

学際連携研究報告書

令和 3 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。令和2年度から導入された琉球大学熱帯生物圏研究センターとの連携協定に基づく沿岸生態系比較研究に加えて、令和3年度からは大気海洋研究所で実施する全所的プロジェクトに関する共同研究も実施する。

(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。

令和3年度の実績は、特定共同研究の実施数が10件（同応募数8件、採択数8件、令和2年度からの繰越数2件）、一般共同研究の実施数が12件（同応募数10件、採択数10件、令和2年度からの繰越数2件）であった。

本冊子は、令和3年度実施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

令和3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	笠井 亮秀	北海道大学水産科学 研究院	教授	外洋域における環境DNAのサンプリングおよび 分析手法の確立	兵藤 晋
2	加藤 英明	東京大学大学院総 合文化研究科	准教授	海洋微生物の持つ酵素型ロドプシンの網羅的探 索と機能解明	吉澤 晋
3	井之村 啓介	ワシントン大学	研究員	珪藻ロドプシンの数値モデル解析を用いた生理 的役割の解明	吉澤 晋
4	原田 洋太	海洋研究開発機構	ポストドクトラル 研究員	眼球の同位体分析による、回遊魚の移動履歴復 元手法の開発	伊藤 進一 横山 祐典
5	石澤 堯史	東北大学災害科学 国際研究所	助教	地溝帯内の堆積速度変化に基づく断層活動履 歴の評価－亀裂充填物の年代も踏まえた断層活 動履歴評価手法の開発－	横山 祐典
6	松田 純佳	北海道大学大学院 水産科学研究院	学術研究員	放射性炭素同位体を用いた鯨類の回遊経路推 定技術の開発	横山 祐典
7	立原 一憲	琉球大学理学部	教授	西表島浦内川における魚類の多様性と汽水域の 生態的役割の解明	兵藤 晋
8	藤田 和彦	琉球大学理学部	教授	亜熱帯内湾域の古環境研究:過去から現在まで の沿岸生態系の変遷	横山 祐典
9*	今 孝悦	東京海洋大学	准教授	人為的攪乱がマングローブ域の底生動物群集に 与える影響	大土 直哉
10*	中村 崇	琉球大学理学部	准教授	環境DNAを用いた造礁サンゴのモニタリング実現 に向けた水槽実験	新里 宙也

* 令和2年度からの繰越課題

【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	広橋 教貴	島根大学生物資源 科学部	教授	ダイオウイカの分子生態学的研究	岩田 容子
2	中村 政裕	水産研究・教育機構	研究員	小型浮魚3種の仔魚における摂餌選択性の検証:飼育実験のアプローチ	伊藤 進一 西部 裕一郎
3	鶴 哲郎	東京海洋大学	教授	海中海底下統合イメージング解析技術の開発	朴 進午
4	渡辺 佑基	国立極地研究所	准教授	魚類の心拍数を自然環境下で計測する手法の開発	坂本 健太郎 兵藤 晋
5	豊田 隆寛	気象庁気象研究所	主任研究官	海氷モデル力学パラメータに対する観測・理論・数値的要請の融合	川口 悠介
6	岩田 雅光	公益財団法人ふくしま海洋科学館	統括学芸員	現生シーラカンスの深海域への適応機構の解明	猿渡 敏郎
7	荘司 一步	国立民族学博物館	外来研究員	先史アンデス海岸部における古環境変動と海民の適応戦略	白井 厚太郎
8	天野 雅男	長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科	教授	バイオリギングと同位体分析から明らかにする鯨類の回遊生態	白井 厚太郎 青木 かがり
9	伊藤 元裕	東洋大学生命科学部	講師	個体および環境情報から包括的に解明するチャネルキャットフィッシュの生態	白井 厚太郎
10	藤村 弘行	琉球大学理学部	教授	褐虫藻のルビスコ活性によるサンゴの白化状態の評価	宮島 利宏
11*	三浦 夏子	大阪公立大学	助教	共生関係の実験的再構築による細菌-サンゴ間相互作用の解明	高木 俊幸
12*	佐藤 成祥	東海大学海洋学部	特任講師	イカ類の求愛行動の進化	岩田 容子

* 令和2年度からの繰越課題

目次

学際連携研究報告書

【特定共同研究】

1. 外洋域における環境 DNA のサンプリングおよび分析手法の確立
2. 海洋微生物の持つ酵素型ロドプシンの網羅的探索と機能解明
3. 珪藻ロドプシンの数値モデル解析を用いた生理的役割の解明
4. 眼球の同位体分析による、回遊魚の移動履歴復元手法の開発
5. 地溝帯内の堆積速度変化に基づく断層活動履歴の評価－亀裂充填物の年代も踏まえた断層活動履歴評価手法の開発－
6. 放射性炭素同位体を用いた鯨類の回遊経路推定技術の開発
7. 西表島浦内川における魚類の多様性と汽水域の生態的役割の解明
8. 亜熱帯内湾域の古環境研究：過去から現在までの沿岸生態系の変遷
- 9*. 人為的攪乱がマングローブ域の底生動物群集に与える影響
- 10*. 環境 DNA を用いた造礁サンゴのモニタリング実現に向けた水槽実験

* 令和2年度からの繰越課題

【一般共同研究】

1. ダイオウイカの分子生態学的研究
2. 小型浮魚 3 種の仔魚における摂餌選択性の検証：飼育実験のアプローチ
3. 海中海底下統合イメージング解析技術の開発
4. 魚類の心拍数を自然環境下で計測する手法の開発
5. 海氷モデル力学パラメータに対する観測・理論・数値的要請の融合
6. 現生シーラカンスの深海域への適応機構の解明
7. 先史アンデス海岸部における古環境変動と海民の適応戦略
8. バイオロギングと同位体分析から明らかにする鯨類の回遊生態
9. 個体および環境情報から包括的に解明するチャネルキャットフィッシュの生態
10. 褐虫藻のルビスコ活性によるサンゴの白化状態の評価
- 11*. 共生関係の実験的再構築による細菌-サンゴ間相互作用の解明
- 12*. イカ類の求愛行動の進化

* 令和2年度からの繰越課題

外洋域における環境 DNA のサンプリングおよび分析手法の確立

Examination of environmental DNA sampling and analysis methods in the open sea

笠井亮秀, 北大・水産, E-mail: akihide(at)fish.hokudai.ac.jp

川上達也, 北大・水産, E-mail: kawakami(at)fish.hokudai.ac.jp

山崎 彩, 北大・水産, yamazaki.usujiri(at)gmail.com

Abstract

To estimate the optimal sampling effort for detecting fish eDNA in the open ocean, eDNA samples with seven or eight replicates were collected in various regions using Sterivex HV (0.45 μm pore) and analyzed by metabarcoding. A total of 8–37 species was detected, corresponding to 80–92% of Chao2 estimator. Species accumulation curve indicated that over 80% of species were covered by filtration of 12–15L in the subtropical and frigid zone in the North Pacific and the Chukchi Sea, but it required 25L in the Canada Basin. The same examination conducted using Sterivex GV (0.22 μm pore) demonstrated that the filter with a smaller pore size was more efficient for fish species detection in the Chukchi Sea.

1. はじめに

環境 DNA は水圏の生息生物を推定するうえで有効な手法として、近年盛んに多様性評価に用いられている。しかし環境 DNA 手法は、まだ開発途中であり、多くの解決すべき問題が残されている。その一つが、DNA が十分に検出されないという問題である。そこで本研究では、DNA 濃度の薄い外洋域においても環境 DNA から生息生物を特定し、多様性を評価できるような手法を開発することを最終的な目的とする。

一般に、サンプル量が多ければ多いほど DNA の捕集量も多くなると予想される。しかし技術的、時間的な制約から、無限に多くの海水を取るわけにはいかない。例えば研究船に搭載されているニスキンボットの容量は決まっているし、採水にさけるシブタイムにも限界がある。また、外洋といってもその環境は様々で、例えば黒潮域と親潮域では生物量が大きく異なる。そこで代表的な海域ごとに、採水量を多段階に設定し、どの程度の量を採水すればどれくらいの魚種が検出できるのかを確かめた。

また、海水中にどのような状態で DNA が存在しているのかがまだわかっていないため、フィルターの目合いの違いにより DNA の捕集効率が異なる可能性がある。そこで環境 DNA サンプリングによく用いられている Sterivex フィルターのうち、孔径 0.45 μm の HV タイプと孔径 0.22 μm の GV タイプを用いて同じ海水を濾過し、DNA 捕集率を比較した。

2. 方法

環境 DNA の採集

JAMSTEC 海洋地球研究船「みらい」の北極航海 (MR20-05C) において、A) カナダ海盆域、B) チャクチ海、C) 亜寒帯循環域、D) 亜熱帯循環域 で繰り返し濾過試験を実施し、環境 DNA サンプルを採取した。ステリベクス HV (孔径 0.45 μm) を用い、各海域で、規定量 (3 L または 5 L) の表層海水の濾過を、原則として 8 回繰り返した。異なるフィルター間で結果を比較するため、B)~D) ではステリベクス GV (孔径 0.22 μm) を用いて HV と同様の繰り返し濾過試験を実施した。GV での規定量は 1.5L または 3L とした。

メタバーコーディングとデータ解析

フィルターサンプルから、Qiagen DNeasy Blood and Tissue kit を使い、Wong et al. (2020) の方法に従って DNA を抽出した。魚類のミトコンドリア DNA の 12S rRNA 領域を、MiFish プライマー (Miya et al. 2015) で増幅し、iSeq 100 でシーケンスした。得られた配列を pMiFish パイプラインで処理した。98.5% 以上

の相同性を種の閾値として採用し、暫定的な分類群を決定した。さらにコンタミネーション由来と考えられる配列を除去した。各試験で累積種数曲線を作成するとともに、Chao2 estimator (Chao and Chiu 2016) で種多様性を推定した。

3. 結果と考察

繰り返し数と検出種数の関係

ほぼ全てのサンプルで魚類の環境 DNA が検出できた (98%)。HV タイプでは計 8~32 種が検出され、これは Chao2 の 62~98% に相当した。一方 GV タイプでは計 16~26 種が検出され、これは Chao2 の 33~69% に相当した。合計検出種数の 80% 以上をカバーできた濾過量は、HV で 12~25L、GV で 7.5~15L であった (Fig. 1)。

ステリベクスHVでの結果

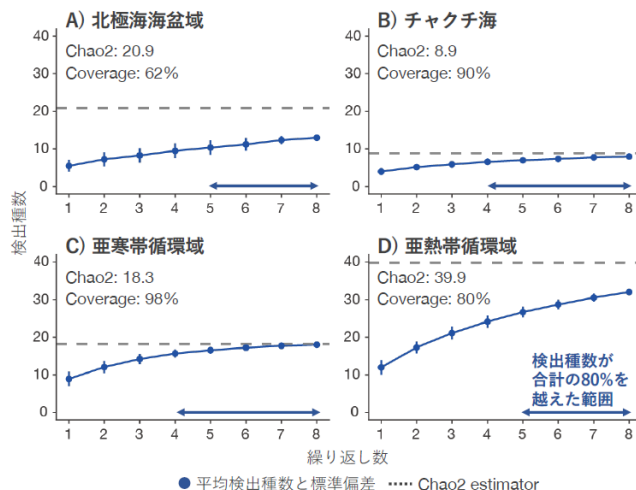


Fig. 1 Detected species in each region, using Sterivex HV filter.

この結果から、Sterivex HV フィルターを用いた場合は 20 L、Sterivex GV フィルターを用いた場合は 10 L 以上をろ過すれば、出現種の大部分を網羅できると考えられる。

フィルターによる種組成の違い

ランダムリサンプリングによるレアファクションをおこなった場合、HV タイプを用いてろ過をした場合と GV タイプのろ過の結果を比較したところ、検出種数に差が認められた。そしてその関係は海域によって異なっていた。ただし、Chao2 はどの海域でも GV のほうが高かった。Jaccard 指数 (J: 0 から 1 の値をとり、類似性が高いほど小さくなる) では、両者の類似

性がそれほど高くないことが示された。

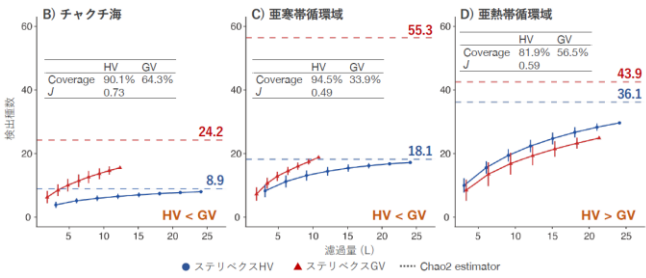


Fig. 2 Relation between detected species and filtered volume in each region.

4. まとめと今後の展望

外洋域でも数リットルの海水を濾過するだけで魚類の環

境 DNA を検出することができた。最適な濾過量は、海域によって異なるが、HV タイプを用いた場合は 20 L 前後、GV タイプを用いた場合は 10 L 以上と推定された。フィルターの種類がメタバーコーディングの結果に強く影響することがわかった。これには環境 DNA が捕集される確率、水温による保存性の違い等が影響している可能性がある。

参考文献

- (1) Chao A, Chiu CH, 2016: “Species richness: estimation and comparison” Wiley Stats Ref: Statistics Reference Online 1–26.
- (2) Miya et al., 2015: “MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species” Roy. Soc. Open. Sci. 2:150088.
- (3) Wong et al., 2020: “Field application of an improved protocol for environmental DNA extraction, purification, and measurement using Sterivex filter” Sci. Rep. 10:21531.

海洋微生物の持つ酵素型ロドプシンの網羅的探索と機能解明

Exploration and characterization of enzyme rhodopsins in marine microorganisms

加藤 英明, 東大・総合文化, E-mail: hekato(at)bio.c.u-tokyo.ac.jp
吉澤 晋, 東大・大気海洋研, E-mail: yoshizawa(at)aori.u-tokyo.ac.jp
Hideaki Kato, Komaba Institute for Science, The University of Tokyo
Susumu Yoshizawa, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

In recent years, with the development of genetic analysis technology, rhodopsin genes have been found one after another in microbial genomes. It has become clear that ion transporting rhodopsins such as H⁺ pump rhodopsins (proteorhodopsins) are widely distributed among prokaryotes in the marine environment, indicating that microorganisms use sunlight more than previously thought. Although most of these rhodopsins work as light-driven ion transporters, several enzyme-type rhodopsins have recently been found. The enzyme opsin gene encodes rhodopsin domain and an enzyme domain in a single polypeptide, and the enzyme function is regulated by light. However, not only the genetic diversity and distribution of enzyme rhodopsin in the marine environment, but even the mechanism of its function is still unknown. This study aims to clarify the light-induced metabolic changes in marine microorganisms by comprehensively searching, classifying, and analyzing the functions of enzyme rhodopsins in marine eukaryotes.

1. はじめに(節の表題: MS ゴシック 9pt)

近年、遺伝子解析技術の発展を背景に、微生物ゲノムからクロロフィルとは異なる光受容体であるロドプシン遺伝子が続々と見つかった。特に海洋環境には H⁺輸送型ロドプシン(プロテオロドプシン)などのイオン輸送型ロドプシンが海洋原核生物に広く分布することが明らかになり、これまで考えられてきた以上に微生物が太陽光を利用することが分かってきた。また、網羅的 mRNA 解析プロジェクト(MMETSP: The Marine Microbial Eukaryote Transcriptome Sequencing Project)から海洋性真核微生物も多様なロドプシン遺伝子を持つことが徐々に明らかになっている。単細胞緑藻であるクラミドモナスは、眼点にチャネル型ロドプシンを局在させることで光の方向を感知し、効率よく光合成が行える環境に移動する「走光性」を持つことなどが知られている(Berthold et al, 2008)。一方、非光合成微生物の光利用はこれまでほとんど注目されてこなかったが、近年「光」で機能を on-off する酵素型ロドプシンが数個体で見つかり、真核微生物が多様な光センサーを持つ可能性が示唆されている(Keeling et al, 2014; Luck et al, 2012)。

酵素型ロドプシン遺伝子は前半部分にロドプシンを後半部分に酵素をコードしており、光を受容すると酵素機能を発現あるいは抑制すると考えられている。例えば、海洋性襟べん毛虫ゲノム上にはロドプシン-ホスホジエステラーゼが連続した遺伝子が存在するが、このタンパク質は光に反応して環状ヌクレオチドを分解することが示されている(Yoshida et al., 2017)。しかしながら、酵素型ロドプシンの遺伝的多様性や海洋環境における分布のみならず、機構発現メカニズムさえも未だよく分かっていない。

2. 問題設定・方法

本研究では、海洋真核微生物が持つ酵素型ロドプシンを網羅的に探索・分類・機能解析を行うことで、未だ謎に包まれている海洋微生物の光による代謝変化を明らかにすることを目的とする。

具体的には以下の 2 つの課題を遂行することで海洋性微生物のもつ酵素型ロドプシンの多様性と機能を明らかにする。

1. 情報解析: 海洋微生物メタゲノム・メタトランスクリプトームを対象に酵素型ロドプシンを探索。得られた配列の酵素部分の機能予測を行う。

2. **機能解析:** 目的配列を人工的に合成し、大腸菌および哺乳類細胞を用いた異種発現系における発現系を構築する。得られた発現系を用いて目的のロドプシントタンパク質を発現精製したのち、レチナールの結合能、吸収波長、光サイクルの評価を行う。さらに、融合した酵素ドメインの配列からその機能を予測し、酵素機能が実際に光によって制御されているのか、検証実験を行う。

3. 結果と考察

多様な環境メタゲノム(244 プロジェクト)、真核微生物トランスクリプトーム(MMETSP: 650 種以上の真核微生物 mRNA データを含むデータベース) 及びタンパク質データベース(UniParc) から網羅的にロドプシン遺伝子の探索を実施した。

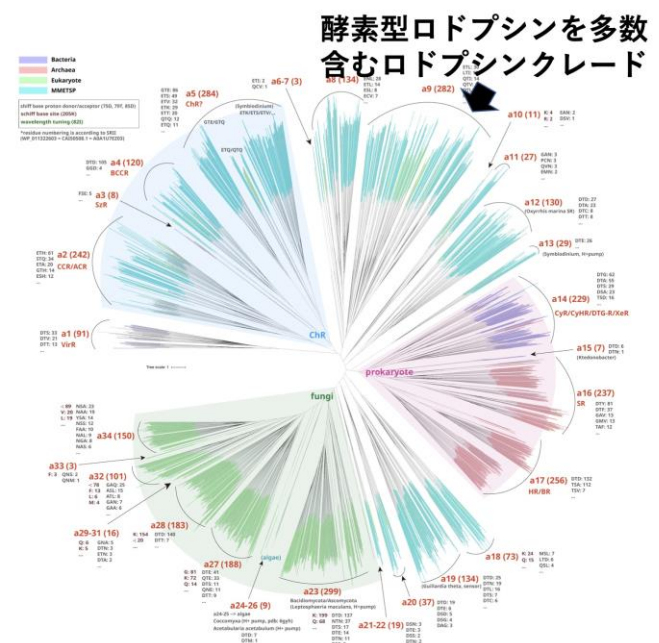


図1 本研究で得られたロドプシン配列を含む系統樹

この解析からロドプシンと推定される配列（アミノ酸配列長＞200）を 27 万以上見出し、その中からロドプシン以外の機能ドメインをコードする配列を抽出した。抽出した配列はこれまでに報告のあるヒスチジキナーゼやホスホジエステラーゼなどだけでなく、それ以外の機能ドメインを含むものが 2736 配列も得られた。また、酵素型ロドプシン配列は、先行研究で解析されたものは 1 つのクレードに全て含まれているが、本研究により複数のクレードに分散している可能性が示された（図 1）。このことから、未知の酵素型ロドプシンが多く残されていると推測される。得られた新規酵素型ロドプシン候補を、哺乳類細胞や大腸菌にコドン最適化後、人工的に遺伝子全合成を行った。これまでに複数の配列について大腸菌での異種発現を行ったが、ロドプシタンパク質の発現は確認できていない。現在は、培養時間や温度、転写誘導剤（Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside）の濃度、宿主大腸菌株の種類などの異種発現条件の検討を行なっている。加えて、アミノ酸配列から、ロドプシタンパク質の膜貫通領域予測や、タンパク質が立体構造をとる際に障害となり得る領域（disorder 領域）の予測を行い、発現させるロドプシン配列についても最適化を試みている。遺伝子全合成を行なったロドプシン配列のうち 3 つにおいて、配列の最適化の候補を見つけており、今後これらの最適化配列の作製と機能解析を行う予定である。また、哺乳類細胞での発現については 3 種の新規酵素型ロドプシン（異性化酵素、アミノ基転移酵素、分解酵素）について発現が認められたが、発現時にフォールディング異常に起因すると思われる局在異常や分解がみられたため、大腸菌の系同様、発現コンストラクトの最適化を行なっている。また、酵素以外の機能ドメインとして、膜輸送体と融合した新規タイプのロドプシンを発見することに成功したため、こちらについても哺乳類細胞での発現を試みた。その結果、100 以上の発現コンストラクトの最適化を経たのち、その発現系を構築することに成功した。このタンパク質について哺乳類細胞を用いて発現を行い、そのタンパク質を精製したのち、実際にレチナルの結合能や吸収波長を測定したところ、図 2 に示すような吸収スペクトルを得ることに成功している。さらに、この融合型ロドプシンのロドプシン部分を発現精製し、これを東京大学の所有するハイエンドクライオ電子顕微鏡 Talos を用いて撮影したところ、図 3 に示

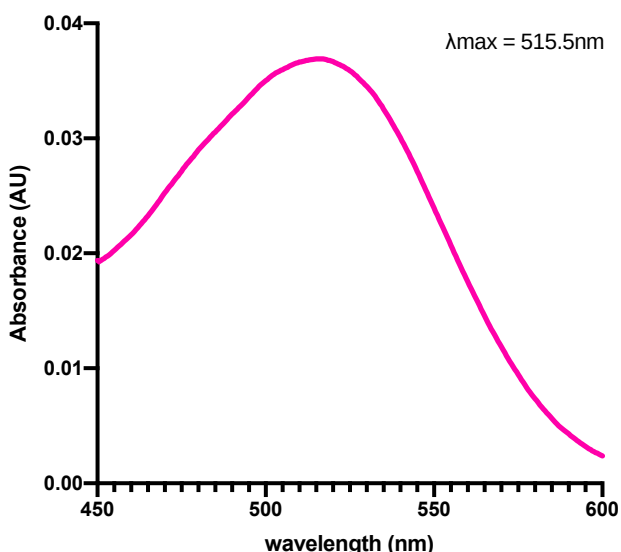


図 2 新規ロドプシンの精製タンパク質における吸収波長スペクトル

すような 2 次元クラス平均像を得るに至っている。このことから、この新規ロドプシンは 3 量体を形成することが判明した。

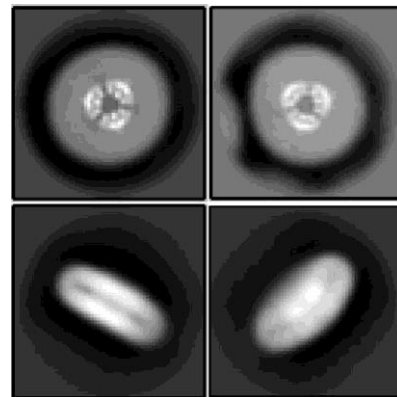


図 3 新規ロドプシンの 2 次元平均クラス像。3 量体を形成していることがはっきりと読み取れる。

4. まとめと今後の展望

特定の真核微生物が走光性を示すことは古くから知られていたが、光の存在が細胞内の代謝に影響を与える可能性が示唆されたのはごく最近であり、酵素型ロドプシンの基礎的な知見も殆ど存在しないのが現状である。本研究で実施した網羅的な情報解析から、多くの酵素型ロドプシン配列を見出すことに成功した。この成果は、従来は光を感知しないと考えられてきた微生物群が“光を感じ・利用している”可能性を示唆している。今後は、これらの遺伝子を持つ分類群や環境特異性に注目した解析を継続する予定である。また、見出した酵素型ロドプシン候補配列の配列最適化や異種発現条件を検討し、酵素型ロドプシンの機能ドメインの解析及び利用波長などを測定することで、新たな機能や細胞内での生理的役割の解明を目指す。

今後、上記の内容を解明することで、光に応じた微生物の形態・運動性・光合成効率の変化など“新たな光利用生態の概念”を創出したい。

参考文献

- (1) Berthold P et al., 2008: “Channelrhodopsin-1 Initiates Phototaxis and Photophobic Responses in *Chlamydomonas* by Immediate Light-Induced Depolarization” *Plant Cell*, 6, 1665-1677.
- (2) Keeling PJ et al., 2014: “The Marine Microbial Eukaryote Transcriptome Sequencing Project (MMETSP): illuminating the functional diversity of eukaryotic life in the oceans through transcriptome sequencing”, *PLoS Biol.*, 12, e1001889
- (3) Luck M et al., 2012: “A Photochromic Histidine Kinase Rhodopsin (HKR1) That Is Bimodally Switched by Ultraviolet and Blue Light”, *J. Biol. Chem.*, 237, 40083-40090.
- (4) Yoshida K et al., 2017: “A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity”, *J. Biol. Chem.*, 292, 7531-754

珪藻ロドプシンの数値モデル解析を用いた生理的役割の解明

Quantifying the role of rhodopsins in diatoms

井之村 啓介, ロードアイランド大学・海洋学大学院, E-mail: inomura@uri.edu

吉澤 晋, 東大・大気海洋研,

Keisuke Inomura, Graduate School of Oceanography, University of Rhode Island

Susumu Yoshizawa, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Diatoms are globally important phytoplankton, accounting for about 40% of marine photosynthesis. The success of their niche acquisition is underpinned by the high photosynthesis rates, yet the mechanisms behind have been obscure. In this study, we propose that rhodopsins in diatoms facilitate their carbon fixation. Yoshizawa's team discovered that rhodopsins are located at the outermost layer of the thylakoid membranes. Given this information, Inomura's group developed a quantitative model of diatoms representing the transport of carbon dioxide and carbon fixation. The model shows that the rate of carbon fixation is highly dependent on the pH in the 'middle space', the outermost membrane space of the thylakoid membrane. The increase in carbon fixation is highly dependent on the ratio of the maximum carbon fixation rate and diffusion constant, yet in any case, the decreased pH in the middle space favors carbon fixation. This study suggests that decreased pH by proton pumping by rhodopsin may increase the rate of carbon fixation in diatoms.

