

# エダアシクラゲの放卵・放精の光条件

\*出口 竜作・\*\*青木 瞳・\*\*松田 聖・\*\*\*佐藤 英樹

## Light-dark conditions for spawning of the hydrozoan jellyfish *Cladonema pacificum*

DEGUCHI Ryusaku, AOKI Hitomi, MAZDA Show and SATOH Eiki

### Abstract

The hydrozoan jellyfish *Cladonema pacificum* is widely distributed on the coast of Japan. Here we report on light-dark conditions for spawning in medusae of this species. All of the medusae captured at Orinohama (Ishinomaki City, Miyagi Prefecture) and at Matsushima (Higashi-Matsushima City, Miyagi Prefecture) spawned after dark in the evening of the capture day and continued to spawn every day by dark stimulation (dark-type medusae). In contrast, most of the medusae captured at Asamushi (Aomori City, Aomori Prefecture) spawned in the next morning, following the switch from dark to light; they spawned every day by light stimulation (light-type medusae). Medusae of the next generation that had developed from eggs and sperm from Asamushi light-type medusae spawned in response to light after dark. On the other hand, zygotes from Orinohama and Matsushima medusae developed into dark-type medusae. In light-type female medusae, a light period of 10 seconds after dark was sufficient to induce normal spawning, whereas a continuous dark period of 3-9 hours was required before the light stimulation. In dark-type females, a dark period lasting for 3-5 minutes was required for spawning. Interestingly, they also spawned in response to light when the order of light and dark periods was reversed. Our data suggest that there are populations of *C. pacificum* using different light-dark conditions as the trigger for spawning, and that these characters are caused by genetic factors.

**Key words :** Cnidaria (刺胞動物)

Jellyfish (クラゲ)

Spawning (放卵・放精)

Photoreception (光受容)

Light-Dark Cycle (明暗周期)

### 1 はじめに

多くの動物は、有性生殖によって次世代を形成する。動物の有性生殖が成立するには、2種類の性の個体（雌と雄）が形成する2種類の生殖細胞（卵と精子）が効率良く出会い、受精し、1つの細胞（受精卵）に

なる必要がある。そのため、それぞれの動物は、卵と精子を時間的に同調して放出するしくみをもっている。無脊椎動物では、周囲の環境の物理的・化学的变化を放卵・放精開始の引き金にしていることが多い（石川・沼宮内, 1988）。例えば、ムラサキイガイやスナクモヒトデでは、少し温めた海水に個体を移すと

\* 宮城教育大学理科教育講座

\*\* 宮城教育大学大学院理科教育専修

\*\*\* 宮城教育大学自然環境専攻

放卵・放精が誘起される。また、ユウレイボヤやマボヤなどのホヤ類は雌雄同体であり、1個体が同時に卵と精子を放出するが、暗状態から明状態への移行が放卵・放精の引き金となる。ゴカイは、12月後半から2月にかけて、大潮の日の夜間の満潮時に生殖群泳を行い、一斉に放卵・放精を行う。このように、多くの無脊椎動物は、温度、光、潮汐（月齢）などの情報を用いて放卵・放精のタイミングを合わせている。

上述した動物よりもさらに原始的なクラゲは、光の情報を用いて放卵・放精を行うことが古くから知られている（Ballard, 1942; Miller, 1979）。この光刺激は、明刺激（暗状態から明状態への移行）と暗刺激（明状態から暗状態への移行）に大きく分けられる。タマクラゲやサルシアクラゲは明刺激に反応して放卵・放精を行う「明タイプ」であるのに対し、カミクラゲやカギノテクラゲは暗刺激によって放卵・放精を行う「暗タイプ」である（Miller, 1979; Yoshida et al., 1980; Deguchi et al., 2005）。興味深い点は、近縁な種でも明タイプと暗タイプがともに存在することである。例えば、*Hydractinia echinata* は明タイプであるが、同じ属である *H. epiconcha* は暗タイプである（Ballard, 1942; Yoshida et al., 1980）。この事実は、明タイプと暗タイプという形質の違いは「紙一重」であり、容易に変わり得ることを示唆している。

