

## 間欠流水式酸素消費測定装置のシオミズ ツボワムシへの適用について

山崎 繁久\*・平田 八郎\*

### Test on the Use of Electrode Respirometer for the Rotifer : *Brachionus plicatilis*

Shigehisa YAMASAKI\* and Hachiro HIRATA\*

#### Abstract

As a justification for the use of a electrode respirometer as reported in this memoir in 1982, measured DO values were compared with those obtained by Winkler methods. The optimum experimental rotifer density in the respiration chamber, was also tried to be determined.

For the comparison of DO values, the water of several DO levels was supplied to the respiration chamber. As soon as DO values were recorded through the DO meter at three different shaking speed, 10, 20, and 30 rpm, DO content of the water was determined by Winkler method. These measurements were conducted at a constant temperature of 20°C.

Strong positive relationship was observed between DO values measured by DO meter and Winkler method at each shaking speed. The regression coefficients were stable at each shaking speed without regard to salinity of water sample, i. e.  $1.03 \pm 0.02$  at 10 rpm,  $1.06 \pm 0.02$  at 20 rpm, and  $1.08 \pm 0.02$  at 30 rpm.

In the rotifer density test, oxygen consumption rates of rotifers measured at densities from 2 to 487 ind·ml<sup>-1</sup>, were compared after recalculation to oxygen consumption by unit weight. Rotifers were cultured continuously at about 20 ind·ml<sup>-1</sup> and 20 °C, fed on concentrated marine *Chlorella saccharophila*, maintaining the density within a range from  $1.5 \times 10^6$  to  $6 \times 10^6$  cells·ml<sup>-1</sup>. Rotifers for the measurements were collected at the food density of  $2 \times 10^6$  to  $3 \times 10^6$  cells·ml<sup>-1</sup>.

Averages and standard deviations of oxygen consumption rates by unit weight in the rotifer density range of 2 to 4, and 10 to 487 ind·ml<sup>-1</sup> were  $7.53 \pm 2.53$  and  $8.92 \pm 0.68 \times 10^{-6}$  ml·dry-μg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>, respectively. While, those of 2 to 18, and 25 to 487 ind·ml<sup>-1</sup> were  $7.90 \pm 2.13$  and  $9.04 \pm 0.54 \times 10^{-6}$  ml·dry-μg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>, respectively. Coefficients of variance were estimated at 0.34 and 0.08 in former, 0.27 and 0.06 in the latter.

先報 (YAMASAKI and HIRATA, 1982) では、DO メータを用いた間欠流水式酸素消費測定装置の、動物プランクトンや魚卵等の酸素消費測定に対する一般的な有用性について述べた。今回は本装置のシオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*) への適用を目的として、呼吸室における溶在酸素量の DO メータによる記録値と Winkler 法による測定値の関係を

\* 鹿児島大学水産学部増殖生理学講座 (Laboratory of Fish Cultivation Physiology, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Kagoshima, 890 Japan)

再検討するとともに、呼吸室におけるワムシの適正収容密度についても検討をおこなったのでその結果を報告する。

### 実験材料および方法

#### DO メータによる記録値と Winkler 法による測定値の検討

本試験はワムシを用いず、5～7段階の溶在酸素量の試水を用いておこなった。各試水は20℃とした煮沸水と通気水とを混合して調製し、同温度の恒温槽内に設置した測定装置の呼吸室に収容した。呼吸室の試水は、10, 20, および30 rpmの振蕩速度下で各2分間の溶在酸素量の記録をおこなった後、直ちに酸素びんに採取してWinkler法による測定をおこなった。なお、DOメータの更正は、air calibration法(YSI, 1982)でおこなった。また試水は、塩分濃度20‰の海水と淡水の2種類を用いた。

