

密閉式を利用したタイラギ酸素摂取の測定

山元憲一^{1†}, 半田岳志¹, 茅野直登²

Measurement of oxygen uptake with closed system in the pen shell, *Atrina (Servatrina) lischkeana* (Bivalvia)

Ken-ichi Yamamoto^{1†}, Takeshi Handa¹ and Naoto Kayano²

Abstract : In the pen shell, *Atrina (Servatrina) lischkeana*, oxygen uptake were examined by measuring directly the ventilation volume and the oxygen partial pressure in the respiration chamber with the closed system, and calculating the oxygen utilization and the amount of oxygen uptake at 18°C. The ventilation volume increased from 0.083l/min/kg under normoxic condition to 1.883l/min/kg (23 times that of normoxia) at 24.9mmHg. The oxygen utilization decreased from 16% under normoxic condition to 3% at 24.9mmHg. The amount of oxygen uptake maintained almost the same level (0.53ml/min/kg) until the oxygen partial pressure decreased to 34.8mmHg. Because the levels measured by the closed system were almost the same as those by other methods, the method by the closed system would be quite useful for the experiment on the oxygen uptake in bivalvia.

Key word : Pen-shell ; Closed system ; Hypoxia ; Oxygen uptake, Oxygen utilization ; Ventilation volume

緒言

魚介類の酸素摂取に及ぼす低酸素の影響を調べる研究では、一般に流水式あるいは密閉止水式の実験装置を用いて行われている¹⁾。流水式の実験装置を用いて行われている二枚貝に関する実験では、窒素ガスの曝気によって一定時間毎(1時間毎)に水中の酸素分圧を6~8段階に順次低下させて換水量および貝への入水口と出水口の酸素分圧を測定し、換水量、酸素利用率および酸素摂取量の変化を調べている²⁻⁶⁾。この場合には、水中の酸素分圧を段階的に低下させていることから、酸素分圧が徐々に連続して低下した場合の酸素摂取の変化が調べられていないことになる。一方、密閉止水式の実験装置を用いる場合には、魚介類の酸素摂取によって水中の酸素分圧を低下させることから、徐々に連続して酸素分圧を低下させることが可能である。しかし、この方法を利用した例としては、リシケタイラギ *Atrina (Servatrina) lischkeana* (以降、タイラギと表す)を用いて、換水量の変化を調べられている⁷⁾だけで、酸

素利用率については調べられていない。

著者らは、タイラギを用いて、密閉止水式の実験装置を利用してタイラギの酸素摂取によってまず水中の酸素分圧を低下させ、換水量と呼吸室内の酸素分圧を連続記録することによって、酸素分圧の低下に伴う換水量、酸素摂取量および酸素利用率の変化を調べたのでその方法および結果について報告する。

材料および方法

実験には、熊本県荒尾地先の有明海で採集した体重156±31g(平均±標準偏差, 以下同様に表す)のリシケタイラギ(以下、タイラギと表す)28個体を用いた。タイラギは、入手後水産大学の屋内に設置したFRP水槽(長さ170cm, 幅78cm, 深さ40cm)に砂を深さ約20cm入れて1か月以上水温18°C, 塩分濃度34psuで予備飼育した。同水槽への生海水の注入量は20l/minとし、餌は山元ら³⁾と同様にして培養した植物プランクトンを0.4l/min連続投与し

2008年9月22日受付. Received September 22, 2008.

1 水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

2 水産大学校水産学研究科 (Graduate student, National Fisheries University)

† 別刷り請求先 (corresponding author): yamagenk@fish-u.ac.jp

た。実験は、 $18.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ でFig. 1に示した装置を用いて、タイラギの酸素摂取によって呼吸室内の酸素分圧を低下させて行った。測定は、タイラギを呼吸室に設置して14時間経過した後、呼吸室への海水の流入を停止させて開始した。呼吸室への流入水量は 1 l/min とした。呼吸室は、大きさが長さ14cm、幅6cm、高さ36cm、容積 3.024 l で、水温を一定に保つために一回り大きな水槽(恒温水槽)内に設置して使用した。呼吸室内は酸素量を均一にするために定量ポンプ(PST-550, 旭テクノグラス)で循環(1 l/min)させた。換水量は次のようにして測定し、呼吸室の酸素分圧は酸素測定計(UC-100M, セントラル科学)を用いて測定し、各値は記録計(MacLab/8, ADI)を用いて毎秒4回の読み込み速度で連続記録した。

