

産卵溯上期サケ (*Oncorhynchus keta*) の体 カロチノイド色素に関する生化学的研究—IV

ユウラップ川に溯上するサケの河川内
成熟過程におけるカロチノイドの挙動

北原 直・斎藤 要

Biochemical Studies of Carotenoids in the Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) during upstream Migration for Spawning—IV

Behavior of Carotenoids during upstream for
spawning migration in the Yuratsupu River

Tadashi Kitahara · Kaname Saitō

著者らは、これまで主として北海道の十勝川水系に溯上する白サケについて、産卵期の河川内成熟過程におけるカロチノイドの挙動を検討し、その結果の一部は¹⁻³⁾すでに報告した。

本報では、産卵のために溯上する河川を異にするサケ間での同色素の挙動を比較検討する事を目的とし、十勝川との距離もかなりあり（海岸線距離約430 km）また北海道内で比較的大きな河川である十勝川に比べて小さな河川でもあるユウラップ川（北海道八雲町）を選び、同川を溯上する白サケを試料として十勝川水系同様産卵期のカロチノイドの挙動を検討したので、その結果を報告する。

試料および方法

試料：1974年の10月と11月 ユウラップ川の北海道サケ・マスふ化場の捕獲場（北海道八雲町，河口～捕獲場の距離；1.8 km）で採集した。10月のギン系のを河川内未熟期，11月のブナ系のを成熟期の試料とし，10月に採

集した試料の中同捕獲場の蓄養池に入れなかった捕獲直後のを河口附近の試料とした。比較に用いた北洋産の試料は、1975年6月にサケ・マス協会の調査船親潮丸で捕獲 (N 50°-30', E 153°-00) したものである。

色素の抽出 および カラムクロマトグラフィー：前報同様アセトンで抽出し、濃縮・石油エーテルへの転溶・脱水・ケン化等の操作は常法通り行なった。カラムクロマトグラフィーによるカロチノイドの分離も、前報同様活性化したワコーゲル C-200 (メッシュ 100-200) を吸着剤とし、はじめ石油エーテル (b.p. 40~60°C) で展開し、次いでベンゼン溶液中のアセトン含量を次第に増して行く展開法で行なった。なおカロチノイドの定量は $E_{410}^{1\%} = 2,200$ として行なった。

結 果

I 河川内成熟過程における筋肉・表皮・卵巣のカロチノイド量の変化

産卵期におけるカロチノイドの体内転移を明らかにするために、河川内未熟期と成熟期の筋肉・表皮・卵巣雌雄別に常法通りアセトンで抽出し、カロチノイドの定量を行った。その結果を示したのが第1表である。先に報告し

第1表 成熟過程における筋肉・表皮・卵巣のカロチノイド量の変化 (mg%)

	河 口 (1974. 10)	河川内未熟 (1974. 10)	河川内成熟 (1974. 11)	北 洋 (1975. 6)
筋 肉	♂ 0.568 (0.615)*	0.485 (0.547)**	0.064 (0.036)***	0.634
	♀ 0.490 (0.585)	0.423 (0.485)	0.051 (0.020)	0.617
表 皮	♂ 0.364 (0.232)	0.590 (0.475)	1.638 (1.495)	0.097
	♀ 0.311 (0.201)	0.583 (0.405)	1.304 (1.293)	0.090
卵 巢	0.694	0.663	0.616	2.229
成熟度指数	10.6±1.1 (10.9±1.2)	11.6±1.2 (12.3±1.2)	20.5±1.3 (23.6±1.4)	1.9±0.5

* 厚内 (近海) (1974. 9)

** 十勝川千代田捕獲場 (1974. 9)

*** 十勝川 同 捕獲場 (1974. 10)

た十勝川水系のサケ同様ユウラップ川のも、産卵溯上前主として筋肉に蓄積されていた *Astaxanthin* が成熟の進行につれて表皮に、また雌では卵巣にも移行し筋肉の *Astaxanthin* は急激に減少して行くことがわかる。

すなわち筋肉では、未熟期に 0.485 (mg%) あったのが成熟期には 0.064 (mg%) と約 1/8 量に減少し、北洋産試料の約 1/10 量となっている。筋肉 *Astaxanthin* の挙動に関する十勝川・ユウラップ川間の比較では、未熟成熟の両時期共雄の含量が雌より多い点は両河川共通であったが、河川内未熟期では十勝川産の方が多く、成熟期には逆にユウラップ産の方が多くなっている。従ってこの間における筋肉カロチノイドの減少率では、十勝川産の方が多くユウラップ川産の方が少ない。

