

微量元素分析を利用した
野生動物の移動履歴解析

岩手大学大学院連合農学研究科
生物環境科学専攻
工藤誠也

目次

第1部 序論

I. 研究背景	1
---------	---

第2部 本論

第1章 産地判別・移動分散評価を目的としたスカシバガ類2種の体内微量元素分析

1.1 目的	3
1.2 材料と手法	
1.2.1 材料	4
1.2.1.a クビアカスカシバ <i>Glossosphécia romanovi</i>	5
1.2.1.b キタスカシバ <i>Sesia yezoensis</i>	8
1.2.2 調査地	12
1.2.3 方法	
1.2.3.a サンプルリング	12
1.2.3.b 微量元素分析	13
1.2.3.c 統計解析	14
1.3 結果	
1.3.1 定量結果	16
1.3.2 2種間の比較	21
1.3.3 クビアカスカシバ	
1.3.3.a 環境間（自然環境とブドウ園）の比較	23
1.3.3.b 自然環境における地点比較	25
1.3.3.c ブドウ園における地点比較	27
1.3.4 キタスカシバ	30
1.4 考察	34

第2章 外来種スグリコスカシバの発生地判別と移動分散評価	
2.1 目的	37
2.2 材料と手法	
2.2.1 材料	
2.2.1.a スグリコスカシバ <i>Synanthedon tipuliformis</i>	37
2.2.2 調査地	41
2.2.3 方法	
2.2.3.a サンプルング	42
2.2.3.b 微量元素分析	43
2.2.3.c 統計解析	44
2.3 結果	
2.3.1 定量結果	46
2.3.2 オスにおける地点比較	48
2.3.3 メスにおける地点比較	50
2.4 考察	52
第3章 青森県沿岸マダラの回遊推定	
3.1 緒言	54
3.2 材料と手法	
3.2.1 材料	56
3.2.2 化学分析	60
3.2.3 統計解析	61
3.3 結果	
3.3.1 定量結果	62
3.3.2 海域間比較	66
3.4 考察	71

第4章 青森県岩木川流域におけるヒゲナガカワトビケラの個体群構造	
4.1 緒言	75
4.2 材料と手法	
4.2.1 材料	76
4.2.2 化学分析	78
4.2.3 統計解析	78
4.3 結果	79
4.4 考察	91
第3部 総括	93
謝辞	95
引用文献	96

第1部 序論

I. 研究背景

生物の保全あるいは防除を行う上で、その生物・個体群における移動分散の様式とその程度を知ることは必要不可欠である。しかし個体の移動分散を直接的に評価することは難しい。例えばチョウ目昆虫の移動分散を評価する場合、多地点での標識再捕法を用いることが多い (Stevens et al. 2010)。この手法は、個体を捕獲・標識して放した後、捕獲地点とは異なる地点で再捕獲するものであり、移動個体を直接的に発見できる点や確度の高い移動分散情報を得られる点、調査に特別な機材を必要としない点で優れている。しかし、標識個体が捕獲地と異なる地点で再捕獲される確率は非常に低く、莫大な個体数の採集・標識が必要となる。したがってこの手法では、捕獲難度の高い生物種や、個体密度の小さな種類・個体群において、移動分散を評価することが極めて困難である。また、体サイズが小さい等の理由により標識自体が困難な種類についても、同様にこの手法を適用できない。その他、DNA解析によって個体群の遺伝子流動を求める研究や、個体の移動能力を実験室的に測定・評価する研究が行われている (Stevens et al. 2010)。しかし、これらの手法では個体レベルでの移動履歴を求められない。

近年、生物の産地判別や移動履歴推定に微量元素分析が利用され始めている (Possel et al. 2008; 服部ら 2009a, b; 工藤ら 2011)。動物生体内の微量元素組成は集団によって異なっているため、その元素組成の違いから、昆虫では幼生期を過ごした発生地点、魚類・鳥類などでは近過去 (水銀などの蓄積性の強い元素を用いた場合は数ヶ月～半年程度)

における滞在地点を判別・推定することが可能である。生体内微量元素組成は、遺伝情報よりむしろ生活環境や食餌の違いを強く反映するため、遺伝的な隔たりのない集団間の比較に有用である。また、捕獲難度が高い、体サイズが小さいなどの理由から、多点標識再捕での調査が難しい生物種においても適用できることが期待されている。

第1・2章では農地に生息するチョウ目昆虫（スカシバガ類）、第3章では青森県沿岸を回遊する魚類（マダラ）、第4章では河川に生息する水生昆虫（ヒゲナガカワトビケラ）を扱った。材料とした生物種はそれぞれ分類群が異なっているが、いずれも同一の手法で個体の発生地・移動履歴の推定を試みた。なお、第1・2章で扱ったスカシバガ類の幼虫は植物体の内部に穿孔し樹液などを摂取して育つため、その体内微量元素は主として食餌植物に由来するものと考えられるが、第3・4章で扱った魚類や水生昆虫では、食餌以外に海水・河川水との間でも元素の授受が生じているものと考えられ、元素の取り込み経路は両者で大きく異なる。

魚類の回遊については、古くから調査情報が蓄積されており、それらの情報は微量元素組成を用いた推定結果の妥当性をはかる上で有用である。また、微量元素を利用した移動履歴研究は、昆虫ではその例が極めて少ないものの、魚類では耳石中のストロンチウムなど各種微量元素の挙動に着目する手法が盛んに用いられている（Tzeng 1996, Radtke et al. 1996, Yamane et al. 2012）。こうした背景から、昆虫だけでなく魚類を研究対象に含めることは、微量元素による移動分散評価手法の確立および正確性向上の一助になると考えられた。

第2部 本論

第1章

産地判別・移動分散評価を目的としたスカシバガ類2種の体内微量元素分析

1.1 目的

スカシバガ類には防除法の確立されていない深刻な農業害虫が含まれる。例えば、本章で扱うクビアカスカシバはブドウの大害虫として知られており、本種幼虫の食害を受けた木では被害部より先の樹勢が低下して枯死に至る場合もある（中島ら 1978）。防除方策を立てる際、その集団における移動分散の程度・様式を知ることは重要であるが、日本産スカシバガ類の生態学的研究は非常に少なく移動分散に関する研究も例外でない。

本研究は、スカシバガ類における飛翔移動分散調査のための足掛かりとして行った。微量元素による移動分散評価手法を確立し、スカシバガ類やその他の昆虫における移動分散研究の効率化を目指した。

1.2 材料と手法

1.2.1 材料

クビアカスカシバ *Glossosphecia romanovi* (Leech, 1889) とキタスカシバ *Sesia yezoensis* (Hampson, 1919) の 2 種を対象とした (Fig. 1). 両種ともスズメバチ類 (*Vespa* spp.) に模倣擬態した大型のスカシバガ類である. サイズ・擬態モデルともに近く, 成虫のニッチや移動能力はおおよそ同等と考えられることから比較対象とした.



Fig. 1 Male specimens of *Glossosphecia romanovi* (left) and *Sesia yezoensis* (right)

1.2.1.a クビアカスカシバ *Glossospehia romanovi*

クビアカスカシバは開張: ♂ 35-48 mm; ♀ 40-43 mm の次種キタスカシバに次ぐ大型スカシバガである (有田・池田 2000).

栽培ブドウ (*Vitis* spp.) を食餌とし, その害虫として知られている (中島ら 1978). 北海道から九州まで広く分布しているが, 野外での採集例は大変少なく, 食餌植物は栽培ブドウ以外に報告されていない (有田・池田 2000). しかし, 成虫は周辺にブドウ園の存在しない地域からも得られており, ヤマブドウ (*V. coignetiae*) やエビヅル (*V. ficifolia*) など何らかの自生ブドウ類も栽培ブドウのほかに利用しているものと推測される.

生活史

幼虫は 7 月中旬から 9 月上旬にかけて, 栽培ブドウの太い幹の地上 10~20cm ほどのところで樹皮下の木質部を環状に食害する (有田・池田 2000). 多くの場合, 1ヶ所に複数頭が入り, 樹体に深刻なダメージを与える. 終齢幼虫は秋に地上へ降り, 土繭を作ってその中で幼虫態越冬する. 越冬した幼虫は翌夏に蛹化, 羽化する (Fig. 2).

雌性フェロモン

なお、本種の雄は、(3Z,13Z)-octadecadien-1-ol と(3Z,13Z)-octadecadienyl acetate の約 20:1 の混合物によく誘引される (Naka et al. 2010) ことが報告されており、現在では発生予察用の合成性フェロモン剤が市販されている (Fig. 3)。しかしながら大量誘殺や交信攪乱などによる根本的防除は試みられていない。

調査地域における分布・発生状況

青森県では深浦町の沿岸部でのみ記録されている (工藤 2008)。青森県内において本種による栽培ブドウの食害は確認されていない。

しかし秋田県においては、2000 年頃から横手市のブドウ園で本種による食害が確認されるようになり、樹体衰弱または枯死に至る被害も報告されている (小松 2010)。



Fig. 2 Female of *Glossosphecia romanovi*.



Fig. 3 Male of *Glossosphecia romanovi*. This photo was taken in the sampling site (Nikaho city , Akita Prefecture)

1.2.1.b キタスカシバ *Sesia yezoensis*

キタスカシバは開張: ♂ 33-45 mm; ♀ 42-52 mm で、日本産スカシバガの最大種である (有田・池田 2000)。日本では北海道と本州から記録されている。

ブドウを専食する前種クビアカスカシバに対し、キタスカシバはヤマナラシ (*Populus tremula* var. *sieboldii*), チョウセンヤマナラシ (*P. t.* var. *dauriana*), セイヨウハコヤナギ (*P. nigra* var. *italica*), オノエヤナギ (*Salix udensis*), タチヤナギ (*S. subfragilis*), エゾノキヌヤナギ (*S. pet-susu*) といった様々なヤナギ科植物 (Salicaceae) を食餌としている (有田・池田 2000)。クビアカスカシバが農地でも発生するのに対し、キタスカシバは専ら自然環境あるいはそれに準じた環境で発生する。

生活史

幼虫は、幹の基部知覚や地表部に近い太い根の、樹皮と木部の間に入って生活する。寒冷地では 2 年 1 化と考えられており (有田・池田 2000)、7 月初旬から 9 月初旬にかけて成虫が見られる。

雌性フェロモン

なお、雌性フェロモンに関して、本種の雄は (3Z,13Z)-octadecadien-1-ol と (3Z,13Z)-octadecadienyl acetate の約 1:9 の混合物に誘引されることが海外で報告されている (Būda et al. 1993)。

日本国内において本種のフェロモン成分は特定されていなかったが、著者らは、日本でも海外の報告と同じく (3Z,13Z)-octadecadien-1-ol と (3Z,13Z)-octadecadienyl acetate の混合物に本種の雄が誘引されることを確認した。しかし、その最適混合比は約 7:3 と海外での報告から大きく異なっており、主成分と微量成分が逆転していた。また、本種はクビアカスカシバと同じ約 20:1 の混合比でもよく誘引された。

調査地域における分布・発生状況

青森県では、沿岸部の平地から標高約 1000 m の亜高山帯まであらゆる標高域で見られ、垂直分布はとても広い (工藤 2008)。また、その生息環境も、河川林から住宅地周辺、ブナ主体の自然林など様々である (Fig. 4, 5)。



Fig. 4 Three males of *Sesia yezonica*. This photo was taken in the sampling site (Sukayu, Aomori city, Aomori Prefecture).



Fig. 5 Female of *Sesia yezonica*.

1.2.2 調査地

調査地点の位置関係を Fig. 6 に示した. クビアカスカシバの食害が確認されている秋田県横手市内のブドウ園 3 地点 (A: 十文字町; B: 平鹿町; C: 金沢) の他, D: 秋田県にかほ市上坂 (クビアカスカシバのみ採集), E: 青森県深浦町広戸, F: 青森県青森市酸ヶ湯温泉 (キタスカシバのみ採集) の計 6 地点を調査地とした.

なお, 青森県深浦町広戸, 秋田県にかほ市上坂の 2 地点に関しては, 周辺にブドウ園が存在しない.

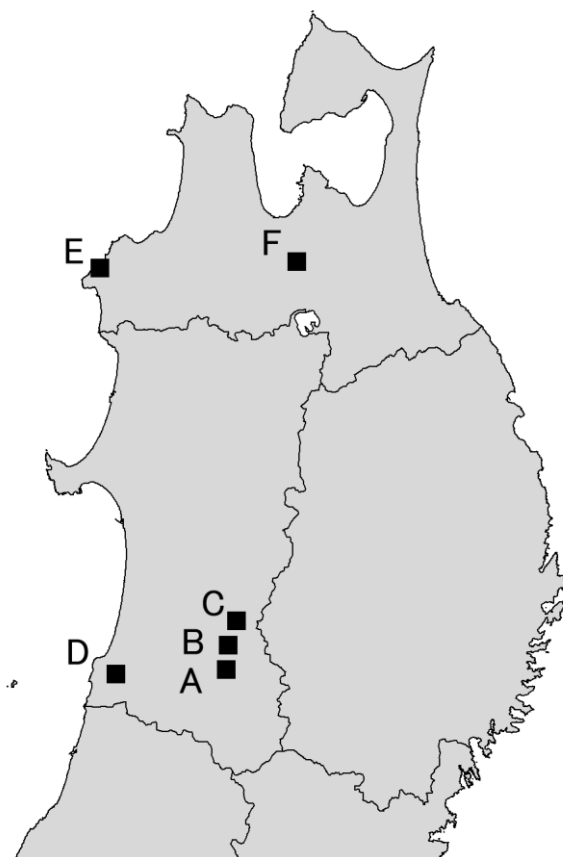


Fig. 6 Location of the sampling sites.

1.2.3 方法

1.2.3.a サンプルング

秋田県横手市内のブドウ園 3 地点については、合成性フェロモンルアーを誘引源とした住化式粘着トラップを設置し、そのトラップに誘殺された個体を試料として用いた。なお、合成性フェロモンルアーは信越化学工業株式会社からクビアカスカシバの発生予察用として市販されているものを使用した。秋田県および青森県において、この合成性フェロモンルアーには、クビアカスカシバとキタスカシバが同時に誘引されることを確認している。粘着トラップはブドウ棚線にかけ、2010 年 7 月 6 日から 7 月 15 日までの 10 日間設置した（横手市十文字町に限り 2010 年 6 月 15 日から 6 月 21 日にかけて誘殺されたサンプルも用いている）。また、それ以外の 3 地点（青森県深浦町広戸、青森県青森市酸ヶ湯温泉、秋田県にかほ市上坂）については、同様の合成性フェロモンルアーに誘引された個体を捕虫網で採集した（にかほ市上坂では 2010 年 7 月 17 日、深浦町広戸では 2010 年 7 月 18 日から 22 日にかけて採集）。

なお、分析に用いたサンプルは、クビアカスカシバが横手市十文字町 9 頭、横手市平鹿町 6 頭、横手市金沢 5 頭、にかほ市上坂 5 頭、深浦町広戸 5 頭の計 30 頭であり、キタスカシバは横手市十文字町 4 頭、横手市平鹿町 4 頭、横手市金沢 4 頭、にかほ市上坂 4 頭、青森市酸ヶ湯温泉 5 頭の計 21 頭である。両種とも全個体オスであった。

1.2.3.b 微量元素分析

採集したスカシバガは、前後翅および前・中・後脚、触角を除去し、1 個体ずつフッ素樹脂シート (TOMBO9001 ニチアス) を敷いたシャーレに入れ、乾燥機 (IWAKI NFO-82) で 90°C、16 時間乾燥させた。乾燥後、デシケータ内で放冷し、乾燥重量を測定した。なお、粘着トラップで集めた個体に関しては、乾燥前にアセトンを使い粘着剤を除去した。

乾燥試料は 1 個体ずつテフロン PFA 製バイアルに入れ、バイアル内で硝酸 (EL) を 2.0 ml 添加した。試料を入れたバイアルは、蒸留水とともにテフロン PTFE 製容器へ入れ、電子レンジにてマイクロウェーブ分解で湿式灰化を行った。分解後、放冷し、分解液の濾過を行った。濾過した分解液はねじ口 PP チューブに入れ、純水で 25 ml に希釈・定容し、溶液試料とした。

各元素濃度の測定には東京農工大学環境毒性学研究室にある誘導結合プラズマ質量分析装置 (Agilent 社, ICP-MS 7500 cx) を用い、26 元素 (リチウム Li, マグネシウム Mg, カルシウム Ca, バナジウム V, クロム Cr, マンガン Mn, 鉄 Fe, コバルト Co, ニッケル Ni, 銅 Cu, 亜鉛 Zn, ガリウム Ga, ヒ素 As, セレン Se, ルビジウム Rb, ストロチウム Sr, モリブデン Mo, カドミウム Cd, インジウム In, スズ Sn, アンチモン Sb, セシウム Cs, バリウム Ba, タリウム Tl, 鉛 Pb, ビスマス Bi) の溶液試料中濃度を測定した。ロジウム ^{103}Rh を内部標準元素として測定カウントを補正し、絶対検量線法で各元素濃度を算出した。

1.2.3.c 統計解析

各解析処理には、統計解析ソフト R (バージョン 3.1.1) for Windows 64bit (R Development Core Team 2014) を用いた。

データ変換

元素濃度が検出限界を満たさないものに関しては、検出限界を満たした分析サンプルの元素濃度 (乾燥試料重量あたり) の最小値の 2 分の 1 の値を代入し解析に用いた。各濃度値は、自然対数変換を施した後、標準化 (関数 `scale()`) した。

変数選択

直線性の良好な検量線 ($R^2 > 0.95$) を得られなかった 2 元素 (Ca, Ag) と、濃度が検量線範囲に収まらなかった 1 元素 (Mg)、多くのサンプルで検出限界濃度に満たなかった 8 元素 (Li, V, In, Sb, Cs, Hg, Tl, Bi) は、説明変数から除外した。

種間、生息環境間、産地間の各分類・判別は (多項) ロジスティック回帰分析によって行った。その際、2 群分析ではマン・ホイットニーの U 検定 ($p < 0.1$)、3 群以上の分析ではクラスカル・ウォリス検定 ($p < 0.1$) によって各元素濃度の平均値が各グループ間で有意に異なっているか検定し、有意に差のある元素を変数選択した。また、相関係数 ($|R| < 0.6$) による変数選択を行い、元素間で強い相関関係を示すものはその一方の元素を説明変数から除外した。

モデル選択

選択された元素を用いてロジスティック回帰モデル（`MASS` ライブラリ；関数 `glm(formula, family="binomial")`）または多項ロジスティック回帰モデル（`nnet` ライブラリ；関数 `multinom(formula)`）を構築し，ステップワイズ法（変数増減法；関数 `stepAIC(object, direction="both")`）により適合度の高いモデルを選択した．モデル選択の基準は，統計モデルの選択規準として広く用いられている赤池の情報量規準 Akaike Information Criterion: AIC（Akaike, 1973）に拠り，AIC が最小のモデルを最終モデルとした．

1.3 結果

1.3.1 定量結果

測定した 26 元素 (Li, Mg, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, Tl, Pb, Bi) のうち、直線性の良好な検量線 ($R^2 > 0.95$) を得られなかった Ca と濃度が検量線範囲に収まらなかった Mg および多くのサンプルで検出限界濃度に満たなかった 8 元素 (Li, V, In, Sb, Cs, Hg, Tl, Bi) を除外した 17 元素の定量結果を Table 1 に示した.

Table 1 Median concentrations of trace elements in bodies of clearwing moths ($\mu\text{g/g}$ dry weight).

