

## 増養殖研究における生化学的手法の利用

中野 広\*

(中央水産研究所)

### はじめに

放流種苗の増加にともなって、放流効果が問われつつある。放流効果が上がらない主たる原因として、放流種苗の質を考えられている。種苗の質を検討するには、形態的、生理的(生化学的)、生態的な方法がある。生化学的方法とは、生体成分の定量や酵素活性の測定から、エネルギー代謝や生体の機能面の発達を明らかにする事である。

一方、魚介類は成長にともなって生理的・生化学的に大きく変化する。サケやヒラメでは、この変化が生態的変化や形態的変化と対応する。魚介類の場合は、生態の観察が困難な面があるので、飼育過程における生化学的变化から、生態的変化を予測する事が出来れば望ましいことである。

この報告書では、増養殖研究における生化学的手法の考え方と利用例を紹介したい。

### 1. 成長に伴う生化学的变化

哺乳類の誕生後の成長様式は、主として、細胞が大きくなることによる成長である。これは肥大的成長と呼ばれる。これに対して、魚介類の成長様式は、細胞数の増大による成長(増殖的成長と呼ばれる)と肥大的成長の両面があることが特徴であり、哺乳類とは異なっている。また、魚介類をはじめ生物では、摂取した栄養成分は、仔稚魚期には、成長や生命維持のために使われたり、成魚期になると生命維持や再生産のために使われる。この面では成長とはエネルギーの分配の歴史であるといえる。さらに、成長の中身においても、生体の機能が発達する時期があつたり、エネルギー蓄積する時期があつたりするなど多様で、これは魚種毎に異なる。このようなことは、生体成分を測定することによって明らかにする事が出来る。ここでは、著者がサケ等で行った研究例を紹介する。

サケは成長に伴って、DNA量やRNA量が増加する。RNA量は直線的な増加を示すが、DNA量が増加する時期と余り変動しない時期に分けることが出来る。細胞当たりのDNA量はほぼ一定であるので、DNA量は細胞数と読みかえることが出来ることから、サケでは50mmや80mm付近で細胞数が増え、65mm付近で細胞数が変化しないということがわかる(中野ら1985a)。タンパク質合成能を表す核酸比は、尾叉長45mm付近と、65mm付近に高い値を示し(中野ら1985a)、また、全脂質含量は45mm付近と65mm付近に高い値を示し、このうち、リン脂質は尾叉長50mm付近で量的に増加するが中性脂質はほとんど変化しない(坂田ら1985)。ペプシン様消化酵素活性は尾叉長35mmで最も高い。このことは、胃での消化能力が35mmになると充分発達していることを示している(中野ら1985a)。また、肝臓の

\* 現在水産庁研究課

糖代謝系の酵素活性のうち、糖新生系の酵素は50mmと80mmで活性化し、この反面、解糖系酵素活性は65mmで高い活性を持つ。遊泳速度と関係がある筋肉の収縮性酵素タンパク質であるミオシンB-ATPase活性は、およそ50mm付近まで活性化し、それ以後活性は低下する。このことから、筋肉の収縮機能は50mmまでに発達することが理解できる（中野1991）。浸透圧調節に関与するエラのNa-K-ATPase活性は65mmで最大値を示す（中野ら1985c）。

このように、成長にともなって生体成分量や酵素活性は大きく変化する。また、これらの変化するサイズは、共通していることが興味深い。これらの結果から類推した生態的変化は入江（1990）が明らかにした結果と良く対応する。このほか、マコガレイでは生化学的変化と形態的変化が良く対応し、また、生態的変化とも良く対応することが明らかとなっている（李1987）。このような事実は、生化学的な手法をもつて生体変化を明らかにすることが、成長や生態的な研究を推進する上で有効であることを示している。

