

## クロチョウガイの酸素摂取に及ぼす低酸素の影響

山元憲一<sup>1†</sup>・半田岳志<sup>1</sup>・湊 恭行<sup>1</sup>・小田原和史<sup>2</sup>・曾根謙一<sup>2</sup>

### Effect of Hypoxia on Oxygen Uptake in the Black-lip Pearl Oyster *Pinctada margaritifera*

Ken-ichi Yamamoto<sup>1†</sup>, Takeshi Handa<sup>1</sup>, Yoshiyuki Minato<sup>1</sup>, Kazusi Odawara<sup>2</sup> and Ken-ichi Sone<sup>2</sup>

**Abstract** : Oxygen uptake in the black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera* was examined with the direct measurement method of ventilation volume at 27 °C . The ventilation volume maintained the same level as that (0.385 l/min/kgTW: total weight) under normoxic condition until the oxygen partial pressure (Po<sub>2</sub>) decreased to 115.1 mmHg, then it increased to 0.677 l/min/kgTW (1.8 times the normoxic ventilation volume) at 22.0 mmHg. The oxygen utilization maintained the same level as that (3.7%) under normoxic condition until Po<sub>2</sub> decreased to 115.1 mmHg, then it increased to 15.0% at 9.9 mmHg. The amount of oxygen uptake maintained the same level as that (0.068 ml/min/kgTW) under normoxic condition until Po<sub>2</sub> decreased to 61.6 mmHg, then it decreased when Po<sub>2</sub> further declined.

**Key words**: black-lip pearl oyster, hypoxia, oxygen uptake, oxygen utilization, ventilation volume

Herreid<sup>1)</sup>は、無脊椎動物では低酸素下で酸素摂取を維持するために、理論的には換水量を増加させて対応する場合、酸素利用率を増大させる場合あるいはそれらの両者を増大させる場合があるとしている。低酸素下で、*Mytilus perna* は換水量を増加させ、酸素利用率を一定に維持している<sup>2)</sup>。リシケタイラギ *Atrina (Servatrina) lischkeana* は換水量を著しく増加させるが、酸素利用率を減少させている<sup>3-5)</sup>。ミドリイガイ *Perna viridis*、チレニアイガイ *Mytilus galloprovincialis*、*Modiolus demissus* やアコヤガイ *Pinctada fucata martensii* は、換水量をほぼ一定に維持し、酸素利用率を増大させている<sup>6-9)</sup>。*Mytilus edulis*、ムラサキインコガイ *Septifer virgatus* やマガキ *Crassostrea gigas* は、換水量と酸素利用率の両方を増大させている<sup>10-12)</sup>。このように、低酸素下で酸素摂取を維持するための調節は、種類によって異なっている。

本研究では、クロチョウガイ *Pinctada margaritifera* を用いて、酸素分圧の低下に伴う換水量、酸素利用率および酸素摂取量の変化を調べた。

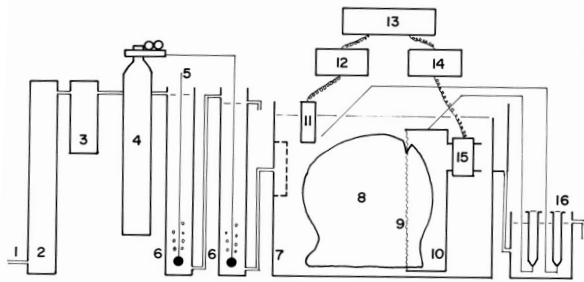
#### 材料および方法

実験には、高知県で潜水によって採集した殻長 103.4 ± 17.2 mm (平均値 ± 標準偏差, 以下同様に表す)、殻高 117.0 ± 19.4 mm、殻幅 33.9 ± 6.0 mm、体重 207.4 ± 93.7 g のクロチョウガイ 39 個体を用いた。クロチョウガイは、入手後、殻の付着物を除去し、殻に手術を施して屋内に設置した FRP 水槽 (170 x 78 x 40 cm) に浮かべた籠 (46 x 32 x 16 cm) に収容した<sup>13, 14)</sup>。予備飼育は、実験で設定した水温 27.0 ± 0.1 °C および塩分 35 psu で 1 週間以上、自然海水を注入 (50 l/min) し、この注入水中に餌を連続投与して

