

(9) ふくいの磯根生物持続的利用技術開発事業

谷保 文野
富永 修・浜口 昌巳（福井県立大学 海洋生物資源学部）

1 目的

浅海域に生息するウニ類、アワビ類、サザエ等の動物や食用の海藻等は磯根資源と呼ばれている。福井県内のウニ類、アワビ類およびサザエの漁獲量は、アワビ類を除いて大幅に減少している。特にウニ類については、1970年代は約200トンの水揚げがあったが、現在では数トンに減少しており、減少量は極めて大きい。ウニ類の漁獲量が減少した原因は、資源量が減少したためであると考えられている。

これらの生物の資源量を増大させる方法として、人工種苗の放流や漁場環境の改善などが挙げられる。一般的に、魚類に比べてこれらの生物の移動能力は低いため、放流場所の環境が生物にとって良好でなければ、放流効果は小さくなると予想される。餌料環境は漁場環境を評価するための重要な指標の一つであるが、福井県内のウニ類の摂餌生態を詳細に調べた事例は Nakano et al. (2017) を除き皆無であった。本事業の前身事業である「ふくいの海藻増養殖技術開発事業」では、Nakano et al. (2017) の方法に基づき、ムラサキウニ *Helicidaris crassispina* とバフンウニ *Hemicentrotus pulcherrimus* が摂餌している海藻の種類を調査し、漁場環境の把握に有益な知見を得た。一方で、県内の沿岸域に生息するウニ類の中でも、バフンウニと並び主要な漁業対象種となっているアカウニ *Pseudocentrotus depressus* についても調査を行ってきたが、ムラサキウニやバフンウニと同様の方法では充分に餌料海藻種を特定することができず、調査方法の改良が課題となっていた。本研究では、磯根生物が摂餌した海藻の種同定方法の確立を目的とし、アカウニの胃内容物のDNA抽出方法、DNAサンプルを用いた Metabarcoding 等解析方法の検討およびアカウニの炭素・窒素安定同位体比の検討を行った。

2 方法

1) 磯根生物採集

福井県三方上中郡若狭町世久見地先の3地点（図1）において、2024年4月2日、5月31日、9月19日および11月15日に1地点あたり10個体のアカウニを採集した。また、4月2日と11月15日はウニの採集時に採集地点周辺の主要な大型海藻について SCUBA ダイビングで観察した。採集したウニと海藻は福井県水産試験場栽培漁業センターへ持ち帰って、殻径、全重量、生殖腺重量、GSIなどを計測したのち、消化管内容物や安定同位体比分析のための試料を採取した。

餌料海藻の遺伝子解析用サンプルとして、ウニの消化管内容物を取り出し、1.5 mL のマイクロチューブに保存した。消化管内容物は、後述のDNA抽出作業を行うまで-30°Cで保存した。なお、本年度は夏季に記録的な猛暑であったためか、9月19日の試料では消化管内容物が少ない個体が散見された。

安定同位体比分析用のサンプルとして、ウニの口器、生殖腺、消化管を取り出し、個体ごとにチャック付きのビニール袋に入れて、分析用のサンプルを調整するまで-30°Cで保管した。また、採集した海藻は、採集地点毎に分けてタコネットに入れて冷蔵保管し、採集した翌日に種を同定した。同定した海藻は、チャック付きのビニール袋に入れて-30°Cで保管した。

2) アカウニの消化管内容物のDNA抽出およびMetabarcoding等解析方法の検討

これまで、ウニ類の消化管内容物の分子生物学的手法を活用した同定方法は、Nakano et al. (2017) および中野 (2018) がバフンウニで用いた方法がある。この論文は世界に先駆けて遺伝子解析によるウニ類の消化管内容物中の海藻の種を同定している。一昨年度はこの論文による方法の問題点を改良するとともに、さらに高精度でアカウニの消化管内容物の解析方法について大型褐藻類の詳細な種同定 (Stiger et al., 2005 ; Bartolo et al., 2020) や動物の消化管内容物の同定や海洋環境中の海藻・海草由来の環境DNAの分析に用いられている次世代シークエンサー (NGS) を活用した網羅的DNA barcoding 法である Metabarcoding (Moura Queiros et al 2019; Reef

et al., 2017; Ortega et al., 2020; Bartolo et al., 2020) の検討を行った。そのなかで、Rodriguez-Barreras et al. (2020) はペルトリコの沿岸で採取した複数種のウニ類の消化管内容物を NGS を活用した metabarcoding 解析によって検討しているが、主にその手法を参考にして metabarcoding 解析によるアカウニの餌生物の網羅的解析を行った。

(1) 消化管内容物からの DNA 抽出前処理

凍結保存していたアカウニの消化管内容物試料について、それぞれ中身が多い 5~6 個体を選び解析に使用した。解凍した消化管内容物を、 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ のフィルターでろ過した後オートクレープした滅菌海水で 3 回、分子生物研究用エタノールで 1 回洗浄した後、小型シャーレに入れて乾燥機内で 60°C で一晩乾燥した。

(2) 消化管内容物からの DNA 抽出

乾燥処理した消化管内容物約 500mg を入れた 2.0ml チューブに Stainless Steel Beads (5 mm diameter ; Qiagen 社製) を 1 個入れ、Beads crusher (TITEC 社製) で 2000rpm で 30 秒間破碎した。破碎後、Nucleospin from soil (MACHEREY-NAGEL 社製) の添付のマニュアルに記載されている方法で DNA を抽出した。抽出した DNA の定量は Nano drop One (ThermoFisher 社製) を使用した。なお、実験に使用したチューブ類はすべて DNA 低吸着性のものを使用した。

(3) 次世代シークエンサー（以下、NGS とする）による Metabarcoding 解析

Ortega et al. (2020) で報告されている多種の海草・海藻類に使用できる 18SrRNA の V8-V9 領域と昨年度開発した PCR プライマー GazMRF と Gaz2R を用いて Matsubara et al. (2023) の方法によって metabarcoding 解析を行った。

3) アカウニの安定同位体比の検討

安定同位体比分析用のサンプルを作製するため、ウニの口器周辺に付着する筋肉を用いた。回収した筋肉組織、を個体毎に培養用の 12 穴シャーレに入れて 60°C で約 48 時間乾燥した。乾燥した組織を乳鉢に広げて乳棒で磨り潰して粉末状にし、サンプル毎に 1.5 mL のテストチューブに保存した。粉末状にしたサンプルは専用の錫箔に封入した。ウニ標本の封入量は約 0.7 mg で調整した。安定同位体比分析は、2025 年 2 月 25 日～2 月 28 日の期間に京都大学生態学研究センターにおいて元素分析計に接続した安定同位体質量分析計 (DELTA V plus, Thermo FisherScientific) を用いて分析した (Tayasu et al., 2011)。炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) および窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) は以下の式を用いて算出した。

$$\delta_{\text{Sample}} = \{(R_{\text{Sample}}/R_{\text{Standard}}) - 1\} \times 1000$$

なお、R Sample 及び R Standard はそれぞれ試料と標準物質の安定同位体比を示している。窒素安定同位体比の標準物質は大気中の窒素、炭素安定同位体比は化石炭酸塩鉱物 Vienna Pee-Dee Belemnite (VPDB) である。測定値補正のために 2 次標準物質として DL-2-Aminopropionic Acid を分析した。

