

マダイの空中乾出時の生化学的変化に関する研究粗 放的生産魚と集約的生産魚との比較－I

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2025-04-24
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 中野, 広, 小野木, 博一, 大橋, 誠之, 丸山, 敬悟
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014335

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution 4.0 International License.



マダイの空中乾出時の生化学的变化に関する研究

粗放的生産魚と集約的生産魚との比較—I

中野 広*・小野木博一**・大橋 誠之**・丸山 敬悟***

(1988 年 9 月 16 日受理)

放流された魚の数が増加するにつれて、放流効果が問われてきつつある。放流効果を高めるには、健康な種苗を放流することが一つの方法であると考えられるが、健康な種苗とはどのような種苗か、健康な種苗を生産するにはどのような方法があるのか等、解明されなければならない課題が山積している。

従来、このような視点から天然魚と種苗生産魚との比較検討が形態学及び生理学的視点より行われ、形態的な差や体成分的な差が報告されている¹⁻⁴⁾。また、最近、中野と白旗⁵⁾はサケをもちいて健苗として必要な条件を検討し、高い RNA/DNA 比、タンパク質/DNA 比、肥満度、高い遊泳能力が必要であることを示唆した。さらに、著者の一人である丸山⁶⁾は、放流後の生残率の高い魚の種苗生産と健苗性判定技術の開発のために、廃止塩田を利用して飼育した魚（粗放的生産魚）と従来の室内水槽といけすで飼育した魚（集約的生産魚）について、空中乾出試験、麻酔試験、低酸素耐性試験、池内での無給餌飼育試験を行い、何れも粗放的生産魚の方が優れていることや粗放的生産魚、集約的生産魚、天然魚間で体型が異なり、粗放的生産魚は天然魚に近いことを明らかにした。

これら空中乾出試験、麻酔試験、低酸素耐性試験、無給餌飼育試験等の差の原因が明らかとなれば、健苗の判定方法として有効であるばかりでなく、実際に種苗生産の改善に役立てることが出来る。

本報告は、乾出時と海水に戻した際の生化学変化を粗放的に生産したマダイ（以下百島産とする）と集約的に生産したマダイ（以下伯方島産とする）について比較検討を行い、健苗判定の手法としての空中乾出方法の有効性と百島産と伯方島産のマダイの生化学的差異について明らかにしようとしたものである。

材料と実験方法

供試魚 空中乾出に用いたマダイは、日本栽培漁業協会伯方島事業場で採卵し、ふ化させた後、伯方島産では従来の水槽といけすで、百島産では廃止塩田で飼育されたもので、その詳細については既に報告されている⁶⁾。1985 年の試料については、空中乾出中や海水に戻した際の回復実験後に直ちにドライアイスで、1986 年の試料ではアルコール・ドライアイス系で凍結させ、分析まで凍結貯蔵した。なお、これと同時に従来と同様な方法で⁶⁾空中乾出試験を行った。

試料作成 試料のマダイを解凍後、体長と体重を測定し、これに 3 倍量の 0.25 M Sucrose-1 mM EDTA-20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 溶液を加え、冷却しながらテフロン-ガラスホモジナイザーあるいはポリトロンホモジナイザーでホモジナイズ後、生化学分析に供した。肝臓の場合は、体長と体重を測定後、肝臓を採取し、秤量後、上記の溶液を加え、テフロン-ガラスホモジナイザーでホモジナイズし、ホモジネートを 10000×g で 20 分間遠心分離し、生じた上澄み液を酵素分析に用いた。

生化学分析 生化学分析は上述したホモジネートや上澄液を用いて、タンパク質量、乳酸量、遊離脂肪酸量、スクレオチド (ATP, ADP, AMP) 量、ビルビン酸キナーゼ (PK)、ホスホフルクトキナーゼ (PFK)、フラクトース、1-6、ビスホスファターゼ (FDPase)、クレアチンキナーゼ (CPK) 活性を測定した。グリコーゲン凍結試料を解凍後、体長、体重を測定し、全魚体、肝臓、筋肉について測定した。

タンパク質量は Lowry 法⁷⁾で、グリコーゲン量は硫酸-アンスロン法⁸⁾で、遊離脂肪酸量は Duncombe 変法を

* 水産庁東海区水産研究所生物化学部 (104 東京都中央区勝どき 5-5-1)

