

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24570118

研究課題名(和文)ケハダスナホリムシ(軟体動物・尾腔綱)の生殖周期の研究

研究課題名(英文)Reproductive cycle of *Scutopus schanderi* (Mollusca: Caudofoveata)

研究代表者

齋藤 寛 (SAITO, Hiroshi)

独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・研究主幹

研究者番号：00259996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：軟体動物尾腔綱の発生については未だ十分な観察がなされていない。この発生研究の基盤とするため、若狭湾西部に生息するケハダスナホリムシ類の*Scutopus schanderi*の生殖周期を調べた。連続する12か月の各月に採集した標本の生殖腺を観察したところ、産卵は1年に1回、9月下旬から10月上旬におこなわれることが分かった。産卵誘導の可能性についても検討し、9月の産卵前に採集した動物については紫外線照射海水、セロトニン-クレアチニン硫酸塩や精子による刺激によって放卵した個体を観察したが、その効果や、最適条件等の検討は今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：The reproductive cycle of an aplacophoran mollusc, *Scutopus schanderi* (Mollusca: Caudofoveata) in western Wakasa Bay, the Sea of Japan was studied to establish a basis for studies of the development which has remained unclear. Observation of the gonad from the specimens collected monthly for consecutive 12 months revealed that the spawning appears to take place between late September and early October. Spawning in the laboratory was successfully induced for a few individuals collected before spawning in September by stimuli of UV treated sea water, Serotonin-Creatinine Sulfate, and the sperm, although the protocol needs to be further optimized.

研究分野：系統分類学

キーワード：生殖周期 産卵期 軟体動物 尾腔綱 無板類

1. 研究開始当初の背景

ケハダスナホリムシ類を含む尾腔類 (図 1) は海底の泥中にすむ軟体動物 (貝類) の 1 綱である。本類はカセミズなど溝腹類と並び現生軟体動物中で最も原始的な一群と考えられており、その個体発生に関する研究の重要性は多くの論文で指摘されている (例えば Okusu, 2002 ; Nielsen, 2002)。しかし、個体発生に関する知見は初期発生についての報告 1 編のみである (Nielsen et al., 2007)。個体発生を観察するためには産卵期に動物を採集する必要があるが、その生殖周期に関する研究も殆どなく、生殖腺の成熟期が単に夏季、あるいは 7 月 - 8 月として報告された国外の例が 2、3 あるのみであった。

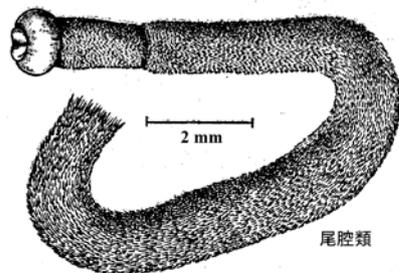


図 1 尾腔類

2. 研究の目的

(1) 生殖周期の解明 本研究の目的は尾腔綱ケハダスナホリムシ科の 1 種を定期的に採集し、生殖腺を組織学的に観察することによってその生殖周期を明らかにすることで、特に産卵期の特定を目指す。また複数種を同種として取扱うことのないように本種の分類学的研究もあわせて行う。日本産尾腔類は 3 種しか記載されていないが、日本沿岸には少なくとも 25 種の未詳種が生息していることが知られているため (動物分類学会, 2002 : 日本産生物種数調査)、分類学的研究をあわせて行い、種の標徴を明らかにした上で、生殖周期の解明をめざす。

(2) 産卵誘発と産卵、発生の観察 産卵期がある程度予測できるようになった場合、安定した採卵を可能とするため、紫外線、薬品等の刺激による産卵誘発による放卵、放精の

可能性を調べる。産卵や発生が観察できれば、できる限り長期間観察を続け、各発生段階の形態を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 種の同定は体中央部背面の鱗片の形態を比較して行った。脱灰により鱗片が得られない場合は歯舌を観察して行った。

(2) 生殖腺の観察 標本採集は若狭湾西部、丹後半島沖の水深 100 m 付近で、毎月 1 回、連続する 12 か月で実施した。採集は京都大学舞鶴水産実験所の実習・調査船緑洋丸を利用し、海底の砂泥の採集と、CTD による水温と塩分の測定を行った。採集した砂泥は目合い 0.5 mm の篩でふるった後、10 % 中性海水ホルマリンで固定して持ち帰り、室内で材料を選別した。毎月 30 個体の標本について画像撮影、画像を基にした体長と体幅の測定、体表の石灰質鱗片による同定を行った。その後、各個体について、生殖腺がある体後半部を切断し、脱灰後、パラフィンに包埋し、厚さ 10 μ m の連続切片を作成、HE 染色してプレパラートを作成し、生殖腺を観察した。

