

学際連携研究報告書

平成 2 7 年度

東京大学 大気海洋研究所

はじめに

学際連携研究は、平成23年度より開始した公募型の共同研究事業である。本共同研究では、全国の個人またはグループの研究者と本研究所の教員が協力して、海洋や大気に関わる基礎的研究および地球表層圏の統合的理解の深化につながる研究を実施する。特に、複数の学問分野の連携による学際的な共同研究の推進を目指すことから、「学際連携研究」と名付けられた。本共同研究には以下の二つの形態がある。

(1) 特定共同研究

本研究所が提案し、地球表層圏変動研究センターが中心となって計画的に推進する特定共同研究課題について、所内の研究グループと所外の研究者が協力して進める共同研究。

(2) 一般共同研究

全国の個人またはグループが提案する研究テーマについて、所外と所内の研究者が協力して進める共同研究で、本所の研究目的に貢献が期待できるもの。新しい研究の展開のきっかけとなるポテンシャルを秘めた萌芽的あるいは試行的研究を歓迎する。また、新規プロジェクトの立案にむけてのフィージビリティ研究（打ち合わせ会議や予備調査の実施などを含む）も審査の対象とする。

平成27年度の実績は、特定共同研究の応募数が4件（同採択数1件）、一般共同研究の応募数が10件（同採択数9件）であった。

本冊子は、平成27年度採択課題の成果報告をまとめたものである。関連分野の研究者の皆様に有効にご活用いただけると幸いである。

東京大学大気海洋研究所
共同利用運営委員会
学際連携研究部会

平成27年度学際連携研究 一覧

【特定共同研究】

番号	申込者氏名	所属機関	役職	研究課題	大気海洋研究所 共同研究教員
1	田所 和明	水産総合研究センター東北水産研究所	主幹研究員	親潮・黒潮移行域における海洋プランクトン相の広域的な分布・動態の実態解明とモデル化	伊藤 幸彦

【一般共同研究】

番号	申込者氏名	所属機関	役職	研究課題	大気海洋研究所 共同研究教員
1	大木 淳之	北海道大学大学院水産科学研究院	准教授	北海道噴火湾および沿岸親潮域での無機－有機ヨウ素の時系列観測	小畑 元
2	岩田 恵理	いわき明星大学科学技術学部	教授	ニギスをモデルとした小型底魚類の生活史解明に向けた生態学的研究	猿渡 敏郎
3	岩本 洋子	東京理科大学理学部第一部	嘱託助教	マイクロレイヤーに含まれる粒子状物質の海洋大気エアロゾルへの寄与	浜崎 恒二
4	小糸 智子	日本大学生物資源科学部	助手	熱水噴出域における硫化水素濃度と生物分布の関係の解明	井上 広滋
5	広橋 教貴	島根大学生物資源科学部附属センター海洋科学部門	准教授	イカ類における精子進化と貯精・受精メカニズム	岩田 容子
6	水川 薫子	東京農工大学女性未来育成機構	助教	沿岸環境汚染モニタリング媒体としての二枚貝の種差特性の検証	白井 厚太朗
7	田副 博文	弘前大学被ばく医療総合研究所	助教	海洋魚類の脊椎骨のネオジウム同位体比分析による回遊経路推定手法の確立	白井 厚太朗 北川 貴士
8	橋岡 豪人	海洋研究開発機構	研究員	太平洋の広域観測データに基づく新たな窒素固定モデルの開発	伊藤 進一 伊藤 幸彦
9	松石 隆	北海道大学大学院水産科学研究院	准教授	放射性炭素同位体比・安定同位体比測定を組み合わせた鯨類の生態学研究	横山 祐典 永田 俊 宮島 利宏

目次

学際連携研究報告書

【特定共同研究】

1. 親潮・黒潮移行域における海洋プランクトン相の広域的な分布・動態の実態解明とモデル化

【一般共同研究】

1. 北海道噴火湾および沿岸親潮域での無機－有機ヨウ素の時系列観測
2. ニギスをモデルとした小型底魚類の生活史の解明に向けた生態学的研究
3. マイクロレイヤーに含まれる粒子状物質の海洋大気エアロゾルへの寄与
4. 熱水噴出域における硫化水素濃度と生物分布の関係の解明
5. イカ類における精子進化と貯精・受精メカニズム
6. 沿岸環境汚染モニタリング媒体としての二枚貝の種差特性の検証
7. 海洋魚類の脊椎骨のネオジム同位体比分析による回遊経路推定手法の確立
8. 太平洋の広域観測データに基づく新たな窒素固定モデルの開発
9. 放射性炭素同位体比・安定同位体比測定を組み合わせた鯨類の生態学研究

親潮・黒潮移行域における海洋プランクトン相の広域的な 分布・動態の実態解明とモデル化

The study of analysis and modeling of distribution and eco-dynamics of marine plankton community in the Oyashio and Kuroshio-Oyashio Transition waters

田所 和明, 水産研究・教育機構 東北水産研究所, E-mail: den@affrc.go.jp

岡崎 雄二, 水産研究・教育機構 東北水産研究所, E-mail: okazakiy@affrc.go.jp

伊藤 幸彦, 東京大学大気海洋研究所, E-mail: itohsach@aori.u-tokyo.ac.jp

Kazuaki Tadokoro, Tohoku National Fisheries Research Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency

Yuji Okazaki, Tohoku National Fisheries Research Institute, Japan Fisheries Research

and Education Agency Sachihiko Ito, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Seasonal variation of mesozooplankton community was investigated by using the samples collected at A-line monitoring transect. Observation stations were classified into two groups as communities of Oyashio and Kuroshio-Oyashio transition waters. In the Oyashio water, large calanoid copepoda such as *Neocalanus* spp. was important from spring (May) to summer (July). In the Kuroshio-Oyashio transition waters, large calanoid copepod was also important until spring (May), however small copepod increases after summer. The based on the analysis of the mesozooplankton samples collected around Japan, observation stations were classified into three communities as subtropical, coastal-transitional, and subarctic in spring. On the other hand, the stations communities were classified into two communities as subtropical, coastal-transitional, and subarctic in spring. The horizontal distribution of the communities significantly changed between two seasons.

1. はじめに

海洋の水産資源は局地的な一次生産で決まっているのではなく、個体、回遊、様々な環境のもとで必要な餌を選択し、成長、生残、再生産に至るプロセスが重要である。このように対象生物の生活史を通して水産資源研究を完遂させる上で、海洋物理場の複雑さと生態系の多様性が高いハードルとなっており、これらの問題に取り組む研究の必要性が高まっている。親潮・黒潮移行域は、我が国の重要な水産資源であるイワシ類やサンマ、サバ類の稚仔魚が回遊する水域であり、そこでの生残が資源量変動に大きく関わっていると考えられている (Watanabe et al., 1995)。プランクトンはそれら水産資源にとって重要な餌料生物であり生残にも関係していることから、本研究の取り組みは我が国の社会・経済にとって非常に意義が大きい。また生物多様性を扱うことのできる自然選択モデルは、現在国際的にも非常に注目されており、各国で開発が進んでいるが、我が国では未だ少数にとどまっている。また現場データと比較する応用的研究は世界的にもまだ少ない。

2. 問題設定・方法

フィールドおよび実験データの解析から、親潮・黒潮移行域の動物プランクトンを中心としたプランクトン相の分布や生態特性を明らかにし、これらの知見をもとに環境に応じたプランクトン相の自然選択性および生活史をモデル化する。そのために東北水産研究所で収集・管理している動物プランクトンデータの解析および動物プランクトン試料の分析を行う。分析は検鏡および卓上型ビデオプランクトンレコーダーを用いる。これらを環境データと併せて解析することで分布、成長および死亡に関わる特性をより詳細に明らかにし、環境との関係について種毎の特性を調べる。さらに過去に行われた研究を調査することによって、親潮・黒潮移行域に隣接する水域におけるプランクトンの分布について整理し、環境要因との関係について種毎の特性について必要な知見を取得する。

さらに、プランクトン相の自然選択性と生活史のモデルを

開発するために、メタ特性としてサイズと食性特異性を考慮することにより、黒潮親潮移行域のカイアシ類分布を再現する1次元モデルの開発を行う。

3. 結果と考察

水産研究・教育機構が親潮・黒潮移行域に設置しているモニタリング定線「A-line」において、2010年から2013年の1、3、5、7、10月に採集した動物プランクトン試料を種レベルで調べることで群集構造の季節変動を調べた。まず、種組成用いてクラスター解析を行った。その結果、いずれの年でも各月で親潮、混合域群集の二つに区分することができた。次に群集組成の平均的像を調べるために、月毎に4年間の平均値を求めた。その結果、主要な種は、親潮では1月から7月の間は大型のカラヌス目が多くを占めた。そのなかで1月から3月までは *Neocalanus flemingeri*, *N. cristatus*, *Metiria Pacific* および *M. lucens* が多く見られた。5月と7月では大型のカイアシ類である *N. plumchirus* と *Eulalanus bungii* および *P. newmani* が増加した。10月にも引き続き *P. newmani* は多く出現したその他に、大型のカラヌス目の種である、*Calanus pacificus*、小型で暖水性のカイアシ類である *Ctenocalanus vanus*、ウミタル類の *D. nationalis* が多く出現した。混合域でも1月から3月までは、概ね親潮と同様の種が多く見られた。5月も親潮と同様に *E. bungii* と *N. plumchirus* が多く出現したが、*C. vanus*、*Mesoclanus tenuicomis*、*D. nationalis* 等が多く出現した。7月には *C. vanus*、*Clausocalanus prapargensis* の他、尾虫類2種、枝角類1種が多く出現した。10月には小型の暖水性のカイアシ類である上位を占めた。

次に日本周辺水域のメソ動物プランクトンの群集構造を明らかにするために、2012年4月と11月に、卵稚仔調査の一環で採集した標本を種レベルで分析した。各観測点の種組成データをクラスター解析した結果、日本周辺水域のカイアシ類群集は、亜寒帯群集、沿岸・移行域群集、亜熱帯群集に区別されることが明らかとなった。そのなかで亜熱帯群集は、4月、11月共に広く日本周辺に分布するが、さらに詳細に分けると、4月と11月でクラスターが区分することができた。

即ち亜熱帯群集は4月と11月で組成が異なることが明らかとなった。これは前述した A-line での結果において、親潮・黒潮移行域の種組成が季節によって変化することと一致している。また11月では亜熱帯群集は日本周辺で広域に分布するが、その生物多様性は南で高く北で低い、南北勾配があることが明らかとなった。以上から、日本周辺水域ではメソ動物プランクトンの群集構造の水平分布は、季節によって大きく変化することが明らかとなった。このような季節的な変動、暖流である黒潮および寒流である親潮の影響を受け、さらに季節的な温度変化が大きいため生じると考えられた。

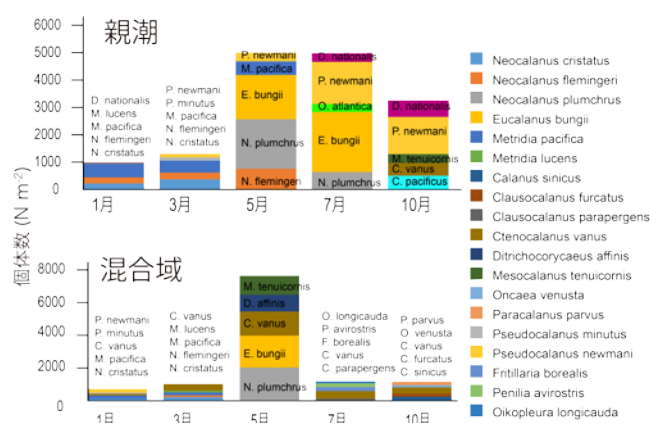


図1 A-line 上の親潮および混合域群集組成の季節変動。各月で出現個体数が上位5位の種の個体数を示している。

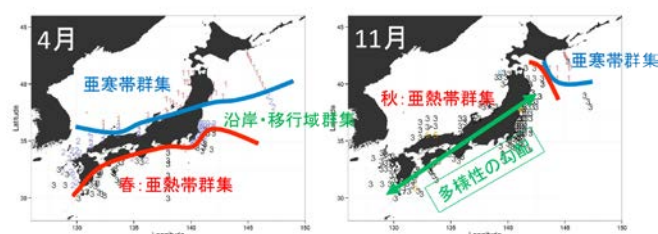


図2 2012年4月と11月に得られたサンプルを一斉分析した結果に基づいた、日本周辺水域のカイアシ類群集の水平分布。プロットした数字は、その採集位置と各観測点（1：亜寒帯、2：沿岸・移行域、3：亜熱帯）が属する群集を示す。

4. まとめと今後の展望

これまでの研究で、三陸沖のカイアシ類の生物多様性は水域によって大きく異なる事が明らかとなった。即ち東北沖から中部北太平洋では非常に生物多様性が高い一方で、東へ行くに従って低くなるといった東西での勾配が見られた。また A-line での調査では、親潮・親潮・黒潮移行域の動物プランクトン群集の構造は季節的に顕著に変化することが明らかとなった。さらに日本周辺水域を対象を拡張すると、メソ動物プランクトンの群集は、亜熱帯群集、沿岸・移行域群集、亜寒帯群集に区分でき、その水平分布は、季節によって大きく変化することが明らかとなった。このような季節的な変動、

暖流である黒潮および寒流である親潮の影響を受け、さらに季節的な温度変化が大きいため生じると考えられた。さらに自然選択のテストモデルによって、植食性の動物プランクトンに対しては、餌要求水準や代謝過程、寿命をサイズ依存の関数で与えることで、亜熱帯／亜寒帯、沿岸／沖合のコントラストを再現可能であることが示唆された。

今後は、海洋プランクトン相の広域的な分布の地理的な変化の要因についてMDS解析等を用いることで、環境要因と併せて解析を行う予定である。さらに自然選択モデルの開発としては、東大気海洋研究所で開発した太平洋渦解像3次元海洋循環+低次生産（NPZD）モデルの出力を用いて、海域を固定した1次元モデル結果が物理的な移流・混合によりどう変質するか、また出現種数等の分析結果とどのように整合するかについての検討を継続的に行っていく予定である。

参考文献

- (1) Wantanabe, Y., H. Zenitani and R. Kimura (1995) Population decline of the Japanese sardine *Sardinops melanostictus* owing to recruitment failures. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 52: 1609-1616

北海道噴火湾および沿岸親潮域での無機 - 有機ヨウ素の時系列観測

Time-series observation of organic and inorganic iodine compounds in coastal water of the Funka Bay, Hokkaido.

