

二重標識水法による飼育下コウノトリのエネルギー消費量の推定

*内藤和明¹

Estimation of the metabolic rate of captive Oriental White Stork, *Ciconia boyciana* using doubly labeled water method

* Kazuaki Naito¹

¹ Graduate School of Regional Resource Management, University of Hyogo / Hyogo Park of the Oriental White Stork

128, Shounji, Toyooka, Hyogo Pref. 668-0814, Japan

* E-mail: kaznait@stork.u-hyogo.ac.jp

Abstract The doubly labeled water (DLW) method was used for Oriental White Stork kept in captivity in individual cages. CO₂ productions of storks were calculated based on the turnover of isotopes (²H and ¹⁸O) and were transferred into metabolic rates. Estimated metabolic rate was 1,627 kJ/day in winter and 1,530 kJ/day in summer, indicating 6.3 % higher value in winter. The estimated metabolic rate was equivalent to 58.6–68.5 % of diets supplied before and during experimental periods.

Key words *Ciconia boyciana*, DLW, Doubly labeled water method, Metabolic rate

はじめに

野生動物のエネルギー消費量を知ることは、野生動物が生存できる最低限の採餌環境を明らかにする上で有用である。野外の動物のエネルギー消費量を推定するために、個体の採餌行動を直接観察して採餌物の種類と生物量を特定する方法があるが、採餌物が小さい場合や目視外の時間や場所で採餌した場合には特定ができず、推定値に誤差が生じる。一方、非拘束下で動物のエネルギー消費量を測定するための方法として、次のような原理に基づく二重標識水法 (DLW法) が使われている。DLW

法では、水素と酸素の安定同位体 (²H, ¹⁸O) で標識された水を動物の体内に投与する。投与された同位体は主に呼吸により二酸化炭素 (CO₂) として、また排泄物等により水 (H₂O) として体内から少しずつ排出される。この時、²Hは水として排出されるのに対して、¹⁸Oは二酸化炭素と水の両方として排出されるので、²Hと¹⁸Oの除去率の差から二酸化炭素の生産率を推定でき、これに変換式を適用してエネルギー消費量が計算される。鳥類ではこれまでに、キンクロハジロ *Aythya fuligula* (Bevan et al. 1995), ウトウ *Cerorhinca monocerata* (Shirai et al. 2012a), オオミズナギドリ *Calonectris leucomelas* (Shirai et al. 2012b), チョウゲンボウ *Falco tinnunculus* (Masman et al. 1988), シュバシコウ *Ciconia ciconia* (Mata et al. 2010) などのエネルギー消費量が推定されている。

本研究で対象としたコウノトリ *Ciconia boyciana* は絶滅が危惧される大型鳥類であり、個体数が世界で2,500未満と推定されている (IUCN 2012)。日本では繁殖個体群が一度絶滅したが、兵庫県豊岡盆地で2005年から再導入され (Ezaki et al. 2013)、野外での繁殖の結果2017年6月に野外個体数が100個体に達し、全国各地に飛来している。また、2015年からは千葉県野田市、福井県越前市でも再導入が実施されている。再導入個体群のモニタリングが随時行われており、その結果に基づいて、コウノトリの採餌環境と採餌した生物の種類が月毎に明らかにされた (田和ほか 2016)。しかし、直接観察では、採餌物を同定できないことや同定できてもサイズが記録できない場合が少なからずあるため、コウノトリの野外での採餌量を正確に推定することが困難である。そこで本研究では、DLW法を用いて飼育下のコウノトリのエネルギー消費量を測定し、個体の生存に最低限必要と思われる餌生物量を推定するための基礎となる資料を得た。なお、前報 (内藤 2017) において、冬期に実施し、2日間隔で8日後まで採取した試料を分析して、DLW法によるエネルギー消費量の推定の適用可能性を検討した。本稿では、夏期に実施した結果を合わせて比較することで、季節によるエネルギー消費量の違いについて明らかにする。