#### ワムシの適正収容密度の検討

供試用ワムシは、20℃の恒温槽中で密度を20 ind・ $\text{m}\ell^{-1}$ に調整しながら継続飼育した。これらのワムシは、餌密度が $2 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$  cells・ $\text{m}\ell^{-1}$ の時点で測定に供し、呼吸室における収容密度は2～487 ind・ $\text{m}\ell^{-1}$ とした。なお餌料は20‰の塩分濃度海水で培養した海産クロレラ(*Chlorella saccharophila*)を遠心分離によって濃縮し、飼育中の密度が $1.5 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$  cells・ $\text{m}\ell^{-1}$ の範囲の密度を維持するよう朝夕2回与えた。また、酸素消費量測定と同時にワムシの重量の測定もおこない、単位体重当りの酸素消費量を算定した。

### 結果および考察

#### DO メータによる記録値と Winkler 法による測定値の検討

記録値とWinkler法による測定値はFig.1に示すごとく、各振蕩速度毎にいずれも強い正の相関関係にあることがわかった。そこで、両者間の回帰係数を求めたところ、試水の塩分濃度の相違にかかわらずほぼ一定の値をとり、10 rpmで $1.03 \pm 0.02$ , 20 rpmで $1.06 \pm 0.02$ , および30 rpmで $1.08 \pm 0.02$ を示した(Table 1)。従って、本装置の呼吸室内における溶在酸素の変化量は、一定振蕩速度を保持し、さらにそれぞれの振蕩速度に応じた係数を用いて補正を施すことによって正確に求めることができる。

DOメータを用いた酸素消費量測定において、試水中の正確な溶在酸素量を得るために細いノズルやスターラーを利用して電極面における水の交換率を高める等、種々の工夫もされている(KANWISHER, 1959; STAUB, 1961)。それに対して、本装置のように溶在酸素の変化量を測定する方法では、試水中の溶在酸素量の絶対値を高精度で記録する必要はないと考えられる。しかし、その場合、測定値における器差をなくすために同一電極を使用することが望ましい(門脇・他, 1980)。

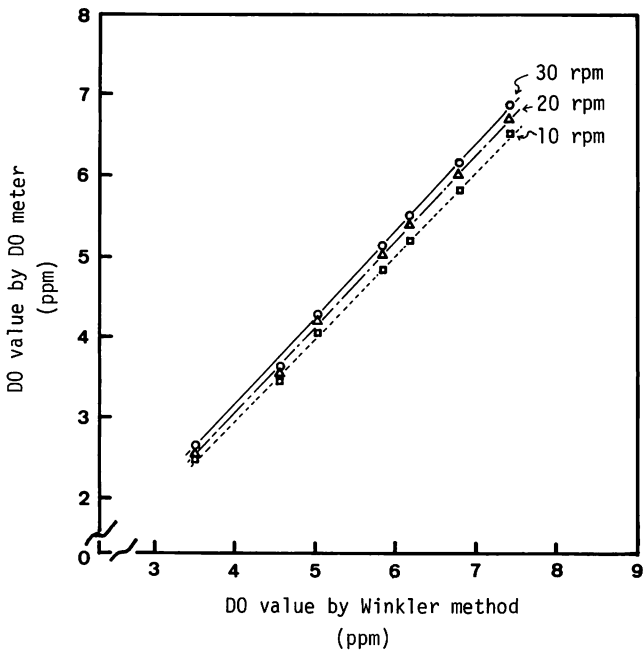


Fig. 1. Relationship between DO value measured by Winkler method and by DO meter at different shaking speed.

Table 1. Regression equations between DO values measured by Winkler method (x) and DO meter (y) at different shaking speed.

Salinity of testing water	Trial	10rpm	20rpm	30rpm
0 %	I	$y = 1.02x - 1.26$	$y = 1.06x - 1.34$	$y = 1.07x - 1.33$
	II	$y = 1.06x - 1.47$	$y = 1.09x - 1.30$	$y = 1.12x - 1.58$
	III	$y = 1.03x - 1.40$	$y = 1.06x - 1.41$	$y = 1.08x - 1.46$
20 %	I	$y = 1.03x - 1.40$	$y = 1.06x - 1.17$	$y = 1.08x - 1.21$
	II	$y = 1.02x - 1.17$	$y = 1.05x - 1.18$	$y = 1.07x - 1.19$
	III	$y = 1.01x - 1.29$	$y = 1.03x - 1.28$	$y = 1.04x - 1.25$
Average (SD)		1.03 (0.02)	1.06 (0.02)	1.08 (0.02)

Table 2. Oxygen consumption rates and other measured values of rotifers at different densities.