大木 淳之, 北大院・水産, E-mail: ooki(at)fish.hokudai.ac.jp
小畑 元, 東大・大気海洋研, E-mail: obata(at)aori.u-tokyo.ac.jp
森 綾直, 北大・水産, E-mail: ayane-m(at)ec.hokudai.ac.jp

Atsushi Ooki, and Ayane Mori, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University
Hajime Obata, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Most of iodine species are dissolved in seawater as inorganic iodine (IO_3^- and I^-). Marine plants take dissolved inorganic iodine species as a trace nutrient. The production of volatile organic iodine compounds (VOIs) by marine biota drive iodine cycles in the surface layer of the earth. Recent studies implied that the total flux of very short-lived VOIs, such as diiodomethane (CH_2I_2) and chloriodomethane (CH_2ClI) has the dominant iodine flux to the atmosphere. In the Funka-Bay, an inner bay of Hokkaido, Japan, we conducted shipboard observations every two months from 2012 to 2014. The CH_2I_2 concentrations in subsurface layer were sharply increased from April to June after algal bloom every year. In the bottom layer water, the $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$ concentrations increased from April to June, and the IO_3^- concentration decreased from June to August. It is implied that IO_3^- reduction occurs in the bottom sediment in association with denitrification in the sediment in April - August.

1. はじめに

地球表層で動的なヨウ素の大部分は海水中に存在し、海洋植物が無機ヨウ素を摂取することにより海洋生態系に取り込まれる。そして、海洋植物由来の有機ヨウ素ガスが大気へ揮散することで、大気や陸域にもヨウ素が供給される。我々の事前調査(2012年実施)により、北海道噴火湾では有機物の分解が進行する5月以降に、有機ヨウ素ガスの一種であるジヨードメタンの濃度が2千倍にも増える現象を捉えた。このような有機ヨウ素の劇的な変化の前兆として、無機ヨウ素の動態も大きく変化していたことが推測される。この事象を解明することが沿岸域におけるヨウ素循環の理解につながると考えた。海洋のヨウ素動態を扱った従来研究では、ある限られた時期に行われたスナップショット的な観測がほとんどであった。また、時系列的に同じ場所で観測したとしても、海水は海流により常に移動してしまうので、ある海水の質の変化を数カ月間追うのは困難であった。いっぽう、半閉鎖的な噴火湾には年2回外洋水が流入して水塊が入れ替わることが知られており、湾内に海水が停滞する数カ月間(3~8月、10~2月)は時系列で同一水塊を追うことができる(大木ら, 2013)。噴火湾は半閉鎖的といっても、生物生産性は外海に面した一般的な沿岸域と同じくらいである。したがって、沿岸域におけるヨウ素の化学形態変化を時系列で追うには、噴火湾をモデル海域とするのが最適といえる。

2. 方法

ボルタンメトリー法による無機ヨウ素と全ヨウ素分析の検討

カソーディック (陽極)・ストリップング (電極剥がし)・ボルタンメトリー (電気化学的分析法) は、水中のヨウ化物イオン (I^-) を水銀電極に掃引してヨウ素分子 (I_2) として固定し、その後、 I_2 を I^- に戻すときに生じる電流を計測する手法である。実験条件や前処理法は Campos et al. (1997) に従った。水中のヨウ素酸イオン (IO_3^-) の濃度を求めるときは、 IO_3^- をアスコルビン酸で還元したのち I^- にして同様に計測する。水中の I^- 濃度は安定して測定できたが、 IO_3^- 濃度が想定される濃度より低い問題が生じた。Campos et al. (1997) では、試水に還元剤 (アスコルビン酸) と塩酸 (HCl ; 6 M) を入れる順番は明記されていなかったが、 HCl を先に入れると水中の全無機ヨウ素が損失する傾向にあった。その理由として、海水に HCl を加えると、 I^- と IO_3^- から I_2 が発生し、溶存有機物と I_2 が反応して損失することが考えられた。試水にアスコルビン酸を添加し攪拌してから HCl を加えれば、発生する I_2 のほとんどがアスコルビン酸と反応するので損失は抑えられた。試水に紫外線を照射して全ヨウ素 (全無機ヨウ素と有機ヨウ素) の濃度を求める実験でも、全ヨウ素濃度が全無機ヨウ素に比べて低くなる問題が生じた。その理由として、紫外線強度が弱く有機物の分解が足りないこと、紫外線照射中に I_2 が発生して容器内壁に付着した可能性が考えられた。そこで、低圧紫外線ランプで UV-C を照射し、試料水を入れる容器

を石英蓋で気密することにした。紫外線照射後に、アスコルビン酸と HCl を入れて攪拌し、壁面に付着した I_2 を全て I^- に還元させた。この操作により、全ヨウ素濃度が無機ヨウ素濃度よりも低くなる問題は解決された。

海洋観測

噴火湾で2ヶ月毎に海洋観測を実施して、表面から底層まで海水を鉛直的に採取した。表面海水はバケツ採水、水深 5 ～85m (or 90m) はニスキン採水器、海底直上 50cm の底層水はバーンドーン採水器を用いて採取した。試料海水中の無機ヨウ素 (I^- と IO_3^-) と有機ヨウ素ガスの濃度を測定した。一部サンプルのみ、全ヨウ素 (紫外線照射による有機物分解) の分析を行った。有機ヨウ素ガス濃度はパージ&トラップーガスクロマトグラフ質量分析法で測定した。無機ヨウ素はボルタンメトリー法にて測定した。一般項目として、塩分、水温、クロロフィル a (蛍光法)、栄養塩類 (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , SiO_2 ; 比色法)、溶存酸素 (O_2 ; ウインクラー法) を測定した。

3. 結果と考察

2013 年 4～12 月の噴火湾海盆地 (St. 30) 底層水の無機ヨウ素と溶存酸素の濃度を表 1 にまとめた。溶存酸素 (O_2) は 4 月以降、8 月まで濃度の減少が続いた。噴火湾では例年 2～4 月に珪藻ブルームが起り、多量の有機物が海底に堆積する。4 月以降は海底堆積物中で有機物が分解して酸素の消費が起るためである。底層水の IO_3^- 濃度は、4 月から 10 月まで低下を続けた (427 nmol/l → 75 nmol/l)。外洋水の IO_3^- 濃度は 450～500 nmol/L で鉛直・季節的に様なの一般的なであるが、噴火湾底層では有機物の分解が卓越する時期に著しく濃度減少することが明らかになった。これまでの研究により (Hioki et al., 2015)、噴火湾海盆地の堆積物中では 6～8 月に有機物分解により酸素濃度が低下して、貧酸素化における脱窒反応 (生物作用による NO_3^- 還元) が起こることが示唆されている。過去の研究により、 NO_3^- 還元と IO_3^- 還元の酸化還元電位は近いから、硝酸還元酵素により IO_3^- が還元されることが示されている (Tsunogai and Sase, 1969)。噴火湾底層で有機物分解期に IO_3^- 濃度が著しく低下したのは、貧酸素化した堆積物中での NO_3^- 還元と同時に IO_3^- 還元が起こったことが原因と考えられた。噴火湾底層水中の I^- 濃度は、4～8 月は 86 ～90 nmol/l と一様であったが、 IO_3^- 濃度が最低を記録した 10 月に、 I^- 濃度が最高 (141 nmol/l) となった。堆積物中でバクテリアが IO_3^- を取り込み還元し、その後、 I^- が水中に供給さ

れた可能性がある。6 月の底層水中の全ヨウ素を測定したところ、全無機ヨウ素 ($I^- + IO_3^-$) の濃度とあまり変わらない結果が得られた。いっぽう、2015-2016 年のサンプルで有機ヨウ素ガス成分のヨードエタン (C_2H_5I) を測定したところ、兩年とも 2 月は鉛直様に濃度が低く (～0.5 pmol/l)、4 月から 7 月にかけて底層水のみで濃度が上昇した (1 → 6 pmol/l)。 C_2H_5I の濃度上昇は、栄養塩再生のタイミングと一致しており、有機物分解と C_2H_5I 発生の関連が示唆された (Shimizu et al., 投稿中)。

表 1. 2013 年 (Apr – Dec) の噴火湾底層水中濃度

	Apr	Jun	Aug	Oct	Dec
I^- (nmol/l)	86	90	88	141	73
$I^- + IO_3^-$ (nmol/l)	513	276	210	216	354
IO_3^- (nmol/l)	427	186	122	75	281
O_2 (ml/l)	6.0	4.3	1.5	3.5	4.9

4. まとめと今後の展望

有機物の分解が卓越する時期に、噴火湾海盆地の底層水中で IO_3^- 濃度が著しく低下する現象が捉えられた。 IO_3^- 濃度の最低を記録した 10 月に、 I^- 濃度の最高を記録した。噴火湾海盆地の堆積物中では、有機物分解が進行する 6～8 月に貧酸素化して脱窒反応 (NO_3^- 還元) が起こることが示唆されている。硝酸還元酵素は IO_3^- も還元することが示されていることから、堆積物中での NO_3^- 還元に伴い IO_3^- 還元が起こっていることが考えられた。底層水中では、全ヨウ素 (無機+有機) 濃度が上昇することは捉えられなかったが、有機ヨウ素ガスの一種であるヨードエタン (C_2H_5I) は有機物分解期に底層水中で濃度が上昇することが明らかになった。堆積物中での NO_3^- 還元や IO_3^- 還元と C_2H_5I 発生に何らかの関係があるのかもしれない。2016 年 3 月には、噴火湾での珪藻ブルーム時に、ノルパックネットにより海水中の粒子状有機物 (珪藻凝集物) を集めた。このような珪藻凝集物が海底に堆積してから、上記の反応が進むと考えられる。珪藻凝集物を培養 (有酸素、無酸素) して、無機ヨウ素の化学形態変化と有機ヨウ素ガス発生の関係を室内実験により明らかにする予定である。

参考文献

(1) Hioki et al., Regeneration dynamics of iron and nutrients from bay sediment into bottom water of Funka Bay, Japan, J. Oceanogr., 71(6), 703-714, 2015, doi: 10.1007/s10872-015-0312-6.

(2) Tsunogai and Sase, Formation of iodide -iodide in ocean, Deep-Sea-Res., 16, 489-496, 1969, doi:10.1016/0011-7471(69)90037-0

ニギスをモデルとした小型底魚類の生活史解明に向けた生態学的研究

Ecological study for the elucidation of the life cycle of the small bottom fish which assumed *Glossanodon semifasciatus* a model

岩田恵理, いわき明星大学, E-mail: asealion@iwakimu.ac.jp

柳本 卓, 水研セ中央水研, E-mail: yanagimo@affrc.go.jp

梨田一也, 水研セ中央水研, E-mail: knashi@affrc.go.jp

猿渡敏郎, 東大・大気海洋研, E-mail: tsaruwat@aori.u-tokyo.ac.jp

Eri Iwata, Iwaki Meisei University

Takashi Yanagimoto, National Research Institute of Fisheries Science, Yokohama, FRA

Kazuya Nashida, National Research Institute of Fisheries Science, Yokohama, FRA

Toshiro Saruwatari, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

For elucidation of reproductive cycle, histological observation of gonad and measurements of plasma sex steroids were conducted in *Glossanodon semifasciatus* collected in Suruga Bay from April 2014 to October 2015. Neither annual seasonal cycle nor sex differences were found in the plasma concentrations of estradiol and 11-ketotestosterone. Regardless of the body parameters and sampling date, histology of the gonads showed a variety of maturity. It was considered that *G. semifasciatus* spawn annually in Suruga Bay. The genetic population structures of *G. semifasciatus* and *Argentina kagoshimae* around Japan were investigated using nucleotide sequences of the mitochondrial COI region. No genetic variations on *G. semifasciatus*, whereas *A. kagoshimae* was divided into two clades, which indicates misidentification of the species to other species.

1. はじめに

ニギス (*Glossanodon semifasciatus*, Argentinidae, Teleostei) は日本周辺における水深 100-300m に分布する小型底魚で、年間 4 千-5 千トン漁獲されている⁽¹⁾。干物や練り製品などに利用される重要魚種であり、沖合底曳き網漁船や小型底曳き網漁船などで漁獲されている。資源量の大きさから、ニギスはプランクトンの捕食者として、また大型底魚類の餌生物として、生態学的に重要な魚種でもあるが、資源生物学的な情報は少ない。そのため、資源生物学的、群集生態学的、かつ保全生態学的な知見に基づきニギス資源を管理する必要がある。そこで本研究では、ニギスの集団構造や繁殖生理を研究することにより、駿河湾におけるニギスの底魚群集における位置を明らかにして、資源管理に有益な情報を提供することを目的とした。また、小型底魚類の生態学的な研究のモデルケースになることも想定して、研究を行った。

2. 問題設定・方法

(1) ニギスの繁殖生態の解明

駿河湾に生息するニギスの繁殖生態を明らかにするために、2014 年 4 月から 2015 年 10 月に漁獲されたニギスから船上で採血を行った。血液は下船後に血漿を回収し、-20 度で保存した。血漿は、酵素抗体法を用いてエストラジオール (E₂) および 11-ケトテストステロン (11-KT) 濃度を測定した。採血個体を含め、漁獲されたニギスの一部を冷蔵して持ち帰り、標準体長・体重・生殖腺重量・肝臓重量を測定した。生殖腺重量と体重より生殖腺重量指数 (GSI) を、肝臓重量と体重より肝臓重量指数 (HSI) を算出した。採血個体、および肉眼で雌雄判別のできなかった個体の生殖腺をブアン固定し、パラフィン法により包埋し、4μm の組織切片を作成した。ヘマトキシリン-エオシン法によって染色を行った。作成した切片について、光学顕微鏡にて細胞の発達過程を観察した。得られた組織像を成熟度ごとに分類して、他のパラメーターとの比較を行った。

(2) ニギス類の集団解析

駿河湾、秋田県、新潟県で漁獲されたニギス、駿河湾、東シナ海で漁獲されたカゴシマニギスを用いた。ニギス類の筋肉組織を約 10mg 摘出し、粗 DNA を抽出した。ユニバーサルプライマーを用いて COI 領域を PCR 法で増幅し、サンガー法で塩基配列を決定した。得られた塩基配列からハプロタイプを求め、海域ごとの関係について調べた。

(3) 分布生態

2015 年 4 月 18 日、5 月 17 日、10 月 16 日、2016 年 1 月 13 日に、深海トロール漁船日之出丸に乗船し、駿河湾内で採集

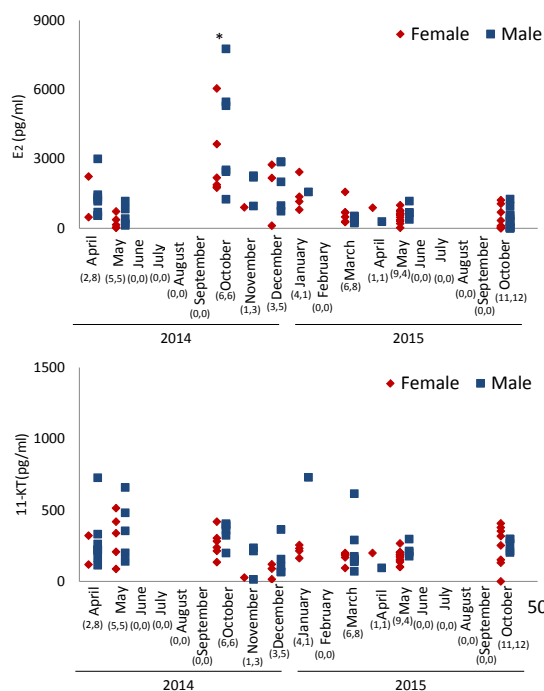


Fig. 1 Plasma concentrations of E₂ and 11-KT by month from *G. semifasciatus* specimens collected in Suruga Bay. Sample sizes for each month are in parentheses. *, P < 0.05.

