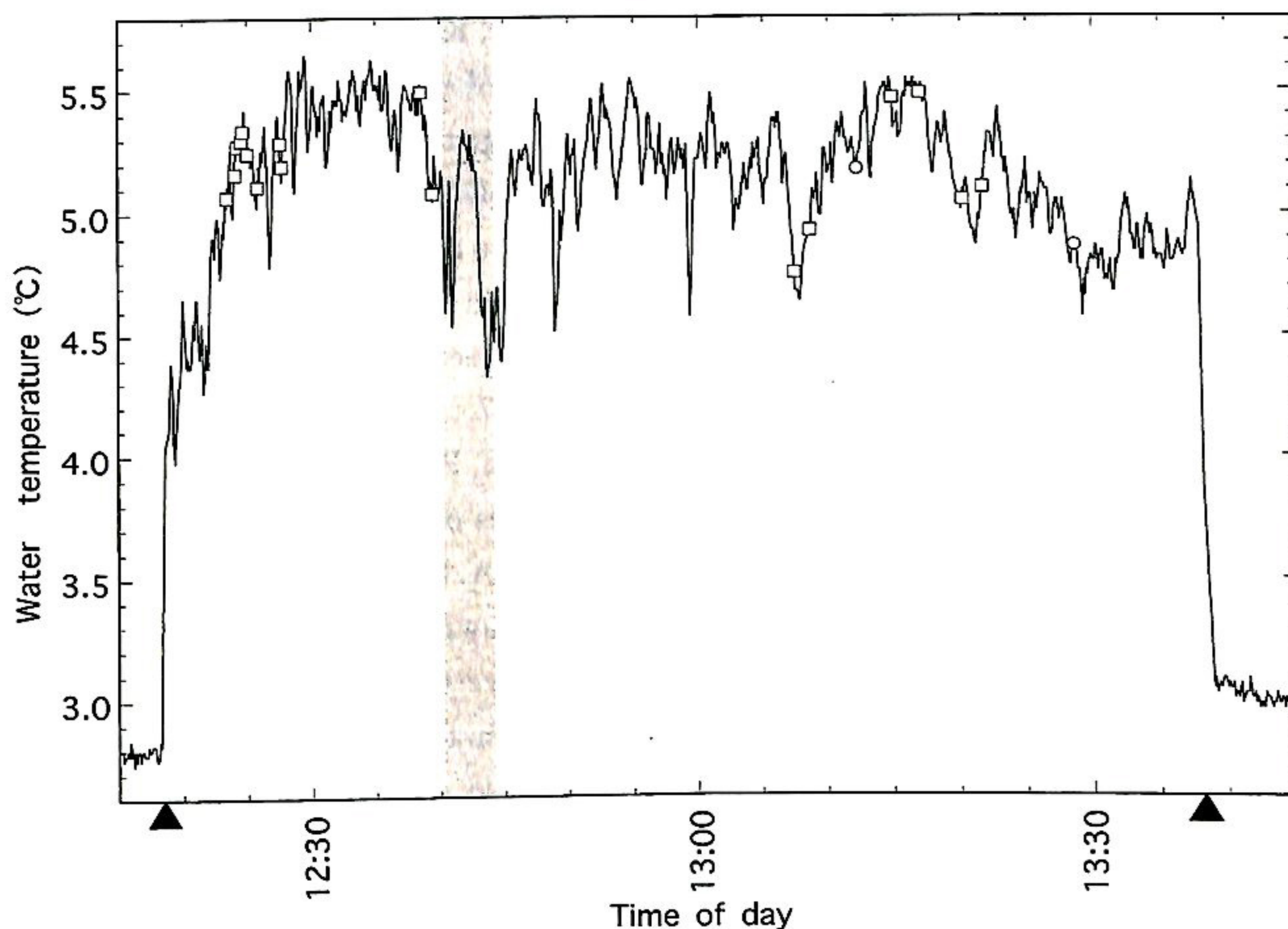


図 1 相模湾初島沖 (34°59.99'N, 139°13.69'E, 水深 1,175 m) で実施した加温実験時の加温器内の水温変化 (1995 年 11 月 25 日, 「しんかい 2000」第 831 潜航)。□は放精, ○は放卵, ▲間は加温時間, 灰色部は採水時間を示す

Fig. 1 Experimental water temperature change using the heating device deployed by the submersible "Shinkai 2000" dive # 831 (November 25, 1995) off Hatsushima Island in Sagami Bay (34°59.99'N, 139°13.69'E, 1,175 m depth). Open squares and circles represent male and female spawning, respectively. The period between triangles indicates that of heating. The shaded area denotes the time of seawater collection.