¹ 兵庫県立大学大学院地域資源マネジメント研究科/兵庫県立コウノトリの郷公園
668-0814 兵庫県豊岡市祥雲寺128

材料と方法

1. 二重標識水の投与と採血

試験は2014年12月18~26日 (以下「冬期」と表記), および2015年7月29~31日 (以下「夏期」と表記) の2回実施した。供試個体は兵庫県立コウノトリの郷公園で飼育されている, 血液採取などのハンドリングに慣れ, 健康上特段の問題がないオス1個体 (J256), メス3個体 (J332, J333, J337) の計4個体である。ただし, J332は夏期のみ, J337は冬期のみ供試した。これらの個体は縦横5m×8m, 高さ4mのケージでそれぞれ単独で飼育されていた。二重標識水の投与7日前から最後に採血した日の2日前までの間の日当たり給餌量は, 一部の例外日を除いて, オスについてはドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* 100g及びマアジ *Trachurus japonicus* 450gの計550g, メスについてはドジョウ100g及びマアジ400gの計500gであった (表1)。いずれの個体にも期間中の餌の食べ残しはなかった。

98 atom % ¹⁸O標識水 (大陽日酸, F030027) と99 atom % ²H標識水 (大陽日酸, 151882) を2:1の割合で混合した後, 濃度0.9%となるように塩化ナトリウム

を溶解した二重標識水を調整した。調製の過程では, 前後に精密天秤で容器を計量してそれぞれの物質を0.1mgの精度で測定した。最後に, 0.22 μm孔径のフィルターで濾過してオートクレーブで滅菌して保存した。ヘパリンナトリウム溶液で共洗いした後に1.2mL程度の二重標識水を吸い込んだシリンジを, 投与の直前に供試個体数分準備し運搬用の容器に入れて飼育ケージに持ち運んだ。シリンジを準備する過程の前後に精密天秤で計量し, 吸い込んだ二重標識水の量を0.1mgの精度で測定した。

冬期および夏期とも, 二重標識水の投与等は次の手順で実施した。供試個体を捕獲後すぐに体重を測定した後, 血液試料 (投与前) を2mL採取した。次にシリンジに入った二重標識水を液漏れしないように注意しながら腹腔内に注射し, 投与時刻を記録した。供試個体をケージ内に一旦解放し, 約2時間後及び約3.5時間後にそれぞれ再捕獲して血液試料 (投与後) を2mLずつ採取した。以後は約48時間間隔で, 冬期は投与後8日までの計4回, 夏期は投与後2日での1回のみ個体を捕獲して体重を測定した後, 2mLの血液試料を採取した。

二重標識水投与後のシリンジをコンテナに入れて持ち

表1. 供試個体及びその試験7日前から終了までの日当たりの餌の種類及び量。期間を通じて餌の食べ残しはなかった。

Table 1. Tested individuals and their daily diets before and during experimental periods. All supplied diets were consumed within each day.

個体	J256	J332	J333	J337
性別	オス	メス	メス	メス
孵化年月日	1999年3月27日	2002年4月1日	2002年4月1日	2002年4月6日
冬期				
2014年12月11-13日	ドジョウ 100g +マアジ 450g	-	ドジョウ 100g +マアジ 400g	ドジョウ 100g +マアジ 400g
2014年12月14日	給餌なし	-	給餌なし	給餌なし
2014年12月15-24日	ドジョウ 100g +マアジ 450g	-	ドジョウ 100g +マアジ 400g	ドジョウ 100g +マアジ 400g
2014年12月25日	ドジョウ 50g +マアジ 500g	-	ドジョウ 50g +マアジ 450g	ドジョウ 50g +マアジ 450g
夏期				
2015年7月22-25日	ドジョウ 100g +マアジ 450g	ドジョウ 100g +マアジ 400g	ドジョウ 100g +マアジ 400g	-
2015年7月26日	給餌なし	給餌なし	給餌なし	-
2015年7月27-28日	ドジョウ 100g +マアジ 450g	ドジョウ 100g +マアジ 400g	ドジョウ 100g +マアジ 400g	-
2015年7月29日	マアジ 500g	マアジ 550g	マアジ 500g	-
2015年7月30-31日	ドジョウ 100g +マアジ 450g	ドジョウ 100g +マアジ 400g	ドジョウ 100g +マアジ 400g	-

