

## 短 報

追い回しストレスによる  
ヒラメ稚魚耳石の元素組成変化

角 田 出

(1999年4月12日受付, 1999年10月18日受理)

Elemental Changes of Otoliths from the Juvenile  
Japanese Flounder Subjected Stress by ChasingIzuru Kakuta\*<sup>1</sup>キーワード: ヒラメ稚魚, 耳石, 元素, ストレス,  
PIXE 分析

耳石の元素組成は魚の生理活性によって制御されており, 成長に伴った元素含量変化を詳細に調べれば, 年齢や日齢のみでなく, 魚の生態, 生理学的情報が明らかになると考えられている。<sup>1)</sup> 現在, 魚類耳石の元素組成から水温や塩分履歴を推定する場合, Sr/Ca 比が良く用いられている。<sup>2-5)</sup> 海産魚では, 当該比は水温と負の,<sup>2,3)</sup> 塩分とは正の<sup>4,5)</sup> 相関があるとされているが, 水温に影響されないという報告もある。<sup>6)</sup> 耳石の Zn/Ca 比も水温と正の,<sup>3)</sup> 塩分濃度と負の<sup>5)</sup> 相関を示すことが報告されている。

しかし, 環境変動の激しい所に生息する魚では, 前述の環境要因と耳石の元素組成との間に一定の関係の見られない場合もある。<sup>7,8), \*2, \*3</sup> 本研究では, この理由を明らかにする目的で, ストレスが魚類耳石の元素組成に及ぼす影響を調べた。

実験材料として, 水温 20°C に順化させた全長約 55 mm のヒラメ稚魚 (静岡県の業者から購入した孵化後 100 日目のもの 300 尾) を用いた。魚を 2 群に分け, 各々 200 l の水槽に収容し, 一方は安静状態で 2 週間 (対照群), 他方は追い回し刺激を負荷した後に, 1 週間安静状態で (試験群), それぞれ飼育した。追い回し刺激としては, 目合い 5 mm のネットを先端に取り付けた攪拌棒を水槽内で 10 回/分の割合で回転させる方法を用い, 1 時間に 5 分間の追い回しを, 1 日 3 回行い, この操作を 1 日おきに 4 回繰り返した。最終追い回し刺激負荷の 3 時間後に, 両群より各 30 尾を取り上げ, 心臓よりヘパリン処理済み毛細管を使って採血を行った。また, 飼育実験終了時には, 試験群を行動や肉眼的

に異常が認められないもの (ストレス群) と, 動きが鈍く, 摂餌活性が低く成長が遅い, 体色が暗いという肉眼的に異常の認められるもの (高ストレス群) に分けて, 右側扁平石の採取 (各群 8 尾) および採血 (各群 30 尾) を行った。なお, 飼育実験は 20°C で行い, 毎日, 体重の 2% 量のヒラメ用配合飼料を与えた。

血液は 3,000 g で遠心後, 血漿部分を群毎にまとめて, 放射免疫法<sup>9)</sup>によりコルチゾル濃度の測定に供した。耳石の表面元素 (Ca, Sr, Zn) 含量は既報<sup>9)</sup>に準じて荷電粒子 X 線放射化 (PIXE) 法により分析した。PIXE 分析には, 東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンターの AVF サイクロトロンを用いた。分析は真空中で行い, 加速エネルギー 3 MeV で陽子 (ビーム強度 1~5 nA; ビーム径 3 mm) を分析試料に当て (分析時間 300~1,200 秒; アプソーパーとして厚さ 500 μm のマクロフォール膜を使用), 波高分析器を接続した Si (Li) 半導体検出器によりその時に生じる特定 X 線を検出した。分析試料として, 測定しない面を削って薄くした耳石を, 耳石凸面側表面 (分析面) を上にして, 厚さ 2 μm のマクロフォール膜上に貼り付けたものを用いた。なお, 本法の分析条件では, 分析ビームが耳石表面から 30~50 μm の深さまで入り込むため, その部分全体 (一週間程度) の元素情報が得られる事になる。<sup>10)</sup>

本文の測定結果は, student-t テストにより統計処理を行い,  $p < 0.05$  を有意の限界とした。

試験群では, 一部の個体において摂餌量の減少が認められ, 実験期間終了時における各群の全長 (30 尾の平均値および標準偏差) は, 対照群で 62 ± 3 mm, ストレス群で 61 ± 3 mm, 高ストレス群では 59 ± 4 mm (対照群に比べて有意に低い値) であった。

