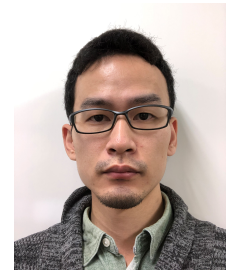


■受領No.1360

## 安定同位体比を用いて魚類の移動履歴を推定する手法の開発

代表研究者

太田 民久 富山大学 学術研究部理学系 助教



## 1. 研究目的

候変動や人間活動による環境の変化は、資源有用種や希少種を含む水産生物の行動を著しく変化させる。そのため、生物の行動を把握することは、対象種を保全し資源の持続性を高める上で基礎的なデータとなる。しかし、魚類の移動履歴を推定する手法の開発は発展途上であり、効果的な資源保護対策を打ち出す上で障害となっている。そこで近年、安定同位体比を追跡子(トレーサー)として用いた回遊生態研究が注目されている。

安定同位体比による魚類の移動履歴推定手法では、耳石中のストロンチウム同位体比( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ )分析がよく知られている (Kennedy et al., 2002)。しかし、耳石中安定同位体比を用いた分析は、耳石が炭酸カルシウムで構成されている事から、適応可能な元素はO、C、Sr (Caと似た取り込まれ方をする)に限られていた。さらに、海水中 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、一様の値を示すため、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は海洋生物のトレーサーとしては利用できない。また、海洋表層水中 $\delta^{18}\text{O}$ は緯度が高くなるに伴い値が減少する傾向はあるが(Mcmahon et al., 2013)、詳細な履歴を復元するためには、他の元素の同位体比分析結果も同時に必要となる。

この問題を解決するため、Matsubayashi et al.(2017)によって魚類脊椎骨中の硫安定同位体比( $\delta^{34}\text{S}$ )から移動履歴を復元する手法が開発された。脊椎骨は耳石と同様に年輪状に成長することがわかっている。そのため、稚魚の時期から漁獲時に至るまでの同位体比の変動履歴を計測する事が可能である。ところが $\delta^{34}\text{S}$ は海洋で一様の値を示すため、海洋のみを生息地とする海産魚類には適応でき

ない。しかし、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、及び $\epsilon_{\text{Nd}}$ などの安定同位体比は海域間で値が変化する (Mcmahon et al., 2013; Van de Flierdt et al., 2016; Matsubayashi, unpublished data)。海洋でも空間的に値の差があるこれらの安定同位体比を用いれば、海産魚種にも上記Matsubayashi et al. (2017)の手法を応用できると予測される。そして、本研究では脊椎骨の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、及び $\epsilon_{\text{Nd}}$ から海産魚類の移動履歴を推定することを目的に研究を行った。

## 2. 研究内容

## 分析試料

2017年2月、水揚げされた寒ブリ計15個体入手した。そのうち5個体が太平洋に面する高知県室戸岬産の個体、10個体が日本海に面する富山県氷見湾産の個体である。これらの各個体から脊椎骨を取り出し、凍結乾燥させた。凍結乾燥後の試料は冷蔵庫で保存した。

分析方法— $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 

凍結乾燥した脊椎骨の各椎体を、研磨機を用いて、2つの円錐状に削り出した。削り出した椎体は、クロロホルム+メタノール溶液(2:1)に6時間以上浸して脱脂した。次に、椎体を0.1N NaOH溶液に10時間浸し、NaOH溶液を取り除いた後イオン交換水で3回洗浄した。洗浄後、椎体の高さをはかり、凍結冷却アダプターを取り付けた滑走式マイクロームを用いて、頂点から10等分にスライスした。スライス切片は、頂点をSection1、

最下部の切片を Section10 とした。スライスした脊椎骨は脱灰を行い、コラーゲンを抽出した。

抽出した脊椎骨中コラーゲン中の安定同位体比分析は、IR-MS (DELTA V ADVANTAGE, Thermo Fisher Scientific)により  $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$  を分析した。

### 分析方法— $\epsilon_{\text{Nd}}$

$\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 分析用の試料と同様に、椎体を2つの円錐状に削り出した。削り出した椎体は、形成された年輪(Fig. 4)に沿ってハサミでAge毎に切り分け、ユニパックに取り分け冷蔵庫で保存した。全個体のAgeは3であったため、各個体の椎体から4つ(Age 0 ~ Age 3)の切片を得た。

