

ムラサキイガイによる餌粒子の選択につ いての一検討方法 (予報)

梅津 武司・上田 和夫・古川 厚

A PRELIMINARY NOTE ON SELECTION OF FOOD PARTICLES BY MUSSEL *MYTILUS**

Takeshi UMEZU, Kazuo UEDA** and Atsushi FURUKAWA***

The content found in the alimentary canal of filter feeding organisms may reflect the composition of suspended matters in the surrounding water. Some differences, however, were observed between the content and the suspension, and the main reason for this discrepancy could be caused to selection in feeding by animals, such as the majority of lamellibranchs.

Some experiments were carried out to estimate selection of food by mussel with phytoplanktons, *Dunaliella*, *Nannochloris* and *Phaeodactylum tricornutum*, which were labeled with ^{32}P . The cell numbers in pseudo-feces were measured after feeding the cells of various concentrations to the individual mussel. Feeding rate and retention rate were estimated, after several groups of large and small five mussels were fed the single or two species.

The following procedures were examined. 1) The pseudo-feces excreting minimum concentrations and the percentage of pseudo-feces to total uptake might depend on different species of foods. 2) The feeding or filtering rate may vary with kinds of particles. 3) The amount of cells retained on the external organs, which rejected and swallowed in part, may be influenced with the different species. But relationship between formation of pseudo-feces and respiratory function was not considered.

Under the experimental conditions, it seemed that mussel showed some selectivity or preference for the particles, when two kinds of particles were available simultaneously.

I は し が き

養殖の対象となる二枚貝の多くは、水中の懸濁物を餌としている濾過摂餌生物 (filter feeder) とされている。これらの貝類の消化管中に取り込まれる餌あるいはその中に見られる餌の組成は、貝の生息する水界に存在する懸濁物の質と量を必ずしも正しく反映していないが、両者の間に見られるこのような組成の差違は、貝が摂餌にあたって水中の餌粒子を選択することに大きく起因すると考えられる。

貝類の餌料として重要な懸濁物の質的、量的な特徴および海水の塩素量から、水域の貝類養殖場としての特性を示す指標が得られる (古川・他, 1961)。懸濁物中のどのような物質が貝類の餌として有効であるかという問題とともに、さまざまな餌粒子に対して貝がどの程度の選択能力を持つかという問題は、上記の指標

* Studies on suspension feeding-II. 内海区水産研究所業績 第118号.

** 九州大学農学部附属水産実験所.

*** 東北区水産研究所.

の成立機構を考えるうえで重要である。

今回、貝の餌の選択の1つの側面を考えるために、予備的な実験を行なった。すなわち、本実験では、主として口中に入るまでの餌粒子の選択を、放射性リン (^{32}P) で標識した3種の植物プランクトンを使用することにより、特に擬糞 (pseudo-feces) の形成と関係づけて調べ、鰓に保持された細胞数、擬糞の量および真の摂取量のそれを定量することができたので、予報として報告する。なお、擬糞の形成と呼吸との関係については、今回の実験ではまったく触れなかった。

II 試 料

餌の素材として使用した植物プランクトンは、緑藻類では、*Dunaliella* sp. (8~10×10~13 μ) および *Nannochloris* sp. (1~2 μ) の2種で、前者は運動性があり、後者はこれを欠く。硅藻類では、細長い紡錘形の *Phaeodactylum tricornutum* (20~30×2~4 μ) を使用した。これら3種は、細胞の大きさを考慮して、実験における餌の素材として取りあげた。

これら浮遊藻類は、MIQUEL氏液添加の天然海水を用い、昼光色蛍光灯および天然光のもとで通気しながらフラスコ内で培養した。室温 (14~27°C) での培養状態は良好であった。

^{32}P の標識にあたっては、RICE (1953) の報告を参考にし、増殖期にあるものを3,000rpmで遠心分離し、集めた細胞を ^{32}P を添加した人工海水 (TA type, 高野; 1946) の中に駒込ピペットで移し、蛍光灯の下で約24時間保った。ただし、この人工海水はリン酸塩を除いて調整してある。上述の懸濁液をふたたび遠心分離し、上澄を除き、それを新しい同じ人工海水を用いて2回繰返し遠心分離して洗浄し、 ^{32}P で標識された濃厚な細胞懸濁液を得た。遠心分離および "Millipore" filter (HA type, pore size 0.45 μ , 以下MFと略記) 上での洗浄による細胞からの ^{32}P の損失は第1表に示した。植物プランクトンによるPの摂取は光、リン酸塩の濃度、pHなどによって変化しやすいことが示されているが (RICE, 1953; KOHL, 1962), 第1表に示したように、今回の実験においては使用に耐えるものであった。

Table 1. Loss of ^{32}P from cells in washing with the artificial sea water.

