深海化学合成生物群集から出現するベントスのエネルギー獲得戦略:
軟体部の炭素、窒素および硫黄の安定同位体組成による解析

Strategic Adaptation of a Deep-sea, Chemosynthesis-based Animal Community: An Evaluation Based on Soft Body Part Carbon, Nitrogen, and Sulfur Isotopic Signatures

溝田智俊^{1), *}・山中寿朗²⁾

¹⁾ 岩手大学農学部, 〒020-8550 盛岡市上田 3-18-8

²⁾ 九州大学大学院・比較社会文化研究院, 〒810-8560 福岡市中央区六本松 4-2-1

Chitoshi MIZOTA^{1), *} and Toshiro YAMANAKA²⁾

¹⁾ Faculty of Agriculture, Iwate University, Ueda 3-18-8, Morioka 020-8550, Japan

²⁾ Department of Evolution of Earth Environments, Graduate School of Social and Cultural Studies, Kyushu University, Ropponmatsu, Fukuoka 810-8560, Japan

Abstract: Benthic animals that rely on endosymbiotic bacteria for their nutrition are ubiquitous around deep-sea hydrothermal vents and cold seeps where hydrogen sulfide together with methane is issuing. To elucidate the strategic adaptation of these animals to these environments, relevant analytical data on the carbon, nitrogen, and sulfur isotopic signatures of the soft body were compiled and evaluated in relation to those of hydrogen sulfide, methane, and ammonia in the habitat. The soft body part carbon isotopic compositions ($\delta^{13}\text{C}$) of pogonophorans, vesicomyid and solemyid clams, gastropods, and *Bathymodiolus* spp. in which sulfur-oxidizing bacteria are the sole endosymbiont, varied within a relatively narrow range of $-35 \pm 5\text{‰}$, which indicates catalytic fixation of dissolved bicarbonate by ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase. In contrast, benthic animals harbouring methanotrophic endosymbionts showed a wider variation in ranges of carbon isotopic composition, from extremely light ($\delta^{13}\text{C} = -70\text{‰}$) to heavy ($\delta^{13}\text{C} = -19\text{‰}$). The variation results from the diverse sources of the substrate methane and associated specific metabolic pathways. Soft body part sulfur isotopic composition ($\delta^{34}\text{S}$) of benthic animals harbouring methanotrophic bacteria showed a narrow range of $+13$ to $+16\text{‰}$, indicating incorporation and assimilation of seawater sulfate ($\delta^{34}\text{S} = +21\text{‰}$) under a limited kinetic, sulfur isotopic fractionation (up to 6‰). The benthic animals harbouring sulfur-oxidizing bacteria showed ^{34}S values from light (down to -20‰) to near 0, in accordance with the biogenic and magmatic origins of the sulfur, respectively. Two samples of *Bathymodiolus* spp. with dual symbiosis from the South Chamorro Seamount and Gulf of Mexico showed intermediate $\delta^{34}\text{S}$ values, which indicate use of both heavy seawater sulfate-sulfur and light sulfide-sulfur in their nutrition. Animals that rely on chemosynthesis for nutrition are characterized by their unique soft body part nitrogen isotopic signatures with fairly light values down to -10‰ , values that are seldom observed in terrestrial and ordinary marine ecosystems. Such light values may be inherited from the source inorganic nitrogen or they may arise from large-scale nitrogen isotopic fractionation in the course of metabolic pathways. Data concerning the nitrogen isotopic composition of the dissolved ammonia associated with chemosynthesis-based animal community is needed.

Key Words: *Bathymodiolus* spp., carbon, chemosynthesis-based community, endosymbiosis, nitrogen, stable isotope, sulfur, vesicomyid clam.

はじめに

太陽の光エネルギーは、葉緑体を持つ珪藻などの植物プランクトン類および高等植物に生体高分子という形態の化

学エネルギーとして貯蔵され、生命活動に伴って随時開放される。このエネルギー固定過程は、出発材料がすべて無機物であることから、光合成独立栄養系と呼ばれ、地球上での生物圏のエネルギー基盤をなしている。これに対して、一般の微生物や高等動物は、光合成過程を通して固定された有機物を燃焼して生命活動を行うため、従属栄養生物といわれる。

海の生物圏に目を向けてみると、太陽光の到達する海水

Received 31 Jan. 2003 Accepted 28 Apr. 2003

*: Corresponding author

の深度はせいぜい 200 m 程度であるから、それより深い海では、生物の密度は通常は著しく低い。ところが、1970 年代の終わり頃から、海底の熱水噴出孔の周辺に、特異な生態系が展開していることが見出され (Lonsdale 1977; Corliss *et al.* 1979), それまでの生物学の常識を覆すような事実が次々と発見されるに至った (Van Dover 2000 の総説参照)。最も人々が驚いたことは、シロウリガイ属 *Calyptragen* やハオリムシ *Riftia*, さらにシンカイヒバリガイ属 *Bathymodiolus* などの消化管が退化的であることから、生命活動に必要なエネルギーをどのような生化学的な過程で得ているのであろうかということであった。この特異な生態系は太陽光にほとんど依存せず、微生物による化学合成によって生命活動に必要なエネルギーの一次生産が行われていることが明らかにされ、化学合成生物群集と呼ばれるに至った (Jannash & Wirsen 1979)。現在、わが国は火山活動の盛んな地殻変動の激しいアジア大陸東岸に位置するために、周辺海域に多くの化学合成生物群集が分布しているという好条件にあり、この方面の先駆的な研究が展開されている。

この総説の目的は、深海化学合成生物群集におけるエネルギーの流れを明らかにするために、鰓や栄養体に硫黄酸化細菌、あるいはメタン酸化細菌のいずれか、あるいは両者を共生させ、これらの細菌が生産する有機物を使って生命活動を展開している生物、「独立栄養動物」について、軟体部を構成する主要な元素である、炭素、窒素および硫黄（親生元素と総称する）の安定同位体組成をトレーサーとして行われた既往の研究を総括することである。化学合成生物群集のエネルギー源となっている硫化水素やメタンの起源は、地球上の多様なテクトニクスと密接に関係しているから、生物試料と同時に、あるいは別途分析された、これらガス状物質の安定同位体組成のデータを並列し、相互の因果関係について理解を深めようと考えた。

1. 化学合成生物のエネルギー源

還元型化学種は酸化型に変換される（「燃焼」を意味する）とエネルギーが発生する。ここで、「独立栄養動物」が利用可能な還元型化学種としては、硫化水素およびメタンである。独立栄養細菌の中には、遊離の形態で、たとえば Fe^{2+} , Mn^{2+} およびアンモニアなどを酸化して、その際発生する化学エネルギーを生命活動に利用する微生物群が存在するが、動物の体内に共生している例はこれまでには知られていない。

硫化水素 (H_2S) を構成する硫黄は、酸化状態が II^- であり、鰓の細胞内に共生する硫黄酸化細菌によって取り込まれて、順次、元素状硫黄 (S^0 , 酸化状態, ゼロ), チオ硫酸 ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 酸化状態, IV^+), 最終的に硫酸 (SO_4^{2-} , 酸化状態, VI^+) へと酸化される。この酸化の進行に伴って放出されるエネルギーは、ATP や NADPH といった化学エネルギー

の形で共生細菌と宿主の生命活動を支える。同時に、環境水中の重炭酸イオンを還元し、アンモニアの存在下で、アミノ酸、ペプチド、さらにはたんぱく質などの生体高分子を合成する。二枚貝のある種のもは、硫化水素の中間代謝産物である元素状の硫黄が鰓に顕著に、たとえば、鰓の乾物重量として 30% 近くも蓄積している例が観察される (Mizota & Maki 1998)。

メタンは、鰓中のメタン酸化細菌に取り込まれた後、アルデヒドを経由して最終的には炭酸ガスと水にまで酸化され、排出される。メタンはエネルギー源であると同時に、生体高分子の主要な構成元素である骨格炭素にも取り込まれる二重の働きをしている。

硫化水素やメタンが化学合成生物群集のエネルギー源であるため、これらの成分が通常の海水に含まれる量に比べて格段に濃度が高い地域に限ってのみ、化学合成生物群集が成立する。これまでに知られている生息環境としては、地下深部からのマグマの湧き出し口となっている中央海嶺や島弧の火山前線および背弧海盆の拡大軸における海底火山活動に伴う熱水の噴出孔周辺、海洋プレートの収束に伴って圧密された堆積物から間隙水が絞り出されるような、テクトニクス的に活動的な地域、海底からの石油やメタンハイドレートの分解産物の湧出、高塩濃度水 (brine) の湧出がある (Van Dover 2000)。これらに加えて、やや特異的であるが、海洋プレートの沈込み帯・前弧の蛇紋岩「泥火山」に伴う生物群集の研究例 (Yamanaka & Mizota *et al.* 2003b) をこの総説では取り上げる。

2. 化学合成生物と安定同位体 地球化学の接点

海洋の植物プランクトンなどによって生成される有機物の炭素同位体組成は、おおよそ -25 から -20‰ 程度 (Paull *et al.* 1985) の範囲に集中し、この値は C_4 植物を除いた陸上高等植物や、土壌に含まれる有機物の平均的な炭素同位体組成 (ともに約 -25‰) より ^{13}C に富化している。このことを受け、海底堆積物中の有機物の炭素同位体組成は、海岸からの距離、すなわち陸上有機物の寄与の程度が低くなるとともに ^{13}C に富化し、 $-26 \sim -24\text{‰}$ から -20‰ まで増加する (Sackett & Thompson 1963)。従属栄養性のベントスの炭素同位体組成も、この変化を反映し、変動すると考えられる。

