

宍道湖におけるヤマトシジミ等が含有する脂肪酸に関する研究

島根県保健環境科学研究所

背景・目的

宍道湖にはヤマトシジミが多量に存在し、炭素・窒素・リンなどの物質循環に大きな影響を与えていると考えられる。そのため、ヤマトシジミの生態については多くの研究成果があるが、未だ解明されていないことも多い。中でも生物の成長、繁殖、環境応答に必要不可欠とされている脂肪酸の含有量等についての報告は少ない。

そこで本研究では、ヤマトシジミの脂肪酸量、脂肪酸組成が生育環境によってどのように変化するのかを調べるために、餌として単離培養した3種類の植物プランクトンを用いたヤマトシジミの飼育実験と、宍道湖内のヤマトシジミの脂肪酸モニタリング調査を行った。

1. 植物プランクトンを餌に用いたヤマトシジミの飼育実験

(1) 実験方法

2016年12月に宍道湖で採取したヤマトシジミを10日間馴致飼育（餌無しで飼育）したのちに5～10mm（以下、稚貝）、10～15mm（以下、中間）、15～20mm（以下、成貝）の殻長ごとに仕分けした。

そして殻長ごとに、それぞれ珪藻 *Thalassiosira pseudonana*（以下、珪藻）、緑藻 *Pseudodictyosphaerium minusculum*（以下、緑藻）、藍藻 *Cyanobium* sp.（以下、藍藻）を給餌する区画を設けた。なお、ヤマトシジミの個体数は、稚貝は30個体、中間、成貝は20個体とした。飼育条件は、水温20℃、曝気下で行った。また、給餌は1日2回朝と夕方に与え、1度の給餌量は餌の総脂肪酸量が約750μgになるように調整して与えた。

ヤマトシジミの脂肪酸分析は、ヤマトシジミの殻長と軟体部湿重量を測定後、105℃で8時間乾燥させ乾燥重量を測定した。その後、幼貝は10個体分、中間、成貝は5個体分の乾燥身をまとめて乳鉢でホモジナイズし、ヤマトシジミの粉末をルツボに移して再び8時間乾燥させた。そして乾燥したヤマトシジミの粉末の一部を測り取り10mL蓋つき試験管に入れ、抽出溶媒としてメタノール1mLとクロロホルム2mLを加えて、0℃で15分間超音波抽出（SIBATA ULTRASONIC CLEANER SU-9TH）を3回行った。抽出液は窒素気流下、45℃で乾固するまで溶媒を留去した後、ヘキサンを0.5mL、0.5mol HCl-CH₃OH水溶液を2mLで再溶解させ、よく攪拌し75℃のヒートブロックで2時間反応させた。反応終了後、十分に冷却した反応液に超純水3mL、ヘキサン2mLを加え十分に攪拌したのちに、ヘキサン相を分取し、再び反応液にヘキサン2mLを加え十分に攪拌したのちにヘキサン相を分取した。分取した溶液は、窒素気流下、45℃で1mLまで濃縮し、内部標準物質として Methyl tricosanoate 溶液（10mgL⁻¹）を50μL添加し、ヘキサンで1mLにメスアップした。その後、GC-MS（株）島津製作所製QP2010）で測定した。リテンションタイムから各脂肪酸の同定を行い、各脂肪酸の含有量を計算した。なお本研究では、標準物質のリテンションタイムに該当しないピークはすべて除去した。測定回数は3回で各脂肪酸量のCVが10%未満になるまで測定した。

