

アワビ類換水量の直接測定法

山元憲一*・半田岳志*

New Method of Direct Measurement of Ventilation Volume of Abalones (Mollusca, Haliotidae)

Ken-ichi Yamamoto* and Takeshi Handa*

An experimental system for the direct measurement of the ventilation volume in abalones has been newly developed. The system is mainly composed of a small chamber fixed around a row of opened shell holes and a respiration chamber, in which the abalone is set, in order to limit free movement. This system is able to continuously and simultaneously measure the amount of oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) and oxygen utilization at the gills (U) as well as ventilation volume (Vg). Three items of the disk abalone, *Nordotis discus hannai*, were measured under normoxic condition at $20.1 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Vg was 181 ± 29 ml/min/kg total weight, 256 ± 44 ml/min/kg wet weight of the soft part and 647 ± 115 ml/min/kg dry weight of the soft part, $\dot{V}O_2$ was 0.699 ± 0.105 ml/min/kg total weight, 0.945 ± 0.162 ml/min/kg wet weight of the soft part and 4.08 ± 0.82 ml/min/kg dry weight of the soft part, and U was $69.9 \pm 4.8\%$. The value of $\dot{V}O_2$ coincides well with that calculated from the formula. Therefore, this method has been proven to be useful for the direct measurement of several respiratory functions of abalones.

1 緒言

貝類の換水量の測定は、二枚貝では、懸濁物を鰓で捉えて捕食する性質を利用して、懸濁物の水中濃度の減少率から計算で求める間接法が一般に利用されている¹⁻⁴⁾。直接法としては、アコヤガイ *Pinctada fucata martensii*、アカガイ *Scapharca broughtonii* やミドリイガイ *Perna viridis* では、換水量は電磁血流計を用いて測定されている⁵⁻⁷⁾。巻貝では、換水量は二枚貝と捕食の方法が異なるために前記の間接法で

は測定できない。そこで、外套腔への入水および出水を採取して測定した溶存酸素量と酸素摂取量とから計算で求める間接法が、サザエ *Turbo cornutus* とミゾコシボラ *Busycon canaliculata* で試みられている^{8, 9)}。この方法では、測定に時間を要するために、換水量を短い時間間隔で連続して調べることができない。このため、低酸素や水温上昇などの外部環境あるいは体内生理の変動に伴う換水量の経時変化を調べることは困難である。このような点を解決するには、二枚貝の場合と同様な直接法を確立させる必要がある。

水産大学校研究業績 第1639号, 2000年9月28日受付。

Contribution from National Fisheries University, No. 1639. Received Sep. 28, 2000.

* 水産大学校生物生産学科資源環境学講座 (Laboratory of Environmental Biology, Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University).

著者らは、アワビ類の換水量を直接法によって測定する方法を新しく考案した。この方法は、換水量と同時に、酸素摂取量および鰓での酸素利用率を連続測定することを可能にしたものである。この方法により、エゾアワビ *Nordotis discus hannai* で測定を試み、好結果を得たので報告する。

2 実験装置

2.1 実験装置

アワビ類の換水量を直接測定する装置を考案した (Fig. 1 & 2)。この装置は、アワビ類が殻の下面か

ら外套腔へ水を吸入して鰓を換水した後、3～4個の開放している出水孔から呼出している点に着目したものである。換水量は、この出水孔から出る水を箱(以下、受水箱とする)で受け、この受水箱に取り付けた電磁血流計 (MFV3200, 日本光電) で測定した。外套腔への吸入水の酸素分圧は呼吸室の水、呼出水のものは受水箱の水を使って DOメーター (UC-100m, セントラル化学) で測定した。これらの値は、記録計 (MacLab/8, ADI) を用いて毎秒1回の読み込み速度で連続記録した。また、酸素摂取量を計算する際に必要な酸素分圧と溶存酸素量は、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。この時、酸素分圧の測定は呼吸室への