切り出した切片は2回ずつ超音波洗浄機を用いて洗浄を行い、酸洗浄済みの50ml メタルフリーチューブに保存した。

切片は乾燥後、酸洗浄済みのガラスバイアルに移し替え、マッフル炉にて450°Cで約4時間燃焼して灰化させた。

灰化した試料は酸洗浄済みのテフロンバイアルに移し替え、富山大学のクリーンルーム内で酸分解した。酸分解した試料からNdを陽イオンカラムおよびLnレジンカラムを用いて分離・抽出した。その後、表面電離型質量分析計(TIMMS)を用いてNdの同位体比を分析した。

## 分析結果

### $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 分析結果

脊椎骨は中心部から外縁に向かい成長するため、脊椎骨の中心部の切片であるSection1が稚魚の時期、最も外縁の切片であるSection10が最も成長した時期に形成されたコラーゲンと考えられる。同一個体における脊椎骨中コラーゲンの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ はともに、幼魚期に形成された骨部位と成魚期に形成された部位で値の変化が小さいといえる。

しかし、個体間での値には $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ ともに差がみられる。特に、 $\delta^{13}\text{C}$ 値においてはMuroto1、Muroto3の個体は高く、それに対しMuroto2、Muroto5、日本海水揚げ個体の値は低い傾向がある。(添付資料 Fig. 5) また、 $\delta^{15}\text{N}$ 値の特徴的な変動としては、Muroto1のSection5の $\delta^{15}\text{N}$ 値が6.0‰と、

同個体Muroto1の他の切片(11.9‰~13.5‰)と比べ著しく低い値が分析された (Fig.1,2)。

海産魚類は有機物を食物の取り込みを通じて得るため、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値は栄養段階やベースラインによる影響を強く反映する。 $\delta^{13}\text{C}$ はMuroto1、Muroto3等の個体は高く、それに対しMuroto2、Muroto5、日本海水揚げ個体の値は低い傾向がある (Fig. 1)。海洋におけるベースラインの $\delta^{13}\text{C}$ 値アイソスケープ (Macmahon et al., 2013)によると、オホーツク海 (北海道東部の海域) が-25‰~-30‰と著しく値が低い。北海道西部・南東部ではその地域より比較的高い値となる。そのため、寒ブリが生息した海域によってベースラインの $\delta^{13}\text{C}$ 値が異なることにより、 $\delta^{13}\text{C}$ 値の個体間での差が生じている可能性も考えられる。また、Muroto1のSection5中 $\delta^{15}\text{N}$ 値が、同個体Muroto1の他の切片(11.9‰~13.5‰)と比べ著しく低い値(6.0‰)が分析された (Fig. 2)。日本列島周辺海域におけるベースラインの $\delta^{15}\text{N}$ 値は、太平洋の北緯約42°以南、東経約145°以西で顕著に値が低い。Muroto1のSection5が著しく $\delta^{15}\text{N}$ 値が低いことは、この海域に生息した可能性がある事を示唆する。

### $\epsilon_{\text{Nd}}$ 分析結果

分析できた切片数は60個の全切片のうち21個であり、切片がひとつ以上分析できた個体は15個体の全試料のうち13個体であった。分析できなかった切片については、椎体から円錐に削り出す際にサンプル量が少なくなってしまうため分析不可能だった事や、脊椎骨中に蓄積されていたNd量が少なかった事が理由に考えられる。

日本海表層水は $\epsilon_{\text{Nd}} = -7.4 \sim -8.9$ 、日本周辺の太平洋表層水は $\epsilon_{\text{Nd}} = -4.0 \sim -5.6$ 、親潮は $\epsilon_{\text{Nd}} = -3.1 \sim -3.6$ と分析されている (Amakawa et al., 2004)。本研究では、この範囲内の値や近似した値が計測された脊椎骨切片が多い。例えば、太平洋側水揚げ個体であるMuroto1は、3yの切片 (Muroto1-3y)の $\epsilon_{\text{Nd}}$ が $-3.1 \pm 0.9$ であり、親潮の値( $\epsilon_{\text{Nd}} = -3.1 \sim -3.6$ )の範囲内であった。また、一個体で2つ以上の切片中 $\epsilon_{\text{Nd}}$ が計測できた個体では、切片間で異なる海域の値を示したものもある。例えば、日本海水揚げ個体であるHimi4-1yの切片が $\epsilon_{\text{Nd}} = -7.9 \pm 2.5$ であり、日本海表層水の値( $\epsilon_{\text{Nd}} = -7.4 \sim$

