

学際連携研究報告書

令和 5 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年度からは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、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している。

(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5年度の実績は、特定共同研究の実施数が8件（同応募数8件、採択数8件）、一般共同研究の実施数が11件（同応募数11件、採択数11件）であった。

本冊子は、令和5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も有効にご活用いただけると幸いである。

東京大学大気海洋研究所
共同研究運営委員会
学際連携研究部会

令和5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	潮 雅之	香港科技大学	助理教授	海洋環境DNAを用いた分類群横断的な生物分布様式の解明と決定要因の評価	吉澤 晋
2	和川 拓	水産研究・教育機構 水産資源研究所	主任研究員	対馬暖流域のマルチスケールな海洋物理現象に対する低次生態系の応答2	乙坂 重嘉 川口 悠介 伊藤 幸彦
3	金子 仁	海洋研究開発機構	研究員	伝播性擾乱がもたらす下北北岸沖循環の変調と沖合への水塊波及・混合	伊藤 幸彦
4	石澤 堯史	東北大学災害科学 国際研究所	助教	花粉化石の14C年代測定に基づくタービダイトの高確度編年手法の開発	横山 祐典
5	立神 綸史	鹿児島県立古仁屋 高等学校	教諭	縄文時代前半期における九州南部～奄美諸島の遺物包含層の構造について	横山 祐典
6	上野 大輔	鹿児島大学大学院 理工学研究科	准教授	奄美群島サンゴ礁海域における共生・寄生性甲殻類の種多様性に関する研究	横山 祐典
7	オブラクタス ティーブン	秋田大学大学院国 際資源学研究科	教授	東シナ海沖縄トラフ中部における溶存無機炭素中の放射性炭素と年代モデルの決定	横山 祐典
8	藤田 和彦	琉球大学理学部	教授	海洋の温暖化・酸性化に伴う亜熱帯島棚棲石灰化生物の分布と現存量の変化	横山 祐典

【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	阪倉 良孝	長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科	教授	種苗生産水槽の環境が飼育成績と飼育魚の腸内細菌叢に与える影響	濱崎 恒二
2	福森 啓晶	東北大学大学院生命科学研究科	助教	ゲノムワイドのランダムアンプリコン次世代シーケンスを用いた広域分散種の集団ゲノミクス	入江 貴博
3	綿貫 豊	北海道大学大学院水産科学研究院	教授	漂着ハシボソミズナギドリの胃および小腸のプラズチック組成の研究	津田 敦
4	井上 圭一	東京大学物性研究所	准教授	海洋性細菌 <i>Rubrivirga marina</i> の光駆動 Cl^- ポンプ型ロドプシンの分子論的研究	吉澤 晋
5	増永 英治	茨城大学地球・地域環境共創機構	講師	乱流混合と酸素輸送プロセスに関する渦相関技術の構築: 浅水境界層への応用	川口 悠介 伊藤 幸彦
6	山口 敦子	長崎大学総合生産科学域	教授	エイ類はなぜ胚休眠を行うのか: 生理学と生態学の総合研究からの解明	兵藤 晋
7	嶋川 銀河	関西学院大学生命環境学部	助教	サンゴから学ぶ宿主-共生体間のレドックス共有メカニズム	高木 俊幸
8	福地 里菜	鳴門教育大学	講師	掘削・表層採泥の統合による南海付加体前縁部発達史の解明	山口 飛鳥
9	Gustavo Sanchez	沖縄科学技術大学院大学	Postdoctoral Researcher	頭足類の代替繁殖戦略におけるゲノムサインの特定	岩田 容子
10	川口 茜	国立遺伝学研究所	助教	海から陸へ: 原始的な脊椎動物の生息領域拡大戦略をゲノム制御から理解する	高木 互
11	鶴 哲郎	東京海洋大学	教授	サブボトムプロファイラーデータを用いた海底湧出流体の検出	朴 進午

目次

学際連携研究報告書

【特定共同研究】

1. 海洋環境 DNA を用いた分類群横断的な生物分布様式の解明と決定要因の評価
2. 対馬暖流域のマルチスケールな海洋物理現象に対する低次生態系の応答 2
3. 伝播性擾乱がもたらす下北北岸沖循環の変調と沖合への水塊波及・混合
4. 花粉化石の 14C 年代測定に基づくタービダイトの高確度編年手法の開発
5. 縄文時代前半期における九州南部～奄美諸島の遺物包含層の構造について
6. 奄美群島サンゴ礁海域における共生・寄生性甲殻類の種多様性に関する研究
7. 東シナ海沖縄トラフ中部における溶存無機炭素中の放射性炭素と年代モデルの決定
8. 海洋の温暖化・酸性化に伴う亜熱帯島棚棲石灰化生物の分布と現存量の変化

【一般共同研究】

1. 種苗生産水槽の環境が飼育成績と飼育魚の腸内細菌叢に与える影響
2. ゲノムワイドのランダムアンプリコン次世代シーケンスを用いた広域分散種の集団ゲノミクス
3. 漂着ハシボソミズナギドリの胃および小腸のプラスチック組成の研究
4. 海洋性細菌 *Rubrivirga marina* の光駆動 Cl⁻-ポンプ型ロドプシンの分子論的研究
5. 乱流混合と酸素輸送プロセスに関する渦相関技術の構築：浅水境界層への応用
6. エイ類はなぜ胚休眠を行うのか：生理学と生態学の総合研究からの解明
7. サンゴから学ぶ宿主-共生体間のレドックス共有メカニズム
8. 掘削・表層採泥の統合による南海付加体前縁部発達史の解明
9. 頭足類の代替繁殖戦略におけるゲノムサインの特定
10. 海から陸へ：原始的な脊椎動物の生息領域拡大戦略をゲノム制御から理解する
11. サブボトムプロファイラーデータを用いた海底湧出流体の検出

海洋環境 DNA を用いた分類群横断的な生物分布様式の解明と決定要因の評価

Multi-taxonomic species distribution pattern and its determinants revealed by ocean environmental DNA

潮 雅之, 香港科技大, E-mail: ushio(at)ust.hk

吉澤 晋, 東大・大気海洋研, E-mail: yoshizawa(at)aori.u-tokyo.ac.jp

菅井 洋太, 東大・大気海洋研, E-mail: ysugai(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Masayuki USHIO, The Hong Kong University of Science and Technology
Susumu YOSHIZAWA, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Youta SUGAI, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Environmental DNA (eDNA) analysis enables multi-taxonomic and multi-trophic investigations of organisms. To comprehensively investigate the distribution of extremely diverse marine organisms ranging from microorganisms to fishes, metabarcoding analysis was conducted using marine eDNA (ocean DNA). Samples were collected from the surface layer of the subtropical Kuroshio region around Amami-Oshima Island. Throughout all 45 samples, 126 orders of prokaryotes (16S rRNA) and 123 orders of microbial eukaryotes (18S rRNA) were detected. Flavobacteriales and Synechococcales dominated prokaryotic communities, and unclassified Dinophyceae and Syndiniales were dominant among microbial eukaryotes. Cluster and non-metric multidimensional scaling analyses showed that the community structures of prokaryotes and microbial eukaryotes were divided into 8 groups, depending mainly on the effect of the Kuroshio Current and depth. Higher relative abundances of Rhodobacterales (prokaryotes) and Doliolida (microbial eukaryotes) were observed exclusively in the Kuroshio Current.

1. はじめに

生物の分布やその決定要因は生物の生理的（適応温度など）・生態的（捕食など）特性の理解に有益な情報であり、生物多様性は絶滅危惧種の保全や外来種の管理に重要である。これまで、環境中の生物の分布や多様性の調査は、微生物の分離や大型生物の捕獲など、それぞれの生物に最適な手法で行われていた。しかし、近年では、環境（土壌や海水など）から採取される同一の DNA サンプルを用いて生物を網羅的に検出できる環境 DNA 分析が注目されている（e.g. Miya et al. 2015, *Royal Society Open Science*）。環境 DNA 分析は、DNA サンプルの採取が比較的容易であることから広範囲のサンプルに適用可能であり、特定の分類群や栄養段階の生物に限定されることなく、微生物から大型生物まで分類群横断的に生物の分布や多様性を調査できる。

2. 問題設定・方法

海洋には、バクテリアや植物・動物プランクトンなどの小さな微生物から大型の魚類に至るまで極めて多様な生物が生息しており、生物間で複雑な関係（例えば、捕食-被捕食関係、寄生関係）を形成している。このような海洋生物の分布、多様性、種間関係を網羅的に明らかにするためには、ある特定のグループの生物だけではなく、異なる分類群や栄養段階に属する生物を同時に解析する必要がある。

本共同研究では、これまで海洋（主に西部北太平洋）にお

いて広範囲に採取された海洋環境 DNA (Ocean DNA) サンプル（東京大学 大気海洋研究所が所有）のメタバーコーディング解析を実施し、海洋生物の分類群横断的な分布および多様性を

明らかにすることを目的とする。また、それらに影響を与える環境要因を特定することにより、海洋環境が変動した際の海洋生物の分布・多様性の変化の将来予測に貢献する知見を得る。

本共同研究で使用するサンプルは、白鳳丸 KH-22-5 次航海（2022 年 3 月, Fig. 1）において奄美大島周辺黒潮流軸内外の Station NA 1-6（6 地点, NA Line）および Station T 1-6（6 地点, T Line）で採取された海水サンプル（合計 45 サンプル）とした。海水（ 7.19 ± 0.24 L）サンプルは、海洋表層の深度 10-150 m（10, 50, 100, 150 m）からニスキン採水器を用いて採取された後、ペリスタポンプを用いて孔径 $0.22 \mu\text{m}$ のカートリッジフィルター（Sterivex, Merck）に濾過され、RNA later（Thermo Fisher Scientific）を入れて冷凍（ -20°C ）保存された。

海水サンプルから、DNA 抽出キット（DNeasy PowerWater Sterivex Kit, Qiagen）を用いて DNA を抽出した。原核生物（16S rRNA, 515FY-926R）、真核微生物（18S rRNA, E572F-E1009R）、後生生物（COI, mCOLintF-jgHCO2198）、魚類（12S rRNA, MiFishUF-MiFishUR）を対象に、4 種類の異なるプライマーセットを用いて Early-pooling 法（Ushio et al. 2022, *Environmental DNA*）による PCR を行った。NovaSeq（illumina）を用いてシーケンシング（250 bp, paired-end）を実施し、Qiime 2 の dada 2 パイプラインを用いてリードのクオリティコントロールおよび ASV クラスターリングを行い、データベース（Silva, MetaZooGene など）を用いて分類群を可能な限り決定した。

海洋生物全体の群集構造が似ているサンプルをグループ化するため、クラスター解析および多次元尺度構成法（nMDS）解析を行い、各グループの特徴的な分類群を決定した。

3. 結果と考察

現在まで、原核生物（16S rRNA）と真核微生物（18S rRNA）の群集構造解析が終了した。全サンプル（45 サンプル）を通して、原核生物は 126 目（78.9 万リード）、真核微生物は 123 目（142.4 万リード）が検出された。原核生物では Flavobacteriales（ $33.4 \pm 11.6\%$ ）、Synechococcales（ $14.6 \pm 9.7\%$ ）、SAR11 Clade（ α -proteobacteria, $8.1 \pm 5.1\%$ ）（Fig. 2a）、真核微生物では Unclassified Dinophyceae（ $16.7 \pm 6.8\%$ ）、Syndiniales

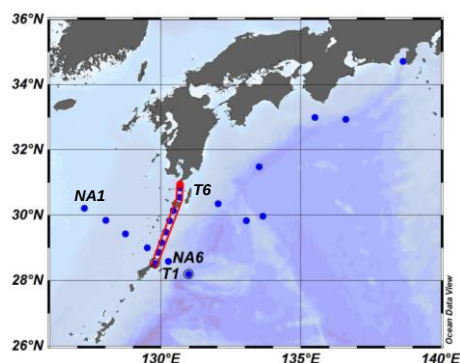


Fig. 1 Sampling sites (NA 1-6, T 1-6)

Fig. 2 Community structure (order level) of prokaryotes (16S, a)

Group

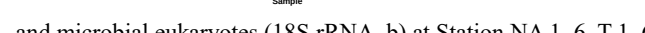
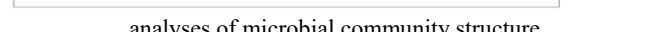


Fig. 3 Cluster (a) and non-metric multidimensional scaling (b)



度 (主に < 50 m, Group A)、深い深度 (> 100 m, Group C)。

各グループに特徴的な分類群 (Table 1) から、黒潮流域外 (Group A-D) と比較して黒潮流域内 (Group E-H) では、原核生物の Rhodobacterales、真核微生物の Spumellaria (放散虫), Doliolida (ウミタル類) が多いことが示された。黒潮域では、Doliolida を含む被嚢類 (Tunicate) が一次生産者と魚類を繋ぐ Tunicate food chain として豊かな魚類生産を支えていることが報告されており (Okazaki et al. 2019, Kuroshio Current)、本研究でも黒潮域における被嚢類の重要性が確認された。

4 今後の展望

今後は、後生生物 (COI) および魚類 (12S rRNA) の群集構

また、以下の2つの解析を実施する予定である。

① 環境要因と生物分布の関係の解析

分類群ごとに分布図を作成し、各分類群の分布に影響を

② 生物分布データのクラスタリング

生物分布の多変数（多地点 × 多分類群）データを次元

[11] M. Miya, Y. Sato, T. Fukunaga, T. Sado, J. Y. Poulsen, K. Sato.

対馬暖流域のマルチスケールな海洋物理現象に対する低次生態系の応答 2

Responses of lower trophic-level ecosystem to multi-scale hydrographic events in the Japan Sea II

和川 拓、水産機構資源研、E-mail: wagawa_taku51@fra.go.jp
井桁庸介、水産機構資源研、E-mail: igeta_yosuke60@fra.go.jp
乙坂重嘉、東大大海研、E-mail: otosaka@g.ecc.u-tokyo.ac.jp
川口悠介、東大大海研、E-mail: ykawaguchi@aori.u-tokyo.ac.jp
伊藤幸彦、東大大海研、E-mail: itohsach@aori.u-tokyo.ac.jp
伊藤進一、東大大海研、E-mail: goito@aori.u-tokyo.ac.jp

Taku Wagawa, Fisheries Resources Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency
Yosuke Igeta, Fisheries Resources Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency
Shigeyoshi Otosaka, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Yusuke Kawaguchi, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Sachihiko Itoh, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Shin-ichi Ito, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

A year-long study involving the collection and analysis of sediment trap samples were made to establish a time-series dataset of sediment particle flux. Two sediment traps were deployed at depths of 443 m and 908 m, collecting samples over 13 periods from June 22, 2022, to May 26, 2023. Sediment particles, defined after removing plankton, were collected and analyzed for flux rates and organic content. Additionally, analysis of sediment components provided insights into seasonal variations and source origins. Results showed significant seasonal fluctuations, with winter dominated by terrestrial silicate particles and spring by biogenic silica and organic particles. Comparisons with previous studies revealed consistent patterns in particle flux but highlighted regional differences in sediment composition. The influence of typhoons on internal waves was also discussed, suggesting potential delayed impacts on ecosystems.

1. はじめに

日本海は独自の深層循環を持ち、地球規模の海洋環境の変化とその影響が表れやすい。IPCC 第四次評価報告書でも「日本海は地球温暖化に対して最も脆弱な海域のひとつ」として継続的な監視の重要性が指摘されている。日本海におけるこれまでの調査によって、全球的な温暖化に伴い、日本海表層水の深層への沈み込み速度が、最近 40 年でそれ以前の 15~40%程度にまで低下していることなど (e.g., Gamo et al., 2014)、温暖化の進行が日本海の海洋システムを劇的に変化させたことを表している。

温暖化や気候変動の影響は生態系にも表れていると考えられる。日本海における多くの表層生息性魚種の資源量が 1990 年代を境に減少傾向にあること (水産庁, 2015) や、一部の深海底生魚類の分布水深が過去 20 年間に变化したこと (Kido et al., 2020; Kojima et al., 2001) などが報告されている。

海洋表層の海水流動経路や、それによって生じる数 10 km スケールでの中規模渦など様々の空間規模の物理現象は数日から数十年の時間規模 (マルチスケール) で変化する。マルチスケールな海洋物理現象は日本海縁辺部から海盆内部への物質フラックスを制御すると考えられるため (例えば, Boyd, 2019)、精緻な物理観測と化学成分のフラックス計測の統合的な観測が求められる。

2. 問題設定・方法

1 年間に渡って時系列に採取した試料を、調査船を用いて回収して分析し、沈降粒子フラックスの時系列データセットを構築した。係留系には、水深 443 m と 908 m の 2 台のセジメントトラップを装備し、沈降粒子を捕集した。各セジメントトラップで、2022 年 6 月 22 日から 2023 年 5 月 26 日までの間に、26 日ずつ 13 期間の試料を採取するよう設定した。捕集容器内には塩分を 38‰に調整した 5%ホルマリンを充填

し、捕集後の試料の分解を防いだ。

セジメントトラップで捕集した試料のうち、動物プランクトン等の遊泳能力のあるものを取り除いたものを沈降粒子と定義する。各期間のセジメントトラップ捕集瓶から動物プランクトンを取り除いた後、沈降粒子を孔径 0.6 μm のメンブランフィルター上に回収し、乾燥重量を計測して全粒子束 (1 m^2 あたり、1 日あたりの粒子沈降量) を求めた。

乾燥・粉碎して均質化した沈降粒子試料の一部を、450°C で 24 時間以上加熱し、質量の減少分を有機物濃度とした。また乾燥粒子の一部は、酸を添加後密閉容器内で加熱分解した後、分解液中の Si, Al, Ca, Mn 及び希土類元素濃度を測定した。沈降粒子中の Al 濃度から陸起源ケイ酸塩濃度を、Al 及び Si 濃度から生物起源ケイ酸塩 (オパール) 濃度を、Ca 及び Al 濃度から生物起源炭酸塩濃度を算出した。一連の沈降粒子分析は Otosaka et al. (2004) の方法に準じた。

また、沈降粒子フラックスの時系列データと係留系 ADCP の後方散乱強度データを比較することで、2022 年度に構築した動物プランクトン現存量の変動推定アルゴリズムを検証した。

回収後の期間で解析できる範囲は限られてしまうため、回収前の期間を利用して、本観測データ解析の比較対象となる、2020 年に回収した同観測点における係留系データを詳しく解析し、沈降粒子フラックスに影響を及ぼす、内部波の鉛直伝播特性を把握した。

3. 結果と考察

観測点 FATO のセジメントトラップで観測された全粒子束と主要成分組成の季節変化を Fig. 1 に示す。上層 (443 m) のトラップでは 3 期間目にニホンウミノミ (*Themisto japonica*) とみられる動物プランクトンを大量に捕集し、捕集口が詰まったため、4 期間目以降の試料採取ができなかった。ここでは、通年での試料採取に成功した下層 (908 m) の

トラップで得られた結果を中心に報告する。

水深 908m のセジメントトラップ実験で計測された全粒子束は 198 から 564 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ で、冬季（1 月から 2 月）と春季（3 月から 4 月）の 2 度の極大を示した。冬季の沈降粒子の約 6 割は陸起源ケイ酸塩で構成されており、12 月頃より顕著な増加がみられる陸起源ケイ酸塩の鉛直輸送が、冬季の高い全粒子束の要因であった。一方、春季には生物起源ケイ酸塩と有機物粒子が支配的で、この時期の珪藻類の活発な生産によるとみられる高いオパール粒子束と、それに伴う有機物粒子束の増加が春季の全粒子束の増加要因と言える。2022 年度までに実施した、係留系 ADCP の後方散乱強度データから推定した動物プランクトン現存量の変動は、12-1 月に顕著な極大を示した一方で、3-4 月には極大とならなかった。この理由は現在のところ不明で、今後の研究における詳細な解析が必要である。

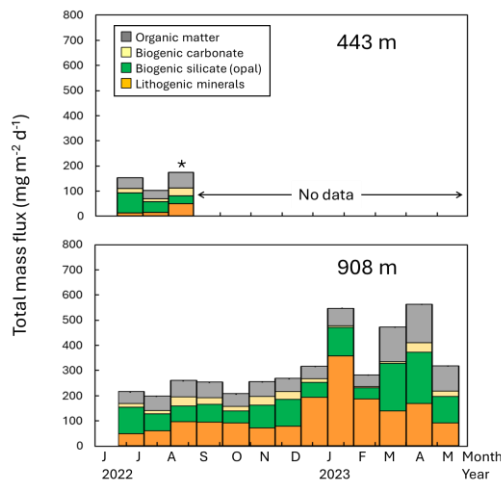


Fig. 1: Total mass flux and composition of major component at Station FATO. The third period of 443 m (indicated with *) is a reference value because the collection funnel was clogged.

粒子束の変動範囲と季節変動のパターンは、1999 年から 2001 年にかけて大和海盆西部および北部のほぼ同深度において実施したセジメントトラップ実験結果 (Otosaka et al., 2004) と整合的であった。一方で、沈降粒子の主要成分である陸起源ケイ酸塩の供給源には、大和海盆の東西で明瞭な違いが見られた。Fig. 2 に、沈降粒子中の La/Yb 比と Mn/Al 比の関係を示す。横軸 (La/Yb 比) は陸起源ケイ酸塩の形成過程によって異なり、日本海への陸起源粒子の供給源を大別する指標となることが知られている。本観測で得られた粒子中の La/Yb 比は、大和海盆の西部及び北部で得られた粒子に比べて有意に低く、日本海盆東部の値と同等の値を示した。沈降粒子に見られる陸起源ケイ酸塩の特徴は、海盆スケールで決定されるものではなく、概ね数百 km の範囲内での陸棚域の特徴を反映させることがわかった。

また、観測点 FATO の沈降粒子は他の海域に比べて Mn/Al 比が高く、この傾向は特に夏季から秋季にかけて顕著であった。高い Mn/Al 比は、一般に海水柱内での滞留時間が長いことを示しており、低粒子束期には比較的沈降速度の遅い粒子が輸送されることが示唆された。

なお、本観測と同じ条件で 2021 年 8 月に大和海盆西部の定点で約 3 週間実施したセジメントトラップ実験は、全粒子束は 71-77 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ で、2000 年に比べて 2021 年の全粒子束が約 30% 程度減少していた。海面高度に基づく精細な流路解析を合わせて解析した結果、これは、日本海の中・長期的な環境の変化によるものではなく、2021 年の観測時に対馬暖流の流軸が係留観測点上を通過したことにより粒子の鉛直輸

送が制限されたものと推測された。

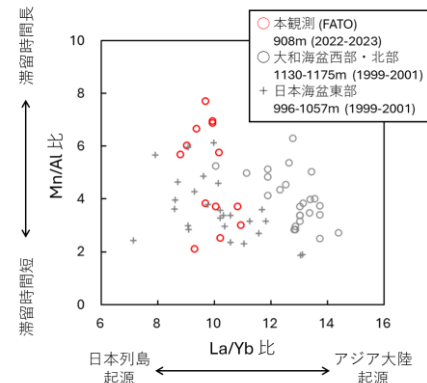


Fig. 2: Relationship between La/Yb and Mn/Al ratios in sinking particles in the Japan Sea.

