

長期絶食時のサクラマス¹の体重, 尾叉長, 体成分 および肝臓酵素活性の変化

四方崇文, 高門光太郎, 四登 淳, 柴田 敏

(1999年4月19日受付)

Changes in Body Weight, Fork Length, Body Composition, and Hepatic Enzyme Activities in Masu Salmon *Oncorhynchus masou* during Long-term Starvation

Takafumi Shikata,*¹ Kohtarō Takakado,*² Jun Shinobori,*² and Satoshi Shibata*³

This study was conducted to investigate the changes in body weight, fork length, body composition, and several hepatic enzyme activities in masu salmon *Oncorhynchus masou* during long-term starvation. The fish starved for 60 days lost 29 % of initial body weight, while their fork length remained unchanged. The condition factor decreased rapidly during starvation period. Many fish could survive without food for 173 days, indicating their great hunger tolerance. The contents of fat and protein in the whole body showed a tendency to decrease during starvation period. The activities of hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase markedly decreased during starvation period of 60 days, while the activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and fructose-1,6-diphosphatase remained unchanged or increased slightly. These results suggest that fatty acid synthesis in the liver of masu salmon was markedly depressed and amino acid degradation and gluconeogenesis were maintained or slightly enhanced during long-term starvation.

Key words: masu salmon, starvation, body weight, body composition, hepatic enzyme, hunger tolerance

サクラマスは日本海周辺に分布する重要な水産資源であり, その漁期がシロザケと競合せず, 市場価値も高いことから, わが国ではその資源増大にむけた孵化放流事業が積極的に進められている。本種は, 孵化後1年以上を河川で過ごしたのちモルト化して降海するため, シロザケよりも河川生活期が長く, 河川環境の影響を受けやすい。このため, サクラマスの放流技術として, 河川収容量の制約や釣りによる減耗の影響を受けにくい1+モルト放流や0+秋放流が試みられている。河川水温の低下に伴い摂餌や代謝活性が低下する冬期前にサクラマスを放流する秋放流は, 飼育期間が短く, 河川の餌環境の制約が比較的少ない。従って, 秋放流は, 翌春まで長期

飼育するモルト放流に比べてコスト, 施設および飼育の面で負担が少なく, 回帰率の低さを考慮しても経済性の高い放流方法であると考えられている。^{1, 2)} しかし一方で, 越冬期のサクラマスの減耗が指摘されており, 減耗に影響する要因として魚体サイズ, 蓄積脂質含量, 河川水温や棲息環境が考えられている。^{3, 4)}

石川県では1995年以降の毎年9月に加賀地域の動橋川でサクラマスの秋放流を行っている。動橋川の再捕調査では,^{5, 6)} 放流後2ヶ月程経過すると再捕尾数が急減し, 目視調査でもほとんど魚影が見られなくなるが, これが放流魚の分散によるのか, 減耗によるのかは明らかにされていない。野村ら⁴⁾は, 河川生活期(北海道尻別川)の

*¹ 石川県水産総合センター海洋資源部 (〒927-0435 石川県鳳至郡能都町宇津新港 3-7)

*² 石川県水産総合センター内水面水産センター (〒922-0134 石川県江沼郡山中町荒谷町口 100)

*³ 石川県水産総合センター生産部美川事業所 (〒929-0217 石川県石川郡美川町字湊町チ 188-4)

サクラマスの体脂質は冬期に減少することを明らかにし、蓄積脂質の少ない幼魚は、低水温で代謝が抑制されている冬期には生存可能でも、水温が上昇して代謝が活発になる春期には、蓄積エネルギーの不足からへい死に至る可能性があることを指摘している。北海道の河川とは異なり、冬期の動橋川では水温は低くても5℃程度で、放流魚が主に分布すると思われる流域では7℃前後^{5,6)}と高い。従って、冬期でもサクラマスの代謝や活動は活発であり、餌が不足した場合には魚体の消耗が著しいと推測される。しかし、前述のように動橋川では冬期に放流魚を多数再捕するのが困難であるため、河川調査のみで放流魚の減耗や消耗(栄養状態)を評価するのが難しい。そこで本研究では、石川県水産総合センターで生産したサクラマスの絶食耐性と絶食時における体重や肥満度の変化を飼育実験から明らかにし、それらの結果に基づいて動橋川放流魚の減耗や消耗の可能性について考察した。さらに、サクラマスの肝臓酵素活性に及ぼす絶食の影響を明らかにし、栄養状態を推定するための指標として肝臓酵素活性が利用できるか検討した。

