

マボヤ換水量の直接測定法

山元憲一*・半田岳志*

New Method for Direct Measurement of Ventilation Volume of the Ascidian, *Halocynthia roretzi*

Ken-ichi Yamamoto* and Takeshi Handa*

An experimental system for the direct measurement of the ventilation volume in the ascidian, *Halocynthia roretzi*, was newly developed. Actually, in the measured results under normoxic condition and at $14.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, the ventilation volume showed 1.57 ± 0.52 l/min/kg wet weight and 13.03 ± 4.61 l/min/kg dry weight, the amount of oxygen uptake was 0.393 ± 0.092 ml/min/kg wet weight and 3.22 ± 0.61 ml/min/kg dry weight, and the oxygen utilization was 4.6 ± 1.7 %. The water volume expired from the atrial aperture by squirting was 45.3 ± 21.6 ml/stroke/ind, and the time during the squirting was 11.1 ± 5.6 sec.

1 緒言

ホヤの摂餌は、二枚貝類と同様に、鰓の繊毛運動の働きで水流を起こして、水を入水孔から鰓嚢へ取り込み、懸濁物を鰓で捕捉する方法によって行っている¹⁻⁴⁾。また、水が鰓を通過する際には、体内に酸素を取り込んで呼吸を行っている。そこで、鰓を通過させる水量(換水量)を測定することは、ホヤの摂餌量や呼吸量を知ることができ、ホヤの増養殖を進める上での基礎的知見を得ることできると考える。

換水量の測定方法には、間接法と直説法とがある。間接法では、水中の懸濁物をホヤが鰓で捕捉する性質を利用して、水中の懸濁物の濃度の減少率から換水量を算出している⁵⁻⁷⁾。この方法には、懸濁させる粒子の種類、大きさおよび濃度などによって換水量が大きく異なってくるという問題点がある。また、換水量と同時に酸素摂取量を調べる場合には、ホヤの代謝に及ぼす懸濁物の影響や懸濁物による酸素摂取量を考慮する必要がある。直説法では、入水管あるいは出水管のいずれかに管を挿入して固定し、入水孔から色素の溶液を吸入させて出水孔から水中へ呼出させ、その濃度の変化から換水量を算出する方法^{8, 9)}や、出水孔

の中央付近に熱線流量計のプロープを取り付けて測定した水の流速と出水孔の断面積から算出する方法¹⁰⁾が試みられている。前者では、入水管あるいは出水管を固定するために水管の働きを阻害している。したがって、算出された換水量は、ホヤの換水運動を正確に反映していないと考えられる。後者では、出水孔の断面積が一定と仮定して換水量を算出しているが、実際には外部刺激や生理的变化に対応して出水孔の断面積は刻々と変化している。したがって、算出結果には、大きな誤差が生じている可能性が考えられる。そこで、外部環境の変化や体内生理の状態に対する呼吸および摂餌機能の対応を調べる場合には、より精度の高い換水量の測定方法が必要となる。

著者らは、ホヤ類が鰓を換水した水を出水孔から呼出する特性を利用して、出水管に呼出水を受ける小さな室を取り付け、電磁血流計のプロープを介して換水量を直接測定する方法を新たに考案した。この方法は、ホヤの換水運動を阻害せずに換水量を精度良く連続測定することが可能であり、同時に酸素摂取量および酸素利用率をも連続測定しうるものである。本論文では、マボヤ *Halocynthia roretzi* を用いて、新しく考案した換水量の直接測定の方法を明ら

Table 1. Size of the ascidian, *Halocynthia roretzi*, (n=18) used for the experimentation.

BL	(mm)	91.1±8.1	T, DW	(g)	6.20±0.77
LD	(mm)	59.5±4.1	A, DW	(g)	3.49±0.56
SD	(mm)	53.6±3.9	T, OW	(g)	4.73±0.57
TW	(g)	156.7±19.2	A, OW	(g)	2.43±0.51
T, WW	(g)	41.8±5.1	T, AW	(g)	1.47±0.24
A, WW	(g)	37.7±5.3	A, AW	(g)	1.06±0.15

Data: mean ± standard deviation, BL: body length, LD and SD: long and short diameter of the body, TW: total body weight, T: tunic organ, A: other organ, WW: wet weight, DW: dry weight, OW: organic matter weight, AW: ash weight.

