

河口湖および四尾連湖に生息するユスリカ幼虫の体内脂肪酸組成

山本 鎔子^{1),2)}・岩船 敬²⁾・吉田 雅彦³⁾・平林 公男⁴⁾

Fatty acid composition in Chironomid larvae in Lakes Kawaguchi and Shibire, Japan

Yoko YAMAMOTO^{1),2)}, Takashi IWAFUNE²⁾, Norihiko YOSHIDA³⁾ and Kimio HIRABAYASHI⁴⁾

Abstract

Larvae of *Chironomus plumosus*, *Chironomus nipponensis*, *Propsilocerus akamusi* and Tanypodinae spp. were collected during 1998 and 1999 at Lake Kawaguchi and Lake Shibire in central Japan, and fatty acid compositions of the larvae were examined. Saturated and monounsaturated fatty acids represented 50–80% of total fatty acids; C16:0 (13–32 mol%) and C18:1 (6–23 mol%) were the most abundant saturated and monounsaturated fatty acids, respectively. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) were mainly present as C18:3 (n-3) and C20:5 (n-3). Tanypodinae spp. also contain a fair amount of C22:6 (n-3), which was not detected in other larvae. After hatching, all larvae showed a decreased level of saturated fatty acids and an increased level of PUFAs. We discuss the functions of PUFAs in Chironomid larvae in relation to their development. The increased level of PUFAs may indicate that they serve important biological functions during development, especially in the metamorphosis in the Chironomid larvae.

Key words : Chironomid larvae, fatty acids, Lake Kawaguchi, Lake Shibire, lipids, seasonal trend

摘 要

1998年から1999年にかけてユスリカ類の*Chironomus plumosus* (オオユスリカ), *Chironomus nipponensis* (ヤマトユスリカ), *Propsilocerus akamusi* (アカムシユスリカ) および Tanypodinae spp. (モンユスリカ亜科, 肉食性ユスリカ) の各幼虫を河口湖および四尾連湖から採取し, 体内の脂肪酸組成について分析した。幼虫の飽和脂肪酸とモノ不飽和脂肪酸の総和は総脂肪酸量の50–80 mol%の高い値を示した。主要な飽和脂肪酸はC16:0 (13–32 mol%) であり, モノ不飽和脂肪酸はC18:1 (6–23 mol%) であった。またポリ不飽和脂肪酸は主にn-3系の脂肪酸C18:3 (n-3), C20:5 (n-3) であったが, C22:6 (n-3) はTanypodinae spp. に存在したが, 他のユスリカ幼虫では検出限界以下の濃度であった。ユスリカの羽化期には飽和脂肪酸の減少とn-3系の脂肪酸を含む高度不飽和脂肪酸の増加が認められた。ポリ不飽和脂肪酸の増加はユスリカ幼虫の成育過程において形態変化とくに羽化時に重要なエネルギーもしくは代謝に深い関係を持つ物質の基質となっている可能性のあることを考察した。

キーワード: ユスリカ幼虫, 脂質, 脂肪酸, 河口湖, 四尾連湖, 季節変化

(2005年5月22日受付; 2005年9月16日受理)

¹⁾ 〒194-0042 東京都町田市東玉川学園1-28-5. 1-28-5 Higashi-Tamagawagakuen, Machida, Tokyo 194-0042, Japan

²⁾ 元 明治大学農学部 〒214-8571 川崎市多摩区東三田1-1-1. Faculty of Agriculture, Meiji University, Kawasaki, Kanagawa 214-8571, Japan

³⁾ 山梨県立女子短期大学 〒400-0035 甲府市飯田5-11-1. Yamanashi Women's Junior Collage, Koufu-shi, Iida, Yamanashi 400-035, Japan

⁴⁾ 信州大学繊維学部 〒386-8567 上田市常田3-15-1. Department of Applied Biology, Shinshu University, Ueda, Nagano 386-8567, Japan

語句の短縮型: SFA, saturated fatty acids; Σ UFA, total unsaturated fatty acids;

Σ PUFA, total polyunsaturated fatty acids; Σ 20PUFA, C20 total polyunsaturated fatty acids; Σ 18PUFA, C18 total polyunsaturated fatty acids; C16:1 represents a 16-carbon fatty acid with 1 double bond. TAG, Triacylglycerol

はじめに

双翅目昆虫に属しているユスリカ類は、清澄な水域から汚濁の進んだ水域に至るまで幅広く分布し、それぞれの水域の重要な構成生物となっている (Cranston 1995)。近年、富栄養化した水域においてユスリカ類が大量発生し人々に多大な不快感を与えるとともに (平林1991 a, b, Hirabayashi and Okino 1998)、気管支喘息などのアレルギー (足立ら 1999, Hirabayashi et al. 1997) として社会問題にも発展している。しかし一方でユスリカ類は富栄養化した水域での有機物の除去的役割をもつことから益虫としての評価も高い (岩熊1990, Iwakuma and Yasuno 1983, 河合2001)。また様々な水質環境によってユスリカ類の種がほぼ決まっているため、幼虫は「水質指標生物」として有用であることも示唆されている (Iwakuma et al. 1988, 安野 1983)。ユスリカ類の種数は数千種を越すと言われ (Cranston 1995)、我が国においても約1,000種のユスリカ類が確認されており (Sasa and Kikuchi 1995)、一世代に要する時間も数日から数年に及ぶものもある。ユスリカ類については数多くの研究がなされているが生理生化学的な研究は比較的少ない。

水生昆虫のなかには乾燥重量の40%にも及ぶ多量の脂

質を蓄積している種が知られている (Lee et al 1975)。昆虫の脂質含有量は季節、食餌の種類や生息場所の温度などの環境要因により変動し、とくに貯蔵物質として重要なトリアシルグリセロール (TAG) は変態に先立って増加し (Cargill et al. 1985)、膜の透過性に関わるリン脂質は成育温度が低くなると増えるなどの報告がある (Arts 1993, Cavaletto and Gardner 1999, Downer 1978 Ghioni et al. 1996)。また微細藻類や細菌類では脂肪酸の組成が、種の分類を行うにあたっての補助的な手段の一つにもなっている (Harwood and Russell 1984)。本報告のユスリカ類のあいだにおいても種により脂肪酸組成に差があるのか、また成長段階や食餌の質的あるいは量的な変化が脂肪酸組成に影響を与えるのかについて検討を行った。

試料採取地点の概要

ユスリカ類幼虫の採取地点は山梨県の河口湖 (35° 31' N, 138° 45' E, 最大水深16.1 m, 流入河川 9, 流出河川 1), および山梨県の四尾連湖 (35° 32' N, 138° 31' E, 最大水深9.9 m, 流入・流出河川 なし) である。前者は年によっては1月から2月に結氷することがある富栄養湖で後者は1月から2月にかけて結氷する中栄養湖である。

