

絶食と再給餌がサケ幼魚に与える生理学的影響

伴 真俊*¹・長谷川裕康*²・江連睦子*³

*¹〒062 札幌市豊平区中の島2-2 水産庁北海道さけ・ますふ化場調査課
*²〒062 札幌市豊平区中の島2-2 水産庁北海道さけ・ますふ化場事業管理課
*³〒066 千歳市蘭越無番地 水産庁北海道さけ・ますふ化場千歳支場

Effects of Starvation and Refeeding on Physiological Condition of Juvenile Chum Salmon, *Oncorhynchus keta*

Masatoshi Ban*¹, Hiroyasu Hasegawa*², and Mutsuko Ezure*³

*¹Research Division, Hokkaido Salmon Hatchery, Fisheries Agency of Japan,
2-2 Nakanoshima, Toyohira-ku, Sapporo 062, Japan

*²Active Management Division, Hokkaido Salmon Hatchery, Fisheries Agency of Japan,
2-2 Nakanoshima, Toyohira-ku, Sapporo 062, Japan

*³Chitose Branch, Hokkaido Salmon Hatchery, Fisheries Agency of Japan,
Chitose, Hokkaido 066, Japan

Abstract. — Effects of prolonged starvation and refeeding on the physiological condition of hatchery-reared juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) were investigated. Starvation lasting more than 40 days caused a cessation of growth and a decrease in condition factor of juvenile chum salmon soon after the beginning of the experiment. The total lipids and serum proteins decreased to the lowest level at days 10 and 20, respectively, and then remained stable until the end of the experiment. Serum sodium levels were significantly lower at day 10 than those in unstarved control fish. The cumulative mortality rose rapidly between days 20 and 30 and reached 100% by day 45. When starved fish were transferred directly to seawater at 10-day intervals, the survival rate for 24 h decreased to about 50% at days 30 and 40, with a concomitant decrease in serum sodium levels. When starved fish were allowed to resume feeding after their mortality had reached 50% at day 28, the mortality ceased soon and gradual growth resumed. The condition factor of these refeeding fish, as well as the serum protein levels, total lipids, and sodium, increased 20 days after, whereas the seawater tolerance of these refeeding fish did not recover. These observations suggest that the process of starvation leading to fish death might be divided into two steps: first the lipids reserved in the body are consumed, and then proteins are utilized as an energy source. Although refeeding following starvation caused a recovery in the above-mentioned reverse order, seawater adaptability was not regained soon.

はじめに

近年、日本系サケ (*Oncorhynchus keta*) の資源量は飛躍的に増加した。その理由として、人工ふ化放流用の種苗を給餌飼育した結果、放流後の魚の生残率が高まったためであると考えられている (Kobayashi, 1980)。給餌飼育することにより、発育初期のサケは安定した餌条件の

北海道さけ・ますふ化場研究業績A357号

下で、生活機能を維持するための基本構造を順調に発達させることができるようになった。例えば、消化器官系は仔魚期に卵黄をエネルギー源として急速な形態的分化を遂げるが、各器官の組織学的構造が成魚レベルに達し、機能化が進むのは稚魚期以降である (帰山 1986; 中野ら 1985a, 1985b; 伴ら 1994a)。また、ふ化後数カ月以内に海洋生活へ移行する本種が、海水適応能力を高めるのも稚魚期以降においてである (中野ら 1985c; 伴ら 1994b)。サケの人工種苗はこれらの機能を十分に獲得した状態で

放流されていることになる。

一方、自然界に放流されたサケは不安定な餌環境の下で、時として飢餓状態になることが予想される。これまで、飢餓がサケ幼稚魚に与える影響については、魚が何日生残できるかという耐久日数や（秋山・能勢1980; 帰山・熊谷 1984）、消費される脂質量の変化（能勢ら 1979, 1982）等が調べられてきた。しかし、飢餓が魚の健康状態にどのような影響をおよぼすか、あるいはその影響が摂餌の再開にともなってどの程度回復するかについて調べた例はない。