追い回し刺激負荷直後のヒラメ血漿中のコルチゾル濃度は 64.3 ng/ml と, 対照群 (6.8 ng/ml) に比べて著しく高かった。飼育実験終了時でも, 対照群が 7.4 ng/ml であったのに対し, ストレス群は 10.4 ng/ml, 高ストレス群では 29.4 ng/ml とその値は高かった。

Fig. 1 にヒラメ耳石表面元素の変化を示す。対照群に比べて, 高ストレス群では, Sr/Ca 比が有意に高く, Zn/Ca 比は有意に低かった。ストレス群では, Sr/Ca

\*1 石巻専修大学理工学部生物生産工学科 (Department of Biotechnology, Senshu University of Ishinomaki, Ishinomaki 986-8580, Japan).

\*2 山下 洋, 大竹二雄, 山田秀秋: 平成 10 年度日本水産学会秋季大会発表要旨集, p. 40.

\*3 角田 出, 飯塚景記, 石井慶造: 平成 11 年度日本水産学会春季大会発表要旨集, p. 86.

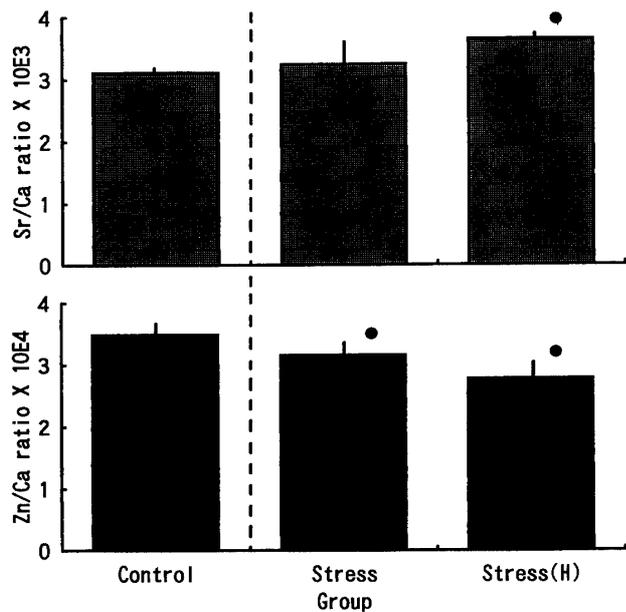


Fig. 1. Effects of chasing stress on the Sr/Ca and the Zn/Ca ratios of otoliths taken from the juvenile Japanese flounder.

Stress (H) shows results for the fish having physiological dysfunctions. All data are given as mean  $\pm$  SD (N=8) and analyzed statistically using a student-t test with a significant limit  $p < 0.05$ . ●, Significant difference from those of the control.

比が僅かに高く, Zn/Ca 比は有意に低かった。

追い回し刺激により魚がストレスを被ると, 耳石の元素組成は有意に変化した。この結果は, ストレス時あるいはその回復時には, 耳石への各種元素の運搬, 選別, 取り込み速度などが, 通常時とは異なっている事を示唆する。同様の变化は, 魚が環境塩分や水温の著しい変動によってストレスを被った場合にも生じている可能性があり, 耳石の元素組成から魚の生息環境履歴を推測する際には, その生理状態を把握しておく必要のある事を暗示している。

## 文 献

- 1) 麦谷泰雄: 日水誌, **60**, 7 (1994).
- 2) R. Radtke: *Comp. Biochem. Physiol.*, **92A**, 189 (1989).
- 3) 角田 出: 海水誌, **50**, 349 (1996).
- 4) J. M. Kalish: *Fish. Bull., U.S.*, **88**, 657 (1990).
- 5) I. Kakuta, M. Yukawa, and Y. Nishimura: *Bull. Soc. Sea Water Sci. Japan*, **51**, 388 (1997).
- 6) J. M. Kalish: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **74**, 137 (1991).
- 7) D. W. Townsend, R. L. Radtke, M. A. Morrison, and S. D. Folsom: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **55**, 1 (1989).
- 8) J. M. Kalish: *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **132**, 151 (1989).
- 9) 千曳和子, 飯沼房子, 野村武則, 笠原淳子, 出村黎子, 出村 博: ホルモンと臨床, **28**, 1127 (1980).
- 10) S. H. Sie and R. E. Thresher: *Int. J. PIXE*, **2**, 357 (1992).