Species	Site		Number of individuals	Median concentration (ppm)																
	Environment	Locality		Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	As	Se	Rb	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	Pb
<i>Glossospehia romonovi</i>	Nature	Henashi, Fukaura	5	ND	4.7	29	0.012	ND	14	150	ND	0.033	0.049	0.16	0.14	0.67	0.045	ND	0.027	ND
		Kamisaka, Nikaho	5	ND	6.0	32	ND	ND	14	170	ND	0.019	0.12	0.26	0.094	0.12	ND	0.035	0.013	0.0082
	Vineyard	Jumonji, Yokote	9	0.011	4.8	28	0.0050	0.25	11	160	ND	0.078	0.081	0.13	0.055	0.17	0.050	0.11	0.031	0.043
		Kanazawa, Yokote	5	ND	9.3	50	0.17	0.89	23	220	ND	ND	0.27	0.75	0.26	0.39	0.0086	0.13	0.13	0.066
		Hiraka, Yokote	6	0.0036	5.9	36	0.097	0.041	17	210	ND	ND	0.15	0.35	0.099	0.33	ND	0.85	0.036	0.11
<i>Sesia yezoensis</i>	Nature	Henashi, Fukaura	4	0.023	1.2	50	0.0076	ND	11	310	0.16	0.21	0.36	0.50	0.040	0.17	0.19	0.13	4.4	ND
		Sukayu, Aomori	5	ND	2.5	80	ND	ND	24	520	0.34	0.28	0.75	0.40	0.076	0.45	0.59	0.12	10	ND
	Vineyard	Jumonji, Yokote	4	0.022	2.4	42	0.016	ND	12	310	0.14	0.22	0.59	0.38	0.023	0.13	0.30	ND	4.0	ND
		Kanazawa, Yokote	4	0.011	1.7	69	0.020	ND	22	380	0.032	0.51	0.31	0.32	0.052	0.084	0.32	ND	1.1	ND
		Hiraka, Yokote	4	0.018	2.2	55	0.021	0.0072	17	320	0.20	0.22	0.36	0.25	0.077	0.095	0.34	0.18	5.8	ND

種間および地点間で濃度に違いが見られた Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Ba, Pb の 16 元素（クラスカル・ウォリス検定 $p < 0.1$ を基準に変数選択）を説明変数として主成分分析を行った結果、自然環境で採集されたクビアカスカシバとブドウ園で採集されたクビアカスカシバ、そしてキタスカシバの 3 群に分かれる傾向が見られた (Fig. 7)。また、その累積寄与率を Table 2、第 8 主成分までにおける各元素の負荷量を Table 3 に表した。

第 1 主成分では、クビアカスカシバが全個体で正の主成分得点、対してキタスカシバが全個体で負の主成分得点を示し、2 種が明確に分かれた。したがって、第 1 主成分は種差と意味づけでき、第 1 主成分負荷量の絶対値が大きな諸元素（0.5 以上: Mn, Ni, Pb; -0.5 以下: Fe, Zn, Ga, As, Se, Se, Cd, Ba）の濃度によって 2 種を区別可能であることが示唆された。

また、第 2・3 主成分において自然環境で採集されたクビアカスカシバとブドウ園で採集されたクビアカスカシバが分かれてプロットされたことから、第 2・3 主成分はクビアカスカシバにおける発生環境の違いと意味づけできる。第 2・3 主成分において負荷量の絶対値が大きい元素（ex: Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Rb, Sr, Sn, Pb）の濃度を説明変数に用いることで、クビアカスカシバの発生環境を区別可能であることが示唆された。

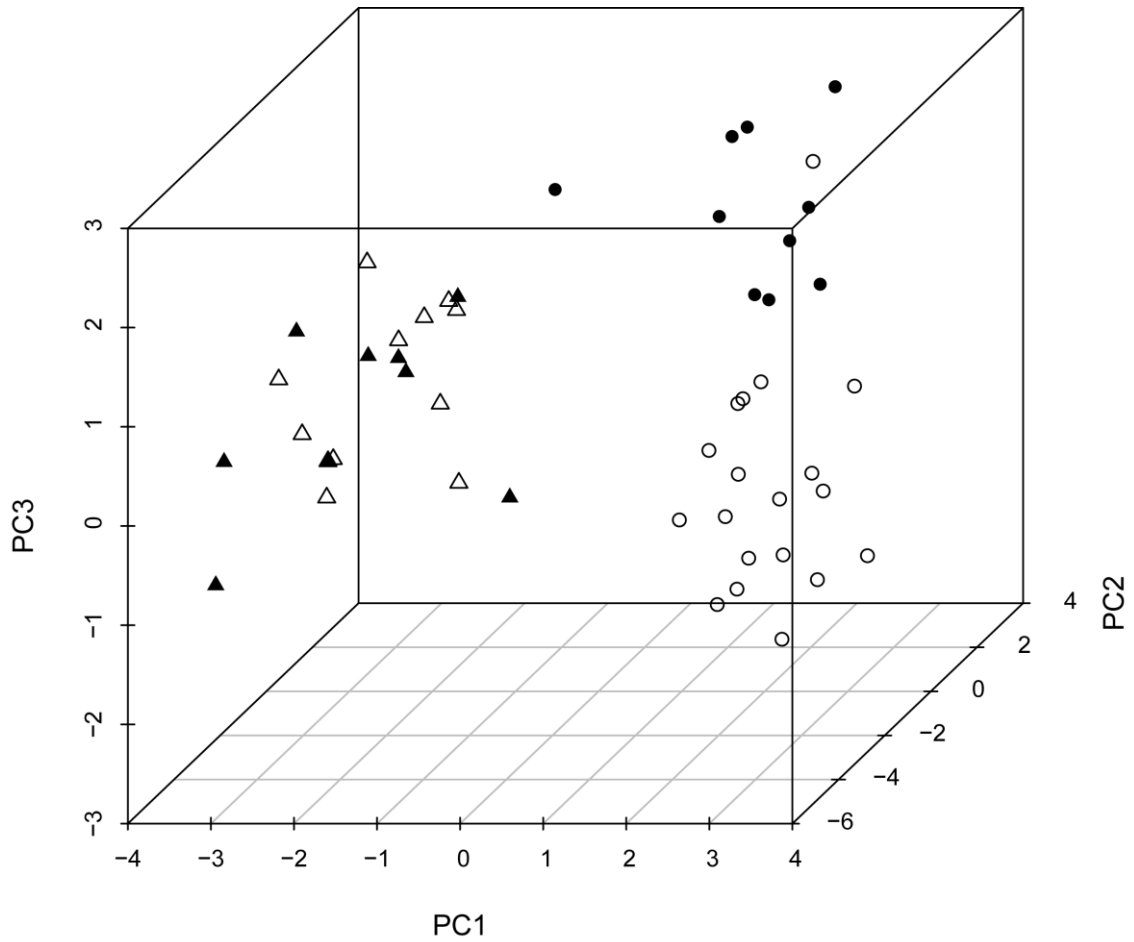


Fig. 7. The first three component scores of principal component analysis using 16 element concentrations in bodies of clearwing moths. Open circles: *Glossosphecia romanovi* collected from the vineyards. Filled circles: *G. romanovi* collected from the other sites. Open triangles: *Sesia yezoensis* collected from the vineyards. Filled triangles: *S. yezoensis* collected from the other sites.

Table 2. Cumulative proportion of variance (%)

PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
36.3	57.4	68.0	74.4	80.1	84.5	88.1	90.8
PC9	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15	PC16
93.0	94.8	96.3	97.5	98.6	99.4	99.8	100.0

Table 3. Loadings of principal component analysis

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
Cr	-0.126	0.373	-0.358	-0.109	-0.225	-0.082	0.185	-0.008
Mn	0.319	-0.232	0.150	-0.048	-0.003	0.175	-0.040	0.311
Fe	-0.282	-0.354	0.020	0.137	0.152	-0.168	0.056	0.092
Ni	0.231	-0.089	-0.470	-0.062	-0.008	0.248	0.407	0.332
Cu	-0.128	-0.485	0.062	0.171	0.227	-0.072	-0.051	0.207
Zn	-0.308	-0.266	-0.091	0.122	0.066	0.211	-0.024	0.151
Ga	-0.376	-0.029	-0.021	-0.127	-0.129	0.102	-0.105	-0.205
As	-0.317	0.191	-0.155	0.217	0.036	-0.031	0.101	0.070
Se	-0.267	0.002	-0.201	0.039	-0.489	-0.014	-0.509	0.374
Rb	-0.087	-0.323	0.012	-0.465	-0.222	-0.560	0.401	-0.048
Sr	0.156	-0.313	0.064	-0.395	-0.352	0.413	-0.201	-0.297
Mo	0.110	-0.190	0.105	0.639	-0.608	-0.018	0.302	-0.211
Cd	-0.297	-0.014	0.031	0.019	0.140	0.529	0.365	-0.243
Sn	0.075	-0.235	-0.537	0.132	0.211	-0.167	-0.275	-0.564
Ba	-0.346	-0.119	-0.128	-0.232	-0.078	0.131	0.102	0.079
Pb	0.260	-0.149	-0.480	0.043	0.004	0.051	-0.010	0.116
	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15	PC16
Cr	0.513	-0.101	0.449	-0.316	-0.181	-0.053	-0.033	0.048
Mn	0.286	0.157	0.025	-0.290	0.298	-0.600	0.099	-0.203
Fe	0.179	-0.054	0.205	0.177	-0.249	0.116	0.427	-0.589
Ni	-0.162	-0.106	0.193	0.332	0.348	0.203	-0.110	-0.131
Cu	0.182	-0.092	0.301	0.165	-0.185	-0.113	-0.456	0.445
Zn	0.101	-0.125	-0.248	-0.612	0.257	0.455	-0.005	0.060
Ga	-0.239	-0.218	0.052	-0.070	0.086	-0.270	-0.569	-0.495
As	0.427	-0.168	-0.566	0.379	0.185	-0.251	-0.009	0.048
Se	-0.069	0.450	0.065	0.165	0.054	0.057	0.032	0.038
Rb	0.034	0.270	-0.214	-0.045	0.109	0.027	-0.097	0.047
Sr	0.363	-0.230	-0.084	0.239	-0.100	0.173	0.059	0.044
Mo	-0.092	-0.083	0.034	-0.053	0.007	-0.067	0.027	0.035
Cd	0.034	0.624	0.035	0.043	-0.131	-0.066	-0.012	0.050
Sn	0.020	0.132	0.109	-0.015	0.316	-0.126	0.130	0.069
Ba	-0.393	-0.326	0.054	-0.055	-0.059	-0.390	0.465	0.342
Pb	-0.109	0.050	-0.411	-0.170	-0.638	-0.124	-0.120	-0.111

ロジスティック回帰分析による判別を段階的に行い、産地判別および移動分散個体の検出を試みた。まず種間での判別を行い、次に大まかな発生環境別（農地での発生個体と自然環境での発生個体を判別）、最後に発生地点判別を行った。

1.3.2 2 種間の比較

クビアカスカシバとキタスカシバの2種間に濃度差があるといえる元素は、Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Sr, Mo, Cd, Ba, Pbの14元素（マン・ホイットニーのU検定 $p < 0.1$ を基準に変数選択）であった。その14元素を説明変数とした主成分分析の結果を Fig. 8 に示した。両種は第1主成分で明確に分かれ、微量元素によって区別できることが明らかであった。

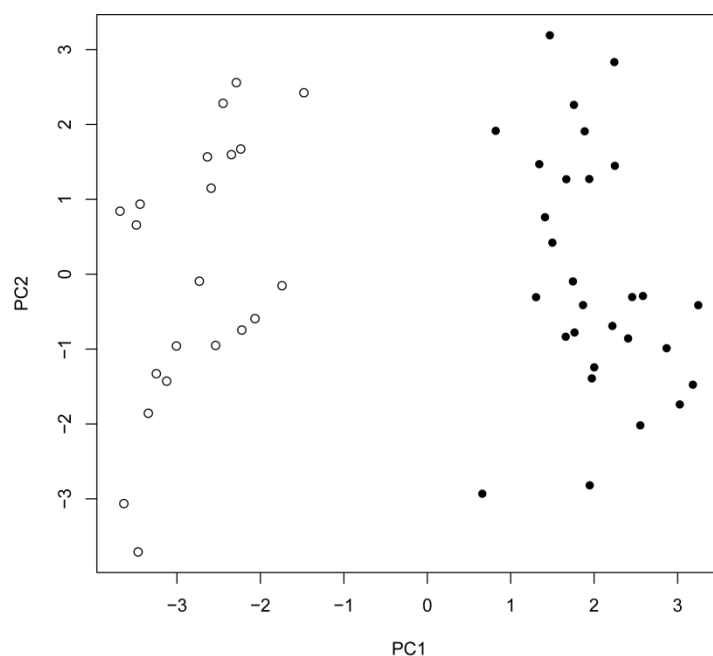


Fig. 8 The first two component scores of principal component analysis using 14 element concentrations (Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Sr, Mo, Cd, Ba, Pb). Filled circles: *Glossosphexia romanovi*. Open circles: *Sesia yezoensis*.

種間で有意に濃度の異なる 14 元素 (Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Sr, Mo, Cd, Ba, Pb) から強い相関関係を示すもの ($|R| > 0.6$) を除外し, Cr, Mn, Ni, Cu, Se, Mo, Cd, Ba の 8 元素を変数選択した. 選択された 8 元素を説明変数に用いたロジスティック回帰分析では, AIC による変数選択の結果, Mn と Ba の 2 元素 (Fig. 9) が最終モデルの変数として選択された.

このロジスティック回帰モデルによって各個体がいずれの種に所属するか予測した結果, 2 種ともに全個体 (51/51=1.00) が誤りなく判別された.

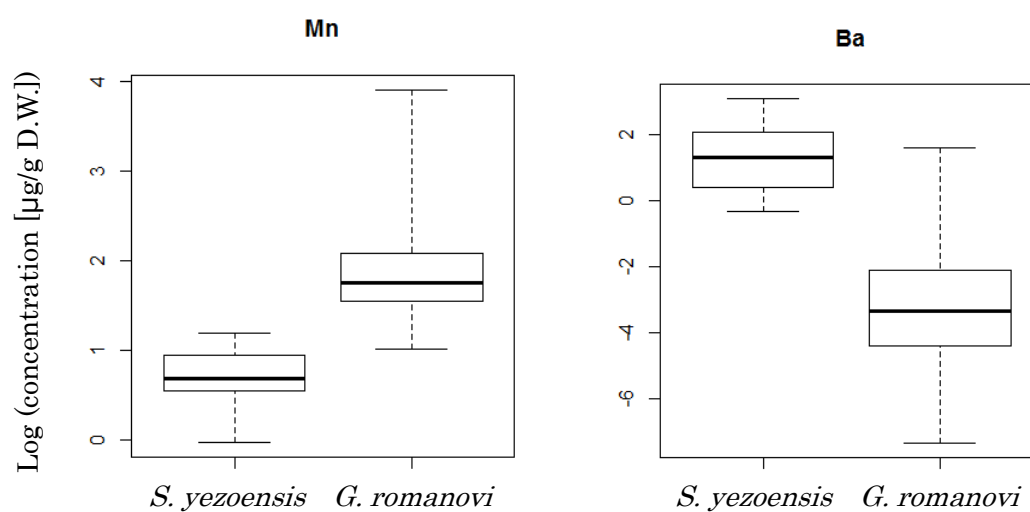


Fig. 9 Mg and Ba levels (logarithmic value) in the two species of clearwing moths.

1.3.3 クビアカスカシバ

1.3.3.a 環境間（自然環境とブドウ園）の比較

自然環境で捕獲されたクビアカスカシバとブドウ園で捕獲されたクビアカスカシバの間で濃度に差があるといえる元素は、Ni, Zn, Sn, Pb の 4 元素（マン・ホイットニーの U 検定 $p < 0.1$ を基準に変数選択）であった。その 4 元素を説明変数に用いた主成分分析結果を Fig. 10 に示す。特に第 1 主成分において、両者は異なる傾向を示した。

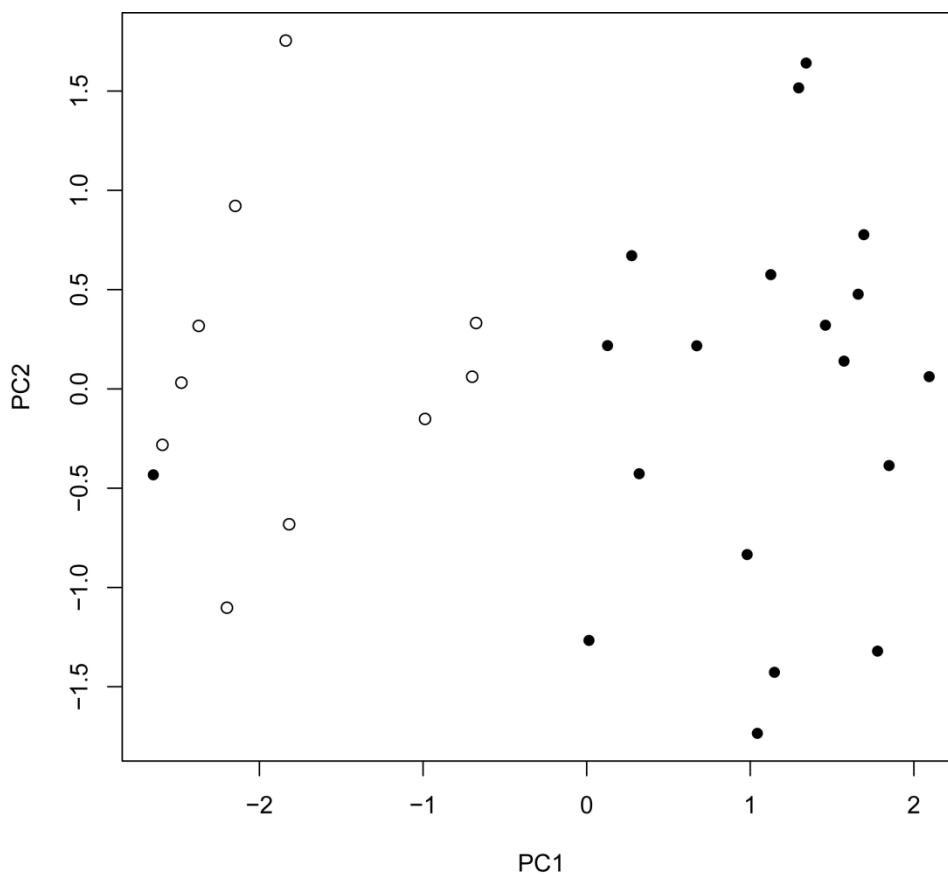


Fig. 10 The first two component scores in principal component analysis using 4 element concentrations (Ni, Zn, Sn, Pb) in bodies of *Glossosphencia romanovi*. Filled circles: vineyards. Open circles: the other site.

自然環境とブドウ園とで濃度に有意な違いが確認された 4 元素 (Ni, Zn, Sn, Pb) から強い相関関係を示すもの ($|R| > 0.6$) を除外し, Ni, Zn, Sn の 3 元素を変数選択した. 選択された 3 元素を用いたロジスティック回帰分析では, AIC による変数選択の結果, Ni と Sn の 2 元素が最終モデルの変数として選択された.

このロジスティック回帰モデルによって, 各個体が自然環境とブドウ園のいずれの環境で発生したものであるか予測した結果, その判別成功率は 97% ($29/30 \cong 0.97$) であった (Table 4). 誤判別は, ブドウ園での捕獲個体において 1 個体のみ確認された. この誤判別個体は主成分分析 (Fig. 7) においても自然環境のグループの中にプロットされており, 周辺の自然環境からの移動侵入個体であると考えられた.

Table 4 Natal environments predicted by the logistic regression model.

Sampling Site	Predicted Site	
	vineyard	non-vineyard
vineyard	19	1
non-vineyard	0	10

1.3.3.b 自然環境における地点比較

自然環境（にかほ市，深浦町）で捕獲されたクビアカスカシバにおいて，2地点間で濃度に差があるといえる元素は Mo のみ（マン・ホイットニーの U 検定 $p < 0.1$ を基準に変数選択）であった．

この2地点において Mo 濃度は明確に異なっており，Mo の濃度のみを説明変数として作成したロジスティック回帰モデルによって，2地点（にかほ市，深浦町）のクビアカスカシバは全個体（10/10=1.00）が誤りなく判別された（Table 5）．

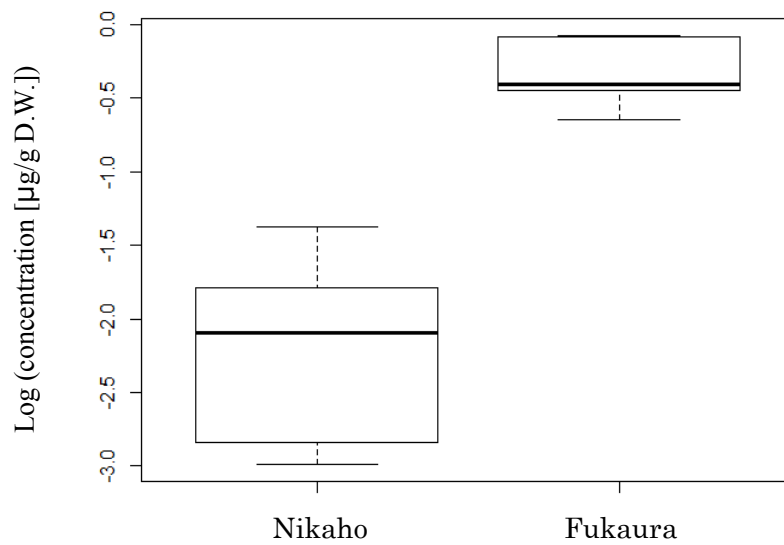


Fig. 11 Molybdenum levels (logarithmic value) in the bodies of *Glossospeccia romanovi* collected from Nikaho and Fukaura.

Table 5 Natal sites of *Glossospeccia romanovi* collected from non-vineyard sites predicted by the logistic regression model.

Sampling Site	Predicted Site	
	Nikaho	Fukaura
Nikaho	5	0
Fukaura	0	5

1.3.3.c ブドウ園における地点比較

自然環境—ブドウ園間の発生環境判別の際に誤判別された 1 個体を除外し、他の 19 個体を対象に判別を行った。

横手市内のブドウ園 3 地点（十文字町、平鹿町、金沢）で捕獲されたクビアカスカシバにおいて、地点間で濃度に差があると支持された元素は、Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Rb, Sr, Ba の 8 元素（クラスカル・ウォリス検定 $p < 0.1$ を基準に変数選択）であった。その 8 元素を説明変数とした主成分分析結果を Fig. 12 に示した。調査地点毎に異なった傾向が見られ、これらの元素を説明変数とした多項ロジスティック回帰モデルによって各群を判別できる可能性が示唆された。

地点間で濃度差が確認された 8 元素（Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Rb, Sr, Ba）の中から強い相関関係 ($|R| > 0.6$) を示す組み合わせを除外し、Cr, Rb, Cd, Ba の 4 元素を変数選択した。選択された 4 元素を用いた多項ロジスティック回帰分析では、AIC による変数選択の結果、Rb, Cd の 2 元素（Fig. 13）が最終モデルの変数として選択された。

このモデルによって、各個体がいずれの地点で発生したものであるか予測した結果、19 個体中 16 個体（ $16/19 \doteq 0.84$ ）の判別に成功した（Table 6）。十文字町と平鹿町は互いに誤判別する事後確率が高く、3 個体の誤判別はいずれも十文字町か平鹿町で捕獲されたものであった。

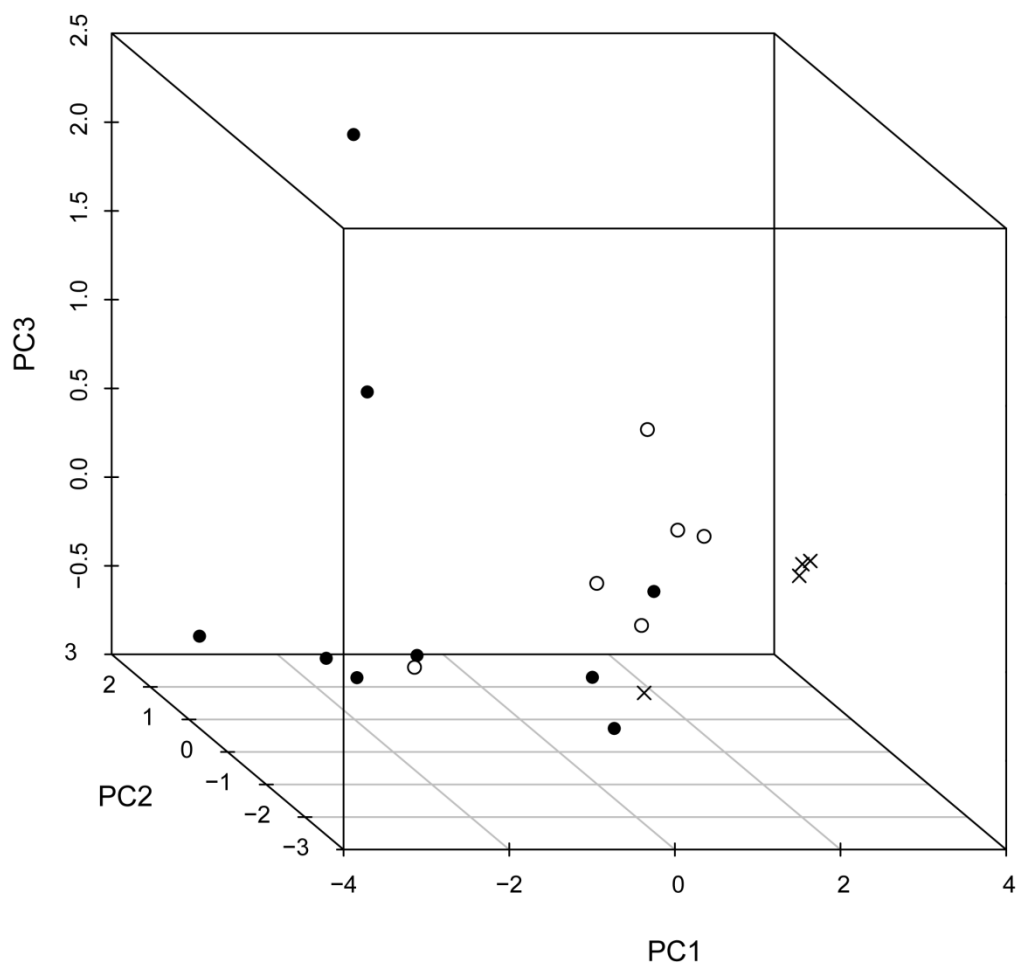


Fig. 12 The first three component scores in principal component analysis using 8 element concentrations (Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Rb, Sr, Ba) in the bodies of *Glossospechia romanovi* collected from the vineyards. Filled circles: Jumonji, Yokote city. Open circles: Hiraka, Yokote city. Cross: Kanawaza, Yokote city.

