

池産サクラマス0年魚の銀化に伴う生理的变化

誌名	北海道立水産孵化場研究報告 = Scientific reports of the Hokkaido Fish Hatchery
ISSN	02866536
著者	伴, 真俊 笠原, 昇 山内, 皓平
巻/号	42号
掲載ページ	p. 19-26
発行年月	1987年12月

池産サクラマス 0 年魚の銀化に伴う生理的变化

伴 真 俊・笠 原 昇・山 内 皓 平

(北海道大学水産学部) (北海道立水産孵化場) (北海道大学水産学部)

Physiological changes in the hatchery-reared
underyearling masu salmon (*Oncorhynchus masou*)
during smoltification

Masatoshi BAN

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

Noboru KASAHARA

(Hokkaido Fish Hatchery)

and Kohei YAMAUCHI

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

Abstract

Physiological adaptation to abrupt transfer to seawater of underyearling masu salmon (*Oncorhynchus masou*) reared in Mori branch of the Hokkaido Fish Hatchery were investigated. In fresh water rearing condition, change to silvery body color started at mid-June and smoltification rate was maximum (40%) at early-June. Changes in their number of chloride cells and follicle cell height of thyroid gland were not significantly different. When smoltification rate was high, some smolts could not survive after abruptly transferring to seawater. Gill $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity of transferred fish was highest from mid-June to mid-July while serum sodium excretion activity peaked at late-August. Results suggest that underyearling masu salmon smolts are still not capable of adapting to seawater.

天然のサクラマスは孵化後河川生活を経た後、1年魚として春に銀化を起こして降海し、海洋生活へ入る。これに対して、北海道立水産孵化場森支場で飼育されているサクラマスは1966年以来、継代池中飼育されているという特色に加えて、0年魚で銀化の特徴である体色の銀白化および尾鰭と背鰭末端部の黒色化を示す個体が多く出現する(阿刀田, 1974; 新谷, 1983)。これらの魚は次年に成熟するため、天然魚に比べて生活史が1年短いので、もしこの0年魚スモルトが放流魚として有用であれば、人工飼育期間を短縮できるばかりでなく、サクラマスの沿岸資源の増大に寄与するものと思われる。しかしながら、0年魚スモルトが機能的にも銀化魚としての特性を備えているかどうかについては、これまで十分な検討がなされていない。従って、本研究では池産0年魚スモルトの生理的特性を知る上で海水適応能に関する基礎的観察を行った。

材料および方法

供試魚：本実験に供したサクラマス (*Oncorhynchus masou*) は、北海道立水産孵化場森支場で継代飼育されている0年魚である。1985年5月から7月まで、飼育池から無作為に取り上げた魚のうち体色が銀白化したものを計測し、銀化率を調べた。各月の採集時に実験魚の尾叉長を測定した後、尾柄部切断によって採血した。また、組織学的観察のため甲状腺および第2鰓弓を摘出し、ブアン氏液で固定した。採血した血液は、3000 g (室温) で15分間遠心分離し血清を得た後、 -40°C に保存した。生理的变化の観察は、以下の様に行った。

海水移行実験：海水移行実験は月周期に基づいて行われた。移行に際し、実験魚を北海道立水産孵化場森支場より輸送し、北海道大学水産学部の1 t水槽中の海水 (33 ‰, 12°C) に直接投入した。海水移行24時間後および96時間後に生残率を調べた。また、海水移行に伴う血中ナトリウム濃度および鰓の $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{ATPase}$ 活性を調べるため、移行前、移行24時間後および96時間後に、尾柄部切断により採血すると共に、左側の第1および第2鰓弓を摘出した。