分析に用いた標本は、2024 年 5 月 31 日および 9 月 19 日に、箱崎、岡鶴および鳥辺島で採集された。漁場間の比較では、口器筋肉を用いた。なお、漁場間の安定同位体比は TukeyHSD 検定で比較し、有意水準 α は 0.05 とした。

3 結果と考察

1) 今年度採取したアカウニの状態および採取地点の海藻類の繁茂状況

4 月 2 日、9 月 19 日、11 月 15 日の採取したアカウニでは殻径、体重および生殖腺重量は箱崎、鳥辺島前、岡鶴の採取地点による差異は認められなかった。5 月 31 日のアカウニは殻径と全重量が鳥辺島前と箱崎の間で差異が認められ、箱崎の方が大きかった (Kruskal-Wallis test それぞれ $P=0.002$ 、 $P=0.003$)。しかし、GSI は 4 月 2 日、5 月 31 日、9 月 19 日に箱崎と鳥辺島前で差があり (Kruskal-Wallis test それぞれ $P=0.044$ 、 $P=0.035$ 、 $P=0.005$)、鳥辺島前が高く、次いで岡鶴、箱崎の順であり、箱崎が一番低かった。5 月 31 日の結果から、箱崎のアカウニは殻径や全重量が鳥辺島前より大きかったが、GSI は逆に鳥辺島前の方が大きかったことから、殻の大きさの割には身入りが悪かったと考えられる。

一方、海藻の繁茂状況は SCUBA 潜水が出来た 4 月 2 日と 11 月 15 日の状況を記する。4 月 2 日は、3 か所共にガラモ類に交じり、紅藻類も繁茂しており（図 2A）、アカウニの状態もよかつた（図 2B）。なかでも、岡鶴ではジョロモク等各種ガラモ類が水面まで到達する程度に繁茂していた（図 2C と D）。また、今夏も猛暑であったので海藻類の繁茂状況が懸念されていたが、11 月 15 日には予想以上にヤツマタモクやノコギリモクが繁茂しており（図 3A と B）、また、採取したアカウニの生殖腺が肥厚するとともに（図 3C）、クロアワビの身入りもよかつた（図 3D）。例年だと、この時期はアカウニの産卵期が終わっており、生殖腺重量は低いのであるが、本年度は夏季水温が高すぎて成熟が進行せず、産卵期が遅くなつたのではないか、と考えられた。

2) アカウニの消化管内容物の metabarcoding 解析による分析結果

18SrRNA の V8-V9 領域を活用した Metabarcoding 解析の結果のうち、アカウニ由来の Operationally taxonomic unit (以下、' OTU とする) の割合を図 4 に示す。アカウニの消化管内容物は海藻類が主体で、海藻類以外のその他の生物は決まつた生物種がみられず、海藻類以外の餌生物の寄与はほとんどないと考えられた。一方でこの領域では、動物から海藻類まで幅広く生物種を同定することが出来るためアカウニの DNA も検出する。4 月 2 日と 5 月 31 日に採取したアカウニの消化管内容物は海藻類が多く、アカウニ DNA の混入率も低かったが、9 月 19 日と 11 月 15 日に採取した試料では昨年よりさらにアカウニ DNA の混入率が高かつた。特に、9 月 19 日の試料では消化管内に海藻類の断片がほとんどない状態の個体が多く、そのような試料ではアカウニ DNA の混入率が高い傾向を示した。一方、11 月 15 日でも 9 月 19 日と同様な傾向を示しており、前述したように夏場の高水温の影響等でアカウニが疲弊し、11 月になってもまだ回復していないのではないかと推測された。

昨年度報告したようにアカウニ由来の DNA の混入率は、消化管内容物に食物が少ない場合に高まると考えられるので、アカウニの摂食活動が活発に行われているのか、という指標にもなる。そこで、試料採取場所別にアカウニの DNA 混入率の変化は図 5 に示す。箱崎では調査期間中に有意な変動は認められなかつたが、鳥辺島前と岡鶴では4 月 2 日と比較すると 9 月 19 日の調査時にはアカウニ DNA の混入量は有意に増加していた（Kruskal-Wallis test 鳥辺島前 9 月 19 日 P=0.003、11 月 15 日 P=0.017、箱崎 9 月 19 日 P=0.002）。特に、鳥辺島前は生息環境中の海藻類が目視で増加したと考えられる 11 月 15 日でもアカウニ DNA の混入量が多く、接食活動が依然不活発であることが明らかとなつた。この理由については、先ずは、平均深度は箱崎が 7.3m、鳥辺島前が 5.8m、岡鶴が 4.3m と水深が異なるため、単純に岡鶴 > 鳥辺島前 > 箱崎の順で水温が上がりやすい傾向になると考えられる。昨年度の報告書では、昨年度の夏は記録的猛暑であったが、ダイビングコンピューターの記録からは 8 月の潜水調査時の平均水温は岡鶴で 30°C を超えていた。今年度も、別の調査で 9 月初旬に鳥辺島前や箱崎で潜水調査を行つたがその際にも水温は 30°C を超えていた上に、今年度は 9 月以降も高水温で推移しており、高水温の期間が長かつたと推測される。そのために海水温も高く、今回調査した 3 地点でも岡鶴に加え、鳥辺島前も水温が高く、その影響によりアカウニが衰弱したのではないか、と考えられる。安成（2015）は、アカウニは 31°C より高いとへい死すると報告しているため、鳥辺島前や岡鶴の今夏の水温はアカウニにとって極めて影響が大きく、これによって衰弱していた可能性がある。その結果、夏場には鳥辺島前と岡鶴では消化管内容物がほとんど無い個体が多く、生殖腺重量も低かつたと考えられる。一方で、吾妻（1997）や吾妻（2011）では、北海道の沿岸のキタムラサキウニの成長と生殖腺の量的な発達は、餌となるコンブ目褐藻群落の現存量によって決定されることを報告しているが、前述したように 11 月 15 日の潜水調査時には、鳥辺島前と岡鶴では、予想以上にヤツマタモクやノコギリモクの繁茂が認められているが、アカウニ DNA 混入量が多かつたことからアカウニが夏場の高水温で衰弱して接食行動が不活発であったのではないかと想像される。

今回、2 つの領域でのアカウニ DNA に関する' OTU を排除した後の消化管内容物の metabarcoding 解析の結果、検出された OTU は褐藻類（褐藻類 1 は *Sargassum* 属、褐藻類 2 はそれ以外の褐藻類を示す）で 50、紅藻類で 71、緑藻類で 14 であった。アカウニの消化管内のこれら 3 分類群の検出リード数は図 6 に、OTU 数は図 7 に示す。アカウニの餌生物は大部分が *Sargassum* 属の海藻類であり、次いで紅藻類、*Sargassum* 属以外の褐藻類であった。また、場所間では箱崎が周年 *Sargassum* 属が多かつたが、鳥辺島前では *Sargassum* 属に加え、紅藻類も多かつたが、緑藻類はいずれの場所や調査期間でもほとんど検出されなかつた。

