

クロダイ仔稚魚の成長にともなう 消化酵素活性の変化[※]

小菅弘夫・川合真一郎^{※※}

The Relative Variance of Digestive Enzymes Activity
to the Growth of Black - Sea Bream Larva.

Hiroo KOSUGE · Shinichiro KAWAI

ま え が き

海産魚類の種苗生産においては、各地で、いろいろな技術の開発研究がなされているが、まだ多くの問題が残されており、なかでも餌料の問題に関しては解決すべきことが多い。たとえば仔稚魚の成長にともなう餌料の消化吸収能力、さらには餌料転換と有効餌料なども未解決のままに残されている。本文では現在、初期餌料として有効とされているシオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis* O. F. MÜLLER) の培養においては、クロレラを餌料とする方法とイーストによるものがあるが、いずれのワムシを投与した方が仔稚魚の餌料としてより良い成長、歩留りを得られるか、また、ワムシの次に与える餌料、すなわちコペポーダのような動物プランクトン、魚肉などの消化吸収がふ化後いつごろから始まるかを知ることが種苗生産事業上重要な事項である。そこでこれらの点を究明するためクロダイ (*Acanthopagrus schlegelii*) の仔稚魚を用いて、その消化酵素活性 (ペプシン様酵素、トリプシン様酵素およびアミラーゼ) を測定して、その餌料転換時期と

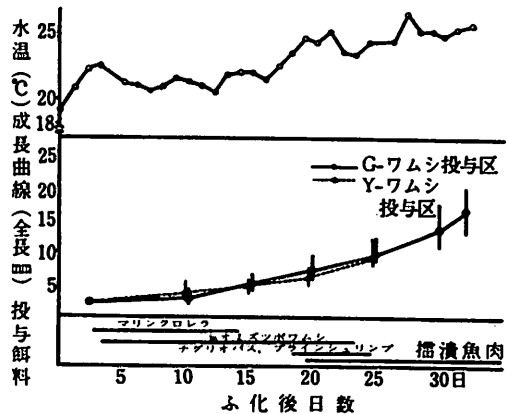


図-1 飼育期間中の水温変化、クロダイ仔稚魚の成長曲線および投与餌料

※ 本報告は栽培漁業技術開発研究2(1), 1973 に発表した。

※※ 大阪市立環境科学研究所

の有効性について検討した結果、2、3の知見を得たので報告する。

試 験 方 法

1. 実験材料 (供試卵・仔稚魚)

試験に供したクロダイの卵および仔稚魚は、昭和46年6月7、8日兵庫県津名郡五色町都志の刺網で漁獲された親魚を用いて採卵・受精し、4時間以内に試験場のパンライト製1トン円形水槽(直径140cm、深さ85cm)に収容、ふ化飼育したものである。

飼育方法は、ふ化約60時間後に、40万個/ccの濃度にグリーン・ウォーターを入れ、3日目から、毎朝グリーン・ウォーターで培養したシオミズツボムシ(以後G-ワムシと略す)投与区と市販の製パン用乾燥酵母(オリエンタル酵母工業K.K)で培養したシオミズツボムシ(以後Y-ワムシと略す)投与区に分け、10日目までは2~3個/cc、11日目から24日目頃までは4~5個/ccとなるように、それぞれのワムシを投与した。また、ふ化後20日頃からはチグリオパス(*Tigriopus japonicus*)、ブライン・シュリンプ(サンフランシスコ産)、クロダイの播潰魚肉などを混合投与した。

飼育期間中の水温、成長は図-1のとおりである。

2. 消化酵素活性の測定

酵素活性の測定は、ふ化2日前(受精後7時間)、1日前(受精後22時間)、ふ化直後、ふ化後3、11、18、25日および32日の計8回行ない、1回に2000~150の卵または仔稚魚を、試験に供した。測定に使用した受精卵は、1トンタンク収容後、表面に浮上した卵で、直径0.85~0.93mmであった。

酵素液の調製法： 供試した卵または仔稚魚を、純水で2~3回洗浄した後、POTTER ELVEHJEM型ガラスホモジナイザーで2~3分間純水とともに摩砕し、10,000×gで20分間遠心分離し、その上澄を脱脂綿濾過した濾液に純水を適量加えて、これを粗酵素液とした。