エダアシクラゲは日本全国の沿岸に分布しており（並河・楚山, 2000）、採集や飼育が比較的容易な種である（出口・伊藤, 2005）。これまでの研究から、宮城県石巻市の折浜で採集されるエダアシクラゲは、暗刺激によって放卵・放精を行う暗タイプであることが分かっている（出口・伊藤, 2005）。一方、青森県青森市の浅虫に生息するエダアシクラゲでは、明刺激

により放卵・放精が行われるという予備的な観察結果が得られている。しかし、このことを明確に示す実験はなされていない。今回、浅虫、折浜、および宮城県東松島市の松島でエダアシクラゲを採集し、放卵・放精を誘起する光刺激に着目した研究を行った。

## 2 浅虫での採集調査

東北大学浅虫海洋生物学研究センター内の艇庫付近の防波堤において、2006年の6月30日、7月1日、7月20～22日、8月28～30日、2007年の7月19～20日、8月18～21日に採集調査を行った。クラゲ採集用の網（出口と伊藤, 2005; 今回、「クラゲキャッチャー」と命名）を群生しているアマモをめがけて投げ入れ、ゆっくりと引き上げたところ、上記の全ての採集日において多くのエダアシクラゲを採集することができた。採集された個体は小型のものが多かったが（図1 A）、傘の直径が2 mm以上に達しているものはいずれも性成熟しており、光刺激（後述）に応じて放卵・放精を行った。

## 3 折浜での採集調査

2003年に折浜で行われた調査では、5月中旬から8月上旬にかけてエダアシクラゲが採集され、その最盛期は6月であった（出口と伊藤, 2005）。2006年と2007年の調査においても、ほぼ同様の結果が得られた。折浜の個体（図1 B）は浅虫の個体（図1 A）に比べて大型であり、6月以降に採集された傘の直径が3 mmを超える個体はいずれも性成熟していた。

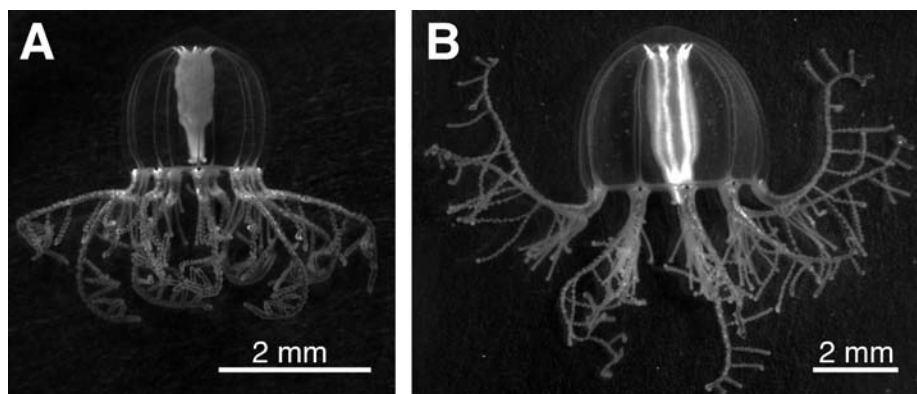


図1 浅虫と折浜で採集されたエダアシクラゲ。浅虫の個体（A）よりも折浜の個体（B）のほうがより大型である。

#### 4 松島での採集調査

松島ヨットハーバーの桟橋周辺において、2006年の4月12日、5月12日、6月2日、7月3日、9月23日、2007年の6月12日、6月16日に調査を行った。5月と6月には、パッチ状に点在しているアマモや桟橋に付着しているコンブ類の間から、クラゲキャッチャーを用いてエダアシクラゲを採集することができた。松島では、得られた個体数は少なかったものの、傘の直径が3mmを超える大型の個体がほとんどであり、これらはいずれも性成熟していた。

#### 5 採集直後の個体における放卵・放精の光刺激

浅虫、折浜、および松島において採集された個体が、明刺激と暗刺激のどちらで放卵・放精を行うか調べた。採集された個体から大型のものをを選び、これらを蓋付きのプラスチック容器に入れ、夕方まで明状態においた。その後、12穴シャーレに個別に入れ、フィールドでの日没時刻に合わせて19:00に暗状態にした（シャーレを黒い布で覆うか、遮光した空き箱に入れた）。1時間の暗の後に観察を行い、その段階で放卵・放精が確認できたものを暗タイプとした（図2B）。一方、暗のまま9.5時間おき、翌朝の日の出時刻に合わせて4:30に明にした後、1時間以内に放卵・放精が確認できたものを明タイプとした（図2A）。なお、明タイプと暗タイプの判別には、それぞれ異なる個体群を使用した。採集個体の少なかった松島においては、採集日当日の夜に暗タイプかどうかの判別を行い、翌々日の朝に同一個体群を用いて明タイプかどうか