材料および方法

1997年9月19日にサクラマス400尾を石川県水産総合センター美川事業所から同内水面水産センターに移送し、屋外のコンクリート水槽で市販の配合飼料を約5%の給餌率で与えて9月25日まで予備飼育した。1997年9月26日に150尾の体重と尾叉長を測定し、個体識別のための番号付きリボンタグを装着し、1000 lのパンライト水槽に収容して絶食飼育を開始した。本試験では、絶食60日目までの個体について肝臓酵素活性の変化を追跡したが、残りの個体については、へい死状況を観察するために1998年3月17日まで(172日間)絶食飼育を続けた。

絶食開始後0, 10, 20, 31, 40, 50および60日目に10個体を取り上げて標識番号を確認し、体重、尾叉長および肝臓重量を測定し、肝臓は酵素分析用サンプルとして-80℃で凍結保存した。体重と尾叉長については、絶食前と取り上げ時との差を求め、その減少率を算出した。また、絶食開始後0, 31および98日目にそれぞれ取り上げた4尾の全魚体(プールサンプル)について一般化学成分を定法により測定した。

肝臓はサンプリング日毎に雌雄別にプールして酵素分析に供した。すなわち、肝臓を9倍量の冷水とともにホモジナイズし、4500 rpm, 4℃で10分間遠心分離して得られた上清液を粗酵素液として、Table 1の酵素活性を既

Table 1. Hepatic enzymes assayed in the present study

Enzyme name	Abbreviation	EC No.
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G6PDH	1.1.1.49
Phosphogluconate dehydrogenase	PGDH	1.1.1.44
Alanine aminotransferase	Ala-AT	2.6.1.2
Aspartate aminotransferase	Asp-AT	2.6.1.1
Fructose-1,6-diphosphatase	FDPase	3.1.3.11
Phosphofructokinase	PFK	2.7.1.11

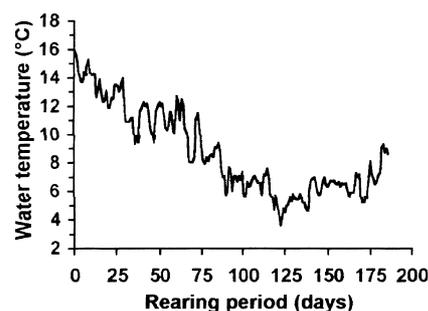


Fig. 1. Changes in water temperature during the experimental period.

報の方法⁷⁻⁹⁾で測定した。いずれの酵素についても、25℃で1分間に1 μmolの基質または補酵素を変化させる活性を1 unitと定義し、units / liver / 100 g body weightまたはunits / g proteinとして酵素活性を表示した。酵素液のタンパク質含量はFolin-Lowry法¹⁰⁾で測定した。

絶食飼育期間中の水温の推移をFig. 1に示した。試験開始時に16℃であった水温は徐々に低下し、飼育60日目には10.1℃となった。水温はその後も低下し、翌年1月26日(122日目)の3.6℃を最低に上昇し始め、飼育終了時の3月17日には5.6℃となった。