表皮のカロチノイドは、筋肉とは逆に成熟の進行につれて増えて行く。雄の含量が雌より多いのは両河川共通であったが、ユウラップ川産の表皮は河口附近・河川内未熟・成熟のいずれの時期共、十勝川産の表皮よりカロチノイド含量が多い傾向を示した。

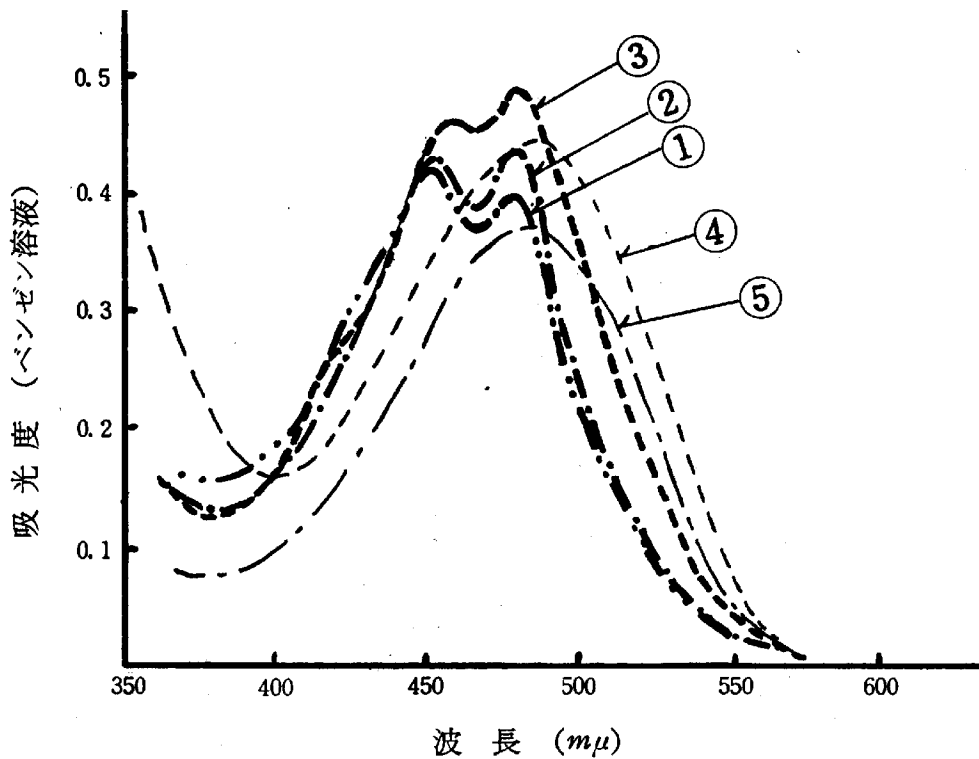
卵巣では成熟の進行につれて一見減少しているが、この間に卵巣の水分含量が著るしく増加し、また成熟度指数 (卵巣重量/魚体重量) が約 2 倍になっている点も考慮するとカロチノイドの絶対量は増加しており、卵巣への *Astaxanthin* の蓄積がなされていると推定し得る。

なお比較のために北洋産試料のカロチノイド量も併記した。筋肉では、北洋・河口・未熟期間にさ程の大差はないが、表皮での河口の増加と卵巣での減少 (北洋産試料の成熟度指数; 1.9) が特に認められた。

Ⅱ 成熟の進行に伴う表皮カロチノイドの質的变化

1) 表皮カロチノイド抽出液の吸光曲線の変化

河川内の未熟および成熟期の表皮のベンゼン抽出液の吸光曲線を示したのが第 1 図である。北洋産の表皮と未熟期の筋肉・卵巣の吸光曲線も併せて示した。筋肉・卵巣では、成熟過程に伴う吸光曲線の変化 (量的な変化は認められたが) は認められなかったが、表皮では成熟に伴う吸光曲線の変化が認められた。すなわち北洋産の表皮では、453 $m\mu$ と 481 $m\mu$ の 2 つの吸収があ



