

オニテナガエビとクルマエビに対する飼料中の 大豆イソフラボンの安全性

川村拓生*1・秋山信彦*2

The Safety of Soybean Isoflavones in the Diet for *Macrobrachium rosenbergii* and *Penaeus japonicus*.

Takuo KAWAMURA and Nobuhiko AKIYAMA

Abstract

The present study investigated the effects of soybean isoflavones in the diet on the sex distribution, survival and growth of the two kinds of prawns, *Macrobrachium rosenbergii* and *Penaeus japonicus*.

A control diet (Con-d) made mainly of fish meal and three experimental diets containing glycoside soybean isoflavones (Gly-d), aglycone soybean isoflavones (Ag-d) and estradiol 17 β (E₂-d) were fed to the two kinds of prawns.

No differences were found in the sex distribution and survival rate of *M. rosenbergii* under the four diet feeding conditions. In addition, the similar growth rate was found among the prawns which were given Con-d or E₂-d, while slower growth was found in the prawns which were given Gly-d or Ag-d.

When we gave *P. japonicus* Con-d and the three experimental diets, the sex distribution and survival rate of the prawns showed the same results as those of *M. rosenbergii*. Postlarvae of *P. japonicus* which were given Con-d, Ag-d, or E₂-d showed a similar growth, but they showed a less growth when Gly-d was given. In contrast, the growth of juveniles of *P. japonicus* which were given Ag-d was better than that of the prawns given the other three diets. These results indicated that marked effects on sex distribution and survival rate weren't found when the two kinds of prawns were given the three experimental diets, but a growth difference was observed depending on factors such as species and developmental stage. Therefore, the safety of the diet containing soybean was suggested as long as the amount of soybean is as much as that of general compound diets.

緒 言

水産養殖に用いられている配合飼料の主原料は魚粉である。現在、イワシやサバなどの資源量の急激な減少にともない、飼料原料の価格は高騰している。このような中で、魚粉に替わる代替タンパクとして、タンパク質含有率が高い大豆油粕が飼料原料の一部として利用されている。大豆油粕には特徴的な成分として、イソフラボン、サポニン、レシチンなどが含まれている。その中でも、イソフラボンは主にマメ科の植物に多く含まれるフラボノイド系化合物

で、ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインの3種類の非配糖体(イソフラボンアグリコン)と、配糖体(ダイジン、ゲニスチン、グリシチン)があり、さらに配糖体には通常のもの以外にアセチル化、マロニル化したものがあるため、天然の状態では12種類が存在している(辻野・津崎, 2004)。これらのイソフラボンは特に大豆胚軸中に多く含まれている(Franke, 1994; 津崎, 1996)。大豆イソフラボンをはじめとする植物由来のイソフラボンは、その構造がエストロゲンに似ていることから、弱い女性ホルモン様作用を示し(辻野・津崎, 2004)、フィトエストロゲン(植物エストロゲン)と呼ばれている。

2007年1月24日受理

*1 東海大学大学院海洋学研究科水産学専攻 (Master's Course of Fishery Science, Graduate School of Marine Science and Technology, Tokai University)

*2 東海大学海洋学部水産学科 (Department of Fisheries, School of Marine Science and Technology, Tokai University)

他方、クルマエビ *Penaeus japonicus* は生殖巣の発達が未熟な体長 12~13cm 未満では雌雄とも同じ速さで成長するが、性成熟がはじまると成長は急に抑制され、その程度は雌より雄で著しい。そのため、体長 20cm を超える大型のクルマエビは、そのほとんどが雌である（静岡県栽培漁業センター・静岡県温水利用センター、1990）。養殖用種苗としては雌の方が成長が良いことから、金城（1996）はクルマエビのポストラバに対しプロゲステロンとエストラジオール 17 β (E₂) を添加した配合飼料を投与し、性比に及ぼす影響について調べている。その結果、プロゲステロンの投与は性比に影響を及ぼさないが、E₂ を飼料 1g あたり 1 μ g 添加すると雌化し、100 μ g 添加すると反対に雄化の傾向を示す可能性があるとして報告している。

Koshio *et al.* (1992) はオニテナガエビ *Macrobrachium rosenbergii* の稚エビに対する大豆タンパク質とカニタンパク質の栄養価を比較検討し、大豆タンパク質で飼料効率が優れたことから、良質なタンパク質源である可能性が高いとしている。また、Saitoh *et al.* (2000) は 2 軸エクストルーダー処理脱脂大豆による魚粉の代替を検討する目的で、クルマエビの成長試験を行っている。その結果、脱脂大豆を含有する全ての飼料区において、魚粉区と同様な成長が見られたと報告している。

このように、オニテナガエビとクルマエビでは代替タンパク質としての大豆タンパク質については研究され、適量であれば代替タンパクとして問題なく利用することが可能であると考えられている。しかしながら、大豆に含まれるイソフラボンのフィトエストロゲン作用についての検討はなされていない。そこで本研究では、クルマエビとオニテナガエビのポストラバ、稚エビ、親エビに対する、大豆イソフラボンの安全性を検討する目的で、大豆イソフラボンを配合した飼料を給餌しフィトエストロゲンによる雌性化、生残、成長に対する影響について調べた。