** 日本大学農獣医学部水産学科 (154 東京都世田谷区下馬 3-34)

*** 日本栽培漁業協会伯方島事業場百島実験地 (現玉野事業場)

用いた和光純薬製の分析キットで、乳酸は酵素法⁹⁾で、スクレオチド量は、酵素法を用いたベーリンガー製の分析キットで定量した。CPK 活性は酵素法を用いた和光純薬製の分析キットで測定した。

PK 活性は次のような反応混液で、セル内で行い、340 nm での吸光度の減少より求めた。

0.5 M Tris-HCl 1.0 ml, 2 M KCl 0.1 ml, 0.1 M MgCl₂ 0.30 ml, 10 mg/ml phosphoenolpyruvic acid 0.1 ml, 10 mg/ml ADP 0.1 ml, 10 mg/ml NADH 0.1 ml, H₂O 1.3 ml sample 0.05 ml.

PFK 活性は次のような反応混液で、セル内で行い、340 nm の吸収の減少より求めた。

0.5 M Tris-HCl (pH 8.5) 1.0 ml, 0.1 M MgCl₂ 0.2 ml, 2.0 M KCl 0.1 ml, 10 mg/ml Fructose-6-Phosphate 0.1 ml, 20 mM ATP 0.1 ml, 10 mg/ml, H₂O 1.2 ml, Sample 0.1 ml.

FDPase 活性は FDP の加水分解によって遊離された無機リン酸量を Fiske-Subbarow 法¹⁰⁾で定量した。反応条件は次の通りである。

10 mM FDP 0.2 ml, 0.1 M MgCl₂ 0.1 ml, 0.5 M Tris-HCl (pH 7.5) 0.5 ml, H₂O 0.2 ml, Sample 0.5 ml.

尚、何れの酵素反応も 25°C で行った。

本研究の測定結果は、少なくとも 7 検体以上について平均値±標準偏差で表した。標準偏差が重なるものについては片側のみ示した。

実験結果

1985 年百島産大型種苗 1985 年の種苗についての空中乾出結果はすでに丸山ら⁹⁾によって報告されている。空中乾出時のマダイの生化学的变化を明らかにする目的で、大型種苗を用いて検討した。実験に用いた種苗は、体長 51.3±5.3 mm, 体重 4.46±1.46 g, 肝臓重量 65.1±26.0 mg, 肝/体重比 0.69±0.094% (n=57) であった。空中乾