Procedure	Species	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	<i>Dunaliella tertiolecta</i>
Original solution		2,933 ± 54.2cpm/0.1ml	2,944 ± 54.3cpm/0.1ml
1st. supernatant		669 ± 11.6cpm/5.0ml	577 ± 10.7cpm/5.0ml
2nd. supernatant		875 ± 13.2cpm/5.0ml	1,460 ± 17.1cpm/5.0ml
Resultant cells*		1,599 ± 20.0cpm/0.01ml	4,795 ± 48.9cpm/0.01ml
Washing** with 10ml		1,677 ± 20.5cpm/0.01ml	4,239 ± 46.1cpm/0.01ml
Washing with 100ml		1,667 ± 18.3cpm/0.01ml	2,937 ± 38.8cpm/0.01ml

* 1.2×10⁷ cells/ml.

** Sea water onto cells retained on MF.

細胞数は THOMA あるいは BÜRGER-TÜRK 血球計数板で測定し、放射能は一定量の細胞懸濁液を MF で濾過して、これを測定皿に置いて計数した。その結果、細胞数は放射能計数と 10²~10⁴cpm の範囲ではほぼ直線的な比例関係にあった。放射能は、有効窓径50mm (マイカ窓) の GM管を用いて測定した。なお、植物プランクトンは無菌培養ではないので、 ^{32}P の標識に際してバクテリアがどのように関与しているかは不明であった。

使用したムラサキガイ, *Mytilus* sp. は、広島湾内の浮標に付着し、常に海水中に浸っていたものを採取し、流水中で3~10日間予備飼育しておいた中から選んだ。海水は綿で濾過して使用し、その比重は1.017~1.022, pHは7.7前後であった。なお、季節的、日周期的および水温による貝の活動性の違いについては検討を行なわなかった。

Ⅲ 方法と結果

実験の1 擬糞の形成と細胞濃度

500mlあるいは250mlの海水を入れたガラスバットに貝を1個体入れ、出水孔の部分が上になるように保った。バット内の海水中に ^{32}P で標識した *Dunaliella* あるいは *Phaeodactylum* の一定量を加え、マグネティック・スターで水を回転させてよく混合してからスターを止めて、30分あるいは60分間摂餌させた。殻を開いた貝の場合には、貝の呼吸によって少なくとも貝の付近の水は動いていることが擬糞や水面の動きなどで認められたが、植物プランクトンの濃度が海水中で均一であるか否かについては調べなかった。貝の出水孔付近の外套膜縁辺の間隙から、紐状ときには切片状となって排出される擬糞を、ピンセットにはさんだごく細い綿切れに付着させて採取し、これを測定皿に入れて放射能を計数した。

一定時間後に貝を取り上げて殻を開き、ある場合には外套腔から出た水、切り取った唇弁と鰓、そのほかの肉部、飼育水中に残った植物プランクトンおよび水中に溶出した ^{32}P など各部分について放射能を測定した。

^{32}P は最大エネルギー1.71 MeV (平均エネルギー0.69 MeV)の β 線を放出し、水(1 g/cm³)の厚さ最大7.5mm程度(平均エネルギーに対しては約2.5mm)を通り抜けるので、貝の肉部は細切して直径47mmの測定皿に広げてそのまま直接放射能を測定した。同一試料を濃硝酸で分解し、蒸発乾固して測定した場合に比べると計数率は5~10%少なかった。使用した貝の大きさはそれぞれ図の説明中に記した。以上は秋期

