養殖マダイの絶食時における血液、肝すい臓成分などに 与える水温の影響^{*1}

坂口 宏海・浜口 章

(1980年9月19日受理)

Effect of Temperature on the Chemical Constituents in Serum, Hepatopancreas and Other Viscera of Cultured Red Sea Bream during Starvation

Hiromi SAKAGUCHI^{*2} and Akira HAMAGUCHI^{*3}

Separate groups of about 70 individuals each of red sea bream, *Chrysophrys major*, weighing 272 g on the average were kept in cold water of an ambient temperature of 8.3–12.2°C and in warm water controlled at 19.5–21.0°C without feeding. After 1, 2, 3, 5, 11, 25, and 41 day (s), 7 to 9 individuals from each group were sacrificed for chemical analysis and histological observation.

In the hepatopancreas, glycogen decreased markedly within 5 days in both groups. On the contrary, fat kept increasing to the end of the experiment. Histologically, oil droplets increased in size and had a tendency to gather around the pancreatic tissue. In the serum of both groups, gradual decreases in the contents of triglycerided, total cholesterol, and protein and in the activity of alkaline phosphatase were noted. Blood sugar level showed little change in the cold water group, but decreased in 25 days in the warm water group. Prolonged fasting caused atrophy of parenchymal cells and nuclei in the hepatopancreas in both groups, which was more conspicuous in the warm water group. The atrophy of cells was considered to be induced by the depletion of glycogen.

〔魚類の絶食時の血液成分などの変化については、わが国でもこれまでにコイ^{1,2)}、ウナギ^{3,4)}、ニジマス⁵⁾、ハマチ⁶⁾などで調べられている。また最近、SAKAMOTOら^{7,8)}は無給餌で飼育した天然マダイの血液、内臓成分などについて報告している。それらの結果によると、絶食時の魚類の化学成分中のある種のは、魚種により異なる変化をし、また同一魚種でも成長段階や環境水温によっても異なるようである。

筆者らは低水温期にマダイを自然水温および加温水中で無給餌で41日間飼育し、その間の血清、肝すい臓およびその他の内臓の化学成分ならびに肝すい臓の組織像の変化を調べた結果、血清中の二、三の成分がコイやハマチとはかなり異なる挙動を知った。また肝すい臓の糖、脂質含量などは飼育水温によっても影響されることを認めた。本報では、それらの結果を報告する。

実験方法

供試魚および飼育法 供試マダイ, *Chrysophrys*

major, は前報⁹⁾と同一群の魚で、生後1年半飼育した若年魚(平均体重 272 g)である。これらの魚には実験開始の前日まで、市販のマダイ用配合飼料を給餌した。

試験区は自然水温区(8.3~12.2°C)および加温区(19.5~21.0°C)の2区とした。供試魚は各区66尾とし、22尾ずつ3つの水槽に分け、前報⁹⁾と同じ施設で飼育した。各槽には毎時400~700 lの汙過海水を通気しながら注水した。自然水温が約14°Cに低下した時期から、加温区には温水を注入して水温を徐々に上昇させ、19.5~21.0°Cに保った。その10日後、自然水温が12.2°Cに低下した時期から実験を開始した。すなわち最終給餌の1, 2, 3, 5, 11, 25および41日後に各区のマダイ7~9尾を用い、MS-222で麻酔後、前報⁹⁾と同様の方法で採血、血清を分離した。また採血後の魚の肝すい臓およびその他の内臓(腎臓、膵および心臓を除く。以後内臓と略記)も採取した。なお1, 11, 25および41日後の試料では各区3尾の魚の肝すい臓をブアン、ロスマン液および10%中性ホルマリンで固定し、組織像の観察に供した。

^{*1} 養殖マダイの生理学的研究—V。

^{*2} 長崎大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Nagasaki University, Nagasaki 852)。

^{*3} 現住所 (6-10, Takamaru-1, Tarumi-ku, Kobe 673)。

Table 1. Body condition of the starved red sea bream kept at different temperatures (mean±S.D.)

