

カラフトマス稚魚の海水適応に関する研究

誌名	北海道立水産孵化場研究報告
ISSN	02866536
著者名	本間,正男
発行元	北海道立水産孵化場
巻/号	37号
掲載ページ	p. 23-32
発行年月	1982年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



カラフトマス稚魚の海水適応に関する研究

本 間 正 男
(北海道立水産孵化場)

Studies on the sea Water Adaptation of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in the Early stages.

Masao HONMA
(Hokkaido Fish Hatchery)

Abstract

It is well known that the fry of pink salmon migrate to sea shortly after hatching. However, there is few information on changes in sea water adaptability of pink salmon in the early stages. This investigation was carried out to study the relationship between sea water adaptability of pink salmon in the early stages and their size or time spent in fresh water.

The eyed period eggs, which were about 7 days before hatching, and most of alevins were stenohaline. But, most of fry, which were 60 days from hatching, were able to live in pure sea water when they were transfered abruptly to it from fresh water. It has been recognized that the gill of euryhaline teleost might participate the osmoregulatory adaptation during their seaward migration. In this investigation, a slight increase of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ activity in the gills was observed in the pink salmon fry adapted to sea water. This enzyme activity increased up to the 7th day of sea water adaptation, the value of 7th day was about 2 times higher than that of fish adapted to fresh water. A similar increase in the intestinal alkaline phosphatase (ALK-Pase) activity was observed in the pink salmon fry during the course of sea water adaptation. This enzyme activity was higher by 4.5 fold in sea water adapted fish for 7 days than in fresh water adapted fish.

The degree of activation of gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ and intestinal ALK-Pase by sea water adaptation was higher in chum salmon fry than in pink salmon fry. This data suggest that the sea water adaptability of pink salmon fry is stronger than that of chum salmon fry.

All of feeding pink salmon fry adapted well to sea water, whereas some of fasting pink salmon fry failed to survive. Therefore, to keep pink salmon fry in a hatchery healthy is responsible for their smooth adaptation to sea water.

カラフトマスは浮上後間もなく降海行動を開始し、しかも淡水域での滞留期間は短く、河川内ではほとんど餌を取らず海に降る習性を有す魚である。この事実からカラフトマスは孵化後間もない頃から海水適応に対する準備ができていないかと推察されている。サケ・マス類の浸透圧調節に関する研究は多く、KASHIWAGI and SATO (1969) はサケの海水に対する適応能力は成長と共に増大し、卵嚢を吸収した稚魚では100%海水中

でも生存可能であると報告している。しかし、IWATA (1982) は、サケ稚魚を淡水中で長く飼育する程、海水適応能力が弱くなる可能性を示唆している。カラフトマス稚魚の浸透圧調節に関する基礎的なデータはサケ稚魚の場合と比べて少ない。著者は宗谷支場に収容されたカラフトマスの卵および稚魚を使いその海水抵抗性、浸透圧調節器官の機能(状況)について知見を得たので結果を報告する。

実 験 方 法

供 試 魚

供試魚のカラフトマス稚魚は昭和55年10月14日に北見幌別、昭和56年10月12日に雄武、幌内で採卵し宗谷支場に収容して孵化・飼育を行なったものを使用した。比較のために使用したサケ稚魚は昭和56年10月3日に西越で採卵し宗谷支場に収容して孵化・飼育を行なったものである。実験期間中の水温は6~9℃で飢餓実験以外は適宜配合飼料を与えた。

孵 化 率

積算水温から7日以内に孵化すると思われた発眼卵を各濃度の海水(純海水、 $\frac{1}{2}$ 海水および $\frac{1}{4}$ 海水)の水槽中に各々30粒収容し、孵化の経時的变化を調べた。なお、対照として淡水の入った水槽にも30粒の発眼卵を収容した。

体水分量

卵および孵化後20日、40日、60日、80日、100日、120日そして140日目の稚魚を各々10尾使用した。水分量は魚体を約110℃で24時間乾燥することにより求めた。