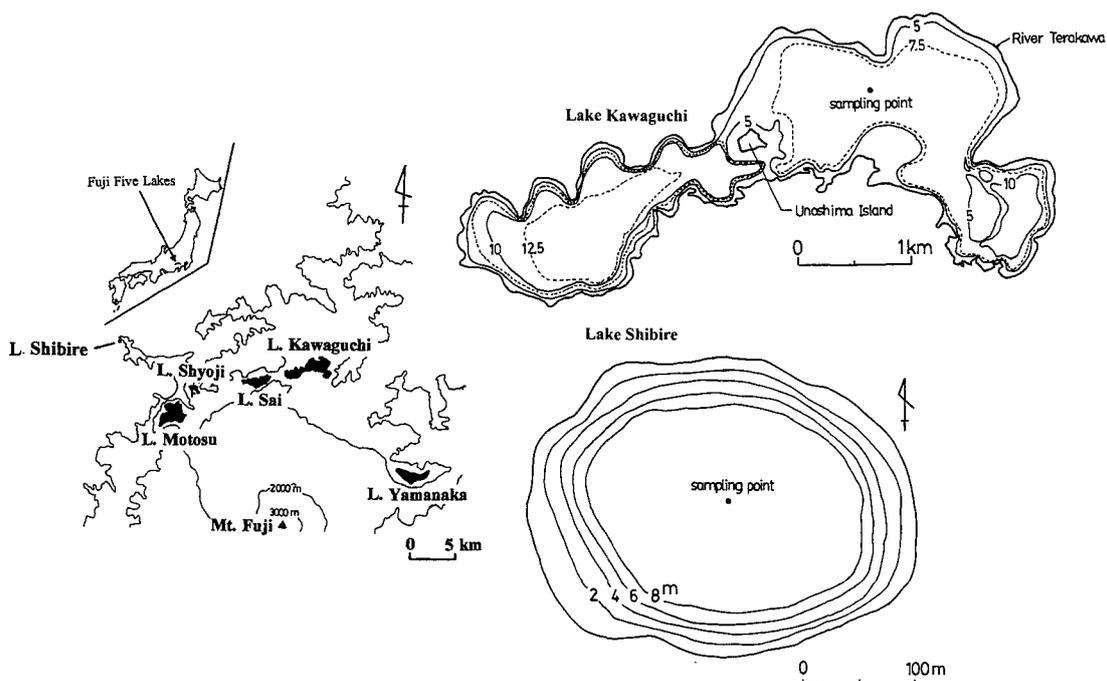


Fig. 1. Map showing locations of Lake Kawaguchi and Lake Shibire and sampling stations.

図1. 河口湖および四尾連湖の地図と調査地点.

実験方法

試料は、毎月1回、河口湖および四尾連湖 (Fig. 1) 湖心付近で採取した。幼虫は Ekman-Birge 採泥器 (採集面積 15×15 cm²) を用いて湖底から泥を採取し、サーバーネット (NGG54:メッシュサイズ0.33 mm) を用いて泥をふるった後、ネット上の残物を実験室に持ち帰り、直ちに分別して各幼虫を採取した。今回の調査では、河口湖ではオオユスリカ (*Chironomus plumosus*)、アカムシユスリカ (*Prosilocerus akamusi*) および肉食性のモンユスリカ亜科 (Tanypodinae spp.)、四尾連湖ではヤマトユスリカ (*Chironomus nipponensis*)、アカムシユスリカ (*P. akamusi*) のうちの3齢幼虫と4齢幼虫を研究対象種とした (Table 1)。これらは何れも両湖の優占種であった。採取した幼虫は種毎に体長を測定したのち、純水中で体内の糞を十分に排出させ、水分を濾紙で除去し秤量した。体長はデジタルカメラで撮影したユスリカ画像を Periphery ソフト*を用いて計測した。秤量後の幼虫は直ちに脂質の分析に供した。ユスリカ幼虫採集時に環境要因として、調査地点の水溫 (表層水溫と底泥直上1 mの水溫) をDOメーター付属の温度計 (YSI, Model 58) で測定した。またクロロフィルa量を測定するために、バンドン採水器で底泥直上1 m水を採水し、GF/Cフィルターで濾過後、フィルター上の残渣を90%アセトンで抽出し抽出液の吸光度からクロロフィルa量を求めた (有賀 1979)。さらに幼虫の餌の脂肪酸組成を検討するために、重力式コアサンプラー (内径3 cm) を用いて、底泥表層土 (0 cm ~ 6 cm) を採取し、脂

質分析を行った。

脂質の抽出は Bligh and Dayer 法 (1959) に従い抽出し、ケン化、メチルエステル化後、ガスクロマトグラフィーにより測定した (Yamamoto and Tatsuzawa 2000)。ガスクロマトグラフィーの分析条件を Table 2 に示す。各脂肪酸の同定と定量は脂肪酸標準物質のリテンションタイムとピーク面積の比較から行った。脂肪酸の標準試薬はフナコシ製薬、その他の試薬については和光製薬製を使用した。

また各実測値の平均値は統計処理して有意差判定を行った (Snedecor and Cochran 1972)。

結果

ユスリカ類幼虫採取時の河口湖および四尾連湖の水溫とクロロフィルa量を Fig. 2 に示す。河口湖表層水 (0 m) の水溫は1月に3.7°Cであり、8月には25.8°Cに上昇し、ユスリカ類を採取した時期のなかで最も高い水溫を示した。底泥直上1 mの水溫は1月、2月に3.8°Cの最低温度を示し、4月以降は表層の水溫の上昇にともない、この水深域の水溫も上昇し7月には18.6°Cを示した。8月以降、水溫は下降し12月には7.8°Cになった。四尾連湖は1月から2月にかけて結氷し、8月の表層 (0 m) 水溫は27°Cの最高温度を示した。底泥から1 m上層の水溫は10月に15.6°C、11月に13.9°C、12月に7.3°Cとなり、その後下降し表層が結氷したときには3.8°Cとなった。底泥直上1 mのクロロフィルa量の最高濃度は河口湖で8月に35 μg L⁻¹、四尾連湖で

Table 1. Sampling date of Chironomid larvae in Lake Kawaguchi and Lake Shibire.

表1. 河口湖および四尾連湖におけるユスリカ類幼虫の採取時期。

	Chironomid larvae	Sampling date
Lake Kawaguchi	<i>Chironomus plumosus</i>	Jan ~ Aug 1998*
		Oct 1998 ~ Mar 1999* Oct 2000
	<i>Prosilocerus akamusi</i>	Jan ~ Apr 1998*
		Oct 1998 ~ Mar 1999* Oct 2002
Tanypodinae spp.	Feb 1999	
Lake Shibire	<i>Chironomus nipponensis</i>	Aug 1998 and Dec 1998 Mar 1999
		<i>Prosilocerus akamusi</i>

*: once a month.

Table 2. Condition in gas chromatography for fatty acid.