血中ナトリウム濃度の測定：前述の通り保存されていた血清を、解凍後蒸留水で1001倍に希釈し、日立518型原子吸光度計で測定した。

鰓の $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{ATPase}$ 活性の測定：魚より摘出した鰓から鰓葉を切り離し、湿重量を測定した後、約20倍量の冷 0.25 M-sucrose (5 mM-EDTA を含む) と共にホモジナイズし酵素活性の測定に供した。活性の測定では、凍結保存4日以内の試料 0.1 ml を 0.4 ml の反応液 I (imidazol 17.03 g l^{-1} , ATP 7.57 g l^{-1} , NaCl 19.74 g l^{-1} , KCl 12.12 g l^{-1} , MgCl_2 4.76 g l^{-1} の混液) および反応液 II (I 液+ouabain (sigma) 1.86 g l^{-1}) に加え、 37°C で20分間反応させた。反応停止には、冷 Iron-TCA 液 10 ml を用いた。遊離した無機磷は、GOLDENBERG and FERNANDOZ (1966) の方法により、又タンパク質は BRADFORD (1976) の方法により定量した。酵素単位は、タンパク質 1 mg 当たりの1時間に遊離した無機磷の mol 数 ($\mu\text{mols-Pi/mg-protein/hr}$) で表示した。

組織学的観察：ブアン氏液で固定した甲状腺および鰓弓は、常法に従って脱水した後、パラフィン包埋し $5\text{ }\mu\text{m}$ の切片を作成した。それらには、ヘマトキシリン-エオシンの2重染色を施し、鰓葉 1 mm^2 中に観察される塩類細胞数および甲状腺ろ胞細胞の高さを測定した。

結 果

1. 成長および銀化魚出現率の推移

1985年3月から10月までの日長変化および飼育池の水温変化を Fig. 1 に示した。飼育池の水温 (午前10時測定) は、3月においては1日の 7.4°C から31日の 9.7°C と1ヵ月で 2.2°C の上昇を示した。その後水温は漸増し、8月3日には 16.5°C の最高を示した。次いで水温は、徐々に低下した。0年魚の平均尾叉長は、実験開始の5月中旬から6月初旬までは、8 cm ほどの長さを維持しているが、6月下旬には 10.8 cm と急激に増加した。その後、緩慢な成長が続いたが、7月下旬から成長を早め、9月下旬には 15.5 cm まで成長した (Fig. 2)。

銀化魚の出現は、1年魚に比べ約2ヵ月遅れ、6月下旬に初めて銀化魚が観察された。7-8月には銀化率は 58.3% を示したが、その後10月8日には体色の銀白化の醒めがみられ、銀化率は 39.8% に低下した (Fig. 3)。

池産サクラマス0年魚の銀化

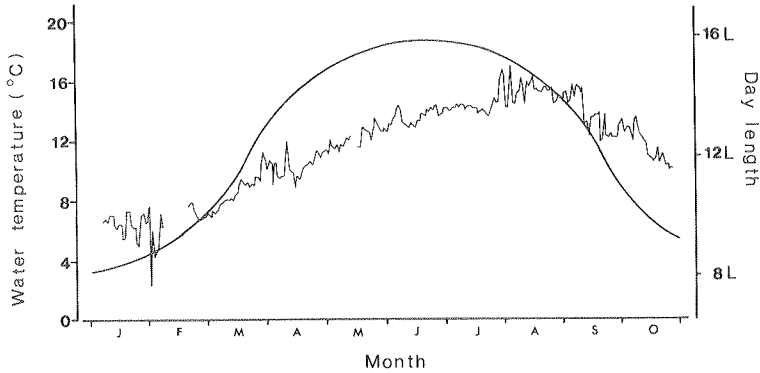


Fig. 1 Seasonal pattern of day length and water temperature of the spring water supplying the hatchery. Curved line shows the day length. Fold line shows temperature.