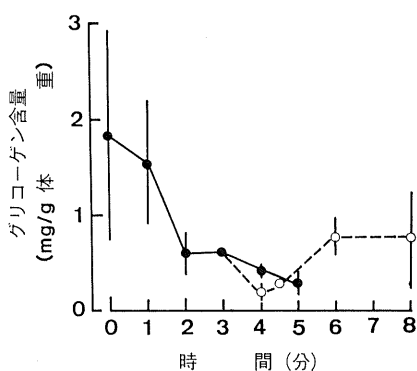


図 1 空中乾出時 (●) 及び海水中に戻した時 (○) の肝臓のグリコーゲン量の変化

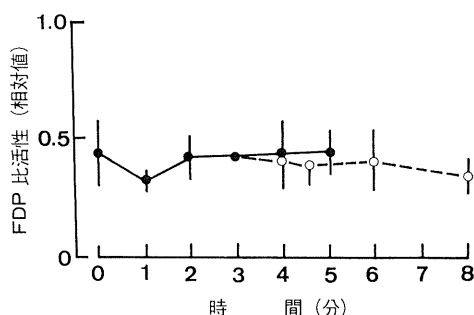


図 3 空中乾出時 (●) 及び海水中に戻した時 (○) の肝臓の FDPase 活性の変化

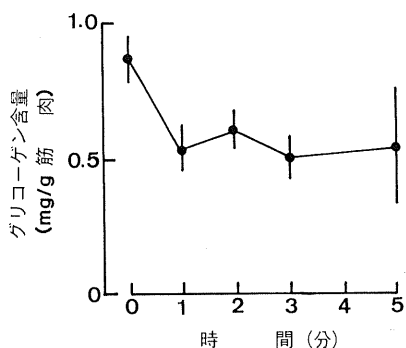


図 2 空中乾出時の筋肉のグリコーゲン量の変化

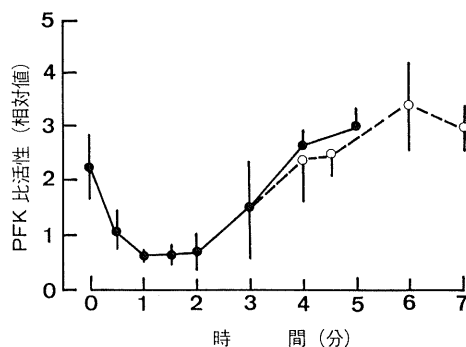


図 4 空中乾出時 (●) 及び海水中に戻した時 (○) の肝臓の PFK 活性の変化

表 1 空中乾出の跳ねの持続時間とへい死までの時間の優劣

実験日	気 温 (°C)	サンプル名 (実験個体数)	平均全長 (mm)	ハネの持続時間*			へい死までの時間*		
				勝	負	引き分け	勝	負	引き分け
7/18	24.0	伯方島(6)	24.3±4.9	1	4	1	0	2	4
		百島(6)	20.7±1.7	4	1	1	2	0	4
8/ 8	25.0-27.8	伯方島(11)	41.2±4.2	1	9	1	1	9	1
		百島(11)	41.4±4.1	9	1	1	9	1	1
9/12	26.8-28.0	伯方島(20)	63.8±8.1	2	11	7	6	9	5
		百島(20)	65.1±8.7	11	2	7	9	6	5
10/ 3	90.8-22.2	伯方島(10)	90.0±3.8	2	8	0	2	8	0
		百島(10)	21.6±3.8	8	2	0	8	2	0

* 跳ねなくなるまでの時間、へい死するまでの時間（魚が硬直して震えだすまでの時間）について、伯方島産と百島産同じサイズのもの一尾ずつについての勝敗数で表す。

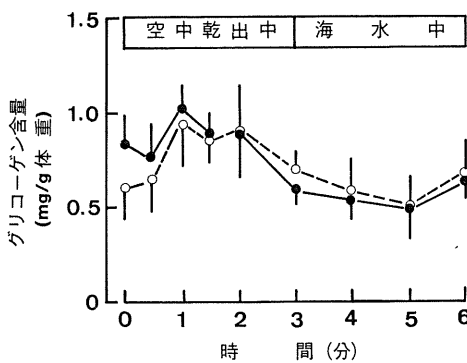


図 5 空中乾出時及び海水中に戻した時の全魚体のグリコーゲン量の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

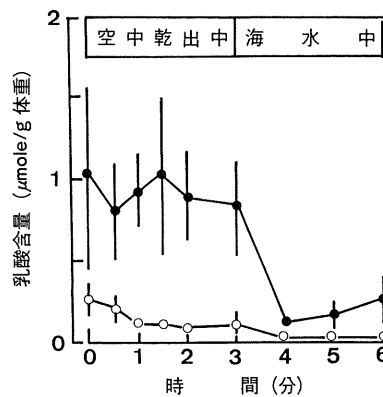


図 6 空中乾出時及び海水中に戻した時の全魚体の乳酸量の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

出及び海水中に戻した際の肝臓と筋肉のグリコーゲン量の変化、解糖系の酵素である PFK と糖新生系の酵素である FDPase 活性の変化について、図 1, 2, 3, 4 に示した。肝臓のグリコーゲン量は乾出直後に低下し、海水中に戻すと、一時は更に低下を示すがやがてゆっくりと増加した（図 1）。筋肉のグリコーゲン量は空中乾出直後に低下を示したがその後は変化を示さなかった（図 2）。肝臓 FDPase 活性は空中乾出時、及び再び海水に戻した際も殆ど変化を示さなかった（図 3）。しかし、肝臓 PFK 活性は、乾出直後は一時的に低下を示すが、2 分経過後増加した。海水に戻した際も乾出時と同じ様に増加を示した（図 4）。

1986 年種苗 伯方島産と百島産の両群から同様の大きさの個体一尾ずつ選び、空中乾出を行い、ハネなくなるまでの時間やケイレンの生ずるまでの時間（へい死とする）を比較検討した結果、全長 20 mm から 90 mm まで、いずれにおいても百島産の方が伯方島産よりも優っていた（表 1）。

