

飼育条件によるヒラメ稚魚の体成分の変化について

藤 井 徹 生

(日本海区水産研究所)

1. はじめに

ヒラメ種苗の量産技術はほぼ完成域に達し、日本海ブロックでも各地で10万尾単位で種苗放流が行われている。しかし、人工種苗特有の体色異常や行動の緩慢さが被捕食等による減耗の原因になっている可能性が指摘されており、特に、放流直後の急激な減耗が大きな問題になっている。従来種苗生産の現場では歩留まりが高く成長の良い、そして手間のかからない飼育方法が追求されてきたが、放流効果を高めるにはそれに加えて天然海域で生き抜く力を種苗に持たせる必要がある。そのため、より質の高い種苗を安定的かつ効率的に生産する技術の開発と同時に種苗の質を判定する指標の作成が望まれている。

種苗の質の判定基準には、外見的なもの、生態的なもの及び生理的なものが考えられる。外見的なものとしては体色や奇形、生態的なものとしては遊泳力、潜砂能力、一度の摂餌に要する時間（古田1988）等があげられる。生理的なものとしては近年、RNA/DNA、脂質含有量、各種酵素の活性等の体成分の分析により種苗の質を判定しようという試みが行われている。

DNAは細胞中の核に含まれる遺伝子の本体であり、細胞当たりのDNAの量はほぼ一定で、飢餓やストレスにより変化しないことが知られている。一方、RNAは核や細胞質中に含まれ、DNAの遺伝情報を細胞質中に伝え、タンパク質の合成に関与している。RNAの量はタンパク質の合成の盛んな組織では高く、飢餓等の悪条件下では低くなると考えられている。このことから、RNAのDNAに対する比（RNA/DNA）は、細胞1個当たりのタンパク質合成能の指標とされている。この値を用いて稚仔魚の成長速度や栄養状態を判定しようという試みは大西洋産のタラ、ニシン、サバ、カレイ、甲イカ、南極オキアミ等で行われている（BUCKLEY 1979, 1980, 1984, RAAE et. al. 1988, CLARKE et. al. 1989, IKEDA 1989）。今回、飼育条件によるヒラメ稚魚の体成分、特にRNA/DNAの変化について若干の知見が得られたので報告する。

2. 材料と方法

(1) 飼育魚および天然魚の体成分

継続して飼育したヒラメ人工種苗を定期的にサンプリングしてRNA/DNA及びC/Nを測定した。C/Nは組織中の炭素（C）と窒素（N）の比であり、脂肪含有量の非常に優れた指標であるとされている（首藤ら1983）。

RNA及びDNAの定量には体長約40mm以下の個体については全身を、それ以上の個体については有眼側の背中の筋肉を用いた。C/Nの測定には有眼側の背中の筋肉を用いた。

天然魚は、平成元年8月3日に新潟市五十嵐浜沖において採集した。採集した天然魚の体長は、39.3～98.5mmであり、RNA/DNA、C/Nともに有眼側の背中の筋肉を用いて測定した。

(2) 絶食中の体成分変化

平均体長29.3mmのヒラメ人工種苗を常温区と調温区の2区を設定して6日間無給餌、その後6日間は給餌して飼育した。常温区の水温は23.5～26.5℃、調温区の水温は17.8～19.3℃であった。実験開始時、2日後、4日後、6日後、12日後に常温区は10尾、調温区は5尾ずつサンプリングし、両区の5尾ずつは全身を用いてRNA/DNAを、常温区の残り5尾は有眼側の背中の筋肉のC/Nを測定した。

(3) 餌条件による体成分変化

平均体長27.5mmのヒラメ人工種苗を1日2回給餌、1日1回給餌、2日に1回給餌、無給餌の4区に分けて17日間飼育した。実験開始時、5日後、10日後、17日後に5～7尾ずつサンプリングし、全身を用いてRNA/DNAを測定した。

飼育魚のサンプリングは午前中の給餌前に行った。サンプルは-80℃で保存し、後日分析に供した。また、RNA及びDNAの定量にはSTS法(中野1988)を、C及びNの定量にはCHNコーダー(柳本MT-5)を用いた。