結果

試験開始時のサクラマスの尾叉長、体重および肥満度の組成をFig. 2に示した。供試魚の平均尾叉長は12.4 cm、平均体重は23.2 gであった。肥満度(1000×体重(g)/尾叉長³(cm))は9.4~14.0の範囲にあり、多くの個体の肥満度は10.5以上で、肥満度が10.5未満の個体は150尾中わずか9尾であった。これらのサクラマス¹を絶食させた結果(Fig. 3)、尾叉長はほとんど変化しなかったが、体重は急減し、絶食30日目には絶食前の83%、絶食60日目には71%にまで低下した。肥満度は雌雄ともに絶食により

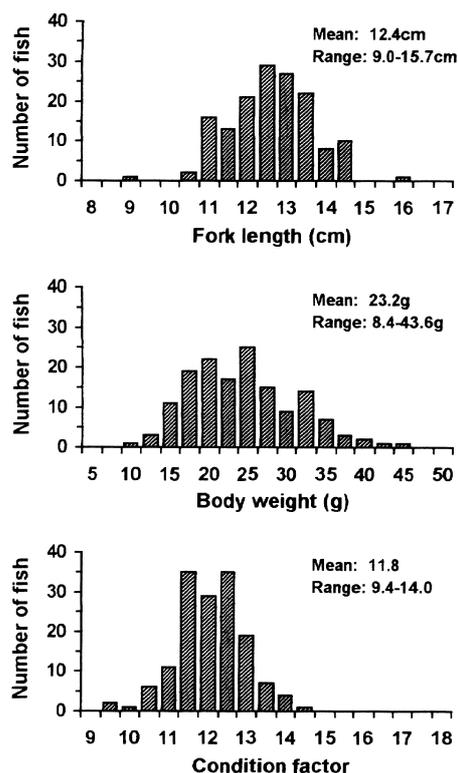


Fig. 2. Compositions of the fork length, body weight, and condition factor of masu salmon at the start of the experiment.

低下し、絶食 20 日目以降に取り上げた個体の 98% は肥満度が 10.5 未満であった。また、肥満度は雄よりも雌で終始低かった。比肝臓重量は、開始時には雄で 1.55%、雌で 1.18% と雌雄で異なっていたが、絶食 10 日目には雌雄ともに約 0.96% に低下し、絶食 30 日目に一時的に上昇したものの、40 日目以降は雌雄ともに 0.83% 前後で推移した。

全魚体の一般化学成分の分析結果を Table 2 に示した。粗タンパク質および粗脂肪含量は試験開始時にはそれぞれ 17.1% および 4.3% であったが、31 日目には 15.6% および 1.8%、98 日目には 16.2% および 1.6% に低下し、特に粗脂肪の減少が顕著であった。

本試験では、絶食 5 日目、161 日目および 171 日目にそれぞれ 1 尾 (計 3 尾) のへい死魚がみられたが、その他の個体に外見上の異常は認められなかった。絶食期間中、共食いは観察されなかった。絶食飼育終了時 (172 日目) まで生存した個体のリボンタグは全て脱落していたため、体重と尾叉長の個体別の減少率は算出できなかった。しかし、飼育開始時と終了時の平均値で比較すると、尾叉

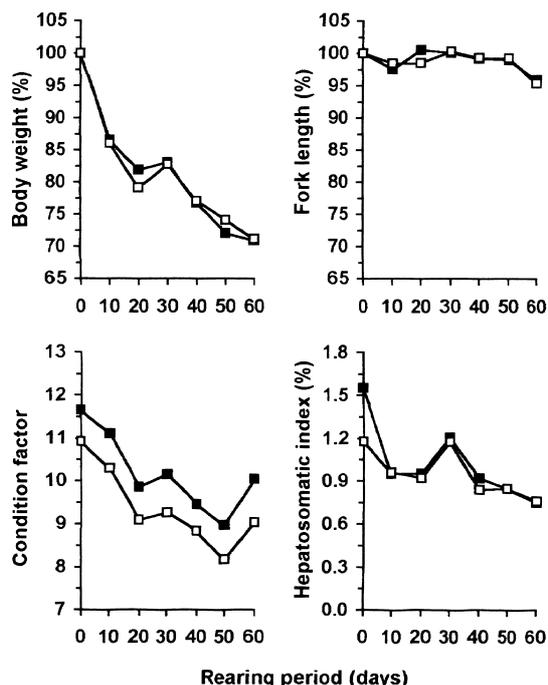


Fig. 3. Changes in the body weight, fork length, condition factor, and hepatosomatic index of the male (■) and female (□) fish during starvation.