調査を行った。トロール網に記録式深度計と水温計を装着し、環境データを収集した。例年 5 月 15 日～9 月 15 日は禁漁期である。2015 年 9,11,12 月、2016 年 2 月は天候不順のために調査を実施できなかった。日の出丸の漁獲物中から、ニギス、カゴシマニギス、アオメエソ類、ギンザメ類を採集した。

3. 結果と考察

(1) ニギスの繁殖生態の解明

ニギスからの採血方法を確立した。2013 年より、アオメエソからの採血法を確立し、高い採血量を安定的に得ていた。しかしサケ目のニギスは、脊椎骨の化骨の度合い (Ca の沈着度合い) が低く、アオメエソと同様の力で肛門後部からヘマトクリット管を挿入し、尾静動脈にからの採血を試みると、脊椎骨を破損し採血がうまくいかなかった。そこでヘマトクリット管を挿入する際の力加減を調整し、尾静動脈のみにヘマトクリット管が挿入されるように工夫した。また、採血量が少ない場合は、メスで心房を切開し、採血を行った。以上の工夫により、標準体長 100 mm 程度の個体からも、安定的に 75 μ l の血を得られるようになった。採血を行った個体は、いずれも漁獲物であり、死亡個体である。駿河湾で漁獲されたニギスの血漿 E₂ および 11-KT 濃度には性差は認められなかった。血漿 E₂ 濃度は、雌雄ともに 2014 年 10 月に有意に高値を示したが、2015 年 10 月は低値であった。血漿 11-KT 濃度には、統計的有意差は検出されなかった (Fig.1)。生殖腺の組織像は、個体の標準体長・体重・GSI・HSI・漁獲月に関わらず様々な成熟度を示した。また、標準体長と体重を用いて作製したヒストグラムは一峰性を示した。以上の結果より、駿河湾のニギスは周年産卵を行っており、春が主要な産卵期で秋にもわずかに産卵が観察された土佐湾での調査結果とは、異なる繁殖生態を示す可能性が示された⁽²⁾。

(2) ニギス類の集団解析

ニギスとカゴシマニギスの COI 領域の塩基配列を決定し、それらをもとに NJ 系統樹を作成した (Fig.2)。ニギスは異なる海域の個体もまとめて一つのクレードに含まれていたが、カゴシマニギスは東シナ海と駿河湾と二つのクレードに分かれた。それぞれの塩基置換率を調べたところ、ニギスでは平均塩基置換率は 1.1 で、平均塩基置換率は 0.2% であった。カゴシマニギスでは平均置換率は 9.92 塩基で、平均塩基置換率は 1.7% であった。東シナ海と他の海域を分けると、平均塩基置換率は東シナ海で 0% とその他の海域で 0.2% であった。このことから、カゴシマニギスとして得たサンプルは別種である可能性が考えられた。今回のサンプルについて、簡易的な外部形態を調べたところ、東シナ海の個体はツマリニギスの可能性があった。ニギス類はわが国周辺においてニギス、カゴシマニギスのほか、イチモンジイワシ、コタカニギス、ツマリニギスなどが存在して、今後、ニギス類の取り扱いには、外部形態による種確認が必要であることが分かった。また、東シナ海のサンプルはカゴシマニギスとして送られてきており、魚種の正確な取り扱いが行われるように指摘していく必要がある。

(3) 分布生態

ニギスは、駿河湾内全域で採集された。しかし、出現海域、水深帯に明瞭な傾向は認められなかった。これは、日の出丸の操業海域が調査日の海況によって変わることと、網を深場から浅所へと曳くために、定量性のあるデータを得られなかったためである。同様の要因から、資源評価につながるようなデータを得ることはできなかった。また、ニギスの飼育を試みた。水を入れたビニール袋を浮かべて海水を 7-9℃ まで冷却し、飼育水を準備した。漁獲後、尾を動かしている個体を直ちに飼育水へと入れた。その後注射器を用いて、鰓 (うき

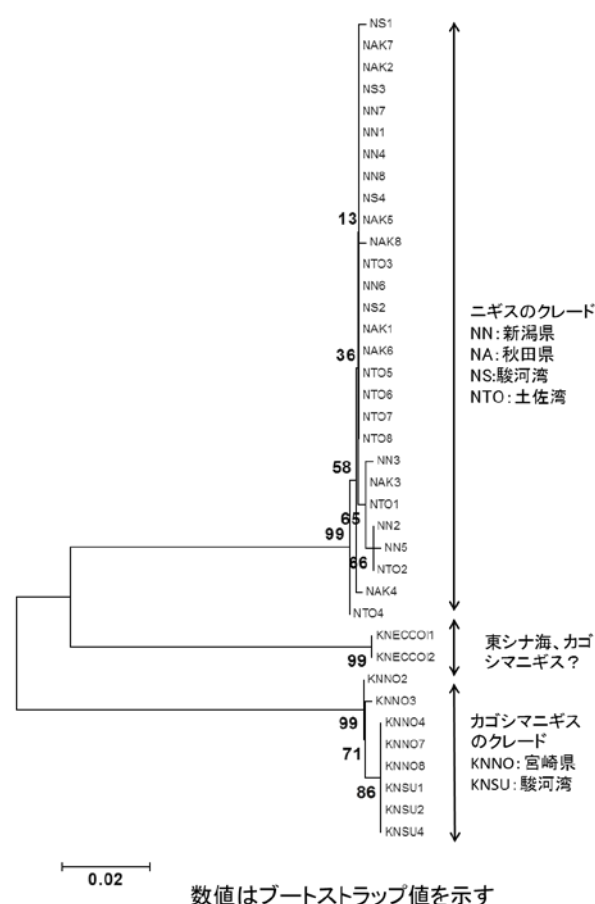


Fig. 2 Phylogenetic tree constructed by the neighbor-joining method for mitochondrial COI region sequences in Japanese argentines.

ぶくろ) 内のガスを抜き取った。しかし、すべての個体が死亡した。ニギスの飼育を試みるには、加圧水槽が必要である。

4. まとめと今後の展望

血中ステロイドホルモン濃度をはじめとする複数のパラメーター解析より、駿河湾におけるニギスは周年産卵の可能性が示されたが、断定するためには休漁期のサンプル解析が必要である。また、集団解析のためには正確な種判別が必須であることも明らかとなった。本研究において、断片的ではあるがニギスの資源評価へ還元できるデータが得られた。過去 4 回、駿河湾における底魚の生態に関する研究に対し、学際連携研究費を頂戴した。その成果の一部について、日本 DNA 多型学会第 24 回学術集会において「第 17 回優秀研究賞」を受賞することができた (「両性生殖腺を有する駿河湾産アオメエソの RNA を用いた性成熟開始時期の推定」岩田、丹野、藤井、山内、柳本、猿渡)。現在論文を DNA 多型へと投稿中である。大学、水産研究所、水族館、博物館に所属する研究者による学際的な共同研究が評価された。このような賞を受賞できたのも、東京大学大気海洋研究所の学際連携研究制度のおかげである。この場をお借りして感謝いたします。

参考文献

- (1) 梨田一也, 2014: 平成 24 年度ニギス太平洋系群の資源評価, 我が国周辺水域の漁業資源評価, 水産庁, 東京, 818-832.
- (2) Nashida, K., H., Sakaji, and H., Honda, 2007: Spawning seasons of adult and growth of 0-year-old deepsea smelt *Glossanodon semifasciatus* in Tosa Bay, Pacific coast of Shikoku. Bull. Jpn. Soc. Oceanogr., 71, 270-278.

マイクロレイヤーに含まれる粒子状物質の海洋大気エアロゾルへの寄与 Contribution of particulate matters in the sea surface microlayer to the formation of marine aerosols

岩本 洋子, 東京理科大学・理学部第一部, E-mail: iwamoto@rs.tus.ac.jp
Wong Shu Kuan, 東京大学・大気海洋研究所, E-mail: skwong@aori.u-tokyo.ac.jp
濱崎 恒二, 東京大学・大気海洋研究所, E-mail: hamasaki@aori.u-tokyo.ac.jp
Yoko Iwamoto, Faculty of Science Division I, Tokyo University of Science
Wong Shu Kuan, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Koji Hamasaki, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

To understand the contribution of particulate matters in the sea surface micro layer to the formation of marine aerosols, bubble-bursting experiments were performed at the surface of seawater both in the laboratory and the field environment. On-line aerosol measurement was applied to obtain size-segregated number concentrations of total aerosols and cloud condensation nuclei. Filter sampling was also performed to investigate the characteristics of bio-aerosols included in the bubble bursting aerosols. In the field experiment, bulk seawater, surface micro layer and ambient aerosols were collected simultaneously, and were used for the microbial analyses. The present study provided well-suited experimental conditions for a full-scale field campaign in the near future.

1. はじめに

海洋表面にはマイクロレイヤーと呼ばれる薄い層 (Sea surface microlayer; SML) が存在する。SML には界面活性の海洋性有機物が濃縮し、バルク海水と比べ粒子や微生物が豊富に含まれることが知られている (Hardy, 1982)。海水中の泡が海洋表面で破裂するとき、バルクの海水成分と共に SML 中の有機物や微生物も微小な粒子 (エアロゾル) として大気中へと輸送される (Leck and Bigg, 2005)。SML は大気海洋間の物質循環を考えるうえで重要な場であるにも関わらず、SML 中の有機物や微生物が海水起源エアロゾルの組成に与える影響については知見が乏しい。また、近年は大気圏を輸送される微生物 (バイオエアロゾル) の存在が着目されている。国内では、主に黄砂と共に長距離輸送されるバイオエアロゾルについて勢力的に行われているが、海水起源のバイオエアロゾルについては研究例が少ない。海水起源エアロゾルのうち、有機 (非生物) エアロゾルは雲凝結核に、バイオエアロゾルは氷晶核として働き、大気中で雲形成や降水に関わる可能性がある (e.g., Mason et al., 2015)。海水起源エアロゾルの物理・化学・生物学的な性状は、大気エアロゾルの気候影響を考えるうえでも重要な情報となり得る。

本研究課題では、海水起源エアロゾルの物理・化学的特徴を明らかにするため、海水をバブリングして得られる海水起源エアロゾル (Bubble bursting aerosol; BBA) をオンラインのエアロゾル測定装置に導入し、個数濃度や粒径分布、吸湿特性を測定した。また、野外実験により、バルク海水、SML、BBA、実大気エアロゾルのそれぞれの試料を同時に採取し、各試料に含まれる微生物の検出や計数を試みた。これらの実験は、解析に必要なサンプル量やサンプリング時間、環境パラメータの取得も含めた適切な観測デザインについて検討するフィージビリティ研究として実施した。

2. 方法

2-1. 室内における海水バブリング実験

野外実験の予備実験として、実験室内でガス洗浄瓶を用いた海水バブリング実験を行い、実験条件や試料分析条件を検討した。実験は、2015 年 12 月 16~18 日の期間に大気海洋研究所内の実験室において行った。Fig.1 に室内バブリング実験の概要を示す。900 cc の海水 (大気海洋研究所サメ水槽より採取) を入れたガラス製のガス洗浄瓶に、フィルタで既存粒子を取り除いた空気を吹き込み気泡を発生させた。水面の飛沫により生成した BBA を 2 段式インパクト (NILU, NL-I-02) を用いてメンブレンフィルタ上に捕集した。また、BBA を含む試料大気の一部をシリカゲルを封入した拡散ドライヤに導入して除湿し、サブミクロン領域の粒径分布を走査式移動度粒径測定装置 (Scanning Mobility Particle Sizer; SMPS, TSI, 3936L25)、雲凝結核数を雲凝結核計数装置 (Cloud condensation nuclei counter; CCNC, DMT, CCN-100) を用いてそれぞれ計測した。

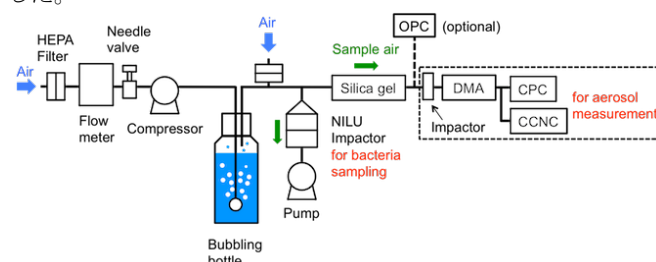


Fig. 1. Instrumental setup for the laboratory experiment.