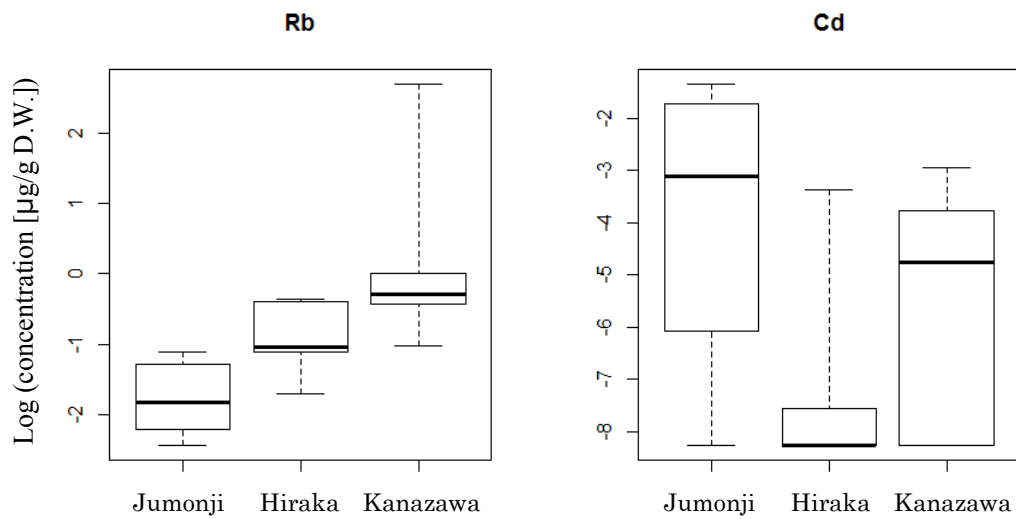


Fig. 13 Rb and Cd levels (logarithmic value) in the bodies of *Glossospeccia romanovi* collected from the three vineyards.

Table 6 Natal site of *Glossospeccia romanovi* collected from vineyards predicted by the logistic regression model

Sampling Site	Predicted Site		
	Jumonji	Hiraka	Kanazawa
Jumonji	7	1	0
Hiraka	2	4	0
Kanazawa	0	0	4

1.3.4 キタスカシバ

キタスカシバについては、捕獲環境毎の判別を行わず、発生地点判別のみを行った。キタスカシバの食餌植物はヤナギ科であり、ブドウ園内で採集された個体に関しても発生源はあくまで周辺の自然環境にある。したがって、ブドウ園で捕獲された個体と自然環境で捕獲された個体とを判別するロジスティック回帰モデルを仮に構築できたとしてもそのモデルの存在意義は薄い。Fig. 7 で示した主成分分析結果においてもブドウ園で採集されたキタスカシバと自然環境で採集されたキタスカシバは区別できず、同じ1つの群とみなせる。

キタスカシバにおいて5地点間で濃度に差があると支持された元素は、Mn, Ga, Rb, Sr, Mo の5元素（クラスカル・ウォリス検定 $p < 0.1$ を基準に変数選択）であった。その5元素を説明変数とした主成分分析結果を Fig. 14 に示した。調査地点毎に近い位置にプロットされる傾向は見られるものの、多くの地点でそのプロット範囲が重複していた。

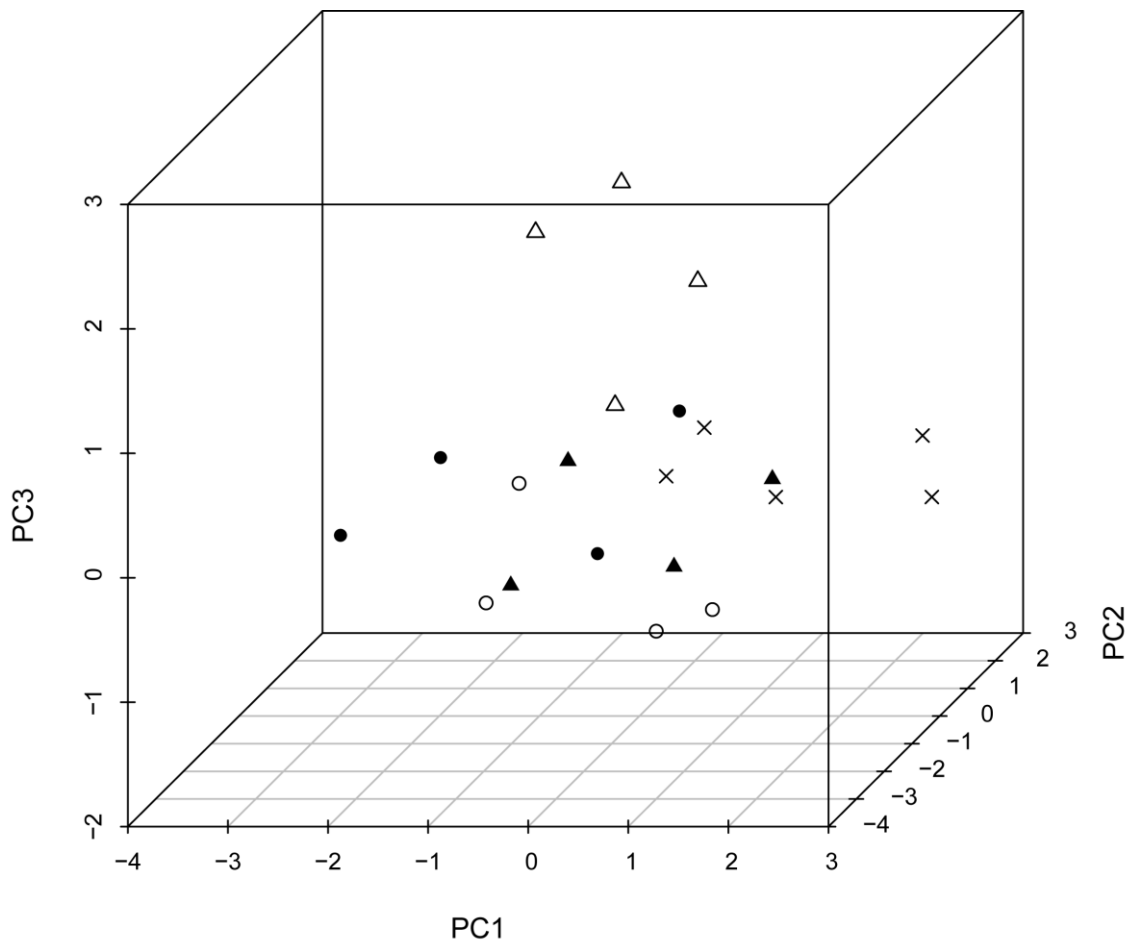


Fig. 14. The first three component scores in principal component analysis using 5 element concentrations (Mn, Ga, Rb, Sr, Mo) in the bodies of *Sesia yezoensis*. Filled circles: Jumonji, Yokote city. Open circles: Hiraka, Yokote city. Filled triangles: Kanawaza, Yokote city. Open triangles: Fukaura town. Cross: Sukayu, Aomori city.

5 地点間で有意に濃度差があると支持された 5 元素 (Mn, Ga, Rb, Sr, Mo) のうち, Ga と Sr の間には強い相関関係 ($R > 0.6$) が認められたため一方の Ga を除外し, Mn, Rb, Sr, Mo の 4 元素を変数選択した. 選択された 4 元素を用いた多項ロジスティック回帰分析では, AIC による変数選択の結果, Mn, Rb, Mo (Fig. 15) の 3 元素が最終モデルの変数として選択された.

このモデルによって, 各個体がいずれの地点で発生したものであるか予測した結果, 判別的中は 21 個体中 14 個体 ($14/21 \doteq 67\%$) にとどまった (Table 7). 深浦町広戸および青森市酸ヶ湯温泉は比較的良好に判別された ($8/9 \doteq 0.89$) が, 横手市内 3 地点はいずれの地点も著しく判別的中率が低かった ($6/12 = 0.50$).

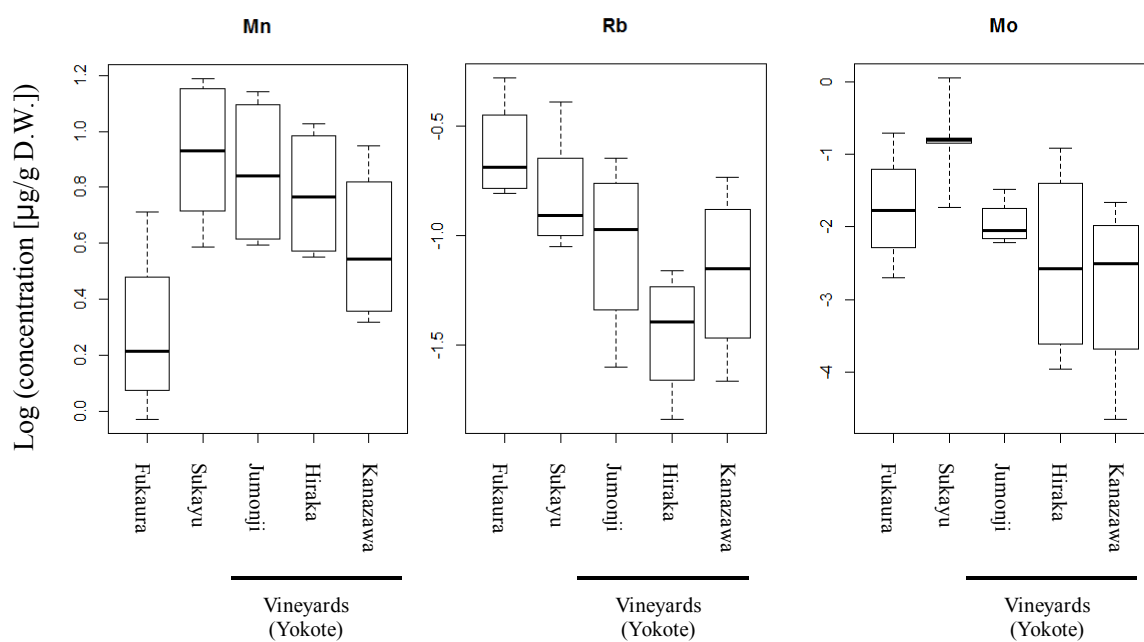


Fig. 15 Mg, Rb and Mo levels (logarithmic value) in the bodies of *Sesia yezoensis*

Table 7 Natal sites of *Sesia yezoensis* predicted by the logistic regression model

Sampling Site	Predicted Site				
	vineyard			non-vineyard	
	Jumonji	Hiraka	Kanazawa	Fukaura	Sukayu
Jumonji	2	1	1	0	0
Hiraka	0	3	1	0	0
Kanazawa	1	2	0	0	1
Fukaura	0	0	0	4	0
Sukayu	1	0	0	0	4

1.4 考察

クビアカスカシバとキタスカシバは体内元素組成に違いがあり, それによって種を判別できることが分かった. 特に Ba の違いは顕著で, キタスカシバの体内 Ba 濃度はクビアカスカシバの平均約 17 倍もの値を示した. キタスカシバあるいはその食餌植物(ヤナギ科植物)が Ba を特異的に濃縮している可能性がある. 2 種間における体内元素組成の差は, それぞれの種の生理学的特性や食餌植物の違いなどによって生じていると考えられ, およそ普遍的なものと推測できる.

クビアカスカシバでは, 体内の諸元素濃度によって, ブドウ園での捕獲個体と自然環境での捕獲個体とをおよそ判別できた. ブドウ園で捕獲されたクビアカスカシバは自然環境で捕獲されたクビアカスカシバに比べ, Ni, Zn, Sn, Pb の元素濃度が顕著に高かった. これらの元素はその程度に違いはあるものの全て正の相関を示していることから, 取り込まれた経路(汚染源)はおよそ同一で, 農薬散布や周辺地域の生活排水, 排気ガスなど, 人の生活によってもたらされたものと考えられる. この結果はブドウ園で発生するクビアカスカシバの体内元素組成が農地管理など人の生活の影響を強く受けていることを示している. また, ブドウ園が存在しない地域で捕獲されるクビアカスカシバは農地管理などの影響を受けない環境で生育し, 栽培ブドウ以外に何らかの植物をホストとしていることを示唆している.

また, クビアカスカシバの発生環境判別(自然環境—ブドウ園)では全 30 個体のうち 1 個体のみ顕著な誤判別が確認されたが, この誤判別個体は主成分分析 (Fig. 7, 10)

においてもブドウ園のクビアカスカシバの群から外れ自然環境のクビアカスカシバの群の中にプロットされている。したがってこの誤判別個体はブドウ園周辺の自然環境で発生し、羽化後そこからブドウ園内へ移動侵入した個体であると推定される。

クビアカスカシバにおける捕獲地点判別では、まず自然環境 2 地点が Mo 濃度によって例外なく見分けられた。2 地点の Mo 濃度の違いは土壌特性等によると考えられる。

加えて、秋田県横手市のブドウ園 3 地点についても同様に Rb と Cd の濃度でおおよそ判別できた。横手市内の各調査地点間は約 10km と近く、この手法によりクビアカスカシバの発生地を小区画レベルで判別できる可能性が示唆された。しかしブドウ園の地点判別では少数ながら誤判別が生じた。ここでの誤判別個体はいずれも十文字町—平鹿町間で見られたが、これらの個体は判別に成功する事後確率も 15~44%と低くなかった。したがって、移動分散個体ではなく個体差などにより正しく判別されなかったものである可能性が高い。

クビアカスカシバとは対照的に、キタスカシバにおいては良好なロジスティック回帰モデルを構築できなかった。深浦町広戸および青森市酸ヶ湯温泉については比較的よく判別されたものの、横手市内 3 地点では半数が誤判別された。キタスカシバはヤナギ科植物を広く食餌とする（有田・池田 2000）。また、その発生環境も市街地の公園から河川林、原生林まで様々である（工藤 2009）。そのため、幼生期にどのような環境でどのような植物種を摂取したかによってキタスカシバの体内元素組成は大きく変動する

ものと予想される。今回キタスカシバについて良好な回帰モデルを得られなかったのは、摂食した植物種の違いなどに由来する個体差が、土壌特性の違いなどに由来する地点間差と同等もしくはそれ以上に大きかったためであると考えられる。

本研究結果から、スカシバガ類の体内元素濃度は発生地ごとにある程度一定の違いがあり、そのデータから発生地を推定できることが示唆された。特にクビアスカシバについては、小区画レベルでの発生地分類や推定がある程度可能であることが分かり、移入個体の検出にも成功した。本研究の結果では、ブドウ園で得られたクビアスカシバ 20 個体のうち 1 個体が周辺からの移入個体であると推定された。

なお、この手法はクビアスカシバに限らず適用できるはずである。狭食性で幼虫の移動性が低く、また成虫期にほとんど接触しない昆虫を対象とするのがおそらく望ましい。標本数の制限から汎用性を保証する上で課題は残されたものの、昆虫類の移動分散評価において、標識再捕法の欠点を補う 1 手法として利用可能であることが示唆された。

第2章

外来種スグリコスカシバの発生地判別と移動分散評価

2.1 目的

スグリコスカシバは2008年に北海道で発見されて以来、わずか数年間のうちに長野県まで分布を広げた。その急速な分布拡大の実態を探るため、本研究を行った。本種は体サイズが非常に小さく標識再捕法による移動分散評価は困難であったことから、微量元素を利用した発生地判別・移動分散評価を試みた。

2.2 材料と手法

2.2.1 材料

2.2.1.a スグリコスカシバ *Synanthedon tipuliformis*

スグリコスカシバ *Synanthedon tipuliformis* (Clerck, 1759) は、開張: ♂ 16-19 mm , ♀ 18-21 mm の小型スカシバガである (Fig. 16-17)。本種の原因地域はヨーロッパとされているが、カシス栽培の浸透に伴い、アメリカ、カナダ、ニュージーランド、オーストラリア、そして日本と世界中に分布を広げている。

日本国内への侵入状況

日本では2008年に北海道で初めて発見された(岩崎・有田, 2008)。その後, 同2008年に青森県(青森県産業技術センター 2010), 2011年には岩手県(岩手県害虫防除所 2011)と長野県(長野県害虫防除所 2011)でも発生が確認され, 近年急速に分布を広げている。青森県内では, 八戸市南郷区, 青森市高田および五戸町扇田において発生が報告されている(青森県産業技術センター 2010)が, 著者はその他に青森市野内と黒石市花巻でも発生を確認しており, 既に県内各地で広く定着しているようである。

食餌植物と加害の影響

スグリ科のフサスグリ *Ribes rubrum* L. とクロフサスグリ *R. nigrum* L. を食餌植物としているため, クロフサスグリ(カシス)の農業害虫として世界中で知られている。幼虫は食餌植物の枝内へ穿孔し, その芯部を加害・空洞化させる。本種に加害された枝は極端に折れやすく, また葉や果実が小さくなるなどの影響が出る。

なお, 青森県は国内生産量90%を占める日本一のカシス生産地である。

生活史

年1化で, 青森県では5月末から6月下旬にかけて成虫が見られる。幼虫は夏に孵化して枝内で成長し, そのまま枝内で幼虫態越冬する。越冬から明けると蛹化し, 6月上旬～中旬が羽化ピークとなる。

雌性フェロモン

海外では本種の雄が E2Z13-18Ac : E3Z13-18Ac = 97 : 3 の混合物によく誘引されることが知られている (Suckling, D.M. 2005). 著者は, 青森市高田において本種が E2Z13-18Ac のみ, および E2,Z13-18Ac : E3, Z13-18Ac = 9 : 1 の混合物を浸透させた合成性フェロモントラップのいずれでも誘引されることを確認し, 日本国内でも海外の報告とおおよそ同じ組成の雌性フェロモンを利用していることが分かった.

羽化直後の個体の区別

本研究において, 捕獲地点と発生地点の同一であることが明らかなサンプルの存在は大変重要である. 羽化直後のスカシバガ類は不透明な鱗粉 (本種では青白色) を備えている (Fig. 17) が, その鱗粉は羽ばたくとすぐに脱落する (有田・池田 2000). この鱗粉の残っている個体は, 羽化後全く飛翔しておらず, 発生地から移動していない個体と判断した.



Fig. 16 Pair of currant clearwing moths, *Synanthedon tipuliformis*

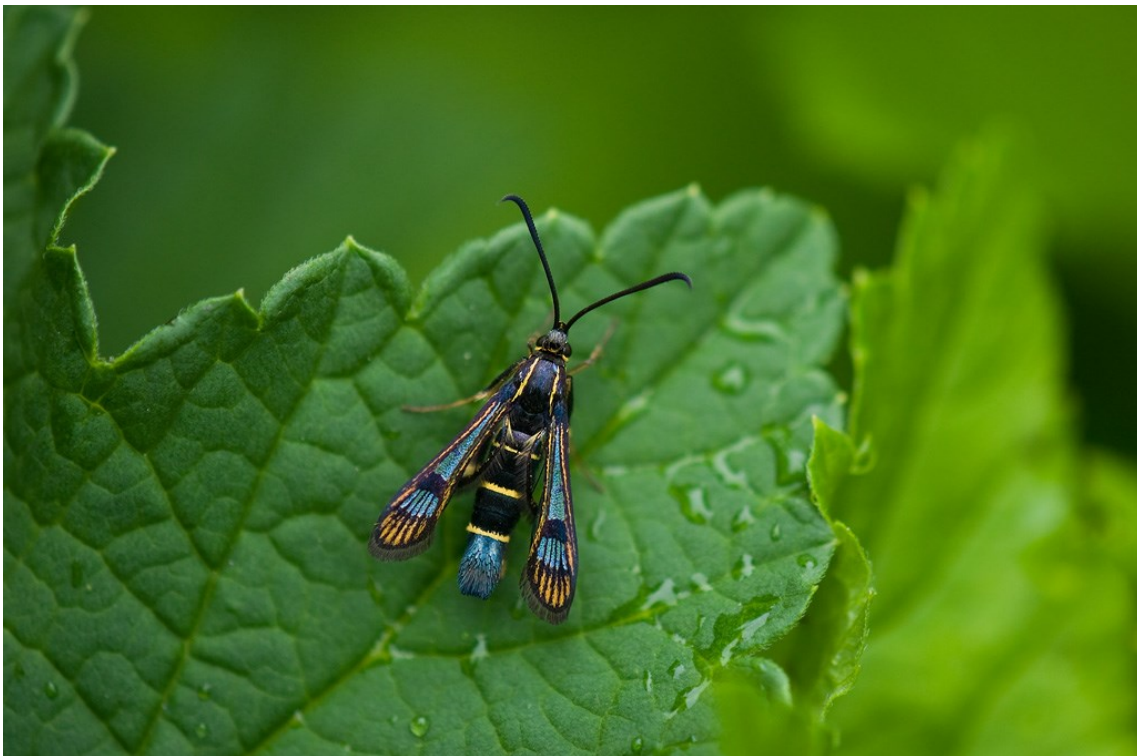


Fig. 17 Newly-emerged female of currant clearwing moth, *Synanthedon tipuliformis*, whose wings were covered with sky-blue scales. The scales fall off during the initial flight.

