

北部北太平洋外洋域の浮遊性カイアシ類に体表付着する吸管虫繊毛虫類に関する
形態、遺伝子および生態に関する研究 (仮)
(修士論文中間発表)

【はじめに】

吸管虫繊毛虫類は硬い基質への外部付着をする単細胞動物で、沿岸域では海藻や岩等を付着基質としている。いっぽう外洋域では、キチン質を主成分とする硬い外骨格を有する甲殻類を、付着宿主として利用する事が知られている。外洋域では動物プランクトン相に、数的またバイオマスの的に最優占するカイアシ類が吸管虫の宿主として重要で、吸管虫と宿主カイアシ類の間には、特定の種にのみ付着する、宿主特異性があることも知られている。しかし従来の吸管虫に関する研究の大半は、形態分類に関するもので、分子生物学的知見や生態学的知見は乏しいのが現状である。本研究は北部北太平洋に設けた東西観測トランセクトにて、カイアシ類に付着する吸管虫の形態観察と遺伝子配列、吸管虫の付着率の東西変化、種および発育段階に関する宿主選択性を明らかにし、吸管虫の新規付着に関する船上飼育実験も併せて行い、吸管虫がカイアシ類をどのような基準で選定し、利用しているのかについて明らかにすることを目的として行った。

【材料と方法】

2021年7月16日-8月17日にかけて北部北太平洋47°N線に沿った東西観測トランセクトの32測点にて、検鏡試料採集用の目合い335 μmと63 μmのネットと、飼育用の大型コッドエンドを持つ目合い63 μmの2つのネットを装着した4連NORPACネットを、夜間に水深150 mより鉛直曳きした。飼育用として80 cmリングネットの0-150 mまたは0-500 mからの鉛直曳きも行った。検鏡用試料は採集後直ちに5%ホルマリン海水で固定保存した。47°N線に沿った東部、中央部、西部各1点の3測点では、目合い63 μm、開口面積0.25 m²のVMPSによる、水深0-3000 m間を12層に分けた鉛直区分採集も行った。4連NORPACネットと80 cmリングネットの飼育用試料とVMPSによる採集試料は、船上にて生鮮状態で直ちに検鏡を行い、吸管虫の付着したカイアシ類をソートした。ソートされた吸管虫付着個体は、宿主カイアシ類と吸管虫の記録と撮影を行った後、一部を飼育実験に用い、遺伝子解析用の試料として99.5%エタノールにより固定・保存した。また各点において、CTDにより水温、塩分、溶存酸素の測定を行い、採水試料に基づいて栄養塩(硝酸塩、亜硝酸塩、ケイ酸塩、リン酸塩)、Chl. *a*を測定した。遺伝子用試料の採集は2021年9月16日から20日にかけて西部北極海のチャクチ海の6測点においても行った。

吸管虫の分類と同定は倒立顕微鏡下にて、プロタゴール染色、ヘマトキシリン染色標本の明視野観察、およびDAPI染色による蛍光観察(UV励起)により行い、各形態的要素(虫体、大核、柄、触手など)の計測と計数を行った。エタノール固定試料は28SrDNAのD1/D2領域を対象とする遺伝子解析を行った。得られた塩基配列はMaximum Likelihood (ML)法による系統樹を作成した。現場のカイアシ類群集構造を明らかにするため、目合い335 μmネットのホルマリン固定試料中のカイアシ類についてZooScanにより属レベルでカイアシ類の同定と計数を行い、出現個体数密度とバイオボリュームを定量した。また、同試料について実体顕微鏡下での検鏡を行い、船上観察で吸管虫の感染が確認されたカイアシ類(*Metridia*属、*Pleuromamma*属、*Gaetanus*属、*Paraeuchaeta*属、*Candacia*属、*Heterorhabdus*属)について、種および発育段階毎に計数を行い、吸管虫付着の有無の記録と吸管虫の種同定を行った。更にイブレフの選択度指数を用いて吸管虫のカイアシ類雌成体個体を対象とした、宿主選択性を求めた。また航海途中、船上で採集された