ガイの精巢から採集した精子や透過型電子顕微鏡観察によるシロウリガイの精巢組織中の切片像とほぼ同等であった。ただし、加温海水から回収した大部分の精子では先体桿様構造が露出しているのに対し、精巢中の精子では、その構造が完全に露出しているものは極わずかであった。加温海水試料中に卵は皆無であった。非加温海水中の粒子についても電子顕微鏡観察を行ったが、いかなる精子も検出できなかった。

4. 考 察

放卵放精の同調現象は水圏生物の生殖活動を成功に導く重要な要素である (Himmelman, 1981; Giese and Kanatani, 1987)。浅海性動物の放卵放精同調因子として知られている環境因子の大部分は、深海環境中に存在しない。今回の実験により、シロウリガイの放卵放精誘導因子が海水温度の上昇であることを確認したが、「温度変化」は深海域で生物が利用可能な数少ない誘導因子の候補の一つと考えられていたものであり (Young and Echelbarger, 1994)、浅海性二枚貝の放卵放精誘導因子としても知られている (Galtsoff, 1932; Loosanoff,

1937)。シロウリガイ生息環境中の水温変化の原因は不明であるが、長期ステーションの観察によると放卵放精中に地中温度に変化が見られないことから、海底直下からの湧水がその熱源ではない。また長期ステーションによる観察では、放卵は放精の約 10 分後に記録されており、今回の加温実験でも放卵は放精の後で起きている。これらの観察結果は、シロウリガイの放卵が放精による刺激に誘導されていることを示唆している。異性配偶子が誘導因子となる放卵放精は他の種類の二枚貝類でも知られている (Loosanoff and Davis, 1963)。また今回の実験では、加温器の下流域でも放卵放精を確認したが、これは加温器から流出した相対的に温度の高い海水により誘導された結果かもしれない。

放卵放精の観察は全てライト点灯時に行われているため、放卵放精が光の影響を受けた可能性を完全に除外することはできない。しかし、今回の実験中に放卵放精を確認したのは、加温器中と加温器より下流側のみであり、またライト点灯下で行われる長期ステーションによる観察でも常に放卵放精が観察されている訳ではないことから、光が放卵放精の直接の誘導因子である可能性は

除外できる。水深 1,200 m に上記の人工光と同等もしくはそれ以上の照度を持つ光源はなく、従って、光が自然状態での放卵放精現象の引き金にはなり得ない。

長期ステーションでの観察からシロウリガイは年間を通して放卵放精を行うことが報告されているが、これは、日本近海の沈み込み帯や東太平洋に生息するシロウリガイ類の研究結果と矛盾しない (Berg, 1985; Fiala-Medioni and Le Pennec, 1989)。今回の実験においても、シロウリガイは非常に敏速に環境変化に対応しており、集団としては常に放卵放精可能な状態にある可能性が高い。シロウリガイ類が年間を通じて成熟した配偶子を維持するためには多くのエネルギーを必要とするが、熱水噴出域や冷水湧出域の活動は不安定で短命であると考えられているので (Fiala-Medioni and Le Pennec, 1989; Tunnicliffe, 1991)、個体群の維持を考えると、年間を通じての放卵放精は深海化学合成生物群集の構成種にとって一般的であるかもしれない。

深海生物の生殖活動については不明な点が多いが、シロウリガイについて考える繁殖戦略を以下に示す。

(i)シロウリガイは一年を通じて放卵放精を行う能力を持つ；(ii)海水温度の上昇が放精を誘導する；(iii)精子はシロウリガイ生息域に拡散し、放卵を誘導する；(iv)放卵後、配偶子は海水中で体外受精する；(v)流速が小さい場合には中性浮力の配偶子は親集団近傍に定着し、流速が大きい場合には配偶子は親集団から離れて硫化物の存在する別の地点に定着し、生息域を拡大する。

