

成果3： 窒素・炭素安定同位体比によるドジョウの餌生物の推定

(1)はじめに

水田でドジョウを養殖するには、水田と水路の連続性を確保し遡上が可能な構造とするとともに、幼魚の餌資源を確保する必要がある。

伊藤・鈴木（1977）は、ドジョウ稚魚の餌はサイズの小さなものから次第に大きなものに変化し、この変化には稚魚の口の大きさが影響しているとしたうえで、餌となる水生動物とドジョウの成長ステージの関係について述べている。

生物間の相互作用はハビタット毎に固有性を持つ。水田によってプランクトンの種組成やプランクトン以外の動物相が異なる。水田で生育するドジョウは動物群集の一員であるから、その餌資源を考えると、群集間の相互作用、特に食物連鎖を考えなければならない。

水田内の生物は施用される農薬や水管理など営農法の影響を受ける。農薬については特定の生物種に対する影響が試験されているが、生物群集の相互作用が複雑なこともあり、水田内の生態系全体に与える影響はよくわかっていない。また、水管理、特に中干しが水田に生息する生物に対してどのような攪乱を引き起こしているかという点は、ドジョウに限らず生物群集全体の動態を把握する上で重要であるが、知見はほとんどない。

ドジョウの安定的な生産技術を樹立するには、営農法との関わりを視野に入れながら、水田内の生物群集・食物連鎖を解析する必要がある。

炭素・窒素安定同位体比法はこれらの解析手法として適している。近年では下田ら（2005）によるサクラマスの変化を安定同位体比で検証した研究がある。しかし、水田生態系に生息する魚類の食性とその変化および水田内の食物連鎖を安定同位体比で解析した事例は見当たらない。

(2)安定同位体比による食物連鎖解析

まず、ドジョウの餌の推定に用いた安定同位体について概説する。

自然界には同じ元素であっても質量が異なる原子、同位体が存在する。同位体には放射線を出す（放射壊変）ものと出さないものがある。前者は放射性同位体、後者は安定同位体と呼ばれている。

生物体を構成する炭素や窒素にも安定同位体が存在する。ほとんどの炭素は質量が 12 の ^{12}C であるが、地球上には質量が 13 のやや重い炭素（ ^{13}C ）が約 1.1%存在する。同様に窒素（ほとんどは質量が 14）にも ^{15}N が存在する。質量の違いは化学的・物理的反応の違いを引き起こす。これを同位体分別という。例えば重い炭素によって構成される $^{13}\text{CO}_2$ は光合成に利用されにくいいため、植物体に含まれる炭素は大気中の二酸化炭素に含まれる炭素（約7%）より軽い。

同位体の多寡は「量」では比較しにくいから、安定同位体比（単位：‰=パーミル）で比較される。安定同位体比は標準試料（炭素はアメリカの石灰石、窒素は空気中の窒素）でゼロになるように定義されており、重い ^{13}C や ^{15}N が多いほど高い値になる。

植物は光合成の仕方によって 3 種類に分類され、それぞれ特有の $\delta^{13}\text{C}$ を示す。これは前述のような質量の差が、光合成の原料（基質）である CO_2 と光合成によって生成される有機物の $\delta^{13}\text{C}$ 差に影響を与えやすいか否か、つまり同位体分別が大きいか否かに起因している。

イネを含む一般的な植物（ C_3 植物）は重い炭素をあまり利用しない（同位体分別が大きい）から、植物に含まれる炭素は軽くなり、 -27‰ 前後を示し、今回の調査では関係がないがトウモ

ロコシ、ススキなど (C₄植物) はイネなどに比べて ¹³C を利用しているののでこれよりやや重く・13‰前後となる。ベンケイソウなどの CAM 植物 (水田周辺にはあまり見られない。) はこの間の値を示す。植物プランクトンは、基本的には C₃ 植物と同じ光合成回路を持つが、水中の CO₂ (厳密には HCO₃⁻) の δ ¹³C は大気中の CO₂ より高いので、δ ¹³C は・20‰前後となる。

植物が CO₂ から取り込んだ ¹³C や養分として吸収した ¹⁵N は、食物連鎖を経て草食動物や肉食動物の体にも移行・蓄積する (図 1)。

この時、炭素安定同位体比 (δ ¹³C) はやや重くなるか (1‰程度の上昇)、ほとんど変わらず、窒素安定同位体比 (δ ¹⁵N) は 3‰程度上昇するという性質がある (図 2)。