測定後、タイラギを海水中から取り出し、その出水口側を下にして立て、約30分間静置して殻の表面を乾燥させ、良く振って殻内の海水を除去して体重を測定した。次いで、海水中に浸漬し、水量の増加分からタイラギの体積を求めた。

換水量

測定は、山元ら⁷⁾に準じて、タイラギの排出口に設置

したタイラギからの出水を受ける箱(以降、チャンバーと表す)に電磁血流計のプロープ(内径 1 cm 、 1 l/min 測定用、Model FF-100T, 日本光電)を取り付けて、電磁血流計(MFV-3200, 日本光電)で出水量の測定を行った(Fig. 1)。測定に先立って、殻に手術を施したタイラギを呼吸室に設置した後、チャンバーを取り付けた。手術は、金切り鋸で殻の外套皺襞の部分に深さ約 17 mm 、幅約 10 mm の凹型の切り込みを入れた。チャンバーは、幅 3.3 cm 、長さ 4.6 cm 、高さ 5.0 cm のものを透明アクリル筒で作成し、中央を長さ $2.7\sim 3.3\text{ cm}$ 、幅 $0.9\sim 1.1\text{ cm}$ に切り抜いたゴムの薄膜を輪ゴムで固定して用いた。

換水量は、次の計算に用いるために、連続記録(Fig. 2)をもとに呼吸室内の酸素分圧の低下開始から20分間毎に平均値を計算し、体重(kg)で割って単位体重当たりの値($V_g, \text{ l/min/kg}$)を求めた。

酸素摂取量

酸素摂取量は、次のようにして計算した。まず、呼吸室内の酸素分圧の低下開始から10分間毎に連続記録(Fig. 2)をもとに酸素分圧の平均値を計算して各時刻($t, \text{ min}$)の酸素分圧($P_t, \text{ O}_2, \text{ mmHg}$)を求めた。次いで、酸素飽和の