表2. ガスクロマトグラフィーの分析条件。

Gas Chromatograph	GC-353 (GL Sciences Inc.)
Capillary Column	CP-Sil 88 for FAME (df=0.2 μm, 0.25mm I.D. × 50 m) (GL Sciences, Inc.)
Detector	FID
Injector Temperature	230°C
Column Temperature program	230°C
Carrier Gas	175°C, 0.5°C min ⁻¹ to 200°C
He Pressure	He
H ₂ Pressure	1.3 kgf cm ⁻²
Air Pressure	2.6 kgf cm ⁻²
Split	72:1
Chromato Pack	D-2500 Chromato-Integrator (HITACHI)

は5月に $19 \mu\text{g L}^{-1}$ であった。

本実験の脂質分析に使用したユスリカ類4齢幼虫1匹あたりの湿重量の季節変化(平均値 \pm SD)を種類毎にFig. 3に示す。オオユスリカ幼虫は冬期に比べ、夏期に向けて湿重量の増加が観察され、4齢幼虫では11月に採取した個体の重量は、7月以前に採取したもの約半分程度であった(本研究では、前者を「旧世代個体(Old)」,後者を「新世代個体(New)」と呼ぶ)。しかし、新世代個体の湿重量は冬期に向けて増加し、1999年の1月には、1998年の1月と同様の湿重量までに回復した。アカムシユスリカ幼虫の湿重量は10月採取時の個体が最も大きく、他の月ではほぼ同じであった。河口湖産ユスリカ類幼虫の齢による

湿体重および体長の年平均は、アカムシユスリカ4齢幼虫では $17.1 \pm 2.77 \text{ mg 個体}^{-1}$, $19.6 \pm 2.25 \text{ mm 個体}^{-1}$ であり、オオユスリカ4齢幼虫では $28.1 \pm 9.31 \text{ mg 個体}^{-1}$, $20.4 \pm 2.01 \text{ mm 個体}^{-1}$ であった。

一方、四尾連湖産のアカムシユスリカ4齢幼虫は湿重量 $16.9 \pm 3.08 \text{ mg 個体}^{-1}$, 体長 $14.5 \pm 0.8 \text{ mm 個体}^{-1}$ であり、ヤマトユスリカ幼虫は湿重量 $27.5 \pm 13.7 \text{ mg 個体}^{-1}$, 体長 $17.4 \pm 3.27 \text{ mm 個体}^{-1}$ であった。

これらの各ユスリカ4齢幼虫の年平均個体湿重量を比較したところ、アカムシユスリカ幼虫は、河口湖ではオオユスリカ幼虫より(危険率0.001)小型であった。

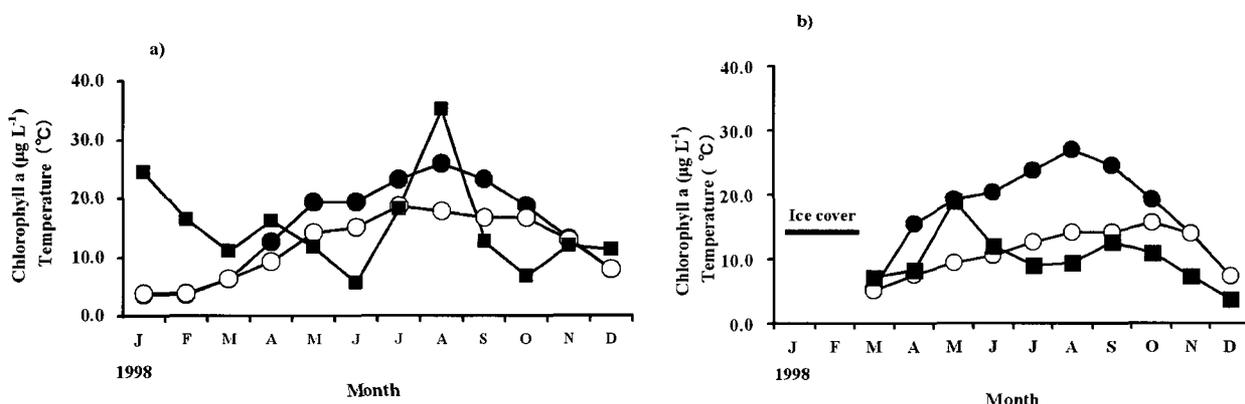


Fig. 2. Seasonal patterns of water temperature and chlorophyll *a* contents in Lake Kawaguchi (a) and Lake Shibire (b). Symbols; ●; Water temperature of surface (0m). ○; Water temperature above the bottom of 1 m. ■; Chlorophyll *a* contents ($\mu\text{g L}^{-1}$) above the bottom of 1 m.

図2. 河口湖および四尾連湖の表層水(0m), 底泥直上水(1m)の水温およびクロロフィル*a*量の季節変化.

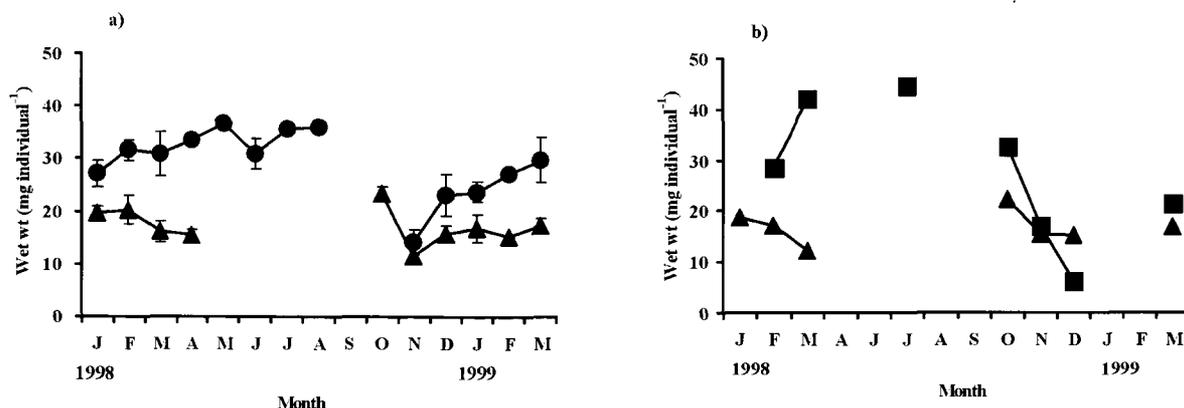


Fig. 3. Seasonal patterns of wet weight of Chironomid larva collected from Lake Kawaguchi (a) and Lake Shibire (b). Symbols; ●; *Chironomus plumosus*, ▲; *Propilocerus akamusi*, ■; *Chironomus nipponensis*.

図3. 河口湖と四尾連湖から採取された4齢幼虫1個体あたりの湿重量の季節変化.

ユスリカの脂質含有量

4齢ユスリカ幼虫の乾燥重量中の総脂質含有量は、河口湖ではアカムシユスリカ4齢幼虫が35%，オオユスリカ4齢幼虫が46%，四尾連湖ではアカムシユスリカ4齢幼虫が44%，ヤマトユスリカ3齢幼虫が26%であった。