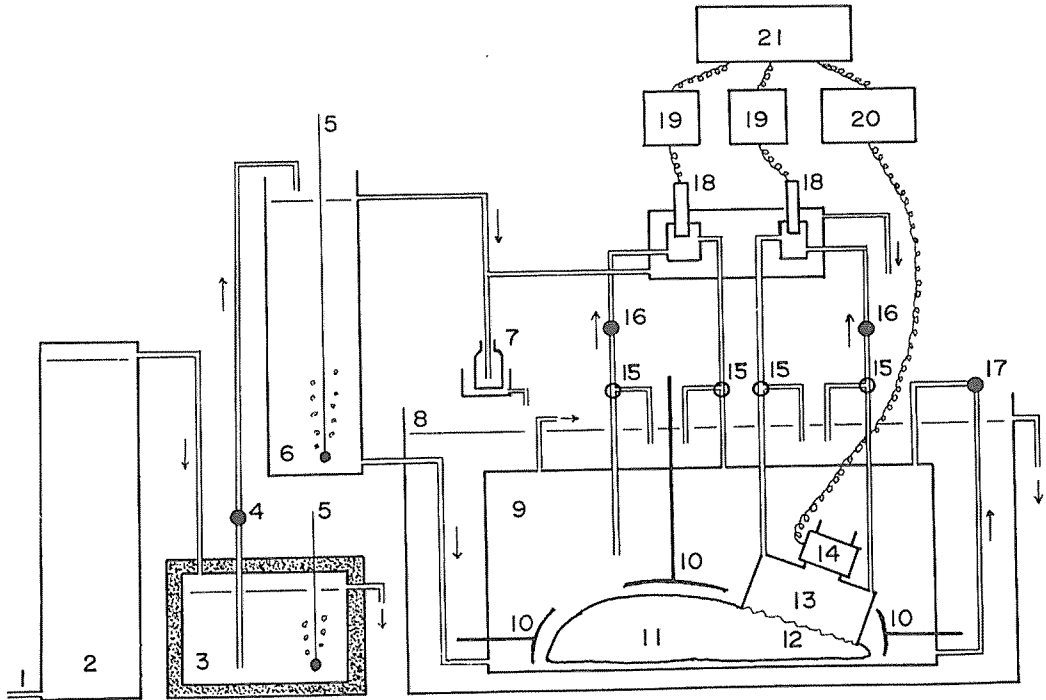


Fig. 1. Diagram of the experimental system.

1 : supply of sea water, 2 : filter of chemical fiber, 3 : water bath for controlling the water temperature, 4 : lift pump, 5 : aeration, 6 : equilibration column, 7 : 100 ml bottle for measurement the dissolved oxygen concentration, 8 : water tank, 9 : respiration chamber, 10 : fixation tool of the abalone, 11 : abalone, 12 : gum thin film, 13 : small chamber for measurement of the ventilated water, 14 : probe of electromagnetic flowmeter, 15 : three way cock, 16 : peristaltic pump, 17 : micro pump, 18 : oxygen electrode, 19 : oxygen analyzer, 20 : electromagnetic flowmeter, 21 : recorder, arrow: direction of water flow.

