HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ニシンの発育初期における体成分の変化
Author(s)	福田, 雅明; FUKUDA, Masaaki; 中野, 広 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 37(1), 30-37
Issue Date	1986-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23902
Type	departmental bulletin paper
File Information	37(1)_P30-37.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
37(1), 30-37. 1986.

ニシンの発育初期における体成分の変化*

福田　雅明**・中野　　広***・山本　和久****

Biochemical Changes in Pacific Herring during Early Developmental Stages*

Masaaki FUKUDA**, Hiroshi NAKANO***
and Kazuhisa YAMAMOTO****

Abstract

The growth of Pacific herring *Clupea pallasi* was studied from the end of the yolk-sack stage to the early juvenile stage in rearing conditions for changes in protein, DNA, RNA, lipids and glycogen content. All components increased in actual amount with growth.

The early growth period was divided into three developmental phases according to the changes in percent of chemical components and in protein/DNA and RNA/DNA ratios.

The first phase occurred in the early larval stage, ranging from 10 mm to about 20 mm in standard length (SL), when the percentage of protein, tryglyceride and phospholipid increased. The protein/DNA ratio also increased, which suggests that cell enlargement took place in this phase.

In the second phase, ranging from about 20 mm to 30 mm SL, however, the protein/DNA ratio continuously declined indicating active cell proliferation. This phase seemed to be the transitional phase from larva to juvenile, in which the percentage of tryglyceride declined but the phospholipid remained at a constant level.

The third phase, 30 mm or longer in standard length, corresponded to the juvenile stage was characterized by active cell enlargement and the deposition of energy materials.

ニシン属魚類は太平洋および大西洋の北部に広く分布し，資源変動が大きく[1]，その原因の1つとなる初期減耗の解決を目的とし，生活史初期に関する知見が数多く蓄積されている[2,3]。このうち，発育にともなう形態変化は，外部形態[4,5]だけではなく，消化管[6]，網膜[7]，耳胞および側線器官[8]，筋肉[9]など多方面にわたる知見の蓄積がある。これに対し，生理的な変化を推定する試みは，生化学的手法を用いて行った呼吸系器官[10]や脳[11]など，わずかにみられる程度である。また一方では体成分の変化を検討して自然個体の栄養状態や生理状態を推定し[12~14]，成長過程の生理的な特徴を明らかにする報告がみられる[15]。特に死亡率の高い稚仔魚の生理変化を知ることは資源の変動要因を解明するためだけではなく，近年重要性の増してきた種苗生産を，効率よく進めるうえでも重要となる。

---

* 北海道大学水産学部北洋水産研究施設業績第172号(*Contribution No. 172 from the research institute of North Pacific fisheries. Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

** 北海道大学水産学部北洋水産研究施設(*Research Institute of North Pacific Fisheries, Faculty of Fisheries. Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido*)

*** 北海道区水産研究所(*Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory, Kushiro, Hokkaido*)

**** 日本栽培漁業協会厚岸事業場(*Japan Sea Farming Association. Akkeshi Station. Akkeshi, Hokkaido*)

本報告は，太平洋ニシン *Clupea pallasi* を用い，タンパク質量と核酸量の増加傾向から成長過程を，また脂質量とグリコーゲン量の変化からエネルギー物質の蓄積過程を検討した。

材料と方法

供試魚には日本栽培漁業協会厚岸事業場で生産された種苗を用い，飼育は 20 トン水槽を使用し，水温は 15°C (±2°C) であった。飼育密度は約 10 個体/l とし，餌料系列はクロレラで培養したワムシ，アルテミアノープリウス幼生，クロレラで培養したアルテミア，アユ用配合餌料であった。1 週間毎にまとめた餌料種類と投餌量を表 1 に示した。

