

マダコ *Octopus vulgaris* を鎮静化する最適マグネシウム (Mg^{2+}) 濃度の検討

安楽和彦,^{1*} 合林宏務,¹ 中村 翔,¹ ハロルド M. モンテクラロ,¹ 加世堂照男,² 尾上敏幸²

Optimum Concentration of Magnesium (Mg^{2+}) to Anesthetize Octopus *Octopus vulgaris*

Kazuhiko Anraku,^{1*} Hiromu Goubayashi,¹ Shou Nakamura,¹ Harold M. Monteclaro,¹ Teruo Kasedou,² Toshiyuki Onoue²

Keywords: octopus, magnesium (Mg^{2+}), anesthesia

Abstract

Optimum magnesium (Mg^{2+}) concentration to anesthetize octopus *Octopus vulgaris* was determined behaviorally. In acute exposure experiments, eight octopuses were individually exposed to Mg^{2+} at a series of concentration that ranged from 20 to 100 mM. Exposure to Mg^{2+} suppressed octopus motions. At 40 mM, arm muscles relaxed in all tested individuals (8/8) and body color faded in 5/8 individuals. Respiration activities were reduced following the increase in Mg^{2+} concentration and were stopped at 80 mM in 2/8 and at 100 mM in 4/8 individuals. In chronic exposure experiments, respiration rate and survival rate of five octopuses were studied during and after exposed to 30 mM Mg^{2+} for 24 h. Respiration activity was reduced after 2 h exposure while muscle motions remained constant throughout the 24 h. All tested individuals survived magnesium exposure and recovered from anesthesia after they were returned in fresh seawater. We conclude that the optimum magnesium concentration to anesthetize *O. vulgaris* while keeping constant its respiration activity is 30 mM.

マグネシウムイオン (Mg^{2+}) は頭足類等の軟体動物を用いる生理学実験において一般的な麻酔法として利用されている。近年、この鎮静作用を頭足類を活魚出荷するための輸送技術として利用する方法が提案されている。船津等¹⁾ および船津等²⁾ は 20 mM 硫酸マグネシウムにより鎮静化したヤリイカ *Loligo bleekeri*, スルメイカ *Todarodes pacificus*, ホタルイカ *Watasenia scintillans* の輸送や品質維持について検討し、鎮静化によって輸送量を増加させることができ、食品としての品質維持にも効果が得られたことを報告している。 Mg^{2+} の利用は従来の氷温麻酔等に変わる簡易且つ安価な麻酔法として期待される。同様の麻酔法はマガキ *Crassostrea gigas* やツキヒ

ガイ *Amusium japonicum* の開殻方法としても利用できることが示され、マガキでは 37 mM の塩化マグネシウムへの曝露、ツキヒガイでは 0.4 M 塩化マグネシウムの閉殻筋への注射により閉殻筋が弛緩されることが報告されている。^{3,4)} また近年の研究では、棘皮動物であるヨーロッパムラサキウニ *Paracentrotus lividus* を輸送する際に 5 mM の塩化マグネシウムに曝露することで、斃死の低減や、輸送時のストレス反応として生じる産卵を抑制することが報告されている。⁵⁾

上述のように Mg^{2+} による麻酔作用の誘導は生物種によってことなることが推測され、目的とする他水産生物においても Mg^{2+} 濃度と麻酔作用に関する知見を集積し、

¹ 鹿児島大学水産学部漁業工学分野 (Fisheries Engineering, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima 890-0056, Japan)

² 鹿児島大学水産学部附属海洋資源環境教育研究センター (The Education and Research Center for marine Resources and Environment, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 1620-3 Shoura, Nagashima, Izumi, Kagoshima 899-1403, Japan)
Corresponding author, E-mail: anraku@fish.kagoshima-u.ac.jp

輸送に適した鎮静状態を維持する最適な Mg^{2+} 濃度を知る必要がある。そこで本研究では、我が国の沿岸漁業においても重要な生物であるマダコ *Octopus vulgaris* を供試生物とし、行動学的に Mg^{2+} 濃度の変化に対する反応を明らかにし、且つ行動変化や呼吸活動変化を指標として、自発的呼吸を維持しつつ長時間生存可能な Mg^{2+} 濃度の決定を試みた。なお、本実験では硫酸マグネシウムを使用した。同試薬は昭和32年に食品衛生法において食品添加物として指定されている。

