

## マアジ筋肉エキス中のイサキに対する摂餌刺激物質の検討

木村真敏\*<sup>1</sup>・池田 至\*<sup>2</sup>・山元憲一\*<sup>1</sup>・柿元 皓\*<sup>1</sup>Investigation of Feeding Stimulants for the Threeline Grunt,  
*Parapristipoma trilineatum* in Jack Mackerel,  
*Trachurus japonicus* Muscle ExtractMasatoshi Kimura, Itaru Ikeda, Ken-ichi Yamamoto,  
and Hiroshi Kakimoto

Feeding stimulants for the threeline grunt *Parapristipoma trilineatum* were investigated by the omission test using the synthetic extract of muscle of jack mackerel *Trachurus japonicus*. The fish were fed on a purified casein basal diet added to the test solution for 7 days. The stimulant activity was measured by the amount of diet eaten.

The complete synthetic extract of jack mackerel muscle possessed a remarkable feeding stimulant activity. Subdivision of the synthetic extract showed that amino acids, nucleotides and the group of amino acids plus nucleotides were highly active, while other bases and groups of amino acids plus other bases and nucleotides plus other bases were inactive. Therefore, the feeding stimulants of synthetic extract of jack mackerel muscle for the threeline grunt was considered to contain amino acids and nucleotides.

## 1 緒 言

一般に、視界の狭い水中に生活する魚類では、化学刺激が、その索餌、繁殖、移動などの行動に大きく関与しているといわれている。とくに、餌料生物中に含まれるエキス成分が、魚類の摂餌行動を誘起、促進させる摂餌刺激物質として作用することが知られている<sup>1)</sup>。したがって、摂餌行動と摂餌刺激物質による化学刺激との関係を明らかにすることは、魚類の行動を物質レベルで理解する上で重要で

あると考えられる。一方、このことは魚類養殖における飼料効率の向上および飼料原料の多様化を図り、ひいては飼料の散逸による海洋汚染を削減するために配合飼料を改良する場合の基礎資料となると考えられる。

現在までに、餌料生物のエキス成分中に普遍的かつ高濃度に存在する遊離アミノ酸、核酸関連化合物およびグリシンペプチンなどが、数種の魚類において摂餌刺激物質として同定されている<sup>1,2)</sup>。しかし、我が国の水産上重要な魚種の一つであるイサキ *Parapristipoma trilineatum* の摂餌刺激

水産大学校研究業績 第1482号, 1994年7月28日受付.

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No.1482. Received July 28,1994.

\*<sup>1</sup> 水産大学校増殖学科水産増殖学第二講座 (Laboratory of Aquatic Physiology and Ethology, Department of Biology and Aquaculture, Shimonoseki University of Fisheries).

\*<sup>2</sup> 水産大学校増殖学科水産環境学講座 (Laboratory of Environmental Science, Department of Biology and Aquaculture, Shimonoseki University of Fisheries).

物質に関する研究はなされていない。

イサキは幼魚期には、橈脚類、アミ類、ヤムシ類、イワシ類の仔魚などを、成長すると、イワシ類、マアジなどの魚類、橈脚類、アミ類および端脚類などを主に捕食しており、基本的には魚類と甲殻類を好んで捕食することが知られている<sup>3,4)</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。

そこで本研究では、それらの餌料生物から、エキス成分組成が既知であるマアジ *Trachurus japonicus* の筋肉を選び、その合成エキスを調製し、これを添加したカゼイン飼料をイサキに飽食給与して、いわゆる“オミッショントテスト”を行い、マアジ筋肉エキス中に含まれるイサキの摂餌刺激物質を検討した。

## 2 実験方法

### 2.1 供試魚および実験水槽

供試魚には、体重9.7~10.4 g のイサキ260個体を用いた。イサキは1993年10月6日に吉見湾で釣獲したもので、約1カ月間冷凍のツノナシオキアミ *Euphausia pacifica* を1日2回(10時と16時)投与して予備飼育し、実験前日は無給餌とした。また、供試魚を再度実験に使用することは極力避けたが、使用する場合には冷凍ツノナシオキアミを投与