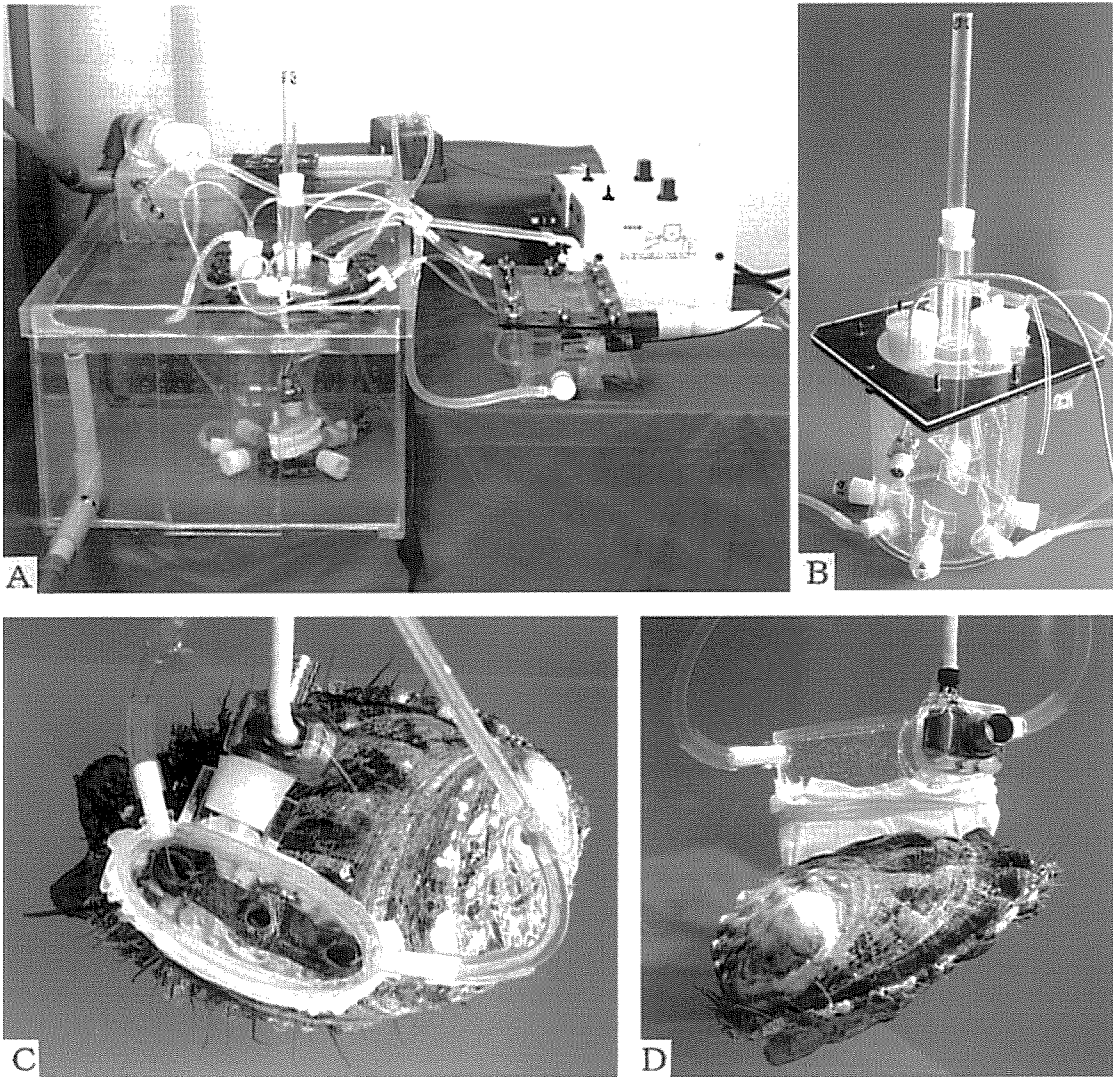


Fig. 2. Photograph of the experimental system.

A : nucleus of the system, B : respiration chamber, C and D : disk abalone operated with a small chamber and probe of electromagnetic flowmeter.

流入部の前に設置した酸素瓶から注射筒で50 ml 採水し、溶存酸素量は同瓶を取り替えて採水して行った。なお、受水箱および呼吸室の大きさは、測定に用いる貝の大きさに応じて決めた。

海水は、ろ過槽、水温調節用の水槽を通過させた後、曝気筒で空気によって十分に曝気し、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、残りを呼吸室を設置した水槽へ注水して、流し捨てとした。なお、酸素電極を設置した箱への注水は、同電極を呼吸室内の水温と同一に維持するためである。また、呼吸室を設置した水槽への注水は呼吸室の水温を一定に維持すると同時に、酸素電極を酸素飽和の状態に校正する時