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

<sup>2</sup> 愛媛県農林水産研究所水産研究センター (Fisheries Research Center, Ehime Research Institute of Agriculture, Forestry and Fisheries, Ehime 798-0104, Japan)

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



**Fig. 1** Experimental system. 1, supply of sea water; 2, filter of chemical fiber; 3, filter (0.5 $\mu$ m, Model III, Organo); 4, N<sub>2</sub> bottle; 5, aeration; 6, equilibration column; 7, respiration chamber; 8, the black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera*; 9, gum film; 10, chamber for catching the ventilated water; 11, oxygen sensor; 12, oxygen meter (UC-100M, Central Kagaku Corp.); 13, recorder (MacLab/8, ADI); 14, electromagnetic flow-meter (MFV-3200, Nihonkoden); 15, probe of electromagnetic flow-meter (Model FF-100T, Nihonkoden); 16, syringes (1 ml/min) for obtaining the inhalent and the exhalent water samples.

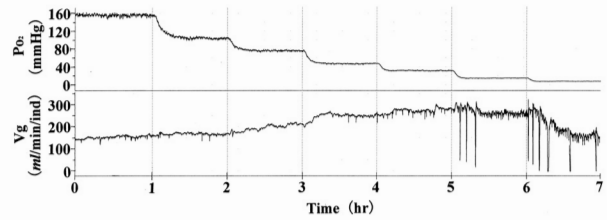
行った<sup>15)</sup>。手術はクロチョウガイの外套皺襞部の殻に深さ約10 mmのV型の切り込みを入れた<sup>14)</sup>。

実験は、Fig. 1に示した装置を用いて、酸素分圧を低下させて換水量、酸素利用率および酸素摂取量を調べた。酸素分圧は、3日間絶食させたクロチョウガイを呼吸室(19 x 19 x 19 cm)に設置し、濾過海水(1 l/min)を流した状態で14時間以上経過した後、窒素ガスの曝気によって154.6  $\pm$  1.0 mmHg(酸素飽和の状態)から1時間毎に115.1  $\pm$  2.6 mmHg, 85.9  $\pm$  2.8 mmHg, 61.6  $\pm$  5.2 mmHg, 40.7  $\pm$  4.6 mmHg, 22.0  $\pm$  3.5 mmHg, 9.9  $\pm$  3.0 mmHgと6段階に低下させた。濾過海水は、化繊綿を詰めた筒、次いで0.5  $\mu$ mのフィルター(Model III, ORGANO)の順に自然海水を通過させて作成した。

測定の終了後、殻腔内の海水を排出させ、約1時間室内で殻の表面を乾燥させて体重(TW, kg)を計測した。

## 換水量

換水量は、電磁血流計のプロープ(内径1.0 cm, 1.0 l/min測定用, Model FF-100T, 日本光電)を換水量測定用の箱に取り付け、電磁血流計(MFV-3200, 日本光電)で測定し、これを記録計(MacLab/8, ADI)を用いて毎秒4回



**Fig. 2** Ventilation volume (Vg) in the black-lip pearl oyster recorded with decreasing oxygen partial pressure (Po<sub>2</sub>).

の読み込み速度で連続記録した<sup>14)</sup>。換水量測定用の箱(12 x 5 cm, 高さ3.5 cm)には、中央を切り抜いて窓(約55 x 8 mm)を開けたゴムの薄膜を設置した。

換水量(Vg)は、連続記録(Fig. 2)をもとに、次の段階の酸素分圧への低下開始直前の5分間を平均し、体重当たりの値(l/min/kgTW)で表した。

## 酸素摂取

外套腔への吸入水の酸素分圧(P<sub>I,O<sub>2</sub></sub>, mmHg)と外套腔からの排出水の酸素分圧(P<sub>E,O<sub>2</sub></sub>, mmHg)は、次の段階の酸素分圧への低下開始5分前に、外套腔への吸入水と外套腔からの排出水を前もって設置しておいた注射筒(1 ml)を取り替えて採水し、酸素計(OM-200, Cameron instrument)で測定した。なお、注射筒へは、サイホンで常時1 ml/min注水し、流し捨てとした(Fig. 1)。