材料及び方法

供試個体

実験は鹿児島大学水産学部附属海洋資源環境教育研究センター東町ステーションで行った。供試生物には、東町漁業協同組合で購入したマダコ13個体(湿重量473~1428g)を用いた。マダコは玉葱袋の中に入れて状態で飼育水槽(127×160×170cm)の表層に浮かべ、実験までの7日間以上飼育した。餌には冷凍のマアジ(*Trachurus japonicus*)を適宜与えた。全飼育個体が飼育期間中に摂餌を示し生残したことより、健全個体と見なし実験に供した。

実験水槽

実験水槽にはアクリル製水槽(25×30×25cm)3台を使用した。水槽内のマダコの撮影を鮮明に行うため、撮影面以外を暗幕で覆った。水槽には濾過海水9lを入れ常時エアレーションを行った。実験水槽内の水温、塩分濃度は実験ごとに計測した。実験時の水温は26.5~28.0℃、塩分濃度は30~33%であった。マダコは湿重量をデジタル秤で計測した後に実験水槽に1個体ずつ収容し20分以上放置し、水槽に馴致させた後に実験を開始した。

短期曝露実験

8個体のマダコを供した。硫酸マグネシウム(ナカライテスク)を用い、水槽内の Mg^{2+} 濃度を段階的に20~100mMに上昇させ、各試験濃度でのマダコの行動を目視とビデオカメラにより観察・記録した。まず、コントロールとして Mg^{2+} 投与前の状態を10分間記録し、その後、水槽の海水量に対して20mMとなる Mg^{2+} を添加し20分間の目視観察を行い、その後の10分間はビデオカメラによる撮影を行った。同様の手順により、 Mg^{2+} 濃度を40mM、60mM、80mM、100mMに段階的に増加

させ、行動の観察と記録を行った。観察は、①水槽内での移動および腕部動作の有無、②各濃度 Mg^{2+} への曝露中における体色の減色(白色に変色)の有無、③各濃度 Mg^{2+} への曝露中に棒で吸盤に接触した際の吸盤の付着の有無、④各濃度 Mg^{2+} への曝露中における瞳孔の開孔状態、⑤各実験条件下での呼吸活動数の5項目に着目した。呼吸活動数は10分間のビデオ記録を元に計測し、呼吸活動にともなう外套膜の膨張・収縮の回数或いは、漏斗から海水が排出される回数を計数し、1分間当たりの呼吸数を求めた。

長期曝露実験

5個体のマダコを供した。短期曝露実験において最適と判断したマグネシウム濃度(30mM)にマダコを24時間曝露し、呼吸活動数の変化と生残について調べた。呼吸活動の計測は短期曝露実験と同様にビデオカメラによる記録にもとづいて行う事とし、曝露前のコントロー

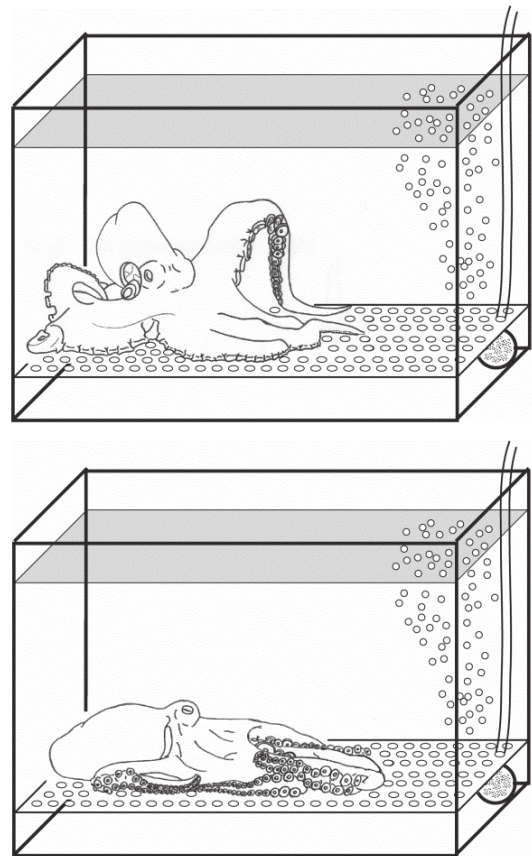


Fig. 1 Behavior of octopus *Octopus vulgaris* when placed in control seawater (top) and test seawater with magnesium sulfate (bottom). Behavioral response to magnesium exposure included relaxation of the muscles, fading of body color, loss of sucker function, and opening of iris.

