

カマツカの低酸素下における呼吸および逃避反応

山元 憲一・平野 修・原 洋一・吉川 浩史

Respiration and Avoidance Reaction of a Cyprinid Fish *Pseudogobio esocinus* under Hypoxia

Ken-ichi Yamamoto, Osamu Hirano, Yoichi Hara
and Hiroshi Yoshikawa

(Received May 9, 1986)

A cyprinid fish, *Pseudogobio esocinus* showed gradual bradycardia at oxygen saturation (%) of less than 29.7 ± 4.6 (1.89 ± 0.29 ml/l of oxygen concentration), surfacing at 14.7 ± 1.3 (0.94 ± 0.09 ml/l), drastic decrease of oxygen consumption at less than 14.2 ± 0.8 (0.91 ± 0.06 ml/l) and asphyxia at 9.7 ± 1.4 (0.62 ± 0.09 ml/l). The fish avoided water having low oxygen saturation of less than 54.0 ± 5.4 (3.38 ± 0.30 ml/l), and markedly at less than 26.2 ± 3.4 (1.62 ± 0.16 ml/l).

(Department of Aquaculture and Biology, Shimonoseki University of Fisheries, Yoshimi, Shimonoseki 759-65, Japan; Present address, YH: Prefectural Government of Nagasaki, 2-13 Edo-cho, Nagasaki 850, Japan; HY: Kyushu Branch, Nihon-nosan-kogyo Co., Ltd., 3-5-7 Hakata-ekimae, Hakata-ku, Fukuoka 812, Japan)

魚類では、環境水の酸素飽和度が低下すると酸素消費量は減少し (Marvin and Heath, 1968; Marvin and Burton, 1973; Eddy, 1974; Hughes *et al.*, 1983), 心拍数も減少する (Randall and Shelton, 1963; Holeton and Randall, 1967a, b; Randall and Smith, 1967; Marvin and Heath, 1968). 著しい低酸素になると魚は水面に浮上して鼻上げを行うようになり (板沢, 1960; 白旗, 1963), さらに低下すると窒息死するが, 著しい低酸素になる前に低酸素水域から逃避する (Jones, 1952; Whitmore *et al.*, 1960; Deubler and Posner, 1963; Hill, 1968).

著者らは、コイ科のカマツカ *Pseudogobio esocinus* を用いて低酸素下における酸素消費量および心拍数の変化, 鼻上げおよび窒息死が起る酸素飽和度, 低酸素水域からの逃避について調べた。

材料および方法

実験にはカマツカ 168 個体を用いた。魚は水産大学校小野臨湖実験実習場付近の河川および小野ダム湖より採集し、コイ用の配合飼料を毎日体重の約 1% 投与して実験水温のもとで 3 週間以上、循環ろ過水槽 (500 l) で飼育した。実験に供する前の 24 時間は絶食状態にした。

種々の酸素飽和度における酸素消費量および心拍数の測定は、全長 16.0 ± 1.7 cm (M \pm SD, 以下同様に示す), 体重 26.7 ± 9.5 g のもの 16 個体を用いて、水温 $19.9 \pm 0.7^\circ\text{C}$, 呼吸室への流入量 265 ± 207 ml/min のもとで 16 例を行った。まず、魚を 100 ppm のキナルジン溶液で麻酔し、難波ほか (1973) に準じて相極電極を囲心腔壁に装着して呼吸室に入れ、15 時間以上経過したのち測定を行った (Fig. 1)。測定は正常状態の酸素飽和度 $99.4 \pm 1.7\%$ (溶存酸素量 6.40 ± 0.18 ml/l) で行ったのち、DO メーターを見ながら呼吸室への流入水に窒素ガスを曝気して、酸素飽和度を 1 時間毎に $78.1 \pm 2.6\%$ (5.02 ± 0.17 ml/l), $59.6 \pm 3.9\%$ (3.80 ± 0.25 ml/l), $42.6 \pm 3.1\%$ (2.71 ± 0.21 ml/l), $29.7 \pm 4.6\%$ (1.89 ± 0.29 ml/l), $12.4 \pm 1.2\%$ (0.78 ± 0.07 ml/l) あるいは $10.4 \pm 0.2\%$ (0.66 ± 0.01 ml/l) へと 5 段階に低下させ、それぞれについて行った。このうち、空気の曝気に切替えて、直ちに流入水の酸素飽和度を正常状態の値まで増加させ、低酸素からの回復期の 10 分および 60 分後についても測定した。