各濃度海水中の生残変移

孵化後1日、10日、30日および60日目の稚魚を各々30尾供試し、各濃度海水中に30日間飼育し、その生残変移について調べた。

Na⁺-K⁺・ATase の活性測定

5尾の稚魚から鰓を切り出しリンゲル液で洗浄後、水分を濾紙で除き総重量を測定した。次に約10倍量の冷0.25M-sucrose (5mM-EDTAを含む)と共にホモジナイズし、1000×g、5℃、10分間遠心して、上澄液を酵素活性測定の供試酵素液とした。酵素活性の測定は酵素液0.1mlを0.4mlの反応液I(40mM Tris-HCl緩衝液、100mM NaCl、5mM MgCl₂、20mM KCl、3mM Tris ATP:pH7.5)およびII(40mM Tris-HCl緩衝液、5mM MgCl₂、20mM KCl、3mM Tris ATP:pH7.5)に添加し、37℃、30分間反応させた。反応の停止には30%トリクロール酢酸0.5mlを使用した。酵素作用により遊離した無機磷Piは、FISKE and SUBBAROW法(1925)、蛋白質はLOWRY法(1951)により定量した。酵素単位は、蛋白質mg当りの無機磷のμg数で表示した(μg-Pi/mg-Protein·hr)。測定は5尾を1グループとし4でグループ(合計20尾)について行なった。

アルカリ性フォスファターゼ(ALK-Pase)活性測定

5尾の稚魚の消化管を切り出し、更に食道、胃および腸に分け各々を切開し、リンゲル液で内外を洗浄した。次に水分を濾紙で除き重量を測定後、約10倍量の冷0.25M-sucrose液と共にホモジナイズし、遠心(1000×g、

5℃, 10分間) した。遠心により得られた上澄液を酵素活性測定のための供試酵素液とした。酵素活性の測定は酵素液 0.2ml を使い、BESSEY and LOWRY 法 (1946) により行ない、蛋白質の定量は LOWRY 法 (1951) に拠った。酵素単位は、蛋白質量 mg 当りの遊離 p-ニトロフェノール P-NP の μM 数として表示した (μM p-NP/mg-protein \cdot hr)。測定は 5 尾を 1 グループとし 3 グループ (合計 15 尾) について行なった。

結 果

魚体水分量, 魚体重の変動

成長に伴う魚体水分量および魚体重の測定結果を Fig. 1 に示した。孵化直後は約 57% であった水分量はその後漸増する傾向を示し、20 日目で約 62%, 40 日目で約 74%, 60 日目で 78%, 80 日目で約 82% となり、60 日目以降は 78~82% 内外の一定した値となった。魚体重も同様に成長と共に漸増する傾向を示し、特に 40 日目に平均 0.13 g であった体重が 60 日目には平均 0.16g, 120 日目は平均 0.20g と急激に増加した。

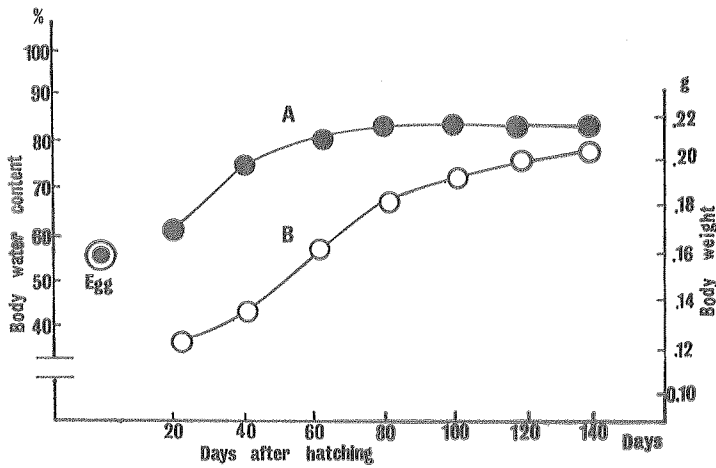


Fig. 1. Body weight (B) and water contents of the body (A) of the alevins and fry of pink salmon reared in fresh water.