河口湖産ユスリカ幼虫の脂肪酸組成

アカムシユスリカ幼虫とオオユスリカ幼虫および底泥堆積物の総脂質画分の脂肪酸組成 (mol%) を Table 4a, 4b, 4c に示す。オオユスリカ4齢幼虫の脂肪酸 (Table 4a) のなかで最も多量に含まれるのは C16:0 (年平均 $18.3 \pm 4.02\%$) で、次いで C18:2 (n-6) (年平均 $15.6 \pm 2.94\%$)、C18:1 (n-9) (年平均 $15.4 \pm 2.41\%$)、C16:1 (年平均 $14.1 \pm 5.79\%$)、C20:5 (n-3) (年平均 $9.0 \pm 3.87\%$) が多くみられ、これらの脂肪酸の総和は全脂肪酸の約 75% であった。アカムシユスリカ4齢幼虫 (Table 4b) でも C16:0 (年平均 $22.2 \pm 4.55\%$) が最も多く、次いで C18:1 (n-9) (年平均 $19.8 \pm 3.14\%$)、C20:5 (n-3) (年平均 $18.0 \pm 5.49\%$)、C18:2 (n-6) (年平均 $10.5 \pm 1.76\%$)、C18:3 (n-3) (年平均 $7.6 \pm 2.25\%$) で、これらの脂肪酸の総和は全脂肪酸の約 80% を占めた。とくにアカムシユスリカ4齢幼虫では C20:5 (n-3) の含有量が年平均 $18.0 \pm 5.49\%$ で、オオユスリカ4齢幼虫 ($9.0 \pm 3.87\%$) の約 2 倍近い値を示し、同様に C20 の高度不飽和脂肪酸 ($\Sigma C20PUFA$) が 18.8% のアカムシユスリカ4齢幼虫に比べオオユスリカ4齢幼虫では低い値 11.0% であった。さらにアカムシユスリカ4齢幼虫の n-3/n-6 比は 1.7~2.7 (平均 2.1 ± 0.30 ; n=10) とオオユスリカ4齢幼虫の 0.1~1.0 (平均 0.7 ± 0.24 ; n=13) の値に比べて高い値を示し ($p < 0.05$)、両ユスリカ幼虫のあいだで差が認められた。

オオユスリカ4齢幼虫は8月には飽和脂肪酸が約 50%，高度不飽和脂肪酸は 30% であったが、11月には飽和脂肪酸は約 25%，高度不飽和脂肪酸は約 37% となり n-3 系脂肪酸の増加が著しい (Table 4a)。アカムシユス

リカ4齢幼虫においては、11月は高度不飽和脂肪酸の増加がみられオオユスリカ4齢幼虫と同様の傾向が観察された (Table 4b)。各齢の脂肪酸組成はオオユスリカ幼虫では3齢から4齢になるにしたがい、C16:0を含む飽和脂肪酸が増加し高度不飽和脂肪酸が減少した。またモノ不飽和脂肪酸の総量は変わらないが、C16:1 (n-7) の増加と C18:1 (n-7) の減少がみられた。4齢幼虫から蛹化する間には C18:1 (n-9) が減少し、C18:2 (n-6) および C20:5 の増加がみられた。またアカムシユスリカ幼虫では齢の進行 (3齢から4齢 (新世代個体) を経て4齢幼虫 (旧世代個体) になる) にしたがって飽和脂肪酸の増加と高度不飽和脂肪酸の減少が起きた。

肉食性のユスリカである Tanytopodinae spp. の脂肪酸組成の特徴は、C20 の高度不飽和脂肪酸がオオユスリカおよびアカムシユスリカの各幼虫に比べ多く含まれ、さらにオオユスリカおよびアカムシユスリカにはみられない C22:6 不飽和脂肪酸の存在が確認された。

四尾連湖産ユスリカ幼虫の脂肪酸組成

四尾連湖のヤマトユスリカ4齢幼虫 (Table 4c) の主要な脂肪酸は C16:0 (年平均 $19.6 \pm 4.35\%$)、C16:1 (年平均 $17.2 \pm 6.54\%$)、C18:2 (n-9) (年平均 $16.1 \pm 3.28\%$)、C18:1 (n-9) (年平均 $10.3 \pm 1.08\%$)、C18:1 (n-7) (年平均 $11.2 \pm 0.7\%$) でこれらの脂肪酸は全脂肪酸の約 75% を占めた。アカムシユスリカの主要な脂肪酸は C16:0 (年平均 $24.4 \pm 6.15\%$)、C18:1 (n-9) (年間平均 $15.2 \pm 3.02\%$)、C20:5 (n-3) (年平均 $15.2 \pm 7.59\%$)、C18:2 (n-6) (年平均 $11.3 \pm 1.79\%$) で全脂肪酸の約 80% を占めていた。

アカムシユスリカはオオユスリカに比べて C20:5 (n-3) が多いことと C18:1 (n-7) が少ないこと、および河口湖と同様に n-3 系脂肪酸含有量が多くそのため n-3/n-6 の比率が高いことが特徴的であった。

Table 3. Mean lipid contents (mg), as mg of dry weight of 4th instars larvae collected from Lakes Kawaguchi and Shibire.

表3. 河口湖および四尾連湖産ユスリカ4齢幼虫の脂質含有量.

	Lake Kawaguchi	Lake Shibire
<i>Chironomus plumosus</i>	0.46 ± 0.15 *	nd
<i>Prosilocerus akamusi</i>	0.35 ± 0.10 *	0.44
<i>Chironomus nipponensis</i>	nd	0.26 **

nd; not determined

*; n=13

**; 3rd instars

Table 4a. Fatty acid compositions (mol %) of larva and pupa of *Chironomus plumosus* collected from Lake Kawaguchi.
表4a. 河口湖から採取されたオオユスリカ幼虫および蛹の脂肪酸組成.

FA	1998										1999			4 th instars**	3 rd instars	pupa***
	J*	F*	M*	A*	M*	J*	J*	A*	N*	D*	J*	F*	M*			
C14:0	4.5	7.3	9.1	9.4	11.3	10.2	9.1	8.7	1.5	4.0	3.6	4.0	4.0	6.7±3.17	2.5	5.3
C16:0	17.1	18.6	20.8	19.7	18.8	19.4	22.3	28.0	13.1	9.0	14.5	15.6	15.8	18.3±4.02	13.6	16.4
C18:0	8.4	5.1	4.4	5.3	4.9	5.6	6.6	8.6	10.1	7.5	7.6	4.6	4.9	6.4±1.83	7.2	6.5
C20:0	1.3	0.9	0.6	0.6	0.5	0.7	0.9	1.8	1.7	4.0	2.8	0.7	5.0	1.7±1.45	0.9	0.9
ΣSFA ¹⁾	31.3	31.9	34.8	34.7	35.6	35.8	39.0	47.0	26.4	29.4	28.5	24.6	29.8	33.0±5.86	24.2	29.2
C16:1 n-7	13.2	18.2	22.5	19.0	17.1	17.9	21.7	7.3	7.6	6.7	6.3	12.4	13.0	14.1±5.79	4.8	12.8
C18:1 n-9	15.3	14.6	14.9	14.2	12.2	14.0	15.9	11.7	19.3	15.5	20.3	16.8	15.8	15.4±2.41	24.5	11.7
C18:1 n-7	10.9	7.3	6.1	6.1	7.0	6.3	8.4	4.2	10.1	7.5	7.1	6.0	5.9	7.1±1.80	7.5	7.4
ΣMUFA ²⁾	39.4	40.2	43.7	39.5	36.6	38.4	46.2	23.7	37.1	29.9	34.1	35.4	34.9	36.9±5.74	36	31.9
C18:2 n-6	18.0	16.0	11.6	13.2	14.0	14.1	10.0	15.5	18.3	19.5	19.4	17.3	16.2	15.6±2.94	16.1	21.9
C18:3 n-6	0.3	0.4	0.5	0.6	0.6	0.6	0.3	0.2	0.2	0.7	0.5	0.9	2.4	0.6±0.58	0.6	0.6
C20:4 n-6	0.9	0.7	0.6	0.7	1.1	0.9	0.4	0.2	2.8	2.3	1.8	1.6	0.1	1.1±0.81	2.2	1.3
Σn-6 ³⁾	19.3	17.2	12.7	14.4	15.8	15.7	10.7	15.9	21.3	22.5	21.8	19.8	18.7	17.4±3.60	18.9	23.8
C18:3 n-3	2.9	2.9	2.2	3	3	3	1.3	0.7	5.6	6.9	4.4	5.7	4.3	5.5±1.79	5.5	3.2
C20:5 n-3	7.4	8.2	7.1	8.7	9.8	7.9	3.1	1.6	9.8	12.0	11.5	15.0	14.4	9.0±3.87	14.6	12.2
Σn-3 ⁴⁾	10.3	11.1	9.3	11.6	12.8	10.8	4.4	2.3	15.4	18.9	16.0	20.7	18.8	12.5±5.46	20.1	15.4
Σn-3/Σn-6	0.5	0.6	0.7	0.8	0.8	0.7	0.4	0.1	0.7	0.8	0.7	1.0	1.0	0.7±0.24	1.06	0.64
ΣPUFA ⁵⁾	29.6	28.3	22.0	26.0	28.5	26.5	15.1	29.4	36.7	41.3	38.0	40.5	37.7	30.8±7.75	39	39.2
ΣUFA	69.0	68.5	65.7	65.5	65.1	64.9	61.3	53.1	73.8	71.3	72.1	76.0	72.6	67.6±6.07	75	71.1
ΣC20PUFA	8.4	9.0	7.7	9.3	10.8	8.8	3.6	13.1	12.6	14.3	13.6	16.7	14.8	11.0±3.60	16.8	13.5
ΣC18PUFA	21.2	19.3	14.3	16.7	17.7	17.7	11.5	16.3	24.2	27.1	24.4	23.8	23.0	19.8±4.56	22.2	25.7
ΣSFA/ΣUFA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.9	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.5±0.15	0.32	0.41