酸素消費量 (\dot{V}_{O_2} , ml/min \cdot kg) は、前もって設置した酸素びんを取換えて採水し、呼吸室への流入水 (C_{i,O_2} , ml/l) と流出水の溶存酸素量 (C_{e,O_2} , ml/l) をウィンクラー法で測定し、 $\dot{V}_{O_2} = (C_{i,O_2} - C_{e,O_2}) \cdot fr / BW$ [fr: 呼吸

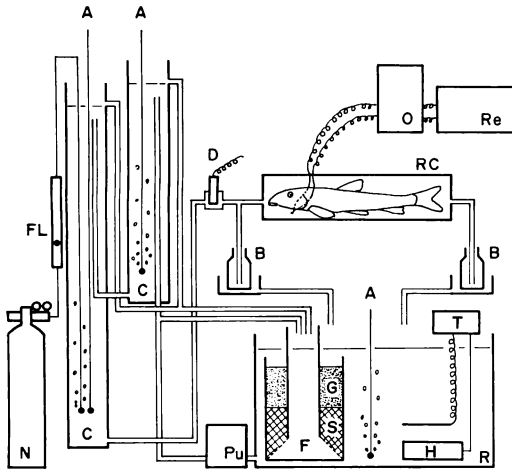


Fig. 1. Diagram of the experimental set-up for determining oxygen consumption and heart rate of *Pseudogobio esocinus*. A, aeration; C, equilibration column; D, DO electrode (used only during monitoring); RC, respiration chamber; O, oscilloscope; Re, recorder; B, Winkler bottle (for oxygen determination); FL, flow meter; N, N₂ bottle; Pu, lift pump; F, filter; G, gravel; S, shell; T, thermostat; H, heater; R, water reservoir.

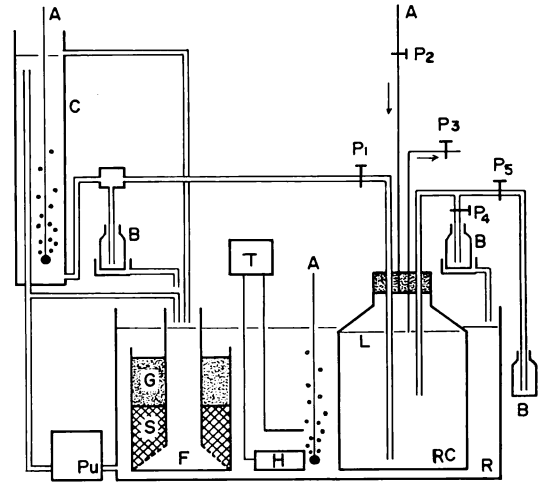


Fig. 2. Diagram of the experimental set-up used to determine surfacing and asphyxia of *Pseudogobio esocinus*. A, aeration; C, equilibration column; RC, respiration chamber; P, pinch-cock; B, Winkler bottle (for oxygen determination); Pu, lift pump; F, filter; G, gravel; S, shell; T, thermostat; H, heater; R, water reservoir; L, adjusted water levels for experiments of surfacing behavior.

室への流入量 (l/min), BW: 体重 (kg)] より計算した。酸素飽和度は酸素飽和量の表より求めた。心拍数は、前置増幅器 (日本光電製, AVB-8) で 15 Hz 以下, 0.03 KHz 以上の周波数のものを除去し, レクチャーダー (日本光電製, RJG-4002) で 5 分間心電図を記録して計数した。

低酸素状態で起る鼻上げおよび窒息死について, それらの限界酸素飽和度を調べるために, 全長 9.0 ± 0.6 cm, 体重 4.9 ± 1.2 g のもの 112 個体を用いて水温 $20.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ のもとの, それぞれ 7 例実験を行った。魚を呼吸室 (容量 6 l の細口ガラスビン, Fig. 2) へ 16 個体入れ, コック P₂, P₃, P₅ を閉めて P₁ と P₄ を開け, 流入水の酸素飽和度 $100.9 \pm 0.1\%$ (溶存酸素量 6.40 ± 0.05 ml/l) の水を呼吸室への流入量 242 ± 10 ml/l で貯水槽 (R) から呼吸室 (RC) へ循環させた状態で 15 時間以上経過したのち鼻上げの実験を行った。まず, P₁ と P₄ を閉めて P₂ と P₃ を開け, P₂ より空気を送り, P₃ より排水して呼吸室内の水位を所定の所 (L) まで下げたのち P₂ を閉め, 魚自体の酸素消費によって呼吸室の酸素量を減少させ, 1, 半数, 全個体と順次鼻上げた時に P₅ を開けて採水し, 酸素飽和度を調べた。こののち, P₂, P₃, P₅ を閉めて P₁ と P₄ を開け, 呼吸室の上

