

クロマグロ *Thunnus orientalis* 稚魚の摂餌刺激物質

滝井 健二*, 池 承哲
(飼料・食品安全性・加工グループ)

近畿大学水産研究所

* takii@nara.kindai.ac.jp

魚類の摂餌を誘起・継続させる摂餌刺激物質を明らかにすることは、単に、実用飼料の開発に欠かせないだけでなく、好ましい化学感覚刺激が消化吸収や代謝を活性化して、免疫機能を向上させるなど優れた作用を持つ。¹⁾ また、摂餌活性を高めることから残餌を少なくして、環境に配慮した持続的養殖生産や、不味な代替タンパク源の利用の拡大にもつながり、今後の養殖産業の発展に大きく貢献できる。¹⁾

クロマグロの養殖研究は 1970 年から本学水産研究所によってはじまり、1990 年代からはスペイン、地中海沿岸諸国、オーストラリアなどでタイセイヨウクロマグロ *Thunnus thynnus* およびミナミマグロ *Thunnus maccoyii* の蓄養が本格化した。²⁾ これら各国において、クロマグロ養殖の配合飼料化が模索されたが、魚粉主体の配合飼料に対する嗜好性が極めて低く、摂餌しても成長や飼育成績がイカナゴ、マアジ、マイワシ、マサバなどの生餌より劣ることから、実現には至っていない。そこで、本研究ではクロマグロ実用配合飼料の開発に向けた端緒として、配合飼料の嗜好性を高める摂餌刺激物質を検索しようとした。

クロマグロは代表的な肉食性の外海回遊魚で食物連鎖の頂点に立つことから、餌料種類の多い沿岸性魚類に比べて、摂餌刺激物質の種類は限定されるものと考えられる。

材料および方法

試験液 Table 1 に Konosu *et al.*³⁾ による筋肉 100 g 相当量のマアジエキスの分析値を示した。

この分析値に基づいて、すべての構成成分を含む完全合成エキス (SE)、アミノ酸 (A)、核酸関連物質 (N) および有機塩基 (O) からなる各画分と SE よりそれら画分を 1 種ずつオミSSIONした SE-A, SE-N および SE-O、さらに、各画分の構成成分をグループあるいは単体に分けて各種試験液を調製した。なお、試薬はいずれも特級のものを用いた。また、試験液の pH は NaOH あるいは HCl で 6.8 に調整し、マアジ筋肉 100 g 相当量の濃度の各試験液を、Table 2 に示すカゼイン基本飼料 100 g に混合して、直径 1.2mm のモイストペレットに造粒した。試験液および飼料の調製に当たっては、夾雑物の混入を避けるために細心の注意を払った。⁴⁾ また、マアジ筋肉を等量の脱イオン水とともに 20 分間ホモジナイズし、10,000×g で遠心分離して得た天然エキス (NE) を対照として用いた。

供試魚および試験方法 本研究所大島実験場および奄美実験場で採取したクロマグロ受精卵を、水産養殖種苗センター大島事業場および浦神事業場でふ化した後、宮下⁵⁾ が示した餌料系列で飼育して、体重 1.6~9.0 g の供試魚を得た。そして、塩化ビニルシート製の内張りを備えた 1.5 m³ 容円形 FRP 水槽に、供試魚を 20 尾ずつ収容して試験区を設け、Exp-1 では毎日異なる試験飼料をラテン方格法に準じて各試験区に 1 日 1 回 (13:00)、Exp-2 では所定の試験飼料を 1 日 6 回 (7:00, 9:00, 11:00, 13:00, 15:00 および 17:00) 飽食給与して、それぞれ 6 日および 4 日間の給餌量を記録した。なお、Exp-1 では試験飼料を与える 13:00 を除いて、7:00, 9:00,

Table 1. Composition of horse mackerel muscle extract (mg/100 ml)

Amino acid (A)		Nucleotide (N)	
L-Lysine · HCl	33.8	Inosine	10.0
L-Arginine · HCl	1.5	IMP · Na ₂	154
L-Histidine · HCl · H ₂ O	178.5	AMP · Na ₂ · 6H ₂ O	2.2
L-Ornithine · HCl	3.2	ADP · Na ₂ · 2H ₂ O	12.0
L-Glutamic acid	6.5	ATP · Na ₂ · 3H ₂ O	8.4
L-Aspartic acid · Na · H ₂ O	0.7		
L-Alanine	10.5		
Glycine	5.0		
L-Valine	3.0	Other organic base (O)	
L-Leucine	2.5	TMAO · 2H ₂ O	245
L-Isoleucine	0.5	Creatine · H ₂ O	278
L-Serine	1.5	Creatinine	5.5
L-Threonine	7.5	NH ₄ Cl	20.4
L-Methionine	0.5		
Taurine	37.5		
L-Phenylalanine	0.5		
L-Tyrosine	0.5		
L-Proline	3.0		
DL- α -Amino-n-butyric acid	0.5	pH	6.8

Table 2. Formula of basal diet

Ingredient	%
Vitamin free casein	65
Pollack liver oil	17
White dextrin	3
Vitamin mixture*	5
Mineral mixture*	8
CM-Cellulose · Na	2

* Halver's mixture (1957).

