

耳石の局所酸素同位体比分析で探るクロマグロ産卵海域の動態

牛久保孝行*¹ 羽根由里奈*² 木村 伸吾*³
Ushikubo Takayuki Hane Yulina Kimura Shingo

1. はじめに

クロマグロ (Pacific bluefin tuna, 学名: *Thunnus orientalis*) は、主に北太平洋の温帯海域に分布し、日本近海から米カリフォルニア州沖までの広い海域を回遊する高度回遊性魚類である。クロマグロは、8種に分類されるマグロ属魚類の中でも大型の種で、最大体長は約 2.7 m、体重は 450 kg 以上に達し、寿命は 20 歳以上とされる。肉質は脂質が多めで、高級マグロの代名詞「本マグロ」として日本の食文化や我々の食卓に馴染み深い水産資源である。

クロマグロの産卵は、南西諸島海域を中心とした九州南方～台湾東方にかけての海域で 4 月下旬～7 月上旬に行われ、また、日本海南西部では 7 月～8 月上旬にかけて行われると考えられている (図 1)。水深 50 m 以浅の水域で産卵することから、産卵海域の環境は地球温暖化等の環境変動の影響を受けやすい。産卵海域の海面温度 (2009～2011 年までの産卵期の平均値) は南西諸島海域で約 27℃、日本海南西部で約 23℃であるが、近年の温暖化によって、これら海域の海面水温は 1993～2017 年までの 25 年間に約 1.2～1.7℃程度上昇したと見積もられている¹⁾。産卵海域の水温上昇は、クロマグロの産卵行動や孵化直後で遊泳能力の低い仔魚の成長及び生残に大きく影響を与える可能性がある。資源の持続的な利用のためには、こうした水温上昇がクロマグロの産卵生態や資源加入量にどのような影響を与えるのかを正確に把握することが喫緊の課題となっている。

本稿では、二次イオン質量分析計 (Secondary ion

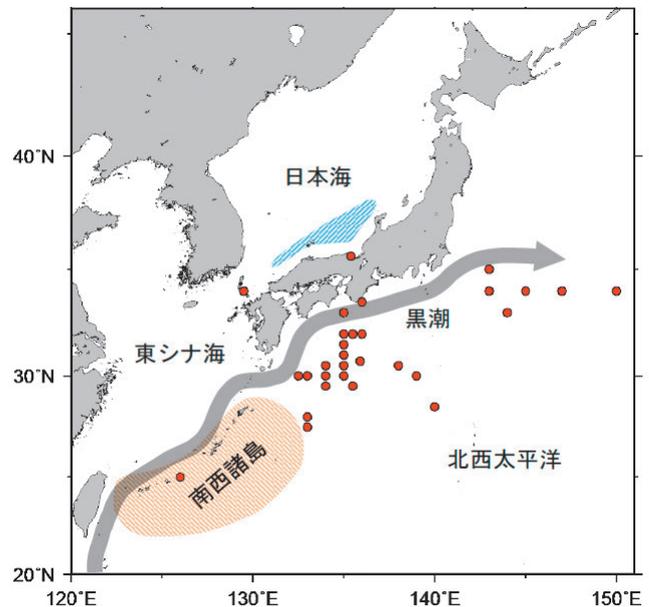


図 1 クロマグロの産卵海域

主に南西諸島海域 (橙) と日本海南西部 (青) の 2 つの海域がある。耳石研究に用いた個体の捕獲水域 (赤丸) も示す。文献 1) の Fig.1 を加筆修正

mass spectrometry, SIMS) を用いて、クロマグロの耳石と呼ばれる硬組織のうち仔魚期に相当する“耳石核”の酸素同位体比を測定することで、成魚として捕獲された個体が南西諸島海域生まれか日本海生まれかを推定した研究^{1,2)}を紹介する。

2. なぜ、耳石の局所酸素同位体比分析なのか?

耳石は脊椎動物の内耳にある炭酸カルシウム (CaCO₃) の結晶からなる硬組織である。魚類には、扁平石、礫石、星状石と呼ばれる 3 種類の耳石が左

右一対ずつ存在するが、一般的には最も大きい扁平石が研究に使われる。耳石は一度形成されると分解されることはなく、硬組織の外側に新しい結晶が付加する形で成長する。耳石の断面には木の年輪のような同心円状の輪紋構造が見られ、昼夜の代謝活動の変動によって微細に形成される「日輪」と、体成長速度の季節変化に伴って形成される「年輪」が多く、多くの魚種で確認されている。これらの輪紋数を数えることで、個体の日齢や年齢を知ることができる。

