

チョウセンサザエとヤコウガイの幼生に 対して認められた紅藻類と γ -アミノ酪酸の 変態促進効果

下池 和幸
阿嘉島臨海研究所

Metamorphosis of the coral reef gastropod (*Turbo argyrostoma* and *T. marmoratus*) induced by both the crustose red algae and γ -aminobutyric acid K. Shimoike

はじめに

カリフォルニア沿岸に棲むアカネアワビ (*Haliotis rufescens*) の浮遊幼生は、無節サンゴモの *Lithothamnium* や *Lithophyllum* などの被覆状紅藻類に特異的に着生・変態することが知られている (Morse and Morse 1984)。また、この幼生は神経伝達物質の γ -アミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid) (GABA) や、GABA を構造の一部に持つ光合成色素のフィコエリトロピリンとその蛋白質結合体のフィコエリトリンなどによっても着生・変態が促される (Morse *et al.* 1979)。阿嘉島臨海研究所では 1988 年よりヤコウガイ (*Turbo marmoratus*) の増養殖に関する研究を行っているが、その一環としてヤコウガイおよびその同属であるチョウセンサザエ (*T. argyrostoma*) の浮遊幼生を用いて、紅藻類や GABA による着生・変態の促進効果を調べた。

方法

チョウセンサザエとヤコウガイのそれぞれについて、紫外線照射海水による放精放卵の誘発で得た受精卵から浮遊幼生まで飼育し、天然の藻類 (実験 1) と、GABA (実験 2) による変態促進効果の検証を行った。また、実験 3 では成長効果を調べた。実験で使用する飼育水には、0.22 μm ミリポアフィルターで濾過した海水に 2 mg/l の濃度でリファンピシンを添加した水溶液を用いた。また、実験室の室温は 26 $^{\circ}\text{C}$ に設定した。

実験 1 : 阿嘉島周辺より採取した 2 種の被覆状紅藻類、*Hydrolithon reinboldii* (サンゴモ科) と *Peyssonnelia* sp. (イワノカワ科) を基質表面から削り取り、リファンピシン水溶液 (2 mg/l) で洗浄して試験試料 (藻類チップ) を作製し、凍結保存した。この藻類チップおよび単離培養した珪藻 (*Navicula* sp.) をそれぞれ 20ml 容量のポリスチレンカップに入れ、10ml の飼育水で満した。そこへ浮遊幼生を 10 個体ずつ収容し、面盤の繊毛を周期的に

動かしながら容器の底を匍匐する探索行動個体数と、面盤が消失して稚貝に変態する変態個体数を 24 時間ごとに記録した。

実験 2 : 飼育水に GABA を溶かして、 10^{-7} M、 10^{-6} M、 10^{-5} M、 10^{-4} M の 4 段階の濃度の水溶液を準備し、それぞれの溶液を 20ml 容量のポリスチレンカップに 10ml ずつ満たした。そこへ浮遊幼生を 10 個体ずつ収容し、実験 1 と同様に探索行動個体数と変態個体数を 24 時間ごとに記録した。なお、対照区として、リファンピシン水溶液のみの区を設けた。

チョウセンサザエについては、阿嘉島周辺海域にて採取した母貝から採卵して得た受精後 6 日の浮遊幼生を用いて、1996 年 8 月 14 日に、実験 1 と対照区を各 6 組ずつ、実験 2 を各 3 組ずつ開始した。ヤコウガイについては、徳之島東岸海域にて採取した母貝から採卵して得た受精後 7 日の浮遊幼生を用いて、1997 年 9 月 10 日に実験 1、実験 2 および対照区を各 6 組ずつ開始した。なお予備実験により、ヤコウガイ幼生の変態開始日はチョウセンサザエより遅いことがわかっていたので、ヤコウガイの実験開始の日齢を 1 日遅らせた。

実験 3 : ヤコウガイについて、予め受精後 7 日の浮遊幼生の殻径を計測した。ヤコウガイの変態実験が終了後 (受精後 11 日) 各飼育水の換水だけを行った状態で無給餌飼育し、受精後 20 日と 37 日の殻径を計測した。同時に、飼育水中に藻類が混入していないことを確認するため、各飼育水の一部を採取して K 培地による培養試験を 1 ヶ月間行った。また、浮遊幼生を収容した 500 l 円形ポリカーボネート水槽の内面に付着珪藻を培養し、GABA (10^{-6} M) の添加により着生・変態を促進させて飼育したヤコウガイ稚貝の成長とも比較した。