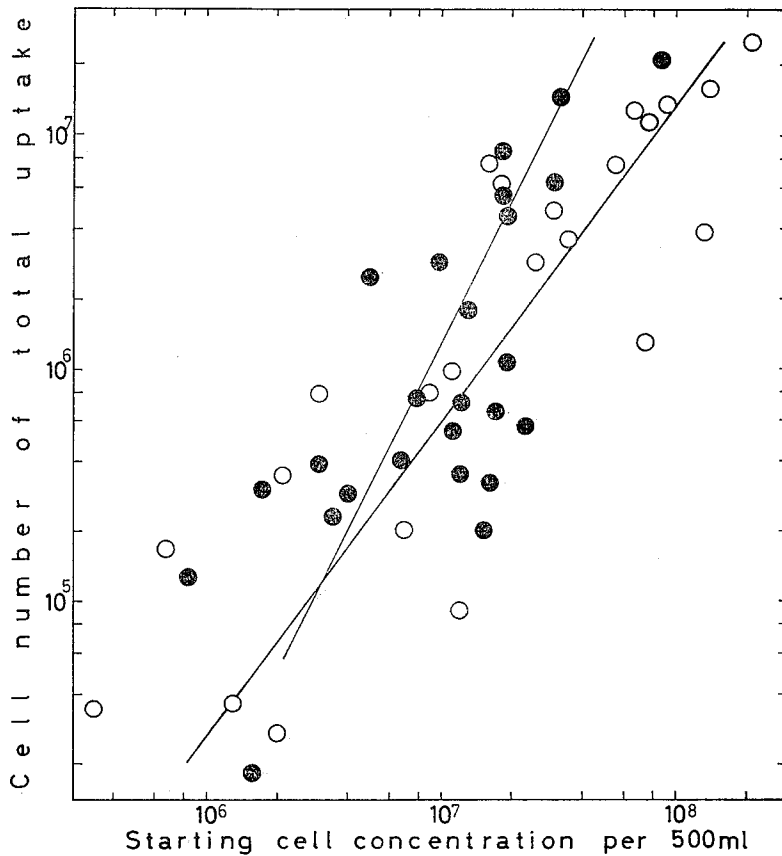


Fig. 1. Relation between total uptake and starting cell concentration. Black circle indicates *Dunaliella* and white circle *Phaeodactylum*. Shell length : 35~43mm, feeding period : 30 minutes.

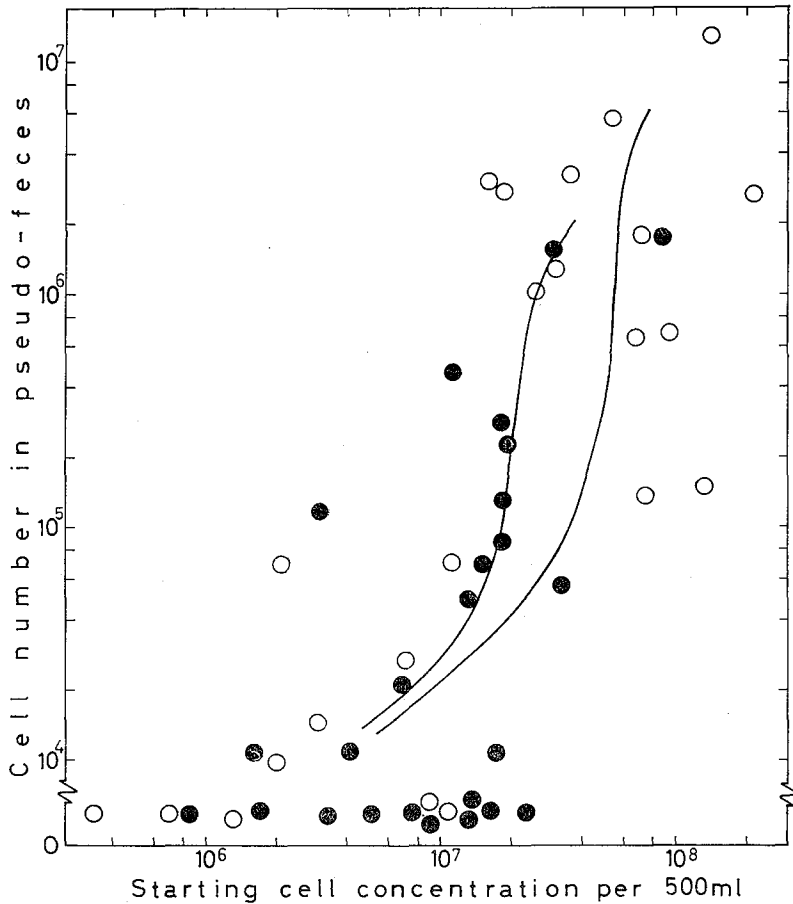


Fig. 2. Relation between cell numbers in pseudo-feces and starting cell concentration. Symbols and experimental condition were the same as shown in Fig. 1.

