

サケ科魚類の発眼卵と稚魚の耐酸性評価

誌名	養殖研究所研究報告 = Bulletin of National Research Institute of Aquaculture
ISSN	03895858
著者名	生田,和正 鹿間,俊夫 織田,三郎 奥本,直人
発行元	水産庁養殖研究所
巻/号	21号
巻号補足	
掲載ページ	p. 39-45
発行年月	1992年3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



サケ科魚類の発眼卵と稚魚の耐酸性評価

生田和正・鹿間俊夫・織田三郎・奥本直人

(1991年12月17日受理)

Acid Tolerance of Eyed Embryos and Larvae in Salmonid Fishes

Kazumasa Ikuta*, Toshio Shikama*, Saburo Oda*, and Naoto Okumoto*

In order to study effects of acidification on salmonid fishes, acid tolerance assay was conducted. Sensitivity to low pH made with sulfuric acid was compared between developmental stages in hime salmon (land-locked sockeye salmon), and 6 salmonid species. Stage sensitivities (24 h LC_{50} -pH) in hime salmon were ranked emerged fries (4.23) > hatched alevins (4.07) > fingerlings (4.06) > eyed embryos (3.82). Species sensitivities of alevins were ranked hime salmon (4.07) > honmasu salmon (3.98) > rainbow trout (3.83) > char (3.70) > brook trout (3.67) > brown trout (3.63). These results suggest that sensitivities to low pH increase according to embryonic development, and anadromous salmonid species such as *Oncorhynchus* are more sensitive to acidic condition.

Key words: acid tolerance, developmental stages, low pH, salmonid fishes, 24 h LC_{50}

近年、工業排気ガス等によって生じる酸性雨等による地球規模の環境破壊が問題となっている。特に北米や北欧では、酸性降水物による陸水系の酸性化が、魚類等の水生生物の生態系に大きな被害を及ぼしていることが報告されており (Beamish *et al.* 1975; Farmer *et al.* 1980; Jensen and Snekvik 1972), 酸性環境が魚類の繁殖や生理・生態に及ぼす影響に関する報告も多い。我が国においても、最近酸性雨や酸性霧の報告が相次ぎ、将来的に河川や湖沼の酸性化が進行する恐れがあると予測されているが、酸性環境が魚類にどのような影響を与えるかという基礎的研究は未だ少ない。長期的な環境水の酸性化は、産卵 (Weiner *et al.* 1986) や電解質代謝 (Packer and Dunson 1969; 岩田ら1990) といった生理機構を阻害し、個体や個体群の生存に大きな影響を及ぼすと考えられるが、今後起こるであろう酸性化の被害を推測し、対策を立てるためには、まず生物そのものがどの程度の耐酸性を持っているかを明らかにし、指標生物として類型化することが必要である。また、平野部の河川・湖沼のような有機物や栄養塩類等を含む富栄養環境下では、アルカリ度も高く、分解者であるバクテリアや藻類も多いため、酸に対する緩衝能力も高いと思われるが、山間の河川源流部等の冷水域のような貧栄養環境下では酸性雨の影響は顕著になると考えられる。そこで、本研究では代表的冷水域生息生物であるサケ科魚類の卵稚仔における24時間半数致死 pH (LC_{50}) を、発眼卵、孵化稚魚、浮上稚魚、若年魚の各発達段階及び6種の魚種で推定・比較し、サケ・マス類の初期発達に及ぼす酸性環境の影響を考察した。

本研究は環境庁「地球環境研究総合推進費」によって行われた。

* 養殖研究所日光支所 (Nikko Branch, National Research Institute of Aquaculture, Nikko, Tochigi 321-16, Japan)

材 料 と 方 法

供試魚 本実験では、養殖研究所日光支所において養成した親魚から採卵・孵化させたヒメマス（陸封ベニザケ）*Oncorhynchus nerka*, ホンマス（中禅寺湖産ビワマス）*O. rhodurus*, ニジマス *O. mykiss*, ブラウントラウト *Salmo trutta*, イワナ *Salvelinus pluvius*, カワマス *Salvelinus fontinalis* を用いた。

