

サケ稚魚の魚体中トリグリセリド含量と肝臓中グリコーゲン含量の栄養状態評価指標としての有効性

虎尾 充*

北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場

Validity of fish triglyceride content and liver glycogen content as indicators of nutritional status in chum salmon *Oncorhynchus keta* fry

MITSURU TORAO*

Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization,
Eniwa, Hokkaido, 061-1433, Japan

Changes in triglyceride (TG) and phospholipid (PL) content in fish body, and glycogen (GC) content in liver of chum salmon *Oncorhynchus keta* fry during fasting and refeeding treatments were examined for their validity as nutritional status indicators. TG content and TG/PL ratio linearly increased or decreased in relation to fasting and refeeding days. On the other hand, GC content reacted more rapidly. The change in PL content was small and decreased relative to fed controls after 20 days. Fasting until the third day results in GC consumption, followed by TG consumption. After the 20th day of fasting, lipids are almost all consumed, and energy may have been obtained by digestion of body tissues. These results suggest that the TG content in the fish body is suitable for evaluating the nutritional status of salmon fry after release.

キーワード：グリコーゲン含量，再給餌，サケ稚魚，脂質含量，絶食

サケ *Oncorhynchus keta* は一回繁殖性の遡河回遊魚で、太平洋に生息するサケ属魚類の中では最も分布範囲が広い種である (Salo, 1991)。日本では北海道・東北の沿岸を中心に漁獲され、北日本における最重要漁業資源の1つである。北海道におけるサケの来遊数 (沿岸漁獲数と河川捕獲数の合計) は1970年代半ばから飛躍的に増加し、1990年代から2000年代までは高い資源水準を維持していた (Miyakoshi *et al.*, 2013)。日本では積極的に人工孵化放流が行われており、サケ資源の多くは 孵化放流によって造成されている (小林, 2009; Nagata *et al.*, 2012; Miyakoshi *et al.*, 2013; Kitada, 2014)。北海道におけるサケ資源の増大は、北太平洋の生息環境がサケにとって好適であったことに加え、給餌飼育や適期放流の実践など 孵化放流技術の向上が寄与したと考えられている (Beamish and Bouillon, 1993; Kaeriyama, 1998; 小林, 2009; 関, 2013)。北太平洋全体でみるとサケ資源は比較的安定した高水準が続いている (Irvine *et al.*, 2018) が、

近年、北海道では放流数に大きく変化はないにもかかわらず、来遊資源が減少傾向にあり (Miyakoshi *et al.*, 2013)、早急な資源変動要因の解明と対策が求められている。

サケの孵化放流魚の生残率を高めるためには、健康な稚魚を環境が良好な時期に放流する「健苗育成・適期放流」が重要であり (関, 2013)、そのため、種苗性評価の指標として、肥満度・海水適応力・遊泳能力・ATP量・栄養状態等について有効性が検討されてきた (関, 2013)。成長や栄養状態が悪い個体では海水適応能が低くなる傾向があることが知られる (橋本1979; 1982)。また、最近、汽水域でサケ稚魚の成長率が低下している現象が指摘され (Kaneko *et al.* 2015)、実験条件下では淡水飼育時の絶食が海水移行後の成長率低下につながる可能性が示唆されている (Nakamura *et al.*, 2019)。放流されたサケ稚魚は10日間程度の短期間で河川を 降下し河口域に達する (小林・石川, 1964; 眞山ら, 1983; 虎

尾ら, 2010; Hasegawa and Takahashi, 2013) が, 長距離河川を降下するサケ稚魚の中には1ヶ月程度河川に滞在する個体もあり (Kasugai *et al.*, 2013), 降河中に栄養状態が低下する個体もみられる (水野・三坂, 未発表)。これらのことから, 放流後の河川内でのサケ稚魚の栄養状態の把握は, その後の沿岸域での生き残りへの影響評価も含めて注目される。

魚類仔稚魚の栄養状態は生残と関連する重要な要因である。そのため, 形態学的・組織学的手法 (Theilacker, 1978; 1986) や, RNA/DNA比, 脂質含量などの体成分分析 (例えば, Foley *et al.*, 2016; Zenitani, 1995), 血液性状 (Congleton and Wagner, 2006) など, 様々な手法で栄養状態評価が試みられてきた。サケ稚魚でも絶食に伴う魚体中の脂質含量やタンパク質含量の変化が調べられ (Akiyama and Nose, 1980; 秋山ら, 1983), 栄養状態の評価が試みられている。魚類にとって脂質は主要なエネルギー源として消費されるほか, 残りは貯蔵脂質あるいは組織脂質として魚体内に蓄積される (会田・潮, 2013)。脂質の中でも中性脂質は主に肝臓・体脂肪組織・筋組織に蓄積され, 貯蔵脂質として利用される。主要な中性脂質であるトリグリセリド (以下, TG) は, サケの貯蔵エネルギーとしても重要であることがわかっている (Azuma *et al.*, 1998; Nomura *et al.*, 2000)。一方, 生体膜などの組織脂質の主成分としてはリン脂質 (以下, PL) があり, 摂餌状態などに左右されにくいとされる (会田・潮, 2013) ことから, TG/PL比を栄養状態の指標とすることもある。また, 一般に魚類では, 糖利用能は脂質やタンパク質に比べて低いとされるが, 炭水化物の分解物であるグルコースはエネルギー源として使用されるとともに, 一部は筋肉や肝臓にグリコーゲン (以下, GC) として貯蔵される (会田・潮, 2013)。貯蔵されたGCは, 脂質やタンパク質よりも先にエネルギー源として使用される (会田・潮, 2013) ことから, 短期的な栄養状態の指標となりうる。サクラマス幼魚ではこれらの肝臓中TG含量とGC含量を指標とした栄養状態評価が行われているが (三坂ら, 2004), サケ稚魚では, どの程度であれば飢餓状態にあるのかなど, 栄養状態の指標としての判定基準は明確ではない。

