

脂肪酸解析による伊豆沼周辺に生息する タニシ類の餌同化内容の解明

藤林恵^{*}・中野和典・千葉信男・野村宗弘・西村修

東北大学工学研究科 〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06 TEL 022-795-7473 FAX
022-795-7471 e-mail fujibayashi@eco.civil.tohoku.ac.jp

^{*} 責任著者

キーワード: 脂肪酸 摂食内容 タニシ トロフィックマーカー

2008 年 1 月 31 日受付 2008 年 2 月 20 日受理

要旨 伊豆沼周辺のそれぞれ異なる環境から採集したオオタニシ *Cipangopaludina japonica*, マルタニシ *C. chinensis malleata*, ヒメタニシ *Sinotaia quadrata histrica* の脂肪酸組成を分析し餌同化内容の解明を試みた。それぞれ生息環境が異なるにもかかわらず脂肪酸組成は同様の傾向を示し、緑藻・藍藻由来、細菌由来の脂肪酸含有率が高かった。このことはそれぞれのタニシが同様の食性を有していることを示している。これら3種のタニシはそれぞれ池沼や溜め池、水田、用水路、河川などを生息地としているが、同一の場所に混棲することは稀である。これは同様の食性を示すために排他的な競争が生じるためであると考えられた。

はじめに

伊豆沼周辺には溜め池や水田、流出入河川などが存在し、生物の生息地として多様な環境を提供している。タニシ類に注目してみると溜め池にはオオタニシ *Cipangopaludina japonica*, 水田にはマルタニシ *C. chinensis malleata*, 流出河川にはヒメタニシ *Sinotaia quadrata histrica* が生息しており、伊豆沼周辺という限られた範囲内に3種類のタニシが棲み分けをしている。タニシ類はそれぞれ生息地ニッチが重なり合っているが溜め池でオオタニシとマルタニシが共存することがある(松岡 2001)以外、同一の場所に複数種のタニシが混棲することは稀であり(岡田・倉沢 1950)、伊豆沼周辺の状況のように溜め池にはオオタニシ、水田にはマルタニシ、河川ではヒメタニシが優占することが多い。一般的に棲み分けは排他的な競争の帰結である。特に餌ニッチが一致する種間では強力な排他的競争が生じ、競争優位にある種のみがその場に生き残る。タニシの混棲例が少ないのも餌ニッチの重なりに起因する競争の

結果であると推測される。しかし、タニシの餌同化内容についての研究は少なくオオタニシ、マルタニシ、ヒメタニシとも泥中の有機物や藻類を食べるという傾向が提示されている程度である(岡田・倉沢 1950)。そこで本研究では各タニシの餌源を解明することを目的とし、その方法として脂肪酸組成解析に注目した。一般的にある生物の脂肪酸組成は同化した餌の脂肪酸組成を反映しているため、脂肪酸組成から餌源を推測することができる。また藻類や細菌は特有の脂肪酸を有していることが知られており、これらの特有な脂肪酸は上位の消費者に同化されても変化が少ないため、トレーサーとして利用することが可能である(Napolitano 1998)。本研究では伊豆沼周辺で採集したオオタニシ、マルタニシ、ヒメタニシの脂肪酸組成を比較することで、各タニシの餌嗜好性、同化内容の解明を試みた。