かにするとともに、この方法の有効性について検討したので報告する。

2 材料および方法

測定には、Table 1 に示した大きさのマボヤ18個体を用いた。マボヤは、宮城県の養殖場より入手後、被囊表面の付着物を除去して室内の水槽(200 l)に移し、自然海水を30 l/min注入して1カ月以上測定時と同一の水温のもとで飼育した。マボヤの大きさは、測定終了後、布で水分を良く拭き取り、室内で約30分間放置して被囊の表面を乾かした後総湿重量(TW, g)を計り、被囊を切開して被囊とその他の内臓諸器官の水分を濾紙で除去して湿重量(WW, g)を測定した。次いで、105℃で12時間乾燥させて乾燥重量(DW, g)を測定した。

実験は、Fig. 1に示した装置を用いて、酸素飽和の状態での換水量、酸素利用率および酸素摂取量を調べた。実験装置は、基本的にはアワビの場合¹¹⁾と同様にした。換水量は、マボヤが出水孔から呼出する水を小さな箱(以降、受水箱と略記する)で受け、電磁血流量計のプロープ(内径10 mm、1 l/min測定用、FF-100T、日本光電)を通過する水量(換水量)を電磁血流量計(MFV3200、日本光電)で測定した。同時に、鰓嚢への吸入水および呼出水の酸素分圧は、呼吸室および受水箱の水をそれぞれの酸素電極へ循環させてDOメーター(UC-100m、セントラル科学)で測定した。換水量および酸素分圧の値は記録計(MacLab/8、ADI)で連続記録した。海水は、ろ過槽を通過後、水温調節用の水槽で水温を調節すると同時に空気ですべて十分に曝気し、所定の量を呼吸室および酸素電極を設置した箱へ注水し、流し捨てとした。

呼吸室には、縦150 mm、横90 mm、高さ330 mm、容量4,455 mlのものをを用いた。受水箱(内径33 mm、高さ50 mm)は、スチロール製の標本瓶を利用して作製し、

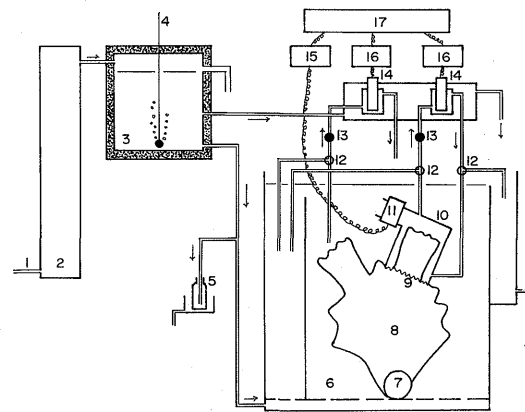


Fig. 1. Diagram of the experimental system. 1: supply of sea water, 2: filter of chemical fiber, 3: water bath for controlling the water temperature, 4: aeration, 5: 100 ml bottle for measuring the dissolved oxygen concentration, 6: respiration chamber, 7: anker, 8: ascidian, 9: gum thin film, 10: chamber for catching the water ventilated by the ascidian, 11: probe of electromagnetic flowmeter, 12: three way cock, 13: peristaltic pump, 14: oxygen electrode, 15: electromagnetic flowmeter, 16: oxygen analyzer, 17: recorder (MacLab system), arrow: direction of water flowing.

その片面にはゴムの薄膜を輪ゴムで止めて張り、もう一方には換水量測定用の電磁血流量計のプロープと酸素分圧測定用の2本のビニール細管(内径2.5 mm)を取り付けた(Fig.2)。ゴムの薄膜は、マボヤが出水管を十分に伸展させた時のその外形よりもわずかに小さい楕円形(約20 x 18 mm)に中央部を切り抜いて窓を開けて使用した。マボヤへの受水箱の固定は、瞬間接着剤(ゼロタイム一般用、セメダイン)で出水管の基部付近の被囊にゴムの薄膜を2箇所接着させた。この時、出水管の動きを束縛しないために、接着部分を出来るだけ小さくした。ゴムの薄膜には、ゴム製の手袋(天然ゴム手袋極薄手 No.282、東和コーポレーション)を利用した。

