

## ツノナシオキアミエキス中のイサキに対する 摂餌刺激物質の検索

池田 至\*・木村真敏\*・野田幹雄\*・柿元 皓\*・山元憲一\*

Feeding Stimulants in the Krill Extract for Threeline Grunt

*Parapristipoma trilineatum*

Itaru Ikeda\*, Masatoshi Kimura\*, Mikio Noda\*, Hiroshi Kakimoto\*,  
and Ken-ichi Yamamoto\*

The present investigation was conducted to determine the feeding stimulants for threeline grunt *Parapristipoma trilineatum* using the synthetic extract of krill. In a series of omission tests using the synthetic extract, the amino acids group among the three major groups (amino acids, nucleotides and other bases) was found to be the most stimulatory. Furthermore, alanine, serine, threonine, tryptophan and valine among the amino acids group were highly stimulatory, but their feeding activity were interfered with by the presence of lysine, arginine or histidine.

### 1 緒 言

魚類の摂餌行動に関与する化学物質のうち、摂餌の誘起、継続、呑み込みという一連の行動を促す性質を持つ摂餌刺激物質は、いくつかの例外を除けば餌料生物や釣り餌中のエキス成分の中に見いだされており、これまでも多くの報告がある<sup>1)</sup>。

イサキ *Parapristipoma trilineatum* は、沿岸回遊性の魚種の一つで、生息環境内に存在する生物を餌料として幅広く利用し、幼魚期には、橈脚類、アミ類、イワシ類の仔魚などを、成長するとイワシ類やマアジなどの魚類、ア

ミ類および端脚類などを捕食している。このことから、イサキの食性は基本的には魚類と甲殻類を主とした幅広い肉食性であるとされている<sup>2, 3)</sup>。したがって、これらの餌料生物のエキス中にイサキの摂餌刺激物質が存在するものと考えられる。

本報では、それらの餌料生物のうちエキス組成がすでに知られているツノナシオキアミ *Euphausia pacifica* を選び、その合成エキスを用いたオミションテストによりイサキの摂餌刺激物質を検索した。

水産大学校研究業績 第1587号, 1997年12月12日受付.

Contribution from National Fisheries University, No.1587. Received Dec. 12, 1997.

\* 水産大学校生物生産学科資源環境学講座 (Laboratory of Environmental Biology, Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University).

Table 1. Composition of synthetic extract of krill whole body (mg/95mℓ)

Amino acids (A in abbreviation)		Nucleotides (N in abbreviation)	
L-Alanine	171.0	Hypoxanthine	57.4
L-Arginine · HCl	241.9	Inosine	137.0
L-Aspartic acid · Na · H <sub>2</sub> O	37.5	IMP	2.1
L-Glutamic acid	7.4	AMP · Na <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	4.8
Glycine	328.0	ADP · Na <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	5.9
L-Histidine · HCl · H <sub>2</sub> O	31.5	ATP · Na <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O	7.1
L-Isoleucine	50.3		
L-Leucine	52.5		
L-Lysine · HCl	203.7	Other bases (O in abbreviation)	
L-Methionine	39.8	Betaine · HCl	524.5
L-Phenylalanine	46.8	NH <sub>4</sub> Cl	26.8
L-Proline	261.0	TMA · HCl	9.5
L-Serine	103.0	TMAO · 2H <sub>2</sub> O	492.7
Taurine	772.0		
L-Threonine	59.6		
L-Tryptophan	27.2		
L-Tyrosine	39.3	pH	6.5
L-Valine	68.3		

The content of each constituent corresponds to that in extract of 100 g of krill whole body (Hosokawa *et al.*, 1978).

## 2 実験方法

### 2.1 供試魚および試験水槽

冷凍イカナゴで約1カ月間予備飼育した平均体重 12.7~37.8 g のイサキ幼魚を、10尾ずつ FRP製角形水槽 (90 × 55 × 45 cm) に収容した。各試験水槽には海水を毎分 2 ℓ の割合で注入し、絶えずエアレーションを行った。試験期間中の海水の温度および比重は、それぞれ 13.8~29.8°C および 1.0185~1.0268 g/cm<sup>3</sup>であった。

