

マアジ筋肉エキス中のマアジに対する摂餌刺激物質の検索

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	池田, 至 細川, 秀毅 示野, 貞夫
巻/号	54巻2号
掲載ページ	p. 229-233
発行年月	1988年2月

マアジ筋肉エキス中のマアジに対する摂餌刺激物質の検索^{*1}

池田 至, 細川秀毅, 示野貞夫, 竹田正彦

(1987年10月16日受理)

Identification of Feeding Stimulant for Jack Mackerel in Its Muscle Extract

Itaru Ikeda,^{*2} Hidetsuyo Hosokawa,^{*2} Sadao Shimeno,^{*2}
and Masahiko Takeda^{*2}

The present investigation was conducted to identify the feeding stimulants for jack mackerel *Trachurus japonicus* by a bioassay method using the synthetic extract, based upon analysis of jack mackerel muscle. The purified casein basal diet flavored with the synthetic extract was readily ingested by the jack mackerel, but the unflavored diet was not ingested at all. By a series of omission tests with the synthetic extract, the nucleotides group was most stimulatory in the three major groups (amino acids, nucleotides, and other bases) examined. Of the nucleotides examined, only inosine-5'-monophosphate (IMP) was highly stimulatory, but its activity was interfered with the presence of inosine, adenosine-5'-diphosphate or creatine. From these results, we concluded that IMP is the most effective feeding stimulant for jack mackerel in its muscle extract.

一般に魚類の摂餌行動は餌料生物のエキス成分により誘起・促進されることが知られている。¹⁾ 現在までに、数種の魚類に対する摂餌刺激物質が餌料生物のエキス成分を用いて研究された結果、数種のアミノ酸、核酸関連物質、グリシンベタインなどが有効物質として同定されている。²⁻⁹⁾ しかし、わが国の重要魚種であるマアジについての摂餌刺激物質に関する研究はまだなされていない。

最近、マアジの味覚神経はいくつかのアミノ酸およびヌクレオチドによく応答することが明らかにされた。¹⁰⁾ しかし、それらがマアジの摂餌刺激物質であるか否かは行動実験による判定が必要である。一方、仔稚魚期のマアジは橈脚類、枝角類、オキアミ類、アミ類などをよく摂取し、体長が20 mmを超えると魚食性になり、カタクティワン、マアジ、ハゼ類などの稚魚を好んで摂取することが知られている。^{11,12)} したがって、これらの餌料生物中にマアジの摂餌刺激物質が含まれているものと推察される。

本研究では、これら餌料生物のうち、マアジ(筋肉)およびツノナシオキアミのエキス成分組成が既知であることに着目して、両者の合成エキスを調製し、それぞれを添加した基本飼料をマアジに飽食給与して、いわゆる“オミッシュンテスト”を行い、エキス中に含まれるマ

アジの摂餌刺激物質を検索した。本報では合成マアジ筋肉エキスによる実験結果について報告する。

実験方法

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5.8~29.5 gのマアジ幼魚 *Trachurus japonicus* を、10~20尾ずつ240 l容(80×50×60 cm)の塩ビ角型水槽に収容した。各水槽には海水を毎分3 lの割合で注入し、絶えずエアレーションを行った。なお試験期間中の海水の温度および比重は、それぞれ24.8~29.4°Cおよび1.019~1.023であった。また一度試験に供した魚群は、再度使用することは避けたが、やむおえず使用する場合は、冷凍イカナゴにより1カ月以上予備飼育した後試験に供した。

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、Konosuら¹³⁾が報告したマアジ筋肉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93 mlはマアジ筋肉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、いずれも塩酸あるいは水酸化ナトリウム溶液でpHを6.5に調整して用いた。また全合成エキスの有効性を調べる実験(Table 3)では、マアジ筋肉100 gから

*1 マアジの摂餌刺激物質に関する研究—I (Studies on Feeding Stimulants for Jack Mackerel-I).