本研究では, 淡水飼育中のサケ稚魚で絶食と再給餌試験を行い, 魚体中TG含量とPL含量, 肝臓中GC含量の変化を明らかにし, 栄養状態指標としての有効性を検討した。

試料及び方法

絶食試験

1.供試魚および飼育 試験には, 実験室で飼育したサケ稚魚を用いた。2017年10月30日に千歳川で採卵されたサケ受精卵を, 同年12月に北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場の立体式孵化器に収容した。2018年3月1日に, 浮上した稚魚をアトキンス式飼育水槽 (幅35 cm×高さ35 cm×長さ3.5 m) に収容し飼育用水を掛け流しで飼育した。給餌は, 市販のサケ用配合飼料 (EXます1号および2号, 日本農産) を給餌率3%で与えた。

稚魚が体重約0.8 gに成長した2018年4月12日に絶食群と給餌群の比較試験を開始した。アトキンス式水槽に稚魚を約400尾ずつ分収し, 一方は継続して給餌率3%で飼育し (給餌群), 他方は給餌を止め絶食群として2018年5月18日までの36日間飼育した。試験期間中の水温は, 8.3~9.1°Cであった。絶食・給餌比較試験期間中に死亡魚が出現した場合は計数して取り上げ, 生残率を求めた。

2.試料の採取 絶食・給餌比較試験の開始1日後から7日後までは毎日, その後は, 10日後, 20日後, 30日後に, 給餌群と絶食群からそれぞれ12尾の稚魚をサンプリングした。サンプリングした稚魚は, 麻酔後に尾叉長 (FL, mm) と体重 (BW, g) を測定し, 肥満度 (K) を次式で求めた。

$$K = BW \times 100 / (FL/10)^3$$

測定後, 稚魚は体成分の分析まで-80°Cで凍結保存した。

再給餌試験

1.供試魚および飼育 2018年9月15日に千歳川で採卵されたサケ受精卵をさけます・内水面水産試験場の立体式孵化器に収容した。2018年12月27日に浮上した稚魚をアトキンス式飼育水槽に収容し, 配合飼料を給餌率3%で与えた。稚魚の体重がおおよそ1gに成長した2019年3月14日から3月29日までの15日間絶食させ, その後3月16日から配合飼料の給餌を再開し, 再給餌開始後20日目の4月19日まで飼育した。飼育用水は掛け流しとし, 飼育期間中の水温は 7.5~8.3°Cであった。

2.試料の採取 絶食開始前および絶食15日目にサケ稚魚のサンプリングを行った。また, 再給餌後3, 5, 7, 10, 15, および20日目にもサンプリングを行い, 絶食試験と同様に魚体測定を行い, 分析まで凍結保存した。

体成分分析

栄養状態の指標として, 魚体中のTGとPL含量, 肝臓中のGC含量の定量を行った。TGとPL, GC含量は, 三坂ら (2004) および清水ら (2016) を参考に以下の方法

で測定した。

凍結保存しておいたサケ稚魚を保冷材上で解凍したのち、頭部と尾柄部をメスで切除し消化管も除去した。肝臓は重量を測定したのち、GC含量の測定に用いた。頭部と尾柄部除去後の魚体重量を測定した後にTGおよびPL含量の測定に用いた。エタノールとジエチルエーテルを3:1(体積比)で混合した溶液10 mL中に0.3~0.7 gの魚体を入れ、ポリトロンホモジナイザーでホモジナイズした。これを4℃、2,500 rpm(約1,300×g)で20分間遠心分離した。得られた上澄み100 μLを試験管に取り、TG量はGPO・DAOS法に基づく測定キットであるトリグリセライドE-テストワコー、PL量はコリンオキシダーゼ・DAOS法に基づく測定キットであるリン脂質C-テストワコー(いずれも和光純薬製)の発色試薬2 mLをそれぞれ加えて呈色させ、分光光度計で600 nmの吸光度を測定して定量した。TG量とPL量は、魚体中の含有率(%)で示した。また、リン脂質含量に対するトリグリセリド含量の比(TG/PL比)も求めた。

GC含量は、重量を測定した肝臓(10~300 mg)を1.5 mLの30%水酸化カリウム溶液中で加熱分解した後、8

mLの99.5%エタノールを加えてよく攪拌した。20分間氷冷後、2,500 rpmで20分間冷却遠心した。上澄みを捨て、蒸留水1 mLを加えて沈殿を破碎しエタノール5 mLを加えて20分間氷冷した。20分間冷却遠心分離し、グリコーゲンを沈殿させた。沈殿物に蒸留水1 mLと2 N塩酸50 μLを加え中和したのち、2 Nの硫酸1 mLを加えた。これを沸騰水中で2時間煮沸してグリコーゲンをグルコースに分解し、20分間の氷冷後に、20分間冷却遠心したのち、その上澄みを分析に用いた。上澄み300 μLを試験管に取り、ムタローゼ-GOD法に基づく測定キットであるグルコースC-IIテストワコー(和光純薬製)の発色試薬2 mLを加えて呈色させ、分光光度計で505 nmの吸光度を測定して濃度を求めた。GC含量は肝臓中の含有率(%)で示した。

絶食試験におけるTG含量、PL含量、TG/PL比およびGC含量について、対照群と絶食群の統計検定をマンホイットニー検定で行った。

結果

絶食試験

Fig.1とTable1に飼育期間中のサケ稚魚の体サイズの変化を示した。試験開始時のサケ稚魚の体サイズは、平均尾叉長 47.4 ± 4.1 mm、平均体重 0.81 ± 0.21 gで、肥満度は 7.44 ± 0.45 であった。給餌群は試験開始30日後、平均尾叉長 62.9 ± 4.5 mm、体重 1.85 ± 0.34 gまで成長し、肥満度は 7.35 ± 0.28 であった。一方、絶食群の30日後の体サイズは、平均尾叉長 47.9 ± 2.8 mmで試験開始時からほとんど変化せず、平均体重は 0.61 ± 0.14 gへと減少した。肥満度も 5.51 ± 0.59 へと低下した。

