

脂肪酸を用いた水圏生態系の食物網解析

九州大学大学院工学研究院 環境社会部門 助教 藤林 恵

要 旨

食物連鎖は生態系の物質循環を駆動する主要な機構の一つである。食物網とは、生態系内の食物連鎖を総合的にあらわしたものであり、食物網の理解は生態系保全や管理に有用である。ある脂肪酸は生物分類群ごとに固有、あるいは特異的に多く含まれ、その脂肪酸は食物連鎖を介して高次の動物に移動しても保存性が高く、トレーサーとして利用可能である。例えば、秋田県八郎湖ではアオコの発生する夏季に、様々な魚類中のリノレン酸やリノール酸含有率が増加する。これらの脂肪酸は、アオコを形成する藍藻類に多く含まれる脂肪酸であることから、八郎湖において藍藻が餌源として食物網に組み込まれていることが分かる。従来利用されてきた胃内容物や安定同位体比などの手法と組み合わせながら活用することで、水圏生態系の食物網の理解が深化すると期待される。

1. はじめに

自然界において、生物間の食う一食われるの関係は食物連鎖と呼ばれ、物質循環を駆動する主要な機構の一つとなっている。ある生態系において、出現する様々な生物間の食物連鎖の関係を描くと、複雑な網目状の関係が見られることから、系内の食物連鎖の総体は食物網と呼ばれる。食物網の情報は個体群や群集の動態を理解する上で本質的な役割を果たしている。

食物網に関する情報はしばしば生態系管理に対しても重要な示唆をもたらす。例えば、ある希少種の餌源や、その希少種を捕食する動物に関する情報は、その希少種を対象とした具体的な保全策を講じる上で不可欠である。また、汚染物質の生物濃縮のルートの特定、捕食を活用した生物学的防除手法の開発、外来種が在来生態系に与える影響の予測、水産資源の資源管理などにも食物網の情報は生かされる。そのため、食物網解析は生態学や生態工学の分野において重要な課題であり、これまで多くの研究がなされている。

水圏生態系の食物網解析において、広く用いられている手法が胃内容物の観察、炭素・窒素安定同位体比分析、そして脂肪酸分析である。胃内容物の観察と炭素・窒素安定同位体比を活用した食物網解析は国内に

においても多くの研究事例が見られる。ところが、脂肪酸を活用した食物網解析は欧米を中心に多数見られるものの、国内においては事例が少ない。それぞれの食物網解析ツールには長所・短所があり、それらを理解した上で組み合わせながら相補的にデータを取得することが、食物網を理解する上で有効である。

本稿では、夏季に藍藻の異常増殖いわゆるアオコが発生する秋田県八郎湖を対象として実施した食物網解析を例として、まずは胃内容物の観察や炭素・窒素安定同位体比を利用した食物網解析手法について紹介する。そして、脂肪酸を用いた食物網解析について、その原理や注意点、そして実際の適用例を紹介する。

2. 胃内容物

胃内容物の目視や顕微鏡による観察は専門的な分析機器を必要としないため、炭素・窒素安定同位体比分析や脂肪酸分析と比較して、安価である。また、胃から検出された内容物については、動物がそれらを食べていることに疑いの余地はなく、餌に関する決定的な証拠となる。また、得られるデータの分類群的な解像度が優れている点も胃内容物の観察の利点である。胃内容物の観察は、種レベルで餌源を特定することが可能であるが、炭素・窒素安定同位体比や脂肪酸分析ではそれより上位の分類階級までしか特定できないことが多い。

胃内容物の観察の欠点としては、スナップショット的な情報であることが挙げられる。対象動物が採取された直前に食べていた餌しか知ることができない。空胃の個体を得られることも多く、採取のタイミングに強く依存してしまう。また、消化が進行すると判別が難しい。内容物に餌の外見的特徴を示す形跡が残っていなければ判定は不可能である。そのため、消化に対する耐性が高い餌、あるいは低い餌でそれぞれ過大評価、過小評価が生じやすい(ただし、目視や顕微鏡観察で判定ができない状態の内容物であっても、遺伝子が破壊されていないならば、遺伝子の情報から同定することが可能である¹⁾)。また、内容物を同定できたとしても、必ずしもそれが餌として同化されているとは限らない²⁾。例えば、藍藻が魚に摂食されても同化されずに糞として水中に回帰することが知られている³⁾。すなわち、この魚の胃から藍藻が検出されれば、藍藻が餌と判定されるかもしれないが、藍藻を餌に飼育してもこの魚を育てることはできないだろう。