(3) 産卵誘発 生殖腺観察用の 12 か月分の標本採集が終了したのち、上記の方法で採集した標本を固定せずに持ち帰り、選別して、産卵誘発を試みた。海水中の細菌除去も兼ねて、紫外線を照射した (照射度 5445 μ W/cm²) ろ過海水中で観察を行った。これに加え、柄付き針で体壁に小孔を開け取り出した精子を、雌個体尾部付近に振りかけた。さらに、井戸本 (1991) に準じて濃度 10⁻⁴M のセロトニン-クレアチニン硫酸塩溶液をつくり、これをピペットで動物の周りに滴下した。

4. 研究成果

(1) 分類学的研究 若狭湾西部の水深 50 m から 100 m には尾腔類 4 種が出現し、分類学的研究の結果、すべて未記載種であることがわかったため、新種として記載、発表した。それら 4 種はケハダスナホリムシ科

Limifossoridae のマルアシウミヒモ属 *Scutopus* 2 種、*S. schanderi*, *S. hamatanii*、ケハダウミヒモ科 Chaetodermatidae のクワガタウミヒモ属 *Falcidens* の 1 種、*F. ryokuyomaruuae*、および同科ケハダウミヒモ属 *Chaetoderma* の 1 種、*C. marisjaponium* である (Saito & Salvini-Plawen, 2014)。

このうち、本研究で生殖周期の解明を行った種は *Scutopus schanderi* で、同属の *S. hamatanii* とは体色が緑色で、体表の鱗片が大きく幅広いことや、歯舌が褐色であることで区別できる (*S. hamatanii* は体色は褐色、鱗片は小さくて細く、歯舌は透明)。

(2) 生殖周期の研究 生殖腺観察のための標本採集は 2012 年 7 月から 2013 年 6 月までの各月 1 回行なった。各月選別した標本のなかから 30 個体、合計 360 個体について生殖腺を組織学的に観察した。このなかに卵と精子が同時に存在するもの (図 2D) が 2 個体 (6 月と 8 月に各 1 個体) 見出された。尾腔網は雌雄異体とされ、雌雄同体の状態が観察されたのは初めてと思われるが、雌雄異体の種で、少数個体に雌雄同体の状態が観察される例は他の分類群では知られており (例えば Brousseau, 1987: 二枚貝 *Macoma balthica*)、異常例と見なされている。本種は性転換の証拠も認められないため、雌雄異体と考えられる。

生殖腺には次のような発達段階が認められた。①生殖細胞が認められず、雌雄の判別ができない段階 (図 2C)。まれに残留したと思われる小さな生殖細胞が少数認められる。②生殖細胞発達段階 (図 2A) 月によってさまざまな状態が観察された。雌では卵細胞が大型化し、卵巣も体内の大きな場所を占めるようになる。卵細胞では光学顕微鏡観察ではそのサイズ以外に顕著な差異は認められないが、雄では精母細胞が増殖したのち、小型の精細胞、さらには尾部鞭毛をもった精子への変化が認められる。③成熟段階 卵細胞は大

型になり直径 80–100 μm ほどに達し、生殖腺は大きくなるため、中腸盲囊など他の器官を圧迫する (図 2B)。雄ではほとんどの生殖細胞が精細胞となり細胞数が増加し、精子の数が多くなる。

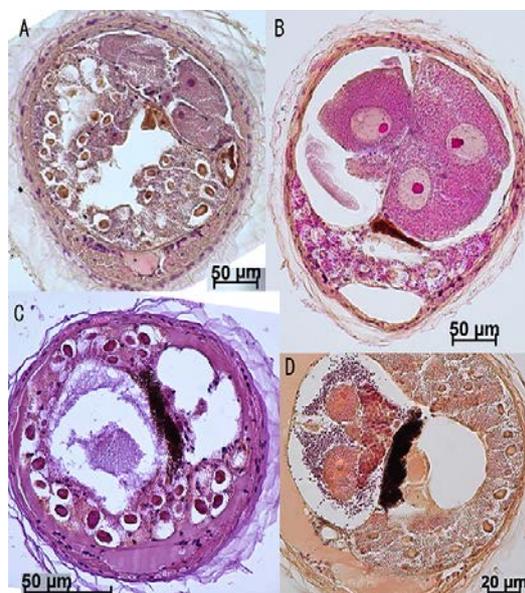


図 2 生殖腺 A. 成熟に近づく卵細胞 (上方)、7 月 ; B. 成熟した卵細胞、9 月 ; C. 産卵後の生殖巣 (右上の腔所)、10 月 ; D. 卵と精子が共に存在する生殖巣 (左上) .