3. 結果と考察

(1) 体長によるRNA/DNA及びC/Nの変化

継続飼育したヒラメ稚魚の体長とRNA/DNAを図1に示す。変態直後の体長10～15mmの個体のRNA/DNAは5～6と高い値を示したが、その後は急激に低下して体長30mm以上ではほぼ一定した値を示した。変態直後の稚魚のRNA/DNAの値の高さの原因としては、変態という形態的な変化に際してより多くのタンパク質を合成するためにRNA/DNAが高くなる可能性が考えられるが、今後仔魚期からの継続的なサンプリングを行って検討する必要がある。

全身を用いて測定した値と筋肉を用いて測定した値の比較は行えなかったが、中野(私信)によると同一魚では筋肉だけを用いた場合の方が値が低くなるとしており、今回の結果も同様であると推察される。図1では、全身を用いた結果と筋肉を用いた結果を直接比較することはできないが、一定の傾向を表してはいると考えられる。

天然魚の体長とRNA/DNAを図2に示す。RNA/DNAは4前後を中心にばらついていたが、体長の増大にともなう増減は認められず、ほぼ横ばいの状態を示した。これは、継続飼育で得られたRNA/DNAは体長30mm以上ではほぼ一定という結果(図1)と一致している。

飼育魚及び天然魚の体長とC/Nを図3に示す。×は飼育魚、●は天然魚を表している。飼育魚、天然魚ともに体長の増大にともなうC/Nの変化は認められなかった。また、飼育魚のC/Nは1尾を除いては3.20以上の値を示したのに対して天然魚では大部分の個体が3.20以下であった。首藤ら(1983)は、C/Nは脂肪含有量と高い相関があるとしており、今回の結果は飼育魚の方が天然魚よりも有意(危険率5%)に脂肪含有量が多いことを示している。

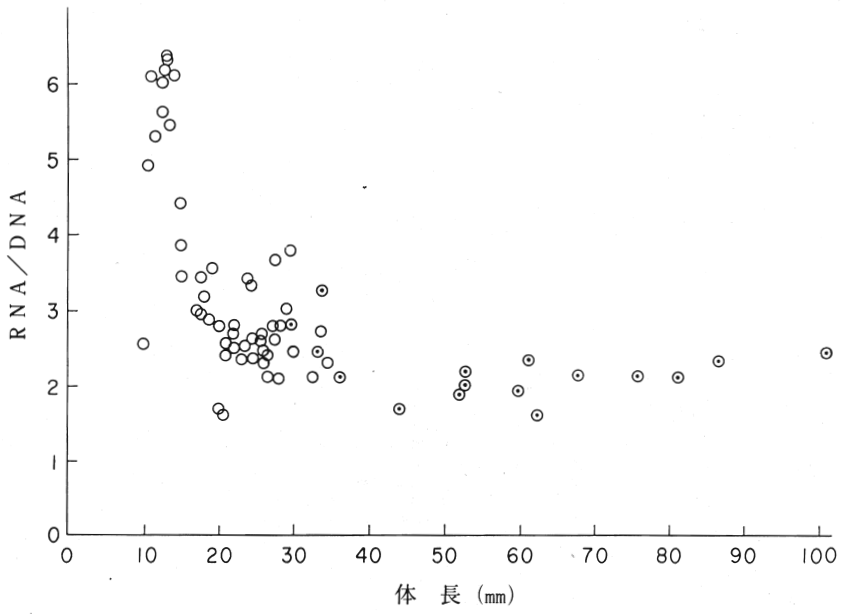


図1 継続飼育したヒラメ稚魚の体長とRNA/DNA
 (○全身を用いたもの ●筋肉のみを用いたもの)