Starved day	Temperature	Body weight (g)	Condition factor	Hepatosomatic index	Viscerasomatic* ² index
1	C* ¹	273±45	22.4±1.6	1.63±0.34	3.88±0.85
	W* ¹	272±59	22.5±2.0	1.62±0.27	4.17±0.52
2	C	285±28	23.0±1.2	1.47±0.29	4.07±0.91
	W	—	—	—	—
3	C	255±41	22.3±0.9	1.60±0.20	3.78±0.42
	W	258±42	20.9±0.8	1.41±0.35	3.98±0.62
5	C	264±56	21.6±1.0	1.31±0.19	3.29±0.29
	W	226±41	22.1±1.6	0.95±0.19	3.26±0.77
11	C	250±32	21.5±1.3	1.30±0.31	4.03±1.11
	W	263±46	22.1±1.2	0.71±0.07	3.68±0.58
25	C	273±50	20.7±1.3	1.37±0.36	4.15±1.21
	W	234±34	20.7±1.5	0.59±0.17	3.16±0.48
41	C	275±33	23.1±1.7	1.43±0.21	3.50±0.43
	W	241±43	20.6±1.4	0.64±0.12	2.78±0.67

*¹ C: Ambient cold temperature of 8.3–12.2°C.

W: Warm temperature controlled at 19.5–21.0°C.

*² Value obtained by excluding hepatopancreas, kidney, heart and gill.

分析方法 前報⁹⁾に述べた方法で血清のタンパク、トリグリセリド、総コレステロール、グルコース、無機リン、カルシウム、マグネシウム含量ならびに GOT*¹ (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT*² (glutamic pyruvic transaminase), LDH (lactate dehydrogenase [EC. 1.1.1.27]) および Al-P (Alkaline phosphatase [EC. 3.1.3.1]) 活性を測定し、肝すい臓については水分、脂肪およびグリコーゲン量を、内臓については水分および脂肪量を測定した。

組織像の観察 ブアンおよびロスマン液で固定した肝すい臓を常法でパラフィン包埋後、4–5 μm の連続切片を作製した。ブアン固定標本は Mayer の酸性ヘマラウム–エオシン二重染色 (H-E 染色)¹⁰⁾を、ロスマン固定標本は過ヨード酸 Schiff (PAS) 反応¹¹⁾を行い、グリコーゲンの確認には唾液消化試験を行つた。またホルマリン固定組織からは凍結切片 (15 μm) を作製し、ズダン IV–ヘマトキシリン染色¹²⁾を行つた。

結 果

体重、肥満度および肝すい臓の重量比など 体重は供試魚の個体差が大きかったため、その変動傾向は明らかでない (Table 1)。肥満度の変化は小さく、また飼育水温による差も認められなかった。加温区の魚の肝すい臓の重量比 (肝すい臓の重量と体重との比, %) の減少幅は大きく、25 日以降は開始時の約 1/3 に低下した。他方自然水温区では初期にわずかに減少の傾向にあるが、

5 日以降はほとんど変化しなかった。なお、25 日および 41 日後の自然水温区ではいずれも 44% (9 尾中 4 尾) の魚が緑肝症を呈したが、加温区ではそのような現象は観察されなかった。内臓の重量比 (肝すい臓、腎臓、鰓および心臓を除いた内臓の重量と体重との比, %) は両区とも初期の変化は小さかったが、自然水温区では 25 日以降、加温区では 11 日以降は減少の傾向にあるものと考えられる。

肝すい臓および内臓の化学成分 肝すい臓のグリコーゲン量は両区とも絶食の初期に大幅に減少した (Table 2)。11 日後の加温区の含量は 0.3% で開始時の値の約 4% にすぎず、同程度の値が終了時まで続いた。他方低水温区では初期の減少の後、11 日以降は増加の傾向がみられた。グリコーゲン含量とは逆に脂肪含量は絶食日数の経過とともに激増した (Table 2)。しかしこの間、肝すい臓の重量比は加温区では大幅に減少しているもので、体重 100 g 当りの脂肪量はほとんど変動しない。水分量の変動率は両区ともグリコーゲンや脂肪のそれに比べて小さいが、全般にグリコーゲンと脂肪の和の増減と逆に変化する傾向にあった。

内臓の脂肪含量は個体差が大きく、変化の傾向はあまり明瞭ではなかったが、加温区では 11 日以降減少の傾向がみられた。水分量は脂肪とは逆に変動し、両者の和は 89% 前後で 41 日間ほとんど差がなかった。

血清の化学成分および酵素活性 血清の分析結果を Table 3 および 4 に示した。開始時のトリグリセリド

*¹ Aspartate amino transferase (EC 2.6.1.1).*² Alanine amino transferase (EC 2.6.1.2).