従来は観測により把握することが難しかった、台風の影響下での内部波の挙動については、今年度出版された Kawaguchi et al. (2023) の中で詳しい解析が行われている。同論文は、佐渡沖の係留点で得られた流速計のデータを解析し、台風が日本海を通過する際に励起する海面近くの内部波が、中規模渦や波の分散特性に従いながら様々な速度で中・深層の領域まで到達する様子が示された。特筆すべきは、台風の通過後に 1 週間以上経過後で最大のピークが観測された点であろう。この現象は、蛇行しながら東進する対馬暖流の流軸成分と北方から入射する内部波のエネルギー輸送ベクトルとの間に干渉が発生し、それによって波の群速度が変化した結果と考えられる。この現象は、台風に起因する内部波が台風通過後もしばらくの間一定程度の影響力を持ち続け、栄養塩や酸素の鉛直輸送を通して海洋生態系への影響にタイムラグを生み出す可能性を示唆している。

4. 今後の展望

本係留系には従来の 400 m 以浅の ADCP 流速場の観測に加えて、中・深層に流速計と水温・塩分計も搭載した。中層に数メートル間隔で水温計を複数台設置することにより、内部波の変動を詳細に把握できる。データは計画通りに取得でき、現在、解析を進めているところである。また、係留期間中には近傍海域において、調査船による観測航海を実施した。係留系観測と乱流計・船底 ADCP による同時観測データを相補的に解析していけば、乱流混合・流動構造の把握が進むと期待される。

現場観測と複数の衛星センサーによる観測によるデータを解析すれば、日本海の 10 年規模の対馬暖流や中規模渦、乱流混合などの変化と生物生産量との関係や、植物プランクトンの群集構造や基礎生産力の変化について追究できるだろう。さらに、これらの変化と表層―深層間での生物ポンプとの連動性を検出までを目指していきたい。

参考文献

- (1) Gamo, T., et al. Monogr. Environ. Earth Planets 2, 1 (2014)
- (2) Kido et al. Zool. Sci. 37, 24 (2020)
- (3) Kojima et al., Mar. Ecol. Prog. Ser. 217, 135 (2001)
- (4) 水産庁, 国際漁業資源の現況 (2015)
- (5) Boyd et al., Nature 368, 327 (2019)
- (6) Otosaka et al. Mar. Chem. 91, 143-163 (2004)
- (7) Kawaguchi et al., Sci. Rep. (2023)

伝播性擾乱がもたらす下北北岸沖循環の変調と沖合への水塊波及・混合 Modulation of offshore circulation along the north coast of the Shimokita Peninsula

金子 仁, JAMSTEC・むつ研, E-mail: h_kankeo@jamstec.go.jp

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

Hitoshi Kaneko, Mutsu Institute for Oceanography, JAMSTEC

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

Abstract

Studies conducted between 2022 and 2023 have provided insights into the physical and nutrient supply mechanisms that underpin the characteristic phytoplankton production during the summer and fall seasons along the north coast of the Shimokita Peninsula. Utilizing small vessels, research vessels, an oceanic high-frequency radar system, turbulence measurements, and chemical analyses, including those of terrestrial water, the research indicates that the offshore circulation along the northern coast of the peninsula, particularly during the summer and autumn months, experiences significant daily fluctuations owing to propagating disturbances from west to east. This circulation modulation would play a pivotal role in both horizontal and vertical partitioning, facilitating the transport of high concentrations of silicate from the coastal region and nitrate from the lower layers of the circulation, thus influencing phytoplankton dynamics.

1. はじめに

津軽海峡東部は「津軽暖流」と呼ばれる、日本海から海峡を通過してきた東向きの流れが存在する。この流れは黒潮を起源とする高温・高塩分で栄養塩濃度の低い水を輸送すると考えられている。一方、太平洋からは亜寒帯系の水塊が流入し、同海域は複雑な海洋構造を示す (例えば Rosa et al., 2007)。夏季から秋季にかけては「津軽暖流」は下北半島沿岸を離れ海峡中央部を流れ、「津軽暖流」流軸と下北半島の間には時計回りの循環 (ここでは下北北岸沖循環とする) が形成される (Kaneko et al., 2021; 2022)。この循環の南縁、下北半島沿岸では、夏季から秋季にかけて局所的に高い表面クロロフィル濃度が分布することが衛星観測から明らかになっている (Fig. 1)。また、近年の植物プランクトン群衆組成に関する研究では、この循環内では海峡中央部を流れる「津軽暖流」流軸付近よりも珪藻類の割合が相対的に多いことが指摘されている (Isada et al., 2017)。これらの結果は、亜寒帯系水塊の影響が強いと考えられてきた下北沿岸において、何らかの栄養塩供給が存在すること、とりわけ珪藻類の増殖に有利な環境を導く要因があることを示唆する。

2. 問題設定・方法

上記の栄養塩供給過程としていくつかの起源が考えられる。一つは「津軽暖流」北側からの栄養塩に富んだ亜寒帯系水塊の流入、もう一つは下層からの栄養塩供給、そして下北半島陸域起源水の影響である。水平的な輸送については下北北岸沖循環が、表層への栄養塩供給過程としての乱流鉛直混合過程が重要な鍵となる。そこで、下北半島沿岸の生物生産維持に関わる起源水の由来と、水塊波及過程と乱流鉛直混合の関係を明らかにすることを目的として、JAMSTEC むつ研究所でモニタリングを継続している海洋短波レーダー (SeaSonde, CODAR Ocean Sensors)、下北半島北岸の4つの河川水等の採水 (2023年5月、9月、11月、2024年3月) および2023年10月30日午後と31日午前にわたって下北半島沿岸で小型乱流計 VMP250 (Rockland Scientific International Inc.) による乱流強度観測および表層水の採水を実施し、栄養塩等の化学分析を行った。また2021年に水産研究・教育機構の「若鷹丸」によって得られた津軽海峡東部の南北観測断面における乱流鉛直混合強度および硝酸塩分布の観測から、硝酸塩フラックスの評価も行った。

3. 結果と考察

海洋短波レーダーの表層流速を用いた相対渦度の解析から、下北北岸沖循環が夏季～秋季に発達すること、また顕著な日変動も存在することが明らかになった (Fig. 2)。また北岸に沿った方向の相対渦度のホフメラーダイアグラムから、下北半島北岸を西側から東側に伝播する擾乱が顕著に生じていることが示された (Fig. 2)。伝播速度のオーダーは 1 m s^{-1} で、この海域の成層強度に基づく内部ケルビン波の伝播速度と概ね一致していた。このような伝播性擾乱は、ちょうどむつ研究所の位置する経度付近を境に東側で伝播傾向が不明瞭になる特徴も捉えられた (Fig. 2)。

河川水等の栄養塩分析から、特に東側野牛地区の湧水が 1000 uM 程度の極めて高い珪酸塩を含んでいることが明らかになった。2023年10月の沿岸観測でも、野牛の沿岸で低塩分・高珪酸塩水の分布が観測された (Fig. 3)。一方で、硝酸塩濃度は沖合観測点 ($\sim 41.397^\circ\text{N}$, $\sim 141.338^\circ\text{E}$) の方が高かった (Fig. 3)。2021年の「若鷹丸」観測では、下北北岸沖循環が高気圧渦状構造を有し、その底部で乱流鉛直混合および硝酸塩乱流鉛直混合の強化が生じていることが捉えられた (図は割愛)。したがって、2023年10月の野牛の沖合側で観測された相対的に硝酸塩高濃度でかつ高塩分の水は、北岸沖循環内で鉛直輸送され、その後水平移流によってもたらされたと考えて矛盾はしない。同観測点 (水深 35 m 程度) では、 15 m 以深で 10^{-7} – $10^{-6} \text{ W kg}^{-1}$ に達する相対的には大きな乱流エネルギー散逸率が継続的に観測された。この乱流強化が観測された時刻は、北岸沖循環の負の相対渦度が弱まるフェーズに対応し、また乱流強化が観測された地点は相対渦度の符号が東西方向で替わる領域に対応していた (Fig. 3)。したがって伝播性擾乱の到達および砕波などが上述の乱流強化に結びついた可能性が考えられる。

4. まとめと今後の展望

これまでの多角的・機動的な観測により、下北北岸沖循環底部で乱流鉛直混合の強化が生じていること、また日周期の伝播性擾乱のためにこの循環強度が1日の間に大きく変動していること、さらに下北半島北の陸域水が珪酸塩のソースである疑いが濃厚となってきた。上述の循環の日周期変動は、沿岸域において、循環が強い時には沖合から相対的に高濃度の硝酸塩の輸送を、弱まった時には高濃度珪酸塩陸域水の広

がりを促進している可能性がある。このような複合的な栄養塩供給過程が、北岸沖循環内の特異的な植物プランクトンコミュニティ (Isada et al., 2017) に影響していることが考えられる。また伝播性擾乱は位相速度から内部ケルビン波が疑われるが、下北北岸において伝播特性が変化し、東側に伝播するにつれシグナルが弱まることから、砕波もしくは別モードの波へと変化（散乱）していると考えられる。砕波は乱流鉛直混合の強化に結びつき鉛直輸送を、散乱は渦モードの強化を通じて循環および水平輸送を強化している可能性もある。上に述べたような栄養塩注入特性と短周期の伝播性擾乱の役割について、栄養塩輸送の定量評価およびエネルギーカスケードの観点から、今後係留観測や数値モデル実験などを加え、研究を深化させていく予定である。

参考文献

- (1) Kaneko, H., Sasaki, K., Abe, H., et al. 2021: The role of an intense jet in the Tsugaru Strait in the formation of the outflow gyre revealed using high-frequency radar data. *Geophys. Res. Lett.*, 48, e2021GL092909. <https://doi.org/10.1029/2021GL092909>

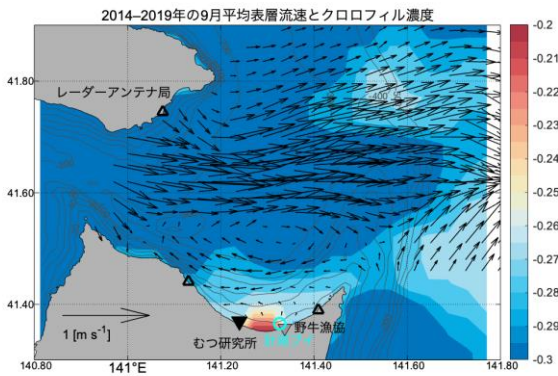


Fig. 1. Monthly mean surface velocity and chlorophyll concentration distribution in September (2014–2019).

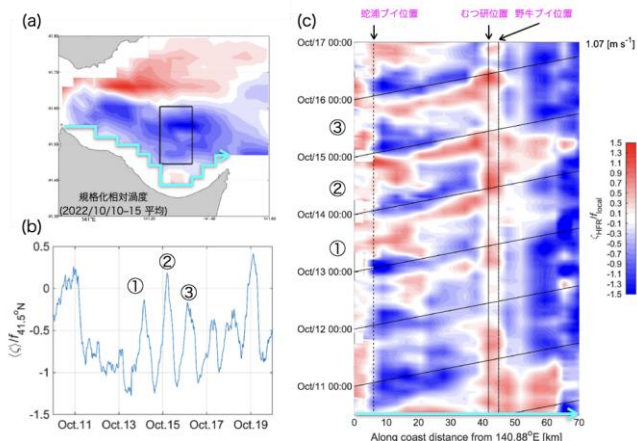


Fig. 2. Relative vorticity normalized to inertial frequency at the local latitude. (a) Temporal mean for 2022/10/10–15. (b) Zonal mean in the area indicated by the black rectangle in (a). (c) Plot of along-coast distance from 140.88°E (abscissa) versus time (ordinate).

- (2) Kaneko, H., Tanaka, T., Abe, H., et al. 2022: Subinertial frequency variations in the axis of the Tsugaru Warm Current east of the Tsugaru Strait. *Prog. Earth Planet. Sci.*, 9:53, <https://doi.org/10.1186/s40645-022-00509-z>
- (3) Rosa, A. L., Isoda, Y., Uehara, K., and Aiki, T. 2007: Seasonal variations of water system distribution and flow patterns in the Southern Sea Area of Hokkaido, Japan. *J. Oceanogr.*, 63, 573–588. <https://doi.org/10.1007/s10872-007-0051-4>
- (4) Isada, T., Hirawake, T., Nakada, S., Kobayashi, T. Sasaki, K., Tanaka, Y., Watanabe, S., Suzuki, K., and Saitoh S. 2017: Influence of hydrography on the spatiotemporal variability of phytoplankton assemblages and primary productivity in Funka Bay and the Tsugaru Strait. *Estuarine, Coastal and Shelf Science.*, 188, 199–211. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2017.02.019>

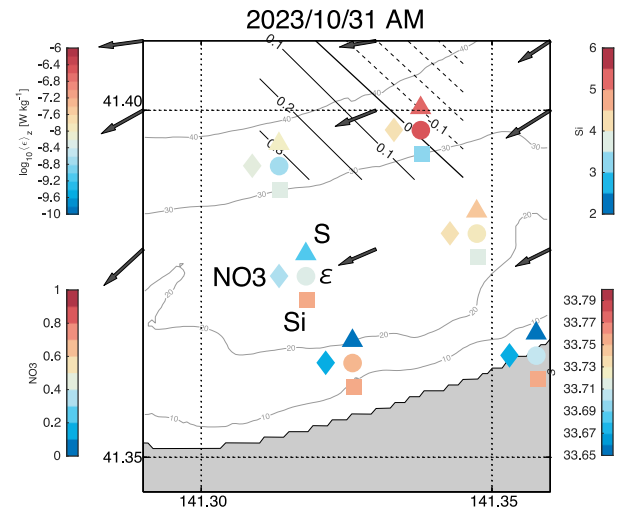


Fig. 3. Results of the coastal observation off Noushi conducted on 2023/10/31. Colors of triangle, diamond, circle, and square markers indicate salinity, nitrate concentration, turbulent dissipation rate, and silicate concentration, respectively. Vectors and black contours denote velocity and normalized relative vorticity at the surface. Gray contours are bathymetry.

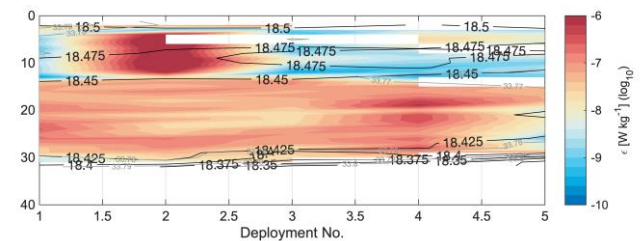


Fig. 4. Turbulent dissipation rate observed at ~41.397°N, ~141.338°E on 2023/10/31. Black and gray contours indicate temperature and salinity, respectively.

花粉化石の ^{14}C 年代測定に基づくタービダイトの高精度編年手法の開発

High-accuracy ^{14}C dating of turbidites using fossil pollen grains

石澤 堯史, 東北大・災害研, E-mail: ishizawa(at)irides.tohoku.ac.jp
横山 祐典, 東大・大気海洋研, E-mail: yokoyama(at)aori.u-tokyo.ac.jp
宮入 陽介, 東大・大気海洋研, E-mail: miyairi(at)aori.u-tokyo.ac.jp
Takashi Ishizawa, International Research Institute of Disaster Science, Tohoku University
Yusuke Yokoyama, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Yosuke Miyairi, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Deep-sea turbidites have been used to estimate paleo earthquake history. Establishing robust chronology is important issue to understand the earthquake history. However, dating of deep-sea sediment is often difficult due to the lack of suitable materials for ^{14}C dating. We examined the applicability of fossil pollen for dating of deep-sea sediment. Our results revealed that ages of the pollen were younger than ages of bulk sediments of the same stratigraphic horizon. Bulk ages of marine sediments are usually older than the actual depositional ages, thus the ages from pollen seem more reasonable for their depositional ages. It is important to further verify the reliability of the ages from pollen by making comparisons with other age markers.

1. はじめに(節の表題: MS ゴシック 9pt)

タービダイトは混濁流により形成される堆積物の総称である。混濁流の発生要因は地震や洪水、海底火山の噴火などが挙げられるが、地震・津波が頻発する海溝沿いの地点では地震動や津波による海底表層堆積物の擾乱が混濁流の主たる発生要因であることが知られている(例えば, Arai et al., 2013; Ikehara et al., 2021)。そのため海溝沿いの海底を広域的に掘削し、タービダイトの分布調査と編年を行うことで過去の地震津波履歴の復元に貢献できる。このようなタービダイトを用いた地震津波履歴の研究は日本海溝やカスケード沈み込み帯など世界中の沈み込み帯で実施されており(例えば, Goldfinger et al., 2012)、陸域の堆積物記録からは復元できない長期間の地震津波履歴を復元する手法として重要視されている。

タービダイトの研究を実施する上での課題の一つが編年である。一般的に海洋コア試料については、炭酸塩微化石や堆積物の全有機炭素での ^{14}C 年代測定、年代既知の火山灰層や古地磁気層序を用いた編年が実施されてきたが(例えば, Bao et al., 2018; Kanamatsu et al., 2022)、精度・確度や汎用性を考慮すると信頼できるものは少なく、タービダイトの編年や年代対比を困難にしている。

2. 問題設定・方法

上記の問題を解決するため、本研究では海洋コア試料中の花粉化石に着目した。花粉化石は堆積物中に普遍的に存在するため層準を選ばずに年代測定できる。また、湖沼における先行研究では、花粉化石から得られる ^{14}C 年代は大型植物化石等から得られる ^{14}C 年代と整合的であり、その年代値の信頼性は高いと考えられる(例えば, Tennant et al., 2013)。近年、花粉の蛍光特性を利用して、セルソーターでの花粉の自動分離も可能となり(Yamada et al., 2021)、堆積物中から効率的に花粉化石のみを抽出できるようになった。しかし、セルソーターを用いた花粉分離の既往研究は、主に湖沼や陸上堆積物を対象としており、セルソーターを海洋コア試料に適用して花粉を分離した研究はない。

そこで本研究では、日本海溝沿いで採取された海洋コア試料を用いて、花粉化石の分離および分離した花粉を用いた年代測定を実施した。具体的には堆積物中から有機物を分離し、さらにセルソーターを用いることで、有機物中から花粉のみ

を分離した。この分離については、昨年度実施した検討を踏まえ、年代測定に必要十分な量の花粉を効率的に収集した。その後、同一層準で得られた花粉、花粉分離後に残存した waste、バルク堆積物の放射性炭素年代測定を行い、それぞれの年代を比較した。

3. 結果と考察

同一層準から得られた各種有機物の放射性炭素年代測定結果について、以下に一例を示す。

同一層準から得られた年代では、花粉が最も若く、次いで堆積物のバルク、一番古いのが waste となった。バルクの年代を基準とすると、同一層準において花粉の年代は数百年若く、waste の年代は千年単位で古くなる(図 1)。従来、海洋コア試料をバルクで年代測定すると、実際の年代よりも古くなることが報告されてきたが(例えば, Bao et al., 2018)、これは waste 部分に含まれていたような有意に古い有機物が混入していたためであると今回の検証から推定できる。一方で花粉の年代は同一層準のバルク堆積物の年代よりも若くっており、海洋堆積物中から花粉のみを分離することで、古い有機物の影響を除いて年代測定できた。

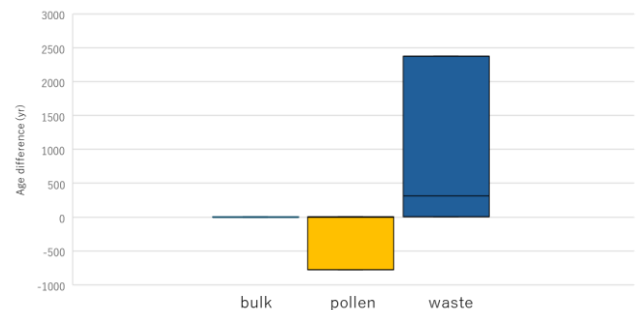


Fig. 1 Age differences of bulk sediment, pollen, and waste from the same stratigraphic horizon. Each age difference is calculated based on the age of the bulk.

4. まとめと今後の展望

本研究では、海洋コア試料中の花粉を用いた年代測定を行った。その結果、花粉から得られる年代は同一層準のバルク堆積物の年代よりも若くなり、花粉分離後の waste が最も古い年代を示した。そのため、堆積物中から花粉のみを分離して年代測定することでより確度の高い年代を得られる可能性がある。今後は他の年代指標と花粉の年代の比較を進め、年代値の確度をより詳細に検討する予定である。また、日本海溝沿い以外の海洋コア試料でも本手法の検討を進め、手法の汎用性についても検討を進める予定である。

参考文献

- (1) Arai, K., Naruse, H., Miura, R., Kawamura, K., Hino, R., Ito, Y., Inazu, D., Yokoyama, M., Izumi, N., Murayama, M., Kasaya, T., 2013: “Tsunami-generated turbidity current of the 2011 Tohoku-Oki earthquake”, *Geology* 41, 1195-1198.
- (2) Bao, R., Strasser, M., McNichol, A.P., Haghipour, N., McIntyre, C., Wefer, G., Eglinton, T.I., 2018: “Tectonically-triggered sediment and carbon export to the hadal zone”, *Nat. Commun.* 9:121.
- (3) Goldfinger, C., Hans Nelson, C., Morey, A.E., Johnson, J.E., Patton, J.R., Karabanov, E., Gutierrez-Pastor, J., Eriksson, A.T., Gracia, E., Dunhill, G., Enkin, R.J., Dallimore, A., Vallier, T., 2012: “Turbidite event history-methods and implications for Holocene paleoseismicity of the Cascadia subduction zone”, *USGS Prof. Paper* 1661-F.
- (4) Ikehara, K., Usami, K., Irino, T., Omura, A., Jenkins, R.G., Ashi, J., 2021. “Characteristics and distribution of the event deposits induced by the 2011 Tohoku-oki earthquake and tsunami offshore of Sanriku and Sendai, Japan”, *Sed. Geol.* 411:105791.
- (5) Kanamastu, T., Ikehara, K., Hsiung K.H., 2022: “Stratigraphy of deep-sea marine sediment using paleomagnetic secular variation: Refined dating of turbidite relating to giant earthquake in Japan Trench”, *Mar. Geol.* 443, 106669.
- (6) Tennant, R.K., Jones, R.T., Brock, F., Cook, C., Turney, C.S.M., Love, J., Lee, R., 2013: “A new flow cytometry method enabling rapid purification of fossil pollen from terrestrial sediments for AMS radiocarbon dating”, *J. Quaternary Sci.* 28(3), 229-236.
- (7) Yamada, K., Omori, T., Kitaba, I., Hori, T., Nakagawa, T., 2021: “Extraction method for fossil pollen grains using a cell sorter suitable for routine ^{14}C dating”, *Quat. Sci. Rev.* 272, 107236.

縄文時代前半期における九州南部～奄美諸島の遺物包含層の構造について

The Structure of the Artifact-bearing Layers in the Southern Kyushu-Amami Islands
during the First Half of the Jomon Period

立神 倫史, 鹿児島県立古仁屋高等学校, E-mail: michifumi-tategami(at)edu.pref.kagoshima.jp

川口 雅之, (公財)鹿児島県文振興財団埋蔵文化財調査センター,

E-mail: amamikouko(at)gmail.com

具志堅 亮, 天城町教育委員会 E-mail: syakyo08(at)yui-amagi.com

川上 晃生, 奄美博物館, E-mail: kakeroman.nominoura(at)gmail.com

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

Michifumi Tategami, Kagoshima Prefectural Konya High School

Masayuki Kawaguchi, Kagoshima Prefectural Archaeological Research Center

Ryo Gushiken Amagi Town Board of Education

Akio Kawakami, Amami Museum

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

Abstract

We were able to collect continuous soil samples from the ground surface to the relic inclusion layer from the ground surface to the relic inclusion layer from three archaeological sites in southern Kyushu and date them. As a result, the temporal relationship between the formation process of the relic inclusion layer was partially clarified.

