

北部薩南海域に来遊したジンベエザメの餌生物

誌名	日本プランクトン学会報
ISSN	03878961
著者名	眞子,裕友 小針,統 久米,元 兵藤,不二夫 野口,真希 一宮,睦雄 小森田,智大 河邊,玲 中村,乙水 米山,和良 土田,洋之
発行元	日本プランクトン学会
巻/号	69巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 18-24
発行年月	2022年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



北部薩南海域に來遊したジンベエザメの餌生物

眞子裕友¹⁾・小針 統^{2)*}・久米 元²⁾・兵藤不二夫³⁾・野口真希⁴⁾・一宮睦雄⁵⁾・
小森田智大⁵⁾・河邊 玲⁶⁾・中村乙水⁶⁾・米山和良⁷⁾・土田洋之⁸⁾

¹⁾ 鹿児島大学大学院農林水産学研究科 〒890-0056 鹿児島市下荒田4-50-20

²⁾ 鹿児島大学水産学部 〒890-0056 鹿児島市下荒田4-50-20

³⁾ 岡山大学異分野融合先端研究コア 〒700-8530 岡山市北区津島中3-1-1

⁴⁾ 海洋研究開発機構地球表層システム研究センター 〒237-0061 横須賀市夏島町2-15

⁵⁾ 熊本県立大学環境共生学部 〒862-8502 熊本市東区月出3-1-100

⁶⁾ 長崎大学海洋未来イノベーション機構環東シナ海環境資源研究センター 〒851-2213 長崎市長崎市多以良町1551-7

⁷⁾ 北海道大学水産学部 〒041-8611 北海道函館市港町3-1-1

⁸⁾ 鹿児島市水族館公社 〒892-0814 鹿児島市本港新町3-1

Prey of whale sharks visiting the northern Satsunan area (western North Pacific Ocean)

YUSUKE MANAKO¹⁾, TORU KOBARI^{2)*}, GEN KUME²⁾, FUJIO HYODO³⁾, MAKI NOGUCHI AITA⁴⁾, MUTSUO ICHINOMIYA⁵⁾,
TOMOHIRO KOMORITA⁵⁾, RYO KAWABE⁶⁾, ITSUMI NAKAMURA⁶⁾, KAZUYOSHI KOMEYAMA⁷⁾ AND HIROYUKI TSUCHIDA⁸⁾

¹⁾ Graduate School of Agriculture, Forest and Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima, Kagoshima 890-0056, Japan

²⁾ Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima, Kagoshima 890-0056, Japan

³⁾ Research Core for Interdisciplinary Sciences, Okayama University, 3-1-1 Tsushima, Kita-ku, Okayama, Okayama 700-8530, Japan

⁴⁾ Earth Surface System Research Center, Japan Agency for Marine Science and Technology, 2-15 Natsushima-cho, Yokosuka City, Kanagawa 237-0061, Japan

⁵⁾ Faculty of Environmental and Symbiotic Sciences, Prefectural University of Kumamoto, 3-1-100 Tsukide, Higashi-ku, Kumamoto 862-8502, Japan

⁶⁾ Institute for East China Sea Research, Organization for Marine Science and Technology (OMST), Nagasaki University, 1151-7 Taira-machi, Nagasaki 851-2213, Japan

⁷⁾ Faculty of Fisheries, Hokkaido University, 3-1-1 Minato-cho, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan

⁸⁾ Kagoshima City Aquarium Foundation, 3-1 Honko-Shinmachi, Kagoshima, Kagoshima 892-0814, Japan

* Corresponding author: E-mail: kobari@fish.kagoshima-u.ac.jp

Abstract The prey of whale sharks (*Rhincodon typus*) visiting the northern Satsunan area (western North Pacific Ocean) was investigated using microscopic and metabarcoding analysis of their faecal pellets. The stable isotope ratios of the dorsal fin and faecal pellets from the whale sharks were compared with those of their potential prey (plankton and fish larvae). Microscopic analysis identified protozoans (foraminifera) and metazoans (copepods, ostracods, and amphipods) but unclassified material was predominant in their faecal pellets. Metabarcoding analysis detected metazoans in the faecal pellets, represented by copepods, ostracods, amphipods, hydrozoans, and tunicates. Comparison of stable isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) from their dorsal fin and faecal pellets with those of zooplankton in the northern Satsunan area showed different feeding histories for the whale sharks appearing in the northern Satsunan area.