給餌群では試験期間中に死亡した稚魚は出現しなかった。一方、絶食群では絶食開始21日後からへい死が出現し、絶食後25日目以降に斃死魚が増加した。絶食群の試験終了時の生残率は70.8%であった(Fig.2)。

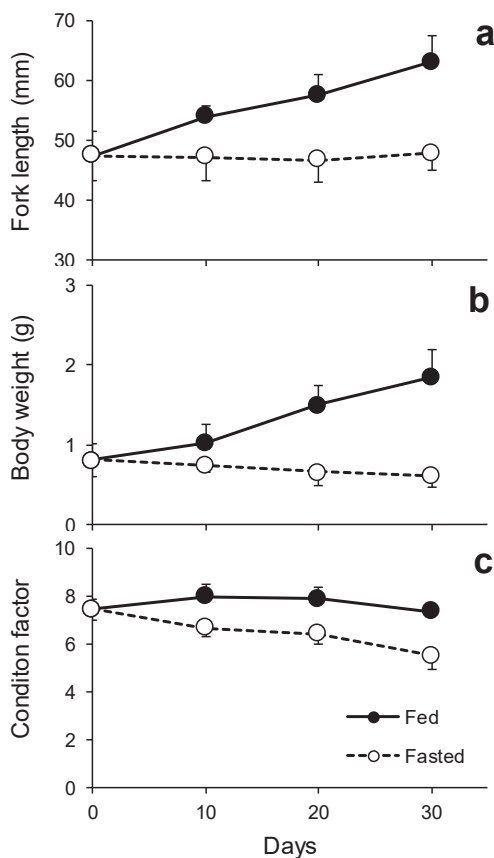


Fig.1 Changes in fork length, body weight, and condition factor of fed (solid circle) and fasted (open circle) chum salmon fry. All parameters are mean \pm standard deviations ($n=10$).

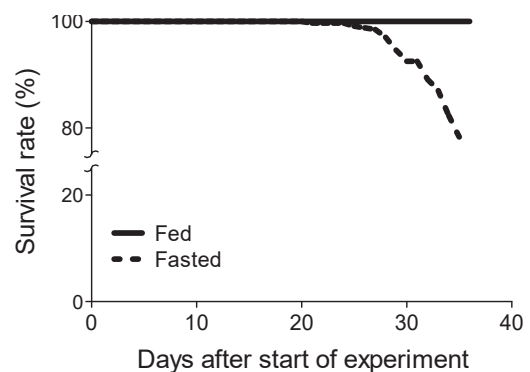


Fig.2 Survival rates of fed and fasted chum salmon fry during the experiment.

Table 1 Mean (\pm SD) fork length (mm), body weight (g), condition factor, triglyceride and phospholipid contents in the fish body, and glycogen contents in the liver during fed and fasted treatments of chum salmon fry. Bold italics indicate Mann-Whitney statistical significance ($p < 0.05$).

Fed group								
Date of experiment	Sampling day	Mean fork length (mm)	Mean body weight (g)	Mean condition factor	Nutritional condition indicators			
					Triglyceride content (%)	Phospholipid content (%)	TG/PL ratio	Glycogen content (%)
Apr. 12, 2018	0	47.4 \pm 3.85	0.81 \pm 0.21	7.44 \pm 0.45	1.87 \pm 0.34	0.78 \pm 0.04	2.40 \pm 0.44	3.54 \pm 1.65
Apr. 13, 2018	1	47.8 \pm 3.18	0.92 \pm 0.20	8.30 \pm 1.02	1.81 \pm 0.45	0.78 \pm 0.08	2.34 \pm 0.60	3.09 \pm 0.79
Apr. 14, 2018	2	48.4 \pm 2.24	0.91 \pm 0.11	7.99 \pm 0.35	1.79 \pm 0.64	0.85 \pm 0.21	2.10 \pm 0.50	3.99 \pm 1.03
Apr. 15, 2018	3	47.0 \pm 3.07	0.84 \pm 0.17	7.98 \pm 0.34	1.65 \pm 0.46	0.76 \pm 0.05	2.18 \pm 0.61	4.50 \pm 0.89
Apr. 16, 2018	4	49.2 \pm 2.43	0.96 \pm 0.14	8.02 \pm 0.66	1.61 \pm 0.30	0.81 \pm 0.10	1.99 \pm 0.37	6.27 \pm 0.91
Apr. 17, 2018	5	49.0 \pm 3.02	0.97 \pm 0.19	8.15 \pm 0.63	1.95 \pm 0.28	0.79 \pm 0.11	2.51 \pm 0.49	5.38 \pm 1.34
Apr. 18, 2018	6	49.3 \pm 2.71	0.95 \pm 0.16	7.91 \pm 0.59	1.47 \pm 0.24	0.80 \pm 0.05	1.85 \pm 0.32	5.97 \pm 1.05
Apr. 19, 2018	7	49.8 \pm 1.29	0.98 \pm 0.09	7.90 \pm 0.27	1.84 \pm 0.33	0.80 \pm 0.04	2.29 \pm 0.42	5.19 \pm 0.91
Apr. 22, 2018	10	50.3 \pm 3.32	1.03 \pm 0.22	7.99 \pm 0.50	1.53 \pm 0.64	0.82 \pm 0.04	1.87 \pm 0.82	5.62 \pm 1.12
May 2, 2018	20	57.5 \pm 3.22	1.50 \pm 0.24	7.89 \pm 0.48	2.22 \pm 0.21	0.75 \pm 0.05	2.96 \pm 0.28	5.24 \pm 1.18
May 12, 2018	30	62.9 \pm 4.26	1.85 \pm 0.34	7.35 \pm 0.28	2.26 \pm 0.21	0.81 \pm 0.06	2.79 \pm 0.34	3.82 \pm 1.02