秋田県八郎湖に生息するワカサギの胃内容物の観察を行った事例を紹介する⁴⁾。2019年6~11月に毎月1回建網を用いて湖心部付近でワカサギを採取した。採取したワカサギは消化の進行を防ぐために、ただちに5%中性ホルマリン溶液で固定し、実体顕微鏡下でワカサギの胃内容物を観察した。供試した個体数は月によって異なり、5~20個体である⁴⁾。

毎月ワカサギの胃内容物はおもに動物プランクトンによって占められていた(図1)。種構成は月によって大きく異なっており、アオコが発生する7~9月の夏季は主にゾウミジンコを餌として利用していることがわかる。

3. 炭素・窒素安定同位体比

炭素・窒素安定同位体比は今日の食物網研究でもっとも広く使われている。ある試料の炭素・窒素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$ or $\delta^{15}\text{N}$)は、標準試料に対する同位体存在比の千分率偏差として、次式で定義される。

$$\delta^{13}\text{C} \text{ or } \delta^{15}\text{N} = \frac{R(\text{試料}) - R(\text{標準物質})}{R(\text{標準物質})} \times 1000(\text{‰})$$

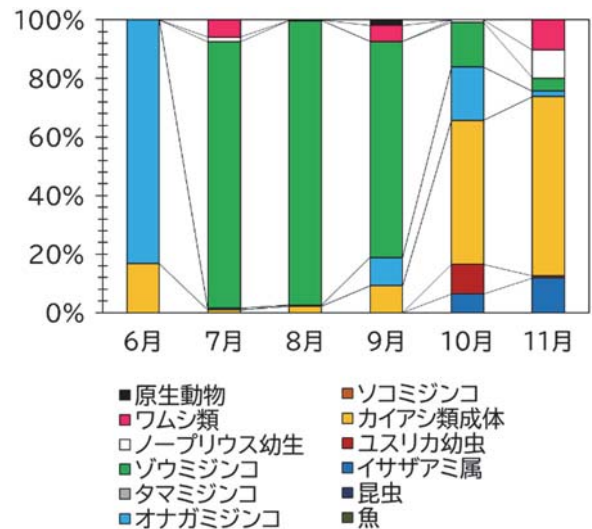


図1 2019年に八郎湖で採取されたワカサギの胃内容物にしめる各動物の個体数割合(%)

ここで、Rは $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ あるいは $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ である。炭素および窒素の標準物質はそれぞれ南カロライナ州ピーデー層で産出されるベレムナイトの化石と空気中の窒素である。水圏生態系でしばしば試料となるリター、懸濁物質、底泥、水生動物などの炭素安定同位体比は標準物質よりも ^{13}C の存在比が小さく、 $\delta^{13}\text{C}$ は負の値を取ることが多い。

動物を構成する炭素や窒素は餌に由来するため、動物と同化した餌の炭素・窒素安定同位体比は近い値を取る。動物と同化した餌の安定同位体比の差を濃縮係数とよぶが、濃縮係数は炭素安定同位体比で0~1‰、窒素で2~3‰ほどに収まることが多く⁵⁻⁸⁾、動物の値が餌よりも高くなる。動物の方が高くなるのは、代謝の過程で同位体効果により、軽い元素の方が体外に排出されやすく、体内に重い元素が残りやすいためである。この濃縮係数の値の範囲に収まらない事例が多数報告されている点⁹⁻¹⁰⁾に留意する必要はあるものの、動物の炭素・窒素安定同位体比から同化している餌源の炭素・窒素安定同位体比を推定することができる。とくに、窒素安定同位体比は同化した餌と動物で2~3‰と大きく異なることから、栄養段階の推定によく利用される。また、潜在餌源が複数ある場合においても、各潜在餌源の炭素・窒素安定同位体比の値から、動物の炭素・窒素安

定同位体比を得るための潜在餌源の組み合わせをミキシングモデルによって計算するアプリケーションが公開されている¹¹⁻¹³⁾。炭素・窒素安定同位体比による食物網解析では餌源の寄与率を知ることが可能である。

