

給餌率を変えて飼育したマツカワ稚魚の瞬間成長率と躯幹の成分との関係

高谷義幸^{*1}, 佐藤敦一²

¹北海道立総合研究機構中央水産試験場,

²北海道立総合研究機構栽培水産試験場

Relationships between the specific growth rate and biochemical constituents in the trunk of laboratory-reared juvenile barfin flounder, *Verasper moseri*

YOSHIYUKI TAKAYA^{*1} AND NOBUKAZU SATO²

¹ Central Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Yoichi, Hokkaido 046–8555,

² Mariculture Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Muroran, Hokkaido 051–0013, Japan

Relationships between the specific growth rate (SGR) and biochemical constituents in the trunk of juvenile barfin flounder (*Verasper moseri*) were investigated. The juveniles were reared for 25 days under 2 dietary conditions (0.5% and 2% body weight day⁻¹, respectively), to clarify the biochemical constituents, for use as the substitute indicators for SGR. Specifically, we analyzed moisture, crude fat, triglyceride, phospholipid, glycogen, protein, RNA, DNA, and free amino acid levels after feeding. Crude fat, moisture, RNA/DNA ratio, phospholipid/DNA ratio, and protein/DNA ratio exhibited positive linear regressions with SGR. Our results show that these biochemical indicators may be potentially useful as a substitute index for SGR when evaluating the growth rate of released barfin flounders in the field.

キーワード：躯幹，瞬間成長率，成分，マツカワ

北海道ではマツカワ (*Verasper moseri*) 資源の増大を目指して人工種苗放流を行っている。2006年からの100万尾放流の成果が表れ、近年、漁獲量が増加しているが、同時に放流海域間で放流魚の回収率や漁獲量に差が見られるといった問題点が顕在化している(村上ら, 2011)。このような放流効果の差は、ヒラメで推測されている(古田ら, 1997; Watanabe *et al.*, 2006) ように放流場所の餌料環境がその一因となって生じていると考えられる。放流場所の餌料環境を推測するための手法として、ネット曳きで餌生物を採集する方法や放流再捕魚の成長から成長率を算出する方法があるが、前者は採集時の一時的な餌料量を知ることしかできないし、後者は一定期間の累積的な摂餌量を評価することが可能だが、個体識別が必要なことからフィールドでの活用が難しい。そこで、一定期間の摂餌状態の累積を反映する生化学的指標で成長率を類推することが有効と考え、前報(高谷・佐藤, 2013)において、飼育条件下で給餌率を変えた場合の成長率と肝臓成分の関係について報告し、成長の良好な個体は栄

養蓄積量が多く、核酸比などの生理活性も高いことを示した。餌料環境の違いによる成長差は同時に筋肉などの躯幹成分とも密接に関係しているため、本研究では、給餌率を変えて飼育した人工種苗の成長と躯幹成分の関係について検討したので、その結果を報告する。

試料および方法

実験には北海道栽培漁業振興公社伊達事業所で2010年4月に生産され、(地独)北海道立総合研究機構栽培水産試験場で育成したマツカワ人工種苗0歳魚(実験開始時平均全長86.2mm, 最大91mm~最小81mm, 平均体重8.4g, 最大10.2g~最小7.1g)を用いた。供試魚は2010年9月22日から無給餌とし、9月24日に全長および体重を測定し、個体識別のためのスパゲッティ型標識を装着して200ℓポリカーボネイト水槽2基に10尾ずつ収容した。実験区は、給餌率を変えた2試験区を設定し、それぞれ収容した種苗の魚体重に対して1日あたり0.5%および2%になるように市販配合飼料(ヒガシマル社製珊瑚シリーズ)を給餌