Table 4b. Fatty acid composition (mol %) of each larva of *Prosilocerus akamusi* and Tanypodinae spp. collected from Lake Kawaguchi and lake detritus.

表4b. 河口湖から採取したアカムシユスリカ, モンユスリカ亜科幼虫および底泥堆積物の脂肪酸組成.

FA	1998							1999					4 th instars**	early 4 th instars	3 rd instars	Tanypodinae spp.****	Detritus
	J*	F*	M*	A*	O*	N*	D*	J*	F*	M*	D*						
C14:0	5.6	5.2	4.9	4.6	4.1	0.1	2.8	2.9	2.5	2.7	3.6±1.67	2.2±1.26	0.6±0.21	2.9	4.6±1.29		
C16:0	27.7	27.1	25.6	25.8	23.0	12.9	19.1	20.8	21.0	19.3	22.2±4.55	17.1±1.39	14.1±2.21	16.6	25.9±5.19		
C18:0	4.9	5.0	8.2	6.5	4.1	9.6	5.8	5.0	5.1	6.9	6.1±1.71	9.4±0.98	8.6±1.33	5.9	7.8±2.48		
C20:0	1.9	0.6	0.7	0.5	0.3	1.1	0.6	0.4	t	0.5	0.7±0.51	1.1±0.24	2.0±0.71	nd	7.3±3.23		
ΣSFA ¹⁾	40.1	37.9	39.4	37.4	31.6	23.7	28.3	29.1	28.6	29.4	32.6±5.68	29.9±3.07	25.2±1.80	25.4	45.6±9.11		
C16:1 n-7	13.2	12.5	10.5	9.4	11.1	2.3	6.9	6.5	6.6	9.1	8.8±3.30	6.0±1.68	3.5±1.19	1.20	16.6±6.83		
C18:1 n-9	14.6	21.6	23.7	23.1	16.1	23.0	20.5	19.1	19.3	17.1	19.8±3.14	23.2±2.51	23.3±2.87	19.0	10.0±1.91		
C18:1 n-7	1.6	0.7	1.7	0.1	1.3	0.0	0.2	1.6	2.1	3.0	1.2±0.96	3.0±0.87	4.2±2.15	8.5	5.9±0.77		
ΣMUFA ²⁾	29.1	35.1	35.9	32.5	28.6	25.3	27.6	27.2	28.0	29.2	29.8±3.50	32.2±2.77	31.0±6.12	29.8	33.4±6.76		
C18:2 n-6	10.0	8.9	8.4	9.1	11.7	12.9	13.5	10.5	10.1	10.6	10.5±1.76	11.1±2.47	10.8±1.96	5.9	5.1±2.40		
C18:3 n-6	0.1	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	3.5	1.2	0.7±1.05	0.2±0.19	0.2±0.21	0.8	1.1±0.31		
C20:4 n-6	0.5	0.5	0.4	0.5	1.0	1.2	0.6	0.9	0.6	1.1	0.7±0.30	0.8±0.36	0.6±0.83	4.8	4.8±2.52		
Σn-6 ³⁾	10.7	9.0	9.0	9.9	13.0	14.4	14.5	11.7	14.3	13.0	11.9±2.18	12.1±2.95	11.5±2.99	11.4	13.5±2.31		
C18:3 n-3	6.4	4.4	4.5	5.3	8.3	7.6	8.1	9.7	13.8	7.6	7.6±2.25	8.5±2.01	9.38±0.07	6.8	t		
C20:5 n-3	13.7	12.6	11.2	14.9	18.5	29.0	21.6	22.3	15.8	20.8	18.0±5.49	17.4±2.03	22.7±4.80	24.0	5.2±2.80		
C22:6 n-3	nd	nd	nd	2.0	0.8±0.75												
Σn-3 ⁴⁾	20.3	18.0	15.7	20.2	26.9	36.6	29.7	32.0	29.1	28.4	25.7±6.80	26.1±3.19	32.2±4.83	32.8	7.6±3.72		
ΣPUFA ⁵⁾	30.8	27.0	24.7	30.1	39.9	51.0	44.1	43.6	43.4	41.4	37.6±8.78	38.2±5.69	44.1±8.43	44.2	21.1±5.20		
ΣUFA	59.9	62.1	60.6	62.6	68.4	76.3	71.7	70.9	71.4	70.6	67.4±5.68	70.3±8.90	74.9±2.01	74.1	54.6±9.14		
Σn-3/Σn-6	1.9	2.0	1.7	2.0	2.1	2.5	2.1	2.7	2.0	2.2	2.1±0.30	2.2±0.40	2.8±0.25	2.9	0.56±0.25		
ΣC20PUFA	14.2	13.0	11.6	15.4	19.5	30.3	22.2	23.1	16.4	22.2	18.8±5.75	18.3±2.43	23.5±5.93	30.8	14.2±4.52		
ΣC18PUFA	16.6	14.0	13.1	14.7	20.4	20.7	21.9	20.5	27.0	19.4	18.8±4.25	19.8±4.00	20.3±0.18	13.5	6.2±2.39		
ΣSFA/ΣUFA	0.7	0.6	0.7	0.6	0.5	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5±0.13	0.4±0.06	0.3±0.03	0.3	0.9±0.43		

Data are expressed as % of total fatty acid content.

nd; not detected, t; trace, early 4th instars; New generation 4th instars larvae.

*, Mean of two data for 4th instar larvae. **, Mean of 4th instars. ***, Sample collected in M 1998. ****, Sample collected in F 1999.