植物の腐食の δ ¹³C は葉より若干高くなる (森ら, 2006)。このため、イネの腐食や、これを食べているユスリカやミミズなどを餌とする魚類の δ ¹³C は・25‰前後となる。これに対して、植物プランクトンなど藻類を食べる動物プランクトンやこれを餌とする魚類の δ ¹³C は・20‰前後の高い値を示す。

以上のような安定同位体比に関する生物の性質を利用して食物連鎖を解析することができる。仮に、ドジョウの δ ¹³C が生育期間中に変化していることが確かめられれば、餌が切り替わったといえる (ただし、切り替え前後の餌の δ ¹³C 差が小さければ δ ¹³C の変化を検出できないことがある。)

一方、植物の δ ¹⁵N は、吸収する窒素の δ ¹⁵N に影響を受ける。化学肥料は空気中の窒素ガスを吸収するためゼロに近く、堆肥は ¹⁵N が生物濃縮されるため δ ¹⁵N が高い。したがって有機栽培の作物の δ ¹⁵N は慣行農法に比べて高い傾向がある。

安定同位体比の測定には専用の質量分析計が用いられる。試料を高温で燃焼させると、CO₂、CO、NO_x (NO や NO₂ など) などが発生する。NO_x を N₂ に還元し、CO₂ や N₂ を、磁場をかけた真空中に飛ばすと磁力に引っ張られてカーブする。C を例にすれば、¹²CO₂ に比べて ¹³CO₂ の方が慣性力は大きいから、¹³CO₂ はわずかに外側にずれる。このずれを用いて ¹³C と ¹²C の比を計算する。N についても同様である。

(3) 結果と考察

上野水田には「有機太郎」と鶏糞が施肥された。「有機太郎」の δ ¹³C は・26.8±0.5‰ (mean ±1SD ; 以下、同様。)、δ ¹⁵N が 4.6±0.4‰だった。鶏糞は・18.4±0.5‰ (δ ¹³C)、17.1±0.9‰ (δ ¹⁵N) だった。食物残渣から生産された有機太郎の C が C₃ 植物の値を示したことは、トウモロコシなど C₄ 由来の食物が含まれていないことを意味する。鶏糞で低かったのは

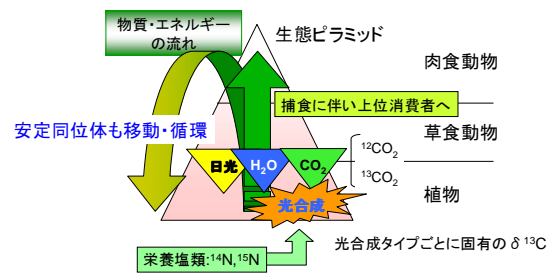


図 1 食物連鎖と物質循環

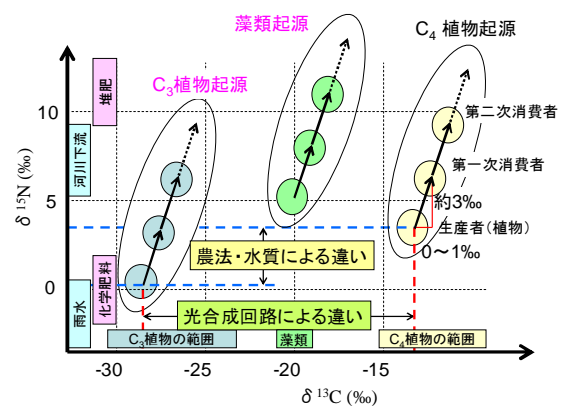


図 2 食物連鎖と δ ¹³C と δ ¹⁵N マップ

飼料に含まれるトウモロコシの影響である。

上野水田の用水に含まれる無機態窒素（ほとんどが硝酸態窒素）の $\delta^{15}\text{N}$ は $9.4 \pm 0.5\text{‰}$ と高い値を示した（採水日：6月3日および6月26日）。水田水尻ではこれより低い $5.0 \pm 0.2\text{‰}$ となった（採水日は同じ）。用水の $\delta^{15}\text{N}$ が高かったのは、河川に排出される下水処理水などの影響だろう。なお、 $\delta^{15}\text{N}$ は窒素濃度と無関係であり、 $\delta^{15}\text{N}$ が高くても水質が悪いということではない。用水より水尻が低かった理由として降雨の影響が考えられる。