1. はじめに

珪藻は海洋において最も優先する植物プランクトンの1つであり、海洋で行われる光合成のおよそ40%を担っている (Tréguer *et al.*, 2017). 全球規模においても20%以上の光合成を担っていると試算されているが (Mann, 1999), なぜこれほどまでに珪藻は海洋において成功しているのかはいまだに謎である。海洋生態系モデルによると珪藻は高い光合成力による早い成長速度が顕著であり、そのことが、他のプランクトンとの競合において生き残ることにつながっていることを示している (Dutkiewicz *et al.*, 2020). 実際に珪藻の高い光合成力は実験等によって確かめられている (Marañón *et al.*, 2013). しかし、どのような機構で高い光合成能力を維持しているのかは明らかになっていない。共同研究者である吉澤博士のチームは光でプロトン (H^+) を輸送するロドプシン

が珪藻の色素体に存在することを示すデータを得ている。特にチラコイド膜の最外膜から内側に向かってプロトンを輸送する方向にロドプシンが配置されており、それによってチラコイド膜内の pH が下がる可能性を示している。しかし、仮に膜内の pH が変化した場合それがどのように光合成や炭酸固定に影響を及ぼすか、数値的な解析はこれまでにない。本共同研究では細胞内の炭素輸送および炭素固定の数値モデルを構築することでチラコイド膜内の pH が炭酸固定に及ぼす影響を数値化した。本モデルは膜内 pH の影響が炭酸固定に及ぼす影響は最大炭素固定速度と膜浸透速度の比に影響されるが、どのような比であっても、pH が下がった場合、炭酸固定速度は増加することを示した。

2. 問題設定・方法

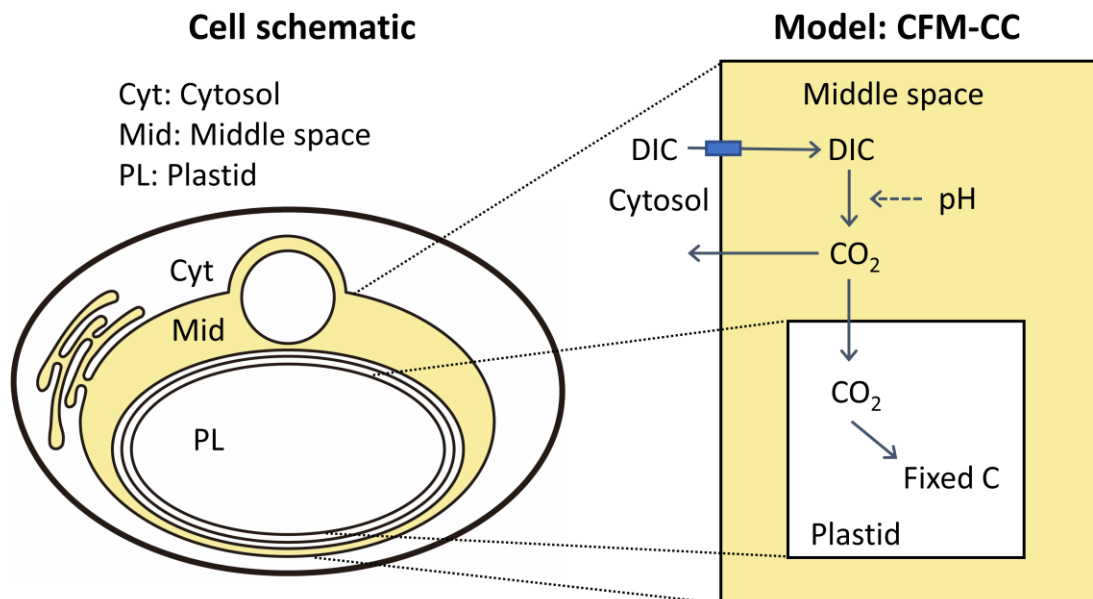


Fig. 1 Schematic of Cell Flux Model of C concentration (CFM-CC). The left panel represents the actual cell and the right panel represents the model. Solid arrows show net flux of C and dashed arrow indicates the influence of pH.

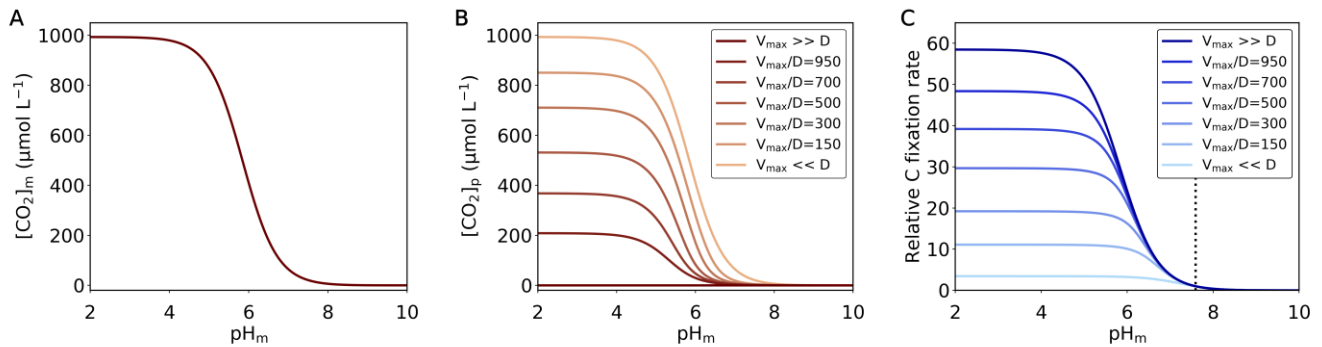


Fig. 2 The influence of pH in the middle space on CO₂ concentration and the photosynthesis rate. (A) CO₂ concentrations in the middle space. (B) CO₂ concentration in the plastid. (C) C fixation rate relative to that with pH in the middle space of 7.59, the only value we found for intracellular pH in a diatom²³. (B) and (C)

本研究ではチラコイド膜内の最外部のスペース (middle space) の pH の変化が炭素固定にどのような影響を与えるかを数値評価するために膜輸送および炭素固定を組み合わせたモデル (CFM-CC: Cell Flux Model of C Concentration) を開発した (Fig. 1). 本モデルはチラコイド膜内の最外部のスペースから光合成が行われる Plastid への二酸化炭素の浸透による輸送および Plastid における炭素固定への炭素の流れを計算する. middle space に様々な pH を与え、その変化に応じて相対的にどの程度炭素固定速度が変化するかを推定した. 設定できるパラメーターは膜浸透係数 (D) および最大炭素固定速度である (V_{max}) であるが、本モデルはこれらの比 (V_{max}/D) に応じてのみ結果が変わるため、それぞれの比に応じた結果を表示した (Fig. 2).

3. 結果と考察

本モデルは middle space の pH (pH_m) と炭素固定は負の相関関係にあることを示している. 特に、 pH_m が下がった場合炭素固定速度が増加することを示している. 具体的には pH_m が下がった場合 middle space の炭素化学のバランスが二酸化炭素側に偏り、二酸化炭素の濃度が増加することで膜を通過する二酸化炭素量も増える. その増加の度合いは V_{max}/D によって異なるため、炭素固定速度も V_{max}/D によって変化する. V_{max}/D が大きい場合の方が小さい場合よりも炭素固定速度の変化が大きいという結果になった. 理由は V_{max} が相対的に高い場合は plastid の二酸化炭素濃度が小さくなり、middle space の二酸化炭素濃度に比例して炭酸固定速度が上がるためである. 逆に V_{max} が相対的に低い場合は plastid における二酸化炭素濃度が middle space における二酸化炭素濃度に近づき、二酸化炭素が plastid において飽和に近づき、それに伴い炭素固定速度の変化が小さくなり、 pH_m の影響が小さくなる. しかしいずれのシミュレーションにおいても pH_m が下がった場合は炭素固定速度が増加することを示しており、プロトン輸送ロドプシンによって middle space における pH が下げられた場合は炭素固定を促進することを示している.

本研究の重要な点は、新たな炭素固定促進メカニズムの解明に寄与することである. これまで炭素濃縮は重炭酸イオン (HCO_3^-) を輸送することによって行われていると考えられてきた. それを行うためには重炭酸イオンのトランスポーターが必要であるが、これまでそのようなトランスポーターは見つかっていない. また、そのようなトランスポーターの発現および配置には多大なエネルギーを必要とする. 特に4重膜があるため、エネルギーコストは高いと考えられる. またそ

のような重炭酸イオンの輸送には ATP の消費が伴い、非効率である. にもかかわらず進化の過程で4重膜構造が選ばれたのは謎に満ちている. 本研究で示すような重炭酸イオンではなく二酸化炭素を用いた輸送であれば、浸透によって輸送が進むため、先に述べたようなエネルギー消費は不必要であり、また、ロドプシンを用いているため光エネルギーを利用して効率的に炭素固定を促進できる. 特にトランスポーターを介さないため、4重膜であってもディスプレイバントーがなく進化においても、重炭酸イオンおよびそのトランスポーターを用いた輸送よりも論理的に受け入れやすい. 本モデルによると V_{max}/D が重要な役割を果たしている. 特に V_{max}/D が高い場合の方が pH_m の変化による炭酸固定速度への影響が高くなる. これはより多くの RuBisCo を plastic に配置することによって達成されるため、珪藻および植物プランクトン内における高い RuBisCo の濃度も説明がつく.

4. まとめと今後の展望

本研究成果は珪藻の炭素固定に新たな視点見出すことにつながると期待している. 特にこれまで想定されていた炭素濃縮メカニズムの問題点を解決する可能性がある着想に至ったため、パラダイムシフトにつながる可能性があると考えられている. 今後は珪藻の二酸化炭素濃縮機構に必須酵素である炭酸脱水酵素をモデルに組み込むことで、炭酸固定効率にロドプシン活性が与える影響を評価する. また、CFM-CC を生態系モデルに組み込みプロトン輸送ロドプシンの有無がどのように珪藻の生態的地位に影響するのかを数値的に解析する予定である.

参考文献

- Dutkiewicz S, Cermeno P, Jahn O, Follows MJ, Hickman AA, Taniguchi DAA, *et al.* (2020). Dimensions of marine phytoplankton diversity. *Biogeosciences* **17**: 609-634.
- Mann DG. (1999). The species concept in diatoms. *Phycologia* **38**: 437-495.
- Marañón E, Cermeño P, López-Sandoval DC, Rodríguez-Ramos T, Sobrino C, Huete-Ortega M, *et al.* (2013). Unimodal size scaling of phytoplankton growth and the size dependence of nutrient uptake and use. *Ecology Letters* **16**: 371-379.
- Tréguer P, Bowler C, Moriceau B, Dutkiewicz S, Gehlen M, Aumont O, *et al.* (2017). Influence of diatom diversity on the ocean biological carbon pump. *Nature Geoscience* **11**: 27-37.

眼球の同位体分析による、回遊魚の移動履歴復元手法の開発 Developing a method for reconstructing movement histories of migratory fish by isotope analysis of eye lens

Yota Harada^{1*}, Shin-ichi Ito², Nanako O. Ogawa¹, Chisato Yoshikawa¹, Naoto F. Ishikawa¹, Michio Yoneda³ and Naohiko Ohkouchi¹

Abstract (Times New Roman 10pt)

Fish migration has always played an essential role in marine conservation and fisheries management. However, migration patterns are changing globally alongside changing ocean conditions. This affects the spatial scale of required governance and, consequently, our food supply. Technological advances in the bio-tracer approach using isotopes would make it possible to monitor fish migration differently from the conventional bio-logging method. Eye lenses of fish are incrementally grown and metabolically inert. Therefore, stable isotope analysis of eye lenses can reconstruct the geographic and trophic histories of fish. This study proposed compound-specific isotope analysis of amino acids in eye lenses as a new tool capable of reconstructing the geographic and trophic histories of migratory fish.

1. はじめに

気候変動の進行によって広域回遊魚の回遊経路が変化し、国際的な水産資源管理がより困難になることが予想される中、これらの生物の回遊経路を正確に知ることが強く求められている。

2. 問題設定・方法

アーカイバルタグなどの記録装置の装着が難しいサバやサンマなどの小型回遊魚の回遊経路を推定するために、近年、耳石や脊椎骨などの追加的に成長する硬組織を使って、過去に遡る時系列同位体比分析が実施されるようになった。例えば、海水温に強く依存する耳石の酸素同位体比からは対象の魚類が生活史を通して経験した水温を推定すること可能であり、この情報を使用して回遊経路を割り出すことができる。一方で、これらの硬組織は、有機物の含有量が少ないため、魚類が回遊中に摂餌した餌料の履歴を推定するための有機物の同位体比分析に適していない事が一つの問題となっている。そこで、近年、追加的に成長しかつ有機物の含有量が多い眼球の水晶体（図1）を使った時系列同位体比分析が試みられるようになった（e.g. Wallace et al. 2014, PLoS One）。本研究では、水晶体の同位体分析による、回遊魚の移動履歴復元手法を開発する。

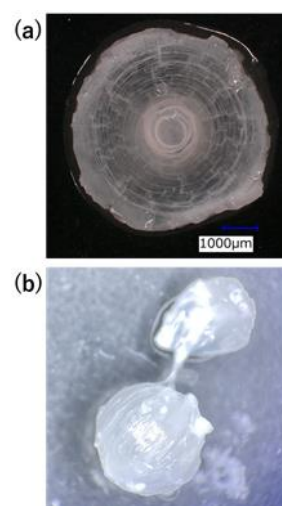


図1、マサバの水晶体。(a) 断面図。(b) 成長層ごとに採取し時系列同位体比分析が行える。

3. 結果と考察

マサバを対象として水晶体の同位体分析方法の開発を行い、その研究結果を論文にまとめた（Harada et al. in review, *Frontiers in Marine Science*）。水晶体を用いて、稚魚期から捕獲時を含む一生を通しての同位体比履歴を高時間解像度で復元する方法を開発した。個々のアミノ酸の窒素同位体分析から魚の成長と共に変化する栄養段階の履歴、それに加えて回遊中に食べた餌の窒素同位体比の履歴も復元する事が可能になった。今回開発した水晶体の分析方法はあらゆる日本の有用種、例えばサンマやアジにも利用する事ができることも検証し分かった。

4. まとめと今後の展望

従来のアーカイバルタグなどの記録装置は、装着が難しいため小型回遊魚には適していない。また、バッテリーの寿命などもあるため、魚の一生を通しての生活史を調べる事が困難であることが問題となっている。今研究で開発する水晶体を用いた方法ではこれらの問題を解決できることが期待される。また水晶体を使った手法は魚の生存にとって最も重要である稚魚期の生活史を復元する事に適しているため、水産資源管理において重要な役割を果たす事が期待される。本研究によって、水晶体を使った手法が確立され、耳石から得られる情報（日齢や経験水温）と水晶体から得られる情報（食べた餌の履歴）を融合しより高い精度で回遊履歴の推定が可能になることが期待される。また、この手法はあらゆる日本の有用魚種に利用可能である。

地溝帯内の堆積速度変化に基づく断層活動履歴の評価

— 亀裂充填物の年代も踏まえた断層活動履歴評価手法の開発 —

Development of a dating method for active faults in a tectonic graben

石澤 堯史, 東北大学・災害科学国際研究所, E-mail: ishizawa(at)irides.tohoku.ac.jp
遠田 晋次, 東北大学・災害科学国際研究所, E-mail: toda(at)irides.tohoku.ac.jp
鳥井 真之, 熊本大学・くまもと水循環・減災研究教育センター, E-mail: mtorii(at)kumamoto-u.ac.jp
奥野 充, 福岡大学・理学部地球圏科学科, E-mail: okuno(at)fukuoka-u.ac.jp
宮入 陽介, 東京大学・大気海洋研究所, E-mail: miyairi(at)aori.u-tokyo.ac.jp
横山 祐典, 東京大学・大気海洋研究所, E-mail: yokoyama(at)aori.u-tokyo.ac.jp
Takashi Ishizawa, International Research Institute of Disaster Science, Tohoku University
Shinji Toda, International Research Institute of Disaster Science, Tohoku University
Masayuki Torii, Center for Water Cycle, Marine Environment and Disaster Management, Kumamoto University
Mitsuru Okuno, Department of Earth System Science, Fukuoka University
Yosuke Miyairi, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Yusuke Yokoyama, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract (Times New Roman 10pt)

Estimating the size and frequency of past earthquakes is an important issue for hazard assessment. Traces of past surface rupturing earthquakes are usually revealed by stratigraphic offsets by faults. However, such offsets are often hard to detect where unconsolidated massive soil is thickly deposited. Here we show new approaches to reveal paleoearthquake history using high-resolution ^{14}C dating results at massive soil and seismic cracks. Our results indicated that seismic cracks formed simultaneously with a rapid increase in sedimentation rate at the massive thick soil. These are presumed to be attributable to contemporaneous faulting activity. Moreover, our results demonstrate the importance of TOC content in sediment in order to estimate the actual timing of faulting from dating of crack fillings. The proposed methods improve the identification of paleoseismic traces from trench sites and thus are important for hazard assessment.

1. はじめに(節の表題: MS ゴシック 9pt)

2016年4月に発生した熊本地震では、布田川・日奈久断層帯が活動しM7.3の地震が発生した。この地震では、同断層帯における布田川区間と高野一白旗区間の北部が主に活動したが(熊原, 2016)、それ以外の区間では目立った断層活動は認められず、歪みの蓄積が継続していると考えられる。本研究で対象とする熊本県嘉島町の北甘木地区は過去に複数回の断層活動が推定されているが、2016年熊本地震の際には明確な地表地震断層が表われず、将来的な断層活動が示唆されている。北甘木断層の活動履歴は丸山ほか(2019)において、1万6千年前後で3千あるいは6千年前と推定されているが、断層活動に伴う地層の変形が明瞭ではなく、その詳細な履歴については判明されていない。そこで本研究では北甘木地区のトレンチ調査で得られた試料を用いて、多点数の年代測定結果を基に、新たな断層活動履歴の評価手法を検討した。

2. 問題設定・方法

従来、断層の活動時期は、その断層によって変位を与えられた層より若く、それを覆う層よりも古いという仮定から評価されてきた(例えば、地震調査委員会長期評価部会, 2010)。しかし、本研究地域では均質かつ軟弱な土壤層が厚く堆積しており、地層中に生じた変位を読み取ることが難しく、断層活動履歴を復元することが困難であった。そこで本研究では、断層活動に伴い形成された地溝帯に厚く堆積する土壤層に着目し、土壤層を高密度で多点数年代測定することで堆積速度

変化を読み取り、そこから断層活動履歴の復元を試みた(Fig. 1)。また断層活動に伴い形成されたと考えられる亀裂の充填物についても併せて年代測定を行った。 ^{14}C 年代測定については東京大学大気海洋研究所に設置してあるシングルステージAMS(Yokoyama et al., 2019)を利用した。 ^{14}C 年代の較正はIntCal20(Reimer et al., 2020)を用いてOxCal 4.4.2(Bronk Ramsey, 2009)で実施した。

3. 結果と考察

地溝帯に堆積する土壤層について高密度で年代測定した結果、9000~10000年前に急激な堆積速度の増加が確認できた。この理由としては、地層が撓曲変形し傾動したため見かけ上の堆積速度が増加したことや、地溝帯の部分が断層活動により相対的に窪地になり周辺から堆積物の供給量が增大したことが考えられる。また同じトレンチ壁面で亀裂充填物の年代を多点数測定した所、9000~15000年の年代値を得られた。亀裂充填物は断層活動により形成された亀裂に周囲の堆積物が落ち込み形成されると考えられる。つまり、断層活動時期は亀裂充填物から得られる年代よりも若いと考えられ、約9000年前以降の断層活動が示唆される。亀裂充填物から得られた年代と亀裂充填物のTOC量を比較すると、TOCが多いほど年代値が若くなる傾向が認められる(Fig. 1)。このことから、TOC量が多い試料は、亀裂形成当時に地表面付近にあった有機物の分解が進んでいない堆積物が亀裂中に落ち込み埋積されたものと考えられる。つまり亀裂充填物から断層活動時期

を推定する際には、TOC 量の多い試料を選んで年代測定すれば効率的に年代推定が可能である。以上のように、地溝帯内の堆積速度変化と亀裂充填物の年代は 9000～10000 年頃の断層活動を示唆しており、従来手法では読み取ることが出来なかった断層活動時期を推定することができた。

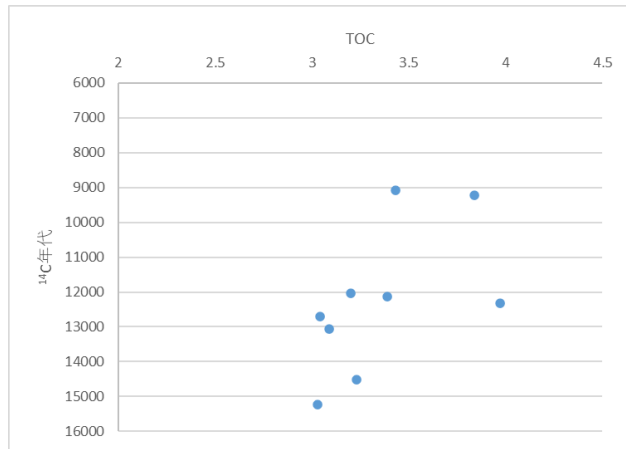


Fig. 1 Relationship between ¹⁴C age and TOC from crack fillings.

4. まとめと今後の展望

本研究では、均質な土壌層が厚く堆積する地点において堆積速度変化や亀裂充填物の年代測定から断層活動履歴を推定した。また亀裂充填物と TOC 量の比較から、亀裂充填物を用いて効率的に断層活動の時期を推定する手法についても開発した。以上の成果から、従来手法では断層活動履歴を推定することが困難であった地点でも断層活動履歴を復元することが可能となり、今後より確度の高い断層活動履歴の評価を実施できる可能性もある。

参考文献

- (1) Bronk Ramsey, C., 2009: “Bayesian analysis of radiocarbon dates”, *Radiocarbon*, 51(1), 337-360.
- (2) 地震調査委員会長期評価部会, 2010: “「活断層の長期評価手法」報告書”, https://www.jishin.go.jp/main/choukihyoka/katsu_hyokashuho/honpen.pdf
- (3) 熊原康博, 後藤秀昭, 中田 高, 石黒聡士, 石村大輔, 石山達也, 岡田真介, 椿原京子, 柏原真太郎, 金田平太郎, 杉戸信彦, 鈴木康弘, 竹竝大士, 田中 圭, 田中知季, 堤浩之, 遠田晋次, 廣内大助, 松多信尚, 箕田友和, 森本ひかる, 吉田春香, 渡辺満久, 2016: “2016 年熊本地震に伴う地表地震断層の分布とその特徴” 日本地球惑星科学連合大会 2016 年大会講演要旨.
- (4) 丸山 正, 斎藤 勝, 小峰佑介, 亀高正男, 2019: “熊本県上益城郡益城町島田地区における北甘木断層の活動履歴と 2016 年熊本地震で出現した地震断層の詳細” 活断層研究, 50, 13-31.
- (5) Reimer, P.J., Austin, W.E.N., Bard, E., Bayliss, A., Blackwell, P.G., Bronk Ramsey, C., Butzin, M., Cheng, H., Edwards, R.L., Friedrich, M., Grootes, P.M., Guilderson, T.P., Hajdas, I., Heaton, T.J., Hogg, A.G., Hughen, K.A., Kromer, B., Manning, S.W., Muscheler, R., Palmer, J.G., Pearson, C., van der Plicht, J., Reimer, R.W., Richards, D.A., Scott, E.M., Southon, J.R., Turney, C.S.M., Wacker, L., Adolphi, F., Büntgen, U., Capano, M., Fahrni, S.M., Fogtmann-Schulz, A., Friedrich, R., Köhler, P., Kudsk., S., Miyake, F., Olsen, J., Reinig, F., Sakamoto, M., Sookdeo, A., Talamo, S., 2020: “The IntCal20 northern hemisphere radiocarbon age calibration curve (0-55 cal kBP)”, *Radiocarbon* 62(4), 725-757.
- (6) Yokoyama, Y., Miyairi, Y., Aze, T., Yamane, M., Sawada, C., Ando, Y., Natris, M.D., Hirabayashi, S., Ishiwa, T., Sato, N., Fukuyo, N., 2019: “A single stage Accelerator Mass Spectrometry at the Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam interactions with Materials and Atoms*.

放射性炭素同位体を用いた鯨類の回遊経路推定技術の開発

Development the estimation of migration routes of whales by using carbon-14

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

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

Ayaka Matsuda, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

Takashi Matsuishi, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

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

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

Abstract (Times New Roman 10pt)

We investigated the use of radiocarbon isotope, carbon-14, in the baleen plate for reconstructing the migration history and foraging area of baleen whale in the western North Pacific Ocean. $\Delta^{14}\text{C}$ -baleen values of stranded Bryde's whale were measured and the migration history was tracked. The $\Delta^{14}\text{C}$ values showed a bimodal pattern, indicating that this individual migrated north-south seasonally in the Kuroshio Current.