*2 高知大学農学部水族栄養学講座 (Laboratory of Fish Nutrition, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan).

Table 1. Composition of synthetic extract (mg/93 ml)

Amino acids (A)		Nucleotides (N)	
L-Lysine·HCl	67.5	Inosine	20
L-Arginine·HCl	3	IMP·Na ₂	307.9
L-Histidine·HCl·H ₂ O	356.9	AMP·Na ₂ ·6H ₂ O	4.3
L-Ornithine·HCl	6.4	ADP·Na ₂ ·2H ₂ O	11.9
L-Glutamic acid	13	ATP·Na ₂ ·3H ₂ O	16.7
L-Aspartic acid·Na·H ₂ O	1.3		
L-Alanine	21		
Glycine	10		
L-Valine	6		
L-Leucine	5	Other bases (O)	
L-Isoleucine	1	TMAO·2H ₂ O	489.8
L-Serine	3	Creatine·H ₂ O	555.1
L-Threonine	15	Creatinine	11
L-Methionine	1	NH ₄ 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 (Konosu *et al.*, 1974).

Table 2. Composition of test diet

Vitamin-free casein	69 g
Pollack liver oil	14
White dextrin	3
Mineral mixture* ¹	8
Vitamin mixture* ²	3
Carboxymethyl cellulose·Na	3
	100
25% NaOH solution	7 ml
Test solution	93
Total diet as fed	200 g

*¹ Halver (1957).

*² Hosokawa *et al.* (1982).

水抽出により天然エキス 93 ml を調製し比較のために用いた。

試験飼料の配合組成は Table 2 に示したとおりである。まず、カゼインをタンパク源とし各種の精製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、それぞれ Halver⁽⁴⁾ および細川ら⁽³⁾ の処方を用いた。この基本飼料 100 g に、25% 水酸化ナトリウム溶液 7 ml を添加して pH を 6.5 に調整し、試験液 93 ml を加えてよく練り合せたのち、造粒機で直径 2~3 mm のモイストペレットに成型して試験飼料とした。なお、エキス無添加飼料は、試験液 93 ml のかわりに脱イオン水 93 ml を加えて調製した。

摂餌刺激活性の判定法 嗜好性の高い餌ほど飽食量が多いという石渡⁽⁵⁾の生態学的研究からも明らかのように、試験飼料を与えたときの飽食量はその摂餌刺激活性

の適正な指標になると考えられる。そこで本研究では、供試魚に試験飼料を 1 日 2 回飽食給与して 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 100 g 当たりの摂餌量(乾物換算)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とした。

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

F: 7 日間の総摂餌量 (g)

W₁: 開始時の平均体重

W₂: 終了時の平均体重

N₁: 開始時の尾数

N₂: 終了時の尾数

結 果

全合成エキスおよびその三大成分の摂餌刺激活性 最初にエキス無添加飼料を対照として、マアジ筋肉合成エキスの有効性を調べ、天然エキスのそれと比較した。

Table 3 に示すとおり、エキス無添加飼料 (None) には摂餌刺激活性(以下、活性と略記)が全く認められなかったが、全合成エキスには天然エキスに匹敵する高い活性が認められた。

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核酸関連物質群、アミノ酸群およびその他の塩基群の活性を、単独添加試験とオミッショントにより調べた。その結果は Table 4 に示すとおり、

*³ 細川秀毅, 上野慎一, 豊田泰浩, 竹田正彦: 昭和 58 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 44.