試料の採取は卵黄を吸収したと思われるふ化後 7 日目から 1 週間間隔で行い，採取後の個体はタンパク質および核酸分析用と，グリコーゲンおよび脂質分析用の 2 種類に分けた。前者は 0.25 M ショ糖，1 mM EDTA, 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 緩衝液で，また後者は 1/3 海水内で，いずれもただちに −20°C で凍結した。

タンパク質，核酸の試料は解凍し，手早く秤量した後に氷冷した上記緩衝液を適量加え，Potter-Elevehjem 型テフロン—ガラスホモジナイザーで氷水中にてホモジネートを調製した。タンパク質の定量は Lowry 法[16] によって，また核酸の定量は Schmidt-Thanhauser-Schneider 法を一部改良した水野[17]，嶋田・寺山[18] の方法に準じて行った。体長約 20 mm までは 3-60 個体を 1 ホモジネートサンプルとし，それ以後は 1 個体ずつ定量した。

脂質は体長により 3-700 個体をまとめ，Bligh-Dayer 法[19] によって全脂質を抽出し，これをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供し，クロロホルムで中性脂質を，メタノールでリン脂質をそれぞれ溶出した。中性脂質は Sastry and Kates の方法[20] でトリグリセリドを定量し，リン脂質は

Table 1. Food items and amount fed to Pacific herring each week from the end of yolk-sack stage to juvenile stage. The herring were raised in a 20 kilolitre rearing tank.

Weeks after hatching	*Brachionus* sp.* (No. of ind. $\times 10^8$)	*Artemia salina* Nauplii (No. of ind. $\times 10^8$)	*Artemia salina* Larva** (No. of ind. $\times 10^7$)	Artifical diet*** (kg)
1	2.2	0.06	—	—
2	9.9	1.17	—	—
3	20.6	2.50	—	—
4	23.2	2.78	3.60	—
5	20.8	1.72	10.20	0.22
6	—	0.76	6.60	0.94
7	—	—	6.33	1.88
8	—	—	4.95	3.35
9	—	—	0.90	4.35
10	—	—	—	4.87
11	—	—	—	8.77
12	—	—	—	11.22

* : Rotifers was first cultured with yeast then cultured with marine chlorella.
** : *Artemia salina* larvae cultured with marine chlorella.
*** : The commercial food for Ayu (*Plecoglosus altiveis*) manufactured by Fuji flour Co.

Bartlett 法[21] によってリンの定量を行い，この値を 25 倍してリン脂質量とした。

グリコーゲンの定量は，試料を解凍し秤量した後，全魚体をアルカリ分解し，硫酸―アンスロン法[22] によって行った。定量時のサンプルは，体長約 20 mm までは 3-10 個体をまとめ，それ以後は 1 個体ずつとした。

結　　果

タンパク質および核酸

本研究に使用したニシン稚仔魚の成長にともなう体重の変化を図 1 に示した。体重は指数関数的に増加し体重 (W) の対数値とふ化後日数 (t) との間には，

$$\mathrm{Log}\,W = -2.64\times10^{-4}t^2 + 0.061\,t - 0.129$$

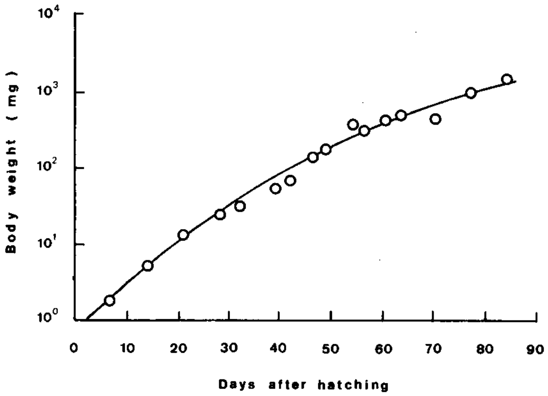

Fig. 1. Growth curve in mean body weight of Pacific herring larvae and juveniles in rearing condition.