なお、測定した脂肪酸は以下のように分類される。

- I. ω -3 不飽和脂肪酸
 - DHA (C22 : 6)
 - DPA (C22 : 5)
 - EPA (C20 : 5)
 - Stearidonic acid (C18 : 4)
 - α -linolenic acid (C18 : 3)
- II. ω -6 不飽和脂肪酸
 - Arachidonic acid (C20 : 4)
 - Dihomo- γ -linolenic acid (C20 : 3)
 - Eicosadienoic acid (C20 : 2)
 - γ -linolenic acid acid (C18 : 3)
 - Linoleic acid (C18 : 2)
- III. モノ不飽和脂肪酸
 - Nervonic acid (C24 : 1)
 - Erucic acid (C22 : 1)
 - Eicosenoic acid (C20 : 1)
 - Oleic acid (C18 : 1)
 - Vaccenic acid (C18 : 1)
 - Palmitoleic acid (C16 : 1)
 - Myristoleic acid (C14 : 1)
- IV. 飽和脂肪酸
 - Lignoceric acid (C24 : 0)
 - Behenic acid (C22 : 0)
 - Arachidic acid (C20 : 0)
 - Stearic acid (C18 : 0)
 - Palmitic acid (C16 : 0)
 - Myristic acid (C14 : 0)

また、植物プランクトンの脂肪酸は植物プランクトンの培養液をガラスフィルターGF/F で濾過後、濾紙裁断しヤマトシジミの脂肪酸抽出、測定と同じ方法で測定した。

(2) 結果及び考察

① 餌の脂肪酸含有量・組成

餌の各脂肪酸含有量(図1)と各 ω -3不飽和脂肪酸含有量(図2)を示す。珪藻、緑藻は多価不飽和脂肪酸(ω -3不飽和脂肪酸、 ω -6不飽和脂肪酸)を多く含有していたが、藍藻はほとんど多価不飽和脂肪酸を含有していなかった。また、珪藻と緑藻では含有している ω -3不飽和脂肪酸の種類が異なり、珪藻は高度不飽和脂肪酸(DHA, DPA, EPA)を含有しているのに対して、緑藻は高度不飽和脂肪酸をほとんど含有せず、不飽和度の高くないStearidonic acidや α -linolenic

acid を多く含有していた。

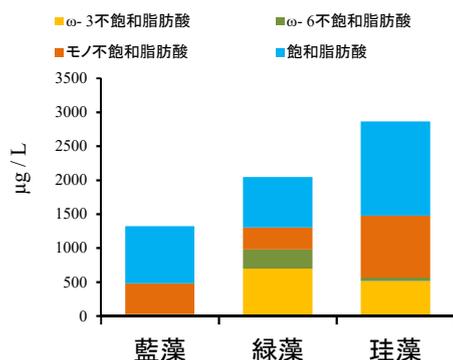


図1 植物プランクトンの各脂肪酸含有量

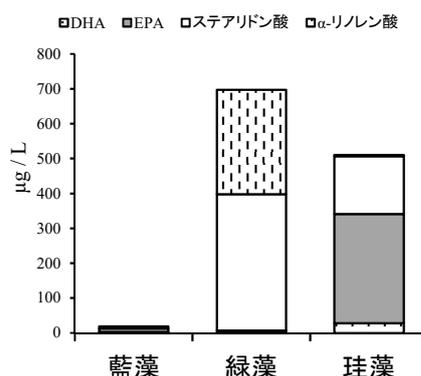


図2 植物プランクトンの各 ω-3 不飽和脂肪酸含有量

② ヤマトシジミの脂肪酸含有量・組成

各サイズの乾燥重量 1g あたりのヤマトシジミの各脂肪酸組成 (図 3) と各脂肪酸含有量 (図 4), と各 ω-3 不飽和脂肪酸量 (図 5) を示す。

ヤマトシジミの脂肪酸組成を解析すると, 各サイズで各脂肪酸の割合はほぼ同じとなった。特にモノ不飽和脂肪酸の割合は, 各サイズの給餌後のヤマトシジミでも, 0 日目のヤマトシジミとほとんど変わらなかった。餌として用いた珪藻, 藍藻のモノ不飽和脂肪酸の割合は約 32%, 約 34%で, ヤマトシジミ (約 10~15%) に比べて高いが, 給餌前後でヤマトシジミのモノ不飽和脂肪酸の割合は大きく変化しなかった。このことから, ヤマトシジミは餌の脂肪酸を直接同化するだけでなく, 生合成により摂取した脂肪酸をより不飽和度の高い脂肪酸に変換し, 同化していることが示唆された。