Fasted group								
Date of experiment	Sampling day	Mean fork length (mm)	Mean body weight (g)	Mean condition factor	Nutritional condition indicators			
					Triglyceride content (%)	Phospholipid content (%)	TG/PL ratio	Glycogen content (%)
Apr. 13, 2018	1	47.5 \pm 2.6	0.80 \pm 0.16	7.36 \pm 0.41	1.70 \pm 0.55	0.79 \pm 0.03	2.14 \pm 0.65	1.22 \pm 1.24
Apr. 14, 2018	2	47.9 \pm 2.1	0.83 \pm 0.11	7.52 \pm 0.36	1.71 \pm 0.41	0.84 \pm 0.08	2.05 \pm 0.50	1.19 \pm 1.35
Apr. 15, 2018	3	49.0 \pm 1.9	0.87 \pm 0.11	7.31 \pm 0.38	1.74 \pm 0.36	0.77 \pm 0.04	2.25 \pm 0.44	0.85 \pm 0.65
Apr. 16, 2018	4	46.1 \pm 1.2	0.70 \pm 0.05	7.11 \pm 0.35	1.39 \pm 0.39	0.85 \pm 0.05	1.65 \pm 0.48	0.16 \pm 0.11
Apr. 17, 2018	5	46.8 \pm 2.0	0.76 \pm 0.13	7.36 \pm 0.58	1.22 \pm 0.40	0.78 \pm 0.07	1.61 \pm 0.59	0.15 \pm 0.10
Apr. 18, 2018	6	47.5 \pm 2.7	0.79 \pm 0.14	7.28 \pm 0.38	1.38 \pm 0.29	0.89 \pm 0.08	1.56 \pm 0.32	0.13 \pm 0.06
Apr. 19, 2018	7	46.1 \pm 3.0	0.70 \pm 0.15	7.05 \pm 0.61	1.39 \pm 0.96	0.76 \pm 0.04	1.84 \pm 1.28	0.05 \pm 0.07
Apr. 22, 2018	10	48.0 \pm 1.5	0.74 \pm 0.09	6.68 \pm 0.34	1.15 \pm 0.59	0.80 \pm 0.04	1.45 \pm 0.74	0.03 \pm 0.02
May 2, 2018	20	46.6 \pm 3.6	0.67 \pm 0.17	6.41 \pm 0.43	0.68 \pm 0.41	0.66 \pm 0.04	1.04 \pm 0.63	0.09 \pm 0.04
May 12, 2018	30	47.8 \pm 2.7	0.61 \pm 0.14	5.51 \pm 0.59	0.10 \pm 0.07	0.68 \pm 0.05	0.15 \pm 0.11	0.11 \pm 0.08

飼育期間中の尾叉長、体重、肥満度、TG含量、PL含量、TG/PL比、GC含量の変化をTable 1に示した。PL含量は、給餌群、絶食群ともに0.7~0.9%で変動は小さかったが、絶食20日目と30日目には、給餌群に対して絶食群でPL含量の有意な低下が認められた。

給餌群のTG含量は、試験開始時の1.9%から変動しつつ増加傾向を示し、30日後には2.3%となった。一方、絶食群のTG含量は、絶食日数の経過とともに減少し、試験開始10日後には1.2%、20日後には0.7%、30日後には0.1%となった。TG/PL比は、試験開始時に2.4で、給餌群では増加傾向がみられ、1.8~3.0の範囲にあった。絶食群では絶食日数とともにTG/PL比は低下し、10日後には1.5、20日後には1.0、30日後には0.2を下回った。絶食群の魚体中TG含量およびTG/PL比は、絶食日数とともに直線的に減少した (Fig.3)。

肝臓中GC含量は試験開始時には3.5 \pm 1.7%であった。給餌群のGC含量は試験開始後4日目まで上昇し、4~6%で推移した。一方、絶食群のGC含量は絶食1日後に1.2%、3日後に0.85%に減少し、4日目には0.16%と急激に減少し、それ以降は0.05~0.09%と極めて低い値で推移した

(Table 1, Fig.3)。対照群に対して絶食群の肝臓中GC含量は、絶食3日目以降、有意に低い値を示した。

再給餌試験

1. 飼育期間中のサケ稚魚の体サイズの変化 15日間の絶食期間中には体長の変化よりも体重の減少が顕著に見られ、平均体重は1.07 \pm 0.16 gから0.90 \pm 0.14 gまで減少した (Table 2)。これに伴い、肥満度も7.41 \pm 0.37から6.42 \pm 0.37へと低下した。再給餌後は体重、肥満度とも回復する傾向が見られ、再給餌20日目には体重1.18 \pm 0.23 g、肥満度は7.80 \pm 0.57となった。

2. トリグリセライド、リン脂質、TG/PL比の変化 絶食開始前のサケ稚魚のTG含量は1.08 \pm 0.36%で、その後、15日間の絶食によって0.23 \pm 0.14%まで低下した (Table 2, Fig.4)。再給餌3日目のTG含量は0.20 \pm 0.23%で回復はみられず、再給餌5日目に0.60 \pm 0.17%となりTG含量の増加が見られた。その後、TG含量は緩やかに増加し、再給餌20日目には1.18 \pm 0.26%となった。魚体中のTG含量は、再給餌によって直線的な増加が認められた。PL含量はTG含量に比べて変動は小さく、絶