結果

1. チョウセンサザエ

1996 年 8 月 8 日 19:30 に放精放卵により受精した

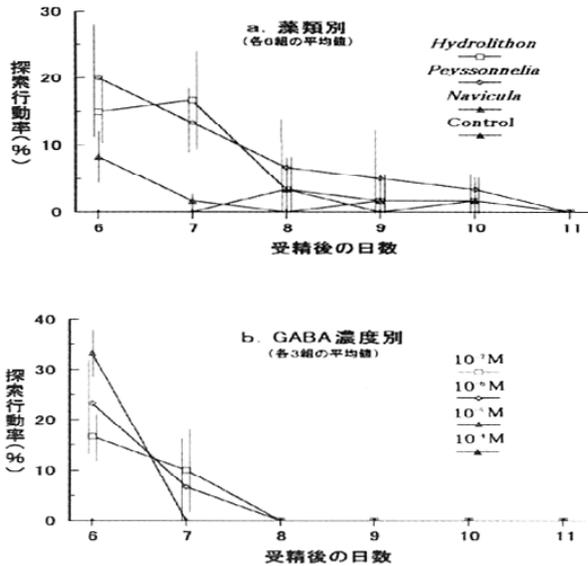


図 1. チョウセンサザエ幼生の探索行動率の経時変化 (縦線は標準偏差を示す)

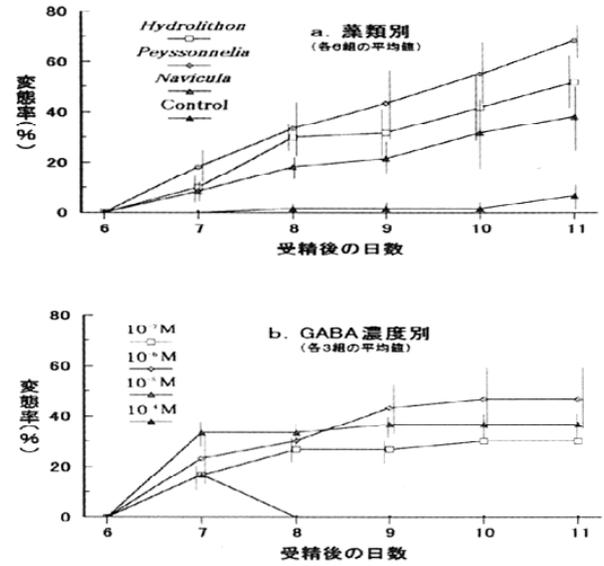


図 2. チョウセンサザエ幼生の変態率の経時変化 (縦線は標準偏差を示す)

卵は、水温 28.2~28.4 で 15 時間後にベリジャー幼生として孵化し、浮遊した。

実験 1 (藻類別) では、実験開始直後の探索行動率は *Peyssonnelia* 区 (20%) と *Hydrolithon* 区 (15%) は珪藻 (*Navicula* sp.) 区 (8%) より高かったが、有意差はなかった ($P > 0.01$, t-test)。対照区では探索行動は見られなかった (図 1a)。実験開始 24 時間後 (受精後 7 日) の平均変態率は、*Peyssonnelia* 区の 18% が最高で、*Hydrolithon* 区は 10%、珪藻区は 8% であったが、有意差はなかった ($P > 0.01$, t-test)。対照区では着生しなかった (図 2a)。その後、日を追うごとに少しずつ探索行動率が下がるとともに変態率が上がり、5 日後 (受精後 11 日) には探索行動個体はいなくなり、変態個体率はそれぞれ、68%、52%、40%、7% になった。この時点での変態率は、珪藻区に対して *Peyssonnelia* 区は有意に高かったが ($P < 0.001$, t-test)、*Hydrolithon* 区と珪藻区の値に有意差はなかった ($P > 0.05$, t-test)。しかし、対照区に対しては 3 区とも有意に高かった ($P < 0.001$, t-test)。

実験 2 (GABA 濃度別) では、実験開始後の探索行動率は 10^{-5} M 区、 10^{-6} M 区、 10^{-7} M 区の順に高く、 10^{-4} M 区は直ちに容器の底面に落下したまま探索行動は観察されなかった (図 1b)。24 時間後の変態率は前日の探索行動率が高い順に高くなり、最高値は 10^{-5} M 区の 33% であったが、変態後 13% の個体が動きが鈍くなりへい死した (図 2b)。 10^{-4} M 区では 27% の個体の変態したが、その翌日には全個体