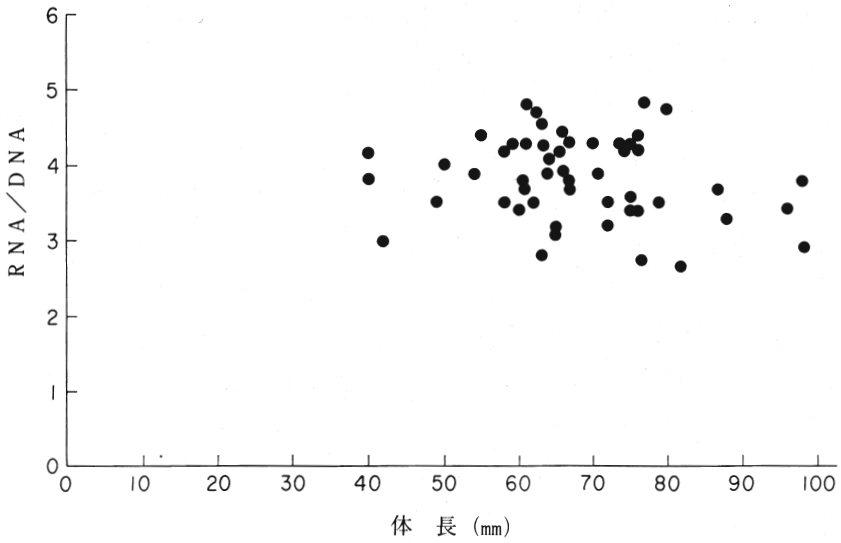


図2 天然ヒラメ稚魚の体長とRNA/DNA

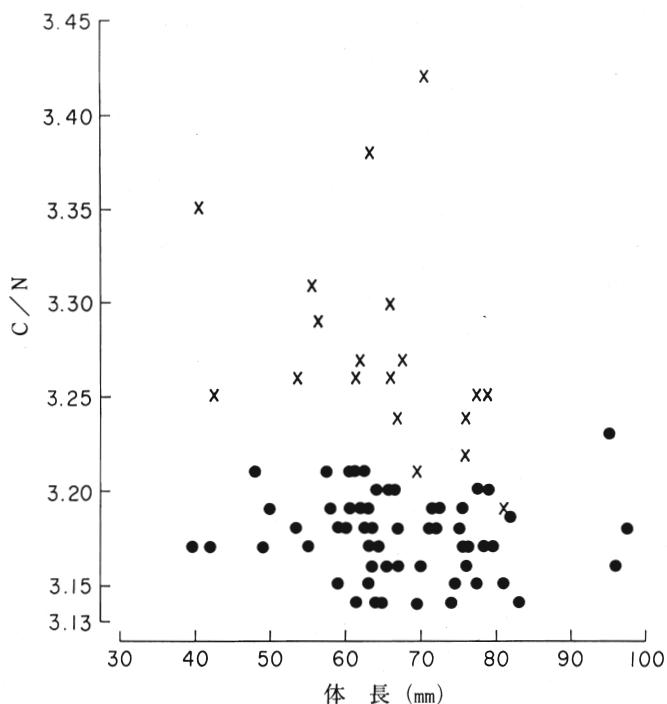


図3 飼育魚および天然魚の体長とC/N
(×飼育魚 ●天然魚)

図4は同一魚のRNA/DNAとC/Nを比較したものである。×は飼育魚、●は天然魚である。同一魚のRNA/DNAとC/Nの間には明瞭な相関はみられなかった。飼育魚と天然魚のRNA/DNAの差について危険率5%で検定したところ、RNA/DNAは天然魚の方が飼育魚よりも有意に高かった。

RNA/DNAもC/Nもともに栄養状態の指標として用いられるが、両者は違ったものを表している。今回の実験では、タンパク質合成能の指標であるRNA/DNAは天然魚の方が高く、脂肪含有量の指標であるC/Nは飼育魚の方が高かった。また、C/Nが3.30以上と特に高い飼育魚4尾のRNA/DNAはすべて3.5以下、4尾中3尾が3.0以下と低い値を示した。このことは、飼育魚は天然魚にくらべて脂肪の蓄積量が多く、特に過剰に蓄積している個体はタンパク質合成能が劣ることを示している。輿石ら(未発表)により人工種苗の大部分は肝臓が肥大していることが指摘されており、健苗性という点において人工種苗の「食いすぎ、太りすぎ」は問題を含んでいる。ヒラメ稚魚にとって健全と思われる状態のRNA/DNA、C/Nの値を解明することは今後の課題である。