魚類の耳石の最大の特徴は、個体が経験した環境履歴を記録しながら成長することである。つまり、耳石の中心部から縁辺部まで、成長軸に沿って目的の微量元素濃度や同位体比を分析することで、その魚が生まれてから漁獲されるまでの生息環境や回遊経路に関する情報を得ることができる。特に耳石の酸素同位体比は、個体が経験した環境の水温と周りの水の酸素同位体比を反映することから、魚類の生態や回遊の研究に幅広く用いられている。

天然物質の酸素同位体比の変化量は小さいので、標準物質（水の場合は標準海水 [VSMOW]、耳石等の炭酸塩鉱物の場合は Pee Dee 層ペレムナイト化石 [VPDB]）の $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 比からの差を千分率で表記した値 ($\delta^{18}\text{O}$, 単位: ‰) で表現する:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{試料}} = \left\{ \frac{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{試料}}}{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{標準物質}}} - 1 \right\} \times 1000$$

前述のとおり、耳石の酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}_{\text{耳石}}$) は温度に依存して変化することが水温を変えた飼育実験の結果から示されており、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{耳石}}$ から水の酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}_{\text{水}}$) を差し引いた値は水温と直線性の良い負の相関を示すことがクロマグロを含む様々な魚種で実証されている (図2)³⁾。海水魚の経験水温を推定する際に必要となる海水の酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}_{\text{海水}}$) は観測データが不足しているのが現状だが、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{海水}}$ は塩分と正の相関を示すため、既存の $\delta^{18}\text{O}_{\text{海水}} - \text{塩分}$ の関係式に生息海域の塩分データを当てはめることで推定することができる。この推定データと耳石の酸素同位体比の分析値を組み合わせることで、海水魚が生息していた海水温を復元することができる。

魚が孵化した当時の水温環境を知りたい場合、仔魚期に形成される、耳石中心部である耳石核の酸素同位体比を測定すればよい。南西諸島海域と日本海南部での産卵時期の平均海面水温の差は約 4℃

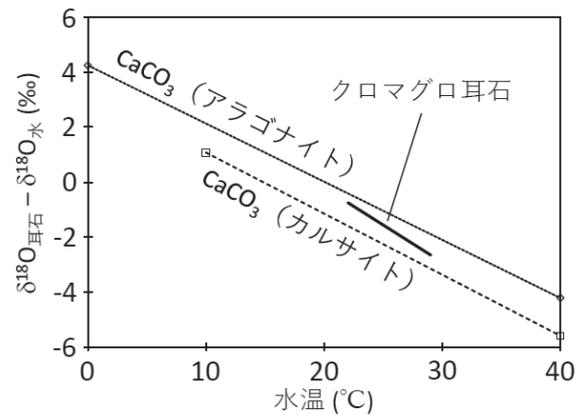


図2 マグロ耳石と CaCO_3 鉱物の $\delta^{18}\text{O}-T$ (°C) 相関

負の傾きを持つ直線性の良い相関関係が見られる。文献3) からデータを抜粋

で、図2の相関から耳石の酸素同位体比には約 1.1‰ の違いがあると予想される。クロマグロの場合、体長 2 m の個体で耳石（扁平石）の大きさは約 17～18 mm であるが、孵化後 20 日以内の仔魚期に形成される耳石領域は核から約 20 μm の範囲になる。この範囲の耳石の酸素同位体比を $\pm 0.5\%$ 未満の精度で測定できれば、その個体がどちらの海域で孵化したかが分かる。

3. 分析に至るまでの準備と工夫

本研究で用いた二次イオン質量分析計 (SIMS) は、微小領域の微量元素濃度や同位体比の分析を得意とする。酸素同位体比分析では、細く収束させた Cs^+ イオンビーム (一次イオン) を分析試料に照射し、削剥された試料表面から出てくる O^- イオン (二次イオン) を質量分析計に導入して酸素同位体シグナル ($^{16}\text{O}^-$, $^{18}\text{O}^-$) を計測する。炭酸塩鉱物の分析では、約 10 μm の領域の酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) を約 $\pm 0.4\%$ (2SD) の精度で分析できる。

SIMS の分析では測定する O^- イオンは試料表面で生成されるのでイオン化効率が分析試料の組成の影響を受けやすく、データの補正係数は分析試料と同じ化学組成の標準試料で決める必要がある。また、試料表面と 5 mm 離れた金属プレートの上に 10 kV の電位差をつけて試料から出るイオンを質量分析計に導入するため、電場が歪まぬように試料表面を極めて平滑に仕上げる必要がある。この条件を満たすために筆者らは幾つかの技術開発を行った。