本論文では、飢餓と健苗性の関係に注目し、絶食条件下におけるサケ幼魚の生理的变化と、再給餌後の回復状態を検討した。

材料と方法

実験魚と実験環境 実験に用いた魚は、1993年3月中旬に浮上した静内川産のサケである。5月中旬に、この中から無作為に抽出した約1800尾を600尾ずつ3群（A, B, C群）に分け、20 L水槽中で1週間、馴化した後実験に供した。馴化期間中の魚には、体重当たり3%の配合餌料（全農製）を毎日与えた。また飼育水として、水温10℃の地下水を毎分2 L供給した。

実験は5月20日から7月9日まで50日間行った。実験期間中、A群（対照群）には上記の割合で給餌し、B群（絶食群）には餌を与えなかった。その間、両群の死亡数を計数し、B群の累積死亡率が50%を超えた6月17日（実験開始から28日目）以降の魚を飢餓群として扱った（Fig. 1）。C群（再給餌群）にはB群と同様の絶食処置をした後、飢餓状態とみなした6月17日から給餌を再開し、体重当たり3%の餌を7月9日までの20日間与えた。

魚の採集 A群とB群の採集は、5月20日から6月29日まで、10日毎に5回行った。再給餌が終了した7月9日にはA群とC群を採集した。採集時に各群から無作為に取り出した20尾を麻酔した後、尾叉長（FL, mm）と体重（BW, g）を測定し、肥満度（CF, $BW \times 10^3 / FL^3$ ）を計算した。その際、切断した尾柄部から血液をプレインのヘマトクリット管に採取し、12,000回転で5分間遠心分離した後、血清をタンパク質量とナトリウム濃度分析用として-40℃で保存した。また、組織学的観察用として胃、腸、肝臓を取り出し、ブアン氏液で固定した。さらに、総脂質量の測定用として、各群から取り上げた5尾の魚を-40℃で凍結保存した。

血清中のタンパク質量と総脂質量 保存した血清中のタンパク質量（mg/dL）は、Lowry（1951）法を用いて測定した。総脂質量（%）はソックスレー抽出器を用い、エー

テルで抽出した脂質量から計算した。

組織学的観察 固定した組織を常法に従って5 μmのパラフィン切片とした後、ヘマトキシリン・エオシンの二重染色を施して顕微鏡観察に供した。

海水移行試験 魚の海水適応能を調べるため、各採集日に50尾の魚を塩分濃度33の海水へ移行した。海水移行24時間後に、生残率（生残個体数×10²/投入個体数）を計算するとともに、生き残った個体から上記のとおり血清を採取し、-40℃で保存した。

血清中のナトリウム濃度 凍結保存しておいた血清を自然解凍し、1,000倍に希釈した後、炎光分析によりナトリウム濃度（mEq/L）を測定した。

統計解析 得られた値の有意差は、実験開始時と各採集時、および各採集日における実験群間で比較した。標本の分散が均一であったことからt検定を用いた。

結果

累積死亡率 A群（対照群）の累積死亡率は実験期間を通じて1%未満にとどまった。B群（絶食群）の累積死亡率は絶食20日目以降に急増し、28日目に50%を越すと、45日目までには全個体が死亡した（Fig. 1）。一方、C群（再給餌群）では、累積死亡率が50%を超えるまでB群とほぼ同様の傾向を示したが、28日目（6月17日）に給餌を再開した後は死亡個体数が減少し、実験終了時の累積死亡率は67%であった。

尾叉長および肥満度 実験開始後の40日間に、A群の尾叉長は6.1 cmから8.0 cmまでほぼ直線的に増大した（Fig. 2）。また、肥満度は6.6から8.0まで徐々に増加した（Fig. 3）。この間、B群の尾叉長は実験開始時の6.2 cmから30日目まで変動しなかった。40日目には6.5 cmを示したが、実験開始時の尾叉長との間に有意な差はなかった。