卵の塩分抵抗試験

孵化約 7 日目の発眼卵を供試して孵化に及ぼす海水の影響を調べた結果を Fig. 2 に示した。淡水中に収容した卵は順調に孵化し (孵化率 100%), その後継続飼育しても斃死するものはなかった。同様な結果は $\frac{1}{2}$ 海水中に収容した卵についても観察された。 $\frac{1}{2}$ 海水, 純海水中に収容した卵は, 収容後 1~3 日目にかけて孵化したが, 孵化率は純海水中で 35%, $\frac{1}{2}$ 海水中で 60% であった。孵化の状態は完全に殻から出ないものが多く, 特に純海水中では頭部のみを殻から出して斃死するものが多く, しかも孵化した稚魚は孵化後 24 時間以内に全数が斃死した。

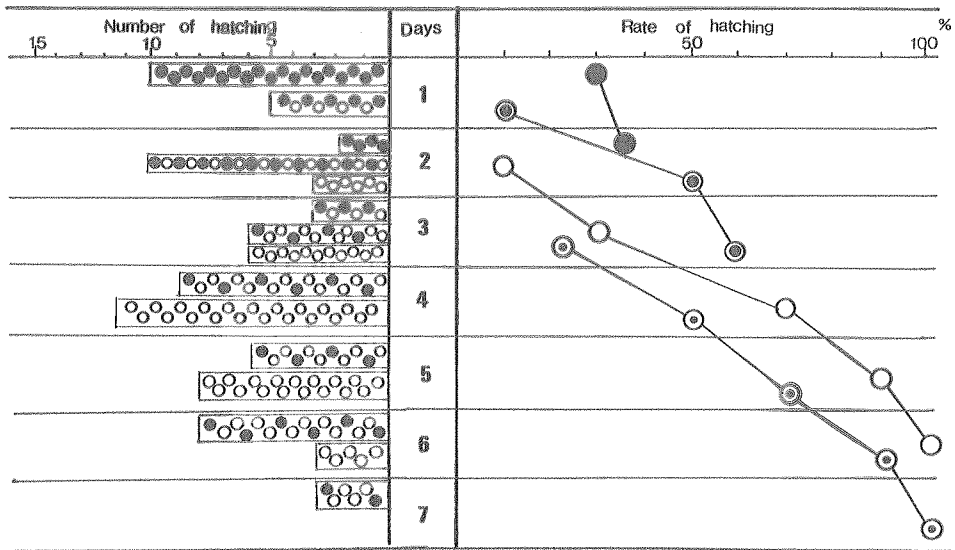


Fig. 2. Number and cumulative percentage of hatching of the eyed period eggs of pink salmon transferred to various concentrations of sea water from fresh water.

- Indicates sea water.
- ◐—◐ Indicates 1/2 sea water.
- ◑—◑ Indicates 1/3 sea water.
- Indicates fresh water.

稚魚の塩分抵抗試験

孵化後の日数が異なる稚魚を濃度の異なる海水中に移し、その後の生残動向を調べた結果が、Table 1. および Fig. 3 である。孵化後60日目の稚魚は、外観上腹部の癒合したものもあったが、腹腔内に卵黄は残存してい

Table 1. Changes in the size of fish used in this experiment and the survival rate of different stages of pink salmon at 30 days after transfer to various concentrations of sea water fresh water.

Age	Body length (mm)	Body weight (mg)	Residual yolk (%)	Survival rate			
				sw	1/4sw	1/2sw	1/3sw
1 day	19—21*	91—94*	51—65*	0	0	0	50
10 days	22—23	108—122	44—50	0	0	45	95
30 days	24—27	116—140	27—34	0	50	85	95
60 days	29—32	130—149	14—18	45	85	100	100

* Indicates the ranges of 20 fish.

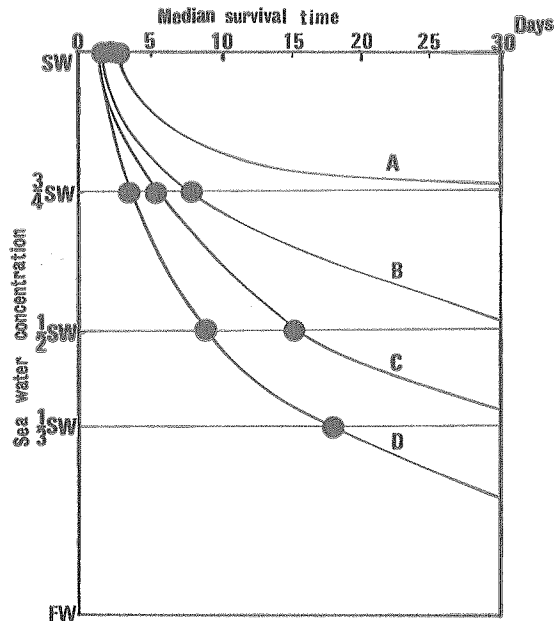


Fig. 3. Median survival time of different stages of pink salmon transferred to various concentrations of sea water from fresh water.