2-2. 野外実験

野外実験は神奈川県三浦市の油壺湾において、2016 年 3 月 11 日~18 日の期間、東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所の棧橋を利用して行った。実験期間は気象庁ウェブサイト上で公開される潮位表 (<http://www.data.jma.go.jp/kaiyou/db/tide/suisan/>) をもとに、油壺湾で午前中に上潮となる期間を選択した。Fig.2 に野外実験と試料採取の概要を示す。BBA 生成装置は、海面に浮かべてその場で海水をバブリングする仕組み

みになっている（岩本と持田、2011）。海面下に設置したガラスフィルタに既存粒子を取り除いた空気を吹き込むことで海水中に気泡を発生させ、海面に達した気泡の破裂によって BBA を生成させた。BBA を含む試料大気は、NILU インパクトタおよびエアロゾル計測装置に導入した。BBA 生成装置の下流に設置したエアロゾル計測装置は室内実験で用いた装置と同様であるが、CCNC は装置内の温度制御が不能になるトラブルがあったため、実験期間の途中より使用を中断した。

実験期間中は、BBA 試料採取に加え、ドラムサンプラ（濱崎研究室作成）を用いた SML 試料の採取、また、バルク海水（水深 20 cm と海底直上より採取）と実大気エアロゾルの各試料を採取した。これらの試料は、微生物の細胞数の計数や種組成解析などに用いる予定である。また、SML 試料とバルク海水試料については、微生物分析の他に Table 1 に示す各項目についても分析を行う予定である。

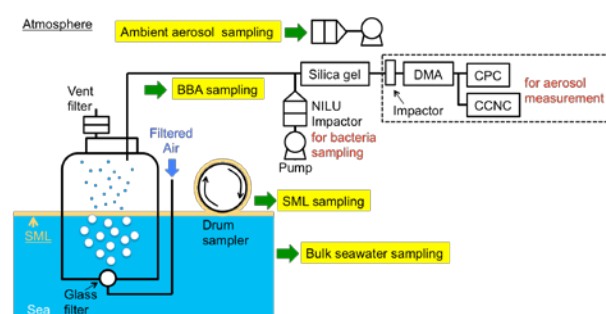


Fig. 2. Instrumental setup for the field experiment.

Table 1. Measurement items for SML and bulk seawater samples.

Analysis	Volume (mL)	Replicate
Nutrient	15	2
Chl-a	50	2
POC	250	2
DAPI total (0.2 only)	4	2
DAPI fraction (3.0 & 0.2)	4	2
FISH total (0.2 only)	10	3
FSH fraction (3.0 & 0.2)	10	3
TEP	20	3
Particle size	50	3
DNA total	500	1
(sterivex only, incl aerosol)		
DNA fraction	400	1
(3.0 & sterivex)		

3. 進捗状況と今後の展望

室内実験により、実験に最適なバブリング流量や装置のセットアップ、試料の分析に最適なサンプリング流量、サンプリング時間を検討した。バブリング流量を 500 cc/min に設定したとき、NILU インパクトタ下流ポンプの流量を 3 l/min に設定し 3~4 時間吸引すれば、メンブレンフィルタ上に捕集された BBA に含まれる微生物の計数や DNA 抽出に十分な量の試料を捕集できることが確認できた。従って、野外実験におい

ても同様の条件で BBA 試料の採取を行った。採取試料は、現在分析中である。

Fig. 3 に室内実験と野外実験で得られた BBA の個数粒径分布を示す。双方とも 100 nm 付近にモード粒径を持つ粒径分布を示したが、野外実験では 20 nm を下回る粒径範囲に大きなピークが見られた。このピークが実際の BBA 粒子によるものか、配管に残存した粒子のコンタミネーションによるものかについては未だ分からないが、全粒子質量に対する寄与は小さいと考えられる。今後は、配管内を清浄空気でフラッシングする機能を装置に追加する必要がある。野外実験において、バブリングを継続している数時間のあいだ、BBA 粒子の数濃度は 5000 particles/cc と安定していた。

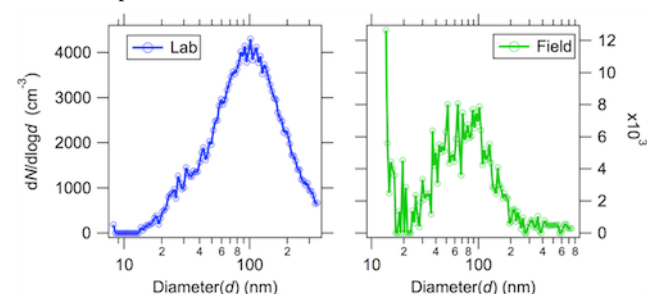


Fig. 3. Number size distributions of BBA in submicrometer-range obtained by laboratory (left) and field (right) experiment.

今後は、室内実験で得られた粒径別の雲凝結核／全 BBA 粒子のデータから BBA の化学組成を推察する予定である。また、野外実験で採取したバルク海水を用いて BBA 粒子をフィルタ上に捕集し、有機成分や無機成分について化学分析を行い、オンライン計測データや微生物分析結果の解釈の補助データとする予定である。

4. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、平成 27 年度東京大学大気海洋研究所学際連携研究制度の助成を受けた。野外実験では、東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所の貝田みゆき氏をはじめ実験所スタッフの方から多大な協力を得ました。ここに謝意を表します。

参考文献

- (1) Hardy, J.T., 1982: "The sea surface microlayer: Biology, chemistry and anthropogenic enrichment", Prog. Oceanogr., 11, 307-328.
- (2) Leck, C., and Bigg, E. K., 2005: "Source and evolution of the marine aerosol—A new perspective.", Geophys. Res. Lett., 32,L19803.
- (3) Mason et al., 2015: "Ice nucleating particles at a coastal marine boundary layer site: correlations with aerosol type and meteorological conditions", Atmos. Chem. Phys., 15, 12547-12566.
- (4) 岩本洋子, 持田陸宏, 2011: "一次海洋エアロゾルの雲凝結核特性の野外計測", 2011 年度日本地球化学会年会, 1B21.

熱水噴出域における硫化水素濃度と生物分布の関係の解明

Relationship between the distribution of hydrothermal vent-specific animals and ambient sulfide concentration

小糸 智子, 日大・生物資源科学, E-mail: koito.tomoko(at)nihon-u.ac.jp

岡村 慶, 高知大・海洋コア総合研究センター, E-mail: okamura(at)kochi-u.ac.jp

井上 広滋, 東大・大気海洋研, E-mail: inoue(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Tomoko Koito, College of Bioresource Sciences, Nihon University

Kei Okamura, Center for Advanced Marine Core Research, Kochi University

Koji Inoue, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Large communities of animals including polychaetes, barnacles, and mussels, have been discovered around hydrothermal vents in the deep-sea. Although each species in such communities occupies specific position around the vent, information about the chemical and physical background of the habitat selection of each species is still insufficient. In this study, we tried to measure sulfide level and water temperature of around hydrothermal vents using a sulfide sensor and an online thermometer, to identify the factor to determine the habitat of each species. In the research cruise KY15-07 of RV Kaiyo in 2015, we equipped ROV Hyper-Dolphin with sulfide sensor and online thermometer, and tried to examine the invertebrate colonies around hydrothermal vents in the underwater caldera of Myojin Knoll. The sensors successfully worked as expected. However, research was successful at only one vent because strong Kuroshio current disturbed ROV operation.

1. はじめに

深海の熱水噴出域には大きなバイオマスの生物群集が存在する。これらの生物群集を支える栄養源は、噴出水に含まれる硫化水素などの化学物質を利用して、微生物が生産する有機物である。従って、熱水噴出域に生息する生物は噴出孔を囲むように分布している (Cuvellier et al., 2011)。

我々は、伊豆小笠原海域の熱水噴出域を主なフィールドとして、熱水噴出域の周囲に生息する生物の生理、生態について研究を進めてきた (Inoue et al., 2008; Koito et al., 2010a,b; Kinjo et al., 2013; Nagasaki et al., 2015)。その過程で、噴出孔の周囲において各生物種が特異的な分布パターンを示すことがわかってきた。例えば、海域内の代表的な熱水噴出域である明神海丘カルデラ内では、噴出孔の直近の噴出水に直接曝露される場所にはイトエラゴカイ類、ウロコムシ類、ネッスイハナカゴ等、次いでシンカイヒバリガイ類などの二枚貝類、さらに離れて熱水性ミョウガガイ類というような分布になっていることが多い。しかし、このような種ごとの分布パターンの違いや、その原因については十分には解明が進んでいない。

2. 問題設定・方法

生物の分布を決める要因として、様々な物理化学的因子が考えられるが、本研究では、まず熱水噴出域周辺の環境において最も顕著な特徴である硫化水素濃度と水温に注目した。硫化水素濃度については、これまで、各生物のコロニー上の水を採水して、計測を試みてきた (Koito et al., 2010b)。しかし、採水器での採水は、ポンプで周辺の水を一緒に引き込んでしまうため、正確な濃度計測は困難であった。そこで本研究では、センサーによる各生物のコロニーの硫化水素濃度の現場計測を企画した。水温についても、同様にセンサーによる計測を計画した。

海洋研究開発機構の研究船公募への申請を行い、「かいよう」研究航海 KY15-07 (2015 年 4 月 24 日～29 日) に研究実施の機会を得た。無人探査器 (ROV) ハイパードルフィン運航チ

ームの協力により、Fig. 1 のようにセンサーや採水器を配置した。硫化物センサー、水温センサーは生物の直上をピンポイントで計測できるように、マニピュレーターでつかんで操作できるように配置した。化学分析用の採水もできるように温度計には採水器を装着した。さらに、VIRGO 採水器もマニピュレーターでつかんで操作できるように配置し、コロニー直上の複数点の採水を一度にできるようにした。その他、生物採集用に、吸引式の採集装置 (スラップガン) を搭載した。生物コロニーの撮影は、ROV に搭載されたハイビジョンビデオカメラおよびデジタルカメラを用いて行った。

また、熱水の経路を変えるとシンカイヒバリガイ類がそれに合わせて移動するかどうかを調べるために、噴出孔に設置する遮蔽物 (植木鉢) を準備して ROV に搭載した。

3. 結果と考察

4 月 25 日の潜航 1807 および 1808 で明神海丘カルデラ南東部の 32°06.25'N、139°52.10'E 周辺を目標として ROV を潜航させたが、周辺海域は黒潮の流路であったため、ROV ケーブルが潮流に流されて ROV を定位保持させることができず、作業は全く実施できなかった。

4 月 27 日の潜航 1810 では、カルデラ北部の熱水噴出域に潜航目標を変更した。辛うじて 32°07.480'N、139°50.534'E 付近の熱水噴出孔に着底できたが、この地点も潮流が極めて速く、長時間の作業や、海底での ROV の長い移動は不可能と判断されたため、着底地点に近いひとつの熱水噴出孔のみについて、生物コロニーの写真撮影、硫化水素のセンサー計測、水温のセンサー計測、コロニー直上水の採水を行った後、熱水噴出孔に遮蔽物をかぶせた。最後に、作業を行った地点から数メートル離れた場所で、飼育実験用の生物を若干採集して離脱した。

ROV 揚収後、データ取り出した結果、センサーによる硫化水素および温度測定の結果は当初の予定通りに取得できていた。また、そのデータを検証するための採水と硫化物の化学測定も実施できた。

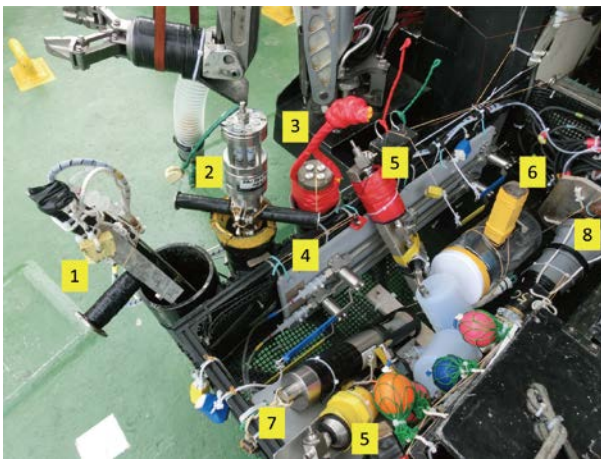


Fig.1 Arrangement of sensors and sampling gears in the front bay of ROV Hyper-Dolphin in the research cruise KY15-07. Upper panel, front view. Lower panel, front basket. 1, Online thermometer; 2, Virgo sampler; 3, sulfide sensor; 4, water sampler attached to the online thermometer; 5, vacuum sampler; 6, bait trap; 7, CTD sensor; 8, ROV homer

4. まとめと今後の展望

今年度の航海では、黒潮流路が研究エリアにかかったために最小限の調査しか実施できなかった。しかし、1地点ではあるがセンサーによる硫化水素および水温データと、各生物の分布の画像データは習得できたので、それぞれの関係を現在解析中である。また、次年度の研究航海で、別のコロニーについてデータ取得するとともに、今回遮蔽物を設置して熱水の流路を改変したコロニーについては、次年度再訪問して、生物分布の変化を観察する予定である。

さらに、採集した生物を用いて、硫化水素、温度、浸透圧変化、金属等に対する適応機構についてもさらなる研究を進める予定である。例えば、硫化水素と結合してその毒性を緩和するヒポタウリンを組織に集める役割を果たす膜輸送体

(TAUT) の遺伝子発現は、生息現場環境に近い水温や塩濃度で強く誘導されることがわかってきている (Nakamura-Kusakabe et al., 2016)。現場での計測と分子生理学的解析の両面から学際的に研究を進めることにより、今後も環境、生理機能、進化など総合的な観点から熱水噴出域への適応を解明していきたい。