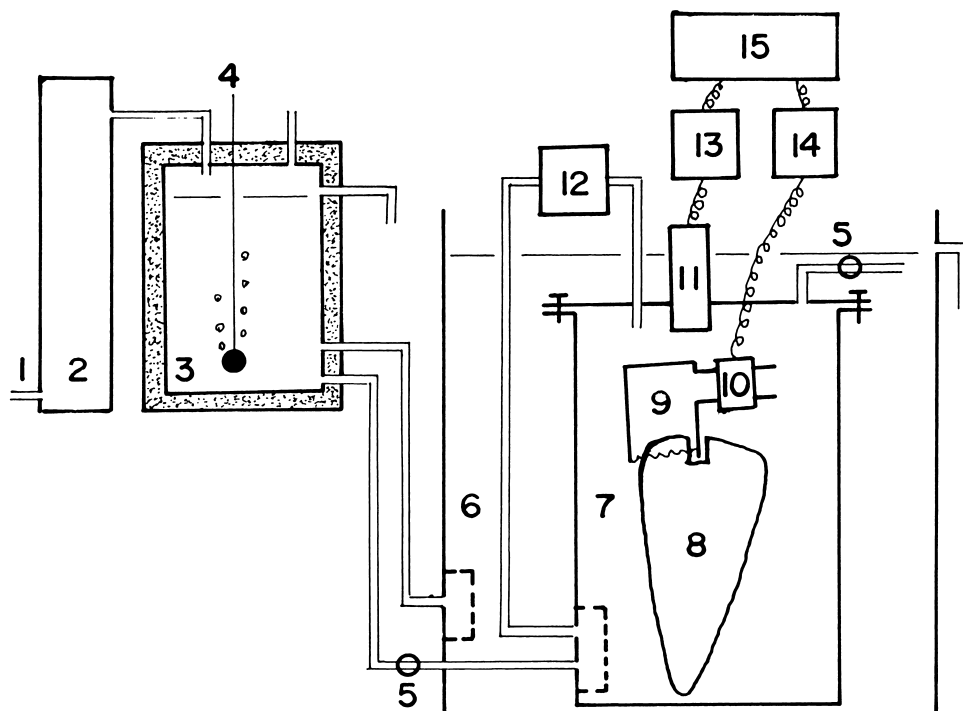


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental system. 1: supply of seawater, 2: filter, 3: reservoir for controlling the water temperature, 4: aeration, 5: cock, 6: water bath for maintaining a constant water temperature, 7: respiration chamber, 8: pen shell, *Atrina (Servatrina) lishkeana*, 9: chamber for collecting the sea water ventilated by the pen shell, 10: probe of an electromagnetic flow-meter, 11: oxygen sensor, 12: peristaltic pump, 13: oxygen meter, 14: electromagnetic flow-meter, 15: recorder (MacLab system).

状態でWinkler法で測定した溶存酸素量 ($Co_2, ml/l$) と同時に酸素測定計で測定した酸素分圧 ($PO_2, mmHg$) を用いて、各時刻の溶存酸素量 ($Ct, o_2, ml/l$) とこれに続く10分後 ($t+10, min$) の溶存酸素量 ($Ct+10, o_2, ml/l$) を $Ct, o_2 = Pt, o_2 \cdot Co_2 / PO_2$ と $Ct+10, o_2 = Pt+10, o_2 \cdot Co_2 / PO_2$ から計算した。これらの値をもとに、呼吸室の容量 (Vc, l) とタイラギの体積 (Va, l) を用いて、酸素摂取量 ($\dot{V}O_2, ml/min/kg$) を

$$\dot{V}O_2 = (Ct, o_2 - Ct+10, o_2) \cdot (Vc - Va) / [(t+10) - t] \dots\dots\dots (1)$$

から計算した。

酸素利用率

酸素摂取量 ($\dot{V}O_2, ml/min/kg$) は、換水量 ($Vg, l/min/kg$) と酸素利用率 (U) を用いて、

$$\dot{V}O_2 = Vg \cdot U \cdot (Ct, o_2 + Ct+10, o_2) / 2$$

からも求められる。

そこで、この式を利用して、先に計算した酸素摂取量 (1) の値を用いて、酸素利用率を

$$U = \dot{V}O_2 / [Vg \cdot (Ct, o_2 + Ct+10, o_2) / 2] \dots\dots\dots (2)$$

から計算した。

結果および考察

換水量、酸素利用率および酸素摂取量をFig. 3に示した。これらの値を酸素分圧 5 mmHgごとの平均値および標準偏差を計算した値と、タイラギの入水口と出水口から採水し

て測定した山元ら⁸⁾の場合とを比較すると、次のようになる。酸素分圧 $151.7 \pm 1.4 mmHg$ では、換水量は $0.083 \pm 0.043 l/min/kg$ を示し、酸素分圧が低下するとこれに伴って増加して $24.9 \pm 2.9 mmHg$ で $1.883 \pm 0.325 l/min/kg$ と約23倍を示し、更に酸素分圧が低下すると減少した。山元ら⁸⁾は、酸素分圧 $152.8 \pm 0.8 mmHg$ で $0.088 \pm 0.039 l/min/kg$ を示し、酸素分圧の低下に伴って増加して $26.3 \pm 0.7 mmHg$ で $1.976 \pm 0.440 l/min/kg$ と22倍を示し、更に酸素分圧が低下すると減少したと報告している。このように、本研究の結果は、水中の酸素分圧を窒素ガスによって段階的に低下させて測定した山元ら⁸⁾の場合とほぼ同じ換水量の値および変化を示している。

酸素利用率は、酸素分圧 $151.7 \pm 1.4 mmHg$ では $16 \pm 7\%$ を示し、酸素分圧が低下するとこれに伴って減少して $24.9 \pm 2.9 mmHg$ で $3 \pm 1\%$ を示し、更に酸素分圧が低下すると増加した。山元ら⁸⁾は、酸素分圧 $152.8 \pm 0.8 mmHg$ で $16 \pm 4\%$ を示し、酸素分圧の低下に伴って減少して $26.3 \pm 0.7 mmHg$ で $4 \pm 2\%$ を示し、更に酸素分圧が低下すると増大したと報告している。このように、本研究の結果は、水中の酸素分圧を窒素ガスによって段階的に低下させて測定した山元ら⁸⁾の場合とほぼ同じ酸素利用率の値および変化を示している。

