

氏名	黒川 優子
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農第169号
学位授与の日付	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規程第5条第1項該当
学位論文題目	数種の魚類および甲殻類のふ化後の成長に伴う消化酵素活性の変化
論文審査委員(主査)	教授 安藤 正史
(副主査)	教授 塚 正泰之
(副主査)	教授 山 根 猛

本研究では消化能力に関する基礎的な情報を得るために、数種の魚類および甲殻類を用いて初期発育段階におけるトリプシン様酵素、ペプシン様酵素そしてアミラーゼの3種の消化酵素の活性の変化を調べた。また、本研究は得られた成果を水産増養殖現場における適正な餌料の選択や餌料転換期を考える際に役立つことを目的としている。

第1章 仔稚魚の成長に伴う消化酵素活性の変化

本研究では生活史が異なる4魚種を実験に供した。すなわち、沿岸域に広く分布するタイ型魚類のクロダイ(*Acanthopagrus schlegeli*)、淡水漁業での有用種であるアユ(*Plecoglossus altivelis*)、そして仔稚魚期に変態をくり返しながら成長する異体類のヒラメ(*Paralichthys olivaceus*)とマコガレイ(*Pleuronectes yokohamae*)である。3種の消化酵素活性はいずれの魚種においても微弱ながらふ化直後から観察され、これらの酵素活性は一般に、成長に伴って増加した。しかしながら、増加のパターンは魚種によって異なった。マコガレイについては消化酵素活性と消化器官分化との関係を顕微鏡観察によって調べた。脾臓および腸はふ化後6日から明らかに分化し、胃はふ化後15日からわずかに分化を開始した。小型の動物プランクトンから大型のプランクトンへの餌料の転換はタンパク質の消化能力が増加する胃腺の分化時期が適切であるかもしれない。ふ化後30日においては、アユを除く3魚種ではほとんど全ての消化器官が完全に分化し、機能的になった。アユではふ化後2~3カ月に胃腺が分化・発達すると言われており、このことを反映して、ふ化後100日までのペプシン様酵素の活性上昇は緩やかであり、その後急激な活性の上昇が認められた。

第2章 仔稚魚期のヒラメにおける消化酵素活性の日内変動と日内変動に及ぼす諸要因 —給餌タイミングの最適化—

魚類の初期発育段階における適切な給餌時間および給餌回数を知るために、ヒラメを用いて消化酵素活性の日内変動を変態時期、給餌条件および光条件との関連において調べた。

1. ヒラメの成長段階における消化酵素活性の日内変動の比較

仔稚魚期のヒラメを、B~F stageでは1日2回（09:00および16:00）シオミズツボムシを、G~I stageでは1日1回（09:00）アルテミア幼生を与えて飼育した。仔稚魚のサンプリングは24時間、2時間間隔で行い、無給餌区ではサンプリングの前日から給餌を停止した。トリプシン様酵素の活性はB~I stageを通じて、17:00~19:00で最も高くなることが観察され、真夜中から早朝にかけて最も低くなった。給餌時間とトリプシン様酵素活性との関係は明らかではなかったが、変態期（F~H stage）においては無給餌区でも夕方に活性のピークが見られた。このことはこれらのステージにおいて給餌時間に関する学習と記憶が成立していることを示唆している。一方、ペプシン様酵素活性の規則的な日内変動は、実験を行ったいずれの発育段階を通しても見られなかった。仔稚魚期のアミラーゼ活性についてもトリプシン様酵素と類似のパターンが認められ、一般にB~F stageでは17:00~19:00、G~I stageでは13:00~15:00に高い値を示し、真夜中から早朝にかけて低い値を示した。トリプシン様酵素の活性と異なり、アミラーゼでは無給餌区において活性が低く、規則的な日内変動は認められなかった。

2. ヒラメの仔稚魚における消化酵素活性の日内変動に及ぼす諸要因

給餌時間や給餌回数に変態前後におけるヒラメのトリプシン様酵素活性の日内変動に及ぼす影響を調べた結果、09、16時の2回給餌区（I区）、12、19時の2回給餌区（II区）、18時1回給餌（III区）のいずれにおいても一般に14~22時に高い活性が認められたが、成長にともない活性のピークは遅くなる傾向が認められた。また、深夜~未明において活性は最も低くなった。活性のレベルはI > II > IIIの順であり、成長も同様の傾向が認められた。これらの結果から、仔稚魚期では午前、午後2回の給餌が望ましいと言えよう。