方法

1) 採集地・時期

2007 年 6 月に以下の地点(図 1)でそれぞれのタニシを採集した。

オオタニシ:水生植物園内の溜め池,熊手で池底をさらって採集

マルタニシ:二工区水田

ヒメタニシ:荒川 - 沼口橋下流,熊手で川底をさらって採集

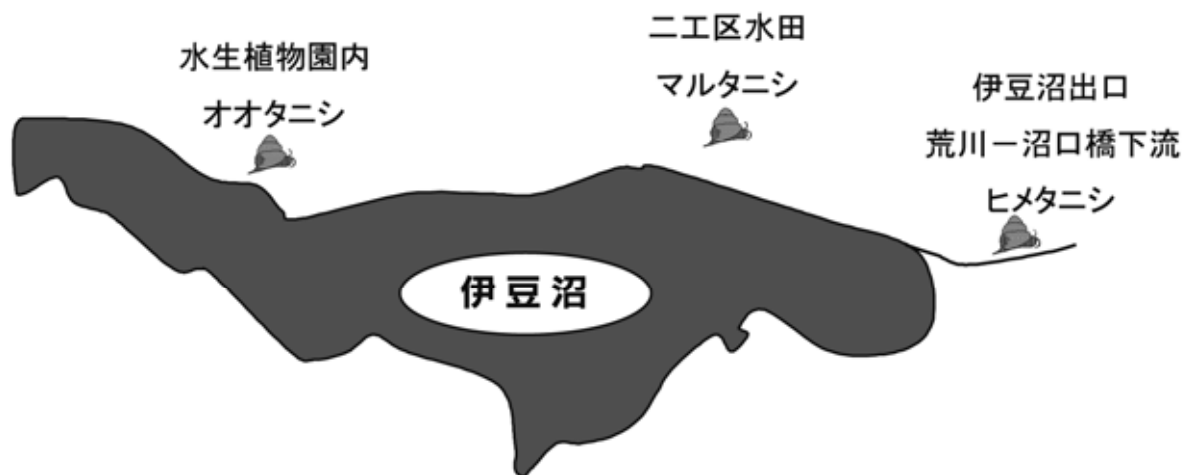


図 1. 各タニシのサンプリング地点

2) 脂肪酸分析方法

採集したタニシは体内の摂食物を排出させるために、フンの排出が起こらなくなるまで塩素を除いた水道水内で餌を与えずに 3～5 日間馴致した。軟体部を凍結乾燥処理し、粉碎したものを試料とした。各タニシとも分析に供した試料数は 1 つずつであるが、その試料はオオタニシ、マルタニシは 3 個体、ヒメタニシは 5 個体から生成した。

脂肪酸分析は Bligh & Dyer (1959) の方法を改良した Mfilinge (2005) らの方法によって行なった。試料をクロロホルム:メタノール:水(体積比で 2:1:1)混合溶液に浸すことで脂質を抽出し、水酸化ナトリ

ウムでケン化を行なった後、3フッ化ホウ素メタノールで誘導体化した。その後、薄層クロマトグラフィーで脂肪酸を分離した。薄層クロマトグラフィーの脂肪酸バンドを削り取り、ヘキサンに溶かしキャピラリーカラム(select for FAME, 0.25mm, 100m)を装填した島津社製ガスクロマトグラフィー(GC-17A)で分析した。キャリアーガスにはヘリウムを用い、150 -5min, 150-230 -4 /min, 230 -10min, 230-250 -4 /min の昇温プログラムで分析した。標準物質としてスペルコ社製の spelco37, bacterial FA, PUFA-3 を用いてリテンションタイムにより脂肪酸の同定を行なった。またピーク面積より各脂肪酸の割合を計算した。標準物質 Bacterial FA 内に含まれる脂肪酸のうちいくつかは脂肪酸名を同定できなかったが、同標準物質に含まれる脂肪酸は細菌由来の脂肪酸であることが分かっているため、同標準物質において検出されるピークと同一のリテンションタイムで計測されたものは「未知の細菌由来FA」として扱った。

表 1. 餌資源ごとに特有な脂肪酸(トロフィックマーカー)

Trophic marker	Source
i-15:0, a-15:0, i-17:0 a-17:0, 18:1 7	細菌
18:2 6, 18:3 3 20:5 3	緑藻/藍藻 珪藻
22:6 3, 18:4 3 LCFA	渦鞭毛藻 陸上植物

また既往の研究において各餌資源に特有な脂肪酸として報告されている脂肪酸(Mfilinge et. al. 2005, Napolitano 1998)を表 1 にまとめトロフィックマーカーとして利用した。18:1 7 は細菌と藍藻に多く含まれる脂肪酸であるが、淡水の藍藻には少量しか含まれないため(Napolitano 1998)、今回 18:1 7 はバクテリア由来の脂肪酸として単一的に扱った。

3) 主成分分析による脂肪酸組成類似度の評価

脂肪酸分析によって得られたトロフィックマーカーをパラメーターとして主成分分析を行なった。主成分分析には標準化した値(それぞれのタニシの全トロフィックマーカーに対する各トロフィックマーカーの割合)を用いた。解析には PRIMER-6 demo. (Clarke & Gorley 2006)を用いた。