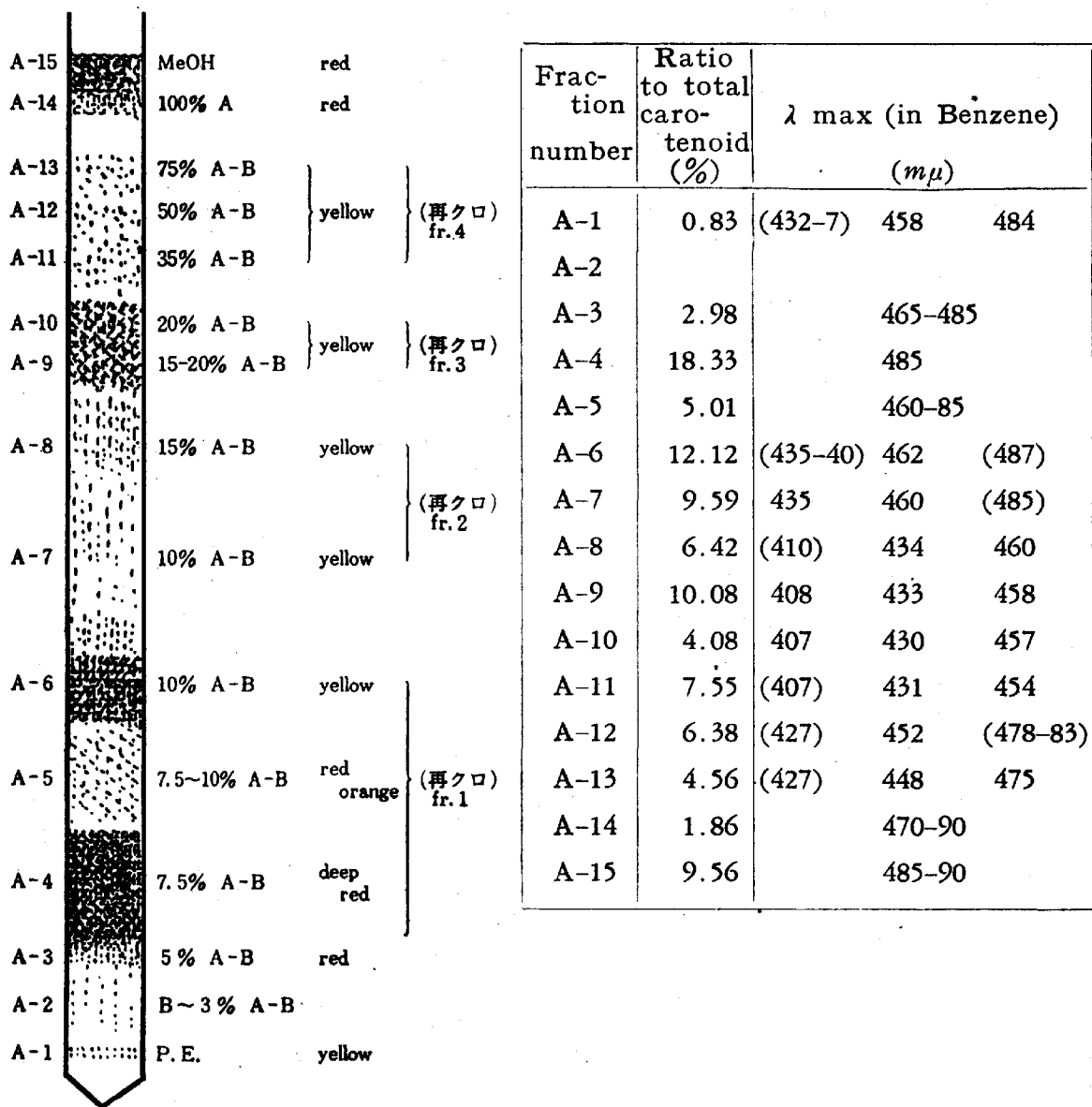
第1図 成熟過程における表皮抽出液の吸光曲線の変化

① 北洋, ② 未熟期, ③ 成熟期, ④ 卵巣, ⑤ 筋肉

り, この中 $453\text{ m}\mu$ の吸収の方が高く, 未熟期ではこの2つの吸収がほぼ同じになり, 成熟期になると $481\text{ m}\mu$ の吸収の方が高くなる。この表皮の全油状での吸光曲線の変化は, 海から河口, 更に河川を溯上しこの間に表皮カロチノイド中の *Astaxanthin* の割合が増えている現象と一致しており, ユウラップ川のサケでは表皮の吸光曲線の変化, すなわち $453\text{ m}\mu$ と $481\text{ m}\mu$ (ベンゼン溶液) の吸収の比較からもある程度その成熟度を判定し得る。なお十勝川産の表皮では, 成熟期でも $481\text{ m}\mu$ の吸収が $453\text{ m}\mu$ より高くなる事はなかった。