自然光条件下で飼育したGおよびIstageのヒラメを前日から自然光、恒明および恒暗条件で飼育したときのトリプシン様酵素活性の日内変動を調べた。自然光条件では18時、恒明条件では21時、恒暗条件では18時にそれぞれ高い活性が認められた。恒明条件下では摂餌が容易なため、飽食状態が21時頃まで続き、その結果、トリプシン様酵素の活性も21時まで高いレベルを維持

したと考えられる。

第3章 アサヒガニ幼生の成長に伴う消化酵素活性の変化

アサヒガニ (*Ranina ranina*) のゾエア期から稚ガニ期までの消化酵素活性の変化について調べた。発育初期のゾエアI齢からIV齢まではアルテミア幼生を、それ以後は成長段階に従って冷凍アサリ、アミ、オキアミそしてコペポードを与えて稚ガニ期まで飼育した。トリプシン様酵素およびアミラーゼの活性をふ化後直後から54日（54 DAH）まで測定した。両酵素の活性はゾエアI齢から明らかに認められ、その後、成長に伴って活性は上昇し、特にゾエアV齢（16DAH）から急激な活性の上昇が見られた。また、ふ化後16日から著しい体重の増加が認められ、消化酵素活性の増加とよく対応していた。組織学的観察の結果、中腸腺の機能的な発達もふ化後16日において明らかに認められたことから、この段階で消化系の基本的な構造はほぼ分化していると言える。トリプシン様酵素およびアミラーゼの活性上昇は組織学的な観察による中腸腺の分化および発達状況とよく対応していた。

論文審査結果の要旨

申請者は本研究において消化能力に関する基礎的な情報を得るために、数種の魚類および甲殻類を用いて初期発育段階における3種の消化酵素の活性の変化を調べた。本研究において得られた知見は水産増養殖現場における適正な餌料の選択や餌料転換期を考える際にきわめて有用な内容を含んでいる。

第1章においては、仔稚魚の成長に伴う消化酵素活性の変化を4種の魚類を用いて調べた。調査した3種の消化酵素活性はいずれの魚種においても微弱ながらふ化直後から観察され、成長に伴って増加したが、増加のパターンは魚種によって異なることが明らかとなった。また、消化酵素活性と消化器官分化との関係を顕微鏡観察によって調べた結果より、小型の動物プランクトンから大型のプランクトンへの餌料の転換はタンパク質の消化能力が増加する胃腺の分化時期が適切である可能性を示唆した。

第2章では、仔稚魚期のヒラメにおける消化酵素活性の日内変動と日内変動に及ぼす諸要因について検討したところ、トリプシン様酵素の活性は明確な時間変動を示すことを明らかにした。また変態期においては無給餌区でも夕方活性のピークが見られた。このことはこれらのステージにおいて給餌時間に関する“学習と記憶”が成立していることを示唆している。

一方、これら日内変動に影響する要因を調べたところ、給餌時間や給餌回数が変態前後におけるヒラメのトリプシン様酵素活性に影響をおよぼし、仔稚魚期では午前、午後2回の給餌が望ましいとの結論に至った。また光条件の違いによる酵素活性への影響を調べたところ、自然光条件では18時、恒明条件では21時、恒暗条件では18時にそれぞれ高い活性が認められた。恒明条件下では摂餌が容易なため、飽食状態が21時頃まで続き、その結果、トリプシン様酵素の活性も21時まで高いレベルに維持される可能性を示した。

第3章では有用甲殻類であるアサヒガニ幼生を用い、その成長に伴う消化酵素活性の変化を調べた。トリプシン様酵素およびアミラーゼの活性を測定したところ、両酵素の活性はゾエアⅠ齢から明らかに認められ、その後、成長に伴って活性は上昇し、特にゾエアⅤ齢から急激な活性の上昇が見られた。また、ふ化後16日から著しい体重の増加が認められ、消化酵素活性の増加とよく対応していた。組織学的観察より中腸腺の機能的な発達がふ化後16日において明らかに認められたことから、この段階で消化系の基本的な構造はほぼ分化して

いると言える。トリプシン様酵素およびアミラーゼの活性上昇は組織学的な観察による中腸腺の分化および発達状況とよく対応していることを明らかにした。

以上のように申請者は、有用養殖魚類および甲殻類について、その種苗生産においてきわめて有用な新しい知見を明らかにした。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成24年2月9日、農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。