かの判別を行った。

浅虫においては、採集された個体の大部分が明タイプであり、暗タイプはごくわずかであった（図2）。明タイプと判別された個体を継続して飼育したところ、毎日安定して明にした後に放卵・放精を行った。しかし、暗タイプと判別された個体は、翌日に暗にした後には放卵・放精を行わなかった。このことから、これらが常に暗刺激で放卵・放精する個体群であるかは不明である。

一方、折浜と松島の個体は全てが暗タイプであり、明タイプは全く見られなかった（図2）。これらの個体を継続して飼育したところ、毎日安定して暗にした後に放卵・放精を行った。

#### 6 次世代における放卵・放精の光刺激

同じ地域から採集された個体どうしを交配し、過去に報告されている方法（出口・伊藤, 2005）にしたがって次世代のクラゲを作出して、これらがどちらの光刺激で放卵・放精を行うか調べた。交配させるためには、雌雄3個体ずつのクラゲを同一のプラスチック容器に入れ、明刺激または暗刺激を与えて放卵・放精を誘起した。その後、容器中の受精卵を発生させ、プラヌラ幼生を経てポリプに至った個体のうち、比較的成長の良かったものを別容器に移して系統化した。成熟した次世代のクラゲが得られた場合には、12時間明・12時間暗の光周期で飼育し、1系統あたり少なくとも4個体を用いて明タイプか暗タイプのどちらであるか調べた。なお、これ以降の全ての飼育・実験は、東北区水産研究所から譲り受けた濾過海水を用い、21～

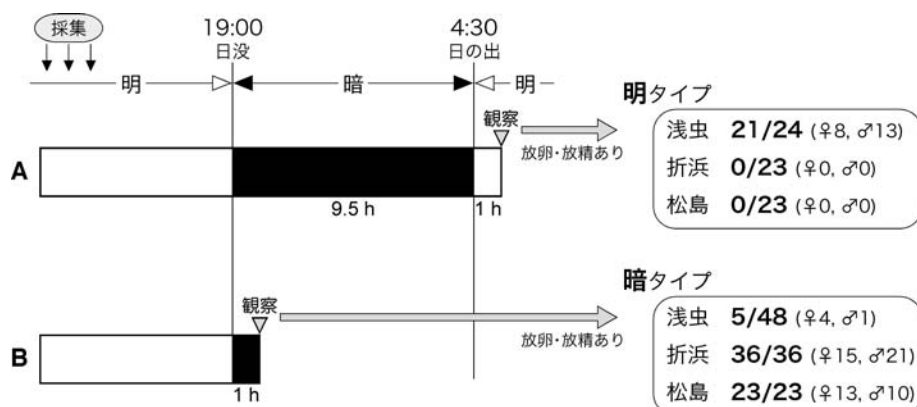


図2 採集直後の個体における明暗タイプの判別結果。明タイプ(A)と暗タイプ(B)の判別の方法と、浅虫、折浜、および松島で採集された個体における明暗タイプの割合（括弧内は雌雄の内訳）を示している。

23℃の恒温下で行った。

浅虫の個体（明タイプ）どうしの交配によって得られた系統のうち、成熟したクラゲにまで成長したのは6系統であった。これらの系統のクラゲは、いずれも明刺激により放卵・放精を行う明タイプであった（図3A）。一方、折浜の個体どうし、および松島の個体どうしの交配によっては、それぞれ4系統および7系統の成熟クラゲが得られたが、これらはいずれも暗刺激で放卵・放精を行う暗タイプであった（図3B, C）。いずれの場合も、同じ系統から得られたクラゲは雌か雄のどちらかであり、雌雄が混在することはなかった。