しかし、炭素・窒素安定同位体比による食物網解析では、その解析の特性上、潜在餌源の炭素・窒素安定同位体比を得ることが必要である。すなわち、潜在餌源の選定やサンプリングが不可欠であるが、それが困難な場合も少なくない。例えば、潜在餌源が底泥や懸濁物質などさまざまな有機物の混合物であり、その中の一部を同化している場合、それぞれの構成要素ごとに分離し個別に同位体分析に供試する必要がある。また、実際には餌として利用されていないにもかかわらず、炭素・窒素安定同位体比が実際の同化餌源と近いために、主要な餌源と誤って特定してしまうことも起こりうる。上述のミキシングモデルを計算する際も、実際には利用されていない潜在餌源をエンドメンバーとして与えてしまうと、計算結果に影響し、実態に即した結果が得られにくくなる。事前の胃内容物の観察、生態的特徴の考慮(摂食機能群、行動範囲など)、物質収支の観点¹⁴⁾などからある程度潜在餌源を絞り込むことは可能であるが、潜在餌源間に同位体比の有意差がなければ、餌源を区別することができない。

動物の炭素・窒素安定同位体比はある一定期間に同化した餌の炭素・窒素安定同位体比の積分値となる。そのため、日頃利用している主要な餌源を知ることができる長所がある。その一方で、餌源の炭素・窒素安定同位体比が短期間に変動している場合は、動物の採取に先立って、連続的に潜在餌源を採取し、炭素・窒素安定同位体比の時間変動を把握しておくことが望ましい。例えば毎月サンプリングを行っている場合、同月に採取した動物と潜在餌源の同位体比とを比較するのではなく、餌源については動物の代謝速度を考慮した上で、同月を含む過去1~2月間の平均値を採用すると良いであろう。ただし、動物が当該期間に同じ餌源に依存していることが前提となる。

ここでは、八郎湖で炭素・窒素安定同位体比を利用して食物網を解析した事例を紹介する。図2は2019年8月に八郎湖で採取した底泥、アオコ、そして動物プラ

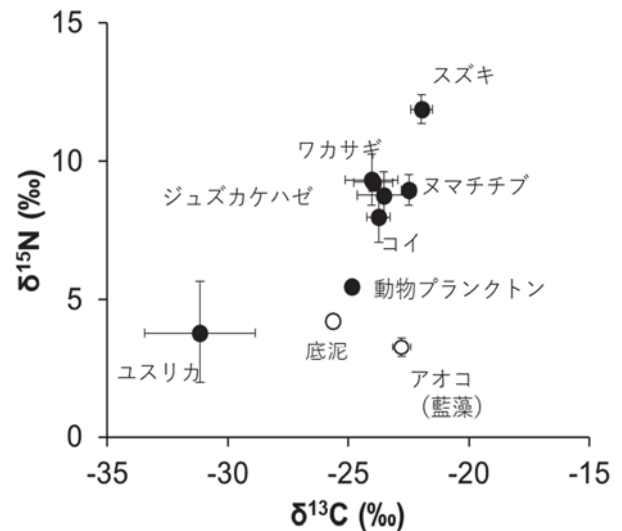


図2 2019年8月に八郎湖で採取された底泥、アオコ、水生動物の炭素・窒素安定同位体比 (エラーバーは標準偏差を示す)

ンクトン、魚類などの水生動物の炭素・窒素安定同位体比を示している。

アオコと底泥の炭素・窒素安定同位体比が比較的近い値をとっており、動物の炭素安定同位体比は底泥とアオコの間分布している。アオコや底泥が炭素源として食物網を支えていると読み取れるが、底泥とアオコの炭素安定同位体比に近いことから、どちらが主要な炭素源であるかを判定するのは難しい。窒素安定同位体比に注目すると、アオコや底泥の2~3‰高い位置に動物プランクトンが、その3~4‰高い位置にワカサギなどの魚類が、そこからさら2~4‰高い位置にスズキがプロットされている。実際の食物網では、一つの餌に依存せず、様々な餌を食べていることから、栄養段階があいまいになることがあるが、図2に見られる窒素安定同位体比の値からは、八郎湖の動物群集の栄養段階が比較的きれいに分かれていることが窺える。ところで、ユスリカの炭素安定同位体比が低く、他のプロットと離れている。ユスリカがメタン栄養細菌を摂食すること¹⁵⁾、メタン酸化細菌が低い炭素安定同位体比をとること^{15,16)}が知られている。ユスリカが底泥中のメタン酸化細菌を選択的に同化した結果、図2のような配置になったと推察される。底泥の炭素安定同位体比が低い値になっていないのは、底泥に含まれる他の主要な有機物の値を反映しているためと解釈される。