測定は、マボヤに受水箱を取り付けて呼吸室に設置し、

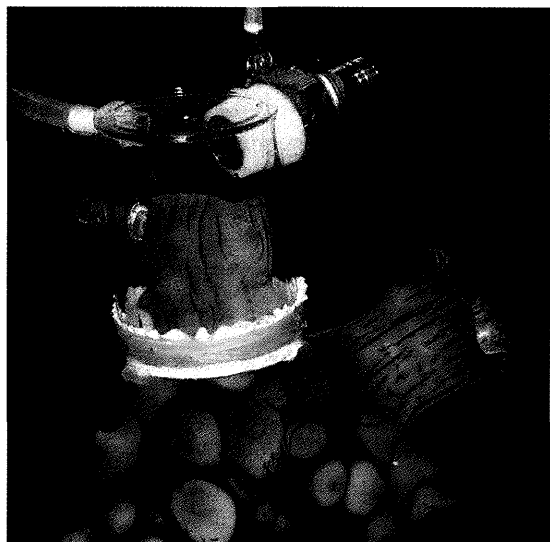


Fig. 2. Ascidian, *Halocynthia roretzi*, equipped with a small chamber and probe of electromagnetic flowmeter.

約15時間経過した後、換水量と鰓嚢への吸入水および呼出水の酸素分圧を、毎秒10回の読み込み速度で6時間連続記録して行った。測定時の水温および呼吸室への流入水量は Table 2に示した。酸素電極のこう正は、アワビの場合¹⁾と同様にして行った。

換水量は、Fig. 3に示したように、大きな値を示し始めてから10分間経過した後より次の一過性の大きな変化を示すまでの平均値を求め、湿重量 (ml/min/kg WW) および乾燥重量当たりの値 (ml/min/kg DW) に換算した。この10分間は、酸素電極の部分の水が受水箱内の循環によって入れ替わるまでと酸素電極が反応するまでを考慮した時間である。鰓嚢への吸入水の酸素分圧 (P_{I,O_2} , mmHg) および呼出水の酸素分圧 (P_{E,O_2} , mmHg) は換水量と同じ時間の平均値とした。酸素利用率 (U, %) は、 $U=100 \cdot (P_{I,O_2} - P_{E,O_2}) / P_{I,O_2}$ から計算した。酸素摂取量 (\dot{V}_{O_2} , ml/min/ind) は、呼吸室への流入水の酸素分圧 (P_{O_2} , mmHg) と溶存酸素量

(Co_2 , ml/l) を用いて、 $\dot{V}_{O_2} = (P_{I,O_2} - P_{E,O_2}) \cdot (Co_2 / Po_2) \cdot Vg / 1000$ から計算し、湿重量 (ml/min/kg WW) および乾燥重量当たりの値 (ml/min/kg DW) に換算した。 P_{O_2} と Co_2 は、呼吸室への流入水を採水して、前記と同様の DO メーターおよび Winkler 法で測定した。

また、Fig.3に S1、S2および S3で示したように、換水量が一過性の大きな変化を示した時に、そのような1回の変化の間に出水孔から呼出される水量 (Vg,s, ml/stroke/ind) および出水孔から呼出されている間の時間 (T, sec) は、次のようにして毎秒10回の読み込み速度で測定した連続記録

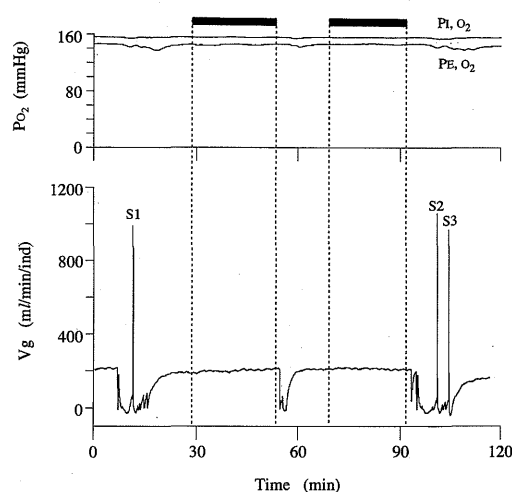


Fig. 3. The real record example on which showed the measurement parts of ventilation volume (Vg), and oxygen partial pressure (P_{O_2}) in the inspired (P_{I,O_2}) and expired water (P_{E,O_2}) to/from the branchial sac of the ascidian, *Halocynthia roretzi*, were measured. Sampling frequency was 10 times/sec. The thick and the dotted lines show the period in which the averages of the three parameters was computed. S1, S2 and S3 are the changes in the ventilation volume by squirting.