実験方法 ヒメマスを用いて、発眼卵、孵化稚魚、浮上稚魚、当歳若年魚の24時間半数致死 pH (LC_{50}) を測定し、稚魚の発達にともなう耐酸性の変化を調べた。また、ヒメマス、ホンマス、ニジマス、ブラウントラウト、イワナ、カワマスの孵化稚魚及び当歳魚の LC_{50} を推定し、魚種間で耐酸性を比較した。発眼卵あるいは稚魚を孵化槽 (100 l) 内のかごに収容し、自然湧水を用いて流水飼育し、pH 調整機（日伸理化 NPH-680 D）によって pH を調整した。pH 調整機は、飼育水に浸したガラス電極により pH をモニターし、設定 pH より高くなった場合、接続したベリスタポンプの電源を入れ、10%硫酸を注水部に滴下して飼育水 pH を調整した。飼育水 pH は ± 0.1 の変動内で安定した。孵化槽内は飼育水がよく攪拌するようエアレーションを施した。1 回の実験当たり、各魚種50個体（当歳魚の場合は20個体）を使用し、各 pH での死亡個体数を経時的に計測し、回帰曲線より各 pH における50%致死時間 (T_{50}) を推定した。発眼卵の死亡の判定は、実体顕微鏡による心拍の観察によって行った。飼育水水素イオン濃度と T_{50} の相関を両対数直線一次回帰で検定し、各魚種及び各発達段階での24時間 LC_{50} を算出した。

飼育水の水質 飼育水の水温及び pH は、実験期間を通じそれぞれ $9.4 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$, 7.2 ± 0.2 とほぼ一定で、溶存酸素量も全ての実験で飽和値の95%以上であった。飼育水中に含まれる金属イオン濃度を原子吸光分光光度計（日立180-50）で測定した結果、Ca 5.12 ppm, Mg 2.06 ppm, Na 11.14 ppm, K 2.61 ppm であった。また、飼育水の総アルカリ度は 53 CaCO_3 ppm であった。これらの値は、日本の代表的河川の化学成分値（東京天文台編纂、理科年表より）と比べ、Na, K, 総アルカリ度が若干高めであった。

結 果

発達に伴う耐酸性の変化 ヒメマスの発眼卵期（受精後44～75日；胚体に眼球が出現してから孵化まで）、孵化稚魚期（孵化後0～22日；卵黄嚢を持ち、遊泳能力が未発達なため着底している）、浮上稚魚期（孵化後42～78日；卵黄をほとんど吸収し、遊泳及び摂餌を開始する）、若年魚期（孵化後10ヶ月；平均体重及び標準誤差 29.7 ± 3.7 g, $n=10$ ）の各時期における pH と T_{50} との相関を Fig. 1 に示した。全ての場合において有意に相関が認められ、このグラフより24時間 LC_{50} 及び95%信頼限界を求めた結果 (Fig. 2), 発眼卵で 3.82 ± 0.17 , 孵化稚魚で 4.07 ± 0.03 , 浮上稚魚で 4.23 ± 0.11 , 若年魚で 4.06 ± 0.07 となり、孵化から浮上期にかけて稚魚の耐酸性が急速に低下し、浮上稚魚が酸性環境に対して最も弱かった。

魚種による耐酸性の比較 ヒメマス、ホンマス、ニジマス、ブラウントラウト、カワマス、イワナの孵化稚魚（孵化後0～53日）及び若年魚（ヒメマスを除いて孵化後9ヶ月）における pH と T_{50} の相関を、それぞれ Fig. 3 及び Fig. 4 に示した。各若年魚の10個体の平均体重及び標準誤差は、ヒメマスは前述の通り、ホンマスで 6.72 ± 0.76 g, ニジマスで 15.5 ± 0.76 g, ブラウントラウトで 4.04 ± 0.90 g, カワマスで 40.8 ± 3.39 g, イワナで 10.5 ± 1.87 g であった。全ての場合において有