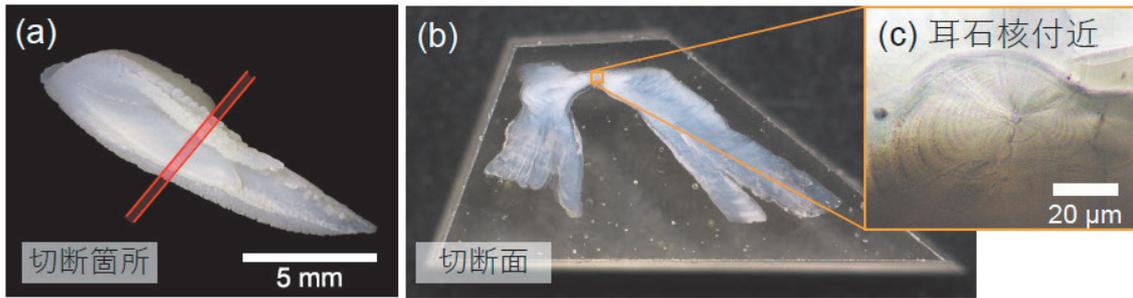


図3 クロマグロの耳石

(a) 頭部から取り出された扁平石。耳石核の切り出し位置を赤線で示す。(b) 切り出した耳石断面。(c) 光学顕微鏡で撮影した耳石核付近。文献1)のFig.4から抜粋

3.1 耳石核を研磨表面に露出させる手法の検討

クロマグロの耳石は中央が窪んだ宝船のような不定形をしていて、耳石核はちょうど船底に当たる部分にある(図3a)。耳石核付近をSIMSで分析するには、耳石核を含む領域を薄く切り出し、「くの字型」の切片を横に倒して樹脂に包埋後、耳石核が表面に露出するまで精緻に研磨する必要がある(図3b)。まず、耳石を窪み部分が下に来るようにスライドガラスに固定し、わずか $5\mu\text{m}$ 程度の耳石核を倒立顕微鏡下で確認して切断位置を決め、その位置に刃を当てて精密切断をする。次に、粒子径 $6\sim 1\mu\text{m}$ の研磨フィルムを用いた段階的な研磨を行うことで耳石核を試料表面に露出させる。東京大学大気海洋研究所で一連の作業を実施するための顕微鏡・ステージ・画像処理一体のシステムが考案され、耳石試料の加工に用いられた。

3.2 耳石試料のSIMSデータ補正係数の推定

SIMS用の炭酸カルシウム標準試料はカルサイトという結晶で、耳石を構成するアラゴナイトとは結晶構造が異なる。また、耳石にはわずかに有機物や水分(-OH基)が含まれており、これらの微量成分が補正係数に影響を与えることが知られている。クロマグロ耳石中に含まれるそれらの物質が補正係数に与える影響を調べるため、連続フロー型質量分析法(CF-IRMS)を用いて極微量の炭酸塩鉱物の $\delta^{18}\text{O}$ 値を高精度で分析する技術を有する茨城高専の研究グループと協力して、SIMSとCF-IRMSの $\delta^{18}\text{O}$ 値の比較分析を行った²⁾。クロマグロ耳石の中で、SIMS分析の $\delta^{18}\text{O}$ 値が誤差の範囲で均一な領域(約 $50\mu\text{m}\times 300\mu\text{m}$ の範囲)を数か所選定して削り取り、得られた耳石粉末の $\delta^{18}\text{O}$ 値をCF-IRMSで分析した。その結果、CF-IRMSで測定したクロマグ

ロ耳石の $\delta^{18}\text{O}$ 値はSIMS用カルサイトを使った補正係数で見積もる値よりも $0.4\sim 1\%$ 近く高くなることが示唆された。SIMSの値がCF-IRMSの値から系統的にはほぼ一様にずれることから、筆者らはSIMSで得られた耳石核付近の $\delta^{18}\text{O}$ の相対値に着目して、個体が孵化した海域を議論することとした。

4. クロマグロの耳石は語る

共同研究の立ち上げから3年以上の時間をかけて、51個体のクロマグロ成魚から採取した耳石試料の分析を行った。図1に赤丸で分析個体の捕獲海域を示す。個体は体重100kg程度のものが多いが、中には体重446kg、年齢20歳という大物もいた。

耳石の判読のポイントは(i)耳石核の位置、(ii)核から最初の年輪までの距離、(iii)年輪の数の3つがある。(i)は酸素同位体比分析位置の決定、(ii)は孵化から最初の冬を迎えるまでの個体の成長量、(iii)は漁獲年から逆算した誕生年の推定に使われる。耳石の判読の結果、本研究で調べた個体は主に2009~2011年に誕生したことが分かった。

分析した耳石試料の「耳石核の $\delta^{18}\text{O}$ 値」と「耳石核から最初の年輪までの距離(μm)」のデータを用いて非階層クラスター分析の1つであるk平均法($k=2$)を実行すると、データの類似度に基づいて $\delta^{18}\text{O}$ 値の高いA群と $\delta^{18}\text{O}$ 値の低いB群に分類される(図4)。 $k=3$ としても、灰色の円で示すようにB群がB1、B2の2群に分かれるだけで依然としてA群とB群の分類は残る。2章で述べたとおり、耳石核付近の $\delta^{18}\text{O}$ 値は産卵海域の水温を反映し、水温の低い日本海生まれの個体は南西諸島海域生まれのものよりも水温差 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ に相当する約 1.1% 高い

