

令和7年度伊藤光昌氏記念学術助成金(研究助成)成果報告書

研究課題番号	R7-R5
研究課題名	高解像度元素分析による魚類眼球水晶体に刻まれる摂餌履歴の探求
研究代表者氏名	樋口 富彦
所属・職 (または学年)	愛媛大学大学院農学研究科・准教授

【背景と目的】

国連食糧農業機関 (FAO) の『世界漁業・養殖業白書 2022』によると, 世界人口の増加に伴い水産物需要の増大が指摘されている. 魚類は海洋生態系においてプランクトンと高次捕食者をつなぐ中間栄養段階を担い, 水産資源としても重要である. そのため, 魚類の生物量変動の理解は資源管理や生態系研究において不可欠である.

しかし, 魚類がどこで生まれ, どのような経路をたどって成長するのか (回遊生態) を詳細に把握することは難しい. 特に自然環境下において, 個体の一生にわたる移動や摂餌履歴を直接観察することは困難である. 従来の胃内容物分析は直前の摂餌情報に限定されるため, 長期的な食性復元には限界がある.

近年では, 生体組織に記録された元素および安定同位体情報を用いた生活史復元が注目されており, 耳石や水晶体が有効な分析対象として利用されている.

本研究では, 安定同位体標識と NanoSIMS による高解像度元素分析を組み合わせ, 摂取した餌由来の窒素が眼球水晶体にどのように記録されるかを明らかにすることを目的とした.

【材料と方法】

実験にはカタクチイワシ *Engraulis japonicus* を用いた. 産卵誘発により得られた卵から孵化した仔魚に, 人工的にワムシ (図 1) を給餌した.

安定同位体標識は, 天然に少ない ^{15}N (窒素安定同位体) の存在比を人為的に高めることで行った. まず, ワムシの餌となるクロレラを ^{15}N で標

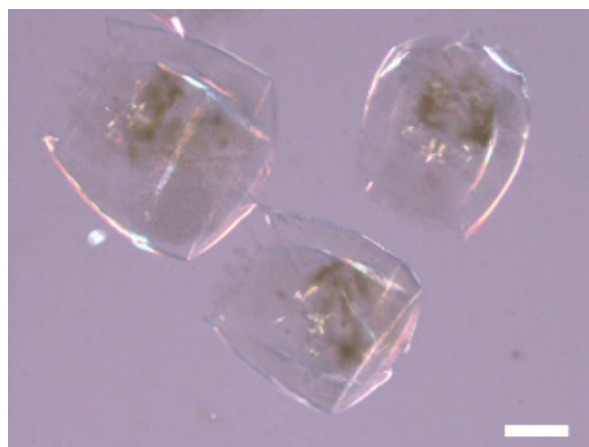


図 1 カタクチイワシの給餌に用いたワムシ. 体内にクロレラを摂取している様子が確認できる. 白棒 = 50 μm

識した. 具体的には, ^{15}N 硝酸アンモニウム ($^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$, Sigma-Aldrich) を 1 mg/L となるよう添加した海水中でクロレラを培養した. 培養条件は, 細胞密度 10^7 cells/mL, 光強度 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 水温 22°C とし, 培養期間は 1 日とした. 事前検討の結果, クロレラの密度が高すぎる場合 ($>10^8$ cells/mL) には ^{15}N の取り込み効率が低下すること, また培養期間を延長しても取り込み量の大幅な増加は見られないことを確認した.

その後, ^{15}N 標識クロレラを 5.5 時間ワムシに給餌し, ワムシを標識した. これを孵化直後の仔魚に与えたところ, 1 日以内に摂餌が確認された. その後は非標識ワムシに切り替え, 約 1 か月間飼育した. つまり, 今回 ^{15}N で標識したワムシは, カタクチイワシが孵化後最初に口にした給餌群にのみ用いたこととなる.