メタン (CH_4) の最も一般的な生成機構は、常温近傍でメタン生成細菌によって有機化合物の還元的な最終分解産物として、酢酸のメチル基への水素の付加反応、および CO_2 の還元反応によって生成する (Schoell 1988)。このメタンは、炭素同位体組成 ($\delta^{13}\text{C} = -45\text{‰}$ 以下) が低いことによって特徴づけられている (Schoell 1988)。一方、地下深く埋没した有機物は、地温勾配による温度の上昇に伴って一部が分解し、熱分解性メタンを生ずる。その炭素同位体組

成は、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が -40 から -25‰ 付近にある。海洋地殻のオフィオライトおよび東太平洋海膨に伴うマグマ起源のメタンの炭素同位体組成は著しく重く、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が -20 から -10‰ の範囲にある (Schoell 1988)。

硫黄は海産動物類の軟体部に通常乾物割合として 0.5 から 1% 前後含まれ、炭素、水素、酸素、窒素に次いで 5 番目に多く含まれる。一次生産者は海水中の硫酸イオンを硫黄栄養源とし、その硫黄安定同位体組成は均質で、重く $+21\text{‰}$ を示す (Rees *et al.* 1978)。海水硫酸イオンは、食物連鎖網を通して、捕食する者である海産動物類の体構成成分へと継承される。ここで、硫酸イオンは含硫アミノ酸やスルホン酸基として生体成分の合成に取り込まれる。この間の硫黄栄養の動力学的な同位体分別は、最大でも 5‰ 程度と見積もられ、栄養段階の違いに対応した硫黄の同位体分別は認められていない (Fry 1983, 1988; Peterson & Howarth 1987)。

硫化水素は、熱水活動によって海底に放出されるマグマ起源もしくは地下の岩石（主に火山岩）と熱水の相互作用によって生じるものと、硫酸還元菌によって有機物などを電子供与体とした海水の硫酸還元によって生じる微生物起源のものに大きく大別される (酒井・松久 1996)。マグマや火山岩に由来する硫化水素の硫黄同位体組成は最大の変動範囲を取っても、 $-5 \sim +10\text{‰}$ の $\delta^{34}\text{S}$ 値を持つ。微生物起源のものは、硫酸還元の際に大きな同位体分別が生じることから、非常に軽い値 (0‰ より有意に小さく、時に -40‰ 以下となる) が還元的な海底堆積物中で認められるが、硫酸の量が限られる閉鎖的な環境では、値は大きくなる。硫化水素の多い還元的な堆積物に生息するベントスの一部は、硫酸還元細菌や硫化水素を酸化する硫黄酸化細菌を捕食などの方法で軟体部に同化し、微生物起源の軽い硫黄同位体組成を示す (Yamanaka & Shimoyama *et al.* 2000; Yamanaka & Mizota *et al.* 2003c)。

窒素は海洋表層の生物量を制限する栄養の一つであり、特に硝酸イオンとアンモニアは主要な栄養源である。硝酸イオンやアンモニアは陸上で行われているように窒素ガス (N_2) を固定する生物の存在や陸上からの直接の流入、動物プランクトンによる排出やプランクトンの遺骸の微生物分解産物として供給され、窒素の同位体組成は複雑な分布を示す (酒井・松久 1996)。海洋の浮遊性プランクトンの窒素同位体組成の平均的な値は、 $+2 \sim +8\text{‰}$ 、動物プランクトンでは $+8 \sim +15\text{‰}$ と、順次栄養段階の上昇に伴って重くなる (Paull *et al.* 1985)。また、海洋の堆積有機物の窒素同位体組成は、給源窒素の無機化、有機化、アンモニア化、脱窒過程などの複雑な過程を経て、おおよそ $+5\text{‰}$ 前後に収斂する。しかしながら、化学合成生物群集の一次生産を担う微生物の窒素栄養源としては、その還元的な環境からアンモニアが主要な化学種と考えられるほかに、低分子のアミノ酸も候補となりうる。取り込まれたアンモニアはアミド、ペプチドを経由してたんぱく質の構成に使われ

る。

以上のように、生物の親生元素の安定同位体組成は、栄養段階によって変化する窒素を除けば、餌となる生物の安定同位体組成を引き継ぐ。化学合成生物の場合、利用するエネルギー源となるメタンや硫化水素の安定同位体組成が軟体部の安定同位体組成を規制していると考えられ、多様な安定同位体組成が、化学合成生物のエネルギー源を推定する上で有用である。

3. 親生元素の安定同位体組成からみたベントスのエネルギー獲得機構

Table 1 および Table 2 は、これまでに共生細菌を持つ動物の安定同位体組成をまとめたものである。これらの表において、試料は、採集地に基いて次のような順序にまとめてある。まず、わが国に近い、北西太平洋の高緯度域から低緯度熱帯域、西部南太平洋、インド洋、ついで東太平洋の高緯度域から東部南太平洋にかけて、さらに北大西洋から熱帯、メキシコ湾、最後にペルー沖へと配列した。これは、これら生物の安定同位体組成が、種ごとに特徴を持つわけではなく、生育環境、すなわち以下で解説されるようにテクトニックな背景によって規制されているためである。

3-1. 硫黄酸化細菌を共生させているベントス（シンカイヒバリガイ属二枚貝を除く）の安定同位体組成 (Table 1)

Table 1 に、シンカイヒバリガイ属 *Bathymodiolus* を除く二枚貝類、腹足類およびハオリムシ類の、Table 2 には、シンカイヒバリガイ属の炭素、窒素および硫黄の安定同位体組成と、これら動物が生息している環境（粘土質堆積物、冷湧水および熱水試料）中の硫化物態硫黄、メタン態炭素およびアンモニア態窒素の安定同位体組成をまとめた。軟体部を構成する親生元素の中で、ここで取り上げた三つの元素については、炭素同位体組成の測定データ数が最も多く、ついで窒素、最後に硫黄と続いている。特定の生物種について、これら 3 元素の測定値が揃っている例は少ない。さらに、これらの動物と生息環境中のエネルギー源を一つのセットとして採取・分析された例は、極限られている。

Table 1 に掲げた動物試料の鰓や栄養体には共生細菌としては硫黄酸化細菌のみであることが、乾燥鰓試料の高い硫黄含量 ($>1\%$)、鰓内の元素状硫黄顆粒の存在、硫化水素の酸化に関与している酵素群の比活性測定、16S rRNA の塩基配列の解析および鰓の超切片を用いた共生細菌の細胞膜の透過型電子顕微鏡による形態の観察などを組み合わせた結果から判断されている (Nelson & Fisher 1995)。

3-1-1. 炭素同位体組成

ベントスの鰓や栄養体に共生している硫黄酸化細菌は、

Table 1. Soft body part carbon, nitrogen, and sulfur isotopic compositions of thiotrophic pogonophorans, vesicomyid clams, and gastropods, together with those of the substrata.

Animal samples analysed	Location	Habitat ¹⁾	Soft body isotopic signature ²⁾			Reference	Isotopic signature of the substratum ²⁾			Reference
			$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		$\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}_{\text{sulfide}}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$ (‰)	
Clams										
Vesicomyid clam ³⁾	Aleutian Trench	CS	-40 ~ -36	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena phascoliformis</i>	Japan Trench, off Sanriku	CS	-40.1 ~ -37.8	nd	-3.2(gill) ~ +3.8	Boulegue <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena phascoliformis</i>	Japan Trench, off Sanriku	CS	-38.7 ~ -35.9	nd	-3.3(gill) ~ +0.8	Saino & Ohta 1989	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena soyae</i>	Sagami Bay, off Hatsushima	CS	-32.5	nd	nd	Sakai <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena soyae</i>	Sagami Bay, off Hatsushima	CS	-35.3 ~ -34.3	nd	-9.6 ~ -4.1	Saino & Ohta 1989	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena soyae</i>	Sagami Bay, off Hatsushima	CS	nd	-29.1 ~ -7.8	nd	Mizota & Maki 1998	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena fossajaponica</i>	Japan Trench, off Sanriku	CS	nd	-4.0 ~ +0.5	nd	Fujiwara <i>et al.</i> 2000	nd	-4.0	nd	Fujiwara <i>et al.</i> 2000
<i>Calyplogena</i> sp. 1	Nankai Trough	CS	-37.4 ~ -36.0	nd	-0.2 ~ +4.4	Fiala-Medioni <i>et al.</i> 1993	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena</i> sp. 2	Nankai Trough	CS	-38.2 ~ -35.6	nd	-9.7 ~ -5.5	Fiala-Medioni <i>et al.</i> 1993	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena kaikoi</i>	Nankai Trough	CS	-37.5 ~ -38.7	nd	-9.5 ~ -4.0	Fiala-Medioni <i>et al.</i> 1993	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena lauberi</i>	Nankai Trough	CS	-38.9	nd	+0.7	Fiala-Medioni <i>et al.</i> 1993	nd	nd	nd	
<i>Vesicomya</i> sp.	Nankai Trough	CS	-38.7	nd	-4.7	Fiala-Medioni <i>et al.</i> 1993	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena soyae</i>	Iheya, CLAM site	HTV	nd	-11.5 ~ -5.0	nd	Kim <i>et al.</i> 1989	-40.7 ~ -36.1	-0.2 ~ +3.0, +2.5	nd	Kim <i>et al.</i> 1989; Sakai <i>et al.</i> 1990; Gamo <i>et al.</i> 1991
<i>Calyplogena soyae</i>	Iheya, CLAM site	HTV	-35.7 ~ -33.8	-26.5 ~ -25.5	-0.9 ~ +3.1	Kim <i>et al.</i> 1990	nd	-0.3 ~ +3.0	nd	Kim <i>et al.</i> 1990
<i>Calyplogena soyae</i>	Minami-Ensei Knoll	HTV	-36.5 ~ -35.4	-3.4, +1.6	+5.4, +7.5	Kim <i>et al.</i> 1990	nd	+3.6	nd	Chiba <i>et al.</i> 1992
<i>Calyplogena magnifica</i>	Off Oregon	CS	-32	nd	nd	Nelson & Fisher 1995	-100 ~ -47	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1989
<i>Calyplogena pacifica</i>	Off Northern California	PS	-36.4 ± 1.0	-5.0 ~ +9.8	+0.9 ~ +1.8	Kennicutt <i>et al.</i> 1989	-44 ~ -43	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1989
<i>Calyplogena kilmeri</i>	Monterey Bay	CS	-38.9 ~ -35.6	nd	nd	Barry <i>et al.</i> 1996	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena phascoliformis</i>	Off Monterey	CS	-35.0 ~ -33.6	nd	-6.2 ~ -0.6	Rau <i>et al.</i> 1990	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena magnifica</i>	East Pacific Rise, 21°N	HTV	nd	-1.7 ~ +1.5	nd	Fry <i>et al.</i> 1983	-17.6, -15.0	+1.3 ~ +4.1	nd	Welhan & Craig 1983; Fry <i>et al.</i> 1983
<i>Calyplogena magnifica</i>	East Pacific Rise, 21°N	HTV	-32.7, -32.6	nd	nd	Rau 1981	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena magnifica</i>	Galapagos spreading centre	HTV	-36.3 ~ -33.2	nd	-8.7 ~ +6.8	Fisher <i>et al.</i> 1988	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena magnifica</i>	Galapagos spreading centre	HTV	-32.1, -32.0	nd	nd	Rau 1981	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena ponderosa</i>	Louisiana slope	PS	-35.4 ~ -35.3	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1985	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena ponderosa</i>	Louisiana slope	PS	-34.8 ~ -35.0	-0.1 ~ +2.1	+1.1 ~ +7.1	Brooks <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Vesicomya cordata</i>	Louisiana slope	PS	-36.3	nd	-0.9	Brooks <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Lucinoma atlantis</i>	Louisiana slope	PS	-31.2 ~ -33.0	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1985	nd	nd	nd	
<i>Pseudomitha</i> sp.	Louisiana slope	PS	-37.7 ~ -32.5	nd	nd	Brooks <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Calyplogena</i> sp.	Offshore Peru	CS	~ -37	nd	~ +2	Rau <i>et al.</i> 1990	nd	nd	nd	