6月17日に採取した土壌は、 $-25.0 \pm 0.4\text{‰}$ ($\delta^{13}\text{C}$)、 $4.7 \pm 0.3\text{‰}$ ($\delta^{15}\text{N}$) となった。小貝川上流の谷津田で採取した水田土壌の値と比較すると、 $\delta^{13}\text{C}$ は同程度、 $\delta^{15}\text{N}$ は2~3‰程度高い。上野水田と慣行水田の間に $\delta^{15}\text{N}$ の有意な差は見られなかったことから、用水に含まれる高い $\delta^{15}\text{N}$ を持つ硝酸態窒素が土壌の $\delta^{15}\text{N}$ を上昇させたとも考えられる。これを検証するには周辺の水田土壌のサンプル分析が必要である。土壌を0-5cm、5-10cm、10-20cm、20-30cmの層別に分析したところ、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ とも有意差はなかった（有意水準5%、以下同様。）。

6月3日に採取したドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ は $-21.7 \pm 0.6\text{‰}$ となった。この値は、ドジョウが植物プランクトンなど藻類起源の食物連鎖に属していたことを表している。図3に示すようにドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ は成長とともに低下した。この遷移は、ドジョウの食性が変化し、 C_3 植物（恐らく主にイネの残滓が起源だろう。）の腐植に由来する食物連鎖の影響が強まったことを示している。換言すれば、ドジョウの食性は成長とともにプランクトン系から水田土壌系に移行する。

伊藤・鈴木（1977）は、孵化後4~5日を経過して摂食を開始した0.2mm以下のドジョウの胃には輪虫類、藻類しかみられないが、全長7mm（口の大きさ1.0mm）になるとこれに加えて甲殻類がみられ、全長が18mm前後になり口の大きさが1.5mmに達するとユスリカの幼虫がみられたと述べている。ドジョウの体長と口の成長を本調査にあてはめれば、第1回調査（6月2日：当歳魚サンプルの体長は12~13mm）と第2回調査（6月17日：当歳魚サンプルの体長は27~35mm）の間に、ドジョウは小型の土壌無脊椎動物を食べることができるようになったと考えられる。

今回の調査ではドジョウの胃内容物を調べていないが、ユスリカが主な胃内容物の一つとする報告があり（たとえば、松澤ら（2006））、本水田で多くの個体数が確認されたユスリカが餌だった可能性が高い。

6月17日にベントス調査とは別に採取したドジョウ、ユスリカ等の $\delta^{13}\text{C}$ — $\delta^{15}\text{N}$ マップ（図4）から、

- ① ドジョウは既に水田土壌に含まれる腐食の $\delta^{13}\text{C}$ 影響を受けており、口の大きさが

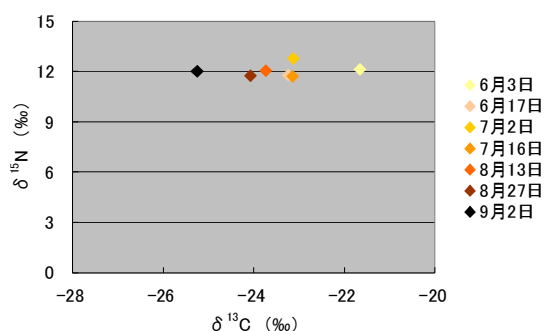


図3 ドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ — $\delta^{15}\text{N}$ の変化

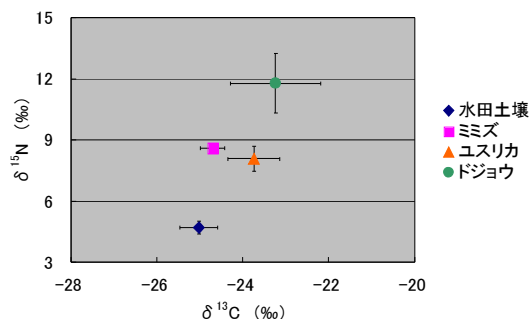


図4 ドジョウ、ユスリカなどの $\delta^{13}\text{C}$ — $\delta^{15}\text{N}$ マップ（6月17日）

注：バーは標準偏差

ユスリカのような小型の動物を摂食できる時期と符合すること

- ② ドジョウの $\delta^{15}\text{N}$ は水田土壌より 6.9‰ 高く、これは栄養段階でいえばほぼ 2 の差に相当すること
- ③ 従って両者の間に草食動物に相当する、栄養段階 2 の生物が存在すること