Table 2. Chemical constituents in the hepatopancreas and other viscera of the starved fish (mean±S.D.)

Starved day	Hepatopancreas				Viscera*2	
	Moisture (%)	Glycogen (%)	Fat (%)	Fat (mg/100 g B.W.)	Moisture (%)	Fat (%)
1C*1	67.3±2.0	6.07±1.41	5.0±2.4	77.2± 37.2	55.4±13.2	32.9±16.5
W*1	66.7±1.8	7.79±1.76	4.7±1.5	76.4± 23.2	49.3± 8.5	39.9±10.4
2C	63.7±2.5	4.09±1.77	10.1±2.1	149.8± 47.6	46.5± 7.9	43.4± 9.9
W	—	—	—	—	—	—
3C	63.2±2.1	3.99±2.09	9.7±4.2	160.1±85.3	46.9± 7.4	40.7± 6.1
W	66.1±2.2	6.03±2.33	6.2±3.6	81.5± 37.8	49.5±11.3	39.9±13.6
5C	65.4±2.9	2.25±1.53	12.6±3.8	164.3± 52.0	51.4± 5.7	38.2± 6.9
W	67.3±2.4	2.08±2.50	6.4±3.0	57.6± 21.4	53.4±10.2	35.1±12.2
11C	66.9±2.9	1.08±1.34	12.8±3.1	156.0± 49.5	52.8± 9.7	36.4±11.3
W	67.9±1.7	0.30±0.22	9.8±2.1	70.4± 14.7	49.3± 9.0	40.4±10.7
25C	62.6±4.7	1.45±0.92	18.9±5.4	286.7±170.0	51.2±10.9	38.8±12.8
W	65.7±3.1	0.40±0.36	12.9±4.6	77.1± 27.9	58.9± 9.0	29.0±10.0
41C	67.0±3.7	2.07±0.66	14.6±4.7	228.8± 92.5	56.1± 8.2	33.7± 9.4
W	67.4±3.9	0.25±0.05	12.9±5.0	89.1± 45.4	62.1± 9.6	25.9±11.8

*1 Refer to Table 1.

*2 Viscera excluding hepatopancreas, kidney, heart and gill.

Table 3. Chemical constituents in the serum of the starved fish (mean±S.D.)

Starved day	Triglyceride (mg/100 ml)	Total cholesterol (mg/100 ml)	Protein (g/100 ml)	Glucose (mg/100 ml)	Phosphate-P (mg/100 ml)	Calcium (mg/100 ml)	Magnesium (mg/100 ml)
1C*	338±244	186±21	3.97±0.32	76±16	9.4±0.8	13.1±0.9	3.1±0.3
W*	534±132	182±28	4.66±0.50	81±19	11.1±1.1	14.4±1.9	3.4±0.6
2C	180± 78	180±27	4.50±0.76	95±25	9.9±1.6	13.4±1.0	3.4±0.2
W	—	—	—	—	—	—	—
3C	157± 36	173±28	4.16±0.42	85±30	8.9±0.8	—	—
W	141± 35	187± 9	4.61±0.35	79±19	10.5±1.0	—	—
5C	114± 16	153±16	3.70±0.26	72±12	8.5±0.5	12.2±0.7	2.8±0.2
W	141± 32	198±31	4.59±0.26	78±14	12.0±1.0	13.1±0.5	3.8±0.9
11C	124± 47	162±21	3.72±0.28	71±13	9.2±1.1	11.7±0.8	3.1±0.2
W	134± 33	184±29	4.31±0.22	84±21	10.5±1.6	12.9±0.2	3.9±0.4
25C	126± 38	137±22	3.56±0.48	79±30	8.7±0.8	12.9±1.4	3.6±0.1
W	122± 70	137±41	3.50±0.60	54±15	8.9±0.7	12.9±1.1	3.6±0.2
41C	72± 19	113±13	3.16±0.43	76±11	7.4±0.7	12.1±1.0	3.2±0.1
W	72± 16	86±15	2.76±0.37	40± 6	8.5±0.9	11.6±1.0	3.7±0.6

* Refer to Table 1.