した。ただし、給餌は週3~4回、断続的に行ったので、1週間の平均給餌量が設定給餌量になるように1回あたりの給餌量を調整した。飼育期間中は水温調整を行わなかったため飼育水温は18℃から16℃で推移した。10月19日に給餌を行った後は無給餌とし、10月21日にサンプリングして全長、体重を測定して瞬間成長率 (Specific Growth Rate, 以下、SGRと表記) を算出 (計算式は前報 (高谷・佐藤, 2013) 参照) し、魚体を-30℃で凍結保存した。後日、これらを解凍し、内臓囊後端部から内臓部を含まないように尾部に向かって約1cm幅で魚体を切断し (骨、皮、筋肉部を含む, 以下、躯幹と表記), 真空凍結乾燥機で乾燥させて水分量を測定した後、ハサミで裁断して乳鉢でよくすりつぶし、一部を分取して適量の冷蒸留水を加えてヒスコトロン (マイクロテック・ニチオン社製) でホモジナイズした。このホモジネートから0.5mlを核酸定量用に、また0.2mlをタンパク質定量用に分取した。残りを真空凍結乾燥し、適量のエタノール・エーテル (3:1, v:v) を加えて混合後に遠心分離し、上澄1mlを分取して重量法によって粗脂肪量を測定した。また、上澄の適量を分取してトリグリセリド (以下TGと表記) とリン脂質 (以下PLと表記) の定量に供した。残りは遠心エバポレーターで溶媒を除去した後、2mlの30%KOHを加えて溶解し、グリコーゲンの定量に供した。各成分の定量法は、前報 (高谷・佐藤, 2013) と同様である。また、前述の乳鉢ですりつぶした試料の一部を分取し、2%スルホサルチル酸を加えて遊離アミノ酸を抽出し、アミノ酸自動分析装置 (L-8900, HITACHI) によって各アミノ酸量を定量した。定量した38成分のうちアスパラギン酸 (Asp), トレオニン (Thr), セリン (Ser), グルタミン酸 (Glu), グルタミン (Gln), グリシン (Gly), アラニン (Ala), バリン (Val), システイン (Cys), メチオニン (Met), イソロイシン (Ile), チロシン (Tyr), フェニルアラニン (Phe), トリプトファン (Trp), ヒスチジン (His), アルギニン (Arg), プロリン (Pro) の17成分を糖原性アミノ酸 (田川, 1993) として、また、トレオニン (Thr), イソロイシン (Ile), ロイシン (Leu), チロシン (Tyr), フェニルアラニン (Phe), トリプトファン (Trp), リシン (Lys) の7成分をケト原性アミノ酸 (糖原性にもなりうるアミノ酸を含む) (田川, 1993) として扱い、これらの合算量を総遊離アミノ酸量で除し、それぞれ糖原性アミノ酸率, ケト原性アミノ酸率とした。

結 果

飼育中に水槽からの飛び出し等により死亡した2%給餌区の3尾を除いて、Table 1に実験期間中の各試験における魚体の成長を示した。0.5%給餌区では開始時の平均全長

86.3mm・平均体重8.5gが25日間の給餌終了後には88.5mm・8.9gであり、平均伸長量は2.2mm, 平均増重量は0.5gであった。2%給餌区では、平均全長86.1mm・平均体重は8.3gがそれぞれ96.6mm・12.7gに増大した。平均伸長量は10.4mm, 平均増重量は4.4gとなり、給餌量の差により成長差のある個体が得られた。SGRは0.5%給餌区で平均0.18%・最小-0.59%~最大0.85%, 2%区では1.71%・1.58%~1.84%であった。

肥満度は、0.5%給餌区で実験開始時に平均1.31であり、実験終了時には1.27でほとんど変化がなかったのに対し、2%給餌区では開始時に平均1.29であったのが終了時には1.41となり、給餌率を反映して増大した (Table 1)。

SGRと躯幹成分分析値の関係をFig.1に示した。貯蔵栄養物質に関連する成分として、粗脂肪, TG, グリコーゲン, 水分, タンパク質および遊離アミノ酸について比較した結果, SGRと相関が強かったのは粗脂肪 ($r=0.932$), TG ($r=0.685$) および水分 ($r=0.949$) であった。遊離アミノ酸 ($r=0.568$) はこれらよりやや相関係数が低く, グリコーゲンは成長が良かった2個体で0.04%前後検出された他はほとんど検出されなかった。また、機能的指標として、RNA/DNA, PL/DNA, タンパク質/DNA, 糖原性アミノ酸率およびケト原性アミノ酸率を調べたところ、SGRと相関が強かったのは、RNA/DNA ($r=0.983$), PL/DNA ($r=0.905$), タンパク質/DNA ($r=0.600$) であり、ケト原性アミノ酸率 ($r=0.565$) はこれらよりもやや相関が弱く、個体ごとのばらつきも大きかった。また、糖原性アミノ酸率はSGRとの相関が弱かった。