表 2. 伊豆沼周辺で採集された各タニシの脂肪酸組成

オオタニシ マルタニシ ヒメタニシ				オオタニシ マルタニシ ヒメタニシ			
14:0	1.7	2.1	1.6	20:0	0.9	0.0	0.4
i15	0.6	0.7	0.5	20:1 9	1.1	2.3	1.3
15:0	1.8	2.1	1.2	20:2 6	7.6	4.4	11.1
unknown B	1.1	1.1	0.8	21:0	0.5	0.0	0.5
16:0	15.0	16.7	14.0	20:3 6	1.2	1.3	1.5
16:1 7	3.8	3.8	2.1	20:4 6	14.2	20.4	14.7
unknown D	2.6	1.0	2.6	20:3 3	0.7	0.5	0.9
17:0	2.3	3.1	1.9	22:0	0.0	0.0	0.5
unknown E	1.0	0.9	0.4	20:5 3	5.0	4.2	3.0
18:0	8.8	9.8	8.0	22:2 6	0.0	0.0	0.3
18:1 9	3.4	4.5	4.7	22:5 3	2.3	2.2	2.0
18:1 7	1.5	1.7	1.4	22:6 3	5.3	1.5	4.3
18:2 6	9.1	7.8	11.4	LCFA	4.0	2.4	4.5
unknown H	1.1	0.0	0.0	Total FAs	100.0	100.0	100.0
18:3 6	1.2	1.1	0.7	3	15.0	12.3	13.1
unknown J	0.0	0.0	0.2	6	33.3	35.0	39.7
18:3 3	2.4	4.3	3.8	3/ 6	0.5	0.4	0.3

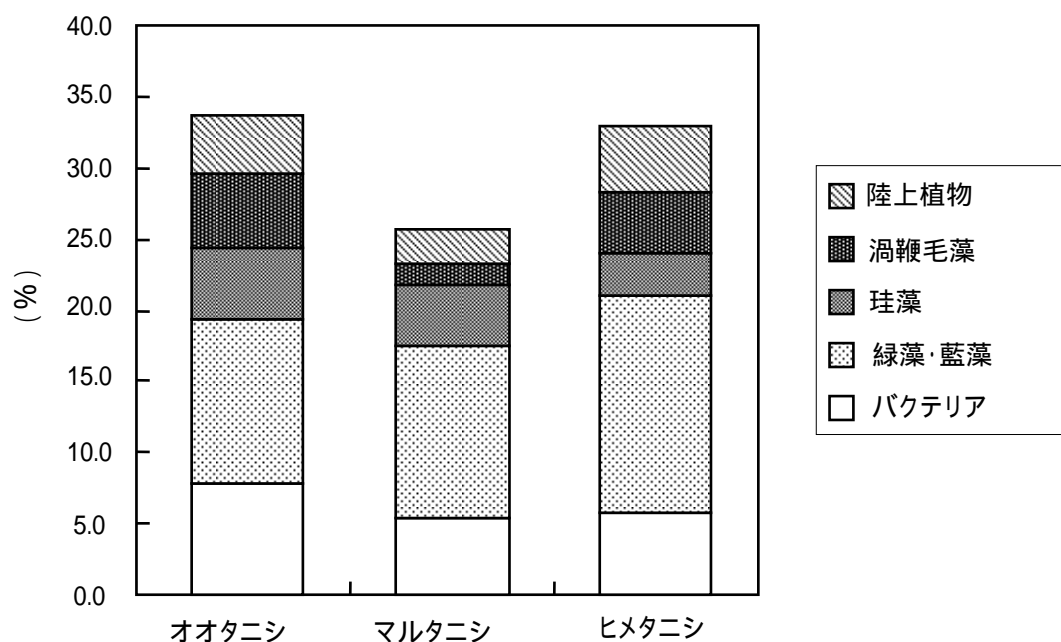


図 2. 各タニシにおけるトロフィックマーカー含有率

結果

各タニシの脂肪酸組成を表 2 に示す。各タニシとも主要な脂肪酸は 16:0, 18:0, 18:2, 20:4 であり、これらの脂肪酸で検出された脂肪酸の 47 ~ 55% を占めた。他の脂肪酸の寄与率も各タニシで大きな差は見られなかった。また各タニシ脂肪酸組成におけるトロフィックマーカーの寄与率を図 2 に示した。全てのトロフィックマーカーが各タニシから検出され、緑藻・藍藻由来のトロフィックマーカーが一番多く含まれ、次いで細菌由来のトロフィックマーカーが多いという同様の傾向を示した。3 番目以下の珪藻、渦鞭毛藻、陸上由来植物については各タニシで傾向が分かれた。