4. 脂肪酸を用いた食物網解析の概要

脂肪酸(Fatty Acids: FA)とは一価の長鎖カルボン酸であり, その種類によって炭素数や二重結合の数や位置が異なり, それらの相違がそれぞれの脂肪酸を特徴付けている. 二重結合を含まない脂肪酸を飽和脂肪酸(Saturated Fatty acid: SFA), 二重結合を含むものを不飽和脂肪酸と呼び, 不飽和脂肪酸については二重結合を一つ持つものと二つ以上持つものに分類され, それぞれ単価不飽和脂肪酸(Mono Unsaturated Fatty Acids: MUFA)および多価不飽和脂肪酸(Poly Unsaturated Fatty Acids: PUFA)と呼ばれている. 脂肪酸は主にトリアシルグリセロールやリン脂質といった脂質の構成要素として生体内に存在しており, 代謝によるエネルギー源や生物膜の構成要素としての役割を担い, 生命活動において欠かすことのできない物質である.

脂肪酸組成を分析することで餌源が解明できるのは餌資源によって特有の脂肪酸が存在し, それら特有の脂肪酸は食物連鎖の過程で高次の動物に移動しても動物の体内で保存されるためである. この二つの条件を満たす脂肪酸はトロフィックマーカーと呼ばれておりトレーサーのように用いることが可能である. 実際には, 厳密な意味でのトロフィックマーカーは存在しないが, 特異性と保存性が食物網を解析するうえで差し支えない程度に成り立っており, これまでに多くの食物網研究で脂肪酸が利用されている.

脂肪酸トロフィックマーカーは, 以下に示すように分類群ごとに特有な脂肪酸が知られているため, 必ずしも潜在餌源をサンプリングする必要がなく, 動物の脂肪酸組成からある程度の餌源の情報を得ることが可能である. 脂肪酸トロフィックマーカーに注目した研究では, 対象とする動物に含まれる脂肪酸トロフィックマーカー含有率の地点間や季節間の比較を行うことで, 餌の寄与度の推定や比較を行って¹⁷⁻¹⁹⁾. 特に $\omega 3$ 系列および $\omega 6$ 系列の脂肪酸は動物が新たに体内で合成できないため, トロフィックマーカーとしての利便性が高い.

トロフィックマーカーとして利用可能な特定の脂肪酸の含有率に注目した解析のほかに, ある脂肪酸の比²⁰⁾や, 脂肪酸全体あるいは選定した脂肪酸を対象に多変

量解析を行い, 脂肪酸組成の類似度から餌源を検討する試み²¹⁾も多くなされている. 動物の脂肪酸組成を分析すると数十種類の脂肪酸が検出されるが, 同種であれば餌源が似通っている個体間で脂肪酸組成の類似度が高くなる. そのため, 脂肪酸組成を個体群あるいは個体間で比較することで餌環境を評価することが可能である.

5. 脂肪酸トロフィックマーカー

脂肪酸トロフィックマーカーは主に食物網の基盤をなす生産者について知られている. さまざまな藻類の脂肪酸組成が分析されており, 網ごとに特徴的な脂肪酸組成を有していることが明らかになっている^{22, 23)}. また, 腐食連鎖やマイクロバイアルループで重要な役割を果たす細菌についても脂肪酸が調べられており, 細菌にも特有な脂肪酸が含まれていることが広く知られている²⁴⁾. 水圏生態系を対象にした食物網研究で広く利用されているトロフィックマーカーを表1に示す. ほかに多くのトロフィックマーカーが提唱されている. 詳細については Parrish²⁵⁾を参照されたい.

表 1 食物網研究で広く利用されている脂肪酸トロフィックマーカー²⁶⁻²⁸⁾

脂肪酸	マーカー	出典
i-15:0, a-15:0	細菌	Mfilinge et al., 2005
i-17:0, a-17:0		
18:1 $\omega 7$		
18:2 $\omega 6$, 18:3 $\omega 3$	緑藻, 藍藻, 海草・藻, 高等植物	Mfilinge et al., 2005
20:5 $\omega 3$	珪藻	Mfilinge et al., 2005
18:4 $\omega 3$, 22:6 $\omega 3$	渦鞭毛藻	Napolitano, 1999
Long chain fatty acid (C24 ~ C32:0)	高等植物	Meziane et al., 1997