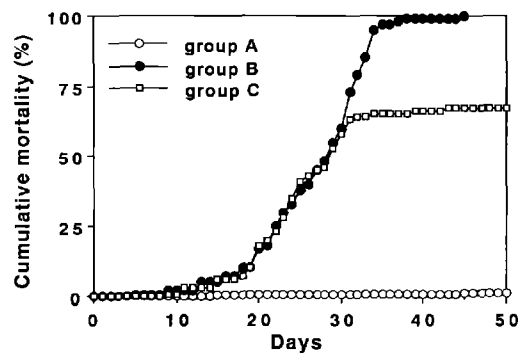


Fig. 1. Changes in cumulative mortality of juvenile chum salmon during the starvation and refeeding. Group A, control fish; Group B, unfed fish; Group C, refeeding fish.

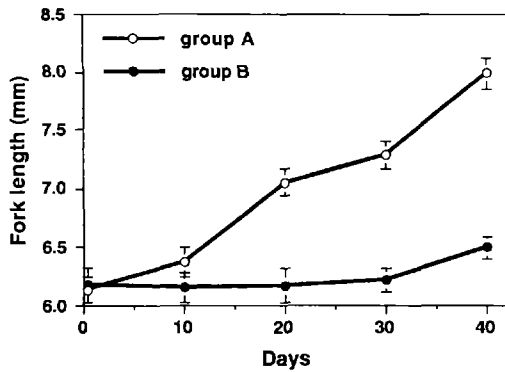


Fig. 2. Changes in fork length (cm) of juvenile chum salmon during starvation. Group A, control fish; Group B, unfeeding fish. Vertical bars show SE.

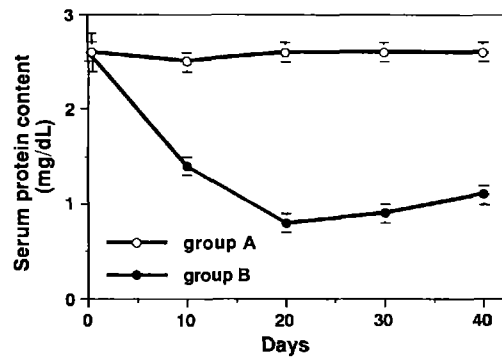


Fig. 5. Changes in serum protein levels of juvenile chum salmon during starvation. Group A, control fish; Group B, unfeeding fish. Vertical bars show SE.

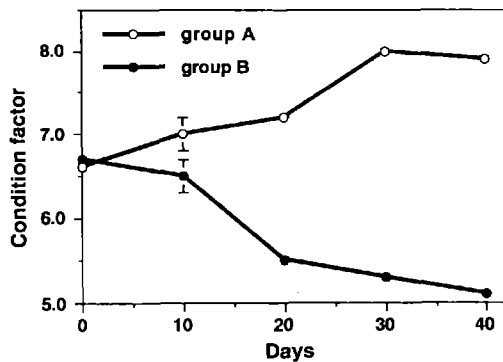


Fig. 3. Changes in condition factor of juvenile chum salmon during starvation. Group A, control fish; Group B, unfeeding fish. Vertical bars show SE.

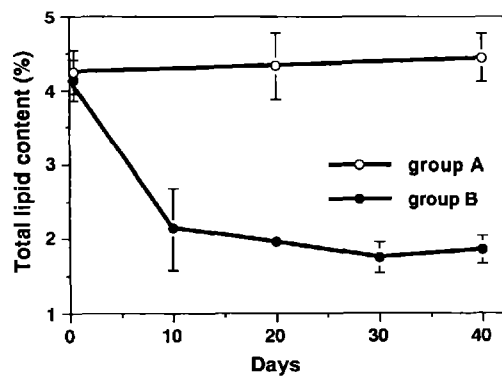


Fig. 6. Changes in total lipid of juvenile chum salmon during starvation. Group A, control fish; Group B, unfeeding fish. Vertical bars show SE.