部のゴム栓より空気を抜き, 上述と同様の酸素飽和度および流入量で水を貯水槽 (R) から呼吸室 (RC) へ循環させた状態で 48 時間経過したのち窒息死の実験を行った。呼吸室に水を満した状態で P₁ と P₄ を開けて魚自体の酸素消費によって呼吸室の酸素量を減少させ, 1, 全個体と順次窒息死した時に P₁ と P₄ を開けて採水し, 酸素飽和度を調べた。酸素飽和度は上述の場合と同様に溶存酸素量を測定して求めた。

次に, 低酸素水域からの逃避について, その行動発現と酸素飽和度との関係を調べるために, 全長 7.4 ± 0.4 cm, 体重 2.3 ± 0.4 g のもの 40 個体を用いて, 水温 $21.7 \pm 1.6^\circ\text{C}$ のもとの実験を行った。実験は, 正常状態の酸素飽和度 $98.4 \pm 2.2\%$ (溶存酸素量 6.17 ± 0.20 ml/l) から上述の場合と同様に窒素ガスの曝気によって $50.3 \pm 2.6\%$ (3.16 ± 0.21 ml/l), $38.6 \pm 4.1\%$ (2.39 ± 0.21 ml/l), $24.9 \pm 3.8\%$ (1.53 ± 0.26 ml/l) のいずれかまで急激に低下させる方法でそれぞれ 14 例, 1 時間毎に 6 段階, つまり $73.6 \pm 4.2\%$ (4.63 ± 0.30 ml/l), $54.0 \pm 5.4\%$ (3.38 ± 0.30 ml/l), $40.3 \pm 3.9\%$ (2.48 ± 0.29 ml/l), $26.2 \pm 3.4\%$ (1.62 ± 0.16 ml/l), $17.5 \pm 2.3\%$ (1.10 ± 0.15 ml/l), $11.2 \pm 1.5\%$ (0.70 ± 0.09 ml/l) の

順に低下させる方法で 17 例行った。まず、魚 10 個体を実験水槽 (Fig. 3) に入れ、コイ用の配合飼料を毎日体重の約 0.5% 投与して 5 日間以上同水槽にならしたのち測定を開始し、各測定の終了後毎日同様に配合飼料を投与した。測定は、酸素飽和度の低下開始 30 分後より 2 分毎に 15 回実験水槽の仕切りより上に出た個体数を数え、低酸素水域から逃避した割合 (以下、逃避率と示す) を計算した。酸素飽和度は下記に示した実験水槽の 2 か所ずつの注水口および排水口から合計 4 本採水し、上述の場合と同様に溶存酸素量を測定して求めた。

実験水槽 (20×35×9 cm, 高さ) は魚がかろうじて定座可能な角度 (20度) に傾斜させて設置した。上部と下部の注水口からの流入量はそれぞれ 800 ml/min とし、上部からは酸素飽和度 $98.4 \pm 2.2\%$ の水を常時注入し、下部からは任意の酸素飽和度に調節した水を注入した。上部の排水口からの流出量は 1000 ml/min, 下部からは 600 ml/min とした。上部と下部の注水口からの注入水の実験水槽内の混合は、同水槽の底から 1.5 cm 上げて仕切り板を設けたことおよび上・下の排水口からの流出量を調節することによって、できるだけ防いだ。その結果、下部の注水口からの流入水の酸素飽和度を最も低下させた場合でも、下部の排水口からの流出水の酸素飽和