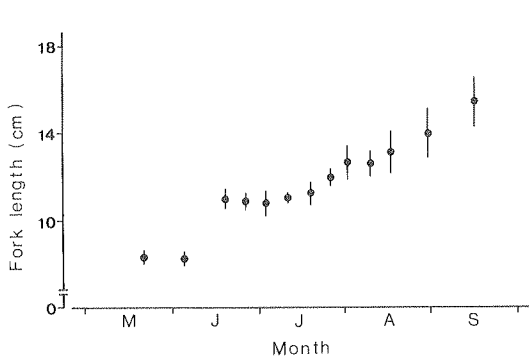


Fig. 2 Growth in fork length of underyearling masu salmon used for experiment. The vertical bars represent the standard error.

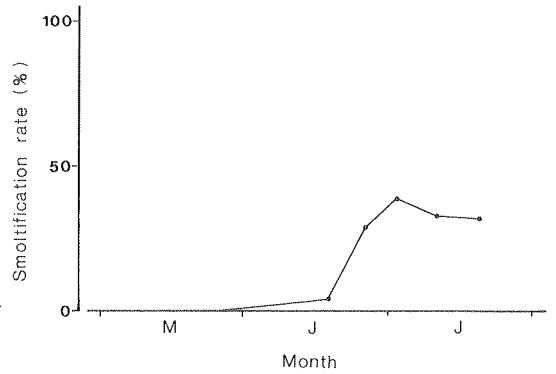


Fig. 3 Seasonal changes of smoltification rate of hatchery reared underyearling masu salmon.

2. 海水適応能の発現

i) 海水移行後の生残率

0年魚群の海水適応能は、1年魚群のそれに比べ低かった。即ち、5月では全ての個体が海水移行24時間後までに死亡した (Fig. 4)。6月上旬では、海水移行24時間後で33%の個体が生残したが、96時間後まで生残した個体は認められなかった。6月中旬には、海水移行96時間後まで生残する個体が出現し始め62%に達した。その後、移行された魚は、7

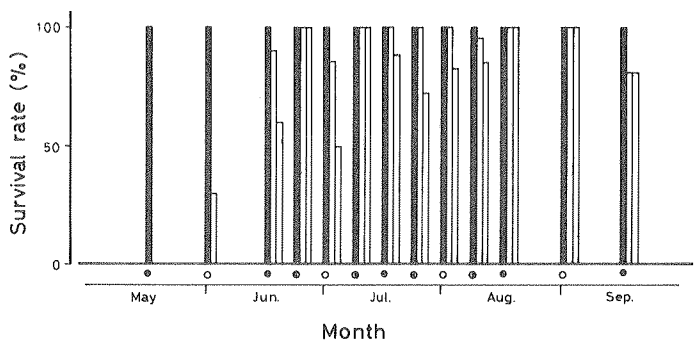


Fig. 4 Changes in survival rate in underyearling masu salmon with direct transfer to absolute seawater. ■ : zero h, □ (left): 24h □ (right): 96h after transfer. ○ : full moon, ● : new moon, ◐ : half moon.

月2日以外24時間は生存できたが、96時間後まで全ての個体が生存したのは6月25日、7月2日、8月16日および

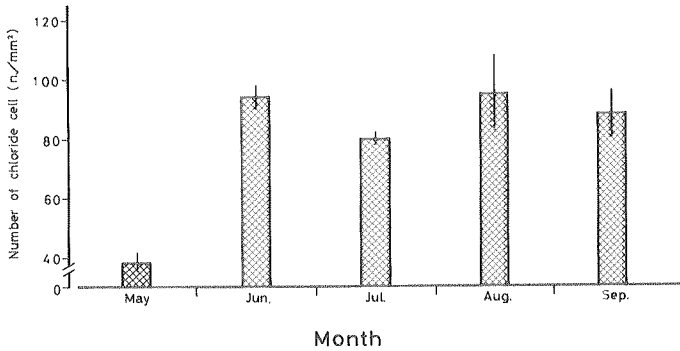


Fig. 5 Changes in number of chloride cell in underyearling masu salmon during parr-smolt transformation. The vertical bars represent the standard error.