空中乾出と海水に戻した時の生化学変化の検討のために用いた種苗は次のようであった。

伯方島産：全長 32.6 ± 4.2 mm, 体重 626.4 ± 244 mg ($n=222$)。

百島産：全長 23.0 ± 2.9 mm, 体重 209.3 ± 92 mg ($n=211$)。

種苗生産の時期や成長速度がずれた為に、同じサイズのものが利用できなかった。

空中乾出時の生化学的变化に関する実験は、すべて空中乾出 3 分後に、再び海水中に戻すという方法で行った。

全魚体のグリコーゲン量は、伯方島産より百島産の方が高い値を示した ($p < 0.05$)。空中放置時には、百島産は当初ほとんど変化をしめさず、2 分後から減少を示した。伯方島産は当初、増加を示したが ($p < 0.05$)、2 分後には減少した。海水に戻した際、両区の変化傾向は類似していた（図 5）。

全魚体の乳酸量は百島産の方が伯方島産よりも著しく高かった。百島産では空中乾出時には殆ど変化を示さず、

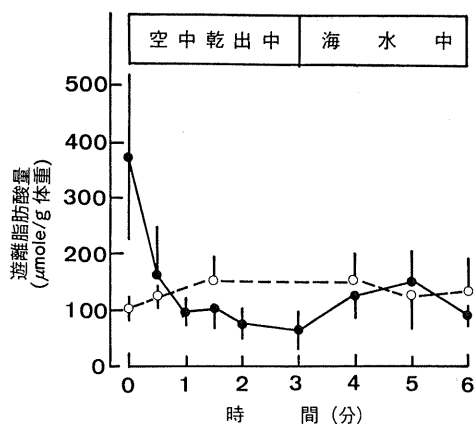


図 7 空中乾出時および海水中に戻した時の全魚体の遊離脂肪酸量の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

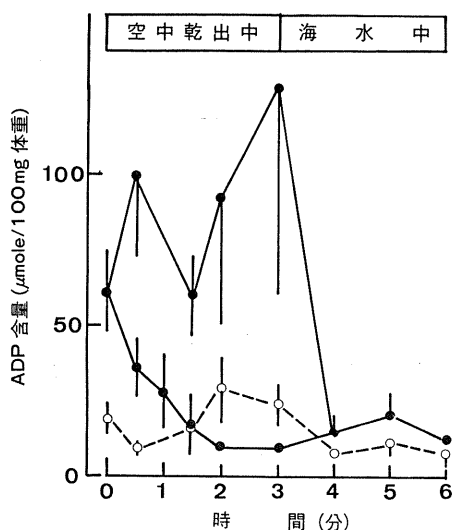


図 9 空中乾出及び海水中に戻した時の全魚体の ADP 量の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

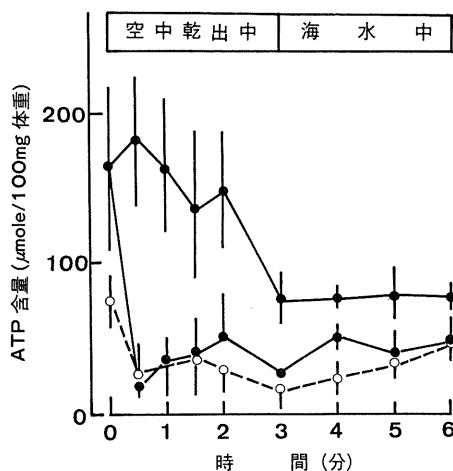


図 8 空中乾出及び海水中に戻した時の全魚体の ATP 量の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

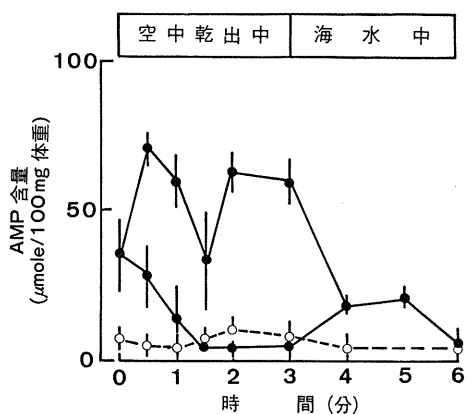


図 10 空中乾出及び海水に戻した時の全魚体の AMP 量の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

