

学位論文題名

The physiological study on sockeye salmon
(*Oncorhynchus nerka*) Propagation With
special reference to Parr – smolt Transformation.

(ベニザケの人工増殖におけるスマルト化機構に関する生理学的研究)

学位論文内容の要旨

降海性サケ科魚類は河川や湖等の淡水域でふ化した後、幼稚魚期にスマルト化して海洋生活へ移行し、数年間の索餌回遊を経て産卵のために生まれた水域に回帰する。我が国では古くから、このような生態的特徴を有するサケ

(*Oncorhynchus keta*)、カラフトマス (*O. gorbuscha*)、およびサクラマス (*O. masou*) を重要な水産資源として利用するとともに、人工ふ化放流による資源増大を推進してきた。近年、北海道さけ・ますふ化場ではこれらの種に加えて、陸風型ベニザケ（ヒメマス、*O. nerka*）から人為的に作り出した降海型ベニザケの資源造成に取り組んでいる。現在、サケとカラフトマスの回帰量は飛躍的に増加し、高位で安定した資源の維持が可能となった。しかし、消費者の需要が高いサクラマスとベニザケ資源は未だに産業として成り立つまで至っていないことから、それらの資源増大に向けた増殖技術の開発が望まれている。

サクラマスやベニザケは、海洋生活への移行に際してスマルト化（銀化変態）することが知られている。この変態現象は形態的、機能的、行動的变化を含む複雑なものであり、スマルト化が円滑に進行するかどうかは魚の海洋での生残を左右する。また、本来日本に生息しない降海型ベニザケ資源を造成する上で、質の高いスマルトの生産は必要不可欠な課題であるにも関わらず、これまでの人工ふ化放流事業のなかでは、放流魚の生理状態、なかでもスマルト化機構に関してそれ程関心が払われてこなかった。

本研究は、主にベニザケを中心として、ふ化場産サケ科魚類のスマルト化機構

を解析し、その過程に及ぼす環境要因と各種ホルモンの影響を生理学的に調べるとともに、ベニザケに現れる早期成熟雄の生理学的特性を把握することで、適切な人工ふ化放流技術を確立することを目的とした。

スマルト化する天然魚では、外見的变化（つま黒）、機能的变化（海水適応能の獲得）、および行動的变化（降河行動）が並行して起きる。ふ化場産のサケ、サクラマス、ベニザケ、およびヒメマスにおけるスマルト化の実態を把握するために、これらの変化を周年に亘って調べた。海水適応能の指標として、海水移行24時間後の血中ナトリウム濃度（Na濃度）と、海水中の浸透圧調節に重要な働きをする鰓の Na^+, K^+ -ATPaseの活性を用いた。降河行動は人工河川を使って調べた。その結果、サケのNa濃度は浮上時（3月）から翌年の1月まで160 mEq/L台の低値を示したことから、この期間は高い塩分排泄能力が維持されることが分かった。しかし、鰓の Na^+, K^+ -ATPase活性と降河行動のピークは、ともに5月であった。つま黒は、サケ幼魚が沖合移動を終了する7月～8月に現れた。このように、サケのスマルト化は浮上期から沖合い移動期にかけて段階的に進行し、一度獲得した海水適応能は長期間維持されることが分かった。これに対して、サクラマス、ベニザケ、およびヒメマスでは、海水適応能の上昇、降河行動、およびつま黒の発現が1年魚の5月に同調して起こり、その後は急速に衰えた。以上の結果から、人工ふ化放流を行う際には、サケは長期間高い海水適応能を維持できるので、水温や餌等外部環境が好適な時期に合わせた放流が可能であるが、サクラマスやベニザケはスマルト化時期が限られるため、海水移行試験等を通じて放流時期の選定を的確に行う必要があることが示された。

スマルト化は一年の限られた時期にのみ発現することから、餌量、日長、水温等、周年変化を示す環境要因により惹き起こされると考えられているが、その作用に関しては不明な点が多い。そこで、ベニザケのスマルト化に与える魚の成長量と、日長および水温の影響を実験的に調べた。まず、尾叉長が約11 cmの0年魚を5群に分け、異なる給餌量の下で11月から6ヶ月間飼育して成長量に差異を与え、各群におけるスマルト生起の有無を調べた。その結果、翌年の4月（1年魚）に全ての群でつま黒が発現し、鰓の Na^+, K^+ -ATPase活性が上昇する等、明瞭なスマルト化の特徴が現れた。従って次に、より小型の0年魚で、それらの変