に利用した。

2.2 呼吸室

呼吸室は、Fig. 2-Bに示したように透明なアクリルの円筒を用いて作成した。呼吸室には、アワビの動きを制限するために側面下部に4箇所と上面に1箇所アクリル製の筒（外径12mm）で作成した固定具を設置した。固定具の各筒の長さは、アワビが動き回れない程度にアワビの殻との間隔を開けて調節した。外套腔への吸入水および呼出水の酸素電極への循環は、ビニール細管（内径3mm）を介して、定量ポンプ（PST-050, イワキ）を用いて循環水量10 ml/minで行った。また、呼吸室内の水は、酸素分圧を均一にするために、ビニール細管（内径8mm）を介して、小型揚水ポンプ（MW-700EPH, エノモトマイクロポンプ）で呼吸室の上面から吸い上げ、側面下部から注入して1 l/minで循環させた。

2.3 受水箱

アワビの出水孔に取り付けた受水箱は、アクリル製の筒をガスコンロで熱して楕円形に整形して作成した（Fig. 2-C&D）。その筒の片面にはゴムの薄膜を輪ゴムで止めて張り、もう一方には電磁血流計のプロープ

（内径10mm, 1 l/min測定用, FF-100T, 日本光電）と2本のビニール細管（内径2.5mm）を取り付けた（Fig. 2-C&D）。このビニール細管は受水箱内の水を酸素電極へ循環させるのに用いた。ゴムの薄膜は、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）の手のひらの部分を長方形に切り出して利用し、その中央部分を開放している出水孔の列の大きさに合わせて切り抜いて出水孔の周囲に接着させた。接着には、瞬間接着剤（ゼロタイム一般用, セメダイン）を用いた。接着後には、色素（エバンスブルー）の溶液を用いて、出水孔から呼出された全ての水が受水箱を通過して電磁血流計のプロープの部分から排出されていることを確かめた。

2.4 酸素電極の校正

アワビの外套腔への吸入水および呼出水の酸素分圧は、零と酸素飽和の順に酸素電極を校正した後、三方コックを切り替えて、それぞれ呼吸室あるいは受水箱の水を循環させて連続記録した（Fig. 1）。零校正は、設置した箱から酸素電極を取り外し、0.3%無水硫酸ナトリウム水溶液に浸して行った。酸素飽和の校正は、呼吸室を設置した水槽の水を電極へ循環させて行った。測定後にも、三方コックを切り替えて、呼吸室を設置した水槽の水を循環させて酸素飽和の状態での値を確

Table 1. Measurements of the experimented disk abalone, *Nordotis discus hannai*, (n=13) and data of respiration obtained by the new method under normoxic condition.

Water temperature (°C)	20.1±0.1	Vg (ml/min/ind)	19.3 ±1.3
FR (ml/min)	293 ±11	(ml/min/kg TW)	181±29
TW (g)	108.9±19.6	(ml/min/kg WW)	256±43.9
WW (g)	77.3±14.4	(ml/min/kg DW)	647±115
DW (g)	18.1±4.1	$\dot{V}O_2$ (ml/min/ind)	0.071±0.004
P _{I,O₂} (mmHg)	151.2±1.7	(ml/min/kg TW)	0.669±0.105
P _{E,O₂} (mmHg)	45.5±7.2	(ml/min/kg WW)	0.945±0.162
U (%)	69.9 ±4.8	(ml/min/kg DW)	4.08±0.82

Data : mean±standard deviation, FR : flow rate of water irrigating the respiration chamber, TW, WW and DW : weight of shell and soft part, wet weight of soft part and dry weight of soft part of the abalone, respectively, P_{I,O₂} and P_{E,O₂} : 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.