Table 2. Data of respiration in the ascidian, *Halocynthia roretzi*, (n=18) under normoxic condition

Water temperature (°C)	14.0 ± 0.1	Vg (l/min/ind)	0.122 ± 0.042
FR (ml/min)	500 ± 10	(l/min/kg WW)	1.568 ± 0.523
WW (g)	79.5 ± 7.1	(l/min/kg DW)	13.03 ± 4.61
DW (g)	9.7 ± 1.1	(l/min/kg OW)	17.72 ± 6.48
OW (g)	7.2 ± 0.9	\dot{V}_{O_2} (ml/min/ind)	0.031 ± 0.008
P_{I,O_2} (mmHg)	153.7 ± 1.1	(ml/min/kg WW)	0.393 ± 0.092
P_{E,O_2} (mmHg)	146.7 ± 2.5	(ml/min/kg DW)	3.22 ± 0.61
U (%)	4.6 ± 1.7	(ml/min/kg OW)	4.37 ± 0.82

Data: mean ± standard deviation, FR: flow rate of water irrigating the respiration chamber, WW: wet weight, DW: dry weight, P_{I,O_2} and P_{E,O_2} : oxygen partial pressure in inspired and expired water, respectively, U: oxygen utilization at the gills, Vg: ventilation volume, \dot{V}_{O_2} : amount of oxygen uptake.

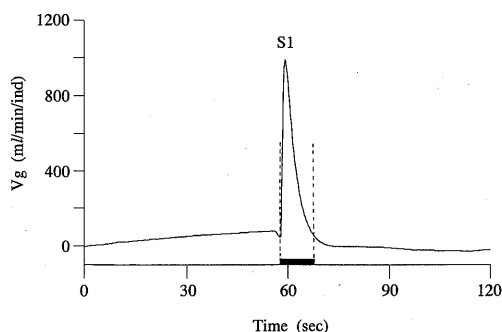


Fig. 4. The real record example on which showed the measurement parts on volume of water expired from the branchial sac of the ascidian, *Halocynthia roretzi*, and time while the ventilation volume changed by the squirting were measured. The figure shows the enlarged part of S1 in Fig.1. The thick and the dotted lines show the period in which the volume of water and the time were.

から計測し、それらの操作を30回の変化について行って平均値で表した。すなわち、TはFig.4に示したように、換水量の増加開始から開始時の水準まで減少する間を計測した。V_{g,s}は、 $V_{g,s} = \int_0^T V_g/10/60$ の式から計算した。

3 結果

マボヤの換水量および吸入水と呼出水の酸素分圧の連続記録例をFig. 3に示した。換水量は、マボヤや他のホヤ類で知られている^{5, 12)}ように、一過性の大きな増減と比較的安定した値が持続する二つの変化を示した。この一過性の大きな換水量の増減は、噴出運動(squirting)¹³⁻¹⁹⁾に同調した変化を示し、その増加開始から終了までの時間は11.1±5.6秒間であった。また、1回の噴出運動に伴う出水孔からの呼出水量は、45.3±21.6 ml/stroke/indであった。