## 2. 種苗の評価法としての生化学的手法

放流効果を上げるためにには、種苗が質的に良く、放流サイズ、放流場所と時期、放流方法が適切で、放流数が多く、不合理漁獲がない事が必要である（図1）。種苗の質についての論議を進めるとして、放流サイズは、上記したように生理・生化学的、形態的、生態的の関係から明らかにすることが出来る。また、病気の発生も、日和見感染といわれ、通常、体調の良くないときに感染し、発病が多い。このためにも、生理状態を常に明らかにしておくことは、元気な種苗を作るためにも重要である。

種苗の質を評価するには、生理・生化学的な手法、形態学的な手法、生態学や行動学的な手法の総合的な観点からなされる必要があるが、実際的には、現在、空中乾出試験、起き上がり試験、潜砂試験等の耐性試験が多く使われている。耐性試験はどちらかに分けると生理・生化学的な試験に近いと考えている。空中乾出の有効性についてはマダイで明らかにしたが（中野ら1988）、最近、クロアビの生理状態と起き上がり率の変化とは対応することが明らかにされた（高見1992）。耐性試験は、生理・生化学的な意味付けが出来なければ使用するに問題があろう。

人工種苗は、一般的にトリグリセリド等のエネルギーの蓄積量が多いことが知られている。しかし、放流すると、人工種苗は、摂餌しているにも関わらず、著しくこのエネルギー物質を減少させ、事実上飢餓的な状況に陥る。この原因としては、放流後、放流場所になかなか順化できないので、摂取したエネルギー量よりも使用するエネルギー量の方がはるかに大きいことに起因していると考えられているが、もう一つ、人工種苗生産魚の基礎代謝量が天然魚に比べて基本的に大きいことによる。20年前以前には、アメリカ車と国産車に対応する表現として、「国産車は小回りが利き、燃費が良いが、事故（ハンドリング）には弱い。これに対して、「アメリカ車は、ガソリンタンクは大きく、事故（ハンドリング）には強いが、燃費が悪い」といわれた。まさに、人工種苗と天然魚を例えれば、この言葉がぴったりする。これらのこととは、種苗の生化学的な分析から明らかにできる。

少しだち戻って、成長とは何かを考えてみたい。成長は内的要因（遺伝的）と外的要因（環境要因）

で規定される（中野1988）。成長するということは、タンパク質の合成量が分解量を上回ることであるが、これは内分泌系、神経系、代謝系が相互に作用する。良い成長とは、合成量が低く、分解量が更に低く、相対的にこの差が大きいことである。この様な種苗は良い種苗である。このことを確認できれば都合がよい。このことは通常タンパク質の代謝回転と呼ばれる。このタンパク質の代謝回転はラジオアイソトープを用いたり、また筋肉中の3-メチルヒスチジン量から測定できるが、実際の現場では現実的ではない。それでは簡便な方法があるかということである。タンパク質の合成能は先ほど見てきたように核酸比で見ることが出来る。既に、サケ（中野ら1985）、ヒラメ（藤井1990）の日間成長率と核酸比には直線関係があることが報告されている。分解の程度は、一般には細胞内タンパク分解酵素であるリゾソーム中に存在する酸性プロテアーゼ（カテプシン系酵素）の活性から明らかに出来る。飢餓にするとこれらの酵素活性が高くなる（中野・白旗1988）。我々は、マダイの飼育密度と行動学的・生化学的な関係について検討しているが、高密度飼育をすると核酸比が高いが、カテプシン系の酵素活性も高い。すなわち、タンパク質を多く作るが、壊すのも多い、という結果が得られている。これでは良い成長を示さないといえる。当然、この様な状態では、マダイの行動も異なり、機能的な発達も遅れるという結果が得られている。