Table 2. Proximate composition of whole body (%)

Rearing period:	Initial	31 days	98 days
Moisture	74.8	79.4	78.8
Crude protein	17.1	15.6	16.2
Crude fat	4.3	1.8	1.6
Crude ash	2.7	2.8	2.9

長は変化せず、体重は飼育開始時の 63% に低下していた。なお、今回の試験には秋放流用に飼育していたサクラマスのうち大型個体を用いたが、絶食 60 日目までに取り上げた 70 個体のうち 37 尾が雄であり、このうち 25 個体が成熟雄であった。

本試験では絶食期間中に体重、肝臓重量および肝臓可溶性タンパク質含量のいずれもが変化した。このような条件下で肝臓酵素活性から代謝を考察する場合には、様々な活性表示法を用いて検討する必要がある。そこで、比活性 (タンパク質 1 g あたりの活性) の推移を Fig. 4 に、単位体重あたりの活性の推移を Fig. 5 に示した。まず比活性についてみると、リボゲニック酵素の G6PDH と PGDH の活性は絶食期間中に低下し、60 日目には開始時の約半分程度にまで低下した。これに対し、アミノ酸分解酵素

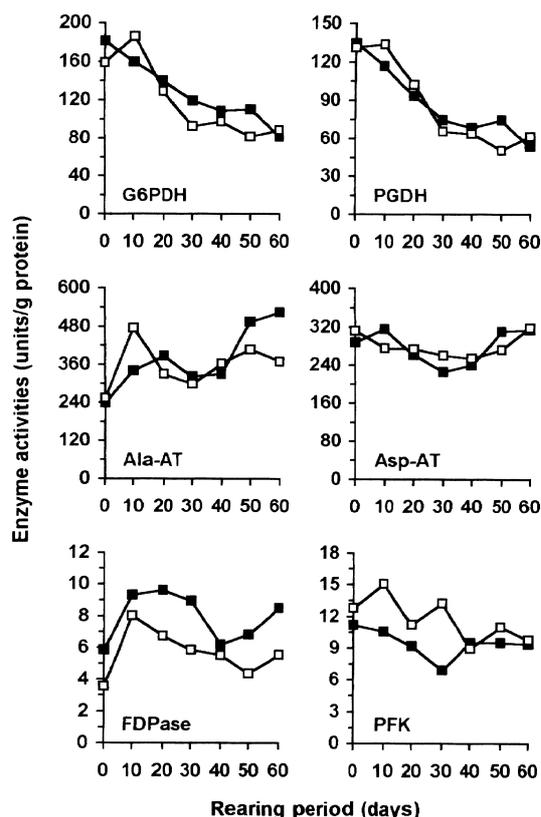


Fig. 4. Changes in the activities of hepatic G6PDH, PGDH, Ala-AT, Asp-AT, FDPase, and PFK of the male (■) and female (□) fish during starvation. The enzyme activities were expressed as units / g protein. One unit was defined as μmol of substrate or coenzyme converted per min at 25 °C.