- A indicates 60 days from hatching.
- B indicates 30 days from hatching.
- C indicates 10 days from hatching.
- D indicates 1 day from hatching.

た（卵黄残存率14~18%）。しかし、海水に対する抵抗性は強く、直接淡水から純海水に移行させても試験期間中（海水移行後30日間）の減耗は約半数であった。孵化後30日目の稚魚は、腹部癒合が不完全であり、卵黄残存量が27~34%となっていたにもかかわらず、海水に対する抵抗性は強く、 $\frac{1}{4}$ 海水中でも試験期間中、その約半数は生残した。このように海水に対する抵抗性は、孵化後日数を経るにつれて増強することが判明した。高濃度海水中ほど斃死する稚魚は多く、その斃死は各群ともに淡水から移行後の初期に集中し、この期を経た後では大量に斃死することはなかった。

鰓 $\text{Na}^+-\text{K}^+ \cdot \text{ATPase}$ 活性の変動

孵化後90~100日目、体重0.18~0.20gのカラフトマス稚魚および、体重0.32~0.40gのサケ稚魚の海水移行に伴う鰓 $\text{Na}^+-\text{K}^+ \cdot \text{ATPase}$ 活性について調べた結果を Fig. 4 に示した。カラフトマス稚魚の活性は淡水飼育時には $1.35 \sim 1.46 \mu\text{g Pi/mg-protein}\cdot\text{hr}$ で、海水移行に伴い増加する傾向を示したが5日目以降は一定の値 ($2.35 \sim 2.61 \mu\text{g Pi/mg-protein}\cdot\text{hr}$) となった。海水飼育を2週間行なった稚魚を再び淡水に戻すと、活性は漸減し、7日目には実験開始時（淡水飼育）に近い値 ($1.45 \sim 1.63 \mu\text{g Pi/mg-protein}\cdot\text{hr}$) となった。一方、サケ稚魚の場合、海水移行に伴う活性の増加が著しく、淡水飼育時に $1.20 \sim 1.51 \mu\text{g Pi/mg-protein}\cdot\text{hr}$ であった値は、一定値となった5日目に、約3倍の値 ($3.75 \sim 4.01 \mu\text{g Pi/mg-protein}\cdot\text{hr}$) となった。次に、海水

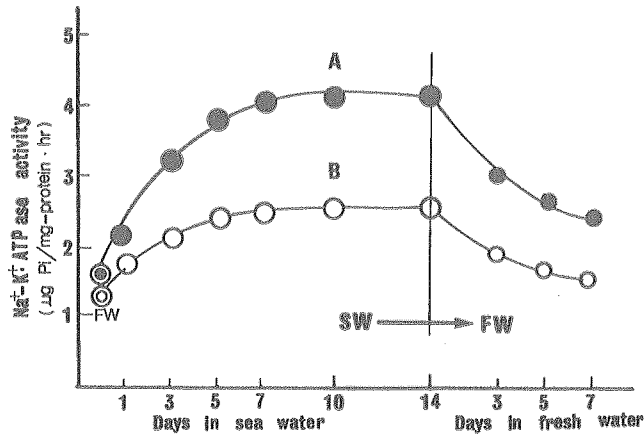


Fig. 4. Changes of Na⁺-K⁺ATPase activity in gills of pink salmon (B) and chum salmon (A) following transfer from fresh water to sea water and from sea water to fresh water.