の関係が得られた。

成長に伴うタンパク質量，DNA 量および RNA 量を図 2 に示した。各成分とも成長につれて指数関数的に増加し，その増加傾向は体重の変化と類似していた。タンパク質の体重に占める割合 (図 3, A) は，体長 11 mm から 18 mm にかけて約 6% から 11% へと 2 倍近い増加がみられたが，その後はゆるやかに減少した。タンパク質/DNA 比の変化 (図 3, B) はタンパク質の体重比と同様に体長 11 mm から 18 mm で 72 から 186 に急増し，ピークに達した後 33 mm の 76 まで減少し続けた。しかし，その後は体長 40-50 mm の 144-145 まで再び増加がみられた。RNA/DNA 比 (図 3, C) は体長 11 mm で 5.5 であったが 18 mm では 4.7 まで漸減し，その後，23 mm に 6.6 と一時的な増加がみられるが，27 mm の 3.9, 34 mm の 4.5 と低い値をとり，以後増加し 6.2-7.3 と高い値でほぼ一定していた。

脂質およびグリコーゲン

各体長ごとのトリグリセリド量およびリン脂質量を表 2 に示した。トリグリセリドとリン脂質は体長とともに増加した。またトリグリセリド，リン脂質のそれぞれについて，体重比の成長に伴う変化を図 4 (A, B) に示した。体長 19 mm までは両脂質ともに類似した増加傾向を示し，トリ

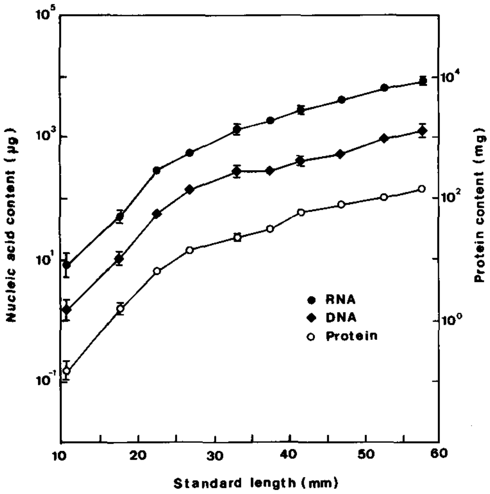

Fig. 2. Nucleic acid (μg) and protein (mg) content per larva for Pacific herring from the end of yolk-sack stage to juvenil stage. Each point and vertical bar represent the mean±S.E. for 5-31 samples. Vertical bars omitted when the S.E. is less than the size of the point.

グリセリドでは0.3%から0.6%へと，またリン脂質では0.6%から1.0%へと，それぞれ蓄積がみられた。リン脂質ではその後やや低下し約0.9%で一定となるが，トリグリセリドではさらに体長22 mmまで増加が認められ，28 mmで一時的に0.4%まで低下するものの，その後急速に増加した。

各体長における平均グリコーゲン量を表3に，またグリコーゲン体重比の成長に伴う変化を図4 (C)に示した。グリコーゲン量は体長とともに増加したが，体重比では体長28 mmを境として，その前後で大きく変化した。すなわち，体長13 mmから23 mmまでは0.02-0.04%と低い値であったが，28 mmで0.14%まで急増し，その後は0.13-0.15%の間で一定となっていた。