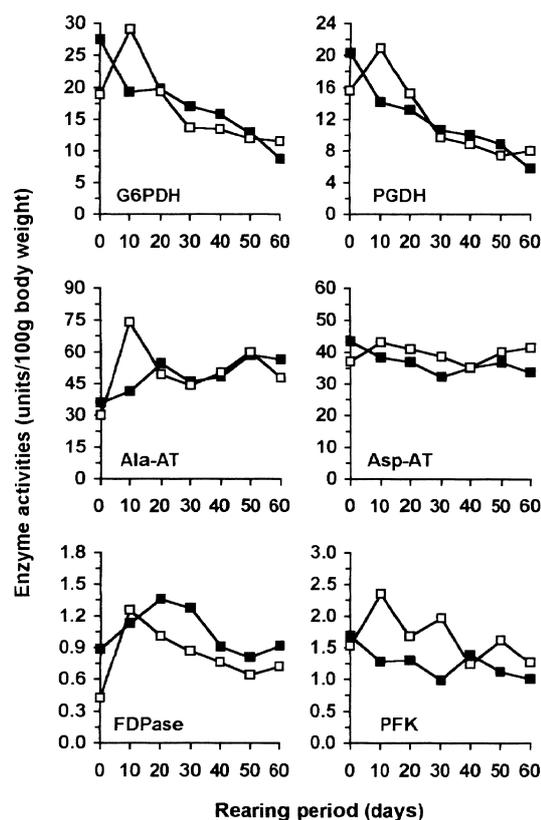


Fig. 5. Changes in the activities of hepatic G6PDH, PGDH, Ala-AT, Asp-AT, FDPase, and PFK of the male (■) and female (□) fish during starvation. The enzyme activities were expressed as units / liver / 100g body weight.

の Asp-AT 活性は終始ほぼ一定で、Ala-AT 活性は期間中むしろ上昇する傾向にあった。糖新生系酵素の FDPase 活性は絶食 10~20 日目まで上昇した後、40~50 日目まで低下し、その後再び上昇するというように複雑に変動したが、絶食期間中は比較的高い活性を維持した。一方、解糖系酵素の PFK 活性は期間中複雑に変動し、明らかな傾向は認められなかった。リポゲニック酵素とアミノ酸分解酵素の活性に明らかな雌雄差は認められなかったが、FDPase 活性は雄で高く、逆に PFK 活性は雌で高い傾向がみられた。本試験では、体重、肝臓重量および肝臓可溶性タンパク質含量の変化がさほど顕著でなかったため、比活性に類似した推移が単位体重あたりの活性にも認められた (Fig. 5)。

考 察

サクラマス¹⁾を 172 日間にわたって絶食飼育したところ、体重は開始時の 63% に減少したが、確認されたへい死魚はわずか 3 尾であり、サクラマス¹⁾の絶食耐性は高いことが明らかになった。本研究では秋放流のために飼育していたサクラマス¹⁾のうち平均体重 23.2 g の大型個体を用いて試験したが、動橋川には体重 10 g 前後のサクラマス¹⁾が多く放流されており、^{5, 6)} それら小型個体の絶食耐性については明らかでない。松村ら¹¹⁾ は、体重 7.5 g のサクラマス¹⁾を約 6°C の水温下で 3 ヶ月間絶食飼育し、その生残率は 95% と高かったことを報告しており、小型個体でも絶食耐性は比較的高いと考えられる。しかし、サクラマス¹⁾では小型個体ほど体脂質が少なく、⁴⁾ 一般に魚類では小型個体ほど単位体重当たりの代謝量が大きいので、¹²⁾ 絶食条件下ではおそらく小型個体ほど消耗しやすい。し

かも、秋放流が行われる9月下旬の動橋川の水温は15°C以上と高く、^{5,6)} 河川には水流があるため、水槽内の環境と違って自然の河川環境下ではサクラマスの消費はより激しいと推測される。従って、魚体の消費や河川水温を考慮すれば、動橋川で秋放流を行う場合には体脂質含量の多い大型のサクラマスを遅い時期に放流したほうが有利であると考えられる。ただし、サクラマス放流魚を生産する際にあまり成長を促進させると、残留型である成熟雄の出現率が高まり、結果的に放流魚の河川残留率を高めてしまうので注意が必要である。