1. はじめに(節の表題: MS ゴシック 9pt)

鯨類(クジラ, イルカ)には日本周辺海域を大きく回遊する種がある。海洋生態系の最高次捕食者である鯨類がどのような回遊経路を使っているかを明らかにすることは海洋生態系保全のため重要である。鯨類は口内にケラチン質でできたヒゲ板を持つヒゲクジラと、ヒゲ板を持たず、口内に歯を持つハクジラに分類される。ヒゲ板は摂餌に使用される器官であり、髪の毛や爪のように根本から先端へむかって伸長する。このような非代謝組織の安定同位体比を分析することで大將動物の回遊履歴が推定されてきた⁽¹⁾⁽²⁾。

本研究では、鯨類の回遊経路推定のために、放射性炭素同位体(^{14}C)を用いた。 ^{14}C 濃度は、親潮系の海流と黒潮系の海流で最大200‰もの大きな開きがある⁽³⁾⁽⁴⁾ことから、親潮と黒潮がぶつかる日本近海ではこの差を利用することで回遊履歴の推定に制約を与えることができる。そこで本研究では、日本周辺海域において、親潮域と黒潮域をまたいで回遊すると考えられているヒゲクジラ類のヒゲ板における $\Delta^{14}\text{C}$ を時系列に沿って分析することで、鯨類の回遊ルートの推定を行った。

2. 問題設定・方法

本研究には2021年8月1日に北海道苫小牧市において漂着したニタリクジラ *Balaenoptera brydei* のヒゲ板を用いた。ニタリクジラは、西部北太平洋において、夏季に北上し、冬季に南下する季節回遊があると考えられている⁽⁵⁾。

分析に供したヒゲ板は約30cmの長さがあり、根本から2cm間隔で切断し、5~10mgずつ分析に用いた。分析には東京大学大気海洋研究所におけるシングルステージ加速器質量分析装置を用いた。

3. 結果と考察

1枚のヒゲ板から16点分の放射性炭素同位体比の分析を行った。 $\Delta^{14}\text{C}$ は最小で2.45‰、最大で25.62‰となった。また根本から5cmと23cmの点で $\Delta^{14}\text{C}$ が高く、10~15cmの点で低い、二峰性を示した(図1)。また、本個体のヒゲ板からは、親潮系海域を示す低い $\Delta^{14}\text{C}$ 値は検出されなかった。この結果から、本個体が黒潮系海域において季節によって南北に回遊していたことが明らかになった。また、5cmと23cm付近にピークがあることから、本種のヒゲ板は1年間で18cm伸長すると推察された。

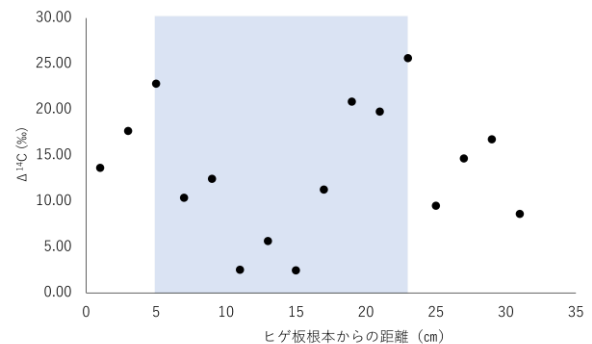


図1. ニタリクジラヒゲ板の $\Delta^{14}\text{C}$ 分析結果

4. まとめと今後の展望

本研究により、日本周辺海域におけるニタリクジラの回遊経路について知見を得ることができた。

今後は、ヒゲ板を持たない、ハクジラについても、本手法を応用することで、回遊経路の推定が可能かどうかを検討し、放射性炭素同位体比分析による鯨類の回遊経路の推定技術を確立したいと考えている。

参考文献

- (1) Schell, M., D., Saipé, M. S., and Haubenstock, N. 1989: "Bowhead whale (*Balaena mysticetus*) growth and feeding as estimated by $\delta^{13}\text{C}$ techniques", Mar. Biol., 103, 433-443.
- (2) Mitani, Y., Bando, T., Takai, N., and Sakamoto, W. 2006: "Patterns of stable carbon and nitrogen isotopes in the baleen of common minke whale *Balaenoptera acutorostrata* from the western North Pacific", Fisheries Sci., 72(1), 69-76.
- (3) 横山祐典, 大河内直彦, 2017: "放射性炭素-14 を使った海洋生物の動態・生態系理解"(特集 同位体の化学と食の安全) 現代化学 Chemistry today, 552, 44-46.
- (4) Larsen, T., Yokoyama, Y., and Fernandes, R. 2018: "Radiocarbon in ecology: Insights and perspectives from aquatic and terrestrial studies", Methods Ecol. Evol., 9(1), 181-190.
- (5) Kishiro, T. 1996: "Movements of Marked Bryde's Whales in the Western North Pacific", Rep. Int. Whal. Commn., 46, 421-428.

西表島浦内川における魚類の多様性と汽水域の生態的役割の解明

Diversity of fish fauna and ecological role of brackish waters in the Urauchi River, Iriomote Island

立原一憲, 琉大・海洋自然科学科, E-mail: ktachiha@sci.u-ryukyu.ac.jp

兵藤 晋, 東大・大気海洋研, E-mail: hyodo@aori.u-tokyo.ac.jp

Katsunori Tachihara, Fisheries Biology & Coral Reef Science, University of the Ryukyus
Susumu Hyodo, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

The investigation was scheduled for June 2021, but it could not be investigated due to the spread of the COVID-19.

1. はじめに

西表島の浦内川は、中・南琉球最大の河川であり、その生息する魚類は、400 種を超えている（鈴木・瀬能, 2005）。我が国に生息する魚類は約 4,000 種であり、流程約 19 km の河川に日本産魚類の約 10% が生息していることになる。この多様性に富んだ魚類群集を維持する基盤は、浦内川全流程の約 50% に及ぶ広大な汽水域の存在である。

さらに浦内川の特殊性は、最上流部から河口に至るまで河川を分断する構造物が一つもなく、亜熱帯の自然河川がそのまま残されていることにある。すなわち、琉球列島で河川と海を行き来する魚類（通し回遊魚）を研究するには、最適な場所である。特に河口から約 10 km に及ぶ広大な汽水域は、通し回遊魚や海域から河川に侵入する周縁性魚類にとって極めて重要な場所となっている。

また、この川には、数多くの絶滅危惧種が生息している（鈴木・森, 2016）。にもかかわらず、この汽水域の詳細な環境構造とそこに住む魚類群集の関連は、何もわかっていない。

2. 問題設定・方法

本研究では、メジロザメ科のオオメジロザメ *Carcarrhincus leucas* (沖縄県版 RDB, NT) とボラ科のヒルギメナダ *Planiliza merinoptera*, モンナシボラ *Moolgarda engelii* (環境省版 RDB, DD), タイワンメナダ *Moolgarda sehelii* (環境省版 RDB, DD) を主な対象種として、これらの魚類が、河川汽水域のどこに加入し、どこで成長していくのか、汽水域のどのような環境を必要としているのかを明らかにする。

本年度の調査は、漁船を備船し、三重刺網（目合: 内 85 mm, 外 350 mm, 長さ x 丈: 2 x 28m）による採集を行う予定であった。また、2022 年 2 月に浦内川の 4 か所（河口域、遊覧船桟橋、軍艦岩、渓流域）に設置した水温データロガー（HOB01-800-LOGGERS）を回収し、周年にわたる水温変化を明らかにする。

3. 結果と考察

今回、調査を予定していた全期間が、新型コロナウイルスの感染拡大により、西表島への渡航ができず、結果を得ることができなかった。

4. まとめと今後の展望

これまでの研究により、オオメジロザメの当歳魚は、隔年で浦内川に遡上することが確認されている（2014 年遡上, 2015 年未遡上, 2016 年遡上, 2017 年未遡上, 2018 年遡上, 2019 年未遡上, 2020 年遡上）。本種の当歳魚が隔年で遡上することから、浦内川の周辺海域に生息するオオメジロザメ個体群は、同調して隔年で産仔している可能性が示唆されている。現在進行中の集団遺伝学的解析からも、浦内川に遡上する集団が沖縄本島や太平洋の集団とは独立していることが示唆されてきている。

本研究は、当初計画ではオオメジロザメの遡上時期である 6 月に三重刺網による採集と水質調査および環境 DNA の解析を同時に行い、オオメジロザメの河川内における動態と生息環境の解明を試みる予定であったが、新型コロナウイルスの感染蔓延に伴い、大幅に計画変更をせざるを得なくなった。また、ボラ科魚類の加入仔稚魚の出現状況の確認は、定期採集が出来なかったことから、結果を出すことが出来なかった。

今後は、2022 年 6 月に今回予定していた調査を行い、オオメジロザメの河川遡上生態を明らかにする予定である。また、ボラ科魚類に関しては、加入が予想される時期に詳細な調査を行い、各種の仔稚魚の出現様式と生息環境を明らかにする予定である。

参考文献

- (1) 鈴木寿之, 瀬能 宏, 2005: “西表島浦内川とトゥドゥマリ浜の魚類御目録（予報）” 西表島浦内川流域研究会（編）. pp12-22.
- (2) 鈴木寿之, 森 誠一, 2016: “西表島浦内川の魚類” 魚類学雑誌, 63, 39-43.

亜熱帯内湾域の古環境研究：過去から現在までの沿岸生態系の変遷

Paleoenvironmental studies of subtropical inner bay systems: coastal ecosystems from Past to Present

藤田 和彦, 琉球大・理, E-mail: fujitaka(at)sci.u-ryukyu.ac.jp
千徳 明日香, 琉球大・理, E-mail: sentoku(at)sci.u-ryukyu.ac.jp
横山 祐典, 東大・大気海洋研, E-mail: yokoyama(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Abstract

In order to reconstruct the development history of subtropical coastal ecosystems, we focused on inner bay systems in the Ryukyu Archipelago as the study area. Due to covid-19 restrictions, we have changed the study area from a remote island (Iriomote Island) to Okinawa Island, and research materials from modern sediments to sedimentary rocks. We have conducted geological and paleontological studies to reconstruct the response of inner bay coral-reef ecosystems to eustatic sea-level changes and tectonic movements recorded in the late middle Pleistocene Minatogawa Formation (coral and detrital limestone) exposed in the southern part of Okinawa Island. Sedimentological and micropaleontological results show that the lower part of Minatogawa Formation records at least twice transgression/regression cycles and was deposited at 15 to 25 m in water depth in a gently inclined fore-reef slope.

1. はじめに

本共同研究では、亜熱帯沿岸生態系の過去から現在までの変遷を記録する場所として、「内湾」に注目している。内湾は、海況が比較的穏やかなため、堆積物の擾乱が小さく、化石の保存状態も良い。そのため、過去の環境変遷の履歴が残されている可能性が高い。また、陸域と外洋の両方の影響を受けており、亜熱帯湿潤地域の陸域と海域との相互作用を含めた物質循環や古環境変遷を研究することが可能である。さらに内湾の深い海底には低海水準期や退水期のサンゴ礁、マングローブ林、海草藻場の記録が残っている可能性がある。

本研究は研究計画策定の時点では、西表島（離島）の内湾で実施する予定であったが、新型コロナウイルス感染拡大の影響により予定していた調査を実施することができなかった。そのため、沖縄本島内で実施可能な研究・調査に変更した。

2. 問題設定・方法

本研究では、約 20～30 万年前にサンゴ礁の内湾に堆積したとされる琉球層群港川層の石灰岩に注目し、当時の汎世界的海水準変動と琉球弧の地殻変動がサンゴ礁生態系へ与えた影響について復元することを目的とした。

沖縄本島南部の堀川採石場南海岸を調査地域とし、岩相層序を明らかにするために地質柱状図の作成と岩石試料の採取を行い、20 試料の薄片を作成した。砕屑性石灰岩からなる 15 試料については、200 個体以上の有孔虫化石を 15 種類に分類・同定・計数した。有孔虫化石群集に基づき堆積環境を推定するために Fujita et al. (2018) によって提案された 3 つの堆積指数 (BR/FR 比, Cg/Calspp 比, Pf/Amp 比) を求めた。サンゴ石灰岩と石灰泥岩からなる 5 試料については、透過光顕微鏡写真を撮影・合成し、被覆生物や構成粒子のトレースや観察を行った。

3. 結果と考察

本研究では港川層の特に下部について検討した。港川層下部は、侵食面によって基盤、ユニット 1、ユニット 2 の 3 つに区分される。地質柱状図の対比より、北東から南西にかけて層位が高くなる。基盤の下部は石灰泥岩と古土壌が互層状に累重し、上部は石灰泥岩の空隙に古土壌が充填する。ユニット 1 はサンゴ石灰岩と砕屑性石灰岩で構成され、ユニット 2 は砕屑性石灰岩のみで構成される。砕屑性石灰岩の有孔虫化石群集は *Calcarina* spp. と *Amphistegina* spp. が 55～80 % を占める。ユニット 1 は上位へ BR/FR 比と Cg/Calspp 比が高くなる。Pf/Amp 比は 0.1～1 の値を示し、上位へ低くなる。ユニット 2 の堆積指数は層位によって大きな変化はみられない。

以上の結果より、ユニット 1 とユニット 2 の堆積過程は、1) 海退により基盤岩が地表に露出し、浸食を受けた、2) 海進によって調査地域の北東側でサンゴ礁が形成された、3) 再び海退が起こり、サンゴ石灰岩の空隙に古土壌が充填し、不整合面が形成された、4) 二度目の海進が起こり、サンゴ石灰岩の上に砕屑性石灰岩が累重したと考えられ、港川層下部には 2 回の海進/海退が記録される (Fig. 1)。有孔虫堆積指数から砕屑性石灰岩は北東から南西にかけて緩やかに傾斜した礁前方斜面の水深 15～25 m で堆積したと考えられる。

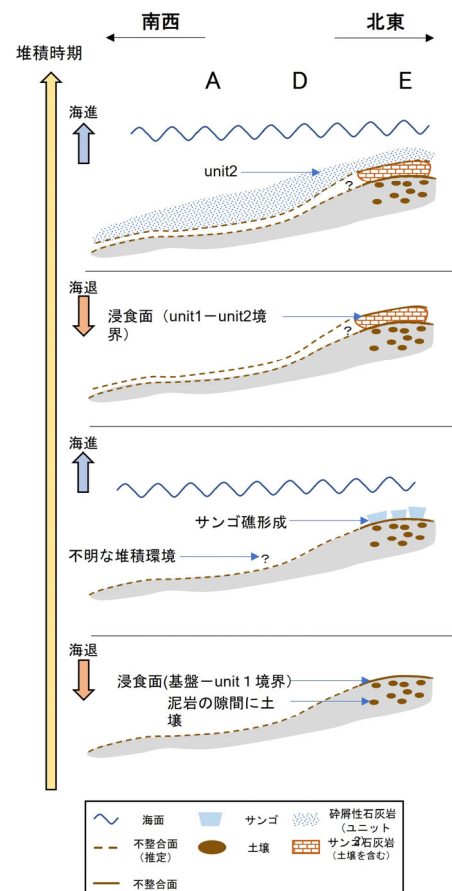


Fig. 1 約 20～30 万年前のサンゴ礁内湾（港川層）の堆積過程と堆積環境

4. まとめと今後の展望

港川層堆積当時（約 20～30 万年前）の汎世界的海水準変動の直接的データはほとんどない。本共同研究により保存の良いサンゴ化石の U-Th 年代測定を試みており、上述の結果に年代を入れることができれば、当時の汎世界的海水準変動を示す標準地域となる可能性がある。琉球弧では活発な地殻変動による変位を分離できるかが課題であるが、堆積学的・古生物学的な証拠により海水準変動と地殻変動とを分離する

方法を検討中である。

参考文献

- (1) Fujita, K., Aruga, K., Hunbelt, M., and Nagai, K., 2018: “Depositional environments of well-sorted detrital limestone from the Minatogawa Formation in the southern part of Okinawa Island, the Ryukyu Archipelago, Japan”, *Island Arc*, 27, 1-21

人為的攪乱がマングローブ域の底生動物群集に与える影響

Impacts of anthropogenic disturbance on mangrove benthic communities

今 孝悦, 海洋大・海洋環境, E-mail: kon(at)kaiyodai.ac.jp

大土 直哉, 東大・大気海洋研, E-mail: ohtsuchi(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Koetsu Kon, Department of Ocean Sciences, Tokyo University of Marine Science and Technology
Naoya Ohtsuchi, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Recently, the benthic faunal communities in a mangrove ecosystem have been subjected to eutrophication by agricultural wastewater. Therefore, the present study aimed to elucidate the effects of agricultural wastewater input on the macrofaunal community structure in a mangrove estuary. We compared the environmental parameters and macrofaunal community structures between the reference and wastewater-affected sites, seasonally. The results revealed that the amount of mangrove litter was significantly greater at the affected site, regardless of the season. Moreover, at the reference site, the species composition showed seasonal fluctuation, representing the transition of opportunistic species. Meanwhile, at the affected site, species composition remained stable, with a predominance of mangrove litter feeders. In conclusion, our study demonstrated that although agricultural wastewater input increased the primary productivity of mangrove trees, it also regulated the seasonal succession of benthic macrofaunal communities.

1. 背景

マングローブ域は地球上で最も生物生産性に富む海域であり、その高い生産性に依拠した多様な生態系サービスを提供する (Nagelkerken et al. 2008)。この海域では、底生無脊椎動物群集が極めて重要な地位を占め、例えば、マングローブ由来産物を摂食することで有機物分解を促し (Lee 1998)、同時に主要な一次消費者として高次生産を支えるなど (Sheaves & Molony 2000)、生態系サービスに関わる様々な機能を有している。

他方、近年では深刻な人為的攪乱に曝されており、元来、貧栄養水域に存在するマングローブ域では (Scharler et al. 2015)、農業排水の流入によって生じる富栄養化がとりわけ顕著である (Verhoeve et al. 2006)。一般に、マングローブ樹木は種々の環境攪乱に対して高い頑健性を示し、富栄養化に対する応答もほぼ認められないことが報告されている (Wong et al. 1995)。同様に、その場に生息する底生動物群集も富栄養化に対して高い頑健性を示すとされるが (Yu et al. 1997)、それが維持される機構の解明には至っていない。底生動物群集の生態的地位を考慮するならば、それら群集の頑健性維持機構の理解は、基礎生態学的な知見の蓄積のみならず、生態系サービスの持続的利用にも貢献し得る。

本研究ではマングローブ域の底生動物群集を対象に、富栄養化に対する頑健性を評価し、その性質が維持される機構を解明することを目的とした。

2. 材料と方法

沖縄県石垣島の名蔵アンパルにおいて、農業排水の流入が認められる影響区と、排水流入がほとんど認められない対照区を選定し、さらに、それぞれの区に存在する林内と干潟の計4地点 (影響区林内、影響区干潟、対照区林内および対照区干潟) を調査地点とした。

各地点において、冬季と夏季の環境要因 (水温、塩分、D₀、光量、底質の中央粒径値、底生の含水率、光量、植物プランクトンの現存量、底生微細藻類の現存量、マングローブリター量) を調査した。また、そこに生息する底生動物をコドラート法にて採集し、種数、個体数、生物量および種組成を求めた。

さらに、上記調査で得られた全ての底生動物、また、それらの潜在的餌資源であるマングローブリター、植物プランク

トン、および底生微細藻類を炭素・窒素安定同位体分析に供し、得られた安定同位体比から、それぞれの動物種へ対する各餌資源の寄与率を推定した。

加えて各定点に優占した種について、それぞれの潜在的餌資源を給餌し、各種の生残率および成長率を見積もった。

3. 結果と考察

影響区では、生息場・季節に関わらず底生動物の餌となるマングローブリター量が有意に増加することが判明した。マングローブは多量の栄養塩を消費した場合でも、樹幹や支柱根の維持に配分し、葉の生産性を高めないことが報告されている (Wong et al. 1997)。富栄養化に対する耐性も高く、一般に生産性や林分構造にほとんど影響を受けないとされる (Wong et al. 1997)。しかし、こうした知見は樹高7-15 mの樹木で構成される熱帯域の大規模群落から得られたものであり (Trott and Alongi 2000)、樹高約1.5 mの矮小マングローブ林では、高濃度の栄養塩が樹木の生育を促進するとの報告例もある (Feller et al. 2015)。本調査地である石垣島はマングローブ分布の世界的北限に位置し、樹高1-3 mの小規模群落である。こうした群落では富栄養化によって生産性が高められ、マングローブリター量が増加したものと予想される。

底生動物については、林内では、対照区において種数および個体数の季節変化が認められた一方で、影響区ではそのような変動は認められなかった。同様に、種組成も林内では対照区において季節的に変動したのに対し、影響区では季節を問わず常にキバウミニナが優占した。こうした群集動態の違いは、影響区で生じたマングローブリター量の増加に起因するものと考えられる。キバウミニナはマングローブリターを直接摂食するリター選好種であり (Houbrick 1991)、影響区ではこうした種が季節を問わず常に優占することで、季節変動が停滞したものと推察される。

一方、干潟においては、排水・季節による群集構造の変化は認められなかった。一般にマングローブ隣接干潟域では堆積物食者が優占し (Kon et al. 2011)、本調査でも同様に堆積物食性の多毛綱や腹足綱、また、堆積物の再懸濁物を利用する二枚貝綱 (Kang et al. 1999) が優占した。これらは堆積物中に含まれる底生微細藻類を主餌料としており (Kon et al. 2007)、底生微細藻類の多寡に応じて個体密度が増減する。

本調査地では、排水・季節の相違による底生微細藻類の現存量の変化が認められず、群集構造を違えさせるに至らなかったと考えられる。

上述の推察は、安定同位体分析および室内実験の結果からも支持される。干潟に優占したアシベマスオは底生微細藻類を主に利用しており、また、飼育実験では、それらを摂餌することで成長率・生残率がともに高まることも判明した。他方、林内影響区で増加したキバウミナはマングローブリターに依存することが確認され、それらの成長・生残もマングローブを摂餌することで高く保たれることが明らかとなった。

従って、富栄養化によって生じるマングローブリター量の増加は、アシベマスオをはじめとする微細藻類食者に対して大きな影響を及ぼさない一方で、キバウミナ等のマングローブ食者に好適な餌環境を提供し、そうした種を影響区で優占させたと推察される。

4. まとめと今後の展望

富栄養化はマングローブリター量を増加させ、それを主餌料とする種の優占を促すことで、本来認められる底生動物群集の季節変動を停滞させる作用をもつことが明らかとなった。今後は四季を通じて複数定点で調査を進めることにより、上記の事象の一般性を確認する必要があるだろう。

参考文献

- (1) Feller, I.C., Dangremond, E.M., Devlin, D.J., Lovelock, C.E., Proffitt, C.E., and W. Rodriguez, 2015: "Nutrient enrichment intensifies hurricane impact in scrub mangrove ecosystems in the Indian River Lagoon, Florida, USA." *Ecology*, 96, 2960-2972
- (2) Houbrick, R.S., 1991: "Systematic review and functional morphology of the mangrove snails *Terebralia* and *Telescopium* (Potamididae; Prosobranchia)." *Malacologia*, 33, 289-338
- (3) Kang, C.K., Sauriau, P.G., Richard, P., and G.F. Blanchard, 1999: "Food sources of the infaunal suspension-feeding bivalve *Cerastoderma edule* in a muddy sandflat of Marennes-Oléron Bay, as determined by analyses of carbon and nitrogen stable isotopes." *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 187, 147-158
- (4) Kon, K., Kurokura, H., and K. Hayashizaki, 2007: "Role of microhabitats in food webs of benthic communities in a mangrove forest." *Mari. Ecol. Prog. Ser.*, 340, 55-62
- (5) Kon, K., Kurokura, H., and P. Tongnunui, 2011: "Influence of a microhabitat on the structuring of the benthic macrofaunal community in a mangrove forest." *Hydrobiologia*, 671, 205-216
- (6) Lee, S.Y., 2008: "Mangrove macrobenthos: Assemblages, services, and linkages." *J. Sea Res.*, 59, 16-29
- (7) Nagelkerken, I., Blaber, S.J.M., Bouillon, S., Green, P., Haywood, M., Kirton, L.G., Meynecke, J. O., Pawlik, J., Penrose, H.M., Sasekumar, A., and P.J. Somerfield, 2008: "The habitat function of mangroves for terrestrial and marine fauna: a review." *Aquat. Bot.*, 89, 155-185
- (8) Scharler, U.M., Ulanowicz, R.E., Fogel, M.L., Wooller, M.J., Jacobson-Meyers, M.E., Lovelock, C.E., Feller, I.C., Fischer, M., Lee, R., McKee, K., Romero, L.C., Schmit, J.P., and C. Shearer, 2015: Variable nutrient stoichiometry (carbon: nitrogen: phosphorus) across trophic levels determines community and ecosystem properties in an oligotrophic mangrove system. *Oecologia*, 179, 863-876
- (9) Sheaves, M., and B. Molony, 2000: "Short-circuit in the mangrove food chain." *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 199, 97-109
- (10) Trott, L.A., and D.M. Alongi, 2000: "The impact of shrimp pond effluent on water quality and phytoplankton biomass in a tropical mangrove estuary." *Mar. Pollut. Bull.*, 40, 947-951
- (11) Verhoeven, J.T.A., Arheimer, B., Yin, C., and M.M. Hefting, 2006: "Regional and global concerns over wetlands and water quality." *Trends Ecol. Evol.*, 21, 96-103.
- (12) Wong, Y.S., Lan, C.Y., Chen, G.Z., Li, S.H., Chen, X.R., Liu, Z.P., and N.F.Y. Tam, 1995: "Effect of wastewater discharge on nutrient contamination of mangrove soils and pants." *Hydrobiologia* 295, 243-254
- (13) Wong, Y.S., Tam, N.F.Y., and C.Y. Lan, 1997: "Mangrove wetlands as wastewater treatment facility: a field trial." *Hydrobiologia*, 352, 49-59
- (14) Yu, R.Q., Chen, G.Z., Wong, Y. S., Tam, N.M.F., and C.Y. Lan, 1997: "Benthic macrofauna of the mangrove swamp treated with municipal wastewater." *Hydrobiologia*, 347, 127-137

環境 DNA を用いた造礁サンゴのモニタリング実現に向けた水槽実験

Tank experiments for enabling coral monitoring using environmental DNA

中村 崇, 琉球大学・理学部, E-mail: takasuke (at) sci.u-ryukyu.ac.jp

伊藤 通浩, 琉球大学・熱帯生物圏研究センター, E-mail: michihi (at) comb.u-ryukyu.ac.jp

新里 宙也, 東大・大気海洋研, E-mail: c.shinzato (at) aori.u-tokyo.ac.jp

Takashi Nakamura, Faculty of Science, University of the Ryukyus

Michihiro Ito, Tropical Biosphere Research Center, University of the Ryukyus

Chuya Shinzato, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

DNA originating from various sources, such as mucus and damaged tissues of multicellular organisms, exists in soil, seawater, air, etc., and is called environmental DNA (eDNA). Because of its ease of experimental procedure and high detection capacity, eDNA technology has great potential for application in coral reef monitoring. However, for the application of eDNA technology to actual coral reef monitoring, it is necessary to consider various aspects such as residency time, minimum detectable amount, seasonal variability of coral-derived eDNA, or development of novel molecular marker for species identification of corals. In this study, we attempted to verify whether eDNA originated from corals, which could be detected at the aquarium experimental level, could be detected in seawater taken from the field, and to develop a new genetic marker for corals that cannot be identified to species by mitochondrial DNA, which is usually widely used for species identification in animals.