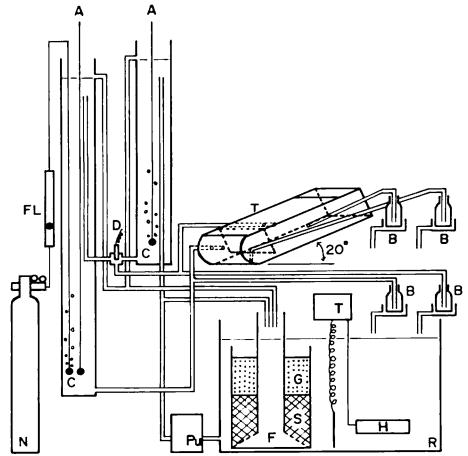


Fig. 3. Diagram of the experimental set-up used to determine avoidance reaction of *Pseudogobio esocinus*. A, aeration; C, equilibration column; D, DO electrode (used only during monitoring); T, test chamber; B, Winkler bottle (for oxygen determination); FL, flow meter; N, N₂ bottle; Pu, lift pump; F, filter; G, gravel; S, shell; T, thermostat; H, heater; R, water reservoir.

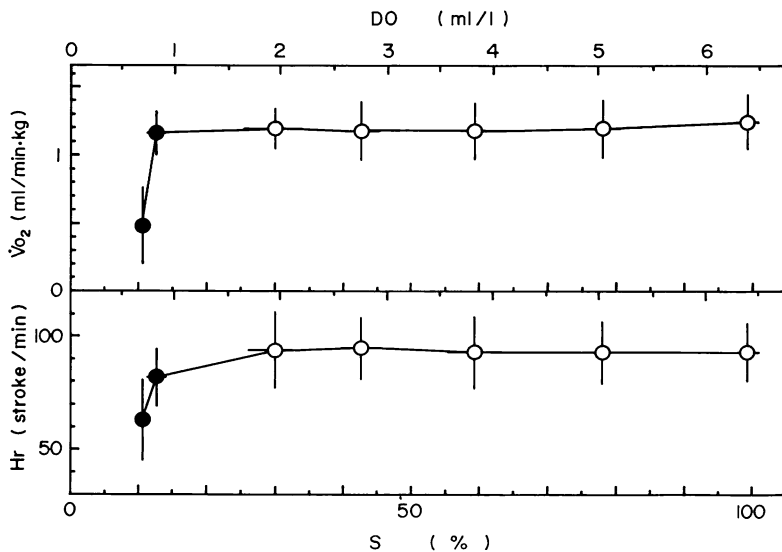


Fig. 4. Changes in oxygen consumption ($\dot{V}O_2$) and heart rate (Hr) during hypoxia experiment using sixteen fish at $19.9 \pm 0.7^\circ\text{C}$. Circles and vertical bars show means and standard deviations, respectively. Solid circles show oxygen consumption and heart rate during the fifth step at which the oxygen saturation was lowered gradually every 1-hr intervals. The lower abscissa shows oxygen saturation (S) and the upper abscissa oxygen concentration (DO) of inlet water to the respiration chamber.

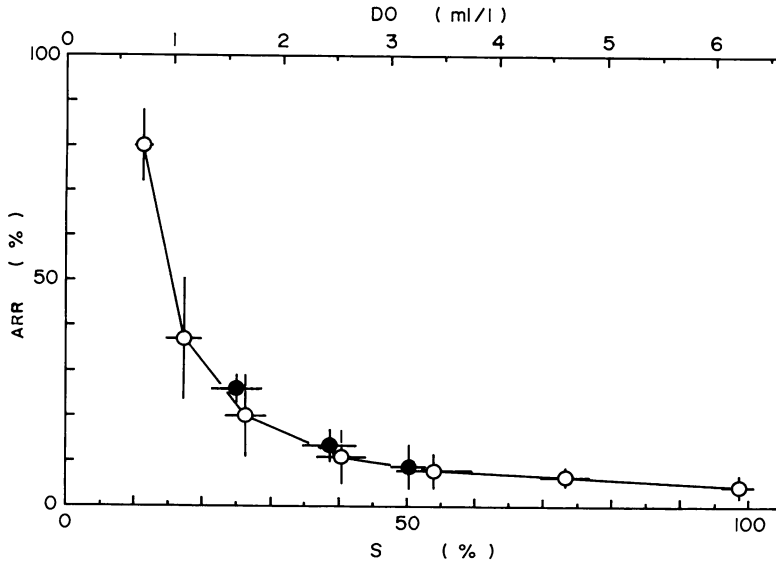


Fig. 5, Changes in avoidance reaction rate (ARR) during hypoxia experiment using fourteen fish at 21.7 ± 1.6°C. Circles and vertical bars show means and standard deviations, respectively. Open circles show means taken when oxygen saturation was lowered gradually at 1-hr intervals; solid circles represent means taken when oxygen saturation was lowered rapidly. The lower abscissa shows oxygen saturation (S) and the upper abscissa oxygen concentration (DO) of inlet water to the respiration chamber.