考　　察

ニシンの発育初期ではタンパク質，核酸，脂

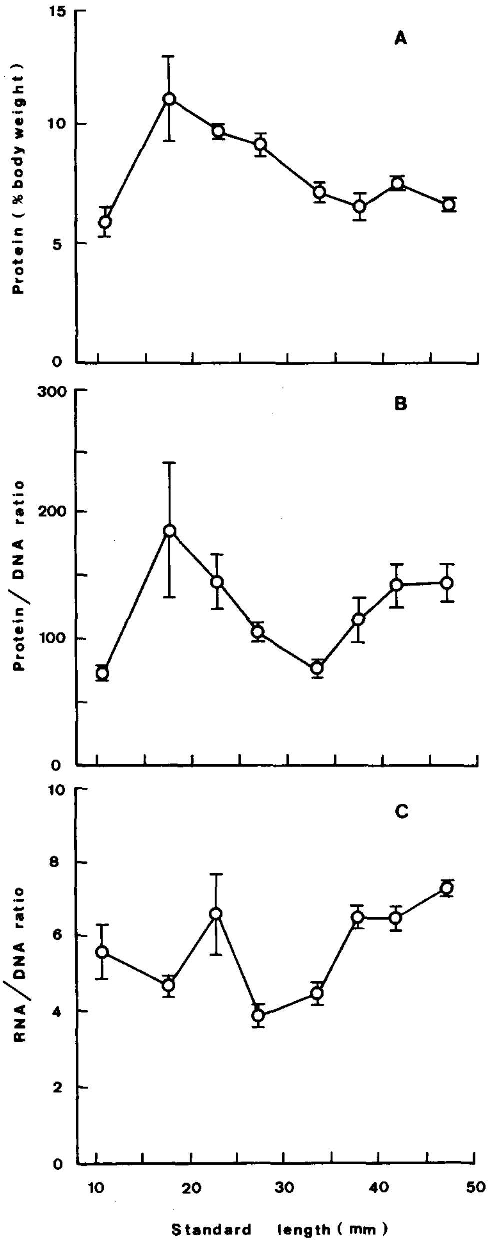

Fig. 3. Changes in protein percent of body weight (A), protein/DNA ratio (B) and RNA/DNA ratio (C) during growth of Pacific herring from the end of yolk-sack to juvenile stage. Each point and vertical bar represent the mean±S.E. for 5-31 samples.

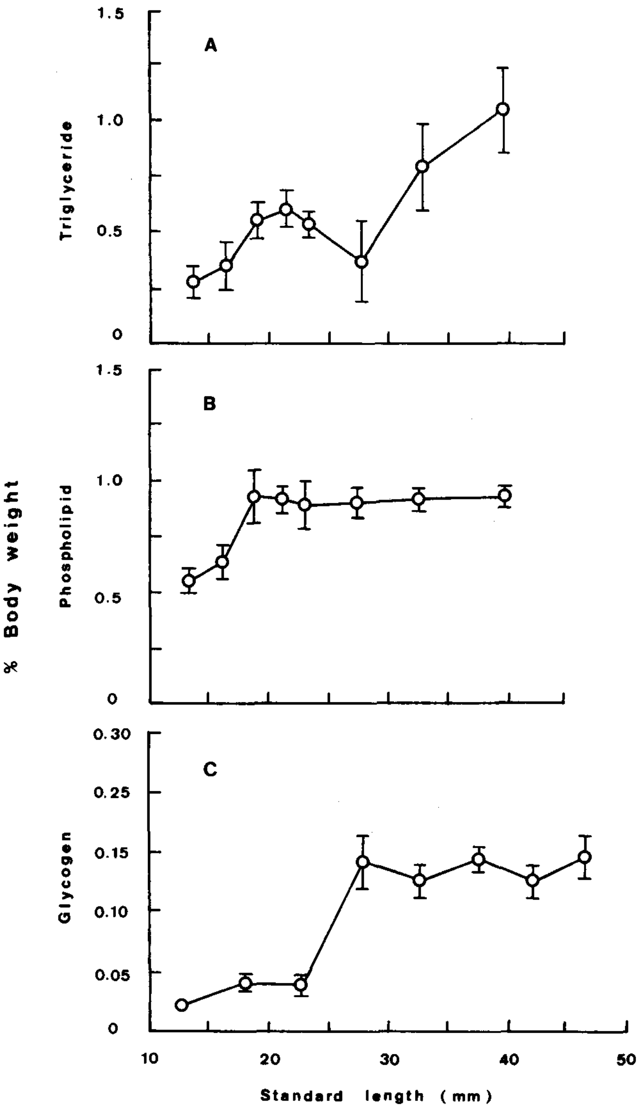

Fig. 4. Changes in the percent of tryglyceride (A), and phospholipid (B) and glycogen (C) during growth of Pacific herring from the end of yolk-sack stage to juvenile stage. Each point and vertical bar represent the mean±S.E.