で水温 14~17°C, 10~14時の間に実験を行なった。

餌の各濃度に対する総摂取量と擬糞量をそれぞれ第1, 2図に示した。図中のプロットはそれぞれの実験値である。真の摂取量, 擬糞量およびそのほかの部位に保持されていた植物プランクトンの量の総計を総摂取量とした。総摂取量から擬糞量を引いた差は, ほぼ真の摂取量に近いといえるであろう。なお, 上記のようにして求めた総摂取量と, 当初加えた植物プランクトンの数から海水中の残存細胞数を引いて求めた総摂取量が一致するか否かは十分検討しなかったが, 実験の2では回収率はかなり変動していた(第3表)。

第3図は *Phaeodactylum* を投与し, 30分間摂餌させた場合の擬糞量および体の各部に存在する細胞数について示したものである。最右端の各点は外套腔にカクレガニの1種, *Pinnotheres* の寄生していた個体についての値で, 摂餌そのほかの貝の活動が弱いように考えられる。なお, たまたま貝の中に生息していたカクレガニに放射能が認められたことから, このカニは何らかの方法で *Phaeodactylum* を摂取したと思われる。第4図には *Dunaliella* を投与した場合の, 擬糞量と鰓の放射能(保持されている細胞数)との関係について示した。

実験の2 濾過率と鰓に保持されている植物プランクトンの細胞数

直径30cmの2つのガラスバットに1 lの海水を満し, それぞれに5個ずつの大型または小型の貝を入れ

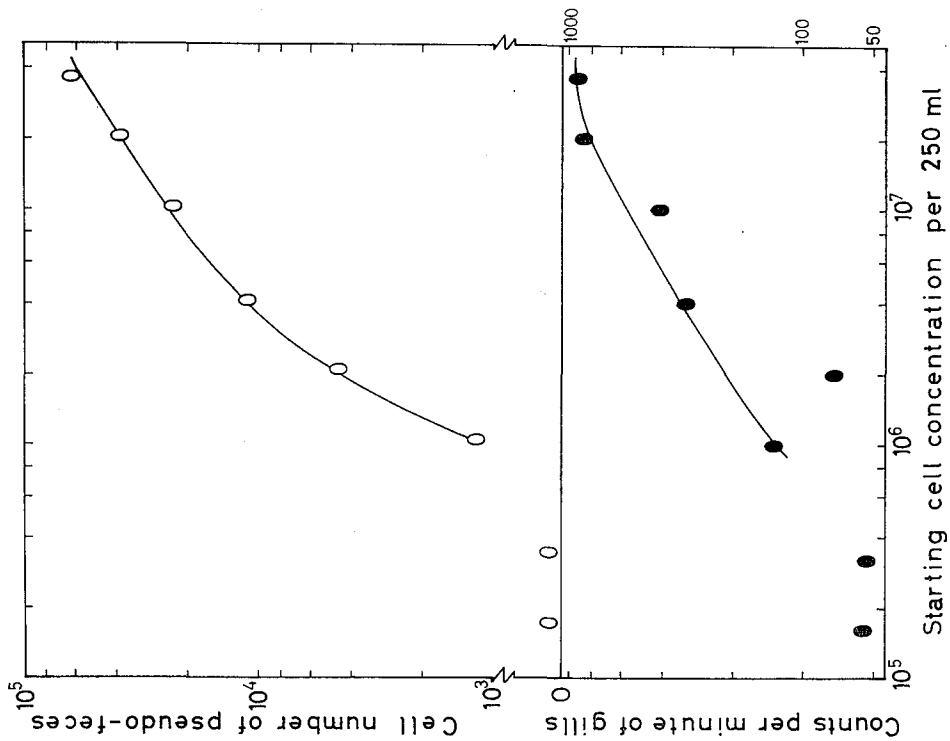


Fig. 4. The relation of cell numbers in pseudo-feces and radio activity (= cell number) retained on gills to cell concentration of *Dumaiella*. Shell length: 78~93mm, feeding period: 60minutes.