Table 1. Continued

Animal samples analysed	Location	Habitat ¹⁾	Soft body isotopic signature ²⁾			Reference	Isotopic signature of the substratum ³⁾			Reference
			$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		$\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}_{\text{Sulfide}}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$ (‰)	
Solemyid specimen	Aleutian Trench	CP	-35~-30	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	
Gastropods										
<i>Alviniconcha hessleri</i>	Mariana Back Arc Basin	HTV	-28.9±0.9	nd	+4.2±0.9	Van Dover & Fry 1989	nd	nd	nd	Maki & Mizota 1997
<i>Alviniconcha hessleri</i>	Mariana Back Arc Basin	HTV	nd	+0.3~+5.0	nd	Maki & Mizota 1997	nd	+1.8~+8.3	nd	Gamo <i>et al.</i> 2001;
<i>Alviniconcha n. sp.</i>	Central Indian Ridge, RTJ	HTV	-10.8±0.3	nd	+6.4±0.5	Van Dover <i>et al.</i> 2001	-8.7	+4.4~+7.5	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2003b
Pogonophora										
<i>Lamellisabella</i> ?	Aleutian Trench	CS	-42	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	
<i>Polybrachia</i> ?	Aleutian Trench	CS	-47	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	
<i>Vestimentifera</i> ?	Aleutian Trench	CS	-29	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	
<i>Lamellibrachia</i> sp.	Sagami Bay, off Hatsushima	CS	-25.8~-19.9	nd	-4.1~-3.6	Saimo & Ohta 1989	nd	nd	nd	
<i>Lamellibrachia satsuma</i>	Kagoshima Bay, Japan	FGS	nd	-25.9~-21.5	nd	Miura <i>et al.</i> 2002	nd	nd	nd	
<i>Vestimentifera</i> tubeworm	Okinawa Trough, Iheya CLAM site	HTV	-16.0	-6.1	+1.2	Kim <i>et al.</i> 1990	nd	-0.3~+3.0	nd	Kim <i>et al.</i> 1990
<i>Vestimentifera</i> tubeworm	Okinawa Trough, Minami-Ensei Knoll	HTV	nd	-26.7~-23.2	nd	Kim <i>et al.</i> 1989	nd	-21.3	nd	Kim <i>et al.</i> 1989
<i>Lamellibrachia barhami</i>	Off Oregon	CS	-31.9	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1989	-100~-47	nd	nd	Suess <i>et al.</i> 1989
<i>Riftia pachyptila</i>	East Pacific Rise, 21°N	HTV	nd	-3.8~+4.7	nd	Fry <i>et al.</i> 1983	nd	+1.3~+4.1	nd	Fry <i>et al.</i> 1983
<i>Riftia pachyptila</i>	East Pacific Rise, 21°N	HTV	-11.1~-10.8	nd	nd	Rau 1981	nd	nd	nd	
<i>Escarpa laminata</i>	Florida Escarpment	BS	-47.2~-44.8	-11.2~-10.0	nd	Cary <i>et al.</i> 1989	nd	nd	nd	
<i>Lamellibrachia</i> sp.	Louisiana slope	PS	-27.0	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1985	nd	nd	nd	
<i>Escarpa</i> -like	Louisiana slope	PS	-40.9~-30.4	-3.5	+2.9, +5.4	Brooks <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Lamellibrachia</i> sp. ³⁾	Louisiana slope	PS	-43.2	-2.7	+2.7	Brooks <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Lamellibrachia</i> sp. ³⁾	Louisiana slope	PS	-37.4~-36.8	nd	nd	Brooks <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	

¹⁾ The ratios of heavy to light stable isotopes are expressed in the δ notation which indicates the depletion (-) or the enrichment (+) of the heavy isotope compared to the lighter isotope relative to a standard according to the formula: $\delta X(\text{‰}) = [R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1] \times 1000$, where X is ^{13}C , ^{15}N , or ^{34}S ; the standards are Pee Dee Belemnite for C, air dinitrogen for N, and Canyon Diablo troilite for S.

²⁾ CS = cold-water seep, BS = brine seep, HTV = hydrothermal vent, PS = petroleum seep, FGS = fumarolic gas seep.

³⁾ Shell morphology given by the authors is similar to that of *Calyptogenia phaseoliiformis*.

nd = No analytical data were given.

Table 2. Soft body part carbon, nitrogen, and sulfur isotopic compositions of *Bathymodiolus* mussels together with those of the relevant substrata.

Animals species analysed	Location	Habitat ⁽¹⁾	Endo-symbiont ⁽²⁾	Soft body isotopic signature ⁽³⁾			Reference	Isotopic composition of relevant substratum ⁽⁴⁾			Reference
				$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		$\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}_{\text{Sulfide}}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$ (‰)	
Pacific Basin and Indian Ocean											
<i>Bathymodiolus septemdiarium</i>	Ogasawara, Myozin Knoll	HTV	SOB	nd	+1.9~+4.3	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000	-17.1~-15.5	+4.9~-+5.6	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000; Tsunogai <i>et al.</i> 2000
<i>Bathymodiolus septemdiarium</i>	Ogasawara, Suiyo Knoll	HTV	SOB	nd	-0.4~-+5.5	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000	-9.3~-7.9	+3.1	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000; Tsunigai <i>et al.</i> 1994
<i>Bathymodiolus</i> sp.	Ogasawara, Kaikata Caldera	HTV	SOB	nd	-25.5~-21.9	nd	Kim <i>et al.</i> 1989	nd	-22.5, -9.8	nd	Kim <i>et al.</i> 1989
<i>Bathymodiolus platifrons</i>	Sagami Bay, off Hatushima	CS	MOB	nd	+17.8~-+19.8	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000	-72	-23.6~-20.2	nd	Hattori <i>et al.</i> 1996; Sakai <i>et al.</i> 1987
<i>Bathymodiolus aduloides</i>	Nansei Islands, off Kikajima	CS	SOB	nd	-15.4~-12.4	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000	nd	nd	nd	
<i>Bathymodiolus platifrons</i>	Okinawa Trough, Iheya North Knoll	HTV	MOB	nd	+12.7~-+15.6	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000	-52 ⁽³⁾	+8.0~-+12.2	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000
<i>Bathymodiolus japonicus</i>	Okinawa Trough, Iheya North Knoll	HTV	MOB	nd	+14.5~-+14.9	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000	-52 ⁽³⁾	+8.0~-+8.2	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2000
<i>Bathymodiolus platifrons</i>	Okinawa Trough, Iheya CLAM site	HTV	MOB	-30.2, -30.1	+5.5	-5.9, -5.8	Kim <i>et al.</i> 1990	-41.2	-0.3~-+3.0	nd	Sakai <i>et al.</i> 1990; Kim <i>et al.</i> 1990
<i>Bathymodiolus platifrons</i>	Okinawa Trough, Izena, JADE site	HTV	MOB	-28.1, -28.0	+8.6, +10.2	-1.3, -0.9	Kim <i>et al.</i> 1990	-36.1~-40.7	+7.6, +7.7	nd	Sakai <i>et al.</i> 1990; Kim <i>et al.</i> 1990
<i>Bathymodiolus japonicus</i>	Okinawa Trough, Minami-Ensei Knoll	HTV	MOB	-26.1, -25.7	+9.8, +10.3	-7.5, -7.3	Kim <i>et al.</i> 1990	nd	+3.5, +3.6	nd	Kim <i>et al.</i> 1990; Chiba <i>et al.</i> 1992
<i>Bathymodiolus</i> sp.	Mariana Forearc	SMV	Dual	-20.2~-18.9	+10.2~-+10.6	+1.8~-+3.1	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2003b	-14.6	-32.3	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2003b
<i>Bathymodiolus brevior</i>	Mariana Back Arc Basin	HTV	SOB	-34.8~-32.8	nd	-3.0~-0.5	Van Dover & Fry 1989	nd	+0.3~-+5.0	nd	Maki & Mizota 1997
<i>Bathymodiolus brevior</i>	North Fiji Basin	HTV	SOB	-35.8~-25.7	nd	nd	Dubilier <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	