## おわりに

生化学的な手法を用いて、成長と放流種苗の質的な判断についての研究例を紹介してきたが、これらは互いにリンクしており、あるサイズでの生体成分や酵素活性が明らかになっていなければ、その質の評価は困難である。また、人工種苗はふ化後の生残率が著しく高く、著しい個体差があるので、種苗の評価をする場合、この個体差を勘案する必要がある。さらに、生化学的手法は種苗の質を評価する方法として優れているが、サンプリングと保存方法がきっちりとしているという前提が必要である。ここでは、種苗生産、中間育成について主として述べたが、輸送や放流方法、放流場の評価等にも使用できる。いろいろな所での活用を期待したい。

## 文 献

- 藤井徹生（1990）飼育条件によるヒラメ稚魚の体成分の変化について。日本海ブロック試験研究集録, 19, 45-53.
- 入江隆彦（1990）海洋生活初期のサケ稚魚の回遊に関する生態学研究。西海区水研報, 68, 1-142.
- 李 培翼（1987）マコガレイ *Limanda yokohamae* 仔稚魚の生化学的・形態的变化に基づく発育段階。昭和62年度東京水産大学修士論文, 1-45.
- 中野 広（1991）生体成分の生化学的分析、魚類の初期発育（田中 克編）。恒星社厚生閣, 60-70.
- 中野 広・白旗総一郎（1988）サケの健苗性について。日本水誌, 54, 1263-1269.
- 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、総蛋白質、RNAおよびDNA量の変化。北水研報, 50, 71-77.
- 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, 83-85.

中野 広・安藤義秀・白旗総一郎 (1985c) サケ稚魚のエラの Na-K-ATPase 活性の成長にともなう変化と降海サイズについて. 北水研報50, 93-98.

中野 広・小野木博一・大橋誠之・丸山敬悟 (1989) マダイの空中乾出時の生化学的变化に関する研究 粗放的生産魚と集約的生産魚との比較. 栽培技研, 17(2), 107-113.

坂田澄雄・中野 広・安藤義秀・白旗総一郎 (1985) 成長にともなうサケ稚魚のグリコーゲンと脂質含量の変化. 北水研報50, 79-82.

高見秀輝 (1992) 生化学的分析からみたクロアワビ人工種苗の生理・生態学的特徴. 平成3年度東京水産大学修士論文, 1-58.

### [質疑応答]

藤井 (日水研) 生化学的な分析の値は水温にどの程度の影響を与えるか.

中野 一般的には、水温が高くなると酵素活性等、生化学成分は高くなるので、基本的には、同じ様な温度域のもので比較した方がよいと考える。しかし、実際は、水温よりも個体差の方が大きいので、生息海域での小さな温度範囲では余り影響がないのではないだろうか。飼育魚において、核酸比では問題があると考えるならば、核酸比一日間成長率で比較するのが良い。

藤井 将来的には「この範囲の値であれば健苗と言える」というような診断表の様な物を作成する予定はあるか。

中野 作ろうと思えば、人間の臨床検査の様な物が出来る。人間の臨床検査は莫大なデータの収集によってもたらされたもので、時間と予算が必要である。

藤井 講演の中に「人工種苗はエネルギーの蓄積が十分」という表現があったが、私は「不健康なただのデブ」というイメージを持っている。この点についてはどうお考えか？

中野 代謝回転が速い（基礎代謝量が高い）状態で、単にエネルギーの蓄積が高いと、それは、「不健康なただのデブ」である。人工種苗は、天然魚とは異なり、輸送、放流というような操作が伴うので、放流時にはエネルギーの蓄積が必要である。

広川 (日裁協) アワビの中間育成や天然稚貝に近づけるような方法についてはどう考えていくべきよいか。

中野 エネルギーの蓄積のない天然稚貝が良いとは単純にいえない。藤井氏への回答にも関連するが、輸送、放流という操作の中で、エネルギーを使うので、人工種苗としての特徴があることが必要である。要は、基礎代謝量が低く、体の機能が十分に発達していることが必要である。アワビの中間育成については良くわからないが、飼育密度や、飼育形態等の改良が必要かも知れない。