北海道尻別川ではサクラマスの肥満度は摂餌の活発な7月に最も高く、その後越冬期にかけて低下することが明らかにされており、肥満度は自然環境下の栄養状態を反映すると考えられている。³⁾ 本実験でサクラマスを絶食させたところ、肥満度は急激に低下し、20日間以上絶食した個体の多くで肥満度が10.5未満となった。このように絶食環境下では肥満度が低下することから、放流後のサクラマスの栄養状態を推定するための指標として肥満度が利用できるかもしれない。そこで、1996年に動橋川に放流されたサクラマスの再捕結果を調べたところ、再捕総数は少ないものの、再捕魚の中には肥満度が10.5を超える個体が多かった。⁶⁾ 従って、肥満度から判断するにすぎず、動橋川でサクラマスの餌料生物が著しく不足しているとは考えにくい。ただし、魚体サイズや棲息環境による体型の変化、¹⁾ 放流時点での肥満度の差異、運動量なども放流後の肥満度に影響すると考えられるので、常に肥満度が栄養状態を正確に反映するとは言いえない面もある。従って、自然環境下でのサクラマスの栄養状態を判定するには、肥満度とそれ以外の数種の指標を組み合わせるべきであり、その指標として後述の肝臓酵素活性が有効かもしれない。

本実験では絶食60日目までのサクラマスについて、脂肪酸合成、アミノ酸分解、糖新生および解糖に関する6種類の肝臓酵素の活性を測定した。絶食期間中、脂肪酸合成に関するG6PDHとPGDHの活性は急激に低下し、アミノ酸分解酵素のAsp-ATとAla-ATの活性はほぼ一定かやや上昇する傾向にあり、FDPaseは終始高い活性を維持した。また、魚体分析の結果から、絶食期間中には体脂質と体タンパク質が減少することが明らかになった。これらの結果から、絶食中のサクラマスは、肝臓の脂肪酸合成を強く抑制する一方、アミノ酸分解と糖新生を高く維持し、魚体の脂質やタンパク質をエネルギー源として生存していたと推察される。これと類似の代謝応答は酵素活性やトレーサーを用いた代謝研究によって他魚種

でも観察されており、¹³⁻²⁰⁾ 絶食時のエネルギー源として体脂質と体タンパク質(アミノ酸)が重要であると考えられている。¹³⁾

リポゲニック酵素のG6PDHとPGDHはペントースリン酸経路の酵素であり、両酵素は脂肪酸やステロイドの生成に必要なNADPHを生産する役割を持ち、さらにペントースリン酸経路では核酸の必須成分であるD-リボースが生成される。従って、G6PDHとPGDHの活性変動は成長(栄養状態)と深く関連していると考えられる。実際、ニジマス¹⁹⁾ やコイ²⁰⁾ では、摂餌量が少なく成長が劣る(栄養状態の悪い)個体ほどG6PDHとPGDHの活性が低いことが明らかにされている。前述のように、絶食に対してサクラマスの肝臓酵素活性は様々に変化したが、それらの中ではG6PDHとPGDHの活性低下が顕著かつ明瞭であり、サクラマスの栄養状態を最も鋭敏に表していると考えられる。従って、河川環境下でのサクラマスの栄養状態を推定するための指標として肝臓酵素を用いる場合には、G6PDHとPGDHが有望である。ただし、両酵素活性は水温や餌料組成の影響を受けるし、^{21, 22)} 季節的にも変動すること^{23, 24)} が他魚種で報告されており、今後さらに検討する必要がある。

謝辞

本研究のとりまとめにあたり、有益な御助言と御校閲を頂いた高知大学農学部示野貞夫教授、ならびに水産庁さけ・ます資源管理センター調査課大熊一正氏に深く感謝します。

文献

- 1) 真山 紘: サクラマス *Oncorhynchus masou* (Brevoort) の淡水域の生活および資源培養に関する研究. 北海道さけ・ますふ化場研究報告, 46, 1-156 (1992).
- 2) 藤原 真, 隼野寛史, 大森 始, 杉若圭一: 増幌川に秋放流された池産サクラマスのスモルト生産率と初期分散. 魚と水, 35, 151-164 (1998).
- 3) 真山 紘: 越冬時サクラマス幼魚の生活と河川環境. 魚と卵, 164, 33-40 (1995).
- 4) 野村哲一, 真山 紘, 大熊一正: サクラマス (*Oncorhynchus masou*) の生理学的研究—II. 淡水生活期における脂質含量の変化. 北海道さけ・ますふ化場研究報告, 42, 49-58 (1988).
- 5) 石川県: 平成7年度さけ・ます資源管理・効率化推