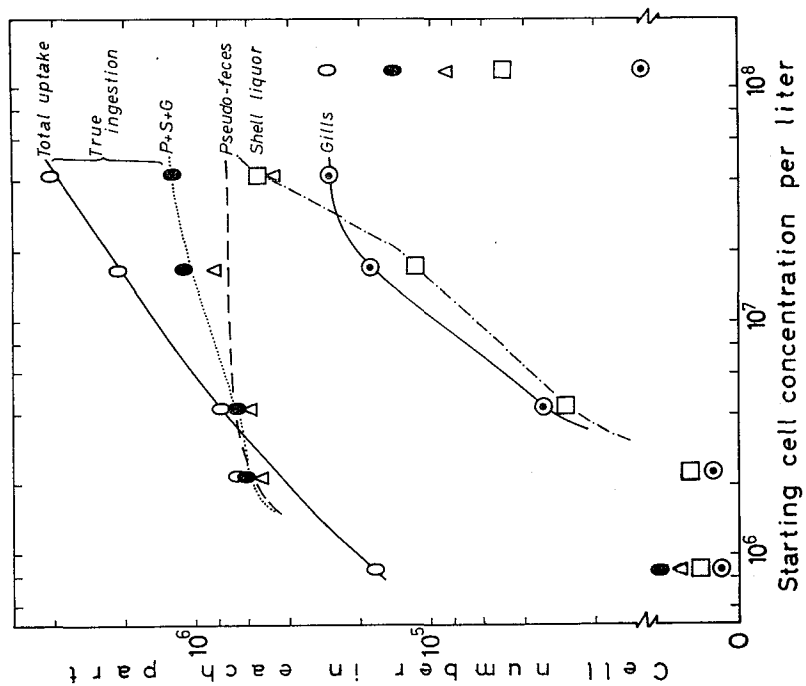


Fig. 3. The relation of cell numbers in each part of mussel to cell concentration of *Phaeodactylum*. Shell length: 59~68mm, feeding period: 30 minutes.

た。スタラーの回転中心の水面が1~2cmくぼむ程度の回転で定常な水流を起こし、 ^{32}P で標識した *Dunaliella* または *Nannochloris* の一定量を単独あるいは無標識の異種のプランクトンと混合して30分あるいは120分間摂餌させた。餌の濃度と種の組合せは第2表に示した。摂餌後は5個の貝の各部ごとをそれぞれ合わせた

Table 2. Composition of food.

No.	Species ; Cell number/ l
I	<i>Nannochloris</i> * ; 4.0×10^9
II	<i>Dunaliella</i> * ; 4.0×10^6
III	<i>Nannochloris</i> * ; 2.0×10^9 <i>Dunaliella</i> ; 2.00×10^6
IV	<i>Dunaliella</i> * ; 2.0×10^6 <i>Nannochloris</i> ; 2.0×10^9

* Labeled cells.

出すことはできなかった。

Table 3. Percentage of cell number (=radioactivity) on different items measured in the experiment.

No.*-Mussel group	Feeding period	Gills+ L. palps	Shell liquor	Others	Remains**	Feces	Filtrate	Recovery
I -Large	30 min.	0.13%	0.51	109	2.95	0.08	0.06	113
I -Small	30	1.49	2.36	75.0	31.8	0.39	0.06	111
II -Large	30	0.86	4.97	76.5	13.4	0.11	0.27	96.2
II -Small	30	1.38	4.70	78.5	23.4	0.36	<0.60	109
III -Large	120	4.17	0.81	59.1	0.81	11.2	0.04	76.1
III -Large	30	0.72	3.99	76.2	1.02	0.05	0.06	83.6
III -Small	30	1.65	10.7	52.4	31.1	0.64	0.06	96.5
IV -Large	120	2.99	2.02	49.0	21.2	2.35	0.47	78.0
IV -Large	30	1.12	2.18	65.1	13.6	0.11	<0.60	82.1
IV -Small	30	0.75	2.95	62.8	18.6	0.14	<0.60	87.7

* See Table 2.

** In the sea water.

IV 考 察

結果を次の3つの観点から整理して、貝の餌粒子に対する選択について考えた。

1) 擬糞の形成は摂餌と呼吸とに関係する現象であるが、今回の実験においては呼吸との関係はまったく触れなかった。しかし、餌粒子の種類が異なれば、貝の擬糞形成の最低濃度および擬糞量と真の摂取量の比が異なるかもしれない。