2) 河川内未熟期の表皮カロチノイド

未熟期の表皮抽出液を常法通りケン化後, 不ケン化物を活性化したワコーゲル C-200 を吸着剤とするカラムクロストグラフィーを行って, カロチノイドを分離した。その結果を示したのが第2図である。展開液は, 始め石油エーテル (b.p. $40-60^{\circ}\text{C}$) で, 次いでベンゼンで, 更にベンゼン溶液中のアセトン濃度を増して行き, カラム最上端の赤色の色素帯はメタノールで溶出



第2図 未熟期表皮カロチノイドのカラムクロマトグラフィー

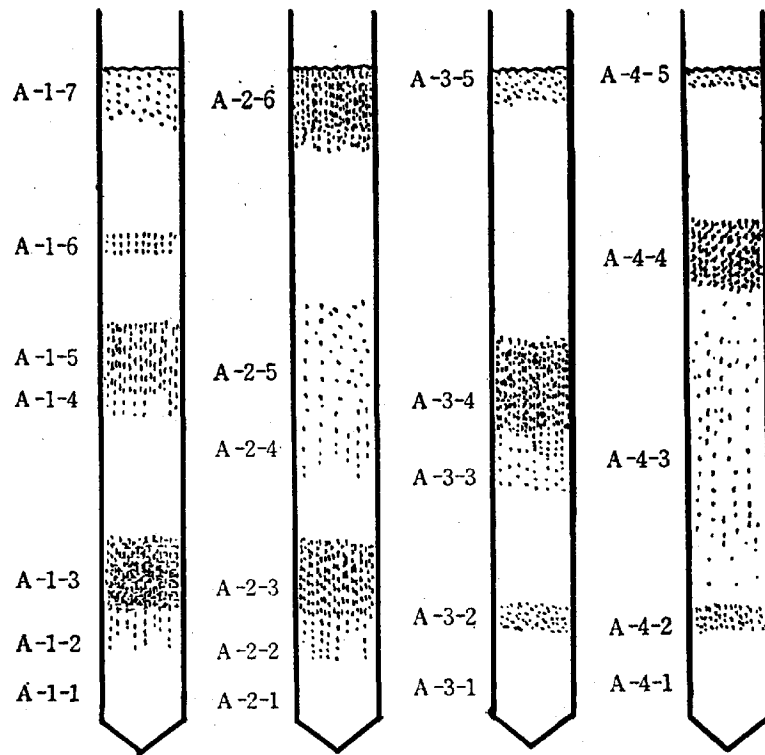
吸着剤：活性化シリカゲル C-200

展開剤：P.E. → Benzene → Acetone/B → A → MeOH

カラム：15×150 mm

した。

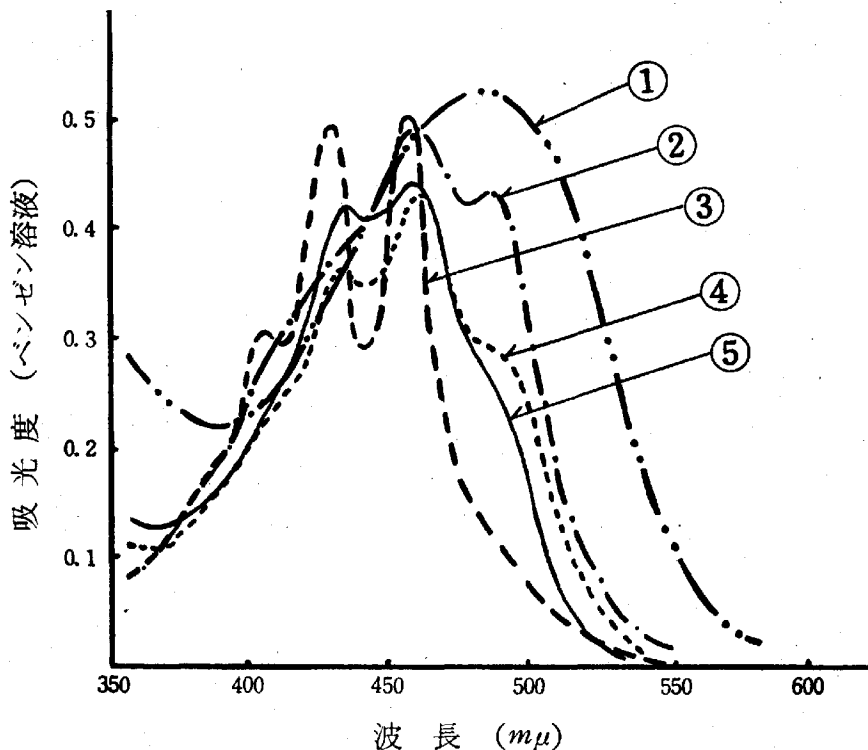
7.5%アセトン/ベンゼンで溶出される濃赤色の fr. A-4, 10% A/B で溶出される黄色の fr. A-6, 20% A/B の同じく黄色の, fr. A-9, および最上端の赤色の fr. A-15 の4区分に大別されたが, 一部に吸光曲線の不鮮明な区分があるので最上端の区分を除いて, 各分画を4つに大別して始めのクロマトと同じ条件で, 再クロマトグラフィーを行った。



