研究ノート

付着性二枚貝類三種の飼育およびムラサキイガイの 基盤上への付着について

山本 浩之*・小川 高弘・高野 博正

浅井 道樹・西山 綾子

(平成 6 年 6 月 9 日受理)

On Food Intake of Three Sedentary Species of the Class Bivalvia and the Attachment Behaviors of Blue Mussel on the Substrates

Hiroyuki YAMAMOTO, Takahiro OGAWA, Hiromasa TAKANO
Michiki ASAI and Ayako NISHIDA

*Institute of High Polymer Research, Faculty of Textile Science and
Technology, Shinshu University, Tokida 3-15-1, Ueda-city 386*

(Received June 9, 1994)

近年、海洋着生物質の研究で取り扱う生物種は急速に広がりつつある(山本ら, 1993; 1994a)。海洋付着生物の内、大型の二枚貝の接着物質あるいは付着忌避の研究には幼生のみならず成体の人工的な飼育が必要になってくる。また、多くの材料表面について再現性の良い生物試験の結果を得るためには生物種の安定した長期飼育、つまり、生物活性が落ちないように貝を生かし安定した実験条件を確立する必要がある。

ここでは、足からの分泌物で足糸を形成し、その先端の粘着盤で周囲の物体に付着する二枚貝綱に属する三種の貝の飼育法およびムラサキイガイの表面選択に関する知見を報告する。

実 験

1. 試 料

実験に用いた三種の二枚貝は、うぐいすがい科のアコヤガイ(殻長約 9 cm)、いがい科のムラサキイガイ(殻長約 6 cm)、ふねがい科のカリガネエガイ(殻長約 4 cm)であり、前者は三重県志摩郡浜島町多徳から入手し、後二者は神奈川県三浦市三崎町で採集したものをを用いた。

2. 飼育方法

貝の飼育には 60 l 用水槽を用い、60 l の人工海水を入

れ、エアポンプにより送気し、さらに、市販のロカマットを用いてろ過を行った。人工海水は八洲薬品(株)製アクアマリン S を水 10 l 当たり 406.4 g 溶かして調製した。水槽内の人工海水は一週間に 10 l の頻度で新たに調製したものと交換した。水温は約 22°C に、pH は 7.7-7.8 に保った。

飼育にはアルテミア耐久卵(アメリカユタ州ソルトレーク産)の孵化後一日目の幼生、および二種類の緑藻、テトラセルミスおよび生クロレラ V-12(クロレラブルガリス, クロレラ工業製)を与えた。

3. 摂餌量の定量方法

アコヤガイ一頭、ムラサキイガイ二頭、カリガネエガイ四頭を 2 l の人工海水を入れた容器にそれぞれ収容した。

アルテミア幼生の場合、上記の 2 l 容器にそれぞれ約 4.5 万個体を入れ、一定時間毎に各々 5 ml を抜き取り、ろ紙上に滴下し、存在する幼生の個体数を数えることにより摂餌量を概算した。

クロレラブルガリス(約 170 万細胞/ml, 0.98 g/ml)の場合、1 g を上と同じ実験系に加え、その時の透過率を波長を変え(300, 400, 650 nm)で測定し、クロレラブルガリスの細胞数を次式により概算した。

$$(C-B)/(A-B) \times 1.7 \times 10^6$$
 A, B, C はそれぞれ、海

* 信州大学繊維学部高分子工業研究施設

水のみの、0時間での、t時間後の透過率

テトラセルミスの場合、培養液(約3.3万細胞/ml) 100 mlを上と同様に加え、透過率からテトラセルミスの数を次式により概算した。

$(C-B)/(A-B) \times 3.3 \times 10^6$: A, B, Cはそれぞれ、海水のみの、0時間での、t時間後の透過率

上記の実験系を各3回ずつ行い、平均値から摂餌量を求めた。

4. 基盤

シリコン板は信越シリコン(株)製、ポリメチルメタクリレート (PMMA) 板は三菱レーヨン(株)製アクリライト、テフロン板は日立化成(株)恵与、スレートおよびガラス(ソーダガラス)は市販品を用いた。

結果と考察

1. 摂餌の定量

海に臨んでいない、例えば内陸の信州で、海洋軟体動物を用いる実験を行う場合に最大の支障になるのは餌の問題である。従来、当研究室では海洋無脊椎動物の飼育にはアルテミア耐久卵の孵化後の幼生を与え、その摂餌についての知見は肉眼観察によってきた。長期の飼育により、例えば、付着挙動などの生物活性を評価しようとする、アルテミア幼生のみを給餌し続けたアコヤガイ

の活力は徐々に低下し、足糸の分泌数が減り、殻も脆くなる。海洋生物の足糸系の接着タンパク質の付着機構の解明には化学、特に、表面化学からのアプローチが必要である(大原ら, 1993; Yamamoto *et al.*, 1993)。そのためには、安定して海洋生物を飼育することが必須であり、飼育技術の確立が期待される。

本実験で飼育した三種の二枚貝によるアルテミア幼生、クロレラブルガリスおよびテトラセルミスの摂餌量の結果を図1に示す。大きい個体であるアコヤガイの摂餌量はいずれの餌でも最大であったが、ムラサキガイとカリガネガイではアルテミア幼生とクロレラの摂餌量の傾向は逆であった。

クロレラ V-12 にはエイコサペンタエン酸の合成原料になるリノール酸およびリノレン酸が多量に含まれ、また、ビタミン B₁₂ が高濃度に含有されているため、シオミズボウムシの培養に有効であり、この培養ワムシはマダイなどの海産稚魚の飼育に用いられている。