OTU 数は多種の海藻類が繁茂していた 4 月 2 日以降、箱崎が最も少なく、鳥辺島前が多い傾向を示した、11 月

15日の調査時には鳥辺島前は箱崎と比較してOTU数が多く (Kruskal-Wallis test P=0.042)、3か所の調査場所のなかでも餌となる生物種が多いことが明らかとなった。

次に、アカウニの餌生物の主体となる *Sargassum* 属の構成種を図8に示す。箱崎は周年を通じてノコギリモクが全体のリード数の95%以上を占めていた。過去2年間と比較すると、鳥辺島前と箱崎はヤツマタモクの比率が低く、また、試料採取日による構成種の変化が認められた。4月2日には鳥辺島前はエナガモク、ノコギリモク、ヤツマタモク、ジョロモク、イソモク、岡鶴ではジョロモク、ノコギリモク、エナガモク、ヤツマタモクの順であった。前述したように、4月2日は岡鶴でジョロモクが水面に到達するほど繁茂しており(図2Cと2D)、全体的に本種のバイオマスが大きかったと推測されているが、このようにアカウニは周辺環境中のバイオマスが大きいガラモ類を摂食している可能性がある。通常、ガラモ類は冬から春に一番繁茂しており、その後は衰退するとされている。そのためか、鳥辺島前と岡鶴では春以降は多年藻であるヤツマタモクやノコギリモクを摂食しており、11月15日は再び種数が増える傾向が見られた。一般的に海藻類を捕食する生物では、野田ら(2014)は海藻類を捕食するアイゴで餌選択性があることを報告している。一方、今井・新井(1986)はアカウニの消化管内容物と生息地の海藻類の比較と、実験環境下における摂餌選択性実験の両面から検討した結果、アカウニには主体的な餌選択性があると報告している。しかしながら、海藻類がない場合は、生息場所の基質に付着したフジツボやカイメン類など手当たり次第に捕食するのではないかと考察している。一昨年度、福井県栽培漁業センターの中島研究員と飼育条件下でアカウニにヤツマタモクとノコギリモクを投与して選択性があるか、について検討したが、選択性は無いという結果となった。このことから少なくとも世久見海岸に生息するアカウニはガラモ類を好むが、ガラモ類のなかでは種の選択性ではなく生息場内でバイオマスが多い種を捕食しているのではないか、と考えられる。ただ、4月2日は各所でワカメが繁茂していたが、今回の結果からワカメは予想以上に摂食されていなかった。アカウニはガラモ類の方がワカメより好む可能性もあるのではないかと考えられる。

次に、アカウニの消化管内容物中の紅藻類の構成種の変化を図9に示す。鳥辺島前は過去2年とも紅藻類の比率が高かったが、今年度は4月2日から5月31日までアミクサが多かったが、9月19日および11月15日は紅藻類全体でもリード数が減少した。昨年も確認されているハネベニノイト(Lee and Lindstrom, 1979)などの種 *Acrochaetium* 属の紅藻類を摂食していたが、それ以外にも季節によって様々な紅藻類も摂食する傾向が見られた。しかし、紅藻類については、18SとGazMRFとGaz2Rを用いた metabarcoding 解析の結果が、必ずしも一致していなかった。これについては、Gaz2Rが一部の紅藻類に適合していない可能性があり、今後、改良が必要ではないか、と考えられる。

現在、地球温暖化が進行しており、気温や水温が上昇している。今後も温暖化が進行し、水温がさらに上昇するとアカウニがつい死する事例も増えるのではないかと危惧される。昨年度から、夏場の高水温によってアカウニの摂餌活動を低下させているのではないか、という結果が得られていた。今年度は今回の試料採取地点で一番好漁場である鳥辺島前でも11月15日まで摂餌活動が低下しているのではないかという結果が得られている。このように、今後ともアカウニの種苗放流や資源保護において高水温の影響について詳細に検討する必要があるのではないか、と考えられる。

3) アカウニの安定同位体比分析の結果

(1) 異なる漁場で採集された海藻類の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の比較

本年度はアカウニの餌料となる海藻を箱崎、岡鶴および鳥辺島で5月と9月に採集し、 $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を比較した(図10)。5月の $\delta^{13}\text{C}$ 値は、-23.79‰(岡鶴のエゴノリ)から9.56‰(岡鶴のサンゴ藻)、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は、3.17‰(箱崎のワカメ)から6.22‰(岡鶴のエゴノリ)の範囲であった。一般に $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は炭素源、窒素源と光合成速度に関連する同位体分別によって決定される。光合成速度の違いによって生じる同位体分別は、成長に関わる因子(栄養塩濃度、光、水温など)が関係するが、3海域は、近接しており生息環境の差は小さいと考えられる。一方、海水のpHと関連する炭素源は、海域別に大きく異なるものの、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は、人間活動などによる窒素源の違いが大きく影響する。そのため、餌料源を推定する場合は、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が用いられる。 $(\delta^{15}\text{N} \text{ 値は、栄養段階の推定に用いられる})$ そこで、本年度は、ウニの餌料として $\delta^{13}\text{C}$ 値を指標に検討する。

メタゲノム解析によりアカウニの主要餌生物と考えられるノコギリモクの $\delta^{13}\text{C}$ 値は5月では、箱崎で-16.19‰、

鳥辺島で-19.86‰、9月では、箱崎で-14.61‰、鳥辺島で-15.61‰、岡鶴で-16.32‰と箱崎で高い値を示した。また、3海域で採集されたヤツマタモクの $\delta^{13}\text{C}$ 値は、箱崎、鳥辺島、岡鶴で、5月には、それぞれ-15.22‰、-14.53‰、-16.03‰、9月には、それぞれ-15.00‰、-18.15‰、-17.26‰であった。5月は明瞭な差が認められなかつたが、9月は箱崎で高く、鳥辺島、岡鶴が明らかに低い値を示した。

(2) 異なる漁場で採集されたアカウニの $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の比較

本年度は箱崎、岡鶴および鳥辺島で5月と8月に採集されたアカウニの口器筋肉の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を比較した(図11)。餌料源を反映する $\delta^{13}\text{C}$ 値は、5月と9月ともに、箱崎が他の2海域に比較して高く、有意差が認められた。一方、鳥辺島と岡崎間には有意差は認められなかつた。この傾向は、 $\delta^{15}\text{N}$ 値でも同様であり、箱崎と鳥辺、岡鶴間で有意差が認められた。2022年8月は、箱崎と鳥辺島間で有意差が認められ、箱崎、岡鶴、鳥辺島の順で低下する傾向が認められた。また、2023年8月の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は、岡鶴が箱崎に比べて有意に低い値を示し、鳥辺島と箱崎間には有意差が無かつた。年による変動がみられるが、岡鶴で値を示すことが共通していた。この要因は不明であるが、主要餌料である褐藻類の安定同位体比が低いことと関連していると考えられる。