飼育終了後, 眼球水晶体を顕微鏡下で取り出したのち, アラルダイト樹脂に包埋し, 真空により

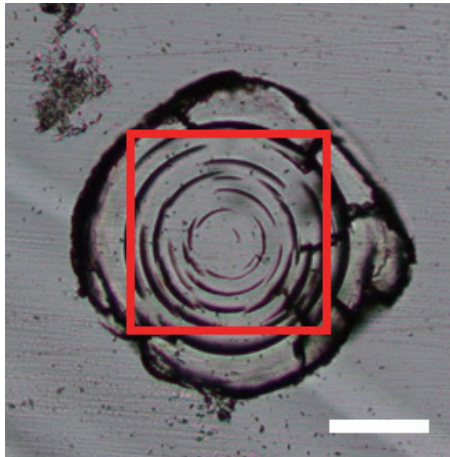


図2 研磨後の眼球水晶体試料
赤枠は NanoSIMS 分析部分 (100×100 μm).
白棒 =50 μm .

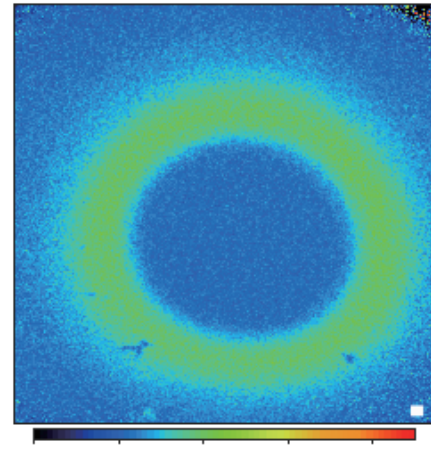


図3 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の平面画像 (100×100 μm)

脱気した後、70℃で樹脂を硬化させた。樹脂包埋した眼球試料を 30, 9, 3, 1, 0.5 μm のラッピングフィルムを用いて研磨を行い、眼球の長軸・中心を通る平面試料を得た (図2)。試料に Au 蒸着を行った後、NanoSIMS (NS50, Cameca) により ^{14}N および ^{15}N の2次元分布像を取得した。

【結果と考察】

NanoSIMS 分析により、水晶体内部には成長に伴う同心円状構造が確認され、その中心付近に高濃度の ^{15}N シグナルが検出された (図3)。これは、孵化直後に摂取した ^{15}N 標識ワムシ由来の窒素が、水晶体形成初期に取り込まれたことを示す。

さらに画像解析の結果、水晶体中心部に対応する領域の直径は 20.5~42.4 μm (平均 33.1 \pm 11.3 μm , n=3) であった (図4)。本研究では初期餌料のみを標識したため、この領域は標識開始以前、すなわち親由来栄養によって形成された部分であると解釈される。以降の層には ^{15}N 非標識ワムシ由来の窒素が徐々に反映され、母性効果が次第に希釈されていくことが示された。したがって、水晶体中心部は母性効果の影響を強く受ける領域

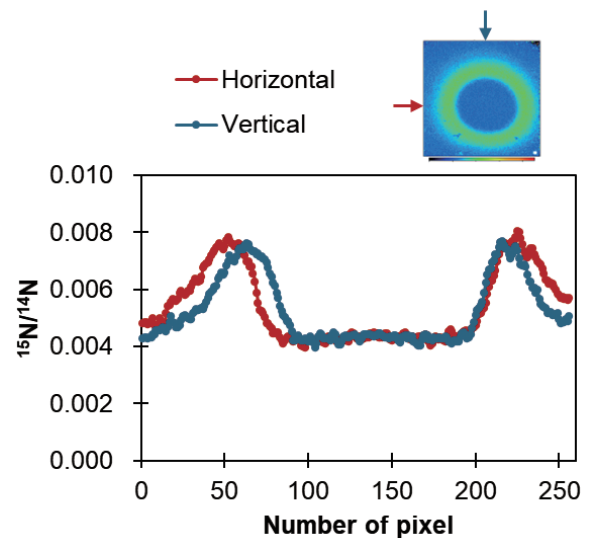


図4 水平・垂直方向の $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 強度

であり、その外側に向かって餌由来窒素の寄与が増加することが示唆された。

この知見は、眼球水晶体を用いた食性復元において、母体由来の影響を正確に補正するうえで重要な基礎情報となる。今後は、眼球水晶体同位体比から餌の同位体比を精度高く推定できる手法の確立、天然資料を用いた高解像度での食性復元を目指す。また、耳石など他部位の化学分析を併用することにより、詳細な行動生態復元が期待される。