基質： ペプシン様酵素の基質としては、PH 1.0の酒石酸に溶解させた3%乳製カゼイン溶液を、トリプシン様酵素の基質としてはPH 9.5のアンモニア-塩化アンモニウム緩衝液に溶解させた3%カゼイン溶液を使用した。

アミラーゼの基質には溶性デンプンの1%溶液を用いた。

酵素反応： ペプシン様酵素、トリプシン様酵素およびアミラーゼの活性は、それぞれ酒石酸緩衝液(PH 3.0)、アンモニア緩衝液(PH 9.5)およびリン酸緩衝液(PH 6.6)を用いて測定した。

各試験管に緩衝液3ml、酵素液1mlおよび基質溶液1mlを加え、37℃で1時間インキュベートした。プロテアーゼの反応停止は5%トリクロル酢酸(T. C. A) 5mlを加えることにより、またアミラーゼはSOMOGIの除蛋白剤を用い反応を停止させた。対照は基質を入れないでインキュベートし、反応停止後、それぞれの基質を1mlずつ加え、強く振盪した。反応停止後45分間放置し、東洋濾紙(No. 5 C)で濾過した液を適量とり、プロテアーゼにより分解されて生じたチロシンをFOLIN法で、またアミラーゼにより分解されて生じたグルコースをSOMOGY NELSON法¹⁾により測定した。

酵素タンパク量の測定： 粗酵素液中の蛋白態窒素はビュレット法により求めた。

活性の表示： 活性はTotal activity(仔稚魚1尾が1時間に基質を分解して遊離するチロシンまたはグルコース量)表で示した。

結 果 お よ び 考 察

第1回目の測定は、受精後7時間の桑実期のもの2000粒を用いた。結果は表-1に示すように、ペプシン用酵素活性がわずかに認められた程度ではあるが、卵発生のごく初期から、タンパク質の分

表-1 消化酵素活性

| ふ化後日数 | 尾数 | プロテアーゼ活性 ^{註1)} | | | | アミラーゼ活性 ^{註2)} | |
|---------------------|-------|-------------------------|-------------------------|----------|----------|------------------------|----------|
| | | ペプシン様酵素 | | トリプシン様酵素 | | アミラーゼ | |
| | | ^{註3)} G. - Br. | ^{註4)} Y. - Br. | G. - Br. | Y. - Br. | G. - Br. | Y. - Br. |
| - 2 | 2,000 | 0.013 | | 0 | | - | |
| - 1 | 2,000 | 0.018 | | 0 | | - | |
| 0 | 2,000 | 0.023 | | 0 | | - | |
| 3 | 2,000 | 0.011 | | 0.006 | | 0 | |
| 11 | 628 | 0.099 | 0.099 | 3.45 | 1.52 | 0.42 | 2.50 |
| 18 | 400 | 0.590 | 0.393 | 6.95 | 4.10 | 11.40 | 2.90 |
| 25 | 300 | 21.400 | | 11.80 | | 40.90 | |
| 32 | 148 | 180.000 | | 317.00 | | 276.00 | |
| ^{註5)} 天然稚魚 | 179 | 23.000 | | 7.13 | | 26.20 | |

註：1) 遊離チロシン $\mu\text{g}/60$ 分間

2) 遊離グルコース $\mu\text{g}/60$ 分間

3) グリーン・ウォーター (Marine Chlorella) で培養のワムシ (G-ワムシ)

4) イーストで培養のワムシ (Y-ワムシ)

5) 平均体長 (Total length) 13.5 mm

解酵素が認められ、ふ化まで活性の上昇が見られた。

ふ化後3日では、この活性は低下した。これはふ化時にふ化酵素の作用があったためと思われる。G-ワムシ投与区とY-ワムシ投与区との差はふ化後11日までほとんど見られなかったが、平均体長はG-ワムシ投与区で3.51mm、Y-ワムシ投与区では4.03mmあり、Y-ワムシ投与区がやや良かった。しかし、11日目を過ぎると、G-ワムシ投与区の成長速度が増大し、18日目前後になると、逆にG-ワムシ投与区の方が平均体長で約1.3mm上回った。この成長の差が見られたのと同じ18日目における活性は、G-ワムシ投与区のペプシン様酵素活性に、急激な増大が見られ、またY-ワムシ投与区との間に顕著な差が認められた。また、25日目の酵素活性は11日目の200倍、18日目の約40倍と急激な増大を示したが、これは仔稚魚体内での胃腺形成期とほぼ一致しており、この時期がワムシから大型動物プランクトンあるいは魚肉への餌料転換期としての1ポイントになるのではないかと考えられる。