度は下部の注水口からの流入水のそれよりも $1.6 \pm 0.7\%$ (溶存酸素量 $0.10 \pm 0.04 \text{ ml/l}$) 大きいにとどまった。

結 果

酸素消費量は、正常状態 (酸素飽和度 $99.4 \pm 1.7\%$) では $1.25 \pm 0.21 \text{ ml/min} \cdot \text{kg}$ を示し、酸素飽和度が低下してもほぼ正常状態の値を維持したが、酸素飽和度 $12.4 \pm 1.2\%$ より低下すると著しく減少して酸素飽和度 $10.4 \pm 0.2\%$ で $0.49 \pm 0.29 \text{ ml/min} \cdot \text{kg}$ を示した (Fig. 4)。回復期には 10 分後に $2.08 \pm 0.63 \text{ ml/min} \cdot \text{kg}$ と正常状態の約 2 倍を示し、60 分後には減少して $1.32 \pm 0.50 \text{ ml/min} \cdot \text{kg}$ を示した。

心拍数は、正常状態 (酸素飽和度 $99.4 \pm 1.7\%$) では $92.9 \pm 13.6 \text{ stroke/min}$ を示し、酸素飽和度が低下しても酸素消費量と同様にほぼ正常状態の値を維持したが、酸素飽和度 $29.7 \pm 4.6\%$ より低下すると減少して酸素飽和度 $10.4 \pm 0.2\%$ で $62.8 \pm 17.8 \text{ stroke/min}$ を示した (Fig. 4)。回復期には 10 分後に $101.1 \pm 14.4 \text{ stroke/min}$ と正常状態よりわずかに増加し、60 分後もほぼこの値を示した。

1 個体が鼻上げを開始した時の酸素飽和度は $19.5 \pm 3.0\%$ (溶存酸素量 $1.25 \pm 0.19 \text{ ml/l}$)、半数個体が開始

した時は $17.6 \pm 3.1\%$ (溶存酸素量 $1.12 \pm 0.20 \text{ ml/l}$)、全個体が開始した時は $14.7 \pm 1.3\%$ (溶存酸素量 $0.94 \pm 0.09 \text{ ml/l}$) であった。鼻上げの動作はコイなどと異なり、水底より浮上して水面で口を数回閉じたのち静かに落下した。この動作を全個体が繰返すようになった時を全個体が鼻上げをしたとした。

1 個体が窒息死した時の酸素飽和度は $10.1 \pm 1.1\%$ (溶存酸素量 $0.64 \pm 0.07 \text{ ml/l}$) で、全個体が窒息死した時は $9.7 \pm 1.4\%$ (溶存酸素量 $0.62 \pm 0.09 \text{ ml/l}$) であった。半数が窒息死した時の酸素飽和度は、数個体が窒息死したのちごく短時間の内に全個体が窒息死したことから、測定できなかった。

逃避率は、酸素飽和度を急激に低下させた場合と 1 時間毎に 6 段階低下させた場合のいずれも同様な変化を示した (Fig. 5)。逃避率は、正常状態 (酸素飽和度 $98.4 \pm 2.2\%$) では $4.3 \pm 2.4\%$ であったが、酸素飽和度が低下すると増加して酸素飽和度 $54.0 \pm 5.4\%$ で $8.1 \pm 4.0\%$ 、酸素飽和度 $26.2 \pm 3.4\%$ で $20.1 \pm 9.2\%$ 、酸素飽和度 $11.2 \pm 1.5\%$ で $80.2 \pm 7.9\%$ を示した。このように逃避率は酸素飽和度の低下に伴って増加したが、実験水槽内の仕切りを境にして往復する個体も増加した。