飼育を2週間行なった稚魚を再び淡水に戻すと、活性値は減少傾向を示したが、7日目の値(2.51~2.70 μg Pi/mg-protein·hr)は実験開始時の約2.0倍であった。

腸 ALK-Pase 活性の変動

鯉 Na⁺-K⁺ATPase の測定に使用した稚魚と同時期の稚魚を供試魚とし、海水移行に伴う腸 ALK-Pase 活性の変動について調べた結果を、Fig. 5 に示した。カラフトマス稚魚の場合、淡水飼育時に 2.8~3.5 μM p-NP/mg-protein·hr であった値は、海水移行に伴い増加し、一定値となるのは7日目以降で、その値は 13.5~14.7 μM p-NP/mg-protein·hr で淡水飼育時の約4.5倍であった。2週間海水飼育を行なった後に、再び淡

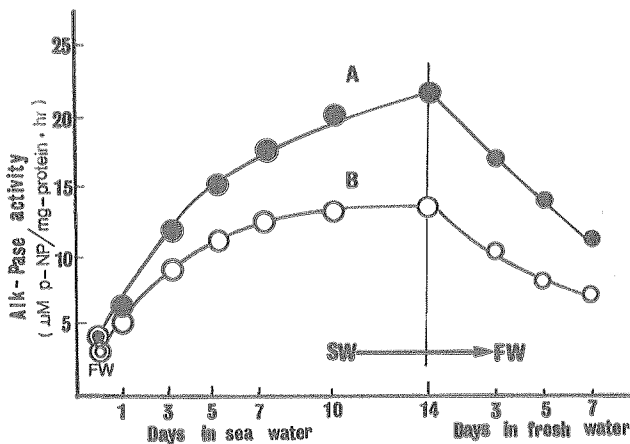


Fig. 5. Changes in the activity of intestinal ALK-Pase of pink salmon (B) and chum salmon (A) after transfer from fresh water to sea water and from sea water to fresh water.

水に戻すと、活性は減少するが7日目の値は依然として高く、実験開始時の値の約2倍 (5.8~7.7 $\mu\text{M p-NP/mg-protein}\cdot\text{hr}$) であった。サケ稚魚では、海水移行に伴って活性の増加が著しく、10日目から14日にかけての値は 20.1~23.0 $\mu\text{M p-NP/mg-protein}\cdot\text{hr}$ で、実験開始時の値 (3.2~4.4 $\mu\text{M p-NP/mg-protein}\cdot\text{hr}$) の約 5.6 倍であった。次に再び淡水飼育を行なうと、活性値は減少傾向を示すが、7日目の値 (9.6~11.5 $\mu\text{M p-NP/mg-protein}\cdot\text{hr}$) は、実験開始の値の約 2.8 倍であった。

消化管内の ALK-Pase 活性の分布

ALK-Pase の消化管内における分布状況、および海水移行に伴う活性の変化について調べた結果を Fig.6 に示した。消化管をその外見上の特徴から、食道、胃そして腸に分けたが、活性の強さは腸>胃>食道となった。

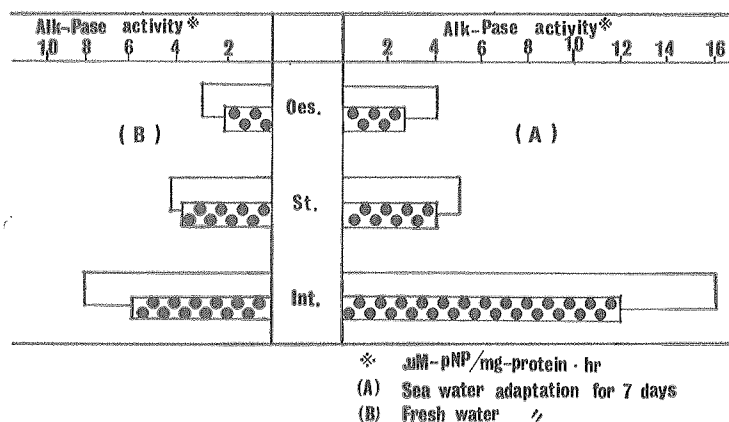




Fig. 6. Quantitative distribution of Alk-Pase in three tissues (Oesophagus, Stomach and Intestine) of pink salmon and chum salmon.

 Indicates pink salmon.
 Indicates chum salmon.