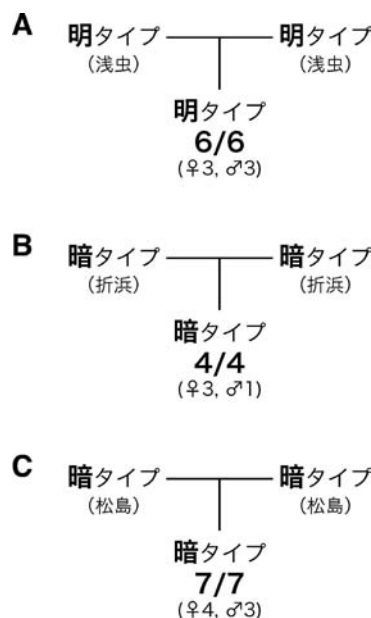


図3 次世代における明暗タイプの判別結果。明タイプ（浅虫）どうし（A）、暗タイプ（折浜）どうし（B）、および暗タイプ（松島）どうし（C）の交配によって得られた次世代における明暗タイプの割合（括弧内は雌雄の内訳）を示している。

## 7 明タイプにおける放卵の光条件

浅虫の明タイプどうしの交配によって得られた系統のうち、成熟した雌クラゲを安定して得ることのできた浅虫C系統を用い、明タイプの放卵に必要な光条件について詳しく調べた。クラゲに一定の光条件を与えるためには、遮光したダンボール箱の内部に1ワットの電灯を取り付け、そのオン・オフをプログラムタイマーにより制御した。12時間明・12時間暗の光周期で飼育した場合、浅虫C系統のクラゲは、明に切り替わっ

てからおよそ25分後に放卵を開始した。以下の実験には、毎回の放卵個数が200程度であることを確認した個体を用いた。

まず、対照実験として、12時間明・12時間暗の後に1時間の明を与えてから観察を行ったところ（図4A）、全ての個体（6/6）が放卵しており、放卵個数の平均±標準偏差は $199 \pm 56$ であった。次に、12時間明・12時間暗の後の明時間を1分間に減らし、残りの59分間を暗にしたところ（図4B）、全ての個体（6/6）が対照実験と同様に放卵を行った。また、明時間をさらに短くして10秒間にした場合にも（図4C）、全ての個体（6/6）が通常の放卵を行った。以上の結果は、放卵の引き金となる明時間、すなわち明刺激の持続時間は、10秒間で十分であることを示している。

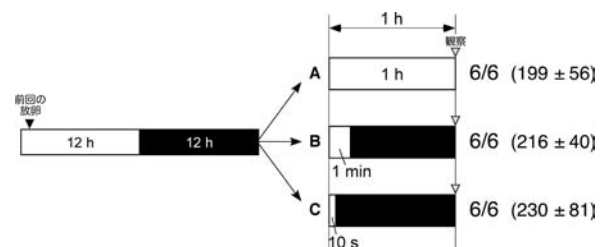


図4 明タイプの放卵に必要な光条件-1。明タイプの雌（浅虫C系統）において、通常の光周期（12時間明・12時間暗）を与えた後の明刺激の時間を1時間（A）、1分間（B）、および10秒間（C）にした時の放卵個体数の割合（括弧内は放卵個体のみを対象とした放卵個数の平均±標準偏差）を示している。

これに対し、明刺激前の暗時間を短くした場合には、放卵が抑制されることが分かった。明刺激前に9時間の暗を与えた場合には（図5B）、全ての個体（6/6）が放卵を行い、放卵個数も対照実験（図5A）と大きくは変わらなかったが、明刺激前の暗時間を3時間（図5C）や1時間（図5D）にした場合には、放卵した個体数は半分程度（4/6および3/6）になり、放卵が起こった場合でも放卵個数は著しく減少した（図5C, D）。次に、1時間暗・1時間明を交互に与え、積算した暗時間が9時間になるようにしたところ（図5E）、放卵した個体は全くなかった（0/6）。一方、明刺激の前の暗時間を23時間と極端に長くした場合には（図5F）、全ての個体（6/6）が通常の放卵を行った。以上の結果は、明刺激の前には、3～9時間以上の連続した暗が必要であることを示唆している。