(2) 絶食中の体成分変化

常温区、調温区のRNA/DNA及び常温区のC/Nの変化(サンプリングした5尾の平均値)を図5に示す。常温区のRNA/DNA(○)は開始時には2.7であったが、絶食中速やかに低下し、6日後には1.8になった。給餌再開後には回復し、12日後には2.4となった。調温区(●)でも絶食中はRNA/DNAは速やかに低下し、6日後には2.0になったが、12日後には2.6まで回復した。絶食

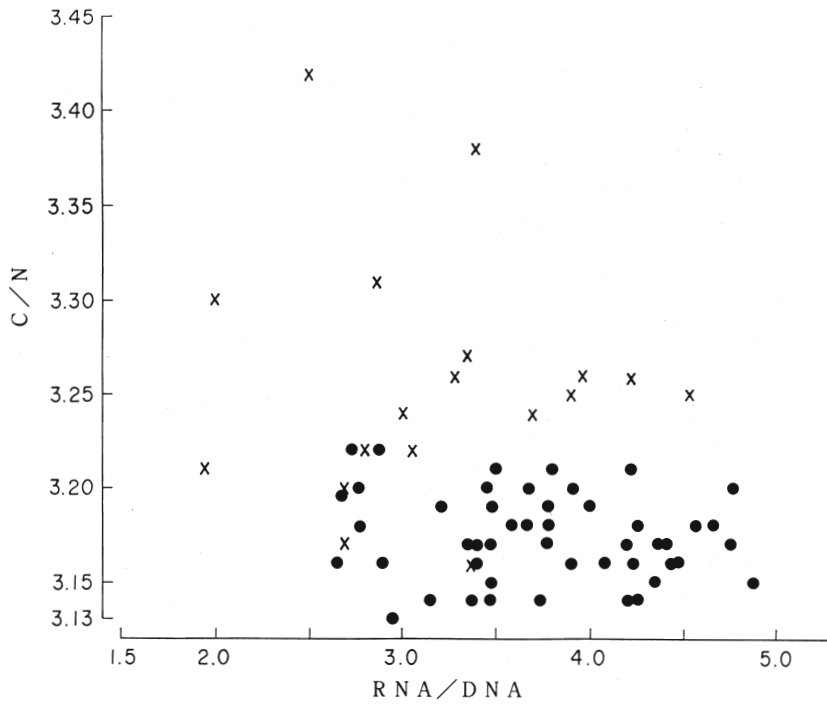


図4 同一魚のRNA/DNAとC/N
(×飼育魚 ●天然魚)

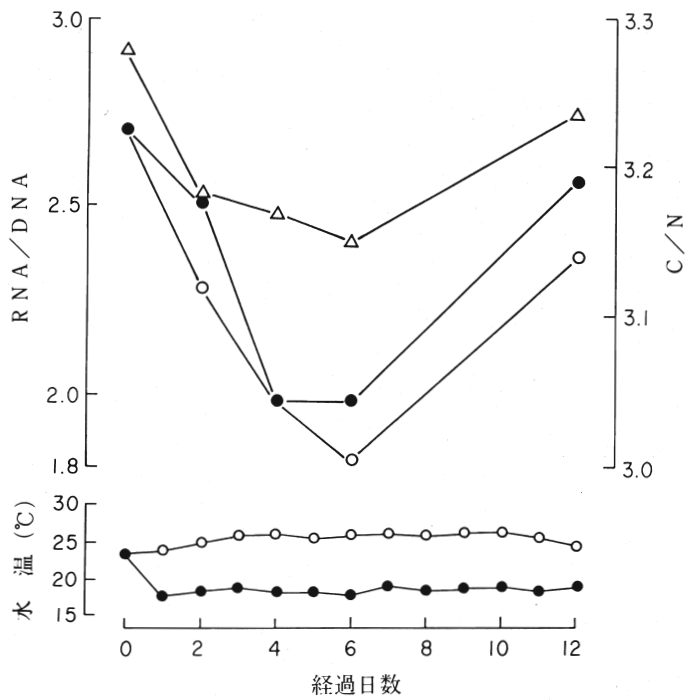


図5 絶食中及び給餌再開後のRNA/DNA及びC/Nの変化
(○常温区RNA/DNA ●調温区RNA/DNA
△常温区C/N)