海水移行 (7日間海水飼育) に伴ないはっきりとした活性の増加がみられるのは腸であり、食道および胃には顕著な増加傾向はみられなかった。カラフトマス稚魚とサケ稚魚を比較すると、サケ稚魚の方が高い活性を有し、海水移行に伴う活性の増加もサケ稚魚の方が顕著であった。

飢餓の海水適応への影響

孵化後 100 日目のカラフトマス稚魚を供試し、浮上後投餌をしなかった群と、適宜投餌を行った群との海水適応能力の違いについて調べた結果が、Table 2. である。海水適応能力は、鰓の $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 、腸の ALK-Pase および斃死尾数を指標とした。飢餓群の両酵素活性の海水移行に伴う増加は、7日目に $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性は約 1.8 倍、ALK-Pase 活性は約 2.6 倍であったのに対し、投餌群は、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性が約 2 倍、ALK-Pase 活性は約 4.5 倍の増加となった。また、実験期間中の生残率は投餌群が 100% であったのに対し、飢餓群は 60% であった。

Table 2. Effects of starvation on gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ and intestinal ALK-Pase activity in pink salmon fry after transfer to sea water from fresh water.

	Na-K-ATPase^{*1}	Alk-Pase^{*2}	Mortality (%)
FW	S ^{*3} 0.94—1.17 ^{*5}	S 3.08—3.21 ^{*5}	0
	F ^{*4} 1.23—1.48	F 3.02—3.18	0
SW 1 st day	S 1.09—1.25	S 4.01—4.20	15
	F 1.78—2.03	F 4.78—4.98	0
SW 5 th day	S 1.46—1.63	S 7.19—7.42	25
	F 2.47—2.67	F 13.34—13.56	0
SW 7 th day	S 1.79—1.98	S 8.13—8.39	40
	F 2.62—2.80	F 14.01—14.30	0

*1 $\mu\text{g-Pi/mg-protein, hr}$
 *2 $\mu\text{M-pNP/mg-protein, hr}$
 *3 Starvation.
 *4 Feeding.
 *5 Ranges of 20 fish.

考 察

カラフトマス卵が狭塩性であり、高濃度海水中で行なわれる孵化は不完全であると思われる。サケ卵もまた、狭塩性であることが、KASHIWAGI and SATO (1969) の報告から明らかになっている。その理由について、橋本 (1971) も指摘しているように、塩水の影響を受けて孵化酵素腺が活性化するためと思われるが、 $\frac{1}{2}$ 海水の塩分濃度ではその影響を受けていないことから、孵化酵素腺の活性化機構については更に研究する必要があると考えられる。特にカラフトマスは、サケ・マス類の中では最も下流域で産卵し、時には汽水域でも産卵するという報告 (HANAVAN and SKUD, 1954) もあり、興味深い問題である。カラフトマス稚魚の耐塩性に関して、 $\frac{1}{2}$ 海水以上の高塩分濃度に耐えられるのが、孵化後30日以降であり、60日以降の稚魚は全海水中でも生存可能であった。稚魚の浸透圧調節に関する生理的な機構は成魚の場合と同様であるか否かは不明であるが、少なくとも環境水と直接接している鰓は稚魚の浸透圧調節器官として重要であると思われる。この鰓は海水移行の際に生じる脱水、過剰塩類の流入に対して即応し、後続する他の浸透圧調節器官が活動開始することにより海水適応は完成すると推察される。鰓での浸透圧調節機構にとり、重要なのはナトリウムポンプであり、その実体は $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ であるとされている。この酵素は塩分泌機能を行なう塩分泌細胞と関連が深いと言われている (UTIDA *et al*, 1971)。カラフトマス稚魚においても海水適応時にこの酵素が機能しているが、サケ稚魚と比較して低い活性値の増加で十分海水に適応し得ることから、カラフトマス稚魚はサケ稚魚よりも海水適応能力が強いのではないと思われる。一般に種々の適応現象において適応が弱いほど大きなエネルギー変化を必要とするとされており、これら二魚種間の海水適応についても同様であると考えられるからである。また、この酵素は塩分泌細胞と関連が深いことからその機能を十分発揮するには、塩分泌細胞の分化が完成するまでの5~7日間の時間的猶予が必要と思われる。後続する浸透圧調節器官のひとつとして腸を挙げることができる。腸の役割りは、海水移