2.2.2 調査地

青森県青森市高田地区とその周辺地域を対象地域とし、この地域のクロフサスグリ畑
 3 地点 (A: 青森市野沢, B: 青森市高田朝日山, C: 青森市高田川瀬) を調査地とした (Fig.
 18).

A: 野沢と B: 高田朝日山との直線距離は約 2.4 km, B: 高田朝日山と C: 高田川瀬
 の間では約 1.4 km, A: 野沢と C: 高田川瀬の間では約 1.2 km と、各調査地点は極めて
 近い。A: 青森市野沢と B: 高田朝日山は畑の規模が比較的大きく、多数の本種が得ら
 れた。対して、C: 高田川瀬は、住宅地の中にひらかれたごく小さなスグリ畑である。

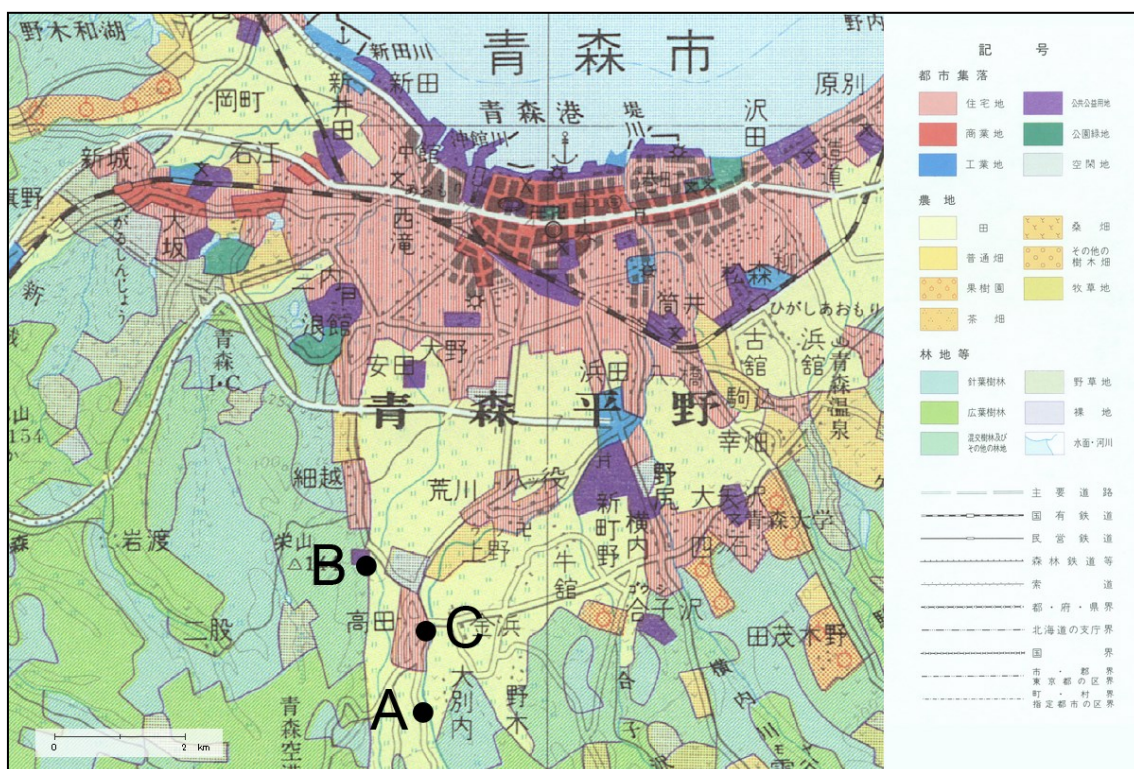


Fig. 18 調査地点と青森市市街地の位置関係 (A: 野沢, B: 高田朝日山, C: 高田川瀬).
 国土地理院の 20 万分の 1 土地利用図 (1982~1983 年) を利用した。

2.2.3 方法

2.2.3.a サンプルング

各調査地で食餌植物の周辺にいるスグリコスカシバをランダムに捕虫網で採集した。分析サンプル数と雌雄の内訳、羽化鱗の残ったサンプルの数、および採集日を Table 8 に示す。サンプルングは 2011 年 6 月 25 日と同年 7 月 1 日の 2 回実施し、採集は捕虫網を用いて無作為に行った。

Table 8 Sampling site, number of samples, and sampling date of currant clearwing moth *Synanthedon tipuliformis* used for trace element analysis

Sampling site	<i>n</i> (total)			(Newly-emerged individuals)		Sampling date
	male	female	total	male	female	
A: Nozawa	19	9	28	4	2	June 25, 2011
B: Takada-Asahiyama	19	8	27	2	1	June 25, 2011
C: Takada-Kawase	3	5	8	0	0	July 1, 2011

2.2.3.b 微量元素分析

採集したスカシバガは、1 個体ずつフッ素樹脂シート (TOMBO9001 ニチアス) を敷いたシャーレに入れ、乾燥機 (IWAKI NFO-82) で 90℃、16 時間乾燥させた。乾燥後、デシケーター内で放冷し、乾燥重量を測定した。

乾燥試料は 1 個体ずつテフロン PFA 製バイアルに入れ、バイアル内で硝酸 (EL) を 0.5 ml 添加した。試料を入れたバイアルは、蒸留水とともにテフロン PTFE 製容器へ入れ、電子レンジにてマイクロウェーブ分解で湿式灰化を行った。分解後、放冷し、分解液の濾過を行った。濾過した分解液はねじ口 PP チューブに入れ、純水で 6ml に希釈・定容し、溶液試料とした。

各元素濃度の測定には東京農工大学環境毒性学研究室にある誘導結合プラズマ質量分析装置 (Agilent 社, ICP-MS 7500 cx) を用い、26 元素 (リチウム Li, マグネシウム Mg, カルシウム Ca, バナジウム V, クロム Cr, マンガン Mn, 鉄 Fe, コバルト Co, ニッケル Ni, 銅 Cu, 亜鉛 Zn, ガリウム Ga, ヒ素 As, セレン Se, ルビジウム Rb, ストロチウム Sr, モリブデン Mo, カドミウム Cd, インジウム In, スズ Sn, アンチモン Sb, セシウム Cs, バリウム Ba, タリウム Tl, 鉛 Pb, ビスマス Bi) の溶液試料中濃度を測定した。ロジウム ^{103}Rh を内部標準元素として測定カウントを補正し、絶対検量線法で各元素濃度を算出した。

2.2.3.c 統計解析

各解析処理には、統計解析ソフト R バージョン 3.1.1 (R Development Core Team 2014) を用いた。

データ変換

多変量解析に際して、元素濃度が検出限界を満たさないものに関しては、検出限界を満たした分析サンプルの元素濃度（乾燥試料重量あたり）の最小値の 2 分の 1 の値を代入し解析に用いた。各濃度値は、自然対数変換を施した後、標準化（関数 `scale()`）した。

変数選択

ボンフェローニ調整を施したマン・ホイットニーの U 検定による多重比較 ($p < 0.05$) によって、元素濃度がグループ間で異なっているか検定し、差の認められた元素を変数選択した。また、相関係数 ($|R| < 0.5$) による変数選択を行い、元素間で強い相関関係を示すものはその一方の元素を説明変数から除外した。

選択された元素を用いて正準判別分析 (MASS ライブラリ; 関数 `lda()`) を行い、総当たり法によって `leave-one-out` 交差検証 (サンプル n 個体のうち 1 個体を除いた $n-1$ 個体で判別モデルを構築し除いた 1 個体について予測する操作を n 回繰り返すことで判別精度を得る) における判別の中率が最も高いモデルを選択した。モデルの過学習

(over-fitting)を防ぐため、使用する説明変数の数は、標本数が最も少ない群の標本数の3分の1以下にすることとした(標本数が5の場合のみ、説明変数を2個まで許容した).

2.3 結果

2.3.1 定量結果

各元素の定量結果を Table 9 に示す（ほとんどのサンプルで検出限界未満の濃度であった Li, As, In, Sb, Cs は, 表から省いた). 7 元素（地点 A では Mg, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se; 地点 B では Ni) について有意 ($p < 0.05$) な性差が確認され, これらの元素は全てメスよりもオスの方が高濃度であった. 判別モデルがこの性差の影響を受けないようにするため, 全ての統計処理は雌雄を別にして行った.

Table 9 Median concentrations and SIQR (Semi Inter-Quartile Range) of trace elements in bodies of currant clearwing moth *Synanthedon tipuliformis* collected from coastal areas of Aomori prefecture ($\mu\text{g/g}$ dry weight).

		Median Concentration \pm SIQR [$\mu\text{g/g}$ D.W.]											
		Mg	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	
Nozawa	male	1217 \pm 87.3 ^a	1436 \pm 480 ^a	0.0511 \pm 0.0176 ^a	0.640 \pm 0.225	3.12 \pm 0.503 ^a	125.2 \pm 24.6 ^a	0.0318 \pm 0.0272	1.05 \pm 0.694 ^{ab}	19.4 \pm 2.79 ^a	318 \pm 55.1 ^a	0.0752 \pm 0.0174	
	female	954 \pm 88.1 ^{bc}	837 \pm 127 ^{ab}	0.0365 \pm 0.00393 ^{ab}	0.300 \pm 0.176	1.94 \pm 0.229 ^b	81.7 \pm 10.5 ^b	0.0406 \pm 0.0392	0.476 \pm 0.227 ^c	12.5 \pm 1.46 ^b	207 \pm 33.7 ^b	0.0905 \pm 0.0154	
Asahiya	male	864 \pm 218 ^{bc}	1334 \pm 416 ^{ab}	0.0305 \pm 0.0196 ^{bc}	0.697 \pm 0.175	3.31 \pm 1.27 ^a	106.2 \pm 28.6 ^{ab}	0.0420 \pm 0.0334	1.96 \pm 1.40 ^a	13.0 \pm 3.48 ^b	278 \pm 73.1 ^{ab}	0.0716 \pm 0.0261	
	female	1076 \pm 29.7 ^{ab}	1092 \pm 626 ^{ab}	0.0317 \pm 0.00948 ^{abc}	0.467 \pm 0.166	2.46 \pm 0.491 ^{ab}	81.9 \pm 16.1 ^b	0.0155 \pm 0.0126	0.636 \pm 0.206 ^{bc}	12.2 \pm 0.871 ^b	186 \pm 23.5 ^{bc}	0.0757 \pm 0.0146	
Kawase	male	782 \pm 195	1487 \pm 487	0.0182 \pm 0.00710	0.885 \pm 0.130	3.20 \pm 0.397	126.9 \pm 17.5	N.D.	1.86	9.90 \pm 1.53	378 \pm 77.6	0.0725 \pm 0.0430	
	female	808 \pm 28.5 ^c	658 \pm 37.7 ^b	0.0114 \pm 0.00292 ^c	0.384 \pm 0.0851	2.63 \pm 0.764 ^{ab}	75.7 \pm 13.0 ^b	N.D.	0.302 ^{bc}	11.9 \pm 0.595 ^b	127 \pm 9.48 ^c	0.105 \pm 0.0279	

		Median Concentration \pm SIQR [$\mu\text{g/g}$ D.W.]										
		Se	Rb	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	Tl	Pb	Bi	
Nozawa	male	0.245 \pm 0.0760 ^a	0.524 \pm 0.251 ^a	1.58 \pm 0.443	0.0300 ^a	0.0308 \pm 0.0127 ^a	3.23 \pm 0.712	1.63 \pm 0.378	N.D. ^a	5.02 \pm 0.753 ^a	0.00225	
	female	0.125 \pm 0.0208 ^b	0.601 \pm 0.164 ^{ab}	1.11 \pm 0.160	N.D. ^{ab}	0.0283 \pm 0.00704 ^a	2.10 \pm 0.496	2.24 \pm 0.354	0.00275 ^{ab}	4.73 \pm 0.557 ^a	0.000445	
Asahiya	male	0.223 \pm 0.0734 ^{ab}	0.157 \pm 0.881 ^{ab}	1.69 \pm 0.401	N.D. ^b	0.0397 \pm 0.0105 ^{ab}	5.25 \pm 1.69	1.55 \pm 0.512	N.D. ^{ab}	1.45 \pm 0.362 ^b	N.D.	
	female	0.223 \pm 0.0447 ^{ab}	0.177 \pm 0.0485 ^b	1.40 \pm 0.467	N.D. ^{ab}	0.0463 \pm 0.0130 ^a	2.13 \pm 0.965	1.67 \pm 0.344	0.00433 \pm 0.00187 ^b	0.688 \pm 0.264 ^b	N.D.	
Kawase	male	0.401 \pm 0.0525	0.249 \pm 0.206	2.92 \pm 0.569	0.218 \pm 0.0647	0.00177	3.67 \pm 1.18	1.48 \pm 0.823	N.D.	1.32 \pm 0.293	N.D.	
	female	0.319 \pm 0.0561 ^{ab}	0.252 \pm 0.0108 ^{ab}	0.98 \pm 0.083	0.360 \pm 0.0660 ^c	0.00599 \pm 0.00366 ^b	1.98 \pm 1.80	1.84 \pm 0.394	N.D. ^{ab}	0.629 \pm 0.177 ^b	N.D.	

* Superscript letters indicate significant differences within rows ($p < 0.05$, Mann-Whitney U-test, correction method according to Bonferroni).

Values within a row that share the same superscript are not statistically different.

N.D. : not detected in more than half the specimens.

2.3.2 オスにおける地点比較

本種のオス ($n = 41$) では, Mg, V, Cu, Mo, Pb の 5 元素で地点間に有意 ($p < 0.05$) な濃度差があった. この 5 元素を説明変数とした主成分分析の結果を Fig. 19 に示す. 調査地点毎にまとまった位置にプロットされており, これらの元素を説明変数としたモデルによって各群を判別できる可能性が示唆された. また, 同じ調査地点で得られた羽化直後の個体 (図中の四角形, Fig. 19) とそれ以外の個体 (図中の円形, Fig. 19) とでは, プロット位置 (第 1・2 主成分得点) がほぼ同一であった.

サンプル数が不十分 ($n = 3$) であった地点 C (高田川瀬) を除外し, 地点 A ($n = 19$) と地点 B ($n = 19$) の 2 地点を判別するモデルを構築した. 総当り法による変数選択の結果, Mg, Mo, Pb の 3 元素を説明変数としたモデルが採用された (前提条件を満たす全モデルの中で, leave-one-out 交差検証における判別率の中率が 97%と最大). 本モデルにおける判別成功率は 100%であった. 羽化直後の個体 (地点 A: 4 個体, 地点 B: 2 個体) は交差検証においても誤りなく判別されており, 予測発生地点と捕獲地点が一致した.

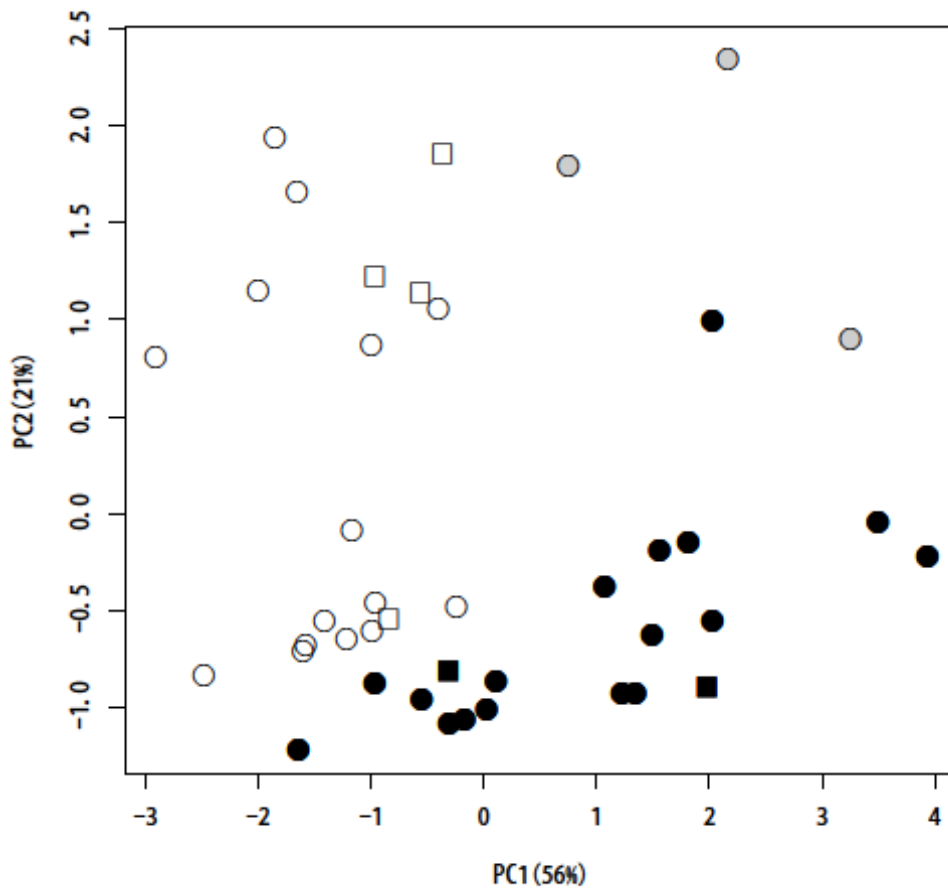


Fig. 19 The first two component scores and proportions of variance in principal component analysis using 5 element concentrations (Mg, V, Cu, Mo, Pb) in males of currant clearwing moth *Synanthedon tipuliformis*. Newly-emerged individuals were shown as squares, and the others were shown as circles. Site A: white. Site B: black. Site C: gray.

2.3.2 メスにおける地点比較

本種のメス ($n=22$) では, Mg, V, Zn, Mo, Cd, Pb の 6 元素で地点間に有意 ($p < 0.05$) な濃度差が見られた. この 6 元素を説明変数とした主成分分析の結果を Fig. 20 に示した. オスの結果と同様に, 各プロットは調査地点毎にまとまったエリアに配置されており, これらの元素を説明変数としたモデルによって各群を判別できる可能性が示唆された. また, 同じ調査地点で得られた羽化直後の個体 (図中の四角形, Fig. 20) とそれ以外の個体 (図中の円形, Fig. 20) とでは, プロット位置がほぼ同一であった.

地点 A~C の 3 地点を判別するモデルを構築した. 総当り法による変数選択の結果, Pb と Mo の 2 元素を説明変数としたモデルが採用された (前提条件を満たす全モデルの中で, leave-one-out 交差検証における判別率中率が 95%と最大). 本モデルにおける判別成功率は 95%であった. 羽化直後の個体 (地点 A: 2 個体, 地点 B: 1 個体) は全て誤りなく判別されており, 予測発生地点と捕獲地点が一致した.

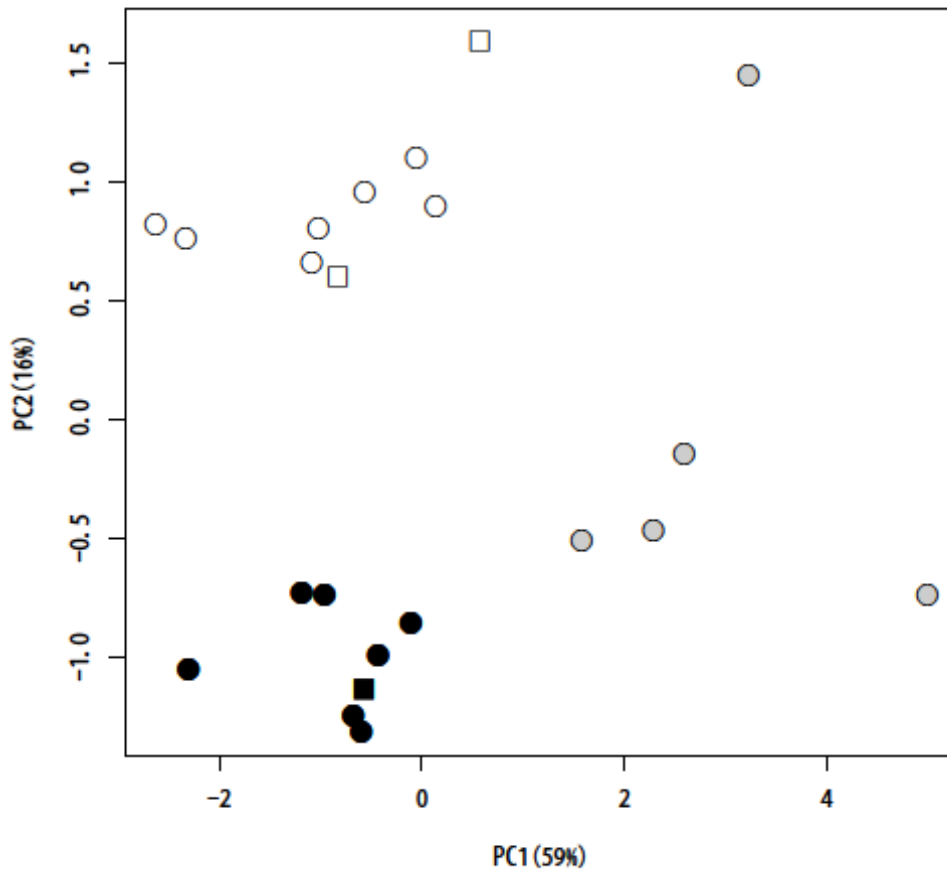


Fig. 20 The first two component scores and proportions of variance in principal component analysis using 5 element concentrations (Mg, V, Zn, Mo, Cd, Pb) in females of curren clearwing moth *Synanthedon tipuliformis*. Newly-emerged individuals were shown as squares, and the others were shown as circles. Site A: white. Site B: black. Site C: gray.