酸素利用率(U, %)は、P<sub>I,O<sub>2</sub></sub>(mmHg)とP<sub>E,O<sub>2</sub></sub>(mmHg)の値を用いて次の式から計算した<sup>16)</sup>。

$$U = 100 \cdot (P_{I,O_2} - P_{E,O_2}) / P_{I,O_2}$$

酸素摂取量( $\dot{V}_{O_2}$ , ml/min/kgTW)は、Vg(l/min/kgTW)の値を用いて次の式から計算した<sup>16)</sup>。

$$\dot{V}_{O_2} = Vg / 1000 \cdot (P_{I,O_2} - P_{E,O_2}) \cdot Co_2 / Po_2$$

なお、Co<sub>2</sub>(溶存酸素量, ml/l)およびPo<sub>2</sub>(酸素分圧, mmHg)は、酸素分圧を低下させる前に呼吸室への流入水を採水し、それぞれWinkler法と前記の酸素計で測定した値である。

## 統計処理

値は、Unpaired t-testを用いて検定した(P < 0.05)。

## 結果

換水量は、酸素分圧154.6  $\pm$  1.0 mmHg(以降、酸素飽和

の状態と表す)では  $0.385 \pm 0.092$  l/min/kgTW を示し、酸素分圧が  $115.1 \pm 2.6$  mmHg ( $0.404 \pm 0.173$  l/min/kgTW) に低下しても酸素飽和の状態での値と有意な差が認められなかった ( $P > 0.05$ , Fig. 3)。酸素分圧が  $85.9 \pm 2.8$  mmHg 以下では、換水量は増加して  $22.0 \pm 3.5$  mmHg で  $0.677 \pm 0.216$  l/min/kgTW と酸素飽和の状態での値の 1.8 倍を示した (Fig. 3)。酸素利用率は、酸素飽和の状態では  $3.7 \pm 1.7\%$  を示し、酸素分圧が  $115.1 \pm 2.6$  mmHg ( $4.3 \pm 1.5\%$ ) に低下しても酸素飽和の状態での値と有意な差が認められなかった ( $P > 0.05$ , Fig. 3)。酸素分圧が  $85.9 \pm 2.8$  mmHg 以下では、酸素利用率は増加して  $9.9 \pm 3.0$  mmHg で  $15.0 \pm 3.6\%$  を示した (Fig. 3)。酸素摂取量は、酸素飽和の状態では  $0.068 \pm 0.011$  ml/min/kgTW 示し、酸素分圧が  $61.6 \pm 5.2$  mmHg ( $0.063 \pm 0.025$  ml/min/kgTW) に低下しても酸素飽和の状態での値と有意な差が認められなかった ( $P > 0.05$ , Fig. 3)。酸素分圧が  $40.7 \pm 4.6$  mmHg 以下では、酸素摂取量は減少した (Fig. 3)。

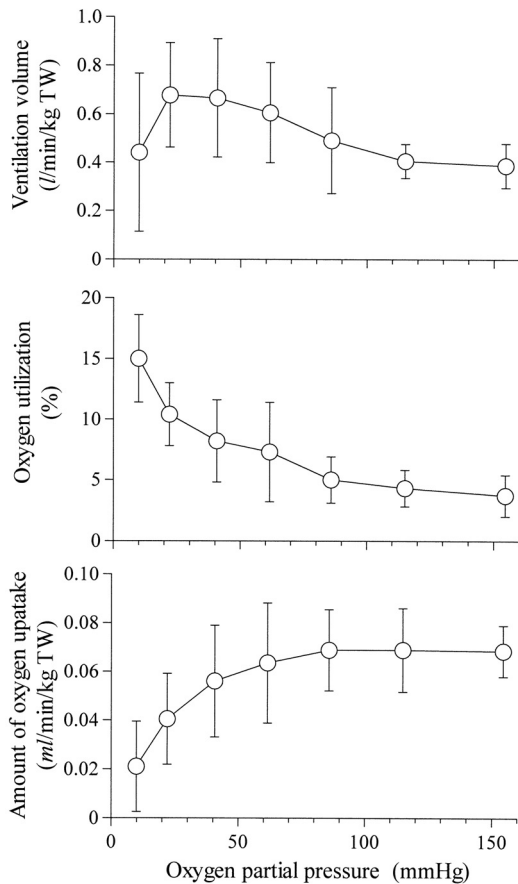


Fig.3 Changes in the ventilation volume, the oxygen utilization, and the amount of oxygen uptake in the black-lip pearl oyster with decreasing oxygen pressure. Circles show mean and vertical lines standard deviation