### 2.2 合成エキスおよび試験飼料

本研究に用いた合成エキスの組成をTable 1 に示した。この合成エキスは、Hosokawaら<sup>4)</sup>が報告したツノナシオキアミエキスの分析結果に基づいて、各構成成分の標品を混合して調製したもので、その95mℓはツノナシオキアミ 100 g のエキスに相当する。なお、この全合成エキスならびに各エキス成分の試験液は、いずれも 1 N 塩酸あるいは 1 N 水酸化ナトリウム溶液で pH を 6.5 に調製して用いた。また全合成エキスの有効性を調べる実験では、ツノナシオキアミ 100 g から水抽出により天然エキス 95 mℓ を調製

Table 2. Composition of test diet

Vitamin-free casein	69 g
Pollack liver oil	14
White dextrin	3
Mineral mixture *	8
Vitamin mixture *	3
Carboxymethyl cellulose · Na	3
	100
25% NaOH solution	5 mℓ
Test solution	95
Total diet	200 g

\* Prescription of Kochi Univ..

し比較のために用いた。

試験飼料の配合組成は Table 2 に示すとおりである。すなわち、カゼインをタンパク源とし各種の飼料素材を配合して基本飼料を調製した。なお、ミネラルおよびビタミン混合物には、高知大学処方<sup>5)</sup>を用いた。この基本飼料 100 g に 25% 水酸化ナトリウム溶液 5 mℓ を添加して pH を 6.5 に調製し、試験液 95 mℓ を加えてよく練り合わせたのち、

造粒機で直径2～3mmのモイストペレットに成型して試験飼料とした。エキス無添加飼料は、試験液のかわりに脱イオン水95mlを加えて調製した。なお、調製した試験飼料は、ただちに-20℃で冷凍保存し、試験の際に必要な量を解凍して使用した。

### 2.3 摂餌刺激活性の判定法

供試魚に試験飼料を1日2回(10時と16時)飽食給餌して7日間飼育し、総摂餌量を測定した。そして、下記の式により体重100g当たりの摂餌量を求め、さらに対照飼料を与えたときの摂餌量を100とする相対摂餌量を求めて試験飼料の摂餌刺激活性(以下、活性と略記)とした。なお、飽食と判断した基準は、水槽の底に飼料が3～5粒残り(この粒数の重量は無視して摂餌量には加算しなかった)、2分経過しても摂餌しない場合とした。

$$\frac{F}{\frac{W_1+W_2}{2} \cdot \frac{N_1+N_2}{2}} \times 100$$

F : 7日間の総摂餌量 (g)

W<sub>1</sub> : 開始時の平均体重 (g)

W<sub>2</sub> : 終了時の平均体重 (g)

N<sub>1</sub> : 開始時の個体数

N<sub>2</sub> : 終了時の個体数

## 3 結果

### 3.1 合成エキスの摂餌刺激活性

最初に合成エキスの有効性を調べるために、ツノナシオキアミの天然エキスおよび合成エキスの活性をエキス無添加飼料の活性と比較し、その結果をTable 3に示した。

天然エキスの活性を100%としたとき、無添加飼料の活性は12%と低い値しか認められなかった。これに対し合成

Table 3. Feeding stimulant activity of synthetic extract of krill whole body

Extract	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
K·NE <sup>*1</sup>	27.4	17.0	100
K·SE <sup>*2</sup>	34.0	20.9	123
None <sup>*3</sup>	3.1	2.1	12

\*1 Natural extract of krill.

\*2 Synthetic extract of krill.

\*3 Diet without extract.

エキスの活性は123%で、天然エキスの活性よりも高い値を示した。これにより、ツノナシオキアミの合成エキスはイサキの摂餌を強く刺激することが明らかとなった。

### 3.2 三大成分の摂餌刺激活性

次に全合成エキス中の有効成分を知るため、エキス中の三大成分であるアミノ酸群、核酸関連化合物群およびその他の塩基群の活性を、単独群添加試験とオミションテストにより調べ、その結果をTable 4に示した。

単独添加試験では、全合成エキスの活性を100%とすると、核酸関連化合物群の活性は26%と低い値を示し、その他の塩基群の活性は1%とほとんど活性が認められなかったが、アミノ酸群の活性は116%と高い値を示した。

オミションテストでは、全合成エキスから核酸関連化合物群あるいはその他の塩基群を除いて添加した場合には、それぞれ活性が全合成エキスの110%および77%を示したのに対し、アミノ酸群を除いた場合には、活性が6%と著しく低下した。