6. 脂肪酸を用いた食物網解析時に留意すべき点

表1において, 20:5 $\omega 3$ は珪藻のマーカーとして示されている. 実際に多くの研究が 20:5 $\omega 3$ を珪藻のマーカーとして活用している¹⁷⁾. しかし, 20:5 $\omega 3$ は珪藻以外にもクリプト藻や紅藻などの複数の生産者が合成可能であることが知られている²²⁾. そのため, 20:5 $\omega 3$ を珪藻のマ

ーカーとして利用する際は、調査対象地において事前に顕微鏡観察等を行い、20:5 ω 3 供給源となる他の藻類の存在が無視できることを確認することが望ましい²⁹⁾。ただし、脂肪酸の炭素安定同位体比を分析することで、オーバーラップした脂肪酸トロフィックマーカーも同位体比の違いで区別できることが示されており^{19, 30)}、今後の発展が望まれる。

対象とする動物の代謝や同化特性も脂肪酸組成に影響を与える点に留意する必要がある。たとえば、珪藻のマーカーとして利用される 20:5 ω 3 と渦鞭毛藻のマーカーとして利用される 22:6 ω 3 を比較すると、後者の方が選択的に同化される事例が報告されている³¹⁾。異なる動物種間での脂肪酸組成や脂肪酸トロフィックマーカーの含有率を比較する際、または、同一動物種間で異なる脂肪酸トロフィックマーカー含有率を比較する際には注意が必要である。ところで、筆者は同じ餌で育てた淡水産巻貝マルタニシにおいて、オスとメスに脂肪酸組成の有意な差を検出している(未発表)。また、カキは年齢によって脂肪酸に対する同化特性が変化する³²⁾。雌雄や成長ステージなどの違いが直接的に脂肪酸組成に影響を与えている可能性があり、分析に供試した個体のサイズや、可能であれば雌雄や年齢についても記録しておくことが望ましい。

動物による脂肪酸合成についても留意する必要がある。近年の遺伝子解析によって、様々な動物に ω 3 系列の脂肪酸合成能が備わっている可能性が指摘されている³³⁾。動物による ω 3 系列脂肪酸の合成が食物網解析の障害となるレベルで生体内で起こっているのかは不明であり、現在も研究が進められている。

7. 脂肪酸を用いた食物網解析の事例

八郎湖で脂肪酸を用いて食物網を解析した事例を紹介する。2016 年 6 月から 11 月にかけて毎月 1 回湖心部付近で魚類を採取し、脂肪酸組成を分析した。また、2019 年 6 月～11 月に同地点においてワカサギ当歳魚を、7 月～11 月に動物プランクトンを採取し、脂肪酸組成を分析した。魚類については尻びれ付近の筋肉を分析に供試した。

八郎湖は夏季に藍藻が異常増殖し、アオコが発生する。藍藻のトロフィックマーカーは 18:2 ω 6 と 18:3 ω 3 が使われるが、これらの脂肪酸は緑藻、水草、高等植物にも含まれる。ただし、八郎湖においては緑藻が少なく、水草の繁茂も見られない。また、高等植物のトロフィックマーカーである LCFA も湖水中からほとんど検出されないことから、高等植物由来の 18:2 ω 6, 18:3 ω 3 も無視できると仮定し、これらの脂肪酸が八郎湖においては藍藻の餌としての寄与を推定するマーカーとして利用できると判断した。

各魚類の藍藻および珪藻の脂肪酸トロフィックマーカー含有率の経時変化を図 3 に示す。ここで、脂肪酸含有率とは全脂肪酸に対する 18:2 ω 6+18:3 ω 3 (藍藻)あるいは 20:5 ω 3 (珪藻)の重量割合(%)である。また、ワカサギについては当歳魚と1歳魚を区別して示した。