酸素摂取量は、酸素分圧 $151.7 \pm 1.4 mmHg$ では $0.53 \pm 0.05 ml/min/kg$ を示し、酸素分圧が低下しても $34.8 \pm 2.8 mmHg$ まではほぼ酸素飽和の状態での値を維持したが、更に酸素分圧が低下すると減少した。山元ら⁸⁾は、酸素分圧 $152.8 \pm 0.8 mmHg$ で $0.51 \pm 0.10 ml/min/kg$ を示し、酸素

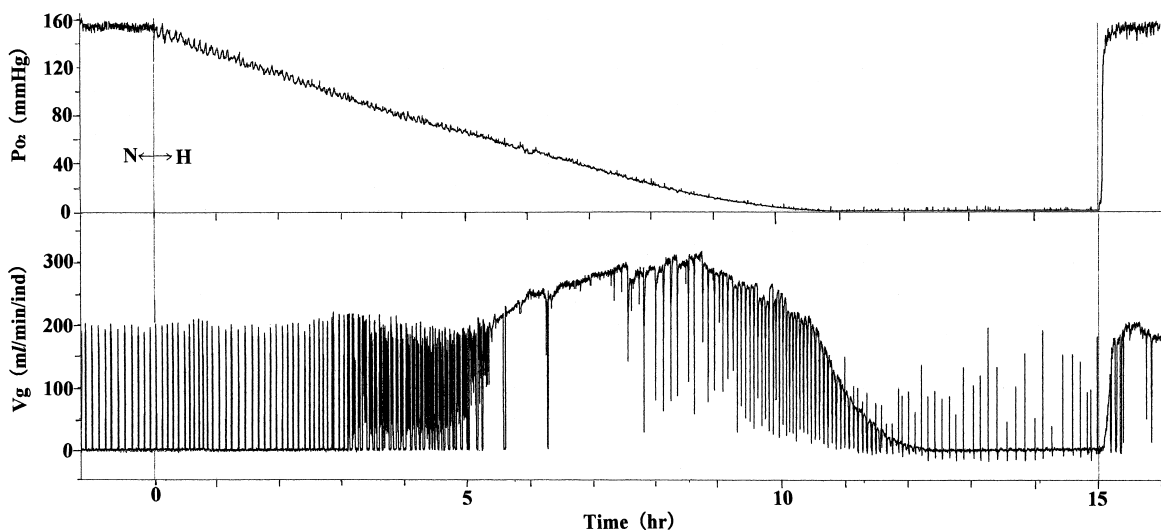


Fig. 2. Records of the changes in oxygen partial pressure in the water (PO_2) and ventilation volume (Vg) of the pen shell at $18.0^\circ C$. N: normoxic condition, H: hypoxic condition.