Table 2. Continued

Animals species analysed	Location	Habitat ¹⁾	Endo-symbiont ²⁾	Soft body isotopic signature ³⁾			Isotopic composition of relevant substratum ⁴⁾			Reference	
				$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ (‰)	$\delta^{34}\text{S}_{\text{Sulfide}}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_3}$ (‰)		
<i>Bathymodiolus thermophilus</i>	East Pacific Rise, Galapagos Rift	HTV	SOB	-37~-31	nd	nd	Kenk & Wilson 1985	-17.7~-15.0	nd	nd	Welhan & Craig 1983
<i>Bathymodiolus marisindicus</i>	Central Indian Ridge, RTJ	SOB	HTV	-31.3±0.7	nd	-8.1±1.5	Van Dover <i>et al.</i> 2001	-8.7	nd	nd	Gamo <i>et al.</i> 2001
<i>Bathymodiolus marisindicus</i>	Central Indian Ridge, RTJ	SOB	HTV	nd	+4.3~-+5.6	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2003a	nd	+4.4~-+7.5	nd	Yamanaka & Mizota <i>et al.</i> 2003a
Mid-Atlantic Ridge and Gulf of Mexico											
<i>Bathymodiolus puteoserpentis</i>	Mid-Atlantic Ridge, Snakepit	HTV	Dual	-37.6~-34.2	nd	-19.3~-14.8	Robinson <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	
<i>Bathymodiolus azoricus</i>	Mid-Atlantic Ridge, Lucky Strike	HTV	Dual ⁴⁾	-33~-16	nd	-14.5~-+0.0	Trask & Van Dover 1999	nd	nd	nd	
<i>Bathymodiolus azoricus</i>	Mid-Atlantic Ridge, Menez Gwen	HTV	Dual	-29.4~-34.9	nd	nd	Pond <i>et al.</i> 1998	nd	nd	nd	
<i>Bathymodiolus heckeriae</i>	Gulf of Mexico, Florida Escarpment	BWS	Dual	-74.3±2.0	+8.2, +9.6 ⁵⁾	nd	Brooks <i>et al.</i> 1987	-83.7~-80.0	nd	nd	Paull <i>et al.</i> 1989
<i>Bathymodiolus childressi</i>	Gulf of Mexico, Louisiana slope	PS	Dual	-50.1~-45.5	+7.5, +13.4 ⁵⁾	-12.9~-+3.0	Brooks <i>et al.</i> 1987	nd	nd	nd	
<i>Bathymodiolus childressi</i>	Gulf of Mexico, "Bush Hill"	PS	Dual	-45.7±3.1	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1992	-43.1~-39.3	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1992
<i>Bathymodiolus childressi</i>	Gulf of Mexico, "Lease Block"	PS	Dual	-46.3±3.9, -55.5±8.7	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1992	-67.1~-40.5	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1992
<i>Bathymodiolus childressi</i>	Gulf of Mexico, "Green Canyon-272"	PS	Dual	-56.7±3.7	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1992	-62.2~-51.8	nd	nd	Kennicutt <i>et al.</i> 1992
<i>Bathymodiolus brooksi</i>	Gulf of Mexico, "Green Canyon-272"	PS	Dual	-56~-40	nd	nd	Nelson & Fisher 1995	nd	nd	nd	

⁴⁾ Refer to Table 1.

¹⁾ BWS=brine water seep, HTV=hydrothermal vent, SMV=serpentine mud volcano, PS=petroleum seep.

²⁾ MOB=methane-oxidizing bacteria, SOB=sulfur-oxidizing bacteria.

³⁾ Personal communication (N. Nakayama, Hokkaido University).

⁴⁾ Higher abundance of the thiotrophic endosymbiont than the co-existing methanotroph (Trask & Van Dover 1998).

⁵⁾ No detailed account of removal of excess seawater sulfate in the soft-tissue of animal prior to the sulfur isotopic analysis. nd = not determined.

宿主が環境から取り込んだ硫化水素を受け取り、元素状硫黄、チオ硫酸、さらに硫酸に順次酸化させ、その過程で生じる化学エネルギーを用いて Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase (以下 Rubisco と略称する) による炭酸固定を行う (Nelson & Fisher 1995). 天然および人工培養条件下での、硫黄酸化細菌による無機炭素の取り込みを観察した既往の解析結果によれば、炭酸固定に伴う炭素同位体の分別値 (元の無機炭素源の炭素同位体組成と生体高分子に取り込まれた形態の炭素化合物の炭素同位体組成の差で表される) は $\sim -35\%$ であることが知られている (Ruby *et al.* 1987). 硫黄酸化細菌を鰓に共生させている動物群の炭素同位体組成は、この -35% を中心として、軽い側と重い側に、恐らくは生息環境周辺における給源溶存重炭酸イオンの炭素同位体組成の地域的な変動を反映して、それぞれおよそ 5% 前後の変動範囲が認められる (Table 1).

これに対して、マリアナ背弧海盆およびインド洋中央海嶺・ロドリゲス三重点の熱水噴出孔周辺から採取された 2 種の *Alvinichoncha* 属腹足類の炭素同位体組成 (-29% 以上) は、前述の炭素同位体組成の値に比べて、有意に重い側にある (Van Dover & Fry 1989; Van Dover *et al.* 2001).

この重い同位体組成は、地下深部で生成した炭素同位体組成の高いマグマ性メタンの積極的な取り込み (= 硫黄酸化細菌に加えて、メタン酸化細菌の共生)、異なる型の炭酸還元酵素 (Type II Rubisco; 基質炭酸イオンとの炭素同位体分別が通常に存在する I 型より小さい型) および腹足類の生息環境水に溶存した重炭酸イオン濃度が低いこと (低い CO_2 濃度環境下では炭酸固定に伴う生物学的な同位体分別の効果が発現しない現象を指す)、が提案されている (Van Dover *et al.* 2001). マリアナ背弧海盆の *Alvinichoncha hessleri* については、メタンの直接酸化に関与しうる生体内の酸化酵素が存在しないこと、鰓・超切片の透過型電子顕微鏡観察によって、メタン酸化細菌に固有の細胞膜組織を持つ共生細菌が積極的に同定されていないことが確認されており (Stein *et al.* 1988)、最初の解釈は否定されるようにも見える。しかし、Endow & Ohta (1989) は、硫黄酸化細菌の存在に加えて、メタン酸化細菌に類似した膜構造を持つ、もう 1 種の共生細菌 (membrane-stacked bacteria) の存在が示されている。共生細菌のうち、この特異な形態をもつ細菌を電顕写真上で計数したところ、一定面積内に認められる硫黄酸化細菌数の 10% 、あるいはそれ以下であった。したがって、ここで見出された細菌が仮にすべてメタン酸化細菌であったとし、この熱水系で供給されるメタンと硫化水素がマグマ起源であるとするならば ($\delta^{13}\text{C} = -10 \sim -20\%$, $\delta^{34}\text{S} = 0 \sim +5\%$)、得られている炭素同位体組成 ($-28.9 \pm 0.9\%$) (Van Dover & Fry 1989) および後述の硫黄同位体組成 ($+0.3 \sim +5.0\%$) (牧・溝田 1997) は無理なく説明が可能な範囲にある。インド洋の *Alvinichoncha* を含めて、これら 2 種の腹足類の炭素栄養の特異性の解析のためには、共生細菌の分子生物学的な特徴付けなど、今

後の分析が必要とされる。

Pogonophora (有鬚動物) の炭素同位体組成は、軽いものでは -42% から、重いものでは -11% までの大きな炭素同位体組成変動を示した (Table 1). このうちで、ハオリムシ類については、*Escarpi* 属が、 -47 から -30% にわたっての最も軽い炭素同位体組成傾向を示した (Brooks *et al.* 1987; Cary *et al.* 1989). *Escarpi* 属は、メキシコ湾内の高塩分濃度水や石油の湧出地帯から得られており、海水に溶存する重炭酸以外に、軽い炭素同位体組成を持つメタンを摂取していることが考えられる。それらの生息地のテクトニクスから、海底深部での埋没有機物の熱分解に起源するメタン ($\delta^{13}\text{C} = -40\%$ 付近) およびメタン生成微生物起源の軽いメタン炭素 ($\delta^{13}\text{C} = -70\%$ 付近) の取り込み (硫黄酸化細菌に加えて、メタン酸化細菌の共生の可能性) によることも解釈できる。しかし、Florida Escarpment から採取された *Escarpi laminata* (trophosome および vestimentum) は methanol dehydrogenase の活性を検出できない (Cary *et al.* 1989). これらの事実から、メタン酸化細菌の共生の可能性は極めて低く、軽い炭素を固定する機構は不詳である。

Lamellibrachia 属も軽い種 (-43%) から重い種 (-20%) まで、かなりの変動を示した (Table 1). このうち、地理的に著しく隔離されている相模湾初島沖の冷湧水地域と、メキシコ湾の石油湧出地域からのハオリムシ類はお互いに類似した炭素同位体組成を示した (Kennicutt *et al.* 1985; Saino & Ohta 1989). また、沖縄トラフ伊平屋海嶺のハオリムシもかなり重い炭素同位体組成によって特徴付けられる (Kim *et al.* 1990). メキシコ湾 Louisiana slope の *Lamellibrachia* 属うち、Upper Texas slope からのものは、硫黄酸化細菌を体内共生させている動物の炭素同位体組成とほぼ調和する組成群 ($\delta^{13}\text{C} = -37.4 \sim -36.8\%$) を示す (Brooks *et al.* 1987). これよりも数%軽い *Lamellibrachia* 属 (-43.2%) は、異なる地点から採取されている。ここで、最初の試料 (硫黄酸化細菌が共生している) にはメタン酸化細菌共生が存在しないことが証明されている (Brooks *et al.* 1987). 一方、軽い炭素同位体組成を示す *Lamellibrachia* 属については、メタン酸化菌の共生は確認できないが、存在を否定するためのデータは得られていない。

東太平洋海嶺北緯 21 度の熱水噴出孔周辺に生息するガラパゴスハオリムシ *Riftia pachyptila* の炭素同位体組成 (-11%) は、これまで分析されたハオリムシ類の中で最も ^{13}C に富化していた (Rau 1981). ここで、重炭酸の取り込みに関与する酵素の炭素同位体分別が小さいことが推察されているが、確証は得られていない (Nelson & Fisher 1995).