Table 3. Feeding stimulant activity of synthetic extract

Extracts	Diet eaten (g)* ¹		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
NE* ²	6.7	2.4	100
SE* ³	7.5	2.8	117
None* ⁴	0	0	0

*¹ Amounts of diet (on dry wt basis) eaten during 7 days.*² NE: Natural extract (93 ml water extract of 100 g ground muscle of jack mackerel per 100 g of dry diet was added.)*³ SE: Synthetic extract (93 ml synthetic extract shown in Table 1 per 100 g of dry diet was added.)*⁴ Diet without extract.**Table 4.** Feeding stimulant activity of amino acids, nucleotides and other bases

Com-pounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
SE* ¹	8.6	3.1	100
A* ²	0	0	0
N* ²	16.2	6.1	197
O* ²	0	0	0
SE-A* ³	0	0	0
SE-N* ³	0	0	0
SE-O* ³	12.0	4.5	145

*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.

単独添加試験では、アミノ酸群とその他の塩基群のいずれにも活性が全く認められなかったが、核酸関連物質群には対照の全合成エキスの約2倍の活性が認められた。給餌時のマアジの行動を観察すると、アミノ酸またはその他の塩基群を添加した飼料に対しては、試験開始2日目までに1部の個体が誘引されただけで摂餌はみられず、その後も誘引、摂餌ともに全く認められなかった。一方、核酸関連物質群を添加した飼料に対しては、3日目から活発な摂餌行動を示し、摂餌量も直線的に増加して5日目からはほぼ一定となった。また全合成エキスからその他の塩基群を除くと活性は1.5倍に高まったが、アミノ酸群または核酸関連物質群を除くと活性は全く認められなくなった。以上の結果から、全合成エキスの活性は主として核酸関連物質群に基づくことが明らかになった。

各種核酸関連物質の摂餌刺激活性 合成エキスの核酸関連物質群を構成する5種の核酸関連物質、すなわちイノシン、イノシン酸 (IMP)、アデニル酸 (AMP)、アデノシン-5'-リン酸 (ADP) およびアデノシン-5'-三リン酸 (ATP) を、それぞれ基本飼料 100 g 当たり Table 1 に示したエキス中濃度で添加して活性を測定した。その

Table 5. Feeding stimulant activity of nucleotides

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
SE* ¹	7.5	2.8	100
Inosine	0	0	0
IMP	20.8	7.2	257
AMP	0	0	0
ADP	0	0	0
ATP	0	0	0
SE-Inosine* ²	21.4	7.4	264
SE-IMP* ²	0	0	0
SE-AMP* ²	7.6	2.8	100
SE-ADP* ²	13.7	4.7	168
SE-ATP* ²	8.8	3.2	114

*¹ See Table 3.*² Synthetic extract without inosine (IMP, AMP, ADP, ATP).

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

Table 6. Feeding deterrent activity of inosine and ADP

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
IMP	19.7	12.9	100
Inosine	0	0	0
ADP	0	0	0
IMP+Inosine	6.4	4.4	34
IMP+ADP	10.8	7.5	58

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

結果は Table 5 に示すとおり、単独添加の場合は、IMP のみに全合成エキスの約2.6倍に当たる著しく高い活性が認められた。また全合成エキスからIMPを除くと活性が全く認められなかった。これらの結果より、IMPは核酸関連物質群中で最も活性の高い化合物であり、全合成エキスの活性は主としてIMPの活性に基づくことがわかった。

AMPとATPは単独で全く活性を示さず、全合成エキスからこれらのヌクレオチドを除いても活性は全く低下しなかった。したがってこの両ヌクレオチドは全合成エキスの活性にほとんど関与しないことがわかった。一方、イノシンとADPは単独では全く活性を示さなかったが、全合成エキスからこれらを除くとそれぞれの活性は2.6倍および1.7倍に上昇した。

イノシン、ADP およびその他の塩基群の摂餌阻害作用 Table 4 および 5 の結果より、イノシン、ADP およびその他の塩基群には全合成エキスの活性を阻害する作用のあることが示唆されたので、その阻害作用を確認するため、それぞれをエキス中濃度 (Table 1) で IMP