材料と方法

試験飼料：試験飼料としては、魚粉を主体とした対照飼料 (Con-d) に対し、大豆イソフラボンの配糖体抽出物（豊年イソフラボン-80; ホーネンコーポレーション製、以下配糖体とする）を配合したもの (Gly-d)、大豆イソフラボンのアグリコン体抽出物（ソイアクト-y; キッコーマン株式会社製、以下アグリコン体とする）を配合したもの (Ag-d)、比較のため E₂ を添加したもの (E₂-d) の 4 種類を作成した。

試験飼料には蛋白理論値を 47.6% に統一するために α 澱粉を 10~20% 加え調整した。また、等モル重量で比較したとき、大豆イソフラボンは E₂ の 1/10000 ほどの効力しか示さない。そして、豊年イソフラボン-80 における配糖体イソフラボンの含有率は 90%、ソイアクト-y のアグリコン体イソフラボンの含有率は 30% である。それらのことを考慮して、E₂-d と Gly-d 及び Ag-d が同等のホルモン力価を示すように配合比を調節した (Table 1)。

各種原料を混合後、100g に対し 60ml の割合で蒸留水を加えてよく練り、ミンチ機に通し整形した。それを 24 時間室内で自然乾燥させた後、50°C の乾熱機に 1 時間入れ乾燥させた。E₂ はエタノールに溶解した後、試験飼料 100g あたり 6 mg となるように噴霧器で吹きかけ乾燥させた。作製した飼料の一般成分分析による組成を Table 2 に示した。

試験飼料は、供試個体の大きさに合わせてミンチ機の口径を 1.6, 2.4mm のそれぞれで成型したもの、さらにこのペレットを粉碎し、目合い 1.25mm のふるいを通す、目合い 0.45mm で残ったクランブルの計 3 種の粒径を用意した。なお、完成した飼料は冷蔵庫で保存した。

飼料中の大豆イソフラボンがオニテナガエビの性比とポストラバの成長、生残に及ぼす影響実験：60×36×30 cm (L.W.H) のアクリル製水槽 4 個に上部濾過装置を取

Table 1 Composition of the experimental diets and theoretical figure of protein in the Con-d and three experimental diets, Gly-d, Ag-d and E₂-d.

Ingredient (%)	Experimental diets			
	Con-d	Gly-d	Ag-d	E ₂ -d
White fish meal	70.0	70.0	66.0	70.0
α -Starch	20.0	12.0	10.0	20.0
Fish oil	5.0	4.6	4.2	5.0
Vitamin mixture	2.5	2.3	2.1	2.5
Mineral mixture	2.5	2.3	2.1	2.5
Dosage of Functional Material Administration				
isoflavon-80		9.5		
SoyAct			16.3	
estradiol 17 β				0.006
Total (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Theoretical figure of protein (%)	47.6	47.6	47.6	47.6

Table 2 Proximate composition of ingredient of the Con-d and three experimental diets, Gly-d, Ag-d and E₂-d.

Proximate composition (%)	Experimental diets			
	Con-d	Gly-d	Ag-d	E ₂ -d
Water	7.79	8.80	8.75	9.34
Protein	47.03	46.32	46.06	48.61
Lipid	7.49	8.06	14.97	10.43
Ash	11.94	11.88	11.91	11.88
Carb	25.75	24.94	18.31	19.74

り付け、飼育水を循環した。水槽には供試個体の歩行面積を広げるためと、脱皮したエビのシェルターとしてプランクトンネット及びトリカルネットを入れた。各水槽には、頭胸甲長 1.69~2.64mm、平均体重 11mg のオニテナガエビのポストラバを50個体ずつ収容した。実験開始より80日後に、雌雄判別が可能である頭胸甲長約 10mm に達した個体を抽出し、第2腹肢の内突起の前にある雄性突起の有無で雌雄を確認し、雌の出現率 [雌の個体数/雌雄判別個体数×100] を調べた。また、実験開始時には供試個体の中から30個体を無作為に抽出し、2-フェノキシエタノールで麻酔後、頭胸甲長と全重量を測定した。実験開始より50、80日後には、各試験区の全生残個体の頭胸甲長と全重量を調べた。頭胸甲長の測定結果についてはばらつきが著しいため代表値を中央値で表し、Kruskal-Wallis 検定により実験区間の大きさの違いについて調べた。有意差が認められた場合のみ対照区と試験区の間で、2 試料中央値検定により各飼料間の差を判断した。4種類の飼料を1日3回、10、14、18時に給餌した。実験開始時には、各飼料を1回の給餌で0.3g、1日あたり計0.9g ずつ与え、供試個体の成長に合わせて1回の給餌量を0.5、0.7、1.0g と増加した。設定水温は30°Cとし、9~21時までの12時間白色蛍光灯を点灯させた。なお、3~4日に1度、水槽水の約8割を換水した。