1. はじめに

縄文時代前半期(約 15,000calBP～4,500calBP)は土器使用開始、弓矢猟開始、硬果類の本格的な利用開始など遊動生活から定住生活へ移行した人類史的に大きな転換点であり、最終氷期から完新世にかけての温暖化の時期にもあたることから、環境史的研究成果なども踏まえた歴史的意義について検討される事例が増えてきている。AMS(加速器質量分析)法による土器付着炭化物を対象とした年代測定を実施し、従来の土器研究に、校正年代を付与する作業が進んでいることがその背景としてある(工藤 2022 ほか)。

しかしながら、当該期の南西諸島の土器に関しては、九州南部以北に比べ出土量が極めて少なく、詳細な年代的な関係が判然としない状況である。そのため、土器付着炭化物による年代測定が困難な場合は、遺物包含層の年代を明らかにすることで、暦年代を指標とした分析を可能とすることが期待される状況である。

2. 問題設定・方法

本研究では1遺跡でのサンプル数を通常の行政発掘では行えない高い密度で分析し年代測定を実施した。そのことにより同一遺物包含層中の土器と他の遺物との時間的關係が整理し、九州南部～南西諸島における縄文時代前半期におこった定住化等の文化様相の背景について、環境史分野等の研究分野での成果も含め、総合的に考察を行う。

3. 結果と考察

九州南部3遺跡より地表面より遺物包含層まで連続する土壌サンプルを採取し、一部年代測定を実施することができた。その結果、表土部分以下において遺物包含層の形成スピードは、層厚とある程度の相関がみられることや地層累重の法則を裏付けるように年代的に整合的な関係であることが明らかとなった。一方で、今回は年代測定が一部実施に留まっており、縄文時代前半期の多くの部分に関しては、今後の年代測定実施後に、校正年代を算出し時間的な関係を精査した上で分析する必要がある。



Fig. 1 Soil sample collection at an archaeological site in southern Kyushu.

4. まとめと今後の展望

本研究により従来の研究以上の精度で遺物包含層の形成年代が推定できることが明らかとなった。対象箇所1つであった南西諸島については、関係機関との調整の関係からサンプリングが今回は実施できず九州南部本土のみとなってしまった。今後は熊毛地方を含めて南西諸島での実施が望まれる。特に、徳之島や沖縄本島での洞穴遺跡などの開地遺跡とは異なる環境下でのサンプリングを実施し、様々なケースでの遺物包含層の形成年代を明らかにすることで、暦年代を指標とした多様な視点での分析に対応することが可能となることが期待される。

参考文献

- (1) 工藤雄一郎, 2022: “放射性炭素年代による北九州の縄文時代草創期土器群の暦年代—長崎県泉福寺洞窟を例に—” 文化財科学, 84, 17–35.

奄美群島サンゴ礁海域における共生・寄生性甲殻類の種多様性に関する研究

Species diversity of symbiotic crustaceans in coral reefs of Amami Islands

上野 大輔, 鹿児島大・院理工, E-mail: duyeno@sci.kagoshima-u.ac.jp

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

Daisuke Uyeno, Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University

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

Abstract

The marine fauna distributed around the Ryukyu Islands is abundant. Since the area is strongly influenced by the Kuroshio Current, coral reefs are well-developed and many tropical species are distributed, as well as temperate fauna. Species that are highly endemic have also been found in this area. In this study, we focused on the crustaceans associated with various marine animals in the Amami islands located in the north central part of the Ryukyu Islands to reveal the species diversity and its ecological aspects by field surveys and microscopical observations.

1. はじめに

琉球列島海域は、生物多様性が高い。黒潮の影響を強く受けサンゴ礁が発達し熱帯種が多く分布する一方、温帯種も多く分布している。また、地史的要因から地域固有性が高い種の分布も知られる。本研究では、琉球列島の高い生物多様性を成立させるための一要因としての、共生・寄生生物の種多様性に着目し、その全貌解明を目指した研究を行う。

2. 問題設定・方法

南西諸島中部に位置する奄美群島の中において、奄美大島は最も大きな島である。複雑に入り組んだ地形や深い内湾、加計呂麻島との境界である大島海峡など、南西諸島においても特に多様な環境を擁する。こうした内湾的環境は、南西諸島全体においてもある程度大きい島々にしか発達しない。このため、奄美大島には特有の生態系が発達し、珍しい生物が多く分布する。本研究では、珍しい生物が多く分布する奄美大島を中心に、奄美群島全域を研究フィールドに設定し、そこに分布する多様な海産動物を宿主とする共生・寄生性甲殻類相を解明すべく、スクーバ潜水を用いた実地調査を実施した。また、野外調査で採集された動物類を標本処理した後、形態観察に基づく分類学的精査を実施した。

3. 結果と考察

奄美大島と与論島における野外潜水調査からは、様々な魚類および無脊椎動物を宿主とするカイアシ類が複数種採集された (Fig. 1)。中でも、カイメン類を宿主とするカイアシ類の1種は、*Kelleria* 属の未記載種であることが明らかとなった。また、イシサンゴ類から採集されたカイアシ類の1種は、シノビケンミジンコ科に属する種であることが明らかとなったが、既存のいずれの属とも完全には一致しないことから、未記載属である可能性も視野に入れつつ検討を継続している。また、イソギンボ科魚類から得られたヒジキムシ科カイアシ類は、未記載種と判断された。ここまで申請者が南西諸島全域で展開してきた魚類寄生性甲殻類の分類学的研究の結果から、本種は、琉球列島の中部のみに分布する地域固有の種であることが示唆されている。これら3種については、形態観察結果を取り纏めて、新種記載を含む学術論文を準備中である。また、*Kelleria* 属の1種の宿主であるカイメンは、高い遊泳能を有しており、水中を移動することで宿主間を渡り歩くタイプの種であることが推測される。また、カイメン類を餌としていない可能性も考えられる。更に、シノビケンミジンコ科の1種についても、イシサンゴ類に栄養的に従属した単純な共生関係が成立していると思われずには、根拠が不十分

な点が多い。

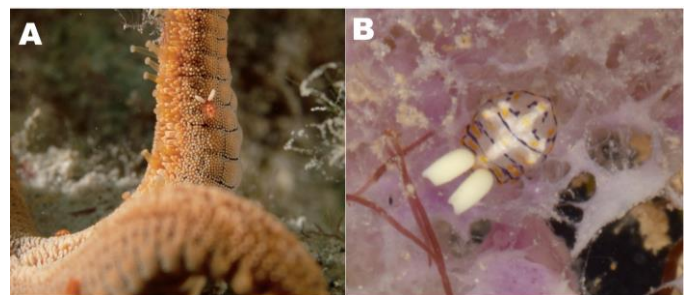


Fig. 1. Cyclopoid copepod associated with invertebrates found from coastal waters of Amami Islands. A, copepods from a sea star. B, one of the copepods from a sponge.

4. まとめと今後の展望

2023年度に奄美大島と与論島で実施された野外調査からは、未報告の共生・寄生性カイアシ類が複数種採集され、そのうちの3種は未記載種の可能性が高い。本研究は、奄美群島における海洋生物の種多様性の一端が明らかにできたという一般的な点において評価できる他、奄美群島海域の種多様性の完全理解の上で、隠蔽的な共生・寄生性種に焦点を当てた今後の研究の必要性を示す点においても意義深いものである。実際、近年奄美群島から新種として記載されたイソナマコノワタズキン、シマノハテマゴコロガイ、スツボサンゴツノヤドカリなどは、他の動物を宿主とする共生・寄生性種である (Kato, 1999; Kato, M. & G. Itani, 2000; Igawa & Kato, 2017)。また、本研究で得られたカイアシ類1種は、地域固有種の可能性が高いと考えられる。地域固有種として知られる寄生性甲殻類の例は多くはないが、近年新種記載されたウオノエ科等脚類の1種ウオノノドボトケは、琉球列島北部海域固有の種であると考えられている (Uyeno & Tohsuji, 2023)。今後の研究からより多くの固有種が発見され、共生・寄生性甲殻類の保全学上の重要性が見直される可能性は高いと見られる。

また、今回の研究から得られたカイアシ類数種については、それらが付着していた動物を、そのまま宿主として見做すことが不適当であることが示唆されている。しかし、口器の特徴などから、なんらかの宿主動物から直接栄養を摂取する寄生性種であることは疑いない。この問題解決のためには、カイアシ類が宿主動物の表皮や体液を継続的に摂食している根拠を得る必要があると考えられる。近年、深海の熱水生物群

集において、シロウリガイ類やハオリムシ類を宿主とするカイアシ類 2 種が宿主を直接摂食する寄生性種であることを、安定同位体解析から明らかとした研究が報告されている (Ishikawa et al., 2024)。そこで、本研究で奄美群島から採集されたカイアシ類と、それらが付着していた動物類について安定同位体や放射性同位体解析を行うことで、カイアシ類の真の宿主の解明が出来ると考えている。奄美群島海域の豊かな生物多様性構築要因解明に向け、共生・寄生生物の生態理解は必要であり、現在も研究を進めている。また、今後の野外調査からは、さらに新たな種が発見される可能性も高いと考え、未調査海域における調査を計画している。

参考文献

- (1) Kato, M., 1999: “Morphological and ecological adaptations in montacutid bivalves endo- and ectosymbiotic with holothurians”, Can. J. Zool., 76, 1403-1410.
- (2) Kato, M. and G. Itani, 2000: “*Peregrinamor gastrochaenans* (Bivalvia: Mollusca), a new species symbiotic with the thalassinidean shrimp *Upogebia carinicauda* (Decapoda: Crustacea) ” Species Diversity, 5, 309-316.
- (3) Igawa, M., and Kato, M. 2017: “A new species of hermit crab, *Diogenes heteropsammicola* (Crustacea, Decapoda, Anomura, Diogenidae), replaces a mutualistic sipunculan in a walking coral symbiosis” Plos One, 12(9): e0184311.
- (4) Uyeno, D., and H. Tosuji, 2023: “Two new species of the genus *Anilocra* Leach, 1818 (Isopoda: Cymothoidae) parasitic on reef fishes from the western Pacific”. Parasitol. Int., 95 (2023) 102752.
- (5) Naoto F. Ishikawa, N.F., C. Chen, R. Hashimoto, N. O. Ogawa, D. Uyeno, and H. Nomaki. 2024: “Amino acid nitrogen isotopic compositions show seep copepods gain nutrition from host animals” Mar. Ecol. Prog. Ser., 727, 81-90.

東シナ海沖縄トラフ中部における溶存無機炭素中の放射性炭素と年代モデルの決定
Dissolved Inorganic Radiocarbon and Age-Depth modeling in the middle of Okinawa Trough, East China Sea

オブラクタ スティーブン, 秋田大学・国際資源 E-mail: obrochta@gipc.akita-u.ac.jp

尾田 宗一郎, 秋田大学・国際資源, E-mail: m6022105@akita-u.ac.jp

Stephen Obrochta, Akita University

Soichiro Oda, Akita University

Abstract

In this study, carbon isotope ratio analysis of dissolved inorganic carbon (DIC) in seawater and radiocarbon (^{14}C) dating of core samples were performed on samples collected in the middle Okinawa Trough in the East China Sea, where the Kuroshio Current flows, by accelerator mass spectrometry (AMS).

1. はじめに

本研究では、黒潮流域にあたる東シナ海沖縄トラフ中部において採取された試料を用いて、加速器質量分析装置 (AMS) による海水中溶存無機炭素 (DIC) の炭素同位体比分析およびコア試料の放射性炭素 (^{14}C) 年代測定を行った。

2. 本文

本研究で用いられた試料は、国立科学博物館主導のもと 2022 年に行われた KS-22-4 次航海において、最終氷期以降の定量的な黒潮変動の復元を課題として採取された CTD 採水試料およびピストンコア試料である。海水試料は沖縄トラフにおける黒潮流軸西側に位置する CTD-1 ($29^{\circ}2.2699'\text{N}$, $127^{\circ}3.5461'\text{E}$, 水深 200m) および黒潮流軸東側に位置する CTD-2 ($28^{\circ}53.220'\text{N}$, $127^{\circ}19.715'\text{E}$, 水深 888m) の 2 地点で採水され、4 本のピストンコア試料: PC01 (532cm), PC02 (911cm), PC03 (502cm), PC04 (482cm) は、PC01 および PC02 については黒潮流軸の西側にあたる陸棚斜面域、PC03 および PC04 は黒潮流軸の東側にあたる沖縄本島西方海域で掘削された。

CTD-1 および CTD-2 から採水された海水試料は、海水中溶存無機炭酸抽出装置を用いて DIC が二酸化炭素として抽出され、AMS を用いて炭素同位体比分析が行われた。 $\Delta 14\text{C-DIC}$ は CTD-1, CTD-2 でそれぞれ 30 ~ 18 ‰, 30 ~ -151 ‰ の範囲で変動し、いずれも水深が深くなるにつれて減少した。少なくとも水深 ~ 200 m における海水はよく混合され、水深 900 m 付近までの $\Delta 14\text{C}$ の大きな変動は、異なる水塊と混合のダイナミクスを反映している。得られた $\Delta 14\text{C-DIC}$ から、黒潮流軸西側の陸棚斜面域に位置する CTD-1 および黒潮流軸東側の沖縄本島西方海域に位置する CTD-2 の表層水における黒潮の影響が認められた。CTD 観測における深度毎の塩分データは、それぞれの地点で 34.6 ~ 34.4 PSU, 34.7 ~ 34.3 PSU の範囲で変動し、水深とともに減少傾向にある。CTD-1 および CTD-2 のいずれの地点においても塩分が高く均一な値を示していたことから、本研究地域では東シナ海に流入する長江の影響は認められなかった。また、水温は CTD-1 および CTD-2 で、それぞれ $24.0 \sim 13.5^{\circ}\text{C}$, $24.2 \sim 4.7^{\circ}\text{C}$ の範囲で変動し、水深が深くなるにつれて減少した。 ^{14}C 年代は、CTD-1, CTD-2 それぞれで -271 ~ 1243 ka, -307 ~ -190 ka の範囲で変動し、水深が深くなるにつれて古い年代を示した。

4 本のピストンコア試料 (PC01 ~ PC04) から採取された化石試料をもとに行われた年代測定によって得られた ^{14}C 年代は、海洋試料に対して国際的に使用される較正曲線 Marine20 を用いて暦年に較正し、モデルルーチン “Undatable” を用いて年代モデルを作成した。暦年較正年代は PC01 ~ PC04 において、それぞれ 5 ~ 19ka, 2 ~ 27ka, 0 ~ 12ka, 0 ~ 50ka の範囲であった。いずれも深度が増すごとに古い年代を示し、陸棚斜面域にあたる PC01 および PC02 では、コア全体を通して堆積速度が減少傾向にあり、16 ~ 17ka 以降さらに低下した。PC03 においても同様の傾向が見られるが、さらなる堆積速度の低下は完新世以降であった。PC04 はほかの 3 つのコアに比べて非常に古い堆積物が堆積しており、PC04 を用いた環境復元研究は困難であることが示唆された。

海洋の温暖化・酸性化に伴う亜熱帯島棚棲石灰化生物の分布と現存量の変化

Changes in distribution and abundance of calcifying organisms dwelling in subtropical island-shelf environments in response to ocean warming and acidification

藤田 和彦, 琉球大・理学部, E-mail: fujitaka(at)sci.u-ryukyu.ac.jp

千徳 明日香, 琉球大・理学部, 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

Kazuhiko Fujita, Faculty of Science, University of the Ryukyus

Asuka Sentoku, Faculty of Science, University of the Ryukyus

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

Abstract

Ocean warming and acidification are ongoing and have been reported to adversely affect shallow-water coral-reef organisms and ecosystems. However, little is known about impacts of these threats to the survival and growth of calcifying organisms dwelling on subtropical mesophotic island shelf environments. To answer this question, we dredged surface sediments around island shelf environments off Sesoko Island and Nakagusuku Bay. Around Sesoko Island, 370 individuals of *Heteropsammia* (339 zooxanthellate corals and 31 azooxanthellate corals species) and 187 individuals of *Heterocyathus* (164 zooxanthellate corals and 23 azooxanthellate corals species) were collected. In the mesophotic zone at depths of 54-110 m, both zooxanthellate and azooxanthellate corals species were found, with zooxanthellate corals species accounting for more than 90% of the total. At Nakagusuku Bay, >50% of sandy sediments are composed of bivalve shells, while foraminiferal shells are common around coral reefs and inside a port. Of large benthic foraminifera, *Operculina* sp. (thick form) is more common toward an outer bay, while *Calcarina* spp. are more common inside a port and on a sandy bottom. These specimens will be used for taxonomical studies, culturing experiments, and growth rate measurements to understand if the physiology and ecology of these organisms have already suffered from increasing temperatures and decreasing pH.

1. はじめに

IPCC 第6次評価報告書が示すように、人間活動による温室効果ガス排出を主な原因とする地球温暖化は着実に進んでおり、2040年までに産業革命前に比べて気温が1.5℃上昇することは確実となっている。これに伴い、海洋の温暖化（水温の上昇）と酸性化（炭酸塩飽和度の低下）も進んでおり、サンゴの白化現象に代表されるように、熱帯～亜熱帯域のサンゴ礁生態系も既に影響を受けている。そして将来的にはサンゴ類が主体の生態系から、海藻類や従属栄養生物が主体の生態系へ遷移することが予測されている。

しかしながら、既に海洋の温暖化と酸性化が進んでいる状況において石灰化生物がどのように生き延びているのかについて、浅海域（潮間帯・有光層上部）の石灰化生物については野外観測や飼育実験による研究が進んでいるが、より深い島棚域の石灰化生物への影響については実証研究が少ない。

2. 問題設定・方法

本研究は、亜熱帯島棚域の表層堆積物をドレッジにより採取し、島棚棲石灰化生物（有孔虫類、単体サンゴ類等）の生体・遺骸の分布と現存量、殻や骨格の成長履歴を明らかにすることを目的とする。

熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設を拠点とし、多くの研究データが蓄積されている瀬底島周辺海域を調査海域として実施する。また沖縄本島東海岸に位置し、砂泥底が広がる中城湾も比較として調査対象とする。

瀬底島周辺海域では、2023年7月～2024年3月までの間に、毎月1、2回の調査を行い水深54～110mの33地点でドレッジ調査を実施した。ドレッジで収集した堆積物を4mm、2mm、1mmメッシュでふるい、その後、イシサンゴ類のソーティングを行った。標本は生体のまま形態観察後、70%エタノール、ホルマリンで固定し、適宜DNA解析や切片作成を行った。

中城湾海域では、過去に調査した氏家・興津（1979）のデータと比較するため、同論文で調査された与那原湾の9地点と当添漁港内の計10地点で堆積物試料を採取した。氏家・興津（1979）の分析項目と同様に、含泥率、粒度組成、砂粒組成、有孔虫群集組成を調べた。

3. 結果と考察

瀬底島周辺で収集したサンゴ生体は *Heteropsammia* 属の370個体（有藻性種339個体、無藻性種31個体）、*Heterocyathus* 属が187個体（有藻性種164個体、無藻性種23個体）収集された（Fig. 1）。造礁性サンゴが生息する熱帯・亜熱帯の海での水深30～150mはメソフォティックゾーン（中有光層）

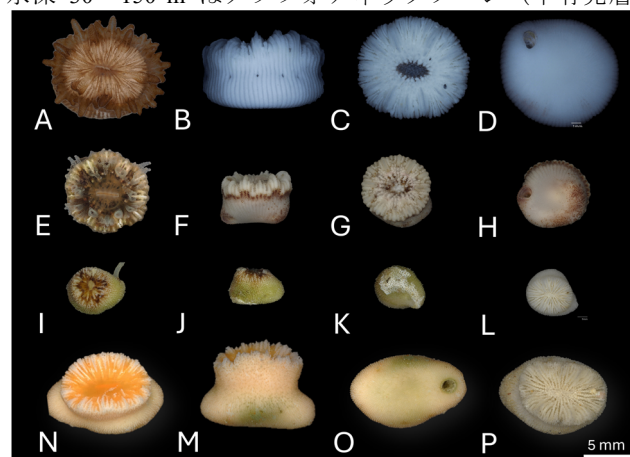


Fig. 1 Common coral genera found in surface sediments from Mesophotic zone in Sesoko Island. A)-D) *Heterocyathus aequicostatus* (+zooxanthellae), E)-H) *Heterocyathus alternatus* (-), I)-L) *Heteropsammia cochlea* (+zooxanthellae) N)-P) *Heteropsammia cochlea* (-).

Mesophotic zone) と呼ばれ、近年、浅海サンゴ礁と区別されている。メソフォティックゾーンは、環境変動に対して浅海サンゴ礁とその生態系を保存する *refugia* として近年関心を集めているが、そこに生息するサンゴや環境適応に関しては未だ解明されていないことが多い。本調査では、水深 54–110 m 地点においても、同属であっても有藻性種、無藻性種が混在し、有藻性種が 90% 以上を占めることが明らかとなった。このことは、浅海域以外の中有光層においてもイシサンゴによって活発な石灰化が行われていることが示唆される。

中城湾海域では、砂粒組成については沿岸域で二枚貝の比率が 50% 以上を示す。有孔虫類は合計で 32 属に分類され (Fig. 2), サンゴ礁域 (0.92×10^{-3} 個/g) や港内 (0.86×10^{-3} 個/g) で多い。湾奥から湾中央に向かうにつれて *Operculina* (thick form) の比率が高くなる。港内や含泥率が低い地点で *Calcarina* の比率が高い。以上の結果と約 50 年前のデータを比較したところ、主に沿岸域で含泥率が高くなっており、現在の底質環境は湾奥を中心に泥質になった。このため、泥質を好む二枚貝類の比率が増加しており、細粒の底質環境を好む有孔虫類の比率が全地点で増加している。

4. まとめと今後の展望

今後、過去 (1970 年代以降) に同じ海域で採取された生体個体や遺骸個体と殻や骨格の成長履歴 (microCT による殻の体積・密度計測, 各種同位体・元素分析) を比較することで、海洋の温暖化・酸性化により島棚域の石灰化生物の分布・群集組成・多様性・成長履歴が変化しているか明らかにしたい。特に海洋の温暖化に伴う水温躍層の深化や透明度の上昇により石灰化底生生物がより深い深度へ進出していることや、海洋酸性化により石灰化生物の殻や骨格の密度が低下していることを実証していきたい。

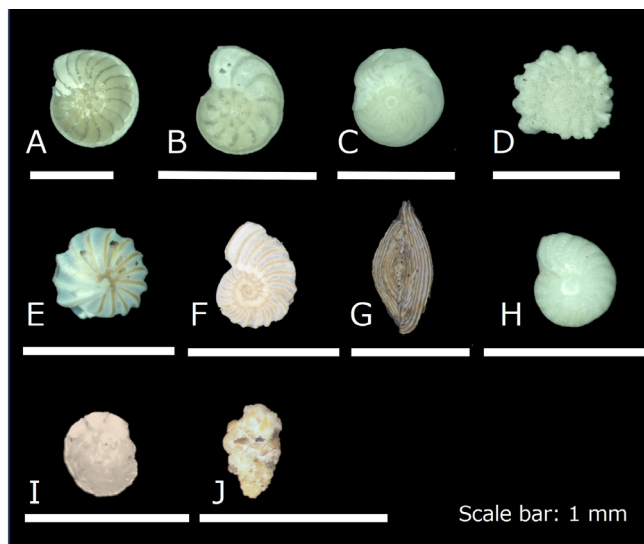


Fig. 2 Common benthic foraminiferal genera found in surface sediments from Nakagusuku Bay. A) *Operculina* (thick form), B) *Operculina* (flat form), C) *Amphistegina*, D) *Calcarina*, E) *Dendritina*, F) *Peneroplis*, G) Miliolidae, H) *Elphidium*, I) *Pseudorotalia*, J) *Textularia*

参考文献

- (1) 氏家 宏・興津昌宏, 1979: "沖縄本島・中城湾の底質解析" 月刊海洋科学, 11, 1008-1018.