1. はじめに

水や土壌などに含まれる DNA (環境 DNA, eDNA) を解析することで、その環境下に生息する生物種を検出し、生態系のモニタリングを行う技術が近年注目されている。実際に海洋環境での生態調査において、eDNA は魚類の生物相のモニタリングなどに広く利用されつつある。最近では簡易的な水槽実験より、造礁サンゴの飼育海水中に含まれる eDNA から、実験に使用した全てのサンゴとほぼ全ての共生褐虫藻タイプの DNA が検出され、海水中のサンゴ由来の eDNA 量は、サンゴの種組成やその重量など、近隣のサンゴの状況を反映している可能性も明らかになった⁽¹⁾。しかし、環境 DNA 技術を用いた造礁サンゴの生態モニタリングの実現のためには、造礁サンゴ由来の eDNA の海水中の残存時間、サンゴの eDNA 量の検出限界など、様々な点を検証する必要がある。本研究は、様々な条件に設定した水槽飼育実験を行うことで、これらを明らかにすることを当初の目的としていた。しかし 2020 年初頭から続く新型コロナウイルス感染症拡大防止のための活動制限等は、本研究の遂行にも大きな影響を与えた。新型コロナウイルス感染症対策のための活動制限の影響をできるだけ少なくするため、いくつかの点に絞って研究活動を行った。

2. 問題設定・方法

実際のサンゴ礁域の海水から、造礁サンゴの DNA は検出できるのかを確認するため、潜水調査により造礁サンゴの生態調査が実施されている沖縄本島周辺の海域において、定期的に海水を採取した。海水に含まれる eDNA を抽出するために、Sterivex 0.45 μ m フィルター (Millipore) を用いて、採集した海水を濾過した。その後、フィルターに RNAlater (Invitrogen) を充填し、 -20°C で保存した。

海洋環境での eDNA を用いた生物調査では、ミトコンドリア DNA が種の特定に広く使用されている。しかし造礁サンゴを含む刺胞動物では、ミトコンドリア DNA の進化速度が極めて遅く⁽²⁾、種間で DNA 配列に差が少ないため、種判別を行うことが難しい。特に現在地球上で最も繁栄しているミドリイシ属サンゴにおいては、ミトコンドリア DNA による種の判別は不可能である。そこで、15 種のミドリイシ属サンゴの全ゲノ

ム解読情報から⁽³⁾、細胞に 1 箇所しか存在しないシングルコピー遺伝子を選抜し、その中からミドリイシ属の種間で DNA 配列が異なり、種判別が行える可能性のある遺伝子マーカーの候補を特定した。その後、それらを特異的に PCR で増幅するプライマーを作成した。実際に海水から抽出した eDNA から、これら新規遺伝子マーカーの PCR 増幅が可能なのかを確認するため、ミドリイシ属サンゴを水槽内で飼育し、その後サンゴを飼育水槽から取り除き、8, 32, 56 時間後の海水から eDNA を抽出した。

3. 結果と考察

2020 年 11 月から 2021 年 9 月までに合計 17 回、沖縄県の与那、砂辺海岸において採水作業を行った。採水後は速やかに Sterivex 0.45 μ m フィルターで濾過した。潜水調査による造礁サンゴの生態調査が行われた海域から、環境 DNA サンプルの定点採集を行うことができた。これら全てから DNA 抽出を完了している。今後これらのサンプルから、以下の新規遺伝子マーカーの応用等を含め、造礁サンゴの eDNA の年変動などを解析する予定である。

15 種のミドリイシサンゴのゲノム情報から特定した、種判別が行える可能性のあるシングルコピー遺伝子を特定した。それら候補のいくつかを増幅する PCR プライマーを設計し、実際にミドリイシサンゴを飼育した海水から eDNA を抽出し、PCR での増幅を試みた。その結果、海水から抽出した eDNA から、目的遺伝子の増幅に成功した (Fig. 1)。海洋生物の eDNA 解析で広く使用されているミトコンドリア DNA をターゲットにしたプライマーを用いると、サンゴ除去後 56 時間の海水から、サンゴのミトコンドリア DNA の PCR 増幅が可能であった (Fig. 1 右)。一方、核 DNA のシングルコピー遺伝子をターゲットにした新規遺伝子マーカーは、サンゴ除去後 8 時間後までの海水からはサンゴの DNA が増幅できたが、32, 56 時間後には検出することができなかった (Fig. 1 左)。このことから、ミトコンドリア DNA をターゲットにすると、長時間サンゴ由来の DNA を検出できる利点があるが、実際の生息場所以外から流れてきた DNA も検出する可能性があること、核 DNA のシングルコピー遺伝子をターゲットにすると、検出可能時

間は短い、近傍のサンゴ由来の DNA のみを検出する可能性があること、が示唆された。

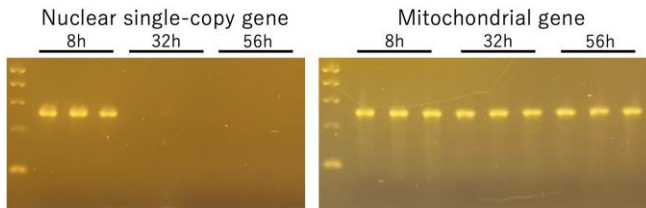


Fig. 1 Electrophoresis images of PCR with environmental DNA samples targeting a nuclear single-copy gene (left) and a mitochondrial gene (right). Modified from (4)

4. まとめと今後の展望

環境変動による大規模白化現象などの影響により、サンゴ礁生態系は現在進行形で刻々と状況が変化している。そのため、そのきめ細かなモニタリングは、今後極めて重要になる。しかしサンゴ礁生態系のモニタリングは、主に潜水作業によって行われるため、調査可能な範囲に限られる。さらに造礁サンゴの種同定は骨格構造が判断材料となる場合が多く、海中での種同定はかなりの熟練度が求められ、フィールドでのモニタリングを行える人材は限られる。そのため、サンゴ礁を広範囲に渡って効率的かつ正確にモニタリングすることが出来る、環境 DNA 技術への期待は大きい。これまで水槽実験

レベルにとどまっていた、環境 DNA 技術を用いた造礁サンゴの海水からの検出だが、本研究含め、様々な研究成果が蓄積しつつある。本申請研究を足がかりとして、eDNA からの造礁サンゴの検出を高精度化し、将来的に eDNA による造礁サンゴのフィールドでのモニタリングの実現につなげたい。

参考文献

- (1) Shinzato C, Zayasu Y, Kanda M, Kawamitsu M, Satoh N, Yamashita H, Suzuki G, 2018: "Using seawater to document coral-zooxanthella diversity: A new approach to coral reef monitoring using environmental DNA", *Front. Mar. Sci.* 5:28.
- (2) Shearer, T. L., Van Oppen, M. J., Romano, S. L., and Worheide, G, 2002: "Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria)", *Mol. Ecol.* 11, 2475-2487.
- (3) Shinzato C, Khalturin K, Inoue J, Zayasu Y, Kanda M, Kawamitsu M, Yoshioka Y, Yamashita H, Suzuki G, Satoh N, 2021: "Eighteen coral genomes reveal the evolutionary origin of *Acropora* strategies to accommodate environmental changes", *Mol. Biol. Evol.* 38(1):16-30.
- (4) 村山昌, 東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 2021 年度修士論文

ダイオウイカの分子生態学的研究

Study of molecular ecology of the giant squid, *Architeuthis dux*

広橋 教貴, 島根大・生命科学, E-mail: hiro (at) life.shimane-u.ac.jp
須貝 杏子, 島根大・生命科学, E-mail: sugaikyoko (at) life.shimane-u.ac.jp
吉田 真明, 島根大・隠岐臨海, E-mail: mayoshida (at) life.shimane-u.ac.jp
小野 廣記, 島根大・隠岐臨海, E-mail: hiono (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

Abstract

We herein report the mating mode of a mature/maturing female giant squid, *Architeuthis dux*, caught as by-catch in a fishery set-net. Microsatellite paternity analysis was carried out on the implanted spermatangia scattered widely over the body surface. Using genomic DNA from 42 *Architeuthis* individual muscle tissue specimens, four polymorphic microsatellite markers were developed, of which three were used for genotyping. Surprisingly, it was found that all 66 of the successfully genotyped spermatangia located on five different body parts were derived from a single male, suggesting that only single-pair copulation can lead to entire sperm loading.

1. はじめに

無脊椎動物界で最大級のサイズをもつダイオウイカは、浜に打ち上げられると、地域の水族館や博物館で展示され、一般市民、とくに子供達の興味関心の的となっているが、生きた個体に遭遇する機会は滅多にない。そのため、抜群の知名度に相反して基本的な寿命、生活史、行動、分布、繁殖様式といった生態情報が極めて乏しい。深海生物の象徴とも言える巨大ダイオウイカの生態を知ることは、海洋生物研究の大きな挑戦と言えるであろう。

2. 問題提起とその調査方法

イカやタコなどの頭足類はこれまで共通して乱婚（特にメスが複数のオスと交配すること）であると考えられてきたが、我々は最近、深海性イカ類のホタルイカが単婚であることを見つけた。これまで行動観察や父性解析が可能であったのが沿岸性や一部の外洋イカに限られ、それらが乱婚種であったため、そう結論づけられてきたものと思われる。ダイオウイカは水深 600m 程度の深海に生息し、個体群密度が低いと考えられることから、限られた遭遇機会で受精を確実にせねばならない。同様に深海に生息するチョウチンアンコウ科では矮雄による性的寄生が知られているが、ダイオウイカでは早期交配（幼若雌個体に精子を渡し、雌体部で長期間精子保存すること）が示唆されており（1）、これも希少な遭遇機会を無駄にしない1つの戦略と思われる。

またイカ類では頻繁に共食いが行われ、餌資源が少ない深海では共食いが助長される環境とも予想される。実際、深海性テカギイカ科の共食いが観察されている。ダイオウイカの胃内容物からも同種の組織片が見つかっており、これが共食いによるのか、あるいは自食によるのかまだ結論が出ていない。個体群密度が低いダイオウイカが共食いをするのか、または性的共食い（交配中または交配後に雌が雄を食べる現象）か、さらに雌は乱婚か単婚かなど食性や繁殖様式に多くの謎が残されている。

これらの疑問に対し、まず個体識別をするためのマイクロサテライトマーカー（single sequence repeat: SSR）を開発した。最近報告されたダイオウイカドラフトゲノムの塩基配列から SSR の候補を選出し、複数個体から精製したゲノム DNA を鋳型に PCR 法により種内多型を示すものを選別した。ダイオウイカ個体試料は、国立科学博物館、日本海沿岸の博物館、水族館が所蔵していたもの、及び最近日本海沿岸で捕獲・発見された個体試料合計 42 個体を用いた。常法に従い、フラグメント解析から 4 つの SSR を開発した。次に令和 2 年 2 月 4 日に京都府伊根浦で定置網に捕獲されたメス 1 個体に多数の精子塊が付着しているのを発見したので、開発した

SSR を用いて付着精子塊の父性解析を行った。

3. 結果と考察

頭部側外套膜 3 箇所、頭足部 2 箇所に付着精子塊のクラスターを発見し、合計 66 本の精子塊のハプロタイプを決定することに成功した。その結果、すべての精子塊が同じハプロタイプを有していたことから、同じ雄のものと断定された（2）。

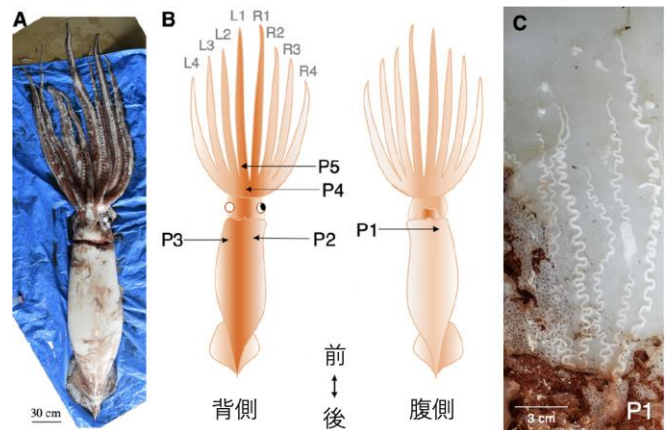


Fig. 1 メス全身に付着する精子塊の分布と拡大図

メス全身 (A) と付着精子塊の分布 (P1-P5) を示す (B)。P1 部位を拡大したもの (C) には、複数本の精子塊が頭部へ向かって並行あるいは放射状に配列しているのが分かる。写真下部に交配時に雄につけられたと推測される深い切創痕が認められる。

4. まとめと今後の展望

本研究によりダイオウイカの繁殖に関わる新たな知見が加わった。即ち一般に頭足類は乱婚だが、深海性のイカ類ではその一般論から外れることもある可能性が示唆された。今回分析したメス 1 個体のみからでは普遍性は議論できないが、少なくとも一過的にメスの単婚状態が存在することが分かった。当初乱婚が予想された理由として、1) 深海は雌雄の遭遇機会が少なく、また 2) 成熟前交配も観察され、3) 全身が精子の保管場所と機能していることが挙げられる。これにより全ての交配機会を無駄にしないような乱婚が適応的と思われた。今後、複数個体の調査により、さらに詳しい繁殖様式が明らかになるであろう。個体試料の発見、回収、提供に協力してくれた匿名の市民科学者に感謝申し上げます。

参考文献

- (1) Norman, M.D., Lu, C.C., 1997. Sex in giant squid. *Nature* 389, 683-684.
- (2) Murai R et al., 2021. All the spermatangia on a female were implanted by single-pair copulation in giant squid *Architeuthis dux*. *Deep Sea Research Part I Oceanographic Research Papers* 175:103585.

小型浮魚 3 種の仔魚における摂餌選択性の検証：飼育実験のアプローチ
Prey selectivity of three larval pelagic fishes: validation by rearing experiments

中村政裕¹, 水産研究・教育機構, E-mail: mnakamura@affrc.go.jp
米田道夫¹, 水産研究・教育機構, E-mail: myoneda@affrc.go.jp
岡崎雄二¹, 水産研究・教育機構, E-mail: okazakiy@affrc.go.jp
伊藤進一², 大気海洋研究所, E-mail: goito@aori.u-tokyo.ac.jp
西部裕一郎², 大気海洋研究所, E-mail: ynishibe@aori.u-tokyo.ac.jp

¹Fisheries Technology Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency

²Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

A significant number of field researches have described the diet of larvae and juveniles of commercially important pelagic fish species. However, a possible bias related to net sampling makes it uncertain whether results obtained from these studies truly represent the situation of live fish in the sea. Here, we conducted a laboratory experiment using juvenile chub mackerel *scomber japonicus* to determine the relationship between fish size and prey number in the gut, and the selectivity on each prey item. As a result, a significantly larger number of prey items were observed in larger juveniles, and the fish was found to show strong selectivity to copepods. These results support the conclusions of the previous field studies.

1. はじめに

仔稚魚の摂餌は加入量を決定する重要な要因である (Dickmann et al. 2007)。このことから、多獲性浮魚類の生活史初期の摂餌生態に関して多くの研究がおこなわれてきた。こうした研究は野外調査で得られた標本に基づくものに大きく偏っているため、野外調査の方法上の制約から必然的に生じる重大な疑問が置き去りにされたままになっている。例えば、「体長が大きい個体ほど胃の充満度が高い」、「カイアシ類が選択的に食べられている」といった、広く信じられている見解についてすら、真実か否かの明確な結論が未だ得られていない (Intxausti et al. 2017)。採捕時における体サイズ依存的な消化管内要物の排泄・吐出により生じるバイアスや、餌の種類による消化スピードの違いの影響により、網によって海から引き揚げられた仔稚魚の胃内容組成が海中における摂餌の実態と大きく乖離している可能性が否定できない為である。

2. 問題設定・方法

こうした懸念に正面から答えるためには、排泄・吐出を最小限に抑えた実験条件で、多様な動物プランクトンを摂餌後直ちに固定された標本を用いた分析を行う必要がある。そこで本研究では、飼育環境で育成したマサバとカタクチイワシの仔稚魚に天然の動物プランクトン群集を与え、その胃内容物と環境水中の動物プランクトン組成を比較することで①魚体サイズと消化管の充満度の関係と②餌の種類の選択性がフィールド研究の結果と整合するか否かを検証した。



図1. プランクトンの採集に使った装置

3. 結果と考察

全ての分析結果が出そろっていない為、データが揃っているマサバ仔稚魚の結果だけを記載する。体長が 15-40 mm の個体について、体が大きくなるほど摂餌個体数が増加するという野外調査結果と整合する結果が得られた。また、環境水中には僅かにしか存在しなかったカイアシ類を選んで食べるという、フィールド研究と整合する結果を得た。以上の結果から、フィールド研究で懸念されている採捕時のサイズ依存的な吐出・排泄や餌の種類による消化されやすさの違いの影響は、マサバ仔稚魚については真の傾向を見誤らせるほどには大きくないことが示唆された。

当初は想定していなかった興味深い結果として、同一のプランクトン群集を与えた場合でも個体ごとに胃内容組成が大きくばらつくことが明らかになった。これは、同じプランクトン群集に囲まれている同一サイズの個体であっても、個体によって餌の好み異なること、すなわち仔稚魚の餌の好み「個性」があることを示唆する結果であり、浮魚類における生活史初期の摂餌生態研究においては見過ごされてきた事実である。

4. まとめと今後の展望

サンプリング時の吐出・排泄や餌による消化速度の違いによる影響を最小化した飼育実験においても、「体が大きい個体ほど胃の充満度が高い」、「カイアシ類が選択的に食べられている」という野外調査を支持する結果が得られた。このことから、これまでのマサバ仔稚魚を対象とした野外調査で得られた結果は概ね海中の実態を正確に反映しているものと考えられた。今後は、カタクチイワシ仔稚魚の胃内容分析を完了させた後に、PICES が中心となって開発してきた魚類の成長モデル NEMURO.FISH (Ito et al. 2015) に今回の結果を組み込むことを目指すと同時に、得られた結果を投稿論文として取りまとめる。当初計画していたマイワシを用いた実験については、受精卵が十分に採集できず実施できなかった。また、計画書に記載した水流の有無が餌の選択性に及ぼす影響を考慮した実験についても、十分なプランクトンが採集できなかったため実施を見送った。これらについては、今後、機会を見つけて取り組んでいきたいと考えている。

参考文献

- (1) Dickmann M, C. Moellmann, R. Voss. (2007) Feeding ecology of Central Baltic sprat *Sprattus sprattus* larvae in relation to zooplankton dynamics: implications for survival. *Marine Ecology Progress Series* 342: 277-289
- (2) Intxausti, L., Villate, F., Motos, L., Uriarte, I., & Iriarte, A. (2017). Diet variability in European anchovy: a comparative analysis between larval populations of the inner Bay of Biscay and the NW Mediterranean. *Hydrobiologia*, 790, 49-6

海中海底下統合イメージング解析技術の開発

Development of integrated seismic imaging of water column and seafloor

鶴 哲郎, 海洋大, E-mail: ttsuru0(at)kaiyodai.ac.jp

朴 進午, 東大・大気海洋研, E-mail: jopark(at)aori.u-tokyo.ac.jp

甘糟 和男, 海洋大, E-mail: amakasu(at)kaiyodai.ac.jp

熊谷 直音, 海洋大, E-mail: m213024(at)edu.kaiyodai.ac.jp

須藤 遼, 海洋大, E-mail: m213036(at)edu.kaiyodai.ac.jp

Tetsuro Tsuru, Tokyo University of Marine Science & Technology

Jin-Oh Park, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Kazuo Amakasu, Tokyo University of Marine Science & Technology

Naoto Kumagai, Tokyo University of Marine Science & Technology

Ryo Sudo, Tokyo University of Marine Science & Technology

Abstract

For on-site observation of fluid discharge from fault near the seafloor, we are developing an integrated seismic imaging method by multi-channel seismic (MCS) survey and eco-sounder survey. The former is often used to figure out geological structures as well as faults, while the latter is used to image gas bubbles in water column. On July 21, 2021, we conducted an experiment for the integrated imaging in the Uchiura Bay off Numadu, where an enigmatic wavefield suggesting fluid flow from a fault has been observed in 2018. As a result, although both datasets have been collected without troubles, no evidence of fluid flow has been observed. If this result, no evidence, is related to timing in discharge of the fluid, it is very difficult for us to collect useful datasets for integrated imaging in this area. Therefore, we had better change the study area from the Uchiura Bay to the Tokyo Bay where possible gas discharges are suggested on the MCS profiles previously collected. An example of the possible gas discharges is demonstrated in this report.

1. はじめに

近年、マルチチャンネル反射法地震探査（以下、地震探査）は、資源開発や地殻構造探査のみならず断層を介した流体移動における研究分野でも多くの成果をあげてきた（e.g., Park et al. 2021A）。また、海底表層堆積物中の間隙水のヘリウム同位体解析の結果から、断層を経由した地殻内流体循環の存在が明らかになりつつある（e.g., Park et al. 2021B）。このように、断層に沿った流体移動現象が地震探査データによって捉えられるようになってきた。

2018年8月に沼津沖内浦湾で実施した地震探査実験の結果、ある1つの測線（測線10）において、活断層から湧出する流体と推定される現象が観測された（図1, D点）（Tsuru et al. 2020）。海水面から海底面までの水中のP波速度を解析すると、全体的には1520m/sであるのに対し、湧出部のP波速度は1580m/sと有意に大きな値を示した（図2, D点）。この速度異常が温度に起因するとすれば、水中音速の理論式（Mackenzie, 1981）から30℃以上になると推定された。一方、同程度に大きなP波速度を有し、かつ、活断層と推定される断層の近傍に位置する別の場所（図1, C点）では、地震探査断面上で湧出現象は観測されなかった。

2. 問題設定・方法

上述したD点とC点における湧出現象の有無については原因不明であるものの、現時点では、地震探査で利用した周波数が影響している可能性があるのではないかと考えている。すなわち、より高い周波数帯域での観測が可能であれば、類似した湧出現象（おそらく小規模）を映像化できたのではないかと考えている。

海底から海水中に湧出する流体の映像化には、計量魚群探知機など音響水産学分野で利用される数十kHzの周波数帯域の音波が適しており、実際にガスの湧出現象が多くの海域で確認されている（e.g., 青山・松本, 2009; Tsuru et al.