Key words: metabarcoding analysis, prey, stable isotope ratio, whale shark, zooplankton

はじめに

ジンベエザメ (*Rhincodon typus*) は、軟骨魚綱テンジクザメ目ジンベエザメ科に属する世界最大の魚類である。大西洋・太平洋・インド洋の熱帯～温帯海域(概ね北緯35度～南緯30度)に分布しており、暖流によってさらに高緯度海域への出現や、沿岸域だけでなく沖合域でも出現が認められている(内田 1995, Colman 1997)。個体群サイズが小さいことに加えて減退しつつあるため(Stewart & Wilson 2005, Theberge & Dearden 2006, Bradshaw et al. 2008)、国際自然保護連合レッドリストでは絶滅危惧II類に指定されている(Pierce & Norman 2016)。その一方で、生活史、繁殖生態、摂餌生態などの保全に必要な生態学的知見が欠如している(Rowat & Brooks 2012)。

ジンベエザメはスポンジ状の鰓耙で濾し取る濾過食者であり、Surface Ram Filter Feeding および Stationary or Vertical Suction Feeding の異なる摂餌行動が知られている(Motta et al. 2010)。Surface Ram Filter Feeding は表層を遊泳しながら集群する餌を飲み込む摂餌行動、Stationary or Vertical Suction Feeding は水平または鉛直に遊泳しながら濾過と飲み込みを断続的に繰り返す摂餌行動であり、いずれも非選択的な濾過食である。このような摂餌行動やストランディング個体の消化管内容物の観察から、優占群や濃密な集群を形成する動物プランクトンだけでなく、小型魚類や頭足類、藻類など多様な餌生物が報告されている(e.g., Motta et al. 2010, Rohner et al. 2013)。太平洋の個体については行動観察から餌が推定されたものの(Nelson & Eckert 2007, Ketchum et al. 2013)、具体的な餌生物の特定には至っていない。ジンベエザメは太平洋を東部から西部へ横断するほどの長距離を回遊することもあるが(Hector et al. 2018)、ジンベエザメが太平洋西部まで移動する理由や餌の少ない外洋域で何を餌としているのかが分かっていない。

近年、捕食被食関係や栄養段階などの情報を得られる安定同位体比解析によって、食物網構造を評価する研究が多く行われている(Aita et al. 2011, Wada et al. 2013)。また、形態識別できない組織片や物質から遺伝子により分類群を特定できるメタバーコーディング解析によって、餌生物を判別する研究も行われている(Hirai et al. 2017, Kodama et al. 2017, Kume et al. 2021)。従って、このような解析技術の利点を活かせば、まだ未解明なジンベエザメの餌生物を判別することが可能である。そこで本研究では、顕微鏡解析だけでなくメタバーコーディング解析と安定同位体比解析を組み合わせ、北部薩南海域に來遊

するジンベエザメの餌生物に関する新たな知見を得たので報告する。

材料と方法

本研究で使用したジンベエザメは、2018年5月および6月、2019年5月および8月に鹿児島県沿岸の定置網で混獲された異なる4個体である(Fig. 1)。全長が3.6～6.1 mであり、個体Aは雌雄が判別できなかったが、個体B～Dは雄であった(Table 1)。個体AおよびBは、定置網において背鰭の一部を切除し、安定同位体解析に供した。個体CおよびDは隣接する生簀に移し、無給餌状態で飼育後24時間以内に排泄された糞塊を採取し、-20℃で冷凍保存した。これらの糞塊は解凍し、実体顕微鏡下(ニコン社製SMZ1500)で全ての糞塊に含まれる生物群を識別し、デジタルカメラ(ニコン社製DS-Fi1c)で撮影した。

安定同位体比解析に供した植物プランクトン(n=5)、ネット動物プランクトン(n=140)、仔稚魚試料(n=101)は、北部薩南海域において鹿児島大学練習船南星丸で2014年6月～2016年6月の期間に季節別に採取した。植物プランクトン試料は、大型コットエンドを装着した北

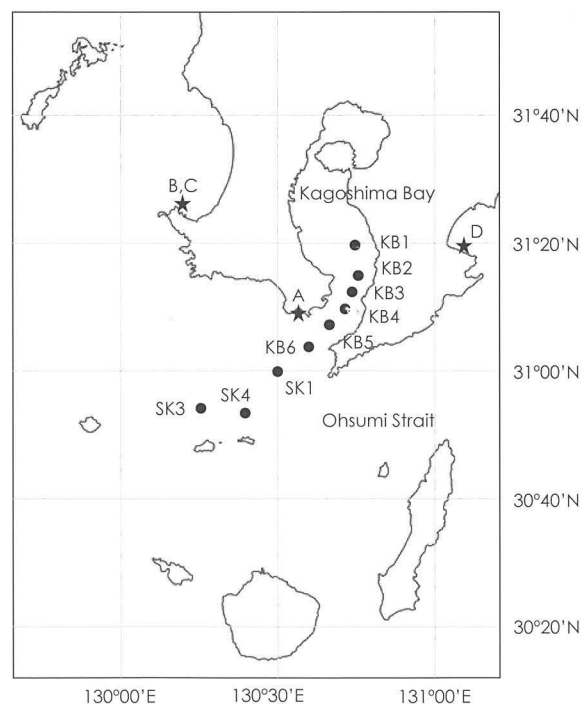


Fig. 1. Sampling locations of bycatch whale sharks and their faecal pellets using fixed shore traps (stars) and their potential prey (circles) around southern Kyushu, Japan. A, B, C and D: Sample ID.