-8.9)の範囲内であったが、Himi4-3yの切片は  $\epsilon_{Nd} = -3.2 \pm 1.6$  であり、親潮の値の範囲内であった。また、Muroto5-1yの切片 ( $\epsilon_{Nd} = -6.3 \pm 2.4$ ) のように、前述の先行研究で分かっている日本海・太平洋・親潮以外の値が計測されたものもあった (Muroto5-1y, Himi1-1y, Himi2-3y, Himi3-1y, Himi5-3y) (Table 1)。これらの結果から、海産魚類のネオジム同位体比から対象魚の移動履歴を推定できる可能性が示唆された。

しかし、骨中のNdが微量であることから分析が不可能な試料も多く、カラム処理時のNdの回収率や機械の分析条件などを改善する必要がある。

| Sample  | 0y  | 1y       | 2y       | 3y       |
|---------|-----|----------|----------|----------|
| Muroto1 | N/A | N/A      | N/A      | -3.1±0.9 |
| Muroto2 | N/A | N/A      | N/A      | -7.9±0.8 |
| Muroto3 | N/A | N/A      | -8.4±2.3 | -3.1±2.1 |
| Muroto4 | N/A | -7.2±2.5 | N/A      | N/A      |
| Muroto5 | N/A | -6.3±2.4 | N/A      | -7.7±1.2 |

| Sample | 0y  | 1y       | 2y       | 3y       |
|--------|-----|----------|----------|----------|
| Himi1  | N/A | -6.6±2.1 | -3.6±2.1 | -3.7±1.2 |
| Himi2  | N/A | -7.3±2.4 | N/A      | -6.5±2.1 |
| Himi3  | N/A | -6.0±2.3 | N/A      | -8.7±2.1 |
| Himi4  | N/A | -7.9±2.5 | N/A      | -3.2±1.6 |
| Himi5  | N/A | N/A      | -3.5±1.4 | -6.1±1.5 |
| Himi6  | N/A | N/A      | -8.4±2.4 | N/A      |
| Himi7  | N/A | N/A      | -4.7±2.7 | N/A      |
| Himi8  | N/A | N/A      | N/A      | -8.0±0.6 |
| Himi9  | N/A | N/A      | N/A      | N/A      |

### 3. 発表 (研究成果の発表)

太田民久、脊椎骨のNd同位体比を用いたブリの回遊履歴推定、日本水産学会 (東京、2019)

Table 1 2017年に捕獲された脊椎骨Nd同位体比値の変動

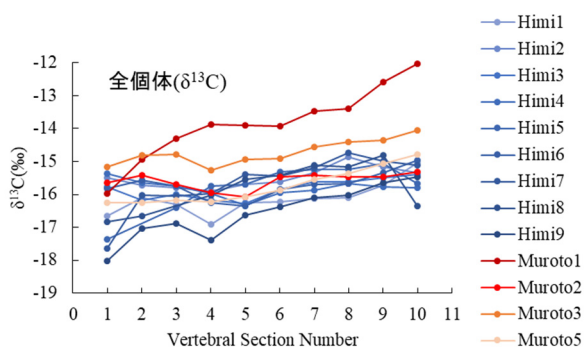


Fig.1: 成長に伴う  $\delta^{13}C$  値の変動

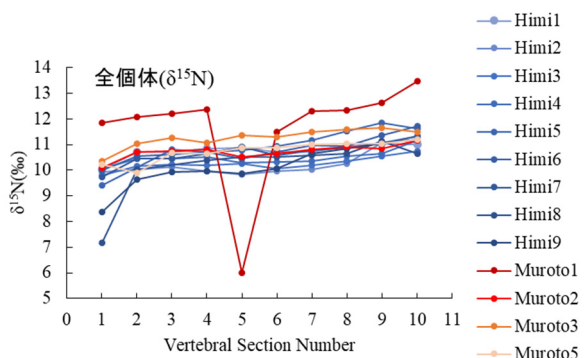


Fig.2: 成長に伴う  $\delta^{15}N$  値の変動