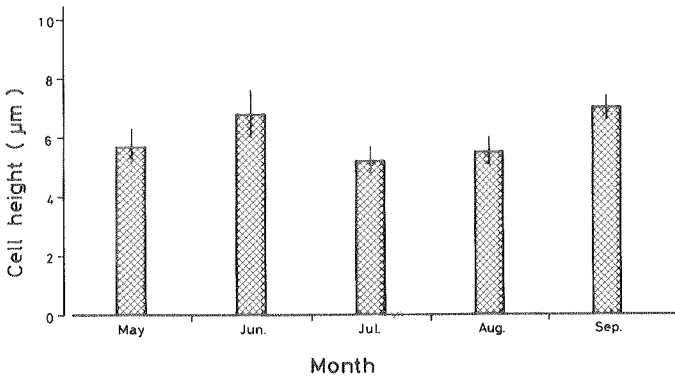


Fig. 6 Changes in height of follicle cell of thyroid gland in underyearling masu salmon during parr-smolt transformation. The vertical bars represent the standard error.

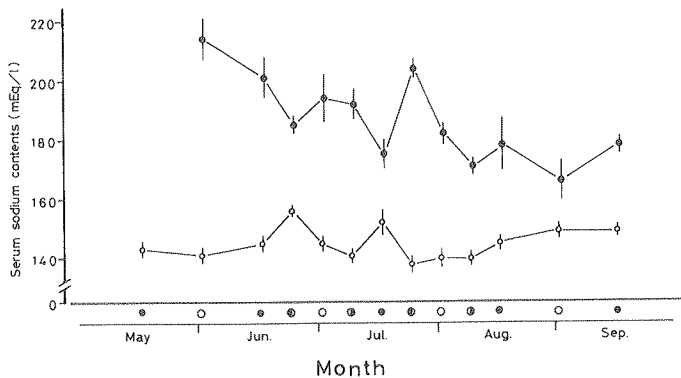


Fig. 7 Changes in serum sodium content in underyearling masu salmon with direct transfer to seawater. ○: zero h, ●: 24h after transfer. ○: full moon, ●: new moon, ⊙: half moon. The vertical bars show the standard error.

8月30日だけであった。

ii) 鰓と甲状腺の組織学的変化

鰓の塩類細胞：サクラマスに分布する塩類細胞は、鰓を構成する上皮細胞より著しく大きく、直径13-17µmであり、細胞質がエオシンに淡染される細胞として識別された。体色の銀白化した個体がまだ出現しない5月中旬の0年魚群では、塩類細胞が二次鰓弁上およびその基部に分布していた。銀化率が高い、7月中旬の個体の塩類細胞は、鰓弁部に集中していた。鰓弁部に存在する塩類細胞数の月変化をFig. 5に示した。5月中旬では36細胞/mm²であるが、銀白化個体の増加に伴い増え8月中旬には95細胞/mm²に達した。しかし、銀白化が退色し始める9月中旬でも細胞数の減少はみられなかった。

甲状腺：他の硬骨魚と同様、サクラマスの甲状腺は、ろ胞状を呈しエオシン陽性のコロイド様物質を充満させていた。甲状腺ろ胞細胞の高さの月変化をFig. 6に示した。0年魚群ではろ胞高の月変化は少なく、5-8µmの間の高さを維持した。

iii) 海水移行による血中ナトリウム濃度の変動

0年魚群の海水移行に伴う血中ナトリウム濃度の変化をFig. 7に示した。5月中旬から9月中旬にかけて、淡水飼育群の血中ナトリウム濃度は、139-157 mEq/lであった。しかし、海水移行24時間後まで生存した個体

の血中ナトリウム濃度は、6月中旬の214 mEq/lから8月中旬の166 mEq/lまで、多少の変動をしながら緩慢な減少を見せるのみで、淡水レベルまでは下がらなかった。海水移行96時間後まで生存した個体の値も、これと同様の