消化管内容物の metabarcoding 解析では、イソモク、ジョロモク、ノコギリモク、ヤツマタモク特にノコギリモクとヤツマタモクの重要性が示された。特に、箱崎では、ノコギリモクが、季節に関わらず優占していた。一般に捕食者の $\delta^{13}\text{C}$ 値はその餌料との間で 0~1‰の同位体濃縮しか生じないために、餌料を反映すると考えられている。しかし、生物種によっては同位体の濃縮係数は大きく異なる。一方、捕食者の $\delta^{15}\text{N}$ 値は、餌料よりも 3‰~4‰濃縮される傾向にある。仲野(2018)は、バフンウニの $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ 値をそれぞれ 6.5‰と 2.5‰と推定している。5月の箱崎におけるノコギリモクの $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値は、それぞれ-16.19‰、5.46‰であった。箱崎のアカウニの $\delta^{13}\text{C}$ 値は、5月では-15.05‰±0.27(平均±標準偏差)、9月は-14.75‰±0.27 であった。一方、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は、5月では 7.05‰±0.41、9月は 7.30‰±0.23 であった。この結果から判断すると、 $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ 値の濃縮係数は、それぞれ 1.14~1.44‰と 1.59~1.84 と推定された。ただし、今回海藻の安定同位体比は、1個体のデータしか用いていないために、注意が必要である。濃縮係数に関しては、飼育実験による餌料切り替え試験をおこない、検証する必要がある。

metabarcoding 解析で最も特徴的な結果であった5月の箱崎では、ノコギリモクが優占していた。この結果は、昨年と共通していた。安定同位体比分析できてもノコギリモクの $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ 値が合理的な結果になっており、またバラツキも少ないとから、DNA解析の結果を反映していると考えられる。今後は、metabarcoding 解析で、主要餌料を絞り込み、最低でも5個体の標本を用いて安定同位体比を測定しなくてはならない。それらのデータを用いて、ミキシングモデルによる各餌料の寄与率推定が可能となり、DNA解析と合わせて、定量的に食性解析を実行することができると考えられる。

4 文献

- 1) 安成淳 (2015) アカウニの耐水温試験. Bull. Yamaguchi Pref. Fish. Res. Ctr. 12, 41~44.
- 2) 吾妻行雄 (1997) キタムラサキウニの個体群動態に関する生態学的研究. 北水試研報, 51, 1~66.
- 3) 吾妻行雄 (2011) 海藻群落におけるウニ類の個体群動態に関する生態学的研究. 日本水産学会誌, 77, 352~355.
- 4) Bartolo, A. G., Zammit, G., Peters, A. F., and Frithjof C. Küpper, F. C. (2020) The current state of DNA barcoding of macroalgae in the Mediterranean Sea: presently lacking but urgently required. Botanica Marina, 63, 253~272.
- 5) 今井利為・新井章吾 (1986) アカウニの食性と摂餌量について. 水産増殖, 34, 157~166.
- 6) Lee, Y.P. and Lindstrom, S.C. 1979. *Audouinella kurogii*, a new marine red alga (Acrochaetiaceae) from eastern Hokkaido. Japanese Journal of Phycology 27: 115~122.
- 7) Matsubara, T., Yamaguchi, M., Abe, K., Onitsuka, G., Abo, K., Okamura, T., Sato, T., Mizuno, K-I., Lagarde, F., Hamaguchi, M. (2022) Factor driving the settlement of Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae in Hiroshima Bay, Japan. Aquaculture 563, 738911.
DOI:<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738911>,
- 8) Moura Queiros, A.; Stephens, N.; Widdicombe, S.; Tait, K.; McCoy, S. J.; Ingels, J.; Ruhi, S.;

- Airs, R. ; Beesley, A. ; Carnovale, G. ; Cazenave, P. ; Dashfield, S. ; Hua, E. ; Jones, M. ; Lindeque, P. ; McNeill, C. L. ; Nunes, J. ; Parry, H. ; Pascoe, C. ; Widdicombe, C. ; Smyth, T. ; Atkinson, A. ; Krause-Jensen, D. ; Somerfield, P. J. (2019) Connected macroalgal-sediment systems: blue carbon and food webs in the deep coastal ocean. *Ecol. Monogr.* 89, e01366.
- 9) 仲野大地 (2018) DNA バーコーディング法および炭素・窒素安定同位体比分析を用いたバフンウニの食性解析に関する研究. 福井県立大学博士学位論文, 119pp.
- 10) Nakano, D., Kamiya, M., Tominaga, O. (2017) Molecular identification of macroalgal fragments in gut contents of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Fisheries Science*, 83:425-432.
- 11) 野田幹雄・大原啓史・村瀬 昇・池田 至・山本憲一 (2014) アイゴによるアラメおよび数種のホンダワラ類の被食過程と群落構造の関係. *日本水産学会誌*, 80, 201-213.
- 12) Ortega, A. ; Gerald, N. R. ; Duarte, C. M. (2020) Environmental DNA identifies marine macrophyte contributions to blue carbon sediments. *Limnology and Oceanography*, 9999, 1-11.
- 13) Ortega, A. , Gerald, N. R. , Diaz-Rua, R. , Orberg, S. B. , Wesselmann, M. , Krause-Jensen, D. , Duarte, C. M. (2020) A DNA mini-barcode for marine macrophytes. *Molecular Ecology Resources*, 20, 920-935.
- 14) Reef, R. ; Atwood, T. B. ; Samper-Villarreal, J. ; Adame, M. F. ; Sampayo, E. M. ; Lovelock, C. E. (2017) Using eDNA to determine the source of organic carbon in seagrass meadows. *Limnology and Oceanography*, 62, 1254-1265.
- 15) Stiger, V., Horiguchi, T., Yoshida, T., Coleman, A.W. and Masuda, M. (2003) . Phylogenetic relationships within the genus *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae), inferred from its ITS nrDNA, with an emphasis on the taxonomic revision of the genus. *Phycological Research* 51: 1-10
- 16) Tayasu et al. New organic reference materials for carbon- and nitrogen-stable isotope ratio measurements provided by Center for Ecological Research, Kyoto University, and Institute of Biogeosciences, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology Limnology12:261–266 DOI : 10.1007/s10201-011-0345-5 (2011) .