食開始前のPL含量は 0.87 ± 0.03 %, 絶食15日後には 0.78 ± 0.03 %となった。再給餌開始後は、10日目まで $0.79 \sim 0.84$ %で変化は小さく、再給餌15日目以降に絶食前の含量と同程度の 0.94 %となった。TG/PL比は、PL含量の変動が小さいため、TG含量の変化と同様の変化を示し、試

験開始時には 1.24 ± 0.41 、絶食15日後には 0.30 ± 0.18 と大きく減少した。再給餌開始後は緩やかに直線的に増加し20日目には絶食開始前と同程度の 1.26 ± 0.30 となった。
3.グリコーゲン含量の変化 GC含量は、絶食後15日後には 0.04 %と極めて低い値となった (Table 2, Fig.4)。

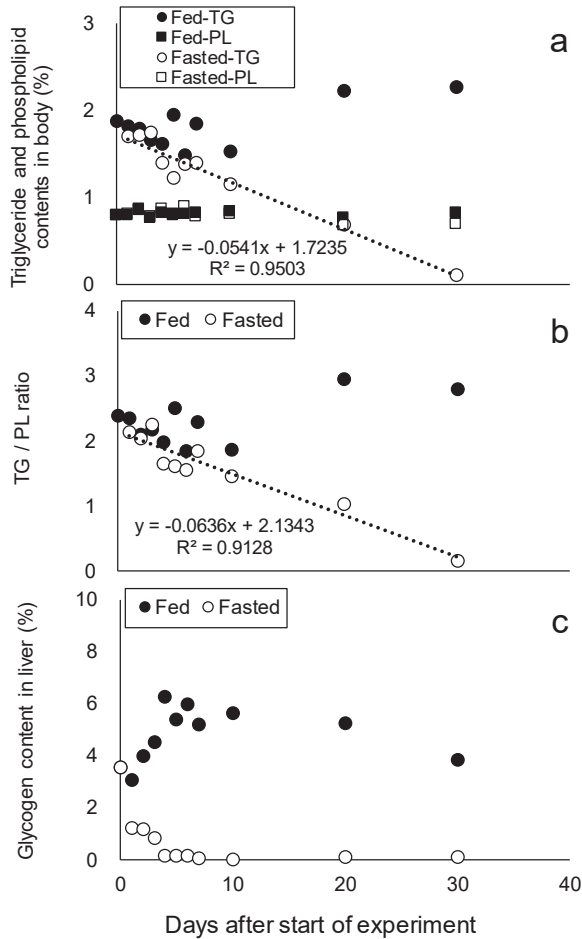


Fig.3 Changes in triglyceride (TG) and phospholipid (PL) contents in fish body (a), TG/PL ratio (b), and glycogen (GC) content in the liver (c). Data points are medians of 10 samples. The line has been fitted by linear regression analysis for TG contents and the TG/PL ratio of the fasted group.

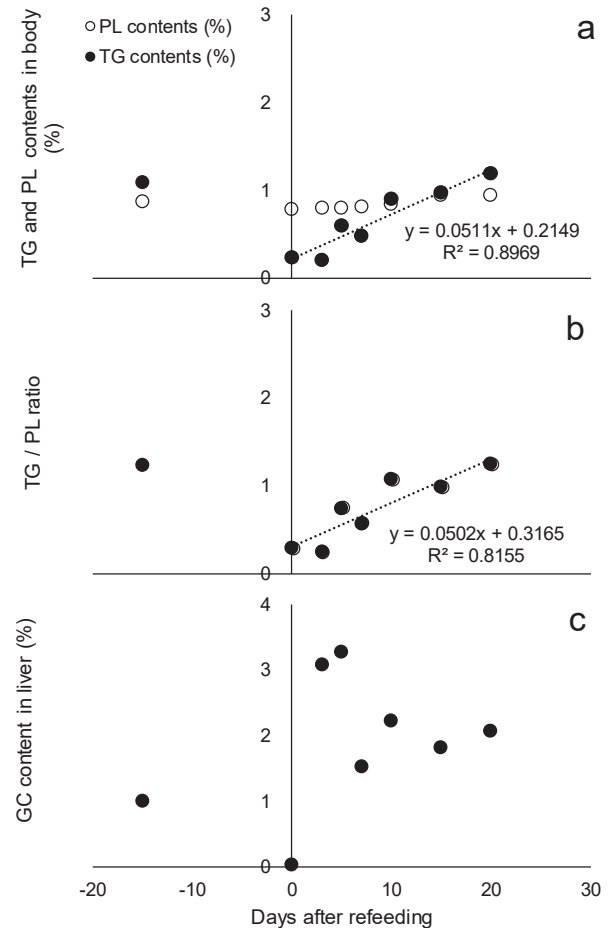


Fig.4 Changes in triglyceride (TG) and phospholipid (PL) contents in fish body (a), TG/PL ratio (b), and glycogen (GC) content in the liver (c) during the re-feeding experiment. Data points are medians of 10 samples, with linear regression analysis for TG contents and TG/PL ratio after being re-fed.

Table 2 Mean (\pm SD) fork length (mm), body weight (g), condition factor, triglyceride and phospholipid contents in the fish body, and glycogen contents in the liver during fasted and re-fed treatments of chum salmon fry.