Metridia pacifica 雌成体の吸管虫付着個体と非付着個体を用いて、同一個体に吸管虫が再付着するか、また非付着個体への吸管虫の新規付着の有無について、船上飼育実験を行った。

【結果および考察】

北部北太平洋および西部北極海において、浮遊性カイアシ類 11 属 20 種に吸管虫の体表付着が観察された。吸管虫を対象とした形態観察により、カイアシ類に体表付着する吸管虫には 5 属 5 種 (*Paracinetia gaetani*、*Rhabdophrya truncata*、*Acinetia euchaetae*、*Ephelota coronata*、*Phyllacineta new sp.*) が存在し、うち *Phyllacineta* 属の 1 種は新種であった。

28SrDNA の D1/D2 領域を対象とする遺伝子解析により、吸管虫 3 属 3 種 (*P. gaetani*、*R. truncata*、*E. coronata*) の塩基配列が決定した。ML 系統樹において、*P. gaetani* と *R. truncata* には複数のハプロタイプが確認された。しかし両種の各ハプロタイプは、海域および宿主カイアシ類を通して広く分布しており、海域や宿主種に対応したハプロタイプの相違は見られなかった。

北部北太平洋 47°N 線に沿った東西観測に基づく、水深 0–150 m 間における浮遊性カイアシ類の出現個体数密度は 58–1346 ind m⁻³ の範囲にあり、西部では *Metridia spp.* が、東部では *Calanus spp.* が優占していた。バイオボリュームは 58–1051 mm³ m⁻³ の間にあり、西部では *Metridia spp.* が、東経 153 度から西経 165 度にかけてのトランセクト中央部では *Neocalanus spp.* が優占していた。吸管虫の付着がよく見られた宿主カイアシ類として、*M. pacifica*、*Pleuromamma scutullata*、*Gaetanus simplex*、*Paraeuchaeta elongata* の 4 種が挙げられた。しかしこれらの種は、数的及びバイオボリュームの優占種では無く、例えば数的な優占種の *Pseudocalanus* 属や、バイオボリュームの優占種である *Neocalanus* 属や *Eucalanus bungii* に吸管虫の付着は見られなかった。

カイアシ類 *M. pacifica*、*P. scutullata*、*G. simplex*、*P. elongata* の 4 種の雌成体への吸管虫付着率に影響を及ぼす要因として、出現個体数密度と優占水塊との関係を観察したところ、出現個体数密度との間に有意な関係は無かったが、0–150 m 水柱内に水温 4°C 以下のオホーツク海起源と考えられる中冷水の占める割合が、水柱内水塊の 60% 以上を占める海域において、吸管虫付着率は顕著に高くなっていた。吸管虫の付着が確認されたカイアシ類の多くの種では、発育段階として C4 期以降の航季発育段階にのみ吸管虫の付着が見られ、*Candacia columbiae* を除く全ての種において、雌成体への付着率が全ての発育段階を通して最も高かった。このことは、ステージ滞留時間の最も長い雌成体において、吸管虫の付着率が高いことを意味しており、これは脱皮のたびに体表付着している吸管虫は脱落してしまうが、最終発育段階であり、ステージ滞留時間が最も長い雌成体において、付着率が高くなる反映と考えられた。

イブレフの選択度指数は、付着個体数が最も多かった *M. pacifica* を含む 3 属 3 種 (*M. pacifica*、*G. simplex*、*P. elongata*) で選好の傾向 (0 以上) を示し、吸管虫の付着基質として特に好んで選択されていることが示された。これらの付着基質となるカイアシ類に共通する生態学的特徴として、体サイズが大型で、顕著な日周鉛直移動を行い、生活史の中で休眠期を持たない種であることが挙げられた。

飼育実験の結果、飼育中に吸管虫付着個体における吸管虫細胞数の増加や、吸管虫未付着個体への新規の吸管虫付着が観察された。このことは非接触な環境下においても、カイアシ類が高密度で分布する環境下では、新規個体への吸管虫の付着が起こることを示している。