含量は自然水温区で約 340 mg/100 ml, 加温区で約 540 mg/100 ml であったが, 両区とも絶食の初期に大幅に減少し, 3 日後には 150 mg/100 ml 前後まで低下した。その後 25 日後までは比較的安定しているが, 終了時には約 70 mg/100 ml に減少した。総コレステロールおよびタンパク含量は 11~25 日頃から減少傾向を示した。自然水温区のグルコース量は全期間ほとんど変化しないが, 加温区では 11 日以降減少した。無機リン, カルシウムおよびマグネシウム含量は両区ともほとんど変動し

なかった。

血清の LDH, GOT および GPT 活性は両区とも全期間ほとんど変化しなかった。ALP 活性は開始時自然水温区に比べて加温区で高かった。その活性は両区とも絶食日数の経過とともに低下した。

組織像 絶食日数の経過に伴って両区とも肝細胞, 核ともに萎縮し, 25 日以後の標本では壊死や核濃縮した部位も認められた。このような傾向は加温区で著しく, 41 日後の加温区では, すい外分泌腺細胞も萎縮する傾

Table 4. Enzymatic activities in the serum of the starved fish (mean±S.D.)

Starved day	LDH (Wroblewski unit)	GOT (Karmen unit)	GPT	Al-P (Bessey-Lowry unit)
1C*	280±160	12±6	0	0.24±0.10
W*	240±60	11±4	0	0.43±0.18
2C	210±100	8±2	0	0.26±0.20
W	—	—	—	—
3C	230±80	7±3	0	—
W	280±80	13±3	3±1	0.28±0.18
5C	210±80	8±3	1±1	0.16±0.11
W	310±120	11±6	2±1	0.33±0.15
11C	290±150	10±4	1±1	0.11±0.08
W	200±60	13±5	1±1	0.15±0.14
25C	390±220	13±6	2±2	0.05±0.05
W	230±50	10±2	3±2	0.15±0.12
41C	190±55	10±3	1±1	0.03±0.03
W	220±100	12±5	3±1	0.06±0.06

* Refer to Table 1.

向にあつた (Plate 1, Figs. 1~4)。自然水温区のグリコーゲンは 11 日以降減少するものの、終了時までかなり豊富に認められた (Plate 1, Fig. 8)。他方、加温区では 11 日後には肝静脈の周辺で消失しており、25 日以降はほとんど認められない (Plate 1, Figs. 6, 7)。開始時の細胞内脂肪滴は両区とも小型で、各細胞にはほぼ均等に分布しているが (Plate 1, Fig. 9)、11 日以降は脂肪滴が大きくなり、その分布も不均一となつた (Plate 1, Figs. 3, 10~12)。またすい外分泌腺細胞の周辺部の大型脂肪粒の増加が目立つた。

考 察

無給餌で飼育した魚の肝 (すい) 臓グリコーゲン含量は一般に減少するが、コイ²⁾では 20 日程度の絶食ではほとんど変化しない。絶食時のウナギの肝臓グリコーゲンの減少率は季節や環境水温によつても異なり、高水温での減少幅が大きい⁴⁾。本研究においてもマダイ肝すい臓のグリコーゲンの減少率は加温区で大きく、高水温では代謝活動がより盛んであることを示している。また自然水温区の 41 日目の含量は低水温のために摂餌量が減少したマダイの値¹³⁾とほとんど差がなかつた。このことはマダイでは低水温時には代謝率が低下し、これに伴う神経・運動機能低下の一部として摂餌活動が減退しているものと考えられる。SAKAMOTO⁷⁾は、漁獲直後の天然マダイを水温 13~18°C で絶食させた場合、肝すい臓のグリコーゲン含量は初期の 9 日間はほとんど変化がみられないとしており、本実験の結果とかなり異なっている。このような差異が天然魚と養殖魚の差、あるいは供試魚の大きさの違いによるものか、あるいはまた MILLER¹⁴⁾がニジマスで示したように、SAKAMOTO