Date of experiment	Sampling	Mean fork length (mm)	Mean body weight (g)	Mean condition factor	Nutritional condition indicators			
					Triglyceride content (%)	Phospholipid content (%)	TG/PL ratio	Glycogen content (%)
Mar. 14, 2019	initial	52.4 ± 2.53	1.07 ± 0.16	7.41 ± 0.37	1.08 ± 0.36	0.87 ± 0.03	1.24 ± 0.41	1.02 ± 0.69
Mar. 29, 2019	Fasted for 15 days	51.8 ± 2.70	0.90 ± 0.14	6.42 ± 0.37	0.23 ± 0.14	0.78 ± 0.03	0.30 ± 0.18	0.04 ± 0.03
Apr. 2, 2019	Day 3 of refeeding	50.1 ± 3.40	0.93 ± 0.21	7.33 ± 0.52	0.20 ± 0.23	0.79 ± 0.08	0.25 ± 0.26	3.09 ± 0.55
Apr. 4, 2019	Day 5 of refeeding	51.6 ± 2.82	0.97 ± 0.19	7.01 ± 0.52	0.60 ± 0.17	0.80 ± 0.05	0.76 ± 0.22	3.29 ± 0.79
Apr. 6, 2019	Day 7 of refeeding	50.3 ± 3.37	0.89 ± 0.20	6.91 ± 0.55	0.48 ± 0.23	0.81 ± 0.05	0.58 ± 0.27	1.54 ± 0.72
Apr. 9, 2019	Day 10 of refeeding	51.8 ± 3.50	1.04 ± 0.22	7.39 ± 0.62	0.90 ± 0.21	0.84 ± 0.04	1.08 ± 0.25	2.24 ± 0.45
Apr. 14, 2019	Day 15 of refeeding	51.5 ± 3.45	1.03 ± 0.20	7.47 ± 0.56	0.97 ± 0.43	0.94 ± 0.23	1.00 ± 0.27	1.83 ± 0.43
Apr. 19, 2019	Day 20 of refeeding	53.1 ± 3.29	1.18 ± 0.23	7.80 ± 0.57	1.18 ± 0.26	0.95 ± 0.05	1.26 ± 0.30	2.09 ± 0.57

その後、再給餌を行うと、3日目には3.1%、絶食5日目には3.3%と急激に増加した。その後7日目には1.5%に減少し、その後は再給餌10日目に2.2%、15日目に1.8%、20日目2.1%と比較的安定して推移した。

考 察

サケ稚魚では、絶食に伴って魚体中TG含量と肝臓中GC含量が減少することが示された。また、絶食後の再給餌によって、これらが増加することも確認された。魚体中TG含量と肝臓中GC含量はいずれも、絶食および再給餌に対応して増減したが、その反応性には違いが見られた。TG含量が比較的緩やかに減少・増加するのに対して、GC含量は絶食1日目から急激に減少し (Fig. 3c)、再給餌でも急激に増加し再給餌3日目には肝臓にGCとして蓄積されていた。さらに、再給餌3日目と5日目の肝臓中GC含量 (平均3%) は、絶食前のGC含量 (平均1%) より高く (Fig. 4c)、その後7日目以降は2%前後で安定したが、絶食前よりも高い含量で推移した。これは、サケ稚魚では長期間の絶食を経験すると、摂餌を再開した際に栄養を蓄積するような反応が働いた可能性がある。同様の現象は、淡水飼育時に比較的短期間 (5日間) の絶食を経験させたサケ稚魚を低水温で海水移行させた場合にも観察されており (Nakamura *et al.*, 2019)、一時的に成長よりも栄養蓄積にエネルギーを配分する反応が生じていると考えられる。一方、魚体中PL含量の変化は、TG含量やGC含量に比べて非常に小さかった。リン脂質は生体膜を構成する組織脂質の成分であり (会田・潮, 2013)、栄養状態によって変化しにくいとされる。この性質を利用して、TG/PL比を仔稚魚の栄養状態の指標とした研究もある (Zenitani, 1995)。本研究でも、絶食によってTG含量は速やかに減少し、絶食5日目には給餌群に対して有意に低い値となった (Fig. 3a, Table 1)。対して、PL含量は0.8%程度で安定し、給餌群に対して有意な低下が見られたのは絶食後20日目以降であった。伴ら (1996) は、サケの絶食と再給餌にともなう血清中タンパク質量と総脂質量、組織切片による肝臓中グリコーゲン細胞数の変化から、サケ稚魚が飢餓に至る過程には2つの段階があることを示唆した。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、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、栄養源を筋肉等の体組織に転換するとしている。本研究で絶食20日目以降にPL含量が低下したのは、蓄積栄養がほぼ消費されてしまい栄養源が体組織の分解に切り替わったことを示唆しているかも知れない。本研究から想定されるサケ稚魚の

飢餓に至る過程は次のようなものと考えられる。絶食3日目まで肝臓中GCが主に消費され、その後、絶食5日目以降に貯蔵脂質であるTGの消費も急激に進む。魚体中TG含量が1%を下回る絶食20日目以降は、組織脂肪であるPL含量の減少が見られることから、蓄積栄養が不足し体組織の分解によってエネルギーを得る段階に移行したと想定される。この段階にいたると、死亡する個体も出現しはじめ (Fig. 2)、生体維持が困難な状態になる個体も出現するものと考えられる。このような飢餓から死亡に至る過程は、伴ら (1996) の示した過程とおおむね一致する。