図1 磯根生物の採集場所

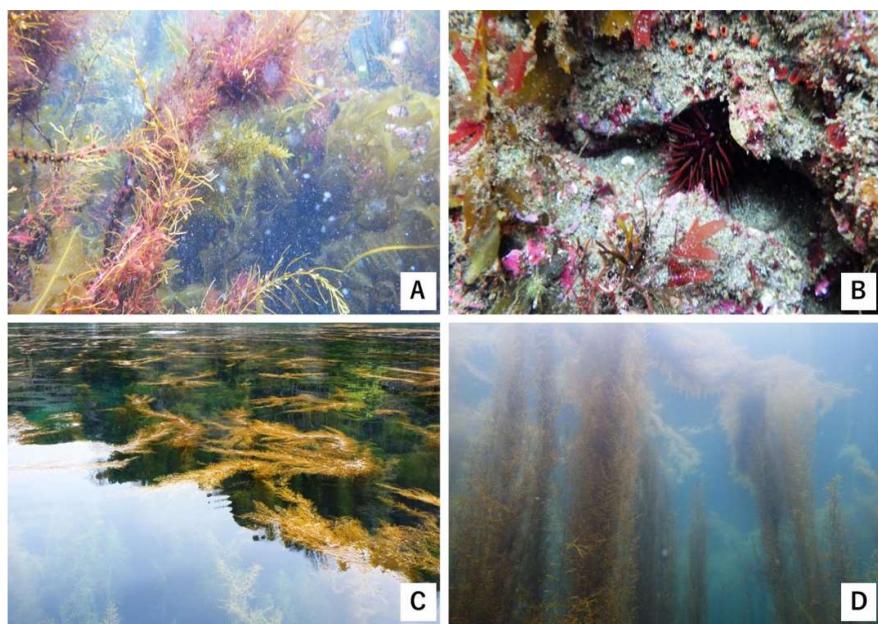


図2 4月2日SCUBA潜水による調査時のアカウニ採取場所の藻場の状況
A:烏辺島前、B:箱崎、C:岡鶴、D:岡鶴のアカウニ

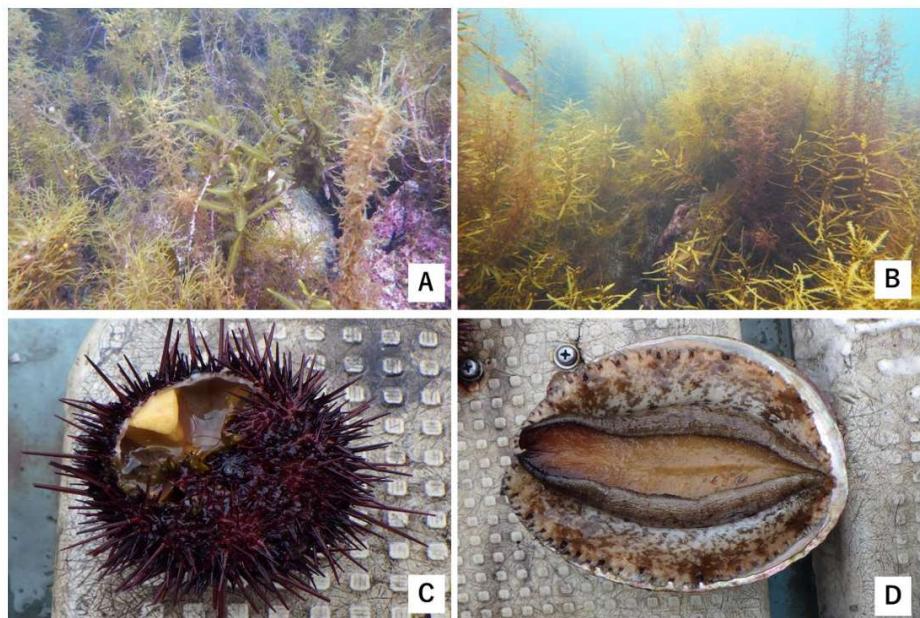


図3 11月15日藻場の状況 (A:鳥辺島前、B:岡鶴)、アカウニ (C)、クロアワビ (D)