いずれの餌も用いた三種の二枚貝の餌料として有効であることが判明したので、三種の餌を組み合わせさせて与えて飼育した。このような給餌条件下では、三種の貝は長期間活発であり、明らかに給餌の効果が認められ、約一年間の飼育の後にも足糸分泌、移動を行い、以下の基盤表面への付着実験を継続することが可能であった。

図1. 三種の二枚貝のアルテミア幼生 (A), クロレラブルガリス (B) およびテトラセルミス (C) の摂餌量

○ アコヤガイ; △ ムラサキガイ; □ カリガネガイ

表 1 ムラサキイガイの各種基盤上への付着

固体基盤	接触角 ^c (θ°)	個体数 A	付着個体数 B	付着率 B/A (%)	付着足糸数 C	平均足糸数 ^d C/A	付着個体 平均足糸数 C/B
スレート ^a		25	23	92	693	28	30
ガラス ^a	13	65	50	77	1705	26	34
PMMA ^b	76	25	10	40	253	10	25
テフロン ^b	107	25	10	40	210	8	21
シリコン ^b	112	25	8	32	218	9	27

^a 高エネルギー基盤^b 低エネルギー基盤^c 純水の基盤への接触角^d 最終的に付着していなくても全個体が足糸を形成したと仮定

分光学的に摂餌量を概算するに当たって、紫外、可視、赤外領域である波長 300, 400, 650 nm の透過率により定量を試みた結果、650 nm での測定が最も精度の良い結果を与えた (図 1)。

2. 基盤表面への付着行動

実験に用いた二枚貝綱の三種の貝は、いずれも、足の基部の分泌腺からタンパク質を分泌し、基盤表面に粘着盤で付着し、粘着盤と体内の分泌腺へと繋がる部分が一本の足糸を形成する。貝は約 10 分毎に次々にタンパク質を分泌し、足糸群を形成する (カリガネエガイは一本)。分泌直後のタンパク質は乳白色であるが、時間経過と共に黄みを帯び (一晚)、最終的には暗緑色になる (山本ら, 1993)。

付着汚損生物の代表の一つであるムラサキイガイを 7 種の被着基盤上に一週間置き付着させ、基盤上に放棄された足糸を含む分泌付着した足糸全部を数えた結果を表 1 にまとめた。この足糸数は材料の好悪の指標となり、ある材料の表面への付着を好まないと付着率は低くなり、完全に忌避する場合にはゼロになる。表 1 では基盤への付着率の高い順にスレート (92%) から最低のシリコン (32%) まで並べてある。この順は水の接触角値から求めた基盤の表面エネルギーの順と完全に一致している。

最終観察時には付着していなくても全ムラサキイガイが足糸を形成したと仮定した時の、総平均付着足糸数 (C/A) は高エネルギー基盤であるスレートおよびガラスでは一個体当たり 26-28 本であるが、低エネルギー基盤である PMMA、テフロン、シリコンでは約 1/3 の 8-10 本であり基盤表面への好み認められる。

一方、最終観察時に付着しているムラサキイガイ一個体当たりの平均足糸数 (C/B) の傾向は総平均付着足糸数 (C/A) とかなり異なりガラスの最多 34 本からテフロ

ンの最少 21 本まで基盤表面への好みの差は少ない結果を得た。観察が一週間にわたるため、足糸を分泌した個体を特定することは不可能であったが、最終観察時に付着しているムラサキイガイだけが足糸を分泌しているとすると、生活反応の活発な個体は基盤の好みを越えて、低エネルギー基盤にも付着し生態系を維持しようとするのであろう。

著者らは分子レベルでの海洋生物における付着および接着タンパク質の性質を明らかにしてきた。特に、最近、接着タンパク質のアミノ酸配列と基盤の特性との関連について興味を持ち、詳細な表面化学を研究してきた。一連の表面化学研究成果 (大川ら, 1994) に基づき、安定した付着生物の飼育を利用した付着忌避表面の作成を試みつつある (山本ら, 1994b)。

謝 辞

養殖アコヤガイ (三年貝) およびテトラセルミスを恵与された (株) ミキモト研究所、カリガネエガイの採取に御協力戴きました東京大学理学部付属臨海実験所、および生クロレラ V-12 を恵与されたクロレラ工業 (株) に深謝致します。さらに、実験に使用した基盤を御提供下さいました大日本インキ (株) および信越化学 (株) に深謝致します。

本研究の一部は財団法人中部電力基礎技術研究所からの助成により行われました。深謝致します。

文 献

- 大原伸一, 大川浩作, 山本浩之 (1993). 接着タンパク質モデル化合物水溶液の種々の固体表面における接着仕事. 日本接着学会誌, **29** (8), 345-352.
大川浩作, 建畠秀樹, 小川高弘, 西田綾子, 山本浩之 (1994). 接着タンパク質モデル化合物の表面化学 [7]. Polym. Preprints Jpn., **43**, 1583.

山本浩之, 池田建吾, 大川浩作 (1993). アコヤ貝の
接着タンパク質に関する研究—II. 付着生物研究,
10 (1), 1-10.

YAMAMOTO, H., S. OHARA, H. TANISHO, K. OH-
KAWA, A. NISHIDA (1993). Works of adhesion
of synthetic polypeptides containing L-lysine.
J. Colloid Interface Sci., 156 (2), 515-517.

山本浩之, 小川高弘, 大原伸一, 西田綾子, 大川浩作

(1994a). ふねがい科カリガネエガイの付着行動
と接着タンパク質の研究, 付着生物研究, 10 (2),
1-5.

山本浩之, 建畠秀樹, 小川高弘, 高野博正, 浅井道樹
(1994b). イガイ類の接着タンパク質の付着動力
学および付着防止表面作成の試み, 第3回マリン
バイオテクノロジー研究発表会講演要旨集, 105.