Table 1. Information on the sample collection of dorsal fins and faecal pellets from bycatch whale sharks. TL: Total length (m). WT: ambient water temperature (°C). MS: microscopic identification. SI: stable isotope analysis. DNA: metabarcoding analysis. O: done.

Sample ID	Sample	Date	Analysis			TL (m)	Sex	WT (°C)
			MS	SI	DNA			
A	Dorsal fin	23 May, 2018		O		5.4	Unknown	23.0
B	Dorsal fin	20 May, 2019		O		6.1	Male	23.7
C	Faecal pellets	14 Jun, 2018	O	O		5.1	Male	24.1
D	Faecal pellets	7 Aug, 2019	O	O	O	3.6	Male	28.5

太平洋標準ネットで水深50 mから鉛直曳にて採取した。数mmに大型化する群体形成珪藻(*Thalassiosira diporocylus*)および群体形成シアノバクテリア(*Trichodesmium* spp.)を船上で分別し、濾過海水で洗浄後、100~500群体を燃焼処理したガラス繊維濾紙に集めて安定同位体解析標本とした。ネット動物プランクトンおよび仔稚魚試料は、水深200 mから双子型北太平洋標準ネットによる鉛直曳もしくはORIネットによる斜行曳で採取した。この試料から実体顕微鏡(オリンパス社製SZ61およびニコン社製SMZ1500)を使って分類群別に分別し、1~300個体をプランクトンネット地に集めて安定同位体比解析標本とした。安定同位体比解析に供した糞塊試料は、上澄み液を除去してからプランクトンネット地に集めて安定同位体解析標本とした。

安定同位体比解析は、Aita et al. (2011)の方法に従った。安定同位体解析に供する標本は60°Cで24時間乾燥させ、2 mLバイアルに移した。ネット動物プランクトン・糞塊・背鰭標本は、メタノール:クロロフォルム混合液(体積比1:2)を加えて十分に攪拌し、6154 gで10分間遠心分離後、脂肪が抽出された上澄みを捨てた。この処理を1~3回繰り返し、60°Cで24時間乾燥させたものを分析検体とした。分析検体を錫カプセルに移し、質量分析計(Thermo Fisher Scientific社製FlashEA1112+DELTA)で、炭素および窒素安定同位体比を測定した。本研究における測定精度は、 ± 0.2 である。なお、動物プランクトン各分類群の炭素および窒素安定同位体比は、当該海域で採取された季節的な平均およびその標準誤差として算出した。

メタバーコーディング解析は、Hirai et al. (2017)の方法に従った。解凍した糞塊(個体D)の一部($n=3$)をスパチュラで採取した他、分類群に特定できなかった甲殻類の断片($n=1$)や不定形粒状物($n=1$)もピンセットで採取し、5%Chelex溶液30 μ Lを加えた1.5 mLチューブに入れてホモジナイズした。95°Cで20分間熱処理し、12000 rpm, 1分間遠心分離した。Qubit™ Assayキット(Thermo-Fisher Scientific社製Q33228)を使ってDNA濃度を確

認した上澄み液を、PCRに供した。真核生物の一般的なプライマーである1389Fおよび1510R(Amaral-Zettler et al. 2009)を使用し、PCRキット(東洋紡社製6606017)を用い、18S rRNAのV9領域を増幅させた。PCR産物はDNA精製キット(キアゲン社製QIAquick)を用いて精製した。精製された検体はDNA濃度を調製後、Illumina Miseqを使用して2×250 bpの遺伝子配列を取得した。ソフトウェア Trimmomatic (Bolger et al. 2014) および Mothur (Schloss et al. 2009)を使って、得られた遺伝子配列から低品質配列の遺伝子を除去し、Tara Oceans Projectが提供するV9_PR2 Reference Data Baseを用いて分類群別に分類した。また、クラスタリングによって得られる配列クラスター(OTU: Molecular Operational Taxonomic Unit)を、餌料生物群の代替として利用した。各OTUの配列をBasic Local Alignment Search Tool (BLAST: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)にて検索し、分類群を特定した。

結 果

個体Cおよび個体Dの糞塊は、いずれも全体的に黄緑色を帯びていた(Fig. 2a)。顕微鏡解析では糞塊中に甲殻類断片、不定形の粒状物(Fig. 2b)や組織片(Fig. 2h, i)が確認されたものの、外形形態から特定できたネット動物プランクトン分類群は、カイアシ類(Fig. 2c: *Pseudodiaptomus* sp.)、端脚類(Fig. 2d)、貝形類(Fig. 2e, f)、有孔虫(Fig. 2g)のみであった。