化を数年に亘って比較したところ、8月の平均尾叉長が8 cmを超えた年は、8月の時点（0年魚）でつま黒の発現と海水適応能の上昇が認められた。しかし、8月の尾叉長が8 cmに達しなかった年は、0年魚スマルトが現れなかった。これらのことから、8月までに尾叉長で8 cmを越える成長量を示すベニザケは、環境からの刺激を受けてスマルト化することが示された。そこで、スマルト化に与える日長と水温の影響を調べるために、ベニザケ0年魚を、異なる日長、水温条件の下で5月から9月まで飼育し、実験群間のスマルト過程を比較した。この間、魚は尾叉長で約5 cmから約8 cmに成長した。その結果、7月に日長を短日（8L）から長日（16L）に切り替えた群にのみ、9月の時点で、つま黒の発現と鰓の Na^+, K^+ -ATPase活性および海水適応能の有意な上昇が認められた。しかし、日長条件を一定にした群、あるいは短日化した群にはこのような特長が現れなかった。この時の海水適応能には、低水温飼育群（5℃）と高水温飼育群（10℃）間に差がなかった。これらの結果から、スマルト化の引き金は、短日から長日への日長変化により引かれることが示唆された。従って、ベニザケのスマルト生産における一手法として、尾叉長8 cm以上の個体に短日から長日への日長変化を与えることが効果的であると考えられた。

これまでスマルト化に関する内分泌学的研究は多くあり、特に甲状腺ホルモン（ T_4 ）、コーチゾル、および成長ホルモン（GH）がスマルト化に与える役割について多くの論議がされている。しかし、その詳細は未だに不明である。そこで、ベニザケ1年魚のスマルト化に伴うこれら3種類の血中ホルモン濃度の動態を明らかにするとともに、投与実験を通じてそれらが海水適応能に与える影響を調べた。まず、ホルモンの血中濃度は、コーチゾルが4月、また T_4 が5月に各々ピークを示した。この群の海水適応能は5月に最も高まったことから、ベニザケの場合も、これらのホルモンが海水適応能の獲得過程に影響している可能性が予想された。そこで、スマルト化する前のベニザケ1年魚に各ホルモンを投与した。その結果、コーチゾル投与群では他群よりも鰓の Na^+, K^+ -ATPase活性が有意に高く、それを反映して血中 Na 濃度が有意に低値を示した。コーチゾルと T_4 の両方を投与した群では、コーチゾルの効果を促進した。一方、免疫染色による組織学的観察から、コーチゾルは鰓の塩類細胞数と塩類細胞中の Na^+, K^+ -ATPase

量を増加させることが明らかとなった。これらの結果から、ベニザケでは、春季に分泌量が増したコーチゾルが鰹の塩類細胞で Na^+ , K^+ -ATPaseを活性化させ海水適応能を高め、T4はその働きを補助することが示唆された。

雄のベニザケには、通常の個体に比べて若齢で成熟する早期成熟雄が現れる。この群はスモルト化しないため、効率的なスモルト生産の妨げになっている。従って次に、早期成熟雄の生理学的特性とその分化過程を調べた。スモルトとともに行った海水移行試験結果から、早期成熟雄はスモルトには劣るものの海水適応能を高め、海洋生活への移行が可能であることが明らかとなった。この群を水槽内で海水飼育し、成熟過程を調べた結果、早期成熟雄への相分化は1年魚の5月までに終了し、その年の10月から11月にかけて成熟することが分かった。ベニザケ0年魚を、異なる給餌率の下で11月から翌年の5月まで飼育した結果、冬季間の成長を促進した群には、この間の成長を抑制し春季の成長を促進した群に比べて多くの早期成熟雄が現れた。このことから、ベニザケの人工ふ化放流において、早期成熟雄の出現率を低下させるために、冬季間の成長抑制が有効であることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	山内	皓平
副査	教授	山崎	文雄
副査	教授	麦谷	泰雄
副査	助教授	上田	宏
副査	助教授	足立	伸次

学位論文題名

The physiological study on sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) Propagation With special reference to Parr – smolt Transformation.

(ベニザケの人工増殖におけるスマルト化機構に関する生理学的研究)

サケ科魚類は淡水域で生まれると、幼稚魚期に海洋生活へ移行して数年間の索餌回遊生活を送る。天然のベニザケは、幼魚が海へ下る際に銀化変態（スマルト化）することが知られている。従って、ベニザケを人工増殖するためには、質の高い降海型幼魚（スマルト）を生産することが必要不可欠な課題となっている。しかし、複雑多岐に亘る変態現象であるスマルト化の発現機構には、未だに不明な点が多く残されており、スマルトを育成する飼育技術も確立されていないのが現状である。本研究では、まずふ化場産サケ科魚類（シロザケ、サクラマス、ベニザケ）におけるスマルト化の発現過程を比較し、ベニザケのスマルト化の特徴を把握した。さらに、その過程におよぼす環境要因と各種ホルモンの影響を生理学的に解析するとともに、早期成熟雄の相分化過程を明らかにすることで、ベニザケの適切な人工ふ化放流技術の開発を目指した。