Fraction number	Eluents	Color	λ max (in Benzene) ($m\mu$)	Identified as	Ratio to total carotenoid (%)
A-1-1	P.E. ~3% A-B				
-1-2	5% A-B	red	484	Astaxanthin	33.85
-1-3	5% A-B				
-1-4	7.5% A-B	yellow	432-5 459 487	Lutein	24.15
-1-5	7.5% A-B	yellow	408 432 459	Flavoxanthin	9.97
-1-6	10% A-B	yellow	480-90	Astacene	33.02
-1-7	MeOH	red			
A-2-1					
-2-2	5% A-B	yellow	433-6 460 487	Lutein	25.40
-2-3	7.5% A-B				
-2-4	10% A-B	yellow	(410) 431 457 (480-7)		47.40
-2-5	15% A-B				
-2-6	15% A-B	yellow	407 432 460	Flavoxanthin	28.85
A-3-1					
-3-2	15% A-B	yellow	432-7 459 487	Lutein	13.75
-3-3	20% A-B	yellow	407 432 459	Flavoxanthin	70.97
-3-4	20-35% A-B				
-3-5	MeOH	red	485	Astacene	12.35
A-4-1					
-4-2	20% A-B	yellow	433-9 458 486	Lutein	8.00
-4-3	35% A-B	yellow	(406-10) 430 460 485-90		5.14
-4-4	50% A-B	yellow	407 431 459	Flavoxanthin	53.87
-4-5	MeOH	red	485-90	Astacene	33.30

第3図 未熟期表皮カロチノイドの再クロマトグラフィー

その結果を示したのが第3図である。再クロマトによって分離された各分画の中、代表的な分画の吸光曲線を示したのが第4図である。十勝川のサケですでに報告したとおり fr. A-1-3 は *Astaxanthin*, fr. A-1-4 は *Lutein*, fr. A-3-4 は *Flavoxanthin*, 各クロマト最上端の赤色区分は実験操作中に *Astaxanthin* が酸化されて生じた *Astacene* である。なお fr. A-2-4 および fr. A-4-3 等は, *Lutein* と *Flavoxanthin* の混合した区分で, 念のため分離した *Lutein* と *Flavoxanthin* を各種の割合で混合させてその吸光曲線を測定した所, fr. A-2-4, fr. A-4-3 等と同様な吸光曲線が得られた。