Trial	Rotifer density (ind·ml <sup>-1</sup> )	O <sub>2</sub> consumption (×10 <sup>-4</sup> ml·ind <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	O <sub>2</sub> consumption (×10 <sup>-4</sup> ml·dry- μg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	Wet weight (μg·ind <sup>-1</sup> )	Dry weight (μg·ind <sup>-1</sup> )	Egg carrying rate (eggs·ind <sup>-1</sup> )	O <sub>2</sub> reduction in chamber (×10 <sup>-3</sup> ml·l <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )
1	1.9	4.25	7.21	5.81	0.590	0.88	8
2	2.0	4.67	7.79	5.35	0.600	0.86	9
3	2.3	4.33	6.21	5.21	0.700	0.86	10
4	2.6	2.83	4.42	5.41	0.641	0.52	7
5	3.5	7.50	12.04	5.36	0.623	0.78	26
6	10.0	4.28	9.30	4.92	0.460	0.96	43
7	17.4	3.69	9.02	5.50	0.409	0.75	64
8	17.9	2.79	7.17	4.52	0.389	0.74	50
9	24.9	5.16	8.89	5.42	0.580	1.06	129
10	36.9	5.99	9.97	5.03	0.601	1.11	221
11	68.2	5.02	8.78	5.30	0.572	0.88	342
12	135.2	4.54	8.71	5.82	0.521	0.76	614
13	160.3	4.10	8.16	5.59	0.502	0.69	657
14	171.3	6.29	10.16	6.11	0.619	0.92	1,077
15	226.7	4.75	8.96	6.15	0.530	0.78	1,077
16	233.0	6.55	9.01	8.45	0.727	0.83	1,526
17	278.0	4.65	9.02	5.60	0.515	0.78	1,293
18	420.3	5.21	9.00	6.12	0.578	0.68	2,190
19	487.3	5.71	8.75	6.02	0.653	0.72	2,782

### ワムシの適正収容密度の検討

ワムシの酸素消費量の測定結果は、Table 2に示した通りである。1個体あたりの酸素消費量は、 $2.8 \times 10^{-6} \sim 7.5 \times 10^{-6} \text{ ml} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ と算定された。24.9 ind·ml<sup>-1</sup>を境にして収容密度を低密度および高密度に分けると、両者における平均値および標準偏差値はそれぞれ、 $4.29 \pm 1.38$  および  $5.27 \pm 0.74 \times 10^{-6} \text{ ml} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ で、その変化係数は0.32 および0.14となった。

一方、単位体重あたりの酸素消費量を求めて比較した場合、10 ind·ml<sup>-1</sup>を境とした低密度および高密度の両者の平均値および標準偏差値は、それぞれ  $7.53 \pm 2.53$  および  $8.92 \pm 0.68 \times 10^{-6} \text{ ml} \cdot \text{dry-}\mu\text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ で、変化係数は0.34 および0.08を得た。また24.9 ind·ml<sup>-1</sup>に分けると、それぞれ  $7.90 \pm 2.13$ ,  $9.04 \pm 0.54 \times 10^{-6} \text{ ml} \cdot \text{dry-}\mu\text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  および0.27, 0.06となった。これらの結果より、10～25 ind·ml<sup>-1</sup>以上の収容密度であれば、ほぼ安定した値が得られるものと推察される。言い換えれば  $50 \times 10^{-3} \sim 130 \times 10^{-3} \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 以上の酸素消費があれば、測定値が安定することになる (Table 2)。