がへい死した。5 日後 (受精後 11 日) の変態率は 10^{-6} M 区が最高で 47% になった。この値は対照区よりも有意に高かったが ($P < 0.001$, t-test)、 10^{-5} M 区、 10^{-6} M 区、 10^{-7} M 区の変態率に有意差は見られなかった ($P > 0.1$, t-test)。

2. ヤコウガイ

1997 年 9 月 4 日 19:50 に放精放卵により受精した卵は、水温 28.2~28.7 で 17 時間後にベリジャー幼生として孵化し、浮遊した。実験開始直後では、全ての区で探索行動は観察されず、翌日 (受精後 8 日) から観察された。

実験 1 (藻類別) では、受精後 8 日と 9 日の両日における探索行動率は、それぞれ珪藻 (*Navicula* sp.) 区 (3%, 10%) と対照区 (2%, 3%) に対して、*Hydrolithon* 区 (48%, 58%) と *Peyssonnelia* 区 (44%, 50%) は有意に高かった ($P < 0.001$, t-test) (図 3a)。受精後 10 日と 11 日の両日で、*Hydrolithon* 区 (82%) と *Peyssonnelia* 区 (80%) が変態したが、珪藻区と対照区では変態しなかった (図 4a)。

実験 2 (GABA 濃度別) では、受精後 8 日に探索行動率が最も高い 10^{-6} M 区 (53%) と 10^{-5} M 区 (35%) に有意差は見られなかったが ($P > 0.01$, t-test)、受精後 9 日では 10^{-6} M 区 (68%) が他のいずれの区よりも有意に高かった ($P < 0.001$, t-test) (図 3b)。受精後 10、11 日で 10^{-6} M 区は 82% が変態し、 10^{-7} M 区は 7% が変態したが、他の区では変態せず、 10^{-4} M 区では受精後 10 日目で全個体がへい

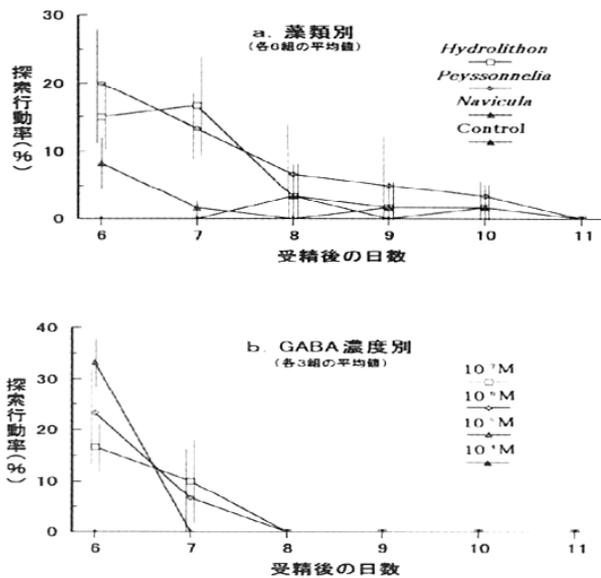


図 3. ヤコウガイ幼生の探索行動率の経時変化 (縦線は標準偏差を示す)

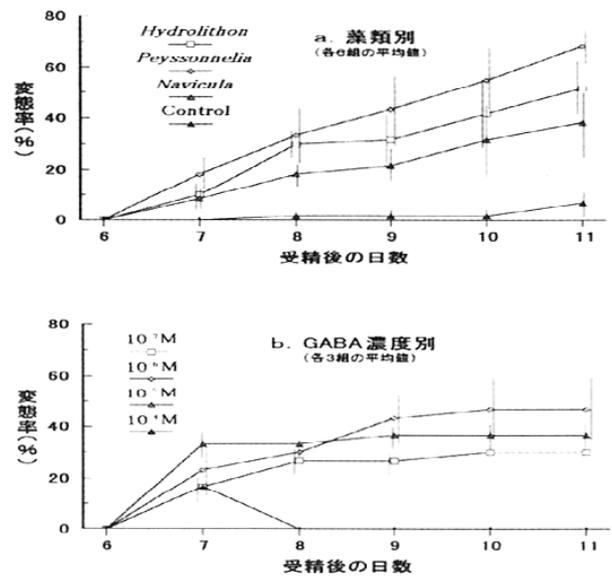


図 4. ヤコウガイ幼生の変態率の経時変化 (縦線は標準偏差を示す)

