

鮎 (*Plecoglossus altivelis* T. & S.) の成長 に伴う消化酵素系の変化に就いて*

武 居 薫

Studies on the Change of the Digestive Enzyme
Systems with Growth of the Fish, *Plecoglossus*
altivelis TEMMINCK & SCHLEGEL

By

Kaoru TAKESUE

It would be of interest to know more of relations of digestive enzymes to different types of alimentary structure and the adaptations of digestive enzymes in food-habits.

The present paper deals with the investigation on the change of the digestive enzyme with growth in order to know the relations between the transformation period of their food-habits and the change of the chief digestive enzyme (Amylase, Lipase and Trypsin-like enzyme) in each organ. But, the analysis of the distribution of the carbo-hydrate-splitting enzymes in each part of the digestive organ was done only in adult fish.

The results can be summarized as follows:-amylase could not be detected, but trypsin and lipase was able to recognized at a period of about 4—5cm in body length. It appears that amylase enters their digestive enzyme system when the fish attains to the transforming period the vegetarian. The activity of amylase increased more remarkably than that of the other enzyme groups at their adult stage.

Among those carbohydrate-splitting enzymes, such as, amylase, maltase, glycogenase and invertase which may be distributed in each part of the digestive organs, those of first three were recognized in all parts of organ, stomach, intestine, liver & pancreas and pyloric coeca, and the activities of these enzymes were remarkable at the part of pyloric coeca, on the contrary, invertase could not be detected in any parts of the organ.

アユの養殖は可成り古くから行われているが、主として餌料の問題に関連した飼育上の困難が安定性のある養魚事業への発展を阻む原因の一つとなつて居る様に思われる。そこで本魚の消化機構特にその消化酵素の分布状態を生活史と結びつけて考究することによつて、本魚の養殖に於ける能率的な餌料配合の一基準を作る試みとして本研究を行つた。

アユの成長に伴う食性の変化に就いては、小林(1923~24)¹⁾は人工孵化した後、80日

* 水産講習所研究業績第103号 1933年10月, 日本水産学会中国, 四国支部大会(福山)にて発表

間の飼育に於ける消化管中の餌料の変化に就いて、阿部 (1933)²⁾ は海産稚鮎の食性の変化に就いて、更に本魚の天然餌料に就いては殖田・岡田 (1934~35)^{3, 4)} 石山 (未発表) 及びその他多数の報告がある。一方消化系の発達と食性の変化に就いては未広 (1935)⁵⁾、松井 (1938)⁶⁾ 等の詳細な研究がある。然し消化酵素との関係に就いては未だ報告されたものがない。本魚の如く生活形式と食性が著しく変化する魚では消化酵素も之等の変化に伴つて当然変ることが推察される。そこで既往の文献によつて識つた本魚の各消化器官形成の時期と食性の転換期とに於いて、主要な消化酵素群の発現期及びそれ等の変化の状態を知るために成長に伴う消化酵素系の変化並びにそれ等酵素群の至適作用条件をも調べた。更に成魚となれば専ら植物性食餌に変わる習性から、成魚に就いてその消化系各部に分布する炭水化物分解酵素を試験した結果、消化酵素上に顕著な変化が起ることが判つたのでその結果を報告する。

本研究に入る端緒と機会を与えられた本所教授松井勉博士及び石山礼蔵氏に深謝する。本研究をなすに当り親切な御指導と原稿の御校閲を賜つた東京水産大学教授小野豊樹博士に対し、又多くの有益な御教示をいただいた東京大学理学部石田寿老博士及び本所藤井実教授、赤築敬一郎氏に対し感謝する。更に材料の採集に当り山口県外海水産試験場の諸氏及び本所西川昇平氏からは多くの御協力をいただいたことに対し深く御礼申上げる。