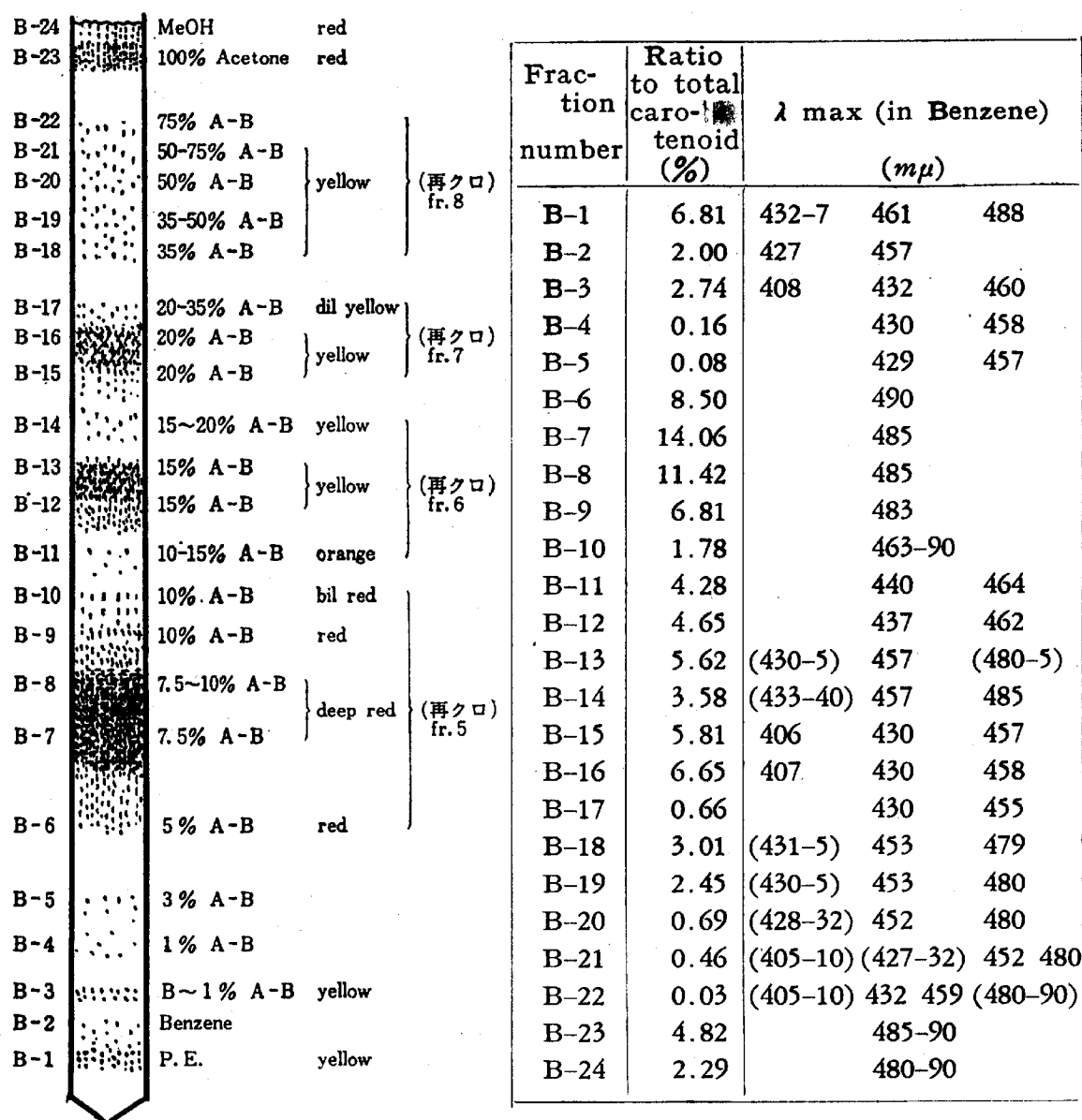


第4図 未熟期表皮クロマト分画中の代表的分画の吸光曲線

- ① — · — · — fr. A-1-3 ② — — — — fr. A-1-4 ③ — — — — fr. A-3-4
 ④ ······· fr. A-2-4 ⑤ ————— fr. A-4-3

3) 河川内成熟期の表皮カロチノイド

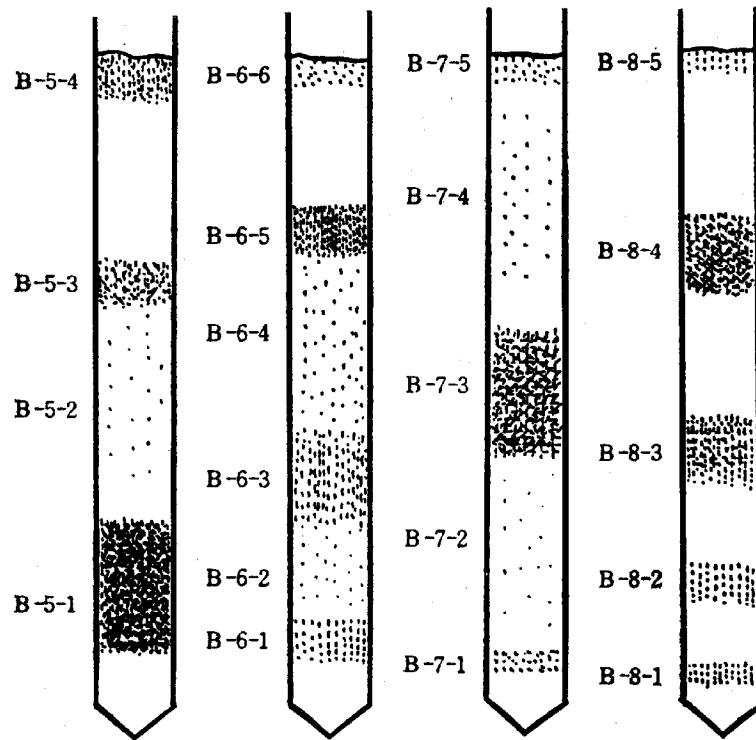
未熟期の表皮と同様に, 成熟期の表皮カロチノイドのクロマトグラフィーを行って, カロチノイドを分離した。その結果を示したのが第5図である。未熟期の表皮と同様に4つの区分に大別し, それぞれ再クロマトを行った。