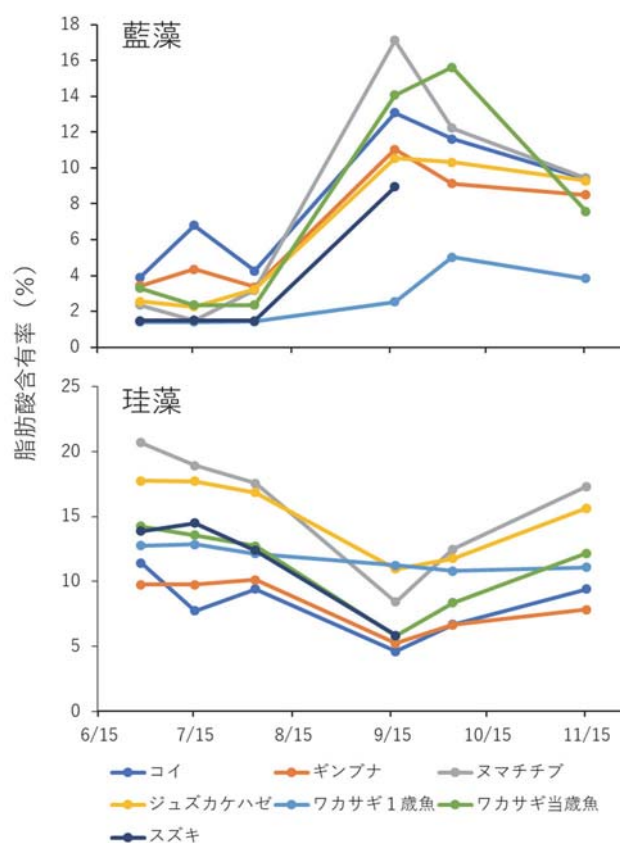


図 3 2016 年に八郎湖で採取した魚類中の藍藻および珪藻由来脂肪酸含有率の経時変化³⁰⁾

調査を実施した 2016 年は、7 月にアオコの発生が目視によって認められた。魚類中の藍藻由来の脂肪酸含有率は 9 月の調査時に各魚種とも急激に上昇しており、

アオコの発生から 2 カ月ほど遅れて、藍藻由来の脂肪酸が食物連鎖を介して魚類に行きわたっていることが分かる。魚のサイズや摂食量にも依存すると考えられるが、餌の脂肪酸が魚類の筋肉に反映されるまで 1 ヶ月程度であるため³⁴⁾、本研究で観測された 2 カ月のタイムラグは、アオコ発生初期は藍藻が餌として利用されていなかったためと考えられる。魚類中の珪藻由来の脂肪酸含有率が 8 月まで一定に推移していることから、8 月までは珪藻が八郎湖の食物網を支えていたものと推察される。

2019 年に採取されたワカサギ当歳魚の脂肪酸トロフィックマーカーの含有率を対象として主成分分析を行った結果を図 4 に示す。各月でプロットされているエリアが異なり、ワカサギの脂肪酸トロフィックマーカーに明確な月変化があることや、珪藻と藍藻由来脂肪酸に負の相関があることが見て取れる。また、6 月に珪藻、8、9 月に藍藻、11 月に珪藻や渦鞭毛藻類のマーカーが多い傾向にあり、生産者の月変化がワカサギの脂肪酸組成に明瞭に表れている。

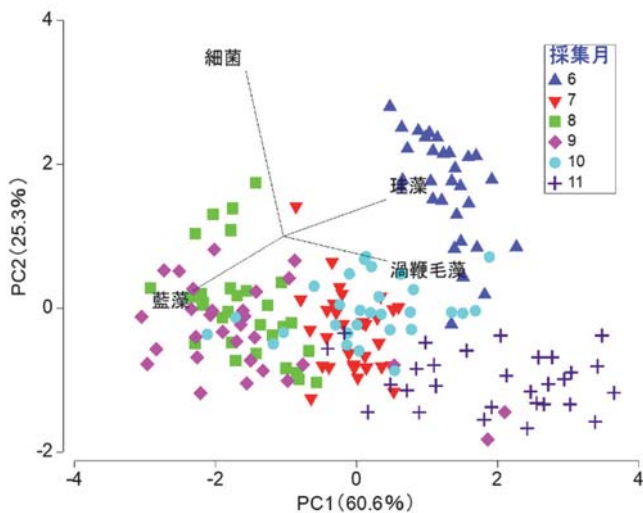


図 4 2019 年に八郎湖で採取したワカサギ当歳魚中の脂肪酸トロフィックマーカーを対象とした主成分分析

以上の結果より、八郎湖では夏季に藍藻由来の脂肪酸が魚類に同化されていることが分かる。ところが、脂肪酸分析からはこれらの魚類が藍藻を直接食べたのかを判定することができない。ただし、ワカサギについては胃内容物から、アオコが発生する夏季にゾウムシジンを