考 察

低酸素下におけるカマツカの酸素消費量は、全個体が鼻上げを開始する酸素飽和度 ($14.7 \pm 1.3\%$) よりもわずかに低い $12.4 \pm 1.2\%$ まではほぼ正常状態の値を維持したが、更に低下すると著しく減少し (Fig. 4), $9.7 \pm 1.4\%$ で全個体が窒息死した。このことからカマツカは、ニジマス、ブルーギル、catfish (Marvin and Heath, 1968), tench (Eddy, 1974), コイ (Hughes *et al.*, 1983), ウナギ, ティラピア (山元・高殿, 1985) などと異なり、酸素飽和度が低下して正常状態での代謝量に相当する酸素量を摂取できなくなれば直ちに窒息死し、低酸素下における酸素消費量の漸減する過程が認められないアユ (山元・高殿, 1985) と同様な変化を示すものと考えられる。

板沢 (1960) はウナギでは鼻上げが 10-20% の酸素飽和度で始まり、10% 以下で全個体が行うことを、白旗 (1963) はウグイでは 1.4 ml/l 以下の溶存酸素量で始まり、 0.9 ml/l 以下で全個体が行うことを報告している。ウグイの場合 (水温 26°C) の酸素飽和度はそれぞれ 24.3%, 15.7% である。カマツカは、 $19.5 \pm 3.0\%$ より始まり、 $14.7 \pm 1.3\%$ で全個体が行うことから、ウナギよりも高く、ウグイとはほぼ同じ酸素飽和度で鼻上げが起ると考えられる。

窒息症状を起す溶存酸素量は、Shepard (1955) は *Salvelinus fontinalis* では水温 $9-10^\circ\text{C}$ で 1.85 ml/l であることを、倉茂・松本 (1957) はコイでは水温 12°C で 0.2 ml/l , アナゴでは水温 12°C で 0.4 ml/l であることを報告している。酸素飽和度を求めると *S. fontinalis* では 16.0-16.3%, コイでは 2.6%, アナゴでは 5.3% となる。カマツカは、 $10.1 \pm 1.1\%$ より始まり、 $9.7 \pm 1.4\%$ で全個体が窒息死したことから、*S. fontinalis* よりも低く、コイやアナゴよりも高い酸素飽和度で窒息死すると考えられる。

カマツカの心拍数は、tench (Randall and Shelton, 1963), ニジマス (Randall and Smith, 1967; Holeton and Randall, 1967a, b; Marvin and Heath, 1968) と同様に、酸素飽和度が低下するとあるところまでは正常状態の値を維持するが、更に低下すると著しい減少を示した (Fig. 4)。すなわち、酸素飽和度が $29.7 \pm 4.6\%$ より低下すると心拍数が減少し、次いで鼻上げを行うようになるが、このような極度の呼吸困難に陥っても $12.4 \pm 1.2\%$ まではほぼ正常状態の酸素消費量を維持した。このことから $12.4 \pm 1.2\%$ までは正常状態での代謝量に相当する酸素量を水中より摂取し、循環血液によって

組織へ送っていることが明らかである。しかし、酸素飽和度が $29.7 \pm 4.6\%$ から $12.4 \pm 1.2\%$ の間における酸素消費量を維持するためには、心拍数が減少していることから、ニジマスで認められているように心臓の1回の拍出量を増加させる (Holeton and Randall, 1967b) と同時に単位血液量の酸素輸送量を増加させること、あるいはそれらのいずれかによって酸素を組織へ供給しているものと考えられる。

行動の実験より、溶存酸素量が低下すると Deubler and Posner (1963) はヒラメの後期仔魚では水温に関係なく 3.7 ml/l より、Hill (1968) は spring cavefish では約 4.2 ml/l よりそれらの低酸素水域から逃げ始めることを、Whitmore *et al.* (1960) はマスノスケやギンマスでは 3.2 ml/l , ブルーギルやブラックバスでは 1.1 ml/l の低酸素水域から逃避したことを、Jones (1952) はイトヨ, minnow やブラウントラウトの稚魚では 2.1 ml/l でその低酸素水域からの顕著な逃避が認められたことを報告している。これらの魚種と同様に、カマツカでもかなり高い溶存酸素量 (3.38 ml/l) より逃げ始め、著しい低酸素 (1.62 ml/l 以下) では顕著な逃避が認められた (Fig. 5)。Deubler and Posner (1963) はヒラメの後期仔魚では著しい低酸素 (1.09 ml/l) において全個体が逃避したことを報告している。しかし、Jones (1952) はイトヨ, minnow やブラウントラウトでは著しい低酸素下においても、時おり酸素飽和した水域より低酸素の水域へ入ることを報告している。カマツカはヒラメと同様な底生魚であるが、全個体が窒息死する低酸素 (0.62 ml/l) まで低下しても、イトヨ, minnow やブラウントラウトなどの中層を遊泳している魚種と同様に酸素飽和した水域と低酸素の水域との間を時おり往復し、したがって 100% の逃避率を示さなかった。