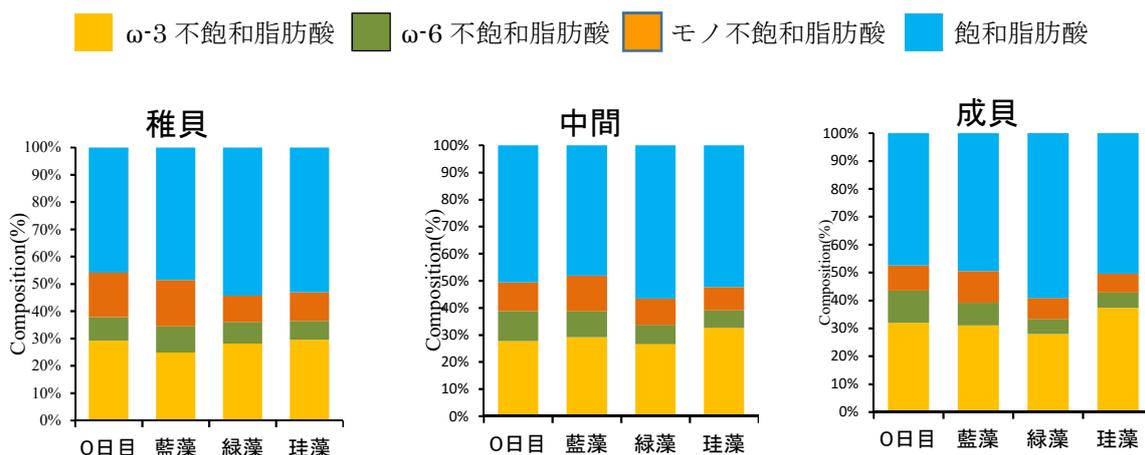


図3 ヤマトシジミの脂肪酸組成

ヤマトシジミの脂肪酸含有量を解析すると, 各サイズで珪藻を給餌したヤマトシジミの総脂肪酸量が最も多く, 藍藻を給餌した場合が最も少なかった。したがって, 今回の実験では珪藻が最も良い餌と考えられた。

また、高度不飽和脂肪酸を含まない緑藻を給餌したヤマトシジミの高度不飽和脂肪酸量が各サイズで増加していることから、ヤマトシジミは稚貝から成貝までの各成長段階で多価不飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸を生合成できることが示された。

しかし、多価不飽和脂肪酸をほとんど含まない藍藻を給餌した場合、成貝は多価不飽和脂肪酸量（高度不飽和脂肪酸量も含む）が増加したが、稚貝や中間ではほとんど増加しなかった。これらのことからヤマトシジミは成貝になると飽和脂肪酸、モノ不飽和脂肪酸から多価不飽和脂肪酸を生合成できるが、稚貝や中間では飽和脂肪酸、モノ不飽和脂肪酸から多価不飽和脂肪酸を生合成する能力が低いもしくは有しておらず成長段階で生合成能力を獲得することが示唆された。