2.4 考察

本種では体内元素組成に若干の雌雄差があることが分かった (Table 9). 特に Ni ではその性差が顕著であり, 地点判別などを行う際に雌雄を混同した場合, 判別の妨げになると考えられた. 同様のことは他の生物にもいえると考えられ, 2性を同時に扱う場合は注意を要する.

主成分分析結果 (Fig. 19-20) から, 体内の元素組成は発生地点毎に異なる傾向が雌雄ともに確認され, 元素濃度を説明変数に用いた判別分析によって地点判別可能であることが示唆された. 最終モデルの説明変数には, Pb と Mo が雌雄に共通して選出されていた. スグリ畑の管理状況やその立地環境によってこれらの元素に濃度差が生じ, その違いを指標として地点判別されたものと考えられる. なお, 捕獲地点で発生したことが明らかである羽化直後の採集個体 (羽化後羽ばたくことで脱落する鱗粉を備えた個体) は9個体全てで予測発生地点と捕獲地点が一致しており, これらの判別モデルの妥当性は高いものと考えられる. 雌雄いずれにおいても, 構築された産地判別モデルの判別的中率は極めて高く, このことは, スグリコスカシバ体内の元素組成が調査地点によって明確に異なっていることを示すのと同時に, 調査地点間における個体の移動が極めて少ないことをあらわしている. 各地点間は直線距離にして 1.2 - 2.4 km しか離れておらず, 移動が阻害されるような地形でもない. それにも関わらず各地点間を移動した個体が確認されなかったということは, 本種の飛翔分散能力が極めて小さいものであると考えることができるだろう. 本種は 2008 年に北海道で初めて発生が確認され, その後数年の

うちに長野県まで分布を広げたが、この急速な分布拡大が飛翔分散によるものとは考え
難い。本種の急速な分布拡大は、その飛翔分散による能動的移動ではなく、幼虫の入っ
た苗木の輸送など、人為的移動に因るものであることが示唆された。

第3章

青森県沿岸マダラの回遊推定

3.1 緒言

マダラ *Gadus macrocephalus* は、北太平洋に広く生息し、大型かつ食味良好であることからほとんどの分布域で重要な漁獲対象種とされている。日本では日本海と太平洋の両海域に見られ、とりわけ青森県においては、極めて重要な漁業資源である。青森県の周辺海域において、産卵期（12-3月）になると水深100m以浅の陸奥湾口に来遊することが知られている（福田ら 1985）。陸奥湾口は我が国のマダラ資源の中でも重要な産卵場となっているが、その漁業資源としての重要性に関わらず、来遊経路が未だ十分には解明されていない。

青森県水産試験場が行った標識放流により日本海と津軽海峡との間におけるマダラの移動は極めて少ない（福田ら 1985, 中田・三戸 1993）ことが示されている一方で、青森県日本海と陸奥湾・津軽海峡とではマダラ沿岸漁獲量の変動傾向が類似していることも報告されている（菅野ら 2001）。また、脊椎骨数の解析結果からは、青森県太平洋・青森県日本海・陸奥湾の各海域間において、ある程度の交流があることが示唆されている（菅野ら 2001）。その他、データロガー標識放流試験では、2011年3月に陸奥湾口部で標識放流されたマダラ25個体のうち、3個体が陸奥湾口部～湾内、2個体が北海道渡島半島沿岸の南西部（日本海）、2個体が津軽海峡東部～太平洋において再捕獲されている（三浦 2012）。産卵個体その後どのように移動したかについては若干の知見が

得られているものの、陸奥湾口海域に來遊する産卵群の由来については未解明といえる。

近年、生物の産地判別や移動履歴推定に微量元素分析が利用され始めている (Possel et al. 2008, 服部ら 2009ab, 工藤ら 2011)。魚類生体内の微量元素組成は、遺伝情報よりむしろ個体の生活環境や食餌の違いを強く反映するため、遺伝的な隔たりのない集団間の比較に有用である。前述の通り、青森県周辺海域のマダラは、日本海と太平洋および陸奥湾口の間で遺伝的交流が示唆されている。そのため DNA 解析によって個体群の遺伝子流動を求めても回遊パターンを解明することは難しいと考えられた。そこで微量元素を用いた手法を用い、回遊履歴を推定することとした。

その他、魚類では遺伝情報によらない移動履歴研究として、耳石の炭素・酸素（および通し回遊魚ではストロンチウム）等の同位体比 (Nelson et al. 1989, Meyer-Rochow et al. 1992, Ingram & Weber 1999)、あるいはカルシウムに対するストロンチウム等の微量元素濃度比 (Tzeng 1996, Radtke et al. 1996, Yamane et al. 2012) の挙動を用いた手法が盛んに行われている。耳石を試料とする手法には、時間情報を再現できるという大きな利点がある一方で、測定可能な元素が限定的であるという欠点も存在する。とりわけ、局地的な小回遊を扱う研究にあっては地点間の違いを十分に見出せない恐れがあると考えられた。対して、軟組織を試料とした微量元素分析は、耳石微量元素分析よりも測定可能な元素の種類が多く、比較群間に違いを見出しやすいという利点がある。そこで本研究では、近過去の生息地推定に有効と考えられる筋組織（咬筋）を試料とし、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) と還元気化水銀測定装置を用いて、29 種類の元素濃度

を定量した。そして、その微量元素濃度の違いから各海域を判別し、陸奥湾口で得られたマダラについて、いずれの海域から来遊した個体であるか推定を試みた。

3.2 材料と手法

3.2.1 材料

青森県沿岸 3 海域（日本海・太平洋・陸奥湾）で捕獲された全長 400-650mm のマダラ *Gadus macrocephalus* を用いた（北海道松前郡松前町白神岬と青森県東津軽郡外ヶ浜町三厩龍飛埼を結ぶ線より西側を日本海, 北海道函館市恵山岬町恵山岬と青森県下北郡東通村尻屋埼を結ぶ線より東側を太平洋, 青森県東津軽郡平舘村平舘灯台と青森県下北郡佐井村焼山埼を結ぶ線より南側を陸奥湾, これらの線の内側を津軽海峡として扱った）。微量元素分析に供したマダラの捕獲地点, 水深, 捕獲日, 個体数, 全長を Table 10 に表す。日本海産のマダラは, 2012 年 12 月から 2013 年 1 月にかけて捕獲された 2 個体と 2013 年 6 月から 7 月にかけて捕獲された 28 個体の計 30 個体を用いた。日本海側の捕獲地点における水深は 200-300m であった。太平洋産は水深 200-250m の地点で 2013 年 6 月に捕獲された 12 個体を用いた。陸奥湾口部産は水深 50-65m の地点で 2012 年 12 月から 2013 年 3 月にかけて捕獲された 19 個体を用いた。

日本海および太平洋（調査地点 A1-6, B1-2; Fig. 21）のマダラは, 青森県産業技術センター水産総合研究所の重要魚類資源モニタリング調査事業において, 船速 2-3 ノット, 30 分間のオッタートロールで捕獲された。陸奥湾口部（調査地点 C; Fig. 21）のマダラについては, 底建網で捕獲されたものを用いた。全ての試料は-30°C以下で冷凍保管した。

Table 10 Sampling site, sampling date, number of samples, and total length of Pacific cod *Gadus macrocephalus* used for trace element analysis

Sampling site (depth)	Sampling data	<i>n</i>	Total Length [mm]
Sea of Japan			
A1 (300 m)	December 3, 2012	1	
	June 20, 2013	4	
	July 4, 2013	2	
	July 17, 2013	2	
A2 (300 m)	July 1, 2013	2	
	July 17, 2013	2	
A3 (250 m)	July 23, 2013	5	
A4 (200 m)	June 25, 2013	2	
A5 (300 m)	January 16, 2013	1	
A6 (200 m)	June 24, 2013	7	
	July 2, 2013	2	
		30 (Total)	502 ± 61.2 (Mean ± SD)
Pacific Ocean			
B1 (250 m)	June 3, 2013	10	
B2 (200 m)	June 1, 2013	2	
		12 (Total)	523 ± 87.2 (Mean ± SD)
Mutsu Bay			
C (50-65 m)	December 25, 2012	5	
	January 8, 2013	3	
	January 9, 2013	1	
	January 17, 2013	3	
	January 24, 2013	1	
	January 31, 2013	1	
	February 18, 2013	1	
	February 27, 2013	2	
	March 4, 2013	2	
		19 (Total)	581 ± 71.6 (Mean ± SD)

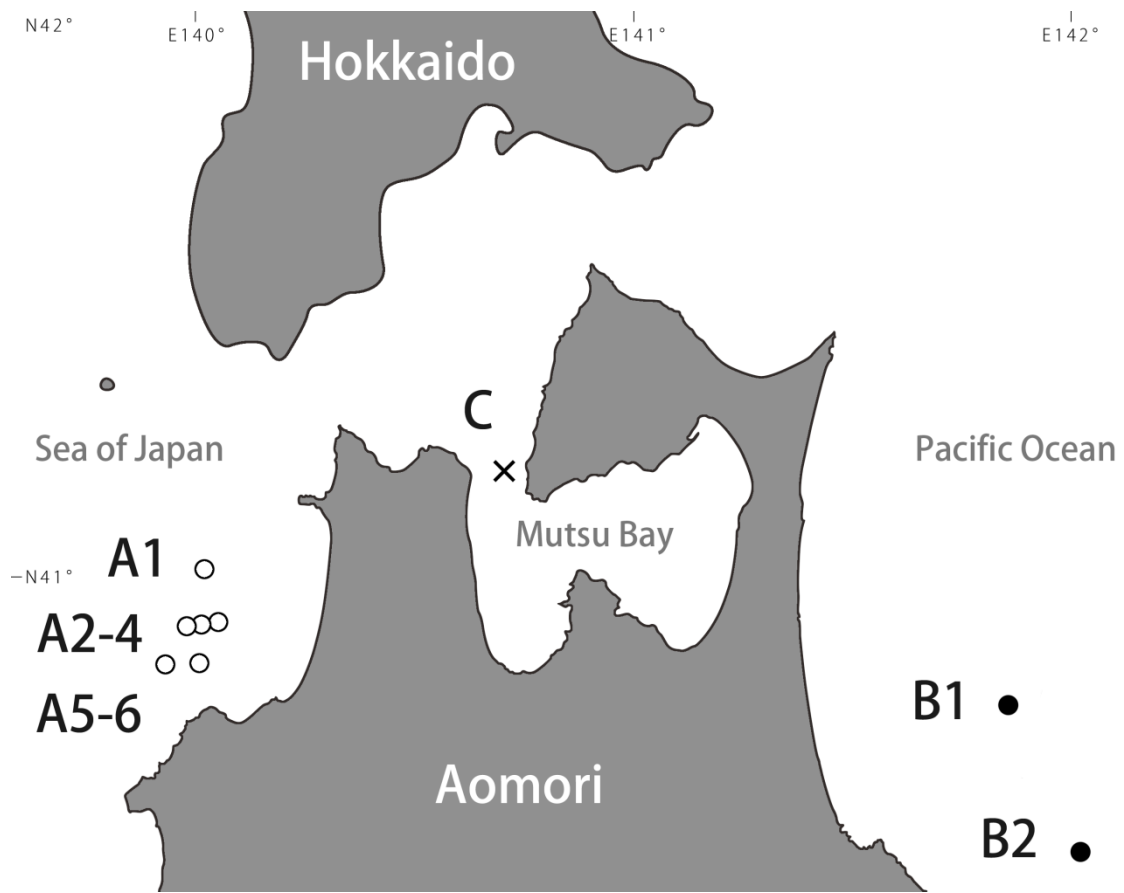


Fig. 21 Location of the sampling sites in the coastal areas of Aomori Prefecture, Japan.

3.2.2 化学分析

マダラは、自然解凍後、個体毎に解剖して筋肉（咬筋）を切り出し、その筋肉片をフッ素樹脂シートに乗せて 90℃で 16 時間乾燥させた。乾燥試料は粉碎し乾燥重 0.1g を秤量して、硝酸 2.0ml とともにテフロン PFA 製バイアルに入れた。このバイアルを、テフロン PTFE 製容器に密閉し、マイクロウェーブ分解を行った。分解した試料は、5%硝酸で十分に洗浄した濾紙を用いて濾過した後、超純水でおよそ 25.0g になるよう希釈し、精秤後、溶液試料とした。なお、試料分解に用いる硝酸は精密分析用以上のものを使用した。

誘導結合プラズマ質量分析装置（Agilent 社、ICP-MS 7500cx）を用い、28 元素（リチウム Li, ナトリウム Na, マグネシウム Mg, カリウム K, カルシウム Ca, バナジウム V, クロム Cr, マンガン Mn, 鉄 Fe, コバルト Co, ニッケル Ni, 銅 Cu, 亜鉛 Zn, ガリウム Ga, ヒ素 As, セレン Se, ルビジウム Rb, ストロンチウム Sr, モリブデン Mo, カドミウム Cd, インジウム In, スズ Sn, アンチモン Sb, セシウム Cs, バリウム Ba, タリウム Tl, 鉛 Pb, ビスマス Bi）について濃度を測定した。

また、水銀 Hg の濃度を、還元気化水銀測定装置（日本インスツルメンツ株式会社 マーキュリー RA-3220A）を用いて測定した。

3.2.3 統計解析

データ解析には、統計ソフト R (バージョン 3.1.1) for Windows 64bit を用いた (R Development Core Team 2014). 全ての濃度は自然対数変換して標準化し、2 変量の相関を Spearman の順位相関分析、グループ間の多重比較を Holm 法で検定の多重性を調整したマン・ホイットニーの U 検定、次元を縮約したデータ構造の把握を主成分分析で行い、産地判別モデルの構築はロジスティック回帰分析によって行った。ロジスティック回帰分析については、多くのモデルで線形結合の分布が重ならなくなり separation を生じたため、罰則付き最大尤度によって一般化線形モデルの当てはめを行った (brglm パッケージ, 関数 `brglm()`). モデル選択については、総当たり法で AIC が最小となるものを選出した。また、水銀濃度は全長と強く相関していたため、主成分分析とロジスティック回帰分析については、水銀濃度を全長で除算した値を用いた。

3.3 結果

3.3.1 定量結果

各元素の定量結果を Table 11 に示す。サンプルの含水率（平均±標準偏差）は 78.8 ±3.0%であった。なお日本海マダラには捕獲時期が 12-1 月のサンプルと 6-7 月のサンプルとが混在しているが、両者の各元素濃度に違いは確認されなかった。Holm 法で検定の多重性を調整したマン・ホイットニーの U 検定により、日本海と太平洋との間で濃度に有意差がみとめられた元素 ($p < 0.05$) は、Li, Cu, As, Rb, Sr, Sb, Hg の 7 元素であった。このうち Hg 濃度は体長と強い正の相関を示したが、その傾きは日本海と太平洋で顕著に異なっていた (Fig. 22a)。

日本海と陸奥湾の間で有意差がみとめられた元素は、Li, Mg, Cr, Mn, As, Se, Cd, Sb, Hg の 9 元素であり、太平洋と陸奥湾の間では、Na, Cr, Mn, Se, Rb, Hg の 6 元素であった ($p < 0.05$)。Mn と Se (検出されたサンプルが限定的であるものの Cr も同傾向) は他の 2 海域よりも陸奥湾で低濃度であったが、いずれの元素も濃度と体長が負の相関を示していた (Fig. 22b, c; Mn では $r = -0.40$, Se では $r = -0.44$, Cr では $r = -0.24$)。これらの濃度差は、分析に用いたマダラの体長分布の偏りによって生じたものであることを否定できず(分析試料の全長±SD は、日本海産 502±61.2mm, 太平洋産 523±87.2mm, 陸奥湾口産 581±71.6mm), Mn, Se, Cr の 3 元素は解析に利用しないこととした。

Ni, Ga, Mo, In, Sn, Ba, Tl, Pb, Bi はほとんどの試料から検出されず、マダラ筋肉中には極めて低濃度にしか含まれていないと考えられた。また、Cd, Sb に関しても、

日本海産を主とした一部のサンプルから極めて微量に検出されたのみで、多くのサンプルでは濃度値を得られなかった。

なお、各海域のマダラ筋肉中における湿重量 1kg あたりの Hg 量（中央値±四分位偏差）は、日本海 $0.168 \pm 0.029 \text{mg/kg}$ 、太平洋 $0.061 \pm 0.014 \text{mg/kg}$ 、陸奥湾 $0.090 \pm 0.013 \text{mg/kg}$ であり、これは日本が定めている魚介類の Hg の暫定的規制値 0.4mg/kg に満たない。

Table 11 Median concentrations and SIQR (Semi Inter-Quartile Range) of trace elements in muscle of Pacific cod *Gadus macrocephalus* collected from coastal areas of Aomori prefecture ($\mu\text{g/g}$ dry weight)

	Median Concentration \pm SIQR [$\mu\text{g/g}$ D.W.]													
	Li	Na	Mg	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga
Sea of Japan	0.0955 ^a ± 0.0237	6472 ^{a, b} ± 1617	1392 ^a ± 101	8357 ± 1238	360 ± 70.2	0.0117 ± 0.0050	0.0330 ^a ± 0.0496	0.401 ^a ± 0.049	5.54 ± 1.82	0.0163 ± 0.0070	N.D.	0.824 ^a ± 0.108	12.03 ± 2.97	N.D.
Pacific Ocean	0.0670 ^b ± 0.0134	5357 ^a ± 1085	1391 ^{a, b} ± 52.6	9393 ± 719	354 ± 53.3	0.0147 ± 0.0120	0.0184 ^a ± 0.0421	0.369 ^a ± 0.039	4.16 ± 1.25	0.0076 ± 0.0048	N.D.	0.706 ^b ± 0.049	9.96 ± 2.54	N.D.
Mutsu Bay	0.0483 ^b ± 0.0256	8676 ^b ± 1903	1318 ^b ± 88.7	8824 ± 1331	305 ± 64.1	0.0102 ± 0.0040	N.D. ^b	0.274 ^b ± 0.069	4.03 ± 1.61	0.0080 ± 0.0066	N.D.	0.800 ^{a, b} ± 0.151	12.27 ± 9.36	N.D.

	Median Concentration \pm SIQR [$\mu\text{g/g}$ D.W.]														
	As	Se	Rb	Sr	Mo	Cd	In	Sn	Sb	Cs	Ba	Hg	Tl	Pb	Bi
Sea of Japan	136 ^a ± 49.4	2.45 ^a ± 0.18	2.97 ^a ± 0.37	2.69 ^a ± 0.74	N.D.	0.0011 ^a	N.D.	N.D.	0.01102 ^a ± 0.00820	0.113 ± 0.016	N.D.	0.790 ^a ± 0.164	N.D.	N.D.	0.0021
Pacific Ocean	19.9 ^b ± 6.6	2.31 ^a ± 0.11	3.54 ^b ± 0.39	2.02 ^b ± 0.41	N.D.	N.D. ^{a, b}	N.D.	N.D.	N.D. ^b	0.104 ± 0.007	N.D.	0.298 ^b ± 0.064	N.D.	N.D.	N.D.
Mutsu Bay	20.3 ^b ± 17.1	2.05 ^b ± 0.15	2.81 ^a ± 0.39	2.25 ^{a, b} ± 0.85	N.D.	N.D. ^b	N.D.	N.D.	N.D. ^b	0.114 ± 0.017	N.D.	0.427 ^c ± 0.067	N.D.	N.D.	N.D.

* Superscript letters indicate significant differences within rows ($p < 0.05$, Mann-Whitney U-test, correction method according to Bonferroni-Holm). Values within a row that share the same superscript are not statistically different.

N.D. : not detected in more than half the specimens.