このため、顕微鏡解析で判別できない糞塊中の生物群については、メタバーコーディング解析を行った。個体Dの糞塊では消化管内容物の宿主である魚類の遺伝子が総リード数の97%以上を占めたが、カイアシ類、貝形類、尾虫類、ヒドロ虫類の遺伝子も検出された(Fig. 3a)。糞塊に確認された甲殻類断片では貝形類の遺伝子が91%を占め、魚類(宿主)、カイアシ類、端脚類も検出された。不定形粒状物からはカイアシ類の遺伝子が多く検出されたが、端脚類、貝形類、ゼラチン質動物プランクトン(ヒドロ虫類・サルバ類)、原生動物プランクト

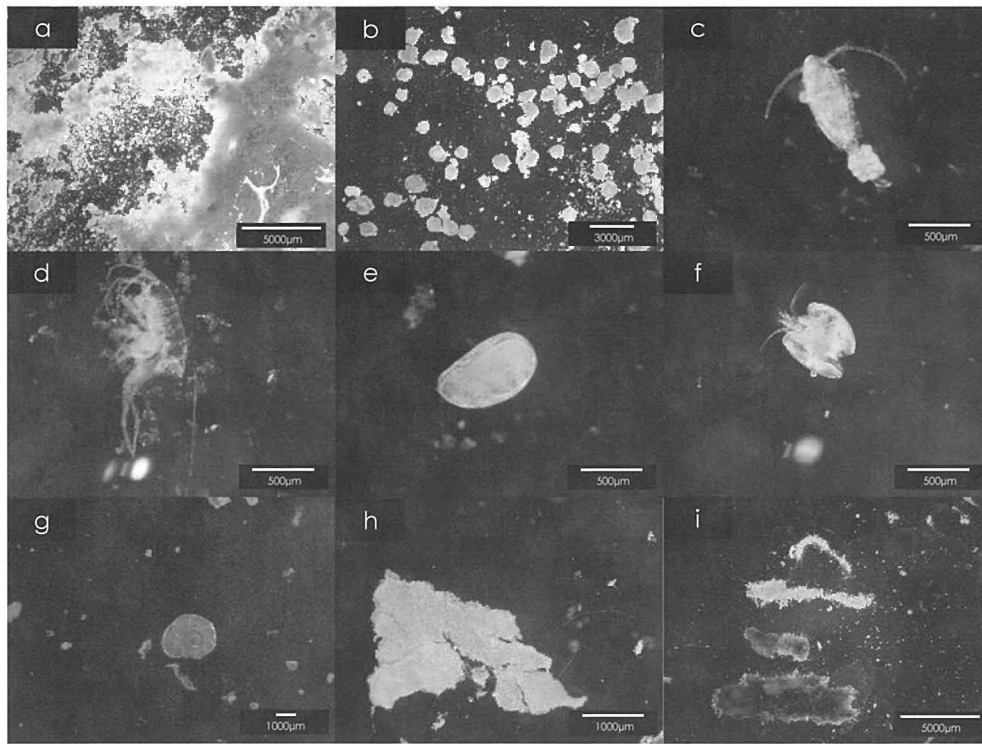


Fig. 2. Images of the material and organisms observed in the faecal pellets egested from the bycatch whale sharks at fixed shore traps in June 2018 and August 2019. a: Whole image. b: Unknown particles. c: Copepod (*Pseudodiaptomus* spp.). d: Amphipod. e and f: Ostracod. g: Foraminifera. i, and i: Unknown materials.

ン(繊毛虫・放散虫)も検出された。魚類(宿主)および原生動物プランクトンの遺伝子を除くと(Fig. 3b), 個体Dの糞塊中にはCalanidae, Eucalanidae, Metridinidae, Paracalanidaeカイアシ類, 糞塊中の甲殻類組織片からはPseudodiaptomidaeカイアシ類, 不定形粒状物ではCalanidae, Eucalanidae, Metridinidae, Oithonidaeカイアシ類が検出された。

北部薩南海域におけるネット動物プランクトンおよび仔稚魚の安定同位体比を比較すると, 雑食性ネット動物プランクトン($\delta^{13}\text{C}$: -21.9 – -19.2 ‰, $\delta^{15}\text{N}$: 1.3 – 6.1 ‰)よりも肉食性ネット動物プランクトン($\delta^{13}\text{C}$: -20.2 – -18.4 ‰, $\delta^{15}\text{N}$: 5.2 – 8.0 ‰)や仔稚魚($\delta^{13}\text{C}$: -20.0 – -18.5 ‰, $\delta^{15}\text{N}$: 5.1 – 7.9)で高い傾向を示した。ジンベエザメ背鰭の $\delta^{15}\text{N}$ は肉食性ネット動物プランクトンや仔稚魚と類似した一方で, $\delta^{13}\text{C}$ は高い値を示した。また, 背鰭の安定同位体比には個体差が認められ, 個体B($\delta^{13}\text{C}$: -16.2 ‰, $\delta^{15}\text{N}$: 5.5 ‰)に比べて個体A($\delta^{13}\text{C}$: -15.8 ‰, $\delta^{15}\text{N}$: 8.2 ‰)で高い値を示した。ジンベエザメ糞塊の $\delta^{15}\text{N}$ は雑食性ネット動物プランクトンと類似したが, $\delta^{13}\text{C}$ は高い値を示した。また, 糞塊の安定同位体比にも個体差が認められ, 個体C($\delta^{13}\text{C}$: -19.7 ‰, $\delta^{15}\text{N}$: 1.1 ‰)に比べて個体D($\delta^{13}\text{C}$: -17.8 ‰, $\delta^{15}\text{N}$: 5.5 ‰)で高い値を示した。

