

修士論文内容の要旨

ふりがな	こじま だいき	
氏名	小嶋 大己	
専攻名	海洋生物資源科学専攻	
入学年度	令和3年4月	
指導教員名	主査 今村 央 教授	副査 山口 篤 准教授 副査 松野孝平 助教
論文題目	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 吸管虫繊毛虫類の形態、遺伝子および生態に関する研究	

吸管虫繊毛虫類は硬い基質への外部付着をする単細胞生物で、その生活環は、付着先を探索し自由遊泳を行う *swarmer* と、付着先に定着し摂餌に用いる触手を持つ *trophont* からなる。吸管虫は淡水から海洋にかけて広く分布するが、海洋外洋域では餌である微細藻類の分布が表層に限られるため、キチン質の殻を持つ甲殻類動物プランクトンを付着宿主生物として利用している。特に海洋動物プランクトン群集に個体数とバイオマスの両方において最も優占する浮遊性カイアシ類は、吸管虫の宿主として重要である。北部北太平洋では、吸管虫と宿主カイアシ類の間に、宿主特異性が存在することが知られている。宿主特異性の存在は、吸管虫が宿主に付着する際に、何らかの選択性があることを示唆しているが、吸管虫が宿主カイアシ類をどのような基準で選択しているのかに関しては不明なままである。この基準を明らかにするには、①吸管虫と水理環境の関係、②吸管虫の遺伝子解析、③現場のカイアシ類群集、④飼育実験による観察が有効であると考えられる。これらを踏まえて本研究は、北部北太平洋に設けた東西観測線にて、カイアシ類に付着する吸管虫の形態観察、遺伝子配列、カイアシ類群集および吸管虫の船上飼育実験を行い、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。

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線の32測点にて、目合い335 μm と63 μm のプランクトンネットを夜間に水深150 mより鉛直曳きした。335 μm の採集試料は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 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。目合い63 μm のネット採集試料は、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。吸管虫付着カイアシ類は、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観測と採水による水温、塩分、DO、栄養塩およびChl. *a* の測定を行った。遺伝子解析用の試料は、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測点においても採集した。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、形態的各要素(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28S rDNA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を 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。また航海途上、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、10 日間におよぶ船上飼育実験を行った。

本研究ではカイアシ類 10 属 20 種の体表から、未記載種 1 種を含む 5 属 5 種の吸管虫 (*Paracineteta gaetani*, *Rhabdophrya truncata*, *Ephelota coronata*, *Acineteta euchaetae*, *Phyllacineta* new sp.) が観察された。吸管虫と宿主カイアシ類の間には、吸管虫の種により異なる宿主特異性が確認された。最も様々な宿主カイアシ類に付着していた吸管虫は *P. gaetani* で、カイアシ類 10 属 17 種において付着が見られた。一方、最も宿主カイアシ類が限られていた *E. coronata* は *M. pacifica* にのみ付着しており、種レベルの宿主特異性を示していた。吸管虫の遺伝子解析では種内差異が見られ、ハプロタイプが確認されたが、ハプロタイプに宿主カイアシ類種や海域との関係は無かった。また作成された樹形図は形態観察に基づく既報の系統類縁関係と一致していた。しかし、既報の遺伝子解析による系統類縁関係と、形態観察に基づく系統類縁関係には不一致があり、今後も更なる研究が必要であると言える。

本研究において吸管虫の付着は、カイアシ類群集において数的に優占する *Pseudocalanus* 属や、バイオマスに優占する体サイズの大きい *Neocalanus* 属には見られず、吸管虫の宿主選択に際し、出現個体数の多寡や体サイズは重要な選択基準では無いことが示された。一方、吸管虫の付着が見られたカイアシ類のうち、個体数密度において多い種は *M. pacifica*、*G. simplex*、*P. scutullata* および *P. elongata* の 4 種であった。これらの宿主カイアシ類には共通する生態があり、深海性種、または顕著な日周鉛直移動を行う種であった。肉食性種には粒子食性種よりも多くの吸管虫の種が付着していた。吸管虫の付着率は後期発育段階で高く、吸管虫の付着率と宿主カイアシ類の出現個体数の間に関係性が見られなかったが、吸管虫の付着率は低温な中冷水が表層 0-150 m に占める割合が 60%以上の海域にて高かった。これらの特徴は、体表付着生物の吸管虫にとって、カイアシ類の脱皮は剥脱を伴う致命的な事象で、低水温条件下でステージ滞留期間が長く、脱皮による剥脱までの期間が長い後期発育段階に付着していることの反映と考えられた。

また、吸管虫の付着が見られなかった大型な *Neocalanus* 属は、春～夏季に表層で成長し、秋～冬季には深海へ潜る。生活史の中で休眠期を持つ種であることを考慮すると、深海での長期間の休眠期を持つカイアシ類種は、吸管虫が宿主カイアシ類の休眠期に、餌の多い表層を利用できないため、吸管虫の付着宿主として選ばれていないと解釈された。一方で、肉食性カイアシ類に複数種の吸管虫の付着が見られたことは、他の動物プランクトンから捕食されにくいいため、様々な吸管虫の種から宿主として選択されていたと考えられた。

飼育実験により、吸管虫 *P. gaetani* の同一宿主個体上への新規付着は 1 日単位で起こり、定着から trophont までの成長を 24 時間以内に行うことが可能なことが示された。新規宿主個体への付着は、個体間が非接触な環境下でも可能であったが、その新規付着には 7-8 日と長い時間がかかり、これは吸管虫 swarmer の遊泳能力が低いためであると考えられた。

これらの飼育実験と遺伝子のハプロタイプが種間や海域で共通していたことから、吸管虫は深海に分布し、日周鉛直移動を行い、ステージ滞留時間が長く、捕食されにくい種に付着し、これらの生態学的特徴を持つカイアシ類の後期発育段階の間を行き来する生活史を持つと考えられた。