質，グリコーゲンのすべてで絶対量が増加していた。しかし，体重比として表される相対量では各成分とも異なった変動を示し，それらの変化は体長約 20 mm および 30 mm 付近に集中していた。

体長約 20 mm までは，タンパク質/DNA 比，タンパク質体重比，トリグリセリド，リン脂質に増加が見られた。タンパク質/DNA 比は細胞を構成するタンパク質量と細胞数との相互関係を表すことから，この値の増加は細胞肥大の，また減少は細胞分裂の指標となる。したがって，体長

Table 2. Triglyceride and phospholipid content (mg) per larva from the end of yolk-sack stage to juvenile stage for Pacific herring.

Standard length Mean (mm)	Number of samples*	Triglyceride content Mean±S.E. (mg)	Phospholipid content Mean±S.E. (mg)
13.5	2(766)	0.013±0.004	0.031±0.018
16.2	2(92)	0.036±0.011	0.064±0.009
18.8	6(155)	0.121±0.022	0.197±0.026
21.3	4(116)	0.249±0.022	0.388±0.004
23.2	4(82)	0.413±0.095	0.655±0.101
27.5	4(18)	0.684±0.373	1.427±0.097
32.7	3(12)	3.592±0.992	4.187±0.409
39.4	3(15)	7.295±1.703	6.353±0.595

*: The figures in parenthesis represent the number of larva contained in the sample.

Table 3. Glycogen content (μg) per larva from the end of yolksack stage to juvenile stage for Pacific herring.

Standard length Mean (mm)	Number of samples*	Glycogen content Mean±S.E. (μg)
12.8	7(70)	0.77±0.09
18.0	6(30)	7.19±1.55
22.8	31(54)	31.9±11.1
28.0	15(15)	250±42.2
32.6	17(17)	363±44.5
37.6	32(32)	638±50.7
42.1	17(17)	971±124
46.5	5(5)	1608±167
52.6	5(5)	2704±361

*: The figures in parenthesis represent the number of larvae contained in the sample.

20 mm までは細胞が肥大しているものと推定される。一方，同時に DNA 量の増加も顕著に認められることから細胞分裂も活発と判断され，この時期両者が並行して進行し，細胞肥大が優勢な期間と考えられる。このことはタンパク質体重比の増加や，細胞膜の主要成分とみなされるリン脂質の増加によっても裏付けられる。

体長約 20 mm から 30 mm までは，タンパク質体重比が減少し，リン脂質の体重比が一定となるが，トリグリセリドの体重比は体重 22 mm まで増加していた。同様な結果は大西洋ニシン *Clupea harengus*[15] でも報告されている。このことから体長 20 mm 程度までは細胞の成長に重点が置かれ，やや遅れてエネルギー蓄積が生じると推定される。しかし，その後トリグリセリドの体重比は減少する傾向がみられた。この期間に使用した餌料は生物餌料が主体であり，これらに含まれる成分に大きな差はない[23]と考えられるので，餌料の影響とは考えにくい。一方この時期はタンパク質/DNA 比が減少し細胞分裂が活発な時期と解釈され，消化管の分化，発達も報告されてい

る[24]ことから，種固有の組織，器官が形成される時期と推察される。また，多くの海産無脊椎動物では変態期における脂質の消費が知られ[25]，魚類でも変態期[26]やparr-smolt転換時[27]に脂質の減少が報告されていることから，形態変化の著しいこの時期にエネルギー源として中性脂質が利用されている可能性が示唆された。