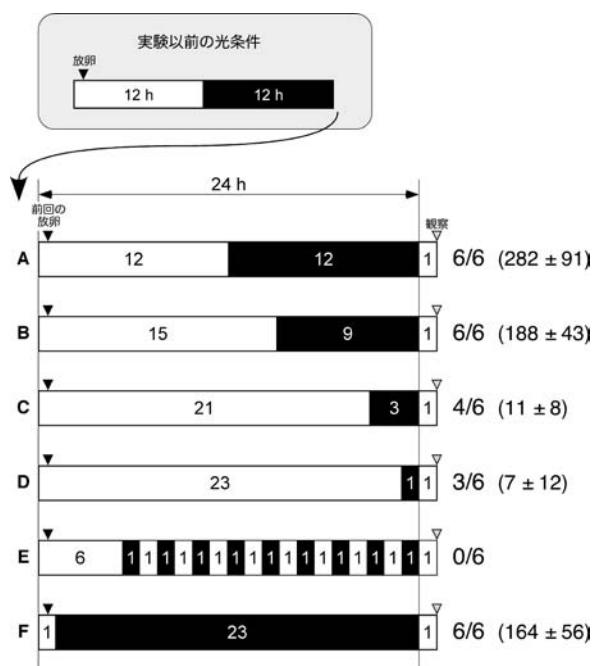


図5 明タイプの放卵に必要な光条件-2。通常の光周期（12時間明・12時間暗）で飼育していた明タイプの雌（浅虫C系統）において、明刺激前の光条件を様々に変化した時の（A～F）、放卵個体数の割合（括弧内は放卵個体のみを対象とした放卵個数の平均±標準偏差）を示している。

## 8 暗タイプにおける放卵の光条件

折浜の暗タイプどうしの交配によって得られた系統のうち、成熟した雌クラゲを安定して得ることのできた折浜6W系統を用い、暗タイプの放卵に必要な光条件について詳しく調べた。12時間暗・12時間明の光周期で飼育した場合、折浜6W系統のクラゲは、暗に切り替わってからおよそ35分後に放卵を開始した。以下の実験には、毎回の放卵個数が200程度であることを確認した個体を用いた。

まず、対照実験として、12時間暗・12時間明の後に1時間の暗を与えてから観察したところ（図6A）、全ての個体（4/4）が放卵しており、放卵個数の平均±標準偏差は196±30であった。次に、12時間暗・12時間明の後の暗時間を5分間に減らし、残りの55分間を明にしたところ（図6B）、全ての個体（4/4）が対照実験と同様に放卵を行った。しかし、暗時間をより短くして3分間にした場合には（図6C）、半分の個体（2/4）は通常の放卵を行ったものの、残りの半分（2/4）は放卵しなかった。また、暗時間をさらに短くして1分間にすると（図6D）、放卵は全く起こら

なかった（0/4）。以上の結果は、放卵の引き金となる暗時間、すなわち暗刺激の持続時間は3～5分間必要であることを示している。

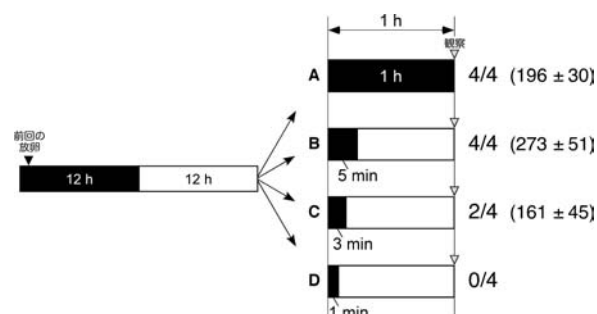


図6 暗タイプの放卵に必要な光条件-1。暗タイプの雌（折浜6W系統）において、通常の光周期（12時間暗・12時間明）を与えた後の暗刺激の時間を1時間（A）、5分間（B）、3分間（C）、および1分間（D）にした時の放卵個体数の割合（括弧内は放卵個体のみを対象とした放卵個数の平均±標準偏差）を示している。