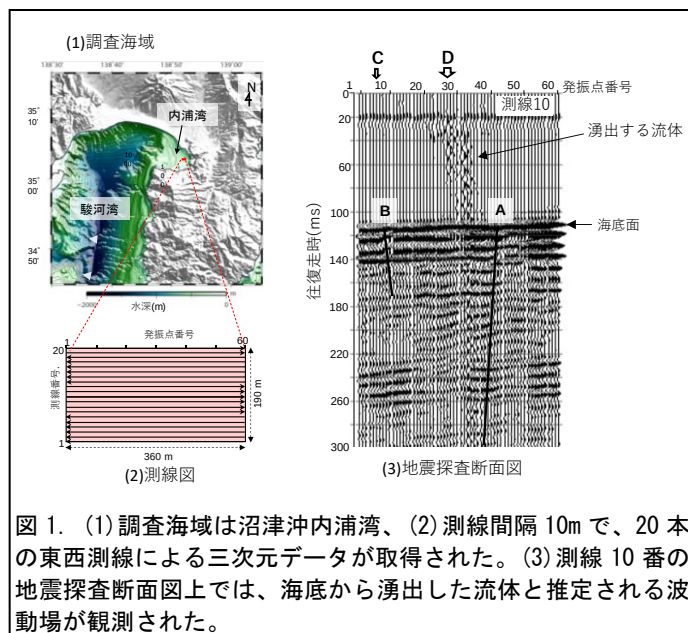


図1. (1) 調査海域は沼津沖内浦湾、(2) 測線間隔10mで、20本の東西測線による三次元データが取得された。(3) 測線10番の地震探査断面図上では、海底から湧出した流体と推定される波動場が観測された。

2019)。したがって、水中の湧出流体は数十kHzの海洋音響データ、海底下の断層は数百Hzの地震探査データを用いれば、湧出流体と断層とを同時に映像化できるのではないかと考えられる。

2021年7月21日、沼津沖内浦湾の2018年8月と同じ海域において、オキシテック社の「ひびき」を備船して海上実験を実施した。今回の実験では、水中スピーカーを用いて地震探査データを取得すると同時に、計量魚群探知機を用いて海洋音響データも取得した。さらに、曳航式温度計を用いて海底面上方約5mの海水温度をリアルタイムで観測した。

3. 結果と考察

図2に示す通り、2021年7月の実験では、流体の湧出と推定できる現象は確認されなかった。また、温度計のデータにも変化は見られなかった。

その原因としては、流体湧出が間欠的であり、本実験を実施した時間帯には湧出が起っていなかった可能性が高いことが考えられる。このことは、2018年実験において、同現象が観察された測線10番から僅か10mしか離れていない両隣の測線(9, 11番)で類似の現象が見られなかったことと整合的である。現時点では、当該海域における流体湧出現象の発生

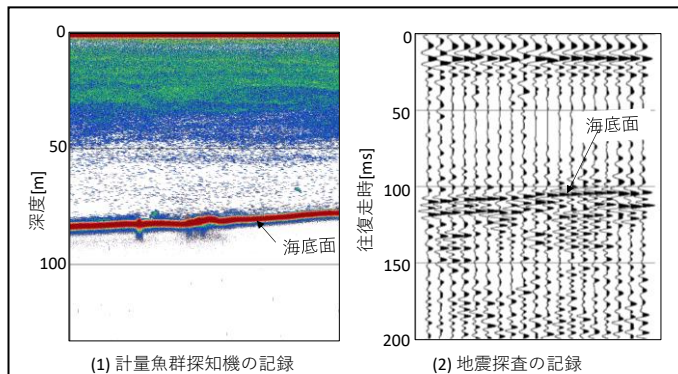


図2. (1)測線10番の計量魚群探知機の記録および(2)同測線の地震探査記録. いずれの記録上でも流体の湧出現象は確認されなかった。

間隔が未知であることから、この現象を再び観察するタイミングを予測することは不可能である。したがって、当該海域における実験継続には研究成果の観点からリスクが高い。

以上のことから、今後は実験海域を、ガスの湧出現象が見られた東京湾北部に移すことが得策であると考え、既存の地震探査データを再度見直した。その結果、図3に示すように、既存データの一部でガスの湧出現象とも解釈できる現象が観察された。東京湾北部ではガスの湧出現象に加えて、海底近傍にガス層(以下、海底ガス層)が分布していることが知られている(e.g., Tsuru et al. 2019)。図3では測線の南西部(向かって左側)でガス層の分布が見られ、その直上の一部の場所(図中の赤丸)で波動場の乱れが観察される。現時点では、この波動場の乱れが何を意味しているのかの特定は困難であるが、今後、このような場所で計量魚群探知機との

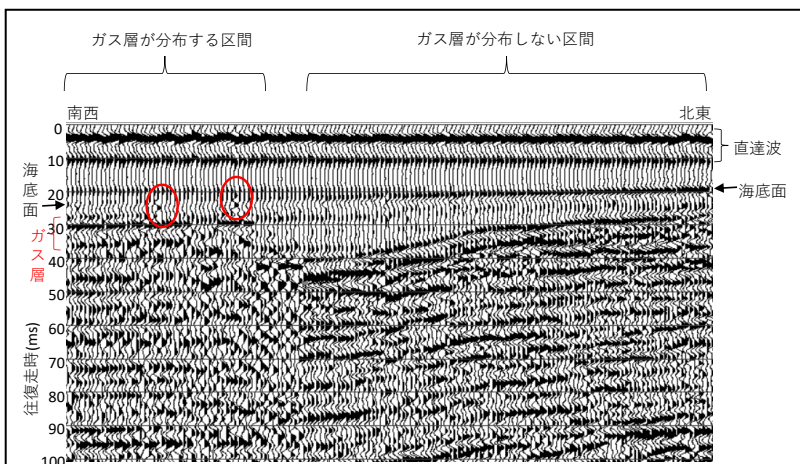


図3. 令和2年に東京湾北部で観測された地震探査断面図。南西部で、海底下3~4mにガス層の存在が示唆され、その直上の一部で波動場の乱れが観測された(図中の赤丸)。なお、断面頂部の水平な波動場は、直達波である。

同時観測を行い、両者の統合イメージング解析を実施することで、オンサイトでガスの湧出現象を捉えることを試みる。

4. まとめと今後の展望

令和3年度(2021年度)は、平成30年(2018年)8月に流体湧出と推定される現象が発見された沼津沖内浦湾において、統合イメージング用のテストデータ取得実験を行った。その結果、残念ながら流体湧出を示すデータは得られなかった。当該海域における流体湧出が間欠的に発生していると考えられることから、今後は、ガスの湧出現象が複数個所で確認されている東京湾にフィールドを移し、統合イメージング用のテストデータの取得を目指す。

参考文献

- (1) Park, J.-O., T. Tsuru, G. Fujie, E. J. Hondori, T. Kagoshima, N. Takahata, D. Zhao, and Y. Sano, Seismic Reflection Images of Possible Mantle-Fluid Conduits and Basal Erosion in the 2011 Tohoku Earthquake Rupture Area. *Frontiers in Earth Science*, 9:687382, doi: 10.3389/feart.2021.687382, 2021A.
- (2) Park, J.-O., N. Takahata, E. J. Hondori, A. Yamaguchi, T. Kagoshima, T. Tsuru, G. Fujie, Y. Sun, J. Ashi, M. Yamano, and Y. Sano, Mantle-derived helium released through the Japan trench bend-faults. *Scientific Reports*, 11, 12026, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91523-6>, 2021B.
- (3) Tsuru, T., J.-O. Park, K. Amakasu, T. No, K. Arai, T. Inoue, S. Furuyama, K. Uchida, and Y. Nakamura, Possible fluid discharge associated with faults observed by a high-resolution dense-2D seismic reflection survey in Uchiura Bay off Numazu, Japan, *Earth, Planets and Space*, 72, 121, 2020.
- (4) K.V. Mackenzie, Nine-term equation for the sound speed in the oceans (1981) *J. Acoust. Soc. Am.* 70(3), pp 807-812.
- (5) 青山千春, 松本良, 計量魚群探知機によるメタンブルームの観測とメタン運搬量の見積もり, *地学雑誌*, 118, 156-174, 2009.
- (6) Tsuru, T., K. Amakasu, J.-O. Park, J. Sakakibara, and M. Takanashi, A new seismic survey technology using underwater speaker detected a low-velocity zone near the seafloor: an implication of methane gas accumulation in Tokyo Bay, *Earth, Planets and Space*, 71:31, <https://doi.org/10.1186/s40623-019-1011-0>, 2019.

魚類の心拍数を自然環境下で計測する手法の開発

Development of a new method for recording heart rates in fishes under natural conditions

渡辺 佑基, 極地研, E-mail: watanabe.yuuki@nipr.ac.jp

中村 乙水, 長崎大, E-mail: itsumi@nagasaki-u.ac.jp

兵藤 晋, 東大・大海研, E-mail: hyodo@aori.u-tokyo.ac.jp

坂本 健太郎, 東大・大海研, E-mail: kqsakamoto@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

Yuuki Watanabe, National Institute of Polar Research

Itsumi Nakamura, Nagasaki University

Susumu Hyodo, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Kentaro Sakamoto, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Heart rates are a fundamental parameter in vertebrate physiology. To record the heart rates of free-swimming fishes, new methods for recording them with externally attached data loggers need to be developed. In this study, we conducted preliminary experiments with banded houndsharks (*Triakis scyllium*) in captivity. We placed electrodes on anesthetized individuals and confirmed that signals for heart rates can be detected in electrocardiograms. We attached electrodes and a data logger to an individual and kept it in a holding tank over one night. Data showed clear signals for heart rates. Our experiments showed that heart rates can be recorded by externally attached data loggers. However, because electrodes must be placed in the proximity of the heart, careful observation of the heart and the surrounding tissue with dead specimen is necessary before this method is applied for different-sized individuals or different species.

1. はじめに

心拍数は全ての脊椎動物において、最も基礎的な生理パラメータの一つであり、環境適応、代謝速度、健康状態等の重要な指標になる。そのため、様々な生物種の心拍数を計測し、環境パラメータ（環境温度、時間帯等）との関係を調べたり、性質の異なる種間で比較したりする研究がこれまでに多数行われてきた。心拍数（心電図）を記録するためには、電極を動物の体表面あるいは体内に付ける必要がある。そこで、過去の研究の多くは飼育動物を対象にしてきた。しかし、飼育動物を使ったアプローチには主要な難点が二つある。第一に、飼育の困難な、大型動物を研究することができない。第二に、野生動物の経験する環境の変化を実験室や水槽で正確に再現することが難しい。

こうしたことから、動物の体に記録計を取り付けるバイオリギングの手法を用いて、野生動物の心拍数を自然環境下で計測する試みが行われるようになった。野生動物を対象にする場合、何よりもまず、データを取得する手段を確立する必要がある。従来使われてきたのは、機器を取り付けた個体を再捕獲する方法と、データを発信器で発信して遠隔的に受信する方法の二つである。前者は主に、定期的に巣に戻る習性のある繁殖期間中の鳥類に対して使われてきた (Green 2011)。後者は主に、河川を遡上するサケ類など、追跡の比較的容易な魚類に対して使われてきた (Lucas et al. 1993)。しかし、広い海を自由に動き回る魚類に対しては、いずれの方法も使えない。機器を取り付けて放流した魚類を再捕獲できる可能性は小さく、また、受信器を用いて魚類をボートで長時間追跡することも難しい。様々な魚類の心拍数を自然環境下で測定し、その環境応答を明らかにするためには、魚類に取り付けた電極と記録計をタイマーで切り離し、海面に浮かべ、電波を頼りに回収する手法を開発する必要がある。

2. 問題設定・方法

本研究では、この新手法の確立に向けた予備実験を行った。東京大学大気海洋研究所で飼育されているドチザメを対象とし、2021年4月から6月にかけて3度の実験を行った。毎回、

1匹のサメに麻酔をかけ、腹側の表皮から心臓の近くに電極を挿入した。電極を携帯型心電計と繋ぎ、心拍数が計測できるかどうかを確かめた。最初は心拍のシグナルが見られなかったため、電極の挿入位置、深さ、角度等を調節した。3度目の実験では、電極を挿入した後、それを心電記録計に繋ぎ、記録計を魚体に取り付けた。サメを飼育水槽に戻して麻酔から覚醒させ、一晩自由に泳がせた。翌日、記録計を回収してデータを確認した。

3. 結果と考察

電極を心臓のすぐ近くに挿入した時、明瞭な心拍のシグナルが見られた。3度目の実験では、水槽を泳ぐドチザメの心拍数を記録することができた (Fig. 1)。本研究で利用したサイズのドチザメに関しては、適切な手法が確立できたとと言える。

しかし、実験対象種やサイズが変われば、電極を挿入する位置や深さが変わる。この手法を野生のサメに応用する際は、事前に同じ種、似たサイズの死骸を入手し、心臓の位置、周囲の組織、表皮の厚さ等の解剖学的特徴を把握しておく必要があることがわかった。

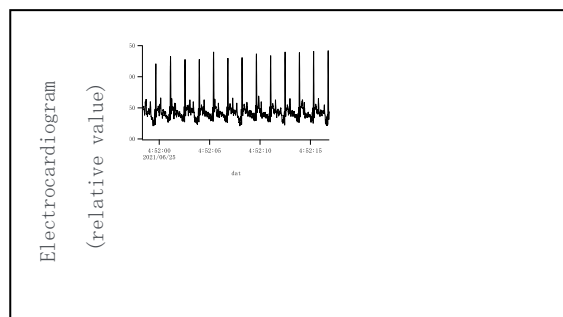


Fig. 1 An example of electrocardiogram representing heart rates of a shark in a holding tank.

4. まとめと今後の展望

本研究において、広い海を自由に動き回る魚類の心拍数を計測することが技術的に可能であることが確かめられた。今後、この手法を野生のサメ類に応用し、データを取得することを目指す。野生のサメ類の場合は、心電記録計、浮力体、切り離し装置、電波発信器等をひとまとめにしたパッケージを魚体に付けて放流する。翌日、切り離されて海面に浮上したパッケージを、電波を頼りに船舶で探し出して回収する。このような方法で、自然環境下のサメ類の環境応答を明らかにしたい。

参考文献

- (1) Green, J. A. 2011: “The heart rate method for estimating metabolic rate: review and recommendations”, *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 158, 287-304
- (2) Lucas, M. C., Priede, I. G., Armstrong, J. D., Gindy, A. N. Z. and De Vera, L. 1991: “Direct measurements of metabolism, activity and feeding behaviour of pike, *Esox Lucius* L., in the wild, by the use of heart rate telemetry”, *J. Fish Biol.* 39, 325-345

海水モデル力学パラメータに対する観測・理論・数値的要請の融合

Optimization of dynamic parameters of sea ice models based on integrated observational, theoretical and numerical approach.

豊田 隆寛, 気象庁・気象研, E-mail: ttoyoda@mri-jma.go.jp
川口 悠介, 東大・大気海洋研, E-mail: ykawaguchi@aori.u-tokyo.ac.jp
松村 義正, 東大・大気海洋研, E-mail: ymatsu@aori.u-tokyo.ac.jp
木村 詞明, 東大・大気海洋研, E-mail: kimura_n@aori.u-tokyo.ac.jp

Abstract

An optimization experiment of the sea ice dynamic parameters in a coupled sea ice-ocean model to the observational sea ice velocity data has been conducted, with the target parameters of air-ice and ice-ocean drag coefficients, turning angle of the ice-ocean drag, pressure parameters of the rheology. We extended a Green's function approach to include dependencies on the background conditions of the air, ice, and ocean. The estimated dependencies were basically consistent with previous theoretical knowledges and simulation results with the optimized parameters well reproduced the observed buoy trajectory and time series of salinity and temperature profiles at the buoy locations, which supported a robust estimation of the optimization.

1. はじめに

海水は気候形成とその維持に極めて重要なコンポーネントであり、極域の季節から経年・数十年スケールの変動を特徴づける要素の一つである。また、海水変動に伴うフィードバック機構が北極域における顕著な温暖化傾向を生じさせていると考えられる。これらの理解を進めるために、海水分布およびその厚さの時間発展を記述する海水モデルが構築され、海洋モデルや地球システムモデルに組み込まれて成果を上げてきたが、基本的なパラメタリゼーションは1970年代の集中観測に準拠したもので、計算機資源が向上し、また、シミュレーション結果の検証が進展している現状では、海水モデルの表現が気候シミュレーションにおける高緯度気候の再現性のボトルネックの一つとなっている。

申請者は海水・海洋シミュレーションにおいて衛星観測ベースの詳細な海水速度データ (Kimura et al., 2013) を利用した海水モデルの力学パラメータの最適化研究を行っているが、その中で気象・海洋条件や海水の状態に依存して最適値が変化する傾向が見いだされた (Toyoda et al., 2020)。これは、過去の研究と矛盾しないが、大まかな海水分布を再現するための現状のパラメタリゼーションでは持ち越されてきた問題であり、モデルの高分解能化が進む現状において、海水表現の改善に向けて更新する必要がある。

このような背景のもと、2020年度の学際連携共同研究において、海水パラメータの状態変数依存性の客観推定と、その推定値に対する北極海で行われた海水ブイ観測 (Kawaguchi et al., 2012) を用いた検証と物理的解釈に向けた取り組みを行った。この独立データを用いた検証と議論は、最適化理論を用いたデータ同化アプローチに理論的背景を与えるもので、モデリング研究におけるパラメタリゼーションの改善に寄与し、更には極域・全球気候の再現・予測研究に貢献することが期待される (Fig. 1)。

2020年度の学際連携共同研究では、これらを取りまとめて英文誌に投稿した。2021年度にこの本研究の継続が認められたので、この枠組みを利用して投稿の査読対応・改訂を議論し、出版した (Toyoda et al., 2021)。以下では、まず上記の研究についての概要を説明する。最後に、この共同研究に取り組むことで得られた今後に繋がる知見と枠組みについて述べる。

2. 手法

気象研海洋大循環モデルMRI.COMを用いた全球海洋・海水シミュレーションで、JRA55-do (Tsujino et al., 2018) により駆動した (1958–2017年)。分解能は東西 1° 、南北 $0.3-0.5^\circ$ で、 64°N 以北は3極座標系を用いた (Urakawa et al., 2020)。3次元変分法により海洋の水温・塩分・海面高度データと海水密度データの同化を行った (Toyoda et al., 2016)。これを基準実験し、この2000年を初期値として擾乱実験と最適パラメータ実験を行った。

海水速度データは、人工衛星搭載のマイクロ波放射計 AMSR-E 及び AMSR2 による観測データから計算した 2002 年以降の日別値 (Kimura et al., 2013) を用いた。最適化には 2002–2014 年のデータを使用。2015–2017 年のデータは検証に使用した。

推定するパラメータは、大気–海水間のドラッグ係数 (C_{dai})、海水–海洋間のドラッグ係数 (C_{dio})、海水–海洋ドラッグの回転角 (θ)、海水力学 (レオロジー) の圧力の係数 (P^* と C)、リッジングのシアエネルギー使用率 (C_s) の 6 つである。北極海縁辺部のように海水がフリードリフトに近い海域では大気と海洋のドラッグに関わる前 3 つのパラメータの寄与が大きく、加えて海水が厚く内部応力が重要な海域では後 3 つのパラメータも寄与が大きくなると考えられる。

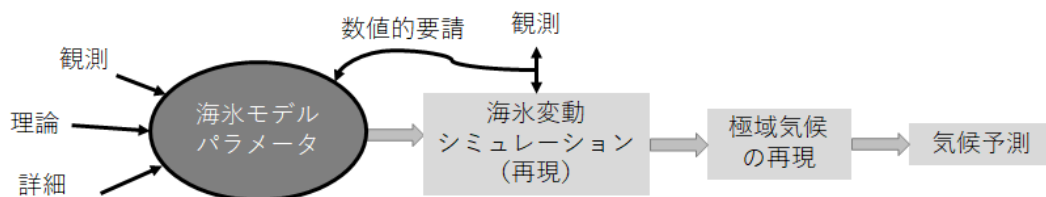


Fig. 1 A schematic of optimization of the sea ice model parameters and its impacts on the climate study.

Green 関数法を用いた最適化実験を行った。既存のパラメータセットを用いた基準実験に加え、各パラメータに擾乱を与えた実験を行い、各パラメータの観測空間への線形な影響を表す Green 関数を求め、これを用いて観測とモデルのミスフィットから設定した評価関数を最小とする最適パラメータが解析的に求まる。

本研究では更に、Toyoda et al. (2020)の知見をもとに、モデル状態変数である海氷厚 (Hi)、混合層深 (Hmld)、地表面風速 (Ws)、地表面気温 (Ta) に対する線形な依存性を仮定して、このフィッティング係数を加えた計 16 のパラメータの最適化を行った。例えば、海氷-海洋間のドラッグ係数は、 $Cd_{io} = 6.34 + 0.267 \cdot Hi - 0.00736 \cdot Hmld$ (1) と推定される。単位はそれぞれ、 Cd_{io} [10^{-3}], Hi [m], Hmld [m] である。

3. 結果

まず、海氷速度場 (Kimura et al., 2013) の再現性の検証 (同化していない 2015–2017 年の期間のコスト関数の比較) において、従来の Green 関数法による推定値を用いた実験 (OPT) は、初期推定値 (CTL) を約 20%改善し、状態変数の依存性を加えて拡張した推定値を用いた実験 (OPT2) では約 24%改善した。拡張した Green 関数法の有効性を示している。

本学際連携共同研究では、特に北極海で行われた海氷ブイによる観測とシミュレーション結果の疑似トラジェクトリーとの比較を行った。海氷ブイは 2010 年 4 月 16 日に北極点付近 (89.66°E, 89.28°N) に設置され、海水の動きに合わせて 2010 年 10 月 5 日 (4.32°E, 83.36°E) までの観測を行った。CTL 実験に比べて、OPT2 実験の結果は観測されたブイの軌跡に良く追従していることが分かった。また、ブイで観測された表層の塩分・水温との比較から、季節的な海氷融解による表層の低塩化とそれによる混合層の浅化傾向が OPT2 シミュレーションでも良く再現されているという結果を得た。

更に、状態変数への依存性を考慮した最適化係数について、過去の観測・理論的研究を踏まえた議論を行った。例えば、海氷-海洋間のドラッグについて、Lu et al. (2011) は氷縁とキールの形状ドラッグと海氷底の表面摩擦からなり、形状ドラッグの変化に対して底摩擦の変化は小さいことを示した。海洋大循環モデルでは、海氷厚 Hi は氷盤の縦横比とリッジング強度の指標となり (例えば、Mei et al., 2019)、これらが氷縁・キールの形状ドラッグの強度に影響する。式 (1) は、これらの理論的研究と整合する依存性を表現している。

これらの結果は、今回の推定の有効性に対する観測・理論研究による補強になっており、総合的な評価に耐えうる汎用性の高いパラメタリゼーションを提示することが出来た。

4. おわりに

モデリング・データ同化のアプローチにより進めていた海氷パラメータの最適化研究に対して、観測・理論的な検証・議論を行い、研究を進展させ、英文誌から出版した (Toyoda et al., 2021)。

今後に向けた取り組みとして、川口が行った国際的な大規模観測プロジェクト MOSAiC の成果や 2021 年 2 月のサロマ湖

での観測研究 (Nomura et al., 2022) のデータを共有して議論し、木村が行った新しい海氷速度推定とそれをもとにした予測研究について利用と精度向上についての検討を行い、松村が進めている海氷キールと海洋表層を解像する画期的なシミュレーション研究について構築の過程・議論に接することが出来た。これら各分野最先端の若手研究者との協働は、申請者が今後モデリングを中心として気候研究を進める上で非常に有用な知見・経験、また刺激であり、この 2 年間の学際連携共同研究の支援に感謝申し上げます。

参考文献

- (1) Kawaguchi, Y., and coauthors, 2012: “Anomalous sea-ice reduction in the Eurasian Basin of the Arctic Ocean during summer 2010”, *Pol. Sci.*, 6, 39–53.
- (2) Kimura, N., A. Nishimura, Y. Tanaka, H. Yamaguchi, 2013: “Influence of winter sea-ice motion on summer ice cover in the Arctic”, *Polar Res.*, 32, 1–8.
- (3) Lu, P., Z. Li, B. Cheng, and M. Lepparanta, 2011: “A parameterization of the ice-ocean drag coefficient”, *J. Geophys. Res.*, 116, C07019.
- (4) Mei, M. J., T. Maksym, and H. Singh, 2019: “Estimating early-winter Antarctic sea ice thickness from deformed ice morphology”, *The Cryosphere*, 13, 2915–2934.
- (5) Nomura, D., and co-authors, 2022: “Atmosphere-sea ice-ocean interaction study in Saroma-ko Lagoon, Hokkaido, Japan 2021”, *Bull. Glaciol. Res.*, 40, 1–17.
- (6) Toyoda, T., and coauthors, 2016: “Data assimilation of sea ice concentration into a global ocean-sea ice model with corrections for atmospheric forcing and ocean temperature fields”, *J. Oceanogr.*, 72, 235–262.
- (7) Toyoda, T., and coauthors, 2020: “Optimization of dynamic parameters of sea ice models based on satellite-derived sea ice velocity data”, E-6 (Feb. 18), The 35th International Symposium on the Okhotsk Sea & Polar Oceans, Feb. 16–21, 2020, Mombetsu City.
- (8) Toyoda, T., N. Kimura, L. S. Urakawa, H. Tsujino, H. Nakano, K. Sakamoto, G. Yamanaka, K. K. Komatsu, Y. Matsumura, Y. Kawaguchi, 2021: “Improved representation of Arctic sea ice velocity field in ocean-sea ice models based on satellite observation”, *Clim. Dyn.*, 57, 2863–2887.
- (9) Tsujino, H., and coauthors, 2018: “JRA-55 based surface dataset for driving ocean-sea-ice models (JRA55-do)”, *Ocean Model.*, 130, 79–139.
- (10) Urakawa, L. S., and coauthors, 2020: “The sensitivity of a depth-coordinate model to diapycnal mixing induced by practical implementations of the isopycnal tracer diffusion scheme”, *Ocean Model.*, 154, 101693.

現生シーラカンスの深海域への適応機構の解明

Adaptive mechanism of extant Coelacanth to the abyss

岩田 雅光, ふくしま海洋科学館, E-mail: m-iwata(at)aquamarine.or.jp

藪本 美孝, 北九州市立自然史・歴史博物館, E-mail: yabumoto(at)kmnh.jp

宮田 真也, 城西大学水田記念博物館大石化石ギャラリー, E-mail:
fossil.paleoichthyology777(at)gmail.com

猿渡 敏郎, 東京大学大気海洋研究所, E-mail: tsaruwat(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Masamitsu Iwata, Aquamarine Fukushima, Marine Science Museum

Yoshitaka Yabumoto, Kitakyushu Museum of Natural History and Human History

Shinya Miyata, Oishi Fossils Gallery of Mizuta Memorial Museum・Josai University

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

Abstract

The coelacanth, often referred to as living fossil, is an aquatic organism which stimulate peoples' imagination toward evolution and earth history. Currently, two extant species exist, *Latimeria chalumnae* from the east coast of Africa and *L. menadoensis* from Indonesian archipelago. Unlike their fossil counterparts which inhabited fresh to coastal waters, the two extant species are known from the abyss, along rocky shores from 150 to 500m depths. The scope of this study is to elucidate the adaptive mechanism of the two extant species to the abyss. Examinations of external and internal anatomy by dissection and CT scan observations, taxonomic validation of the genus *Latimeria*, documenting and comparison of current habitat of two extant species by ROV observations were conducted.