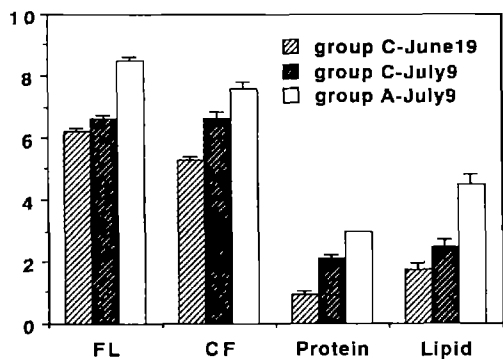


Fig. 4. Changes in fork length (FL, cm), condition factor (CF), serum protein (mg/dL) and total lipid (%) after refeeding. Group C-June 19, fish at the beginning of refeeding; group C-July 9, fish at the end of refeeding; Group A-July 9, control fish at the end of refeeding. Vertical bars show SE.

また、肥満度は実験期間中に6.7から5.1まで低下した。この間、実験開始後の10日目から20日目にかけての低下が特に顕著であり、実験開始時の値との間に有意差が認められた ($P < 0.001$) (Fig. 3)。C群は再給餌期間中に、尾叉長が6.2 cmから6.6 cmまで、肥満度が5.3から6.6まで各々有意に増加したが ($P < 0.01$) (Fig. 4)、実験終了時のA群の尾叉長は8.5 cm、肥満度は7.6となり、何れもC群に比べて有意に高い値であった。

血清タンパク質量および総脂質量 A群の血清タンパク質量と総脂質量は、実験期間を通じて各々約2.6 mg/dLおよび4.3%で安定していた (Figs. 5 & 6)。一方B群は、血中タンパク質量が実験開始後20日間で0.8 mg/dLまで、また総脂質量が10日間で2.1%まで有意に減少した ($P < 0.05$)。その後、血中タンパク質量は若干増加したが (Fig. 5)、総脂質量はほぼ一定の値を維持した (Fig. 6)。C群の血清タンパク質量と総脂質量は、再給餌期間中に各々飢餓時の0.9 mg/dLおよび1.8%から、再給餌

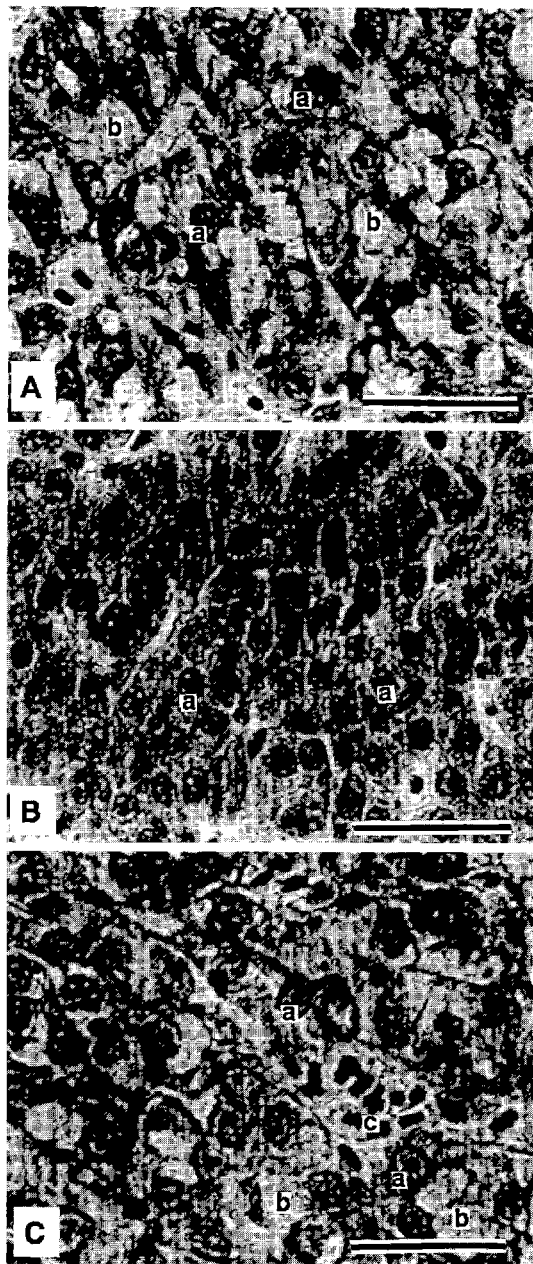


Fig. 7. Cross sections of the liver of juvenile chum salmon at the start of experiment (A), 20 days after starvation (B) and 20 days after refeeding (C). a, nucleus; b, glycogen vacuole. Scale bars = 50 μ m.