飼料中の大豆イソフラボンがクルマエビの性比とポストラバの成長、生残に及ぼす影響実験：60×36×30cm (L.W.H) のアクリル製水槽4個それぞれに上部濾過装置を取り付け、飼育水を循環した。水槽には供試個体が潜砂できるように、粒径1mm以下の珪砂を厚さ約30mmとなるように敷いた。各水槽に頭胸甲長2.90~5.70mm、平均体重52mgのクルマエビのポストラバを100個体ずつ収容した。実験開始より145日後に交尾器があるものを雄、受精囊があるものを雌として雌雄を確認し、前述と同様の方法で雌の出現率を求めた。また、実験開始時には、供試個体の中から30個体を無作為に抽出し、2-フェノキシエタノールで麻酔後、頭胸甲長と全重量を測定した。実験開始より20、40日後には、各試験区の全生残個体の頭胸甲長と全重量を調べた。頭胸甲長については、前実験と同様の統計処理をした。4種類の飼料を1日1回、21時に与えた。給餌量は供試個体の成長に合わせて、0.5、0.7、1.0、1.5g と増加した。設定水温を24°Cとし、9~21時までの

12時間白色蛍光灯を点灯した。なお、3~4日に1度、水槽水の約8割を換水した。

飼料中の大豆イソフラボンがオニテナガエビの成長に及ぼす影響実験：設定水温30°Cのウォーターバスに、30×15×18cm (L.W.H) のガラス製水槽を20個設置し、それぞれの水槽には、頭胸甲長19.52~28.17mm、体重5.85~15.64gの雄、又は、頭胸甲長17.55~22.91mm、体重4.24~9.24gの雌を供試個体として1個体ずつ収容し、50日間飼育した。毎日各水槽内の脱皮殻の有無を確認し、脱皮が認められた翌日に、頭胸甲長と体重を計測し、頭胸甲長の脱皮間伸長率及び脱皮間増重率、脱皮間飼料効率を次式で求めた。

頭胸甲長の脱皮間伸長率(%) =

$$\frac{\text{脱皮後の頭胸甲長} - \text{脱皮前の頭胸甲長}}{\text{脱皮前の頭胸甲長}} \times 100$$

脱皮間増重率(%) =

$$\frac{\text{脱皮後の体重} - \text{脱皮前の体重}}{\text{脱皮前の体重}} \times 100$$

脱皮間飼料効率(%) =

$$\frac{\text{脱皮から次の脱皮までの間の増重量}}{\text{脱皮から次の脱皮までの間の総給餌量}} \times 100$$

これらの3項目についての統計処理は前実験と同様に行った。

また、実験開始時と終了時には全個体の頭胸甲長と体重を測定した。4種類の飼料を、毎日2回、10時と18時に与えた。給餌量は実験開始時の平均体重の約10%にあたる、雄には1g、雌には0.7gを与えた。試験飼料は直径90mmの深底シャーレに入れ、水槽内に沈めて摂餌させた。3時間後に残餌を回収し、湿重量を計測後、あらかじめ求めた換算値から乾燥重量に換算し、給餌量から差し引き摂餌量を求めた。各試験条件ともに、雄2個体、雌3個体の計5個体ずつとした。ウォーターバスでは9~21時までの12時間白色蛍光灯を点灯させた。なお、毎日21時に残餌を回収した後に、水槽水の約8割を換水した。

飼料中の大豆イソフラボンがクルマエビの稚エビの成長に及ぼす影響実験：アクリル製の120×30×25cm (L.W.H) の水槽を8区画に仕切り、12×30×25cm (L.W.H)

の各区画内には、粒径1 mm以下の珪砂を厚さ約30 mmとなるように敷いた。この水槽3個と濾過槽とを接続し、集中濾過方式で実験を行った。各区画内には、頭胸甲長21.00~28.65 mm、体重3.68~10.15 gの供試個体を1個体ずつ収容し、50日間飼育した。脱皮を確認した翌日に頭胸甲長と体重を計測し、前述と同様に頭胸甲長の脱皮間伸長率、脱皮間増重率、脱皮間飼料効率を求め、前実験同様の統計処理を行った。実験開始時と終了時には全個体の頭胸甲長と体重を計測した。4種類の飼料を、それぞれ6個体ずつに、体重の3%となるように給餌した。設定水温