して1カ月以上再飼育したのち実験に供した。実験は、215ℓのポリプロピレン角型水槽(80×56×48cm)5基にイサキを20個体ずつ入れ、1日慣らした後におこなった。各実験水槽には、下層水を排水する為の排水口、エアレーションおよび水温を調節する為のヒーターを設置し、0.8ℓ/minの海水を注水した。実験期間中の水温および比重は、それぞれ15.0~18.1℃および1.0252~1.0266であった。

### 2.2 試験液および試験飼料

マアジ筋肉の合成エキスの組成を Table 1 に示した。これは Konosu ら<sup>5)</sup>によるマアジの筋肉エキス分析結果に基づいて、各構成成分の標品を脱イオン水に溶かして調製したもので、この試験液93mlはマアジ筋肉100gに相当する。また、合成エキスの有効性を調べるために、マアジ筋肉100gから水抽出によって作製した天然エキス93mlを比較として用いた。さらに、合成エキスの組成を3群(アミノ酸、核酸関連化合物、その他の塩基群)に分け、そのうちの1群、あるいは2群を脱イオン水に溶かした試験液93mlをそれぞれ調製した。なお、いずれの試験液も、塩酸あるいは水酸化ナトリウム溶液でpH6.5に調整した。

基本飼料は、カゼインをタンパク源とし、精製スケトウダラ肝油、ホワイトデキストリン、CMCなどの精製素材を配合して作製した(Table 2)。なお、ミネラルおよびビタ

Table 1. Composition of synthetic extracts of muscle of jack mackerel (mg/93 ml)

Amino acids (A)		Nucleotides (N)	
L-Lysin·HCl	67.5	Inosine	20
L-Arginine·HCl	3	IMP·Na <sub>2</sub>	307.9
L-Histidine·HCl·H <sub>2</sub> O	356.9	AMP·Na <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	4.3
L-Ornithine·HCl	6.4	ADP·Na <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	11.9
L-Glutamic acid	13	ATP·Na <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	16.7
L-Aspartic acid·Na·H <sub>2</sub> O	1.3		
L-Alanine	21		
Glycine	10		
L-Valine	6		
L-Leucine	5	Other bases (O)	
L-Isoleucine	1	TMAO·2H <sub>2</sub> O	489.8
L-Serine	3	Creatine·H <sub>2</sub> O	555.1
L-Threonine	15	Creatinine	11
L-Methionine	1	NH <sub>4</sub> Cl	40.8
Taurine	75		
L-Phenylalanine	1		
L-Tyrosine	1		
L-Proline	6		
DL-α-Amino-n-butyric acid	1	pH	6.5

The concentration of each constituent corresponds to that in extract of 100 g muscle of jack mackerel<sup>5)</sup>.

Table 2. Composition of test diet

Vitamin-free casein	69 g
Pollack liver oil	14
White dextrin	3
Mineral mixture <sup>6)</sup>	8
Vitamin mixture <sup>6)</sup>	3
Carboxymethyl cellulose·Na	3
	100
25%NaOH solution	7ml
Test solution	93
Total diet as fed	200 g

ミン混合物は、高知大学処方<sup>6)</sup>に準じて調合した。この基本飼料100gに25%水酸化ナトリウム溶液7mlを添加してpH6.5に調整し、試験液93ml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。試験液を加えない飼料(以後、無添加飼料と略記)は、基本飼料に脱イオン水93mlを加えて調製した。なお、全ての飼料は、調製したのち、ただちに-20℃で冷凍保存し、実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

摂餌刺激活性は、池田ら<sup>7)</sup>の方法に準じ、供試魚に試験飼料を1日2回(10時と16時)飽食給与して7日間飼育し、総摂餌量を測定して下記の式により体重100g当たりの摂餌量を求め、対照飼料の摂餌量を100とする相対摂餌量を求めて、試験飼料の摂餌刺激活性とした。なお、飽食の目安は、水槽の底に飼料が3~5粒残り、1分経過しても摂餌しなかった時点とした。

$$\text{摂餌量 (g/100g・体重)} = \frac{F}{\frac{W_1 + W_2}{2} \times \frac{N_1 + N_2}{2}} \times 100$$