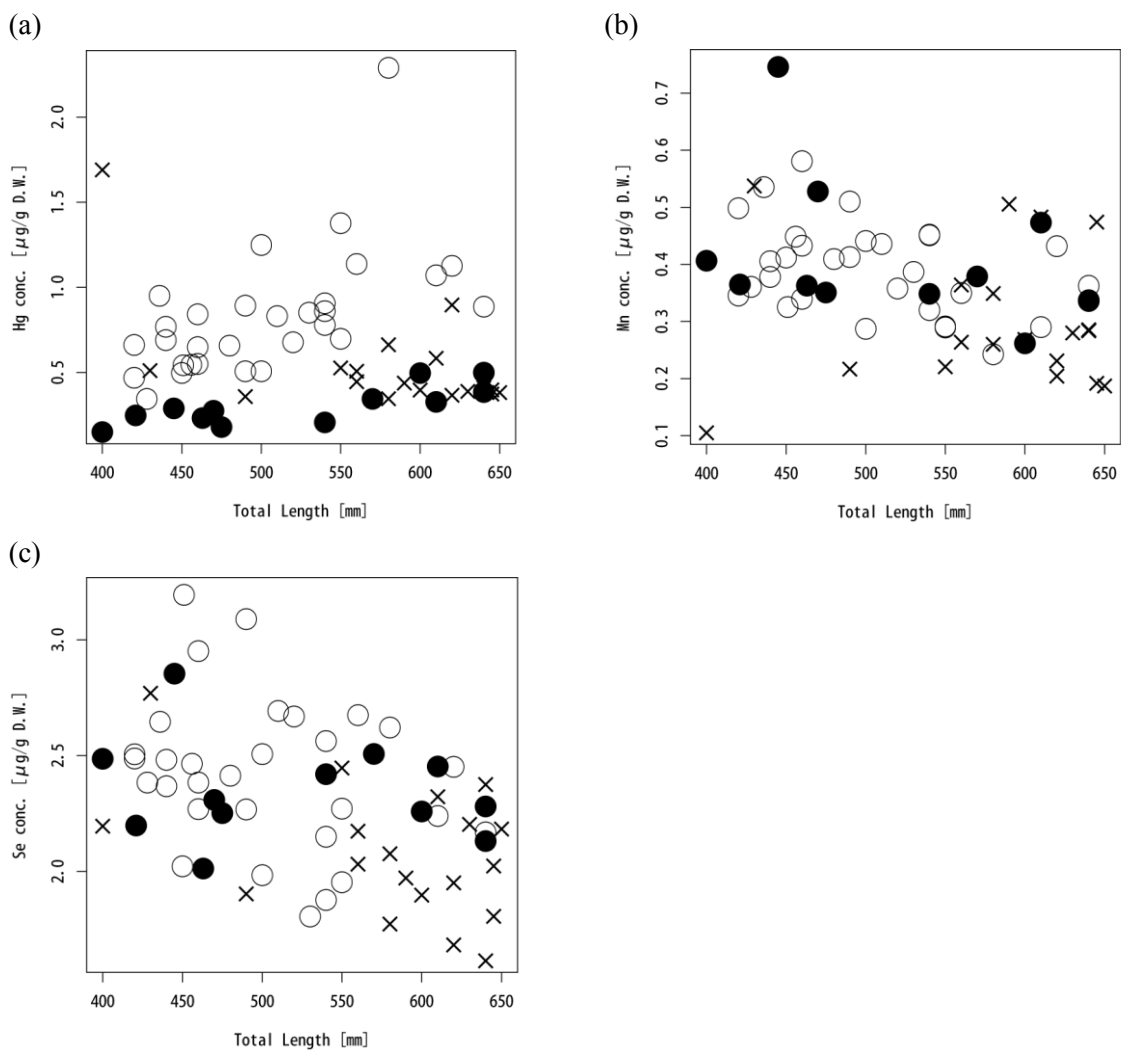


Fig. 22a-c Relationship between total length and element concentrations in muscle of Pacific cod *Gadus macrocephalus* collected from Sea of Japan (open circles), Pacific Ocean (filled circles), and Mutsu Bay (cross). (a) Hg level in Sea of Japan was higher than in Pacific Ocean. (b) Mn and (c) Se levels in Mutsu Bay were lower than in the other areas, but those were negatively correlated with total length and the area differences were unclear.

3.3.2 海域間比較

日本海と太平洋の間の違いに着目してデータ構造を把握するため、Holmの多重比較において日本海と太平洋との間で有意差 ($p < 0.05$) が見られた7元素のうちSbを除いた6元素 (Li, Cu, As, Rb, Sr, Hg) を説明変数とした主成分分析を行った (Fig. 23; Table 12a, b). Sbは、半数近くのマダラで濃度値が得られなかったこと (全61個体中29個体で検出限界未満)、Asとの間に強い相関 (Spearmanの順位相関係数 $r = 0.62$) を示していたことから、説明変数として不適かつ重要性が低いと判断した. 主成分分析の結果、日本海産と太平洋産はそれぞれ異なる位置にプロットされ、陸奥湾口産は多くの個体が太平洋産に近い値を示した (Fig. 23).

主成分分析の説明変数に用いた6元素を用いて、日本海マダラと太平洋マダラを判別するロジスティック回帰モデルを構築した. 総当たり法によるAIC基準の変数選択の結果、Hg濃度のみを説明変数としたモデルが選択され、この回帰モデルにおける日本海マダラと太平洋マダラの判別成功率は約98%であった (Table 13a, b).

構築した回帰モデルを用いて陸奥湾口産のマダラを判別したところ、19個体中7個体が日本海産、12個体が太平洋産に分類された (Table 13b). このとき日本海産として分類された陸奥湾マダラは全て1月以降に捕獲された個体であった (Table 14).

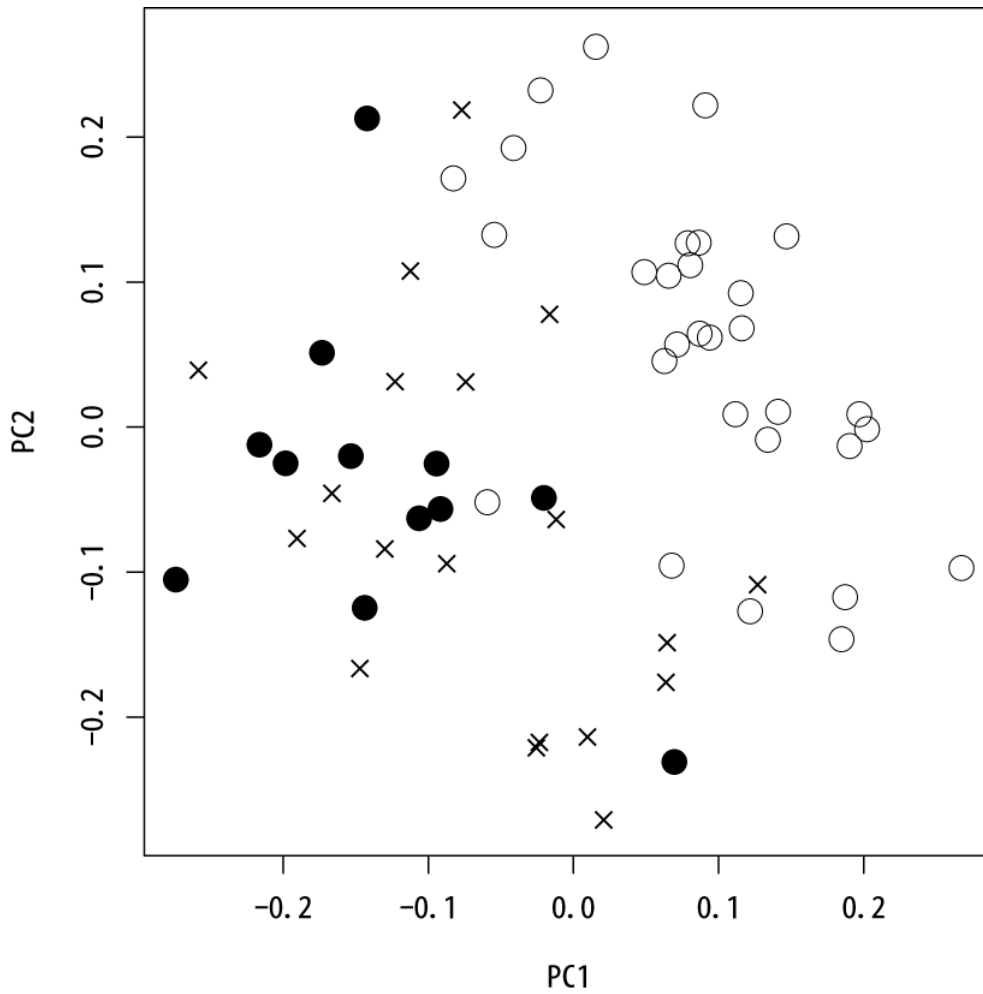


Fig. 23 The first two component scores of principal component analysis using 6 element concentrations (Li, Cu, As, Rb, Sr, and Hg) in muscle of pacific cod *Gadus macrocephalus* collected from Sea of Japan (open circles), Pacific Ocean (filled circles), and Mutsu Bay (cross).

Table 12 (a) Summary and (b) loadings of principal component analysis using 6 element concentrations (Li, Cu, As, Rb, Sr, and Hg) in muscle of Pacific cod *Gadus macrocephalus* collected from the coastal areas of Aomori prefecture

(a)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Standard deviation	1.46	1.20	1.00	0.94	0.58	0.47
Proportion of Variance	0.35	0.24	0.17	0.15	0.06	0.04
Cumulative Proportion	0.35	0.59	0.76	0.91	0.96	1.00

(b)

	Principal Component Loading					
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Li	0.66	-0.14	0.69	-0.01	0.14	0.23
Cu	0.32	-0.36	-0.20	-0.85	-0.04	0.01
As	0.66	0.65	-0.01	-0.11	0.27	-0.24
Rb	-0.48	0.48	0.60	-0.30	-0.27	-0.10
Sr	0.73	-0.51	0.14	0.24	-0.28	-0.24
Hg	0.62	0.62	-0.31	0.06	-0.30	0.20

Table 13 (a) Summary of bias-reduced logistic regression model predicting sampling areas of Pacific cod *Gadus macrocephalus* collected from Sea of Japan and Pacific Ocean, and (b) feeding areas predicted by the model (with pacific cod collected from Mutsu Bay)

(a)

	Estimate	Std. Error	z value	p value
(Intercept)	4.080	1.883	2.167	0.0302 *
Hg	8.574	3.351	2.559	0.0105 *

(b)

Sampling Area	Predicted Area	
	Sea of Japan	Pacific Ocean
Sea of Japan	29	1
Pacific Ocean	0	12
Mutsu Bay	7	12

* This model's correct classification rate was 98%. The cut value was 0.5.

Table 14 Predicted feeding area and the predicted probability of Pacific cod *Gadus macrocephalus* collected from Mutsu Bay

Sampling Site	Sample ID	Sampling data	Total Length [mm]	Predicted Area	Predicted Probability (Sea of Japan)
Mutsu Bay (Fig. 1-C)	c01	December 25, 2012	645	Pacific Ocean	0.06
	c02	December 25, 2012	650	Pacific Ocean	0.04
	c03	December 25, 2012	645	Pacific Ocean	0.04
	c04	December 25, 2012	620	Pacific Ocean	0.04
	c05	December 25, 2012	640	Pacific Ocean	0.08
	c06	January 8, 2013	620	Sea of Japan	1.00
	c07	January 8, 2013	630	Pacific Ocean	0.06
	c08	January 8, 2013	580	Pacific Ocean	0.05
	c09	January 9, 2013	430	Sea of Japan	0.98
	c10	January 17, 2013	580	Sea of Japan	0.96
	c11	January 17, 2013	640	Pacific Ocean	0.05
	c12	January 17, 2013	600	Pacific Ocean	0.10
	c13	January 24, 2013	560	Sea of Japan	0.64
	c14	January 31, 2013	590	Pacific Ocean	0.21
	c15	February 18, 2013	610	Sea of Japan	0.75
	c16	February 27, 2013	400	Sea of Japan	1.00
	c17	February 27, 2013	490	Pacific Ocean	0.20
	c18	March 4, 2013	560	Pacific Ocean	0.33
	c19	March 4, 2013	550	Sea of Japan	0.76

* Predicted by the logistic regression model (Table 4a).

3.4 考察

Hgは生体蓄積性が極めて高い元素として知られており、マダラでも成長に伴って筋肉中のHg濃度が上昇する（Burger & Gochfeld 2007）ことが報告されている（なお、主成分分析およびロジスティック回帰分析では、体サイズによる影響を排除するため、Hg濃度を全長で割った補正值を変数に用いた）。青森県沿岸のマダラについても、筋肉中Hg濃度と個体の体サイズ（全長）は強い正の相関を示していたが、その傾きの大きさは日本海と太平洋で顕著に異なっていた（Fig. 22a）。この差異は海域毎のマダラの採餌メニューや海水中の元素濃度の違いによって生じたものと推測されるが、その原因を解明するためには海水の元素分析や胃内容調査が必須であろう。日本海産のサンプルには、冬季（12-1月）のものと夏季（6-7月）のものが混在していたが、捕獲時期による元素濃度の違いは見られず、各海域におけるHgおよびAs濃度の違いは、捕獲時期の偏りによるものではないと考えられた。なお、ノルウェー沿岸において、マダラと同属のタイセイヨウダラ *G. morhua* では、HgとAsの濃度に有意な季節的变化は確認されなかったことが報告されている（Staveland 1993）。また、マダラの体サイズの成長速度は緯度によって大きく異なるものの、同じ緯度帯の日本海側（松前小島堆海域）と太平洋側（北海道太平洋側海域）とでは成長速度の違いを見出せないことが報告されている（服部ら 1992）。青森県沿岸の日本海と太平洋についても両者の成長速度に大きな違いはない可能性が高く、Hg濃度／全長値の違いは成長速度の違いに由来するものではないと考えられた。

主成分分析において、第1主成分の負荷量がRb以外の5元素全てで正の値を示したことから、第1主成分は金属元素全般の濃度の高低を反映するものと考えられた (Table 3b)。また、HgとAsは互いに相関が強く ($r=0.66$)、第1・2主成分負荷量においてかなり近い値を示しており (Table 12b)、同一の経路 (食餌) によって体内に取り込まれたものと考えられた。したがって第2主成分は、水銀とヒ素の濃度が高い何らかの食餌に対する依存度を反映したものと考えられた。

生息地を判別するロジスティック回帰分析では、Hg濃度を説明変数としたモデルが採用されていた (陸奥湾産の分析試料には日本海産・太平洋産と比べて体サイズの大きな個体が多く含まれていた (Table 10) が、この回帰モデルの説明変数はHg濃度を全長で除算した補正值であり、試料の体長分布の偏りによる影響を受けていない)。マダラ体内のHg濃度には日本海産と太平洋産・陸奥湾産とで2倍程度の開きが見られ、また、魚類における水銀の生物学的半減期は、無機水銀で100日前後、メチル水銀で200日前とされている (山中ら 1974) ことから、このロジスティック回帰モデルは、過去数ヶ月から半年程度において長く滞在した生息地の情報を反映するものと考えられた。このロジスティック回帰モデルによる推定において、日本海産と分類された陸奥湾マダラは全て1月以降に捕獲された個体であったことから、日本海マダラと太平洋マダラとでは、陸奥湾口部への来遊タイミングが異なっている (太平洋マダラの方が早い時期に来遊する) 可能性が示唆された (Table 14)。また、各海域への推定所属確率に注目すると、1月中旬以前に捕獲された全サンプルが0または1に極めて近い明瞭な値を示した

のに対して、それ以降に捕獲されたサンプルでは多くが 0.2~0.8 というやや曖昧な推定確率を示していた。これは、マダラが産卵場（陸奥湾口部）に滞在する中で、マダラ筋肉中の Hg 濃度が徐々に変化したこと由来すると考えられた。Hg は極めて生体蓄積性の強い元素であり、筋肉中 Hg 濃度の迅速な希釈は生じ難い。そのため、3 海域中最も水銀濃度の高い日本海から来遊したマダラの水銀濃度は大きく変化していないと考えられる。対して、相対的に Hg 濃度の低い太平洋マダラでは、産卵場での滞在・採餌などに伴う Hg 濃度の上昇が無視できないと考えられ、陸奥湾口部における Hg が日本海のそれと同レベルだと仮定した場合、太平洋よりも陸奥湾で Hg 濃度が高いことに辻褃が合う。陸奥湾に流入する外海水は、日本海を北上する対馬海流が分枝した津軽暖流水であり、とりわけ湾口部は日本海の特徴を強く有することが考えられる。以上のことから、陸奥湾マダラは、回帰モデルによる推定結果以上に、太平洋側の集団に由来するものが多い可能性があり、今回構築したモデルの推定では、日本海から陸奥湾口部へのマダラの来遊量を過大評価している恐れがある。今回はサンプル数の制限により Hg 濃度のみを説明変数とした回帰モデルが選択されてしまったが、将来的にはサンプル数を十分に増やすことによって、複数の元素濃度を説明変数とした、より正確な回帰モデルの構築が可能になるであろう。

サンプリング上の事情から、ここでは太平洋産のマダラを一括りに扱い、青森県沿岸で捕獲されたものを分析試料とした。分析結果より、陸奥湾マダラでは、太平洋のマダラに近い元素組成を示す個体はその大半を占めていることは明らかである。しかし、そ

れらが太平洋のどこから来遊し、どのような系群構造をとるかということについて議論する段階には至っていない。北海道太平洋側に回遊する群と東北地方太平洋側の群は別の系群とされており（菅野ら 2001）、また、陸奥湾産卵群は北海道太平洋側の系群と交流が深い（福田ら 1985）とする報告がある。今後、北海道南部の日本海・太平洋両沿岸に産するマダラを分析対象に加えることで、陸奥湾産卵群の起源について詳細に検討したい。

青森県沿岸では、海域間でマダラ筋肉中の Hg および As 濃度が大きく異なっており、軟組織（筋肉）を試料とした微量元素分析は、その産地判別に極めて有用であった。本研究の結果から、産卵のため冬季に陸奥湾口部を訪れるマダラの集団は、その大半が太平洋から来遊したものと推定された。また、日本海マダラよりも太平洋マダラの方が早い時期に陸奥湾口部に来遊している可能性が示唆された。

第4章

青森県岩木川流域におけるヒゲナガカワトビケラの 個体群構造

4.1 緒言

河川生態系は、複数の局所生態系とそれらを繋ぐネットワークから形成されており、メタ個体群構造の研究モデルとして優れている。そこで、メタ個体群の動的構造解明という目的達成に適切なモデル生物として、大型の水生昆虫でバイオマスが高く、調査地である岩木川流域の上・中流域に広く見られるヒゲナガカワトビケラ類 (*Stenopsyche* spp.) を研究対象種に選定した。本種は河床の石に吐糸による巣を固定する造網性トビケラであるため、幼虫の定住性が高い。しかし成虫になると流程に沿って盛んに飛翔分散し、また、ほとんど摂食しない。これらの性質は微量元素分析による移動分散研究を行う上で有利なもので、スカシバガ類と同様、この手法により発生地を判別し移動分散を評価できると考えられた。

4.2 材料と方法

4.2.1 材料

青森県弘前市岩木川流域のヒゲナガカワトビケラ *Stenopsyche marmorata*, および、それとごく近縁なチャバネヒゲナガカワトビケラ *S. sauteri* の2種を材料とした。両種ともトビケラ目ヒゲナガカワトビケラ科 (Stenopsychidae; Trichoptera) に分類され、幼虫はPOM (流下粒状有機物) を食餌としている。成虫では1年に2度 (初夏と晩夏) の出現ピークがある。2種は外見が酷似しているが、成虫・幼虫共に前脚亜基節の棘の形状 (2本の棘のうち基方の棘が長ければ *S. marmorata*, 短ければ *S. sauteri*) によって区別できる。また、幼虫では頭楯板の正中線上の黒褐色帯状紋の有無 (帯状紋があれば *S. marmorata*) でも区別できる。後者の種 (チャバネヒゲナガカワトビケラ *S. sauteri*) の方が相対的に流れの早い場所に生息するとされるが、本調査地域では、ほぼ全ての地点で2種が同時に得られた。

岩木川水系の源流のひとつである大沢川 (Fig. 24, St. 1) と、目屋ダムを基点とする岩木川の中～上流域 (Fig. 24, St. 2-7) を調査地域とした (Fig. 24)。大川、暗門川など、大沢川以外の目屋ダムより上流に位置する支流についても調査を試みたが、ヒゲナガカワトビケラ類の生息密度が著しく低かったため、調査対象から除外した。

幼虫は、2012年6月27・28日に得られた2種 (*S. marmorata* 43 個体, *S. sauteri* 28 個体) と、2012年10月20~27日に得られたヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* 47 個体の計 123 個体 (いずれも全て終齢幼虫) を試料とした。

成虫は、St. 1-5 の範囲で得られたヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* のみを扱い、2012年9月3~19日にライトトラップで得られた80 個体 (うち雄 69 個体, 雌 11 個体) を試料とした。なお、St. 2 では成虫がほとんど得られなかったため、St. 2 の成虫は分析対象から除外した。



Fig. 24 Location of the sampling sites in Osawa-gawa (St. 1) and Iwaki-gawa (St. 2-7) Rivers.

4.2.2 化学分析

幼虫は、個体毎に解剖して消化管とその内容物を切除し、蒸留水で洗浄したものをフッ素樹脂シートに乗せて 90°C で 16 時間乾燥させた。成虫は、表面を蒸留水で軽く洗浄した後、幼虫と同様の処理で乾燥させた。乾燥試料は硝酸 0.5ml とともにテフロン PFA 製バイアルに入れ、そのバイアルをテフロン PTFE 製容器に密閉し、マイクロウェーブ分解を行った。分解した試料は、5%硝酸で十分に洗浄した濾紙を用いて濾過した後、超純水でおよそ 7.0g になるよう希釈し、精秤後、溶液試料とした。なお、試料分解に用いる硝酸は精密分析用以上のものを使用した。

誘導結合プラズマ質量分析装置 (Agilent 社, ICP-MS 7500cx) を用い、25 元素 (リチウム Li, マグネシウム Mg, カルシウム Ca, バナジウム V, クロム Cr, マンガン Mn, 鉄 Fe, コバルト Co, ニッケル Ni, 銅 Cu, 亜鉛 Zn, ガリウム Ga, ヒ素 As, ルビジウム Rb, ストロンチウム Sr, モリブデン Mo, カドミウム Cd, インジウム In, スズ Sn, アンチモン Sb, セシウム Cs, バリウム Ba, タリウム Tl, 鉛 Pb, ビスマス Bi) について濃度を測定した。

4.2.3 統計解析

データ解析には、統計ソフト R (バージョン 3.1.1) for Windows 64bit (R Development Core Team 2014) を用いた。全ての濃度は自然対数変換して標準化し、2 変量の相関を Spearman の順位相関分析、次元を縮約したデータ構造の把握を主成分分析で行った。

4.3 結果

定量結果

ヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* およびチャバネヒゲナガカワトビケラ *S. sauteri* の幼虫における各元素の定量結果を Table 15, ヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* の成虫における定量結果を Table 16 に示す.

種差 (幼虫)

同時期 (6月) にサンプリングされた2種の終齢幼虫では, Mg ($p < 0.0001$), Fe ($p = 0.0031$), Zn ($p = 0.010$), Rb ($p = 0.0011$) の4元素で濃度が有意 ($p < 0.05$) に異なっていた. しかし, これら4元素についても, 2種の間に見られる濃度の違いは, 極めて小さなものであった.