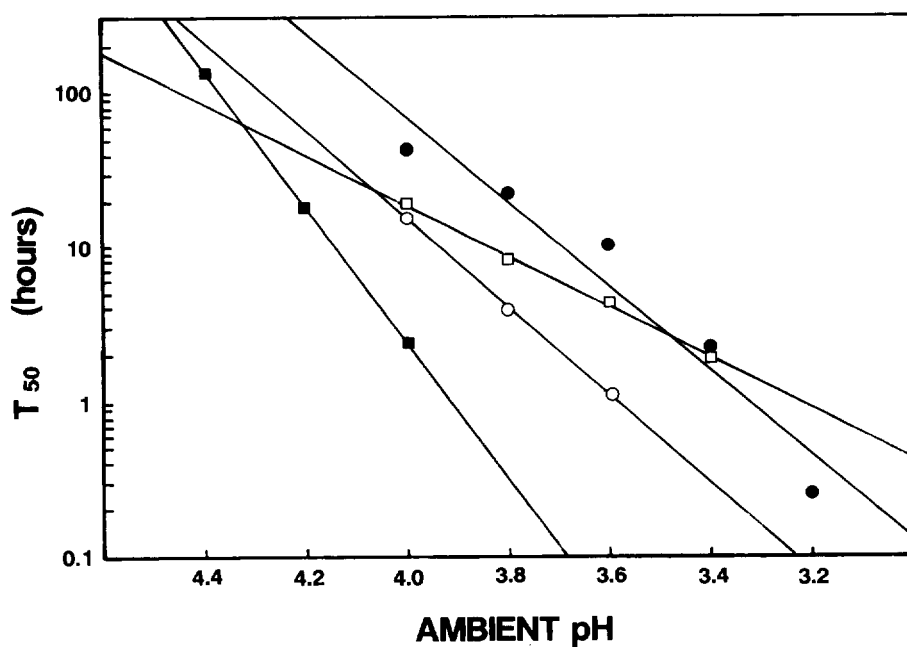


Fig. 1 Regression lines of correlation between time to 50% mortality and ambient pH for eyed embryos (—●—; $p < 0.01$), hatched alevins (—○—; $p < 0.05$), emerged fry (—■—; $p < 0.01$), and 0⁺ age fingerlings (—□—; $p < 0.01$), of hime salmon.

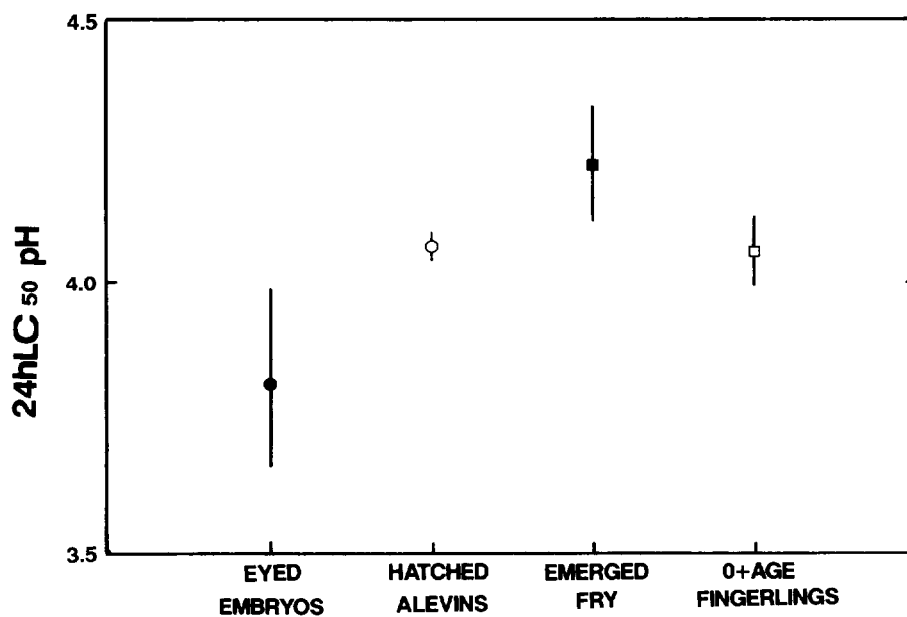


Fig. 2 24 h LC₅₀ pH for eyed embryos, hatched alevins, emerged fry, and 0⁺ age fingerlings, of hime salmon. Vertical lines indicate 95% confidence limits.