これらの発達段階のうち、①は 10 月および 11 月に観察された。12 月、1 月も生殖細胞が認められない個体が多いが、数個体に小さな卵細胞が認められ、同様に卵細胞が認められる個体は 2 月になると増加した。②は 2 月から 8 月にかけて見られ、生殖腺は著しく発達する。②と③の区別は明瞭ではないが、9 月採集個体に見られる卵細胞は最大のサイズとなり、互いに圧迫するため楕円形に近い不定形で存在する。精母細胞のほとんどは精細胞となり、鞭毛をもった精子の数が増加して、内腔を満たす。これらのことから、本種は年 1 回、9 月下旬から 10 月初旬に産卵期をもつことが推定された。採集地点の海底の水温は同時期が年間で最も高く、このような環境条件と産卵期が関連していることも予想されるが、この関連を明らかにするには今後

の詳細な研究が必要である。

(3) 産卵誘発 産卵期間がほぼ推定されたため、本研究2年目は採集したサンプルを固定せずに持ち帰り、選別した動物を紫外線照射ろ過海水に入れて観察した。これにより、生時、半透明の体壁を透過してみえる生殖腺の色彩によって雌雄の判別が可能であることが分かった。そこで、柄付き針で体壁に小孔を開け取り出した精子を、雌個体尾部付近に振りかけたところ、1個体が産卵を開始した(図3)。さらに、翌年はセロトニン-クレアチニン硫酸塩溶液をピペットで動物の周りに滴下したところ、1個体が放精を開始した。受精卵は約5時間で胞胚、約7時間で囊胚となり、約21時間後にはトロコフォラ幼生となったが、細菌が繁殖して死滅した。

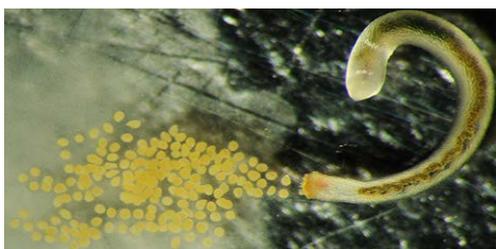


図3 室内容器内での放卵

以上のように産卵期がほぼ推定され、2シーズンに放卵、放精を観察できたことで、個体発生の詳細な観察を行うための基盤を整えることができた。

<引用文献>

- Brosseau, D. J. Gametogenesis and spawning in a population of *Macoma balthica* (Pelecypoda: Tellinidae) from Long Island Sound. *The Veliger*, 29: 260-266.
- 井戸本純一 1991 産卵誘発による採卵 滋賀県水産試験場研究報告, 45: 203-205.
- Nielsen, C. 2002: *Animal Evolution*. Oxford University Press, p. 161.
- Nielsen, C. Haszprunar, G. Ruthensteiner, B. Wanninger, A. 2007: Early development of the aplacophoran mollusc *Chaetoderma*.

Acta Zoologica, 88: 231-247.

Okusu, A. 2002: Embryogenesis and Development of *Epimania babai*. *Biological Bulletin*, 203: 87-103.

Saito, H. & Salvini-Plawen, L. v. 2014: Four new species of the aplacophoran class Caudofoveata (Mollusca) from the southern Sea of Japan. *Journal of Natural History*, 48: 2965-2983.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Saito, H. & Salvini-Plawen, L. v. 2014: Four new species of the aplacophoran class Caudofoveata from Wakasa Bay, western Sea of Japan. *Journal of Natural History*, (査読有) 48: 2965-2983.

[学会発表] (計 2 件)

① Saito, H. & Salvini-Plawen, L. v. 2013: Caudofoveata (Mollusca) from the southern Sea of Japan. World Congress of Malacology 2013. 2013年7月23日. University of the Azores, ポンタデルガダ (ポルトガル).

② 齋藤 寛・Salvini-Plawen, L. v. 2014. 若狭湾西部から採集された尾腔類. 日本貝類学会平成26年度大会. 2014年4月13日. 大阪市立自然史博物館, (大阪府・大阪市).

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 寛 (SAITO, Hiroshi)

独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・研究主幹

研究者番号: 00259996

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし