

低温生物工学会誌 [Cryobiology and Cryotechnology], Vol. 57, No. 2, 109~112, 2011

## 【原著論文】

マボヤ(*Halocynthia roretzi*)の低温耐性

<sup>1</sup>宮城大学食産業学部フードビジネス学科, <sup>2</sup>大青工業(株),  
<sup>3</sup>(有)ヤマキイチ商店, <sup>4</sup>東京海洋大学海洋科学部食品生産学科  
 君塚道史<sup>1</sup>, 服部國彦<sup>2</sup>, 君ヶ洞幸輝<sup>3</sup>, 鈴木徹<sup>4</sup>

Cold-tolerance in the Ascidian, *Halocynthia roretzi*Norihiro KIMIZUKA<sup>1</sup>, Kunihiko HATTORI<sup>2</sup>, Kouki KIMIGAHORA<sup>3</sup>, Toru SUZUKI<sup>4</sup><sup>1</sup>Miyagi University, Taihaku, Sendai, Miyagi 982-0215 Japan<sup>2</sup>Taisei Industry, Tonya, Aomori 030-0131 Japan<sup>3</sup>Yamakiti Company, Hirata, Kamaishi, Iwate 026-0001 Japan<sup>4</sup>Tokyo University of Marine Science and Technology, Minatoku, Tokyo 108-8477 Japan

Study on the cold-tolerance of *Halocynthia roretzi* has focused on the squirting movement of their oral and atrial siphons. These squirting movements have been classified into three patterns according to decreasing temperature. In particular, the oral and atrial siphons were closed in temperatures  $< -1^{\circ}\text{C}$ , and only a movement that stretches and contracts the entire body was observed. With regard to the relationship between temperature and survival, no individuals died even when kept for 20 h at  $-1.0$  to  $-1.5^{\circ}\text{C}$  if the cooling rate was  $-1.0$  to  $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{h}$ . In the coast of Japan, marine organisms with a lower limit of habitation in the negative temperature range are only shown in shellfish, such as clams and scallops, and certain fish, such as cod. Considering this, the resistance to cold temperatures exhibited by *H. roretzi* is probably in the high category among marine organisms.

(Received Aug. 8, 2011; Accepted Sep. 7, 2011)

## 緒 言

ホヤは脊索動物として脊椎動物と系統学的に近縁である一方、無性生殖、動物性セルロース（ツニンシ）による被のう形成、オタマジャクシ型幼生から固着性成体への変態、血球中での金属イオン濃縮、血流の定期的な方向転換等、多数のユニークな性質を持つ生物である<sup>1,2)</sup>。

一方、産業の観点からもホヤは重要であり、宮城県で水揚げされた養殖マボヤは年間6000~7000t程度が生存状態で韓国に輸出されている。従って、低温の利用による生存を前提した、効率の良い輸送や長期保存は重要な課題であるが、これらに関する研究はほとんど成されていない<sup>3)</sup>。本研究では冬季の生息水温から、一般的な海水の融点（平衡凝固点）である $-1.8^{\circ}\text{C}$ までの温度域における生存の可能性について、ホヤの基本的な運動である入出水孔の噴出運動から考察する事を目的とした。

[Key words: Ascidian, Cold-tolerance, Squirting; ホヤ, 低温耐性, 噴出運動]

(2)

## 材料および方法

### 1. 試料

本実験には宮城県女川産の養殖マボヤ（3年令，2010年6～12月水揚げ）を，生息域の年間平均水温である+12～+13℃で1～3週間程度馴致した後を用いた。

### 2. 各組織の融点測定

各組織の氷結晶生成を評価する事は生存下限温度を予測する上で基本的な情報となる。本研究では示差走査熱量計（DSC:Bruker社製 DSC3100）を用い，鰓，鰓嚢，胃（内容物），筋膜，体液の融点を測定した。なお，冷却，昇温速度は±3.0℃/min，試料量は5.0mg±0.1mgとし，融点についてはキャリブレーション後，ピークトップにより決定した。

### 3. 試験環境

-7℃の大型冷蔵庫内に水槽（容量60L）を設置し，天然および人工海水にて試験を行った。なお，水温の冷却，昇温は観賞魚用投込みヒーター（200w）の電圧制御により行った。