体長30 mm以上は形態から稚魚期と判断され，タンパク質合成活性の指標となるRNA/DNA比[28]と，タンパク質/DNA比が増加した。したがってタンパク質合成が活発となり，細胞肥大による成長が主体となると推察される。また，稚魚期に移行するとトリグリセリドとグリコーゲンの体重比に顕著な増加がみられたことから，活発なエネルギー蓄積が推定される。しかし，この時期から人工餌料の比率が重量比で50%を上回るので，餌料成分の影響を考慮する必要がある。今回使用した配合餌料の成分組成は，水分：10%，粗タンパク質：52%，粗脂肪：4%，粗繊維：2%，粗灰分：15%，炭水化物：15%（富士製粉株式会社，私信）であり，水分が少ないことと炭水化物量の多いことが特徴となる。したがって，急激なグリコーゲン増加は餌料中の炭水化物に由来する可能性を無視することはできない。

しかし，田中ら[29]はアユで後期仔魚期から稚魚期に移行する際，餌の組成に関係なくアミラーゼの活性が上昇することを認め，また田中[30]は多くの魚種で同様な時期に脂質の蓄積部位が腸上皮層から肝臓へ移ることを報告して，代謝様式の変化を示唆している。同様なことがニシンの稚魚期に起こるとすれば脂質とグリコーゲンの蓄積は，餌料の影響よりはむしろ代謝系の発達と関連があるように思われる。すなわち，消化系器官の発達とともに消化，吸収能力が高まって広範囲な餌が利用できるようになり，代謝様式の変化によって余剰エネルギーの蓄積が可能となったと考える方が妥当と思われる。しかし魚類発育初期の代謝に関する知見は乏しく，この問題は今後検討する必要があろう。

以上のことから，ニシンの発育初期を体成分の変化からみると，細胞分裂と細胞肥大が同時に起こり，体成長に重点が置かれた時期（体長約20 mmまで），活発な細胞分裂によって種固有の組織，器官が形成される時期（体長約20 mmから30 mmまで），細胞肥大による成長と活発なエネルギー蓄積の始まる時期（体長30 mm以上）の3期に区分できると考えられる。

謝　辞

本研究の御指導および原稿の御校閲を賜りました北海道大学水産学部三島清吉教授に深謝の意を表する。また，懇切な御指導と有益な助言を賜りました釧路短期大学坂田澄雄助教授，北海道区水産研究所杉山元彦博士に心より謝意を表する。さらに，本研究を進めるうえで多大な御配慮をいただいた日本栽培漁業協会厚岸事業場加畑裕康主任に深謝する。

文　献

1) Cushing, D.H. (1975). *Marine ecology and fisheries*. 278p. Cambridge University Press, London.

2) Saville, A. (ed.) (1971). Symposium on the biology of early stages and recruitment mechanisms of herring. *Rapp. P.-v. Réun. Cons. int. Explor. Mer* **160**, 1-205.

3) Blaxter, J.H.S. and Hunter, J.R. (1982). The biology of the Clupeoid fishes. *Adv. Mar. Biol.* **20**, 1-223.

4) Ford, E. (1930). Herring investigations at Plymouth. VIII. The transition from larvae to adolescent. *J. mar. biol. Ass., U.K.* **16**, 723-752.

5) 内田恵太郎・今井貞彦・水戸　敏・藤田矢郎・上野雅正・庄島洋一・千田哲資・田福正治・道津喜衛 (1958). 日本産魚類の稚魚の研究　第1集. 九大農学部水産第二教室, 89p.