Table 7. Feeding deterrent activity of other bases

Compounds	Diet eaten (g)		Relative activity (%)
	Total	Per 100 g fish	
IMP	7.6	6.3	100
TMAO	0	0	0
Creatine	0	0	0
Creatinine	0	0	0
Ammonia	0	0	0
IMP+TMAO	3.5	3.0	48
IMP+Creatine	1.8	1.6	25
IMP+Creatinine	5.5	4.7	75
IMP+Ammonia	3.1	2.7	43

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

と合わせて基本飼料に添加し, その活性の変化を調べた。

Table 6 から明らかなように, イノシンおよび ADP はいずれも活性を全く示さないばかりでなく, IMP の活性をそれぞれ 66% および 42% 低下させた。また Table 7 から明らかなようにトリメチルアミノオキシド (TMAO), クレアチン, クレアチニンおよびアンモニアの各化合物もイノシンと同様に全く活性を示さず, かつ IMP の活性を 25~75% 低下させた。以上の結果より, イノシン, ADP およびその他の塩基群はいずれも IMP の活性を阻害することが明らかとなり, 特にイノシンとクレアチンの阻害作用が著しいことがわかった。

考 察

既報のマアジ筋肉エキスの分析値¹³⁾に基づいてその合成エキスを調製し, これを精製カゼインを主原料とする基本飼料に添加してマアジ幼魚に飽食給与し, 一連のオMISSIONテストを行った結果, 本エキスのマアジに対する摂餌刺激活性は, 主として核酸関連物質の IMP に基因することが明らかになった。

Ishida and Hidaka¹⁰⁾ はマアジの味覚に関与する口蓋神経は IMP やウリジル酸 (UMP) に, また Hidaka ら¹⁶⁾ はブリのそれは IMP, UMP, AMP, ADP, ATP, アデノシンおよびイノシンにそれぞれ顕著に応答することを報告し, Kiyohara ら¹⁷⁾ はヒガンフグの味覚器は IMP, UMP および AMP に高い応答を示すことを明らかにしている。一方, 細川ら^{4), 8)} は, ブリおよびマダイに対するマアジ筋肉エキスの摂餌刺激活性はそれぞれ主に IMP, および IMP と ADP に基因することを報告し, Mackie and Adoron⁹⁾ もイカ筋肉エキス中の IMP やイノシンが turbot *Scophthalmus maximus* に対して高い摂

餌刺激活性を示すことを認めている。このように魚肉やイカの筋肉エキ스에高濃度に含まれる核酸関連物質, 特に IMP が多くの海産肉食性魚類の味覚器と摂餌行動を強く刺激することは, 魚の摂餌を理解するのに役立つであろう。また魚種間で有効な核酸関連物質が少しずつ異なっていることは, 摂餌刺激物質と食性との関連性から興味をもたれる。なお本実験で用いた合成エキス (Table 1) には, UMP やグアニル酸 (GMP) は含まれないし, IMP の濃度は 0.8 mmol/100 g 乾物飼料, と比較的高いが, それ以外の各種核酸関連物質の濃度は低いので, 高濃度の各種核酸関連物質の摂餌刺激活性, 並びに IMP の閾値, および最大活性の発現に要する添加量については今後の検討課題としたい。

一方, 本実験結果から, イノシン, ADP, クレアチンなどはそれ自身が摂餌刺激活性を全く示さないばかりでなく, 共存する IMP の摂餌刺激活性を低下させることが明らかになった (Table 6, 7)。この結果は, これらの物質がマアジの摂餌阻害物質であることを示していて興味深い。キニーネなどの苦味物質が魚類の摂餌を阻害することはよく知られており,¹⁸⁻²⁰⁾ Mackie and Mitchell²¹⁾ は苦味物質の他にアントラキノンやアゾ色素などの色素および餌料生物の粘液は, Dover sole *Solea solea* の摂餌を阻害すると報告しているが, 魚肉エキス成分に摂餌阻害物質が存在するという報告はこれまで見当たらない。さらに, 先に述べたように, イノシンと類似構造の IMP にマアジに対する強い摂餌刺激活性が認められたこと, ならびに turbot に対してイノシンは IMP と同じく強い摂餌刺激活性を示すという Mackie and Adoron⁹⁾ の報告を考え合わせると, マアジにおける IMP の摂餌刺激活性に対するイノシンの阻害作用は興味深い現象である。