シロザケ、サクラマス、およびベニザケのスマルト化過程を把握するために、それらの外見的变化（つま黒）、機能的变化（海水適応能の獲得）、および行動的变化（降海行動）を1年間に亘って調べた。その結果、シロザケの海水適応能は浮上時（3月）から翌年の1月まで維持した。しかし、降海行動のピークは5月に、つま黒はシロザケ幼魚が沖合い移動を終了する7月以降に現われた。この様に、シロザケのスマルト化は浮上期から沖合い移動期にかけて段階的に進行し、一度獲得した海水適応能は長期間維持されることが分かった。これに対してサクラマスとベニザケでは、つま黒の発現、海水適応能の獲得、および降海行動が1年魚の5月～6月に同調して起き、その後は急速に衰えた。また、ベニザケは0年魚の8月に、1年魚には劣るものの海水適応能を高めた。この様に、ベニザケではスマルト化に関わる様々な変化が短期間に集中して発現し、その発現過程は3種の中で最も多様性に富む点の特徴としてあげられた。

スマルト化は1年の限られた時期に発現することから、餌量、日長、水温等、周

年変化を示す環境要因により惹き起こされると考えられるが、それらの作用は不明である。そこで、まず尾叉長が11cmのベニザケ0年魚を異なる給餌量の下で飼育し、成長量がスモルト化に与える影響を実験群間で比較した。その結果、全ての群で同時につま黒が発現し、海水適応能が高まる等、明瞭なスモルト化の特徴が現われた。しかし、より小型の0年魚でスモルトの発現状態を比較したところ、0年魚の8月までに平均尾叉長が8cmを超えた大型群では8月の時点でスモルト化が発現するものの、そのサイズに達しない小型群はスモルト化しないことが分かった。次に、尾叉長が6cmの魚を異なる日長と水温条件下で飼育し、これらの環境要因がスモルト化に与える影響を解析した結果、日長を短日(8L)から長日(16L)に切り替えた群のなかで、尾叉長が8cmを超えた個体にのみ、つま黒の発現と海水適応能の急激な上昇が認められた。また、この変化には飼育水温(5℃および10℃)に伴う違いが認められなかった。これらの結果から、ベニザケのスモルト化は、尾叉長で6~8cmの個体が、短日から長日への日長刺激を受けた時に誘起されることが示唆された。

スモルト化機構は古くから内分泌学的に研究されてきたが、その詳細は未だに不明である。ベニザケ1年魚のスモルト化に伴う血中ホルモン濃度の動態を調べたところ、成長ホルモン(GH)が3月、コーチゾルが4月、また甲状腺ホルモン(T4)が5月に各々ピークを示した。この群の海水適応能は、5月に最も高まっていたことから、ベニザケにおいてもこれらのホルモンが海水適応能の獲得過程に影響している可能性が高いと考えられた。次いで、各ホルモンを投与した結果、コーチゾル投与群の海水適応能は、GH投与群およびT4投与群に比べて顕著に高まっていた。また、海水中で浸透圧調節を行う鰓の Na^+,K^+ -ATPaseに対する特異抗体を用いた免疫染色による組織学的観察から、コーチゾルは鰓の塩類細胞数と、その中の Na^+,K^+ -ATPase量を増加させることが明らかとなった。このように、ベニザケでは、春季に分泌量が増したコーチゾルが鰓の塩類細胞で Na^+,K^+ -ATPaseを活性化させ、その結果として海水適応能を高めることが示唆された。

ベニザケの雄には、通常雄より若齢で成熟する早期成熟雄が現われる。この群は、スモルト化しないため、スモルト育成上の妨げとなる。そこで、ベニザケ0年魚を異なる給餌率の下で冬季から春季にかけて飼育し、早期成熟雄の出現状況を調べた。その結果、冬季間に成長を抑制した群における早期成熟雄の出現率は、その間に成長を促進した群に比べて明らかに低かった。このことは、ベニザケの早期成熟雄への相分化は冬季間の高成長により惹き起こされることを示している。従って、この間の成長抑制が早期成熟雄への出現率を低下させるために有効であると考えられる。

上述のように、本研究はベニザケのスモルト化の特徴と、その過程における環境要因およびホルモンの影響を生理学的に明らかにするとともに、効率的にスモルトを育成するための貴重な資料を提示した。これらの結果は、今後、複雑なサケ科魚類の初期生活史を生理学的に解明し、新たな人工増殖技術を開発するうえで極めて重要な知見を提供したのものとして高く評価され、本論文が博士(水産学)の学位請求論文として相当の業績であると認定した。