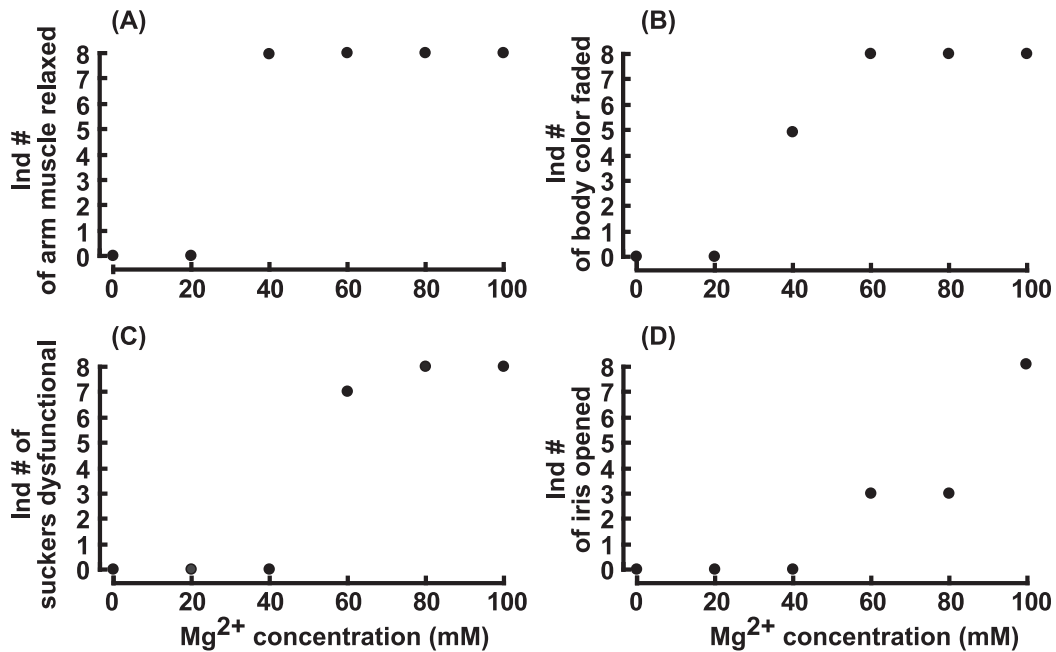


Fig. 2 Number of tested octopuses that exhibited a particular behavior when exposed to varying concentrations of magnesium. (A) arm muscle relaxed, (B) body color faded, (C) suckers dysfunctional, and (D) iris opened.

ル時から曝露後6時間経過時までは1時間ごとに10分間の記録を行い、その後は24時間経過時に10分間の記録を行った。また、24時間経過後には実験個体を飼育水槽（通常の海水）に戻し、実験を行う以前の状態に回復可能かを目視により確認した。

結果および考察

短期曝露実験

Mg^{2+} 曝露前と曝露後のマダコの状態を模式的に Fig. 1 に示した。曝露前個体の体色は赤みを帯び、実験水槽の側面や底面に吸盤を張り付け、腕部を頻りに動かす動作が観察された。一方、 Mg^{2+} 曝露個体では筋肉が弛緩され、漏斗や腕部の動きが緩慢になり、呼吸活動も低下することが明らかであった。

各観察項目別に各曝露濃度での観察頻度を Fig. 2 に示した。曝露濃度 20 mM では行動に変化は見られず、水槽内を動き回る個体も観察された。曝露濃度 40 mM では全ての個体 ($n=8$) で腕部筋肉が弛緩し、5/8 個体で体色に減色が見られた。体色の減色は 60 mM 以上の曝露濃度では全ての個体で観察された。60 mM では吸盤の吸着力もほぼ全ての個体で消失した。60–80 mM への曝露により、十分な照度下において通常閉じた状態を示す虹彩は 3/8 個体で開き、100 mM では全個体で瞳孔が

開いた。瞳孔が開孔した個体は次に呼吸活動を停止する場合が多かった。呼吸停止は 80 mM で初めて 2 個体で観察され、100 mM では更に 2 個体の呼吸が目視で確認不可能となった。80 mM 以上のマグネシウム濃度は短時間の曝露においても致死に至ると判断した。