各種アミノ酸, 特にアラニンとグリシンが魚類に対する有効な摂餌刺激物質であることは広く知られており,²²⁾ マアジの味覚器もプロリン, アルギニンなどによく応答することも報告されている。¹⁰⁾ ところが, 本実験に用いた合成エキスのアミノ酸群は, マアジに対して摂餌刺激活性を示さなかった (Table 4)。しかし全合成エキスからアミノ酸を除くと活性が消失した (Table 4) ことから, アミノ酸にも何らかの活性のあることが示唆された。また本合成エキス中の各種アミノ酸の濃度が低い (Table 1) ために, 明確な結果が得られなかったのかもしれない。したがって次報では高濃度のアミノ酸を添加した場合の摂餌刺激活性について検討したい。

*4 細川秀毅, 竹田正彦, 滝井健二, 植月則幸: 昭和 51 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 21.

*3 細川秀毅, 滝井健二, 竹田正彦: 昭和 53 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 17.

文 献

- 1) 竹田正彦: 遺伝, **34**, 45-51 (1980).
- 2) W. E. S. Carr: *Comp. Biochem. Physiol.*, **54A**, 153-157 (1976).
- 3) W. E. S. Carr and T. B. Chaney: *Comp. Biochem. Physiol.*, **54A**, 437-441 (1976).
- 4) T. Ohsugi, I. Hidaka, and M. Ikeda: *Chem. Sens. Flav.*, **3**, 355-368 (1978).
- 5) J. W. Adoron and A. M. Mackie: *J. Fish Biol.*, **12**, 303-310 (1978).
- 6) A. M. Mackie and J. W. Adoron: *Comp. Biochem. Physiol.*, **60A**, 79-83 (1978).
- 7) A. M. Mackie, J. W. Adoron, and P. T. Grant: *J. Fish Biol.*, **16**, 701-708 (1980).
- 8) M. G. Pawson: *Comp. Biochem. Physiol.*, **56A**, 129-135 (1977).
- 9) 津嶋純一, 伊奈和夫: 農化誌, **52**, 225-229 (1978).
- 10) Y. Ishida and I. Hidaka: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 1391-1398 (1987).
- 11) 落合 明, 田中 克: 魚類学(下), 恒星社厚生閣, 東京, 1986, pp. 788-797.
- 12) 横田滝雄, 通山正弘, 金井富久子, 野村星二: 南水研研報, **14**, 1-234 (1961).
- 13) S. Konosu, K. Watanabe, and T. Shimizu: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **40**, 909-915 (1974).
- 14) J. E. Halver: *J. Nutr.*, **62**, 225-243 (1957).
- 15) 石渡直典: 日水誌, **34**, 785-791 (1968).
- 16) I. Hidaka, T. Ohsugi, and Y. Yamamoto: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, 21-24 (1985).
- 17) S. Kiyohara, I. Hidaka, and T. Tamura: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **41**, 383-391 (1975).
- 18) J. E. Bardach and T. Villars: in "Chemoreception in Marine Organisms" (ed. by P. T. Grant and A. M. Mackie), Academic Press, London, 1974, pp. 49-104.
- 19) I. Hidaka, T. Ohsugi, and T. Kubomatsu: *Chem. Sens. Flav.*, **3**, 341-354 (1978).
- 20) A. M. Mackie: in "Chemoreception in Fishes" (ed. by T. J. Hara), Elsevier, Amsterdam, 1982, pp. 275-291.
- 21) A. M. Mackie and A. I. Mitchell: *Comp. Biochem. Physiol.*, **73A**, 89-93 (1982).