帰った後に精密天秤で計量し、個体毎の正確な投与量を求めた。また、採取した血液試料は速やかに1.5mLエッペンドルフチューブに分注して6,200rpmで5分遠心し血球を沈殿させ、上清を別チューブに移した後、精密天秤で計量しながら超純水で約6倍に希釈し測定試料とした。血液試料から調製したこの測定試料及び希釈に用いた超純水の酸素及び水素の安定同位体比を平衡IRMS法により測定した。測定は大陽日酸（株）に委託した。

2. 二重標識水法の計算

投与2時間後及び3.5時間後の値をそれぞれ初期の同位体濃度として用いて、同位体の希釈容積（ ^2H については N_d 、 ^{18}O については N_o 、いずれもmol）及び個体の推定水分含有量をプラトー法により求めた（Speakman 1997）。 N_d 及び N_o の計算には次の式を用いた。

$$N_d = \frac{H_{inj} \times (H_i - H_d)}{H_b - H_i}$$

$$N_o = \frac{O_{inj} \times (O_i - O_d)}{O_b - O_i}$$

ここで、 N_d 及び N_o はそれぞれ ^2H 及び ^{18}O で推定した希釈容積（mol）を、 H_{inj} 及び O_{inj} は二重標識水の投与量（ ^2H または ^{18}O 、mol）を、 H_b 及び O_b はバックグラウンド（二重標識水の投与前）の同位体の濃度（ ^2H または ^{18}O 、ppm）を、 H_i 及び O_i は二重標識水の投与後最初の試料の同位体の濃度（ ^2H または ^{18}O 、ppm）を、 H_d 及び O_d は投与した二重標識水の同位体の濃度（ ^2H または ^{18}O 、ppm）を示す。各個体について、 ^2H の希釈で求められた希釈容積を ^{18}O の希釈で求められた希釈容積で割ることにより、希釈容積率（ $R_{dilspace}$ ）を求めた（Speakman 1997）。

^2H 及び ^{18}O の排出率（ k_d または k_o 、/day）は2試料法を用いて次のように計算した。

$$k_d = \frac{\ln(H_i - H_b) - \ln(H_f - H_b)}{t}$$

$$k_o = \frac{\ln(O_i - O_b) - \ln(O_f - O_b)}{t}$$

ここで、 H_f 及び O_f は最後に採取した試料の同位体濃度（ ^2H または ^{18}O 、ppm）、 t は二重標識水の投与後最初の試料から最後の試料を採取するまでの時間（days）である（Lifson and McClintock 1966；Speakman 1997）。

^2H 及び ^{18}O の排出率から二酸化炭素の排出率（ $r\text{CO}_2$ ）を計算する際には、one-poolモデルとtwo-poolモデルの

二つが一般に用いられている（Speakman 1997）。 ^{18}O に比較して、 ^2H はタンパク質のアミノ基の水素とより可逆的に交換するために（Culebras and Moore 1977；Matthews and Gilker 1995）、 ^2H の希釈により推定された希釈容積は、 ^{18}O に基づく推定値よりも3-4%大きくなるとされる（Schoeller et al. 1986；Speakman et al. 1993）。one-poolモデルはこの食い違いを無視して ^{18}O の希釈容積を体水分量とみなして二酸化炭素の排出率を推定し、two-poolモデルは ^2H 及び ^{18}O の排出率を補正する計算式により二酸化炭素の排出率を推定する。本研究では二つのモデルによる推定値を両方用いて $r\text{CO}_2$ を算出した。one-poolモデルに用いた式は、

$$r\text{CO}_2 = \frac{N}{2.078} (k_o - k_d) - 0.0062 \times k_d \times N$$

two-poolモデルに用いた式は、

$$r\text{CO}_2 = \frac{N}{2.078} (k_o - R_{dilspace} \times k_d) - 0.0062 \times N \times R_{dilspace} \times k_d$$