材 料 及 び 方 法

供試魚はすべて採捕後、直ちに現場で後述の粗資料とした。成長に伴う消化酵素系変化の追跡には、食性の転換期と思われる平均体長約5cmから6cmの材料を山口県仙崎湾で、又9, 12, 18cmに夫々成長したものを仙崎町音訪川の下、中流で、昭和28年2月20日から全年8月29日の間に5回に亘り採集したものに就いて実験した。酵素試料は内臓全部を取り出して消化管内容物を可及的に除去した後、アセトン・エーテルで処理して脱水・脱脂したもの(粗資料)を実験室に持ち帰り真空デシケーターに3日間放置して充分乾燥し、タイラーの標準篩(100mesh/inch)を通したものをを用いた。

消化酵素力の測定は佐々木・小田切 (1951)⁷⁾、石田 (1936)^{8, 9)} その他の研究者の採用した方法に準じて下記の如く行つた。

アマラーゼ様酵素: 1%可溶性澱粉溶液10cc. 酵素試料(以下E. P. と略す) 50mgに賦活剤として10%NaCl溶液5cc. を入れSørensen $\frac{1}{15}$ M 磷酸塩緩衝液(pH=6.0) 10cc. を加えて31°C, 24時間消化した後E. P. を除去するため濾過し、その濾液を100cc. に容量して得た酵素消化稀釈液20cc. に就いて、Bertrand法で還元糖を完量しそれに相当する麦芽糖をmgで表わした。

リパーゼ様酵素: アルカリ精製したオリーブ油5cc. , E. P. 50mgに乳化及び賦活剤として20%CaCl₂溶液1cc. , 3%アルブミン溶液1cc. を入れ、5NNH₄Cl·NH₄OH緩衝液(pH=8.7) 10cc. を加え38°C, 12時間消化した後、局方アルコール20cc. 及びエーテル10cc. に溶解して1%チモールフタレイン溶液を指示薬として、 $\frac{1}{10}$ Nアルコール性KOH溶液で滴完して得た適定数の増加をcc. 数で表わした。

トリプシン様酵素: 5%カゼイン溶液5cc. , E. P. 50mgにSørensenの $\frac{1}{15}$ M 磷酸塩緩衝液(pH=7.9) 10cc. を加え33°C, 24時間消化した後、10%ズルホサリチル酸溶液20cc. を加え残余のカゼインを沈澱除去し、濾液を100cc. に容量して得た酵素消化稀釈液20cc. に就いてKjeldahl法により可溶性全窒素を定量しこれをmgで表わした。

成魚の消化系各部に分布するアミラーゼ・マルターゼ・インベルターゼ・グリコゲンナーゼの酵素力試験に就いては、それぞれ可溶性澱粉1%溶液10cc. , マルターゼ1%溶液10cc. , ナツカローゼ1%溶液5cc. , グリコゲン1%溶液10cc. を基質とし、尙アミラーゼ試験のみは賦活剤として10%NaCl溶液10cc. を加えた。更に Sørensen の $\frac{1}{15}$ M 磷酸塩緩衝液10cc. (pH=6.0, 6.3, 6.8)*¹⁰) 及び消化系各部の E. P. 50mgを作用させ31°C** , 48時間消化した後濾過し、その濾液を100cc. に容量して得た酵素消化稀釈液中、20cc. について Bertrand 法で還元糖を定量しそれに相当する Cu 量を mg で表わした。

尙蒸溜水は全硝子製装置により再蒸溜したものを使用し、消化作用試験中は防腐剤としてトルオール1cc. を加えた。

実 験 結 果

I. 各酵素に対する pH の影響

試料は平均体長 12cm 群より得た E. P. を使用し、その 50mg づつを採り種々の pH に就いて 35°C の恒温器に入れそれらの活力を求めた。その結果アミラーゼ様酵素では 6.0—6.1, リパーゼ様酵素では 8.7, トリプシン様酵素では 7.9 を得た (第 1 表)。

Table 1. Influence of pH on Amylase, Lipase and Trypsin.

Amylase		Lipase		Trypsin	
pH	Activity*	pH	Activity**	pH	Activity***
5.0	11.34	8.3	0.76	7.5	3.47
5.6	18.69	8.5	0.85	7.9	3.55
6.0	21.46	8.7	0.87	8.1	2.32
6.2	19.99	8.9	0.69	8.3	1.29
6.6	17.09	9.2	0.46	8.6	1.26
7.0	14.53				

* Reducing Sugar Cu in mg.
 ** Titer difference in cc. (1/10N KOH)
 *** Soluble Nitrogen in mg.