今回の研究結果から、ヤマトシジミが稚貝や中間の頃に多価不飽和脂肪酸を含まない植物プランクトンが優占すると、ヤマトシジミの成長の遅れが起こると考えられる。

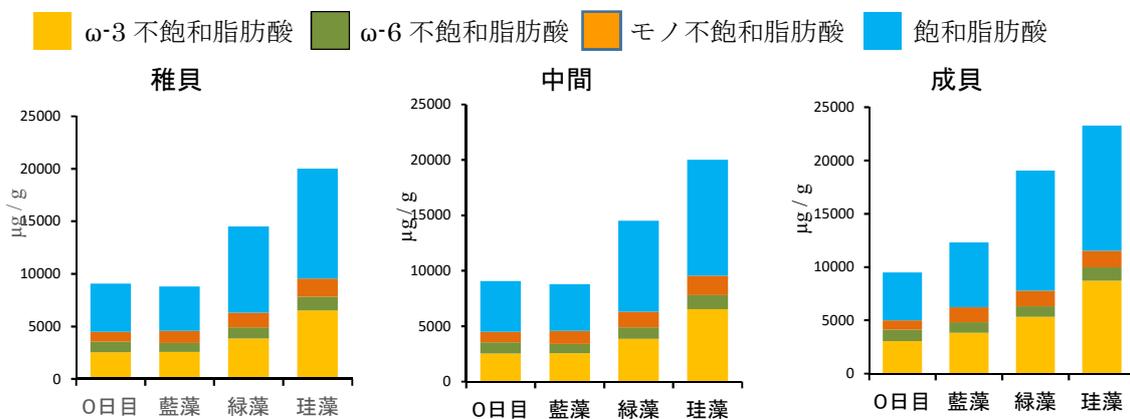


図4 ヤマトシジミの各脂肪酸含有量

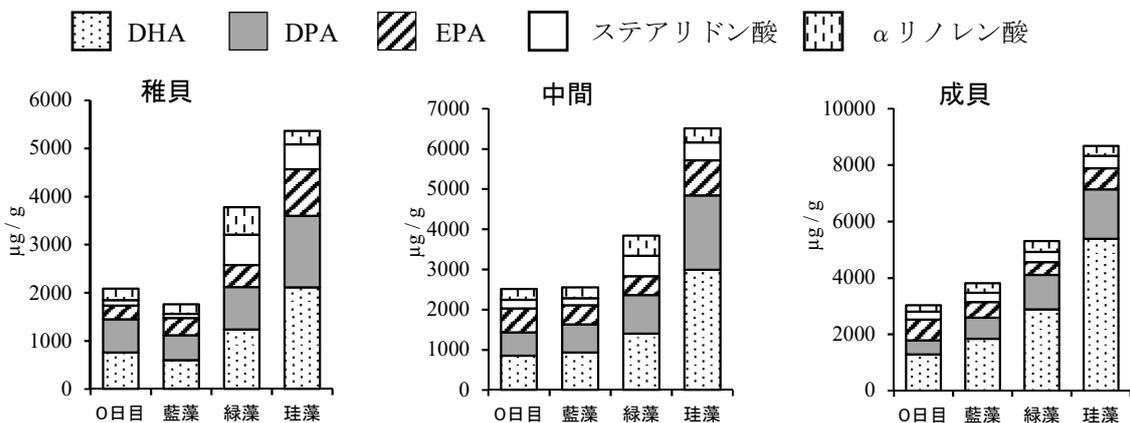


図5 ヤマトシジミの各 ω -3不飽和脂肪酸含有量

2. ヤマトシジミの脂肪酸モニタリング調査

(1) 実験方法

2017年4月～2017年12月に月に1度、宍道湖4地点、大橋川2地点でヤマトシジミをSM型採泥器を用いて採取した(図6)。また、湖水中の植物プランクトンの脂肪酸含有量を調べるために、同じ月に宍道湖湖心で表層水を採水した。

ヤマトシジミの脂肪酸分析は、ヤマトシジミの殻長と軟体部湿重量を測定後、105℃で8時間乾燥させ乾燥重量を測定した。その後、10匹分の乾燥身をまとめて乳鉢でホモジナイズし、ヤマトシジミの粉末をルツボに移して、再び8時間乾燥させた後に前述の給餌実験と同じ方法で分析した。