参考文献

- (1) Cuvelier, D., J. Sarrazin, A. Colaco, J. Copley, D. Desbruyeres, A.G. Glover, P. Tyler, R.S. Santos, 2011, "Distribution and spatial variation of hydrothermal faunal assemblages at Lucky Strike (Mid-Atlantic Ridge) revealed by high-resolution video image analysis" *Deep-sea Res. Part I* 56, 2026-2040
- (2) Inoue, K., K. Tsukuda, T. Koito, Y. Miyazaki, M. Hosoi, R. Kado, N. Miyazaki, and H. Toyohara, 2008: "Possible role of a taurine transporter in the deep-sea mussel *Bathymodiolus septemdierum* in adaptation to hydrothermal vents" *FEBS Lett.* 582, 1542-1546
- (3) Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, 2015, "RV Kaiyo Cruise Report KY15-07: Researches on Benthic Ecosystem around Undersea Calderas. Available at http://www.godac.jamstec.go.jp/catalog/data/doc_catalog/media/KY15-07_all.pdf
- (4) Kinjo, A., T. Koito, S. Kawaguchi, and K. Inoue, 2013: "Evolutionary history of the GABA transporter (GAT) group revealed by marine invertebrate GAT-1" *PLoS One*, 8, e82410
- (5) Koito, T., I. Nakamura-Kusakabe, T. Yoshida, T. Maruyama, T. Omata, N. Miyazaki, and K. Inoue, K, 2010a: "Effect of long-term exposure to sulfides on taurine transporter gene expression in the gill of the deep-sea mussel *Bathymodiolus platifrons*, which harbors a methanotrophic symbiont". *Fish. Sci.* 76, 382-388
- (6) Koito, T., S. Morimoto, H. Toyohara, T. Yoshida, M. Jimbo, T. Maruyama, N. Miyazaki, and K. Inoue, 2010b: "Decline in taurine transporter mRNA and thioautotrophic bacterial 16S rDNA levels after transplantation of the hydrothermal-vent mussel *Bathymodiolus septemdierum* to a non-vent position" *Cah. Biol. Mar.* 51, 429-433
- (7) Nagasaki, T., Y. Hongo, T. Koito, I. Kusakabe-Nakamura, S. Shimamura, Y. Takaki, T. Yoshida, T. Maruyama, and K. Inoue: "Cysteine dioxygenase and cysteine sulfinate decarboxylase genes of the deep-sea mussel *Bathymodiolus septemdierum*: possible involvement in hypotaurine synthesis and adaptation to hydrogen sulfide" *Amino Acids* 47, 571-578
- (8) Nakamura-Kusakabe, I., T. Nagasaki, A. Kinjo M. Sassa, T. Koito, K. Okamura, S. Yamagami, T. Yamanaka, S. Tsuchida, K. Inoue, 2016 "Effect of sulfide, osmotic, and thermal stresses on taurine transporter mRNA levels in the gills of the hydrothermal vent-specific mussel *Bathymodiolus septemdierum*" *Comp. Biochem. Physiol. A* 191, 74-79

イカ類における精子進化と貯精・受精メカニズム

Sperm evolution and fertilization mechanisms in squids

広橋 教貴, 島根大・資源生物, E-mail: hiro(at)life.shimane-u.ac.jp
岩田 容子, 東大・大気海洋研, E-mail: iwayou(at)aori.u-tokyo.ac.jp
飯田 智宏, 島根大・資源生物
藤原 英史, ドキュメンタリーチャンネル

Abstract

In the squid, *Heterololigo bleekeri*, males show alternative mating tactics (consort and sneaker) and associating morphological and behavioral specialization. Males transfer sperm on two distinct sperm storage places. Notably, only sneaker males inseminate long before egg spawning. Spermatozoa released should keep fertilization competence until spawning. However, whether intraspecific variation of sperm transfer tactics can impact on sperm longevity remains to be elucidated. We found that sneaker spermatozoa kept fertilization competence and flagellar motility greatly longer than consort ones owing to larger amount of flagellar glycogen. Sneaker spermatozoa had higher capacities in glucose uptake and lactate efflux. Lactic acidosis was considered to stabilize the sneaker sperm aggregation, which triggered chemotaxis toward respiratory CO₂. These results suggest that sneaker sperm increase longevity with greater energy stock and different metabolic pathways.

1. はじめに

イカ類は水産資源として重要であるが、寿命が1年と短くその資源量は海洋環境変動にตอบสนองして大きく変動することが知られている。資源変動要因を明らかにするために、繁殖システムの理解は不可欠であるが、基礎的な生態もほとんどわかっていないのが現状である。

イカ類の多くは、口の近くに貯精嚢と呼ばれる精子を長期貯蔵する器官を持っている(Drew, 1911)。雌は未成熟の段階から産卵直前まで複数の雄と交配し、それらの精子を貯蔵し、実際に受精に利用していることが明らかになっている。しかし、貯精嚢内にどのように精子を移送、貯蔵、そして産卵の際に排出し卵を受精させているのかはほとんどわかっていない。日本沿岸で広く漁獲されているヤリイカは、雄によって異なる二つの繁殖行動があり、大型雄は精子を雌の輸卵管に、小型雄は口部貯精嚢周辺に受け渡すことが知られている(Iwata & Sakurai 2007)。申請者らのこれまでの研究により、大型雄と小型雄の精子には、精子の受け渡し場所に適応して、形態や生理に分化が生じていることが示された(Iwata et al. 2011, Hirohashi et al. 2013)。しかしそのような特殊化した形質が、どのような適応的意義を持っているのかは未だ明らかになっていない。

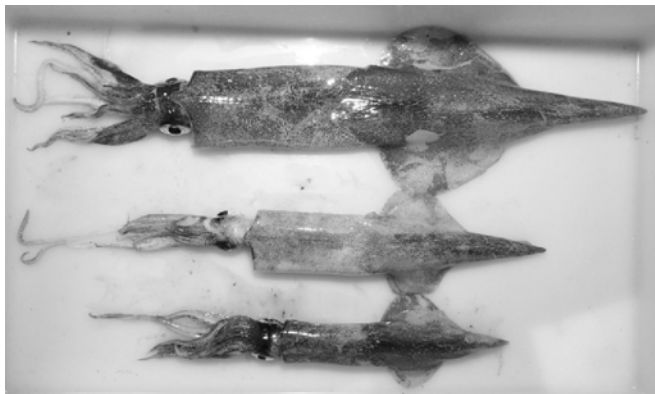


写真1：ヤリイカの雄二型と雌（上から、大型雄、雌、小型雄） 成熟した小型雄の外套長はほとんどの個体において17 cm以下である。

2. 問題設定・方法

特殊化した精子の形質とは、①小型雄の産生する精子は大型雄の精子に比べ50%程大きいこと、②小型雄の精子のみに二酸化炭素に対する走化性を示すこと、さらに③両者の精子を人工受精させたとき、小型雄の精子の方がより高い受精率を示したこと、などが挙げられる。

①と②に関しては、これまでトランスクリプトームおよびプロテオーム解析を行い、二型精子間で顕著に異なる一連の遺伝子群、タンパク質群の抽出に成功し、これらの情報をもとに特殊な形質を支える分子構造の解明に着手したところである。①の精子サイズの違いを生じさせる進化的要因については、これまで精子競争に基づく交尾後の性選択が良く知られているため、それらの理論でイカ類の精子二型が説明できるか、父性解析による乱婚度の測定や、貯精器官における特定の雄による精子占有率などを調べるところである。②の二酸化炭素集合性についても、分子的な作用機序に留まらず、その違いを生み出す進化的要因についてメスを入れ始めたところである。特に、ツツイカ目の近縁種や生殖様式が類似する系統的に離れたイカ類の知見を収集し、比較することで生理的な意義を見いだしている。

これらの研究経緯のもと、本研究では、③について精査した。即ち、小型雄と大型雄が産生する精子の受精能の違いが精子寿命に起因するのではないかと仮説を立てて、精子の遊泳持続性やATPを産生する細胞内代謝系について調べた。

3. 結果と考察

1) 受精能の持続性

はじめに、それぞれの雄タイプの精子がどのくらいの時間受精能を有するか、射出後の精子をインキュベートし、雌体内から採卵した未受精卵に人工媒精し、翌日受精卵の割合を計数した。その結果、大型雄の精子による受精能は、射出後から急激に減少し、20分後にはほぼ完全に消失した。ところが、小型雄の精子は、40分後までほぼその能力の減衰が観察されなかった。興味深いことに雌の精子貯蔵器官に蓄えられた精子（これが小型雄に由来することが分かっている）は、大型雄精子の受精能より有意に高く維持していることが分かった。

即ち、受精率の違いは精子に蓄えられたエネルギー源の蓄積量によることが分かった。

2) 精子に蓄えられるエネルギー源

つぎに、エネルギー源がなにかを明らかにするため、好氣的呼吸の阻害剤である CCCP を加えたところ、どちらの精子に対しても運動停止が早まる結果を得た。ところが、停止に至る時間については、小型雄精子は比較的ゆっくりとしたものであったことから、好氣的呼吸と嫌氣的呼吸の両方で運動に必要な ATP を産生していることが示唆された。試しに海水中に 1mM グルコースを加えると、運動持続が延長されたことから、ヤリイカの精子には細胞外グルコースを取り込む機構と解糖系を使ってエネルギーを生み出す機構が共に存在し、機能していることが分かった。運動持続において見られた 2 種類の精子の違いはなにか調べたところ、小型雄の精子には、グリコーゲンの蓄積がより多いことが、組織化学的な染色方法、酵素化学的方法、電子顕微鏡をもちいた微細構造観察から結論づけられた。

3) グリコーゲンの蓄積分布

さらに精子内の何処にグリコーゲンが蓄積されているか透過型電子顕微鏡を用い、精子細胞の連続切片像からその位置を推定した。その結果、グリコーゲンは頭部先体付近、ミトコンドリア内、および鞭毛に分布し、鞭毛では基部より先端側により多く存在が認められた。このことは、グリコーゲンが解糖系により ATP を生産し、直接鞭毛運動に利用していることが推察される。ミトコンドリア内のグリコーゲンは、ピルビン酸から TCA 回路に取り込まれて、好気条件下で ATP を産生するのに使われていると想像できる。

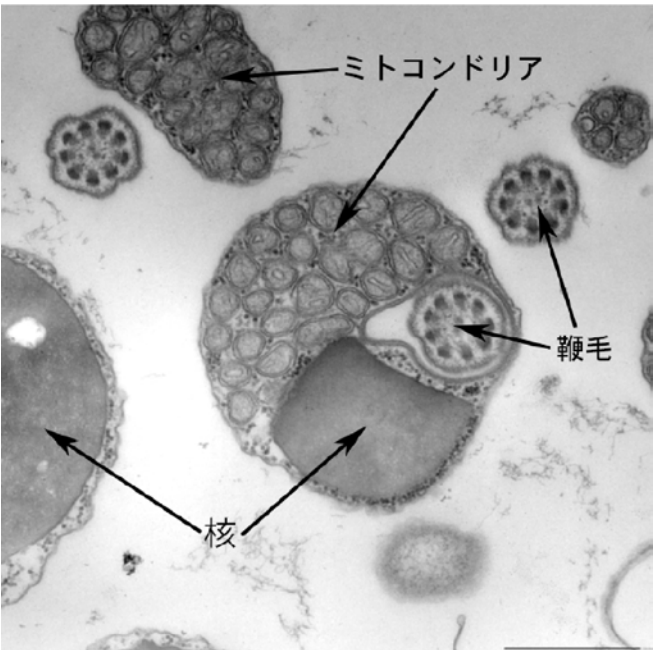


写真 2：スノーカー精子の透過電顕像
グリコーゲン顆粒（電子密度の高い微小粒子）が頭部核周辺、ミトコンドリア、鞭毛に分布するのが観察される。（写真：国立国際医療研究センター・中野(田村)美和）

4) 乳酸排出の生理的意義

解糖系によって生じたピルビン酸は、嫌気条件あるいは、好氣的であっても TCA 回路には入らず、乳酸に置換され、排出

されることががん細胞などでよく知られている。小型雄精子の場合、やはり大量の乳酸排出が起こっていることがわかった。乳酸は環境の pH を酸性化する。②で示した小型雄精子の二酸化炭素集合性は、二酸化炭素が脱炭酸反応して生じる酸（プロトン）に応答するものであることが分かっており、それゆえ乳酸による酸性化が精子集合に寄与していないか調べた。その結果、乳酸排出だけで精子集合は誘起されないが、集合した精子が長時間安定的に維持することに寄与することが実験的に示された。

4. まとめと今後の展望

以上の結果から小型雄の精子は精子寿命を延ばすことで受精能を長く保つことができることが分かった。寿命を決定している要因は、①予め蓄えられたグリコーゲン量と、②乳酸排出による酸性化による自己集合の補強、③集合内の精子は自由遊泳する精子に比べ長く運動性を保つこと、が相乗的に働いていることが示された。小型雄にとって精子寿命が長いことは、それだけ受精チャンスを増やすことができると想像される。何故なら、小型雄は雌が成熟する以前から精子受け渡しを行い、その精子は雌の貯精器官に何ヶ月も蓄えられるため、エネルギーの枯渇を防ぐ必要がある。今後は、精子貯蔵エネルギー量の決定がどのように制御されているか調べることで二型雄の進化の過程を解き明かしていく。

雄型	大型	小型	
交配様式	male-parallel	head-to-head	sneaking
貯精期間	短い	長い	短い
精子形質	受精能	短い	長い
	運動持続	短い	長い
	グリコーゲン	少ない	多い

表 1 ヤリイカ雄の行動様式二型に応じた精子形質の二型

5. 謝辞

電子顕微鏡観察では、試料の調整から写真撮影までを国立国際医療研究センター・中野(田村)美和博士に行ってもらった。この場を借りてお礼を述べたい。

参考文献

(1) Drew, G. A., 1911: "Sexual activities of the squid, *Loligo pealii* (Les.)", J. Morphol. 22, 327-359

(2) Iwata, Y., Y. Sakurai, 2007: "Threshold dimorphism in ejaculate characteristics in the squid *Loligo bleekeri*" Mar. Ecol. Prog. Ser. 345, 141-146

(3) Iwata, Y., P. Shaw, E. Fujiwara, K. Shiba, Y. Kakiuchi, and N. Hirohashi, 2011: "Why small males have big sperm: dimorphic squid sperm linked to alternative mating behaviours" BMC Evol. Biol. 11, 236

(4) Hirohashi, N., L. Alvarez, K. Shiba, E. Fujiwara, Y. Iwata, T. Mohri, K. Inaba, K. Chiba, H. Ochi, C. T. Supuran, N. Kotzur, Y. Kakiuchi, U. B. Kaupp, and S. A. Baba, 2013: "Sperm from sneaker male squids exhibit chemotactic swarming to CO₂" Curr. Biol. 23, 775-781

沿岸環境汚染モニタリング媒体としての二枚貝の種差特性の検証

Species specific bioconcentration of bivalves for monitoring media of coastal environmental pollution

水川 薫子, 農工大・農学研究院(女性未来育成機構), E-mail: mzkako@cc.tuat.ac.jp

榊原 寛之, 農工大院・農学府, E-mail: s152505s@st.go.tuat.ac.jp;

白井厚太郎, 東大・大気海洋研, E-mail: shirai@aori.u-tokyo.ac.jp

Kaoruko MIZUKAWA, Institute of Agriculture (Women's Future Development Organization),

Tokyo University of Agriculture and Technology

Hiroyuki SAKAKIBARA, The Graduate School of Agriculture,

Tokyo University of Agriculture and Technology

Kotaro SHIRAI, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Mussel Watch is one of conventional method of environmental monitoring for micro pollutants using mussels which inhabit in coastal area. In Mussel Watch in U.S. and Japan, *Mytilus* were used. On the other hand, *Perna* were used in the Mussel Watch in Asian countries. Though the deference of bioconcentration between species should be considered for comparing of these data, species specify of their bioconcentration has not been validated. The purpose of this study is validation of species specific bioconcentration between *Mytilus galloprovincialis* and *Perna viridis*. Comparing to both of the mussels, the relative composition of organic micro pollutants such as LABs, PAHs and PBDEs were different. Especially, the composition of LABs in *P. viridis* was similar to that in ambient sediment. The reason for the result would be considered that difference of bioavailability or metabolism of the organic micro pollutants. In future work, we will focus on the relative composition of the organic micro pollutants in fractionated sediment by pariticle size for determination the difference of bioavailability of these mussels.