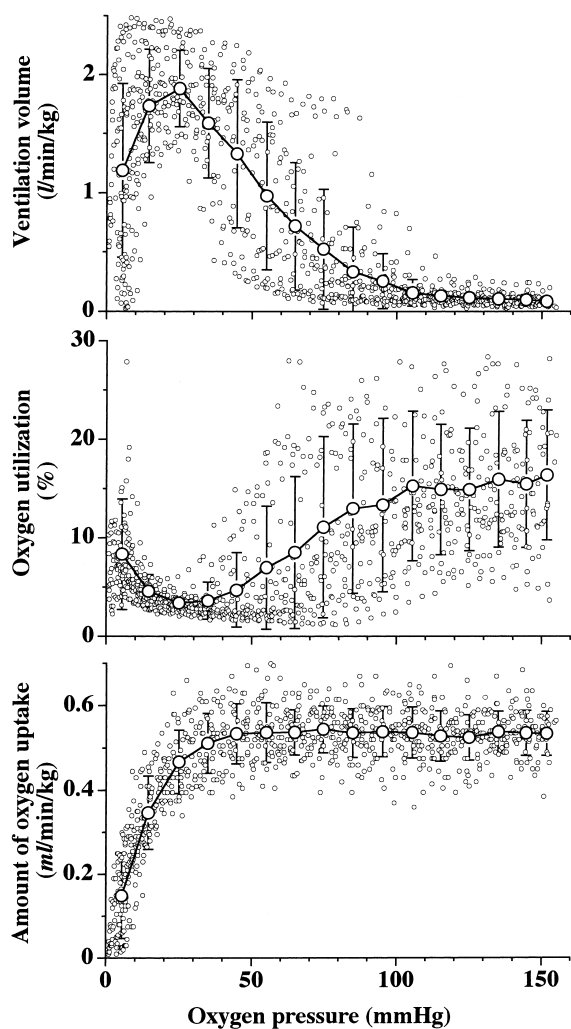


Fig. 3. Changes in ventilation volume, oxygen utilization and amount of oxygen uptake of the pen shell with decrease in oxygen partial pressure at 18.0°C. The means (large circles) and the standard deviations (vertical lines) are calculated every 5 mmHg decrease in oxygen partial pressure.

分圧が低下しても26.3±0.7mmHgまではほぼ酸素飽和の状態での値を維持したが、更に酸素分圧が低下すると減少したと報告している。このように、本研究の結果は、水中の酸素分圧を窒素ガスによって段階的に低下させて測定した山元ら⁸⁾の場合とほぼ同じ酸素摂取量の値および変化を示している。

以上のことから、本研究で試みた止水式の呼吸測定装置を用いて貝の酸素摂取によって水中の酸素分圧を低下させ、換水量を連続測定する方法は、二枚貝の換水量、酸素利用率および酸素摂取量などの酸素摂取に関する実験に十分使用可能であると判断した。この方法は、採水その他の経時的に行う操作を必要とせずに換水量を連続記録することによって測定が出来ることから、方法で示した酸素利用

率および酸素摂取量を求める式をパソコン等に組み込んでおけば、換水量に加えて酸素利用率および酸素摂取量をリアルタイムで測定し、それらの変化をリアルタイムで観察することが可能であると考えられる。

要 約

密閉止水式の呼吸測定装置を用いて、リシケタイラギの酸素摂取による水中の酸素分圧の低下を利用し、換水量と水中の酸素分圧を連続測定することによって、低酸素下における換水量、酸素利用率および酸素摂取量の測定を試みた。換水量は酸素分圧の低下に伴って増加して24.9mmHgで最大(1.883l/min/kg)を示し、酸素飽和の状態における値(0.083l/min/kg)の23倍を示した。酸素利用率は酸素飽和の状態での16%から酸素分圧の低下に伴って減少して24.9mmHgで3%を示した。酸素摂取量は酸素分圧が34.8mmHgに低下しても酸素飽和の状態(0.53ml/min/kg)をほぼ維持していた。これらの結果は他の方法で測定した結果とほぼ同じ値を示すことから、本研究で紹介した方法は二枚貝の酸素摂取に関する研究に利用可能であると判断した。

文 献

- 1) 板澤靖夫：呼吸. 川本信之(編), 魚類生理, 恒星社厚生閣, 東京, 46-91 (1970)
- 2) 山元憲一, 半田岳志, 中村真敏, 田村晃一, 韓青溪：ミドリイガイの呼吸に及ぼす低酸素の影響. 水産増殖, 46, 523-527 (1998)
- 3) 山元憲一, 安達 智, 河邊博：アコヤガイの呼吸に及ぼす低酸素の影響. 水産増殖, 47, 539-544 (1999)
- 4) 山元憲一, 半田岳志：チレニアイガイ *Mytilus galloprovincialis* の呼吸の季節変化と呼吸に及ぼす低酸素の影響. 水産増殖, 49, 305-309 (2001)
- 5) 山元憲一, 半田岳志：ムラサキインコガイの呼吸に及ぼす低酸素の影響. 水大校研報, 50, 137-140 (2002)
- 6) 山元憲一, 半田岳志, 西岡 晃：リシケタイラギの換水に及ぼす低酸素の影響. 水産増殖, 54, 319-323 (2006)
- 7) 山元憲一, 半田岳志, 西岡 晃：リシケタイラギの鰓換水量の直接測定法. 水産増殖, 53, 291-296 (2005)
- 8) 山元憲一, 半田岳志, 茅野直登：タイラギの低酸素に伴う酸素摂取の変化. 水産増殖, 56, 45-49 (2007)