死した (図 4 b)。

実験 3 (成長実験) では、受精後 7 日における浮遊幼生の平均殻径 311 μm ($n=120$, $sd=9.05$) に対して、受精後 20 日における平均殻径は変態しなかった対照区 (313 μm) ではほとんど成長は見られなかったが、*Hydrolithon* 区 (450 μm)、*Peyssonnelia* 区 (450 μm)、GABA 10^{-6}M 区 (425 μm) では成長が認められた (図 5, 6)。受精後 20~37 日では、*Hydrolithon* 区 (464 μm) と *Peyssonnelia* 区 (470 μm) で僅かに成長が見られたのみであった。培養したこれらの飼育水からは、珪藻区から珪藻 (*Navicula* sp.) が検出された以外に、藻類は検出されなかった。500 l 水槽にて GABA 10^{-6}M の添加と珪藻の併用により飼育した区では、受精後 20 日で 538 μm 、受精後 37 日で 791 μm に成長した。

考 察

ヤコウガイはチョウセンサザエと同様ベリジャー幼生として孵化するが、初期発生が遅く、飼育水温はほぼ同じであったにもかかわらず、孵化時間が遅れた。さらに、チョウセンサザエは実験開始時の受精後 6 日から探索行動が観察され、受精後 7 日から変態個体が出現したのに対して、ヤコウガイでは受精後 8 日から探索行動が観察され、受精後 10 日から変態個体が出現した。これらのことから、チョウセンサザエに対してヤコウガイの方が、発生に時間がかかり、浮遊期間も長いことが推測される。

浮遊幼生の着生・変態を促進する GABA の最適濃度は、アカネアワビでは 10^{-6}M であり (Morse *et*

al. 1979)、サザエでは 10^{-5}M であると報告されている (西島・伊藤 1986)。本研究での GABA による変態率の最高値は、チョウセンサザエで 47% (10^{-6}M 区)、ヤコウガイで 82% (10^{-6}M 区) であったことから、両種とも GABA の最適濃度は 10^{-6}M であると言える。しかし、チョウセンサザエでは、即効的には 10^{-5}M で最も変態率が高かったが、その後 $10^{-5} \sim 10^{-7}\text{M}$ の濃度間で変態率に有意差が見られなくなった。これに対して、ヤコウガイでは 10^{-6}M 区で高い変態率を示したが、他の濃度ではほとんど変態しなかったことから、ヤコウガイの幼生に対する GABA の変態促進効果はきわめて高いが、有効な濃度の幅が狭いと言える。また、両種とも 10^{-4}M 区で全個体がへい死したことから、GABA の致死濃度は $10^{-5} \sim 10^{-4}\text{M}$ にあると言える。藻類による変態実験において、チョウセンサザエでは毎日少しずつ変態個体数が増えていき、2 種の紅藻区 (*Hydrolithon reinboldii*, *Peyssonnelia* sp.) と珪藻区 (*Navicula* sp.) による変態率の差は僅かであったのに対して、ヤコウガイではこれら 2 種の紅藻区のみにおいて、受精後 10 日目の 1 日で大部分の幼生が変態したことから、ヤコウガイではこれらの紅藻類による変態促進効果が高いと言える。浮遊幼生の着生・変態を促進する物質は紅藻類の藻体中に代謝産物として生じて、ごく微量が表面から拡散しており、幼生は接触によってのみ認識することができるものと考えられている (Morse and Morse 1984)。今回の実験で用いた紅藻はミドリイシ属サンゴの幼生の着生も促進するが (Morse *et al.* 1996)、作用

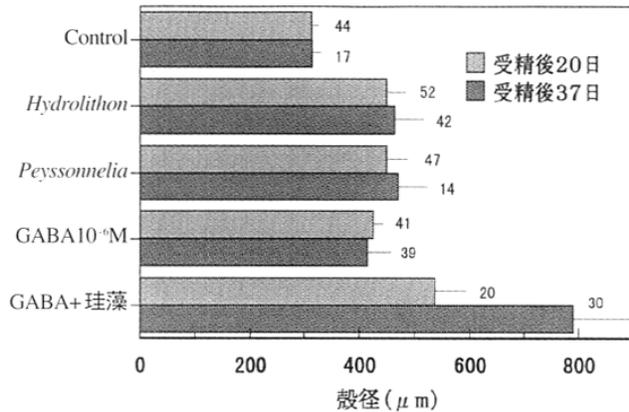


図5. 各実験区のヤコウガイ稚貝の成長 (図中数字は標本数、横線は標準偏差を示す)