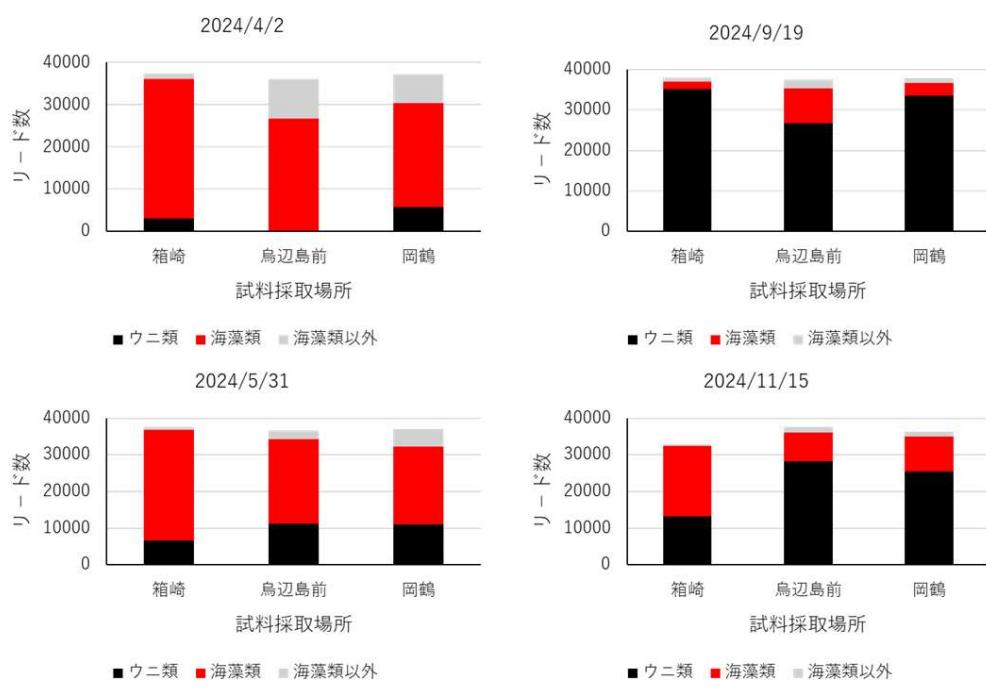


図4 アカウニ消化管内容物の 18SrRNA metabarcoding 解析で得られたリード数

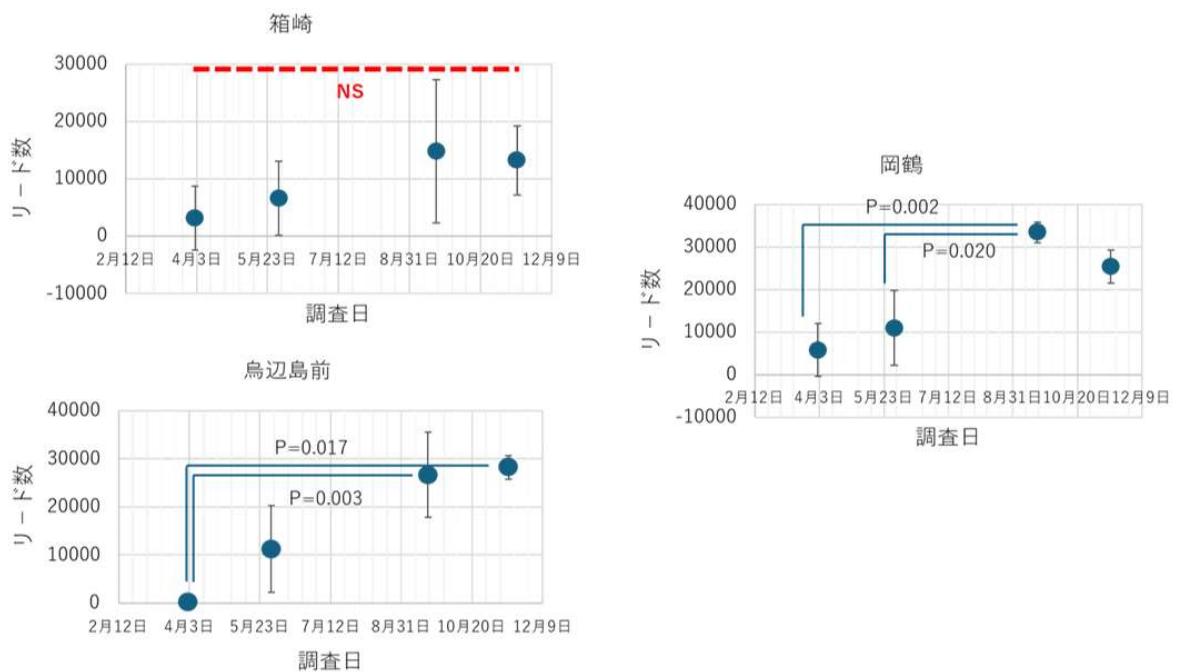


図5 各調査場所で採取したアカウニの消化管内容物中に占めるアカウニ DNA の 18SrRNA metabarcoding 解析リード数の変化

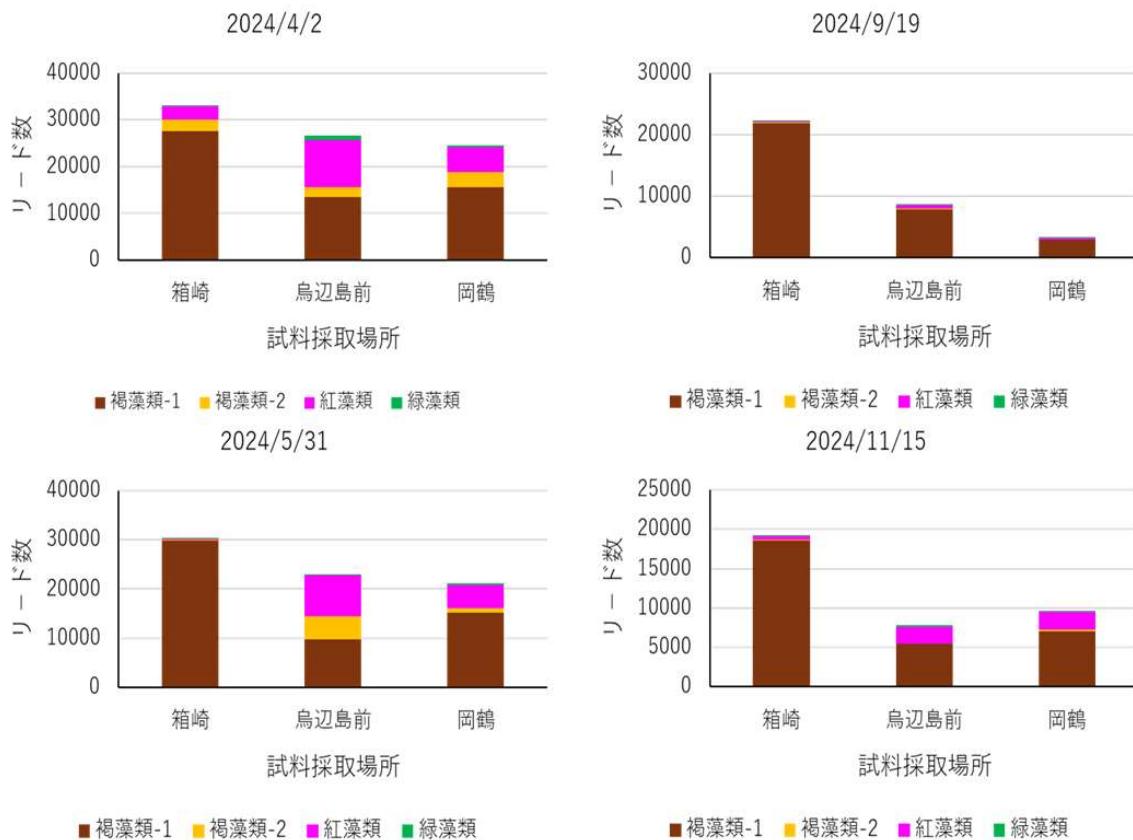


図6 18SrRNA metabarcoding 解析によるアカウニの消化管内容物中の海藻分類群
(褐藻類1はSargassum属を褐藻類2はSargassum属以外の褐藻類を示す)

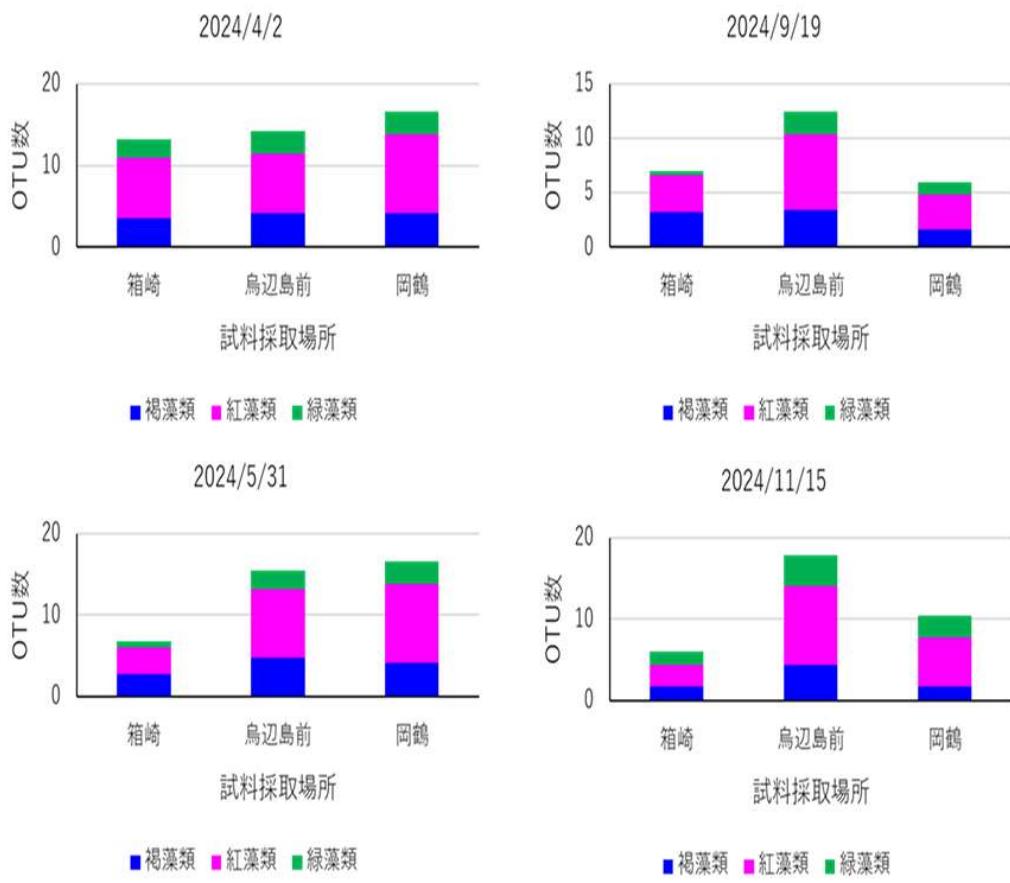
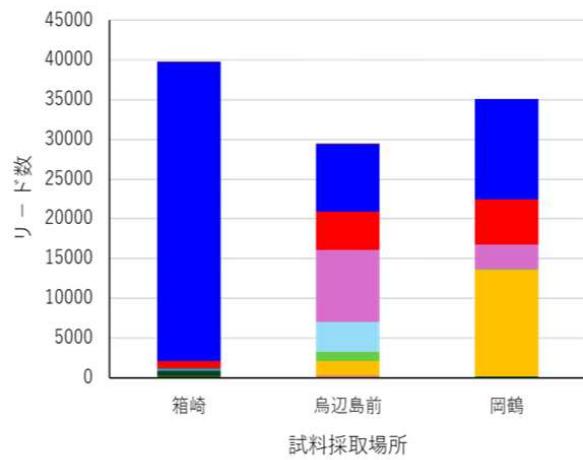
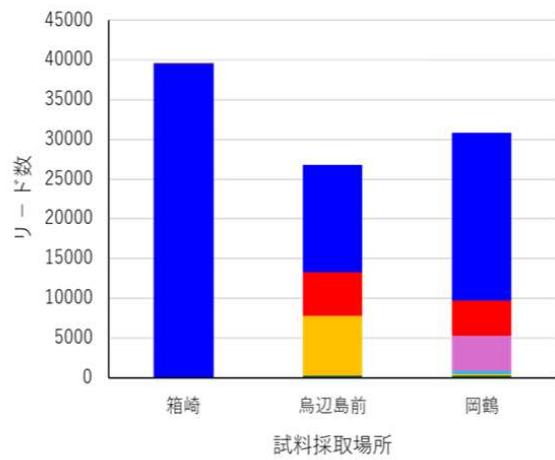