II. 各酵素に対する温度の影響

各酵素を、それぞれの至適 pH に保ち、作用温度 20—40°C の間に種々の温度をとりその活力を求めた結果、アミラーゼ様酵素では 30—31°C, リパーゼ様酵素では 38°C 附近、トリプシン様酵素では 33—35°C を得た (第 2 表)。

Table 2. Influence of temperature on amylase, lipase and trypsin.

Enzymes temp.°C	Amylase activity*	Lipase activity**	Trypsin activity***
20	14.98	0.56	2.31
30	26.11	0.78	3.16
33	24.82	0.82	3.51
35	22.01	0.84	3.44
38	17.00	0.89	3.09
40	10.26	0.77	2.89

* Reducing Sugar cu in mg.
 ** Titer difference in cc. (1/10N KOH)
 *** Soluble nitrogen in mg.

* 同一酵素でも分泌部分が異なればその至適 pH は一定しないため pH 区を 3 つ選び、その活力の最も強い値をもつて比較値とする。
 ** 石田 (1935)⁸⁾ により、かゝる必要がないので、アミラーゼ様酵素の至適温度をそのまま採用した。

以上の結果を総括すれば第3表の如くである。

Table 3. Optimum pH and temperature on amylase, lipase and trypsin.

	Amylase	Lipase	Trypsin
Optimum pH	6.0	8.7	7.9
Optimum temp. °C	30—31	38	33—35

III. 成長に伴う消化酵素系の変化

アミラーゼ様酵素：動物性食餌期である平均体長約 5 cm のものでは未だ該酵素の存在は認められなかつたが、漸次植物性食餌に移る平均体長 6—9 cm になると該酵素の存在が判然と認められ、更にその後は成長に伴い急勾配で増し、成魚に達すれば断然他の酵素群よりも優位であつた。

リパーゼ様酵素：該酵素は食性の転換期を契機として植物性食餌期に入るとアミラーゼ様酵素とほぼ同勾配で増加して行く事を見た。平均体長 6—9 cm の時代には殆んど増加現象は見られなかつた。

トリプシン様酵素：平均体長 5 cm 時代に既に、可成り強力な存在を示し、その後体長約 10 cm に至るまでは急激な増加が見られたが更に食性が漸次変化するにも拘らず成魚になつても殆んど一定の値を示している。

以上3酵素の成長に伴う変化は図1に示し、実験結果は第4表に示した。

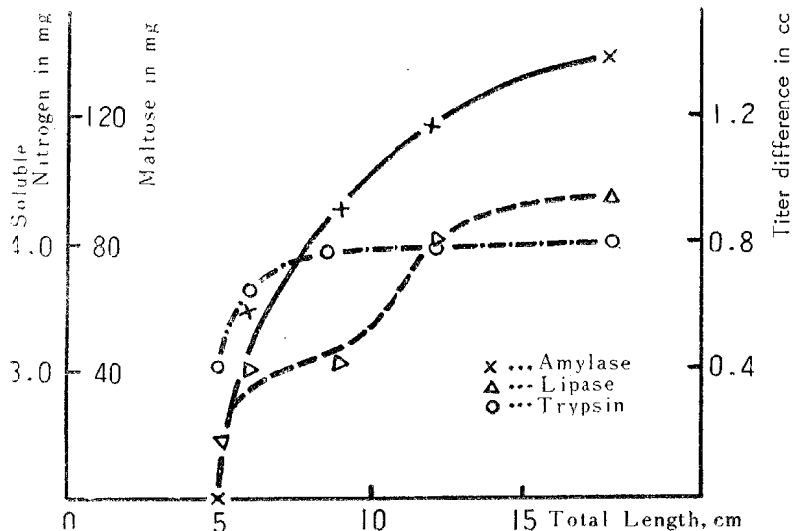


Fig. 1. Showing the change in three digestive enzymes accompanied with growth of the fish, *plecoglossus altivelis*.