本研究は、深海化学合成生物群集の構成種の放卵放精誘導因子を明らかにした初めての研究である。これら生物群集が分布する深海環境の特性を考えると、温度変化に対応して放卵放精する行動は、そこに生息する生物にとって一般的な繁殖戦略であるかもしれない。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、海洋科学技術センター門馬大和主任研究員、満澤巨彦研究員、海宝由佳研究員には貴重な助言を頂いた。また現場実験に際しては、「しんかい 2000」の指令ほか運航チーム及び「なつしま」船長ほか乗組員の方々には大変お世話になった。以上の方々に深く感謝する。

引用文献

Berg, C. J., Jr. (1985) : Reproductive strategies of mollusks from abyssal hydrothermal vent communities. Biol. Soc. Wash. Bull., 6, 185-197.

- Endow, K. and S. Ohta (1990) : Occurrence of bacteria in the primary oocytes of vesicomyid clam *Calypptogena soyoae*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 64, 309-311.
- Fiala-Medioni, A. and M. Le Pennec (1989) : Adaptive features of the bivalve molluscs associated with fluid venting in the subduction zones off Japan. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol., 71, 161-167.
- Galtsoff, P. S. (1932) : Spawning reactions of three species of oysters. J. Wash. Acad. Sci. 22, 65-69.
- Giese, A. C. and H. Kanatani (1987) : "Maturation and spawning." p251-313. In : Reproduction of Marine Invertebrates, vol. 9. Edited by A. C. Giese, J. S. Pearse and V. B. Pearse, Blackwell Scientific Publ., Palo Alto, and Boxwood Press, California.
- Hashimoto J., S. Ohta, T. Tanaka, H. Hotta, S. Matsuza-wa, and H. Sakai (1989) : Deep-sea communities dominated by the giant clam, *Calypptogena soyoae*, along the slope foot of Hatsushima Island, Sagami Bay, central Japan. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol., 71, 179-192
- Himmelman, J. H. (1981) : "Synchronization of spawning in marine invertebrates by phytoplankton." p3-19. In : Advances in Invertebrate Reproduction. Edited by W. H. Clark, Jr. and T. S. Adams, Elsevier North Holland, New York.
- Loosanoff, V. L. (1937) : Seasonal gonadal changes of adult clams, *Venus mercenaria* (L.). Biol. Bull., 72, 406-416.
- Loosanoff, V. L. and H. C. Davis (1963) : Rearing of bivalve mollusks. Adv. Mar. Biol., 1, 1-136.
- Okutani, T. and K. Egawa (1985) : The first underwater observation on living habit and thanatocoenoses of *Calypptogena soyoae* in bathyal depth of Sagami Bay. Venus, 44, 285-289.
- Tunnicliffe, V. (1991) : The biology of hydrothermal vents : ecology and evolution. Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev., 29, 319-407.
- Van Dover, C. L. (1994) : In situ spawning of hydrothermal vent tubeworms (*Riftia pachyptila*). Biol. Bull., 186, 134-135.
- Young, C. M. and K. J. Eckelbarger (1994) : Reproduction, Larval Biology, and Recruitment of the Deep-Sea Benthos. Columbia Univ. Press, New York,

336.

門馬大和・満澤巨彦・海宝由佳・岩瀬良一・藤原義弘
(1995): 相模湾初島沖の深海底総合観測—シロウリ
ガイ群生域の1年間—, JAMSTEC 深海研究,
11, 249-468.

(原稿受理: 1997 年 7 月 4 日)

(注) 写真は次ページ以降に掲載



写真 1 現場加温実験

a: 潜水調査船「しんかい2000」に搭載した加温器 b: 相模湾初島沖 (34°59.99'N, 139°13.69'E, 水深 1,175 m) で実施したシロウリガイ生息域での現場加温実験 (1995 年 11 月 25 日, 「しんかい2000」第 831 潜航)

Photo 1 *In situ* heating experiment.

a: Heating device on the submersible "Shinkai 2000" b: *In situ* heating experiment on a vesicomyid clam bed on the "Shinkai 2000" dive #831 (November 25, 1995) at 34°59.99'N, 139°13.69'E, 1,175 m depth.

