ノート

動物プランクトンおよび卵の孵化に対する
圧力の影響測定用高圧システム

A New Hydrostatic Pressure Apparatus for the Study of Zooplankton throughout Its Life History

清水 昭夫*

Akio SHIMIZU*

吉木 朝子

Tomoko YOSHIKI

戸田 龍樹

Tatuki TODA

A hydrostatic pressure apparatus for the study of zooplankton throughout its life history from egg to adult was developed. The feature of this apparatus is as follows. (1) Pressure increases gradually. (2) A maximum of nine zooplanktons or their eggs can be observed independently at once. (3) This apparatus is small and easy to carry. The influence of pressure on the egg-hatching of *Calanus sinicus* was investigated using this system. The egg-hatching success decreased significantly with increasing pressure. Eggs would not survive if they did not hatch with the depth of water of 100 m or less.

[pressure apparatus, zooplankton, eggs-hatching, in-situ observation, hydrostatic pressure cell]

1. はじめに

海洋では深度が 10 m 増す毎に圧力が 0.1 MPa 増加するため海洋生物は海洋で数気圧の圧力を受けている。その中でも鉛直移動を行う生物は広範囲の圧力に適応している。従って、海洋生物の卵の発生や成長に対する圧力（深度）の影響を系統的に調べることは生態学にとって非常に重要なテーマの 1 つである [1]。このようなテーマに関心がある研究者にとっては多くの高圧研究者が必要としている数 100 MPa 以上の高圧力は必要なく、15 MPa 加圧出来れば十分である。海洋生物を試料とする場合、鮮度が重要で現場で試料採取後すぐに実験を行うことが重要である。従って、小型で持ち運び性に優れ、操作が簡単でメンテナンス性の良い装置が要求される。そこで、今回我々は海洋の表層から中層に生息する動物プランクトンおよびその卵に対する圧力の影響を観測するための小型で持ち運び性に優れた高圧システム（20 MPa の耐圧設計）を製作した。

2. これまでの装置の問題点

これまでの装置の問題点として（1）多くの場合手動ポンプを用いるため試料に急激に圧力がかかる [2-7]。（2）圧力容器が金属製でそこから溶け出す金属イオンの試料への影響が考えられる [3, 6-8]。（3）海水を使うと圧力容器がさびる可能性がある。（4）複数の個体を同時に一つの容器に入れるとお互いの干渉する可能性がある。（5）高圧容器、加圧ポンプ、圧力ゲージ等の接続部に金属製ボルトとナットを用いるために接続時に手で簡単にセットすることが出来ず、持ち運んで測定する上で不便である事が上げられる。

3. 装置の改良点

まず、問題点（1）の急激な圧力増加をさけるため、およびプランクトンや卵のゆっくりとした上下移動運動を再現するために連続的にゆっくりと圧力を変化させる事が出来る電動の送液ポンプを用いる事にした。20 MPa まで加圧する必要があるため高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の送液ポンプ

〒192-8577 東京都八王子市丹木町 1-236 創価大学工学部 環境共生工学科

Department of Environmental Engineering for Symbiosis, Faculty of Engineering, Soka University, Tangi-cho, Hachioji, Tokyo 192-8577

*Electronic address: shimizu@t.soka.ac.jp

を用いた。この送液ポンプは圧力を直接制御することはできないが送液量を正確に制御可能であるため送液量を制御することで圧力を緩やかに連続的に制御することが可能となった。(2), (3), (4) に対してはアクリル製の内部セルを用いることで解決した。内部セルは Fig. 1 に示したように 3 つの部品で構成される。まず、試料室は数個の穴を開け、それにアクリル板を貼り合わせそれぞれの穴に試料の動物プランクトンあるいは卵を入れるようにした。穴のサイズは試料により直径 1~5 mm 程度に変えることが可能である。次に海水を入れるためのシリコンチューブ、最後にアクリル製のストッパーで構成される。この内部セルを用いることにより 5 mm 以下の幅広いサイズの動物プランクトンおよび卵を一度に最大 9 個それぞれ干渉しないように独立に観測することが可能となった。高圧容器図およびシステムの全体図を Fig. 2 および Fig. 3 に示した。(5) に関