以上のように、冷湧水帯環境の中で、およそ -40% より軽い炭素同位体組成を示すハオリムシ類の栄養体には硫黄酸化細菌とともに、メタン酸化細菌の共生の可能性が推察され、今後、共生細菌の分子情報および透過型電子顕微鏡

による直接観察などが望まれる。

3-1-2. 硫黄同位体組成

硫黄酸化細菌を共生させているベントスのうち、東太平洋海膨北緯 21 度域の熱水噴出孔周辺からのガラパゴスシロウリガイ *Calyplogena magnifica*, ガラパゴスハオリムシおよびマリアナ背弧海盆の *Alvinichoncha* 属腹足類の硫黄同位体組成は、生息環境の熱水あるいはチムニー硫化鉱物に含まれるマグマ起源硫黄 (0‰ 前後) の同位体組成とほぼ調和的であり (Fry et al. 1983; 牧・溝田, 1997; Yamana & Mizota et al. 2003a), これらの硫黄栄養の主体が熱水活動由来の還元型硫黄であることを示唆する。一方、日本海溝三陸沖のナラクシロウリガイ *Calyplogena fossajaponica* (Fujiwara et al. 2000), 相模湾初島沖のシロウリガイ *Calyplogena soyoae* (Mizota & Maki 1998) および鹿児島湾奥部の「たぎり」からのサツマハオリムシ *Lamellibrachia satsuma* (Miura et al. 2002) の硫黄同位体組成は、いずれも生息域直下の堆積物に含まれる海水硫酸イオンの微生物還元による軽い値に対応した (0‰ 以下)。

ハオリムシ類と生息環境の熱水や堆積物に含まれる硫化物態硫黄の同位体組成を相互に対応させながら解析した研究例は限られている (Table 3)。サツマハオリムシの軽い硫黄同位体組成から、サツマハオリムシは、その細長い鞘の下部を堆積物に差し込み、硫黄栄養の大部分を堆積物中の硫化物から摂取していることが推察される。溶存硫化物硫黄の体組織への取り込みの際には、ごくわずかの硫黄同位体分別しか観察されていないことが温泉水に生息する硫黄酸化細菌の集合体 (バクテリアマット) で確認されている (Mizota & Maki 1999)。そこでサツマハオリムシの軟体部に含まれている硫黄について、堆積物中の硫化物 ($\delta^{34}\text{S} = -30\text{‰}$) と海水硫酸イオン ($\delta^{34}\text{S} = +21\text{‰}$) の 2 成分混合系モデルから計算すると、硫化物硫黄の寄与割合は、80 ないし 90% 程度と見積もられる。これは、サツマハオリムシの硫黄栄養は火山性 ($\delta^{34}\text{S} = 0 \sim +5\text{‰}$) ではなく、生息域直下の堆積物中の微生物活動に由来することを示唆する。

微生物起源の軽い硫化物硫黄を取り込んだ例のほかに、石油、メキシコ湾ルイジアナ沖の大陸棚およびフロリダ沖の海底急崖、高塩濃度水の湧出地帯からは、やや傾向が異なるシロウリガイ属やハオリムシ類についての分析結果が報告されている (Brooks et al. 1987; Cary et al. 1989; Kenicutt et al. 1989)。その硫黄同位体組成は、海水硫酸と硫酸還元菌起源の硫化物硫黄との言わば「中途半端」な領域にある。しかし、海水硫酸イオンの値 ($\delta^{34}\text{S} = +21\text{‰}$) に比較すると、いずれの試料軟組織も 0‰ 近傍か、あるいは明瞭に 0‰ より負側にあることから、軽い還元型硫黄が、これら生物の組織に積極的に取り込まれているのは事実である。

3-1-3. 窒素同位体組成

通常、海産動物の窒素同位体組成は、ほとんどが、大気中の窒素同位体組成 ($\delta^{15}\text{N} = 0\text{‰}$) よりはプラス側に位置している。そして、窒素の同位体組成は食物連鎖網と密接に関連しており、栄養段階が一つ上昇するにつれて窒素同位体組成は、平均して 3.4‰ 上昇することが経験的に知られている (Wada & Minagawa 1984)。

シロウリガイ属およびハオリムシ類の窒素同位体組成の値 ($\delta^{15}\text{N}$) は、熱水噴出孔に生息する種では 0 より明瞭にプラス側に偏るように見え、これらの生物が生息する環境のテクトニックな背景と密接に関連しているかもしれない (Table 1)。これら硫黄酸化細菌を体内共生している動物の一次的な窒素栄養源は、宿主の生息域が熱水噴出孔および冷水帯の還元的な環境に極限されていることから、化学種としてアンモニアが主要な無機態窒素と推察される。このテクトニックな背景と関連したアンモニア態窒素の窒素同位体組成の変動が、直接に宿主動物の窒素同位体組成変動に反映されていると解釈されるが、生息環境中のアンモニアの窒素同位体組成の報告はない。

3-2. シンカイヒバリガイ属二枚貝の安定同位体組成

シンカイヒバリガイ属二枚貝 (Table 2) は、硫黄酸化細

Table 3. Sulfur isotope composition of different soft tissues of a tubeworm, *Lamellibrachia satsuma*, and associated sulfide-sulfur in the sea bottom sediments¹⁾.

Dolphin 3K dive Nos. ²⁾	Water depth (m)	Sampling location		Tubeworm			Associated sediment sulfide	
		Longitude (E)	Latitude (N)	Tissue	S (%) ³⁾	$\delta^{34}\text{S}$ (‰)	S (ppm) ⁴⁾	$\delta^{34}\text{S}$ (‰)
342	99	130°48.189'	31°39.546'	Vestimentum	1.1	-21.8	1,100 ⁵⁾	-27.1
				Trophosome	3.3	-20.7		
344	94	130°48.171'	31°39.521'	Vestimentum	1.0	-20.8	2,400	-29.6
				Trophosome	5.2	-21.3		
340	90	130°48.197'	31°39.544'				1,567	-33.6
341	209	130°46.432'	31°39.544'					+6.5 ⁶⁾

¹⁾ Mizota, C. and T. Yamanaka (unpublished data).

²⁾ Dives were carried out during June, 1997.

³⁾ 105°C dry-matter basis.

⁴⁾ Fresh sediment basis.

⁵⁾ Collected by dive 3K-345.

⁶⁾ Hydrogen sulfide recovered from fumarolic gas sample.

菌を鰓に共生させているもののほかに、メタン酸化細菌を単独で、あるいは硫黄酸化細菌と共に二重に共生させているものが知られている (Nelson & Fisher 1995). メタン酸化細菌の鰓共生のための直接的な証拠としては、硫黄酸化細菌の場合のように 16S rRNA の塩基配列の決定に加えて、メタンの酸化に関与する methanol dehydrogenase の比活性測定および鰓・超切片の透過型電子顕微鏡による特異な膜構造の視認がある (Nelson & Fisher 1995). シンカイヒバリガイ属は、シロウリガイ類 *Calyplogena* やハオリムシ類 *Riftia* のように消化器官が完全には退化せず、濾過摂食能を維持していると考えられている (Van Dover 2000).

3-2-1. 炭素同位体組成

硫黄酸化細菌のみを共生させるシンカイヒバリガイ属の炭素同位体組成は、ほぼ $-35 \pm 5\%$ 付近の範囲にあり、海水に溶存している重炭酸 ($\delta^{13}\text{C}=0\%$) が Rubisco を触媒として取り込まれていることが推察される (Table 2). しかし、メキシコ湾の石油や高濃度塩水の湧出地帯からの数種については、この値より著しく軽い、たとえば -74% にも達するような $\delta^{13}\text{C}$ 値が知られている (Brooks et al. 1987; Kennicutt et al. 1992; Nelson & Fisher 1995). このように ^{13}C に枯渇した動物試料は、メタン生成微生物起源の軽いメタンを同化した結果と解釈され (Paull et al. 1989), 鰓の共生細菌種や methanol dehydrogenase 活性の測定の結果とも矛盾しない (Nelson & Fisher 1995).