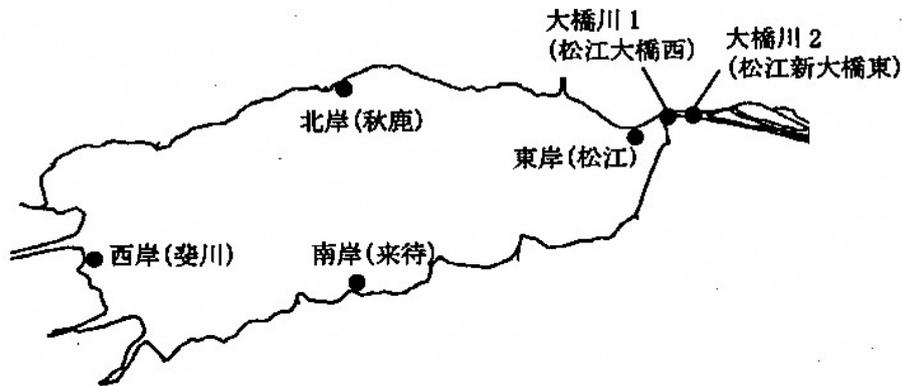


図6 ヤマトシジミの採取地点

(2) 結果及び考察

各地点のヤマトシジミの脂肪酸含有量の経月変化と湖水中の植物プランクトンの脂肪酸含有量を示す(図7)。

脂肪酸含有量は地点や月ごとで大きく異なっていた。

月ごとの各地点のヤマトシジミの脂肪酸組成と湖水中の植物プランクトンの脂肪酸組成を示す(図8)。各地点のヤマトシジミの脂肪酸組成は各月において概ね似た傾向を示していたが、湖水中の植物プランクトンの脂肪酸組成と比較すると大きく異なる月が多く、給餌実験と同様にヤマトシジミは餌の脂肪酸を直接同化していないと考えられた。

ヤマトシジミの脂肪酸組成は、水温の高い夏場には融点が高い飽和脂肪酸やモノ不飽和脂肪酸の割合が高く、水温が低くなるにつれて徐々に飽和脂肪酸やモノ不飽和脂肪酸の割合が低くなる傾向があった。