主に食べていることを先に示した(図 1)。また、夏季の八郎湖においてみられる主要な動物プランクトンのうちゾウムシジンを顕著な藍藻由来脂肪酸含有率の増加が夏季に観測されている(図 5)。また、窒素安定同位体比より、動物プランクトンが 1 次消費者であり、スズキを除く魚類が 2 次消費者であることも示されている(図 2)。すなわち、ワカサギはゾウムシジンの捕食を通して藍藻由来の脂肪酸を得ていると考えられる。以上の結果を踏まえて描いた八郎湖における夏季の食物網を図 6 に示す。様々な手法を用いることで、食物網がより明瞭になる。得られた食物網に関する情報は、生態工学的なアオコ抑制手法の考案や、水産資源の管理に向けて有用な情報となると期待される。

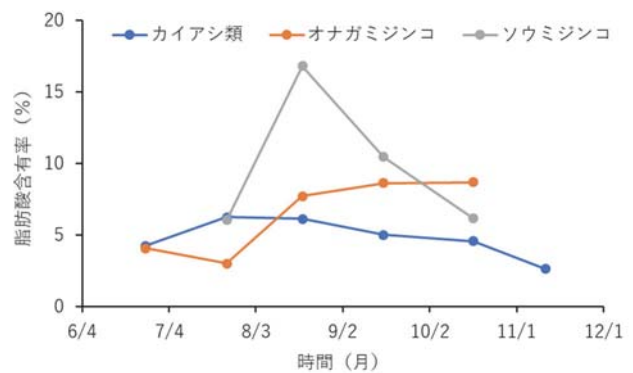


図 5 2019 年に八郎湖で採取した動物プランクトン中の藍藻由来脂肪酸含有率の経時変化⁴⁾

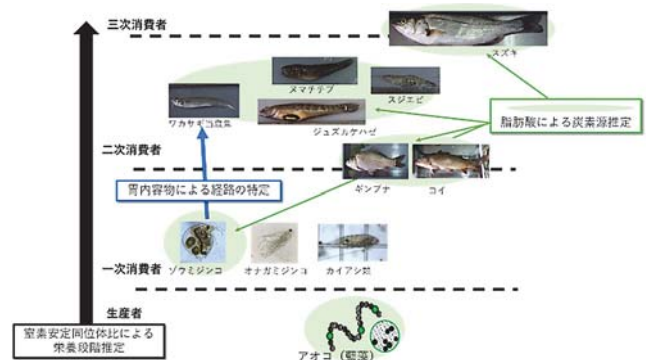


図 6 胃内容物、窒素安定同位体比、脂肪酸によって明らかになった八郎湖の夏季における食物網

謝辞: 本原稿で紹介した研究の一部は、環境省・(独)環境再生保全機構の環境研究総合推進費(JPMEERF20195R01)および JSPS 科研費 JP 22534554 の助成を受けて実施した。