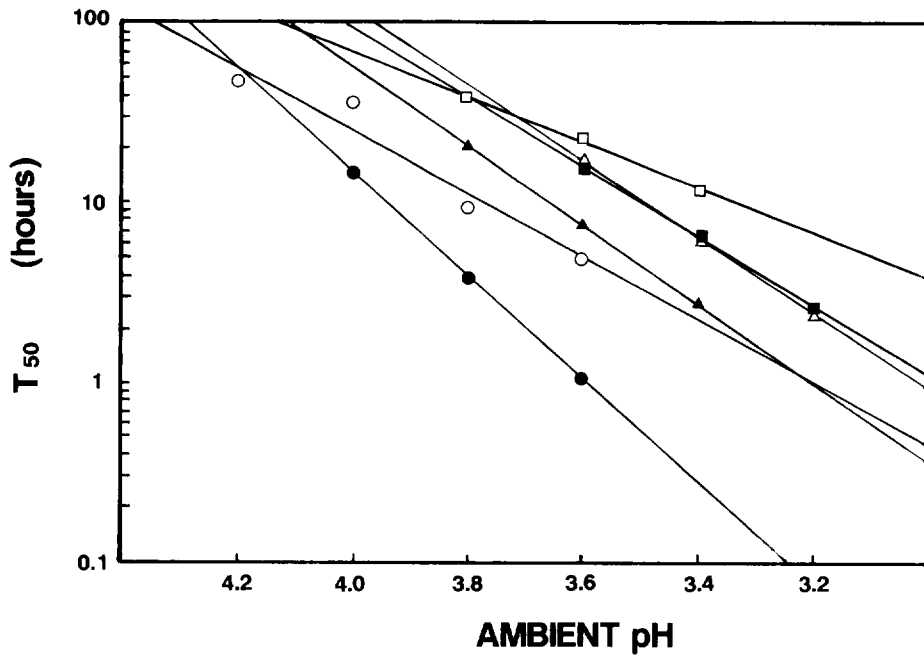


Fig. 3 Regression lines of correlation between time to 50% mortality and ambient pH for hatched alevins of hime salmon (—●—; $p < 0.01$), honmasu salmon (—○—; $p < 0.05$), rainbow trout (—▲—; $p < 0.05$), brown trout (—□—; $p < 0.05$), brook trout (—■—; $p < 0.01$), and Japanese char (—△—; $p < 0.05$).

