

飼育培養手法を用いた化学合成系無脊椎動物の共生菌-宿主関連性の実験的検討 Cultivating approach for understanding symbiont-host linkage of invertebrates in deep-sea chemosynthetic ecosystem

小西 正朗^{1*}, 和辻 智郎¹, 中川 聡², 秦田 勇二¹, 高井 研¹, 豊福 高志¹

KONISHI, Masaaki^{1*}, WATSUJI Tomo-o¹, NAKAGAWA Satoshi², HATADA Yuji¹, TAKAI Ken¹, TOYOFUKU Takashi¹

¹ 独立行政法人海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域, ² 北海道大学 水産学部

¹Institute of Biogeoscience (Biogeos), Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), ²Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

深海の熱水噴出孔やメタン湧水域に見られる化学合成生態系に属する生物は、独立栄養共生菌を通じ、地殻から湧出する化学物質を利用することにより、太陽光に依存しない独自の生態系を形成している。これらの生物の共生菌-宿主関連性については、フィールドワークによる生育環境の調査、捕獲した宿主と共生菌の分子系統解析、近縁の自由生活型菌の培養特性等から推定されてきた。生理学的因子や環境因子と共生菌-宿主関連性について、因果関係を明確にして議論するためには、飼育環境における宿主生物や共生菌の振る舞いを詳細に解析することが望ましい。しかしながら、硫化水素やメタンなどの還元性ガス成分を供給・制御できる飼育システムが存在しなかった。そこで、我々は還元性・毒性が非常に高く飼育水槽中での濃度制御が困難である硫化水素の制御システムを構築し、低温、低酸素の深海環境を模倣した環境を再現し、硫化水素を低濃度で供給した場合のゴエモンコシオリエビとその剛毛に共生している外部共生菌の振る舞いを解析した。

本研究で用いたシステムでは、溶存酸素は光学式溶存酸素計を用いて監視し、脱気モジュールと給気用水流ポンプを on/off 動作させ、1 mg/L 程度に維持した。硫化水素ガスを脱気モジュール (MHF0504MBFT, 三菱レイヨン) を介して、飼育水中に供給した。気相中硫化水素はガスセンサー (TGS825, フィガロ技研) で検出した。硫化水素供給は on/off リレーを介して、硫化水素ガスの供給を制御する電磁弁とガス供給用モジュールへの循環ポンプの動作を制御した。温度は約 5 度で維持した。ROV を用いて、北伊平屋サイトの熱水噴出孔付近で採取したゴエモンコシオリエビを硫化水素添加水槽に 60 匹、硫化水素を添加しない水槽に 30 匹入れ、83 日間飼育した。残念なことに硫化水素添加水槽では 34 日目にクーラーシステムが故障したために、温度が 15 度付近まで上昇したので、その後バックアップシステムにて、飼育した。硫化水素濃度は 5~60 μ mol/l で連続的に供給できた。ゴエモンコシオリエビの生存率は無添加水槽では 90% であったのに対し、添加水槽で、73.3% であった。機器トラブルによる温度上昇で死亡した 8.3% を考慮しても、硫化水素を添加した場合、若干生存率が低下しているようであった。飼育後の剛毛を顕微鏡観察したところ、硫化水素を添加した場合、明らかに外部共生菌の数が増えているように思えた。そこで、リアルタイム PCR 法により剛毛の湿重量あたりの菌体数を推定したところ、硫化水素を添加した場合、無添加の場合と比べて外部共生菌量が 3 桁程度多いと推定された。さらに硫化水素存在下で飼育した固体の外部共生菌の分子系統解析を実施したところ、環境中のゴエモンコシオリエビの外部共生菌として報告がある -プロテオバクテリアの Marine epibiont group I に属する系統群や -プロテオバクテリアの *Sulfurovum*-affiliated bacteria に属する系統群の他、ホネクイハナムシ *Osedax mucofloris* の内部共生 -プロテオバクテリア、ツノナシオハラエビ *Rimicaris exoculata* の外部共生フラボバクテリア、自由生活型と推定できる -プロテオバクテリア、フラボバクテリアが検出された。一方で、硫化水素添加条件下では、白いバクテリアマットが得られた。バクテリアマットの系統解析を実施したところ、Marine epibiont group I を除く上記の共生菌近縁の系統群に加えて、アルビンガイ *Alviniconcha* sp. type 2 の内部共生菌と非常に近縁な系統群も検出された。飼育環境中でコシオリエビの剛毛上とバクテリアマット双方で増殖したと考えられる共生菌系統群の増殖は物理的もしくは化学的環境因子への依存性が高いことが示唆された。また、剛毛上のみで検出された Marine epibiont group I の増殖は宿主との生理的な増殖因子が必須である可能性がある。一方で、コシオリエビを採取した沖縄トラフから約 3,700km も離れた、Vienna Woods サイトの固有種であるアルビンガイの内部共生菌と非常に近縁なバクテリアが飼育環境中のバクテリアマットから得られたことから、これらの内部共生菌の系統群が地理的要因より化学環境要因に依存している可能性を示唆する興味深い発見であった。

このように飼育技術を基盤とした実験的な化学合成生態系生物-共生菌の関連性に関する研究アプローチでは、地理的要因を排除できるだけでなく、適当な比較実験により、物理的・化学的因子の影響の抽出が可能である。実験的なアプローチとフィールドワーク的なアプローチを統合することにより、化学合成生態系のさらなる理解を深めることができるだろう。

キーワード: 飼育水槽, 共生菌-宿主関連性, ゴエモンコシオリエビ, フィードバック制御, 半導体ガスセンサー

Keywords: rearing tank, symbiont-host linkage, *Shinkaia crosnieri*, feed-back control, semiconductor gas sensor