中のRNA/DNAの低下は常温区の方が大きかったが、これは常温区の方が基礎代謝量が多く、消耗が激しかったためと考えられる。

一方、常温区のC/N (△) も絶食中は減少し、給餌再開後回復したが、その値は開始時3.28、6日後3.15、12日後3.23で、RNA/DNAにくらべると変化の幅は小さかった。従来、栄養状態の指標としてC/Nが使われてきたが、今回の実験でRNA/DNAはC/Nよりもはるかに大きな幅で変化したことは、栄養状態の指標としてのRNA/DNAの有効性を示唆している。

(3) 餌条件による体成分の変化

餌条件による成長及び体成分の変化を図6に示す。平均体長は、5日後には各区で大きな差はなかったが、10日後には1日2回給餌区(○)では34.7mm、1日1回給餌区(●)では34.6mm、2日に1回給餌区(△)では29.7mm、無給餌区(×)では29.2mmと差が開き始め、17日後には1日2回給餌区44.0mm、1日1回給餌区40.7mm、2日に1回給餌区33.4mm、無給餌区29.2mmとなった。一方、RNA/DNAの平均値は実験開始時には3.8であって、5日後にはまず無給餌区で2.8まで大きく低下し、10日後には1日1回給餌区も2.7まで低下した。また、10日後には1日2回給餌区では4.2、1日1回

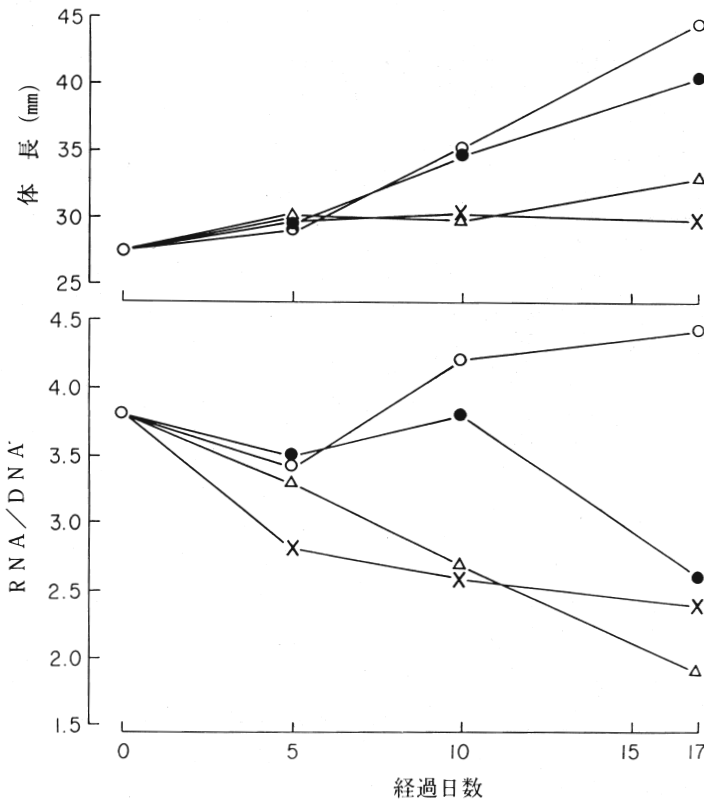


図6 餌条件による成長及び体成分の変化
 (○) 1日2回給餌区 (●) 1日1回給餌区
 (△) 2日に1回給餌区 (×) 無給餌区

給餌区では3.8と、この2区の差も大きくなった。17日後には1日2回給餌区では4.4となったが、1日1回給餌区は2.6と低下し、2日に1回給餌区は1.9、無給餌区は2.4となった。