考 察

ジンベエザメは絶滅危惧種に指定されているため, 餌生物の解明はストランディング個体の消化管内容物(Rohner et al. 2013, Sampaio et al. 2018)や摂餌行動(Motta et al. 2010, Ketchum et al. 2013)の観察に頼ってきた。これらの報告によると, 鰐鰐のメッシュサイズ(約1 mm)に捕捉可能なネット動物プランクトンを餌とし, カイアシ類・オキアミ類・十脚類・端脚類・等脚類などの甲殻類動物プランクトン, 毛顎類・被囊類・ヒドロ虫類などのゼラチン質動物プランクトンが主な餌生物であるとされ(Motta et al. 2010), 小型の頭足類や魚類, 魚類やサンゴの卵, 藻類, 陸上植物なども餌生物とされている(Beckley et al. 1997, Wilson & Newbound 2001, Duffy 2002, Hoffmayer et al. 2007, Stevens 2007)。このように, ジンベエザメの餌生物は多様であることに加えて(Ketchum et al. 2013, Sampaio et al. 2018), ジンベエザメの出現頻度が低いために摂餌行動観察も難しいことから, 北部薩南海域におけるこれらの餌生物は分かっていない。本研究において, 糞塊には外部形態の残存する餌が極めて少なかったため, 顕微鏡解析では餌生物の判別が困難であった。

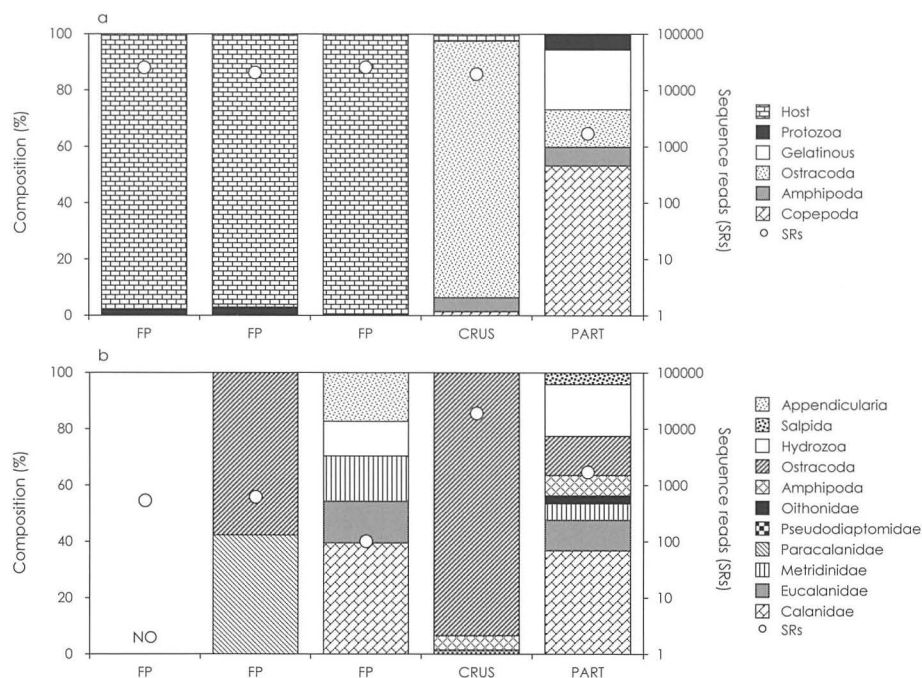


Fig. 3. Composition of sequence reads (SRs) for all eukaryotes (a) and netzooplankton (b) identified from the faecal pellets egested from the by-catch whale sharks at fixed shore traps in August 2019 based on metabarcoding analysis. Host is represented by fish genes. FP: Faecal pellets collected in August 2019 (Individual D). CRUS: Crustacean setae and parts in the faeces. PART: Unknown particles in the faeces. NO: No occurrence.