### 4. 噴出運動数の測定

噴出運動は外観から容易に判断できる運動であり，生死判別および活動状態の指標となり得る。本研究では冷却および昇温過程でビデオ撮影を行い，噴出運動数（1個体，1時間あたりの平均運動数）の測定を行った。なお，測定には4個体を使用し，冷却および昇温でそれぞれ異なる個体を用いた。冷却時の温度条件としては+13～+3℃の範囲で-1.0℃/h，+3～-1.8℃では-0.5℃/hで行い，昇温時については-1.8～+25℃の範囲で+1.5℃/h，+25～+30℃では+0.5℃/hの条件下で測定を行った。

### 5. 保持温度および時間と生存率

上記4に示した冷却条件，または急冷（馴致温度である+13℃から直に保持温度の水槽に移し替え）による冷却後，-0.5，-1.0～-1.5，-1.5～-1.8℃の各温度帯にて10～20時間保持し，上記4の条件で昇温させた際の生存の可否を調べた。なお，いずれの条件についてもホヤは4個体用い，これより生存率を求めた。また，生死判別については昇温後，噴出運動の再開の有無から判断した。

## 結果および考察

### 1. 各組織の融点測定

Table 1に熱分析による各組織の融点測定の結果を示す。部位により若干の差はあるものの，融点はいずれも海水の融点付近（-1.7～-1.9℃）にある事が確認された。一般的な魚類であれば淡水および海水を問わず融点は-0.6～-0.8℃付近であり，無脊椎動物であれば-1.5～-1.7℃付近である事が知られている<sup>4)</sup>。一方，極地に生息する魚類の場合，融点は-1.0～-1.5℃付近であり，これにより冬季の生存を確保する事が示されている<sup>4)</sup>。本研究の結果から一概に判断する事は困難であるが，マボヤの融点は無脊椎動物に近い事が分かった。また，魚類に比べ融点が高い要因については，マボヤの筋肉中には一般的な魚類に比べ遊離アミノ酸が多く含まれる事が示されており<sup>5)</sup>，これが一因と考えられる。

Table 1. Equilibrium melting temperature of organization in *H. roretzi*.

	Gill	Gill pouch	Stomach (content)	Fascia	Body fluid
Equilibrium melting temperature(°C)	-1.7	-1.8	-1.9	-1.8	-1.7

### 2. 水温と噴出運動の変化

これまでホヤ類の噴出運動と水温の関係については主に通常の生息温度域を対象とした報告であり<sup>6, 7)</sup>，低温域を対象とした研究は成されていない。本研究では低温時における噴出運動の変化を明らかにする為，先に示した冷却速度にて-1.8℃まで冷却した際の噴出運動について観察を行った。結果，噴出運動の形態は温度低下と共に変化するが，Fig. 1に示す様におおよそ次の3パターンに大別される事が分かった。

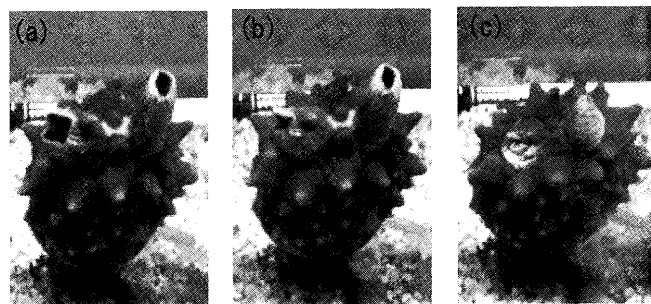


Fig. 1. Three types of squirting movements in *H. roretzi*. (a) large squirting, (b) small squirting, (c) expansion and contraction.

本研究では通常の温度域で行われる運動、即ち体の伸縮と入出水孔の開閉を伴う運動を『大噴出運動』、体の伸縮を伴わず入出水孔のみを開閉する運動を『小噴出運動』、入出水孔を閉鎖した状態で体の伸縮のみの運動を『伸縮運動』とそれぞれ定義し、これらの回数変化からマボヤの温度応答に対し考察を行った。