換水を停止している時の被嚢内の水量は、Table 1に示

Table 3. Ventilation volume of ascidians

Species	Water temp. (°C)	Ventilation volume	Reference
<i>Ascidia atra</i>		0.150 l/min/ind	21
<i>A. mentula</i>	19.5~20.6	57.0 l/min/kg DW	10
<i>Ascidiella aspersa</i>	10	53~130 l/min/kg DW	8
	20	591 l/min/kg DW	20
<i>Ciona intestinalis</i>	16	0.833 l/min/kg WW	9
	14.5~15.5	98.4 l/min/kg DW	14
	10	312 l/min/kg DW	20
	15	58.6 l/min/kg DW	22
<i>Clavelina lepadiforme</i>	15	41.5 l/min/kg DW	22
<i>Halocynthia papillosa</i>	15	105.8 l/min/kg DW	22
<i>Microcosmus sabatieri</i>	19.3~20.3	51.4 l/min/kg DW	10
	15	115.2 l/min/kg DW	22
<i>Phallusia mammillata</i>	15	0.67~5.6 l/min/kg DW	5
	15	73 l/min/kg DW	6
	19.4~22.0	34.5 l/min/kg DW	10
	14.8~15.9	105.2 l/min/kg DW	14
	15.0~20.1	38.2~93.2 l/min/kg DW	15
	15	49.9 l/min/kg DW	23
<i>Styela clava</i>	10	78~175 l/min/kg DW	8
	14.8~15.2	178.5 l/min/kg DW	14
<i>S. plicata</i>	20.7~20.8	81.5 l/min/kg DW	10
<i>Halocynthia roretzi</i>	14.0	0.122 l/min/ind	Present study
	14.0	1.568 l/min/kg WW	Present study
	14.0	13.03 l/min/kg DW	Present study

The unit of ventilation volume was arranged for in the present study. WW and DW : wet and dry weight of body included tunic.

した総湿重量(TW)および被囊と他の内臓諸器官の湿重量(WW)の差、 $TW - WW = 156.7 - 79.5 = 77.2\text{g}$ から、約77 ml/indと推測された。そこで、1回の噴出運動に伴う出水孔からの呼出水量は、被囊内に保持される水量の約60%に相当した。

一方、比較的安定した換水量の値が持続する時間は、 25.2 ± 4.6 分間(最大56.7分間)であった。この間の換水量を解析した結果(Table 2)をこれまでに報告されている他のホヤ類と比較して Table 3に示した。本実験で得られたマボヤの換水量(13.03 ml/min/kg DW)は他のホヤ類での値の範囲(0.67~178.5 ml/min/kg DW、Table 3)に入っている。

出水孔からの呼出水の酸素分圧は、換水量が噴出運動に伴って増減した時にはわずかな減少を示したが、それ以外の時にはほぼ安定した値を示した(Fig. 4)。このような記録をもとに計算したマボヤの酸素利用率(4.6%、Table 2)は、ホヤ類では測定されていないので比較できないが、ホヤ類と同様に懸濁物を鰓で濾過して摂食しているイガイの仲間(3~12%)²⁵⁻²⁷⁾ やアコヤガイ(4.6%)^{28, 29)} とほぼ同じ値を示した。

酸素摂取量は、*Phallusia mammillata* では3.2 ml/min/kg DW²³⁾、エボヤ、*Styela clava* では4.26~8.82 ml/min/kg DW²⁴⁾ と報告されている。カメユレーイボヤ、*Ciona intestinalis* では、酸素摂取量(\dot{V}_{O_2} , ml/h/ind)と乾燥重量(DW, g)との間に $\dot{V}_{O_2} = 0.515 \cdot DW^{0.831}$ の式が得られている。この式に本実験で用いたマボヤの乾燥重量(9.7 g、Table 2)を代入すると、5.8 ml/min/kg DWと算出される。本実験で得られたマボヤの酸素摂取量(3.22 ml/min/kg DW、Table 2)は、それら3種とほぼ同じ値を示していた。

4 論 議

ホヤ類の換水は比較的安定して行われる場合と、噴出運動に伴う場合とがある。今回新たに考案した本装置は、両方の換水によって呼出される水量をリアルタイムで連続記録できることから、ホヤ類の換水に関する研究に使用可能であると考えられる。

比較的安定した換水量を示す時には、酸素摂取量は他のホヤ類とほぼ同じ値を示し、酸素利用率はホヤ類と同様の捕食機構を示す二枚貝と同様の非常に低い値を示した。これらのことから、本装置は、低酸素や水温変化に伴う比較的ゆっくりとした呼吸機能の変化や日周期に伴う呼吸機能の変化などを調べる場合には、活用できるものと考えられる。