ら⁷⁾が用いた天然マダイの肝すい臓のグリコーゲン量が漁獲時のストレスによつて正常な天然マダイのそれと異なっていたことによるものかは明らかでない。

水温 20°C で 22 日間絶食させたコイの肝すい臓の脂肪は減少する²⁾が、越冬中のコイでは逆に増加する¹⁾。しかしこの場合でも肝すい臓の重量が減少するために、脂肪の総量は減少している。ところが本実験条件下では自然水温区の脂肪含量は大幅に増加し、終了時の含量は約 230 mg/100 g B. W. で開始時の約 3 倍に達した (Table 2)。これらの脂肪は細胞内で大滴化するものや、すい外分泌腺細胞の周辺に大量に蓄積している。マウスでは絶食によりまず肝臓のグリコーゲンが消費されると、蓄積脂肪の動員が起こり、脂肪肝を呈するようになる。マダイにおいても短期間の絶食によつて脂肪含量が急増しており、哺乳類の場合と同様に脂肪肝を呈するものと考えられる。この現象はコイの場合²⁾と著しく異なっている。なお天然マダイでは絶食の初期に肝すい臓の脂肪含量は減少しており⁷⁾、本実験の結果と異なっている。

ニジマス⁸⁾やハマチ¹⁰⁾では絶食により血清中のトリグリセリド含量が増加する。しかしマダイでは 41 日間の絶食では両区ともに本成分の増加はみられず、むしろ減少傾向にあつた。このような差異は魚種間の筋肉、内臓などの脂肪含量が異なることも一因と考えられるが、詳細は不明である。なお、低水温で摂餌量が大幅に減少したマダイ 0 年魚 (平均体重 40 g) でも血漿中のトリグリセリド含量はかなり増加している¹³⁾。したがって絶食時の血清 (漿) トリグリセリド含量は同一魚種でも、環境水温や供試魚の大きさによつて異なるものと考えられる。またタンパクおよび総コレステロール含量はともに加温区

で減少率が大きかったが、ハマチ¹⁰⁾に比べるとその割合は小さい。他方、絶食させたニジマス⁸⁾やウナギ⁹⁾ではこれらの成分はほとんど変化しないとされており魚種により、飢餓時の代謝機構に差があることがうかがわれる。

絶食中のウナギ²⁰⁾、ハマチ¹⁷⁾などでは、糖の新生が行われるため、血糖値はほとんど変化しないが、ニジマス⁸⁾では飢餓の30~40日後に減少している。天然マダイ⁸⁾でも30日間の絶食では血糖値に影響を与えない。本実験でも自然水温区の血糖値は飼育期間中ほとんど変化しなかったが、加温区では25日以降かなり低下している。これは11日以降の加温区の肝すい臓のグリコーゲン含量がきわめて低かったことも一因であろう。

マダイ血清のALP活性は弱く、また個体差も大きい。高水温時に活性は上昇する¹³⁾。本実験でも加温区の活性は自然水温区のものに比べて高かった。ヒトやラットでは約1日の絶食で血清中のALP活性は大幅に低下する¹⁰⁾。マダイでも本酵素の活性は、飢餓の進行に伴って低下し、終了時には開始時の1/8~1/7程度になった。

絶食によつて肝細胞および核が萎縮した。類似の結果はウナギ¹⁰⁾やメダカ¹⁰⁾にも認められている。また萎縮した肝細胞ではグリコーゲンがほとんど消失していることから、飢餓時の肝細胞の萎縮には貯蔵物質であるグリコーゲンの減少が大きく影響していると考えられる。

以上のように、絶食時のマダイの血清中の成分などは、グルコース含量やALP活性を除くと環境水の温度の影響をあまり受けないが、肝すい臓および内臓のグリコーゲンや脂肪含量は水温によつて大きく変動した。これは肝すい臓やその他臓器に貯えられた貯蔵物質によつて、血液の恒常性を保つためであり、さらに今回の加温区の水温がマダイの適水温の下限に近かつた²⁰⁾ため、両区間の差異が小さかつたものと考えられる。