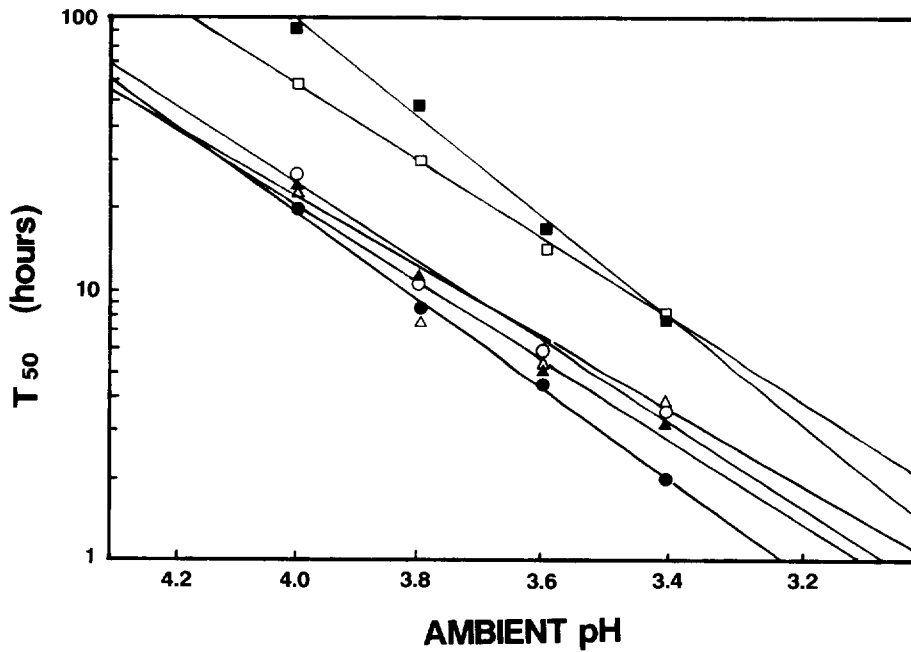


Fig. 4 Regression lines of correlation between time to 50% mortality and ambient pH for 0^+ age fingerlings of hime salmon (—●—; $p < 0.01$), honmasu salmon (—○—; $p < 0.05$), rainbow trout (—▲—; $p < 0.01$), brown trout (—□—; $p < 0.01$), brook trout (—■—; $p < 0.01$), and Japanese char (—△—; $p < 0.05$).

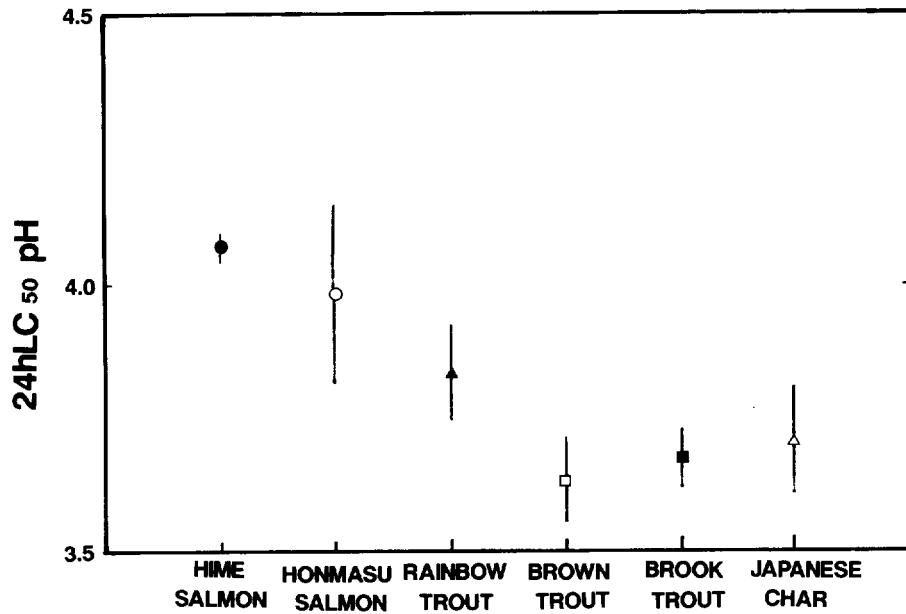


Fig. 5 24 h LC₅₀ pH for hatched alevins of hime salmon, honmasu salmon, rainbow trout, brown trout, brook trout, and Japanese char. Vertical lines indicate 95% confidence limits.