大西洋中央海嶺 (MAR) からの二重共生を持つ *Bathymodiolus puteoserpentis* と *B. azoricus* は、硫黄酸化細菌を持つ種と類似の炭素同位体組成を持ち、環境水からのメタン栄養の積極的な取り込みは見えない。これらは熱水に含まれるメタンが、マグマ起源で重い炭素同位体組成を持っているためか (Welhan & Craig 1983), あるいは種ごとに異なったメタンの特異な体内代謝系のために、同位体標識の識別が結果的に明瞭ではなくなったものと解釈される。MAR の Lucky Strike 熱水噴出地点から採取した *B. azoricus* の鰓については、超切片・透過型電子顕微鏡観察により、硫黄酸化細菌とメタン酸化細菌の分布割合が計測されている (Trask & Van Dover 1999). それによると、メタン酸化細菌に比較して硫黄酸化細菌の割合は2桁ほど高い。このような高い硫黄酸化細菌の割合は、この *B. azoricus* がメタンをエネルギー源としてほとんど利用していないことを示唆し、同位体的にもメタン酸化細菌の寄与が現れないと考えられる。

マリアナ前弧域にある蛇紋岩の泥火山 (South Chamorro Seamount) の頂上に生息する未記載種の炭素同位体組成は、著しく ^{13}C に富んでいる (Yamanaka & Mizota et al. 2003b). この重い炭素は、かんらん石の変質に伴って生成する特異な炭素同位体組成を持った非生物起源のメタン ($\delta^{13}\text{C}=-14.6\%$) の取り込みに由来するものと解釈されている。

3-2-2. 硫黄同位体組成

硫黄同位体組成は、給源硫黄栄養の同位体組成変動を反映して、かなりの多様性が認められる (Table 2). ここで、硫黄酸化細菌を唯一の共生細菌とする種のうち、熱水噴出孔の周辺からの試料は、マグマ起源の硫化物態硫黄の積極的な取り込みを反映し、ほぼ0付近から $+6\%$ の $\delta^{34}\text{S}$ 値を示した。一方、 -17% 以下の軽い硫黄で特徴付けられる2種が、鹿児島喜界島沖の冷湧水帯 (Yamanaka & Mizota et al. 2000) や小笠原諸島海域海形海山の温水湧水地帯 (Kim et al. 1989) から報告されている。海形海山の例は、玄武岩質砕屑物 (マグマ由来の物質) が卓越する環境においても、硫酸還元菌の生育に好適な条件が整えば、微生物起源の硫化物硫黄がベントスの硫黄栄養源になることを示唆している。

メタン酸化細菌のみを共生させる種の硫黄栄養源としては、海水硫酸イオン ($\delta^{34}\text{S}=+21\%$) であることが予測される。相模湾初島沖の冷湧水帯や沖縄トラフ伊平屋北部海丘熱水噴出孔周辺からのヘイトウシンカイヒバリガイ *B. platifrons*, およびシンカイヒバリガイ *B. japonicus* の $\delta^{34}\text{S}$ 値は、一般的な海棲動物の値に類似して、 $+13$ から $+16\%$ の範囲にある (Yamanaka & Shimoyama et al. 2000; Yamanaka & Mizota et al. 2000). ここで、海水硫酸イオンの取り込みに伴う動力学的な、負の同位体効果 (おおそ -5% 程度) を考慮すれば、これらの測定値は、妥当な値である。

沖縄トラフの伊平屋 CLAM 地点、伊是名 JADE 地点および南奄西海丘から採取された *B. platifrons* および *B. japonicus* の硫黄同位体組成は、 $+6$ から $+10\%$ の間にあり (金ら 1990), 相模湾初島沖や伊平屋北部海丘の同種の値に比べて負側にある。共生細菌は宿主の種に固有であり、親から子へと「垂直伝達」(vertical transmission) されることが知られており (Nelson & Fisher 1995), メタン酸化細菌に加えて、硫黄酸化細菌が共生している可能性 (いわゆる二重共生) は考えにくい。むしろ、この軽い硫黄の給源としては、遊離の硫黄酸化細菌菌体を直接濾過摂食する可能性が考えられる (藤原義弘, 私信). なお、これら2種の炭素同位体組成は -30% 以上の重い値を示しているから、対応するメタンの炭素同位体はマリアナ蛇紋岩泥火山の例に似たような、重い「特異な」起源のメタンの取り込みが推察される。ここに観察された硫黄および炭素同位体組成異常を矛盾なく説明することは、生物試料に対応する環境試料のデータが限られており、困難である。

硫黄酸化細菌とメタン酸化細菌が二重に共生することが知られている種 (マリアナ前弧域 South Chamorro Seamount, メキシコ湾 Florida Escarpment および Louisiana slope) の場合は、重い海水硫酸と海水硫酸イオンの硫酸還元菌に由来する軽い硫化物態硫黄の値の中間の値を示すことから、これらの両成分が硫黄栄養として取り込まれているものと考えられる (Yamanaka & Mizota et al. 2003b).

3-2-3. 窒素同位体組成

窒素同位体組成は、シロウリガイ属などに比べ、 ^{14}N に富む (Table 2). とくに、MAR 域からの 2 試料は、 ^{15}N に枯渇している. この軽い軟体部窒素同位体組成は、湧出するアンモニアが ^{15}N に枯渇した特異な窒素同位体組成を持つものか、シンカイヒバリガイ属に取り込まれた後での、窒素の体内代謝に伴う同位体分別に起因していると考えられる. このことについては酵素レベルでの議論が展開されている (Nelson & Fisher 1995).

マリアナ前弧の蛇紋岩泥火山から得られた未記載種の窒素同位体組成 (Yamanaka & Mizota *et al.* 2003b) は、特異的に重い. 蛇紋岩泥火山では、非生物起源のメタンの湧出、メタンの酸化に由来する炭酸塩皮殻の生成と並んで、間隙水中に高い NH_3 が検出されることなどの諸現象が報告されており (Mottl 1992), 特異なテクトニクスに支配された地下生物圏の存在を示唆する (Fujioka *et al.* 2001; Yamanaka & Mizota *et al.* 2003b).

4. 熱水・堆積物間隙水中のアンモニア態窒素の濃度

中央海嶺にみられる海底に噴出した玄武岩の割れ目に発達する熱水活動域から採取された熱水試料は、玄武岩に含まれる窒素が極めて少ない (1 ppm N 以下) ことを反映してアンモニア濃度は極端に低い (Exley *et al.* 1987). しかし、厚い堆積物を貫通して噴出している、沖縄トラフ背弧海盆熱水系からの熱水中のアンモニア濃度は高い傾向にある (Table 4). 冷湧水は多くの場合、海成の堆積物を通過しているから、熱水試料に比べて 2 桁ほど高いアンモニア濃度を示す. これは、堆積物中の有機態窒素が分解されアンモニアとして熱水や冷湧水に取り込まれて湧出しているためと考えられる.

化学合成生物群集のベントスが示す特異な窒素同位体組成変動の解釈ためには、熱水噴出孔熱水や冷湧水中のアンモニアの窒素同位体分析が望まれる.

5. 化学合成生物群集の食物網の解析

化学合成生物群集の重要な構成ベントスとして、甲殻類や多毛類があるが、これらには細菌の細胞内共生は知られていないので、他の生物を捕食しているらしい. 軟体部の炭素-窒素同位体組成二軸系のダイアグラムによって MAR およびインド洋中央海嶺・ロドリゲス三重点の熱水噴出孔生態系における食物連鎖が解析されている (Colaço *et al.* 2002; Van Dover *et al.* 2002). ここで、硫黄酸化細菌やメタン酸化細菌を鰓内に共生させ、一次生産を行うシンカイヒバリガイ属 2 枚貝が最も低位の段階に、最上位にはエビなどの甲殻類が位置し、この間には最大 4 段階の栄養段階を持つ動物群が識別されている.

6. 要 約

深海底の熱水噴出孔および冷湧水地帯周辺には、硫化水素およびメタン、あるいはこれらの両化学種を酸化してエネルギーを得る独立栄養細菌と体内共生し、これらが生産する有機物に依存するベントスが広く認められる. これらのエネルギー獲得戦略を明らかにするために、軟体部と、栄養源である硫化水素、メタンおよびアンモニアの炭素-窒素-硫黄同位体組成の変動と関連させながら、既往のデータに基づいて考察した. 硫黄酸化細菌を共生させる種の炭素同位体組成は、溶存重炭酸 ($\delta^{13}\text{C}=0\text{‰}$) が Rubisco の触媒作用によって還元されるために、おおよそ $-35 \pm 5\text{‰}$ 付近に収斂した. メタン酸化細菌を共生させている種は、メタンの多様な起源を反映して、著しく軽い軟体部 ($\delta^{13}\text{C}=-75\text{‰}$) から、反対に著しく重いもの ($\delta^{13}\text{C}=-19\text{‰}$) まで観察された. メタン酸化細菌のみを体内共生させている種では、海水硫酸イオンが主要な硫黄栄養源であるために、海水硫酸イオン ($\delta^{34}\text{S}=+21\text{‰}$) の取り込みに伴う動力学的な、負の同位体効果を伴って、軟体部の $\delta^{34}\text{S}$ 値は、+13 から +16‰ の比較的狭い範囲内に収まった. 硫黄酸化細菌が共生する種の $\delta^{34}\text{S}$ 値は、マグマ性硫化水素

Table 4. Concentration of ammonia in hydrothermal vent and sediment-pore waters relevant to the chemosynthesis-based animal community.