ZoBELL・FELTHAM (1938) によると、*Bacillus marinus* ($0.8 \sim 1.8 \times 7.0 \sim 9.2 \mu$) を *M. edulis* に与えた場合、擬糞中にはその孢子 ($1.2 \sim 1.8 \times 2.4 \sim 3.6 \mu$) がもとの懸濁液中における比率より多いことから、著者らは *M. edulis* は孢子を選択的に排除したのであろうと述べている。LOOSANOFF (1949) はカキにいろいろの微生物を含む培養液を投与したとき、擬糞と真の糞とが色の異なることを見て、顕微鏡で観察したところ、前者は大部分 *Chromatium* ($2 \sim 3 \mu$) からなり、後者は普通に見られるプランクトンからなるこ

とを知った。その結果から、唇弁には粒子の大きさや形のみならず、その化学的性質の差違を識別できる感覚受容器が存在し、その働きにより定性的な餌の選択も可能なのであろうという。

Dicrateria inornata (3~5.5 μ)、*Peridinium trichoideum* (20~30 μ) を2.55:1の比率で *Lasaea rubra* に投与した場合、6時間後の擬糞中には両種は1.65:1の比で存在し、*Dicrateria* の選択的な摂取が認められた (BALLANTINE・MORTON, 1965)。 *Ostrea gigas*, *Venerupis semidecussata* などの擬糞排出濃度はベントナイト (3~4 μ) で約 4×10^5 個/ml, *Thalassiosira* sp. (20~30 μ) で $4 \sim 7 \times 10^3$ /ml, *Senedesmus* sp. (4~12 μ) では約 4×10^5 /mlであった (千葉・大島, 1957)。

2) 餌粒子の種類によって、同一の摂餌条件下においても貝による濾過率 (filtering rate) あるいは摂餌率 (feeding rate) が異なるかもしれない。

JØRGENSEN (1949) は *M. edulis* では黒鉛粒子 (4~5 μ) を鰓で除去する率は低いが、ほぼ同じ大きさの *D. inornata*, *Isochrysis galbana* に対してはそのほとんどを除去することをみている。 *Venus mercenaria* では珪藻の *Nitzschia* sp. (19 \times 5 μ) および *N. closterium* (43 \times 4 μ) に対する濾過率のほうが、小型の緑藻、*N. atomus* (2 μ)、*Chlorella* (4 μ) より高いことが示されている (RICE・SMITH, 1958)。

BALLANTINE・MORTON (1956) によると *L. rubra* は有毒な *Gymnodinium veneficum* をまったく摂取せず、9種の浮遊藻類の間で濾過率に差が認められた。種の大きさと濾過率との間には特別の関係は認められなかったが、緑藻の *Nannochloris*, *Chlorella* より珪藻の *P. tricornerutum* (= *N. closterium* f. *minitissima*) がより高率で濾過されている点は上記の RICE・SMITH (1958) の認めた事実と一致している。

一方、*Pecten irradians* による濾過率は *N. closterium* (56 μ) でも *Chlamydomonas* (7 μ) を用いてもほとんど差が認められず (CHIPMAN・HOPKINS, 1954)、また *O. virginica* では鰓で粒子を除去する率は同一の餌についてもかなり変動することも知られている (LOOSANOFF・ENGEL, 1947)。

3) 擬糞となる前に鰓、唇弁、外套膜表面および多套腔中の水に存在し、粘液で塊状となって口に入らずに廃棄される部分の多寡は粒子の種類によって差違が見られるかもしれない。このことは *M. edulis* についての DODGSON (1928) の観察、*Crassostrea virginica* についての GALTISOFF (1964) の観察結果から考えられる。すなわち、餌粒子は複雑な径路を経て擬糞として排出され、また口中に取り入れられる。

さて、結果の吟味に入ると、当初存在した細胞数と貝によって摂取された細胞数 (総摂餌量) との間には、第1図に示したようにほぼ比例関係が見られた。第2図では細胞濃度が 10^4 /ml を少し越えるところから擬糞の排出が多くなる個体が約 $\frac{1}{2}$ あったが、残り $\frac{1}{2}$ では擬糞の形成が認められなかった。

LOOSANOFF・ENGEL (1947) は *O. virginica* では細胞濃度と摂取量との間に何らの相関も認めず、*Chlorella* を与えたとき、その濃度が $1.5 \sim 1.2 \times 10^6$ ml あたりから擬糞の形成が顕著になったと述べている。