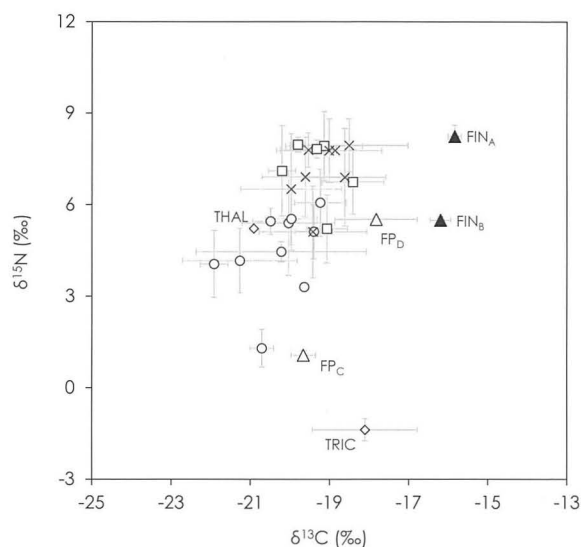


Fig. 4. Relationship between $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ for phytoplankton (diamonds), omnivorous zooplankton (open circles), carnivorous zooplankton (open squares), fish larvae (crosses), and faecal pellets (FP: open triangles) and dorsal fins (FIN: solid triangles) of bycatch whale sharks from fixed shore traps. Bars indicate the standard errors. THAL: *Thalassiosira diporocyclus*. TRIC: *Tricodesmium* spp. Note that means and standard errors of zooplankton $\delta^{15}\text{N}$ to $\delta^{13}\text{C}$ were computed from seasonally collected samples.

これは、天然個体の糞塊では消化が進んでいるため、顕微鏡観察以外の方法で餌生物を判別する必要があることを示している。これまで、安定同位体比 (Borrell et al. 2011, Wyatt et al. 2019)、脂肪酸 (Marcus et al. 2016, Rohner et al. 2013)、遺伝子 (Jarman & Wilson 2004, Meekan et al. 2009) を使った方法が利用されており、既往知見と同様な餌生物が判別されている。本研究のメタバーコーディング解析によると、顕微鏡解析でも確認された有孔虫などの原生動物プランクトン、カイアシ類・端脚類・貝形類などの甲殻類動物プランクトンだけでなく、ヒドロ虫類・サルパ類・尾虫類などのゼラチン質動物プランクトンも検出された。メタバーコーディング解析では顕微鏡解析よりも多くの分類群が検出されており、消化管内で断片化・消化されやすい餌生物を判別するのに有効であると考えられる。

ジンベエザメは長距離を回遊するが (Eckert & Stewart 2001, Sleeman et al. 2010)、ネット動物プランクトンを餌とする浮魚類と同所的に出現することが頻繁に観察されることから (Compagno 1984)、低次栄養段階の生産力の高い海域へ索餌回遊すると考えられている (Wilson et al. 2001, Stevens 2007)。糞塊から検出された *Pseudodiaptomidae* や *Paracalanidae* カイアシ類は春期～夏期に沿岸域で個体数を増加させるため (Liang & Uye 1996a, 1996b, 1997,

Hidaka et al. 2016), 糞塊を採取したジンベエザメは混獲直前に沿岸域で摂餌していたことを示唆している。これは、個体Dの糞塊では北部薩南海域におけるネット動物プランクトンや仔稚魚と近似する安定同位体比を示すことから支持される。一方で、糞塊の大部分はホストの遺伝子であることが本研究で示されており、糞塊の安定同位体比は長期的に摂餌した餌生物の履歴を示していると考えられる。そのため、個体Dでは北部薩南海域での摂餌歴が長いことを示唆している。また、筋肉に比べて鰭の $\delta^{13}\text{C}$ が約2‰高く、 $\delta^{15}\text{N}$ が約1‰低いことから(Hussey et al. 2011)、個体Aおよび個体Bの鰭は北部薩南海域における仔稚魚と類似した $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ を有する。ジンベエザメ鰭組織の回転速度が約3年であることも考慮すると(Wyatt et al. 2019)、個体Aおよび個体Bでは北部薩南海域での摂餌歴が長いことを示唆している。他方、個体Cは北部薩南海域のネット動物プランクトンや仔稚魚よりも低い $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ の糞塊を排泄しており、個体Cでは他海域における摂餌歴が長いことを示唆している。アミノ酸同位体比によると、沖縄海域に出現するジンベエザメの栄養段階は2.4と推定され、ネット動物プランクトンだけでなくより外洋域の植物プランクトン(シアノバクテリア)も偶発的に摂餌している可能性が指摘されている(Wyatt et al. 2019)。沖縄海域では外洋域個体群が来遊して沿岸個体群と同所的に索餌していることから(Wyatt et al. 2019)、北部薩南海域には沿岸個体群だけでなく、外洋域個体群が来遊しているのかもしれない。

ジンベエザメは様々な水族館で飼育されているものの、大規模回遊する絶滅危惧種であることから、飼育や保全に必要な生態学的知見が欠如している。本研究で示したように、メタバーコーディング解析や安定同位体比解析を利用することによって、天然個体の餌生物を把握できるだけでなく摂餌履歴も推定できるので、飼育や保全に必要な情報も得られるかもしれない。