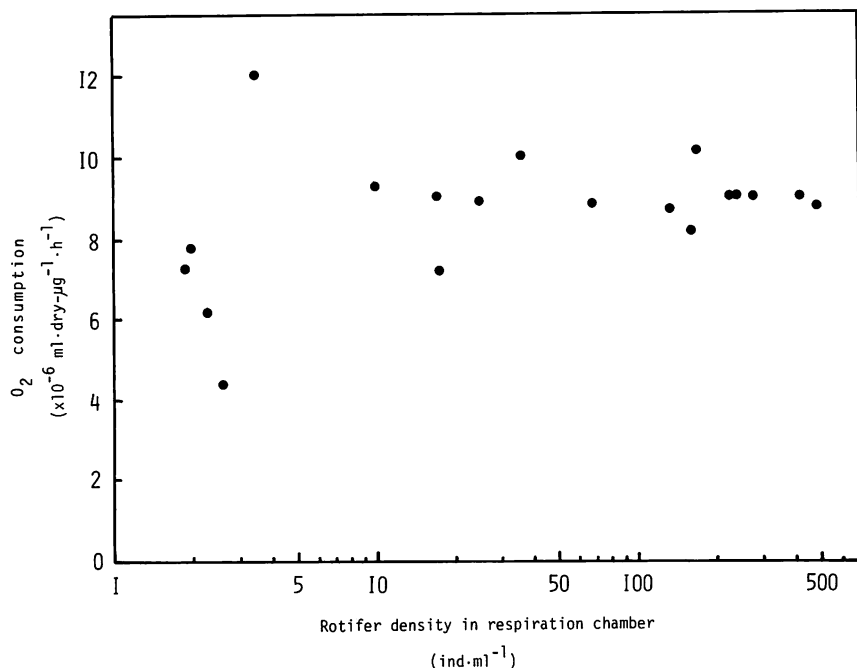


Fig. 2. Distribution of rotifer oxygen consumption rates by unit weight at different densities.

本実験では、伊藤（1971）の報告にみられるような  $20 \text{ ind} \cdot \text{ml}^{-1}$  以下の収容密度での酸素消費量に対する密度効果は現われなかったが、その密度と前述の  $10 \sim 25 \text{ ind} \cdot \text{ml}^{-1}$  とが近似していることは注目に値する。

本装置の特徴は、呼吸室を回転振蕩し、その振蕩速度が調節できる点、および間欠流水式のため供試材料を連続的に外部から供給できるという点にあり、これらの条件はワムシのような微速度遊泳をおこなう小型動物プランクトンの酸素消費量測定にかなったものといえる。また、現在ワムシの大量培養における問題点として、密度の急減や増殖不良などがあげられている（北島，1983）。酸素消費量の変化は、環境要因が動物の生理状態に及ぼす影響を検討するための重要な資料ともなる（板沢，1970；尾崎，1975）ので、本装置は上記問題の解明等広く利用できるものと考えられる。

## 文 献

板沢靖男（1970）：“魚類生理”，45-88（恒星社厚生閣，東京）。

伊藤 隆（1971）：アユ種苗の人工生産に関する研究—LXXX. シオミズツボワムシの酸素消費量および致死限界溶存酸素量。アユの人工養殖研究第一号，三重大，279-295。

- 門脇秀策・中園貫幸・加世堂照男・平田八郎(1980): 同一電極法による魚介類の酸素消費量の連続測定装置. 鹿大水紀要, **29**, 203-208.
- KANWISHER, J. (1959): Polarographic oxygen electrode. *Limnol. Oceanogr.*, **4**, 210-217.
- 北島 力(1983): “シオミズツボムシ. 生物学と大量培養”, 102-128 (恒星社厚生閣, 東京).
- 尾崎久雄(1975): “魚類生理学講座. 呼吸の生理”, 205-253 (緑書房, 東京).
- STAUB, N. C. (1961): A simple small oxygen electrode. *J. Appl. Physiol.*, **16**, 192-194.
- YAMASAKI, S. and H. HIRATA (1982): An electrode respirometer for planktonic organisms. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.*, **31**, 141-144.
- YSI (1982): “Instruction manual YSI Model 57 Dissolved oxygen meter”, 13-14 (Yellow Springs Instrument Co., Ohio).