しては高圧容器と送液ポンプのジョイントに PEEK 素材のチューブとネジを用い、金属製と違い工具を使わないで高圧容器、HPLC、圧力ゲージを手で簡単に接続することが可能となった。また、高圧容器の周りは液体が循環できるようにして -20℃ から 80℃ まで自由に試料温度を設定できるようにした。高圧容器の両側は硬質ガラス窓を取り付け、一方には観測の CCD カメラ、もう一方には内部を照らすためのライトを差し込んで固定できるようにした。直径 7 mm 程度の CCD カメラと LED ライトが安価で販売されているため改造しないでそのまま使用し、CCD カメラからの画像はコンピュータに取り込みハードディスクに記録して解析できるようにした。Fig. 4 に高圧容器内にセットした内部セル中の卵の写真を示した。

4. 実験結果

本装置を用いて日本海沿岸域に生息し、成体が表層から深度約 150 m に生息する *Calanus sinicus* の卵の発生に与える圧力の影響を調べた。その結果、0.1 MPa の条件下で卵発生育速度は、1988 年に Uye[9] らが報告した結果と非常に良く一致し、装

Fig. 1. Block diagram of a specimen holder.

Fig. 2. High pressure chamber configuration.

Fig. 3. A photograph of the current portable high pressure apparatus.

Fig. 4. A photograph of eggs in the specimen holder set in the high pressure chamber.

置に問題がないことが確認出来た。さらに高い圧力環境下での *C. sinicus* の卵発生速度は 10 MPa 程度の圧力では大きな影響を受けない事が分かった。ここで、卵発生速度とは卵が親によって産卵されてから、孵化するまでに要する時間のことを示す。一方、孵化率は加圧に伴い減少する事が明らかとなった。1 MPa 以上の圧力下で孵化したほとんどの *C. sinicus* は奇形であり、表層から 100 m 以浅に孵化しなければ卵が正常に成長しないことが明らかとなった。

5. おわりに

本システムの恒温槽以外はコンパクトで、1つのケースにまとめて1人で持ち運びが可能であるという利点を持っている。現在までに、すでに宮城沖の海洋調査船上で約1ヶ月、南極海の船上で約3ヶ月実験を行った結果、持ち運び性や操作性に優れており、高圧研究の専門家でなくても容易に実験を行う事が可能である事が確認できている。今後、この装置を用いて様々な種の小型動物プランクトンおよび

卵に対し、卵の孵化率や成長過程に対する深度（圧力）の影響を明らかにすることが可能となった。

参考文献

- [1] A.G. Macdonald: Comp. Biochem. Physiol., **116A**, 291 (1997).
- [2] B.W. Belman, M.S. Gordon: Mar. Biol., **50**, 275 (1979).
- [3] M.S. Gordon, T.J. Thomas: Mar. Biol., **28**, (1974).
- [4] I.B. Quetin, J.J. Childress: Deep-Sea Res., **27A**, 383 (1980).
- [5] R.M. Ross, L.B. Quetin: Deep-Sea Res., **32**, 799 (1985).
- [6] F. Pradillon, B. Shillito, J.-C. Chervin, G. Hamel, F. Gaill: High Press. Res., **24**, 237 (2004).
- [7] J.M. Teal, J.F.G. Carey: Deep-Sea Res., **14**, 725 (1967).
- [8] W.J. Jannasch, C.O. Wirsen, K.W. Doherty: Appl. Environ. Microbiol., **62**, 1593 (1996).
- [9] S. Uye, C. Huang, T. Onbe: Mar. Biol., **104**, 389 (1990).

[2006年7月31日受理]

© 2006 日本高圧力学会