1. はじめに

イガイ科を用いたモニタリング (いわゆる Mussel Watch) は 1970 年代以降における化学物質による沿岸環境汚染のモニタリングの標準的な手法であり, 非常に多くのデータの蓄積がある. 特に, イガイ属(*Mytilus*)とミドリイガイ属(*Perna*)は, 広く世界中の沿岸に生息していること, 疎水性の有機化合物または重金属などの汚染物質を蓄積すること, その汚染物質に対する耐性が強いこと, 簡便に採取が可能であることから, Mussel Watch の最も代表的な属である. しかし, 異なる種を用いたモニタリング結果を世界規模で比較する場合, 種による生態の違いによる蓄積特性の差については考慮されていないのが現状である.

そこで, 本研究では日本に外来種として生息するムラサキイガイ(*Mytilus galloprovincialis*)とミドリイガイ(*Perna viridis*)に着目した. ムラサキイガイは比較的水温の低い海域に生息する種であり, 日本やアメリカをはじめ中緯度域での Mussel Watch で用いられている (1, 2). 一方, ミドリイガイはインド洋原産で比較的水温の高い熱帯域の Mussel Watch で用いられている (3). その二種が外来種として生息している日本の海域は両者の種差を比較するのに適していると言える. ただし, 同じ海域において両者の生息位置には違いがあり, ムラサキイガイは潮間帯~潮下帯, ミドリイガイは潮下帯に生息している. 表層の油膜や海底の堆積物に含まれる類の汚染物質の曝露は, 海表面との接触時間や堆積物の巻き上がりの影響を受けることが予想される.

本研究では「生息位置が汚染物質蓄積特性に影響を与える」という作業仮説のもと, 同じ海域に生息する両者の汚染物質の蓄積量が種によって同じかどうか, 異なる場合にはどのような要因に影響を受けるのかなど, 蓄積特性の種依存性とその要因を明らかにすることを目的とした.

2. 問題設定・方法

調査地点として, 人為起源物質による海洋汚染が認められ,

多くの環境データが入手可能であり, かつムラサキイガイ・ミドリイガイの生息が確認されているという特徴を持つ東京湾沿岸を設定した.

試料は 2015 年 7 月および 9 月に数地点の岸壁および橋脚より, 潮間帯に生息する個体と潮間帯下に生息する個体を採取した. 採取した試料のうち一部は解凍後に外套膜, 鰓, 生殖腺, 中腸線の組織別に解剖した. 比較として過去に本研究室で採取したミドリイガイおよび深度別のムラサキイガイも分析に供した.

分析対象成分は, 主要な人為起源の有機汚染物質であるポリ塩化ビフェニル(PCBs), 直鎖アルキルベンゼン(LABs), 多環芳香族炭化水素(PAHs), ポリ臭素化時フェニルエーテル(PBDEs)とした. また, 食性や食物源の違いを考慮するために, 軟体部の炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$)および窒素安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$)を測定した.

試料は複数個体を混合しホモジナイズしたものを凍結乾燥した. 有機汚染物質濃度の分析は, 有機溶媒で加圧液体抽出し, シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよびゲルクロマトグラフィーで分画・精製後, ガスクロマトグラフ質量分析計または電子捕獲型検出器で同定・定量を行った.

軟体部の $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ は, 凍結乾燥後の試料を燃焼分解型元素分析装置と接続した同位体比質量分析装置で測定を行った.

3. 結果と考察

2015 年 7 月および 9 月の試料採取時では, ムラサキイガイの個体数が非常に少なく, また個体サイズも非常に小さかった. そのため, 深度別のムラサキイガイおよびミドリイガイと同地点のムラサキイガイを採取することが不可能であった. よって, ムラサキイガイとミドリイガイの比較は過去の試料のみを用いた.

ミドリイガイおよびミドリイガイと同程度の深度に生息するムラサキイガイ中の各成分の濃度および組成は, PCBs にお

いて両者の間には違いは認められなかった。しかし、LABs, PAHs, PBDEs 組成は、ミドリイガイにおいて堆積物の寄与が大きいことが示された。中でも LABs は東京湾湾奥部の堆積物と同族体組成が類似していた (Fig. 1 a, c, d)。一方で、深度の異なるムラサキイガイ中の各成分の濃度・組成の違いは、認められなかった (Fig. 1 b, d)。このことから、深い位置に生息している二枚貝が堆積物の影響を受けているという仮説は棄却され、ミドリイガイ中の汚染物質組成が堆積物と類似した組成を持つことは種差によることが示された。

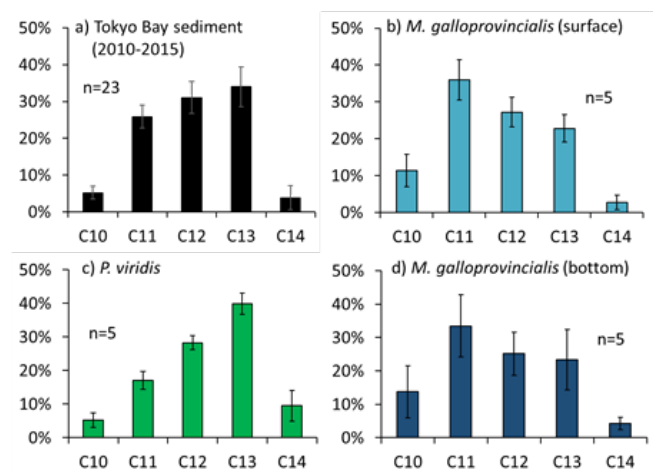


Fig.1 Relative composition of LABs in a) Tokyo Bay sediment (Takada & Mizukawa, unpublished) b) *M. galloprovincialis* (surface: tidal zone), c) *P. viridis* and d) *M. galloprovincialis* (bottom: subtidal zone).

その理由として、二つの可能性が考えられた。一つ目は二種の間でろ過摂食時に取り込んでいる物質が異なること、二つ目は二種の間で取り込んだ後の代謝能が異なることである。

一つ目について、これまでの分析方法では軟体部をそのまま分析に供しているため、胃内容物を含む中腸線に堆積物そのものがどの程度含まれているかは明らかになっていなかった。そこで、ミドリイガイ中の堆積物の寄与を調べるために、ミドリイガイの組織を外套膜、鰓、生殖腺、中腸線に解剖し、それぞれを分析に供した。その結果、LABs の相対同族体組成において各組織間で顕著な違いは認められなかった (Fig. 2)。このことから、ミドリイガイ中の LABs の組成は胃内容物中の堆積物によるものではなく、ミドリイガイが実際に蓄積したものであると考えられた。

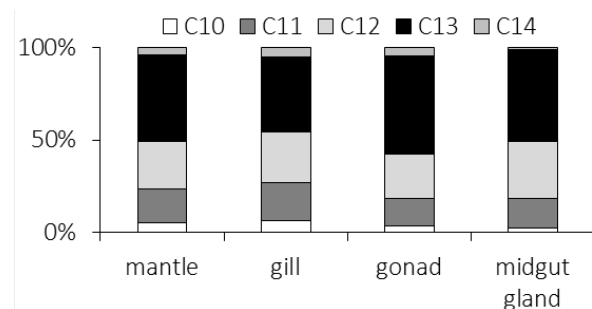


Fig.2 LABs relative composition in mantle, gill, gonad and midgut gland of *P. Viridis*.

また、食性や食物源の違いを調べるために $\delta^{15}\text{N}$ を調べた。ミドリイガイ中の LABs 濃度低い地点において $\delta^{15}\text{N}$ が高くなる傾向が認められたものの、種間の違いを説明することはできなかった (Fig. 3)。窒素同位体比の変動幅は 8-14 ‰と大きく、食物段階よりはむしろ窒素源の差を強く反映していると考えられる。下水マーカーである LABs 濃度と窒素安定同位体比には関係性が見られ、両者の組み合わせは沿岸海洋への人為起源の窒素負荷の指標となる可能性が考えられた。

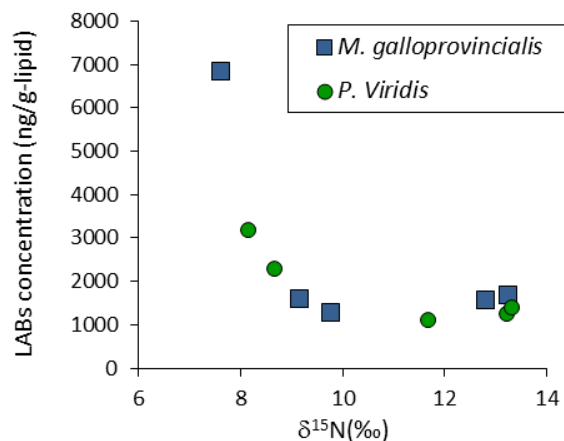


Fig.3 Relationships between LAB concentrations (ng/g-lipid) and $\delta^{15}\text{N}$ (‰) in *M. galloprovincialis* (blue square) and *P. Viridis* (green circle) in Tokyo Bay.

4. まとめと今後の展望

本研究では、ムラサキイガイとミドリイガイの有機汚染物質蓄積性に種差があることを明らかにした。その要因として、取り込み能の違いと代謝能の違いが考えられ、前者についていくつか検証を行った。種差による取り込みの違いとしてさらに考えられることとして、濾過接触のフィルター目の大きさの違いが考えられる。一般に、二枚貝では 2-20 μm の懸濁粒子をろ過していることが明らかになっている (4)。しかし、ミドリイガイとムラサキイガイの種差については明らかになっていない。また、汚染物質組成が粒径によって異なるかどうかは明らかになっていない。今後は、堆積物の粒径ごとの組成を調べていくことを考えている。さらに、二つ目の可能性である代謝能の違いにも着目していく。

参考文献

- (1) Farrington, J.W. et al., 1983: U.S. "Mussel Watch" 1976-1978: an overview of the trace-metal, DDE, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data", Environ. Sci. and Tech., 17, 490-496
- (2) 山口友加ら, 2000: "ムラサキイガイを用いた沿岸海域の微量有機物質汚染のモニタリング" 地球化学, 34, 41-57
- (3) Isobe, T. et al., 2007: "Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and phenolic endocrine disrupting chemicals in South and Southeast Asian mussels", Environ. Mon. and Assess., 135, 423-440
- (4) Richard, D.F., 1996: *Ecology of Maine Bivalves: An Ecosystem Approach*, Boca Raton: CRC press

海洋魚類の脊椎骨のネオジム同位体比分析による回遊経路推定手法の確立

Estimation of migration route of fully marine fish based on Neodymium isotopic ratio of vertebra

田副 博文, 弘前大・被ばく医療研, E-mail: tazoe(at)hirosaki-u.ac.jp
白井 厚太郎, 東大・大気海洋研, E-mail: kshirai(at)aori.u-tokyo.ac.jp
北川 貴士, 東大・大気海洋研, E-mail: takashik(at)aori.u-tokyo.ac.jp
Hirofumi Tazoe, Institute of Radiation Emergency Medicine, Hirosaki University
Kotaro Shirai, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Takashi Kitagawa, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Neodymium isotopic composition applied to vertebra of marine fish in order to establish new tool for estimation of migration route. Trace metal concentrations (Mn, Cu, Ba, and Nd) were also determined. For preliminary experiment, Japanese horse mackerel (*Trachurus japonicus*) samples obtained from Miyako, Sado Island, and Kochi were performed. Nd in vertebra were separated using solid phase extraction method, and then measured isotopic composition by multicollector ICP-mass spectrometer. Both Nd isotopic composition and trace elements concentrations were characteristic each sampling site, which indicated that the marine fish vertebra preserved the information of their habitat. Proposed method will be applied to the vertebra samples of young Pacific Bluefin Tuna from Kyoto and Kochi and validate as a chemical tracer to estimate of migration route.