一方、トリプシン様酵素の活性は、ふ化後3日のものから認められ、ふ化後11日には約500倍もの急激な活性の上昇が見られた。また、G-ワムシ投与区の方がY-ワムシ投与区よりも2倍高い値を示した。このように、急激な活性の上昇が見られることは、ふ化後3日には、卵黄がほとんど吸収される一方クロレラあるいはワムシを摂取するようになり、その消化のために体内で酵素タンパクの合成が活発におこなわれているとよると考えられる。

アミラーゼの酵素活性の出現はふ化後11日からであるが、18日目には約30倍もの増大を示した。32日目における活性は276という高い値となるが、これは雑食性で炭水化物の消化能力も大きいコイが、ふ化後35日前後に示す270²⁾よりも高い値である。このように、アミラーゼ活性が大きいことは、今後餌料転換を考える上で、炭水化物特にでんぷんを含んだ配合餌料への移行が可能であることを示唆し、興味深く思われる。

さらに今回、試験場周辺で採捕された平均体長13.5mmのクロダイ稚魚179尾を用いて天然稚魚の酵素活性を測定し、前述の飼育稚魚における活性とを比較した。平均体長13.5mmは今回の種苗生産でのタンク飼育における25日頃とほぼ同サイズであるが、ペプシン様酵素の活性のほかは、いずれも天然稚魚の方が低いようであった。(表-1)。

表-2 各餌料の一般組成 (%)

| 餌料 \ 一般成分 | 粗蛋白質 | 粗脂肪 | 粗灰分 | 水分 | 炭水化物 他 | 報 告 者 |
|-----------|------|------|-------|------|-----------|----------------------------|
| クロレラ | 53.2 | 6.55 | 10.14 | 8.31 | 21.8 | 徳川生物研究所 ³⁾ |
| G-ワムシ | 54.9 | 7.1 | 9.2 | 8.2 | 20.6 | 徳島水試 ⁴⁾ |
| Y-ワムシ | 64.8 | 8.8 | 6.3 | 2.8 | 15.2 | オリエンタル酵母K.K. ⁵⁾ |

以上のように、ふ化後の成長にともなう消化酵素活性の変化を知り得たことは、今後餌料の栄養、餌料転換時期、さらには餌料開発の検討を進める上で、有意義なことと思われる。今回餌料としたクロレラ、G-ワムシ、Y-ワムシの一般組成を他機関において培養、分析された資料より参考として引用すると、表-2のとおりである。ただし、これらの餌料の一般体組成は培養条件により変化³⁾することを、念頭におく必要がある。

摘 要

人工採卵し得られたクロダイの卵、仔稚魚を用いて、成長にともなう消化酵素活性の変化を調べた。

- 1) 種苗生産におけるクロダイの餌料転換はふ化後18日頃から必要となる。
- 2) クロダイにおいてもアミラーゼ活性が大きいことは配合餌料の開発が可能であることを示唆している。

参 考 文 献

- 1) 赤堀四郎・舟橋三郎 (1958) 実験化学講座24, 生物化学Ⅱ (丸善出版) : 284
- 2) 川合真一郎 (1969) 昭和44年度日本水産学会秋季大会シンポジウム「魚類の消化酵素」講演要旨 : 11-14
- 3) 武智芳郎 (1971) クロレラ—その基礎と応用, 学習研究社
- 4) 徳島県水産試験場 (1969) 魚類の種苗生産における餌料研究—人工配合餌料に関する研究, 魚貝類研究会資料
- 5) オリエンタル酵母工業 : 未発表
- 6) 田中 克・川合真一郎・山本章造 (1972) アユ仔稚魚の消化系の発達と消化酵素活性について, 日水誌, 38(10) : 1143-1152
- 7) 森下達雄・野田宏行・北御門学・高橋 喬・立野新光 (1964) 養殖魚の消化酵素について, 三重県立大学水産学部紀要