第5図 成熟期表皮カロチノイドのカラムクロマトグラフィー

吸着剤：活性化ワコーゲル C-200
 展開剤：P.E. → Benzene → Acetone/B → A → MeOH
 カラム：15×150%

その結果を示したのが第6図である。成熟期の表皮カロチノイドは、未熟期に比較して約2.5倍に増えているが、クロマトグラム上の挙動は両期の表皮カロチノイド間では大差なく、成熟期表皮カロチノイド中の *Astaxanthin* の割合が著るしく増加しているのが特徴的であった。なお成熟期の表皮カロチノイド中に *Astaxanthin*, *Lutein*, *Flavoxanthin*, *Astacene* と4種のカロチノイドが検出されたのは、未熟期の表皮と同様であった。



Frac- tion number	Eluents	Color	λ max (in Benzene) ($m\mu$)	Identified as	Ratio to total caro- tenoid (%)
B-5-1	5% A-B	deep red	484	Astaxanthin	76.12
-5-2	10% A-B				
-5-3	15% A-B	yellow	433-6 459 487	Lutein	10.21
-5-4	100% A-MeOH	red	490-4	Astacene	13.66
B-6-1	5% A-B	red	485	Astaxanthin	18.46
-6-2					
-6-3	10% A-B	yellow	433-7 459 487	Lutein	45.86
-6-4	15% A-B	yellow	406-10 432 458 480-5		17.16
-6-5	20% A-B	yellow	406 432 459	Flavoxanthin	15.50
-6-6	100% A-MeOH	red	485-95	Astacene	3.05
B-7-1	10% A-B	yellow	433-8 459 487	Lutein	7.99
-7-2					
-7-3	15% A-B	yellow	407 432 459	Flavoxanthin	86.41
-7-4	35-50% A-B	yellow	405-10 427-31 452 480		5.22
-7-5	MeOH	red	485-90	Astacene	2.88
B-8-1	15% A-B	yellow	406 430 458	Flavoxanthin	4.21
-8-2	20% A-B	yellow	428-32 457 486	Lutein	21.46
-8-3	35% A-B	yellow	407 429 457	Flavoxanthin	30.72
-8-4	50% A-B	yellow	427-32 456 475-85	Lutein	38.69
-8-5	100% A-MeOH	red	470-90	Astacene	5.16

第6図 成熟期表皮カロチノイドの再クロマトグラフィー

第2表 成熟過程における表皮カロチノイド組成の変化 (%)

	河 口	河川内 未熟期	河川内 成熟期	北 洋	河川内 成熟期/未熟期	成熟期/北洋
Astaxanthin 系	20±4	45±5 (40±5)*	62±5 (56±5)*	5±2	3.5倍	182.4倍
Lutein (Lutein 系)	37±5	25±5 (60±5)*	17±5 (44±5)*	35±5	1.7	7.6
Flavoxanthin	43±5	30±5	21±5	60±5	1.8	5.5
Total Carotenoids (mg%)	0.338 (0.217)*	0.586 (0.440)*	1.471 (1.394)*	0.093	2.5	15.8

* 十勝川水系の試料

河川内成熟過程における表皮カロチノイド組成の変化を示したのが第2表である。北洋産の表皮では、筋肉や卵巣に比べてカロチノイド含量ははるかに少なく、またその少ない表皮の中で *Astaxanthin* の割合が非常に少なく5%前後含まれているのみであったのが、産卵期に近づくにつれてその割合を増し河川に入ってからその割合を増し続け、未熟期から成熟期にかけて表皮全カロチノイド中に占める割合は約45%から62%に増加し、表皮中の *Astaxanthin* 含量はこの間約3.5倍に増加したが、北洋産表皮中の *Astaxanthin* と比べると約182倍に増加している。

一方黄色の *Lutein* 系は(量的にはさ程多くはないが)北洋産表皮中の95%前後を占め圧倒的な成分であったが、産卵期に近づくにつれ *Astaxanthin* の増加とは逆にその存在比では、減少の傾向が認められた。なおこの間、表皮全体のカロチノイド含量は増加しており、その存在比では減少の傾向にあったが、*Lutein* 系の含量も約1.7倍程増加している。