終了時の 2.1 mg/dL および 2.5% まで各々有意に増加した ($P < 0.001$) (Fig. 4). 再給餌終了時の A 群の血清タンパク質量は 3.0 mg/dL, 総脂質量は 4.5% となり, 何れも C 群

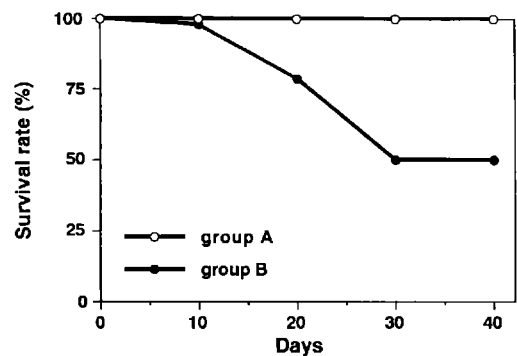


Fig. 8. Changes in survival rate of juvenile chum salmon during 24h seawater challenge test. Group A, control fish; Group B, unfeeding fish. Vertical bars show SE.

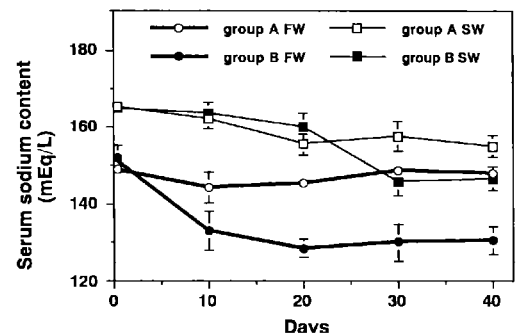


Fig. 9. Changes in serum sodium content of juvenile chum salmon in fresh water (FW) and seawater (SW) 24h after seawater transfer. Group A, control fish; Group B, unfeeding fish. Vertical bars show SE.

に比べて有意に高い値であった。

胃および腸の組織 飢餓状態に達した絶食30日目の B 群の胃には, 胃腺と粘膜上皮細胞が明瞭に認められ, A 群との間に形態的な違いはなかった。また, 腸の粘膜上皮細胞も両群間に差がなかった。これらの点は, 再給餌後の C 群と A 群の場合においても同様であった。

肝臓の組織 A 群の肝実質細胞間にはグリコーゲン細胞と思われる細胞が多数確認できたが (Fig. 7A), B 群の肝臓にはこの細胞が認められなかった (Fig. 7B)。再給餌終了後, C 群の肝実質細胞間には明瞭なグリコーゲン細胞様の細胞が多数確認できた (Fig. 7C)。

海水移行後の生残率 海水移行24時間後における A 群の生残率は, 実験期間を通じて 100% であった。一方, B 群では実験開始10日目から生残率が低下し始め, 30日目以降は 50% 台になった (Fig. 8)。再給餌終了後の C 群を海水移行した結果, 生残率は 61% にとどまった。

海水移行前後の血中ナトリウム濃度 A 群の淡水中に

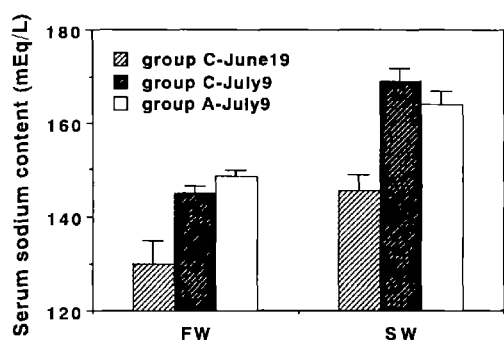


Fig. 10. Changes in serum sodium content with refeeding of juvenile chum salmon in fresh water (FW) and sea-water (SW) 24h after seawater transfer. Group C-June 19, fish at the beginning of refeeding; group C-July 9, fish at the end of refeeding; Group A-July 9, control fish at the end of refeeding. Vertical bars show SE.