¹⁾ Includes 12:0 (ΣSFA), ²⁾ Includes 20:1n-9, 20:1n-7, and 22:1n-9 (ΣMUFA) ³⁾ Includes 20:3n-6 (Σn-6)

⁴⁾ Includes 18:4n-3, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:5n-3 and 22:6n-3 (Σn-3) ⁵⁾ Includes 16:2, 16:3, 16:4 and 18:2n-9 (ΣPUFA)

河口湖および四尾連湖に生息するユスリカ幼虫の体内脂肪酸組成

Table 4c. Fatty acid compositions (mol %) of *Chironomus nipponensis* and *Prosilocerus akamusi* larvae collected from Lake Shibire and lake detritus.

表4c. 四尾連湖から採取したヤマトユスリカ, アカムシユスリカ幼虫および湖底泥堆積物の脂肪酸組成.

	<i>Chironomus nipponensis</i>		<i>Prosilocerus akamusi</i>		Detritus
	3 rd instars	4 th instars	early 4 th instars	4 th instars	
C14:0	0.6	3.8 ± 2.73	0.6	4.3 ± 1.74	4.0 ± 0.86
C16:0	14.1	19.6 ± 4.35	10.7	24.4 ± 6.15	23.1 ± 4.03
C18:0	7.3	6.1 ± 0.19	9.5	5.4 ± 1.65	7.1 ± 2.46
C20:0	1.2	1.0 ± 0.32	1.8	0.5 ± 0.66	8.0 ± 4.30
ΣSFA ¹⁾	22.6	30.5 ± 6.94	22.6	34.5 ± 9.78	42.2 ± 10.23
C16:1 n-7	7.8	17.2 ± 6.54	2.4	9.4 ± 1.61	24.6 ± 6.74
C18:1 n-9	11.5	10.3 ± 1.08	16.9	15.2 ± 3.02	8.0 ± 1.06
C18:1 n-7	12.5	11.2 ± 0.70	4.5	2.4 ± 0.42	5.7 ± 0.77
ΣMUFA ²⁾	31.8	38.6 ± 8.26	23.8	27.0 ± 4.63	38.8 ± 8.09
C18:2 n-6	22.8	16.1 ± 3.28	16.6	11.3 ± 1.79	4.1 ± 1.18
C18:3 n-6	tr	1.0 ± 0.20	0.2	0.5 ± 0.36	1.6 ± 0.74
C20:4 n-6	4.2	2.3 ± 2.03	1.3	2.1 ± 1.27	5.2 ± 2.05
Σn-6 ³⁾	27.0	19.4 ± 5.53	17.9	13.9 ± 2.43	12.9 ± 1.71
C18:3 n-3	7.6	4.7 ± 3.35	14.6	9.4 ± 3.75	t
C20:5 n-3	10.6	6.96 ± 6.33	21.1	15.2 ± 7.59	4.56 ± 1.42
C22:6 n-3	nd	nd	nd	nd	0.6 ± 0.42
Σn-3 ⁴⁾	18.2	11.6 ± 9.67	35.7	24.6 ± 11.10	6.2 ± 1.49
Σn-3/Σn-6	0.67	0.5 ± 0.34	0.66	1.7 ± 0.64	0.48 ± 0.08
ΣUFA	77.0	69.5 ± 6.94	77.5	65.7 ± 9.76	57.8 ± 10.23
ΣPUFA ⁵⁾	37.6	31.0 ± 15.19	53.8	38.5 ± 12.80	19.1 ± 2.93
ΣC20PUFA	14.8	8.4 ± 8.36	24.2	17.3 ± 8.56	12.8 ± 1.99
ΣC18PUFA	30.4	6.8 ± 6.34	31.4	21.2 ± 4.77	5.6 ± 1.39
ΣSFA/ΣUFA	0.60	0.3 ± 0.13	0.42	0.4 ± 0.21	0.79 ± 0.39

河口湖および四尾連湖底泥表層堆積物中の脂肪酸組成

河口湖, 四尾連湖底泥堆積物中 (Table 4b, 4c) の主要な脂肪酸 (含有量10%以上) はC16:0, C16:1でこれに次いでC18:1, C18:0, C20:0が多かった。C16:0, C16:1は堆積物の主要な脂肪酸であるが, 河口湖ではC16:0の方がC16:1より多く, 四尾連湖ではほぼ同じであった。C20以上の高度不飽和脂肪酸は両湖で大きな違いはみられなかった。

考 察

脂質の抽出は用いる溶媒により, その抽出率にバラツキのあることが指摘されているが (Landrum and Fisher 1985), 推奨されている方法の一つであるBligh and Dyer法 (1959) を用いて抽出した結果, 比較的安定した脂質含有量を得ることができた。四尾連湖採取のオオユスリカ 4 齢幼虫の総脂質含量は, 35%~45%と高い値を示した。水生昆虫の総脂質含量は乾燥重量の4.6~39.1%という幅広い値が報告されているが, Hanson et al. (1985) の7目58属の水生昆虫類を調査した結果によれば, その大半は10~20%であり, われわれの測定値より低い値である。ヒラタカゲロウ属の一種 *Epeorus sylvicola* の脂質含有量は年間を通

じて乾燥重量の2~20% (Meyer 1990), 掘潜性のカゲロウの幼生 (*Hexagenia limbata*) においても各成育段階で開きがあるが, 乾燥重量の2~20%と, われわれの測定値より低い値 (Landrum and Poore 1988) が報告されている。*Chironomus plumosus* で総脂質含有量が乾燥重量あたり38% (Johnson et al. 1989) とわれわれの値とほぼ同じで値であった。一方 *Chironomus* sp. では湿重量の8.3% (乾燥重量あたりに換算すると約50%; Hanson et al. 1985) という高い値も報告されている。

Ghiouni et al. (1996) は, 8種類の水生昆虫の脂肪酸含有量を調べ, 多くの水生昆虫の脂肪酸含有量はモノ不飽和脂肪酸, 飽和脂肪酸, 高度不飽和脂肪酸の順に低くなっていることを報告している。われわれの測定の結果もオオユスリカの4齢幼虫ではモノ不飽和脂肪酸 (約37%) のうちC18:1 (約22%) が多量に含まれ, 脂肪酸の含有量は, Ghiouni et al. (1996) の結果と同じ傾向であった。しかしアカムシユスリカ 4 齢および Tanyptodinae spp. (肉食性ユスリカ) の各幼虫では, 高度不飽和脂肪酸, 飽和脂肪酸, モノ不飽和脂肪酸の順に低くなり, さらに n-3 系の不飽和脂肪酸 (25~33%) のうちC20:5 (15~24%) が多量に含まれていることが特徴的であった。