### 3. 各噴出運動数と水温の関係

Fig. 2 に各噴出運動の回数と水温の関係を示す。(aは冷却時、bは昇温時を示し、それぞれ+13°C付近から測定を開始した。なお、横軸は1時間毎の実測水温と経過時間、縦軸は1個体1時間あたりの平均運動数を示す。) 全体的に見れば温度上昇と共に噴出運動数は増加する傾向にある。これは噴出運動自体が摂食と呼吸を兼ねた運動であり、水温が高くなる程、酸素消費量は大きくなる為、運動回数は増加したと考えられる。また、馴到する温度にも影響を受けると考えられるが、本研究では+13°Cを中心に冷却および昇温側、ともに±5°C付近と±15°C付近でそれぞれ運動数が対照的に変化する結果となった。即ち、昇温時は+19°C付近から大噴出運動が増加するが、冷却時は+8°C付近から大噴出運動は減少する。また、+30°C付近および+0°C付近以降からは大噴出運動は見られなくなる事が分かった。一方、冷却時の特徴的な挙動としては、小噴出運動が-1°C付近でも確認

される点や、更に低温でも伸縮運動が行われている点が挙げられる。特に伸縮運動時は入出水孔が閉鎖状態である為、呼吸を主な目的とした運動では無いと考えられる。このような低温下での生理状態については非常に興味を持たれる点であり、今後詳細な検討が必要である。

### 4. 保持温度および時間と生存率

Table. 2 に保持温度および時間と生存率の関係を示す。-1.5°C以上であれば、急冷(浸漬)を除き、いずれの保持時間であっても昇温後に死亡する個体は無く、-1.5~-1.8°Cで20時間保持した場合であっても、そのほとんど(7/8)が生きていた。また、これら生存した個体を1ヶ月間、馴致温度にて飼育を行ったが死亡する個体はなかった。海洋生物の低温耐性を対象とした報告は少ないが、例えば不凍タンパクを持つ<sup>8)</sup>マコガレイは、-0.9~-1.3°Cで1週間以上<sup>9)</sup>、ヤマトシジミでは0°Cで3日間程度の生存が確認されている<sup>10)</sup>。また、詳細な報告では無いが、日本近海で生息下限温度が-1°C付近にある海洋生物は、一部の魚類(タラ等)と貝類(アサリ、ホタテ等)である事が示されている<sup>11)</sup>。これらと下限温度を単純に比較しても、マボヤの低温耐性は高い部類に属すると言える。一方、+13°Cから-0.5°Cへ急冷(浸漬)した場合、一部の個体で死亡が確認された。通常、致死温度は馴化により変化する事が知られている<sup>4)</sup>。

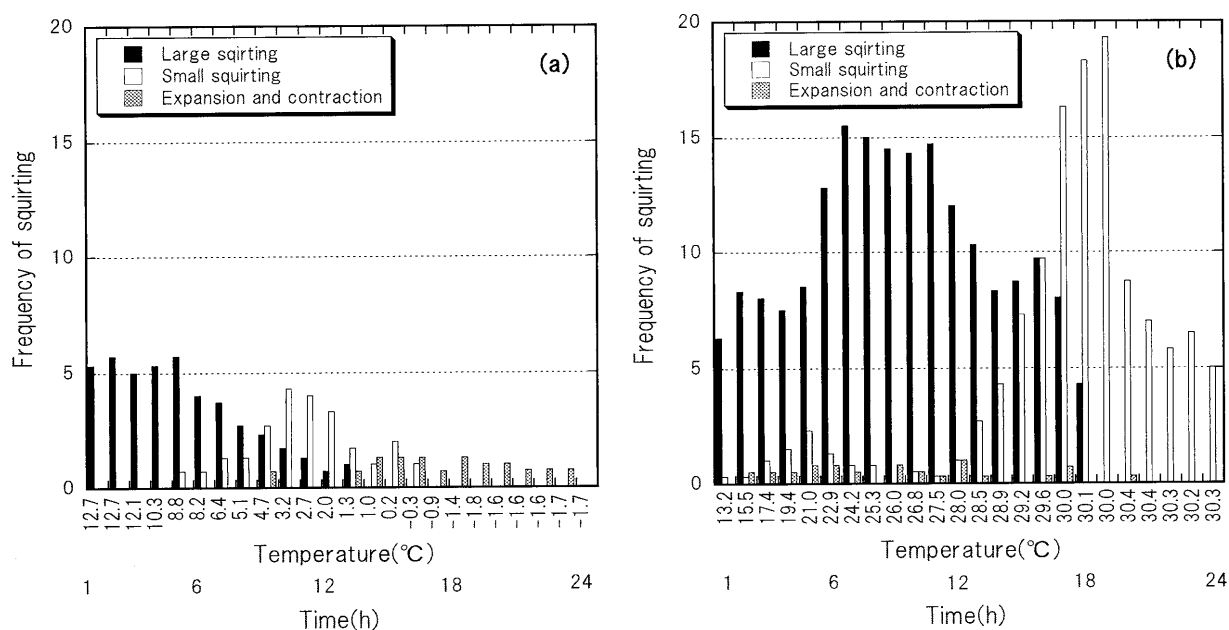


Fig. 2. Effect of temperature change on frequency of the squirting pattern. *H. roretzi* was cooled from +13.0°C to -1.8°C (a), or warmed from +13.0°C to +30.4 (b).