は24°Cとし、3~4日に1度、水槽水の約8割を換水し、砂も洗浄したものと交換した。

結 果

飼料中の大豆イソフラボンがオニテナガエビの性比とポストラバの成長・生残に及ぼす影響実験

(1) 性 比

Con-dを与えた場合、実験開始より80日後には生残した33個体全てで雌雄判別できた。一方、Gly-dでは生残し

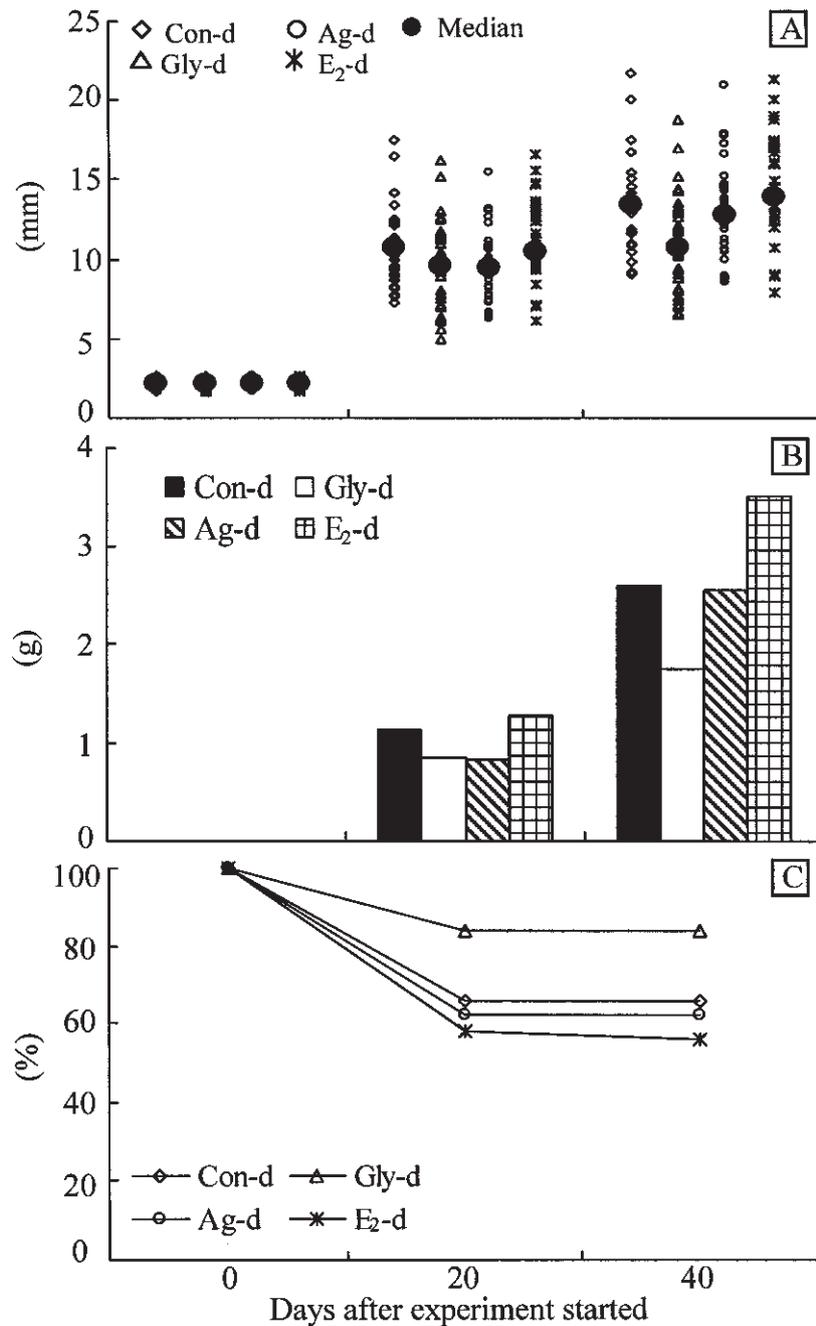


Fig. 1 Conversion of carapace length (A), mean weight (B), survival rate (C), of *Macrobrachium rosenbergii* in its postlarval stage fed on the Con-d and three experimental diets, Gly-d, Ag-d and E₂-d for 80 days.

た42個体中34個体、Ag-dでは31個体中29個体、E₂-dでは28個体中27個体が雌雄判別できた。雌の出現率は、Con-dでは66.7%で、Gly-d、Ag-d、E₂-dでは、それぞれ44.1、65.5、55.6%と各試験飼料とも著しい雌性誘導の傾向はみられなかった。

(2) 成長

実験開始時の頭胸甲長の中央値（最小値～最大値）は2.19 (1.69～2.64)mmであった。Con-dを与えて飼育した個体では50日後に10.70 (7.25～17.43)mm、E₂-dでは10.50 (6.13～16.60)mmとなった。また2種類のイソフラボン配合区では、Gly-dの場合で9.57 (5.00～16.18)mm、Ag-dで9.38 (6.29～15.37)mmとなり、これらの4実験区の間で有意差が認められた (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$; Fig. 1-A)。しかし、Con-dと各試験飼料間では、頭胸甲長の中央値に違いはみられなかった (2試料中央値検定)。80日後には、Con-dの場合で13.36 (9.01～21.64)mm、E₂-dでは13.96 (7.85～21.25)mm、Gly-dとAg-dのイソフラボン配合飼料ではそれぞれ、12.74 (8.55～20.90)mm、10.75 (6.51～18.71)mmとなった。これらの4実験区で差が認められ (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$)、Con-dと各試験飼料間で比較すると、Gly-dの場合のみCon-dより小さかった (2試料中央値検定, $p < 0.05$)。