水生昆虫の脂肪酸組成は同じ種のあいだでも餌の種類 (Goulden and Place 1990) や水温 (Kostrál and Simek 1998) により影響を受けることが報告されているが、底泥の水温がほぼ同じ時期の河口湖 (1998年3月採取: 6.2°C) と四尾連湖 (1998年4月採取: 7.6°C) のアカムシユスリカ4齢幼虫の脂肪酸組成はほとんど変わりがなかった。一方アカムシユスリカの餌となり得る藻類は四尾連湖、河口湖ともに多様である。吉田ら (1995) によると、四尾連湖の主要な出現藻類は、1年を通じて黄色鞭毛藻 *Dinobryon* sp. や過鞭毛藻 *Gimnodinium* sp. で、そのほか緑藻の *Quadrigula chodatii* や *Elakatothrix gelatinosa* などが頻度高く出現している。河口湖では1月から5月ごろにかけて *Aulacoseira* spp. *Cyclotella* spp., *Asterionella* sp. および *Fragilaria* sp. などの珪藻が優占し、その後7月に藍藻 *Microcystis* 属が出現し、秋期にはまた珪藻の *Fragilaria* sp. *Cyclotella* spp が優占種となり (吉澤 私信), クロロフィル *a* 量も多い (Fig. 2)。このように餌になり得る藻類は多様性に富んでいるが、底泥中の脂肪酸組成は C16:1 が四尾連湖にやや多量に含まれることを除けば、両湖の間に差は見られない。よって両湖の間でアカムシユスリカの脂肪酸組成が同じであるのは、水の中の植物プランクトンの組成が直接脂質に影響を与えているというよりは底泥の餌の脂肪酸組成が影響をあたえているものと考えられる。

アカムシユスリカの4齢幼虫では $n-3/n-6$ 比がほぼ2であるのに対し、オオユスリカあるいはヤマトユスリカ4齢幼虫では1以下であり、アカムシユスリカとの間に相違が認められた ($p < 0.05$)。この結果は、河口湖および四尾連湖でも同様であり、アカムシユスリカ幼虫はオオユスリカおよびヤマトユスリカ幼虫と餌の取り込みと脂肪酸代謝にオオユスリカおよびヤマトユスリカ幼虫と違いのある可能性がある。Tanypodinae spp. 幼虫は、 $n-3$ 系の不飽和脂肪酸をアカムシユスリカやオオユスリカ幼虫よりも多く含んでいる。またこの幼虫には、C20:5のほかに両ユスリカ幼虫ではほとんど検出されない C22:6 の高度不飽和脂肪酸が約2%存在し、 $n-3/n-6$ 比は2.8と高い値を示じた。一般に陸生昆虫より水生昆虫のほうがC20以上の高度不飽和脂肪酸を多量に含む傾向があり (Hanson et al. 1985, Lee et al. 1975), とくに肉食性の水生昆虫では、その傾向が強いとされている (Ghioni et al. 1996; Uscian et al. 1992)。これらの結果から判断するとオオユスリカとアカムシユスリカおよび Tanypodinae spp. の各幼虫の脂質代謝系はやや異なると考えられるが、代謝に関わる酵素系などについての検討を行っていないので断定はできない。

高度不飽和脂肪酸は、膜のリン脂質内に代謝され、膜

の流動性に関わることが知られている (Stanley-Samuelson et al. 1988)。高温に生息する *Pseudosarcophaga affinis* の幼虫では飽和脂肪酸を多量に含んでいるが (House and Barlow, 1960), 低温に耐性のある水生昆虫は高度不飽和脂肪酸を含むと言われている (Van Handel 1966)。オオユスリカ、ヤマトユスリカ、アカムシユスリカの各幼虫は年間を通じて、温度変化の比較的少ない底泥に生息しているが、4齢幼虫のC20:4やC20:5脂肪酸は直上水の水温が下がる冬期に多くなる傾向からこれらは膜の流動性を維持している可能性もある。しかし本報告では膜の主要な画分であるリン脂質の脂肪酸組成の分析を行っていないので不明な点が多く更に確かめる必要がある。

アカムシユスリカ、オオユスリカやヤマトユスリカの各幼虫の主要なC20以上の脂肪酸はC20:5 ($n-3$ 系) である。河口湖で採取したオオユスリカの4齢幼虫では、冬期から8月に向けて飽和脂肪酸のC16:0が急激に増加する一方、 $n-3$ 系の脂肪酸が減少した。また11月は飽和脂肪酸が8月にくらべ減少し、 $n-3$ 系の脂肪酸を含む高度不飽和脂肪酸が増加している。11月ほど顕著ではないが4月と5月の間においても同様の傾向がみられた。さらに同湖のアカムシユスリカでは10月に比べ11月には飽和脂肪酸が減少する一方、高度不飽和脂肪酸が増加している。四尾連湖のオオユスリカ幼虫とアカムシユスリカ幼虫についても同様の結果が得られた。この時期は何れのユスリカ類も羽化期 (Hirabayashi et al. 2005) と一致しており、羽化前に $n-3$ 系の高度不飽和脂肪酸とくにC20:5が増加している。C20:4やC20:5脂肪酸は哺乳動物ではプロスタグランジンの前駆物質として機能している。一方、昆虫のコオロギ *Acheta domestica* の成虫 (Destephano and Brady 1977) や *Teleogryllus commodus* の卵の分化過程で欠かせない物質であることも知られており (Loher 1979), 昆虫においてもプロスタグランジン様の機能のある可能性が高い。またC20:4やC20:5を多量に含む種は肉食性の捕食者やデトリタスなどを捕食する濾過食者のような餌のとり方をしていると報告もある (Hanson et al., 1983)。C20:5 ($n-3$ 系) 脂肪酸は生体膜の主要な構成成分であり、貯蔵物質として、あるいは幼虫から成虫へ変態するときに使われるエネルギー源として、またホルモンの基質として重要である (Stanley-Samuelson et al 1988) ことが知られている。本報告のユスリカ幼虫においても形態変化とくに羽化時に重要なエネルギーもしくは代謝に深い関係を持つホルモンの基質となっている可能性が高い。

今後、環境要因と脂質の関係を解析するにあたり、成育環境の異なる湖沼に生息するユスリカを用いて脂質画

分および脂肪酸組成について解析を進めることが必要である。

謝 辞

Peripheryソフト* (手製のソフト)のご提供をいただいた明治大学理工学部富沢一隆教授のご厚意に深く感謝します。また山梨自然湖沼研究会の皆様には試料採集に当たり便宜を図っていただいた。山梨県衛生公害研究所の吉澤一家氏には、調査当時の河口湖の植物プランクトン相について快くデータを提供していただいた。この場をかりて感謝いたします。