次に、暗刺激の前の明時間の長さを変えて、その影響を調べた。暗刺激前の明時間を23時間と極端に長くした場合でも（図7B）、対照実験（図7A）と同様に全ての個体（ともに6/6）が暗刺激により正常に放卵した。これとは逆に、暗刺激の前の明時間を短くした時の影響を調べるために、前回の放卵以前から暗を23時間継続し、その後に1時間の明を与えたところ（図7C）、暗タイプにもかかわらず、この明が刺激となって全ての個体（6/6）が放卵した。同様に、前回暗刺激によって放卵させた後、一旦1時間の明を与えてから22時間の暗を与えた場合や（図7D）、11時間の明を与えてから12時間の暗を与えた場合にも（図7E）、全ての個体（6/6および4/4）が次の明刺激に反応して放卵した。これらの明刺激によって放卵した個体を明で維持し、翌日に暗を与えてみたところ、今度はこの暗に反応して放卵が起こった。以上の結果より、暗タイプでは、一定期間の明の後の暗刺激によって放卵が起こるが、明暗時間を逆転させると明刺激によっても放卵が可能になると考えられる。

## 9 本研究のまとめと今後の課題

本研究により、浅虫には明タイプ、折浜・松島には暗タイプのエダアシクラゲが生息していることが明らかとなった。一般にクラゲは種ごとに明タイプか暗タイプのどちらかであり、今回のように同一種内に2つ

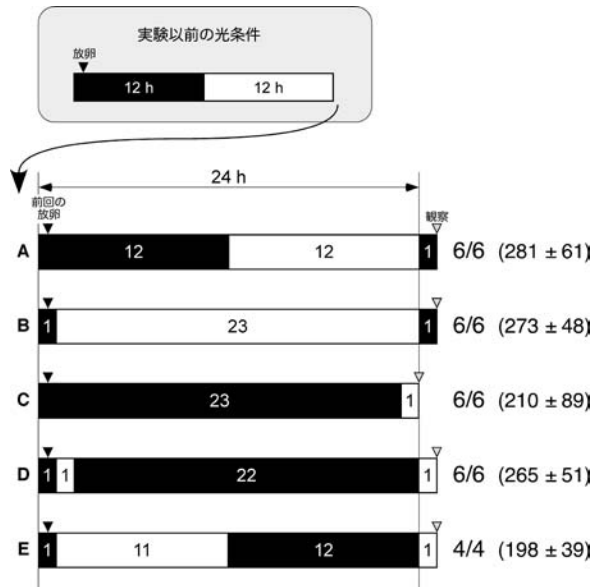


図7 暗タイプの放卵に必要な光条件-2。通常の光周期（12時間暗・12時間明）で飼育していた暗タイプの雌（折浜6W系統）において、光条件を様々に変化した時の（A～E）、放卵のタイミングと放卵個体数の割合（括弧内は放卵個体のみを対象とした放卵個数の平均±標準偏差）を示している。

のタイプが混在するという結果は、我々の知る限り初めてのものである。同じ地域・同じタイプどうしの交配によって得られた次世代は、いずれも親と同じ光刺激に反応して放卵・放精を行うようになった。飼育海水、水温、餌などの条件は全く同じであったにもかかわらず、明タイプ・暗タイプという形質が受け継がれたことから、この形質は環境ではなく、遺伝によって決定されているのではないと思われる。

エダアシクラゲの明タイプが放卵するためには、明刺激自体は10秒間で十分であったが、明刺激前には3～9時間を超える連続した暗が必要であった。同じく明タイプである *H. echinata* (Ballard, 1942) やタマクラゲ (Takeda et al., 2006) でも、同様の状況が報告されている。一方、エダアシクラゲの暗タイプにおいては、3～5分間にわたる暗刺激が必要であった。すなわち、明刺激とは異なり、暗刺激はごく短時間では効果がないと考えられる。暗タイプであるカミクラゲ (Yoshida et al., 1980) やカギノテクラゲ (渡邊, 2008) でも、やはり暗刺激にはある程度の持続時間が必要とされるようである。本研究では、エダアシクラゲの暗タイプが明暗時間の逆転により明刺激でも放卵できるようになることが初めて示された。このような反応が、暗タイプのエダアシクラゲに特有のものか、暗