6) Ehrlich, K.F., Blaxter, J.H.S. and Pemberton, R. (1976). Morphological and histological changes during growth and starvation of herring and plaice larvae. *Mar. Biol.* **35**, 105-118.
7) Blaxter, J.H.S. and Jones, M.P. (1967). The development of the retina and retinomotor responses in the herring. *J. mar. biol. Ass., U.K.* **47**, 677-697.
8) Blaxter, J.H.S., Denton, E.J. and Gray, J.A.B. (1981). The auditory bullae-swimbladder system in late stage herring larvae. *J. mar. biol. Ass., U.K.* **61**, 315-326.
9) Batty, R.S. (1984). Development of swimming movement and musculture of larval herring (*Clupea harengus*). *J. Exp. Biol.* **110**, 217-229.
10) De Silva, C. (1974). Development of the respiratory system in herring and plaice. p. 465-485. In Blaxter, J.H.S. (ed.), *The early life history of fish.* 765p. Springer -Verlag, Berlin.
11) Packard, A. and Wainwright, A.W. (1974). Brain growth of young herring and trout. p. 499-507. In Blaxter, J.H.S. (ed.), *The early life history of fish.* 765p. Springer-Verlag, Berlin.
12) Balbontin, F., de Silva, S.S. and Ehrlich, K.F. (1973). A comparative study of anatomical and chemical characteristics of reared and wild herring. *Aquaculture* **2**, 217-240.
13) Ehrlich, K.F. (1975). A preliminary study of the chemical composition of sea-caught larval herring and plaice. *Comp. Biochem. Physiol.* **51B**, 25-28.
14) Gatten, R.R., Sargent, J.R. and Gamble, J.C. (1983). Diet-induced changes in fatty acid composition of herring larvae reared in enclosed ecosystems. *J. mar. diol. Ass., U.K.* **63**, 575-584.
15) Ehrlich, K.F. (1974). Chemical changes during growth and starvation of herring larvae. p. 301-323. In Blaxter, J.H.S. (ed.), *The early life history of fish.* 765p. Springer-Verlag, Berlin.
16) Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.R. and Randall, R.J. (1955). Protein measurement with folin phenol regent. *J. Biol. Chem.* **192**, 265-275.
17) 水野重樹 (1969). 核酸の一般的分離・定量法. 250p. 東京大学出版会, 東京.
18) 嶋田 拓・寺山 宏 (1975). 生化学実験講座 2. 核酸の化学 I (日本生化学会編) 436p. 東京化学同人, 東京.
19) Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911-917.
20) Sastry, P.S. and Kates, M. (1964). Lipid components of leaves. V. Galactolipids, cerebrosides, and lecithin of runner-bean leaves. *Biochemistry* **3**, 1271-1280.
21) Bartllet, G.R. (1959). Phosphorus assay in colum chromatography. *J. Biol. Chem.* **234**, 466-468.
22) 吉川春寿 (1966). 臨床医化学-I. 実験編 454p. 協同医書出版社, 東京.
23) 渡辺 武・荒川敏久・北島 力・福所邦彦・藤田矢郎 (1978). 仔稚魚用生物餌料の一般組成およびミネラル組成. 日水誌 **44**, 979-984.
24) 飯塚 篤 (1966). 厚岸湾におけるニシンの発生初期の生態. 北水研報 (**31**), 18-63.
25) Holland, D.L. (1978). Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. p. 83-123. In Malins, D.C. and Sargent, J.R. (ed.), *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology.* 239p. Academic Press, London.
26) Lalelle, M. and Nursall, J.R. (1985). Some aspects of the early life history of the redlip blenny, *Ophioblennius atlanticus* (Teleostei: Blennidae). *Copeia* 1985, 39-49.
27) Fossler, J.L. and Wagner, H.H. (1969). Some morphological and biochemical changes in steelhead trout during the parr-smolt transformation. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **26**, 2853-2841.
28) 里見至弘 (1966). 施肥養魚池にて混養飼育したハクレン, カワチブナ, コイの核酸および燐脂質含有量について. 淡水研報 **16**, 113-132.
29) 田中 克・川合慎一郎・山本章造 (1972). アユ仔稚魚の消化系の発達と消化酵素活性について. 日水誌 **38**, 1143-1152.
30) 田中 克 (1975). 稚魚の消化系. p. 7-23. 日本水産学会編, 稚魚の摂餌と発育 122p. 恒星社厚生閣, 東京.