図 7 18SrRNA の metabarcoding 解析で得られたリード数中の OTU 数

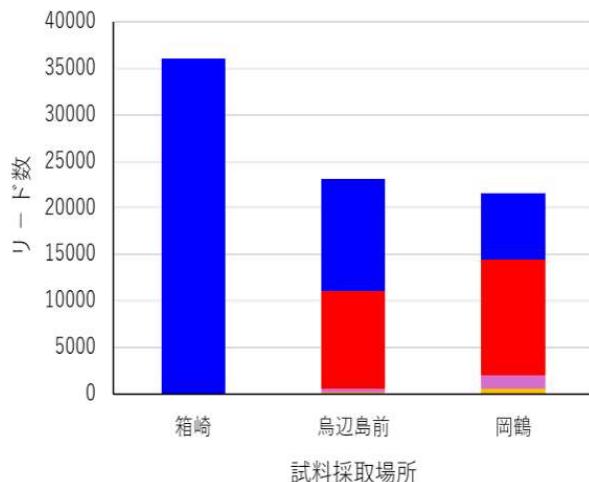
2024/4/2



2024/5/31



2024/9/19



2024/11/15

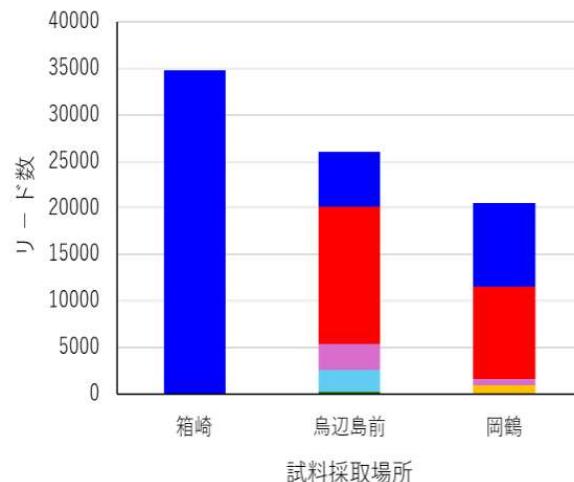


図8 GazMRF と Gaz2R 領域によるアカウニの消化管内容物の metabarcoding 解析結果
(褐藻類)

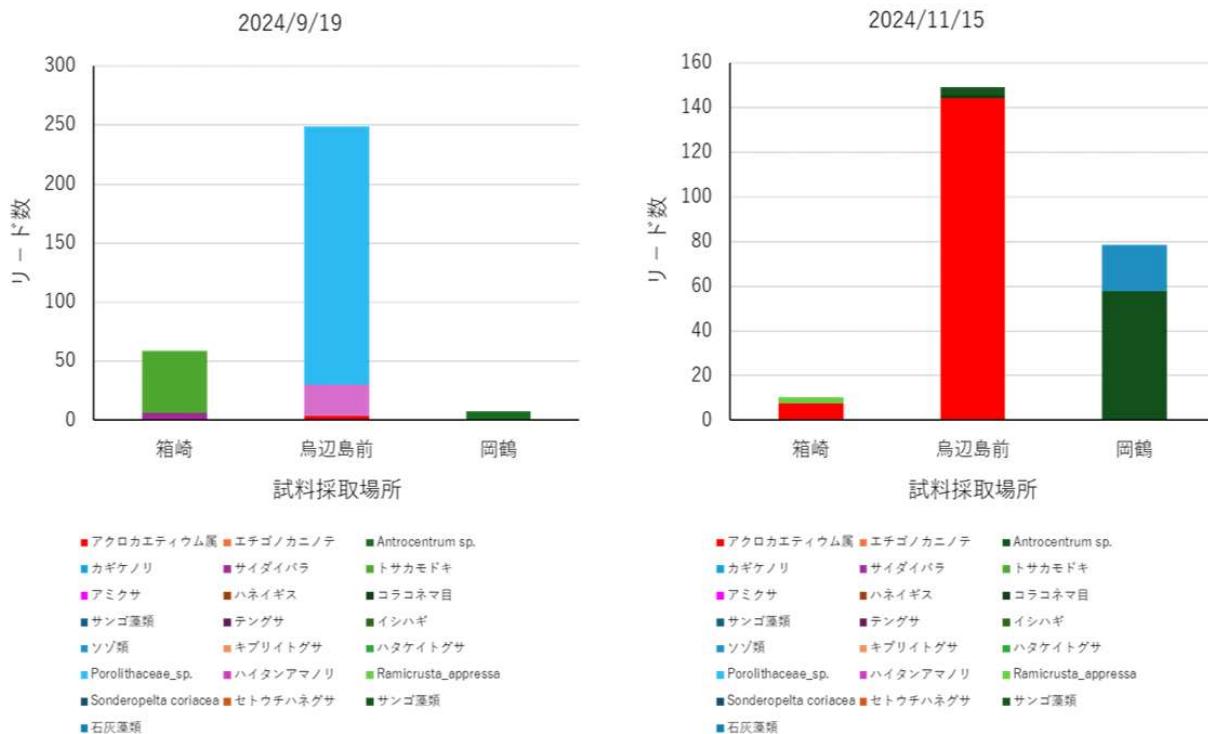
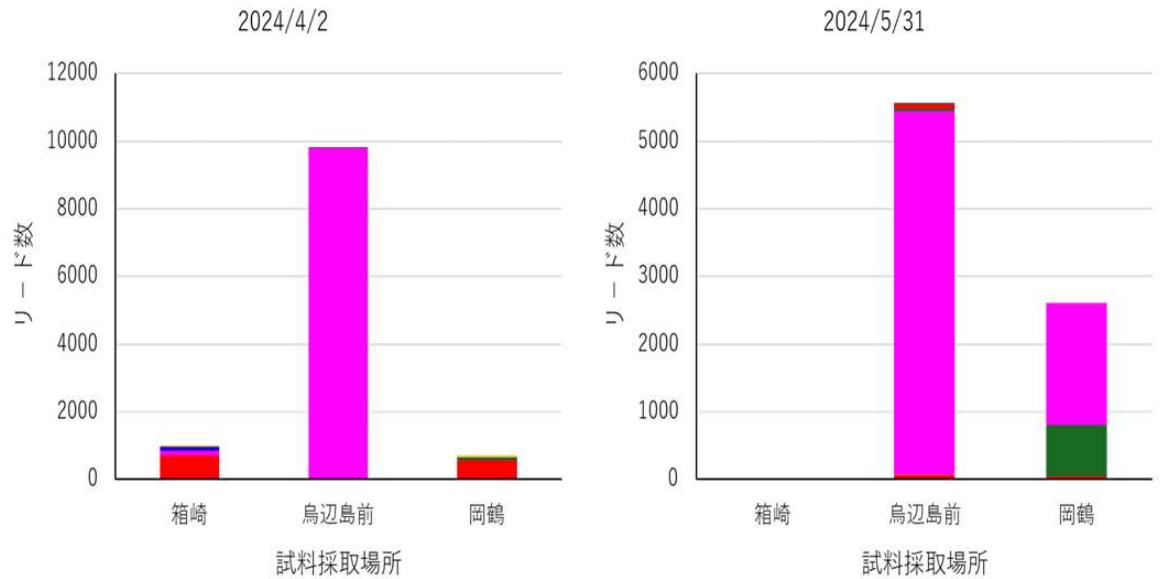