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 結果および考察

### 3.1 合成エキスの摂餌刺激活性

マアジ筋肉の天然エキス (NE) および合成エキス (SE) の摂餌刺激活性 (以後、活性と略記) の比較をし、Table 3 に示した。マアジ筋肉の天然エキスの活性を100%としたとき、無添加飼料の活性は40%であったのに対し、マアジ筋肉の合成エキスは127%で天然エキスの活性と同等かそれ以上の活性が認められた。

### 3.2 三大成分の摂餌刺激活性

マアジ筋肉の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 (以後、塩基群と略記) の活性を、単独添加試験とオミッショントテストにより調べ、その結果をTable 4 に示した。

前記3群の1つを加えた単独添加試験 (Table 4-a) の結果より、塩基群の活性は合成エキスの49%に当たり、無添加飼料のそれと同等の低い値を示した。これに対し、アミノ酸群の活性は合成エキスの81%、核酸関連化合物群の活性は合成エキスの97%と高い値を示した。また、イサキの摂餌行動を観察すると、合成エキス、アミノ酸群または核

Table 3. Feeding stimulant activity of synthetic extract of muscle of jack mackerel

Extracts	Diet eaten (g)* <sup>1</sup>		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
NE* <sup>2</sup>	23.7	11.8	100
SE* <sup>3</sup>	30.5	15.0	127
None* <sup>4</sup>	9.2	4.7	40

\*<sup>1</sup> Amount of diet (on dry wt. basis) eaten during 7 days.

\*<sup>2</sup> Natural extract of muscle of jack mackerel.

\*<sup>3</sup> Synthetic extract of muscle of jack mackerel.

\*<sup>4</sup> Diet without extract.

Table 4. Feeding stimulant activity of amino acids, nucleotides and other bases

Extracts	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
(a)			
SE <sup>*1</sup>	41.5	20.1	100
A <sup>*2</sup>	33.1	16.2	81
N <sup>*2</sup>	39.8	19.5	97
O <sup>*2</sup>	19.4	9.8	49
None	16.3	8.3	41
(b)			
SE <sup>*1</sup>	43.4	20.1	100
SE-A <sup>*3</sup>	20.6	9.9	49
SE-N <sup>*3</sup>	30.1	14.2	71
SE-O <sup>*3</sup>	39.0	18.2	91
None	6.6	3.2	16

\*1 See Table 3.

\*2 See Table 1.

\*3 Synthetic extract without amino acids (nucleotides, other bases).

Compounds were added to give the concentrations shown in Table 1 per 100 g of dry diet.

酸関連化合物群をそれぞれ添加した飼料を与えた場合には、水面付近で活発な摂餌行動を示した。一方、無添加飼料および塩基群の場合には、前記の場合に比べて摂餌行動が不活発であった。

合成エキスよりアミノ酸群または核酸関連化合物群を除いて添加した飼料の場合 (SE-A, SE-N) には、活性が合成エキスのそれぞれ49%, 71%に低下した (Table 4-b)。これに対し、塩基群を除いた場合 (SE-O) には、合成エキスと同等 (91%) の活性を示した。以上の結果より、合成エキスの活性はアミノ酸群と核酸関連化合物群に基づくことが明らかになったことから、これらの中にイサキに対する摂餌刺激物質が含まれるものと考えられる。

マアジ<sup>8)</sup>およびカサゴ<sup>9)</sup>では基本飼料へ数種のアミノ酸と核酸関連化合物の混合物を添加すると、摂餌行動が顕著に刺激されることが明らかにされている。しかし、マアジではトリプトファンとイノシン酸の混合物に、カサゴでは4種のアミノ酸 (アラニン, メチオニン, セリン, プロリン) とイノシンの混合物に、それぞれ高い活性が認められており、有効成分は全く異なっている。さらに、カサゴで活性の認められたイノシンは、マアジに対しては摂餌を阻害する物質である<sup>7)</sup>。一方、餌料生物をみると、内湾性回遊魚のマアジはオキアミ類やカタクテイワシなどの稚魚を捕食しており、底生魚のカサゴはカニ類や底魚類などを好