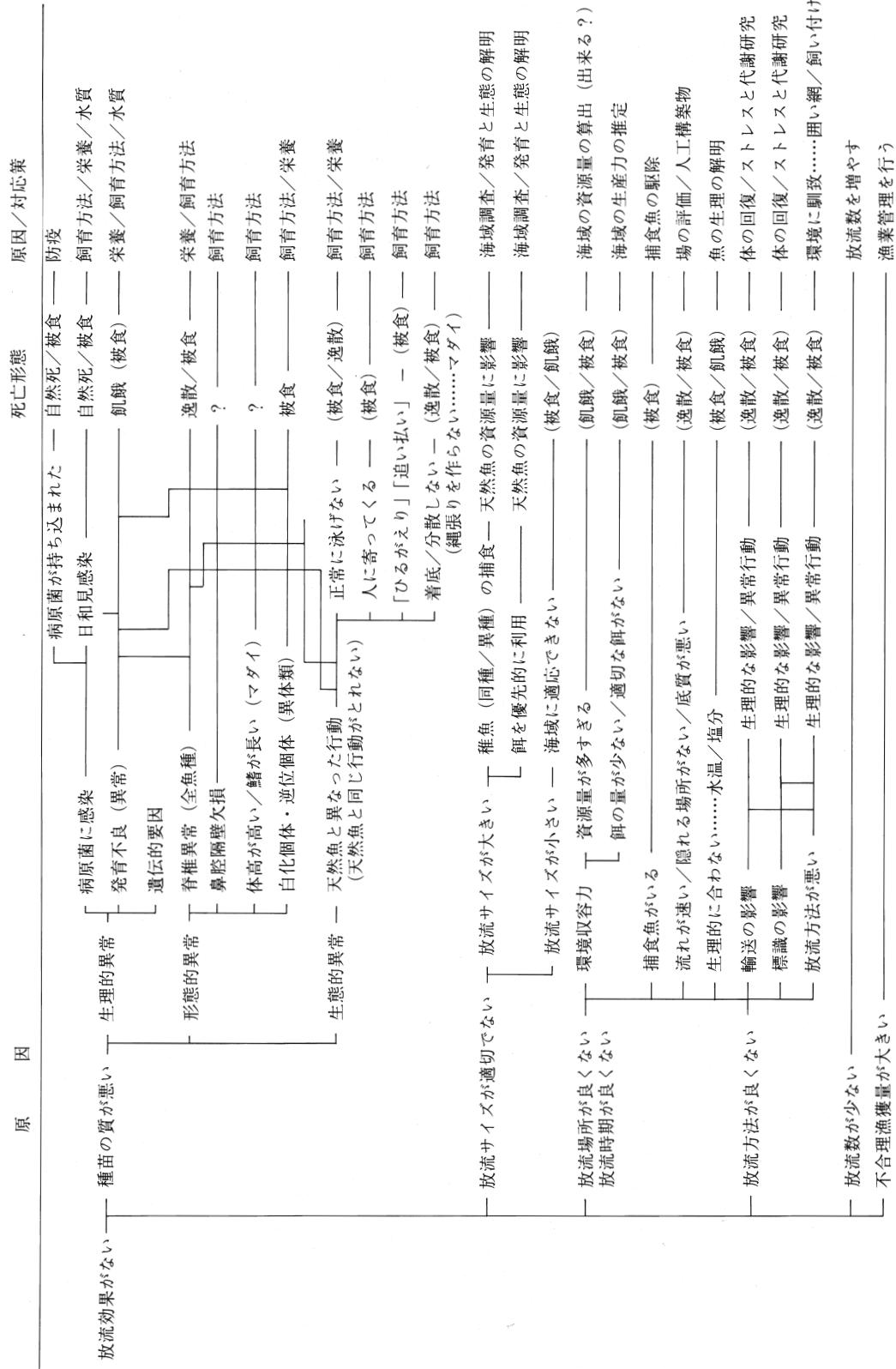


図1. 放流効果のない原因とその対応策