タイプのクラゲ全てに共通しているものか、興味をもたれる。

今後の研究においては、エダアシクラゲの明タイプと暗タイプの交配が可能かどうか、可能な場合には子孫の形質がどのようなになるかを調べていく必要がある。また、光を受容する細胞を同定し、明タイプと暗タイプでの光受容機構の共通点と相違点を明らかにすることも必要である。エダアシクラゲと同じ刺胞動物門ヒドロ虫綱に属すヒドラでは、外胚葉に存在する感覚神経細胞にロドプシン（下等な生物から哺乳類まで広く光受容に関わる物質）が存在することが報告されている (Musio et al., 2001)。また、最近では、刺胞動物門花虫綱に属すサンゴにおいて、クリプトクロム（哺乳類や昆虫類の概日リズムにおいて重要な役割を果たす光受容物質）が集団一斉放卵（サンゴは雌雄同体であるため、精子も同時に放出される）を制御している可能性が示唆されている (Levy et al., 2007)。これらの物質が、エダアシクラゲでも発現しているか、また実際に放卵・放精の際の光受容を担っているか、興味をもたれる。軟体動物門腹足綱に属すイソアワモチでは、光受容の下流で働く物質の異なる複数の光受容細胞が同一個体内に存在し、ある細胞は光受容によって過分極するのに対し、別の細胞は脱分極することが知られている (Gotow and Nishi, 2007)。エダアシクラゲにも複数の異なる光受容細胞があり、それらの存在比が明タイプと暗タイプで異なっているとしたら、光に対する反応性の違いが説明できるのかもしれない。いずれにしろ、同一種内に明タイプと暗タイプがともに存在するエダアシクラゲは、クラゲにおける光受容機構を解明していく上で、大きな利点をもった材料であると言える。

## 謝 辞

宮城県塩竈市にある東北区水産研究所からは、本研究に不可欠な濾過海水を定期的に分けていただいた。深く感謝申し上げます。本研究の一部は、科学研究費補助金・基盤研究(C)（代表者：出口竜作）の助成を受けて行われたものである。

(平成20年9月29日受理)

## 文 献

- Ballard, W. W. (1942). The mechanism for synchronous spawning in *Hydractinia* and *Pennaria*. Biological Bulletin 82, 329-339.
- 出口竜作・伊藤貴洋 (2005). エダアシクラゲの採集とライフサイクルの制御 ——モデル動物・教材動物としての確立をめざして——. 宮城教育大学紀要 40, 107-119.
- Deguchi, R., Kondoh, E. and Itoh, J. (2005). Spatiotemporal characteristics and mechanisms of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  increases at fertilization in eggs of jellyfish (Phylum Cnidaria, Class Hydrozoa). Developmental Biology 279, 291-307.
- Gotow, T. and Nishi, T. (2007). Involvement of a Go-type G-protein coupled to guanylate cyclase in the phototransduction cGMP cascade of molluscan simple photoreceptors. Brain Research 1144, 42-51.
- 石川優・沼宮内隆晴 (1988). 海産無脊椎動物の発生実験. 培風館.
- Levy, O., Appelbaum, L., Leggat, W., Gothliff, Y., Hayward, D. C., Miller, D. J. and Hoegh-Guldberg, O. (2007). Light-responsive cryptochromes from a simple multicellular animal, the coral *Acropora millepora*. Science 318, 467-470.
- Miller, R. L. (1979). Sperm chemotaxis in the hydromedusae: I. Species specificity and sperm behavior. Marine Biology 53, 99-114.
- Musio, C., Santillo, S., Taddei-Ferretti, C., Robles, L. J., Vismara, R., Barsanti, L. and Gualtieri, P. (2001). First identification and localization of a visual pigment in *Hydra* (Cnidaria, Hydrozoa). Journal of Comparative Physiology A 187, 79-81.
- 並河洋・楚山勇 (2000). クラゲガイドブック. TBSブリタニカ.
- Takeda, N., Kyojuka, K. and Deguchi, R. (2006). Increase in intracellular cAMP is a prerequisite signal for initiation of physiological oocyte meiotic maturation in the hydrozoan *Cytaeis uchidae*. Developmental Biology 298, 248-258.
- 渡邊淳美 (2008). 刺胞動物ヒドロ虫類のライフサイクルに関する研究. 平成19年度宮城教育大学卒業論文.
- Yoshida, M., Honji, N. and Ikegami, S. (1980). Darkness induced maturation and spawning in *Spirocodon saltatrix*. In: Tardent, P. and Tardent R. (Eds.), Developmental and Cellular Biology of Coelenterates. Elsevier/North Holland Biomedical Press, New York, pp. 75-82.