1. はじめに

生きた化石の代名詞であるシーラカンスは、人々の心にロマンを抱かせる特別な動物である。1939年のSmithによる現生シーラカンス (*Latimeria chalumnae*) の発見以来、様々な研究がなされてきた。さらに、1999年のインドネシアシーラカンス (*L. menadoensis*) の発見により、*Latimeria* 属内での比較研究が可能となったが、そのような研究は分子生物学的研究を除くとほとんど行われていない。現生種の存在の大きな利点は、化石では残らない軟体部の観察が可能ることから、機能形態学的研究や行動生態学的研究も可能な点である。

近年、日本人研究グループによる現生シーラカンス研究が注目を集めている。例えば、インドネシアシーラカンスの生態に関しては、日本の研究グループが ROV (自走式水中カメラ) を用いて世界で初めて幼魚の撮影に成功し (Iwata et al., 2019)、シーラカンスの吸引摂餌機構が記載された (Yabumoto et al., 2012)。

シーラカンスの化石種の多くが淡水ないし浅海域産であるのに対し、現生二種はいずれも深海性である。深海域への適応機構の解明は、現生シーラカンスがいかにして現代まで生き残ったか、その適応生残機構の解明そのものに他ならない。本研究では、大学、博物館、水族館に所属する研究者からなる学際的な研究組織が、化石種と現生種との比較を軸に、現生シーラカンス二種の解剖、精密計測と CT スキャンデータを用いた内部形態と構造の比較、ROV による生態観察を通し、シーラカンス類の深海域への適応機構を解明する新たなシーラカンス研究ステージの礎を築くことを目的とした。

2. 研究内容と成果

1) 国内の標本探査

データベース上でシーラカンス類の化石標本の所在を確認したところ、60 標本が日本国内の博物館に所蔵されていることが確認された。

Coelacanth Conservation Council の標本台帳によると、日本国内には 21 個体の現生シーラカンス標本が存在する。しか



図1：インドネシアシーラカンス (*L. menadoensis*)。

し、現生種の標本はデータベースに登録されておらず、聞き取り調査の結果 11 標本が国内の大学・博物館に所蔵されていることが確認された。コロナ禍により、すべての標本の確認を行うことはできなかった。

2) 外部形態の比較

現生シーラカンス二種を、外部形態から識別するのは、有効な分類形質が見つからないために容易ではない。福島海洋科学館で展示されている二種のシーラカンスの詳細な外部形態計測は済んでいるが、いまだ分類形質の発見には至っていない。再度新たな項目の計測を実施する計画であったが、コロナ禍のために断念せざるを得なかった。現在、デジタル画像から三次元的に被写体を構築するソフトを用いて二種の標本の 3D 像を構築し、非侵襲的に外部形態の比較を行えないか、試行中である (図2)。



図2：デジタル画像より構築したアンモナイト化石の3D像。

3) 内部形態の比較

取得済みの CT スキャンデータも含め、二種の骨格系、筋肉系、消化器系などの比較を行った。その結果、骨格系については、アリザリンレッド染色標本の比較から *L. menadoensis* と *L. chalumnae* の間で角鰓骨 (Ceratobranchial) の歯板に違いが認められた。

4) 現生シーラカンスの「肺」の確認

化石シーラカンスから、肺の存在が示唆されている。現生シーラカンスでは、シーラカンスでは確認されているが、インドネシアシーラカンスでは確認されていない。そこで、インドネシアシーラカンスの内臓を精査し、肺の有無を確認する。シーラカンス類の肺に関する先駆的研究を行っているブラジルの研究者とはすでに連携を取り付け、昨年度から共同研究を実施している。残念ながら、コロナ禍のために、ふくしま海洋科学館へ赴き、肺の有無を確認するために必要な標本の詳細な観察と解剖は実施できなかった。

5) *Latimeria* 属の有効性の検証

Latimeria 属は、化石種との比較が行われないうまま、Smith によって記載された。以後、その有効性の検証はなされていない。CT スキャンデータを精査し、頭蓋骨の化骨の状態、上側頭骨 (supratemporal)、鱗状骨 (squamosal)、後眼窩骨 (postorbital)、主鰓蓋骨 (operculum) の形態でラティメリア科の他の属から識別されることが判明した。

6) 現生シーラカンスの生息環境の記載

ふくしま海洋科学館が実施してきた ROV によるシーラカンス調査によって蓄積された映像データを精査した (図 3)。その結果、インドネシアシーラカンスでは鰭の形状に異常が認められ、欠損している個体が存在した。同水域では *Cirrhoscyllium expolatum*, *Orectolobus* sp., *Alopiidae* sp などの板鰐類の生息が確認された。ROV に設置した水温計より得たデータを現在解析中である。

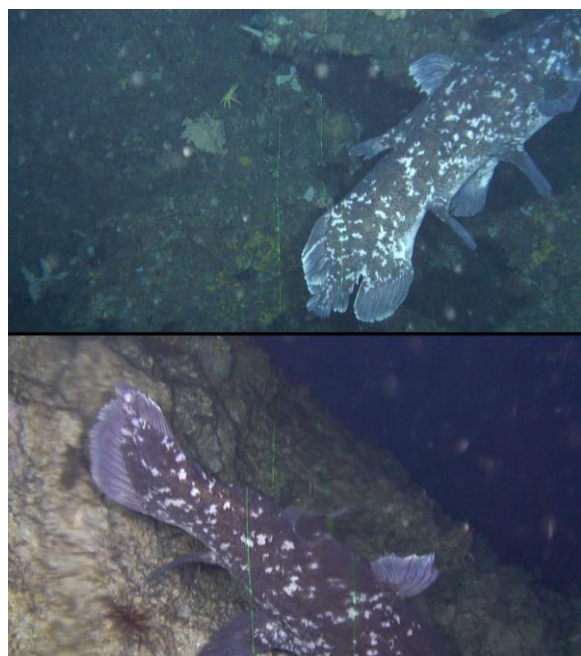


図 3: ROV が撮影したシーラカンスのビデオキャプチャー画像。

3. まとめと今後の展望

コロナ禍の影響で、研究当初に予定した研究を十分に行うことが出来なかった。

シーラカンス類は、淡水域と沿岸域から多くの化石が産出

しており、深海域からの化石種の産出はこれまで報告されていない。これに反して、現生二種はいずれも大陸棚斜面の水深 150–500m の岩場から報告されており、深海域へと適応した種のみが生き残っている。先行研究により、肺の機能の消失が深海域への適応機構の一部であるとされている。インドネシアシーラカンスに関しては、肺の有無はまだ確認されていない。今後、ふくしま海洋科学館に展示中の現生二種の標本を精査し、肺の有無と形態、構造を記載する。二種の生息環境の比較を通し、深海域への適応機構を解明していく。

研究業績 論文

- (1) Cupello, C., T. Hirasawa, N. Tatsumi, Y. Yabumoto, P. Gueriau, S. Isogai, R. Matsumoto, T. Saruwatari, A. King, M. Hoshino, K. Uesugi, M. Okabe, and P. M. Brito. 2022. Lung evolution in vertebrates and the water-to-land transition. bioRxiv
doi: <https://doi.org/10.1101/2022.02.14.480340>
- (2) Hirasawa, T., C. Cupello, P. M. Brito, Y. Yabumoto, S. Isogai, M. Hoshino, and K. Uesugi. 2021. Development of the pectoral lobed fin in the Australian lungfish *Neoceratodus forsteri*. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9:679633. doi.org/10.3389/fevo.2021.679633.
- (3) Matsumoto, R., Hirayama, R., Miyata, S., Yoshida, M., Mitsuzuka, S., Takisawa, T., and Evans, S. E. (2022). The first choristoderan record from the Upper Cretaceous of Asia, Tamagawa Formation, Kuji Group, Japan. *Cretaceous Research*, 129, doi.org/10.1016/j.cretres.2021.104999.
- (4) 宮田真也・相田裕介・加藤太一. 2021. 下総層群産軟体動物化石を用いた授業実践. 茨城県自然博物館研究報告, (24): 97-109.
- (5) Yabumoto, Y. and M. V. Nazarkin. 2021. A new Miocene scorpaenoid fish, *Raususetarches sakurai* gen. et sp. nov. (Teleostei: Scorpaeniformes) from Rausu, Hokkaido, Japan. *Paleontological Research*, 25(2): 93-104.

研究業績 その他

- (1) 井堰絵里佳・伏見清香・飯本美孝・池本誠也・真鍋 真・高田浩二. 2021. スマートフォンに表示するピクトグラムにおける「図」の線の太さに注目したデザイン ―視認性と理解度の調査と実証実験―. 図学研究, 第 55 巻 1 号 (通巻 165 巻): 26-36, 図 1-14, 表 1-4.
- (2) 猿渡敏郎. 2021. 第 4 回 シーラカンスの仲間 時の旅人、時の証人 ここまでわかった深海生物のなぞ 朝日小学生新聞 2021 年 (令和 3 年) 5 月 27 日

引用文献

- (1) Iwata, M., Y. Yabumoto, T. Saruwatari, S. Yamauchi, K. Fujii, R. Ishii, T. Mori, F. D. Hukom, Dirhamsyah, T. Peristiwady, A. Syahailatua, K. W. A. Masengi, I. F. mandagi, F. Pangalila, and Y. Abe. 2019. Observation of the first juvenile Indonesian coelacanth, *Latimeria menadoensis* from Indonesian waters with comparison to embryos of *Latimeria chalumnae*. *Bull. Kitakyushu Mus. Nat. Hist. Hum. Hist.*, Ser. A, 17:57-65.
- (2) Yabumoto, Y., M. Iwata, Y. Abe and T. Uyeno. 2012. Function of the pseudomaxillary fold in the mouth opening of the coelacanth, *Latimeria chalumnae*. *Ichthyol. Res.*, 59:164-168.

先史アンデス海岸部における古環境変動と海民の適応戦略（2）

Paleoenvironmental changes and adaptation strategies of maritime community in the prehistoric Andean coast (2)

荘司 一步, 東大・大気海洋研, E-mail: lpo.spd1418(at)gmail.com

白井 厚太郎, 東大・大気海洋研, E-mail: kshirai(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Kazuho Shoji, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

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

Abstract (Times New Roman 10pt)

Based on the results of last year's research, this study examines how people tried to reorganize their use of marine resources under environmental changes 4000 BC. To identify adaptive strategies for environmental change, an analysis focusing on growth anomaly and growth patterns was conducted on archaeological remains of subtidal bivalves, *Protothaca thaca*. The results indicate that collecting activities were concentrated before and after El Niño events, and that activities were maintained longer term in response to environmental changes that increased the magnitude and frequency of El Niño events.

1. はじめに

令和3年度に実施した学際連携研究において、ペルー沿岸に生息するオオヌノメアサリ (*Protothaca thaca*) に残される成長障害の痕跡がエル・ニーニョ現象による海水温異常の指標となることを明らかにした。さらにこの新規的な指標を用いて遺跡から出土したオオヌノメアサリを分析した結果、紀元前4000年を境にエル・ニーニョ現象の規模と頻度が増加するような環境変動が起きていたことが解明された。

上記の成果をふまえた本研究では、そのような環境変動の最中で、当時の人々はどのように海産資源利用を再編し、環境変化に適応しようとしてきたのかを明らかにすることが目的となる。一般に大きな環境変動は、人類史において文明の盛衰をもたらす転換点として捉えられる傾向にあるが、そのメカニズムを解明するための詳細な検討は不十分であることが多い。環境変動による自然淘汰が、ある社会の崩壊をもたらしたとするような単純な解釈を乗り越え、環境変動と社会変化の関係について理解を深めるためには、人々がどのように環境の変化に適応しようと試みてきたのか、そのプロセスを詳細に検証する必要がある。

2. 問題設定・方法

紀元前4000年頃におきた上述の環境変動に対する適応戦略を明らかにするうえで鍵となるのは、人々がどのように海産資源を利用していたのかという食糧獲得活動の通時的な変化である。ここでは、とくに貝類利用に焦点を絞り、貝類の採集活動を明らかにする。これまでの研究活動によって蓄積されてきたオオヌノメアサリの成長パターンについての知見は、貝類の採集活動がいつ、どのように行われていたのかを明らかにするうえでも有用といえるからである。

遺跡から出土する貝殻は、当時の人々の採集活動によって集められ、利用され、廃棄されたものといえることから、その死亡時期を採集活動が行われた時期としてみなすことができる。この点を利用して季節的な貝類利用の実態に迫る研究が、日本の考古遺物を対象に実施されてきた。しかし、そうした研究を実現するためには、貝類の成長パターンに明瞭な季節性があることが条件となる。年間の季節変化が明瞭でないペルーなどの気候帯では、そうした従来の手法を適用することができないが、これまでの研究で明らかになってきた知見を用いた新たな手法によって、採集月の推定が可能となる。ここで注目するのは、エル・ニーニョ現象によって成長障害

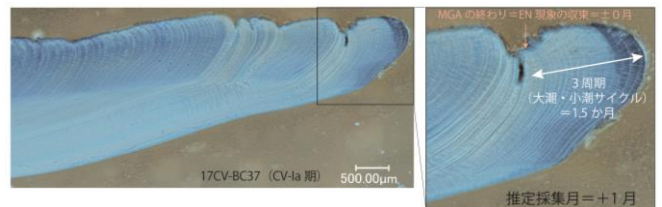


Fig.1 推定採集月の算出方法

400μm以上の成長障害輪 (Major Growth Anomaly) から縁辺までの成長縞にみられる成長量変動の周期から大潮・小潮サイクルを算出し、推定採集月に換算した。

クルが大潮・小潮の月齢周期と一致するという点である。この2つの知見をもとにクルス・ベルデ遺跡から出土した44個体のオオヌノメアサリを対象に以下の手順で分析を実施した。

- ①デジタルマイクロスコプ (KEYENCE 社 VHX-2000) を用い、100~300倍の倍率で貝殻断面を観察し撮影する。
- ②エル・ニーニョ現象の指標となる400μm以上の成長障害輪 (MGA) の有無を確認する。
- ③貝殻の成長プロセスの中で最後に形成された成長障害輪 (MGA) から貝殻縁辺までの間にある微細成長縞のカウントおよび成長幅の計測を実施し、成長量の変動周期数を算出。
- ④成長量変動周期を月齢周期に換算し、エル・ニーニョ現象による海水温異常の収束と貝類の死亡時の時間差を推定する。

エル・ニーニョ現象は不規則かつ短周期的に起こる海域環境の異常であり、ペルー沿岸における海水温の上昇は普段雨の降らないこの地域に大雨と河川の氾濫を及ぼすことが知られている。1月~4月にその海域異常が起きる場合が多いが、その終了時期を正確に特定することはできないため、エル・ニーニョ現象による異常が収束した月を0と仮定して、そこからの時間差を月単位で求め推定採集月とした (Fig. 1)。

3. 結果と考察

分析の結果、遺跡から出土した多くの個体はエル・ニーニョ現象によって成長障害輪が形成された時期の前後数か月に採集されたものであることがわかり、とくに同現象が収束した直後に採集活動のピークがあることが示唆された (Fig. 2)。これはオオヌノメアサリが通年のあいだ採集され続けたわけではなく、エル・ニーニョ現象というイベントに合わせて選択的に採集されるものであったことを意味する。この貝は高い海水温に耐性を持っていることが知られており、エル・ニー

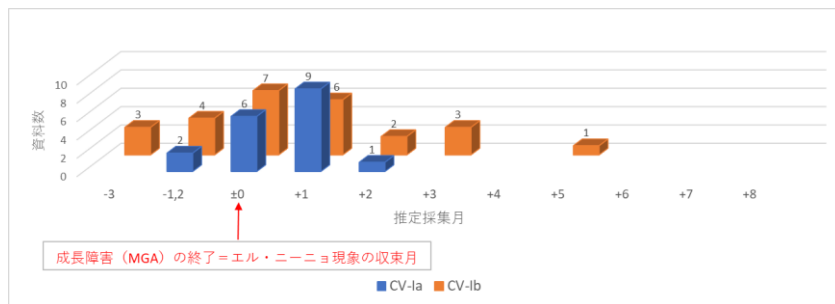


Fig.2 各時期における推定採集月ごとの資料数の分布

MGAを基準とし、成長量変動から換算した月齢周期をもとに+/-で採集月の分布を示した。MGAの直後にオオヌメアサリの採集活動は集中しする。

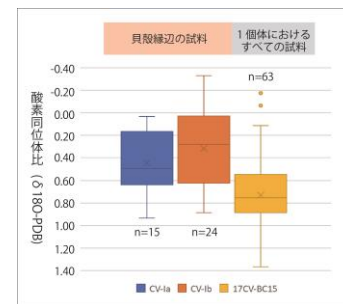


Fig.3 貝殻縁辺から得られた酸素同位体比のバリエーションと1個体の断面から連続的に得られた酸素同位体比の比較

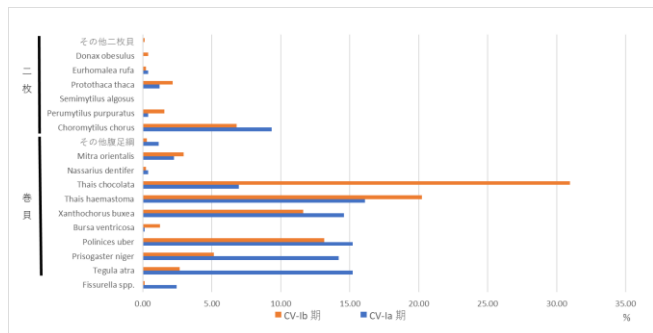


Fig.4 出土した貝類の同定個体数の割合と時期差

CV-Ia期と比べて、CV-Ib期では特定の貝種に出土量が偏る。

ニョ現象下で個体数を激減させる多くの貝類の中で、個体数を維持するオオヌメアサリ (Urban 1994) が優先的に採集された結果とみてよいだろう。

この結果は、貝殻に含まれる酸素同位体比の分析によっても支持されている。強い被熱を受けていない39個体の考古資料を対象に貝殻の縁辺を削り、各個体が最後に経験した海域環境の水温のバリエーションを1個体の断面から採取した連続的な試料の測定値のバリエーションを比較した (Fig. 3)。その結果、貝殻縁辺の試料の測定値は1個体から得られた全測定値の中でも高い海水温を示す値に集中するなど、上述の分析結果と同様の傾向を示していることがわかる。

クルス・ベルデ遺跡は、約400年間にわたって利用されたマウンド状の貝塚であり、その形成過程はCV-Ia期 (前4200-4000年) とCV-Ib期 (前4000-3800年) に分かれている。後者の時期にエル・ニーニョ現象の規模と頻度が高まったことが分かっている。両者で推定採集月の分布を比較すると、CV-Ib期ではエル・ニーニョ現象を中心により長期間の採集活動が継続されている。環境変動に伴って、オオヌメアサリを利用する期間と機会が増加していたことが示唆される。

CV-Ib期の環境変動に伴って、エル・ニーニョ現象下で増加する資源を集中的に開発する様子は、遺跡から出土する各貝種の割合からも読み取れる (Fig. 4)。オオヌメアサリとともに、この時期に出土割合が増加するチョコレートレイシ (*Thais chocolata*) は、エル・ニーニョ現象下で個体数を増やす巻貝であり (Cantillán et al. 2011)、いずれの貝種に対しても自然下の個体群集に影響を及ぼすような、過度な採集活動は行われていなかったことが分かっている (Shoji 2018)。これらのデータは、利用する動物相を変えながら海洋生態系の変化に合わせる採集戦略の柔軟性を示唆している。

同様の食糧獲得戦略は遺跡における魚類利用からも示唆されており、降雨によって拡大するラグーンを集中的に開発し、ウシザメ (*Carcharhinus leucas*) やクロヘリメジロザメ (*Carcharhinus brachyurus*) などの汽水域に侵入する魚種を

集中的に利用する状況がCV-Ib期に報告されている (荘司ほか 2019)。層位ごとのデータは、エル・ニーニョ現象の影響を受けやすいカタクチワシ (*Engraulis ringens*) の増減を補完するようにメジロザメ属の出土量が増減するなど、海域環境の異常に合わせた動物利用が柔軟に組織されていた。

4. まとめと今後の展望

本研究を通じて、エル・ニーニョ現象の規模と頻度が増加するという環境変動に伴う、当時の人々の適応戦略が明らかになった。オオヌメアサリの採集活動はエル・ニーニョ現象の時期に合わせて集中的に行われたものであり、CV-Ib期における貝類利用の変化は、そうした環境変動に適応する中で資源利用を再編した結果であることが示唆される。そのほかの海産資源利用のデータもふまえるならば、紀元前4000年前後のペルー沿岸部の人々は、利用する動物種を変化させつつ、柔軟に環境変動に適応してきたといえる。

一方でこの時期のクルス・ベルデ遺跡では、マウンド状の貝塚に対する社会的な認識が変化しつつあり、マウンドを結節点として集団の統合力が高まっていくような社会変化の中にあった (荘司 2022)。うまく環境の変化に適応していたとしても、利用する動物種の変化は、各動物種の生態に合わせた資源の獲得活動の変化をもたらしたと言えるのであり、資源利用をめぐる他集団との関係性の変化も含め、結果として社会変化を生み出していったことが指摘できる。本研究を通じて、環境変動と社会変化の関係性について、より深い議論を提供するための基礎データを収集することができた。

参考文献

- (1) Cantillán, M., Miguel A., Manuel R. and Alberto O., 2011: "Parámetros reproductivos y poblacionales de *Thais chocolata* (Duclos, 1832)(Gastropoda, Thaididae), en la reserva marina La Rinconada, Antofagasta, Chile", Latin American Journal of Aquatic Research, 39(3), 499-511.
- (2) Shoji, K., 2018: "La utilización de recursos malacológicos en el período Arcaico: Una perspectiva del sitio arqueológico Cruz Verde, Valle Chicama", Revista ARQUEOBIO, 12 (1), 18-37.
- (3) 荘司一歩, 2022: "巨大建造物はなぜ、どのように生まれたのか—海岸のマウンドと残された謎" 関雄二監修 "アンデス文明ハンドブック" pp. 32-45, 臨川書店.
- (4) 荘司一歩, ビクトル・バスケス, テレサ・ロサーレス, 2019: "クルス・ベルデ遺跡出土遺物からみたペルー北部沿岸地域における古期の動物利用と変化" 古代アメリカ, 22, 101-118.
- (5) Urban, H.-J., 1994: "Upper Temperature Tolerance of Ten Bivalve Species off Peru and Chile Related to El Niño", Marine Ecology Progress Series, 107, 139-145.

バイオリギングと同位体比分析から明らかにする鯨類の回遊生態

Migration ecology of cetaceans unveiled by biologging and trace element analyses

天野雅男, 長崎大・水産・環境科学総合研究科, E-mail: m-amano@nagasaki-u.ac.jp

小林駿, 東京農業大・生物産業学部, E-mail: physeter0809@gmail.com

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

青木かがり, 東大・大気海洋研, E-mail: aokikagari@aori.u-tokyo.ac.jp

杉原 奈央子, 東大・大気海洋研, E-mail: nsugihara@aori.u-tokyo.ac.jp

Masao Amano, Graduate School of Fisheries and Environmental Sciences, Nagasaki University

Hayao Kobayashi, Faculty of Bioindustry, Tokyo University of Agriculture

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

Kagari Aoki, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Naoko Sugihara, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

About 40 cetacean species live in the waters off Japan, but there is little information about migratory patterns of most cetaceans because of the poor accessibility. Here we investigated migration of male sperm whales and its changes depending on the growth stage by using three different methods; short- and medium-term scale (bio-logging and visual observation) and long-term scale (isotope analysis). Based on visual observations and bio-logging methods, we found young male sperm whales appeared from winter to spring in the waters off the west of Kyushu, and some whales reached the Goto submarine canyon and spent until summer. Steep decreases of $\delta^{13}\text{C}$ were observed in the teeth of sperm whales around 13 – 20 years old, which coincided with the body length of the whales appearing in the waters around the Goto Islands.

1. はじめに

日本近海には、世界中に生息する鯨類の半数である約 40 種が生息するが、そのほとんどで社会構造や回遊パターンは分かっていない。マッコウクジラの成熟メスと未成熟個体は、数年から数十年続く群れをつくり、亜熱帯域から温帯域にかけて分布する (Whitehead 2003)。一方、オスは離乳後のある時期に出生群から離れ成長とともに徐々に高緯度海域に生息場所を移すことが知られている (Whitehead 2003)。しかし、実際に個々の個体が季節的に、さらに長期的にどのような海域を利用し、回遊を行っているのかについては分かっていない。日本周辺海域では、五島列島周辺には若オスの群れ、根室海峡にはより大型のオスがみられるが、これらの個体がどこから来てどこへ向かうのかは全く不明である。本研究では、短中期スケール (バイオリギング、目視観察) と長期スケール (同位体分析) の 2 つの異なる分野の手法を組み合わせ、オスのマッコウクジラの回遊実態とその成長段階による変化を明らかにすることを試みた。

2. 問題設定・方法

1) 目視観察と衛星発信機を用いた識別個体の回遊経路把握

2021 年 7 月 9 日から 13 日にかけて、衛星発信機の装着と個体識別の調査を実施した。地元のダイビング船を備船し、目視と曳航式ハイドロフォンによりマッコウクジラを探索した。マッコウクジラを発見した際には、可能な限り接近し、空気砲 (ARTS, Kleivane, 1998) による衛星発信機 (Spot-303F, Wildlife Computer, USA) の装着を試みた。また潜水時に上げる尾ビレの写真を撮影し、個体を識別した。

これらの調査に加えて、2013 年から 2021 年にかけて五島海底谷周辺で実施した個体識別調査 (計 88 日) の結果をもとに、海底谷内での滞在パターンを調べた (図 1)。調査の結果からマッコウクジラは夏以降に五島海底谷を離れることが示唆されたため、2018 年からは熊本県天草沖～鹿児島県甕島列島周辺に調査範囲を拡大し、五島海底谷からの個体の移動の有無を調査した (計 12 日)。また、公開されているストランディングデータベース (国立科学博物館海棲哺乳類ストランディングデータベース; 日本鯨類研究所ストランディングデー

タレコード; 石川ら 2013) をもとに、九州西岸における本種のストランディングの季節的なパターンを調べた。

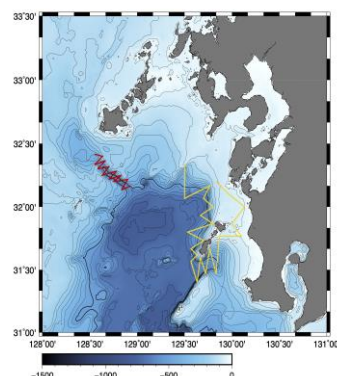


図 1. 目視による個体識別・出現位置調査における航路。赤い実線が五島海底谷で、調査は 3 月から 8 月上旬にかけて実施した。黄色い実線が天草・甕島列島周辺で、調査は 9・10 月に実施した。

2) 同位体比分析

ハクジラ類の歯には成長層が形成される。日本沿岸に漂着・座礁したマッコウクジラの歯を採集し、歯の断面を研磨、象牙質に形成される成長層を数え年齢を査定した (表 1、図 2)。年齢査定の際には歯の断面を蟻酸で脱灰し、鉛筆でなぞることで組織の凹凸を明瞭にした。実体顕微鏡下で年齢毎にデンタルドリルを用いて点を打ち、表面を再度研磨した。その後、顕微鏡下で年齢毎に歯の成長層に沿って象牙質を削り (図 2b)、得られた粉末の酸素及び炭素安定同位体比を安定同位体比質量分析装置で分析した。同位体比の値は標準物質によって補正した。

表 1. 同位体比分析に使用した漂着・座礁したマッコウクジラ標本

個体番号	性別	全長 (m)	年齢	漂着場所
M-1	オス	16.6	38	宮崎県児湯郡川南町
M-2	オス	16.5	35	鹿児島県熊毛郡中種子町
M-3	オス	—	38	千葉県銚子市
M-5	オス	16.5	38	熊本県天草市
M-6	オス	17.8	41	北海道根室市桂木
M-7	オス	10.5	20	鹿児島県熊毛郡屋久島