海水中に戻したときに低下を示した。一方、伯方島産では変化量は小さいが、百島産と同じ様な変化を示した (図 6)。

全魚体の遊離脂肪酸量は、百島産の方が伯方島産よりも高く、しかも百島産のほうが空中乾出に伴って減少するに対して、伯方島産は殆ど変化を示さなかった。海水中に戻すと、百島産ではやや増加の傾向を示した (図 7)。

全魚体の ATP 量は、百島産の方が伯方島産よりも高く、しかも百島産は空中乾出の時間経過にともなって、急激に低下する群とゆっくりと低下する群に分けられたが伯方島産では急激な低下を示した。この一方、海水中に戻すと急激に低下する群はいずれも 3 分後は僅かに増加する傾向を示した (図 8)。

全魚体の ADP と AMP は同じ様な傾向を示し、何れも百島産の方が高く、しかも百島産では空中乾出に伴って増加する傾向を示すものと低下を示すものの 2 つの群に分けられたが、伯方島産では何れも若干の増加の傾向を示した。海水に戻すといずれも低下する傾向を示した (図 9, 10)。

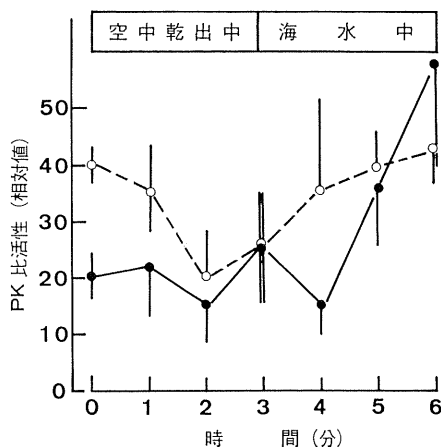


図 11 空中乾出及び海水の戻した時の筋肉の PK 活性の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

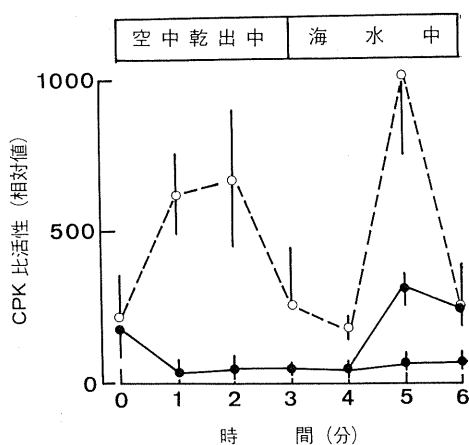


図 12 空中乾出及び海水に戻した時の筋肉 CPK 活性の変化
○: 伯方島産 ●: 百島産

筋肉中に含まれる PK 活性は、今までとは逆に、伯方島産の方が高く百島産の方が低い値を示した。空中乾出によって、伯方島産は低下するが百島産は変化を示さず、しかし、海水中に戻すと、両方の区とも増加を示した (図 11)。

筋肉の CPK 活性は百島産よりも伯方島産の方が高く、百島産が減少を示すに対して伯方島産は著しい増加を示し、再び海水中に戻すと、百島産は一時的に高くなるグループと変化しないグループに分けられたが、伯方島産は一時的に高い値を示した (図 12)。

考 察

空中乾出時の生化学的变化 空中乾出時において、ATP 含量は、伯方産で急激に減少し、百島産で急激に減少するものと、ゆっくり減少するものと二群に分かれた。空中乾出中、跳ねるためやその他の代謝に関わるエネルギー供給は ATP に依存しているが、本結果より、ATP の減少にともなって、百島産では主として FFA より ATP 生産を行い、伯方島産で CPK が活性化しクレアチン磷酸がクレアチンに変化することにより ADP より ATP を生産しているものと見なすことが出来る。当然、この間、肝臓や筋肉のグリコーゲンも乾出直後に減少することにより利用されているものと考えられるが、解糖系の酵素活性が活性化を示していない、全魚体のグリコーゲン量はほとんど変化していない、乳酸量は空中乾出時においては増加を示していないこと等から、空中乾出の当初のエネルギー源としてはグリコーゲンの役割は低いか、あるいは肝臓や筋肉に蓄えられている僅かな量を利用しているにすぎないものと考えられる。