カマツカでは環境水がしだいに低酸素になると心拍数が減少し、鼻上げを行うようになる。そして、正常状態での代謝量に相当する酸素量の摂取ができなくなれば著しく酸素消費量が減少し、直ちに窒息死する。しかし、カマツカはそのような著しい低酸素になる前にその水域より逃避することが明らかである。

謝 辞

実験魚の採集に協力していただいた水産大学校小野臨湖実験実習場の酒井治己ならびに志賀通之の両氏に謝意を表します。

引用文献

Deubler, E. E. and G. S. Posner. 1963. Response of

- postlarval flounders, *Paralichthys lethostigma*, to water of low oxygen concentrations. *Copeia*, 1963(2): 312-317.
- Eddy, F. B. 1974. Blood gases of the tench (*Tinca tinca*) in well aerated and oxygen-deficient waters. *J. Exp. Biol.*, 60: 71-83.
- Hill, L. G. 1968. Oxygen preference in the spring cavefish, *Chologaster agassizi*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 97: 448-454.
- Holeton, G. F. and D. J. Randall. 1967a. Changes in blood pressure in the rainbow trout during hypoxia. *J. Exp. Biol.*, 46: 297-305.
- Holeton, G. F. and D. J. Randall. 1967b. The effect of hypoxia upon the partial pressure of gases in the blood and water afferent and efferent to the gills of rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 46: 317-327.
- Hughes, G. M., C. Albers and K. H. Götz. 1983. Respiration of the carp, *Cyprinus carpio* L., at 10 and 20°C and the effects of hypoxia. *J. Fish. Biol.*, 22: 613-628.
- 板沢靖男. 1960. ウナギの鼻上げ時の水中酸素量. 日本水産学会誌, 26(10): 960-965.
- Jones, J. R. E. 1952. The reactions of fish to water of low oxygen concentration. *J. Exp. Biol.*, 29(3): 403-415.
- 倉茂英次郎・松本文夫. 1957. 海産魚の呼吸作用と低水温との関係 (活輸送を目的とする海水魚の休眠に関する研究 第一報). 水産学集成 (末広恭雄・大島泰雄・檜山義夫編), 東京大学出版会, 東京, pp. 675-700.
- Marvin, D. E. and A. G. Heath. 1968. Cardiac and respiratory responses to gradual hypoxia in three ecologically distinct species of freshwater fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 27: 349-355.
- Marvin, D. E. and D. T. Burton. 1973. Cardiac and respiratory responses of rainbow trout, bluegills and brown bullhead catfish during hypoxia and recovery under normoxic conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, 46A: 755-765.
- 難波憲二・村地四郎・河本真二・中野義久. 1973. 魚類の心電図に関する研究—I 心電図導出方法の検討. 広島大学水産学部紀要, 12: 147-154.
- Randall, D. J. and G. Shelton. 1963. The effects of changes in environmental gas concentrations on the breathing and heart rate of a teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 9: 229-239.
- Randall, D. J. and J. C. Smith. 1967. The regulation of cardiac activity in fish in a hypoxia environment. *Physiol. Zool.*, 40: 104-113.
- Shepard, M. P. 1955. Resistance and tolerance of young speckled trout (*Salvelinus fontinalis*) to oxygen lack, with special reference to low oxygen acclimation. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 12(3): 387-446.
- 白旗総一郎. 1963. ウグイの鼻上げと代謝活動. 長崎大学水産研究所報告, 14(5): 53-67.
- Whitmore, C. M., C. E. Warren and P. Doudoroff. 1960. Avoidance reactions of salmonid and centrarchid fishes to low oxygen concentrations. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 89: 17-26.
- 山元憲一・高殿俊行. 1985. 低酸素下におけるウナギ, ドジョウ, ティラピア, アユの酸素消費量の変化. 水産増殖, 33(2): 103-107.
- (759-65 下関市吉見永田本町 1944 水産大学校増殖学科; 現住所, 原: 850 長崎市江戸町 2-13 長崎県水産課; 吉川: 812 福岡市博多区博多駅前 3-5-7 日本農産工業株式会社九州支店)