種苗生産水槽の環境が飼育成績と飼育魚の腸内細菌叢に与える影響

Effects of larviculture environment on survival and gut microbiota of fish larvae

阪倉 良孝, 長大・院水環, E-mail: sakakura@nagasaki-u.ac.jp

Mandario Mary Anne E., 長大・院水環, E-mail: bb53422804@ms.nagasaki-u.ac.jp

Wassel Mai A., 東大・大海研, E-mail: maiwassel@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

濱崎恒二, 東大・大海研, E-mail: hamasaki@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

Yoshitaka Sakakura and Mary Anne E. Mandario, Aquaculture Biology Lab, Nagasaki University

Mai A. Wassel and Koji Hamasaki, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

We performed a 2×2 factorial experiment with 5 day post-hatch Japanese flounder *P. olivaceus* that lasted for 12 days. The four treatments were composed of two rearing waters (green water GW and biofloc water BW) and two feeds (*Artemia* nauplii and *T. japonicus*). The BW was produced under heterotrophic mode such that sugarcane molasses and dry pellet were used as the carbon and nitrogen sources, respectively at a C/N ratio of 20 under dark condition. For GW treatment, Chlorella paste (Super fresh Chlorella V12) with a density of 2.5×10^5 cells/mL was added to each tank daily. The BW was dominated by phyla Proteobacteria (49.4%), with genera Limimarinicola (20.3%) and Paracoccus (19.5%) as the most abundant, and Planctomycetota (33.8%). In the experiment, the highest survival (97-98%) was observed in fish fed *Artemia* nauplii. Fish fed *Artemia* nauplii and reared in BW showed higher body weight. The occurrence of metamorphosed juvenile was significantly higher in fish reared in BW and fed *T. japonicus* (44%) than other treatments (6-10%).

1. はじめに

世界的な人口増加に伴い持続可能かつ環境に安全な養殖生産に対する需要が高まり、持続可能な生産方法として完全養殖が推進されている。このような状況で、養殖の現場では、養殖生産水槽や池を完全に殺菌することが現実的に不可能であることを認め、飼育水や飼育生物の消化管細菌叢を安定させて魚病に強くかつ対象生物の生残と成長のよい環境を実現しようという動きが世界的である。例えば我々は、日本の種苗生産の黎明期や東南アジアで実施されている古典的な施肥養魚で使用する発酵鶏糞を煮出した鶏糞抽出液や魚のアラを発酵させたもの（バイオフィロック）を飼育水に添加すると、餌料動物プランクトンの栄養価を高めるだけでなく安定した高密度培養ができることを示した（菊池ら, 2019; Ogello et al., 2018）。しかし、バイオフィロックが持続的かつ安定な種苗生産に有用であることを定量的に示されるようになったものの、その原因物質や原因細菌の特定には至っていない。

そこで、「バイオフィロックによって生じる飼育水中の細菌叢が仔魚に必要な栄養素の産生や魚病原因生物の増殖抑制に寄与している」という作業仮説を立て、これを検証するため第一段階として、次に示す実験と解析を実施することとした。

2. 問題設定・方法

作業仮説に「バイオフィロックを仔魚飼育の飼育水（バックグラウンドウォーター）あるいは餌料生物培養に使用すると、従前のバックグラウンドウォーター（微細藻添加）や餌料生物と遜色ない飼育成績が上げられ、このときの細菌叢は安定的な仔魚飼育のリファレンスとなる」を立てた。この作業仮説を検証するために、バックグラウンドウォーターと餌料生物の2要因を組み合わせた二元配置の仔魚飼育実験を設定して実施し、飼育成績と細菌叢を要因間で比較することとした。[バイオフィロックの作成]

200 L 容黒色ポリエチレン製水槽の全面を暗幕用遮光幕で覆った。この水槽に、塩分 30 の人工海水（マリンアートハイ、富田製薬）を 175 L と接種材料の天然海水 10 L を入れて 25℃ に調温した。炭素/窒素比が 20 になるように炭素源となる糖

蜜（株式会社 EM 生活製造）と窒素源となる魚類用配合飼料（おとひめ A-1, 日清丸紅飼料株式会社製造）を 1 週間に 1 度追加し、水槽内を曝気した。この条件で 6 ヶ月の培養を行い、水柱に出現した褐色のバイオフィロックを用いた。

[バックグラウンドウォーターの調整と餌料生物の培養]

通常の高産仔魚の飼育時には、餌料生物とバックグラウンドウォーターとのコントラストを高めるなどの理由から、微細藻を添加する。微細藻には現場で汎用されている市販の淡水クロレラ（スーパー生クロレラ V12, クロレラ工業株式会社）を使用し、これを対照とした。もう一つ、クロレラの代わりにバイオフィロックを添加する区を設けた。

対照の餌料生物には、汎用されている市販のアルテミア *Artemia franciscana* のノープリウス幼生をスーパーカプセル A1 パウダー（クロレラ工業株式会社）で栄養強化したものを用いた。もう一つ、バイオフィロックで培養した細菌食性のカイアシ類 *Tigriopus japonicus* を比較用の餌料生物とした。

[仔魚飼育実験]

実験魚にはヒラメ *Paralichthys olivaceus* の 23 日齢の変態期の仔魚（体長 7.9 mm, 体重 10.5 mg）を用いた。小規模仔魚飼育に実績のある 8 L 容の改良型クライゼルス水槽（Takashi et al., 2024）に、34 ppt の人工海水を入れて 21℃ に調温した。これらの水槽 12 基に仔魚をそれぞれ 40 尾ずつ収容した。バックグラウンドウォーター 2 種類（クロレラ、バイオフィロック添加）と餌料生物 2 種類（アルテミアと *T. japonicus*）とを組み合わせ、計 4 つの実験区を設定し、各々に 3 水槽を充てた。

バックグラウンドウォーターの細胞（粒子）密度は 25 万 /mL とした。仔魚への餌料生物の給餌は仔魚が摂餌を止めるまでの飽食給餌とし、仔魚の状態に応じて 1 日 3-5 回与え、12 日間の飼育を行った。

[解析]

バイオフィロックの一般組成分析を日本食品分析センターで行った。バイオフィロック培養水 1 L を採水濃縮し、16SrRNA 遺伝子のアンプリコン解析を実施し、菌種と菌叢組成の特定

を行った。仔魚飼育については、日々の水温、塩分、溶存酸素およびアンモニア濃度の測定を行い、飼育最終日に生残している仔魚を全て取り揚げて、体長、体重および发育段階(南, 1982)を調べた。

3. 結果と考察

[バクテリアフロック]

現在も培養を継続しているが(開始時から1年4ヶ月が経過)、一度も培養不調に陥ることもなく、また、アンモニアレベルは検出限界レベルで推移しており、非常に安定した系が構築されている。また、仔魚飼育を行った12日間の水槽中のアンモニアレベルは、無換水であったが、グリーンウォーターとバクテリアフロック添加水ともに0.2 ppm以下でヒラメの飼育において毒性を示す濃度(12 ppm)を遙かに下回っていた。

バクテリアフロックの一般成分組成は、乾重あたり粗タンパク 37.5%、粗脂肪 2.5%、可溶無窒素物 35.0%であった。バクテリアフロックの細菌叢はプロテオバクテリア門がおおよそ50%を占め、続いてプランクトミクス門(34%)、放線菌(9%)が主なものであった(Fig.1)。

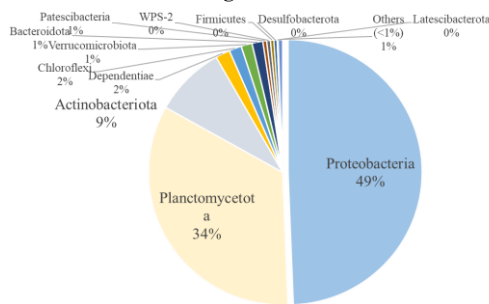


Fig. 1. Phylum composition of the biofloc used in this study.

これらの細菌群は水柱において炭素循環と窒素循環にも関わするグループであり、バクテリアフロックの水質が長期に亘って安定していることを支持するものであると考えられる。[仔魚飼育]

飼育終了時の生残率は、アルテミア幼生を給餌したグループが90%超であったのに対し、*T. japonicus*を与えた水槽の生残率は20%未満となった(Fig.2)。

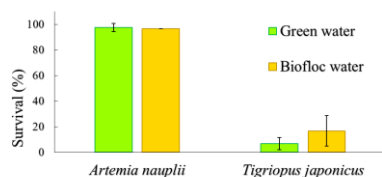


Fig. 2. Survival of Japanese flounder larvae after 12-day rearing.

この原因は、アルテミア幼生の体サイズが $580 \pm 48 \mu\text{m}$ と変態期のヒラメ仔魚が専食する大きさであったのに対して、*T. japonicus*の体サイズが $366 \pm 260 \mu\text{m}$ とサイズレンジが広くて仔魚の摂餌効率が低くなってしまったことに起因すると考えられた。実験計画時に、*T. japonicus*が仔魚から稚魚への移行期の魚の餌料として有効であることを確認した上で選定したが(Hagiwara et al. 2016)、今回は必要となるサイズレンジの個体(コペポダイト幼生)が想定より少なかったことが原因であったと考えられ、今後の課題として残った。

Fig.3に実験終了時の魚の体重と、稚魚に変態していた個体の割合を示した。二元配置分散分析の結果、体重は、アルテミアを与えた魚の方が有意に大きく($p < 0.05$)、バクテリアフロックを飼育水に添加すると大きくなることになった($p < 0.05$)。さらに、変態を完了した稚魚の出現比率は、バクテリアフロックを添加した飼育水の方が有意に高く($p < 0.01$)、さらに、*T. japonicus*を与えた水槽では40%以上が変態を完了していた。

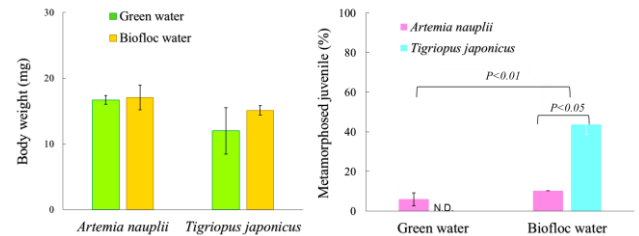


Fig. 3. Growth (left) and development (right) of Japanese flounder larvae after 12-day rearing.

これらの結果は、バクテリアフロックに仔魚の成長や发育を促進する効果のあったことを示唆するものであり、大変興味深い結果であると考えている。

4. まとめと今後の展望

バクテリアフロックの添加による水質の安定は想定通りであったが、ヒラメ仔魚の发育を促進する効果が見いだされたことは大きい発見であった。

一方、ヒラメの変態期に適した体サイズの*T. japonicus*を十分量給餌できず、結果として生残率が低下して腸内細菌叢を調べるのに必要なサンプルを確保することができなかった。今後は、より小型の仔魚、すなわち摂餌開始期の仔魚を用いた同様の実験を実施することで、今回出てきた課題解決に繋がると考えている。

参考文献

- (1) 菊池学, 山出貴弘, 金福珍, 阪倉良孝, 萩原篤志, 2019: 海産カイアシ類 *Tigriopus japonicus* の生残, 发育, 繁殖に対する鶏糞抽出液の添加効果. 水産増殖, 67, 347-355.
- (2) Ogello E.O., Wullur S., Sakakura Y., Hagiwara A. 2018: Composting fishwastes as low-cost and stable diet for culturing *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff (Rotifera): Influence on water quality and microbiota. Aquaculture, 486, 232-239.
- (3) Takashi T., Yamazaki W., Yamaguchi K., Konishi J., Ina Y., Sakakura Y., Tanaka Y., Hashimoto H., Higuchi K., Gen K. 2024: Application of the plankton-kreisell tank for small-scale larviculture of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. Fisheries Science (doi: 10.1007/s12562-024-01762-5).
- (4) 南 卓志 1982: ヒラメの初期生活史. 日本水産学会誌. 48, 1581-1588.
- (5) Hagiwara A., Kim H.-J., Matsumoto H., Ohta Y., Morita T., Hatanaka A., Ishizuka R., Sakakura Y. 2016: Production and use of two marine zooplanktons, *Tigriopus japonicus* and *Diaphanosoma celebensis*, as live food for red sea bream *Pagrus major* larvae. Fisheries Science, 82(5), 799-809.

ゲノムワイドのランダムアンプリコン次世代シーケンスを用いた 広域分散種の集団ゲノミクス

Population genomics of widely dispersed species using a genome-wide random amplicon NGS technique

福森 啓晶, 東北大・浅虫, E-mail: hiroaki.fukumori.d7@tohoku.ac.jp

入江 貴博, 東大・大気海洋研, E-mail: irie@aori.u-tokyo.ac.jp

Hiroaki Fukumori, Research Center for Marine Biology, Tohoku University
Takahiro Irie, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

The GRAS-Di (Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct) analysis was applied to 48 individuals of an intertidal gastropod species with a planktonic period possibly extending to several months. This aims to sort out SNPs on the nuclear genome, available for quantitatively evaluating genetic connectivity among populations along the Kuroshio current. To identify homologous sequences across individuals and to specify genuine SNPs, we wrote a set of program codes executable on the Mathematica 14.0 platform. The algorithm leaves a lot of room for revision, both in terms of processing speed and genotyping accuracy, because the NGS outputs raw sequencing reads of over 116 Gbp, which contain various types of genetic polymorphisms and potential sequencing errors other than SNPs.

1. はじめに

南西諸島、九州・四国の太平洋岸、南紀～房総半島および伊豆諸島の沿岸に見られる生物相は、黒潮に強い影響を受けて成立している。これらの海域における種多様性は、ミクロネシア・パラオ・フィリピンといった黒潮の源流に位置する海域からの個体の移入に大きく依存していることは、疑いようがない。例えば、西日本太平洋沿岸のベントス群集には、冬の低水温で高い死亡率を示すような暖流系の構成種が一定の割合で含まれる(e.g. Tokioka, 1963; Ohgaki, 2011)。こういった種は幼生期の高い分散能力を有することが多く、黒潮などの暖流によって低緯度から移送されて加入した個体があるまま成長したという可能性がある(偶存分布・無効分散)。あるいは、そのような個体が日本沿岸で繁殖を行い、その子孫がふたたび日本沿岸の個体群に加入したという可能性もある。こういった種の動態は、食物連鎖や種間競争・共生関係を通じて生態系を構成する数多くの種の動態と因果の関わりがあり、これらのふたつの可能性を定量的に切り分けることは、日本の沿岸生態系の保全や持続可能な漁獲を実現する上で非常に重要な視点であると言える。

それに関わらず、黒潮流域にある個体群間での遺伝的交流パターンを定量的に評価することは、技術的に容易ではない。分散能力が限定的な陸上生物では、種内多型に富んだmtDNA領域を利用することで、メタ個体群構造の推定が比較的うまくいく場合も少なくない(e.g. Avise 2000)。直達発生を行う(分散能力の低い)海洋生物においても、同じことが言える(e.g. Kojima *et al.*, 2004)。しかしながら、浮遊幼生期間が1ヶ月以上わたる広域分散種のベントスにおいては、個体群間での遺伝的分化の度合いが著しく小さいために、mtDNAの多型では、分散パターンの理解に十分な解像度の情報を得ることができない。遺伝的な種内多型をより高い解像度で定量化するためには、核ゲノム上に散在する一塩基多型に関するビックデータの利用が有効であると考えられる。

そのような遺伝的多型情報を得る上で、NGSを用いたGRAS-Di (Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct)解析は、高い有効性が期待できる。これは、ランダムプライマーセットを用いたPCR反応により、ゲノム上に一様なアンプリコンを増幅し、NGSシーケンス後にジェノタイピングを行う手法である。GRAS-Diは、高濃度ランダムプライマーPCR増幅とNGS技術を組み合わせた塩基多型検出手法で、従来一

塩基多型(SNP)部位の検出に適用されているRAD-Seq法と比較し、アンプリコン増幅の再現性が非常に高く、各個体におけるジェノタイプデータの欠損が少ないという特長を有する(e.g. Nomura *et al.*, 2022; Reyes *et al.*, 2022)。

以上のことを背景として、本研究では、長期の浮遊幼生期間を伴う海産無脊椎動物の動態を理解する上で、GRAS-Di解析を適用することで得られる多型情報の利用可能性を定量的に評価することを目的とする。アンプリコンの解析においては、広い意味でのジェノタイピング・エラーを完全に排除することができない。NGSから出力される大容量のraw readは、数段階におよぶ反復的過程を経て、集団遺伝解析で利用できる一塩基多型の多次元データへと整理・編集される。これらの処理を既存のソフトウェアに託すのではなく、オリジナルのプログラムを書き下して処理することで、データの精度や再現性を低くする要因や構造に対する理解の深化を目指す。本研究で取り組む作業は、遺伝的交流パターンを定量化するための大規模なサンプリングとゲノム解析を実施する事前準備として、必要不可欠な工程である。

2. 問題設定・方法

潮間帯で採集された腹足類(ハナビラダカラ *Monetaria annulus*) 48個体から得られた核ゲノム試料に対してGRAS-Di解析を行い、得られたデータのドライ解析を実施した。本種は個体発生初期に数ヶ月間にわたる長期間の浮遊幼生期を有する。本州沿岸では黒潮流域に見られるほか、南西諸島や伊豆諸島を含む西太平洋の亜熱帯・熱帯海域に広く分布している。本研究では、同一個体から得られた試料を2検体に分割した上で、1ラン96試料のGRAS-Di解析にかけた。

GRAS-Diでは、NGSライブラリが二段階のPCRによって作製される。第一段階では、10bpからなるIllumina Nexteraアダプター配列に3bpのランダム・オリゴマーを付加した複数のランダム・プライマーが用いられる。第二段階は、Nexteraアダプター配列にインデックス配列などを付加したマルチプレックスPCRである。従って、PCRで複製されたDNA断片は、Read1アダプターとRead2アダプターに挟まれた塩基配列となっている。NovaSeq 6000から出力されたraw readデータは、まずソフトウェアGRAS-Di ver.1.0.5によってアライメント処理されたが、この過程で精度の低い50bpよりも短いreadは破棄された。また、50bpよりも長いreadについても、

シーケンス精度の低い 5'末端から 10bp が一様にトリミングされた。アライメント後の各 read は 50 塩基以上 140 塩基以下で、ペアエンド・リードをつなげた contig としては、60bp から 260bp の配列となっていた。261 塩基以上の断片は全ペアエンド・リードの 18.9%に上り、これらのデータでは対となる read 間の塩基情報が未知のままである。

今回は、ゲノム上の同一部位にあたる read をグループ化した上で、アライメントされた各 read の 3'末端側のオフセット配列をトリミングした後に、5'末端に残っているプライマー配列の一部を除去する処理を一括して行うアルゴリズムをプログラミングした。このトリミングによって、read 間で見られる真正正銘の SNP を洗い出した上で、SNP に関する記述統計値を算出することを目指した。このアルゴリズムは Wolfram 言語で書かれ、Mathematica 14.0 を用いたマルチコア CPU 並列計算として実行された。

3. 結果と考察

ジェノタイプ解析に利用された全アンプリコン数は 1,353,532 となり、GRAS-Di 解析ソフトウェアが出力したアライメント後のペアエンド・リード数は 727,315 対となった。そのうち個体間で増幅の違いが見られたマーカー数は 725,894 となった。ただし、この集計では、ゲノム上の同一箇所を増幅していても塩基配列が異なる場合には別のマーカーとして計上されている。また 48 個体 (96 検体) のすべてで増幅が見られたマーカー (=全 96 検体で塩基配列が同一だったマーカー) は 1,421 だった。

今回は、GRAS-Di 解析ソフトウェアが出力した 725,894 のマーカーに対して、相同となっている配列を集めて一塩基多型を洗い出すためのプログラミングを進めた。しかしながら、A が G になっている、C が T になっているといった一塩基多型だけでなく、AT が GC になっているような二塩基多型や一塩基の欠損、二塩基以上の欠損といった多型も稀でないことが判明した。さらに、配列の末端部分はシーケンス精度が悪いことに起因すると思われる塩基対の不一致なども散見され、そういった配列の処理には頭を悩ませた。左から 124 塩基はほぼ完全に一致するが右端 15 塩基がほとんど一致しない、と

いったイレギュラーな関係性を示す配列ペアもあった。

長時間にわたるプログラミングとその改訂を繰り返したものの、一塩基多型の位置と頻度を集計できる段階まで到達することはできなかった。

4. まとめと今後の展望

ペアエンドの関係にある Read 1 と Read 2 をひとつの contig としてまとめた後に、相同関係にある配列のアライメントを行うように、プログラムを改訂する必要がある。また、検出された SNPs やそれらの MAF(Minor Allele Frequency)の集計値が既存のソフトウェアからの出力値とどの程度一致するのかを検証した上で、不一致の原因を探索する作業も必要である。SNPs を正しく検出する技術を確認した後に、ペイズ推定に基づく個体群間での遺伝的な交流強度の推定作業に移行したい。

参考文献

- (1) Tokioka, T., 1963: "Supposed effects of the cold weather of the winter 1962–63 upon the intertidal fauna in the vicinity of Seto", Publ. Seto Mar. Biol. Lab., 11, 245–254.
- (2) Ohgaki, S., 2011: "A regional biogeography of shore molluscs: influence of the Kuroshio Current and two capes" Zool. Sci., 28, 268–275.
- (3) Avise, J.C., 2000: "Phylogeography: the history and formation of species", Harvard University Press, Cambridge, MA.
- (4) Kojima, S., Hayashi, I., Kim, D., Iijima, A., and T. Furota, 2004: "Phylogeography of an intertidal direct-developing gastropod *Batillaria cumingii* around the Japanese Islands", Mar. Ecol. Prog. Ser., 276, 161–172.
- (5) Nomura, K., Ishikawa, K., Sudo, R., and A. Fujiwara, 2022: "Genomic prediction of 10 metamorphic traits of captivebred Japanese eels (*Anguilla japonica*) using the GRAS-Di genotyping method", Aquaculture, 548, article number 737671.
- (6) Reyes, V.P., Kitony, J.K., Nishiuchi, S., Makiyara, D., and K. Doi, 2022: "Utilization of genotyping-by-sequencing (GBS) for rice pre-breeding and improvement: a review", Life, 12, article number 1752.

漂着ハシボソミズナギドリの胃および小腸のプラスチック組成の研究

Plastics in the stomachs and intestines of short-tailed shearwaters stranded on Chigasaki City coast.

綿貫豊 ywata@fish.hokudai.ac.jp, 栗原達生 (北海道大学・水産科学院), 山下麗, 津田敦 (東京大学・大気海洋研)

Yutaka Watanuki ywata@fish.hokudai.ac.jp, Tatsuki Kurihara (Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University), Rei Yamashita, Atsushi Tsuda (Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo)

Abstract

Seabirds ingest plastics often and can be used as a monitor of its pollution. To use plastics in digestive organs of 1st year short-tailed shearwaters stranded along the Pacific coast of central Japan for monitoring its pollution at sea south of Japan, we analyzed size, type, color and materials of plastics in the proventriculus, gizzard and intestine of them using ATR and FT-IR. Occurrence of meso-plastics was higher in gizzard (92%) than proventriculus (50%). Hard polyethylene meso-plastics were most popular in proventriculus and gizzard as reported previously in adults and chicks of this species. We found 30 micro-plastics(max length, 89 μ m on average) in 4 subsamples of intestine.