している物質が同じであるかどうかは不明であり、変態促進物質の解明については今後の課題である。

変態実験終了後に引き続いて行ったヤコウガイ稚貝の飼育実験において、変態した稚貝は餌となる藻類が無いにも関わらず成長が観察された。Fraser *et al.* (1996)は、アカネアワビの幼生を用いて、アミノ酸や糖類の移動を測定することにより、初期稚貝への発育において、卵内に蓄積されている栄養だけではなく、海水中の溶存有機物の取り込みが重要であることを指摘している。今回の実験においても、ヤコウガイ幼生の飼育水中に溶存したGABAが着生・変態を促進するだけでなく、幼生の栄養として取り込まれている可能性が考えられる。GABA (10⁻⁶M)区が受精後20日目以降成長していないのに対して、2種の紅藻区 (*Hydrolithon reinboldii* と *Peyssonnelia* sp.) では、受精後37日目でも成長しているのは、紅藻チップ上の有機物の摂餌によるものと推測される。また、GABA (10⁻⁶M)の添加と付着珪藻を併用して飼育した区で著しく成長しているのは、稚貝への変態後に珪藻を摂餌しているためと考えられる。これらのことから、チョウセンサザエ

引用文献

Fraser, M. S., O. Hoegh-Guldberg and D. T. Manahan 1996. Sources of energy for increased metabolic demand during metamorphosis of abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca). *Biol., Bull.* 191: 402-412

Morse, D. E., N. Fooker, H. Dunkan and L. Jensen. 1979. γ -aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. *Science*, 204: 407-410.

Morse, A. N. C. and D. E. Morse 1984. Recruitment and metamorphosis of *Haliotis* larvae induced by molecules uniquely available at the surfaces of crustose red algae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 75: 191-215

Morse, A. N. C., K. Iwao, M. Baba, K. Shimoike, T. Hayashibara and M. Omori 1996. An ancient chemosensory mechanism brings new life to coral reefs. *Biol. Bull.*, 191: 141-154.

西尾賢二・伊藤輝昭 1986. γ -アミノ酪酸によるサザエ浮遊幼生の着底促進実験. 山口県外海水産試験場研究報告, 21: 173-178.

この内容の一部は、平成9年度日本水産学会春季大会において口頭発表した。

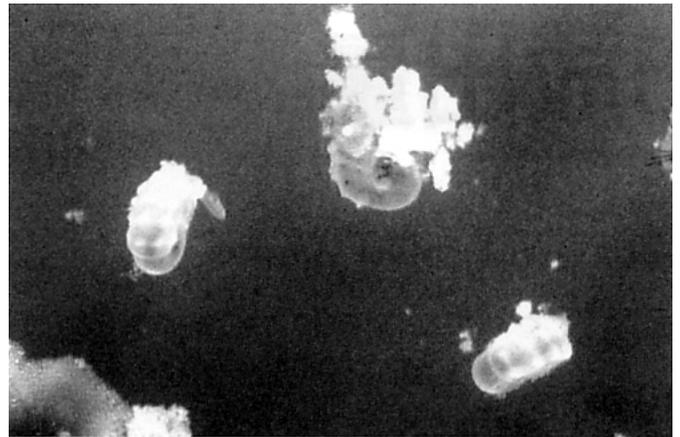


図6. 紅藻類 (*Peyssonnelia* sp.) チップの近くで着生・変態後、成長した受精後20日のヤコウガイ稚貝

幼生に対しては着生・変態を促進する効果の見られた珪藻 (*Navicula* sp.) はヤコウガイ幼生に対しては効果が認められなかったが、変態後の餌料としては重要であると考えられる。そこで、今回の結果をヤコウガイの種苗生産に応用する場合、受精後7~9日目の浮遊幼生を収容した水槽に、変態した稚貝の餌となる *Navicula*などの小型付着珪藻を仕立てた着生基盤を入れ、GABAを10⁻⁶Mの濃度で添加して着生・変態を促進する方法が望ましいと思われる。

謝辞

本研究を行うにあたり、ヤコウガイ母貝の採取にご協力頂いた西野禎一 (マリーシェル) ほか徳之島漁協の皆様、実験用紅藻類の採取と種同定を頂いた岩尾研二研究員 (阿嘉島臨海研究所) 珪藻類の単離培養にご協力頂いた小池一彦助手 (北里大学) 有益なご助言を頂いた Dr. Aileen N.C. Morse (カリフォルニア大学サンタバーバラ校) ならびに大森信教授 (東京水産大学) ほか、多くの方々に感謝致します。