んで摂取している<sup>10)</sup>。このように、摂餌刺激物質と食性には興味深い関連が認められる。マアジと同様に内湾性回遊魚のイサキにおいても、アミノ酸群と核酸関連化合物群の混合物に摂餌刺激性が認められたことから、これらの関係を究明する上でイサキは好材料であろう。

Pigfish (イサキ科の一種)<sup>11)</sup>、ヒガンフグ<sup>12)</sup>および Dover sole (ササウシノシタ科の一種)<sup>13)</sup> に対して、甲殻類および貝類に豊富に含まれるベタインがアミノ酸との協同効果によって活性を高めていることが知られている。本実験では、エキス成分中にベタインを全く含まない試験液を用いたため、イサキに対するベタインの有効性については不明である。しかし、同一科の Pigfish に対して高い活性が認められていることから、イサキに対しても同様の期待がもたれる。

今後、イサキに対する各種アミノ酸と核酸関連化合物の活性をさらに詳しく調べるとともに、甲殻類のエキスを用いてベタインの有効性についても見当する予定である。

#### 4 要 約

マアジ筋肉の合成エキスを用いたオミッショントテストによってイサキの摂餌刺激物質を検討した。カゼインを基本とした飼料に試験液を添加してイサキに飽食給与し、7日間の総摂餌量を基に摂餌刺激性を判定した。

基本飼料に合成エキス、アミノ酸群または核酸関連化合物群をそれぞれ添加した場合には高い活性を示した。アミノ酸群および塩基群、核酸関連化合物群および塩基群をそれぞれ添加した場合には合成エキスに比べ低い活性を示したが、アミノ酸群および核酸関連化合物群を添加した場合には、合成エキスと同等の高い活性を示した。この結果、マアジ筋肉エキス中のイサキに対する摂餌刺激物質はアミノ酸群と核酸関連化合物群の中に含まれるものと考えられる。

### 引用文献

- 1) 竹田正彦：遺伝, **34**, 45-51(1980).
- 2) A.M. Mackie and A.I. Mitchell : in "Nutrition and Feeding in Fish" (ed. by C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell), Academic Press, London, 1985, pp.177-189.
- 3) 木村清志：日水誌, **47**, 1551-1558(1981).
- 4) 松宮義晴, 高橋勝宏：西水研研報, **59**, 23-32(1983).
- 5) S. Konosu, K. Watanabe and T. Shimizu : *Nippon Suisan Gakkaishi*, **40**, 909-915(1974).
- 6) 竹田正彦：養魚飼料—基礎と応用 (米康夫編), 恒星社厚生閣, 東京, 1985, pp.111-122.
- 7) 池田 至, 細川秀毅, 示野貞夫, 竹田正彦：日水誌, **54**, 229-233(1988).
- 8) 池田 至, 細川秀毅, 示野貞夫, 竹田正彦：日水誌, **54**, 235-238(1988).
- 9) 高岡 治, 滝井健二, 中村元二, 熊井英水, 竹田正彦：日水誌, **56**, 345-351(1990).
- 10) 落合 明, 田中 克：魚類学 (下), 恒星社厚生閣, 東京, 1986, pp.788-797, pp.1034-1038.
- 11) Carr, W.E.S., K.M. Blumenthal and J.C. Netherton : *Comp. Biochem. Physiol.*, **58A**, 69-73(1977).
- 12) T. Ohsugi, I. Hidaka and M. Ikeda : *Chem. Sens. Flav.*, **3**, 355-368(1978).
- 13) A.M. Mackie, J.W. Adron and P.T. Grant : *J. Fish Biol.*, **16**, 701-708(1980).