(4)

よって、ホヤの場合も急冷では低温に馴化する事が出来ず、生存下限温度を下げる事が出来なかったと考えられる。この点からマボヤの低温耐性は、一定の馴化期間の後に獲得される機能である事がわかる。低温耐性に対するメカニズムについては今後より詳細な実験が必要ではあるが、本研究の結果から、マボヤは海洋生物の中でも比較的高い低温耐性を所持している事が明らかとなった。

**Table. 2.** Relationship between survival rate and various holding conditions.

Holding temp (°C)	Holding time (h)	Cooling rate (°C/h)	Heating rate (°C/h)	Survival rate after warming (%)
-0.5	20	Rapid cooling (dipping)	+1.5~+0.5	2/4(50%)
	20	-1.0~-0.5		4/4(100%)
-1.0~-1.5	10	-1.0~-0.5	+1.5~+0.5	4/4(100%)
	20			4/4(100%)
-1.5~-1.8	10	-1.0~-0.5	+1.5~+0.5	4/4(100%)
	20			7/8(88%)

## ま と め

マボヤの低温耐性について、基本的な運動である入出水孔の噴出運動に着目して研究を行った。その結果、マボヤの噴出運動は温度低下と共に3つのパターン（大噴出運動、小噴出運動、伸縮運動）に分かれる事が明らかとなった。特に-1.0°C以下の低温では入出水孔を閉鎖した状態で、体全体を伸縮する伸縮運動のみが確認された。また、温度と生存の可否の関係については-1.0~-0.5°C/hの冷却速度であれば、-1.0~-1.5°Cで20時間保持した場合であっても死亡する個体は無かった。日本近海において生息下限温度がマイナス温度域にある海洋生物はシジミ、アサリ、ホタテ等の貝類、またはカレイ、タラなどの一部魚類に限られる点を考慮すれば、マボヤの低温耐性は海洋生物の中でも高い部類に属すると言える。

## 謝 辞

本研究は、社団法人東北経済連合会 平成22年度産学マッチングFS助成事業のサポートにより行われた。

## 文 献

- 1) 中内光昭：ホヤの生物学，東京大学出版会，1-29(1977)
- 2) 佐藤矩行：ホヤの生物学，東京大学出版会，3-21(1998)
- 3) 例えば，平成18年度岩手農林水産ブランド輸出促進事業報告  
[http://www.affrc.go.jp/ja/agropedia/seika/data\\_suisan/h18/myg/myg007](http://www.affrc.go.jp/ja/agropedia/seika/data_suisan/h18/myg/myg007)
- 4) 田村保：魚類生理学概論，恒星社厚生閣，63-83(1992)
- 5) 渡辺勝子，鴻巣章二：ホヤのエキス成分，化学と生物，**27(2)**，96-103(1989)
- 6) 荒井永平，刈田啓史朗，星合愿一，片山知史，星野善一郎：マボヤの噴出運動の測定，水産増殖，**46(4)**，517-521(1998)
- 7) Fiala-Medioni, A.: Influence of temperature on pumping, filtration and digestion rates and rhythms in *Phallusia mammillata*, *Marine Biol*, **48(3)**, 251-259(1978)
- 8) 西宮佳志，三重安弘，平野悠，近藤英昌，三浦愛，津田栄：不凍蛋白質の大量精製と新たな応用開拓，*Synthesiology*, **1(1)**，7-14(2008)
- 9) 高橋豊美，富永修，前田達昭：マガレイおよびマコガレイの摂餌と生存に及ぼす水温の影響，日本水産学会誌，**53(11)**，1905-1911(1987)
- 10) 中村幹雄，品川明，中尾繁：ヤマトシジミの温度耐性，水産増殖，**44(3)**，267-271(1996)
- 11) 下茂繁，秋本泰，高浜洋：海洋生物の温度影響に関する文献調査，海洋研研報，**2**，1-351(2000)