

Notice on Plankton Seminar

#05024

9:30-11:30, 7 Wed (Dec.), 2005. at #W-203

浮遊性カイアシ類 *Neocalanus* 属 2 種の体サイズと個体群について(仮題)

(修士論文中間発表)

【はじめに】

Neocalanus 属カイアシ類は全世界で 6 種記載されており、そのうち北太平洋亜寒帯では大型植食性カイアシ類 *Neocalanus cristatus*, *N. flemingeri*, *N. plumchrus* の 3 種が出現している。これら 3 種は *Eucalanus bungii* と並び北太平洋亜寒帯域においてバイオマスで優占しており浮魚類をはじめとする高次栄養段階生物の重要な餌資源となっている。そのためこれら 3 種の分布や生活史などを明らかにしていくことは北太平洋の生態系をより深く理解するためには非常に重要であり、分布域や生活史、またサイズ分布が明らかになっている(Tsuda, 2003)。中でも *N. cristatus* とは生活史には差がないが北太平洋の西部域で体サイズが大きくなっている。*N. plumchrus* にも同様な傾向が見られる。*N. flemingeri* は生活史にも違いがあることが指摘されており、オホーツク海や親潮域に分布する大型体長群は 2 年 1 世代、亜寒帯循環域中心に分布する小型体長群は 1 年 1 世代とされている。これらの頭胸長、生活史の違いが生じる要因として、水温や餌濃度があげられている。しかし、これら頭胸長が異なる集団間で交雑が行われているのか明らかではなく、遺伝的因子が体長を決める要因になっている可能性は検証されていない。そこで本研究室では *N. cristatus* について mtDNA 16S rRNA 遺伝子領域(16S rDNA)を用いて海域に固有の個体群が存在するかを検証したが変異が小さく検証は不十分であった(立花 2003)。そのため本研究では 16S rRNA 遺伝子領域よりも変異の早いとされている mtDNA チトクロムオキシターゼ 遺伝子領域(COI)が 16S rDNA よりも *N. cristatus* の種内変異を見積もるのに有効であるか、*N. cristatus* は頭胸長の異なる海域間で地域個体群が存在しているのか、*N. flemingeri* は同海域内の異なる体長群間で差異があるのかを検証した。

【材料と方法】

N. cristatus (コペポダイト 期) 標本は 2003 年 12 月、2004 年 3 月~8 月に釧路沖でプランクトンネットを用いて採集し、また、2004 年 7 月に東部北太平洋亜寒帯(165°W)でも標本を採集した。*N. flemingeri* 標本は 2004 年 6 月から 2005 年 11 月にかけて釧路沖及び下北半島沖で採集した。いずれも標本は 95 %エタノール中に冷蔵保存した。試料は脱エタノール後、頭胸長を測定し、DNA 抽出を行った。プライマー「LCO-1490」および「HCO-2198」を用いて COI 遺伝子領域 710 bp を、プライマー「16S arL」および「16S CB」を用いて 16S rRNA 遺伝子領域 410 bp をそれぞれ DNA を増幅した。得られた増幅産物についてシーケンシングを行い塩基配列を決定した。2 種それぞれについてアライメントを行ったのち、系統樹の作成や 2 検定などを行った。

【結果】

< *Neocalanus cristatus* >

16S rDNA と COI の比較 -

16S rDNA については釧路沖(2004年3月、8月)、東部亜寒帯太平洋(2004年7月)について計26試料。COI については釧路沖、西部亜寒帯太平洋、日本海の計48試料について塩基配列を決定した。16S rDNA では317 bp の塩基配列を決定。遺伝距離が0.8で8つのハプロタイプが見られた。またハプロタイプ間の関係は一つのハプロタイプからほとんどが派生した形をとった。COI では426塩基配列を決定し、遺伝的距離は1.7で25のハプロタイプが確定された。ネットワーク解析を行ったところ大きく3つのグループに分けることができた。以上の結果から *N. cristatus* の種内変異を見積もるのにはCOIの方がより有効であることがしめされた。また、16S rDNA とCOI のハプロタイプを対応させた解析を試みたもののタイプ間の関連が見られずデータベース化には至らなかった。

COI による採集時期と海域間の比較

本研究では海域間で採集時期が異なるため、同海域で採集時期が異なることがどのように影響するかを見積もった。釧路沖の3時期を比較し²検定の結果は、時期が異なっても差異は認められなかった。また頭胸長が大きく異なっている日本海、釧路沖、東部亜寒帯太平洋の3定点で解析を行ったところ大きな差異は見られなかった。以上の結果より、今回のCOIを用いた解析でも、*N. cristatus* の時期や体長、海域による遺伝的な偏りは認められず、従って地域個体群の存在は認められなかった。

< *Neocalanus flemingeri* >

釧路沖で採集した試料は頭胸長によって大型体長群と小型体長群に分類した。大型体長群5個体、小型体長群13個体の解析を行った。COI について607bpを決定し、変異のあるサイトは41あり、14のハプロタイプが確認できた。小型体長群13個体では10つのハプロタイプが見られた。この9つのハプロタイプ間の変異は1%未満である。大型個体群の5個体では5つのハプロタイプが検出された。このうち4タイプは小型体長群で見られたハプロタイプとは大きく異なっていた(4%前後)。また、この4つの間では1.3%の変異が見られた。残りの1タイプは小型体長群で見られたハプロタイプと非常に似通っていた(同一ではない)。COI の同一の場所では種間の差が *N. flemingeri* に対して、*N. cristatus* では18%ほど、*N. plumchrus* とは16%である。また、種内では前述の *N. cristatus* で1.7%であることから、大型と小型間で見られた4%との変異は種内として考えると非常に大きい。しかし、大型体長個体の1個体だけ小型と同様の塩基配列を示していた。この結果から2つの可能性が示唆される： 大型体長群と小型体長群は一部について交雑しており、4%の差があるのは過去に集団が2つ以上に分断されていた時期があることを示すものである。 発育段階査定でミスがあり、大型体長群と小型体長群では同海域内では交雑がなく独立した個体群であることを示すものである。

【今後の予定】

現段階では *N. flemingeri* の大型体長群に小型体長群と近いミトコンドリアのハプロタイプを持つものがいることは一般的傾向なのか、発育段階査定の間違いによるものなのかは不明である。そこで、11月の小笠原航海において下北半島沖で採集した試料解析してこれらのことを明らかにする予定である。