季節による変化

ヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* の終齢幼虫では, 6月に採集されたものと10月に採集されたものとの間で, 多くの元素濃度が顕著に異なっていた. 採集時期によって濃度に有意差 ($p < 0.05$) の見られた元素は, Mg ($p < 0.0001$), V ($p < 0.0001$), Cr ($p < 0.0001$), Mn ($p < 0.0001$), Fe ($p < 0.0001$), Co ($p = 0.019$), Zn ($p < 0.0001$), Ga ($p < 0.0001$), As ($p < 0.0001$), Se ($p < 0.0001$), Sr ($p < 0.0001$), Mo ($p = 0.047$), Cd ($p = 0.020$), Cs ($p < 0.0001$), Ba ($p < 0.0001$), Pb ($p < 0.0001$) の16元素であった. 先述した2種

の違いと比べて、相対的にその濃度差が大きく、また濃度差が確認された全ての元素で6月よりも10月が高濃度であった (Fig. 25a, b,d).

幼虫における地点差

Mn, Co, Ni, As, Mo, Cd, Pb といった多くの元素において、目屋ダムより上流側に位置する St. 1 では低濃度であったものが、突然 St. 2-3 で濃度が最大となり、そこから下流側へ向かうにしたがって低濃度となる傾向が見られた (Fig. 25b-e). 中でも Mn, Co, Mo, Pb は、濃度の高くなった10月にその傾向が顕著となっていた (Fig. 25b,d). 対して、Ni, Cd などでは季節に関わらず同様の傾向が見られた (Fig. 25c,e). その他、Rb は大秋川との合流部にあたる St. 5 で、ほぼ特異的に高濃度であった (特にヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* で顕著).

性差（成虫）

雄雌ともにサンプル数が十分であった St. 3 において、雌雄で濃度に有意差 ($p < 0.05$) の見られた元素は、Ca, Zn, As, Rb, Sr, Sb の 6 元素であった。特に Zn（雄の方が高濃度）と Rb（雌の方が高濃度）は全ての地点で共通して同様の傾向を確認でき、とりわけ顕著であった。

成虫における地点差

9 月にサンプリングされたヒゲナガカワトビケラ成虫において、いずれかの地点間で有意な濃度差が見られた元素は、Mg, Ca, V, Co, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs の 14 元素であった。Mn, Ni, Co, Cd といった元素は、幼虫では流程にともなって顕著な濃度変化が確認されていた (Fig. 25b-e) が、成虫ではその傾向が不明瞭となっていた。一方で Mo はその幼虫時の変動傾向を保存していた。また、幼虫では St. 5 で Rb が顕著に高い濃度を示していたが、成虫で同様の傾向は見られなかった。

主成分分析（幼虫）

10月にサンプリングされたヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* の終齢幼虫を対象とした主成分分析の結果を Fig. 26 に示す。同じ調査地点で得られた個体はそれぞれ近い位置にプロットされる傾向にあった。目屋ダムより上流の St. 1 で捕獲された個体と、調査地点の中では最も下流側に位置する St. 6-7 で捕獲された個体がほぼ同じエリアにプロットされた。

主成分分析（成虫）

9月にサンプリングされたヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* の雄成虫を対象とした主成分分析の結果を Fig. 27 および Table 17 に示す。説明変数には、いずれかの地点間で濃度に有意 ($p < 0.05$) な違いが確認された 14 元素 (Mg, Ca, V, Co, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs) を用いた。同じ調査地点で得られた個体はそれぞれ近い位置にプロットされる傾向にあったが、St. 4 で得られた個体は、St. 3 および St. 5 で得られた個体がプロットされているエリアを内包してしまう位置にプロットされた。

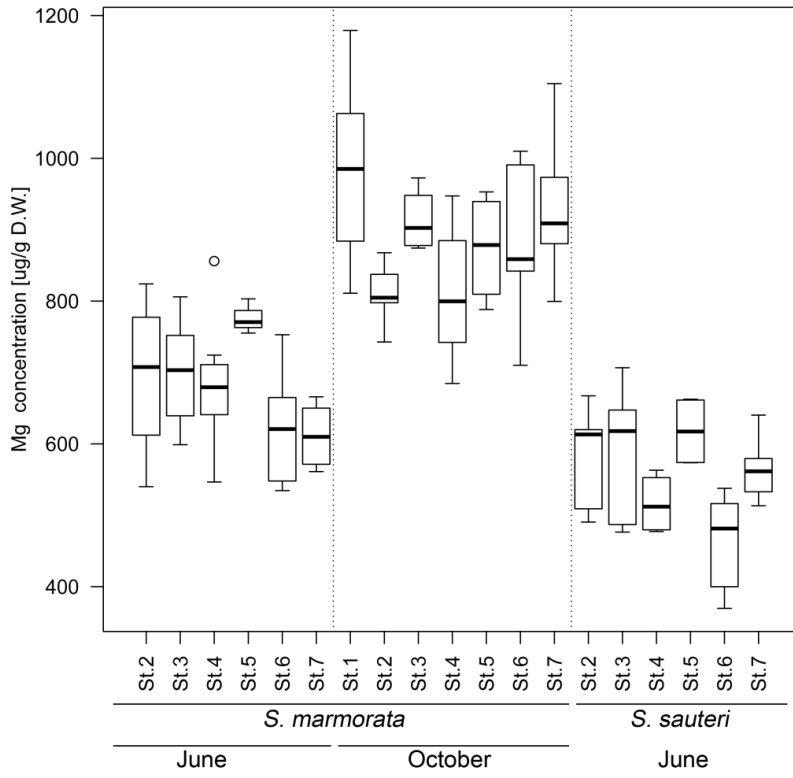
Table 16 Median concentrations and SIQR (Semi Inter-Quartile Range) of trace elements in adults of *Stenopsyche marmorata*. ($\mu\text{g/g}$ dry weight).

Sampling site	sex	Median Concentration \pm SIQR [$\mu\text{g/g}$ D.W.]												
		Mg	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu*	Zn	Ga		
St. 1	male	873 \pm 90.2 ^a	513 \pm 57.8 ^a	0.103 \pm 0.0189 ^a	0.0583 \pm 0.0442	77.6 \pm 17.4	101 \pm 24.0	0.0436 \pm 0.0114 ^a	0.0919 \pm 0.0291	20.6 \pm 3.62	211 \pm 26.5 ^a	1.30 \pm 0.343		
	female	827	578	0.0989	0.0647	40.5	89.2	0.0526	0.108	17.6	112	1.56		
St. 3	male	713 \pm 51.1 ^b	656 \pm 101 ^b	0.538 \pm 0.132 ^b	0.0552 \pm 0.0168	56.7 \pm 21.8	83.0 \pm 10.3	0.109 \pm 0.0232 ^b	0.0948 \pm 0.0182	17.7 \pm 2.62	169 \pm 18.4 ^a	0.961 \pm 0.194		
	female	862 \pm 39.0 ^{a,b}	932 \pm 27.6 ^c	0.640 \pm 0.0237 ^{b,c}	0.0643 \pm 0.0187	73.6 \pm 10.4	98.3 \pm 4.66	0.145 \pm 0.000467 ^b	0.117 \pm 0.0145	14.2 \pm 2.41	110 \pm 5.30 ^b	1.00 \pm 0.196		
St. 4	male	915 \pm 83.8 ^a	785 \pm 124 ^{b,c}	0.484 \pm 0.187 ^{b,c}	0.0605 \pm 0.0277	75.1 \pm 28.2	89.5 \pm 13.3	0.107 \pm 0.0303 ^b	0.103 \pm 0.0598	21.5 \pm 2.06	194 \pm 31.7 ^a	0.922 \pm 0.258		
	female	992	581	0.643	0.0796	66.2	82.9	0.116	0.116	14.6	135	0.961		
St. 5	male	949 \pm 72.6 ^a	928 \pm 34.2 ^c	0.881 \pm 0.129 ^c	0.0827 \pm 0.00840	87.5 \pm 31.6	89.4 \pm 7.25	0.0941 \pm 0.0204 ^b	0.217 \pm 0.0718	22.9 \pm 4.47	200 \pm 22.1 ^a	1.21 \pm 0.125		

Sampling site	sex	Median Concentration \pm SIQR [$\mu\text{g/g}$ D.W.]										
		As	Rb	Sr	Mo	Cd	Sn	Sb	Cs	Ba	Pb	
St. 1	male	0.713 \pm 0.105 ^a	0.813 \pm 0.129 ^{a,b}	4.17 \pm 0.906 ^a	2.24 \pm 0.273 ^a	0.207 \pm 0.0493 ^a	0.0379 \pm 0.0240 ^{a,b}	0.0343 \pm 0.0140 ^a	0.0161 \pm 0.00795 ^{a,b}	35.0 \pm 9.19	0.132 \pm 0.0745	
	female	0.794	2.49	6.43	3.31	0.186	0.0108	0.0907	0.0264	43.3	0.120	
St. 3	male	0.528 \pm 0.0512 ^b	0.926 \pm 0.125 ^a	6.34 \pm 1.15 ^b	5.57 \pm 0.590 ^{b,c}	0.335 \pm 0.105 ^b	0.0408 \pm 0.0324 ^a	0.0177 \pm 0.00572 ^b	0.0188 \pm 0.00634 ^a	28.1 \pm 5.77	0.0819 \pm 0.0668	
	female	0.733 \pm 0.0891 ^{ac}	1.74 \pm 0.319 ^b	12.4 \pm 1.30 ^c	7.40 \pm 0.718 ^c	0.296 \pm 0.00286 ^{a,b}	0.0408 \pm 0.00468 ^{a,b}	0.0385 \pm 0.00839 ^a	0.0181 \pm 0.00691 ^{a,b}	31.3 \pm 5.59	0.0858 \pm 0.00916	
St. 4	male	0.550 \pm 0.0904 ^{bc}	0.778 \pm 0.219 ^a	7.35 \pm 1.28 ^b	4.71 \pm 0.881 ^b	0.407 \pm 0.132 ^b	0.0297 \pm 0.0322 ^b	0.00926 ^b	0.0143 \pm 0.00348 ^b	25.6 \pm 6.95	0.0720 \pm 0.0366	
	female	0.593	1.89	5.47	7.13	0.197	0.0384	0.0349	0.0192	28.0	0.0691	
St. 5	male	0.640 \pm 0.0259 ^{ac}	0.866 \pm 0.156 ^a	7.98 \pm 0.390 ^b	6.36 \pm 0.646 ^{b,c}	0.485 \pm 0.182 ^b	N.D. ^{a,b}	0.0376 \pm 0.0105 ^a	0.0177 \pm 0.00350 ^{a,b}	33.4 \pm 3.75	0.0499 \pm 0.0162	

Fig. 25

(a)



(b)

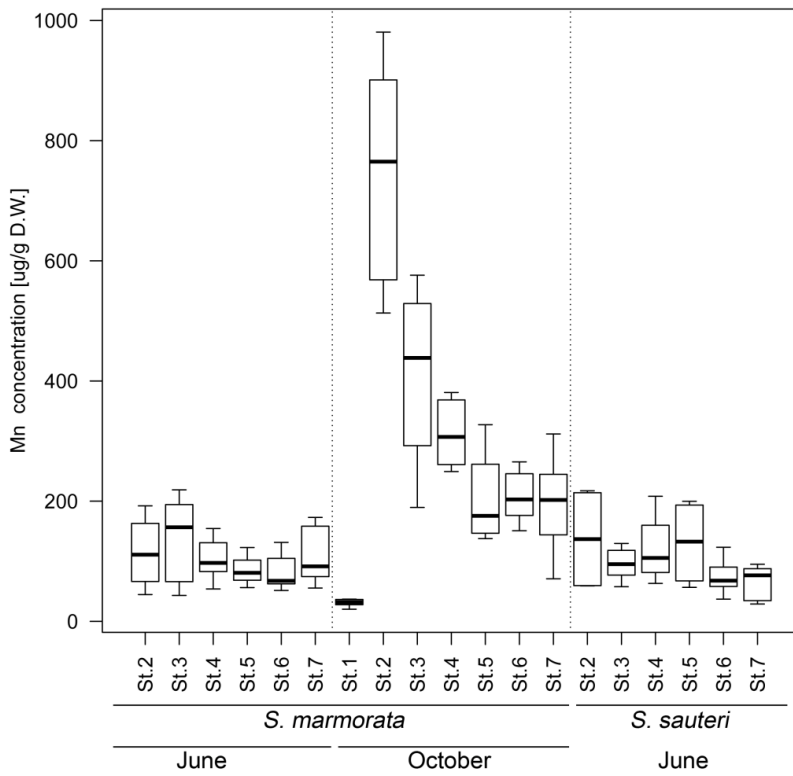
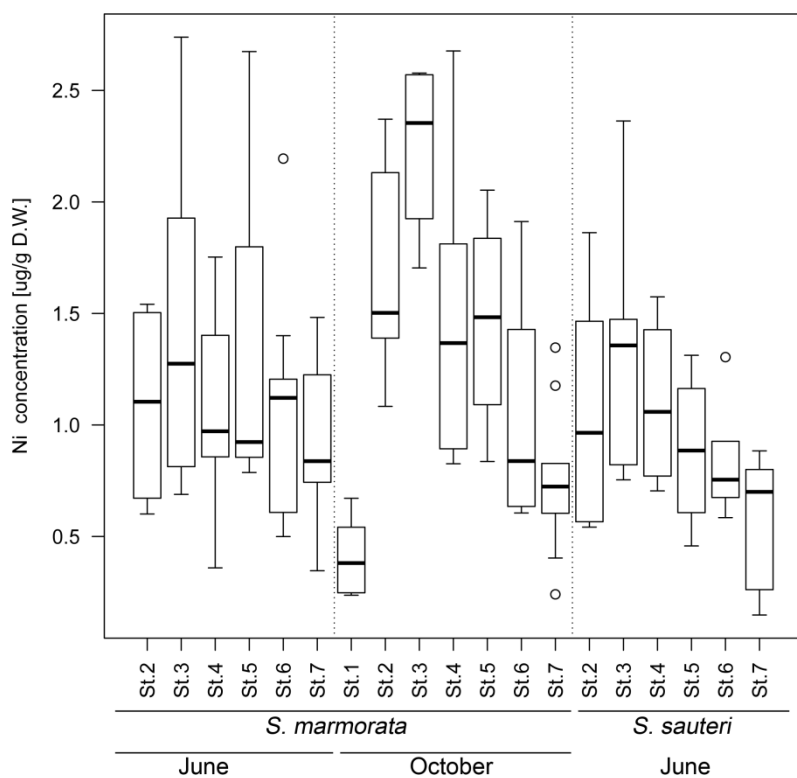
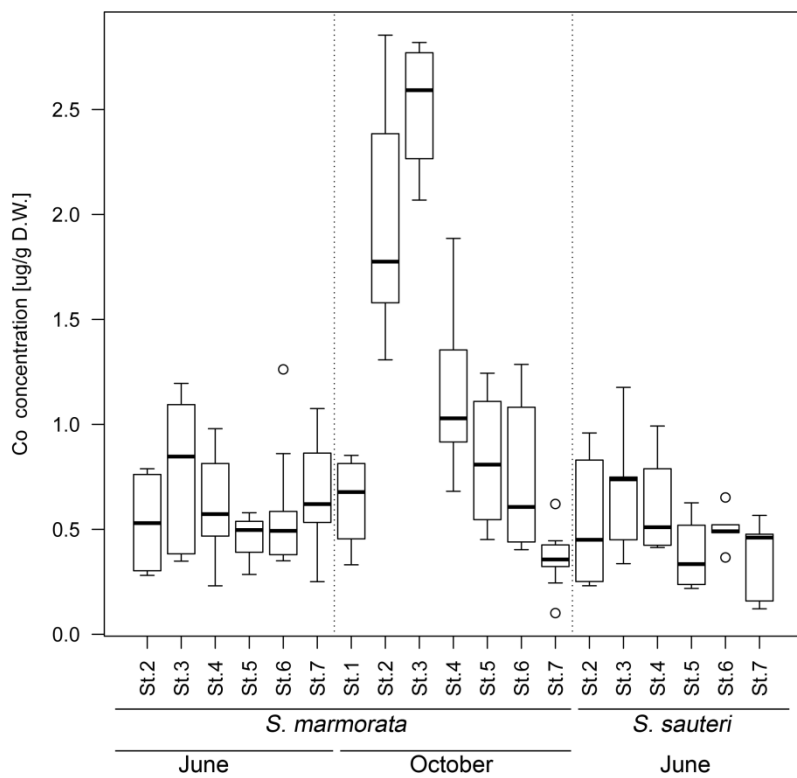


Fig. 25

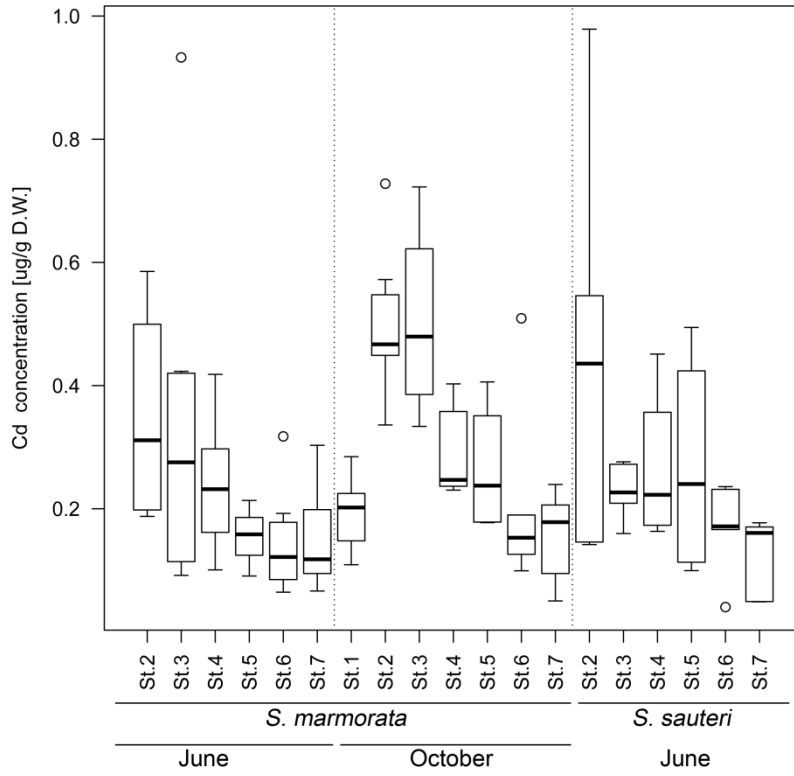
(c)



(d)



(e)



(f)

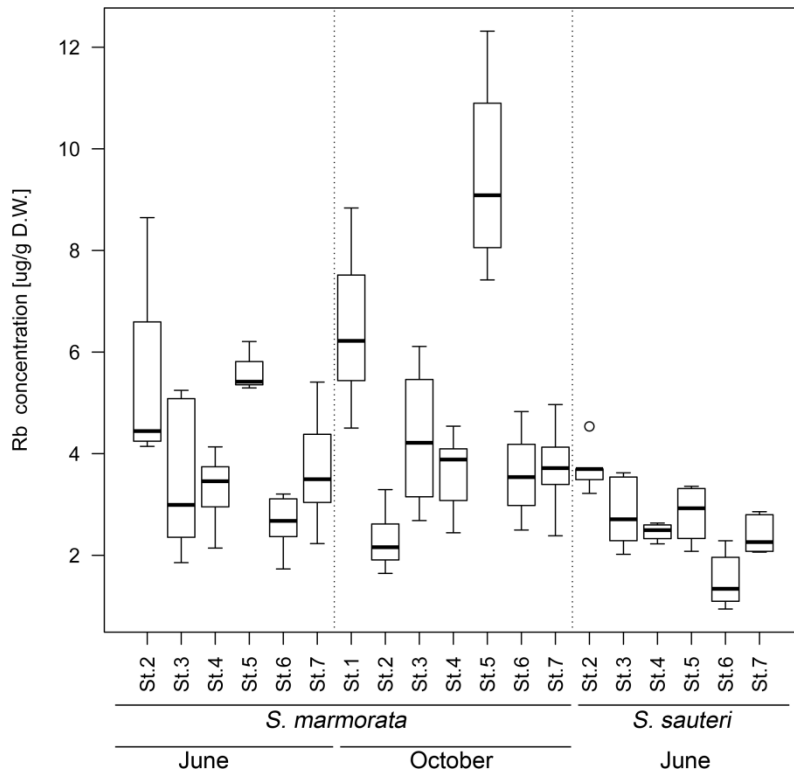


Fig. 25a-f Trace element concentrations in larvae of *Stenopsyche* spp.

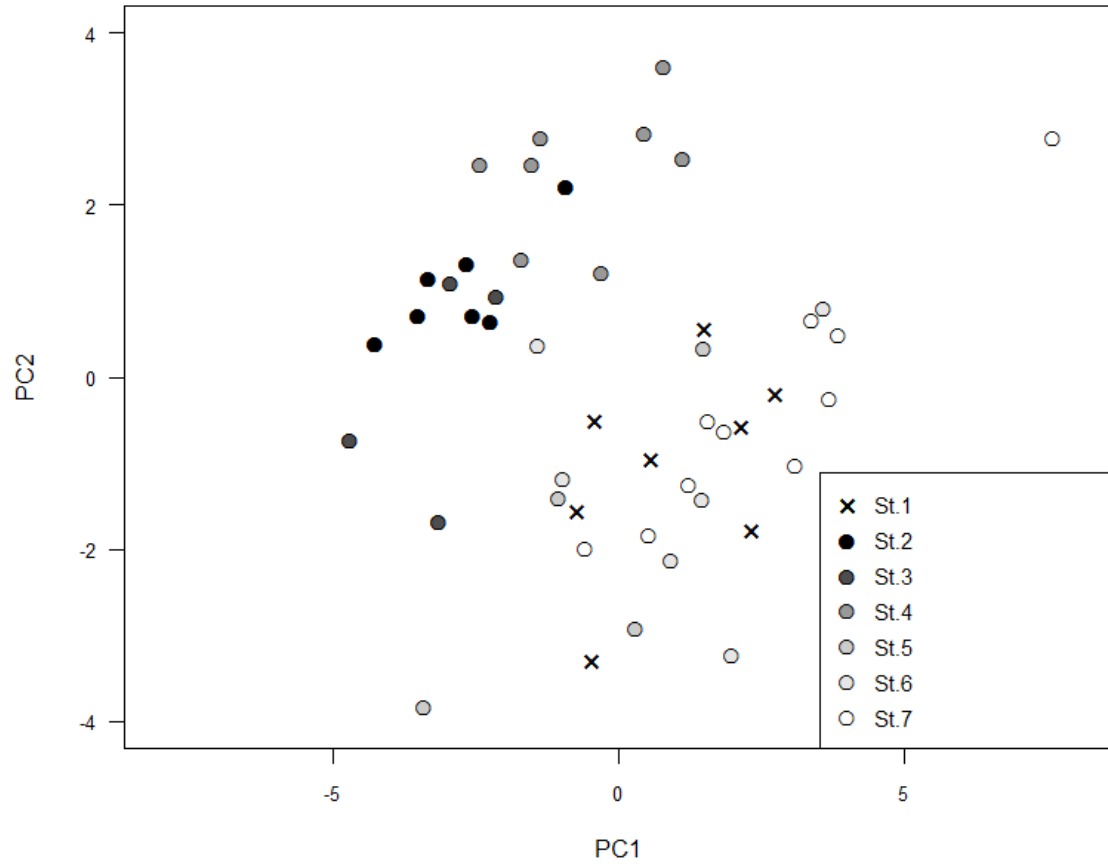


Fig. 26 The first two component scores in principal component analysis in last instar larvae of *Stenopsyche marmorata*.