Location of sample water	Concentration of NH_3	Reference
—Hydrothermal vent water—		
Okinawa Trough, Iheya CLAM site	10~4,450	Gamo <i>et al.</i> 1991
Okinawa Trough, Izena JADE site	240~4,940	Gamo <i>et al.</i> 1991
Okinawa Trough, Minami-Ensei Knoll	45,600~4,700	Chiba <i>et al.</i> 1993
47°N, East Pacific Rise	640~950	Cowen <i>et al.</i> 1998
Central Indian Ridge, RTJ	<10	Yamanaka, T. unpublished
—Pore water from sediment—		
Sagami Bay, off Hatsushima	to 1,760	Masuzawa <i>et al.</i> 1992
Aleutian Trench	up to 3,000	Suess <i>et al.</i> 1998
Oregon Subduction Zone	up to 1,000	Suess <i>et al.</i> 1989

Concentration: μM

や硫酸還元菌による海水硫酸イオンの還元による軽い硫化水素に対応して幅広い変動をした。硫黄酸化細菌およびメタン酸化細菌を同時に共生させる種の硫黄の安定同位体組成は、海水硫酸と局所的な硫化物態硫黄の2成分混合を示唆する中間的な値となった。陸生や浅海の生物群集の多くが、プラスの $\delta^{15}\text{N}$ 値を示す一般的な傾向とは異なり、化学合成生物群集のベントスの中には、かなり軽い $\delta^{15}\text{N}$ 値(−10‰まで)を示すものがしばしば見出された。この軽い窒素が、給源窒素の特異性に由来しているのか、あるいは共生細菌-宿主間の代謝過程を通じての窒素同位体分別の結果に由来するか明らかにするためには、今後は生息環境中のアンモニアの窒素同位体組成の測定値が不可欠である。

謝 辞: 本特集号の企画にあたり、海洋科学技術センターの藤倉克則博士と編集委員長の太越和加博士は寄稿の機会を与えていただいたと同時に、匿名のレフェリーとともに本稿改訂に多くのご意見・ご討議をいただいた。また、執筆にあたり海洋科学技術センターの藤原義弘博士には *Alvinichoncha* 属腹足類関連の資料をご教示いただいた。これらの皆様に記して感謝致します。

引用文献

- Barry, J. P., H. G. Greene, D. L. Orange, C. H. Baxter, B. H. Robinson, R. E. Kochevar, J. W. Nybakken, D. L. Reed and C. M. McHugh 1996. Biological and geologic characteristics of cold seeps in Monterey Bay, California. *Deep-Sea Research I*, 43: 1739–1762.
- Brooks, J. M., M. C. Kennicutt II, C. R. Fisher, S. A. Macko, K. Cole, J. J. Childress, R. R. Bidigare and R. D. Vetter 1987. Deep-sea hydrocarbon seep communities: evidence for energy and nutritional carbon sources. *Science*, 238: 1138–1142.
- Boulègue, J., E. L. Benedetti, D. Dron, A. Mariotti and R. Letolle 1987. Geochemical and biogeochemical observations on the biological communities associated with fluid venting in Nankai Trough and Japan Trench subduction zones. *Earth and Planetary Science Letters*, 83: 343–355.
- Cary, S. C., C. R. Fisher, H. Felbeck and R. D. Vetter 1989. Multiple trophic resources for a chemosynthetic community at a cold water brine seep at the base of the Florida Escarpment. *Marine Biology*, 100: 411–418.
- 千葉 仁・酒井 均・蒲生俊敬・石橋純一郎・中島和夫・南 秀樹・土橋 史 1992. 南奄西海丘で湧出している気泡の化学・同位体組成. 第8回しんかいシンポジウム報告書, 81–87.
- 千葉 仁・中島和夫・蒲生俊敬・石橋純一郎・角皆 潤・酒井 均 1993. 沖縄トラフ南奄西海丘の海底熱水活動: 熱水の地球化学的特徴. 第9回しんかいシンポジウム報告書, 271–282.
- Colaço, A., F. Dehairs and D. Desbruyeres 2002. Nutritional relations of deep-sea hydrothermal fields at the Mid-Atlantic Ridge: a stable isotope approach. *Deep-Sea Research I*, 49: 395–412.
- Corliss, J. B., J. Dymond, L. I. Gordon, J. M. Edmond, R. P. von Herzen, R. D. Ballard, K. Green, D. Williams, A. Bainbridge, K. Crane and T. H. van Andel 1979. Submarine thermal springs on the Galápagos Rift. *Science*, 203: 1073–1083.
- Cowen, J. P., X. Wen, R. D. Jones and R. E. Thomson 1998. Elevated NH_4^+ in a naturally buoyant hydrothermal plume. *Deep-Sea Research I*, 45: 1891–1902.
- Dubilier, N., R. Windoffer and O. Giere 1998. Ultrastructure and stable carbon isotope composition of the hydrothermal vent mussels *Bathymodiolus brevior* and *B. sp. affinis brevior* from the North Fiji Basin, western Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 165: 187–193.
- Endow, K. and S. Ohta 1989. The symbiotic relationship between bacteria and a mesogastropod snail, *Alvinichoncha hessleri*, collected from hydrothermal vents of the Mariana Back-Arc Basin. *Bulletin of Japanese Society of Microbial Ecology*, 3: 73–82.
- Exley, R. A., S. R. Boyd, D. P. Matthey and C. T. Pillinger 1987. Nitrogen isotope geochemistry of basaltic glasses: implications for mantle degassing and structure. *Earth and Planetary Science Letters*, 81: 163–174.
- Fiala-Médioni, A., J. Boulègue, S. Ohta, H. Felbeck and A. Mariotti 1993. Source of energy sustaining the *Calymene* populations from deep trenches in subduction zones off Japan. *Deep-Sea Research I*, 40: 1242–1258.
- Fisher, C. R., J. J. Childress and A. J. Arp 1988. Variation in the hydrothermal vent clam *Calymene magnifica*, at Rose Garden vent on the Galapagos spreading center. *Deep-Sea Research*, 35: 1811–1831.
- Fry, B. 1983. Fish and shrimp migrations in the northern Gulf of Mexico analysed using stable C, N, and S isotope ratios. *Fishery Bulletin*, 81: 789–801.
- Fry, B., H. Gest and J. M. Hayes 1983. Sulphur isotope composition of deep-sea hydrothermal vent animals. *Nature*, 306: 51–52.
- Fry, B. 1988. Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnology and Oceanography*, 33: 1182–1190.
- Fujioka, K., T. Yamanaka, T. Gamo, F. Inagaki, T. Miwa and Sato, H. 2001. An introduction to the serpentine biosphere in the Mariana Forearc. 地震研究所彙報, 76: 271–289.
- Fujiwara, Y., K. Takai, K. Uematsu, S. Tsuchida, J. C. Hunt and J. Hashimoto 2000. Phylogenetic characterization of endosymbionts in three hydrothermal vent mussels: influence on host distributions. *Marine Ecology Progress Series*, 208: 147–155.
- Fujiwara, Y., S. Kojima, C. Mizota, Y. Maki and K. Fujikura 2000. Phylogenetic characterization of the endosymbionts of the deepest-living vesicomyid clam, *Calymene fossajaponica*, from the Japan Trench. *Venus*, 59: 307–316.
- Gamo, T., H. Sakai, E.-S. Kim, K. Shitashima and J. Ishibashi 1991. High alkalinity due to sulfate reduction in the Clam hydrothermal field, Okinawa Trough. *Earth and Planetary Science Letters*, 107: 328–338.
- Gamo, T., H. Chiba, T. Yamanaka, T. Okudaira, J. Hashimoto, S. Tsuchida, J. Ishibashi, S. Kataoka, U. Tsunogai, F. Kouzuma, K. Okamura, Y. Sano and R. Shinjo 2001. Chemical characteristics of newly discovered black-smoker fluids and associated hydrothermal plumes at the Rodriguez Triple Junction, Central Indian Ridge. *Earth and Planetary Science Letters*, 193: 371–379.
- 服部睦男・磐江康光・大場忠道・秋元和實 1996. 相模湾の沈み込み帯の冷水域に伴う炭酸塩類と化学合成独立栄養動物群集の環境. 化石, 60: 13–22.
- Jannasch, H. W. and C. O. Wirsen 1979. Chemosynthetic primary production at East Pacific sea floor spreading centers. *Bioscience*, 29: 592–598.
- Kenk, V. C. and B. R. Wilson 1985. A new mussel (*Bivalvia*, *Mytilidae*) from hydrothermal vents in the Galápagos Rift zone. *Malacologia*, 26: 253–271.
- Kennicutt II, M. C., J. M. Brooks, R. R. Bidigare, R. R. Fay, T. L. Wade and T. McDonald 1985. Vent-type taxa in a hydrocarbon