実験開始時の1個体あたりの重量は11mgであった。Con-dの場合50日後には、1個体あたりの重量は1.12g、E₂-dでは1.26gであった。一方Gly-dとAg-dの場合では、それぞれ0.85、0.83gと少なかった。しかし実験開始80日後には、Con-dを与えた場合の1個体あたりの重量は2.58g、Ag-dでは2.53gと差はなくなった。一方、E₂-dの場合では3.51gとCon-dの場合より若干多くなったが、Gly-dの場合では1.75gと少なく、頭胸甲長の成長とほぼ同様の傾向がみられた (Fig. 1-B)。

(3) 生残

各試験飼料を与えた場合の生残率は、50日後までの間にGly-dの場合で84%であったが、他の3飼料では58～66%まで減少した。その後80日後までは、E₂添加飼料で1個体死亡しただけであった (Fig. 1-C)。

飼料中の大豆イソフラボンがクルマエビの性比とポスターバの成長、生残に及ぼす影響実験

(1) 性比

145日間各飼料を与えて飼育したところ、全個体で雌雄判別することができた。Con-dを与えた場合の雌の出現率は30%、E₂-dでは22%と大きな違いはみられなかった。一方、2種類のイソフラボン配合飼料の場合では、雌の出現率は共に50%となり若干高くなったが、著しい雌への偏りは認められなかった。

(2) 成長

実験開始時の頭胸甲長の中央値（最小値～最大値）は3.75 (2.90～5.30)mmであった。Con-dを与えた場合では20日後に4.58 (3.16～7.45)mmであり、E₂-dでは4.45 (3.08～7.03)mmであった。またGly-dとAg-dのイソフラボン配合飼料では、それぞれ5.14 (3.94～8.32)mm、5.13 (2.90～7.35)mmとなり、これら4実験区間に有意差が認められた (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$; Fig. 2-A)。さらにCon-dと各試験飼料間で比較すると、2種類のイソフラボン配合飼料の場合でCon-dより頭胸甲長の中央値が大きかった (2試料中央値検定, $p < 0.05$)。

40日後には、Con-dを与えた場合で5.90 (4.49～7.90)mm、E₂-dでは6.32 (4.62～7.75)mmとなった。またイソフラボン配合区では、Ag-dの場合で6.29 (5.02～7.81)mm、Gly-dで6.87 (5.76～8.28)mmとなった。これらの実験区間では差が認められ (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$)、Con-dと各試験飼料間で比較すると、Gly-dでのみCon-dより大きかった (2試料中央値検定, $p < 0.05$)。

実験開始時の1個体あたりの重量は52mgであった。Con-dを与えた場合では、20日後には5mg、E₂-dでは4mgの増加であった。一方、Gly-dでは31mg、Ag-dでは23mg増加した。しかし40日後では、Con-dで81mg、E₂-dで64mg増加し、Ag-dでは75mgの増加と差がなくなったが、Gly-dの場合では118mgの増加となり、頭胸甲長と同様にCon-dの場合よりも増加量が多かった (Fig. 2-B)。

(3) 生残

各試験飼料を与えた場合の生残率は20日後には、それぞれ43～55%、40日後は、それぞれ20～32%となり、大きな違いがみられなかった (Fig. 2-C)。

飼料中の大豆イソフラボンがオニテナガエビの成長に与える影響実験：オニテナガエビにCon-dを与えた場合の脱皮間隔の中央値（最小値～最大値、標本数）は14.5 (13～20, $n=10$)日、E₂-dでは16.0 (9～23, $n=9$)日であった。イソフラボン配合区の場合Gly-dでは21.0 (18～26, $n=6$)日、Ag-dでは17.0 (6～24, $n=11$)日であり、これら4実験区間に有意差が認められた (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$; Fig. 3-A)。さらにCon-dと各試験飼料間では、Gly-dの場合にCon-dより脱皮間隔が長かった (2試料中央値検定, $p < 0.05$)。

頭胸甲長の脱皮間伸長率は、E₂-dの場合で約25%と著しい増加率をみせた個体が少数あったが、中央値では5.9～11.0%の範囲であり、各飼料間で差は認められなかった。 (Kruskal-Wallis検定; Fig. 3-B)

Con-dを与えた場合の脱皮間増重率の中央値は26.8 (18.2～39.0, $n=10$)%、E₂-dでは27.5 (20.9～90.5, $n=9$)%であった。Gly-dとAg-dのイソフラボン配合飼料では、それぞれ14.7 (8.9～23.0, $n=6$)%、25.0 (6.1～