終りにのぞみ有益なご助言をいただいた長崎大学水産学部 吉越一馬博士ならびに道津喜衛教授にお礼申し上げますとともに、本実験の実施を許可された兵庫県立水産試験場 井沢康夫前場長に深謝します。

文 献

- 1) 竹内 昌昭・塩瀬 淳也・佐々木 治雄・金子 徳五郎: 東海水研報, No. 59, 1~17 (1969).
竹内昌昭・石井清之助: 東海水研報, No. 59, 19-27 (1969).
- 2) M. NAGAI and S. IKEDA: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **36**, 404-409 (1971).
- 3) T. SANO: *J. Tokyo Univ. Fish.*, **48**, 105-109 (1962).
- 4) Y. INUI and Y. OHSHIMA: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **32**, 492-501, (1966).
Y. INUI and S. EGUSA: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **33**, 181-189 (1967).
- 5) 柴田宣和・衣巻豊輔・市村 博: 東海水研報, No. 77, 77-87 (1974).
新聞弥一郎・市村 博・柴田宣和: 日水誌, **42**, 83-89 (1976).
- 6) 藤谷 超・塚原宏子: 南西海区水研報, No. 1, 63-69 (1969).
- 7) S. SAKAMOTO, M. FURUICHI, and Y. YONE: *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, **23**, 63-69 (1978).
- 8) S. SAKAMOTO and Y. YONE: *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, **23**, 71-77 (1978).
- 9) 坂口 宏海・浜口 章: 日水誌, **45**, 545-548 (1979).
- 10) 田中克己・浜 清: 顕微鏡標本の作り方, 全訂第4版, 裳華房, 東京, 1961, pp. 149-151.
- 11) 田中克己・浜 清: 顕微鏡標本の作り方, 全訂第4版, 裳華房, 東京, 1961, pp. 232-234.
- 12) 田中克己・浜 清: 顕微鏡標本の作り方, 全訂第4版, 裳華房, 東京, 1961, pp. 237-238.
- 13) 坂口 宏海・浜口 章: 日水誌, **45**, 443-448 (1979).
- 14) R. B. MILLER, A. C. SINCLAR and P. W. HOCHACHKA: *J. Fish. Res. Board Can.*, **16**, 321-328 (1959).
- 15) 坂口 宏海: 日水誌, **42**, 1267-1272 (1976).
- 16) Y. INUI and M. YOKOTE: *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, **24**, 33-46 (1974).
- 17) 示野 貞夫: 高知大水実研報, No. 2, 1-107 (1974).
- 18) M. SUKUMARAN and W. L. BLOOM: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **84**, 631-634 (1953).
- 19) T. TSUKUDA: *Fol. Anat. Jap.*, **24**, 41-44 (1952).
- 20) 板浜靖男: 魚類生理学概論 (田村 保編), 恒星社厚生閣, 東京, 1977, pp. 63-82.

Explanation of Plate 1

Hepatopancreas of the fish starved in cold (C) or warm (W) environments for 1 to 41 days. Figs. 1-4. Bouin fixation, H-E stain, $\times 376$. Figs. 5-8. Rossman fixation, PAS stain, $\times 188$. Figs. 9-12. Formalin fixation, Sudan IV stain, $\times 188$.

- Fig. 1.** One day in W.
- Fig. 2.** Eleven days in W.
- Fig. 3.** Twenty-five days in C. Accumulation of large oil droplets (white vacuoles) and atrophy of pancreatic cells are observed.
- Fig. 4.** Forty-one days in W. Atrophy of nuclei and parenchymal cells is noticed.
- Fig. 5.** One day in W. A large amount of glycogen is seen.
- Fig. 6.** Eleven days in W. Glycogen around the intralobular vein is exhausted.
- Fig. 7.** Twenty-five days in W. No glycogen is observed.
- Fig. 8.** Forty-one days in C. Fairly large amount of glycogen is still remaining.
- Fig. 9.** One day in C. Size of oil droplets is small.
- Fig. 10.** Eleven days in C. The size of oil droplets becomes bigger.
- Fig. 11.** Twenty-five days in W.
- Fig. 12.** Forty-one days in W. Increase of oil is clearly seen and its distribution becomes uneven.