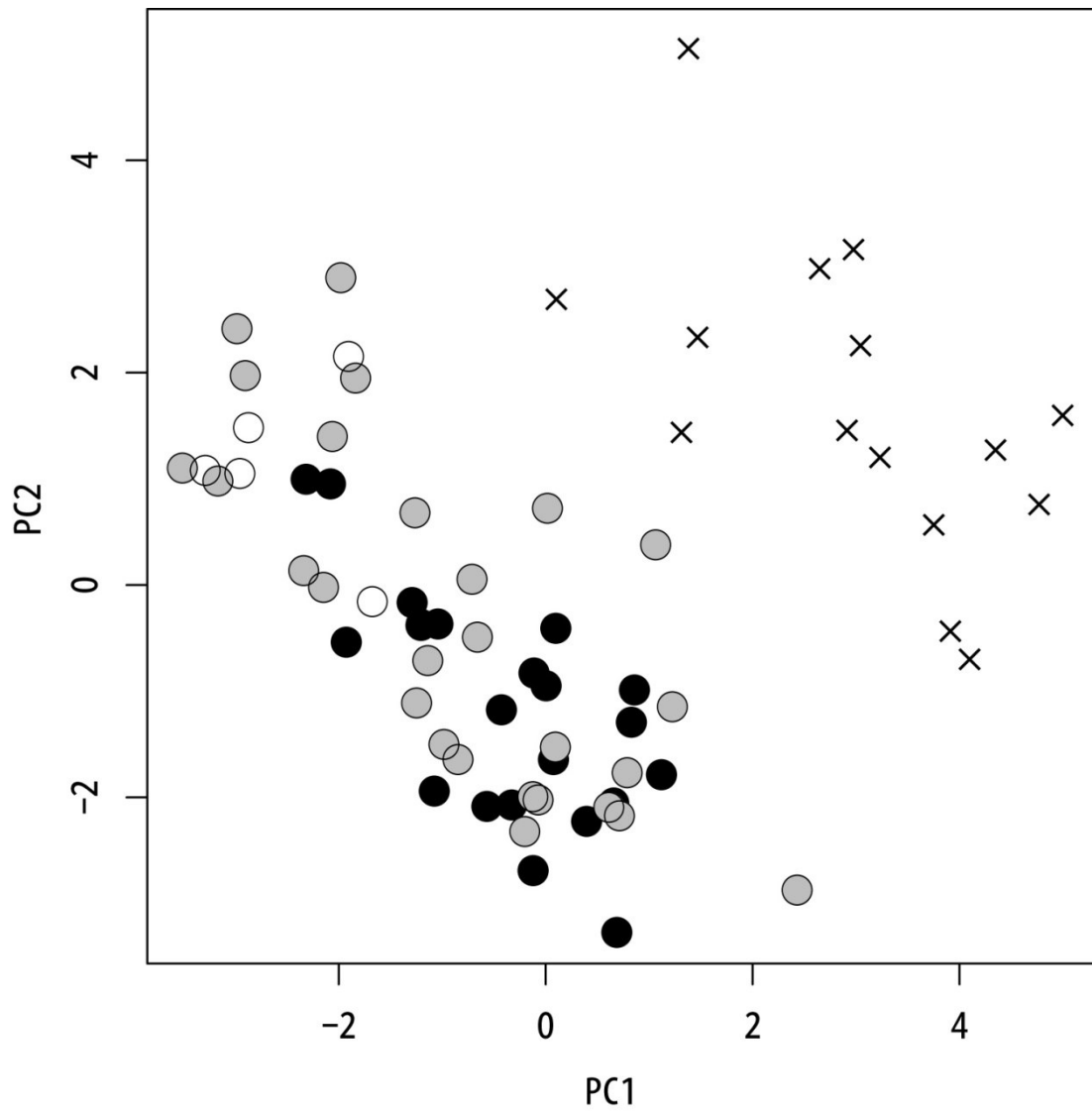


Fig. 27 The first two component scores of principal component analysis in male adult bodies of *Stenopsyche marmorata* collected from St. 1 (cross), St. 3 (black circles), St. 4 (gray circles), and St. 5 (open circles).

Table 17 (a) Summary and (b) loadings of principal component analysis using 14 element concentrations in male adult bodies of *Stenopsyche marmorata* collected from St.1 and St.3-5.

(a)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
Standard deviation	2.100	1.749	1.295	1.179	0.961	0.819	0.700
Proportion of Variance	0.315	0.219	0.120	0.099	0.066	0.048	0.035
Cumulative Proportion	0.315	0.534	0.654	0.753	0.819	0.867	0.902

	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14
Standard deviation	0.621	0.557	0.522	0.414	0.355	0.272	0.194
Proportion of Variance	0.028	0.022	0.019	0.012	0.009	0.005	0.003
Cumulative Proportion	0.929	0.951	0.971	0.983	0.992	0.997	1.000

(b)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
Mg	-0.193	0.337	-0.092	-0.442	0.130	-0.176	0.127
Ca	-0.423	0.004	-0.178	-0.025	0.036	-0.170	-0.408
V	-0.418	-0.031	0.131	0.257	-0.030	0.157	0.236
Co	-0.380	-0.052	0.229	0.277	-0.023	-0.068	0.325
Cu	-0.132	0.331	-0.058	-0.333	-0.397	0.523	0.221
Zn	-0.175	0.478	0.081	0.012	0.160	-0.083	-0.112
As	-0.002	0.520	0.023	-0.052	0.030	-0.115	0.018
Rb	-0.008	-0.124	0.470	-0.457	0.220	-0.435	0.272
Sr	-0.415	-0.053	-0.178	0.006	-0.045	-0.249	-0.407
Mo	-0.406	-0.114	0.203	0.137	-0.040	0.055	0.225
Cd	-0.260	-0.257	-0.145	-0.414	-0.150	0.230	-0.090
Sn	0.093	0.047	0.396	-0.001	-0.800	-0.309	-0.221
Sb	0.041	0.380	0.335	0.298	0.146	0.194	-0.251
Cs	-0.037	-0.174	0.544	-0.244	0.245	0.419	-0.428

	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14
Mg	0.479	-0.193	-0.411	0.016	0.241	-0.205	0.215
Ca	-0.030	-0.327	0.057	0.110	0.099	-0.004	-0.677
V	-0.046	0.015	0.209	0.162	-0.027	-0.762	0.073
Co	0.147	-0.112	-0.081	-0.711	-0.029	0.238	-0.094
Cu	-0.196	-0.373	0.217	0.025	-0.105	0.204	0.020
Zn	0.219	0.316	0.110	0.092	-0.713	0.099	-0.056
As	-0.207	0.455	0.342	-0.194	0.542	-0.009	-0.114
Rb	-0.427	-0.142	0.092	0.079	-0.145	-0.013	-0.058
Sr	-0.252	-0.086	0.174	-0.092	-0.004	0.130	0.661
Mo	0.074	0.251	-0.142	0.578	0.247	0.471	0.034
Cd	-0.246	0.527	-0.399	-0.217	-0.118	-0.124	-0.126
Sn	0.165	0.048	-0.072	0.029	-0.004	-0.110	-0.025
Sb	-0.425	-0.166	-0.563	0.014	0.038	-0.049	0.048
Cs	0.312	0.007	0.247	-0.106	0.143	0.010	0.061

4.4 考察

ヒゲナガカワトビケラ *S. marmorata* とチャバネヒゲナガカワトビケラ *S. sauteri* の2種の終齢幼虫の体内元素組成に、大きな違いは見られなかった。この2種は、ほぼ同所的に生息し、同じ餌 (POM) を食べて生育するため、およそ当然の結果といえる。

しかし、ルビジウム Rb 濃度に注目すると、ヒゲナガカワトビケラでは St. 5 (大秋川と岩木川の合流部) で他の地点より顕著に濃度が高くなっているのに対し、チャバネヒゲナガカワトビケラではその変化が極めて小さなものであった (Fig. 25f)。これは、2種の生活空間がわずかに異なっているためであると考えられる。St. 5は微地形の変化に富む地点であり、また、細かな位置によって大秋川の河川水と岩木川本川の河川水の混比に大きな違いがある。ヒゲナガカワトビケラとチャバネヒゲナガカワトビケラの2種は流れの強さによって住み分けすることが知られており、その住み分けの結果、一方の種 (おそらくヒゲナガカワトビケラ) は大秋川の影響を強く受け、もう一方は岩木川本川の影響を強く示したものと考えられた。

ヒゲナガカワトビケラ幼虫の体内元素組成は、その捕獲時期によって劇的な違いが見られ、多くの元素で6月よりも10月が高い値を示した (Fig. 25a,b,d) が、これは目屋ダムの影響によるものと考えられた。夏期を過ぎてダム湖の貯水量が減少すると、ダム湖内で底質が巻き上げられる。その際、底質に還元状態で蓄積されていた各種元素が酸化されて一斉に下流へと放出され、ヒゲナガカワトビケラの体内元素組成にもその影響が顕れたものと考えられた。

主成分分析に関して、終齢幼虫では St. 1, St. 3, St. 4, St. 5 はそれぞれおよそ分かれた位置にプロットされており、その体内元素組成によって捕獲地点を区別できる状態にあった。しかし、成虫では、St. 1 のみが完全に独立したエリアにプロットされたものの、その他 3 地点は重なり合った位置にプロットされていた (St. 3 と St. 5 は重ならない)。これは、ヒゲナガカワトビケラの成虫が、St. 3-4, St. 4-5 の調査地点間を、頻繁に移動していることを示唆する結果である。また、見方を変えれば、St. 1 とそれ以外の調査地点との間に個体の移出入が極めて少なく、すなわち目屋ダムの存在によってヒゲナガカワトビケラの移動分散が妨げられ、その集団が孤立していることを示唆する結果でもあった。

第3部 総括

本論第1章において、ブドウの害虫であるクビアカスカシバは、その体内微量元素によってブドウ園で得られた個体とそうでない個体とを明確に区別できた。この結果から本手法は、食餌が異なる集団間の移動を評価する強力なツールになり得ることが示された。また、第2章のスグリコスカシバでは、全地点で同じ植物（クロフサスグリ）を食餌としているにも関わらずそれぞれの発生地点（直線距離 1.2 - 2.4 km）を判別でき、距離的に近い場所にすむ集団同士であっても、発生地状況に差異がある場合は本手法を利用可能であることが分かった（今回の場合は、各々のスグリ畑や隣接する果樹園、蔬菜園など的人為管理の違いを反映したものと考えられた）。一方、ヤナギ科植物を広く食餌とするキタスカシバ（第1章）では微量元素による発生地点推定が困難であった。食餌植物の違いによって生じた個体差が発生地毎の違いをマスクしたものと考えられ、スカシバガ類をはじめ1個体の樹木や草本のみを摂食して幼虫期を全うする多くのチョウ目昆虫は、同一地点内に複数種類の食餌植物が存在する場合、本手法を用いた発生地推定に適さないものと考えられた。第3章では、微量元素を用いてマダラの陸奥湾産卵群の由来について推定した。その多くが太平洋側からの来遊個体だとする推定結果は、これまで標識放流調査で報告されていた「産卵後、陸奥湾マダラの多くが太平洋側に移動している」という知見（福田ら 1985）に矛盾せず、本手法の信頼性を高めるものであった。また、日本海マダラと太平洋マダラとで陸奥湾口部への来遊タイミングが異なっているという新たな仮説を示すこともできた。第4章では、ヒゲナガカワトビ

ケラが河川水から直接あるいは間接的に元素を体内に取り込んでおり、その元素濃度は
流程やダムの影響を受けて変化していること、また、この元素濃度の違いを用いて本種
の発生地点を推定できるであろうことが示された。

以上のように、本研究では微量元素を用いた野生生物（昆虫など）の発生地判別・移
動分散評価手法を確立し、本手法の適用可能な範囲や正確性を確認・検討した。しかし
ながら、全体を通してサンプル数が十分とはいえず、これらの結果の汎用性を保証する
ために、今後も知見を積み重ねることが重要であろう。その他、本手法の実用化を目指
すにあたって、サンプルの処理速度とランニングコストの問題も残されている。現状で
は、時間や機材、予算などの都合からサンプル数に制限を受けてしまうことを否定でき
ないが、これらは分析技術の進歩による改善が期待される。

本手法では、あらかじめ用意した学習用サンプル（ex. 第3章における太平洋マダラ
と日本海マダラ）の体内元素濃度データから生息（発生）地点の判別モデルを構築し、
そのモデルによって対象サンプル（ex. 第3章における陸奥湾マダラ）の移動履歴を推
定する。判別モデルの変数として利用可能な元素の種類が多いこと、また、対象サンプ
ル全個体の移動履歴を推定するため限られたサンプルからでも多くの情報を引き出せ
ることは、他の手法にない大きな利点であり、この手法の将来性は高い。知見を積み重
ねて本格的に実用化されれば、野生動物の移動履歴解析における有用な1手法となり得
る。

謝辞

この研究を遂行するにあたり，終始適切な御助言を賜り，丁寧にご指導してくださった弘前大学の東信行准教授に深く感謝いたします。

弘前大学の泉完教授，同 池田紘士准教授，岩手大学の東淳樹講師，帯広畜産大学の赤坂卓美助教には，本研究に関して様々なお助言を賜りました。深く感謝申し上げます。

微量元素分析については，東京農工大学農学部の渡邊泉准教授，弘前大学理工学部の野田香織准教授に適切なお助言，ご指導をいただきました。また，青森県産業技術センター水産総合研究所，秋田県農林水産技術センターの小松美千代氏，鳥取大学農学部の中秀司助教には，サンプルの収集についてご助言，ご協力いただきました。以上の方々に心より御礼申し上げます。

微量元素分析を行うにあたり，その分析手順や機器の使用法をご指導いただいた東京農工大学環境毒性学研究室の皆さまに，感謝申し上げます。

そして，日々の苦楽を共にした弘前大学農学生命科学部野生生物管理学研究室の皆さまに感謝いたします。ありがとうございます。

引用文献

- Akaike, H., 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. Petrov B.N. and Csaki F. (Eds) 2nd International Symposium on Information Theory. Akadimiai Kiado, Budapest, pp. 267-281.
- 青森県産業技術センター, 2010. クロフサスグリ (カシス) の枝幹害虫として本州で初確認されたスグリコスカシバの被害様相と防除対策. 平成 21 年度 試験研究成績概要集 (りんご研究所) .
- 有田 豊, 1992. スカシバガの採集と飼育. *インセクタリウム* 29: 312-321.
- 有田 豊・池田真澄, 2000. 月刊むしブックス 3 擬態する蛾 スカシバガ. 203pp. むし社, 東京.
- 有田 豊・猪又敏男・池田真澄, 1994. 日本のスカシバガ科. *やどりが*(159): 2-29.
- Būda V., Mäeorg U., Karalius V., Rothschild GHL, Kolonistova S., Ivinskis P. and Mozūraitis R., 1993. C₁₈ dienes as attractants for eighteen clearwing (Sesiidae), tineid (Tineidae), and choreutid (Choreutidae) moth species. *Journal of Chemical Ecology* 19: 799-813.
- Burger, J., Gochfeld, M. 2007. Risk to consumers from mercury in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) from the Aleutians: Fish age and size effects. *Environ. Res.* 105: 276-284.
- 福田慎作・横山勝幸・早川豊・中西広義, 1985. 青森県陸奥湾口部におけるマダラ成魚の標識漂流について. *栽培技研* 14: 67-77.
- 服部賢志・船木紀夫・法邑雄司, 2009a. 無機元素分析によるアスパラガスの産地判別. *日本食品科学工学会誌* 56: 108-113.
- 服部賢志・木村康晴・高嶋康晴・法邑雄司, 2009b. 無機元素分析によるニホンウナギ加工品の原産地判別. *日本水産学会誌* 75: 844-848.

- 服部努・桜井泰憲・島崎健二, 1992. マダラの耳石薄片法による年齢査定と成長様式. 日本水産学会誌 58: 1203-1210.
- Ingram, B. L., and Weber, P. K., 1999. Salmon origin in California's Sacramento–San Joaquin river system as determined by otolith strontium isotopic composition. *Geology* 27: 851-854.
- 岩崎暁生・有田 豊, 2008. 北海道からのフサスグリの外来種スカシバガ（スカシバガ科）の発見. 蝶と蛾 59: 45-48.
- 岩手県病害虫防除所, 2011. 平成 23 年度 病害虫発生予察情報特殊報 第 1 号.
- 菅野泰次・上田祐司・松石隆, 2001. 東北地方および北海道太平洋側海域におけるマダラの系群構造. 日本水産学会誌 67: 67-77.
- 小松美千代, 2010. 秋田県のブドウにおけるクビアカスカシバの発生と被害実態. 北日本病害虫研究会報 61: 247-249.
- 工藤誠也, 2009. 青森のスカシバガ. 月刊むし 464: 2-8.
- 工藤誠也・渡邊 泉・東 信行, 2011. 発生地および分散パターンの特定を目的としたスカシバガ類 2 種の体内元素濃度分析. *Lepidoptera Science* 62: 135-141.
- 菊地 修・増田俊雄・前田正孝, 1990. 性フェロモン剤利用によるモモのコスカシバの防除. 東北農業研究 43: 217–218.
- Meyer-Rochow, V. B., Cook, I. and Hendy, C. H., 1992. How to obtain clues from the otoliths of an adult fish about the aquatic environment it has been in as a larva. *Comp. Biochem. Physiol. Part A: Physiology* 103: 333-335.
- 三浦太智, 2012. マダラ陸奥湾産卵群のデータロガー標識放流結果. 東北底魚研究 32: 2-6.
- 長野県病害虫防除所, 2011. 平成 23 年度 病害虫発生予察情報特殊報 第 2 号.

- Naka H., Mochizuki M., Nakada, K., Do N. D., Yamauchi T., Arita Y. and Ando T., 2010. Female Sex Pheromone of *Glossospehia romanovi* (Lepidoptera: Sesiidae): Identification and Field Attraction. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74: 1943-1946.
- Nelson, C. S., Northcote, T. G. and Hendy, C. H., 1989. Potential use of oxygen and carbon isotopic composition of otoliths to identify migratory and non-migratory stocks of the New Zealand common smelt: A pilot study. *New Zeal. J. Mar. Fresh. Res.* 23: 337-344.
- 中田凱久・三戸芳典, 1993. マダラの資源と生態に対する研究. 青森県水産試験場事業報告 平成3年度: 135-141.
- 中島三夫・山下隆貴・小野 彰, 1978. ブドウの害虫クビアカスカシバについて. 農薬グラフ(67): 10-11.
- Poesel, A., Nelson, D.A., Gibbs, H.L. and J.W. Olesik, 2008. Use of trace element analysis of feathers as a tool to track fine-scale dispersal in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63: 153-158.
- Radtke, R., Svenning, M., Malone, D., Klements, A., Ruzicka, J. and Fey, D. 1996. Migrations in an extreme northern population of Arctic charr *Salvelinus alpinus*: insights from otolith microchemistry. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 136: 13-23.
- R Development Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Staveland, G., Marthinsen, I., Norheim, G., Julshamn, K. 1993 Levels of environmental pollutants in flounder (*Platichthys flesus* L.) and cod (*Gadus morhua* L.) caught in the waterway of Glomma, Norway. II. Mercury and arsenic. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 187-193.
- Stevens, V. M., Turlure, C., Baguette, M., 2010. A meta-analysis of dispersal in butterflies. *Biological Reviews* 85: 625-642.

- Suckling, D.M., Gibb, A.R., Burnip, G.M., Snelling, C., De Ruiter, J., Langford, G., and El-Sayed, A.M. 2005. Optimization of pheromone lure and trap characteristics for currant clearwing, *Synanthedon tipuliformis*. *J. Chem. Ecol.* 31:393-406.
- Tzeng, W. N. 1996. Effects of salinity and ontogenetic movements on strontium: calcium ratios in the otoliths of the Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck and Schlegel. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 199: 111-122.
- Wassenaar, L.I. and K.A. Hobson, 1998. Natal origins of migratory monarch butterflies at wintering colonies in Mexico: New isotopic evidence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:15436-15439.
- 渡邊 泉・寶來佐和子・新井雄介・久野勝治・林光武・谷地森秀二・國頭恭・田辺信, 2003. 2000年に栃木県で大量死したムクドリ *Sturnus cineraceus* の微量元素蓄積. *環境科学会誌* 16: 317-328.
- 山中すみへ・上田喜一・吉田多摩夫, 1974. 魚類における水銀の動向について (Hg Series No. 16). *日本衛生学雑誌* 28: 582-587.
- Yamane, K., Shirai, K., Nagakura, Y., and Otake, T. 2012. Assessing the usefulness of otolith elemental compositions for evaluating the population structure of the Pacific herring *Clupea pallasii* in northern Japan. *Fish. Sci.* 78: 295-307.