図2. 個体番号M5の歯の断面図。(a) 成長層を数え年齢を査定した。(b) 年齢に沿って削り取った。

3. 結果と考察

1) 目視観察と衛星発信機を用いた識別個体の回遊経路把握

2021年7月10日と7月13日にそれぞれ1頭のマッコウクジラに衛星発信機の装着を試みた。7月10日に発信機を装着した個体(GSC-PM025)からは6日間分の位置情報を得た。装着時の個体までの距離は約15メートルで、空気砲には19気圧の空気を充填した。衛星発信機は根元まで刺さらず、半分ほど皮膚上に突出した状態であった。この個体は装着後、一時的に五島海底谷を離れて男女群島南東(男女海底谷群)に移動したが、その後は五島海底谷内に留まっていた。2018年に衛星発信機を装着した個体も追跡できた約1ヶ月の間、基本的に五島海底谷を離れることはなかった(図3)。このことから、マッコウクジラは春から夏にかけて五島海底谷周辺の限られた範囲(南北約40km×東西約10km)の中で採餌をおこなっていることが示唆された。7月13日に装着を試みた個体は、装着直後に発信機が脱落したため記録を得ることができなかった。この時の装着時の個体までの距離は約6メートルで、空気砲には19気圧の空気を充填した。

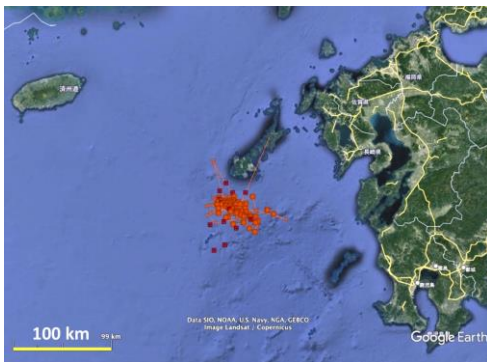


図3. 衛星発信機によって得られたマッコウクジラの位置。赤い四角が2021年にデータを得た個体、赤い丸が2018年にデータを得た個体を示す。2021年に装着した個体は装着後、一時的に五島海底谷を離れて男女群島南東に移動したが、その後は2018年の個体と同様に五島海底谷内に留まっていた。地図はGoogle Earthを利用。

個体識別による記録から、一部の個体は遅くとも3月下旬には海底峡谷に来遊し、8月上旬まで周辺に留まっていることが確認された。3月下旬から8月上旬にかけて実施したすべての調査でマッコウクジラの発見があったのに対して、8月下旬と12月に実施した調査ではマッコウクジラが見られなかったことから、本種は8月中旬頃までに五島海底谷を離れることが示唆された。2019年と2021年の9月には天草沖の海底斜面でマッコウクジラの発見があり、識別された2頭(GSC-PM025、026)はいずれも五島海底谷における識別個体であることが判明した。したがって、マッコウクジラは五島海

底谷を離れた後、九州西方の海底斜面を利用していることが示唆された。九州西岸におけるマッコウクジラのストランディングのほとんどが1~7月の間に発生しており、特に1~3月に多かった。これは五島海底谷に本種が出現しはじめる時期と概ね一致する。九州西岸にストランディングした17群38頭のうち、性別が判明している13群34頭はすべてオスで、太平洋側に比べて体長が小さな個体の割合が高かった。

以上のことから、九州西方海域には冬から春にかけて比較的若いオスのマッコウクジラが来遊し、その一部は五島海底谷まで達して夏頃まで過ごした後、九州西方の海底斜面に沿って南下するという回遊パターンをもつと考えられる。秋から冬にかけての分布については不明な点が多いが、五島海底谷や天草沖では11~12月にも本種の鳴音が確認されており、一部の個体は九州西方海域に周年留まっている可能性がある。

2) 同位体比分析

対象個体の全長は10.5から17.8m、年齢は30歳から47歳であった。年齢毎に用いた0.7~1.4mgの粉末を削り取り(図2b)炭素・酸素安定同位体比分析に供した。代表として、個体M5とM6の炭素・酸素安定同位体比プロファイルを図4に示した。両個体共に、 $\delta^{18}\text{O}$ は生活史を通じてほとんど変化が認められなかった。一方、 $\delta^{13}\text{C}$ では、両個体共に13歳から20歳にかけて急激に低い値となり、その後比較的一定の値を示す傾向がみられた。30歳以降でM5ではやや低下、M6ではやや高くなる傾向がみられた。 $\delta^{13}\text{C}$ の急激な低下は、生まれ育った海域から生息域が変化した可能性を示唆している。

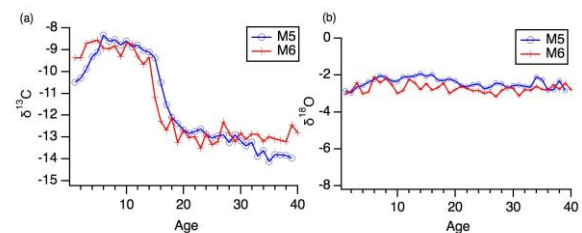


図4. 歯における同位体比の年齢による変化。(a) $\delta^{13}\text{C}$, (b) $\delta^{18}\text{O}$

4. まとめと今後の展望

九州西方海域には冬から春にかけて比較的若いオスのマッコウクジラが来遊し、その一部は五島海底谷まで達して夏頃まで過ごした後南下、また一部の個体は九州西方海域に周年留まっている可能性が考えられた。五島列島周辺海域に出現する個体は体長12m前後であり、 $\delta^{13}\text{C}$ の急激な変化が見られた年齢と重複していた。今後、分析個体数を増やし、同位体比の変動要因を検討するとともに、衛星発信機装着の手法を改良し、夏以降(五島海底谷を離れた後)の回遊ルートを明らかにすることを目指す。これによりマッコウクジラの回遊実態とその成長段階による変化を明らかにしていきたい。

参考文献

- (1) Whitehead H (2003) Sperm whales: social evolution in the ocean. University of Chicago Press, Chicago.
- (2) Kleivane L. (1998) A new pneumatic launching device ARTS (Aerial Rocket Transmitter System) especially developed and designed to improve tagging and instrumentation of baleen whales. Bodø, Norway: Restech A/S
- (3) 石川創・後藤睦夫・茂越敏弘 (2013) 日本沿岸のストランディングレコード (1901~2012). 下関鯨類研究室報告 No. 1. 下関海洋科学アカデミー鯨類研究室, 下関. 314

個体および環境情報から包括的に解明するチャネルキャットフィッシュの生態 The comprehensive study of the ecology of channel catfish from individual and environmental information

伊藤 元裕, 東洋大・生命科学部, E-mail: ito@toyo.jp
白井厚太郎, 東大・大気海洋研, E-mail: kshirai@aori.u-tokyo.ac.jp

Motohiro Ito, Faculty of Life Sciences, Toyo University
Kotaro Shirai, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

In recent years, the Channel catfish *Ictalurus punctatus* has been rapidly expanding its distribution in rivers throughout Japan and has been designated as a Specified Invasive Alien Species. We have confirmed that this species is widely spreading using eDNA. In this year, we compared the diet of this species between 3 regions in the Tone river and Edo river using stomach contents and stable isotope ratios in their muscle. We also analyzed the diet and migratory habits of each life stage using stable isotope ratios in the layers of eye lenses. The results revealed that this species migrates widely and uses brackish to freshwater areas as its habitat. It was also determined that the eye lenses is a suitable tissue for analyzing changes in feeding habits through life of the individual. The best method for processing the samples was pyrothermal treatment, in which the samples were repeatedly frozen and thawed in running water for one week. The results of stable isotope ratio analysis of the stratified layers of eye lenses indicated that the spawning and growing areas of this species are widely ranging from brackish water to fresh water, and that individuals with various origins may have migrated to the current habitat as they grew up.

1. はじめに

近年、日本全国の河川において、急速にその分布を広げているチャネルキャットフィッシュ *Ictalurus punctatus* は、特定外来生物に指定され、その分布の拡大や生態系、漁業への被害を軽減することが強く求められている (片野 2012)。

利根川のような大河の河口域は淡水域と海域の生態系をつなぐ重要な役割を持つとともに、様々な有用漁業対象魚における重要な生息場所であるとされている。これまで、外来魚に関する問題は淡水域に限ったものが主であったが、これまでの想定を超え、本種がその高い行動能力と環境順応力を用いて、広く淡水域だけでなく、河口域を介して周辺海域生態系にまで影響を及ぼし得る種であることを示唆している。昨年度の調査によって、関東一円の水域においてチャネルキャットフィッシュの eDNA の検出を試みたところ、本種の eDNA が検出されたのは全 82 地点の内河川の河口域を含む 31 点に上り、これまで本種の目撃、捕獲実績がない河川も 13 地点含まれていた (fig. 1)。また、胃内容物や筋肉の安定同位体比分析の結果は、本種は大型化するほど栄養段階が高く、海水や汽水生態系に関係の深い生物を餌として利用している可能性が高いことが示された。これらの結果は、本種が広く大小さまざまな河川、水域に分布しているとともに、その推移期間を長距離移動して生息し、広域の水圏生態系に影響を与えていることを示唆した。

これらの新たに明らかとなった情報をもとに、今年度の本研究では、アメリカナマズの広域の移動に着目し、利根川水系間の移動実態やその食性の違いについて、従来の漁獲個体の解剖と筋肉の安定同位体比分析を合わせて行い、これを利根川本流の淡水域、利根川河口堰周辺の汽水域、利根川の支流である江戸川中流の 3 地点間における比較を行った。しかしながら、こうした食性解析には、得られる情報がサンプル個体の捕獲前の 1~数か月間の情報に限られ、生涯にわたる個体の生活史解明を行うことは難しいという欠点が残されていた。そこで、我々は、成長に伴って層が形成されて成長する非代謝性の組織である水晶体に注目し、大型個体の水晶体を層状に剥離し、各層の同位体比の測定が出来れば、孵化から成熟し大型化するまでの生涯を通した食性や生息地利用を連続的に明らかにすることが可能になると考えられる。本

研究では、前述の食性解析とともに、利根川において捕獲した本種から水晶体の摘出を行い、まず、水晶体の層状剥離処理の適切な方法について検討を行い最適な水晶体層状剥離試料の作成方法について検討した。その上で、剥離した水晶体の各層について安定同位体比値を測定することによって、各成長段階における食性と生息地利用の変化を明らかにするとともに、産卵場所もしくはふ化後から 1 年間程度の期間の生育場所の環境についての解明を試みた。

こうして、チャネルキャットフィッシュの生態情報を複数の時空間的・質的なスケールで解明することを目指した。

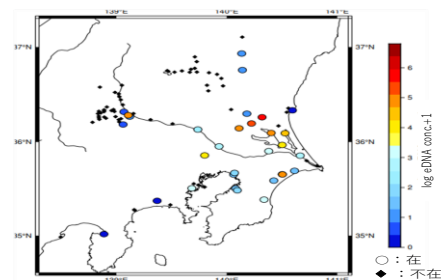


Fig.1 The channel catfish eDNA concentration at Kanto area.

2. 問題設定・方法

2021 年 3 月 - 6 月に千葉県神崎町の利根川淡水域において、2021 年 3 月から 5 月に茨城県神栖市の利根川河口域 (河口堰周辺) において、2021 年 7 月から 10 月に埼玉県三郷市の江戸川中流域においての 3 か所で、袋網、刺し網、釣りをを用いて本種を捕獲した。さらに千葉県神崎町の利根川淡水域については、2017 年から 2021 年にかけて得られた過去のデータも解析に用いた。捕獲した個体は外部計測を行った後、解剖によって胃と筋肉片を取り出した。胃は胃内容物分析を行い、可能な限り餌生物の種同定を行うとともに、胃内容物全長と重量を測定した。これらから、空胃率 (%)、出現頻度 (%F)、餌種数割合 (%N)、餌種重量割合 (%W)、餌重要度指数 (%IRI)

を算出した。筋肉片は、乾燥後、粉末化し、脱脂処理を行った上で、炭素・窒素安定同位体比分析を行った。

更に、2016 年から 2021 年にかけて千葉県香取郡神崎町周辺の利根川において刺網、張網、籠網によって捕獲されたチャネルキャットフィッシュの水晶体の摘出を行った。水晶体は摘出後、シリカゲル上で完全乾燥させて乾燥した水晶体は重量と直径を計測した。標準体長 57~60 cm の個体の水晶体を用い、7 種類方法 (1) 凍結乾燥、2) シリカゲル上で冷蔵乾燥、3) 乾熱乾燥、4) 凍結乾燥後シリカゲル上で冷蔵乾燥、1) 2)、3) の方法の前処理として流水による 30 分の解凍と -30℃での凍結を 1 週間毎日繰り返す方法) での乾燥を行い、その後層状剥離した。それぞれの乾燥方法ごとに、剥離時のサンプルの状態、得られた層の数、操作にかかった時間を評価した。また、標準体長 20~72 cm の個体から摘出した水晶体を乾燥させた上で、層剥離を行い、その剥離層数を調べた。水晶体を層ごとに、その安定同位体比を測定した。

3. 結果と考察

神崎町周辺の利根川淡水域と河口堰周辺の河口域において、本種の小型個体は、主に昆虫や甲殻類を捕食し、大型個体になるにつれて魚類の捕食する割合が大きくなる傾向があった。特に、50cm 以上の個体ではどちらの水域でも魚類の%IRI が 80%以上となり、強く魚類に依存する食性を持つことが明らかになった。一方、江戸川では、本種のすべての体長階級において虫類および植物の%IRI が、利根川の 2 地点よりも高く、魚の%IRI は 50%を越えなかった。本種の筋肉における炭素・窒素安定同位体比値も、神崎周辺 ($\delta^{15}\text{N}$; $15.7\text{‰} \pm 1.5$, $\delta^{13}\text{C}$; $-25.1\text{‰} \pm 1.3$) と河口堰周辺 ($\delta^{15}\text{N}$; $16.9\text{‰} \pm 1.3$, $\delta^{13}\text{C}$; $-24.4\text{‰} \pm 0.6$) で比較的共通していたが、江戸川 ($\delta^{15}\text{N}$; $13.9\text{‰} \pm 1.1$, $\delta^{13}\text{C}$; $-24.3\text{‰} \pm 1.2$) では、特に $\delta^{15}\text{N}$ が利根川の 2 地点よりも有意に低かった (fig. 2)。この結果は、利根川の 2 地点の個体の方が高い栄養段階をもつことを示唆しており、魚食性が強いという胃内容物分析の結果と矛盾しなかった。利根川と江戸川ではそれぞれ異なった食性を本種が持っており、それぞれの河川の行き来が起きている可能性が低いことが示唆された。一方、利根川淡水域と江戸川の個体は似通った広い $\delta^{13}\text{C}$ を示した (fig. 2)。海水の影響が強い生態系における $\delta^{13}\text{C}$ は -24‰より高い値を示すことが知られており、どちらの河川においても本種が少なくとも 30-40 km を超える移動を行って様々な河口域を含む幅広い水域で採餌していることを示した。河口堰の個体の $\delta^{13}\text{C}$ の値が他の地点よりも狭いレンジに収まっていた点については、サンプル数を増やして更なる検討が必要であると考えられた。

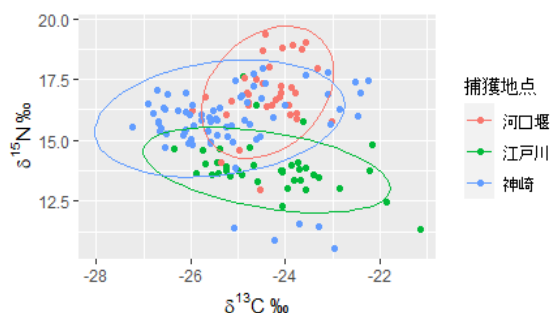


Fig.2 The carbon and nitrogen stable isotope ratio in the muscle of channel catfish from 3 areas.

本研究では、初めて、本種の水晶体を用いた食性および生活史解析を行った。本種の水晶体のサイズは標準体長と強い

相関があり、加齢とともに水晶体が一様に大きくなり、剥離される総数も増加する傾向があったことから解析に適していることが確認された。水晶体の前処理方法の検討を行った結果、乾熱滅菌機を用いた乾燥方法は、試料表面に割れが見られるものの剥離が比較的容易で最も得られた層数が多かった。特に、解凍・凍結の繰り返しの前処理を行った試料の層数は、より多くの層が得られ、剥離面の状態も良かった。凍結・解凍の前処理を行った上で乾熱滅菌機を用いた温風乾燥をする方法が、水晶体の層状剥離方法として最適であると考えられた。水晶体の層状剥離試料の炭素・窒素安定同位体比分析の結果、 $\delta^{15}\text{N}$ および $\delta^{13}\text{C}$ の値は個体ごとに差はあるものの平均的には、層ごとの大きな変動は認められなかった (fig. 3)。 $\delta^{13}\text{C}$ の変動係数は、層によって大きな差がみられた。 $\delta^{13}\text{C}$ は、稚魚期の生活史を反映している水晶体のコア周辺の層では、個体によって値が大きく異なり、変動係数が最も大きかったが、最も直近の生活史を反映する最外層では、-25.5‰~-26.5‰付近に収束した。これは、本種の産卵場所や生育場所が、汽水から淡水域に至る広い範囲に起源を持つ個体が成長に伴い、移動をして現在の生息場所に集まるてきている可能性を示した。本種の産卵場所や生育場所はこれまでほとんど分かっておらず、本研究は、本種的生活史解明のための新たな重要情報となると考えられた。

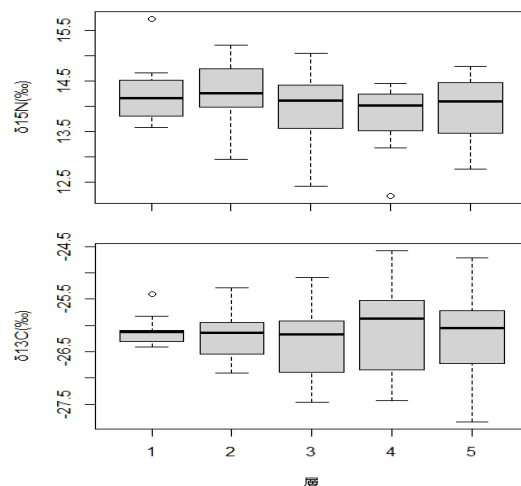


Fig.3 Carbon and Nitrogen stable isotope ratio in the in each lens layer of channel catfish.

4. まとめと今後の展望

本研究は、チャネルキャットフィッシュがこれまでの想定以上に広く関東全域に広がっているとともに、利根川や江戸川のような大河では成長に伴って、様々な環境を利用し、淡水域と海域の生態系をつなぐ重要な役割を持つことを示唆した。一連の研究は、eDNA および筋肉、水晶体の安定同位体比分析が本種の分布、餌、利用海域の成長に伴う変化を明らかにする上で有用な手法であることを示した。今後、さらに調査地点を増やし、調査の時空間精度を上げることで、その分布の時間的な変化や個体毎の由来産卵場所、餌や水域利用履歴を詳細に明らかにできるものと期待される。

参考文献

- (1) 片野 修 (2012) アメリカマナズの分布、生態、被害の現状、外来魚抑制管理技術開発事業報告書、水産庁 pp128-131
- (2) 伊藤 翔太郎 (2020) 東洋大学大学院 修士論文

褐虫藻のルビスコ活性によるサンゴの白化状態の評価

Evaluation of coral bleaching state by using Rubisco activity of zooxanthellae

藤村 弘行, 琉球大・理学部海洋自然, E-mail: fujimura(at)u-ryukyu.ac.jp
宮島 利宏, 東大・大気海洋研, E-mail: miyajima(at)aori.u-tokyo.ac.jp
Hiroyuki Fujimura, Chemistry, Biology and Marine Sciences, University of the Ryukyus
Toshihiro Miyajima, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

A method for measuring Rubisco activity in zooxanthellae isolated from reef-building corals (*Galaxea fascicularis*) was investigated. The optimal method for measuring Rubisco activity in zooxanthellae was determined. Using this method, chemiluminescence was measured linearly with a concentration in a crude extract of Rubisco from spinach (1 U/48 mg, Sigma-Aldrich). The Rubisco activity of zooxanthellae isolated from coral was 6.0×10^{-11} U/cell, 11.5×10^{-3} U/mg (specific activity), and 0.93 U/mg, respectively, normalized by the number of zooxanthellae, amount of protein, and amount of chlorophyll. The amount of Rubisco activity obtained by the present method was relatively close to the value obtained using the ^{14}C radioassay method (Streamers et al. 1992).

1. はじめに

サンゴ礁は、地球温暖化にともなう気候変動により衰退の危機に直面している。異常な高水温と強い光によって引き起こされるサンゴの白化現象もその一つである。白化が長期間続くと栄養状態が悪化してサンゴは死滅する。白化は褐虫藻が極度に光阻害を受けた状態であると考えられているが詳しいメカニズムはよく分かっていない。光阻害は強い光により光合成の電子伝達系に過剰な電子が流れることによって活性酸素種が生成し、光合成を担うタンパク質が損傷することで生じる。Wooldridge(2014)は強光によりカルビン回路で使われる CO_2 が不足することで、酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(NADP^+)とアデノシン二リン酸(ADP)の供給が不足し、結果として電子伝達系で行き場を失った過剰の電子から活性酸素種が生成し、白化が生じているとするモデルを提案した(CO_2 制限モデル)。しかし、海水中には CO_2 のもととなる多量の炭酸水素イオンが存在していることや、カルビン回路で CO_2 を固定する酵素ルビスコ(Rubisco)は 30°C 以上の高水温になると機能しなくなること (Lilley et al. 2010) から、白化の初期段階を CO_2 不足にのみ起因することはできない。また、餌を与えたサンゴは高水温下で白化せず、光合成活性や一次生産速度は低下しないという報告(e.g. Ferrier-Pagès et al. 2010, Tagliafico et al. 2017)もあり、サンゴの栄養状態が光合成の電子伝達やルビスコの活性化に何らかの効果をおよぼしている可能性がある。したがって本研究では、餌の摂食によってサンゴに蓄えられた栄養の一部が共生藻に利用され、高水温下で活性を失ったルビスコの修復や再合成に使われることで、白化の阻止につながっているのではないかとすることを検証する。

2. 方法

ルビスコ活性は、 $^{14}\text{CO}_2$ の取り込みで 3-ホスホグリセリン酸 (3-PGA) の生成を測定する放射性アッセイが知られている (Lorimer et al. 1977; Parry et al. 1997)。しかし、 ^{14}C は放射性核種であるため、より簡便な方法として分光光度法が一般的に使用されている (Lilley and Walker 1974)。この活性測定は、反応生成物である PGA の増加量を、3-ホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK) およびグリセリンアルデヒドリン酸脱水素酵素 (GAP-DH) とのカップリング反応による還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH) の減少量として、340 nm の吸光度変化により測定する。しかし、この方法は同じ波長に吸収を持つ多くの生体内物質も検出する。また、 NADH の使

用可能な最高濃度は 0.16 mM までであり、高濃度では吸光度が直線性を示さなくなる (Kornberg and Horecker 1953)。したがって、本研究ではこれらの影響を考慮しなくても済む方法として、 Mn^{2+} を分光学的プローブとして用いる化学発光法 (Lilley et al. 2010) を用いた。ただし、Lilley et al. (2010) の方法は培養褐虫藻を使った方法であり、生きた造礁サンゴから直接分離した褐虫藻の測定方法ではない。そのため、まず、造礁サンゴ(アザミサンゴ)から分離した褐虫藻においてルビスコ活性を測定する方法の検討を行った。

その後、造礁サンゴ(クシハダミドリイシ)を沖縄県本部町瀬底島の南側海域から採取し、琉球大学の瀬底研究施設へ輸送し、実験水槽の環境に順化させた。これにアルテミアやワムシ等の餌を添加し、3 週間毎日摂食させた。その後、海水温を通常水温の 27°C から $30\text{--}31^\circ\text{C}$ の高水温にして培養し、餌を添加していない実験区のサンゴが白化しはじめるまで培養を続けた。サンゴの生体部分を骨格から剥がしてサンゴ組織と褐虫藻に分離した。また、餌の取り込みを確認するために一部の試料は安定同位体測定用に東京大学大気海洋研究所に輸送した。

3. 結果と考察

(1) 骨格からの剥離液について

サンゴ骨格から生体試料を剥離する際の溶液として、リン酸緩衝液、ろ過海水、35% NaCl 、反応液を剥離に用いた結果、35% NaCl または反応液で明瞭な化学発光を示した。反応液は MnCl_2 を含む溶液であり、通常は試料にこの溶液と基質のリブ्रोスビスリン酸(RuBP)を添加して反応させる。

(2) ホモジナイズ方法の検討

剥離後に分離した褐虫藻はホモジナイズし、細胞壁を破壊してから測定を行う。Milli-Q 添加による浸透圧での破壊、超音波ホモジナイズ 20 秒、手動でのホモジナイズ 10 分を行い、それぞれ検鏡による破砕度合と Rubisco の化学発光を調べた。いずれの方法でも化学発光に違いはなかった。

(3) 超音波ホモジナイズの処理時間の検討

超音波処理を 10 秒行う毎に検鏡と活性測定を行った。細胞が完全に破砕されるまで 50 秒であったが、化学発光に大きな違いはなかった。

(4) 基質と反応液の塩分の影響

基質と反応液を 35% NaCl で調製し、これらと試料を反応させると化学発光を測定することができた。

また、これ以外に(5)活性化剤の濃度、(6)試料の濃縮方法、(7)サンゴの培養条件による影響等を検討し、最終的に褐虫藻の Rubisco 活性測定方法の最適化を行った。このようにして決定した測定法を用いて、ほうれん草の Rubisco 粗抽出物(1 U/48 mg, Sigma-Ardrich)を測定した結果では濃度に応じた化学発光が計測された(Fig.1)。アザミサンゴから分離した褐虫藻の Rubisco 活性量は、褐虫藻数、タンパク質量、クロロフィル量を用いて規格化した活性量はそれぞれ 6.0×10^{-11} U/cell、 11.5×10^{-3} U/mg (比活性)、0.93 U/mg であった。また、 ^{14}C 法を用いて Rubisco 活性の測定を行った Streamer *et al.* (1992)の褐虫藻当たりの活性量は $3.0 \pm 0.5 \times 10^{-11}$ U/cell、比活性は $4.3 \pm 2.2 \times 10^{-3}$ U/mg であり、今回の方法で得られた活性量と比較的近い値であった。今後、餌を添加したクシハダミドリイシの試料を用いて、Rubisco 活性と同位体の測定を行う予定である。

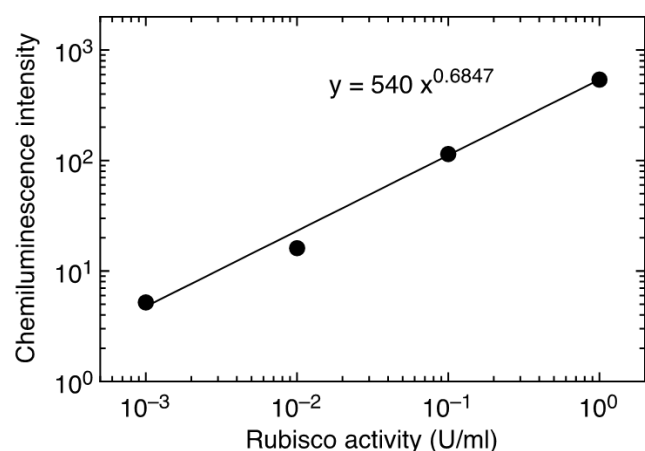


Fig. 1 Chemiluminescence intensity with different Rubisco activities.