謝辞

本研究を行うにあたり、ご協力頂いた鹿児島市水族館公社の職員の皆様、鹿児島大学練習船南星丸船長および船舶職員の皆様に感謝申し上げます。本研究は、文部科学省科学研究費補助金(17K00522, 18H04920, 20K06186, 20K12151)および文部科学省海洋生物資源確保技術高度化事業(JPMXD0511102330)によって得られた成果です。

引用文献

Aita MN, Tadokoro K, Ogawa NO, Hyodo F, Ishii R, Smith SL, Saino

- Y, Kishi MJ, Saitoh S, Wada E (2011) Linear relationship between carbon and nitrogen isotope ratios along simple food chains in marine environments. *J Plankton Res* 33: 1629–1642.
- Amaral-Zettler LA, McCliment EA, Ducklow HW, Huse SM (2009) A method for studying protistan diversity using massively parallel sequencing of V9 hypervariable regions of small-subunit ribosomal RNA genes. *PLoS ONE* 4: e6372.
- Beckley LE, Cliff G, Smale MJ, Compagno LJ (1997) Recent strandings and sightings of whale sharks in South Africa. *Environ. Biol. Fishes* 50: 343–348.
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinform* 30: 2114–2120.
- Borrell A, Aguilar A, Gazo M, Kumarran RP, Cardona L (2011) Stable isotope profiles in whale shark (*Rhincodon typus*) suggest segregation and dissimilarities in the diet depending on sex and size. *Environ Biol Fishes* 92: 559–567.
- Bradshaw CJA, Fitzpatrick BM, Steinberg CC, Brook BW, Meekan MG (2008) Decline in whale shark size and abundance at Ningaloo Reef over the past decade: the world's largest fish is getting smaller. *Biol Conserv* 141: 1894–1905.
- Colman JG (1997) A review of the biology and ecology of the whale shark. *J Fish Biol* 51: 1219–1234.
- Compagno LJ (1984) *FAO Species Catalogue. Vol. 4. Sharks of the World. Part 1. Hexanchiformes to Lamniformes.* FAO Fisheries Synopsis 125, Vol. 4, Part 1. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 249 pp.
- Duffy JCA (2002) Distribution, seasonality, lengths, and feeding behaviour of whale sharks (*Rhincodon typus*) observed in New Zealand waters. *NZ J Mar Freshwat Res* 36: 565–570.
- Eckert SA, Stewart BS (2001) Telemetry and satellite tracking of whale sharks, *Rhincodon typus*, in the Sea of Cortez, Mexico, and the northern Pacific Ocean. *Environ Biol Fishes* 60: 299–308.
- Hector MG, Gomez CG, Hearn A, Eckert SA (2018) Longest recorded trans-Pacific migration of a whale shark (*Rhincodon typus*). *Mar Biodiv Rec* 11: 8.
- Hidaka K, Itoh H, Hirai J, Tsuda A (2016) Occurrence of the *Paracalanus parvus* species complex in offshore waters south of Japan and their genetic and morphological identification to species. *Plankton Benthos Res* 11: 131–143.
- Hirai J, Hidaka K, Nagai S, Ichikawa T (2017) Molecular-based diet analysis of the early postlarvae of Japanese sardine *Sardinops melanostictus* and Pacific round herring *Etrumeus teres*. *Mar Ecol Prog Ser* 564: 99–113.
- Hoffmayer ER, Franks JS, Driggers III WB, Oswald KJ, Quattro JM (2007) Observations of a feeding aggregation of whale sharks, *Rhincodon typus*, in the north central Gulf of Mexico. *Gulf Carib Res* 19: 69–73.
- Hussey NE, Chapman DD, Donnelly E, Abercrombie DL, Fisk AT (2011) Fin-icky samples: an assessment of shark fin as a source material for stable isotope analysis. *Limnol Oceanogr Methods* 9: 524–532.
- Jarman SN, Wilson SG (2004) DNA-based species identification of krill consumed by whale sharks. *J Fish Biol* 65: 586–591.
- Ketchum JT, Galván-Magaña F, Klimley AP (2013) Segregation and foraging ecology of whale sharks, *Rhincodon typus*, in the southwestern Gulf of California. *Environ. Biol. Fishes* 99: 779–795.
- Kodama T, Hirai J, Tamura S, Takahashi T, Tanaka Y, Ishihara T, Tawa A, Morimoto H, Ohshimo S (2017) Diet composition and feeding habits of larval Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the Sea of Japan: integrated morphological and metagenetic analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 583: 211–226.