## 考 察

換水量および酸素利用率は、いずれも酸素分圧が低下しても  $115.1$  mmHg までは酸素飽和の状態を維持し、更に低下すると増加した。一方、酸素摂取量は酸素分圧が低下しても  $61.6$  mmHg までは酸素飽和の状態を維持し、更に低下すると減少した。これらの結果から、クロチョウガイは、酸素分圧が  $115.1$  mmHg (酸素飽和度約 75% に相当) に低下するまでは低酸素の影響を受けずに海水から酸素摂取を行っており、低酸素は呼吸機能に影響を及ぼしていない。しかし、 $115.1$  mmHg から  $61.6$  mmHg (酸素飽和度約 40% に相当) に低下するまでは換水量および酸素利用率を増大させることによって酸素飽和の状態での酸素摂取を維持させている。酸素分圧が  $40$  mmHg 以下に低下すると、酸素摂取量は減少した。これらのことから、クロチョウガイは酸素分圧が  $40$  mmHg 以下に低下すると、換水量および酸素利用率を増大させても酸素飽和の状態での酸素摂取を維持することができないことが明らかとなった。

Herreid<sup>1)</sup> は、無脊椎動物の低酸素下での酸素摂取は、酸素分圧が低下してもある酸素分圧のところまで酸素飽和の状態での酸素摂取量を維持する非酸素依存型と、酸素分圧の低下に伴って酸素摂取量が減少する酸素依存型に分けられるとしている。*M. demissus*、チレニアイガイやミドリイガイは酸素依存型を、ムラサキインコガイ、タイラギやマガキは非酸素依存型を示している<sup>6-8, 11, 12, 17)</sup>。アコヤガイは、 $14.5^\circ\text{C}$  および  $20.5^\circ\text{C}$  では非酸素依存型を、 $27.2^\circ\text{C}$  では酸素依存型を示している<sup>9)</sup>。本研究の結果から、クロチョウガイは非酸素依存型を示すことが明らかとなった。このように、クロチョウガイは、分類上、アコヤガイと同じ属であるが、 $27^\circ\text{C}$  では酸素依存型を示すアコヤガイとは異なる型を示していた。これらのことから、クロチョウガイは、高温域 ( $27^\circ\text{C}$  付近) では低酸素に対応する呼吸機能がアコヤガイと異なっていると推測される。

クロチョウガイは、低酸素下で換水量と酸素利用率の両方を増大させた。これらのことから、クロチョウガイは、アコヤガイ<sup>9)</sup>、ミドリイガイ<sup>6)</sup>、チレニアイガイ<sup>7)</sup>、*M. perna*<sup>2)</sup> やタイラギ<sup>5)</sup> と異なって、*M. edulis*<sup>10)</sup>、ムラサキインコガイ<sup>16)</sup> やマガキ<sup>1)</sup> と同様に、低酸素下で酸素摂取を維持するために換水量と酸素利用率を同時に増大させて対応していることが明らかである。

ムラサキインコガイは、酸素分圧の低下に伴って換水量を 1.5 倍増加させ、酸素利用率を 3.0% から 18.5% へ増加させている<sup>11)</sup>。マガキは、換水量を 1.6 倍増加させ、酸