1. はじめに

海洋プラスチック汚染は世界的な問題となっており、海鳥の多くの種においてプラスチック摂取が確認されている。摂取されたプラスチックはある程度の期間消化管に滞留し、口からの吐きもどされるか、小さく砕かれて小腸へ送られると考えられている(Roman et al., 2019)。しかし海鳥の消化管の各部位にそのサイズのどんなプラスチックがどのように分布するのか十分には分かっていない。ハシボソミズナギドリはタスマニアで繁殖し、北太平洋で越冬する。巣立った幼鳥のうち渡りでエネルギーを使い果たした個体は越冬海域へ到着した時に餓死して、わが国の太平洋沿岸に漂着することが頻繁にみられる。これらの胃中のプラスチックは我が国太平洋沿岸域のプラスチック汚染の指標位となる可能性がある。本研究はハシボソミズナギドリ幼鳥において、どんなサイズのこういった特徴を持つプラスチックが前胃、後胃(砂嚢)、小腸に分布するか明らかにした。

2. 材料・方法

2016年5月下旬に神奈川県茅ヶ崎市の海岸に漂着したハシボソミズナギドリ幼鳥のうち、消化管が残っていた24羽を用いた。そのうち不純物が少なかった4個体の小腸内容物については、FT-IRでマイクロプラスチックの分析をした。前胃、後胃、小腸を分けて取り出し1kg/Lに調製したヨウ化ナトリウム水溶液で消化管の中を洗浄しプラスチックを採集した。ヨウ化ナトリウム水溶液に浮いていたメソサイズプラスチックを目で見えて取り出し、残りは分液漏斗で12時間以上かけて密度分離した。メソサイズプラスチック片の写真からSwift Imaging3.0で最大長と幅を、マイクロ電子天秤(BM-5、A&D社製)で重さを0.001g単位で量り、形状はProvencher et al., (2017)を参考に6種類(フォーム状、シート状、ひも状、硬質の破片、ペレット、その他)、色で10種類(白、灰、黒、青、緑、橙、茶、赤、黄、ピンク)に分けた。プラスチックの材質については東京大学大気海洋研究所のATR(Attenuated Total Reflection、全反射測定法、Nicolet iS5 FT-IR及びiD7 ATRアクセサリ、Thermo Scientific社製)を用いて分析した。小腸のマイクロプラスチックについては、まず、密度分離した後の上澄みを目合いが10 μ mのニュークリポアメンブレンでろ過し過酸化水素水で有機物を分解した。しかし有機物が分解しきれなかったためこれを再びろ過し、10w/v%の

水酸化カリウム水溶液20mLに1日以上浸けた後、1mol/Lの塩酸7.1mLで中和し、ろ過した。その後、ヨウ化カリウム水溶液で1日以上かけて密度分離した後0.2 μ mのフィルターでろ過しFT-IR(Fourier transform infrared spectrometer、フーリエ変換赤外分光光度計、Nicolet iN10Mx、Thermo Scientific社製)で材質を特定した

統計解析は、部位間のプラスチック最大長と重さの違いはSteel Dwass検定を使い、メソサイズプラスチックとマイクロプラスチックの材質の組成はカイ2乗検定で有意差を検証した。

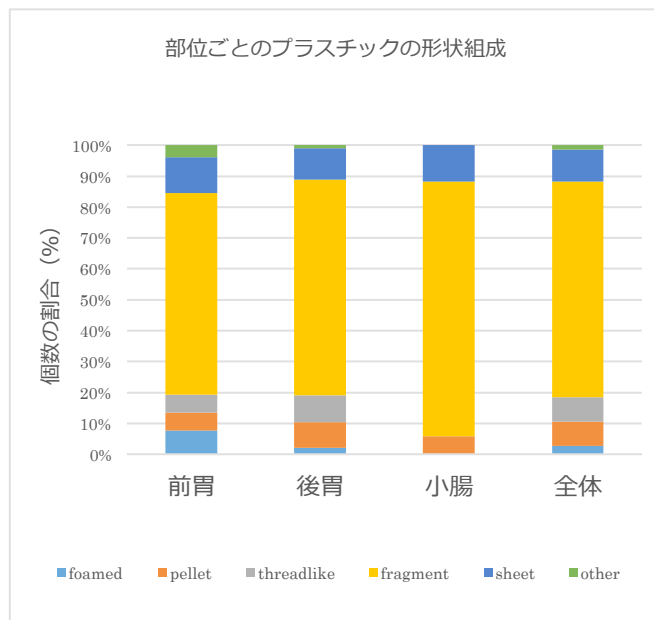
表1 各部位および消化管全体のメソサイズプラスチック出現率(%), 合計個数、平均個数、プラスチック1個の平均重量と最大長の平均。小腸のメソサイズプラスチックについてはさらに精査が必要である

	前胃	後胃	小腸	全体
出現率 (%)	50.0	91.7	20.8	95.8
合計個数	52	289	17	358
平均個数	2.17	12.0	0.71	14.9
平均重量 (mg)	107 ±512	12.1 ±15.6	7.40 ±10.5	25.9 ±200
最大長 (mm)	9.80 ±12.9	4.86 ±2.14	3.29 ±1.89	5.49 ±5.56

3. 結果と考察

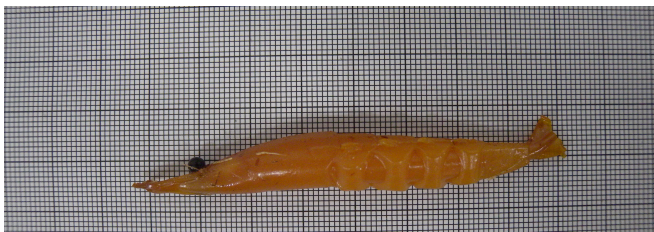
24個体中23個体(96%)で合計358個のメソサイズプラスチックが見つかった。出現率、合計個数、平均個数のどれも後胃が前胃よりも多かった(表1)。小腸については17片のメソサイズプラスチックが見つかったが、処理途中で後胃から移動した可能性はいまのところ否定できず、今後の精査が必要である。硬質の破片(70%)が最も多く、白(29%)、黒(20%)や黄色(14%)が多かった。プラスチック1個の最大長は前胃のほうが後胃より長かった($p<0.05$)。ポリエチレン(PE)が65%と最も多く次いで28%がポリプロピレン(PP)だった。なお、大型の疑似餌(エビのルアー)が前胃からみつかった。マイクロプラスチックは4個体の小腸から合計30個(平均7.50±7.83個)見つかり、PEが最も多い(13個、

43%) ことは同じだったが、次いでポリエチレンプロピレン (9 個)、ポリエチレンプロピレンジエン (5 個) が比較的多く、



PP(3 個)は比較的すくなく、最大長の平均は $89\mu\text{m}$ ($25\mu\text{m}$ – $484\mu\text{m}$) だった。

プラスチックの出現率や個数が後胃で多かった理由として (Furness, 1985; Shugart et al., 2023) が指摘するように前



胃・後胃間のくびれが考えられる。硬質の破片はハシボソミズナギドリ先行研究でも多く見られ (Carey, 2011; Puskic et al. 2019; Shugart et al. 2023; Yamashita et al. 2011)、これは硬いと胃中で劣化や分解されづらいからだと考えられている (Roman et al. 2016)。白色などの明るい色が多いことはハシボソミズナギドリの先行研究で報告がある (Shugart et al. 2023)。胃中プラスチックの材質はプラスチックの密度と海鳥の採餌する際の潜水深度が関係しているとされている (Yamashita et al. 2011)。一方本研究では、小腸のマイクロプラスチックでは PP の占める割合がメソサイズより小さい傾向があった。これは砂嚢で柔らかく砕かれやすい材質が増えるため硬質プラスチックの個数が減少したことを示すのかもしれない。

4. まとめと今後の展望

研究により漂着したハシボソミズナギドリの前胃、後胃に加え小腸のプラスチックを分析できることが確認された。プラスチックの構成は本種の先行研究とおおよそ似ていた。本研究で海鳥の胃中にあるポリエチレンなどの柔らかいプラスチックはマイクロプラスチックになりやすく、小腸に排出されやすい可能性があることが示唆された。しかし本研究で見つかったマイクロプラスチックがハシボソミズナギドリに摂取される前からすでにマイクロプラスチックだった可能性もある。そのため今後の研究では小腸だけではなく前胃と後胃のマイクロプラスチックも分析することで摂取されたプラスチ

ックの動向がより詳細に分かることが期待される。

参考文献

- (1) Carey, M. J. (2011). Intergenerational transfer of plastic debris by Short-tailed Shearwaters (*Ardenna tenuirostris*). *Emu*, 111(3), 229-234. <https://doi.org/10.1071/MU10085>
- (2) Furness, R. W. (1985). Ingestion of plastic particles by seabirds at Gough Island, South Atlantic Ocean. *Environmental Pollution. Series A, Ecological and Biological*, 38(3), 261-272. [https://doi.org/10.1016/0143-1471\(85\)90131-X](https://doi.org/10.1016/0143-1471(85)90131-X)
- (3) Provencher, J. F., Bond, A. L., Avery-Gomm, S., Borrelle, S. B., Bravo Rebolledo, E. L., Hammer, S., Kühn, S., Lavers, J. L., Mallory, M. L., Trevail, A., & Van Franeker, J. A. (2017). Quantifying ingested debris in marine megafauna: A review and recommendations for standardization. *Analytical Methods*, 9(9), 1454-1469. <https://doi.org/10.1039/c6ay02419j>
- (4) Puskic, P. S., Lavers, J. L., Adams, L. R., Grünenwald, M., Hutton, I., & Bond, A. L. (2019). Uncovering the sub-lethal impacts of plastic ingestion by shearwaters using fatty acid analysis. *Conservation Physiology*, 7(1), 1-9. <https://doi.org/10.1093/conphys/coz017>
- (5) Roman, L., Paterson, H., Townsend, K. A., Wilcox, C., Hardesty, B. D., & Hindell, M. A. (2019). Size of marine debris items ingested and retained by petrels. *Marine Pollution Bulletin*, 142(April), 569-575. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.021>
- (6) Roman, L., Schuyler, Q. A., Hardesty, B. D., & Townsend, K. A. (2016). Anthropogenic debris ingestion by avifauna in eastern Australia. *PLoS ONE*, 11(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158343>
- (7) Shugart, G. W., Waters, C. L., FitzPatrick, J. D., Kaler, R. S. A., & Vlietstra, L. S. (2023). Short-tailed shearwater (*Ardenna tenuirostris*) plastic loads and particle dimensions exhibit spatiotemporal similarity in the Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 192(February), 115038. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115038>
- (8) Yamashita, R., Takada, H., Fukuwaka, M. aki, & Watanuki, Y. (2011). Physical and chemical effects of ingested plastic debris on short-tailed shearwaters, *Puffinus tenuirostris*, in the North Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2845-2849. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.008>

海洋性細菌 *Rubrivirga marina* の光駆動 Cl⁻ポンプ型ロドプシンの分子論的研究

Molecular study on light-driven Cl⁻ pumping rhodopsins of marine bacteria, *Rubrivirga marina*

井上 圭一, 東大・物性研, E-mail: inoue@issp.u-tokyo.ac.jp
吉澤 晋, 東大・大気海洋研, E-mail: yoshizawa@aori.u-tokyo.ac.jp
永田 崇, 東大・物性研, E-mail: nagata@issp.u-tokyo.ac.jp
Keiichi Inoue, The Institute for Solid State Physics, The University of Tokyo
Susumu Yoshizawa, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Takashi Nagata, The Institute for Solid State Physics, The University of Tokyo

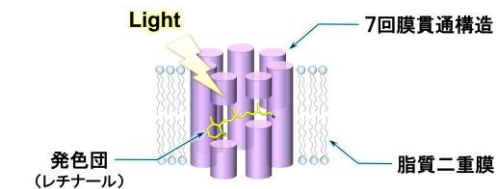
Abstract

Microbial rhodopsins are a superfamily of photoreceptive membrane proteins, primarily functioning as light-driven ion pumps to convert sunlight energy into chemical energy. Here, we explored the color-tuning mechanism of two inward Cl⁻ pumping rhodopsins, R28HR1 and R28HR2, from *Rubrivirga marina* SAORIC-28^T, which exhibit different absorption wavelengths by 29 nm. R28HR1 showed a significant blue-shift in the absorption spectrum of the retinal chromophore at the physiological Cl⁻ concentration, while no significant Cl⁻ binding occurred in the dark state of R28HR2. The laser flash photolysis measurement revealed transient Cl⁻ binding during the photocycle of R28HR2. It was discovered that R28HR2 can transport Cl⁻ with longer wavelength light by avoiding Cl⁻ binding in the dark state. This represents the first example of Cl⁻ pumping rhodopsin employing such a mechanism, laying a foundation for the development of next-generation optogenetic tools.

1. はじめに

微生物ロドプシンは主に細菌やアーキア、単細胞真核微生物、巨大ウイルスなどの幅広い生物種が持つ、7回膜貫通型の光受容タンパク質である。一般に、微生物ロドプシンはタンパク質の中央にレチナール色素（発色団）を結合し、これを用いて可視光を吸収することで、多様な分子機能を光によって発現させる（図1）。2000年以降ゲノム・メタゲノム解析技術の進展と共に、有光層に棲む海洋性の細菌やアーキアの多くが、光駆動型のH⁺ポンプとしてはたらく微生物ロドプシンを有しており、光エネルギーからATPを合成していることが明らかになってきている。このことから、微生物ロドプシンの光受容機構の詳細な理解は、海洋の炭素循環を把握する上で必要不可欠であると考えられている。また近年では、イオンポンプ型やイオンチャネル型の微生物ロドプシンは、光依存的に膜電位を操作し、動物の神経発火をコントロールするための分子ツールとして、オプトジェネティクス（光遺伝学）分野において、神経科学研究に幅広く用いられている。

微生物ロドプシンの基本構造



主な微生物ロドプシンの機能

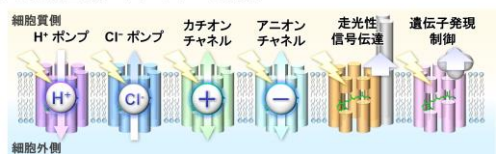


Fig. 1 Structure (top) and functional diversity (bottom) of microbial rhodopsins, the subject protein of this research project.

本申請の共同研究教員である吉澤らは、新種の海洋性細菌

である *Rubrivirga marina* SAORIC-28^T のゲノム上に、2種類の内向き Cl⁻ポンプ型ロドプシン (R28HR1、R28HR2) の遺伝子が存在することを見出した (Nakajima *et al. Microbes Environ.* 2018)。これら2つのタンパク質は極めて高いアミノ酸配列の相同性を示すが、最近になり大腸菌によって異種発現したタンパク質の吸収が 29 nm と大きく異なることが明らかとなった (図2) (Inoue *et al. Commun. Biol.* 2021)。一つの種がこれほどまでに大きく異なる吸収波長の Cl⁻ポンプを持つのはこの例が初めてであるが、*R. marina* における2つの Cl⁻ポンプの役割や、それらがどの様に吸収波長の多様化を達成しているか、その分子論的メカニズムはいまだ不明である。そこで本研究では R28HR1 並びに R28HR2 の吸収波長の違いを生み出す分子的要因を明らかにすることを目指した。

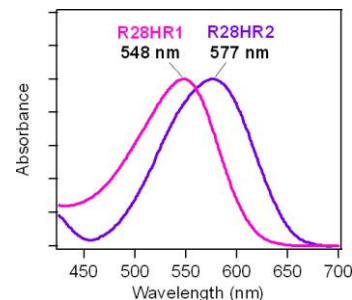


Fig. 2 Visible absorption spectra of two Cl⁻ pumping rhodopsins, R28HR1 and R28HR2, from *R. marina* SAORIC-28^T

2. 問題設定・方法

既知の Cl⁻ポンプ型ロドプシンでは、タンパク質中に結合する Cl⁻がレチナールの吸収スペクトルに大きく影響することが知られている。そこで本研究では、R28HR1 と R28HR2 の吸収波長の違いが、タンパク質中の Cl⁻結合によって引き起こされる可能性があると考え、精製タンパク質に対する Cl⁻結合を分光学的に調べた。さらに、これらの分子の光反応における Cl⁻の動態を、ナノ秒パルスレーザーを用いたレーザーフラッシュフォトリシス法により調べた。

3. 結果と考察

一般にCl⁻ポンプ型ロドプシンはタンパク質内部にCl⁻が結合するとレチナールの吸収波長が短波長シフトする。そこで大腸菌から精製したR28HR1およびR28HR2について、Cl⁻濃度を変えながら、可視吸収スペクトルを測定し、吸収スペクトルの変化からCl⁻の結合の様子を調べた(図3)。R28HR1については、Cl⁻濃度の上昇に伴い、吸収波長が568 nmから550 nmへと短波長シフトした。この変化をHenderson-Hasselbalchの式を用いてフィッティングしたところ、Cl⁻の解離定数(K_d)は20 mMと見積もられた。これは既知の一般的なCl⁻ポンプ型ロドプシンの K_d と同程度のものである。これに対し、R28HR2はCl⁻濃度の増加に伴い、吸光度の減少と約9 nmと極めて小さなシフトのみを示した。また K_d も1 M以上とR28HR1のものより、かなり大きい値となった。

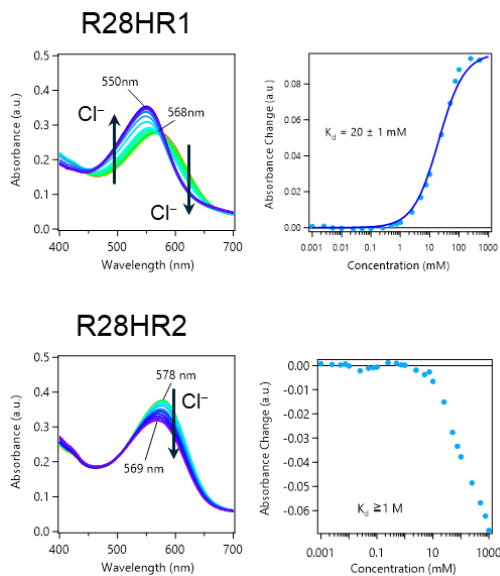


Fig. 3 Visible absorption spectra and absorption change of R28HR1 (top) and R28HR2 (bottom) at different Cl⁻ concentrations.

ここからイオン輸送活性の測定が行われた100 mM Cl⁻濃度では光照射前の暗状態のR28HR2にはCl⁻はほとんど結合していないと考えられる。そして我々は、一般的なCl⁻ポンプ型ロドプシンと異なり、R28HR2は光反応の途中でCl⁻を結合し、輸送するという仮説を立てた。それを確かめるため、新たにR28HR2の光反応に伴うレチナールの過渡吸収変化をレーザーフラッシュフォトリシス法により測定した(図4)。

この結果、R28HR2は光反応中に他のCl⁻ポンプ型ロドプシンには見られない、大きく吸収波長がシフトしたL_{blue}と呼ばれる状態を取ることが明らかとなった。さらにCl⁻濃度を上げるとL_{blue}の蓄積量が増加したことから、L_{blue}においてCl⁻が過渡的にタンパク質内部のレチナール付近に結合すると考えられる。

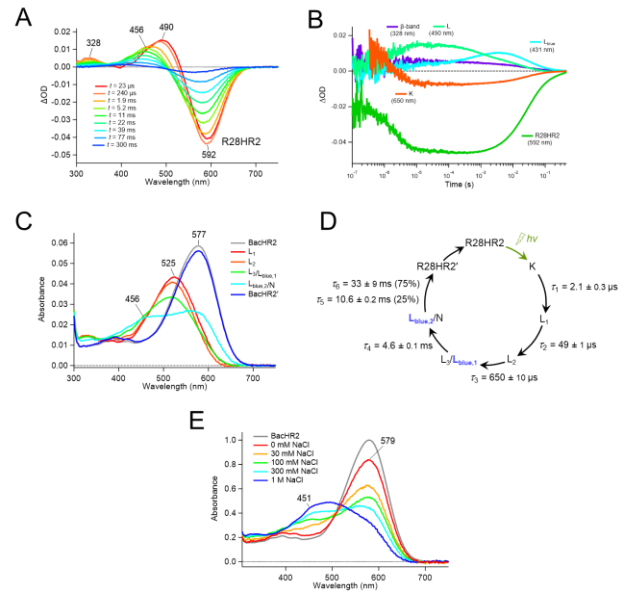


Fig. 4 (A and B) Transient difference absorption spectra (A) and time courses of transient absorption change (B) of R28HR2. (C) The absorption spectra of the dark and photointermediate states of R28HR2. (D) The photocycle model. (E) The spectra of the L_{blue,2/N} state at different Cl⁻ concentrations.

4. まとめと今後の展望

本研究の結果、R28HR2は暗状態でCl⁻を結合せず、光反応中で取り込むことにより、長波長吸収とCl⁻輸送の両方を達成していることが明らかとなった。他のロドプシンにおいてこの様な例は知られておらず、*R. marina* SAORIC-28^Tではゲノム上の2つのロドプシンの一方に対して、暗状態でのCl⁻結合を阻害し、レチナールの吸収を長波長シフトさせることで、幅広い波長の光をCl⁻の輸送に用いることができるよう進化したことが示唆される。また昨年度の学際連携研究において、暗状態の吸収波長の違いに、3残基のアミノ酸の違いが関わることが明らかにしており、今後はさらに光反応に対するこれらのアミノ酸の影響を調べることで、より詳細な分子メカニズムに関する知見が得られると期待される。またオプトジェネティクス分野では、操作光の組織透過性や非侵襲性に優れた、より長波長に吸収を持つロドプシンツールが求められることから、これらの知見は次世代の分子ツール開発の基盤となると期待される。本研究の成果については、現在関連する論文を準備中である。

参考文献

- (1) Nakajima Y., T. Tsukamoto, Y. Kumagai, Y. Ogura, T. Hayashi, J. Song, T. Kikukawa, M. Demura, K. Kogure, Y. Sudo, and S. Yoshizawa. 2018: "Presence of a haloarchaeal halorhodopsin-like Cl⁻ pump in marine bacteria" *Microbes Environ.* 33, 89-97.
- (2) Inoue K., M. Karasuyama, R. Nakamura, M. Konno, D. Yamada, K. Mannen, T. Nagata, Y. Inatsu, H. Yawo, K. Yura, O. Béjà, H. Kandori, and I. Takeuchi. 2021: "Exploration of natural red-shifted rhodopsins using a machine learning-based Bayesian experimental design" *Commun. Biol.* 4, 362.

乱流混合と酸素輸送プロセスに関する渦相関技術の構築：浅水境界層への応用

Development and application of the eddy-covariance technique to boundary-layer physics and turbulent flux of dissolved oxygen in shallow water environments

増永 英治, 茨城大学・地球・地域環境共創機構,

E-mail: eiji.masunaga.office@vc.ibaraki.ac.jp

川口 悠介, 東大・大気海洋研, E-mail: ykawaguchi@aori.u-tokyo.ac.jp

伊藤 幸彦, 東大・大気海洋研, E-mail:

Eiji Masunaga, Global and Local Environment Creation Institute, Ibaraki University

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

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

Abstract

Energy and mass transport induced by turbulent mixing play a crucial role in ocean and atmospheric circulations. However, mixing processes in coastal oceans and shallow lakes have not been understood well due to lack of suitable observational techniques. We employed a new method to infer turbulent mixing and associated oxygen flux based on the eddy covariance method for shallow coastal regions. In this year, the second year of this project, we focused on analyzing data obtained in the first year in a shallow lake, Kasumigaura, and prepare a mooring system with the oxygen flux sensor for ocean observations. We have succeeded in estimate eddy diffusivity and oxygen flux using microstructure velocity and oxygen observation in the lake. The vertical eddy diffusivity of oxygen is roughly ten times higher in the mixing period than that under stable stratified conditions.