池産サクラマス0年魚の銀化

傾向を示した (Fig. 8)。ただし、5月中旬に関しては、海水移行24時間後までに全ての個体が死亡したため、値は得られなかった。

iv) 鰓の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ 活性

淡水中および海水移行96時間後における、5月から9月までの鰓の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ 活性の変化を Fig. 9 に示した。海水移行96時間後の値は、6月下旬から7月下旬にかけて $7\text{-}8 \mu\text{mols-Pi/mg-protein/hr}$ の高い値を示したが、7月下旬以降は $5 \mu\text{mols-Pi/mg-protein/hr}$ 前後の低値に下がった。淡水中での値はこれと並行して、約 $2\text{-}3 \mu\text{mols-Pi/mg-protein/hr}$ ほど低い値を取った。

考 察

河川での天然サクラマスは1年魚として銀化を起すが、北海道立水産孵化場森支場で飼育されている池産サクラマスでは、0年魚で銀化を起す個体が多く出現する(阿刀田, 1974; 新谷, 1983)。この現象は他でもみられ、養殖研究所日光支所で飼

育されている小出系サクラマスでも同様に0年魚スモルトが出現している(佐藤ら, 1985)。この様な現象の起因についてはこれまで十分に解明されていないが、森支場では冬期間、湧水を飼育水として使用しているため、この冬期間の自然河川に比べて高い水温が成長を早め、その結果、0年魚スモルトが出現したと考えられている(阿刀田, 1974; 新谷, 1983)。事実、成長と銀化が深く関係している (FOLMER and DICKHOFF, 1980 参照) ことはよく知られている。我々は、1985年から3年間体成長の異なる0年魚を作出し、銀化出現時期および銀化率を調べたところ、成長が良い群では銀化率が増加した(笠原ら, 未発表)。更に、佐藤ら(1986)は水温上昇を調節することにより、サクラマスの銀化率を増加させた。これらのことは、水温や成長が銀化現象の発現に関連している事を強く示唆している。しかし、笠原ら(未発表)は上述の様に銀化率を増加させたものの、銀化出現時期を早めることはできなかった。久保(1965)は、水温を $4\text{-}5^\circ\text{C}$ から 14°C に上昇させる事によってサクラマスの銀化出現時期を早めたが、熊崎ら(1985)や佐藤ら(1986)も同様な報告をしている。このことは、水温が銀化に関与しているように思われ

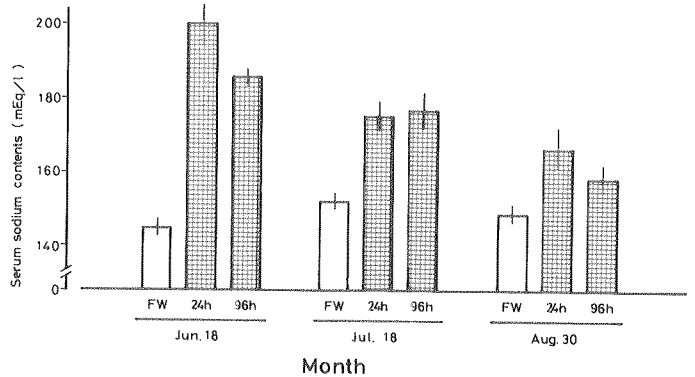


Fig. 8 Changes in serum sodium content in underyearling masu salmon with direct transfer to seawater. F.W.: zero h, 24h and 96h : 24h and 96 hours after transfer. The vertical bars show the standard error.