素利用率を0.81%から3.57%へと増加させている<sup>12)</sup>。クロチョウガイも、換水量をムラサキインコガイやマガキと同様に1.8倍増加させ、酸素利用率を3.7%から15.0%へと増加させた。一方、アコヤガイは酸素利用率を2.4%から7.1~22.3%へ、ミドリイガイは3.0%から11.1%へ、チレニアイガイは2.8%から12~35%へと増大させている<sup>7,9,13,16)</sup>。これらのことから、クロチョウガイも、前記の他の二枚貝と同様に低酸素下において換水量を増加させるだけでなく、酸素摂取の効率を増大させるように循環系の調節も行っていると考えられる。クロチョウガイは、酸素利用率がムラサキインコガイ、ミドリイガイ、チレニアイガイやアコヤガイとほぼ同じ値を示して変化させていることから、これらの二枚貝とほぼ同じ低酸素下における呼吸機能の調整能力を有していると推測される。

## 要 約

クロチョウガイを用いて、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。換水量は、酸素分圧が低下しても115.1±2.6 mmHgまではほぼ酸素飽和の状態(0.385±0.092 l/min/kgTW)を維持し、更に酸素分圧が低下すると酸素分圧の低下に伴って増加して22.0±3.5 mmHgで0.677±0.216 l/min/kgTWと酸素飽和の状態での値の1.8倍の増加を示した。酸素利用率は、酸素分圧が低下しても115.1±2.6 mmHgまではほぼ酸素飽和の状態(3.7±1.7%)を維持し、更に酸素分圧が低下すると酸素分圧の低下に伴って増加して、9.9±3.0 mmHgで15.0±3.6%を示した。酸素摂取量は、酸素分圧が低下しても61.6±5.2 mmHgまではほぼ酸素飽和の状態(0.068±0.011 ml/min/kgTW)を維持し、更に酸素分圧が低下すると減少した。

## 謝 辞

本研究は、文部科学省「持続可能な”えひめ発”日本型養殖モデル創出」、研究開発事業、温暖化対応型真珠養殖技術の研究開発(海洋環境の変化を地域の強みとして活かした市場価値の高い南洋真珠貝[クロチョウガイ、マベガイ]の養殖技術の確立)によって実施したものである。

## 文 献

- 1) Herreid II CF : Hypoxia in invertebrates. *Comp Biochem Physiol*, **67A**, 311- 320 (1980)
- 2) Bayne BL : The respiratory responses of *Mytilus perna* L. (Mollusca: Lamellibranchia) to related environmental oxygen. *Physiol Zool*, **40**, 307-313 (1967)
- 3) 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)
- 4) 山元憲一, 半田岳志: 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)
- 5) 山元憲一, 半田岳志: 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 (2008)
- 6) 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)
- 7) 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)
- 8) Booth CE, Mangum CP : Oxygen uptake and transport in the lamellibranch mollusc *Modiolus demissus*. *Physiol Zool*, **51**, 17-32 (1978)
- 9) 山元憲一, 半田岳志, 中村真敏, 田村晃一, 韓青溪: 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)
- 10) Bayne BL : Ventilation, the heart beat and oxygen uptake by *Mytilus edulis* (L.) in declining ambient oxygen tension. *Comp Biol Physiol*, **40A**, 1065-1085 (1971)
- 11) 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)
- 12) 山元憲一, 半田岳志: マガキの換水に及ぼす低酸素の影響. *水産増殖*, **59**, 1-4 (2010)
- 13) 山元憲一, 安達 智, 河邊 博: アコヤガイのろ水量の直接測定法. *水大校研報*, **44**, 189-194 (1996)
- 14) 山元憲一, 半田岳志, 荒木 晶, 湊 恭行, 小田原和史, 曾根謙一: クロチョウガイの鰓換水に及ぼすトリクロホルホンの影響. *水大校研報*, **61**, 9-12 (2012)
- 15) 山元憲一, 半田岳志, 中村真敏, 橘川和正, 北 靖史, 滝本真一, 西川 智: アコヤガイの呼吸に及ぼすオゾン処理海水の影響. *水産増殖*, **47**, 241-248 (1999)
- 16) 山元憲一, 半田岳志, 茅野直登: リシケタイラギの摂餌時における換水の変化. *水産増殖*, **55**, 381-385 (2007)
- 17) 山元憲一, 半田岳志, 茅野直登: 密閉式を利用した酸素摂取の測定. *水大校研報*, **57**, 191- 194 (2009)