11:00, 15:00 および 17:00 には、維持餌料のイカナゴ切餌を飽食量与えた。Exp-1 および Exp-2 における平均水温は、それぞれ 25.8 および 27.6°C であった。

摂餌促進活性 Exp-1 では、各試験区で 1 日の総摂餌量に占める試験餌料の摂餌量の割合を、それぞれの試験液の摂餌活性とし、対照試験液の摂餌活性を 100 とする相対値で比較した。

Exp-2 では、各試験餌料に対する 1 尾当たりの日間摂餌量を摂餌活性とし、対照試験液の活性を 100 とする相対値を求め、連続する 4 日間の平均相対値と SD を算出した。

統計処理は、ANOVA で処理による有意差 ($p < 0.05$) を確認してから、各試験液の相対平均値の差異を Duncan's New Multiple Range Test⁵⁾ で有意差判定 ($p < 0.05$) を行なった。

結果および考察

Exp-1 SE, 各画分のオMISSION, A および N 画分とその構成成分の活性を Table 3 に示した。

NE を 100 とする相対活性で NE, SE および各画分の活性を比較すると、SE および SE-O に 124 および 104 の高い活性が得られた。しかし、SE-A および SE-N の活性は 37 付近で、脱イオン水 (DW) より低かった。この結果から、SE の活性は NE に匹敵すること、また、その活性は A および N 画分の併用効果に基づくことが示された。

次いで、SE の活性を 100 とする相対活性で A および N 画分と、それらの主要構成成分の活性について比較すると、A 画分と N 画分の主要構成成分である Inosine-5'-monophosphate

Table 3. Feeding stimulant activity of natural extract (NE) and synthetic extract (SE) of horse mackerel, their fractions and components (Exp-1)

Test solution*1	FS activity*2	R-FS activity*2
NE	4.9	100
SE	6.1	124
SE-A	1.8	37
SE-N	1.9	38
SE-O	5.1	104
DW	2.9	59
SE	15.5	100
A+IMP	16.9	109
A-A ₅ +IMP	13.1	85
A+N-IMP	13.9	90
A ₅ +IMP	15.7	102
A ₅ +IMP	11.3	100
A ₅ +IMP - Lys	10.4	92
A ₅ +IMP - Ala	12.6	112
A ₅ +IMP - His	6.7	59
A ₅ +IMP - Glu	8.2	73
A ₅ +IMP - Tau	10.0	89

*1 A: amino acid fraction, N: nucleotide fraction, O: other organic base fraction, DW: deionized water, A₅: a mixture of Lys, Ala, His, Glu and Tau.

*2 FS activity: Feeding stimulant activity and R-FS activity: relative FS activity.

(IMP) の併用 (A+IMP) および A 画分の主要構成成分である L-alanine (Ala), L-glutamic acid (Glu), L-histidine (His), L-lysine (Lys) および Taurine (Tau) 混合物 (A₅) と IMP の併用 (A₅+IMP) に、それぞれ 109 および 102 の優れた活性が認められた。しかし、A-A₅+IMP および A+N-IMP などの活性は僅かに低かった。これらの結果から、SE における活性の多くは A₅+IMP に基づくことが示唆された。

A₅+IMP の活性を 100 とする相対活性で主要 5 種アミノ酸 (A₅) と IMP からなる試験液の活性について比較すると、A₅+IMP からの His および

Table 4. Feeding stimulant activity of SE, a mixture of Lys, Ala, Asp and Glu (A₄), IMP and their components (Exp-2)

Test solution	FS activity*1	R-FS activity*1
SE	0.19	100 a*2
A ₄ +IMP	0.15	78.9 ab
A ₄	0.05	26.3 b
IMP	0.10	52.6 b
Ala+Lys+IMP	0.17	89.5 ab
Glu+Asp+IMP	0.21	111 a
DW	0.06	31.6 b

*1 Show the footnote of Table 3.

*2 Different superscript means significant difference ($p<0.05$) in the column.