1. はじめに

地球流体分野において、乱流混合による熱及び物質の輸送・拡散は、地球規模の物質循環や生態系ならびに自然環境の保全を考える上で重要な役割を担う。海洋中における乱流混合の測定技術は、1970～80年代にピエゾ素子を用いたシアープローブを搭載した曳航タイプの乱流微細構造観測装置が確立されたが、現在はシアープローブを搭載した自由落下式の乱流計測装置が主流である。VMP(Rockland Scientific)やTurboMAP(旧アレック電子)等として知られるこれらの装置は、乱流シアアを直接計測することで乱流エネルギー散逸率を直接求めることができる。更に近年では、微細な乱流構造を観測する自立式潜水機(AUV)が開発され、海洋中の乱流強度をより高い自由度で機動的に観測する技術や手法が確立されつつある。

しかしながら、自由落下式の乱流計測装置は船舶から計測する必要があり、長期間におよぶ継続的な調査を行うことが難しい。また、AUVを用いた調査は運用コストの高さが最大のネックであり、通信トラブルによる亡失のリスクが拭いきれない。加えて技術的に沿岸海域や湖沼でのAUV利用は難しく、湖底や海底境界近傍といった水底の境界層を攻めるような観測は事実上不可能である。しかしその一方で、海底・湖底近くは運動エネルギーがシンクする重要な領域であり、乱流混合に伴う物質輸送は海洋や湖沼の生態系に強く結びつくことが示唆されている(Masunaga et al., 2020a)。また浅い沿岸海域は、乱流混合や物質輸送のホットスポットと言われており(Carter and Gregg, 2002)、地球規模の気候変動や生態系を把握する上で重要な情報を含んでいる可能性が高い。中でも乱流混合に伴う酸素輸送は海洋生態系や地球規模の物質循環に直接的な影響を及ぼすため(Couespel et al., 2019)、酸素循環過程の解明は特に重要な課題である。

したがって境界層における乱流混合の精密な計測技術は、海洋科学をはじめとする多くの学際分野から求められる技術であると言える。

2. 問題設定・方法

本研究では、海洋乱流計測を発展させ生態系諸現象に関わる乱流による酸素輸送動態を明らかにするために、流速と溶存酸素の高解像度サンプリングを行う観測装置を開発し実際の海洋内で運用することを目的とする。研究2年目の本年度は、1年目に淡水湖である霞ヶ浦に設置した乱流酸素フラックス計測装置の計測結果の解析と学術論文誌への投稿、並びに実際の海洋における長期係留観測へ向けた準備や海域調整を行なった。

開発した乱流酸素フラックス計測装置は、Vector ADV (Nortek)及び高速応答DO計RINKO-EC(JFE Advantech)で構成され、背景場の計測のために2MHz Aquadopp Profiler (Nortek)、高速応答水温計SBE-56(Sea Bird)とともに霞ヶ浦において設置観測を行なった。開発した乱流フラックス計測装置による直接的な乱流フラックス推定と並行しEllison Scaleを用いた間接的な乱流フラックス推定も行った(Masunaga et al., 2023)。霞ヶ浦における観測詳細は、1年目の研究報告書を参照されたい。

霞ヶ浦における調査で確立した乱流フラックス計測装置を実際の海洋内で運用するために、利根川河口(銚子)沖合の沿岸海域に設置することを計画している。利根川河口沖の海域は、黒潮と親潮が合流する混合水域であることに加え、利根川からの河川水供給が存在し海洋生態系と関わる諸現象について調査を行うには最適な海域であると言える。またこの海域は、黒潮が本州沿岸から離岸する海域であり、北太平洋における物質輸送動態に強く関わる海域であるとも言える。本年度は利根川河口沖合海域における係留観測調査の観測装置の設計と漁業調整に注力した。したがって、本報告書では1年目で取得された霞ヶ浦における観測データ解析の進捗並びに、利根川河口沖における試験的な調査結果を紹介し、次年度へ向けた乱流酸素フラックス計測装置を用いた係留調査の準備状況を報告する。

3. 結果と考察

3.1 霞ヶ浦における調査データの解析進捗

本研究1年目の昨年度は、霞ヶ浦(北浦)において調査を実施したが乱流強度や乱流による輸送量についての解析検証は行わなかった。2年目の本年度は、調査データの詳細な検証を行い解析結果について国際学術雑誌 *Limnology* に投稿をし現在査読中である(Kawaguchi et al., 2024). 本年度の進捗成果の中心的部分について本節では紹介する。運動量、熱とDOの乱流による輸送量について、クロススペクトルを積分し求める手法と一般的な共分散から求める手法の2通りの解析法を比較した。これら2つの手法から求めた乱流輸送量は、運動量、熱、DOともに相関係数が0.9以上であり強度もほぼ等しかった(Figure 1)。したがって、本研究が提案する乱流計測手法の妥当性が示された。夏季の太陽光放射による強成層時における熱輸送量及び酸素輸送量は湖底方向(下向き)へそれぞれ $30\sim40\text{ W m}^{-2}$ と $1\sim1.5\times10^{-5}\text{ m s}^{-1}\text{ mg L}^{-1}$ 程度であった(Figure 1, "stratified" periods)。一方、風応力により混合が強化されていた期間には湖底から水面方向への上向きの輸送が現れていた(Figure 1, "Not stratified" period)。この混合期の上向きのフラックスについての原因は明確には明らかになっていないが、混合によって3次元的な流れが強化されることで鉛直1次元での観測では説明できない現象が発生していたと考えられる。乱流渦拡散係数については、成層期と混合期で10倍程度の大きさの違いが見られた。また渦拡散係数は、乱流プラファイラーで得られた結果と同様な強度を示し、本研究が提案する手法の妥当性を確認できた。

3.2 利根川河口周辺における係留調査

当初計画では、霞ヶ浦で確立した渦相関法を用いた乱流酸素輸送計測方法を利根川河口周辺の実海域に設置し調査を実施する予定であった。実際に海洋での係留用のセンサーや治具を準備し係留への計画を進めていたが、現場における漁業調整とシップタイムのスケジュールに不都合があり本研究が提案する乱流酸素フラックス計の利根川河口沖での係留観測は次年度以降

に延期した。乱流酸素フラックス計を用いた調査は実現しなかったが、予備調査として利根川河口域水深約100mの地点にADCP流速係留系を設置し、さらに周辺の物理構造の観測を行った。この予備調査の結果から、利根川河口周辺では非線形内部潮汐が砕波している様子が捉えられ、強い乱流混合が発生している可能性が示唆された(紙面の都合上図は省略)。

4. まとめと今後の展望

本研究で確立した乱流酸素フラックス計測装置を用いた調査をまず利根川河口周辺等の実海域での運用を行い、海洋研究コミュニティ内での手法の共有化を目指し、乱流輸送研究の推進を行なっていく。

参考文献

- (1) Carter, G. S., and M. C. Gregg, 2002: "Intense, variable mixing near the head of Monterey Submarine Canyon", *Journal of Physical Oceanography*, 32(11), 3145-3165.
- (2) Couespel, D., M., Lévy, and L., Bopp, 2019: "Major contribution of reduced upper ocean oxygen mixing to global ocean deoxygenation in an earth system model", *Geophysical Research Letters*, 46(21), 12239-12249.
- (3) Kawaguchi, Y., E., Masunaga, T., Ouchi, T., Kitamura, and E. Y., Son: "Eddy-covariance measurements of turbulent fluxes across oxygen-depleted benthic layer in a shallow stratified lake", *Limnology*, *submitted*.
- (4) Masunaga, E., and S., Komuro, 2020: "Stratification and mixing processes associated with hypoxia in a shallow lake (Lake Kasumigaura, Japan)", *Limnology* 21(2), 173-186.
- (5) Masunaga, E., S., Itoh, and T., Kitamura, 2023: "Vertical mixing and oxygen flux caused by daily sea breezes in a shallow stratified lake", *Limnology*, 24, 95-109.

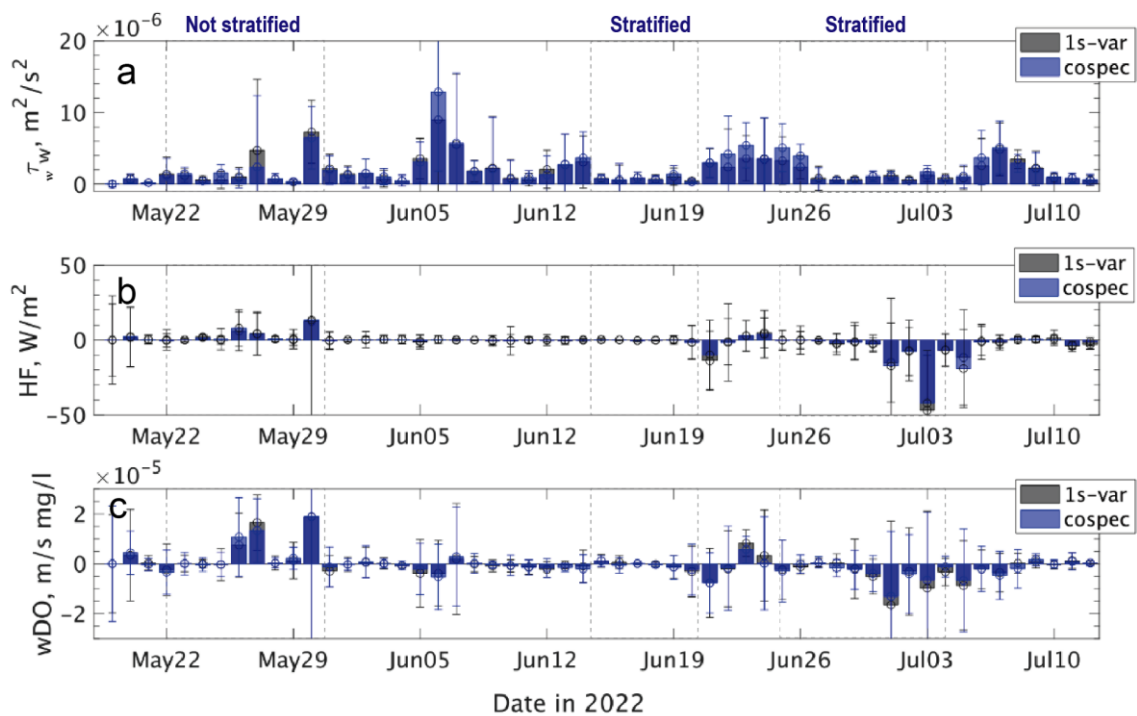


Figure 1. (a) Turbulent momentum flux, (b) heat flux and (c) dissolved oxygen flux observed near the bottom in Lake Kasumigaura (Kitaaura) in 2022. Gray and blue colors show the results from the covariance and cross spectra methods, respectively.

エイ類はなぜ胚休眠を行うのか：生理学と生態学の総合研究からの解明

Why embryonic diapause occurs in batoid species: insights from interdisciplinary research of physiology and ecology.

山口敦子, 長崎大・水産, E-mail: y-atsuko@nagasaki-u.ac.jp
兵藤 晋, 東大・大気海洋研, E-mail: hyodo@aori.u-tokyo.ac.jp
古満啓介, 長崎大・水産, E-mail: furusuke@nagasaki-u.ac.jp
川野真依, 東大・大気海洋研, E-mail: kawano-mai009@g.ecc.u-tokyo.ac.jp
高木 互, 東大・大気海洋研, E-mail: watarutakagi@aori.u-tokyo.ac.jp

Atsuko Yamaguchi, Faculty of Fisheries, Nagasaki University
Susumu Hyodo, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Keisuke Furumitsu, Faculty of Fisheries, Nagasaki University
Mai Kawano, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo
Wataru Takagi, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Embryonic diapause describes the process of temporarily halting embryonic development and extending the gestational period to give birth at an appropriate time. This strategy is widely distributed in plants, insects, and vertebrates, and ensures successful reproduction. Among fish, embryonic diapause occurs in viviparous batoids. However, the mechanisms underlying embryonic diapause regulation remain unknown. We conducted experimental studies and field surveys on a fan ray, *Platyrrhina tangi*, to explore the mechanism of embryonic diapause induction and reactivation in elasmobranchs. We obtained the effects of environmental factors and internal nutritional status on embryonic diapause, and hormonal markers related to the reactivation of embryonic diapause and parturition. Our study findings contribute to establishing a research method using an experimental rearing model and elucidating the embryonic diapause regulatory mechanism.

1. はじめに

胚休眠とは、適切な時期に子を産むため、胚の発育を一時的に停止させて妊娠期間等を延長することを指し、子の生存率を高めて繁殖成功に導く重要な生存戦略である。様々な生物群に広く見られる現象であり、比較的研究が進んでいる哺乳類では 130 種以上で知られている。一方、魚類ではごくわずかな種でその存在が知られるだけで、その実態はほとんどわかっていない。では、このような胚休眠には、どのような意味があるのだろうか？

世界には約 300 種の胎生エイ類が知られており、そのうちのごく少数の種が胚休眠を持つことが知られている。申請者は有明海に生息する胎生エイ類のほぼ全ての種で胚休眠期をもつこと、多くの種が長期間の休眠期を持つのに対し、ごく短期の胚休眠を持つ種が存在することを長期に及ぶフィールド研究により、初めて明らかにした。胎生エイ類の繁殖戦略を明らかにすることは、エイ類の進化の道筋を紐解くことにとどまらず、海洋生態系の成り立ちと維持を考える上でも必要不可欠であり、極めて重要である。現状では申請者らの研究により、胎生エイ類の胚休眠の存在と実態がようやく明らかになりつつあるところで、胚休眠がどのようなメカニズムで制御されているのかは今のところ未解明である。

2. 問題設定・方法

胎生種の胚の発育は子宮内で起こるため、卵生種のように容易に観察できない。また、一般に多くの種が大型で運動性が高く、長い繁殖周期を持つことなどから、現状では飼育による研究自体が極めて困難である。しかし、胚休眠のメカニズムを解明するためには、飼育下での研究手法を導入するほかない。そのためには、胎生エイ類の飼育に適した研究施設と実験に適したモデル生物が必要である。これまで長崎大学

の山口グループと大気海洋研究所の兵藤グループとは、板鰐類の生殖メカニズムに関する共同研究について様々な議論を進めてきた。その結果、有明海に生息する胎生エイ類の中では捕獲による死亡が少なく、比較的小型で最もおとなしい「ウチワザメ *Platyrrhina tangi* (以前は *Platyrrhina sinensis*)」に注目し (Yamaguchi and Kume, 2009)、2022 年には予備的な研究として、有明海の島原沖で捕獲したウチワザメを、豊洲市場を経由して大気海洋研究所まで活魚輸送することに成功した。さらには、大気海洋研究所において半年間の長期飼育を行い、輸送した個体の 1 尾が胚休眠を解除し、胎仔を成長させた後、出産させることに成功した。このウチワザメをモデルに、その生態学的意義や進化の道筋を理解するため、世界で初めてサメ・エイ類の胚休眠導入・解除機構を明らかにすることことを最終目的におき、以下の方法に基づく生理学と生態学の学際的な研究を計画した。

- 1) 胚休眠に与える環境要因の影響：胚休眠を制御する要因として一般的に想定される「水温と光周期」に注目する。大気海洋研究所の循環水槽で飼育し、島原沖の水温変化を模倣して徐々に水温を上昇させるとともに、短日条件から長日条件へと変化させる。この通常飼育群に加えて、水温変化を 20 度で止める群、短日条件のままで飼育する群などの実験群を作成する。飼育個体は、超音波画像診断により子宮内の様子を非侵襲的に調べ、胚休眠の解除を確認する。
- 2) 摂餌環境・体内の栄養状態の影響：予備実験においては、同じ環境で飼育したにもかかわらず、胚休眠を解除した個体は一部に限られた。そこで、1) の通常飼育群に対して、摂餌量を変化させ、胚休眠解除に与える影響を調べる。
- 3) 血中ホルモン濃度の変動解析：胚休眠解除の体内メカニズ

ムを明らかにするため、一部の飼育個体から毎週採血を行い、血液中の性ステロイドホルモンの変動を明らかにする。

4) フィールド調査：飼育実験と並行して、島原沖でのフィールド調査も経時的に行い、ウチワザメの胚休眠状態や血液中のホルモンレベルを測定し、飼育実験個体との比較検討を進める。

3. 結果と考察

これまでに確立した方法により、有明海の島原沖において底曳網等によりウチワザメを採集し、長崎魚市場、豊洲市場を拠点として東京大学大気海洋研究所へ活魚輸送した。

ウチワザメは良い状態で輸送できたため、予定通り大気海洋研究所において飼育試験を開始し、約半年間の飼育期間中に予定通りの実験を行い、33 個体分のデータを得ることができた。33 個体中、28 個体は解剖に供した。なお、出産すべき個体は 10 月中旬までにいずれも出産を終えたことを確認した。

1) 胚休眠に与える環境要因の影響：飼育期間中に 30 個体中 9 個体 (30%) で休眠が解除されていないことが判明した。同じ水槽内の等しい環境下で飼育していたにも関わらず、個体によって休眠解除のタイミングが異なっており、また休眠が解除しない個体も見られたことから、光周期や水温といった基本的な環境条件が休眠解除を決定づけるものではないことが分かった。

2) 摂餌環境・体内の栄養状態の影響：摂餌や胎内の栄養状態の影響について、肝臓重量指数を指標に調べたが、現状では特定の傾向を見出すことはできなかった。個体の生理状態などもあるため、摂餌環境・体内の栄養状態の影響を調べるためには今後更なる実験を行う必要がある。

3) 血中ホルモン濃度の変動解析：胚休眠解除の体内メカニズムを明らかにするため、一部の飼育個体から毎週採血を行い、血液中の性ステロイドホルモンの変動を調べた。長いものでは約 5 か月間の長期にわたり変動を追うことが出来た。各個体の変動結果より以下のことを読み取ることが出来た。

- ・胚休眠が解除されて成長が始まるとエストラジオールとテストステロンが上昇する。
- ・プロゲステロンは子宮内に受精卵は胎仔がいる時には高く、出産が近づくと低下する。ウチワザメでもプロゲステロンが下がると出産してしまったことから、哺乳類と同様に妊娠の維持にかかわっている可能性が高い。

今回、胚休眠を解除する因子までは明らかにできなかったが、エストラジオールとテストステロンは胚休眠解除のマーカーになり、プロゲステロンの低下は、出産が近いことのマーカーと捉えることが出来た。以上の成果は、今後の更なる研究の進展に向けて重要な知見となる。

4) フィールド調査：島原沖でのフィールド調査は海況等の影響もあり、十分な試料数を確保できなかったため、過年度に蓄積していたデータを合わせて検討を加えた。その結果、胚休眠が解除される時期には飼育実験で見られたような大きな個体差はなく、また成熟メスの妊娠率もほぼ 100% であり、いずれの個体も時期が来れば全ての個体で胚休眠が解除されていた。この結果は飼育実験とは大いに異なるものであった。

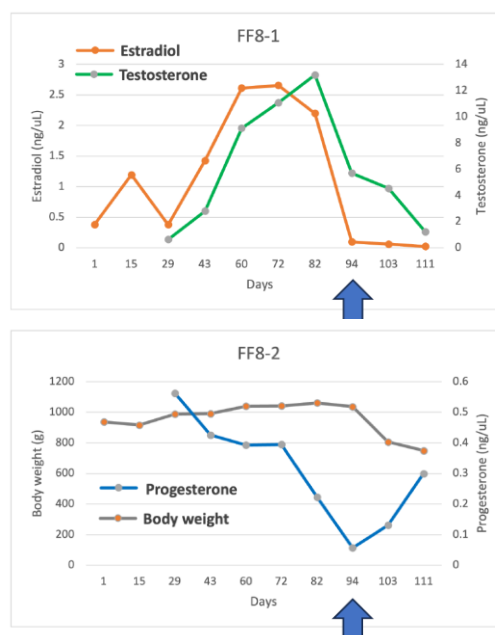


Fig. 1. Temporal sex steroid hormone and body weight variations in *Platyrrhina tangi* (FF8) who gave birth on day 94 (blue arrow) after the beginning of captivity

4. まとめと今後の展望

本研究では胚休眠に与える環境要因の影響や摂餌環境・体内の栄養状態の影響についての見解を得ることができ、また、血中ホルモン濃度の変動解析により、エストラジオールとテストステロンは胚休眠解除のマーカーになることに加え、プロゲステロンの低下は出産が近いことのマーカーと捉えることが出来た。また、生理学と生態学との融合により新たな知見も得られた。胚休眠とは本来繁殖成功を高めるために採用されている生存戦略の一つであるが、胎仔の成長を短期間に集中させる分、その間の負担は想像以上に大きいものであり、重要な時期に受ける些細なストレスや内的・外的要因の差異が、妊娠の進行や胎仔の成長を阻む可能性があることがわかった。本研究で行った学際的研究は、自然界ではどのような制御機構により胚休眠の導入や解除が成立するのか、そのメカニズムを明らかにするためには極めて有効な手法である。

海洋を含む様々な生態系においては、それぞれの種が競合種や捕食者を避け、最適となるような生存・繁殖戦略をとると考えられ、今回注目する胚休眠は、様々に変化する生物・物理環境下で生存率を高めるために柔軟に制御されているのではないかと。そのため、胚休眠のメカニズムの解明は、板鰐類の適切な保全に加え、海洋の生態系レベルでの保全にもつながる重要な研究である。今後、胚休眠の導入と解除の仕組みを明らかにできれば、胚休眠の研究は飛躍的に進展し、板鰐類の進化・系統・生態・遺伝学的分野からのさらなる課題に着手可能となる。加えて、脊椎動物の進化を紐解く上でも大きなインパクトを与え、新たな学際的研究に発展することが大いに期待される。

参考文献

- (1) Yamaguchi, A. and Kume, G. Reproductive biology of the fanray, *Platyrrhina sinensis* (Batoidea: Platyrrhinidae) in Ariake Bay, Japan. Ichthyol. Res., 56, 133-139, 2009

サンゴから学ぶ宿主-共生体間のレドックス共有メカニズム

Redox network mechanism between hosts and symbionts in coral reefs

嶋川 銀河, 関西学院大学 生命環境学部, E-mail: ginshimakawa@gmail.com

高木 俊幸, 東京大学 大気海洋研究所, E-mail: takagi@aori.u-tokyo.ac.jp

中西 周次, 大阪大学 基礎工学研究科, E-mail: nakanishi.shuji.es@osaka-u.ac.jp

Ginga Shimakawa, School of Biological and Environmental Sciences, Kwansei Gakuin University

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

Shuji Nakanishi, Graduate School of Engineering Science, Osaka University

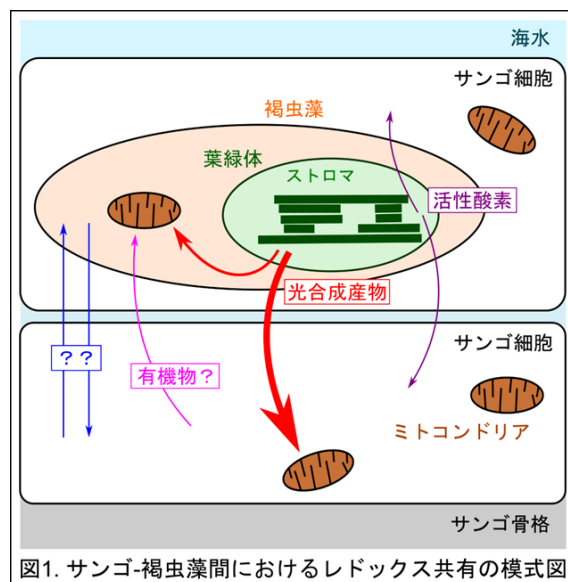
Abstract

Coral bleaching is one of serious problems in marine environments caused by global warming. Photodamage to photosynthetic apparatus in symbiotic algae, the so-called “photoinhibition”, is proposed to be a main cause of coral bleaching at high temperature in relation to a collapse of redox balance in the photosynthetic cells, resulting in the production of reactive oxygen species. However, it has not yet been demonstrated in the major corals *Acropora* sp. in a laboratory-level physiological experiment, and the molecular mechanism of the high-temperature induced coral bleaching is still not fully understood. In this project, the photosynthetic physiologist Dr. Shimakawa collaborated with Dr. Takagi who had established the system to cultivate laboratory strains of *Acropora tenuis* to investigate the redox state of photosynthetic apparatus during a high-temperature treatment in the unique system in the Dr. Takagi’s laboratory. Finally, we demonstrated coral bleaching at high temperature is mainly caused by photoinhibition in that system.