おける血中ナトリウム濃度は、144.3 mEq/Lから149.1 mEq/Lの間で推移し、有意差はなかった。B群の値は絶食開始から10日後に132.9 mEq/Lまで有意に減少し ($P < 0.01$)、その後は変化を示さなかった (Fig. 9)。一方、海水移行24時間後のA群の血中ナトリウム濃度は、165.3 mEq/Lから155.4 mEq/Lの間で推移した。B群の場合、実験開始から20日目までA群と同様の値を示したが、30日目以降は145 mEq/L前後の低い値となり、A群との間に有意差が生じた ($P < 0.05$)。C群の淡水中における血中ナトリウム濃度は、飢餓時の130.0 mEq/Lから再給餌終了時の145.0 mEq/Lまで上昇し、この時点でA群との間に有意差はなかった (Fig. 10)。また、C群の海水移行 24時間後の血中ナトリウム濃度は、飢餓時に145.6 mEq/Lを示したが、再給餌終了時には169.0 mEq/Lに増加し、A群との間に有意差は認められなかった。

考 察

絶食にともなう死亡個体は9日目に初めて確認された。その数は絶食20日目以降急増し、28日目に累積死亡率が50%を超えると、45日目には全個体が死亡した。この間、絶食群の肥満度は一貫して低下したが、死亡率の増加に先立つ絶食10日目から20日目にかけての減少が急激であった。このような飢餓状態に達した魚に再給餌した結果、死亡個体数は急速に減少した。これらの結果から、水温10°Cの良好な餌条件下で成長した平均体重1.5 gのサケ幼魚における飢餓耐久日数は28日以上であると判断された。卵黄吸収直後のサケ稚魚の飢餓耐久日数が、水温11°Cで

18日であることから (帰山 1984)、発育初期のサケは発育段階が進むほど、あるいは栄養蓄積量が多いほど絶食に対する抵抗性が増すと思われる。

総脂質量は絶食10日目に最低値を示すと、その後は一定の値を維持した。この傾向は、脂質が飢餓の初期にある程度消費されると、それ以上は減らなくなるというこれまでの報告を支持している (Akiyama and Nose, 1980)。これに対して、絶食群の血清タンパク質量は絶食開始から20日目に最低値を示すと、その後わずかに上昇する傾向がみられた。タンパク質は体組織の構成成分であるとともに、肝臓へ蓄えられ、必要に応じ栄養源としても使われる (尾崎 1971)。また、飢餓状態の魚は筋肉タンパク質分解酵素 (カテプシンL) 活性を上昇させることが知られている (中添 1992)。これらのことから、絶食したサケ幼魚は、絶食後20日目までに蓄積したタンパク質を消費し尽くすと、この時期を境としてタンパク質代謝経路の転換を図り、その供給源を肝臓から筋肉など体組織へ替えた可能性が予想される。今後は、絶食にともなう筋肉や肝臓におけるタンパク質量の変動を調べることで、飢餓時の血清タンパク質の代謝経路を把握する必要がある。