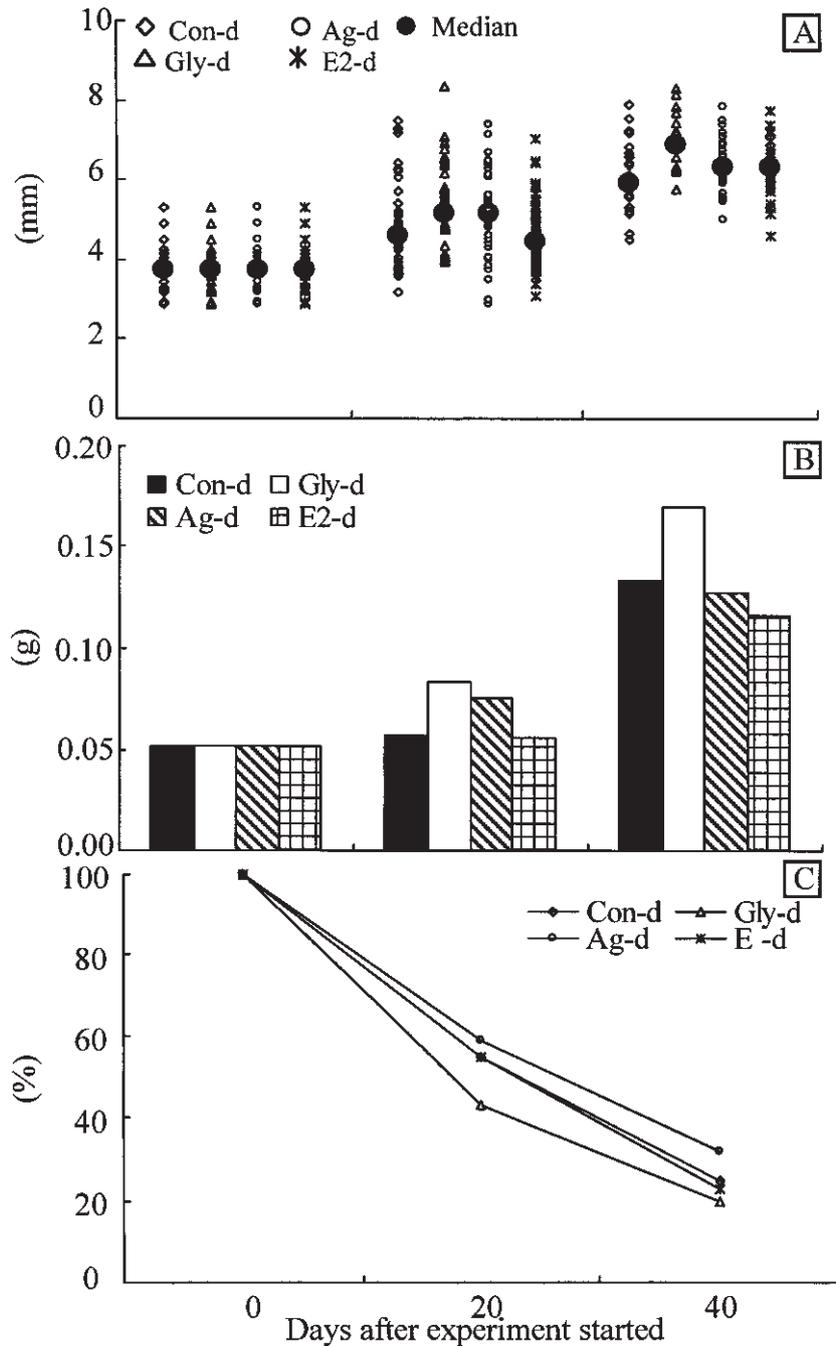


Fig. 2 Conversion of carapace length (A), mean weight (B), survival rate (C), of *Penaeus japonicus* in its postlarval stage fed on the Con-d and three experimental diets, Gly-d, Ag-d and E₂-d for 40 days.

36.5, n=11)%であった。これら4実験区間で差が認められ (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$: Fig. 3-C), Con-dと各試験飼料間で比較すると, Gly-dでのみCon-dより増重率が低かった (2試料中央値検定, $p < 0.05$)。

体重1gあたりの1日の摂餌量の中央値は, Con-dを与えた場合で22mg, E₂-dの場合には12mgと少なかった。脱皮間飼料効率の中央値は, Con-dでは11.0 (5.9~17.5, n=10)%, E₂-dで12.0 (7.9~21.3, n=9)%であった。Con-dより脱皮間隔が長く, 増重率も低かったGly-dで

は, 摂餌量の中央値は44mgと多く, 脱皮間飼料効率の中央値は3.6 (2.3~8.8, n=6)%であった。Ag-dでは摂餌量が22mgとCon-dと等しかったが, 脱皮間飼料効率は8.3 (5.4~14.7, n=11)%と低かった。各飼料を与えた場合の脱皮間飼料効率の中央値は有意に異なり (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$; Fig. 3-D), Con-dと各試験飼料間では, 2種類のイソフラボン配合飼料の場合にCon-dよりも低かった (2試料中央値検定, $p < 0.05$)。