考 察

0.5%給餌区ではマツカワ稚魚の増重はほとんど無く、実験開始時の体重を維持した。一方、2%給餌区では全長、体重、肥満度とも実験開始時よりも増大し、成長量は給

Table 1 Growth performance of *Verasper moseri* juveniles reared for 25 days under 2 dietary conditions (0.5% and 2% body weight day⁻¹, respectively).

Parameters	Dietary group	
	0.5%BW/day	2.0%BW/day
Initial total length(mm)	86.3±2.9	86.1±4.1
Final total length(mm)	88.5±3.5	96.6±4.8
Length gain(mm)	2.2±1.5	10.4±1.8
Initial body weight(g)	8.5±1.0	8.3±1.1
Final body weight(g)	8.9±1.6	12.7±1.9
Weight gain(g)	0.5±1.1	4.4±0.8
Initial condition factor	1.31±0.04	1.29±0.08
Final condition factor	1.27±0.11	1.41±0.05
Specific Growth Rate(%)	0.18±0.44	1.71±0.11

Values indicate mean±standard deviation($n=10$ or 7).

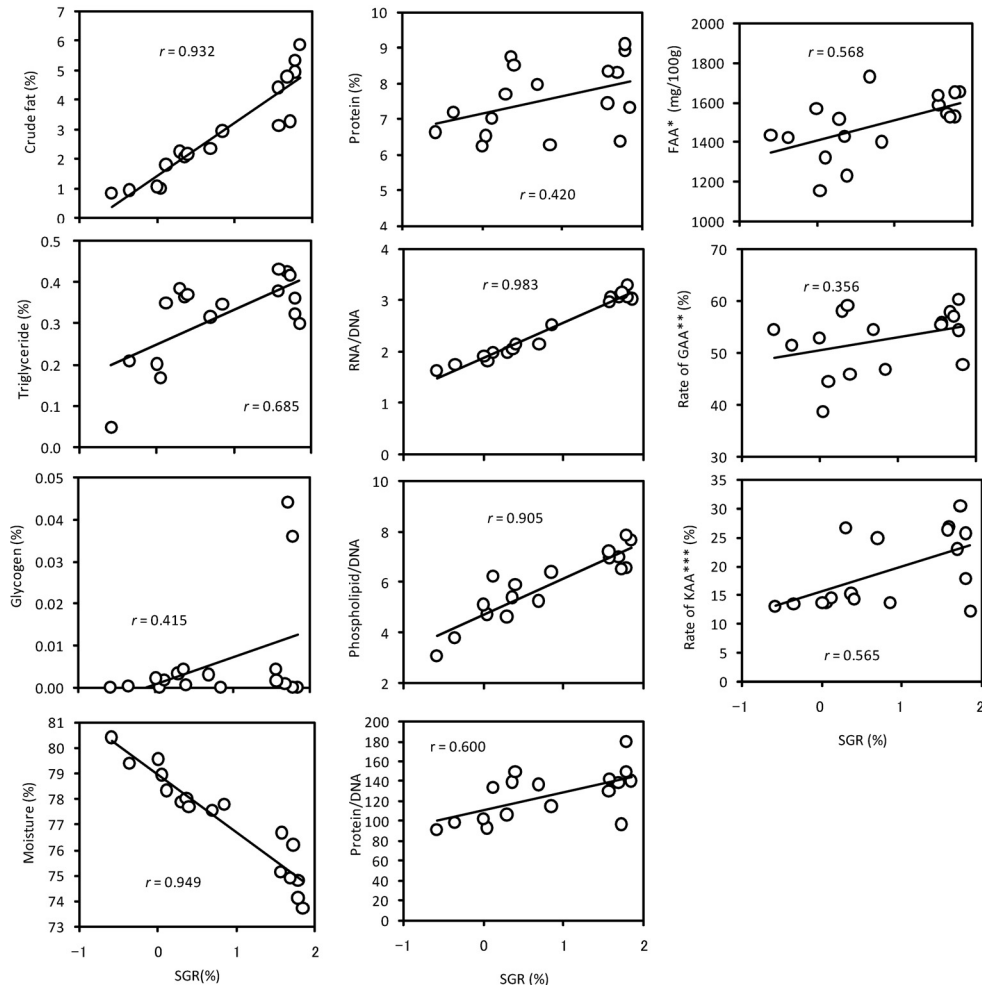


Fig.1 Relationship between the specific growth rate (SGR) and some biochemical constituents in the trunk of *Verasper moseri* juveniles reared for 25 days under 2 dietary conditions.

*FAA = total free amino acid

**Rate of GAA = glucogenic amino acid×100 / FAA

*** Rate of KAA = ketogenic amino acid×100/ FAA

餌量を反映した。このような成長差を生化学的指標で評価するために、前報では肝臓成分を分析して、肥満度、比肝重、RNA/DNAおよびPL/DNAが指標となる可能性を明らかにした。一方、摂餌によって得られた栄養物質やタンパク質合成能などの生理活性は肝臓内だけでなく、筋肉等の体組織にも変化を与える (Umino *et al.