が明らかになった。

ユスリカの多くは土壌有機物を餌としているから、 $\delta^{13}\text{C}$ の季節変化はないものと考え

たが、分析の結果調査開始時に高い値を示し次第に下降することが明らかになった。これはドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ 変動のパターンに似ている。しかしドジョウは、前述のように口の大きさが 1.5mm にならないとユスリカを捕食することができないから、初期のドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ が低かったのは動物プランクトンを捕食したためと考えた。第 1 回調査時（6 月 3 日）前後の餌を特定するには、胃内容物および動物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ の計測が必要である。

なお、ミミズの $\delta^{13}\text{C}$ は、-25‰ から -27‰ に若干下降した。この原因は現時点で不明である。

既往文献および今回得られた $\delta^{13}\text{C}$ の挙動から、ドジョウの餌と変化を推察できる。すなわち、ドジョウは孵化後間もなく動物プランクトンを摂食した後、ユスリカ、ミミズなど土壌中の有機質を食べている無脊椎動物を餌とするようになり、食性変化の時期は孵化後かなり早かったと考えられる。

また、ドジョウの $\delta^{15}\text{N}$ はいずれの調査でもほぼ 12‰ を示し、栄養段階に変化は見られなかった。すなわち本調査地のドジョウは生育期を通してほぼ肉食だったと考えられる。

9 月 2 日に採取したドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ は、 $-25.3 \pm 0.3\text{‰}$ となった。このときの土壌の $\delta^{13}\text{C}$ を分析していないが、土壌有機物のマスが大きいことを考えれば季節的な変化は考えにくく、6 月 17 日の値と大きな違いはないだろう。ドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ がユスリカ ($-23.7 \pm 0.6\text{‰}$; 6 月 17 日採取) より低い、土壌に近い値を示した理由として、

- ① ユスリカ、ミミズ以外に、これらより $\delta^{13}\text{C}$ の低い餌が存在している
- ② ドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ の濃縮係数がマイナス

である（ドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ は餌の値より低くなる。）

ことが可能性として考えられる。このことについては更なる検証が必要である。

ドジョウ全サンプルでは体長と $\delta^{13}\text{C}$ の間に有意な相関はみられなかったが、体長 60mm 未満のグループに限ると有意な負の相関がみられ ($r = -0.53$, 図 6)、体長を 55mm 未満に区分したグループでは $r = -0.68$ になった。さらに、ドジョウを区分した体長と、体

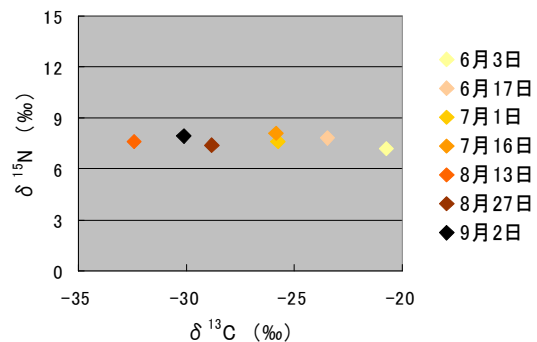


図 5 ユスリカの $\delta^{13}\text{C}$ — $\delta^{15}\text{N}$ マップ

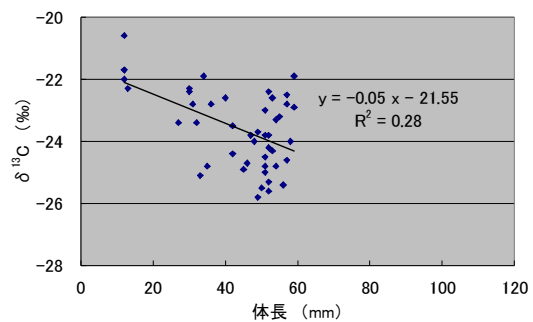


図 6 体長と $\delta^{13}\text{C}$ の相関 (体長 60mm 未満)