である（Speakman 1997）。 $r\text{CO}_2$ （mL CO_2 /day）からエネルギー消費量への単位の変換は、1 mLの $\text{CO}_2 = 25.11\text{J}$ と仮定して行った（Gessaman and Nagy 1988）。水分の排出率（ $r\text{H}_2\text{O}$ ）は、呼吸、皮膚からの蒸散、及び排泄等を通じた水の消失率に等しい。本研究では ^2H の排出率を用いて次の計算式により $r\text{H}_2\text{O}$ を求めた（Bevan et al. 1995）。

$$r\text{H}_2\text{O} = \frac{(N_f - N_i) \times \ln[(H_i \times N_i) / (H_f \times N_f)]}{\ln(N_f / N_i) \times t}$$

ここで、 N_i は二重標識水の投与直後の希釈容積を意味し、 N_o の値であると仮定した。 N_f は最後の試料を採取した時の希釈容積を意味し、二重標識水の投与直後の希釈容積に基づいて計算された体水分率と同じ値であると仮定して、最後の試料を採取した時の体重から計算された値を用いた。

結果と考察

採取した試料の分析結果を表2に示した。血液試料の同位体濃度は投与後の経過時間とともに指数関数的に減少したことが先行研究で示されたので（内藤 2017）、投与2日後から8日後のどの試料を最終としてエネルギー消費量を計算してもほぼ同じ値が得られるが、ここでは冬期の試験については投与8日後の試料の測定値を用いた。冬期の試験では、投与2時間後と3.5時間後の安

表2. DLW分析に供試した個体の体重, バックグラウンド同位体濃度, 同位体の投与量, 希釈容積, 回転率, 及びエネルギー代謝量.

Table 2. Body masses, background isotope level, dose details, isotope dilution spaces, turnover rates, and metabolic rates for the storks used in the DLW analysis.