個体差が大きいこと、相関を示す直線および曲線は統計的処理をして求めたものではないこと、総摂餌量については多少の誤差のあることおよび呼吸との関係における擬糞の形成という面にはまったく触れていないことを考慮に入れたうえ、いちおう第1図の直線と第2図の曲線で示された両者間の関係を認めるとする。それぞれの種に対応する直線と曲線とから読み取った値に基づいて、擬糞 \times 100/総摂餌量の値を求め、これと細胞濃度との関係を示すと第5図のようになる。この図からは擬糞の排泄される比率は *Dunaliella* に対しては 4×10^3 /ml, *Phaeodactylum* については 1×10^4 /ml 付近の濃度から急に増加し、餌粒子の種類によって曲線の形に違いが見られる。

摂餌時間と時刻、餌料の組成などがすべて同一というわけではないが、実験の2の中から、飼育水中の残存細胞数と貝の外部器官 (鰓、唇弁、外套膜、外套腔内の水) に保持されている細胞数との関係をパーセントで示すと第6図のようになる。この図からは *Dunaliella* のほうが *Nannochloris* より残存率が高く、すなわち摂取されにくいようであることと、前者のほうが後者より多く外部器官に保持されている傾向が示される。今実験では摂餌時間の長短、単一か混合投餌か、貝の大小などによる餌の選択上における差違は明らかでなかった。

第4図においては鰓に保持されている細胞数と擬糞量とは概略的には比例関係にあるから、保持される傾

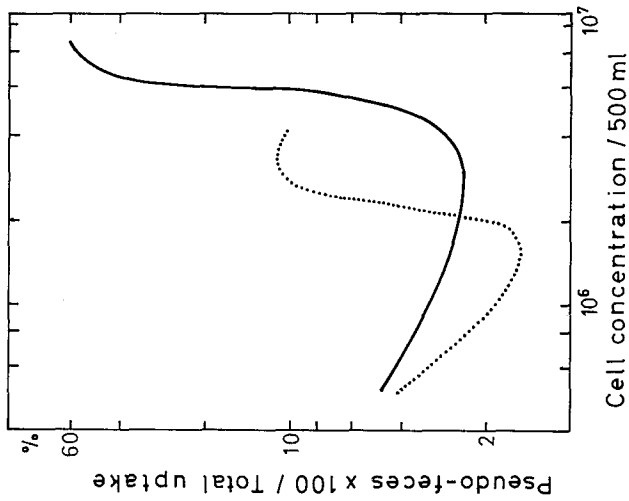


Fig. 5. Pseudo-feces $\times 100$ /total uptake in relation to cell concentration. Dotted line shows *Dunaliella*, solid line *Phaeodactylum*. They were calculated with lines in Figs. 1 and 2.

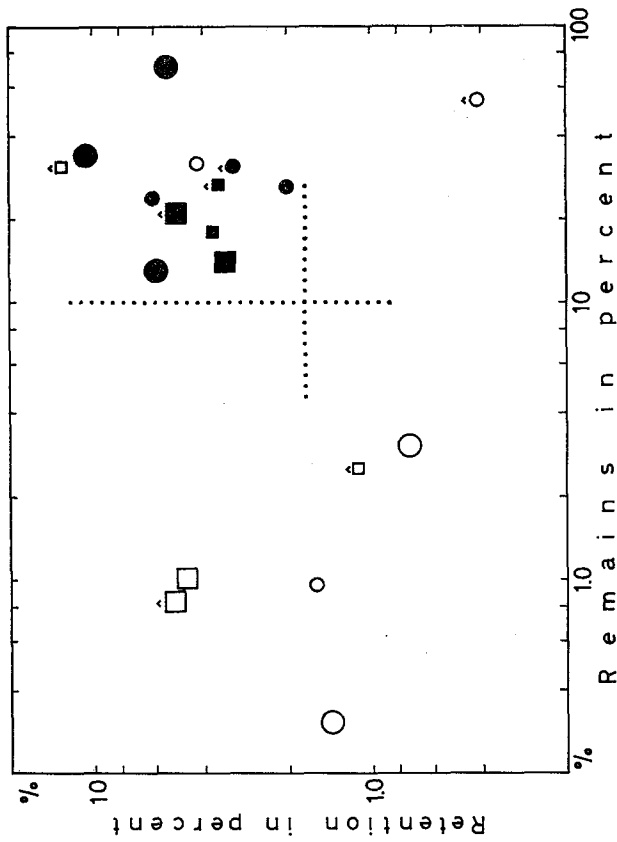


Fig. 6. The relation of cells retained on gills, labial palps and in shell liquor to cells remained in sea water. ●●● : labeled *Dunaliella*, ■■■ : labeled *Dunaliella* with *Nannochloris*, ○○○ : labeled *Nannochloris*, □□□ : labeled *Nannochloris* with *Dunaliella*, ●● : large group of mussel, ■■ : small group, ○○ : feeding period 120 minutes, □□ : feeding period 30 minutes.