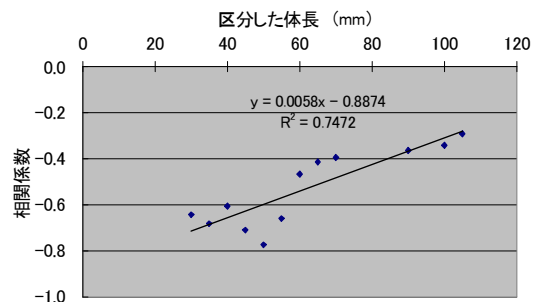


図 7 区分した体長と相関係数の関係

表1 上野水田に出現した主な動物プランクトン

大きさ：単位(μm)

綱	種名	和名	大きさ	上野水田			対照水田		
				6/7	6/22	7/14	6/7	6/22	7/14
根足虫	<i>Diffflugia</i> sp.	ツボカムリ属	70	33	250	17		1000	
	<i>Trinema</i> sp.	トリネマ属	30		3.3	67		300	
	Rhizopoda	根足虫類		4.2	3.3	67	13	570	100
繊毛虫	<i>Chilodonella</i> sp.	キロドネラ属	50	67				930	33
	<i>Cyclidium</i> sp.	シクリディウム属							530
	<i>Didinium balbianii</i>	シオカメウズムシ目の種	100					470	
	<i>Epistylis</i> sp.	エダワカレツリガネムシ属	100	440	310				
	<i>Halteria</i> sp.	ハルテリア属	40	350	330	83	460	370	33
	<i>Vorticella</i> sp.	ツリガネムシ属	70	17	67		4.2	130	17
	Ciliata	繊毛虫類		29	83	33	50	1000	300
輪虫綱	<i>Cephalodella</i> sp.	カシラワムシ類	100	58	56			33	
	<i>Trichocerca</i> sp.	ネズミワムシ類	300	54	140	50		100	
	Ploimida	プロイマ目		17	83	33		33	33
甲殻綱	<i>Moina macrocopa</i>	タマミジンコ	1,000	110			25		
	Nauplius of Copepoda	カイアシ類のノープリウス期幼生	200	110	120	220	250		
小計	(個体数/L)			1289.2	1445.6	570	802.2	4936	1046

注：大きさは概数である。

長と $\delta^{13}\text{C}$ の相関係数の関係は、図7に示すように $y=0.0058x-0.08874$ ($R^2=0.75$) の回帰式が得られた。体長が 50mm 未満のグループでは相関係数がほぼ0.6となり、かなり強い負の相関がみられることがわかる。

ドジョウの体長が小さいほど動物プランクトンに依存していることおよび体長が一定以上になると餌選好性は弱まることが、体長と相関係数の関係から示唆された。宮地ら(1976)は、ドジョウは体長 8cm 程度まではユスリカ・イトミミズなどの動物をかなり多く食うとしているが、本調査においてはもう少し早い段階から餌選好性が弱まり、個体群としては様々な餌を利用しているように見受けられた。

ここで注意しなければならないのは、ユスリカの低い $\delta^{13}\text{C}$ を摂取した効果がドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ に現れるまでに時間がかかることである(ターンオーバータイム: turnover time)。魚類のターンオーバータイムは、鳥類など(筋肉で約 12 日; Hobson & Clark(1992))に比べればかなり長く、1年以上とされる(Hesslein et. al., 1993)。しかし、成長速度が大きな稚魚のターンオーバータイムは短いことが知られている。Herzka & Holt (2000)は、成長すると生息場所と餌を変えるニベ科の魚、*Sciaenops ocellatus* のターンオーバータイムを調べ、体長 7mm の幼魚が生息場所を変えると 1~2 日のうちに $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ が変化し、10 日程度で安定すると述べている。

仮に、ドジョウの口の大きさがユスリカなどを採捕出来るようになった時点で、餌が動物プランクトンから土壌無脊椎動物に急速に切り替わっているならば、孵化後 2 ヶ月以上を経過し体重が大幅に増加した 8 月 13 日においてなお $\delta^{13}\text{C}$ が $-23.7 \pm 0.8\text{‰}$ とかなり高い値を示