しかし、全魚体のグリコーゲンも、2 分経過後、減少し出す。この時には、解糖系酵素が活性化しグリコーゲンの減少によりエネルギーを供給しているようである。この時点では、糖新生系は活性化を示さなかった。

以上のことから、空中乾出の基本的なエネルギー源は ATP およびクレアチン磷酸系であり、遊離脂肪酸を保持している系では、酸素がある当初の状態ですべてを利用していることが考えられる。これらが減少した時点で解糖系によりエネルギーを供給しているものと見なすことが出来る。

再び、海水中に戻すと、ATP は必ずしも増加を示さないが、ADP, AMP 何れも低下を示した。これに対して、伯方島産、百島産いずれも筋肉の CPK や PK 活性は増加を示した。また、肝臓中の PFK は活性化を示した。この時、肝臓や筋肉中に残存しているグリコーゲンやクレアチンリン酸等の代謝産物を分解し ATP を生産することによって、回復のためのエネルギーを生産しているものと考えることが出来る。

この様な代謝パターンは、従来、遊泳中の魚の代謝とは異なり¹¹⁾、空中乾出時の代謝は、魚が突進する際の短時間の代謝や低酸素下における代謝に似ている¹²⁾。従って、空中乾出時の跳ねること事体が、低酸素状態下での運動能力と低酸素に対する耐性であると考えることが出来る。

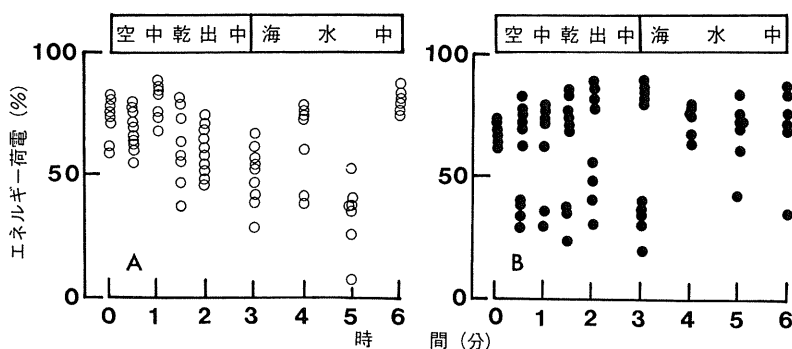


図 13 空中乾出及び海水中に戻した時のエネルギー荷電の変化
A: 伯方島産 B: 百島産

伯方島産と百島産の種苗の評価 伯方島産と百島産を比較すると、代謝生産物は百島産が伯方島産よりも高く、逆に酵素活性は百島産に比して伯方島産が高い。この実験に用いた種苗は、成長率がほとんど同じにもかかわらず、伯方島の方が百島よりも RNA/DNA が高く、さらに、細胞内物質の分解を司るライソゾームの標識酵素である酸性ホスファターゼ活性も高いという結果も得られている*。このことは、百島産の方がエネルギーレベルが高く、あるいは伯方島産の方が百島産に比して余分なエネルギーを消費し、且つ代謝回転が速いことを意味していると考えられる。この見地から兩種種苗間を比較すると、百島産の粗法的生産魚の方が集約的な伯方島生産魚よりも種苗として優れているものと推測できる。また、この結果は、空中乾出の結果と良い対応を示した。

次に、細胞のエネルギー生産と消費過程の程度を表すために ATP, ADP と AMP 濃度から次式に従ってエネルギー荷電を算出した¹³⁾。

$$\text{エネルギー荷電} = \frac{1}{2} \frac{([\text{ADP}] + 2[\text{ATP}])}{([\text{AMP}] + [\text{ADP}] + [\text{ATP}])}$$