	冬期					夏期				
	J256	J333	J337	平均値	S.E.	J256	J332	J333	平均値	S.E.
性別	オス	メス	メス			オス	メス	メス		
開始時体重 (kg)	4.55	3.90	4.10	4.18	0.19	4.85	3.85	3.65	4.12	0.37
終了時体重 (kg)	4.75	4.10	4.25	4.37	0.20	4.65	3.60	3.50	3.92	0.37
測定期間 (day)	7.87	7.87	7.87			1.99	1.99	1.99		
投与量 (moles)	0.104	0.079	0.094			0.100	0.098	0.098		
バックグラウンド濃度										
² H (ppm)	148.04	150.44	150.09	149.52	0.75	151.99	147.90	150.57	150.15	1.20
¹⁸ O (ppm)	1,987.33	1,991.02	1,991.26	1989.87	1.27	1,999.17	1,997.44	1,998.80	1998.47	0.52
二重標識水濃度										
² H (ppm)	311653	311653	311653			252834	252834	252834		
¹⁸ O (ppm)	534639	534639	534639			439395	439395	439395		
初期濃度 (投与2時間後)										
² H (ppm)	319.67	345.07	333.03	332.59	7.34	323.68	375.00	361.78	353.49	15.38
¹⁸ O (ppm)	2,283.60	2,329.12	2,312.10	2,308.27	13.28	2,311.61	2,403.68	2,381.99	2,365.76	27.79
初期濃度 (投与3.5時間後)										
² H (ppm)	349.01	304.69	352.00	335.23	15.30	324.69	374.33	364.22	354.41	15.14
¹⁸ O (ppm)	2,331.36	2,259.68	2,345.03	2,312.02	26.47	2,313.22	2,400.54	2,384.82	2,366.19	26.87
最終濃度										
² H (ppm)	197.80	185.78	196.75	193.44	3.85	260.58	288.85	279.93	276.45	8.34
¹⁸ O (ppm)	2,048.79	2,035.52	2,050.87	2,045.06	4.81	2,180.64	2,224.03	2,210.22	2,204.96	12.80
希釈容積 (投与2時間後の濃度から計算)										
N_d (moles)	187.97	126.14	160.43	158.18	17.88	146.39	109.39	117.15	124.31	11.27
N_o (moles)	186.19	124.16	156.41	155.59	17.91	139.24	105.85	111.76	118.95	10.29
体水分率% (¹⁸ O)	73.72	57.35	68.73	66.60	4.84	51.72	49.53	55.16	52.14	1.64
希釈容積率 ($R_{dilspace}$)	1.010	1.016	1.026	1.017	0.005	1.051	1.033	1.048	1.044	0.006
K_d (/day)	0.1590	0.2191	0.1754	0.1845	0.0179	0.2397	0.2496	0.2565	0.2486	0.0049
K_o (/day)	0.2020	0.2604	0.2162	0.2262	0.0176	0.2843	0.3055	0.3112	0.3003	0.0082
水分排出率 (mL/day)	192.36	167.67	180.66	180.23	7.13	332.84	316.68	307.93	319.15	7.30
One-pool modelで推定されたエネルギー消費量										
(kJ/day)	2,063	1,293	1,628	1,661.3	222.9	1,565	1,509	1,553	1,542.4	16.8
(kcal/day)	493	309	389	397.1	53.3	374	361	371	368.7	4.0
Two-pool modelで推定されたエネルギー消費量										
(kJ/day)	1,986	1,174	1,434	1,531.5	239.2	1,095	1,267	1,175	1,178.9	49.7
(kcal/day)	475	281	343	366.0	57.2	262	303	281	281.8	11.9
希釈容積 (投与3.5時間後の濃度から計算)										
N_d (moles)	160.50	159.18	145.34	155.01	4.85	143.61	108.27	114.28	122.05	10.92
N_o (moles)	160.33	156.27	141.84	152.81	5.61	136.48	105.09	109.30	116.96	9.84
体水分率% (¹⁸ O)	63.48	72.19	62.32	66.00	3.11	53.34	50.66	56.40	53.47	1.66
希釈容積率 ($R_{dilspace}$)	1.001	1.019	1.025	1.015	0.007	1.051	1.028	1.044	1.041	0.007
K_d (/day)	0.1807	0.1908	0.1897	0.1871	0.0032	0.2496	0.2550	0.2700	0.2582	0.0061
K_o (/day)	0.2230	0.2328	0.2306	0.2288	0.0030	0.2951	0.3099	0.3239	0.3096	0.0083
水分排出率 (mL/day)	200.55	166.23	183.84	183.54	9.91	344.57	326.36	321.39	330.77	7.05
One-pool modelで推定されたエネルギー消費量										
(kJ/day)	1733	1672	1477	1627.1	77.1	1584	1490	1516	1530.1	28.0
(kcal/day)	414	400	353	388.9	18.4	379	356	362	365.7	6.7
Two-pool modelで推定されたエネルギー消費量										
(kJ/day)	1724	1520	1295	1512.7	123.9	1105	1278	1156	1179.6	51.2
(kcal/day)	412	363	309	361.5	29.6	264	305	276	281.9	12.2

定同位体濃度が異なり、J333では投与2時間後の値が、J256及びJ337では3.5時間後の値が高かった。一方、夏期の試験では、投与2時間後と3.5時間後の値に大きな違いは見られなかった。以下では、投与3.5時間後の安定同位体濃度を用いて推定したエネルギー消費量について述べる。

one-poolモデルによる値とtwo-poolモデルによる値を比較すると、推定されたエネルギー消費量の平均値は、冬期及び夏期のいずれもtwo-poolモデルの方が小さい値を示した（冬期では7.3%、夏期では23.4%の差）。ヒトに比べて比較的小さな動物ではone-poolモデルによる推定値の方が優れているとされることと（Speakman 1997）、one-poolモデルによる推定値の方が大きい値を示したのでコウノトリが必要とする採餌量を余裕をもって推定できることから、以下ではone-poolモデルによる推定値を用いて考察する。エネルギー消費量の推定値は、3個体の平均で、冬期には1,627.1kJ/day (388.9 kcal/day)、夏期には1,530.1 kJ/day (365.7 kcal/day) となった。一般に体サイズが小さい鳥類ほど体温を維持するために夏期に比較して冬期の基礎代謝量が高い傾向があり、体重が200gを超える鳥類ではむしろ夏期の基礎代謝量が高いとされるが（Swanson 2010）、シュバシコウを用いた研究では逆に冬期のエネルギー消費量の方が若干高い傾向が示されている（Mata et al. 2010）。本研究で得られた推定値では冬期のエネルギー消費量が夏期よりも約6.3%多い結果となった。