し、さらにその後も低下している理由を説明しにくい。今回得られたドジョウの $\delta^{13}\text{C}$ の変動は、ドジョウの餌が成長とともに、徐々に動物プランクトンから土壌無脊椎動物に切り替わったことを示していると考えた。

それでは、上野水田のドジョウが実際に餌としていた動物プランクトンは何だろうか。表 1 に同水田と、対照水田で採取されたプランクトンのうち主な動物プランクトンを示す。1章で述べたように、ドジョウは輪虫類、甲殻類のようなプランクトンを餌としている。これらは上野水田でも存在が確認された。特に甲殻綱カイアシ類（ケンミジンコ）のノープリウス幼生は3回の調査のいずれにおいても出現しており、ドジョウの餌となっていると考えられる。仮にドジョウの餌が動物プランクトンから土壌無脊椎動物に徐々に移行するならば、動物プランクトンが長期間にわたって生息できる水域環境がドジョウの生育環境として望ましいといえる。

本報では、餌は急速には土壌無脊椎動物に切り替わらなかったと推論した。この原因としてドジョウの餌選好性の変化以外の要因、すなわちユスリカなど土壌無脊椎動物の賦存量が少ないため、あるいはミドロ類などの藻類が摂餌の障害となったため、代替餌としてプランクトンを採り続けた可能性も考えられる。このためベントス調査の結果と照合して水田内の食物連鎖の姿を考察する必要がある。

(4) おわりに

今回の調査成果は以下の通りである。

- ① ドジョウが成育当初は動物プランクトンを餌とし、孵化後かなり早い時期から土壌無脊椎動物を食べるようになった。
- ② 食性の移行スピードは遅い可能性がある。
- ③ $\delta^{15}\text{N}$ から、体長が大きくなってからも肉食の傾向が強かった。

本調査では生育初期、特に体長 10~20mm の時期のデータが不足している。上述の餌のシフト時期と移行スピードをより明確にするためには、この時期のサンプル数を確保する必要がある。

食性が変化すること、孵化後間もない時期の遊泳力が弱いことを考えれば、ウケと餌を利用したトラップでこの時期の稚魚を採捕することは難しいかも知れない。誘引する方法ではなく、物理的方法で採捕する手法が、その後のソーティングに労力を要するものの、サンプル数を確保できると考える。

さらに、稚魚期の生長スピードが速く、食性もこの時期に変化することから、水田に入水直後の調査間隔は短くする必要があるだろう。

効率的な養殖技術を確立するには、農作業による攪乱の影響を検証しなければならない。慣行農法については調査地の栽培条件が制限されるため、室内実験も必要になろう。堆肥などに由来する窒素などの動態をトレースすることにより、食物連鎖がより精緻に解明される。

引用文献

伊藤時夫・鈴木亮 (1978) : ドジョウ稚魚の食性, 淡水研報, 27(2), 85-94.

Herzka, S.Z. & G.J.Holt (2000): Changes in isotopic composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae in response to dietary shift: potential applications to settlement studies, Canadian Journal of Fisheries and

- Aquatic Sciences, 57, 137-147.
- Hesslein, R.H., K.A. Haallard and P. Ramal (1993): Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Oregonus nasus*) in response to a change in diet traced by $\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50, 2071-2076.
- Hobson, K.A. & R.G. Clark (1992): Assessing avian diet using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation, Condor, 94, 189-197.
- 松澤真一, 水谷正一, 後藤章 (2006): 谷津内水路に生息する底生魚の食性, 平成 18 年度農業土木学会講演会講演要旨集, 310-311.
- 宮地傳三郎, 川那部浩哉, 水野信彦 (1976): 原色日本淡水魚図鑑, 保育社, 243.
- 森 淳, 水谷正一, 松澤真一 (2006): 里山から谷津田水路に供給される陸起源有機物の炭素・窒素安定同位体比の変化, 農業土木学会論文集, 243, 397-402.
- 下田和孝, 中島美由紀, 伊藤富子, 河内香織, 柳井清治, 伊藤絹子 (2005): サクラマス我的生活ステージの進展に伴う安定同位体比の変化, 日本生態学会誌, 55, 317-376.