実験に使用した 8 個体の Mg^{2+} 曝露前の 1 分間当たりの平均呼吸活動数は 33.9 ± 2.1 回/分（平均 \pm 標準誤差）であったが、個体別に見ると呼吸活動数は 28.1 ~ 43.3 回/分でことなり、有意な差が検出された ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis 検定)。個体別に Mg^{2+} 濃度と呼吸数の関係を最小二乗法により直線近似した結果を Table 1 に示した。100 mM の曝露濃度では計 4 個体の呼吸停止が見られたために、回帰分析には 0 ~ 80 mM の曝露濃度での計測結果を使用した。8 個体中の 5 個体で有意な相関が見られ、 Mg^{2+} 濃度に反比例して呼吸数が低下することが示された。有意な相関が得られた個体の回帰係数は 0.12 ~ 0.29 であった。

個体毎の呼吸活動数の絶対値には差が認められたため、各個体での呼吸数を Mg^{2+} 曝露前の呼吸数を 1 とする相対値（呼吸率）として表わし、全個体の平均を求め Fig. 3 に示した。80 mM および 100 mM での呼吸停止個体の記録は分析から除外した。呼吸率は濃度 80 mM までは Mg^{2+} 濃度の増加に対して直線的に減少したが、100 mM では急激に低下することが示された。 Mg^{2+} 曝露前・後の呼吸率を比較すると、60 mM 以上の濃度で曝

Table 1. Regression analysis of the relation between Mg^{2+} concentration and respiration rate in each tested individuals. Regression lines were calculated based on the results from 0~80 mM Mg^{2+} concentrations.

Ind #	Mg^{2+} concentration - respiration rate relations		
	Regression coefficient	Correlation coefficient	p (t-test)
1	-0.29	-0.998	$p < 0.01$ **
2	-0.14	-0.924	$p < 0.05$ *
3	-0.06	-0.760	$p > 0.1$
4	-0.12	-0.972	$p < 0.01$ **
5	-0.11	-0.866	$p > 0.05$
6	-0.18	-0.955	$p < 0.01$ **
7	-0.29	-0.993	$p < 0.01$ **
8	-0.02	-0.460	$p > 0.4$

* and ** indicate the significant level at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

露前に比べて呼吸数が有意に低下することが示された ($p < 0.05$, Scheffe 法による多重比較)。

本研究によりマダコの行動に及ぼす Mg^{2+} の濃度毎の作用が明らかとなった。マダコは Mg^{2+} が低濃度から高濃度に変化するにしたがって、まず腕部等の筋肉の弛緩を生じ、次に体色を減色させ、さらに吸盤の吸着力を消失させた。また、さらに濃度が高まると光彩を開き、さらには呼吸活動の停止に至った。これらの行動的变化は濃度 20 mM 以下ではいずれも観察されず、同濃度では麻酔作用は誘導されなかったと考えられた。一方、濃度 80 mM 以上では光彩の弛緩や呼吸停止が短時間の内に生じ、この濃度は過剰麻酔となることが明らかであった。過去の研究では、ホタルイカ、ヤリイカ、スルメイカの鎮静に本研究と同じ硫酸マグネシウムが濃度 20 mM で使用されている。¹²⁾ したがって、マダコはイカ類と比較して若干高濃度の Mg^{2+} により麻酔作用が誘導されることが示唆された。Messenger *et al.*⁶⁾ は Mg^{2+} が頭足類の中枢神経系に対して抑制的に作用することを述べている。生物を作動させる神経伝達において重要な役割を果たす神経シナプスの Ca チャンネル上において、 Ca^{2+} と競合する Mg^{2+} 濃度を高めると細胞内への Ca^{2+} の流入が阻害され神経伝達が停止する。種で麻酔作用を誘導する濃度がことなるのは、種によって Mg^{2+} 濃度に対する神経系の反応がことなるためであろうと推測する。

本実験に使用したマダコの湿重量の最大と最小の差は 955 g あったが、 Mg^{2+} による麻酔作用に個体サイズの影響は見られなかった。イカ類の中で小型なホタルイカとそれより大型なヤリイカ、スルメイカの鎮静に同じ濃度の Mg^{2+} が用いられていることから、体サイズの影響は少ないものと推測される。

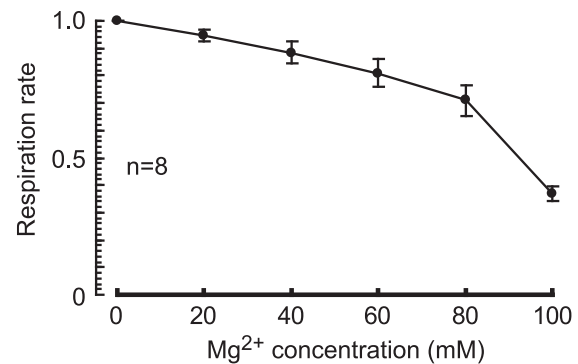


Fig. 3 Rate of respiration in octopus (n=8) when exposed to increasing concentration of magnesium. Respiration rate is expressed as relative value to that of control. Bars indicate standard errors.