1. はじめに

クロマグロ資源は減少が著しく、2014年にはレッドリストに指定された。クロマグロには、日本海と東シナ海の大きく二つの産卵群が存在する。その後、西太平洋や東太平洋を生育場とするが、東西太平洋間を大規模に回遊する個体も存在する。しかし、日本海と東シナ海の産卵群がそれぞれ生まれた海域に回帰するのか、再生産への寄与が大きい個体群は、どちらの産卵場の個体群で、どのような回遊経路を経験してきたかという知見はほとんどない。適切な資源管理のためには、正確な回遊生態の理解が必要不可欠である。

本研究ではクロマグロの脊椎骨に含まれるネオジム (Nd) に着目し、回遊経路推定の指標としての有用性を検証する。従来、魚類耳石の化学・同位体組成は形成時の環境を反映しているため、回遊履歴や個体群構造などの情報を明らかにするために用いられてきた。河川生活を経験する淡水魚や両側回遊魚ではストロンチウム同位体比 ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) が非常に有用な回遊生態の指標として利用されている。その理由として、指標となる放射壊変起源の ^{87}Sr の影響のみを抽出でき、河川や地域ごとに大きく異なる固有の組成を示すからである。海洋の場合、このような特徴 (海域ごとに固有の同位体組成を示す) を持つ元素としては、Nd が挙げられる。Nd の濃度および同位体比 ($^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$) は海域、水深、水塊によって特徴的な組成を示す (Amakawa et al. 2013; Lacan et al. 2012)。例えば日本海では $\epsilon_{\text{Nd}} = -8.9 \sim -7.2$ 、太平洋の大部分は $\epsilon_{\text{Nd}} = -7 \sim -2$ を示す。本研究では、日本海および東シナ海のクロマグロ当歳魚の脊椎骨の Nd 同位体比を分析し、海水の Nd 同位体比の報告値と比較する事で、指標としての有用性を検証した。

2. 問題設定・方法

耳石の Nd 同位体比が分析できれば海洋における理想的な回遊指標となり得るが、耳石が小さいうえ、Nd 濃度が極めて低い (約 1 ng/g) ため、現在の技術では高精度で分析する事は難しい。そこで本研究では、耳石よりも多くの分量の採取が可能であり、耳石のように代謝が低く年輪が観察可能な脊椎骨に着目し、その Nd 同位体比を分析する事でクロマグロの回遊経路を推定するための新たな手法を確立する事を目的とす

る。以前は、脊椎骨は代謝されるため時系列で履歴を記録していないと考えられてきたが、最近では代謝される量がそれほど多くなく、耳石のように利用できる事が受け入れられるようになってきた (例えば Kerr and Campana 2014)。脊椎骨にも成長輪が見られる事が多く、耳石のように回遊履歴を時系列で復元できるだけでなく、個体あたりの体積が大きいいため濃度の低い元素を分析できるという利点がある。

クロマグロが回遊し得る日本海・東シナ海・西太平洋・東太平洋で海水の Nd 同位体比は大きく異なるため、脊椎骨の Nd 同位体比はそれぞれの海域の滞在時間を反映すると予想される。本研究では、当初はクロマグロを対象魚種とする予定であったが、クロマグロの来遊が例年と比べて遅れたため、高知・佐渡・宮古で採取されたマアジ幼魚を対象として Nd 同位体比を分析し、海水の Nd 同位体比の報告値と比較する事で、指標としての有用性を検証した。また、微量元素組成についても調べ、地域特異性について検討した。

マアジの脊椎骨を摘出し、高純度次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水で有機物を除去した。サイズ・形状を記録した後に、脊椎骨を硝酸で溶解した。Nd 同位体比分析に必要な脊椎骨量を見積もるため、ここから一部を分取・希釈し、大気海洋研究所に設置された四重極型 ICP 質量分析装置にて Nd 濃度の定量を行った。得られた結果を基に必要な脊椎骨量を得るため、マアジ幼魚 10~30 個体をプールし、採取地点ごとの同位体分析用にネオジム分離を行った。再度溶解し、キレート樹脂固相抽出法により Nd を化学分離し、マルチコレクター型 ICP 質量分析装置にて Nd 同位体比を分析した。

3. 結果と考察

マアジの脊椎骨中の Nd 濃度は 1~20 ng/g であった。このことは 10 g の脊椎骨があれば高精度で、最低 1 g の脊椎骨でも本研究の目的には十分な精度で分析可能な事が明らかとなった。これはクロマグロ幼魚及び成魚の脊椎骨サイズから考えても十分に採取可能な量である。また、脊椎骨中の微量元素組成も併せて分析した結果、マンガン・銅・バリウムなど複数の元素で有意な地域差を示す事が明らかとなった (図・信号強度比)。佐渡で採取された試料には Mn や Nd など陸上鉍

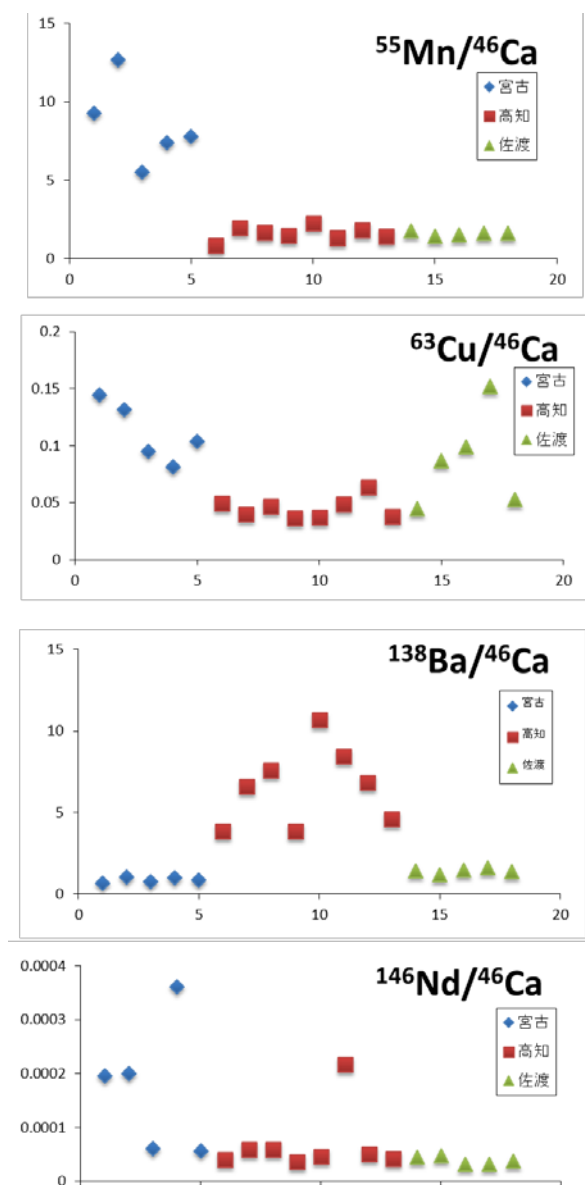


図 採取地域によるマアジ脊椎骨中の微量元素信号強度比の変動

物由来の元素が他の地域に対して高く河川や沿岸堆積物からの溶出を反映している可能性がある。一方では Ba では高知のみで高濃度を示す傾向が明瞭に観察された。微量元素組成により個体群判別が可能である可能性が示された。

Nd 同位体比分析の前処理として、放射性ストロンチウム分析のために開発されたキレート樹脂固相抽出による簡易分離法 (Tazoe et al., 2016) を応用する事で、脊椎骨中のネオジムを高いサンプルスループットで分離可能な手法を確立した。この手法を用いて上述の3地点のマアジ幼魚 10~30 個体をプールし、同位体分析用にネオジム分離を行った。分離後の脊椎骨試料は東京大学理学系研究科地球惑星科学専攻の多重検出器型誘導結合プラズマ質量分析装置を用いて Nd 同位体比の分析を行った。標準試料として JNdi-1 を用いた。装置の安

定性を監視するために SPEX 社製の Nd 標準溶液を 2 ppb になるように希釈し二次標準溶液として用いた。二次標準溶液の分析は、感度は約 0.6 V/ppb であり、同位体比と繰り返し再現性は $\epsilon_{\text{Nd}} = -22.74 \pm 0.14$ (n=3) であった。マアジ脊椎骨試料の Nd 同位体比は宮古が $\epsilon_{\text{Nd}} = -10.2$ 、佐渡が $\epsilon_{\text{Nd}} = -6.1$ 、高知が $\epsilon_{\text{Nd}} = -22.5$ であった。本研究は予備的な実験であり、マアジ試料を複数個体プールしていること、試料の回収率が高くないこと、実験操作時の交差汚染の可能性が排除できない事などの問題が有ったため、分析結果の信頼性を完全には担保できないため得られた組成の妥当性を評価することはしない。まだまだ改善すべき点は残るものの、本実験手法を用いる事で魚類脊椎骨の Nd 同位体比の分析が現実的に達成可能である事が示された。

4. まとめと今後の展望

魚類の脊椎骨を用いた Nd 同位体比による回遊経路推定手法の確立のため、マアジを試料とした予備的な実験を実施した。前処理段階での検討事項があるものの、産地により Nd 同位体比および微量元素組成に明瞭な相違が見られた。これらの試料は沿岸で採取されているため陸源物質の影響を強く反映している可能性があり、今後、その値の妥当性について精査する。日本近海への来遊が遅れていたクロマグロ幼魚 (高知・京都) も入手済みであることから、同様に研究を進める予定である。クロマグロの産卵親魚の脊椎骨の入手経路の確立を本研究と並行して進めている。産卵親魚の脊椎骨が入手できた際には、当歳魚に相当する部位を、サイズ・形状を揃えて脊椎骨から削り出し Nd 同位体比を分析し、本研究で得られる基礎データと比較する事で、その産卵親魚が日本海・太平洋のどちらで生まれた個体なのかを判別する事が可能となる。また、東太平洋と西太平洋は海水の Nd 同位体比が大きく異なるため、東太平洋での滞在時間の情報を引き出す事も可能になると期待される。十分な試料数が確保できれば、再生産への寄与を回遊経路や産卵場ごとに明らかにできるように期待される。

参考文献

- (1) Amakawa, H., Tazoe, H., Obata, H., Gamo, T., Sano, Y., and Shen, C.-C., 2013: "Neodymium isotopic composition and concentration in the Southwest Pacific Ocean", *Geochem. J.*, 47 (2013) 409-422.
- (2) Lacan, F., Tachikawa, K. and Jeandel, C., 2012: "Neodymium isotopic composition of the oceans: A compilation of seawater data", *Chem. Geol.*, 300, 177-184.
- (3) KERR, L. A., and CAMPANA, S. E., 2014: "Chemical composition of fish hard parts as a natural marker of fish stocks.", In: Cadrin, S. X., Kerr, L. A., and Mariani, S. (ed). *Stock Identification Methods*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA. P. 205-234.
- (4) Tazoe, H., Obata, H., Yamagata, T., Karube, Z., Nagai, H., and Yamada, M., 2016: "Determination of strontium-90 from direct separation of yttrium-90 by solid phase extraction using DGA Resin for seawater monitoring, *Talanta*, 152, 219-227.

太平洋の広域観測データに基づく新たな窒素固定モデルの開発

Development of a new N₂ fixation model based on wide area observations in the North Pacific

橋岡 豪人, 海洋研究開発機構, E-mail: hashioka@jamstec.go.jp

相田 真希, 海洋研究開発機構, E-mail: macky@jamstec.go.jp

伊藤 進一, 東大・大気海洋研, E-mail: goito@aori.u-tokyo.ac.jp

伊藤 幸彦, 東大・大気海洋研, E-mail: itohsach@aori.u-tokyo.ac.jp

塩崎 拓平, 東大・大気海洋研, E-mail: shiozaki@aori.u-tokyo.ac.jp

Taketo Hashioka, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

Aita Maki, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

Shin-ichi Ito, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Sachihiko Ito, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Takuhei Shiozaki, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

N₂ fixation is the largest external influx process of nitrogen from the atmosphere to the ocean, but the observation based global estimation still has large uncertainties. As a results, several different approaches have been proposed to model the N₂ fixation process, and only few earth system models have explicitly introduced the N₂ fixation process. In this study, we re-estimated the global distribution of N₂ fixation based on a new observational data of the Pacific, and based on our new estimation we have been developing a new N₂ fixation model. Our new global estimation showed significantly different spatial pattern of N₂ fixation in the North Pacific compared with previous studies. This result suggests a possibility of overestimation of global N₂ fixation rate in previous studies. In parallel with the data analysis, we introduced a preliminary version of N₂ fixation model into our earth system model, MIROC-ESM. This is the first framework to test the N₂ fixation in ESMs of Japan. Further improvement is currently in progress.

1. はじめに

窒素固定は窒素ガスをアンモニアへ変換するプロセスであり、一部の原核生物のみが行える。海洋における生物利用可能な窒素は主に窒素固定によって供給される。そのため窒素固定の正確な見積もりとその制御要因を明らかにすることは海洋の窒素循環を理解する上で要となる。どのような窒素固定者が、どのようなメカニズムを持ち、全球の窒素固定に対してどれだけの寄与をなしているかは、未だ様々な仮説が提唱されている段階で、Luo *et al.*, 2014 の最新の観測データに基づく全球窒素固定量の見積もりにおいても、全球積算量は 51~110 TgNyr⁻¹ (平均値 74 TgNyr⁻¹) という幅広い誤差範囲を持って見積もられている。結果、現在の各国研究機関の地球システムモデルにおいても窒素固定過程は各モデルで独自の方法により定式化され、再現される窒素固定の時空間分布にモデル間で大きな違いが生じている。さらには、鍵となる環境要因がモデル間で異なることにより、温暖化予測においても応答が大きく異なる可能性が示唆されている。したがって、窒素固定過程に本質的に重要な要素の同定と、それに基づく新たな窒素固定モデルの開発が必要とされている。特に、Luo *et al.*, 2012 の見積もりでは、太平洋が全球窒素固定量の 74% を占めることが示唆されており、太平洋における窒素固定過程の解明こそが鍵となる。

2. 問題設定・方法

先行研究の Luo らの見積もり (Fig. 1a) は、時空間的に限られた観測データから、環境要因との多変量解析により全球的な窒素固定分布を見積もった初めての研究であり、世界の窒素固定モデルの評価の元となるデータとして注目されている。しかし、Luo らの回帰式は溶存鉄濃度が高い大西洋のデータを中心に構築されており、窒素固定における鉄制限の重要性を過小評価している可能性がある (特に相対的に溶存鉄濃度の低い太平洋において、Moore *et al.*, 2013)。本研究では、Luo らのデータ (MAREDAT: MARine Ecosystem biomass DATa initiative) に太平洋における新たな窒素固定データを加え、自己組織化マップ (SOM:

Self-Organizing Map, Telszewski *et al.*, 2009) の手法を用いることで、太平洋の情報をより反映した全球窒素固定速度の分布を得る。その過程で、窒素固定に重要な環境要因を同定し (特に鉄制限の重要性に着目)、新たな窒素固定モデルの開発に資する情報を得る。モデル開発においては、現在のところ日本の地球システムモデル (MIROC-ESM および MRI-ESM1) には窒素固定過程が導入されていないため、初めに先行研究のモデルを導入し、観測

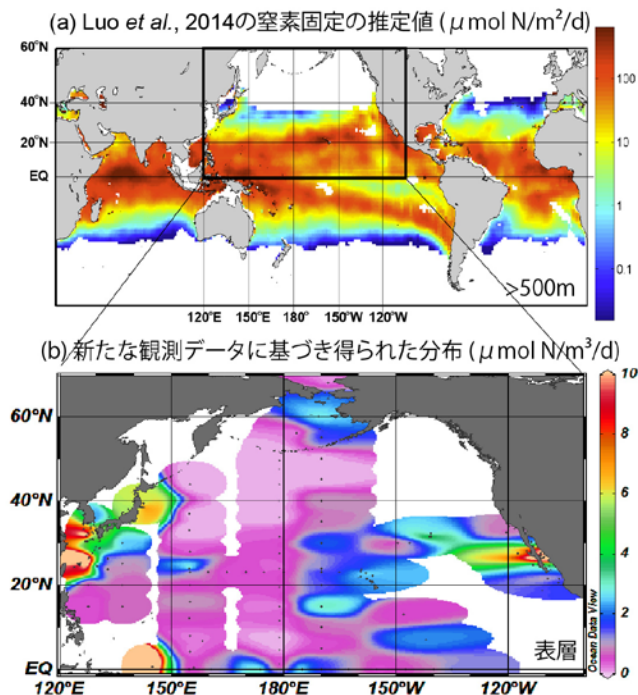


Fig. 1 (a) Global estimation of vertically integrated N₂ fixation rate by Luo *et al.*, 2014. (b) Surface N₂ fixation rate in the North Pacific obtained from a new observational data.