二重標識水の投与前後に使用した餌であるドジョウとマアジの100g当たりのカロリーはそれぞれ79 kcal (330 kJ) 及び126 kcal (527 kJ) である（文部科学省 2015）。したがって、標準的な給餌量は1日当たりオスには2,703 kJ/day (646 kcal)、メスには2,439 kJ/day (583 kcal) に相当する（1 kcal = 4184 Jとして換算）。エネルギー消費量の推定値は、J256（オス）では給餌量から計算されるエネルギー量の64.1%（冬期）及び58.6%（夏期）、J333（メス）では68.5%（冬期）及び62.1%（夏期）、J337（メス）では60.5%（冬期）、J332（メス）では61.1%（夏期）に相当していた。鳥類における消化効率は、植物と果実を除けば概ね75%程度とする既往研究があり（Castro et al. 1989）、コウノトリの野外での消化効率がこれと同程度であるならば、供試個体への給餌量よりも少ない採餌量でも個体を維持できる可能性がある。本研究における供試個体は比較的狭い個体ケージで単独で飼育され、給餌もされていたので、飛翔や餌の探索あるいは社会的行動はほとんど見られなかった。したがって、

飛翔や歩行等の行動が限定的な条件下での野外個体のエネルギー消費量と概ね類似していると推測される。野外の成熟個体であれば、総エネルギー消費量は繁殖行動等を伴う夏期の方が高い可能性がある。

本研究では供試期間を通じてほぼ安定した量の給餌が行われた。しかし、野外では特に冬期に餌生物の現存量が限られるので採餌量は大きく変動し得る。近縁種であるシュバシコウで行われた研究では、飢餓条件下でエネルギー消費量が27%減少し、推定基礎代謝量の1.3倍程度になったことが示されており（Mata et al. 2001）、コウノトリもそのような不安定な採餌環境に対応して比較的速やかにエネルギー消費量を変化させることができるかもしれない。実際に、2010年末から2011年にかけて、高病原性鳥インフルエンザの防疫のために野外コウノトリへの給餌の実験的な中止（9日間及び55日間の2期）が行われたことがあるが（大迫・江崎 2011）、これに起因して死亡した個体はなく、野外のコウノトリは数週間程度の飢餓条件であれば耐えられる可能性がある。野外に生息するコウノトリが越冬可能な採餌量を今後解明するには、これらのことも考慮する必要がある。

謝 辞

電力中央研究所の白井正樹博士には、方法及び解析に関して多くの助言をいただいた。供試個体の捕獲および採血等の作業では、兵庫県立コウノトリの郷公園の三橋陽子獣医師、船越稔主任飼育員、石垣理恵飼育員、小西史郎飼育員、高島安明飼育員、西淳市飼育員、宮村良雄飼育員、渡辺一憲飼育員の協力を得た。本研究は、文部科学省科学研究費補助金基盤研究（C）26430206及び基盤研究（B）16H02994の成果である。

摘 要

二重標識水（DLW）法を飼育下のコウノトリに適用し、冬期及び夏期の個体の二酸化炭素排出量を推定して、エネルギー消費量に変換した。推定値は、3個体の平均で、冬期には約1,627 kJ/day、夏期には約1,530 kJ/dayとなり、冬期のエネルギー消費量が夏期よりも約6.3%多かった。このエネルギー消費量は、給餌量から計算されるエネルギー量の約58.6～68.5%（全ての結果の最小値及び最大値）に相当していた。