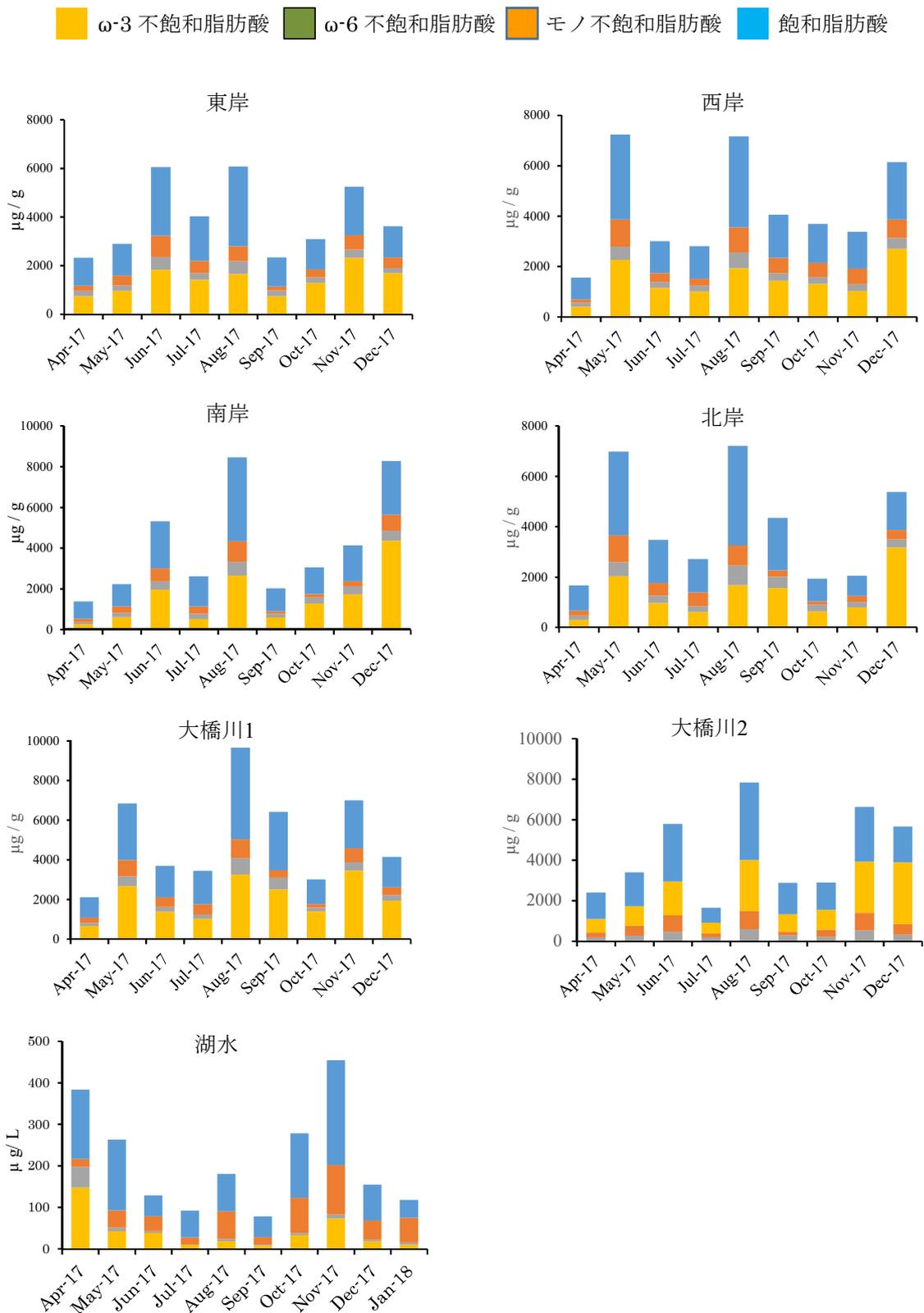


図7 各地点のヤマトシジミの脂肪酸含有量と湖水中の植物プランクトンの脂肪酸含有量の経月変化

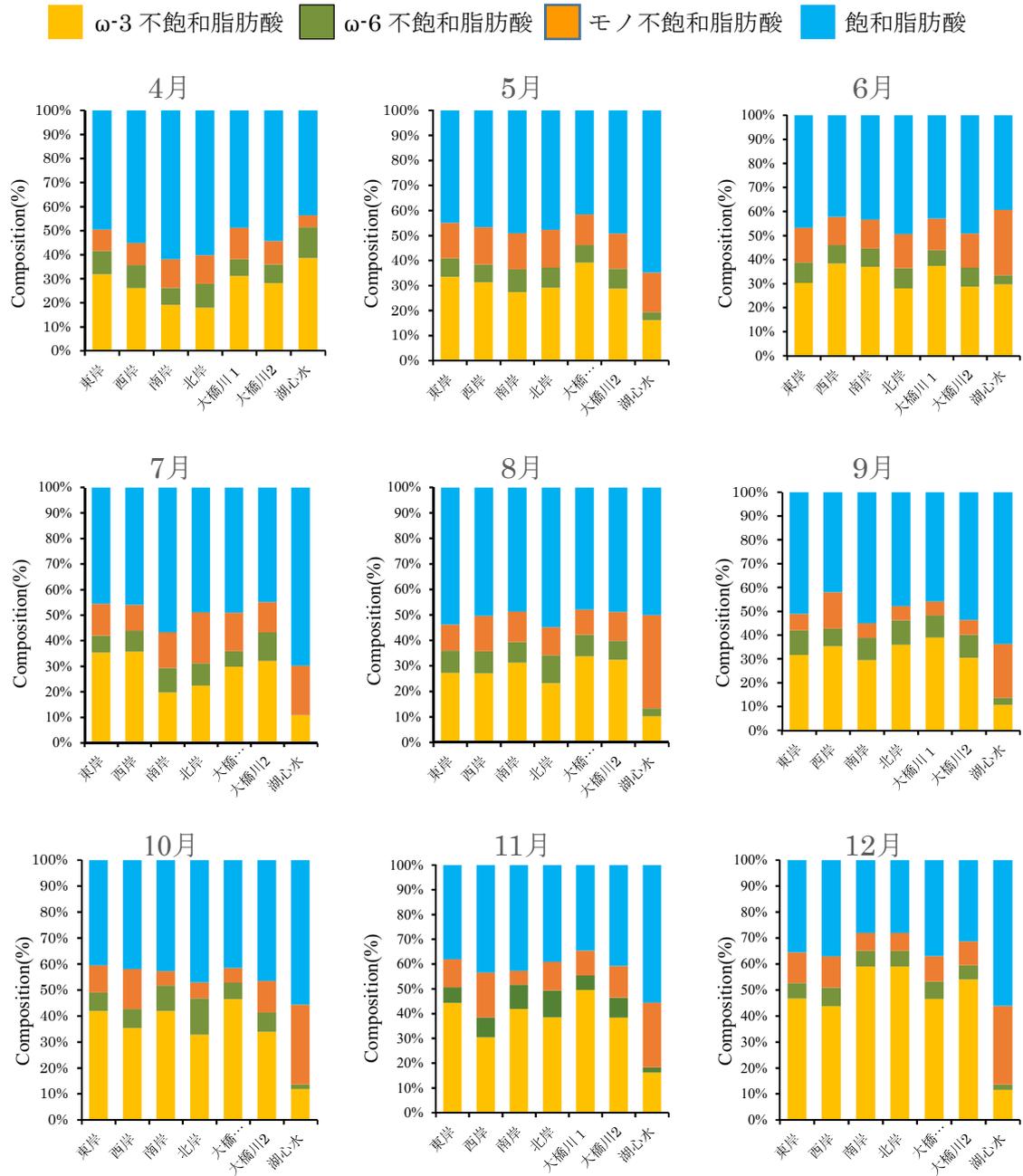


図8 月ごとの各地点におけるヤマトシジミの脂肪酸組成と湖水中の植物プランクトンの脂肪酸組成

まとめ

ヤマトシジミの脂肪酸組成は水温により変動し、水温が高い夏季は融点の高い飽和脂肪酸やモノ不飽和脂肪酸の割合が高く、水温が低い冬季は融点の低い多価不飽和脂肪酸の割合が高くなる傾向が示された。

ヤマトシジミは餌から摂取した脂肪酸から、より不飽和度の高い脂肪酸を生合成していることが明らかになった。このヤマトシジミの脂肪酸生合成能力は成長段階で異なり、成貝は飽和脂肪酸やモノ不飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸を含む多価不飽和脂肪酸を生合成することができる。一方で、稚貝は多価不飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸を生合成することはできるが、飽和脂肪酸やモノ不飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸を生合成する能力が低いもしくは有していないことが示唆された。そのため稚貝の頃に多価不飽和脂肪酸を含有しない植物プランクトンが長期間優占した場合、稚貝の成長阻害が起きやすくなると考えられる。

また、高度不飽和脂肪酸を含有する植物プランクトンを給餌したときに最もヤマトシジミの脂肪酸含有量が増加したことから、ヤマトシジミの餌としては高度不飽和脂肪酸をより多く含有している植物プランクトンが好適であると考えられる。

【研究責任者・連絡先】 神谷 宏・e-mail : kamiya-hiroshi@pref.shimane.lg.jp
(共同研究者) 嵯峨友樹, 狩野好宏, 松尾 豊 (島根県保健環境科学研究所)