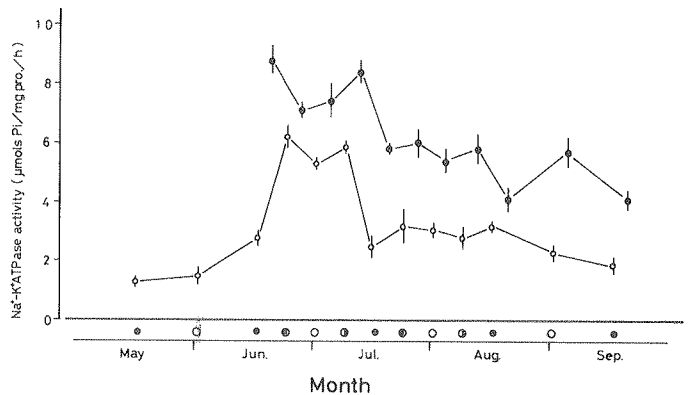


Fig. 9 Changes in gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ activity in underyearling masu salmon with direct transfer to seawater. \ominus : zero h, \bullet : 96h after transfer, \circ : full moon, \bullet : new moon, \oplus : half moon. The vertical bars show the standard error.

るが、ただ、一定の高水温飼育だけでは必ずしも銀化誘起を起こさない(太田ら、未発表)。今回の実験結果だけでは、0年銀化魚に与える水温の影響までは言及できないが、今後、飼育水温上昇の期間を含めた、水温の銀化現象におよぼす影響について詳細に検討すべきであろう。

0年魚スモルトの鰓の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ 活性は1年魚のそれと同様、銀化に伴って増加し、それらの値も1年魚のそれとほぼ同値であった。さらに、海水移行後の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ 活性の上昇も1年魚のそれと同様であった(伴ら、1987)しかし、0年魚の海水移行後の生残率および血中ナトリウム濃度によって調べた海水適応能は1年魚のそれ(伴ら、1987)に比べ、劣っていた。また、0年魚スモルトでは血中ナトリウム排出能が最も高まる時期と、浸透圧調節に関与する鰓の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ 活性が高まる時期にずれが認められた。1年銀化魚ではこのようなことはなく、両者が同一時期に高まる(伴ら、1987)。血液の浸透圧調節に関与する組織は鰓の他に、鰓蓋膜、皮膚、胃腸管、腎臓や膀胱膜等が知られて(LORETZ *et al.*, 1982)おり、これらの協同作用によって海水に対する抵抗性が增大する可能性がある。今回の実験結果は、0年銀化魚における上述のような器官の発達段階に、時期的ずれが生じている可能性を示唆しているので、今後は鰓以外の諸器官の銀化に伴う変化をも同時に調べることが必要であろう。

サケ科魚類の銀化変態現象に、甲状腺ホルモンが何らかの役割を担っている事は良く知られている(HOAR, 1976; FOLMAR and DICKHOFF, 1980; WEDMEYER *et al.*, 1980 参照)。即ち、形態学的には銀化に伴って、甲状腺ろ胞細胞高が高くなり、また、その細胞核も大きさを増し(HOAR, 1939; CLARKE and NAGAHAMA, 1977; NAGAHAMA *et al.*, 1982)、細胞が活性化している状態を示す。また、血中の甲状腺ホルモンは、銀化に伴ってその濃度を増す(BOEUF and PRUNET, 1985; DICKHOFF *et al.*, 1982; FOLMAR and DICKHOFF, 1979; FOLMAR and DICKHOFF, 1981; GRAW *et al.*, 1981; NAGAHAMA *et al.*, 1982)。サクラマスにおいても銀化の進行に従って、血中甲状腺ホルモン量は増加する(NISHIKAWA *et al.*, 1979; YAMAUCHI *et al.*, 1984, 1985)。しかしながら、本実験では組織学的には0年魚スモルトの甲状腺細胞の活性は、1年魚のそれ(伴ら、1987)に比べて低い事を示唆し、また血中の甲状腺ホルモン(サイロキシン)量も低値であった(山田ら、未発表)。従って、このことが上述の様に、1年魚スモルトに比べて、0年魚スモルトの海水適応能が低いことと、何らかの関係があるのかもしれない。