一方、噴出運動の多くは換水を長時間停止した後に行われていることから、この時の呼出水の酸素分圧はかなり低い値を示すと考えられる。実際に記録例からも明らかのように、呼出水の酸素分圧は比較的安定した換水量を示す時よりも小さい値を示している。しかし、酸素電極の反応時間(約60秒)が噴出運動に伴う水の呼出時間(11.1秒)よりも長い場合、呼出水の酸素分圧は的確に記録されていない可能性が考えられる。そこで、噴出運動に伴う呼出水の酸素分圧の変化を調べるためには、本装置は比較的一定した換水を行っている場合とは別にもう一経路設けて、噴出運動の時には呼出された水のみを酸素電極を設置した室に流すように工夫するなどの改良の必要があると考えている。

5 要 約

マボヤ、*Halocynthia roretzi*の換水量を直接測定する装置を考案した。酸素飽和の状態において、水温 $14.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で測定した結果、換水量は湿重量および乾燥重量当たりの値として、それぞれ 1.57 ± 0.52 、 13.03 ± 4.61 l/min/kg、酸素摂取量は、それぞれの重量当たりの値として 0.393 ± 0.092 、 3.22 ± 0.61 ml/min/kgであり、酸素利用率は $4.6 \pm 1.7\%$ であった。また、1回の噴出運動で呼出される水量は 45.3 ± 21.6 ml/stroke/indで、呼出している時間は 11.1 ± 5.6 sec/strokeであった。

文 献

- 1) Fiala-Medioni, A.: *Acta zool. (Stockh.)*, **59**, 1-9 (1978).
- 2) Flood, P. R. and A. Fiala-Medioni: *Acta Zoologica*, **62**, 53-65 (1981).
- 3) Pennachetti, C. A.: *Zoomorphology*, **104**, 216-222 (1984).
- 4) Holley, M. C.: *Tissue & Cell*, **18**, 667-684 (1986).
- 5) Carlisle, D. B.: *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **46**, 125-127 (1966).
- 6) Fiala-Medioni, A.: *Mar. Biol.*, **23**, 137-145 (1973).
- 7) Robbins, I. J.: *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **82**, 1-10 (1984).
- 8) Holmes, N.: *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **11**, 1-13 (1973).
- 9) Kustin, K., K. V. Ladd, G. C. McLeod, and D. L. Toppen: *Biol. Bull.*, **147**, 608-617 (1974).
- 10) Fiala-Medioni, A.: *Mar. Biol.*, **45**, 185-190 (1978).

- 11) 山元憲一・半田岳志：水大校研報，48, 18-19 (2000).
- 12) Jørgensen, C. B. : *Biol. Bull.*, 103, 356-363 (1952).
- 13) Hoyle, G. : *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 31, 541-562 (1953).
- 14) Fiala-Medioni, A. : *Mar. Biol.*, 48, 243-249 (1978).
- 15) Fiala-Medioni, A. : *Mar. Biol.*, 48, 251-259 (1978).
- 16) Shumway, S. E. : *Mar. Biol.*, 48, 235-242 (1978).
- 17) Robbins, I. J. : *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 70, 65-78 (1983).
- 18) 荒井永平・刈田啓史郎・星合愿一・片山知史・星野善一郎：水産増殖，46, 517-521 (1998).
- 19) 荒井永平・刈田啓史郎・星合愿一・片山知史・星野善一郎：水産増殖，47, 65-69 (1999).
- 20) Randlov, A. and H. U. Riisgård : *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1, 55-59 (1979).
- 21) Hecht, S. : *J. exp. Zool.*, 20, 429-434 (1916).
- 22) Fiala-Medioni, A. : *Mar. Biol.*, 28, 199-206 (1974).
- 23) Fiala-Medioni, A. : *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1, 49-53 (1979).
- 24) Riisgård, H. U. : *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 47, 129-134 (1988).
- 25) Widdows, J. : *Mar. Biol.*, 20, 269-276 (1973).
- 26) Bayne, B. L., C. J. Bayne, T. C. Carefoot, and R. J. Thompson : *Oecologia*, 20, 211-228 (1976).
- 27) 山元憲一・半田岳志・中村真敏・田村晃一・韓青溪：水産増殖，46, 523-527 (1998).
- 28) 山元憲一・安達智・邊辺博：水産増殖，47, 539-544 (1999).
- 29) 山元憲一：水産増殖，48, 47-52 (2000).