以上の結果より、全合成エキスの活性は主としてアミノ酸群の活性に基づくことが明らかとなった。

Table 4. Feeding stimulant activity of the groups of amino acids(A), Nucleotides (N), and other bases (O) in synthetic extract of krill whole body

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
K·SE <sup>*1</sup>	24.6	15.4	100
A	29.1	17.9	116
N	6.1	4.0	26
O	0.1	0.1	1
K·SE-A <sup>*2</sup>	1.5	1.0	6
K·SE-N <sup>*2</sup>	27.4	17.0	110
K·SE-O <sup>*2</sup>	18.6	11.9	77

\*1 Synthetic extract of krill.

\*2 Synthetic extract without amino acids (nucleotides, other bases).  
Compounds were added to give the contents of krill extract per 100g of dry diet.

### 3.3 各種アミノ酸の摂餌刺激活性

アミノ酸群に高い活性が認められたので、まずアミノ酸

Table 5. Feeding stimulant activity of three amino acid groups in synthetic extract of krill whole body

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
A <sup>*1</sup>	25.3	15.4	100
A <sub>1</sub> (Neutral amino acids) <sup>*2</sup>	24.9	15.2	99
A <sub>2</sub> (Acidic amino acids) <sup>*3</sup>	13.5	8.4	55
A <sub>3</sub> (Basic amino acids) <sup>*4</sup>	0	0	0
A <sup>*1</sup>	17.7	9.9	100
A-A <sub>1</sub> <sup>*5</sup>	5.3	3.1	31
A-A <sub>2</sub> <sup>*5</sup>	19.2	10.6	107
A-A <sub>3</sub> <sup>*5</sup>	22.4	12.3	124

\*1 Amino acids.

\*2 Mixture of L-Alanine, Glycine, L-Isoleucine, L-Leucine, L-Methionine, L-Phenylalanine, L-Proline, L-Serine, Taurine, L-Threonine, L-Tryptophan, L-Tyrosine, and L-Valine.

\*3 Mixture of L-Aspartic acid and L-Glutamic acid.

\*4 Mixture of L-Arginine, L-Histidine, and L-Lysine.

\*5 Each group (neutral, acidic, and basic amino acids) was omitted from total amino acids.

Compounds were added to give the contents of krill extract per 100 g of dry diet.

群の構成成分をアラニン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、タウリン、トレオニン、トリプトファン、チロシンおよびバリンからなる中性アミノ酸、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる酸性アミノ酸、そしてアルギニン、ヒスチジンおよびリシンからなる塩基性アミノ酸の3グループに分け、各グループの活性を調べ、その結果をTable 5に示した。

アミノ酸群の活性を100%としたとき、酸性アミノ酸グループの活性は55%とアミノ酸群の約半分の活性しか示さず、塩基性アミノ酸グループには全く活性が認められなかった。これに対し、中性アミノ酸グループの活性は99%とアミノ酸群のそれに匹敵する高い活性を示した。

アミノ酸群から中性アミノ酸グループを除いて添加した場合には、活性は31%とアミノ酸群の半分以下に低下したが、酸性アミノ酸グループを除いた場合の活性は107%で、アミノ酸群とほぼ同等の値を示した。しかし、塩基性アミノ酸グループを除いた場合には、活性は124%とアミノ酸群よりも高い値を示した。

以上の結果より、アミノ酸群の活性は、中性アミノ酸グループの活性に基づくことが明らかとなった。また、塩基

性アミノ酸グループは、アミノ酸群の活性を低下させる作用を有することが示唆された。

次に、ツノナシオキアミ100gのエキス中にタウリンとグリシンがそれぞれ772mg (6.2mmol) および328mg (4.4mmol) と比較的高い濃度で含まれていることに基づいて (Table 1), 中性アミノ酸グループを構成する13種のアミノ酸をそれぞれ基本飼料100gに5.0mmolずつ単独添加し、それぞれの活性を調べた。その結果はTable 6に示すとおり、最も高い活性が認められたのはトレオニンで、アミノ酸群の110%に当たる活性を示した。次いでセリン、トリプトファン、アラニンおよびバリンの順に高い活性が認められ、それらの活性はそれぞれアミノ酸群の85%、83%、79%および78%を示した。これに対して他の中性アミノ酸の活性は62~25%でアミノ酸群の活性の約半分もしくはそれ以下の値を示した。