しかしながら、甲状腺ホルモンは体色の銀白化には有効である(HOAR, 1976; FOLMAR and DICKHOFF, 1980)が、海水適応能には直接的には無効である(MIWA and INUI, 1983)。更に、FOLMAR and DICKHOFF (1980)とVIRTANEN and SOIVIO (1985)は、血中の甲状腺ホルモンの上昇と鰓の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ 活性の増加とは銀化時に同時に起きるものの、各々別の現象であると報告した。これらは、甲状腺ホルモンが浸透圧調節に直接的には無関係であることを示唆しているものの、ホルモン投与による海水適応能発達の実験では、甲状腺ホルモンを併用投与することにより、海水適応能が更に増加する(MIWA and INUI, 1983)ので、甲状腺ホルモンは間接的に浸透圧調節に何らかの関与をしている可能性は、十分に考えられる。従って、森支場の0年魚スモルトが1年魚スモルトに比べて海水適応能が劣っているのは、甲状腺の低活性に起因するの否か、十分に検討を要する。

以上論議した様に、森支場で継代飼育されている池産サクラマスの0年魚スモルトは、形態学的には銀化の特徴を示すものの、海水適応能に関しては1年魚スモルトに比べて機能が劣っている可能性が示唆された。従って、今後0年魚スモルトの生理学的特性を調べ、これらにどのような環境あるいは生理的要因を与えると1年魚スモルトと同様になるのか、多方面から慎重に検討する必要がある。

池産サクラマス0年魚の銀化

要 約

北海道立水産孵化場森支場で継代飼育されているサクラマス0年魚の、銀化に伴う海水適応能の変化が調べられ、以下の結果が得られた。

- 1) 体色の銀白化は5月中旬に始まった。銀化率は、6月初旬に約40%のピークを迎えた。
- 2) 0年魚スマルトの中には、銀化率のピーク時でも海水中で96時間以上生存できない個体があった。
- 3) 塩類細胞数および甲状腺ろ胞細胞高には、6月から9月まで大きな変化が認められなかった。
- 4) 鰓の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ 活性は、6月中旬から7月中旬まで高値を維持したが、海水移行後の血中ナトリウム濃度は8月下旬に最も低く、この時期に海水適応能が上昇することが示唆された。
- 5) 以上のことから0年魚スマルトは、海水適応能が未発達であることが論議された。

謝 辞

本研究に終始御指導と御助言を頂いた、北海道大学水産学部、富士昭教授に深謝を表す。また、本研究の遂行にあたり、種々の御批判と御助言を頂いた同学部、高橋裕哉教授、中尾繁助教授に心から謝意を表す。

文 献

- 阿刀田光昭(1974). 池産サクラマスの生態に関する知見. 1種苗の初期生残, 0年魚の分化及び親魚の卵数について. 水産孵化場研究報告, **29**, 1-17.
- 新谷康二(1983). 池産サクラマスによる種卵生産事業の現況. 魚と水, **20**, 1-7.
- 伴 真俊・笠原 昇・山内皓平(1987). 池産サクラマス1年魚の銀化に伴う生理的变化. 北海道立水産孵化場研究報告, **42**, 27-35.
- BOEUF, G. and PRUNET, P. (1985). Measurements of gill ($\text{Na}^+\text{-K}^+$)-ATPase activity and plasma thyroid hormones during smoltification in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, **45**, 111-119.
- BRADFORD, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254.
- CLARKE, W. C. and NAGAHAMA, Y. (1977). Effect of premature transfer to sea water on growth and morphology of the pituitary, thyroid, pancreas, and interrenal in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Zoology*, **55**, 1620-1630.
- DICKHOFF, W. W., FOLMAR, L. C., MIGHELL, I. L. and MAHNKEN, C. V. W. (1982). Plasma thyroid hormones during smoltification of yearling and underyearling coho salmon and yearling chinook salmon and steelhead trout. *Aquaculture*, **28**, 39-48.
- FOLMAR, L. C. and DICKHOFF, W. W. (1979). Plasma thyroxine and gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ changes during seawater acclimation of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **63A**, 329-332.
- FOLMAR, L. C. and DICKHOFF, W. W. (1980). The parr-smolt transformation smoltification and seawater