サケ稚魚の魚体中TG含量と肝臓中GC含量の栄養状態指標としての有効性を検討すると、魚体中TG含量がより適していると考えられる。肝臓中GC含量は絶食によって数日単位の短期間で0.1%以下の極めて低い水準まで減少した。また、肝臓中GC含量がこの水準まで下がっても、直接的に死亡につながるものではなかった。他のサケ属魚類でもGCが短期間の絶食で減少することが報告されている (Sheridan and Mommsen, 1991) 他、河川で採集した野生サケ稚魚の肝臓中GCの含量も飼育中のサケ稚魚に比べて低く、飼育魚も河川放流後は野生魚の水準以下まで減少する (清水ら, 2015)。そのため、河川内に比較的長期に滞在する放流魚の栄養状態の評価は難しいと考えられる。一方、魚体中TG含量は絶食期間中に肝臓中GCに比べ緩やかに減少し、絶食日数とTG含量には負の相関が認められた (Fig. 3a)。また野外調査の結果では、魚体中TG含量は放流前の飼育稚魚が1.2%で、その後河川で採集された野生魚、放流魚とも同程度の0.9%程度であった (清水ら, 2015)。コイの絶食に伴う生理的变化を調べた結果では、初めにGCが消費され、GC枯渇後はエネルギー源として脂質、ついで体タンパク質が消費される (Shimeno *et al.*, 1990)。体タンパク質が消費される段階は、伴ら (1996) の第2段階に相当し、体内の恒常性が乱れ環境に対する抵抗性にも影響が現れる段階である。したがって、栄養状態の評価をする場合には、魚体中の脂質含量の蓄積を把握することが重要と考えられ、放流後のサケ稚魚の栄養状態の評価は、魚体中TG含量によって行うのが適当である。なお、サケ稚魚においても、栄養状態の指標としてTG/PL比はTG含量と同様に有効と考えられるが、絶食日数とTG含量、TG/PL比の関係をみると (Fig. 3)、TG含量もTG/PL比もほとんど違いはない。したがって、TG含量のみで十分評価は可能である。

魚体中のTG含量がどの程度あれば健苗と考えられるのか、サケ稚魚の栄養状態評価の基準を検討すると、魚体中TG含量が0.6%程度あれば十分脂質の蓄積がある状

態であり、0.2%以下だと死亡につながる可能性のある低栄養状態と評価できる。サクラマス稚魚では肝臓中TG含量が飢餓状態の指標となることが示されており、TG含量が0.2%以下になると死亡魚が発生する(三坂ら, 2004)。本研究では、絶食によって死亡魚が出現し始めた絶食20日目の平均TG含量が0.7%で、生残率が80%を下回った絶食30日目には平均TG含量は0.1%となっていた。また、再給餌試験においては、15日間絶食後のTG含量は0.2%まで低下していた。これらのことから、サケ稚魚でも魚体中TG含量が0.2%を下回ると飢餓による死亡が生じる水準であると考えられる。また、絶食試験では、魚体中TG含量と絶食日数の関係式 (Fig. 3a: TG含量 = $-0.0541 \times \text{絶食日数} + 1.7235$) が得られた。絶食試験中には絶食21日目から死亡魚が出現した。死亡魚が出現する直前の20日目のTG含量を求めると、0.64%となり、魚体中TG含量が0.6%以上あれば、蓄積栄養が十分残されている状態の目安になると考えられる。ただし、GC含量、TG含量ともに個体差が大きい (Table 1)、これ以下の値であったとしても必ずしもすぐに死亡につながるわけではない。千歳川を降河するサケ稚魚を調査した結果では、魚体中TG含量はおおむね0.5%以上であり(清水ら, 2016)、飢餓による死亡が生じる水準の0.2%を上回っているが、本研究で十分な蓄積量として示唆された0.6%を下回る個体もいたことになる。これがサケ稚魚の生残にどのように影響するか、今後、野外で採集されるサケ稚魚の脂質含量を調査し、検証する必要がある。

サケでは、海洋生活初期に重要な減耗時期があると考えられている (Healey, 1982; Bax, 1983; Farley *et al.*, 2008)。加えて、サケの生残率の変動の大部分が河川水温と関連した稚魚期の死亡で説明できる (Morita *et al.*, 2015) との報告もあり、降海前の河川生活期における減耗の重要性も指摘されている。サケ放流魚では河川距離や放流時期が河川滞在時間と関係しており、長距離河川では放流時期が早いと長く河川に滞在し、河川滞在時間が長いと河川下流での再捕率が低いとの研究がある (Kasugai *et al.*, 2013)。このことは、河川内での長期間の滞在が減耗につながっている可能性を示唆する。具体的な減耗要因については不明であるが、水温や餌条件、長期間の河川滞在によって栄養状態が低下し、遊泳力や捕食者からの回避能力が低下し減耗につながっている可能性はある。また、実験的には淡水飼育時の絶食が降海後の成長率の低下につながることを示唆されており (Nakamura *et al.*, 2019)、今後、河川内での栄養状態が、汽水域・沿岸域でのサケ稚魚の成長や生残にどのような影響を与えるのかも検証していく必要がある。

謝 辞

本研究の実施にあたり、一般社団法人日本海さけ・ます増殖事業協会から種卵提供のご協力を頂きました。ここに記して厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 会田勝美, 潮 英樹. 代謝. (会田勝美, 金子豊二編) 「増補改訂版魚類生理学の基礎」. 恒星社厚生閣, 2013: 204-215.
- Akiyama T, Nose T. Changes in body weight, condition factor and body composition of fingerling chum salmon with various sizes during starvation. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture* 1980; 1: 71-78.
- 秋山敏男, 村井武四, 能勢健嗣. 放流シロザケ稚魚の体成分の変化. 養殖研究所研究報告1983; 4: 107-112.
- Azuma T, Yada T, Ueno Y, Iwata M. Biochemical approach to assessing growth characteristics in salmonid. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 1998; 1: 103-111.
- 伴 真俊, 長谷川裕康, 江連睦子. 絶食と再給餌がさけ幼魚に与える生理学的影響. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 1996; 50: 117-123.
- Bax NJ. Early marine mortality of marked juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) released in Hood Canal, Puget Sound, Washington, in 1980. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1983; 40: 426-435.
- Beamish R, Bouillon DR. Pacific salmon production trends in relation to climate. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1993; 50: 1002-1016.
- Congleton JL, Wagner T. Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. *J. Fish Biol.* 2006; 69: 473-490.
- Farley Jr EV, Moss JH, Beamish RJ. A review of the critical size, critical period hypothesis for juvenile Pacific salmon. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 2008; 4: 311-317.
- Foley CJ, Bradley DL, Hook TO. A review and assessment of the potential use of RNA:DNA ratios to assess the condition of entrained fish larvae. *Ecological Indicators* 2016; 60: 346-357.
- Hasegawa K, Takahashi S. Microscale environments along the seaward migration route of stocked Chum salmon fry. *Trans. Am. Fish. Soc.* 2013; 142: 1232-1237.
- 橋本 進. 放流サケ稚魚の飼育に関する研究 I. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 1979; 33: 25-30.