*, 1993) ことから、今回SGRと躯幹の各成分を比較したところ、いくつかの指標で強い相関が認められた。まず、貯蔵栄養物質に関連する成分では、粗脂肪、TGおよび水分で強い相関が認められた。脂質成分のうち、主要な貯蔵物質であるTGは肝臓中で成長にかかわらず一定割合の貯蔵にとどまった (高谷・佐藤, 2013) のに対し、躯幹ではSGRの高い個体で含有率が高くなる傾向が認められた。これは、マツカワが余剰の栄養物質を脂質という形で、肝臓ではなく躯幹に蓄積していることを示している。魚類では、肝臓に栄養蓄積を行う種類と躯幹に蓄積する種類に

大別される (山口, 1991) とされており、マツカワは後者タイプであるといえる。また、通常、貯蔵脂質として一般的であるTGよりも粗脂肪の方がSGRとの相関係数が大きかったことから、マツカワは、TG以外の脂質成分を貯蔵栄養として利用している可能性が考えられたが、今回の実験ではその成分を特定することはできなかった。水分は、脂質やタンパク質などが消費された分を補うとされている (山口, 1991) ことから、貯蔵栄養物質の消費を相補的に反映して強い相関が見られたのであろう。遊離アミノ酸量はSGRと一定程度の相関が認められたが、SGRの低い個体を中心としてばらつきも大きく、指標としての有効性については更なる検討が必要である。

機能的指標のうち、RNA/DNAはタンパク合成能の指標として魚類の栄養状態評価に用いられている (中野ら, 1985; Umino *et al.*, 1993)。マツカワ躯幹においてもSGRとRNA/DNAの相関は極めて強く、栄養状態をよく指標

すると同時に成長率の指標にもなりうると考えられた。PL/DNAについてもSGRとの相関係数が大きく、指標として利用可能であると思われた。PL/DNAはマツカワ(高谷・佐藤, 2013)やヒラメ(Fukuda *et al.*, 2001)の肝臓でも栄養状態との関係が知られており、マツカワにおいては軀幹成分でも同様の傾向が認められた。PLは細胞膜などの構成脂質として重要である(山口, 1991)が、栄養状態の良い個体でPL/DNAが高くなる原因についてはよくわかっていないことから、今後、栄養状態変化に対するPLの機能などについて詳細な検討が必要となるであろう。タンパク質/DNAはこれらよりも相関係数はやや低かったが一定の傾向が見られた。タンパク質/DNAは細胞の大きさの指標とされており(中野ら, 1985; Umino *et al.*, 1993), RNA/DNAの結果も考えあわせると、SGRの高い個体の軀幹では、筋肉タンパクなどの産生が盛んに行われているものと推察される。今後は、筋肉タンパク量の定量や筋原繊維の数や太さなど組織学的観察による確認も必要となる。