百島産のマダイでは ATP やエネルギー荷電が二群に分かれ (図 13 B)、一方、伯方島産では平均的であった (図 13 A)。エネルギー荷電が高いと ATP 生産反応が低く、これが低いと ATP 生産反応が高いことを示している¹³⁾。空中乾出に当てはめてみると、空中乾出という負荷に対し、エネルギー荷電を有しているものは負荷に対応できる能力を維持しているものといえる。百島産は、空中乾出という負荷に対しエネルギー荷電が急激に低下するものと、ほとんど変化をしないものとの二群に分かれた。これに対し、伯方島産は急激な低下を示し、百島産の急激な低下を示す一群に近い変化を示した。このことは、百島産ではエネルギー的に負荷に抵抗性を持つ (健康であると考えられる) 魚と持たない魚がいることを示しており、伯方島産の大半は必ずしも健苗ではないことが推定される。これらの結果は、前述した百島産は代謝生産物が高く、伯方島産は酵素活性が高いという結果と良く対応するものである。

百島産が何故、二群に分かれるかについては、今実験で用いたマダイは生態的に変化をする時期に対応するため、摂餌や運動等の能力の差が生じ、その結果エネルギー蓄積等が異なり、その結果二群に分かれるということが考えられるが、必ずしも大きな魚が空中乾出という負荷に対して高いエネルギー電荷を有しているということもないので、さらに検討を有する課題であるだろう。

以上のように、百島産と伯方島産の飼育環境の相違によって、マダイにおける中間代謝生産物量や代謝の状態が異なり、また空中乾出時の代謝時のエネルギー産出形態やエネルギー負荷に対する抵抗性が百島産と伯方島産で大きく異なり、この反映がマダイの跳ね回数とその持続時間や海水中に戻した際の生残率に反映するものと考えられると、空中乾出法が、健苗の判定方法として有効に使用し得るものと考えられる。

通常、天然界では、流れ、餌料条件、水温等多くの負荷がかかっている。質の悪い魚は十分に負荷に対応できず、補食の対象物となるかあるいは死滅し、資源の減少につながってゆくものである。この様に考えると、今研究で得られた結果は、これらの種苗の放流後の生き残りを考える上で重要な示唆を与えているものと考えられる。

* 中野 広, 丸山敬悟, 松本 淳 (未発表)

謝 辞

本研究をまとめるに当たり、御校いただいた東海区水産研究所前生物化学部長 大西登史良氏に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 松宮義晴・金丸彦一郎・岡 正雄・立石 賢 (1984) マダイ人工放流魚と天然当歳魚の外部形態の比較, 日水誌, **50**: 1173-1178.
- 2) 松宮義晴・金丸彦一郎・岡 正雄・立石 賢 (1984) 判別関数を用いた外部形態によるマダイ人工放流魚と天然当歳魚との識別, 日水誌, **50**: 1179-1185.
- 3) 立石 賢・池田義弘 (1987) マダイ人工種苗と天然魚との胸鰭条数の差異, 水産増殖, **35**: 77-82.
- 4) 福原 修 (1984) タイ科魚類の放流種苗の質的評価, 昭和 58 年度 水産増養殖研究推進会議議事要録: 20-29.
- 5) 中野 広・白旗総一郎 (1988) サケの健苗性の評価について, 日水誌, **54**, 1263-1269.
- 6) 丸山敬悟・津村誠一・森岡泰三 (1986) マダイ種苗の健全性に関する試験—1. 粗放的生産魚と集約的生産魚の比較, 栽培技研, **15**(2): 157-167.
- 7) O. H. LOWRY, N. J. ROSENBEROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL (1955) Protein measurement with the folin reagent. *I. Biol. Chem.*, **192**: 265-275.
- 8) 吉川春寿 (1966) 臨床医化学—1 実験編, 協同医書出版社, 東京: 148 pp.
- 9) 北村元壮 (1973) 実践臨床化学, 医歯薬出版, 東京: 425 pp.
- 10) C. H. FISKE and Y. SUBBROW (1925), The colorimetric determination of Phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**: 375-400.
- 11) G. P. DOBSON and P. W. HOCHACHKA (1987), Role of Glycolysis in Adenylate depletion during work and recovery in teleost white muscle. *J. Exp. Biol.*, **129**: 125-140.
- 12) R. D. VETTER and R. E. HODSON (1982), Use of Adenylate Concentration and Adenylate Energy Charge as Indicators Hypoxic Stress in Estuarine Fish, *Can. J. Fish. Aqu. Sci.*, **39**: 535-541.
- 13) E. A. ドーズ (1975) 生物物理化学—I (中馬一郎ら訳), 共立出版, 東京: 120 pp.