また主成分分析の結果を図 3 に、各主成分のトロフィックマーカーごとの係数を表 3 に示した。プロットの距離がデータの類似度に相当する。各主成分に注目すると PC1 においてオオタニシ (Score:-8.6) とマルタニシ (Score:9.9) が対極に配置され、その中間ややオオタニシ寄りにヒメタニシ (Score:-1.35) が配置された。PC2 においてはオオタニシ (Score:-3.2) とマルタニシ (Score:-2.1) が比較的近くに配置されたのに対しヒメタニシは離れて配置された。全体的に捉えるとオオタニシとマルタニシの距離が大きく、ややオオタニシよりにヒメタニシが配置される構図となった。

考察

溜め池 (オオタニシ)、水田 (マルタニシ)、河川 (ヒメタニシ) とそれぞれ異なる環境で採集したタニシであるが脂肪酸組成は同様の傾向を示した。脂肪酸組成は同化した餌の脂肪酸組成に大きく影響を受けることから、タニシの餌同化内容は種間でかなり似通っていることが示唆された。特に今回は各タニシの

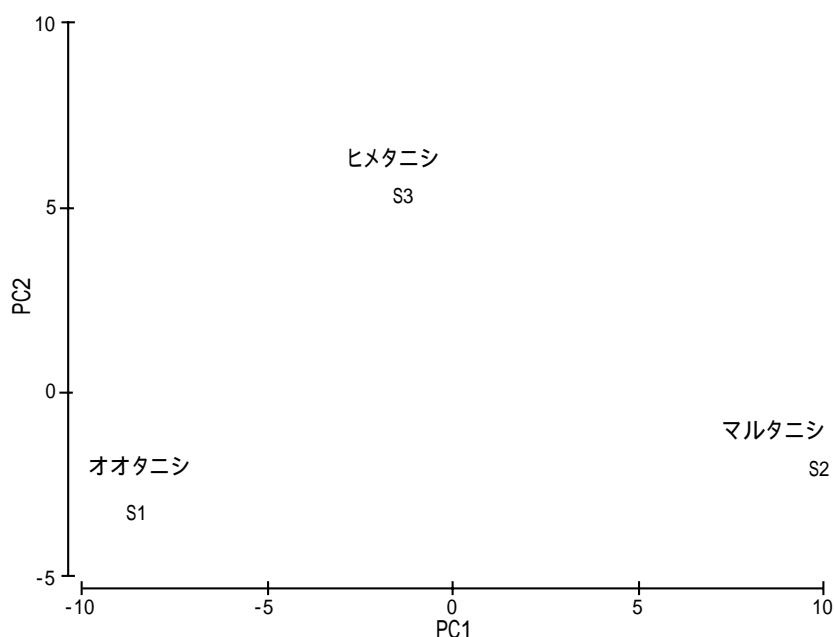


図 3. トロフィックマーカーを指標にした主成分分析

採集地点の環境が異なるため、餌環境も異なると考えられる。そのような状況の中でも同様の餌を同化しているということから、各タニシの餌ニッチの重複度は大きいと思われる。餌ニッチの一致は排他的競争の要因となり、タニシ種間で混棲がほとんどみられない原因になっているものと考えられる。また各タニシは本研究で使用した全てのトロフィックマーカーを含有しており(図 2)、各タニシは細菌、緑藻・藍藻、珪藻、渦鞭毛藻、陸上植物を餌として同化していることが示唆された。それぞれのトロフィックマーカーの寄与率は各タニシで相違が見られるが、緑藻・藍藻、細菌のトロフィックマーカーが各タニシの主要なトロフィックマーカーであるという傾向は一致している。その一方で、マルタニシは他の2種のタニシと比較して渦鞭毛藻と陸上由来の脂肪酸が少なく、また全脂肪酸に占める全トロフィックマーカーの割合も他の2種のタニシよりも少ない。このことはマルタニシの食性が3種のタニシ間で相対的に特異的であることを示唆している。

ところで数ある脂肪酸のうち 3 系列と 6 系列の脂肪酸は餌源解明の際にしばしば注目される脂肪酸である。表 2 に示された脂肪酸のうち語尾に 3, 6 と記された脂肪酸がそれぞれ該当する。3, 6 系列の脂肪酸を新たに合成できるのは植物に限られ、これらの脂肪酸は動物体内でそれぞれ他の系列の脂肪酸に変化することがない(Sargent & Kevin 1981)。このような特徴を有するため、これらの脂肪酸は食性を推測する際に良い指標となる。タニシの脂肪酸組成を見ると、3 種のタニシとも 6 系列の