絶食群の血中ナトリウム濃度は絶食開始から20日目まで減少し、その後は一定になった。一方、海水移行後の血中ナトリウム濃度は140 mEq/L台から160 mEq/L台の低い値を維持した。この結果は、絶食が魚の浸透圧調節能力において、特に淡水適応能力に影響を与えたことを示している。淡水中の魚ではプロラクチンが浸透圧調節に関与し (Pickford et. al., 1965)、鰹や腎臓を経由した環境水中の希薄なナトリウムイオンの能動的取り込みを促進することから (Ogasawara and Hirano, 1984; Doneen and Bern, 1974)、淡水中の絶食群にみられた血中ナトリウム量の減少は、ナトリウムイオンを取り込んで維持する役割を担う脳下垂体-鰹、腎臓系が正常に機能しなかったためと考えられる。体内のナトリウムイオン濃度の減少は、各器官の働きを阻害するだけでなく、アミノ酸の吸収も低下させる可能性が指摘されており (尾崎 1972)、飢餓の栄養代謝過程に与える影響も無視できない。また、絶食20日目以降の群では、海水移行後の血中ナトリウム濃度が低く抑えられたにも関わらず、生残率が低下していた。この結果から、絶食20日目以降の魚は体内の恒常性が維持できなくなるとともに、環境変化等のストレスに対して極めて弱くなるといえる。

再給餌群の死亡率は給餌再開とともに減少した。給餌群と絶食群の消化器官の組織像に大きな差がなかったことから、再給餌群は比較的速やかに餌の消化吸收活動を

再開できたものと思われる。再給餌前後で尾叉長、肥満度と血中タンパク質量を比較すると、尾叉長の増加が少なかったのに対して、肥満度と血中タンパク質量の増加は顕著だった。この結果は、吸収された栄養が、体成長よりも絶食中に衰えた筋肉など体組織の回復に使われた可能性を示している。また吸収された栄養の一部は、グリコーゲンとして肝臓へ蓄えられたことが組織像から明らかであった。しかし、総脂質量の増加は顕著ではなく、最も早く消費された脂質の蓄積は最も遅れて起きることが分かった。

再給餌群と給餌群では、淡水中および海水移行24時間後の血中ナトリウム濃度に有意差が認められなかった。それにも関わらず、再給餌群の海水移行後の生残率は61%と低かった。この結果から、再給餌群は給餌再開後の20日間で淡水中における浸透圧調節能力を回復したものの、環境変化などのストレスに対する耐性の回復は、なお不十分であったと考えられる。

今回の実験結果から、サケ幼魚が飢餓に至る過程には2つの段階があることが分かった。第一段階（絶食開始から10日目）では、脂質を中心に蓄積していた栄養が消費される。この時点では、絶食が魚の生残や海水適応能に与える影響はほとんど認められない。第二段階（絶食10日目から20日目）では、蓄積していた栄養が消費し尽くされ、栄養源を筋肉等体組織に転換する。この段階に至ると体内の恒常性が乱れ、死亡個体が急増するとともに、環境変化に対する抵抗力が極端に衰える。これまで、飢餓が魚に与える影響は脂質を中心とした栄養面から論じられることが多かった（Akiyama and Nose, 1980; 能勢ら1982）。しかし、飢餓を魚の健苗性や放流後の生残などの関係でとらえる場合、体内のタンパク質の動態、なかでも飢餓時に急速に低下し、回復時には迅速な上昇を示す血清タンパク質量は、魚の生理状態を鋭敏に反映する重要かつ簡便な判断材料であると思われる。

また、再給餌にともなう飢餓状態からの回復は、栄養面では体成長や脂質の蓄積に先駆けて筋肉など体組織の修復から始まること、浸透圧調節から判断される機能面では比較的短期間に完了することが予想された。しかし、このような回復の兆しが認められる魚でも、環境変化に対する抵抗力はなお不十分であったことから、健苗性としては問題があるといえよう。今後は、飢餓状態の魚がどこまで健苗性を回復し得るのか、放流実験を通じて生残率の調査を行う必要がある。

謝 辞

本研究の遂行に当たり、数々のご配慮を戴いた北海道

さけ・ますふ化場千歳支場の職員各位に感謝します。種々の有益な助言を戴きました琉球大学熱帯海洋科学センターの高野和則教授に対して謝意を表します。また、北海道さけ・ますふ化場の野村哲一博士には、脂質の分析に際して多大な援助と助言を戴きました。ここに深謝します。