長期曝露実験

短期曝露実験により、マダコは Mg^{2+} 濃度が低い場合 (20 mM 以下) には水槽内で活発な動きを示し、一方 Mg^{2+} 濃度が高い場合 (80 mM 以上) には呼吸活動の停止が生じた。本実験では、マダコの自発呼吸を維持しつつ、且つ行動を抑制可能なマグネシウム濃度は 20 ~ 40 mM と判断し、30 mM を 24 時間曝露試験濃度とした。

試験個体の全てが 24 時間後も生存し、呼吸活動も目視で確認可能であった。曝露開始後 1 時間目までは腕部に動きが見られたが、2 時間経過時には筋肉は弛緩し動きは抑制された。Fig. 4 に Mg^{2+} 曝露開始後経過時間と呼吸率との関係を示した。呼吸率の低下は曝露開始後 2 時間経過時までで顕著であり、曝露前の呼吸数に対して $85.0 \pm 3.2\%$ に有意に低下した ($p < 0.01$, Scheffe 法による多重比較)。その後の維持率は緩やかに低下したものの、24 時間経過時にも曝露前の $77.1 \pm 2.1\%$ を維持していた。実験終了後に飼育水槽に戻した個体は全て通常の状態に回復し、摂餌行動も観察された。

マダコは冒頭で述べたイカ類と同様に Mg^{2+} によって麻酔され、通常の海水に戻すことで麻酔からの回復も可能であった。長期曝露実験で 30 mM の Mg^{2+} に曝露した個体の呼吸数は概ね 20% 低下し、呼吸の大きさも曝露前と比較して明白に小さくなり、酸素消費量も低下するものと推測された。マダコにおいても Mg^{2+} による麻酔は輸送量を増加させる手段として利用できると考えられた。

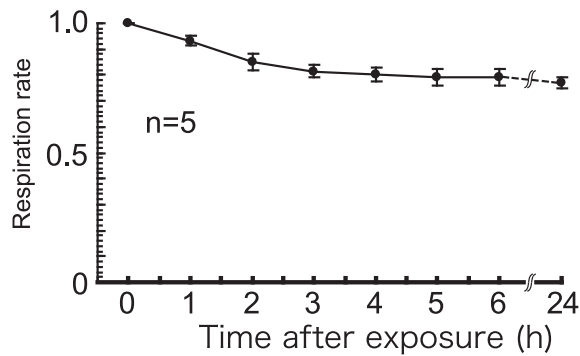


Fig. 4 Respiration rate in octopus (n=8) measured at different intervals during exposure to 30 mM Mg^{2+} . Respiration rate is expressed as relative value to that of control. Bars indicate standard errors.

文献

- 1) 船津保浩, 川崎賢一, 阿部宏喜, 白井一茂, 仲手川恒 (2005). マグネシウムイオンの鎮静作用を利用した新しい活輸送技術の提案 - ホタルイカの活輸送技術の改良. *New Food Industry*, **47** : 1-8.
- 2) 船津 保浩, 川崎 賢一, 白井 一茂, 仲手川 恒, 清水 俊治, 阿部 宏喜 (2007). マグネシウムイオンの鎮静作用を利用したヤリイカとスルメイカの活輸送, とくに輸送後の冷凍および冷蔵試料との品質の比較. *日水誌*, **73** : 69-77.
- 3) Namba, K., M. Kobayashi, S. Aida, K. Uematsu, Y. Kondo, and Y. Miyata (1995). Persistent relaxation of the adductor muscle of oyster *Crassostrea gigas* induced by magnesium ion. *Fish. Sci.*, **61**: 241-244.
- 4) 上水樽豊己, 安樂和彦 (1991). ツキヒガイ開殻筋への塩化マグネシウム注射による開殻. *日水誌*, **65** : 856-859.
- 5) Arafa S., S. Sadok, and A. El Abed (2007), Assessment of magnesium chloride as an anaesthetic for adult sea urchins (*Paracentrotus lividus*): incidence on mortality and spawning. *Aquaculture Res.*, **38** : 1673-1678.
- 6) Messenger J.B., M. Nixon, KP. Ryan (1985). Magnesium chloride as an anesthetic for cephalopods. *Comp. Biochem. Physiol.*, **82**: 203-205.