認し、次いで前記と同様に電極を外して零を確認した。

3 測定例

3.1 材料および方法

新たに考案した実験装置の有効性を調べるために、Table 1 に示した大きさのエゾアワビ *Nordotis discus hannai* 13個体を用いて、換水量、鰓での酸素利用率および酸素摂取量を調べた。貝は、水産大学の屋外のコンクリート水槽（50トン）で自然海水を300 l/min 注入した状態で、アナアオサを主体とした海藻を投与して、放流サイズ（殻長約20mm）から約3年間飼育した。実験開始前には取り上げて、殻の付着物を取り除いた後、室内の水槽（200 l）に設置したクレモナ製の網籠（500×500×500mm、目合い10mm）に移し、自然海水を30 l/min 注入して1か月以上測定時と同一の水温で飼育した。この時の餌は、アナアオサを十分量投与した。網籠からのアワビの取り上げは、麻酔を使用せずに、手で少し引っ張った状態で時間をかけて自然に剥がした。測定時の水温および呼吸室への流入水量はTable 1 に示した。貝の大きさは測定の終了後、タオルで水分を良く拭き取り、約30分間放置して殻および体表面を乾燥させた後に体重（TW, g）を計り、肉質部を摘出して肉質部の湿重量（WW, g）を計測した。次いで、105℃で12時間乾燥させて肉質部の乾燥重量（DW, g）を計測した。

測定は、受水箱を取り付けて貝を呼吸室に設置し、約15時間経過後から酸素飽和の状態で行った。呼吸室には、内径11.2 cm、高さ12.5 cm、内容量1,542 ml、受水箱には、長径50 mm、短径17 mm、高さ平均28 mmのものを用いた。ゴムの薄膜は、中央部分に長さ約40 mm、幅約5 mmの窓を開けたものを使用した。

換水量（ V_g , ml/min/ind）は、連続記録した1時間の平均値を求め、体重（ml/min/kg TW）、肉質部の湿重量（ml/min/kg WW）および肉質部の乾燥重量当たりの値（ml/min/kg DW）に換算した。鰓での酸素利用率（ U , %）は、連続記録した外套腔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）の1時間の平均値を用いて、 $U = 100 \cdot (P_{i,O_2} - P_{E,O_2}) / P_{i,O_2}$ から計算した。酸素摂取量（ $\dot{V}O_2$, ml/min/ind）は、前記の P_{i,O_2} と P_{E,O_2} 、および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、 $\dot{V}O_2 = (P_{i,O_2} - P_{E,O_2}) \cdot (Co_2 / P_{O_2}) \cdot V_g / 1000$ から計算し、体重（ml/min/kg TW）、肉質部の湿重量（ml/min/kg WW）および肉質部の乾燥重量当たりの値（ml/min/kg DW）に換算した。

3.2 結果

連続記録例をFig. 3に示した。換水量は、エゾアワビが動くときに伴って一過性の増減を示したが、全体的にはほぼ一定していた。

連続記録をもとに解析した結果をTable 1に示した。換水量（647 ml/min/kg DW）は、間接法で調べたサザエの値（1,776 ml/min/kg WW）⁹⁾ よりも小さく、ミゾコブシボラ（238~250 ml/min/kg WW）⁹⁾ よりも大きな値を示した。

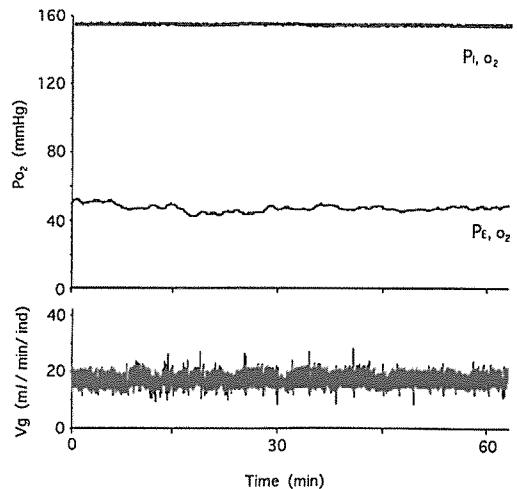


Fig. 3. Records of oxygen partial pressure in the inspired water (P_{i,O_2}) and the expired water (P_{E,O_2}), and the ventilation volume (V_g) of the disk abalone, *Nordotis discus hannai*.

