

Notice on Plankton Seminar

#04025

09:00-11:00, 10 Dec. (Fri), 2004. at Room #N-406 (4thfloor)

海産浮遊性カラノイダかいあし類の生理活性と生息深度との関係 (仮題) (修士論文中間発表)

【はじめに】

動物プランクトンの生理学的研究はこれまで世界の様々な海域で行われてきた。しかし、その研究の対象とされたのは、ほとんどが表層に生息する種であり、中・深層に生息する種についての知見は著しく少ない。その理由として、海洋の中・深層に生息する動物プランクトンは出現量が著しく少なく、低温・高水圧の深海から飼育実験に必要な損傷の無い個体を採集する方法はまだ確立されていないため、十分な実験個体数の確保することは困難であることが挙げられる。

生物体の酸素呼吸速度の指標として、電子伝達系 (Electron Transfer System; ETS) の活性、および稚魚の栄養状態や成長の指標として利用されている核酸比 (RNA/DNA) は、近年様々な分野で注目されている。これらの生理学的指標は新鮮な冷凍試料を用いることにより、少量 (数ミリグラム) の試料で測定可能であり、また短時間の環境の変化に影響されないことが知られており、海洋の中・深層に生息する動物プランクトンの生理学的情報を得るために適していると考えられる。そこで本研究では、北太平洋に分布する様々な動物プランクトンのうち、最も卓越する表一深層性カラノイダかいあし類をまず対象として、分析を行い、ETS 活性、および RNA/DNA 比と生息深度との関係について解析することを目的とした。

【材料と方法】

調査に用いた動物かいあし類試料は、2002年5月–2004年8月にかけて、北海道大学練習船おしよろ丸、およびうしお丸、JAMSTEC 研究調査船淡青丸による北太平洋練習航海、調査航海において、閉鎖式ネット (口径 80 cm、目合い 330 μm) を用いて、水深 0-500 m (表層)、500-1000 m (中層)、1000-2000 m (深層)、2000-3000 m (深層)、3000-5000 m (漸深層) から採集した (計 28 採集地点)。採集したかいあし類は、直ちに船上で種、発育ステージごとにソート、液体窒素中で冷凍保存し陸上実験室に持ち帰った。ETS 活性の分析には、かいあし類 1–数個体を 1 試料としてホモジナイズし、Owen & King 法 (1975) により温度 10°C で測定した。この分析方法で得られた ETS 活性は十分な基質環境での最大 ETS 活性 (V_{max}) で、実際の呼吸速度 (R) との比 (R/ETS) は 0.5 程度とされている。核酸の分析には、核酸蛍光色素「臭化エチジウム」と核酸分解酵素 (RNase) を組み合わせ、マイクロプレートを用いた Wagner *et al.* (1998) の微量分析方法を採用した。この分析方法では、かいあし類 1 個体 (小型種は数個体) を 1 試料としてホモジナイズしても、その RNA、DNA 量の同時分析が可能である。ホモジナイズした試料の一部について、そのタンパク量を Lowry 法 (1951) で測定し、それぞれ mg タンパク (protein) 当たりの ETS 活性 ($\mu\text{l O}_2 / \text{mg protein} / \text{h}$)、核酸量 (RNA、DNA) ($\mu\text{g} / \text{mg protein}$) を計算した。

【結果と考察】

—ETS 活性—

計 12 科 30 属 83 種 311 試料について分析を行った。それぞれの深度層における 1 個体あたりの ETS 活性は $0.01-10 \mu\text{l O}_2 / \text{ind.} / \text{h}$ の範囲にあり、体サイズ (タンパク含量) との間に明確な関係は見られなかった。タンパク含量あたりの ETS 活性においても同様であった。タンパク含量あたりの ETS 活性 ($\mu\text{l O}_2 / \text{mg protein} / \text{h}$) の各深度層から採集した個体の平均値と標準偏差は表層 (0-500 m) ; 4.5 ± 2.1 (n=121)、中層 (500-1000 m) ; 3.4 ± 1.9 (n=41)、深層 (1000-2000 m) ; 2.5 ± 2.0 (n=45)、深層 (2000-3000 m) ; 2.2 ± 1.6 (n=48)、漸深層 (3000-5000 m) ; 4.5 ± 3.4 (n=56) であり、対数変換して比較すると、深層の 2 層の個体が他の層の個体より低く、表層と中層、漸深層の個体間には有意な差は見られなかった ($p < 0.01$: one-way ANOVA, $p < 0.05$: Bonferroni/Dunn)。深度が進むにつれて、酸素消費速度は僅かに低下する、またはほとんど変わらないということが、過去の知見より知られている。しかし、今回の研究によると、深層 (2000-3000 m) の個体までは低下するが、漸深層の個体で急に高くなった。この原因として、*Scaphocalanus* 属と *Spinocalanus* 属が漸深層試料の過半数を占めており (56 試料中 30 試料)、その他の試料と比較すると、活性が高く、有意な差が見られた ($p = 0.03$: one-way ANOVA, $p < 0.05$: Fisher's PLSD)。

—核酸量—

計 14 科 37 属 86 種 564 試料について分析を行った。タンパク量に占める DNA 量の割合は 0.20-7.35%、RNA 量の割合は 0.13-10.98% であった。RNA/DNA 比が高いと成長が活発であることが知られている。それぞれの深度層における RNA/DNA 比は 10 を超えないものがほとんどであり、過去の報告の範囲内であった。RNA/DNA 比と体サイズ (タンパク含量) の間には明確な関係は見られなかった。各深度層から採集した個体の RNA/DNA 比の中央値は表層 (0-500 m) ; 2.39 (n=99)、中層 (500-1000 m) ; 1.30 (n=124)、深層 (1000-2000 m) ; 1.54 (n=198)、深層 (2000-3000 m) ; 1.49 (n=98)、漸深層 (3000-5000 m) ; 0.69 (n=45) であり、その 95% 信頼限界を考慮しても、表層と漸深層の個体間には有意な差が見られた。さらに、対数変換して比較したところ、表層の個体は他の層の個体より高く、漸深層の個体は低かった。中間の 3 層から採集した個体間には有意な差は見られなかった ($p < 0.01$: one-way ANOVA, $p < 0.05$: Bonferroni/Dunn)。 *Neocalanus* 属と *Eucalamus* 属は成長発育に伴い生息深度を変えることが知られている。今回の研究において、*Eucalamus* 属は表層と中層のみ出現したが、*Neocalanus* 属はどの層にも出現し、特に中・深層において高い値の大部分を占めていた。データからこれら 2 属を除外して各深度層の個体を比較したところ、表層の個体は他の 4 層の個体より高く、それら 4 層の個体間には有意な差は見られなかった ($p < 0.01$: one-way ANOVA, $p < 0.05$: Bonferroni/Dunn)。この結果より、表層の個体は中層以深の個体より RNA/DNA 比が高く、成長が活発であることが伺われる。

—今後の予定—

以上より、ETS 活性、核酸量共に属、種別の解析が必要であり、雌雄、発育ステージ別の解析も合わせて、研究を進めていく予定である。

佐野 史和