表 3. 各主成分におけるそれぞれのトロフィックマーカーとの相関

	PC 1	PC 2
細菌	-0.19	-0.75
緑藻 (18:2 6)	0	0.59
緑藻 (18:3 3)	0.48	0
珪藻	0.54	-0.15
渦鞭毛藻	-0.62	0.03
陸上由来	-0.22	0.26

脂肪酸を 3 系列の脂肪酸の 2~3 倍含有しており、6 系列の脂肪酸を含む餌を多く摂食・同化していることが分かる。ところが一般的に水中の藻類では 3 系列の脂肪酸が卓越しており(Cobelas & Lechado 1989)、6 系列の脂肪酸は 3 系列の脂肪酸と比較して相対的に希少資源である。タニシ採集地点の底泥や付着藻類についても 3 系列の脂肪酸が卓越していると考えられ、3 種のタニシ

シがそれぞれ 6 系列の脂肪酸に嗜好性を持っていることも排他的競争を生じさせる要因になっているのではないだろうか。

タニシの脂肪酸組成は種間で同様の傾向を示したが、トロフィックマーカーについての主成分分析によれば、オオタニシとマルタニシのプロットが3種間の組み合わせの中で相対的に一番離れていた、すなわち類似度が小さかった。このことはオオタニシとマルタニシの食性の相違が相対的に大きいことを示唆しており、溜め池においてオオタニシとマルタニシの共生が起こることがある要因のひとつなのかもしれない。

謝辞

伊豆沼・内沼環境保全財団の嶋田哲郎氏、進東健太郎氏、藤本泰文氏にはタニシ生息地をご案内いただいた上に採集作業までお手伝いいただきました。心よりお礼申し上げます。研究発表の機会を頂いたことも重ねて御礼申し上げます。

引用文献

- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917
- Clarke, K.R. & Gorley, R.N. 2006. PRIMER v.6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E Ltd. Plymouth, U.K.
- Cobelas, M. A. & Lechado, J. Z. 1989. Lipids in microalgae. A review I. *Biochemistry. Grasas Y Aceites* 40: 118-145
- 松岡敬二. 2001. ため池の自然 - 生き物たちと風景. (株)信山社サイテック, 東京.
- Mfilinge, P. L., Meziane, T., Bachok, Z. & Tsuchiya, M. 2005. Litter dynamics and particulate organic matter outwelling from a subtropical mangrove in Okinawa Island, South Japan. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 63: 301-313
- Napolitano, G. E. 1998. Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystem. In: M. T. Arts & B. C. Wainman(Eds). *Lipids in Freshwater Ecosystems*. pp. 21-44. Springer, New York.
- 岡田弥一郎・倉沢秀夫. 1950. 水産動物の研究(). 日本出版協同株式会社, 東京.
- Sargent, J. R. & Kevin J. W. 1981. Lipids and hydrocarbons in the marine food web. In: A. R. Longhurst (Ed), *Analysis of Marine Ecosystem*. pp. 491-533. Academic Press, London.

Application of food assimilation analysis using fatty acids composition of pond snails
originating from the Izunuma area

Megumu Fujibayashi*, Kazunori Nakano, Nobuo Chiba, Munehiro Nomura,
& Osamu Nishimura

School of Engineering, Tohoku University
6-6-06 Aoba Aramaki, Sendai 980-8579, Japan
TEL022-795-7473 FAX 022-795-7471 e-mail fujibayashi@eco.civil.tohoku.ac.jp

* Corresponding author

Abstract Three pond snails, *Cipangopaludina japonica*, *C. chinensis malleata*, and *Sinotaia quadrata histrica*, were collected from different habitats in the Izunuma area. We analyzed their fatty acids composition for inferring food assimilation. Although each pond snail lives in a different habitat, fatty acids composition for each snail showed similar patterns, and high contributions of green algae, cyanobacteria, and bacteria fatty acids were detected. This indicated each pond snail has similar food assimilation tendencies. Though each pond snail has a potential to live in either pond, rice field, or river habitat, the coexistence of three pond snails rarely occurs. This might be a result of exclusive competition for food caused by same food preferences.

Keywords: fatty acid, food assimilation, pond snail, trophic marker

Received: January 31, 2008 / Accepted: February 20, 2008