- Kume G, Kobari T, Hirai J, Kuroda H, Takeda T, Ichinomiya M, Komorita T, Aita-Noguchi M, Hyodo F (2021) Diet niche segregation of co-occurring larval stages of mesopelagic and commercially important fishes in the Osumi Strait assessed through morphological, DNA metabarcoding, and stable isotope analyses. *Mar Biol* 168: 6, <https://doi.org/10.1007/s00227-020-03810-x>.
- Liang D, Uye S (1996a) Population dynamics and production of the planktonic copepods in a eutrophic inlet of the Inland Sea of Japan. III. *Paracalanus* sp. *Mar Biol* 127: 219–227.
- Liang D, Uye S (1996b) Population dynamics and production of the planktonic copepods in a eutrophic inlet of the Inland Sea of Japan. IV. *Pseudodiaptomus marinus*, the egg-carrying calanoid. *Mar Biol* 128: 415–421.
- Marcus L, Virtue P, Pethybridge HR, Meekan MG, Thums M, Nichols PD (2016) Intraspecific variability in diet and implied foraging ranges of whale sharks at Ningaloo Reef, Western Australia, from signature fatty acid analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 554: 115–128.
- Meekan MG, Jarman SN, McLean C, Schultz MB (2009) DNA evidence of whale sharks (*Rhincodon typus*) feeding on red crab (*Gecarcoidea natalis*) larvae at Christmas Island, Australia. *Mar Freshwat Res* 60: 607–609.
- Motta PJ, Maslank M, Hueter RE, Davis RL, de la Para R, Mulvany SL, Habegger ML, Strother JA, Mara KR, Gardiner JM, Tyminski JP, Zeiger LD (2010) Feeding anatomy, filter-feeding rate, and diet of whale sharks *Rhincodon typus* during surface ram filter feeding off the Yucatan Peninsula, Mexico. *Zoology* 113: 199–212.
- Nelson JD, Eckert SA (2007) Foraging ecology of whale sharks (*Rhincodon typus*) within Bahia de Los Angeles, Baja California Norte, Mexico. *Fish Res* 84: 47–64.
- Pierce SJ, Norman B (2016) *Rhincodon typus*. The IUCN red list of threatened species 2016: e.T19488A2365291. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, Gland, Switzerland.
- Rohner CA, Couturier LIE, Richardson AJ, Pierce SJ, Prebble CEM, Gibbons MJ, Nichols PD (2013) Diet of whale sharks *Rhincodon typus* inferred from stomach content and signature fatty acid analyses. *Mar Ecol Prog Ser* 493: 219–235.
- Rowat D, Brooks KS (2012) A review of the biology, fisheries and conservation of the whale shark *Rhincodon typus*. *J Fish Biol* 80: 1019–1056.
- Sampaio CLS, Leite L, Reis-Filho JA, Loiola M, Miranda RJ, Nunes JACC, Macena BCL (2018) New insights into whale shark *Rhincodon typus* diet in Brazil: an observation of ram filter-feeding on crab larvae and analysis of stomach contents from the first stranding in Bahia state. *Environ Biol Fishes* 101: 1285–1293.
- Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JP, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH, Robinson CJ, Sahl JW, Stres B, Thallinger GG, Van Horn DJ, Weber CF (2009) Introducing MOTHUR: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 75: 7537–7541.
- Sleeman JC, Meekan MG, Wilson SG, Polovina JJ, Stevens JD, Boggs GS, Bradshaw CJA (2010) To go or not to go with the flow: environmental influences on whale shark movement patterns. *J Exp Mar Biol Ecol* 390: 84–98.
- Stevens JD (2007) Whale shark (*Rhincodon typus*) biology and ecology: A review of the primary literature. *Fish Res* 84: 4–9.
- Stewart BS, Wilson SG (2005) Threatened fishes of the world: *Rhincodon typus* (Smith 1828) Rhincodontidae. *Environ Biol Fishes* 74: 184–185.
- Theberge MM, Dearden P (2006) Detecting a decline in whale shark *Rhincodon typus* sightings in the Andaman Sea, Thailand, using ecotourist operator-collected data. *Oryx* 40: 337–342.
- 内田詮三 (1995) 3. ジンベエザメ. 日本の希少な野生水生生物に関する基礎資料 (II) (日本水産資源保護協会編). 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 146–153.
- Wada E, Ishii R, Aita MN, Ogawa NO, Kohzu A, Hyodo F, Yamada Y (2013) Possible ideas on carbon and nitrogen trophic fractionation of food chains: a new aspect of food-chain stable isotope analysis in Lake Biwa, Lake Baikal, and the Mongolian grasslands. *Ecol Res* 28: 173–181.
- Wilson SG, Newbound DR (2001) Two whale shark faecal samples from Ningaloo Reef, Western Australia. *Bull Mar Sci* 68: 361–362.
- Wyatt ASJ, Matsumoto R, Chikaraishi Y, Miyairi Y, Yokoyama Y, Sato K, Ohkouchi N, Nagata T (2019) Enhancing insights into foraging specialization in the world's largest fish using a multi-tissue, multi-isotope approach. *Ecol Monogr* 89: e01339.