- adaptation in salmonids. A review of selected literature. *Aquaculture*, **21**, 1-37.
- FOLMAR, L. C. and DICKHOFF, W. W. (1981). Evolution of some physiological parameter as predictive indices of smoltification. *Aquaculture*, **23**, 309-324.
- GOLDENBERG, H. and FERNANDOZ, A. (1966). Simplified method for the estimation of inorganic phosphorus in body fluids. *Clinical Chemistry*, **12**, 871-882.
- GRAW, E. G., DICKHOFF, W. W., NISHIOKA, R. W., BERN, H. A. and FOLMER, L. L. (1981). Lunar phasing of the thyroxine surge preparatory to seawater migration of salmonid fish. *Science*, **21**, 607-609.
- HOAR, W. S. (1939). The thyroid gland of the atlantic salmon. *Journal of Morphology*, **65**, 257-295.
- HOAR, W. S. (1976). Smolt transformation: evolution behavior and physiology. *Journal of the Fishery Reserch Board of Canada*, **33**, 1234-1252.
- 熊崎 博・田代文男 (1985). アマゴおよびヤマメのスマルト化に及ぼす飼育条件の影響について. 岐阜水産試験場研究報告, **39**, 1-16.
- 久保達郎 (1965). サクラマス幼魚の変態に及ぼす高水温の影響. 北海道さけ・ますふ化場研究報告, **19**, 25-32.
- LORETZ, C. A., COLLIO, N. L., RICHMAN III, N. H. and BERN, H. A. (1982). Osmoregulatory changes accompanying smoltification in coho salmon. *Aquaculture*, **28**, 67-74.
- MIWA, S. and INUI, Y. (1983). Effect of thyroxine and thiourea on the parr-smolt transformation of Amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Bulletin of the National Research Institute. Aquaculture*, No. 4, 41-52.
- NAGAHAMA, Y., ADACHI, S., TASHIRO, F. and GRAW, E. G. (1982). Some endocrine factors affecting the development of seawater tolerance during the parr-smolt transformation of the amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*. *Aquaculture*, **28**, 81-90.
- NISHIKAWA, K., HIRASHIMA, T., SUZUKI, S. and SUZUKI, M. (1979). Changes in circulating L-thyroxine and L-triiodothyronine of the masu salmon, *Oncorhynchus masou*, accompanying the smoltification, measured by radioimmunoassay. *Endocrinologia Japonica*, **26**, 731-735.
- 佐藤良三・渋谷隆之・阿久津梅二 (1985). サクラマス0年魚成熟雄群から生じた1年魚スマルト. *Bulletin of the National Research Institute. Aquaculture*, No. 8, 15-22.
- 佐藤良三・渋谷隆之・阿久津梅二 (1986). 飼育水温の違いによる0年魚のスマルト化. *Bulletin of the National Research Institute Aquaculture*, No. 9, 21-27.
- VIRTANEN, E. and SOIVIO, A. (1985). The paterms of T₃・T₄, cortisol and Na⁺-K⁺ATPase during smoltification of hatchery-reared *Salmo salar* and comparison with smolt. *Aquaculture*, **45**, 197-209.
- WEDMEYER, G. A., SAUNDARS, R. L. and CLARKE, E. C. (1980). Environmental factors effecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonido. *Marine Fisheries Review*, **42**(6), 1-14.
- YAMAUCHI, K., KOIDE, N., ADACHI, S. and NAGAHAMA, Y. (1984). Changes in seawater adaptability and blood thyroxine concentrations during smoltification of the Masu salmon, *Oncorhynchus masou*, and Amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*. *Aquaculture*, **42**, 256-274.
- YAMAUCHI, K., BAN, M., KASAHARA, N., IZUMI, T., KOJIMA, H. and HARAKO, T. (1985). Physiological and behavioral changes occurring during smoltification in the masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Aquaculture*, **45**, 227-235.