1. はじめに

サンゴ礁は生物多様性の観点において最も重要な生態系の一つである。海洋においてサンゴ礁が占める面積は1%にも満たないが、その中には全海洋生物の約4分の1に相当する9万種の生物が生息しており、これら多種多様な生物を支えるサンゴ礁は、漁業や観光業の観点において私たちの生活に重要な役割をもつ。しかし近年では世界規模でサンゴ礁の減少が深刻な問題になっており、今後の将来を見据えたサンゴ礁の保全やサンゴ養殖技術の確立に向けた取り組み、さらにはサンゴに関する基礎研究の重要性が高まっている。

造礁サンゴは、その細胞内に渦鞭毛藻の一群である褐虫藻を共生させており、日中は主に一次生産者である褐虫藻が作り出した光合成産物からエネルギーを得ている。しかしながら、海水温の上昇など環境変動によってサンゴ・褐虫藻のどちらかがストレスを受けると、サンゴは白化し、死んでしまう。サンゴ白化の引き金となる分子メカニズムは未だ不明であるが、これまでの研究から宿主-共生体間における酸化還元（レドックス）バランスの崩壊がその一端を担うことが推定される。例えば、共生関係において重要とされる光合成産物の受け渡しは、広義には共生体→宿主への還元力輸送と捉えることができ、またサンゴ白化の主要因として頻繁に議論される活性酸素は、レドックス共有が崩れた結果に生じる有毒な副産物である（図1）。しかし、どのような形で還元力輸送が行われているのか未だ明らかでなく、そもそもサンゴにおける細胞内レドックスの評価について信頼のおける手法が確立していない。第一に、実験室でのサンゴ飼育が難しく、再現性の良い生理学実験材料を確保することが極めて困難である。第二に、宿主-共生体といった複数の生物種が混在した中で細胞内レドックスを評価するためには高度に専門的な光合成測定技術が必要である。本研究では、専門分野の異なる研究者間における学際連携を通じて、これら2つの問題を克服し、サンゴ-共生体間におけるレドックス共有の非破壊評価法を開発する。これを用いることで、サンゴの白化とレドックス共有の因果関係を検証するとともに、還元力の輸送にはたらく分子の実体の推定に取り組む。



2. 問題設定・方法

A. クロロフィル蛍光・吸収測定によるサンゴ-褐虫藻レドックス評価系の開発

パルス変調クロロフィル蛍光・吸収測定によって褐虫藻の行う光合成の場である葉緑体内のレドックスレベルを高い時間分解能で非破壊的に評価する。光合成電子伝達系では水の光酸化によって電子が生じるため、葉緑体内のレドックスレベルは光照射によって外部から操作が可能であり、また短時間の光照射の後にみられる葉緑体ストロマの緩やかな酸化を解析することで、葉緑体内（外）への還元力流入（流出）に係る情報を抽出することができる（Shimakawa et al. 2022）¹⁾。共同研究者の一人である嶋川は当該解析のスペシャリストであり、また測定に用いるパルス変調型機器は、共同研究者である中西の研究室において整備済みである。

一方で、大気海洋研究所の共同研究教員である高木は、実験材料であるサンゴの飼育や、環境条件の管理を担当する。実験室内でのサンゴ飼育、維持、管理は非常に困難であり、

これまでサンゴを用いた生理学実験を行う際に最も大きな障壁となってきたが、共同研究教員の高木助教は、独自に採取したウスエダミドリイシから遺伝子型が凡そ統一されたサンゴ個体群、いわゆる実験室株の樹立に成功しており、継続的な維持・管理を行っている (Nishioka et al. 2023) ²⁾。

B. サンゴ-褐虫藻間におけるレドックス共有とサンゴ白化との因果関係の解明

項目 A において開発したレドックス評価法に基づき、サンゴの白化とレドックス共有崩壊との関係性を明らかにする。嶋川は光合成生理解析および光化学系タンパク質の分解評価を担当し、高木はサンゴの管理、環境ストレス処理、および色調解析による白化の評価を担当する。高木はウスエダミドリイシを緩やかな昇温条件で高温処理することで人工的な白化誘導に成功しているため、この系を用いることで白化過程におけるレドックス共有の変化をパルス変調クロロフィル蛍光・吸収測定により解析できる。

3. 結果と考察

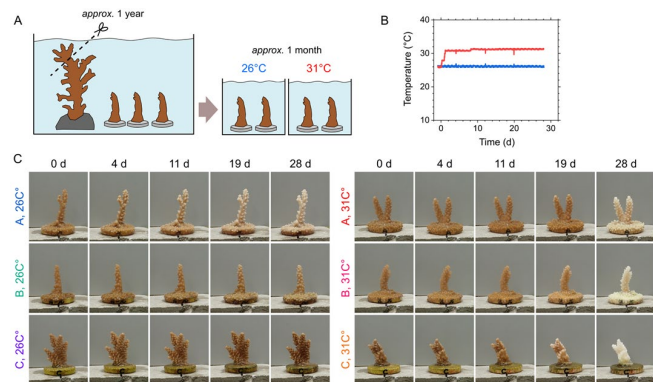


Figure 1. High temperature treatment of *Acropora tenuis* laboratory strains. Three independent strains were kept for approximately 1 year in the laboratory, each part of which ($n=4$) were cultured in small tanks adjusted to 26°C and 31°C for 4 weeks as shown in the diagram (A). (B) Time course of the water temperatures in each tank. (C) Photos of three strains (A, B, and C, respectively) *A. tenuis* during the 4 weeks culture.

実験室で約 1 年間継続飼育したウスエダミドリイシ (*Acropora tenuis*) の独立した 3 株 (A~C 株) において各 4 つのフラグメントを作成し、実験水槽へ移した (Fig. 1)。それぞれ通常水温 (26°C) および高水温 (31°C) の実験水槽において 4 週間飼育した *A. tenuis* に対し、白化の度合いを評価したところ、全ての株において 4 週間の高水温ストレスでサンゴの白化が確認された (Fig. 1)。一方で面白いことに、A 株と B 株では 26°C における白化がみられ、A 株においては色調変化の解析から飼育実験中期において 31°C よりも 26°C において顕著な褐虫藻濃度の低下が生じていることが明らかになった (Fig. 2)。

それぞれ 26°C および 31°C での飼育過程においてパルス変調クロロフィル蛍光・吸収測定を行い、光合成明反応 (電子伝達系) の主要コンポーネントである光化学系 II および光化学系 I のレドックス状態を評価した。また同時に、光化学系 II の健康度合いを示す最大量子収率 (F_v/F_m) を測定した。A~C 全ての株において 31°C 区で F_v/F_m の低下がみられたことは、高水温ストレスによって光化学系 II の光傷害が生じていることを意味し (Fig. 2)、*A. tenuis* 実験室株において高水温での光傷害が実証されたことを示す。また 31°C で飼育したフラグメントでは、光傷害に伴って光化学系 II が過還元しており、電子伝達活性 (rETR) の低下がみられた (Fig. 2)。非光化学的消光 (NPQ) は光合成生物における光防御能力の指標であるが、31°C のフラグメントにおいて NPQ の低下がみられ

たことから (Fig. 2)、光化学系 II の分解が NPQ 活性を引き起こすことが示唆された。一方で、C 株では飼育開始時から A、B 株と比べて低い NPQ 活性がみられた (Fig. 2)。このことは、同種のサンゴ実験室株においても個体間で NPQ 活性が異なること、また高水温において NPQ が光化学系 II の光防御にほとんど寄与していないことを示していた。興味深いことに、褐虫藻濃度が低下していた 26°C の A 株では光傷害がまったくみられず、このことは、色調のみからでは褐虫藻やサンゴのストレスが厳密に評価できないことを意味していた。

光化学系 I のレドックス状態は全飼育期間を通して 26°C と 31°C でほとんど変化がなく (図は省略する)、このことは、一般的に想定される光化学系 I での活性酸素生成が 26°C と 31°C であまり変化しないことが予想された。

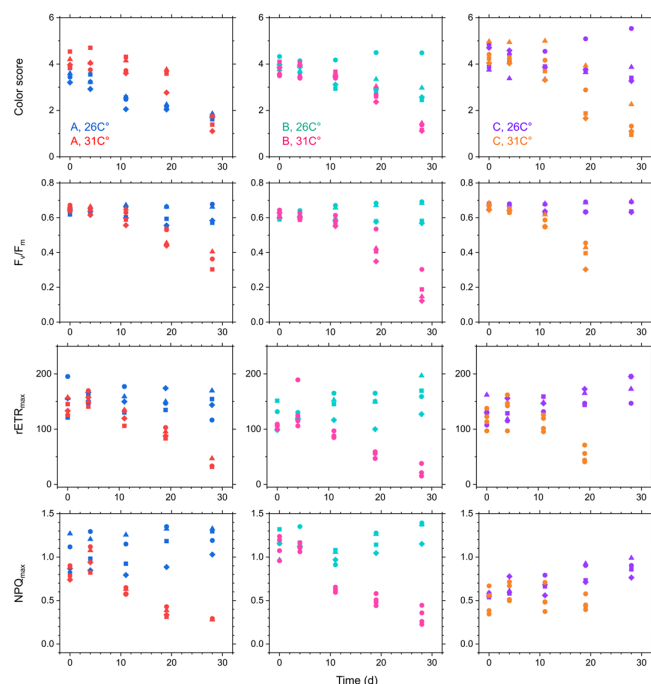


Figure 2. Time courses of color score, maximum quantum yield of photosystem II photochemistry (F_v/F_m), maximum relative electron transport rate ($rETR_{max}$), and maximum capacity of non-photochemical quenching (NPQ_{max}) in the three independent strains of *Acropora tenuis* during the 4-weeks cultivation at 26°C and 31°C. Data of four replicates are shown as different symbols.

4. まとめと今後の展望

今年度の実験結果から、ウスエダミドリイシの実験室株において高温ストレスによる光傷害が白化の主要因となることが実験室レベルの光合成生理解析によって実証された。しかしながら、レドックスバランスの崩壊およびその結果生じる白化の分子の実体は未だにつかめていない。2 年目の研究計画の中では、アンプリコンシーケンスや代謝物解析を行い、光傷害や白化と関連する具体的な分子種を明らかにする。

参考文献

- (1) Shimakawa G, Shoguchi E, Burlacot A, Ifuku K, Che Y, Kumazawa M, Tanaka K, and Nakanishi S (2022) Coral symbionts evolved a functional polycistronic flavodiiron gene. *Photosynth. Res.* 151, 113-124.
- (2) Nishioka S, Miyata K, Inoue Y, Aoyama K, Yoshioka Y, Miura N, Yamane M, Honda H, and Takagi T (2023) Deciphering mechanisms of UV filter- and temperature-induced bleaching in the coral *Acropora tenuis*, using ecotoxicogenomics. *BioRxiv*.

掘削・表層採泥の統合による南海付加体前縁部発達史の解明

Elucidating tectonic evolution of the Nankai accretionary prism by integrating ocean drilling and surface piston coring studies

福地里菜, 鳴門教育大・学校教育研究科, E-mail: rfukuchi(at)naruto-u.ac.jp

浜橋真理, 山口大・国際総合科学部

山口飛鳥, 東京大学・大気海洋研, E-mail: asuka(at)aori.u-tokyo.ac.jp

高下裕章, 産業技術総合研究所

木村学, 海洋研究開発機構

Abstract

To investigate the nature of the submarine landslide and the effect of seamount subduction offshore Kumano, KS-22-3 cruise was carried out in March 2022 by the R/V Shinsei Maru and a piston core sample was retrieved from surface sediments. The piston core sample was collected down to 2.8 m below the seafloor (mbsf). The piston core sample was nondestructively measured and lithologically described, and gravels of sedimentary rock harder than the matrix were identified from 1.4 mbsf. Porosity of the sampled gravels were measured and compared with porosity of the IODP sites to clarify the origin of the gravels. The measured porosity of the gravels showed 48-58%, with similar values at several depths of the IODP sites, such as ~100 mbsf at site C0024. The excessive uplift due to the subduction of the topographic high might trigger the seafloor landslides at least from about 100 mbsf at the paleo-frontal prism sediments, which was inferred at the IODP sites comparing with the porosity of the sampled gravels of sedimentary rock.

1. はじめに

海溝型巨大地震と津波の発生が日本で最も危惧され、歴史的にも津波地震を引き起こしてきた南海トラフは、プレート境界断層の上に付加体という地質体をもつ。付加体は地震を引き起こすプレート境界断層と、そこから派生する分岐断層などから構成される。これらの断層の活動が多様なすべり（スロー地震：ゆっくりとしたすべり、巨大地震：高速すべり）を生じ、海底面の変位により津波が引き起こされる (Park et al., 2002, Science; Obara and Kato, 2016 Science)。南海トラフの付加体前縁部は、フィリピン海プレートが現在の沈み込みを開始した 600 万年前以降から形成されたことが近年判明した (Kimura et al., 2018, PEPS)。南海付加体の発達史を解き明かすことは、地震発生帯の断層の形成発達史に直結し、地震断層発達モデルを構築し将来を予測する上でも、科学的基盤を与える。

2018 年 10 月～2019 年 3 月に行われた、「ちきゅう」の IODP 第 358 次航海 (Exp. 358) では、南海トラフ熊野沖の付加体深部の掘削に加えて、Site C0024 においてトラフ底に近い付加体先端部の断層発達史解明のための掘削が行われ (Fig.1)、海底下約 300 m まで連続的なコア試料が採取された。2022 年 3 月に行われた「新青丸」KS-22-3 航海では、付加体先端部に沈み込んだ地形的高まりの探査と、それによって引き起こされた海底地すべり表層のピストンコアによる採泥が行われた (Fig.1)。

本研究では、海山沈み込みが与える沈み込み帯浅部の発達を予測することを目的として、KS-22-3 航海で対象とした熊野沖に沈み込んでいる海山について、いつ地すべりを引き起こしたのか、また起きた地すべりの規模であったのかについて推定した。

2. 方法

熊野沖に沈み込んでいる海山が与える沈み込み帯浅部お地すべりの時期と規模を推定するために、KS-22-3 航海で採取されたピストンコアを用いて、地すべり堆積物とその被覆層の有機物 ^{14}C 年代を測定した。また、地すべり堆積物中の礫の XRD による鉱物同定と間隙率の測定を行った。礫の間

隙率は、既に得ているマルチセンサーコアロガー (MSCL) による物理計測の結果と比較した。

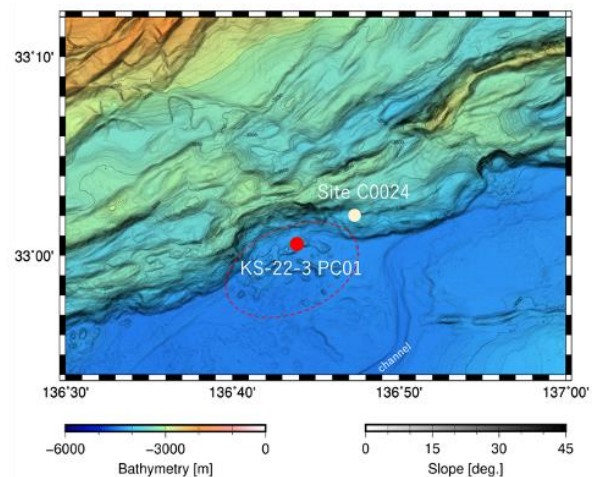


Fig. 1 Topographic map around the piston coring site.

3. 結果と考察

地すべり堆積物とその被覆層の有機物 ^{14}C 年代については、暦年較正前の年代値で、表層が約 4000 年前であるのに対して、層序がある層は約 1.2 万年前、地すべり堆積物そのものは約 1.5 万年前であった。

地すべり堆積物中の堆積岩礫の粘土粒子サイズの鉱物組み合わせは、イライト、スメクタイト、緑泥石を含有し、構成鉱物の組み合わせは同じであった (Fig.2)。

また、堆積岩礫の間隙率は 48-58% を示し (Fig.2), C0006 地点の海底下 1-77 m や 450-600 m の間, C0007 地点海底下 3-34 m や海底下 74-84 m の間, C0024 地点では海底下 4-113 m の深度などで、複数の深度で類似した値を示した。沈み込み前の四国海盆堆積物の掘削地点である C0011 地点では海底下約 250 m に相当し、C0024 地点では約 100 m 以浅と一致した。これらの間隙率の深度分布から、採泥を行った地点の周辺で

は、地震波反射断面から海洋地殻上面の地形的高まりの沈み込みと付加体の変形や斜面の崩落した構造が顕著であることから、付加体前縁部形成時の衝上断層による隆起に別の影響が加わった結果と考えられる。

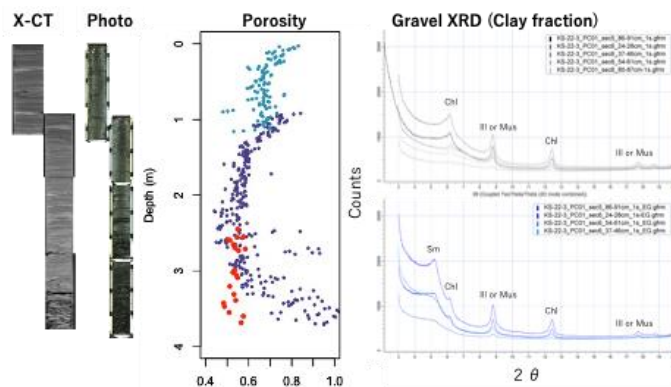


Fig. 2 X-CT, core photographs, porosity values converted from MSCL and gravels, XRD data of sedimentary rock gravels of piston core from R/V Shinseimaru cruise KS-22-3 (from left to right).

4. まとめと今後の展望

本研究により、地すべり堆積物の基質部と堆積岩礫、その被覆層と年代の認定、また堆積岩礫の密度を含む物性や鉱物・元素組み合わせの決定を行うことで、表層の採泥および

IODP の掘削コア試料・物理検層データとの対比が可能になった (図 1; 特に C0024 地点)。このことは、南海トラフ付加体前縁部の発達史に時空間的な制約を与えるとともに、浅部で生じるスロー地震の活動と、大地震時の破壊領域の形成が付加体のどのような構造のもとで生じるかについて基礎となる情報を提供する。今後、暦年較正前の年代値であるため、それらを行った上で年代値を精査する。また、生層序 (ナンノ微化石) を決定し、比較することで、付加体形成時にどの層序と対応していたかも併せて推定していく。

参考文献

- 物理太郎, 生物花子, 2011: "物理分野と生物分野の連携による海洋過程の研究" 日本学会誌, 88, 21-25.
- Butsuri, T., and H. Seibutsu, 2009: "A study on oceanic processes by a cooperation of physicists and biologists", J. Phys. Soc. Japan, 88, 63-7
- Park, J.O., Tsuru, T., Kodaira, S., Cummins, P. R., and Kaneda, Y. 2002: "Splay fault branching along the Nankai subduction zone." Science, 297.5584, 1157-1160.
- Obara, K., and A. Kato. 2016: "Connecting slow earthquakes to huge earthquakes." Science, 353.6296, 253-257.
- Kimura, G., H. Koge, and T. Tsuji. 2018: "Punctuated growth of an accretionary prism and the onset of a seismogenic megathrust in the Nankai Trough." Progress in Earth and Planetary Science, 5.1, 1-12.

頭足類の代替繁殖戦術におけるゲノムサインの特定

Genomic characterization of alternative reproductive tactics in Cephalopods

Gustavo Sanchez, E-mail: gustavo.sanchez(at)oist.jp

岩田 容子, E-mail: iwayou(at)aori.u-tokyo.ac.jp

Gustavo Sanchez, Molecular Genetics Unit, OIST

Yoko Iwata, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Abstract

Coleoid cephalopods (octopus, squid, and cuttlefish) are the sister group to the shelled gastropods and bivalves and separated around 500 million years ago. Despite their relationship, coleoid cephalopod display striking complex behaviors. Coleoids have many morphological innovations, one of them associated with alternative reproductive tactics (ART). Many coleoids display these ART in their behavior, with different male size placing their spermatangia at different sites of the females. Females have specialized organs in their buccal mass and at the opening of the oviduct that host spermatangia, creating external and internal fertilization. The genomic basis of these ART however remains unknown. To molecularly characterize this strategy, we have initially sequenced the genome of the flying squid *Todarodes pacificus* with external fertilization, standardized artificial fertilization in this species, and collected samples of the spear squid *Heterololigo bleekeri* which possess internal and external fertilization.

1. はじめに

Coleoid cephalopod display striking complex behaviors. To perform these behaviors, they have evolved the largest nervous system among invertebrates and different morphological novelties such as the camera-like eye, photophores with symbiotic luminescence, skin pigments for camouflage, different reproductive organs associated with distinct reproductive behaviors, etc (Ref.1). While some morphological novelties have been associated with novel DNA variations in their genome, many genomic signatures behind morphological innovations are largely unknown (Ref. 2 and Ref.3).

2. 問題設定・方法

To begin characterizing the molecular signatures associated to ART in coleoids, we have sequenced the genome and transcriptome of the Japanese flying squid *Todarodes pacificus*. We have also collected samples of the spear squid *Heterololigo bleekeri* for upcoming genome and transcriptome sequencing. To identify the chromosome and genes associated with sex, we sequenced 3 females and males of *T. pacificus* at low coverage. Our final goal is to identify specific genes in the organs associated to ART such as the seminal receptacles in the buccal mass and at the opening of the oviduct.

To understand how the ART influence the phenotype of the offspring, we start optimizing in-vitro fertilization techniques. We expect to perform a comparative gene expression analysis between offspring from combinations of spermatangia placed at different ART-associated organs.

3. 結果と考察

We found that *T. pacificus* has a 2.5Gb genome size and a very high heterozygosity suggesting a large effective population size. By combining low coverage genome sequencing of male and females, we identified the chromosome 46 as the one associated with sex, with males

having 2X coverage in relation to females (1X) at that chromosome.

We were also able to generate paralarvae of *T. pacificus* (Fig. 1), and collect tissue of *H. bleekeri* for upcoming genome sequencing.



Fig. 1 Paralarvae of *T. pacificus* generated through in-vitro fertilization. Arrow shows the fused tentacle characteristic of this species.

4. まとめと今後の展望

We were able to generate a high-quality genome of *T. pacificus*, annotate the genome and identified the chromosome associated with sex. We expect to do similar with *H. bleekeri*. Moreover, the optimization of in-vitro protocols in both species will help us to combine spermatangia from individuals with different ART and analyzed a broad gene expression between offsprings.

参考文献

- (1) Albertin et al., 2022. Genome and transcriptome mechanisms driving cephalopod evolution. Nature communications 13.1, 1 - 14.
- (2) Sanchez et al., 2021. Beyond “living fossils”: Can comparative genomics finally reveal novelty?. Molecular ecology resources 00:1 - 3.
- (3) Sanchez et al., 2021. Phylogenomics illuminates the evolution of bobtail and bottletail squid (order Sepiolida). Nature Communications Biology 4.1, 1 - 9.

海から陸へ：原始的な脊椎動物の生息領域拡大戦略をゲノム制御から理解する

Ocean to Brackish-water: How do elasmobranchs adapt to the sea- and hypotonic-water environments?