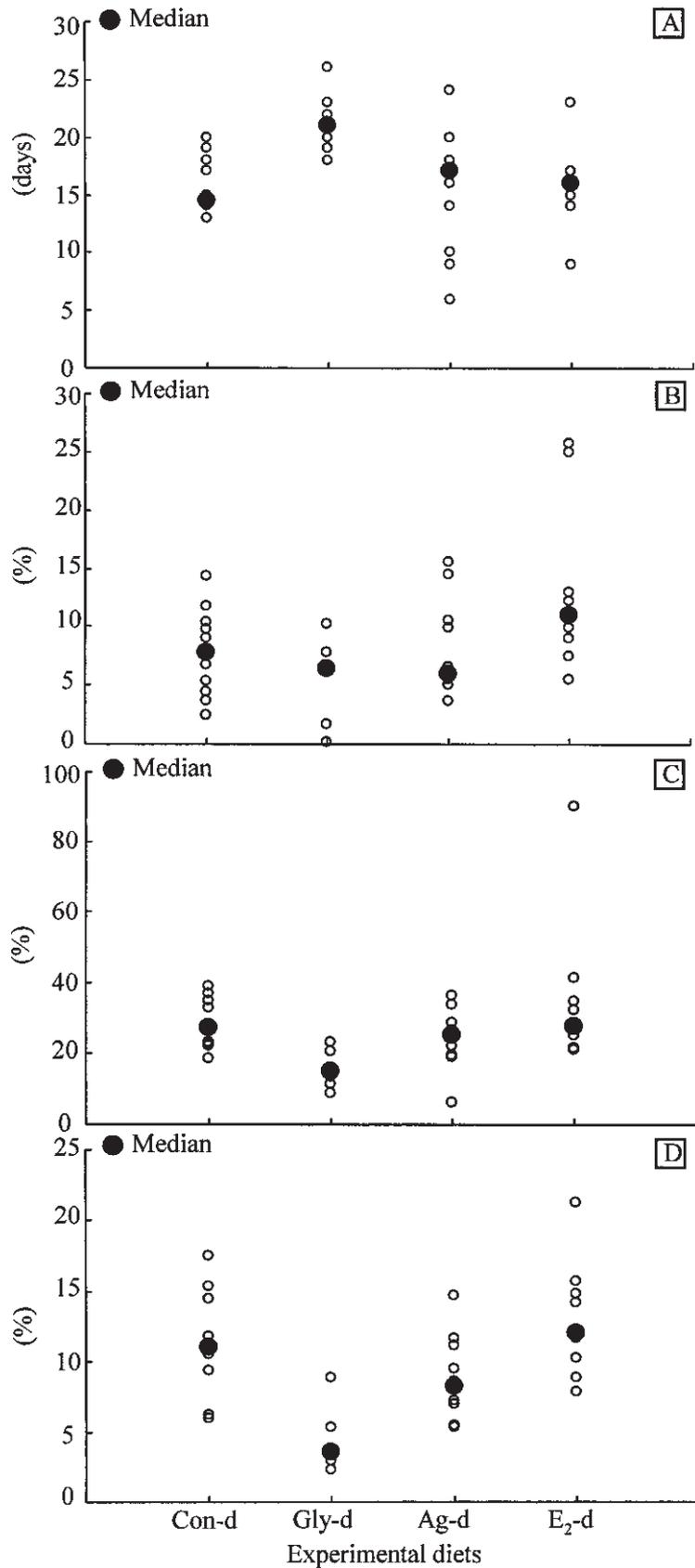


Fig. 3 Molting interval (A), growth rate of carapace per molting interval (B), gain rate of weight per molting interval (C), feed efficiency per molting interval (D), of adult *Macrobrachium rosenbergii* fed on the Con-d and three experimental diets, Gly-d, Ag-d and E₂-d for 50 days.