17日後の1日2回給餌区のRNA/DNAの4.4という値は図5の天然魚の値に匹敵している。また、10日後には1日2回給餌区と1日1回給餌区の体長にはほとんど差がなかったが、RNA/DNAの差は開き始めており、17日後には体長、RNA/DNAともに大きく差が広がった。体長の差が開くのに先立ってRNA/DNAの差が開いたことは注目に値する。このことはRNA/DNAの値からその後の成長を予測できる可能性を示唆している。10日後から17日後にかけての1日1回給餌区のRNA/DNAの低下は1日1回の給餌では餌が足りなくなったためと考えられ、この後継続して飼育していればRNA/DNAは低い値で推移し、1日2回給餌区との体長の差もさらに大きく開いたものと推察される。

17日後には2日に1回給餌区と無給餌区とでRNA/DNAが逆転しているが、これは10日後以降に無給餌区において共食いがあったことによると推察される。

5日後から10日後、10日後から17日後にかけての各区での1日あたりの平均成長速度(mm/day)とその間のRNA/DNAの平均値を図7に示す。回帰直線 $y = 0.767x - 1.81$ が得られ、相関係数は0.89であった。わずかなデータからの推定であり、また、水温によってRNA/DNAと成長速度の関係は変わることが予想されるが、この飼育実験の条件下ではRNA/DNAが2.36のとき成長速度は0になると推定される。

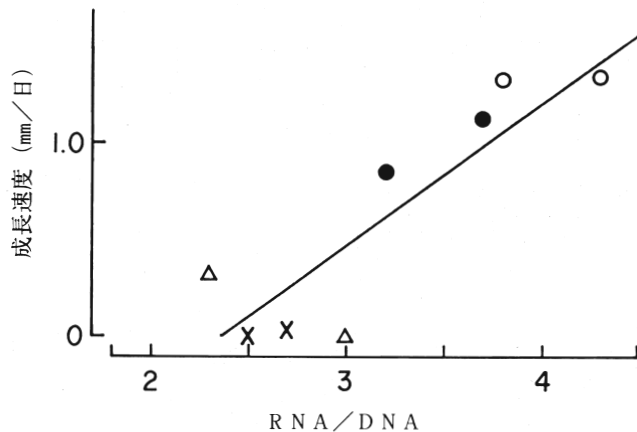


図7 RNA/DNAと成長速度
 (○ 1日2回給餌区 ● 1日1回給餌区
 △ 2日に1回給餌区 × 無給餌区)

(5) 飼育方法によるRNA/DNAの相違

図8は日栽協小浜事業場で種苗生産したヒラメ(○)と日水研で種苗生産したヒラメ(●)のRNA/DNAの比較である。両者のRNA/DNAには有意の差があり、日栽協産のヒラメの方が高かった。今回の実験のうち、継続飼育及び絶食試験に用いたのは日水研産ヒラメで、RNA/DNAは

2～3の範囲にある(図1, 5)。一方, 天然魚との比較及び餌条件試験には日栽協産のヒラメを用い, 3～4というRNA/DNAを得た。また, 継続して飼育したところ, 日栽協産は1.3mm/dayの成長を示したのに対して日水研産のものは0.6mm/dayにとどまった。両者の間には飼育規模, 水温, 餌料系列等の相違がある上, 飼育技術にいたってはプロと素人の相違がある。今回, 日栽協産のヒラメが当所産のヒラメよりも高いRNA/DNAを示し, その後の成長も良かったことはRNA/DNAが, 種苗の質を表す指標の一つになり得ることを示唆している。しかし, RNA/DNAがいわゆる種苗の活力をどの程度反映しているかは, 今後の検討を要する。