これらの傾向は、先に報告した十勝川産のでも同様であったが、河川内成熟過程で表皮中の *Astaxanthin* 含量が十勝川産よりユウラップ川産の方が多くなる傾向が認められたが、両者の河口試料の筋肉中の含量は逆の関係にあり、しかも表皮カロチノイドが筋肉カロチノイドの転移によるとすれば、成熟度指数などに関連づけて尚検討を要する結果である。

考 察

通常魚類のカロチノイドは、餌料のそれによって量的には影響されるが質的にはあまり影響されないとされているが、産卵期⁴⁾のサケでは直接餌料の影響とは無関係に、溯上する河川間でカロチノイドの量的な差異は若干認められたが、質的な差異は認められなかった。

未熟期の筋肉で、十勝川産よりユウラップ川産のカロチノイド量が少なく、逆に表皮のカロチノイド量が多く、また表皮中の *Astaxanthin* の割合も多いのは、ユウラップ川が十勝川に比べて河川の長さが短かく、河川的位置もかなり南にあり（河川を溯上する時期も約1ヶ月程遅れている）河川に入る前はかなり種族保存のためのエネルギーを使い、その結果として成熟が進むので生じた現象と思われる。この事は、河口試料の表皮中のカロチノイド量の差からも推定できる。

棲息環境が異なるにもかかわらず、両河川間の試料でカロチノイドの質は当然とも思われるが、量において若干の差が認められたにすぎないのは、近年来北海道の主な河川でサケ・マスの人工ふ化事業がさかんになされるようになり、技術の改良と共にふ化卵数が著るしく増加し、これにつれて漁獲量の多い海域あるいは河川から少ない河川へと卵の輸送がなされ、その結果として河川間の卵の混合が生じそれにつれて河川間の特長が次第に少なくなっていくためであろうと思われる。

北洋の試料からは、肝臓および幽門垂から若干の *Astaxanthin* が検出されたが、産卵期の試料からは両河川共検出されなかった。これは北洋ではさかんな採餌がなされ、カロチノイドの筋肉への蓄積が行なわれており、一方産卵期には採餌をせず、むしろ種保存エネルギーを使い果たしてしまおうとするためであろう。

この事と魚類カロチノイドの体内代謝で通常行なわれている *Lutein* 系 → *Astaxanthin* 系^{5), 6)} という酸化とは逆の反応、すなわち表皮中の *Astaxanthin* の増加程ではないが、採餌なしで *Lutein* 系の量も増加している点を考慮す

ると、産卵溯上前主として筋肉中に蓄積されていた *Astaxanthin* を中心とした、*Astaxanthin* → *Lutein* 系といった還元反応もこの時期のサケでは推定し得る事になり、これら一連のカロチノイドの挙動と種保存エネルギーの著るしい消費との間には、何か関連性があると思われるが尚検討を要する課題である。

要 約

棲息環境を異にする産卵期のサケのカロチノイドの挙動を比較検討するために、ユウラップ川に溯上するサケを試料として十勝川のと比較し、次の結果を得た。

1) 未熟期の筋肉カロチノイド量はユウラップ川のが雌雄共に少なく、表皮では多かった。

2) 成熟期では雌雄共筋肉・表皮のいずれもユウラップ川のが多かった。

3) 産卵期の筋肉・表皮のカロチノイド量は、両河川共雄が雌より多かった。

4) ユウラップ川の表皮抽出液の吸光曲線は、成熟の進行につれて変化した。

5) 産卵期の表皮カロチノイドから、両河川共 *Astaxanthin*, *Lutein*, *Flavoxanthin*, *Astacene* の4種のカロチノイドが検出された。

6) ユウラップ川の未熟期の表皮カロチノイドは、*Lutein* 系55%、*Astaxanthin* 系45%で成熟期には38%と62%となり、十勝川のより *Astaxanthin* 系の割合が多かった。

本研究を行なうに当り、実験材料の白サケを提供していただきました御教示をいただいた北海道サケ・マスふ化場場長西野一彦氏に深謝いたします。また北洋産の試料を提供していただいた北海道大学水産学部島崎健二氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 西野一彦・斎藤 要・北原 直：北海道さけ・ますふ化場研究報告, **23**, 15 (1969)
- 2) 北原 直・斎藤 要：本誌, **48**, 69 (1974)
- 3) 北原 直・斎藤 要：本誌, **50**, 81 (1975)
- 4) 平尾秀一：日水誌, **33**, 866 (1967)
- 5) 秦 正弘・秦 満夫：同誌, **38**, 331 (1972)
- 6) 片山輝久外：同誌, **40**, 97 (1974)