結果との比較を行う。その後、抽出された重要度の高い説明変数(鉄、硝酸・アンモニア濃度、光、水温などを想定)を中心に、過去の研究から示唆される窒素固定生物の生理応答の関係式を組み合わせることで、北太平洋の観測データを再現可能な新たな窒素固定モデルの開発につなげる。

3. 結果と考察

今年度、塩崎らの太平洋における新たな観測データを追加・解析した結果、Luoらの推定値(Fig. 1a)は太平洋の亜熱帯域において窒素固定速度を過大評価している可能性が示された(Fig. 1b)。そこで太平洋の新たな観測データに基づき全球の窒素固定速度を再推定し、Luoらの結果と比較した。具体的には、海面水温、溶存鉄濃度、 P^* (硝酸塩とリン酸塩の濃度比)を窒素固定の説明変数として利用し、自己組織化マップの手法により全球的な空間分布を推定した(Fig. 2)。その結果、海洋表層の窒素固定速度は、従来の研究から示唆されるように、大西洋赤道域や南半球の亜熱帯循環域で高い値を示す一方、太平洋の西部亜熱帯循環域およびインド洋においてLuoらの見積もりとは異なる低い値を示した。このことは、先行研究における全球積算の窒素固定量の見積もりが過大である可能性を示している。

データ解析と並行し、計画通り先行研究の手法(Schmittner *et al.*, 2008に基づき、地球システムモデルMIROC-ESMへ窒素固定過程を導入した。これにより日本の地球システムモデルにおいて、大気・陸域・海洋間の窒素循環・収支を評価可能な最初の枠組みが構築された。再現された窒素固定生物の濃度分布(Fig. 3)はLuoらの見積もり(Fig. 1a)に近い分布を示したが、太平洋およびインド洋においては本課題のデータ解析から新たに見えてきた描像(Fig. 2)と異なる結果を得た(モデルの方が過大)。これらの海域の再現性の向上が次年度の課題となる。

4. まとめと今後の展望

太平洋の相対的に低い窒素固定速度分布は、今回の研究から新たに見えてきた描像であり、全球窒素固定量の見直しにつながる結果である。次年度のデータ解析では、表層だけでなく鉛直積算量においても空間分布を推定することで、Luoらの鉛直積算窒素固定速度(Fig. 1a)との直接的な比較を可能とし、各海盆の寄与を再評価する。また、自己組織化マップによる感度実験を行い、窒素固定に重要と示唆されている数多くの環境要因(例:水温、MLD、光、溶存鉄、リン酸塩、硝酸塩、溶存酸素、風速など)を相互に入れ替え評価することで、より重要度の高い説明変数を同定する。現在の窒素固定モデルは、様々な環境要因に対する生理特性(例えば、栄養塩・温度・光・酸素依存性など)の組み合わせとして構築されているため、説明変数の重要度の順位付けがモデルの改善につながると期待される。

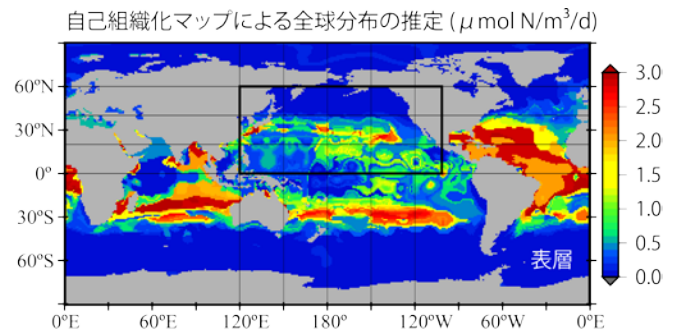


Fig. 2 Estimation of global distribution of surface N_2 fixation rate obtained by SOM.

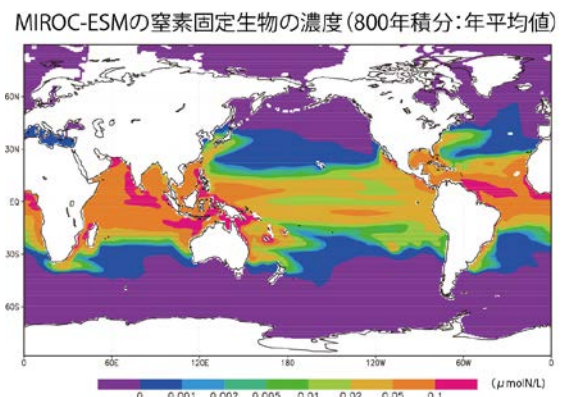


Fig. 3 Global distribution of nitrogen fixer calculated by MIROC-ESM including a N_2 fixation model.

参考文献

- (1) Luo, Y.-W., Lima, I. D., Karl, D. M., Deutsch, C. A., and Doney, S. C.: Data-based assessment of environmental controls on global marine nitrogen fixation, *Biogeosciences*, 11, 691-708, doi:10.5194/bg-11-691-2014, 2014.
- (2) Luo, Y.-W., et al.: Database of diazotrophs in global ocean: abundance, biomass and nitrogen fixation rates, *Earth Syst. Sci. Data*, 4, 47-73, doi:10.5194/essd-4-47-2012, 2012.
- (3) Moore, J. K., Lindsay, K., Doney, S. C., Long, M. C., and Misumi, K.: Marine ecosystem dynamics and biogeochemical cycling in the Community Earth System Model (CESM1-BGC), *J. Climate*, 26, 9291-9312, doi:10.1175/JCLI-D-12-00566.1, 2013.
- (4) Telszewski, M., Chazottes, A., Schuster, U., Watson, A. J., Moulin, C., Bakker, D. C. E., González-Dávila, M., Johannessen, T., Körtzinger, A., Lüger, H., Olsen, A., Omar, A., Padin, X. A., Ríos, A. F., Steinhoff, T., Santana-Casiano, M., Wallace, D. W. R., and Wanninkhof, R.: Estimating the monthly pCO_2 distribution in the North Atlantic using a self-organizing neural network, *Biogeosciences*, 6, 1405-1421, doi:10.5194/bg-6-1405-2009, 2009.
- (5) Schmittner, A., A. Oschlies, H. D. Matthews, and E. D. Galbraith, Future changes in climate, ocean circulation, ecosystems, and biogeochemical cycling simulated for a business-as-usual CO_2 emission scenario until year 4000 AD, *Global Biogeochem. Cycles*, 22, GB1013, doi:10.1029/2007GB002953, 2008.

放射性炭素同位体比・安定同位体比測定を組み合わせた鯨類の生態学研究

Study on cetacean ecology by using the combined analysis of radiocarbon and stable isotope

松石 隆, 北大・水産, E-mail: catm(at)fish.hokudai.ac.jp

松田 純佳, 北大・水産, E-mail: matsuda(at)fish.hokudai.ac.jp

宮島 利宏, 東大・大気海洋研, E-mail: miyajima(at)aori.u-tokyo.ac.jp

永田 俊, 東大・大気海洋研, E-mail: nagata(at)aori.u-tokyo.ac.jp

宮入 陽介, 東大・大気海洋研, E-mail: miyairi(at)aori.u-tokyo.ac.jp

横山 祐典, 東大・大気海洋研, E-mail: yokoyama(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Takashi Matsuishi, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

Ayaka Matsuda, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

Toshihiro Miyajima, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Toshi Nagata, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Yosuke Miyairi, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Yusuke Yokoyama, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Harbor porpoise, Dall's porpoise and Pacific white-sided dolphin are most common small odontocetes around Hokkaido and sometimes they co-occur in same area. In this study, the stable isotope ratios of these odontocetes around Hokkaido were analyzed. Carbon and nitrogen stable isotope ratios in the muscle of stranded or by-caught odontocetes were measured. $\delta^{15}\text{N}$ of Pacific white-sided dolphin was significantly different from the other two species which implied that Pacific white-sided dolphin fed on lower trophic level of prey than the other two species. $\delta^{13}\text{C}$ of Dall's porpoise was significantly different from the other two species and it suggested that Dall's porpoise used pelagic areas and the other two species used coastal areas.

1. はじめに

90年代より、窒素炭素安定同位体を用いた鯨類の生態を解明する試みが行われている。たとえば Schell et.al.(1989)では、ホッキョククジラ *Balaena mysticetus* のひげ板を用いた回遊経路の推定や食餌の推定を行った。以降安定同位体を用いた鯨類の食性解析は広く行われる手法となってきた。安定同位体比分析は、生物組織中の窒素や炭素の同位体の存在比が生息環境や栄養段階によって変化することを利用して捕食者の食性を推定する手法である。窒素と炭素の安定同位体比は栄養段階を通じて濃縮されていく。 $\delta^{13}\text{C}$ の濃縮率は一般的にわずかであり (DeNiro and Epstein 1978; Vander Zanden and Rasmussen 2001)、食物網の起源を推定するために用いられ (France 1995)、例えばその食物網が沿岸域か沖合域のどちらに属するかというような情報を得ることができる (Hobson and Welch 1992)。一方 $\delta^{15}\text{N}$ は栄養段階を反映するとされ (Minagawa & Wada 1984)、動物プランクトンと比較すると魚類などではその存在比が高くなる (DeNiro & Epstein 1981)。

安定同位体の地域による変化量は非常にわずかで、食餌の変化を安定同位体のみから議論することが困難な場合もある。従来の安定同位体解析に加え、放射性炭素同位体比も指標として導入することによって分析の解釈にもさらに精密な議論が可能となる可能性がある。海水中の放射性炭素 (^{14}C) 濃度は、親潮系の海流と黒潮系の海流で最大 200‰ の大きな開きがある。日本近海ではこの差を利用することで回遊履歴に制約を与えることができる可能性があるからである。

北海道周辺海域では年間約 60 件もの鯨類のストランディング (漂着・混獲) 報告があり、標本収集体制も確立している (ストランディングネットワーク北海道 2015)。多くの鯨類が棲息している一方、漁業も盛んで、両者の競合状況を把握するために鯨類の食性情報は重要である (Plagányi and

Butterworth 2009)。

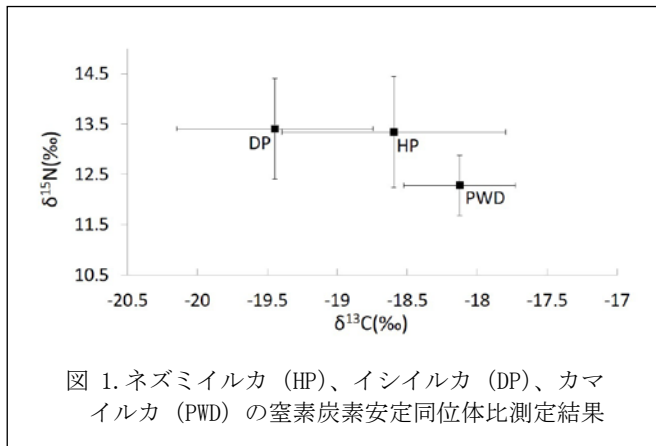
本年度は特に、鯨類の筋肉組織における窒素および炭素安定同位体比分析に注力し、北海道周辺海域における小型ハクジラの食地位の違いを、種横断的に比較した。

2. 問題設定・方法

北海道において 2005 年から 2014 年までにストランディングしたネズミイルカ *Phocoena phocoena*、イシイルカ *Phocoenoides dalli*、カマイルカ *Lagenorhynchus obliquidens* について、筋肉組織を収集し、安定同位体比分析に用いた。常法に従い、筋肉組織を約 50℃ で 48 時間乾燥させた後、粉碎し、クロロホルム・メタノール (2:1) 混合液で脱脂を行った。分析試料は、 0.500 ± 0.300 mg ずつ秤量し、錫製カップに封入した後、元素分析計を接続した質量分析計に導入し、窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) および炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) を測定した。

3. 結果と考察

ネズミイルカ、イシイルカ、カマイルカにおける窒素炭素安定同位体比分析結果は図 1 のようになった。カマイルカの窒素安定同位体比が最も低くなり、カマイルカの利用する餌生物が、他の 2 種と比較して有意に低い栄養段階に位置していることが示唆された。また、イシイルカの炭素安定同位体比が、他の 2 種と比較して低くなったことから、イシイルカは他の 2 種と比較して沖合域で摂餌していることが示唆された。北海道において主に棲息している小型ハクジラ 3 種間の食地位は完全に重複することはない、これは種間競争を引き起こすことなく資源を利用するための 3 種の生存戦略であると考えられた。



4. まとめと今後の展望

窒素炭素安定同位体比分析により、北海道周辺海域における小型ハクジラ 3 種の食性の違いを明らかにすることができた。今後は、対象を日本周辺海域とし研究対象とする種数を増やし、更に炭素放射性同位体比分析を行い、より明確な種ごとの食性の特徴を明らかにし、食性と回遊を結び付けた鯨類の生態研究の発展を目指す。

参考文献

- (1) Schell, D M, S M Saip, and N Haubenstock, 1989: Bowhead whale (*Balaena mysticetus*) growth and feeding as estimated by $\delta^{13}\text{C}$ techniques, *Mar. Biol.*, 103, 433-443.
- (2) DeNiro M J, Epstein S, 1978: Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 42: 495-506.
- (3) Vander Zanden M J, Rasmussen J B, 2001: Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnol. Oceanogr.*, 46: 2061-2066.
- (4) France R L, 1995: Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: food web implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 124: 307-312.
- (5) Hobson K A, Welch H E, 1992: Determination of trophic relationships within a high Arctic marine food web using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 84: 9-18.
- (6) Minagawa M, Wada E, 1984: Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48: 1135-1140.
- (7) DeNiro M J, Epstein S, 1981: Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 45: 341-351.
- (8) ストランディングネットワーク北海道. 2014 年度ストランディングネットワーク北海道活動報告書. ストランディングネットワーク北海道, 函館, 2015.
- (9) Plagányi, É. V. A. E., and Butterworth, D. S. Competition with fisheries. In Perrin, W. F., & Wursig, B. (Eds.) *Encyclopedia of marine mammals*. pp269-275. Academic Press, 2009.