以上のように、マツカワにおいてSGRと強い相関を示した軀幹成分は、粗脂肪、TG、水分、RNA/DNA、PL/DNAおよびタンパク質/DNAであったが、このうちTGについては粗脂肪で代表できるものとして計5成分を成長率を指標する成分として選定した(Table 2)。特に、粗脂肪、水分、RNA/DNA、PL/DNAの4つの成分は相関係数が極めて高く、指標として有効である可能性が高かった。また、タンパク質/DNAはやや相関が低かったものの指標として使える可能性がある。さらに、遊離アミノ酸とケト原性アミノ酸率については、SGRと一定の相関が認められたもののばらつきも大きいことから、指標とするためには今後さらなる検討が必要であろう。

今後、マツカワの放流にあたっては、これらの指標を使った放流再捕魚の栄養状態・成長評価から、放流場所の餌料環境に見合った放流数を検討することが可能だと考えられる。しかし、前報(高谷・佐藤, 2013)でも指摘したとおり、配合飼料を用いて評価した今回の指標が、質の異なる天然餌料を摂餌している放流魚にもそのまま応用できるかどうかについては、実際の放流再捕魚の成

分分析を行うことにより検証していく必要がある。

謝 辞

実験用種苗を提供していただいた北海道栽培漁業振興公社伊達事業所の川下正己所長並びに今 満人主任技師(いずれも当時)、飼育試験に当たり多大なご協力をいただいた道総研栽培水産試験場の関係諸氏、アミノ酸分析をしていただいた道総研釧路水産試験場の麻生真悟研究主幹に厚くお礼を申し上げます。また、本稿のとりまとめに際しては、道総研中央水産試験場の蔵田 護資源増殖部長に貴重なご助言をいただきました。ここに記して謝意を表します。

引用文献

- Fukuda M, Sato H, Shigeta T, Shibata R. Relationship between growth and biochemical indices in laboratory-reared juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), and its application to wild fish. *Mar. Biol.* 2001; 138: 47-55.
- 古田晋平, 渡部俊明, 山田英明, 宮永貴幸. 鳥取県沿岸浅海域に放流したヒラメ人工種苗の摂餌状態と餌料条件. *日水誌* 1997; 63: 886-891.
- 村上 修, 吉村圭三, 吉田秀嗣. 放流基礎調査事業(マツカワ放流)平成21年度北海道立栽培水産試験場事業報告書 2011; 99-107.
- 中野 広, 安藤義秀, 白旗総一郎. 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* 1985; 50: 71-77.
- 田川邦夫. からだの生化学. 宝酒造, 京都. 1993: 127-163.
- 高谷義幸, 佐藤敦一. 給餌率を変えて飼育したマツカワ稚魚の成長率と肝臓成分. *北水試研報* 2013; 83: 5-12.
- 高谷義幸, 佐藤敦一, 高島信一. 生化学的解析によるハタハタ稚魚の成長率評価と天然魚への評価技術の応用. *水産技術* 2013; 5: 125-134.
- Umino T, Ohtsu M, Tabata M, Nakagawa H. Some Characteristics of Runty Fish Appearing in Seed Production of Red Sea Bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1993; 59: 952-928.
- Watanabe S, Isshiki T, Kudo T, Yamada A, Katayama S, Fukuda M. Using stable isotope ratios as a tracer of feeding adaptation in released Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Biol.* 2006; 68: 1192-1205.
- 山口勝巳. 「水産生物化学(山口勝巳編)」東京大学出版会, 東京, 1991.

Table 2 Relationship between the specific growth rate (SGR) and the listed parameters of *Verasper moseri* juveniles after the 25th day of the feeding experiment.

Parameters	<i>r</i>	<i>P</i>
Crude fat	0.932	<0.001
Moisure	0.949	<0.001
RNA/DNA	0.983	<0.001
Phospholipid/DNA	0.905	<0.001
Protein/DNA	0.600	0.011