- 橋本 進. 放流用サケ稚魚の飼育に関する研究Ⅱ. 餌の硬さ, 給餌の熟練度, 回数, 時刻及び用水の不足. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 1982 ; 36 : 19-37.
- Healey MC. Timing and relative intensity of size-selective mortality of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during early sea life. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1982 ; 39 : 952-957.
- Irvine JR, Munro AR, Templin W, Thiess M, Grant S, Neatherlin E. Status Overview for Pacific Salmon Populations in the Eastern North Pacific Ocean. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Tech. Rep.* 2018 ; 11 : 1-7.
- Kaeriyama M. Dynamics of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, populations released from Hokkaido, Japan. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 1998 ; 1 : 90-102.
- Kaneko N, Taniyama N, Inatani Y, Nagano Y, Fujiwara M, Torao M, Miyakoshi Y, Shimizu M. Circulating insulin-like growth factor I in juvenile chum salmon: relationship with growth rate and changes during downstream and coastal migration in northeastern Hokkaido, Japan. *Fish Physiol. Biochem.* 2015 ; 41 : 991-1003.
- Kasugai K, Torao M, Nagata M, Irvine JR. The relationship between migration speed and release date for chum salmon *Oncorhynchus keta* fry exiting a 110-km northern Japanese river. *Fish. Sci.* 2013 ; 79 : 569-577.
- Kitada S. Japanese chum salmon stock enhancement: current perspective and future challenges. *Fish. Sci.* 2014 ; 80 : 237-249.
- 小林哲夫. 「日本サケ・マス増殖史」北海道大学出版会, 札幌. 2009.
- 小林哲夫, 石川嘉郎. サケ稚魚の生態調査Ⅷ. 千歳川, 石狩川のサケ稚魚の生長と食性について. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 1964 ; 18 : 7-15.
- 真山 紘, 関 二郎, 清水幾太郎. 石狩川産サケの生態調査Ⅱ. 1980年及び1981年春放流稚魚の降海移動と沿岸帯での分布回遊. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 1983 ; 37 : 1-22.
- 三坂尚行, 水野伸也, 宮腰靖之, 竹内勝巳, 鷹見達也, 笠原 昇. 飢餓中のサクラマス当歳魚の肝臓におけるトリグリセライド含量およびグリコーゲン含量の変動. 日本水産学会誌 2004 ; 70 : 168-174.
- Miyakoshi Y, Nagata M, Kitada S, Kaeriyama M. Historical and current hatchery programs and management of chum salmon in Hokkaido, northern Japan. *Rev. Fish. Sci.* 2013 ; 21 : 469-479.
- Morita K, Nakashima A, Kikuchi M. River temperature drives salmon survivorship: is it determined prior to ocean entry? *R. Soc. open sci.* 2015 ; 2 : 14312.
- Nagata M, Miyakoshi Y, Urabe H, Fujiwara M, Sasaki Y, Kasugai K, Torao M, Ando D and Kaeriyama M. An overview of salmon enhancement and the need to manage and monitor natural spawning in Hokkaido, Japan. *Environ. Biol. Fish.* 2012 ; 92 : 311-323.
- Nakamura S, Kaneko N, Nonaka T, Kurita D, Miyakoshi Y, Shimizu M. Fasting in freshwater severely affects growth of juvenile chum salmon when entering cold seawater. *Fish. Sci.* 2019 ; 85 : 655-665.
- Nomura T, Urawa S, Ueno Y. Variations in muscle lipid content of high-seas chum and pink salmon in winter. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 2000 ; 2 : 347-352.
- Salo EO. Life history of chum salmon. In: *Pacific salmon life histories* (Groot C. and Margolis, L. eds.), University of British Columbia Press, Vancouver. 1991 ; 231-309.
- 関 二郎. さけます類の人工孵化放流に関する技術小史(放流編). 水産技術 2013 ; 6 : 69-82.
- Sheridan MA, Mommsen TP. Effects of nutritional state on in vivo lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1991 ; 81 : 473-483.
- Shimeno S, Kheyyali D, Takeda M. Metabolic Adaptation to Prolonged Starvation in Carp. *NIPPON SUISAN GAKKAISHI* 1990 ; 56 : 35-41.
- 清水智仁, 伴 真俊, 宮内康行, 梅田勝博, 中尾勝哉, 藤井 真, 真山 紘. 千歳川を降河するふ化場産および野生産サケ稚魚の栄養状態. 水産技術 2016 ; 8 : 89-94.
- Theilacker GH. Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. *Fish. bull.* 1978 ; 76 : 403-413.
- Theilacker GH. Starvation-induced mortality of young sea-caught jack mackerel, *trachurus symmetricus*, determined with histological and morphological methods. *Fish. bull.* 1986 ; 84 : 1-17.
- 虎尾 充, 竹内勝巳, 佐々木義隆, 春日井潔, 村上 豊, 永田光博. 当幌川におけるカラフトマス放流魚と野生魚の降河生態. 北海道立水産孵化場研究報告 2010 ; 64 : 7-15.
- Zenitani H. Analysis of lipid components for determining the nutritional condition of sardine larvae *Sardinops melanostictus*. *Fish. Sci.* 1995 ; 61 : 725-726.