引用文献

- 秋山敏男・能勢健嗣 (1980): 放流用シロザケ稚魚飼料の改善に関する研究-IV. シロザケ稚魚の成長段階と絶食に対する抵抗性との関係。さけ別枠1978河川型研究グループレポート, 北水研, pp. 145-166.
- Akiyama, T., and T. Nose (1980): Changes in body weight, condition factor and body composition of fingerling chum salmon with various sizes during starvation. *Aquaculture*, **1**, 71-78.
- Ban, M., and K. Yamauchi (1991): Seasonal changes in seawater adaptability of the hatchery reared juvenile sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. *Sci. Rep. Hokkaido Salmon Hatchery*, (45), 25-33.
- 伴 真俊・長谷川裕康・阿部邦夫 (1994a): サケの発育にともなう消化器官系の組織学的変化。さけ・ますふ研報, (49), 21-26.
- 伴 真俊・長谷川裕康・阿部邦夫 (1994b): 化場産サケの発育初期段階における摂餌量と健苗性の関係。さけ・ますふ研報, (49), 21-26.
- Doneen, B. A., and H. A. Bern (1974): *In vitro* effects of prolactin and cortisol on water permeability of the urinary bladder of the teleost *Gillichthys mirabilis*. *J. Exp. Zool.*, **187**, 173-179.
- Hasegawa, S., T. Hirano, M. Ogasawara, M. Iwata, and S. Arai (1987): Osmoregulatory ability of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, reared in freshwater for prolonged periods. *Fish Physiol. Biochem.*, **4**, 101-110.
- 堀山雅秀・熊谷五典 (1984): サケ稚魚の飢餓耐性。宮城県気仙沼水産試験場研究報告, (7), 11-14.
- 堀山雅秀 (1986): サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum) の初期生活に関する生態学的研究。さけ・ますふ研報, (40), 31-92.
- Kobayashi, T (1980): Salmon propagation in Japan. *In Salmon Ranching* (edited by J. E. Thorpe). Academic Press, New York. pp. 91-107.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.

- 中添純一 (1992): 成長にともなう代謝変動の生化学. 平成4年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース仔稚魚期の発育シリーズ No.5. 日本栽培漁業協会, 19 p.
- 中野 広・安藤義秀・白旗総一郎 (1985a): 成長にともなうサケ稚魚の酸性フォスファターゼ活性. 北水研報, (50), 87-92.
- 中野 広・安藤義秀・白旗総一郎 (1985b): 成長にともなうサケ稚魚の酸性プロテアーゼ活性の変化. 北水研報, (50), 87-92.
- 中野 広・安藤義秀・白旗総一郎 (1985c): サケ稚魚の浸透圧調節能力について. 北水研報, (50), 87-92.
- 能勢健嗣・江村利信・秋山敏男 (1979): 放流用シロザケ稚魚飼料の改善に関する研究-II. 飼料中のタン白質および脂質レベルの成長および絶食に対する抵抗性におよぼす影響. さけ別枠1978河川型研究グループレポート, 北水研, pp. 145-166.
- 能勢健嗣・村井武四・秋山敏男 (1982): シロザケ放流種苗の栄養特性—5ヶ年の研究のまとめ—. さけ別枠1981河川型研究グループレポート, 北水研, pp. 189-204.
- Ogasawara, T. and T. Hirano (1984): Effects of prolactin and environmental calcium on osmotic water permeability of the gills in the eel, *Anguilla japonica*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **53**, 315-324.
- 尾崎久雄 (1971): 消化の生理 (上). 魚類生理学講座 3, 緑書房, 132 p.
- 尾崎久雄 (1972): 消化の生理 (下). 魚類生理学講座 3, 緑書房, 330 p.
- Pickford, G. E., E. E. Robertson, and W. H. Sawyer (1965): Hypophysectomy, replacement therapy and the tolerance of the euryhaline killifish, *Fundulus heteroclitus* to hypotonic media. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **5**, 160-180.