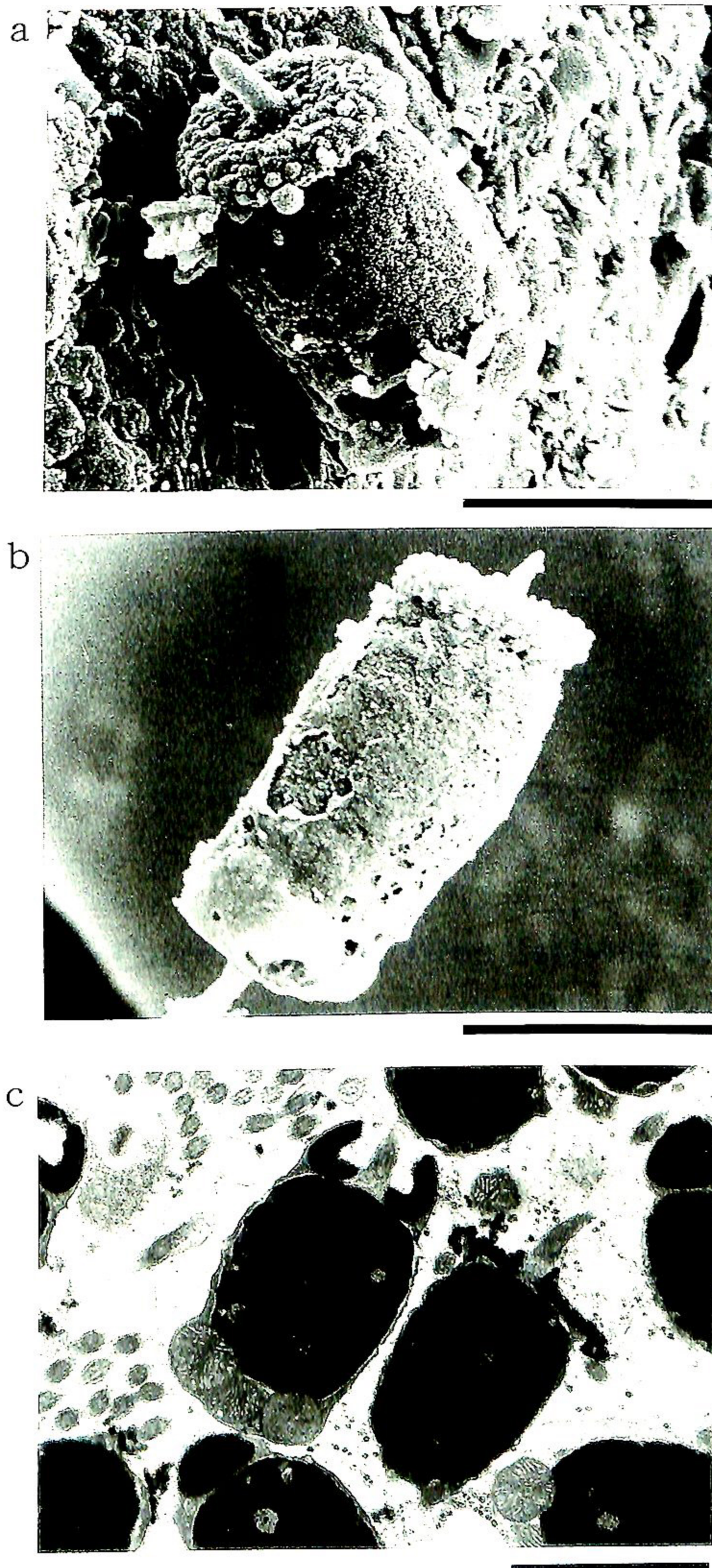


写真 2 シロウリガイ精子の電子顕微鏡像

a: 加温海水中から回収したシロウリガイ精子の走査型電子顕微鏡像 b: シロウリガイ精巣から回収した精子の走査型電子顕微鏡像 c: シロウリガイ精巣中にある精子の透過型電子顕微鏡像。スケールバーは $1.5\ \mu\text{m}$

Photo 2 Spermatozoa of *C. soyoae*.

a: Scanning electron micrographs showing spermatozoon collected from heated seawater b: Scanning electron micrographs showing spermatozoon collected from clam testis c: Transmission electron micrographs showing the spermatozoa in the testis of a clam. Scale bar, $1.5\ \mu\text{m}$.