

ホネクイハナムシ *Osedax japonicus* の継代飼育と人工培地での着底実験

今井 理紗子 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 中野 裕昭 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景・目的】

ホネクイハナムシ *Osedax japonicus* は深海底の鯨骨遺骸に固着して生息する体長 1-3 cm の環形動物門の一種である。消化管が完全に欠如しているが、樹根状栄養体部という特異的な組織を持っており、この組織に *Oceanospirillaceae* 科の細菌を共生させ、骨を溶かし栄養を吸収する。共生細菌は垂直伝播ではなく幼生が骨に着底する際に感染することが報告されている(Miyamoto *et al.* 2013)。

ホネクイハナムシは性決定に関しても特殊な様式を示す。トロコフォア幼生をもち、骨に着底したものがメスに、成長したメスの体に着底した幼生が矮性のオスとなる環境性決定仮説が定説となっている。(Rouse *et al.* 2004)。

また、ホネクイハナムシは実験室下での継代飼育が成功している種であり、自然下での生息場所である鯨骨以外にも、豚骨、牛骨などの脊椎動物の骨での生育が可能である(William *et al.* 2008; Miyamoto *et al.* 2013)。

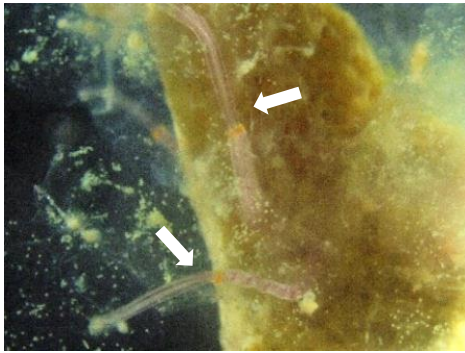


図 ホネクイハナムシ(矢印)

このように非常に特異的な形態・生態をもつホネクイハナムシであるが、2006年に新種記載された新しい種 (Fujikura *et al.* 2006) であり、まだ研究が進んでおらず解明されていない事象も多い。その中でも、ホネクイハナムシ幼生がどのような機構で深海底に散在する鯨骨を他の基質から選別し、着底しているのか明確には解明されていない。そこで私は、幼生の着底にはどのような環境的要因や物理的要因が必要なのか検証したいと考えた。検証の前段階として、鯨骨の入手や骨の前処理は大変であるため、人工培地での飼育系の確立を目標とした。また、その人工培地を使用して、ホネクイハナムシの生育に最低限必要な栄養の確認も目指した。これらの点を踏まえ、本研究では複数の条件の人工培地を作成し、どの条件でホネクイハナムシ幼生が着底、及び生育するのかを観察した。

## 【方法】

## 飼育方法

ホネクイハナムシの個体は、JAMSTEC の宮本教生氏から実験室下で継続的に飼育している個体の一部を提供していただいた。8°Cに設定したインキュベーター内にプラケースを設置し、8°Cで冷やした濾過した自然海水を使用した。海水は攪拌機で常時攪拌し、水替えは4-6日に一度実施した。

## 幼生の骨への着底

メスは体の周囲の粘液内に放卵する。その粘液から卵を回収し、2-3日経過後、ほぼ全ての胚が幼生に発生した後にパスツールピ

ペットで粘液をほぐし、100 µm メッシュを用いて粘液内の幼生を採取した。また、事前に共生細菌を付着させておいた豚骨を海水で洗い、プラケースに入れた。豚骨が浸るまで海水を入れ、そこに 32 µm メッシュ(幼生が通過しない)を使い濃縮した幼生を入れた。8°Cで1日間静置した後、海水を足した。

## 人工培地での幼生着底実験

アガロース、粉末状コラーゲン、共生細菌の培地(MB培地)、DWの分量を変えて混合し、シャーレに寒天人工培地を作成した。配合は以下のように設定した。

- 1) MB 25 ml, DW 25 ml, アガロース 0.75 g, コラーゲン 2.0 g
- 2) MB 12.5 ml, DW 37.5 ml, アガロース 0.75 g, コラーゲン 2.0 g
- 3) MB 2.5 ml, DW 47.5 ml, アガロース 0.75 g, コラーゲン 2.0 g
- 4) MB 0 ml, DW 50 ml, アガロース 0.75 g, コラーゲン 2.0 g
- 5) MB 0 ml, DW 50 ml, アガロース 0.75 g, コラーゲン 2.0 g(共生細菌なし)

control) DW 49.25 ml, アガロース 0.75 gのみ

飼育には濾過海水を使用した。豚骨に幼生を着底させる方法と同様の方法で幼生を入れ、その後の幼生の行動や変態の過程を12時間ごとに72時間後まで実体顕微鏡下で観察した。また、水質を維持するため24時間ごとに32 µm メッシュを通して水替えを行った。

## 【結果】

- ・下田臨海実験センターでの継代飼育に成功した。
- ・幼生着底実験において、実験開始から72時間後にオス様に変態した個体が複数観察された。
- ・メス様に変態した個体も観察されたが、培地に着底することはなかった。
- ・各人工培地間で変態した個体数に大きな差は見られなかった。

## 【考察・展望】

本研究において、オス様、メス様に変態した個体が得られ、人工培地でも変態が誘導されることが示された。しかし、人工培地上で個体が着底し成長する様子は観察できなかった。本実験で用いた寒天培地は自然環境で着底する骨と比較して表面が非常に平滑であり、着底が起こらなかった原因の一つに培地表面の凹凸の有無が関係する可能性が示唆される。現在、今回の実験の結果を踏まえ、同条件での実験を重ねることで再現性を確認するとともに、人工培地の構造や成分を変えた実験を行なっている。

## 【謝辞】

本研究に関して、ネクイハナムシの飼育方法のご教授、および共生細菌、成体、卵の提供をくださったJAMSTECの宮本教生氏に深く感謝の意を申し上げます。

## 【参考文献】

- Fujikura *et al.* (2006) *Zool. Sci.* 23:733-740.  
 Miyamoto *et al.* (2013) 100:285-289.  
 Rouse *et al.* (2004) *Science* 305:668-671.  
 William *et al.* (2008) *Proc. R. Soc. B* 275:387-391.