向の大きい餌ほど擬糞形成の比率も大きいかもしれない。しかし第3図では、鰓、外套腔内の水に保持されている細胞数は総摂取量とはやや比例関係にあるが、擬糞量とは比例していない。外部器官に保持されている細胞中には口中に入るものと、擬糞となるものとがともに含まれているわけで、擬糞量との関係はもっと詳細に、呼吸との関連からも調べなくてはわからないであろう。

V 要 約

^{32}P で標識した植物プランクトンを用いて、ムラサキガイの擬糞形成の最低細胞濃度、総摂取量に対する擬糞量の割合、また濾過率および外部器官によって保持されている率を測定することにより、餌に対する選択を予備的に検討した。

その結果、*Dunaliella* と *Phaeodactylum* とでは擬糞形成のようすが多少異なるようであり、*Dunaliella* と *Nannochloris* とでは濾過率および保持されている率で多少違いが見られるようであった。

擬糞形成を呼吸との関係からも検討し、貝の摂餌条件、内的条件を一定にし、細胞数測定精度をあげ、また多数の個体についての結果を統計的に処理すれば、以上述べた方法で貝による餌の選択性を検討できるように考えられる。

終わりにあたって、植物プランクトンの種苗をお分けいただいた鹿児島大学助教授野沢治博士、東海区水産研究所高野秀昭博士、種々の助言をいただいた広島県水産試験場荒川好満博士、当研究所生産力部長池末弥博士、小笠原義光博士および藤谷超博士にお礼申しあげる。

文 献

- BALLANTINE, D. & MORTON, J. E. 1956: Filtering, feeding, and digestion in the lamellibranch *Lasaea rubra*. J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 35, 241-274.
- 千葉 健治・大島 泰雄. 1957: アサリを主とする海産二枚貝の濾水・摂餌におよぼす濁りの影響. 日水誌., 23, 348-353.
- CHIPMAN, W. A. & HOPKINS, J. G. 1954: Water filtration by the bay scallop, *Pecten irradians*, as observed with the use of radioactive plankton. Biol. Bull., 107, 89-91.
- DODGSON, R. W. 1928: Faeces and pseudo-faeces. In: Report on mussel purification. Min. Agri. & Fish. Fish. Invest., Ser. II, 10, No. 1, 161-168. 3 pls.
- 古川 厚・野上 和彦・久岡 実・小笠原義光・岡本 亮・小林 歌男. 1961: 海中懸濁物質ならびに主としてその点から見た貝類養殖場の特性に関する研究. 内水研報., No. 14, 1-151.
- GALTSOFF, P. S. 1964: The American Oyster *Crassostrea virginica* GMELIN. U. S. Fish & Wildl. Serv., Fish. Bull., 64, 1-480.
- JØRGENSEN, C. B. 1949: The rate of feeding by *Mytilus* in different kinds of suspension. J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 28, 333-344.
- KUHL, A. 1962: Inorganic phosphorus uptake and metabolism. In: Physiology and Biochemistry of Algae. Ed. by Lewin, Academic Pr. New York and London, 211-229.
- LOOSANOFF, V. L. & ENGEL, J. B. 1947: Effect of different concentrations of micro-organisms on the feeding of oysters (*O. virginica*). U. S. Fish & Wildl. Serv., Fish. Bull., 51, 42, 31-57.
- 1949: On the food selectivity of oysters. Science, 110, 122 p.
- RICE, T. R. 1953: Phosphorus exchange in marine phytoplankton. U. S. Fish & Wildl. Serv., Fish. Bull., 80, 54, 77-89.
- & SMITH, R. J. 1958: Filtering rates of the hard clam (*Venus mercenaria*) determined with radioactive phytoplankton. Ibid., 129, 58, 73-82.

- 高野 秀昭 (Takano, H.) 1964 : Diatom culture in artificial sea water-II. Culture without using soil extract. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., No. 38, 45-56, 1 pl.
- ZOBELL, C. E. & FELTHAM, C. B. 1938 : Bacteria as food for certain marine invertebrates. J. Mar. Res., 1, 312-327.