

シロウリガイ長期飼育システムの 宿主生存と共生細菌保持に対する効果

○生田哲朗（海洋研究開発機構）、杉村誠・根本卓（新江ノ島水族館）、青木結（海洋研究開発機構）、多米晃裕（マリンワークジャパン）、山本正浩・齋藤正輝（海洋研究開発機構）、下川嘉樹（横浜市立大）、三輪哲也・長井裕季子・吉田尊雄・藤倉克則・豊福高志（海洋研究開発機構）

シロウリガイ類は深海化学合成共生系の優占種であり、エラ上皮細胞内に硫化水素の酸化エネルギーで有機物合成を行う硫黄酸化独立栄養細菌を共生させ（以下、共生細菌）、栄養を依存している。近年、シロウリガイ類の共生細菌のゲノムが独立栄養生物では最も小さくなっていること、生み出された卵に 400 細胞ほどの共生細菌が観察されるなど、宿主と細菌の間の堅固な共生関係を示す発見がなされている。そうした共生関係の成立メカニズムを解明するためには、飼育下で詳細な生態観察や実験を行うことが重要であるが、シロウリガイ類の飼育方法は確立されていない。海洋研究開発機構と新江ノ島水族館の共同研究によって製作された「化学合成生態系水槽」（特許第 5396266 号、水槽底にドッグフードを入れて泥を被せ、有機物由来の硫化水素を発生させるシステム）（以下、化学合成水槽）では、これまでに 100 日を超える飼育が可能になってきたが、そこまで生存する個体数は少ない。

現在の飼育法の問題点を洗い出し、飼育技術を一層向上させるため、本研究では、化学合成水槽、泥のみを敷いた水槽、飼育水のみを水槽の 3 つに、NT14-05 航海で相模湾初島沖にて採取したシロウリガイ（*Phreagena okutanii* または *P. soyoae*）を約 30 個体ずつ入れ、シロウリガイ類の飼育に対する化学合成水槽の総合的な評価を行った。飼育中の宿主の死亡記録から Kaplan-Meier 法で生存曲線を作成し、各水槽の生存率を統計的に



解析した。飼育開始から 7, 15, 30, 42, 91 日に計 27 個体を無作為にサンプリングし、並行して化学合成水槽の底泥中の硫化水素濃度の測定を行なった。固定したエラの切片で Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法による共生菌の検出を行い、共焦点レーザー顕微鏡により取得した画像の輝度から、各水槽のサンプリング日毎の共生菌数を半定量的に測定した。また、透過型電子顕微鏡を用いて鰓上皮細胞中の共生細菌の微細構造を観察した。さらに、飼育個体の共生細菌で動いている硫黄代謝経路に注目し、硫黄酸化過程で中心的な役割を果たす亜硫酸還元酵素遺伝子の一つ *dsrA* の発現を定量 PCR 法で解析した。

これらの結果、化学合成水槽は共生細菌の保持に効果があることが示され、それには水槽由来の硫化水素の寄与が示唆された。宿主の生存率も特に飼育初期において向上の傾向が見受けられたが、統計的には水槽間の生残率に有意差はなかった。化学合成水槽において飼育中の硫化水素濃度の低下に伴い、共生細菌に備蓄された元素硫黄の消費が進むとともに、菌数も減少したことから、さらなる飼育技術の改善には、より高濃度で安定的な硫化水素の供給が必要と考えられた。さらに、水槽の環境計測データとシロウリガイ類の生息現場の環境データとの比較などから、共生細菌の代謝機能を適切に駆動させ、宿主の生存を向上させるためには、生息現場の環境を模した酸素／二酸化炭素比の制御の必要性が示唆された。