参考文献

- 1) R. Olsen, et al.: A molecular gut content study of *Themisto abyssorum* (Amphipoda) from Arctic hydrothermal vent and cold seep systems. *Mol. Ecol.*, 23, 3877–3889 (2014).
- 2) L. Barillé and B. Cognie: Revival capacity of diatoms in bivalve pseudofaeces and faeces. *Diatom Res.*, 15, 11–17 (2000).
- 3) C. Lewin et al.: Phosphorus uptake by *Microcystis* during passage through fish guts. *Limnol. Oceanogr.*, 48, 2392–2396 (2003).
- 4) 新田真弓ら: 八郎湖におけるワカサギのゾウミジンコに対する捕食の有無と選択性の評価. 環境工学研究論文集, 57, III_1–III_9 (2020).
- 5) M. J. DeNiro and S. Epstein: Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42, 495–506 (1978).
- 6) B. J. Peterson and B. Fry: Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 18, 293–320 (1987).
- 7) M. Minagawa and E. Wada: Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48, 1135–1140 (1984).
- 8) M. Vanderklift and S. Ponsard: Sources of variation in consumer diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis. *Oecologia*, 136, 169–182 (2003).
- 9) J. H. McCutchan Jr. et al.: Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen and sulfur. *Oikos* 102, 378–390 (2003).
- 10) S. Caut et al.: Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *J. Appl. Ecol.*, 46, 443–453 (2009).
- 11) 笠井亮秀: 3章安定同位体比を用いた餌料源の推定モデル. 安定同位体スコープで覗く海洋生物の生態, 恒星社厚生閣, 46–57 (2008).
- 12) 青木茂: 4章浜名湖におけるアサリの食物源. 安定同位体スコープで覗く海洋生物の生態, 恒星社厚生閣, 58–69 (2008).
- 13) B. C. Stoch et al.: Analyzing mixing systems using a new generation of Bayesian tracer mixing models. *Peer J*, 2018, e5096 (2018).
- 14) T. Komorita et al.: Food Sources for *Ruditapes philippinarum* in a Coastal Lagoon Determined by Mass Balance and Stable Isotope Approaches. *Plos one*, 9, e86732 (2014).
- 15) 安野翔: 湖沼におけるメタン食物連鎖: 特にユスリカ幼虫が介する底生食物連鎖経路について. 陸水学雑誌, 81, 33–44 (2020).
- 16) P. C. Ho et al.: Summer profundal hypoxia determines the coupling of methanotrophic production and the pelagic food web in a subtropical reservoir. *Freshw. Biol.*, 61, 1694–1706 (2016).
- 17) M. Fujibayashi et al.: Evaluation of food sources assimilated by unionid mussels using fatty acid trophic markers in Japanese freshwater ecosystems. *J. Shellfish Res.*, 35, 231–235 (2016).
- 18) M. Fujibayashi et al.: Food utilization of shell-attached algae contributes to the growth of host mud snail, *Bellamya chinensis*: Evidence from fatty acid biomarkers and carbon stable isotope analysis. *Limnologica*, 57, 66–72 (2016).
- 19) M. Fujibayashi et al.: Origin of carbon and essential fatty acids in higher trophic level fish in headwater stream food webs. *Biomolecules*, 9, 487 (2019).
- 20) K. Sugawara et al.: Assimilation of cyanobacteria by the freshwater bivalve *Nodularia douglasiae*: Insights from long-term laboratory and field feeding experiments. *J. Water Environ. Technol.*, 19, 74–84 (2021).
- 21) 野中健太郎ら: 志津川湾の湾奥河口部と湾中部における動物群集のトロフィックマーカー組成の比較. 環境工学研究論文集, 56, III_255–III_263 (2019).
- 22) M. A. Cobelas and J. Z. Lechado: Lipids in microalgae. A review 1. Biochemistry. *Grasas y Aceites*, 40, 118–145 (1989).
- 23) S. Taipale et al.: Fatty acid composition as biomarkers

- of freshwater microalgae: Analysis of 37 strains of microalgae in 22 genera and in seven classes. *Aquat. Microb. Ecol.*, 71, 165–178 (2013).
- 24) T. Kaneda.: Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: Biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.*, 55, 288–302 (1991).
- 25) C.C. Parrish: Lipids in Marine Ecosystems. *ISRN Oceanogr.*, 2013, 1–16 (2013).
- 26) G. E. Napolitano: Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. In: M. T. Arts and B. C. Wainman, editors. *Lipids in freshwater ecosystems*. New York, NY: Springer. pp. 21–44 (1999).
- 27) P. L. Mfilinge et al.: Litter dynamics and particulate organic matter outwelling from a subtropical mangrove in Okinawa Island, South Japan. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 63, 301–313 (2005).
- 28) T. Meziane et al.: The use of lipid markers to define sources of organic matter in sediment and food webs of the intertidal salt-marsh-flat ecosystem of Mont-Saint-Michel Bay, France. *J. Sea Res.*, 38, 47–58 (1997).
- 29) M. Fujibayashi et al.: The Negative Relationship between Fouling Organisms and the Content of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid in Cultivated Pacific Oysters, *Crassostrea gigas*. *Mar. Drugs*, 19, 369 (2021).
- 30) M. Fujibayashi et al. Transfer of cyanobacterial carbon to a higher trophic-level fish community in a eutrophic lake food web: Fatty acid and stable isotope analyses. *Oecologia*, 188, 901–912 (2018).
- 31) M. Kainz et al.: Essential fatty acids in the planktonic food web and their ecological role for higher trophic levels. *Limnol. Oceanogr.*, 49, 1784–1793 (2004).
- 32) T. Sakamaki et al.: Effects of oyster age on selective suspension-feeding and the chemical composition of biodeposits: insights from fatty acid analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 644, 75–89 (2020).
- 33) N. Kabeya et al.: Genes for de novo biosynthesis of omega-3 polyunsaturated fatty acids are widespread in animals. *Sci Adv.*, 4, eaar6849 (2018).
- 34) M. Fujibayashi et al.: Fractionation of the stable carbon isotope ratio of essential fatty acids in zebrafish *Danio rerio* and mud snails *Bellamya chinensis*. *Oecologia*, 180, 589–600 (2016).