Table 4. The change of three enzyme activities in each total length accompanied with growth.

Stage	Total length in cm.	Amylase maltose in mg.	Lipase titer difference in cc.	Trypsin soluble nitrogen in mg.
1	5	—	0.19	3.15
2	6	51.85	0.41	3.71
3	9	89.54	0.47	3.87
4	12	115.85	0.84	3.93
5	18	136.23	0.93	3.96
Control*	—	—	19.39	0.11

*Stage 4. boiled for 10 mins.

IV. 成魚の各消化器官に分布する炭水化物分解酵素

各消化器官共、各炭水化物分解酵素の活力はアミラーゼ、マルターゼ、グリコゲナーゼの順であつた。3酵素共消化系各部に分布しているのに反して、インベルターゼは消化系各部に亘り認められなかつた。分布の状態は幽門垂の部分で著しく、他の部分の約2倍を示し、胃の部分と腸の部分では前者が稍々強力であつた事は3酵素に就いて共通である(第5表)。アユの消化系各部に分布する炭水化物分解酵素の作用力はpHが6.0—6.8の範囲では、どれも著しい差は認められなかつた。哺乳動物と異り魚類一般に適應される事であるが、本魚の場合も亦アミラーゼ、マルターゼは共に腸の部分よりも脾臓の部分に多く含まれていた。

Table 5. Distribution of the carbohydrate-splitting enzymes in the digestive systems of the adult fishes.

	Amylase cu in mg.	Maltase cu in mg.	Invertase cu in mg.	Glycogenase cu in mg.
Stomach	34.22	19.32	—	9.75
Intestine	30.64	19.01	—	9.23
Liver pancreas	40.29	21.79	—	25.15
Pyloric coeca	75.02	37.92	—	33.00

考 察

アユの食性から考え、体長5cm程度迄はアミラーゼ様酵素の存在は見られず、該酵素の発現期が植物性食餌に転移する体長約6—9cmにあることは本魚の食性と良く対応して居り、而も食性が変化するこの時期に成長すると急激に、可成り著明に認められることから該酵素は適應酵素と考えられるが然し、末広(1935)は体長1—2cm時期に短期間ではあるが *Halosphaera* の如き微細な浮遊性植物を捕食する事実を指摘している。又石山(未発表)は琵琶湖産稚鮎の食餌に就いて体長0.5cm時期に *Copepoda* の如き動物性食餌を捕食する事実を指摘している。これらの事実からすれば、極めて幼期にどの様な酵素が発現し、又それらの酵素が体長5cmに達するまでにどの様な消長をするかは興味深いことであるのみならず本魚の養殖上最も困難な孵化後約3ヶ月間の稚魚時代の飼育に於ける重要な課題である。

アユの消化管は主として植物性餌料を摂る魚にしては比較的短かい様である。従つて強力な分解酵素が存在しなくては消化作用を円滑に行う事は出来難い様に思惟される。松井(1938)は成魚型に達すると、食性に適應して菌系の退化に伴ない皺襞及び舌唇が発達し、これと同時に口腔内の粘液細胞が増加し、定着性餌料特に植物性餌料の摂取消化に都合よくなる事実を指摘している。本実験の結果、最初の消化器官である胃の部分に比較的強力な分解酵素が存在し、次いで幽門垂の部分は極めて強力な分解酵素が存在し彼等の食性に適應した現象を呈している。斯様に消化作用の出発点である口腔内から胃・幽門垂の部分へと逐次食性に適應した変化現象が見られる。既往の研究によれば魚種によつては、胃の部分にマルターゼ・グリコゲナーゼ等が存在することがあるが、これに就いては恐らくは肝臓或は脾臓の分泌腺に由来するものであらうと推論されている¹⁴⁾。然し本魚では胃の部分と肝臓—脾臓の部分では該各酵素共にその作用力がほぼ等しい事から、胃の部分に分布する該酵素の総てが肝臓—脾臓の分泌腺に由来されているものとは考えられない。胃そのものに何等かの機能があるのではなからうか。胃の組織学的観察については目下研究中である。