キーワード コウノトリ、DLW、二重標識水法、代謝量

引用文献

- Bevan RM, Speakman JR, Butler PJ (1995) Daily energy expenditure of tufted ducks: a comparison between indirect calorimetry, doubly labelled water and heart rate. *Functional Ecology*, 9:40–47.
- Castro G, Stoyan N, Myers JP (1989) Assimilation efficiency in birds: a function of taxon or food type. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 92:271–278.
- Culebras JM, Moore FD (1977) Total body water and the exchangeable hydrogen. I. Theoretical calculation of nonaqueous exchangeable hydrogen in man. *American Journal of Physiology*, 232:R54–59.
- Ezaki Y, Ohsako Y, Yamagishi S (2013) Re-introduction of the oriental white stork for coexistence with humans in Japan. In: Soorae PS (ed) *Global Re-introduction Perspectives: 2013*: 85–89. IUCN/SSC Reintroduction Specialist Group (RSG) & Environment Agency-ABU, Dhabi.
- Gessaman JA, Nagy KA (1998) Energy metabolism: errors in gas-exchange conversion factors. *Physiological Zoology*, 61:507–513.
- IUCN (2012) *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2012.1.
- Lifson N, McClintock R (1966) Theory of use of the turnover rates of body water for measuring energy and material balance. *Journal of Theoretical Biology*, 12:46–74.
- Masman D, Daan S, Beldhuis HJA (1988) Ecological energetics of the kestrel: daily energy expenditure throughout the year based on time-energy budget, food intake and doubly labeled water methods. *Ardea*, 76:64–81.
- Mata A, Caloin M, Michard-Picamelot D, Ancel A, Le Maho Y (2001) Are non-migrant white storks (*Ciconia ciconia*) able to survive a cold-induced fast? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 130:93–104.
- Mata A, Masseurin-Challet S, Caloin M, Michard-Picamelot D, Le Maho Y (2010) Seasonal variation in energy expenditure and body composition in captive White Storks (*Ciconia ciconia*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 155:19–24.
- Matthews DE, Gilker CD (1995) Impact of ^2H and ^{18}O pool size determinations on the calculation of total energy expenditure. *Obesity Research*, 3 (Suppl.1) :21–29.
- 文部科学省 (2015) 日本食品標準成分表2015年版 (七訂). 全国官報販売協同組合, 東京, 589 p.
- 内藤和明 (2017) 二重標識水法によるコウノトリのエネルギー消費量推定方法の検討. *野生復帰*, 5:23–28.
- 大迫義人・江崎保男 (2011) 野外コウノトリへの実験的な給餌中止とその効果. *野生復帰*, 1:45–53.
- Schoeller DA, Ravussin E, Schutz Y, Acheson KJ, Baertschi P, Jéquier E (1986) Energy expenditure by doubly labeled water: validation in humans and proposed calculation. *American Journal of Physiology*, 250:R823–R830.
- Shirai M, Ito M, Yoda K, Niizuma Y (2012a) Applicability of the doubly labelled water method to the rhinoceros auklet, *Cerorhinca monocerata*. *Biology Open*, 1:1141–1145.
- Shirai M, Yamamoto M, Ebine N, Yamamoto T, Trathan PN, Yoda K, Oka N, Niizuma Y (2012b) Basal and field metabolic rates of Streaked Shearwater during the chick-rearing period. *Ornithological Science*, 11:47–55.
- Speakman JR (1997) *Doubly labelled water. Theory and practice*. Chapman & Hall, London.
- Speakman JR, Nair KS, Goran MI (1993) Revised equations for calculating CO_2 production from doubly labeled water in humans. *American Journal of Physiology*, 264:E912–E917.
- Swanson DL (2010) Seasonal metabolic variation in birds: functional and mechanistic correlate. In: Thompson CF (ed) *Current Ornithology Volume 17*: 75–129. Springer, Berin. doi:10.1007/978-1-4419-6421-2_3
- 田和康太・佐川志朗・内藤和明 (2016) 9年間のモニタリングデータに基づく野外コウノトリ *Ciconia boyciana* の食性. *野生復帰*, 4:75–86.

(2018年3月15日受理)