Glu のオミッショで 59 および 73 の低い活性が得られたが、他の Ala, Lys および Tau のオミッションでは比較的高い活性を維持していた。これらの結果から、SE の活性は Glu+His+IMP の活性に起因することが推察された。

Exp-2 Exp-1 で同定した各アミノ酸と IMP を組合せた活性を Table 4 に示した。

SE の活性を 100 とする相対活性で比較すると、Glu+His+IMP が 111 と最も高く、ついで Ala+Lys+IMP の 90、A₅ より Tau を除いて IMP と混合した A₄+IMP の 79 の順に低下した。一方、A₄ および IMP のみの活性は DW と同等で低かった。

以上の本研究結果から、クロマグロの摂餌刺激物質として、Glu : 13 mg, His・HCl : 357 mg および IMP・Na₂ : 308 mg の混合物を検索した。Glu・Na および IMP はヒト味覚の旨味成分であり、これら二者の間に旨味の相乗効果のあることも知られている。ラットやイヌの味覚の電気応答でも、これら化合物間に相乗効果のあることが確かめられている。⁶⁾ このように、ヒトと同様に大型回遊魚のクロマグロにおいて、Glu や IMP を好んでいることが示唆され興味深い。一方、His は魚類の必須アミノ酸であり、ウナギ *Anguilla japonica* , ニジマス

Oncorhynchus mykiss, ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* など淡水魚で摂餌刺激あるいは誘引活性を持つことが報告されている。⁷⁾しかし、これまで調べられた多くの海産魚に、His の摂餌刺激活性が認められていないことから、クロマグロではアミノ酸補足としての役割を担っていた可能性も残されている。クロマグロ普通筋の His 含量はカツオ *Katsuwonus pelamis* に類似して、他の魚類より顕著に多いことが知られている。⁸⁾ 供試魚数に制限があったことから、Exp-2 では Exp-1 で同定した Tau を除いて、摂餌刺激物質の検索を進めた。ニジマスおよびカサゴでは Tau の摂餌刺激効果が認められているので、今後詳細に検討する必要がある。⁷⁾

クロマグロはマイワシ、カタクチイワシ、トビウオ類、底生魚類、イカ類、甲殻類などを摂餌する。また、沖合いや外洋域で漁獲されたものは、カツオを捕食することも知られている。⁹⁾ 本研究で同定した摂餌刺激物質は、これら餌料生物のエキスに共通して存在し、しかも、比較的多量に含まれる化合物でもある。おそらく、これらアミノ酸や核酸関連物質は、視程が限定される水界において、餌料生物の化学的指標として索餌に貢献しているのであろう。

謝 辞

本研究を実施するのに当たって、高知大学農学部細川秀毅教授および示野貞夫名誉教授、三重大学生物資源学部の神原 淳教授および宮崎多恵子助教授、本水産研究所浦神実験場の瀬岡 学助手、A.K. Biswas COE 博士研究員および学生各位には多くの御助言と御助力を賜った。水産養殖種苗センター大島・浦神事業場の技術員各位には、クロマグロ卵・供試魚を快く分与していただいた。また、本研究は文部科学省 21 世紀 COE プログラム「クロマグロ等の魚類養殖産業支援型研究拠点」形成費および日本学術振興会科学研究費（課題 No. 14104007）によった。ここに記して深謝いたします。

文 献

- 1) Takeda M and Takii K. Gustation and nutrition in fishes; application to aquaculture. In Hara TJ (ed) *Fish chemoreception*. Chapman & Hall, New York: 1992; 271-281.
- 2) 熊井英水, 宮下 盛. クロマグロの完全養殖達成. 農林水産技術研究ジャーナル **2005**; **28**: 12-15.
- 3) Konosu S, Watanabe K and Shimizu T. Distribution of nitrogenous constituents in the muscle extracts of eight species fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1974; **40**: 909-915.
- 4) 宮下 盛. クロマグロの種苗生産に関する研究. 近畿大学水産研究所報告 **2002**; **8**: 1-171.
- 5) Harter HL. Critical values for Duncan's new multiple range tests. *Biometrics* 1960; **16**: 671-685.
- 6) Kurihara K and Kashiwayanagi M. Introductory remarks on umami taste. In Murphy C (ed) *Olfaction and Taste XIII* The New York Academy of Science, New York: 1998; 393-397.
- 7) 滝井健二. アミノ酸. 「魚介類の摂餌刺激物質」(原田勝彦編) 恒星社恒星閣, 東京, 1994; 55-65.
- 8) 須山三千三. マグロ肉の特性. 「マグロの科学—その生産から消費まで—」(小野征一郎編著) 成山堂書店, 東京, 2004; 199-232.
- 9) 藤田 清. マグロの種類と生態. 「マグロの科学—その生産から消費まで—」(小野征一郎編著) 成山堂書店, 東京, 2004; 1-55.