アユの養殖は各地で行われているが、それらの給与餌料の配合に於いて、以上の実験結果が

ら魚体の成長に伴なつてその栄養素の配合率に尙一層の考慮を要する様に思われる。従来(記録によると¹¹⁻¹³)、体長5—7cm時期に全然炭水化物を与えず蛋白、脂肪のみで飼育していることはこの時期には未だアミラーゼ様酵素が極めて弱いので、餌料の高度利用から観ると好ましいが、成魚に達すれば本実験結果から当然相当量の炭水化物を給与すべきだと考える。然るに成魚に達した後は増肉の根源を炭水化物に主として依存させる可きであるのに依然として蛋白・脂肪のみに仰いでいる事実は改良すべきではないかと思う。

要 約

アユの食性の転換に伴う、主要な消化酵素の変化を知り養鮎事業の給与餌料配合の一基準を作る目的で成長に伴う酵素系の変化を調べた。又成魚では消化系各部に就いて炭水化物分解酵素の分布を見た。

体長約5cmではトリプシン及びリパーゼ様酵素は認められたが、未だアミラーゼ様酵素は検出されなかつた。植物性食餌に移る体長約6—9cmになつて初めてアミラーゼの出現を見た。成魚の消化系各部に分布する炭水化物分解酵素の中、アミラーゼ・マルターゼ・グリコゲナーゼは消化器官の全部に分布し、特に幽門垂の部分で著しかつた。胃の部分に多くの炭水化物分解酵素が分布し短い消化管(腸管)の機能を補つている。此に反しインベルターゼは消化管全部に全然検出されなかつた。故に成魚の消化作用は主としてアミラーゼ・マルターゼ・グリコゲナーゼ等によるものと推察される。以上の結果に基いて従来の養鮎試験の餌料配合率についての不備な点を指摘した。

引 用 文 献

- 1) 小林彦四郎：1923—1924. 鮎卵の発生と稚魚飼育とに就て (1—3), 水研誌, 18 (7), 335—340 ; 20 (6), 197—207 ; 20 (7), 232—342.
- 2) 阿部 圭：1933. 鮎, 大日本水産会.
- 3) 殖田三郎・岡田喜一：1934. アユの天然餌料に関する研究 (1), 日本水産学会誌, 2 (5), 241—245.
- 4) 〃 〃 : 1935. アユの天然餌料に関する研究 (2—3), 日本水産学会誌, 3 (5), 275—280 ; 4 (4), 233—238.
- 5) 末広恭雄：1935. 魚類の消化系の発達と食性の変化に就て(予報), 動物学雑誌, 47(560), 349—352.
- 6) 松井 魁：1938. 鮎の消化系の発達と食性との関係, 水研誌, 33 (10), 1—13.
- 7) 佐々木林治郎・小田切敏：1951. 魚類内臓酵素の利用に関する研究 (1), 各種魚類内臓の酵素力に就て, 日本農芸化学会誌, 24 (8), 271, 350—352.
- 8) 石田寿老：1935. 魚類 Amylase の最適温度について, 動物学雑誌, 47 (565), 717—728.
- 9) 〃 〃 : 1935. 消化系及消化酵素より見たるブダヒの摂食性, 動物学雑誌, 47(564), 694—701.
- 10) 大谷武夫・中井甚二郎：1937. ヒメマス(ヒメマス)の蛋白消化酵素に就いて, 日本水産学会誌, 9 (1), 45.
- 11) 静岡県水産試験場：1934—1935. 浜名湖産小鮎利用試験, 静岡水試事業報告, 31—32, 166.
- 12) 石川久治：1936. 副業としての池中養鮎法, 福岡水試特別報告, 2, 1—27.
- 13) 石川久治・千葉茂：1939. 稚鮎一坪飼育法 (1), 各種配合餌料比較試験, 福岡水試時報, 2, 167—173.
- 14) 富山哲夫：1940. 餌料, 酵素化学工業全集, 厚生閣.