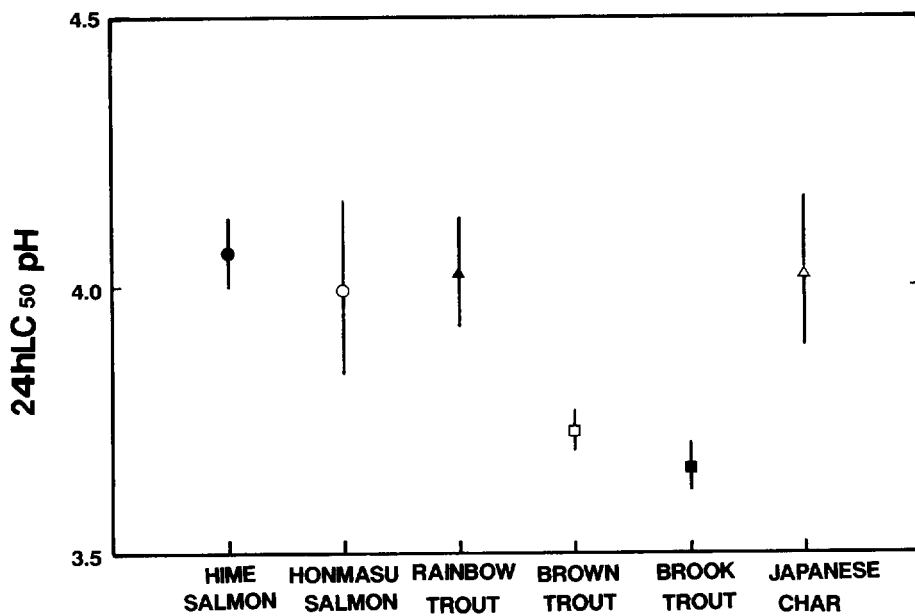


Fig. 6 24 h LC₅₀ pH for 0⁺ age fingerlings of hime salmon, honmasu salmon, rainbow trout, brown trout, brook trout, and Japanese char. Vertical lines indicate 95% confidence limits.

意に相関が認められ、このグラフより24時間 LC_{50} 及び95%信頼限界を求めた結果、孵化稚魚では (Fig. 5)、ヒメマスで 4.07 ± 0.03 、ホンマスで 3.98 ± 0.17 、ニジマスで 3.83 ± 0.09 、ブラウントラウトで 3.63 ± 0.08 、カワマスで 3.67 ± 0.06 、イワナで 3.70 ± 0.10 であった。また、若年魚では (Fig. 6)、ヒメマスで 4.06 ± 0.07 、ホンマスで 3.99 ± 0.17 、ニジマスで 4.02 ± 0.11 、ブラウントラウトで 3.73 ± 0.04 、カワマスで 3.66 ± 0.05 、イワナで 4.02 ± 0.15 であった。

考 察

ヒメマスの初期発達段階における耐酸性の変化は、発眼卵で最も高く、孵化から浮上期にかけて急速に低下し、浮上稚魚で最も低いという結果になった。その後、10ヶ月経過した若年魚の結果は、孵化稚魚の結果とほとんど差がなく、他魚種でも同様の傾向が見られるため、体重の増加によって耐酸性が高進することはないと思われる。Rombough (1983) は太平洋サケ属の数種で発眼卵、孵化稚魚及び浮上稚魚の耐酸性を比較しているが、全ての魚種で発眼卵に比べ孵化稚魚の耐酸性が極めて劣り、孵化稚魚と浮上稚魚では魚種によって優劣が異なることを報告している。この中で、ヒメマスの降海型であるベニザケの耐酸性の変化は、ヒメマスと同様浮上期に最も低いと報告されていることから、基本的にヒメマスとベニザケの稚魚の耐酸性変化は同じと考えられる。

このような発達段階による耐酸性変化の生理学機構に関しては、詳細な報告は少ないが、考えられる理由の一つに呼吸器官の発達が考えられる。福田 (1990) は、酸性化は鰓の二次鰓弁上皮における異常粘液分泌、及び呼吸上皮の壊死を引き起こし、呼吸不全に至ることを報告している。発眼卵においては、呼吸は卵膜を通して行われており、孵化稚魚の呼吸も、卵黄囊膜上にある hepatovitelline respiratory vessels と呼ばれる呼吸器官による皮膚呼吸が中心で、その後浮上期にかけて徐々に鰓呼吸が発達してくると考えられる (Balon 1975)。孵化から浮上にかけての耐酸性の低下は、酸による鰓上皮の損傷の影響が、鰓の発達とともに顕著になることによるものと思われる。また、酸性環境は鰓における電解質代謝を阻害し、体内イオン濃度の低下を引き起こすことが知られており (Packer and Dunson 1969)、魚種の耐酸性と相関のあることが報告されている (Freda and McDonald 1988)。岩田ら (1990) は、硫酸酸性で7日間飼育したイワナの発眼卵では卵黄浸透圧に変化はなかったが、孵化稚魚では卵黄浸透圧の有意な低下が見られたと報告している。これらのことより、鰓の発達に伴う呼吸及び塩類代謝機能の変化が、初期発達における耐酸性の低下に関係している可能性が高い。