以上の結果より、ツノナシオキアミ合成エキスのアミノ酸群中で、イサキに対して高い摂餌刺激活性を示す化合物は、トレオニン、セリン、トリプトファン、アラニンおよびバリンであり、全合成エキスの活性は主としてこれらの活性に基づくことが明らかとなった。

Table 6. Feeding stimulant activity of neutral amino acids at a concentration of 5 mmol/100 g dry diet

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
A *	64.5	16.5	100
Threonine	71.5	18.2	110
Serine	54.7	14.1	85
Alanine	50.2	13.0	79
Valine	49.4	12.8	78
Leucine	39.0	10.2	62
Glycine	34.8	9.1	55
Isoleucine	19.5	5.2	32
A *	61.2	20.9	100
Tryptophan	50.3	17.4	83
Proline	36.3	12.8	61
Methionine	34.7	12.1	58
Tyrosine	27.7	9.8	47
Phenylalanine	26.6	9.5	45
Taurine	14.6	5.3	25

\* Amino acids.

### 3.4 塩基性アミノ酸の摂餌阻害作用

Table 5の結果より、塩基性アミノ酸グループにはアミノ酸群の活性を低下させる作用のあることが示唆されたので、まず、このグループを構成しているアルギニン、ヒスチジンおよびリシンをそれぞれ基本飼料100gに1.0mmolあるいは5.0mmolずつ単独添加し、それらの活性を調べた。その結果はTable 7に示すとおり、ヒスチジンを1.0mmolあるいは5.0mmol添加した場合の活性は、それぞれ50%および61%とアミノ酸群の活性の約半分の値を示した。またアルギニンの活性は27%および23%、リシンの活性は28%および20%で、いずれの場合もエキス無添加の場合の活性とはほぼ同等かそれ以下の値を示した。

次に、塩基性アミノ酸グループあるいは同グループを構成する3種のアミノ酸のいずれかを、ツノナシオキアミのエキス中濃度 (Table 1) でトレオニン5mmolと合わせて基本飼料100gに添加し、その活性の変化を調べた。その結果はTable 8から明らかなように、トレオニンと上記のいずれかを併用添加しても、トレオニン単独添加の場合よりも活性が低下した。

以上の結果より、ツノナシオキアミ合成エキス中の塩基性アミノ酸3種はいずれもトレオニンの活性を低下させ、

Table 7. Feeding stimulant activity of basic amino acids at a concentration of 1 and 5 mmol/100 g dry diet

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
A * <sup>1</sup>	17.9	13.7	100
Arginine (1mmol)	4.6	3.7	27
Arginine (5mmol)	4.0	3.2	23
Histidine (1mmol)	8.1	6.3	50
Histidine (5mmol)	10.6	8.3	61
Lysine (1mmol)	4.8	3.9	28
Lysine (5mmol)	3.5	2.8	20
None * <sup>2</sup>	5.1	4.1	30

\*<sup>1</sup> Amino acids.\*<sup>2</sup> Diet without extract.

Table 8. Feeding deterrent activity of basic amino acids in synthetic extract of krill whole body

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
Threonine * <sup>1</sup>	64.3	16.6	100
Threonine + A <sub>3</sub> * <sup>2</sup>	45.0	11.8	71
Threonine + Arginine	53.1	13.8	83
Threonine + Histidine	52.0	13.5	81
Threonine + Lysine	44.1	11.5	69

\*<sup>1</sup> 5mmol/100g dry diet\*<sup>2</sup> Arginine + Histidine + Lysine.

Three amino acids (Arginine, Histidine, and Lysine) were added to give the contents of krill extract per 100 g of dry diet.