行に伴う脱水状態克服のための水分補給、飲水による過剰に流入した塩類の排出等である。この機能の担い手は、腸の粘膜側に局在している ALK-Pase であるとされてきた (UTIDA, *et al.* 1967, 1968)。本研究の結果からも ALK-Pase は海水適応にとり重要と考えられるが、その活性化の度合いは、カラフトマス稚魚とサケ稚魚では異なり、カラフトマス稚魚の海水適応能力がサケ稚魚よりは強いことを印象づける結果となった。ALK-Pase は、物質の輸送を担う酵素であることから消化・吸収を司る消化管内に広く分布しているが、食道および胃に存在する本酵素は海水移行による変化はなく、腸に局在する酵素のみが活性化することから、腸の ALK-Pase が海水適応に重要であると推察された。

しかし、水やイオンの輸送はエネルギー消費を伴う能動輸送だけではなく、濃度勾配を利用した受動輸送もあることから、消化管での水、イオンの輸送は腸でのみ行なわれるという結論は下せない。投餌を行なった魚と、無投餌の魚の海水適応状態を比較した結果から飢餓状態の海水適応能力が弱いという結果が得られたが、飢餓状態の魚の生理的状态が不安定なことから、海水適応に限らず他の環境変化に対する適応能力が一般的に弱まっているのではないかと思われる。

今後は鰓の浸透圧調節機構を更に詳しく調べると共に、後続する内分泌器官をはじめとする浸透圧調節器官について、稚魚の成長と共にどのように変わって行くかを調べる必要があると思われる。

要 約

カラフトマス稚魚の海水適応能力について検討し次の結果を得た。

1. カラフトマス稚魚は孵化後間もなく海水に対する抵抗性を有し、卵嚢吸収が進み腹部癒合が行なわれる孵化後60日以降の稚魚は、純海水に直接移行しても生存可能であった。
2. カラフトマスの発眼卵は狭塩性であり海水中での正常な孵化は行ない得なかった。
3. 稚魚の海水適応には鰓および腸の役割が大きく、鰓に存在する $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ および腸に存在する ALK-Pase に大きく依存すると推察された。
4. 酵素活性の変動および海水移行後の魚の生残率から、カラフトマス稚魚はサケ稚魚よりも海水適応能力が強いと考えられた。
5. 飢餓状態の魚の海水適応能力は弱く、十分な適応が出来ないと考えられた。

文 献

- BESSEY, O. A., O. H. LOWRY and M. J. BROCK (1946). A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.*, **164** : 321-329.
- FISKE, C. H. and Y. SUBBAROW (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66** : 375-400.
- HANAVAN, M. G. and B. E. SKUD (1954). Intertidal spawning of Pink Salmon. *U. S. Dep. Int. Fish. Wildlife Sev. Fish. Bull.*, **56(95)** : 167-185.

- 橋本 進 (1971). サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum) 卵の発生におよぼす塩水処理の影響—Ⅱ 死卵の発生ならびに異常ふ化現象について. 北海道さけ・ます研報, **25** : 53-61.
- IWATA, M., S. HASEGAWA and T. HIRANO (1982). Decreased seawater adaptability of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fry following prolonged rearing in freshwater. Can. J. Fish. Aquat. Sci., **39** : 509-514.
- KASHIWAGI, M. and R. SATO (1969). Studies on the osmoregulation of the chum salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum). I. The tolerance of eyed period eggs, alevins and fry of the chum salmon to sea water. Tohoku J. Agric. Res., **20** : 41-47.
- UTIDA, S. (1967). Effects of sodium chloride on alkaline phosphatase activity in intestinal mucosa of the rainbow trout. Proc. Japan. Acad., **43** : 783-788.
- UTIDA, S., M. OIDE and H. OIDE (1968). Ionic effects on alkaline phosphatase activity in intestinal mucosa with special reference to sea water adaptation of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Comp. Biochem. Physiol., **27** : 239-249.
- UTIDA, S., M. KAMIYA and N. SHIRAI (1971). Relationship between the activity of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ adenosinetriphosphatase and the number of chloride cells in eel gills with special reference to sea-water adaptation. Comp. Biochem. Physiol., **38A** : 443-447.