鰓での酸素利用率 (69.9%) は、外套腔への吸入水と呼出水を採水して調べたサザエの値 (69.6%)⁹⁾、ミゾゴブシボラ (50%)⁹⁾、*Haliotis tuberculatus* (48~70%)、*Tritonium nodiferum* (71~90%)、*Doris tuberculata* (64~69%)¹⁰⁾ とほぼ同じであった。

エゾアワビの個体当たりの酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$, ml/hr/ind) と肉質部の湿重量 (WW, g) との関係は、水温 (T, °C) の範囲 8~20°C で、 $\dot{V}O_2 = 0.0210 \cdot WW^{0.8025} \cdot 1.0963^T$ の式が得られている¹¹⁾。この式から、Table 1 に示した肉質部の湿重量 (77.3 g) と水温 (20.1°C) の場合を計算すると、単位重量当たりの酸素摂取量は 0.941 ml/min/kg WW となる。本研究での酸素摂取量 (0.945 ml/min/kg WW) はその値と良く一致した。

4 論 議

本研究で紹介した直接法では、換水量は記録例からも明らかなように記録計の読み込み速度を変えることによって測定間隔を自由に調節して連続測定することが可能である。同時に、外套腔への吸入水と呼出水の酸素分圧も同様に連続測定し、記録することができる。従って、記録計に計算式を入力しておくことによって、鰓での酸素利用率および酸素摂取量も同時に連続記録することが可能である。

換水量は、他の巻貝で報告されている値の範囲に入っている。また、鰓での酸素利用率も他の巻き貝での値とよく一致している。これらのことから、本研究で測定された換水量、および外套腔への吸入水と呼出水の酸素分圧は、間接法の場合と同様の精度で測定されていると考えられる。

酸素摂取量が肉質部の湿重量との関係式から計算した値と良く一致したことから、アワビの出水孔に受水筒を取り付けて呼吸室に設置する一連の操作は、アワビの代謝量に顕著な影響を及ぼさないことが明らかである。

以上のことから、本研究で紹介した直接法は、アワビ類の呼吸機能を知るための重要な要因である換水量、

鰓での酸素利用率および酸素摂取量のいずれも連続して測定記録することができると判断した。また、この方法は、ミミガイ科の呼吸機能の種類間の比較検討や同科の貝類の呼吸機能へ及ぼす環境変化の影響などを調べるに当たって活用され得ると考えている。

5 要 約

アワビの換水量を直接測定する装置を考案した。同装置は、アワビの出水孔から呼出された水の量 (換水量)、外套腔への吸入水および呼出水の酸素分圧の連続測定を可能にしたものである。実際にエゾアワビ *Nordotis discus hannai* を用いて、酸素飽和の状態において水温 20.1±0.1°C で測定した。換水量は体重、肉質部の湿重量および肉質部の乾燥重量当たりの値ではそれぞれ 181.2±29.5, 255.9±43.9, 647.1±115.0 ml/min/kg、酸素摂取量はそれぞれの重量当たりの値では 0.699±0.105, 0.945±0.162, 4.078±0.815 ml/min/kg、鰓での酸素利用率は 69.9±4.8% を示した。

文 献

- 1) Coughlan, J. : *Mar. Biol.*, 2, 356-358 (1969).
- 2) Møhlenberg, F. an H. U. Riisgård : *Mar. Biol.*, 54, 143-148 (1979).
- 3) Riisgård, H. U. : *Ophelia*, 16, 167-173 (1977).
- 4) Winter, J. E. : *Mal. Biol.*, 22, 317-328 (1973).
- 5) 山元憲一・安達 智・河邊 博 : 水大校研報, 44, 189-194 (1996).
- 6) 山元憲一・田村征夫・榎野元秀 : 水大校研報, 45, 95-101 (1996).
- 7) 山元憲一・川原邦昌・嶋田 誠・藤井 淳・寺戸 寛史 : 水大校研報, 44, 89-95 (1996).
- 8) 山元憲一・川原邦昌・藤井 淳 : 水大校研報, 46, 33-37 (1997).
- 9) Mangum, C. P. and G. Polites : *Biol. Bull.*, 158, 77-90 (1980).
- 10) Ghiretti, F. : *Respiration*, in "Physiology of Mollusca" (ed. by K. M. Wilbur and C. M.

Yonge), Academic Oress, New York and
London, 1966, pp. 175-208.

11) 浮永 久・菊池省吾: 東北水研研報, 35, 73-84
(1975).