文 献

- 足立陽子・村上巧啓・足立雄一・松野正和・葦原昌子・岡田敏夫・五十嵐隆夫・吉住昭(1999)：小児気管支喘息におけるオオユスリカ皮内テストの全国調査．アレルギー, 39:670-677.
- Arts M. T. (1993) : Lipid in freshwater zooplankton: selected ecological and physiological aspects. In Lipids in freshwater ecosystems, M.T. Arts and B. C. Wainman (eds): 71-90. Springer-verlag, New York.
- 有賀祐勝(1979)：現存量の測定，藻類研究法，西沢一俊・千原光男編：397-398. 共立出版，東京.
- Bligh, E. G. and W. J. Dyer(1959) : A rapid method for total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37 : 911-917.
- Cargill, A. S., K. W. Cummins, B. J. Hanson and R. P. Lowry (1985) : The role of lipid, fungi, and temperature in the nutrition of shredder caddis fly, *Clistronia magnifica*. Freshwater Invertebrate Biology, 4: 64-78.
- Cavaletto, J. F. and W. S. Gardner (1999) : Seasonal dynamics of lipids in freshwater benthonic invertebrates . In Lipids in freshwater ecosystems, Arts, M. T. and B. C. Wainmann, (eds) : 108-131. Springer-verlag, New York.
- Cranston P. S. (1995) : Introduction. In : The chironomidae : Biology and Ecology of Non-biting Midges, Armitage P. D., P. S. Cranston and L. C. V. Pinder (eds):1-7. Chapman and Hall, London.
- Destephano, D. B. and V. E. Brady (1977) : Prostagrandin and prostagrandin synthetase in the cricket *Acheta domesticus*. Journal of Insect Physiology, 23: 905-911.
- Downer, R.G. H. (1978) : Functional role of lipids in insects. In Biochemistry of Insects, Rockstein, M. (ed): 57-92. Academic Press, New Nork.
- Ghioni C., J. B. Bell and J. R. Sargent(1996) : Polyunsaturated fatty acids in neutral lipids and phospholipids of some freshwater insects. Comparative Biochemistry and Physiology, 114:161-170.
- Goulden, C.E. and A.R. Place (1990) : Fatty acid synthesis and accumulation rates in Daphnias. Journal of Experimental Zoology, 256:168-178.
- Hanson, B. J., K.W. Cummins, A. S. Cargill and R. R. Lowry (1983) : Dietary effects on lipid and fatty acid composition of *Clistronia magnifica* (Trichoptera : Limnephilidae). Freshwater Invertebrate Biology, 2: 2-15.
- Hanson, B. J., K. W. Cummins A. S. Cargill and R. R. Lowry (1985) : Lipid content, fatty acid composition, and the effect of diet of fats of aquatic insects. Comparative Biochemical Physiology, 80B: 257-276.
- Harwood, J. L. and N. J. Russell (1984) : Lipid distribution in different organisms and their use in taxonomy. In "Lipid in plants and microbes: 35-54. Geoge Allen & Unwin Ltd. UK.
- 平林公男 (1991a) : 諏訪湖地域における“迷惑昆虫”ユスリカの大発生とその防除対策 (第2報：“迷惑昆虫”ユスリカ問題に対する住民意識構造とその数量化の試み) 日本衛生学会誌, 46: 662-675.
- 平林公男 (1991b) : 諏訪湖地域における“迷惑昆虫”ユスリカの大発生とその防除対策 (第3報：“迷惑昆虫”ユスリカの制御に関する若干の実験と防除対策の提言) 日本衛生学会誌, 46: 676-687.
- Hirabayashi K., Kubo K., Yamaguchi S., Fujimoto K., Murakami G. and Nasu Y. (1997) : Studies of bronchial asthma induced by chironomid midges (Diptera) around hyper-eutrophic lake in Japan. Allergy, 52:188-195.
- Hirabayashi K. and T. Okino(1998) : Massive flights of chironomid midge nuisance insects around a hyper-eutrophic lake in Japan: A questionnaire survey of tourists. Journal Kansasu Entomology. Society, 71:439-446.
- Hirabayashi, K., K. Yoshizawa, K. Arizumi, N. Yoshida and F. Kazama(2005) : Long-term dynamics of benthic macroinvertebrates from a small shallow lakes in central Japan. Verh. Internat. Verein. Limnology. 29: (in press).
- House, H. L. and J. S. Barlow (1960) : Effects of oleic acid and other fatty acids on the growth rate of *Agria affinis*. Journal of Nutrition, 72: 409-414.
- 岩熊敏夫 (1990) : 水源水域における底生動物の水質に及ぼす影響，公害と対策，26:(3)3-2.
- Iwakuma T. and Yasuno M. (1983) : Fate of the univoltine chironomid, *Tokunagayusurika akamatsui* (Diptera: Chironomida) at emergnce in Lake Kasumigaura, Japan. Archiv für Hydrobiologie, 99: 37-89.
- Iwakuma T., M. Yasuno, Y. Sugaya and M. Sasa (1988) : Three large species of Chironomidae (Diptera) as biological indicators of lake eutrophication. In Biological monitoring of environmental pollution, Yasuno M. and B.A. Whitton (eds) : 101-113. Tokai University Press, Tokyo.
- Johnson, R. K., B. Bostrom and W. Van de Bund (1989) : Interactions between *Chironomus plumosus* and the microbial

- community in surficial sediments of a shallow, eutrophic lake. *Limnology and Oceanography*, 34: 992-1003.
- 河合幸一郎 (2001) : 水質改善者としてのユスリカ, ユスリカの世界, 近藤繁生・平林公男・岩熊敏夫・上野隆平編: 71-81. 培風館, 東京.
- Kostrál V. and P. Simek (1998): Changes in Fatty acid composition of phospholipids and triacylglycerols after cold-acclimation of aestivating insect prepupa. *Journal of Comparative Physiology*, 168: 453-460.
- Landrum, P. F. and S. W. Fisher (1985): Influence of lipids on the bioaccumulation and trophic transfer of organic contaminants in aquatic organisms. In *Lipids in freshwater ecosystems*, M. T. Arts and B. C. Wainman (eds): 206-234. Springer-verlag, New York.
- Landrum, P. F. and R. Poore (1988): Toxicokinetics of selected xenobiotics in *Hexagenia limbata*. *Journal Great Lakes Reserch*, 14: 427-437.
- Lee R.F., J.T. Polhems and L. Cheng (1975): Lipids of the water strider *Gerris remigis* Say (Heteroptera:Gerridae), Seasonal and developmental variations. *Comparative Biochemical Physiology*, 51B: 451-456.
- Loher, W. (1979): The influences of prostagrandin E2 on oviposition in *Teleogryllus comondus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 25:107-108.
- Meyer, E. (1990): Levels of major body compounds in nymphs of the stream mayfly *Epeorus Sylvicola* (PICT). (Ephemeroptera: Heptgeniidae). *Archiv für Hydrobiologie*, 117: 497-510.
- Sasa M. and M. Kikuchi (1995): *Chironomidae (Diptera) of Japan*. University of Tokyo Press.
- Snedecor, G. W. and W. G. Cochran (1972): *Statistical Methods*, 6 edition, 畑村又好・奥野忠一・津村善郎 (共訳) : スネデカー, コ克蘭統計的方法, 87-114, 246-284. 岩波書店, 東京.
- Stanley-Samuels, D. W., R. A. Jurenka, C. Cripps., G. J. Bloomquist and M. de Renobales (1988): Fatty acids in insects: composition, metabolism, and biological significance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 9: 1-33.
- Uscian J. M., J. S. Miller, R. W. Howard and D. W. Stanley-Samuels (1992): Arachidonic and eicosapentaenoic acid in tissue lipids of two species of predacious insects. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 103B: 833-838.
- Van Handel, E. (1966): Temperature independence of the composition of triglyceride fatty acids synthesized de novo by the mosquito. *Journal of Lipid Research*, 7: 112-115.
- Yamamoto, Y. and H. Tatsuzawa (2000): The effects of silicon deficiency and pH on the composition of lipids freshwater *Synedra* and *Pinnularia*. *Proceeding of the 13th International Diatom Symposium 1994*: 83-92.
- 安野正之 (1983) : 生物指標としてのユスリカ. 環境指標生物としてのユスリカ: その分類と生態. 文部省「環境科学」特別研究 (富栄養化とユスリカ類研究班), 「環境科学」研究報告集B182-R12-17: 1-4.
- 吉田雅彦・吉澤一家・平林公男 (1995) : 四尾連湖における陸水学的研究 (予報). 山梨県立女子短期大学紀要, 28: 147-155.