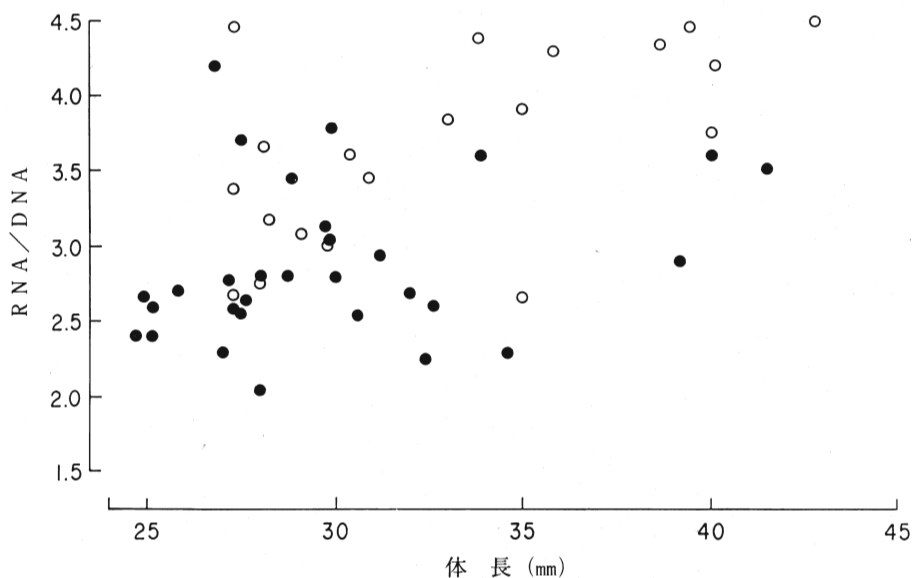


図8 日栽協小浜事業場産のヒラメ稚魚と日水研産のヒラメ稚魚の体長とRNA/DNA (○日栽協産 ●日水研産)

文 献

- BUCKLEY, L. J. (1979) Relationships between RNA-DNA ratio, prey density, and growth rate in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **36**, 1497-1502.
- BUCKLEY, L. J. (1980) Changes in ribonucleic acid, deoxyribonucleic acid, and protein content during ontogenesis in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, and effect of starvation. *Fish. Bull.*, **77**, 703-708.
- BUCKLEY, L. J. (1984) RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. *Mar. Biol.*, **80**, 291-298.
- CLARKE, A., RODHOUSE, P. G., HOLMES, L. J. and PHILIP, L. (1989) Growth rate and nucleic acid ratio in cultured cuttlefish *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **133**, 229-240.

- 古田晋平 (1988) ヒラメ人工種苗の短期馴致効果の検討. 日本海ブロック試験研究集録 (13), 日本海区水産研究所, 61-72.
- IKEDA, T. (1989) RNA content of the Antarctic krill (*Euphausia sperba* DANA) an estimator of natural growth rate. *Proc. NIPR Symp. Polar Biol.*, 2, 26-33.
- 中野広 (1988) 海産魚類=初期生活史研究の手法13稚仔魚研究のための核酸の定量法. 海洋と生物, 10(1), 23-26.
- RAAE, A. J., OPSTAD, I., KVENSETH, P. and WALTHER, B. T. (1988) RNA, DNA and protein during early development in feeding and starved cod (*Gadus morhua* L.) larvae. *Aquaculture*, 73, 247-259.
- 首藤宏幸・池本麗子・畔田正格 (1983) 志々伎湾における若魚期マダイの生息場所の評価. 西水研報, (59), 71-84.

[質疑応答]

- 村井 (中央水研) 1日1回給餌区は成長しているにもかかわらずRNA/DNAが大幅に低下している。RNA/DNAは必ずしも成長の良否の指標にはならないのではないか。
- 藤井 RNA/DNAが低下するとともに成長速度は低下している。17日後のRNA/DNAは成長速度が0になると推定される値を上回っており、成長していても不思議はない。成長速度はRNA/DNAの低下にもなって低下していることからRNA/DNAは成長速度の指標になり得ると考える。
- 広瀬 (養殖研) ①栄養状態の良い悪いとはどのような意味としてとらえているのか。②天然のヒラメ稚魚が種苗性が高いと考えて良いのか。
- 藤井 ①何をもって栄養状態が良いとするかの基準については検討中である。②古田 (1988) により、天然ヒラメと人工ヒラメに摂餌能力の差があることが示されている。また、放流後の人工ヒラメの成長率および生残率は天然ヒラメに劣る。以上より天然ヒラメ稚魚の方が種苗性が高いと考える。