川口 茜, 国立遺伝研・分子生命史研究室, E-mail: akane.kawaguchi(at)nig.ac.jp

工樂 樹洋, 国立遺伝研・分子生命史研究室, E-mail: skuraku(at)nig.ac.jp

高木 互, 大気海洋研生命科学部門・生理学グループ, E-mail: watarutakagi(at)aori.u-tokyo.ac.jp

要旨

約5億年前に脊椎動物の祖先が出現した。そこから派生した一部の魚類は汽水域へと生息環境を拡大させることに成功し、その後汽水域に適応した魚類から両生類が出現することで脊椎動物は地上への上陸を成し遂げた。これは、脊椎動物が生息域を海から陸へと変化させる際に、脊椎動物共通の体液調節器官である腎臓が、海洋の高浸透圧環境と汽水域における低浸透圧環境、さらには陸上の乾燥環境下に合わせて適応進化した結果であることを示す。海水に限定して生きる、あるいは汽水でも生存可能なそれぞれの生き物の腎臓は、各環境に応じて水や塩類の排出・再吸収をおこなう分子群の遺伝子発現制御機構を変化させていることが考えられる。そこで本研究では、脊椎動物の進化の初期に分岐し、高度に発達した腎臓を持つ板鰐類（サメ・エイ類）に注目し、多様な塩濃度環境に適応した腎機能を支える分子機構についてゲノム制御レベルからの解明を試みた。

1. はじめに

板鰐類（サメとエイ）は、ゲノム配列の保存性とその進化速度の遅さから、原始的な魚類に近いと考えられる。これらは、塩と尿素を体液中に高く維持することで、海洋という高塩濃度環境に耐性を持つ。数少ない例外を除いてサメ類は狭塩性魚類であるが、一方で、エイは高塩濃度の海洋で生息するのみならず、汽水域や淡水域でも生息できる広塩性を示す種が多い。このことは、エイには塩濃度の低下という環境変化ストレスに対応する腎臓の浸透圧調節機能を持つことが考えられる¹。このように、異なる浸透圧調節能力を持つエイやサメといった生物種をモデルとして、その進化の駆動力の基盤となった原始的な魚類における分子機構を明らかにすることは、脊椎動物の海洋環境への適応、そして海水と淡水それぞれに適応を果たし生息域を拡大させた脊椎動物の適応進化を理解する上で非常に重要である。しかしながら、板鰐類を用いてゲノム・遺伝子工学的研究を推進するためには困難が多い。その理由のひとつは、板鰐類の大きなゲノムサイズに起因するオミクス情報の欠如である。これについては、Squalomix コンソーシアムによるゲノム解析によって、その課題は克服されつつある²。今後、大規模シーケンシング技術を駆使した解析が進むことで、ゲノム配列を塩基情報として扱う研究は今後大きく展開すると予想される。

2. 問題設定・方法

しかし、全ての研究課題がゲノム配列の情報解析で完成されるわけではない。オミクス情報の欠如を解決することと同等に重要な課題は、非モデル生物を対象とした分子生物学的・遺伝子工学的実験手法を駆動させるための技術確立である。その最たる一つには、安定した培養細胞系の確立が挙げられる。そもそも、サメ・エイを維持する研究環境の整備は一般的には容易でなく、また、世代時間が長いことから、メダカやゼブラフィッシュなどのように遺伝学的解析は現実的ではない。そういった分子生物学的・遺伝子工学的な実験系が欠如している動物群を対象として研究を進める上では、実験室内で管理できる細胞培養系の確立が必要不可欠である。また、サメ・エイ類のように野生動物に依存する研究の場合、遺伝

的に均一な集団を用いることが不可能であることから、個体差による反応の違いや遺伝的多型が解析や解釈を困難にする。このことから、特定の母集団から作出された培養細胞を用いて、細胞反応を検証する *in vitro* の実験系を確立することで、サメ・エイ類では世界で初めてとなる遺伝子工学的解析も可能となる。そこで本研究では、1. 板鰐類での腎管上皮に由来する培養細胞実験系を確立を試み、2. 確立した培養細胞を浸透圧変化に暴露することで、腎管上皮の中でどのような遺伝子制御の変化を起こしているのかクロマチン制御のレベルでの解析をおこなう。さらに、同定したストレス応答エンハンサーについて3. 狭塩性と広塩性による違いや、硬骨魚類ゲノムにおけるそれらの保存性を探索し、結果に応じて更なるエンハンサー解析と機能破壊実験を予定した。

3. 結果と考察

板鰐類腎管上皮細胞の安定した培養細胞系の確立

板鰐類の培養細胞を安定化させるため、国内で個体が入手可能であり、また高木が先行研究を報告しているトラザメ、イヌザメ、アカエイをモデルとして選んだ。トラザメ、イヌザメについては初代細胞培養法は存在するが^{3,4}、継続的に長期培養・継代された報告はなく、アカエイについては、初代培養細胞の報告されていない。そこでまず、トラザメの細胞培養法の確立を試みた。細胞培養には、発生段階が早い胚を用いる必要があるが、Stage (st.) 30-35 のトラザメ胚では本課題の目的である腎臓の発達が十分ではなく、腎管上皮を外科的に取り分けることが困難であることがわかった。そのため、まずは容易であるトラザメ胚全体を使った初代培養の安定供給の手法の確立をおこなった。使用したトラザメは、st. 30-35 の胚を用いた。培養条件には、既報の板鰐類（イヌザメ）の初代細胞培養条件を適応した（培地①：1075 mOsm/kg (Urea : 333 mM, Na⁺ or Cl⁻ : 308 mM)）。その結果、トラザメ胚は、18°C・5% CO₂ 供給条件下で、2週間に一度継代をすることで継続培養が可能であった (R5.10-現在も培養中) (図 1A, 1B)。

アカエイの培養細胞確立は、発生中の個体を入手することができなかったため、伊豆半島付近で水揚げされた体盤幅 50

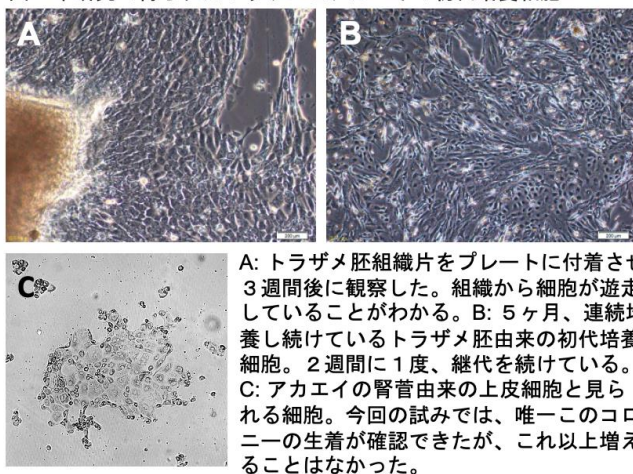
cm の個体を使用した。まず、皮下の組織から筋繊維とそこに含まれると考えられる皮下繊維芽細胞塊を外科的に分取、プレートに播種し、トラザメの初代培養と同様の細胞培地①を加えた。しかし、3 週間の観察後、この組織塊からの細胞遊走や、プレート底面に付着した細胞は確認できなかった。これは、用いた個体は十分に発生した後であり、筋肉組織に含まれる繊維芽細胞が少なかったためではないかと考えられる。さらに、このアカエイ個体からは腎臓を摘出することができたため、回収した腎臓片をプレートに付着させた。3 週間後、プレート底面に、腎臓由来の上皮細胞と考えられる細胞が付着していることを確認した (図 1C)。さらに 2 週間、この細胞集団について継続的な観察をおこなったが、コロニーの拡大が認められなかったことから、この上皮細胞様の維持を中止した。今回の実験において、トラザメ細胞培養については、板鰐類 (イヌザメ) の初代細胞培養条件が適応可能であったこと、さらに長期の継続培養が可能であることが明らかとなった。トラザメの腎管上皮については、適切な発生段階の胚 (腎臓発生終了からハッチ前の個体) を入手することで、腎管上皮の培養についても検討可能である。アカエイ細胞培養の試行については、今回使用したアカエイ個体が培養細胞の確立に適さないステージであった可能性が高い。加えて、細胞培養条件がアカエイには適さなかったため、細胞がほとんど生着しなかったと考えられる。

トラザメ胚培養細胞の浸透圧変化実験

本来、腎臓や塩類細胞を用いて体液の浸透圧を調節している軟骨魚類であるが、細胞単位としてはどの程度の浸透圧変化に耐えることができるのであろうか。それを明らかにするため、上で確立したトラザメ胚培養細胞の培地条件を異なる浸透圧条件に暴露することで、細胞形態のや生存率の変化を調べた。特に本実験では、汽水と海水間の移動を想定し、外環境の塩濃度の変化に着目して実験を行った。まず、24 穴プレートにトラザメ培養細胞を 3×10^5 (底面に約 60% 程度の密度) 密度で播種し、24 時間静止した。細胞が底面に定着していることを確認し、各 Well の培地を、培地① (通常培地条件・コントロール)、培地② (汽水様: 699 mOsm/kg (Urea: 333 mM, Na^+ : 150 mM, Cl^- : 120 mM))、培地③ (50% 汽水様: 887 mOsm/kg (Urea: 333 mM, Na^+ : 224 mM, Cl^- : 214 mM))、培地④ (NaCl 非依存的に培地①と同様の高浸透圧を再現: 1075 mOsm/kg (Urea: 333 mM, Na^+ : 150 mM, Cl^- : 120 mM, Betain: 376 mM)) に置き換えた。室温 20°C の実験室に取り出した状態で、実体顕微鏡下に固定し、1 時間の間、ライブイメージングを行うことで細胞形態の変化を調べた。結果、培地交換から 15 分後には、トラザメ培養細胞は、全ての培地条件で底面との接着が剥離し、30 分経過後にはおおよそ 80% の細胞が浮遊状態となった。一方、そのプレートを 18°C 培養器に戻し、さらに 24 時間後に観察すると、培地条件①-④で剥離した細胞は、再度底面に付着していることを確認した。培地①においても、他の条件と同様の細胞剥離が生じたことから、ここで見られた培地①-④における細胞の剥離は、培地の浸透圧変化の影響ではなく、観察時に静止した室温の影響、あるいは CO_2 の供給停止からの影響である可能性が考えられた。その可能性を確認するため、定点で細胞変化を観察することは断念し、同じ培地交換を行い、18°C 培養器の中に静置した。観察が、15 分ごとに 1 時間の間行った。その結果、全ての条件において培養細胞に収縮、剥離、浮遊などといった変化は見られなかった。さらに 1 週間後には、全ての条件の細胞が底面に 95% 以上の密度に到達した。これらのことは、トラザメ培養細胞は汽水から海水までの広い塩濃度、あるいはベタインによる

高浸透圧溶液中においても生存できること、また細胞分裂が可能であることを示している。考慮すべきは、汽水条件として想定した培地②は、そのベースとなる基本培地 (MEM、L-15 等) に含まれる最低限の塩濃度、すなわち哺乳類や他の陸上動物の細胞が最低限必要とする塩が添加されていることである。使用している板鰐類の細胞培地には、板鰐類体内の推定浸透圧に近づけるため、さらに尿素と塩を添加している。しかしながら、今回の実験結果から、トラザメの培養細胞は、基本培地に含まれる濃度の塩濃度で生存し、さらに細胞分裂が起こっていた。また、別の実験で、哺乳類と同じ培地との交換を試みた結果、全ての細胞は細胞死の表現型を示した。これらのことから、板鰐類の細胞は尿素が細胞の形状を保つために必要であり、塩については必須ではないことがわかった。培地条件を変えた際に生じている遺伝子の発現変化については今後解析をおこなう。

図1: 本研究で得られたトラザメとアカエイの初代培養細胞



4. まとめと今後の展望

本計画において、およそ 5 ヶ月以上ものトラザメの継続的な細胞培養法の確立に成功した。今後、この培養細胞を用いて、計画内に遂行することができなかった、浸透圧ストレス応答エンハンサーの同定や、遺伝子発現の変化について研究を進めていく。また、イヌザメ培養細胞については、本計画と並行して進めている。さらに今後は、アカエイの腎管上皮由来の初代培養細胞系の確立を試みるため、細胞培養に適した胚の入手にも取り組む予定である。ひいては、サメ・エイ類では世界でも初めてとなる遺伝子工学的な研究を可能にし、板鰐類の適応進化に伴う腎機能の多様化、その多様化による生息範囲の拡大を理解するため、今後も本共同研究のチームで研究を継続していく予定である。本研究を一年間サポートしてくださった、海洋生命科学部門・生理学グループの兵藤晋先生、学際連携研究一般共同研究助成システムには大変感謝申し上げます。

参考文献

- (1) Aburatani N, Takagi W., et al., (2022) Front. Physiol., 13, doi.org/10.3389/fphys.2022.953665
- (2) Nishimura O., et al., (2023) F1000 Research 11:1077. doi:10.12688/f1000research.123591.1,
- (3) Fujimori C., et al., (2022) Develop Growth Differ. 64:558–565. doi.org/10.1111/dgd.12824
- (4) Uno Y., et al., (2020) Commun. Biol. 3:675, doi.org/10.1038/s42003-020-013

サブボトムプロファイラーデータを用いた海底湧出流体の検出

Detection of fluid-flow from the seafloor by sub-bottom profiler data

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

于 凡, 東大・大気海洋研, E-mail: yufan (at)aori.u-tokyo.ac.jp

Ehsan Jamali Hondori, (株)ジオサイエンス, E-mail: ejamali.aori(at)gmail.com

Abstract

As an alternative seismic source of sub-bottom profiler (SBP), which is available in multi-channel seismic (MCS) survey by small boats, an underwater speaker of piezo-electric transducer type was tested for detection of natural gas leaking from the seafloor in the northern Tokyo Bay. As a result, although the detection of leaking gas was unsuccessful, we clearly observed seafloor topography with high vertical resolution equivalent to SBP. Therefore, fault displacement at the seafloor can be clearly observed. During the MCS survey, another underwater speaker of electromagnetic induction type was also used simultaneously, which emits relatively low frequency seismic waves on the order of one hundred Hz. By using two kinds of seismic sources with deferent dominant frequency (or vertical resolution) simultaneously, accuracy of fault interpretation would be increased.

1. はじめに

報告者らは、令和3年度～令和4年度の学際連携研究（一般共同研究）「海中海底下統合イメージング解析技術の開発」において、地震探査データと計量魚群探知機データとを統合し、主に東京湾における湧出ガスの検出解析を行ってきた。本研究課題は、同解析法をより深海に適用するために、サブボトムプロファイラー（SBP）データを用いて湧出流体の検出を試みるものである。

もし、SBP データ上で湧出流体を検出可能であることが明らかにになれば、以下の成果が期待できる。

- ・これまで、マントル起源の流体など地殻内部の流体移動は、主に採水および採泥によって明らかにされてきた（たとえば、Park et al, 2021）。しかし、将来的に SBP やマルチナロービーム（MBES）データを加えることによって、より広範囲に流体湧出現象を捉えられる可能性が出てくる。

- ・採水・採泥作業の位置選定のためのサイトサーベイとして有効な手段になる。

令和5年度は、研究対象候補地の選定を目的として、既存の SBP データを閲覧し、流体が湧出している可能性がある場所をピックアップすることとしていた。しかし、深海域で定期的に流体が湧出している地点を発見することが困難であった。そのため、研究対象海域を湧出実績が多い東京湾北部海域に変更して研究を行った。

2. 問題設定・方法

前述したとおり、研究対象海域を、海底湧出流体（ここではガス）が多く観察されている東京湾北部に設定した。一方、東京湾のような船舶輻輳海域では、小型船舶以外の船は航路が設定されているため、SBP や MBES を搭載した比較的大きな調査船は航行できる場所が限定されている。

したがって、本研究では小型船舶を使って、過去にガスの湧出現象と推定される場所で実験を行った。使用した船舶は、東京東部漁業協同組合所属の「第三豆丸」（総トン数 12 トン）である。振源としては、SBP や MBES と同じ圧電素子（ピエゾ素子）型的水中スピーカーである Lubell Labo 社製 LL916、および、電磁誘導式水中スピーカーであるウエタックス社製 UA50 を使用した。LL916 で 1～15kHz の高周波を発振し、海中におけるガスの湧出現象を捉えることを試みた。一方、UA50

で 80 ～ 800Hz の低周波を発振し、流体の移動経路となる海底下の断層を捉えようとした。図1に調査海域と観測作業を実施した測線を示す。この測線の北東部

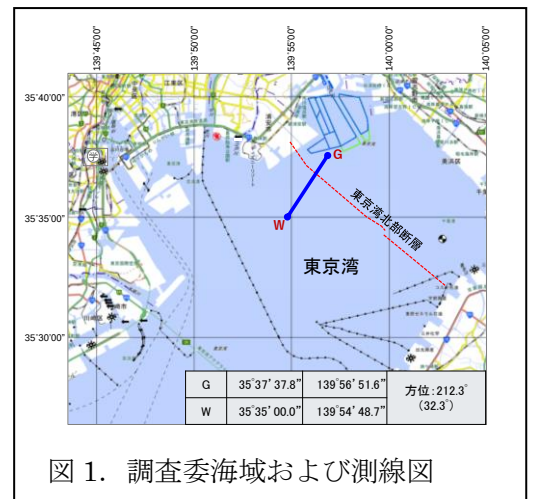
には東京湾北部断層と呼ばれる断層が発しており、この近傍で流体の湧出が期待できる。

観測作業は、2023 年 9 月 13 日の早朝から開始し、湧出現象が現れやすい干潮時間帯に観測を終了するよう計画された。この測線（GW）に沿って、高周波と低周波の2種類の地震探査データを同時に取得した。受振器には、10 チャンネルのストリーマーケーブル用いた。

3. 結果と考察

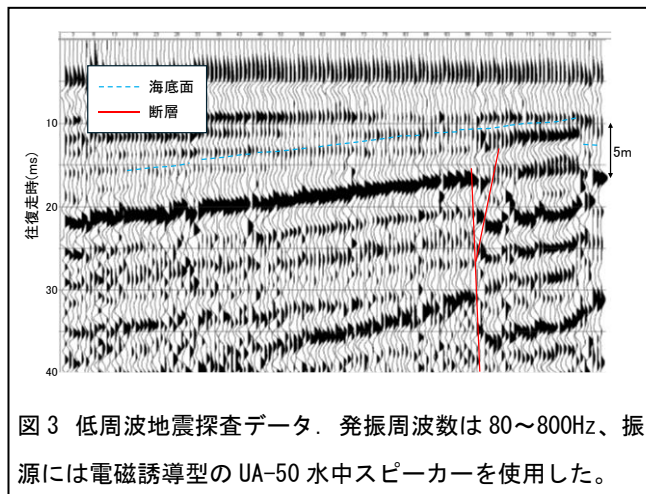
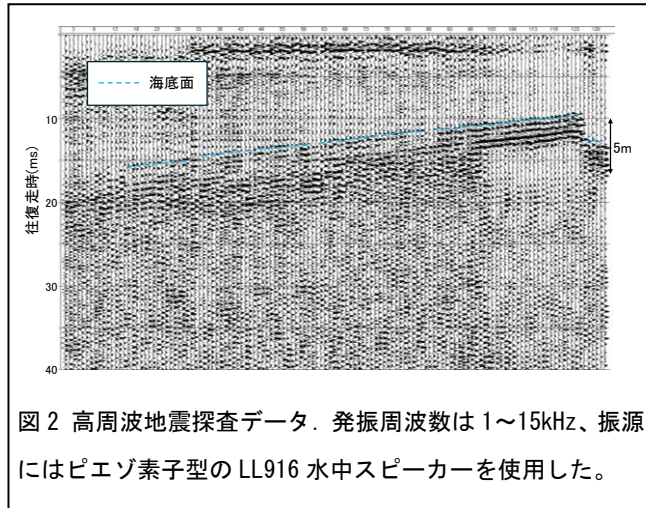
図2および図3に、取得された地震探査データを示す。Fig. 2 は高周波地震探査データであり、海底面とその直下数 m までの地層が明瞭に見える。垂直分解能としては、SBP とほぼ同等である。しかし、それ以深では地震波の減衰効果が大きいため反射波はほとんど見えない。一方、図3は低周波地震探査データであり、逆に海底下数 m 以深の地層も明瞭に見える。しかし、相対的に分解能が低いため、海底面の位置や形状が不明瞭である。また、図中の赤線は断層を表す。図4は、図2において破線で囲まれた部分の拡大図である。

海底湧出流体の検出については、残案ながら高周波データでも捉えることができなかった。原因については、ガスの泡のサイズが小さかったために、15kHz の地震波でも分解能が低すぎた、あるいは、観測当時は湧出していなかったなどの



理由が考えられる。

断層については、図 3 に示されるように低周波データで明瞭に捉えられている。図中の赤線で示した断層の位置は、図 1 で示した東京湾北部断層の位置と一致する。ただし、図 3 の低周波地震探査データでは、海底面付近の断層変位の有無は評価することができない。そこで、図 4 に示すように、高周波地震探査データの当該断層部分の海底面付近を拡大表示した。その結果、僅かではあるものの、海底面の段差が見られた。すなわち、一ヶ所ではあるが、海底面に断層変位があることが分かる。



以上、今回の高周波データでは海底から湧出する流体は確認できなかった。しかしながら、その移動経路となり得る断層は低周波データのみならず高周波データでも確認できた。また、高周波データ上では、海底面における断層変位も確認できた。この結果は、東京湾北部断層に関する現在の解釈とは整合しない。現在の解釈では、東京湾北部断層は活断層とはされていない（地震調査研究推進本部，2002）。今回の報告者らの調査結果との違いについて考察すると、既存調査で使用された振源の発振周波数が低かったため、海底面の断層変

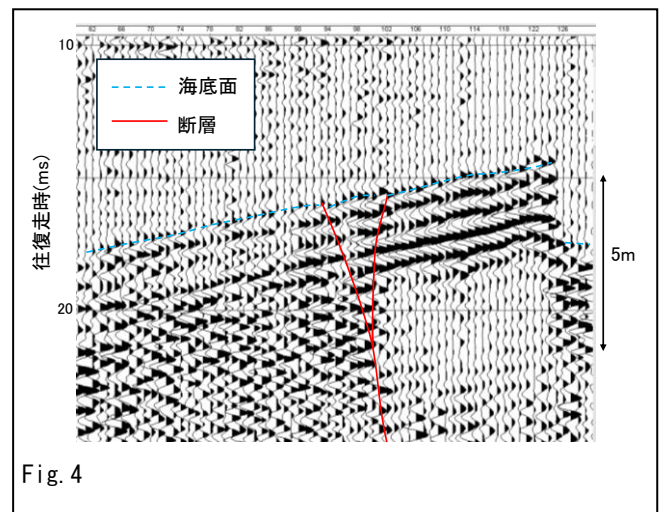
位が認められなかった可能性があるのではないかとと思われる。通常の海上活断層調査では、エアガンやブーマー振源を用いた地震探査が一般的であるが、比較的高周波のブーマーでも卓越周波数は 1kHz 程度である。一方、今回の高周波地震探査では 15kHz までの高周波を発振した。すなわち、今回は一桁高い周波数を使用している。振源の発振周波数が高いほど、高い垂直分解能が得られるため、この発振周波数の違いが、海底面での断層変位の見え方の違いの原因ではないかと推定される。

4. まとめと今後の展望

令和 5 年度は、流体湧出の実績を優先して研究対象候補地を東京湾北部に変更して、研究を行った。流体湧出現象の映像化を目的としては、SBP データとほぼ等価な垂直分解能が期待できる piezoelectric type underwater speaker を使用した。

その結果、湧出する流体を捉えることはできなかったものの、海底面の形状を高精度に映像化できることが明らかになった。さらに、海底面近傍における断層変位も明瞭に観察することが可能になった。

以上のことから、波及効果として、数 100Hz のオーダーの発振周波数と数 kHz のオーダーの発振周波数の水中スピーカーを使って同時に発振することにより、海域の活断層調査に使用できる可能性が出てきたと考えられる。また、SBP データと比較して、地震探査データでは速度解析を実施できることも地質・断層解釈に有益であると考えられる。



参考文献

- (1) Jin-Oh Park, Naoto Takahata, Ehsan Jamali Hondori, Asuka Yamaguchi, Takanori Kagoshima, Tetsuro Tsuru, Gou Fujie, Yue Sun, Juichiro Ashi, Makoto Yamano & Yuji San, 2021: Mantle-derived helium released through the Japan trench bend-faults, Scientific Reports, 11, Article number: 12026. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91523-6>.
- (2) LL916: Lubell Labs, <https://lubell.com/LL916.html>.
- (3) UA-50: UETAX, https://www.uetax.co.jp/product_list.