- seep region on the Louisiana slope. *Nature*, 317: 351-353.
- Kennicutt II, M. C., J. M. Brooks, R. R. Bidigare, S. J. McDonald, D. L. Adkinson and S. A. Macko 1989. An upper slope "cold" seep community: Northern California. *Limnology and Oceanography*, 34: 635-640.
- Kennicutt II, M. C., R. A. Burke, I. R. MacDonald, J. M. Brooks, G. J. Denoux and S. A. Macko 1992. Stable isotope partitioning in seep and vent organisms—chemical and ecological significance. *Chemical Geology*, 101: 293-310.
- Kim, E. S., H. Sakai, J. Hashimoto, F. Yanagisawa and S. Ohta 1989. Sulfur isotopic ratios of hydrothermal vent-animals at Ogasawara Arc and Mid-Okinawa Trough—evidence for microbial origin of hydrogen sulfide at low-temperature submarine hydrothermal areas. *Geochemical Journal*, 23: 195-208.
- 金 銀洙・酒井 均・蒲生俊敬・橋本 惇・太田 秀・柳澤文孝 1990. 沖縄トラフ熱水生物の炭素、窒素および硫黄同位体比. 第6回「しんかい2000」研究シンポジウム報告書, 129-137.
- Kulm, L. D., E. Suess, J. C. Moore, B. Carson, B. T. Lewis, S. D. Ritger, D. C. Kadko, T. M. Thornburg, R. W. Embley, W. D. Rugh, G. J. Massoth, M. G. Langseth, G. R. Cochrane and R. L. Scamman 1986. Oregon subduction venting, fauna and carbonates. *Science*, 231: 561-566.
- Lonsdale, P. 1977. Clustering of suspension feeding macrobenthos near abyssal hydrothermal vents at oceanic spreading centers. *Deep-Sea Research*, 24: 857-863.
- 牧 陽之助・溝田智俊 1997. マリアナ背弧海盆のアルヴィンガイ (*Alvinichoncha hessleri*) 及びシュリンプ (*Chorocaris vanderaveae*) の硫黄同位体組成. *JAMSTEC 深海研究*, 13: 63-67.
- Masuzawa, T., N. Handa, H. Kitagawa and M. Kusakabe 1992. Sulfate reduction using methane in sediments beneath a bathyal "cold seep" giant clam community off Hatsushima Island, Sagami Bay, Japan. *Earth and Planetary Science Letters*, 119: 39-50.
- Minagawa, M. and E. Wada 1984. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48: 1135-1140.
- Miura, T., M. Nedachi and J. Hashimoto 2002. Sulphur sources for chemoautotrophic nutrition of shallow water vestimentiferan tube-worm in Kagoshima Bay. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82: 537-540.
- Mizota, C. and Y. Maki 1998. Sulfur isotopic variations in soft tissues of *Calyptogena soyoe* from Sagami Bay, central Japan. *Geochemical Journal*, 32: 421-425.
- Mizota, C. and Y. Maki 1999. Use of hydrogen sulfide dissolved in thermal waters by sulfur-oxidizing bacteria: a sulfur isotopic approach. *Geochemical Journal*, 33: 67-71.
- Mottl, M. J. 1992. Pore waters from serpentine seamounts in the Mariana and Izu-Bonin Forearcs, Leg 125. Evidence for volatiles from the subducting slab. In, *Proceedings of the Ocean Drilling Program. Scientific Results*, 125: 373-385.
- Nelson, D. C. and C. R. Fisher 1995. Chemoautotrophic and methanotrophic endosymbiotic bacteria at deep-sea vents and seeps. In, *The Microbiology of Deep-Sea Hydrothermal Vents*, D. M. Karl (ed.), CRC Press, Boca Raton and New York, pp. 125-167.
- Peterson, B. J. and R. W. Howarth 1987. Sulfur, carbon, and nitrogen isotopes used to trace organic matter flow in the salt-marsh estuaries of Sapelo Island, Georgia. *Limnology and Oceanography*, 32: 1195-12134.
- Paull, C. K., J. T. Jull, L. J. Toolin and T. S. Linick 1985. Stable isotope evidence for chemosynthesis in an abyssal seep community. *Nature*, 317: 709-711.
- Paull, C. K., C. S. Martens, J. P. Chanton, A. C. Neumann, J. Coston, A. J. T. Jull and L. J. Toolin 1989. Old carbon in living organisms and young CaCO_3 cements from abyssal brine seeps. *Nature*, 342: 166-168.
- Pond, D. W., M. V. Bell, D. R. Dixon, A. E. Fallick, M. Segonzac and J. R. Sargent 1998. Stable-carbon-isotope composition of fatty acids in hydrothermal vent mussels containing methanotrophic and thiotrophic bacterial endosymbionts. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 370-375.
- Rau, G. H. 1981. Hydrothermal vent clam and tube worm $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: further evidence of nonphotosynthetic food sources. *Science*, 213: 338-340.
- Rau, G. H., C. M. McHugh, C. Harrold, C. Baxter, B. Hecker and R. W. Embley 1990. ^{13}C , ^{15}N and ^{18}O of *Calyptogena phaseoliformis* (bivalve mollusk) from the Ascension Fan-Valley near Monterey, California. *Deep-Sea Research*, 37: 1669-1990.
- Rees, C. E., W. J. Jenkins and J. Monster 1978. The sulphur isotopic composition of ocean water sulphate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42: 377-381.
- Robinson, J. J., M. F. Polz, A. Fiala-Medioni and C. M. Cavanaugh 1998. Physiological and immunological evidence for two distinct C_1 -utilizing pathways in *Bathymodiolus puteoserpentis* (Bivalvia: Mytilidae), a dual endosymbiotic mussel from the Mid-Atlantic Ridge. *Marine Biology*, 132: 625-633.
- Ruby, E. G., H. W. Jannasch and W. G. Deuser 1987. Fractionation of stable isotopes during chemoautotrophic growth of sulfur-oxidizing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 1940-1943.
- Sackett, W. M. and R. R. Thompson 1963. Isotopic organic carbon composition of recent continental derived clastic sediments of eastern gulf coast, Gulf of Mexico. *Bulletin of the American Association of Petroleum Geologists*, 47: 525-528.
- Sakai, H., T. Gamo, K. Endow, J. Ishibashi, T. Ishizuka, F. Yanagisawa, M. Kusakabe, T. Akagi, G. Igarashi and S. Ohta 1987. Geochemical study of the bathyal seep communities at the Hatsushima site, Sagami Bay, central Japan. *Geochemical Journal*, 21: 227-236.
- Sakai, H., T. Gamo, E.-S. Kim, K. Shitashima, F. Yanagisawa, M. Tsutsumi, J. Ishibashi, Y. Sano and H. Wakita 1990. Unique chemistry of the hydrothermal aqu solution in the mid-Okinawa Trough backarc basin. *Geophysical Research Letters*, 17: 2133-2136.
- 酒井 均・松久幸敬 1996. 安定同位体地球化学, 東京大学出版会, 東京, 403 pp.
- Saino, T. and S. Ohta 1989. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios of vesicomyid clams and a vestimentiferan tube worm in the subduction zone east of Japan. *Palaeogeography, Palaeoclimatology and Palaeoecology*, 71: 169-178.
- Schoell, M. 1988. Multiple origins of methane in the earth. *Chemical Geology*, 71: 1-10.
- Stein, J. L., S. C. Cary, R. R. Hessler, S. Ohta, R. D. Vetter, J. J. Childress and H. Felbeck 1988. Chemoautotrophic symbiosis in a hydrothermal vent gastropod. *Biological Bulletin*, 174: 373-378.
- Suess, E. and M. J. Whiticar 1989. Methane-derived CO_2 in pore water fluids expelled from the Oregon subduction zone. *Palaeogeography, Palaeoclimatology and Palaeoecology*, 71: 119-136.
- Suess, E., G. Bohrmann, R. von Huene, P. Linke, G. Winckler, R. A. Lutz and D. Orange 1998. Fluid venting in the eastern Aleutian subduction zone. *Journal of Geophysical Research-Solid Earth*, 103: 2597-2614.
- Trask, J. L. and C. L. Van Dover 1999. Site-specific and ontogenetic variations in nutrition of mussels (*Bathymodiolus* sp.) from the

- Lucky Strike hydrothermal vent field, Mid-Atlantic Ridge. *Limnology and Oceanography*, 44: 334–343.
- Tsunogai, U., J. Ishibashi, H. Wakita, T. Gamo, K. Watanabe, S. Kanayama, H. Sakai and T. Kajimura 1994. Peculiar features of Suiyo Seamount hydrothermal fluids, Izu-Bonin arc: Differences from subaerial volcanism. *Earth and Planetary Science Letters*, 126: 289–301.
- Tsunogai, U., N. Yoshida, J. Ishibashi and T. Gamo 2000. Carbon isotopic distribution of methane in deep-sea hydrothermal plume, Myojin Knoll Caldera, Izu-Bonin arc: Implications for microbial methane oxidation in the oceans and applications to heat flux estimation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64: 2439–2452.
- Van Dover, C. L. and B. Fry 1989. Stable isotopic compositions of hydrothermal vent organisms. *Marine Biology*, 102: 257–263.
- Van Dover, C. L. 2000. *The Ecology of Deep-Sea Hydrothermal Vents*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 424 pp.
- Van Dover, C. L., S. E. Humphris, D. Fornari, C. M. Cavanaugh, R. Collier, S. K. Goffredi, J. Hashimoto, M. D. Lilley, A. L. Reysenbach, T. M. Shank, K. L. Von Damm, A. Banta., R. M. Gallant, D. Götz, D. Green, J. Hall, T. L. Harmer, L. A. Hurtado, P. Johnson, Z. P. McKiness, C. Meredith, E. Olson, I. L. Pan, M. Turnipseed, Y. Won, C. R. Young III and R. C. Vrijenhoek 2001. Biogeography and ecological setting of Indian Ocean hydrothermal vents. *Science*, 294: 818–823.
- Van Dover, C. L. 2002. Trophic relationships among invertebrates at the Kairei hydrothermal vent field (Central Indian Ocean Ridge). *Marine Biology*, 141: 761–772.
- Welhan, J. A. and H. Craig 1983. Methane, hydrogen and helium in hydrothermal fluids at 21°N on the East Pacific Rise. In, *Hydrothermal Process at Seafloor Spreading Centers*, Rona, P. A. et al. (eds.), Plenum Press, New York, pp. 391–409.
- Yamanaka, T., C. Mizota, Y. Fujiwara, H. Chiba, J. Hashimoto, T. Gamo and T. Okudaira 2003a. Sulfur-isotopic composition of the deep-sea mussel *Bathymodiolus marisindicus* from currently active hydrothermal vents in the Indian Ocean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. (in press)
- Yamanaka, T., C. Mizota, Y. Maki, K. Fujikura and H. Chiba 2000. Sulfur isotope composition of soft tissues of deep-sea mussels, *Bathymodiolus* spp., in Japanese waters. *Benthos Research*, 55: 63–68.
- Yamanaka, T., C. Mizota, H. Satake, F. Kouzuma, T. Gamo, U. Tsunogai, T. Miwa and K. Fujioka 2003b. Stable isotope evidence for a putative endosymbiont-based lithotrophic *Bathymodiolus* sp. mussel community atop a serpentine seamount. *Geomicrobiology Journal*. (in press)
- Yamanaka, T., C. Mizota and S. Shimoyama 2003c. Sulfur isotopic variations in soft tissues of five benthic animals from the reductive tidal flat sediments in northern Kyushu, Japan. *Marine Biology*, 142: 327–331.
- Yamanaka, T., S. Shimoyama and C. Mizota 2000. An evaluation of source sulfur in soft tissues of marine and freshwater benthic animals from Japan using stable isotope analysis. *Benthos Research*, 55: 17–22.