図9 GazMRF と Gaz2R 領域によるアカウニの消化管内容物の metabarcoding 解析結果
(紅藻類)

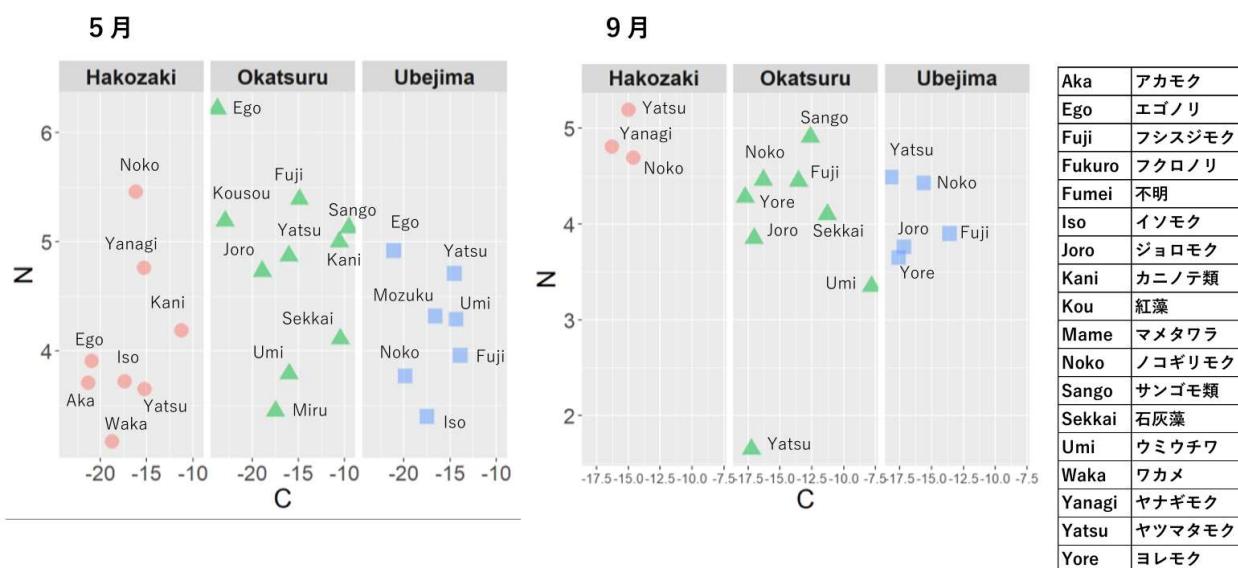


図10 箱崎、岡鶴、鳥辺島で採取された藻類の炭素安定同位体比（C）および窒素安定同位体比のCNマップ

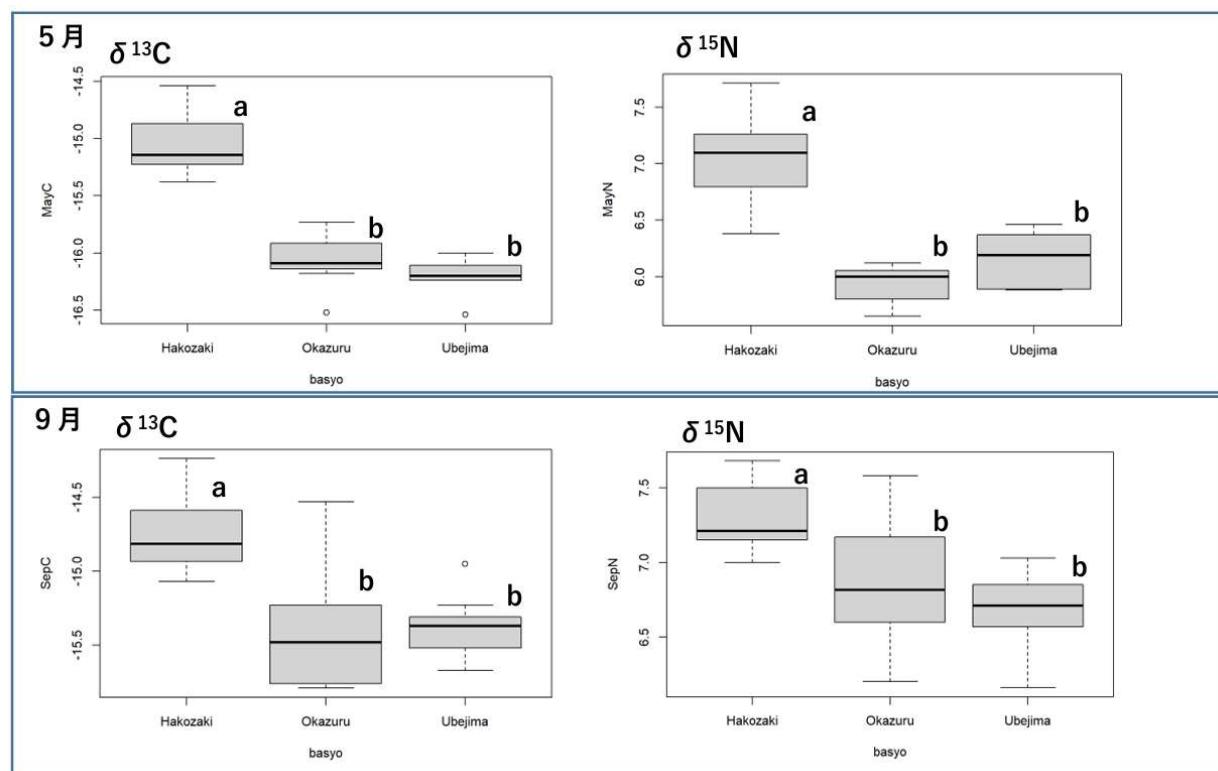


図12 2024年5月31日（上）および9月19日（下）に箱崎、岡鶴、鳥辺島で採取されたアカウニ口器筋肉の炭素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）および窒素安定同位体比（ $\delta^{15}\text{N}$ ）