Curry *et al.* (1991) は、早春、酸性降下物を多量に含む雪の融解によって、一時的に河川水の pH の急速な低下が引き起こされ、そのような河川に生息するカワマス稚魚の浮上はこの酸性化時期を避けて誘起されると報告している。この事実は、サケ・マス類の稚魚は浮上期に最も耐酸性が弱くなるという、本研究結果を生態学的に裏付けるものである。我が国においても、積雪中で酸性降下物濃度が濃縮される現象が観察されており、融雪期はやはりサケ・マス稚魚の浮上期に重なるため、近い将来天然河川においても、河川水を利用した孵化施設等においても、酸性融雪水による被害が生ずる可能性が高いと思われる。

魚種による耐酸性の比較では、孵化稚魚の LC_{50} 値はヒメマス (4.07) > ホンマス (3.98) > ニジマス (3.83) > イワナ (3.70) > カワマス (3.67) > ブラウントラウト (3.63) の順位であった。この結果から、ヒメマス、ホンマス、ニジマスといった太平洋サケ属は耐酸性が低く、大西洋サケ属やイワナ属で耐酸性が高い傾向があることが判明した。これは、太平洋サケ属は降海性が強く、逆

にブラウントラウトやイワナ属は河川生活性が強いことと関係が深いように思われる。太平洋サケ属の中でも、耐酸性はシロサケ *O. keta*, カラフトマス *O. gorbusha*, ベニザケ *O. nerka*, マスノスケ *O. tshawytscha*, ギンザケ *O. kisutch* の順に、河川生活期の長いもの程高くなっていく傾向があることが報告されており (Rombough 1983), 河川生活性の強い魚種ほど、pH 等の水質の変化しやすい河川環境に適応していると考えられる。

以上のことより、サケ・マス魚類では浮上期に耐酸性が低下し、特にヒメマス、ホンマスといった降海性の強い太平洋サケ属では、通常日本で観測される雨水の酸性度である pH 4 程度の酸性環境においても、短時間に大きな打撃を受けることが明らかになった。今後、陸水生態系への酸性雨による被害を予測し、その対策を立てるためには、さらに餌生物である水生昆虫や底生生物の耐酸性を測定し、食物連鎖系全体に及ぼす酸性化の影響を詳しく研究する必要がある。

文 献

- Balon, E. K. 1975. Reproductive guilds of fishes: a proposal and definition. J. Fish. Res. Board Can. 32(6): 821-864.
- Beamish, R., W. Lockhart, J. Van Loon and H. Harvey 1975. Long-term acidification and resulting effects on fishes. Ambio 4: 98-102.
- Curry, R. A., P. M. Powles, J. M. Gunn and V. A. Liimatainen 1991. Emergence chronology of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, alevins in an acidic stream. Environ. Biol. Fish. 31: 25-31.
- Farmer, G. J., T. R. Goff, D. Ashfield and H. S. Samant 1980. Some effects of the acidification of Atlantic salmon rivers in Nova Scotia. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 972: p. 13.
- Freda, J. and D. G. McDonald 1988. Physiological correlates of interspecific variation in acid tolerance in fish. J. Exp. Biol. 136: 243-258.
- 福田芳生 1990. 魚の鰓障害が示す水質汚染. サイエンス 20(2): 60-71.
- 岩田宗彦・下山友三・酒井典久・鈴木敬二・井田 齋・武藤光司・阿久津梅二 1990. 硫酸による酸性環境がイワナの浸透圧調節能に与える影響. 養殖研報 18: 31-37.
- Jensen, K. and C. Snekvik 1972. Low pH levels wipe out salmon and trout populations in southernmost Norway. Ambio 1: 223-225.
- Packer, R. K. and W. A. Dunson 1969. Effects of environmental pH on blood pH and sodium balance of brook trout. J. Exp. Zool. 174: 65-72.
- Rombough, P. J. 1982. Effects of low pH on eyed embryos and alevins of Pacific salmon. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40: 1575-1582.
- Weiner, G. S., C. B. Schreck and H. W. Li 1986. Effects of low pH on reproduction of rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc. 115: 75-82.