特にリシンの阻害作用が著しいことが明らかとなった。

## 4 考 察

本試験結果より、ツノナシオキアミのエキス中のトレオニン、セリン、トリプトファン、アラニンおよびバリンはイサキに対して高い摂餌刺激活性を示すことが明らかとなった。これまでに、餌料生物のエキス中に多量に存在するアミノ酸は摂餌刺激活性を示し、特に中性アミノ酸であるアラニン、グリシン、プロリンおよびセリンは比較的多くの魚種に対して<sup>6,7)</sup>、トレオニンは Silver side (トウゴロウイワシ科の一種<sup>8)</sup>およびイシダイ<sup>\*2)</sup>に対して、トリブ

\*2 高岡 治・滝井健二・中村元二・熊井英水：平成4年度日本水産学会秋季大会講演要旨集，P. 52 (1992)。

トファンはマダイ<sup>9)</sup>およびマアジ<sup>10)</sup>に対して、バリンはマダイ<sup>9)</sup>に対して摂餌刺激活性の高いことがそれぞれ報告されている。

一方、イサキに対して、塩基性アミノ酸はそれ自身が低い摂餌刺激活性を示すばかりでなく、共存するトレオニンの活性を低下させ、特にリシンの阻害作用の著しいことが明らかとなった。しかし、魚類に対する摂餌阻害活性を示すアミノ酸の報告は少なく、特に塩基性アミノ酸の阻害作用は、ニジマス<sup>11)</sup>に対するアルギニンとトラフグ<sup>12)</sup>に対するリシンおよびヒスチジンを見るだけである。

海産魚類に対して摂餌刺激活性を示したアミノ酸に共通性があることは、これらの魚類がアミノ酸をエキス成分として豊富に含む甲殻類を好んで摂餌することに関連するとされている<sup>7)</sup>。イサキで検索された上記のアミノ酸が、他の魚種で摂餌刺激活性あるいは摂餌阻害活性を示したアミノ酸と類似したことは、それらの魚種とイサキの食性が類似していることに由来するものと考えられる。

魚類の味蕾は、外表面、口唇および口腔前部に存在する顔面神経、咽頭の食道に近い部分に存在する迷走神経、そして中間の部分に存在する舌咽神経の三つの味覚神経によって支配されている<sup>13)</sup>。

Ishida and Hidaka<sup>14)</sup>は、顔面神経口蓋枝の電気応答を調べた結果、イサキの味覚神経は各種のアミノ酸に広く応答し、特に、プロリン、グリシン、トリプトファン、アラニン、セリンなどに対して高い感受性を示すことを報告している。ここにあげられているトリプトファン、アラニン、セリンは、本試験の結果と一致したが、その他については異なった。特に、摂餌刺激活性が高かったトレオニンとバリンは低い味覚応答しか示さず、逆に、プロリンとグリシンのように高い味覚応答を示しても、さほど高い摂餌刺激活性を示さないアミノ酸もみられた。以上のように、イサキにおけるアミノ酸の味覚刺激と摂餌刺激活性との関

係には若干の差異がみられるが、このことと食性、行動などの生態との間にどのような関係があるのか、現在のところ不明である。

## 文 献

- 1) 日高磐夫：魚介類の摂餌刺激物質（原田勝彦編），恒星社厚生閣，東京，1994，pp.34-46.
- 2) 木村清志：日水誌，47，1551-1558（1981）.
- 3) 松宮義晴・高橋勝宏：西水研研報，59，23-32（1983）.
- 4) H.Hosokawa, N.Ueda, and M.Ikeda：Rep. Fish. Lab., Kochi Univ., No.3, 101-105（1978）.
- 5) 竹田正彦：養魚飼料（米康夫編），恒星社厚生閣，東京，1985，pp.111-122.
- 6) 竹田正彦：遺伝，34，45-51（1980）.
- 7) 滝井健二：魚介類の摂餌刺激物質（原田勝彦編），恒星社厚生閣，東京，1994，pp.55-65.
- 8) A.M.Sutterlin：J. Fish. Res Board Can., 32, 729-738（1975）.
- 9) Y.Gou and T.Tamura：Comp. Biochem. Physiol., 66C 225-235（1980）.
- 10) 池田 至・細川秀毅・示野貞夫・竹田正彦：日水誌，54，235-238（1988）.
- 11) J.W.Adron and A.M.Mackie：J. Fish Biol., 12, 303-310（1978）.
- 12) O.Takaoka, K.Takii, M.Nakamura, H.Kumai, and M.Takeda：Fisheries Science, 61, 833-836（1995）.
- 13) 日高磐夫：魚類生理学（板沢靖男・羽生功編），恒星社厚生閣，東京，1991，pp.489-518.
- 14) Y.Ishida and I.Hidaka：Nippon Suisan Gakkaishi, 53, 1391-1398（1978）.