$\delta^{18}\text{O}$ 値を持つと予想される。A 群と B 群の $\delta^{18}\text{O}$ 平均値の差も約 1.1%と予想値と一致していることから、A 群と B 群はそれぞれ日本海生まれと南西諸島海域生まれの個体群に該当すると解釈できる。また、B 群の X 軸方向の分散が A 群のそれに比べて大きいことは、南西諸島海域における産卵期間が比較的長く、孵化から最初の冬を迎えるまでの成長量の差が大きいことを反映していると考えられ、産卵海域の判別結果を支持するものとなっている。A 群の個体数が 23、B 群の個体数が 28 であることから、本研究で用いたクロマグロ成魚の約 55%が南西諸島海域生まれ、約 45%が日本海生まれであったと推定される。

1990 年代半ばに漁獲されたクロマグロ未成魚 477 個体の耳石日輪と体長を解析した研究によると、当時のクロマグロ未成魚のうち約 76%が南西諸島海域生まれ、約 24%が日本海生まれであった⁴⁾。ただし、この調査期間のうち、夏季が記録的な猛暑であった 1994 年だけは日本海生まれの個体の割合が約 40%に跳ね上がっていた。本稿で紹介した筆者らの研究では、2010 年前後に生まれた個体の約 45%が日本海生まれであり、1990 年代半ばの約 24%と比べて増加している。これは、産卵海域の表層海水温の上昇に伴ってクロマグロの産卵海域の変化している可能性を示している。1 章で述べたとおり、南西諸島海域は日本海南西部よりも平均表層海水温が高いと同時に、仔魚が正常に発達できる水温の上限（約 30℃）に近い温度環境であるため、わずかな水温上昇が仔魚の成長や生残に致命的な影響を与え得る。猛暑年であった 1994 年に一時的に見られた例のように、両海域の表層海水温が上昇することで産卵期の成魚の行動や仔魚の生残率が変化し、その結果、日本海南西部が産卵海域として適した環境に変わりつつあるのかもしれない。今後、本稿で紹介した手法で気候変動に伴う水温上昇や海洋熱波等の海洋環境変動がクロマグロの産卵海域や資源加入変動にどのような影響を与えているかを継続的に調査することで、日本の食文化にも深く根ざす本種の資源

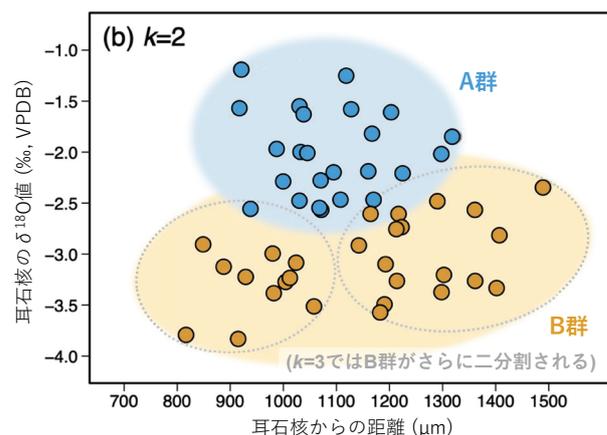


図 4 51 個体のクロマグロ耳石データ

X 軸は耳石核から最初の年輪までの距離、Y 軸は耳石核付近の $\delta^{18}\text{O}$ 値。51 個体のデータは k 平均法クラスター分析 (k=2) で $\delta^{18}\text{O}$ 値の異なる A 群 (青)、B 群 (橙) に分類される (灰色の円は k=3 で分類される B1, B2 群を示す)。文献 1) の Fig.5 を加筆修正

を持続的に利用及び管理できると筆者らは考えている。

謝辞

本稿の著者のうち、羽根と木村は魚類の生態と生息環境の研究者で、牛久保は SIMS を用いた隕石の研究者と研究分野が大きく異なる。SIMS の耳石分析がニホンウナギの産卵環境の推定に貢献した経緯を覚えていた東京大学大気海洋研究所の横山博士と宮入博士のご尽力により、この共同研究が実現できたことを感謝いたします。

参考文献

- 1) Hane, Y., et al., *PLoS ONE*, **17**(8), e0272850 (2022)
- 2) Hane, Y., et al., *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **649**, 175-188 (2020)
- 3) Kitagawa, T., et al., *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **481**, 199-209 (2013)
- 4) 伊藤智幸, 日本水産学会誌, **75**(3), 412-418 (2009)

(*1 海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門 高知コア研究所, *2 東京大学 大学院農学生命科学研究科 農学国際専攻, *3 東京大学 大気海洋研究所)