4. まとめと今後の展望

化学発光法による Rubisco 活性測定法を検討し、最適化した。アザミサンゴから分離した褐虫藻の活性量は、従来の ^{14}C 法を用いて測定された Rubisco 活性量と比較して非常に近い値を示した。今後、餌を添加したクシハダミドリイシの試料を用いて、Rubisco 活性と安定同位体の測定を行う予定である。Rubisco は活性化するために活性部位に位置するリジンのアミノ基に CO_2 分子を付加し、カルバミル化する必要がある (Lorimer *et al.* 1976; Cleland *et al.* 1998)。Rubisco activase は Rubisco の阻害剤である糖リン酸塩の活性部位への結合や低 CO_2 濃度による不活性化から Rubisco を活性型に促進する酵素である (Salvucci and Ogren 1996)。今回の研究では最適化した方法でも化学発光が不安定な場合があったため、Rubisco activase の検討を行なうことでより再現性のある測定を可能にできると思われる。

参考文献

- (1) Cleland W.W., Andrews T.J., Gutteridge S., Hartman F.C. and Lorimer G.H. (1998) Mechanism of Rubisco: the carbamate as general base. *Chem Rev* 98, 549-561.
- (2) Ferrier-Pages C., Rottier C., Beraud E. and Levy O. (2010) Experimental assessment of the feeding effort of three scleractinian coral species during a thermal stress: Effect on the rates of photosynthesis. *J. Exp. Mar. Biol. Eco.* 390: 118-124.
- (3) Kornberg A. and Horecker B.L. (1953) *Biochemical Preparation* 3, p. 23.
- (4) Lilley R.M., Ralph P.J. and Larkum A.W.D. (2010) The determination of activity of the enzyme Rubisco in cell extracts of the dinoflagellate alga *Symbiodinium* sp. by manganese chemiluminescence and its response to short-term thermal stress of the alga. *Plant, Cell and Environment* 33, 995-1004.
- (5) Lilley R.M., Walker D.A. (1974) An improved spectrophotometric assay for ribulosebiphosphate carboxylase. *Biochimica et Biophysica Acta* 358, 226-229.
- (6) Lilley R.M., Wang X.-Q., Krausz E. & Andrews T.J. (2003) Complete spectra of the far-red chemiluminescence of the oxygenase reaction of Mn^{2+} -activated Rubisco establish excited Mn^{2+} as the source. *Journal of Biological Chemistry* 278, 16488-16493.
- (7) Lorimer G.H., Badger M.R. and Andrews T.J. (1976) The activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by carbon dioxide and magnesium ions. Equilibria, kinetics, a suggested mechanism, and physiological implications. *Biochemistry* 15, 529-536.
- (8) Parry M.A.J., Andralojc P.J., Parmar S., Keys A.J., Habash D., Paul M.J., Alred R., Quick W.P., Servaites J.C. (1997) Regulation of Rubisco by inhibitors in the light. *Plant, Cell & Environment* 20, 528-534.
- (9) Salvucci M.E. and Ogren W.L. (1996) The mechanism of Rubisco activase: insights from studies of the properties and structure of the enzyme. *Photosynth Res* 47, 1-11
- (10) Streamer M., McNeil Y.R. and Yellowlees D. (1992) Photosynthetic carbon dioxide fixation in zooxanthellae. *Marine Biology* 115, 195-198.
- (11) Tagliafico A., Rudd D., Rangel M.S., Kelaher B.P., Christidis L., Cowden K., Scheffers S.R., Benkendorff K. (2017) Lipid-enriched diets reduce the impacts of thermal stress in corals. *Marine Ecology Progress Series* 573:129-141.
- (12) Wooldridge S.A. (2014) Differential thermal bleaching susceptibilities amongst coral taxa: reposing the role of the host. *Coral Reefs* 33, 15-27.

共生関係の実験的再構築による細菌—サンゴ間相互作用の解明

Elucidation of the mechanism of interaction between coral and its associated bacteria by reconstruction of coral holobiont

三浦 夏子, 大阪公立大・大学院農学研究科, E-mail: miuran@omu.ac.jp

中島 怜, 大阪公立大・大学院農学研究科, E-mail: scc02047@edu.osakafu-u.ac.jp

遠藤 英奈, 大阪公立大・大学院農学研究科, E-mail: scc02009@edu.osakafu-u.ac.jp

高木 俊幸, 東大・大気海洋研, E-mail: takagi@aori.u-tokyo.ac.jp

Natsuko Miura, Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University

Rei Nakashima, Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University

Funa Endo, Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University

Toshiyuki Takagi, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Coral, a cnidarian, coexists with zooxanthellae and bacteria to form "coral holobiont" that behave like a single organism. In recent years, various coral protection functions have been reported in a wide variety of coral-associated bacteria that compose coral holobiont. By clarifying the coral protection function of specific bacteria, it is expected that new knowledge of the homeostasis maintenance mechanism in coral reef ecosystems will be obtained. The purpose of this study is to verify the bacterial-coral interaction relationship in coral holobiont by experimentally reconstructing the interaction between coral and bacteria that contribute to coral protection, including *Ruegeria* species. In previous studies, we examined the selection of coral-associated bacteria and the pre-stage of conditions for colonization of coral-associated bacteria in corals. In the future, we plan to verify the protective effect of carotenoid-producing bacteria on zooxanthellae from light and heat stress, and to examine the conditions for colonizing *Ruegeria* species on coral holobiont.

1. はじめに

刺胞動物であるサンゴは、褐虫藻と共生して光合成産物を提供させているが、体表・体内に細菌などの様々な微生物を共生させており、まるで一つの生物のように振る舞う様々な生命体は、まとめて「ホロビオン」と言い表される。近年、サンゴホロビオンを構成する多種多様なサンゴ共生細菌で、様々なサンゴ保護機能が報告されつつある。我々は2017年から独自に、サンゴの細菌性白化などの様々な病気を引き起こす日和見感染菌である *Vibrio coralliilyticus* に対して抗菌活性をもつ *Ruegeria* 属細菌をアザミサンゴ *Galaxea fascicularis* から単離し (Miura et al., 2019)、抗菌物質の精製を試みてきた (三浦他, 2019年9月マリンバイオテクノロジー国際会議における口頭発表)。サンゴの白化を抑制する細菌についてみると、サンゴを用いた実証実験では多様な菌のミックスが用いられており、有用な菌株の特定に至っていないのが現状である。*Ruegeria* 属細菌をはじめとした、特定の共生細菌によるサンゴ保護機能が明らかになれば、サンゴ礁生態系における恒常性維持機構の新たな知見が得られると期待できる。そこで本研究では *Ruegeria* 属細菌をはじめとしたサンゴ保護に寄与する細菌とサンゴの相互作用を実験的に再構築することにより、サンゴホロビオンにおける細菌—サンゴ相互作用関係を検証することを目的とする。

2. 問題設定・方法

本研究は申請者らがこれまで取得・機能解析してきたサンゴ共生細菌を、サンゴとの共生関係再構築に用いる初めての試みである。本計画では申請者らが単離した *Ruegeria* 属細菌を主として用いる。加えて、これまでに構築したサンゴ共生細菌ライブラリの中から、サンゴ保護に有用な機能を持つ細菌を選抜し、共生関係再構築に供することで、サンゴ共生細菌が担う多様なサンゴ保護機能を明らかにすることを目指す。

3. 結果と考察

令和3年4月～12月にかけて、*Ruegeria* 属細菌を用いたサンゴとの共生関係再構築条件を検証するとともに、新たなサンゴ共生細菌を取得し、その機能について調べてきた。これまでの結果と考察について以下に記す。

① サンゴ共生細菌の選抜および機能評価 (令和3年4月～12月にかけて実施)

サンゴに細胞内共生する褐虫藻に共生することで強光・高温ストレス化での保護作用を示すことが判明したカロテノイド生産菌 (Motone et al., 2020, *Muricauda* 属細菌) に焦点を絞って実施した。アザミサンゴおよび海水から取得した *Muricauda* 属細菌2株 (Kitamura et al., 2021) について全ゲノム解析を行い (Table 1)、それぞれについてカロテノイド生合成遺伝子群を推定した (未発表, Fig. 1)。

Table 1 Summary of the draft genome assemblies of two isolates *Muricauda* spp., ORYM1 and ORYM2.

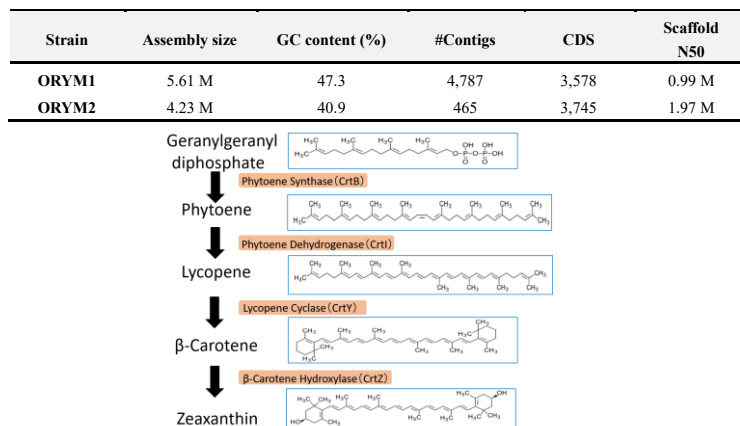


Fig. 1 Predicted zeaxanthin biosynthetic pathway of the *Muricauda* spp.

また、菌体からのカロテノイド抽出法について最適な条件を決定し、HPLCによる分析手法を検討した(Fig. 2)。

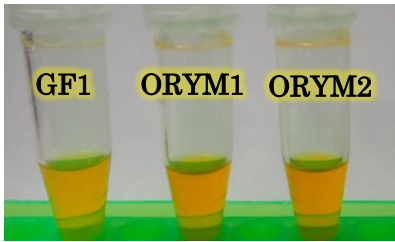


Fig. 2 Carotenoid extracts of three *Muricauda* spp.

また、アザミサンゴおよびサンゴ礁海域の海水から取得した細菌を分類し、*Vibrio* 属細菌に対して *in vitro* で生育阻止活性をもつ細菌を探索したところ、*Ruegeria* 属細菌に加えて他の新規な細菌群を取得することに成功した (Table 2)。

Table 2 Summary of coral-associated bacteria isolated in this study.

Annotated species	Total No. isolated	No. of isolates showing antibiotic activity against <i>Vibrio</i> sp.
<i>Vibrio</i> sp.	11	0
<i>Ruegeria</i> sp.	29	11
<i>Herbaspirillum</i> sp.	2	1
<i>Shimia</i> sp.	1	1
Others	17	0

② *Ruegeria* 属細菌—アザミサンゴ間共生関係の実験的再構築条件の検証 (令和3年11月～12月にかけて実施)

In vitro 試験系において、サンゴ病原菌とされる *Vibrio* 属細菌の生育阻止活性をもつ *Ruegeria* 属細菌をアザミサンゴ由来のサンゴ共生細菌ライブラリから選抜し、NBRC への寄託手続きを行った (未発表)。本菌をサンゴに定着させ、病原菌からの保護効果を調べるための前段階として、アザミサンゴを抗生物質処理により人為的に滅菌化する手法について検討した(Fig. 3)。



Fig. 3 Antibiotic (Abx) treatment of coral using aerated plastic bag.

抗生物質 (Abx) で1週間処理した後、*Ruegeria* 属細菌を感

染させたサンゴをそれぞれ Abx 処理前、処理後3日、処理後1週間、*Ruegeria* 属細菌感染後にサンプリングし、DNA を抽出してバクテリアの 16S rRNA 遺伝子特異的なプライマーで増幅したところ、Figure 4 のような結果が得られた。Abx 処理前、処理後1週間、*Ruegeria* 属細菌感染後のサンプルで特異的な増幅が確認できた一方で、Abx 処理後3日のサンプルでは増幅が確認できなかったことから、Abx 処理後のサンゴ共生細菌叢が経時的に変化する可能性が考えられた。

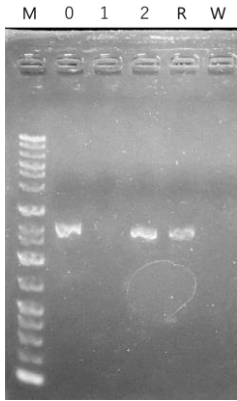


Fig. 4 Detection of bacterial 16S rRNA gene after treatment. M: Marker, 0: Before Abx treatment, 1: 3 days after Abx treatment, 2: 1 week after Abx treatment, R: *Ruegeria*-treated after 1 week Abx treatment, W: water.

4. まとめと今後の展望

上記のように、令和3年度はサンゴ共生細菌の選抜と、サンゴ共生細菌をサンゴに定着させる条件の前段階について検討を行った。今後はカロテノイド生産菌について抗酸化活性の比較を行うとともに、同カロテノイド生産菌における褐虫藻の光・熱ストレスからの保護効果について検証を進める。また、アザミサンゴを用いた実験では共生微生物を最低限に抑えることが出来る条件を決定し、当該個体に対して *Ruegeria* 属細菌を添加することで、サンゴに定着させる条件を検討する予定である。

参考文献

(1) Miura N, Motone K, Takagi T, Aburaya S, Watanabe S, Aoki W, Ueda M. 2019 *Ruegeria* sp. Strains Isolated from the Reef-Building Coral *Galaxea fascicularis* Inhibit Growth of the Temperature-Dependent Pathogen *Vibrio coralliilyticus*. *Marine Biotechnology*, 21:1-8.

(2) Motone K, Takagi T, Aburaya S, Miura N, Aoki W, Ueda M. 2020 A zeaxanthin-producing bacterium isolated from the algal phycosphere protects coral endosymbionts from environmental stress. *mBio*, 11:e01019-19.

(3) Kitamura R, Miura N, Ito M, Takagi T, Yamashiro H, Nishikawa Y, Nishimura Y, Kobayashi K, Kataoka M. 2021 Specific detection of coral-associated *Ruegeria*, a potential probiotic bacterium, in corals and subtropical seawater. *Marine Biotechnology*, 23(4):576-589.

イカ類の求愛行動の進化

Evolution of courtship behavior in squid

佐藤 成祥, 東海大・海洋学部, E-mail: norico3000@tsc.u-tokai.ac.jp

岩田 容子, 東大・大気海洋研, E-mail: iwayou@aori.u-tokyo.ac.jp

Wen-Sung Chung, Brain Institute, Queensland University

中山 新, 東大・大気海洋研

Abstract

In cephalopods is known to show complex intra-specific communication using instantly change their body colour, and males of some species show highly elaborated courtship behaviour to mate, while others do not conduct any courtship at all. To know the ecological background that creates these differences, we compared the courtship behaviour of some cephalopod species. We discovered for the first time that Andrea cuttlefish *Doratosepion andreana* uses ink, which is a typical anti-predatory trait, for courtship to make the background dark and enhance the contrast with their pale body colour during courtship display. On the other hand, the Japanese pygmy squid *Idiosepius paradoxus* is known not to engage in courtship behaviour, but to force copulation. In this study, we investigated the reproductive behavior of *Idiosepius* sp. inhabiting coast of Okinawa prefecture, and found that they do not engage in forced copulation. In addition, males had lower gonadal investment than that of *I. paradoxus*, indicating that the level of promiscuity is lower than *I. paradoxus* in Honshu.

1. はじめに

繁殖行動の初期段階において、雄は雌と交尾をするために、ダンスや歌等の求愛行動を行う。雌は求愛行動を基準に雄を査定し、好みの雄を受け入れる事でペアが成立する (Andersson 1994)。イカやタコ等の頭足類、特にコウイカやヤリイカ等の沿岸性種では、体表面の色素胞による瞬時的な体色変化を使った求愛行動が知られている (Hanlon and Messenger 2018)。近年、沿岸性コウイカの一種であるエゾハリイカ *Doratosepion andreana* では、体色変化や特徴的な動きによる求愛行動が観察され、さらに稀有な特徴として求愛に墨を使うという興味深い報告がされた。これは、墨の黒が白色に変化させた体色とのコントラストを高めることにより、雌へのアピール力が増す効果が考えられる。このように求愛行動が極端にエスカレートする種もいれば、一方でまったく求愛行動を行わない種も存在する。ヒメイカ *Idiosepius pygmaeus* の雄は、一切の求愛行動を行わず、一方的に交配を行う。しかし、雌は交配の後に渡された精子塊を取り外すという、交配後の配偶者選択を行う (Sato et al, 2017)。また、近年行った我々の予備調査では、オーストラリアに生息するヒメイカ近縁種 *I. hallami* は、日本のヒメイカと異なり、交配前の雌雄の相互作用により雄が交配行動を使い分け、雌は雄の行動に応じて精子塊排除行動を行うことが確認された。このように一概に求愛行動といっても、種によってその形式や重要性は様々であり、比較研究でその差を生み出す生態的背景をバックグラウンドを検討するのが容易であると考えられる。

2. 問題設定・方法

本研究では、1) 非常に顕著な求愛行動を行うエゾハリイカを使って、どのような信号が求愛に用いられているのかを調べ、墨吐きによる求愛信号の強化について検証すると共に、2) 交配前の求愛行動が消失しつつあるも、種間でその程度に差がみられるヒメイカ属 2 種の繁殖行動の種間比較によってその進化的背景を考察することで、最終的には、性選択を通じた多様性創出・維持機構に迫る事を目的とする。

実験 1) に関しては、エゾハリイカの繁殖期に相当する 1 月から 5 月にかけて、本種が比較的容易に採集できる青森県、浅虫水族館を拠点に実施する。定置網で採集された個体を水槽に輸送し、繁殖行動の観察を行い、雄の形態的・行動的形

質と雌による交接受入成功との関係を調べる事で、どのような視覚情報を重要な信号としているのかを解明する。頭足類は色盲であることが知られているが、本研究では明暗だけでなく、近年海洋生物が視覚情報として利用している事が確認されている“偏光”に注目し、偏光を測定するカメラを用い、雌雄の体表面の偏光を測定し、各部位における偏光特性も含んだ性差を検証する。また雄の様々な行動フェーズ間で体部位の偏光特性を測定することにより、雄が意図的に偏光反射を利用しているかを検証する。また、墨の量・濃度を実験的に操作することで、墨が雄の体色コントラストや偏光強度を通じ求愛の効果を増強する作用があるかを検証する。

実験 2) に関しては、当初、日本のヒメイカとオーストラリアに生息する *I. hallami* の比較を行う予定だったが、新型コロナウイルスの影響により、国外での研究を行うことが不可能となった。そこで代替案として、近年、形態学的、遺伝学的にも種レベルで従来のヒメイカと異なることが示唆されている沖縄の未記載種（以降、オキナワヒメイカとする）を比較対象として研究に用いることにした。本研究では、未だ全く知見のないオキナワヒメイカの繁殖生態の基礎情報を取得するために、交配行動の観察や、生殖腺の重量や保有精莖数などの基本的な繁殖形質について記録した。これをヒメイカと比較することで、両者の繁殖戦略の違いを理解する。

3. 結果と考察

実験 1)

エゾハリイカは、顕著な性的二型が見られる第二腕と 2 種類の質の異なる墨を求愛行動に使用することが明らかとなった。雄は第二腕を用いて着底した雌の頭部や外套を撫でる求愛行動を行った。その際、粘度が高く塊で漂う小さな墨塊を複数回吐く行動が見られた。墨は一般に捕食回避に用いられ、同種内では防御・逃避行動を誘発するアラートとして機能することが知られていることから、この墨塊は本種の第一防御行動である着底行動を雌にとらせ、求愛を続けるために有効であると考えられた。また、求愛行動のクライマックスである体色を白くするディスプレイの際に、雄は粘度が低く拡散しやすい墨を自身の後ろや下側の広範囲に吐いた。海水にイカ墨を溶かした懸濁液を作成し、それを透過した光の強度を測定したところ、墨は顕著に明度を低下させることが明らか

となった (Fig. 1)。これらの結果から、ディスプレイ時の墨吐きは、背景を暗くすることにより、雄の白い体色とのコントラストを高める効果があることが示された。

次に、偏光カメラを用いて求愛行動中の雄の体表面を観察した結果、雄の第二腕に顕著な偏光が観察された。求愛を行っていない通常時、求愛で雌の頭部や背中を撫でる行動の時、求愛ディスプレイ時の間で第二腕の偏光強度を比較したところ、ディスプレイ時にのみ強い偏光を示すことが明らかとなった。以上の結果より、エゾハリイカでは雄の体表面による偏光反射が、能動的な視覚シグナルとして求愛に用いられていることが明らかとなった。

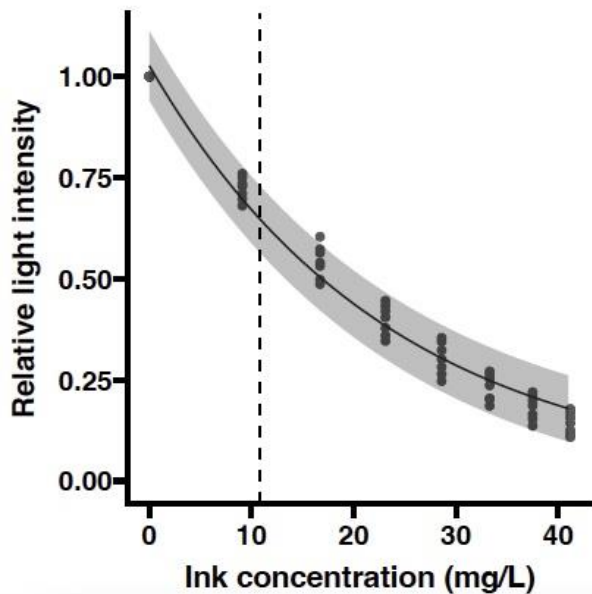


Fig. 1 エゾハリイカの墨濃度と透過光強度の関係。点線は平均墨保有量の 1/50 を吐くと仮定した場合の濃度を示す。

実験 2)

オキナワヒメイカの交接行動は、雄が離れた位置から腕を伸ばして雌に精莖を受けわたすことによってなされた (Fig.2)。この行動は、雄が雌に組み付いて強制的に精莖を受け渡すヒメイカとは異なり、*I. hallami* と同様であった。さらに精莖から排出された精子塊は、多くの沿岸性イカ類同様、ヒメイカでは体表に粘着物質によって付着することがわかっているが、オキナワヒメイカでは、この精子塊を一時的に貯蔵するポケット (以降、精子塊ポケット) が口の周辺に存在することを発見した。この特徴も *I. hallami* で確認されている。以上のことからオキナワヒメイカの繁殖生態は *I. hallami* と類似していることが明らかとなった。その一方で、精子塊の付着に関しては明確に異なる点も存在し、*I. hallami* では、精子塊の付着場所が雌の腕表面と精子塊ポケットの 2 か所であったのに対し、オキナワヒメイカでは腕表面には精莖を受け渡すことなく、精子塊ポケットにのみ受け渡していた。

繁殖形質についても、雌雄ともにオキナワヒメイカはヒメイカと大きく異なっていた。雄において、オキナワヒメイカはヒメイカと比べ、生殖腺重量指数 (GSI) が小さく、保有精莖数も少なかったが、精莖一本当たりの長さは長かった。雌において、ヒメイカの GSI はオキナワヒメイカよりも高かったが、オキナワヒメイカの方は外套長とともに著しく増加していた。一般に、ライバルとの精子競争が強い乱婚型の配偶

システムでは GSI が高くなることから、ヒメイカは乱婚の傾向があり、雄の生殖腺への投資量が多く、一方のオキナワヒメイカでは、乱婚傾向が弱く、雄は生殖腺への投資を弱める代わりに、一個体の雌に受精配分を高めていることが考えられた。



Fig. 2 オキナワヒメイカの交接の様子。上にいるのが雄。

4. まとめと今後の展望

本研究では、頭足類の代表的防御形質である墨が求愛行動に用いられることを示した初めての報告である。このような墨の多様な転用は、墨の持つ可変性と頭足類の高い認知能力により可能となっていると考えられた。

これまで、偏光が同種認識に用いられる例は知られているが、種内コミュニケーションにおける能動的なシグナルとして用いられることを初めて示した。しかし、共同研究者 (Chung 博士) と行う予定であった雌の偏光識別能力を測定する実験が、渡航制限により行うことができず、本研究では雄の示す偏光シグナルの変化がどのくらい効果的なのかを実験的に明らかにすることはできなかった。今後、偏光シグナルの意義を明らかにする上では、雌のシグナル受容および求愛受け入れの応答を測定する必要がある。

本来予定していた *I. hallami* では実験ができなかったが、急遽対象として実験したオキナワヒメイカは、ヒメイカとは異なり、*I. hallami* に似た交接様式を行うことが明らかとなった。さらに、生殖腺への投資量の比較から、オキナワヒメイカはヒメイカよりも雄間競争が緩い環境にさらされていることが示唆された。今後はその背景にある要因について探るとともに、世界各国に存在するヒメイカ科の交接行動の比較を行うことで、その違いに影響を及ぼす要因の特定に努める予定である。

参考文献

- (1) Andersson, M 1994: "Sexual selection", Princeton University Press.
- (2) Hanlon, R. T., and Messenger, J. B., 2018: "Cephalopod Behavior", Cambridge University Press.
- (3) Sato, N., Yoshida, M., and T. Kasugai, 2017: Impact of cryptic female choice on insemination success: larger sized and longer copulating male squid ejaculate more, but females influence insemination success by removing spermatangia, *Evolution*, 71, 111-120.