- 進事業調査報告書. 1996, pp. 59-71.
- 6) 石川県: 平成 8 年度さけ・ます資源管理・効率化推進事業調査報告書. 1997, pp. 51-95.
 - 7) 示野貞夫: 魚類の炭水化物代謝に関する研究. 高知大学水産実験所研究報告, 2, 1-107 (1974).
 - 8) 示野貞夫, 四方崇文, 岩永俊介: プリ肝臓における解糖中間体およびヌクレオチド含量の動態ならびに phosphofructokinase 活性への関与. 水産増殖, 41, 535-539 (1993).
 - 9) A. Karman: A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxalo-acetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, 34, 131-133 (1955).
 - 10) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275 (1951).
 - 11) 松村幸三郎, 八重樫博文, 稲垣和典, 奈良和俊: 北海道東部産サクラマス幼魚における冬季間の給餌抑制がスモルト化に与える影響. 魚と卵, 164, 41-47 (1995).
 - 12) 板沢靖男: 呼吸, 「魚類生理学」(板沢康男 羽生功編), 恒星社厚生閣, 東京, 1991, pp. 1-34.
 - 13) S. Shimeno, D. Kheyyali, and M. Takeda: Metabolic adaptation to prolonged starvation in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 35-41 (1990).
 - 14) R. Bastrop, R. Spangenberg, and K. Jurss: Biochemical adaptation of juvenile carp (*Cyprinus carpio* L.) to food deprivation. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98A, 143-149 (1991).
 - 15) A. Larsson and K. Lewander: Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, 44A, 367-374 (1973).
 - 16) H. Lin, D. R. Romsos, P. I. Tack, and G. A. Leveille: Effects of fasting and feeding various diets on hepatic lipogenic enzyme activities in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)). *J. Nutr.*, 107, 1477-1483 (1977).
 - 17) H. Lin, D. R. Romsos, P. I. Tack, and G. A. Leveille: Influence of diet on *in vitro* and *in vivo* rates of fatty acid synthesis in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)). *J. Nutr.*, 107, 1677-1682 (1977).
 - 18) T. Shikata and S. Shimeno: Effects of feed restriction and starvation on fatty acid synthesis and oxidation of glucose and alanine in carp hepatopancreas. *Fisheries Sci.*, 63, 301-303 (1997).
 - 19) R. L. Walzem, T. Storebakken, S. S. O. Hung, and R. J. Hansen: Relationship between growth and selected liver enzyme activities of individual rainbow trout. *J. Nutr.*, 121, 1090-1098 (1991).
 - 20) T. Shikata, D. Kheyyali, and S. Shimeno: Effect of feeding rates on hepatopancreatic enzymes and body composition in common carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 835-839 (1993).
 - 21) T. Shikata, S. Iwanaga, and S. Shimeno: Metabolic response to acclimation temperature in carp. *Fisheries Sci.*, 61, 512-516 (1995).
 - 22) S. Shimeno, D. Kheyyali, and T. Shikata: Metabolic response to dietary lipid to protein ratios in common carp. *Fisheries Sci.*, 61, 977-980 (1995).
 - 23) 示野貞夫, 四方崇文, 細川秀毅: ハマチ肝臓の糖代謝酵素活性および脂質含量の季節変化. 水産増殖, 40, 201-206 (1992).
 - 24) 示野貞夫, 四方崇文: 屋外飼育コイの糖代謝酵素活性および脂質含量の季節変化. 日水誌, 59, 653-659 (1993).