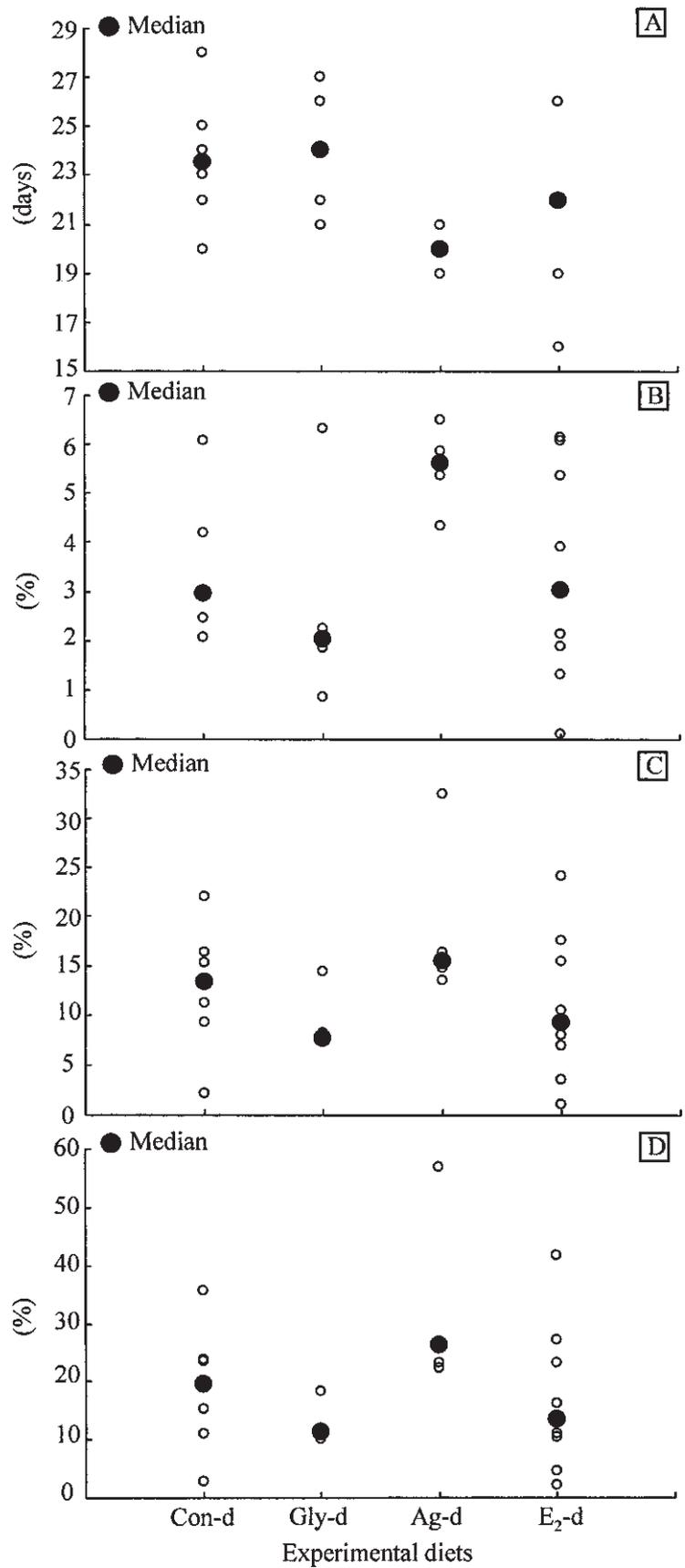


Fig. 4 Molting interval (A), growth rate of carapace per molting interval (B), gain rate of weight per molting interval (C), feed efficiency per molting interval (D), of juvenile *Penaeus japonicus* fed on the Con-d and three experimental diets, Gly-d, Ag-d and E₂-d for 50 days.

飼料中の大豆イソフラボンがクルマエビの稚エビの成長に及ぼす影響実験：クルマエビに各飼料を与えた場合の脱皮間隔の中央値は20.0~24.0日の範囲で有意差は認められなかった (Kruskal-Wallis 検定; Fig. 4-A)。また、脱皮間伸長率の中央値は2.0~5.6% (Fig. 4-B)、脱皮間増重率の中央値は7.7~15.4% (Fig. 4-C)、脱皮間飼料効率の中央値は11.2~26.2% (Fig. 4-D) の範囲となり、いずれの場合も差は認められなかった (Kruskal-Wallis 検定)。

考 察

本研究では、オニテナガエビとクルマエビに大豆イソフラボンを配合した飼料を与え、フィトエストロゲンによる雌性化、成長、生残への影響を調べた。その結果、オニテナガエビでは、80日間各飼料を与えた場合の生残率は、対照区で66%だったのに対し、2種類のイソフラボン配合区では、それぞれ84, 62%, E₂添加区では56%であった。一方クルマエビでは、40日間各飼料を与えて飼育した場合、対照区の生残率が25%、2種類のイソフラボン配合区が、それぞれ20, 32%であり、E₂添加区では23%で、オニテナガエビとクルマエビ両種でイソフラボン、またはE₂を添加したことによる生残の著しい悪化は観察されなかった。

Con-dをオニテナガエビのポストラバに与えた場合の雌の出現率は66.7%だったのに対し、Gly-d, Ag-d, E₂-dの3種では、44.1~65.5%とCon-dとほぼ同じかそれより低かった。クルマエビでは、ポストラバにCon-dを与えた場合に雌の出現率は30%であり、E₂-dでは22%であったが、2種類のイソフラボン配合飼料では共に50%となりCon-dより高かった。金城 (1996) はE₂を配合飼料に添加して、クルマエビのポストラバに対するホルモン投与効果を検討している。そして2回の実験で、E₂無添加の対照区では雌の出現率が、それぞれ51.3, 54.3%であったと報告している。E₂を添加した場合には、飼料1gあたり1μg添加した場合に雌の出現率は69.4%と高かったが、10μg, 100μgと添加量を増加させるに伴い雌の出現率は反対に60.0, 38.3%と低下している。本実験での添加量は60ng/gと金城の報告におけるE₂の最低添加量である1μg/gより少ない。本実験でのE₂添加区の雌の出現率が22%で対照区とほぼ同等であったことを考慮すると、E₂添加量は多すぎても、少なすぎても雌性誘導の効果はないと考えられた。また2種類のイソフラボン配合区では、対照区より雌の出現率が増加している。この結果については、今回繰り返し実験を行っていないため、雌性化を誘導したのか、誤差の範囲なのかについては明らかではない。しかしながら、この場合の雌雄比は雌：雄がほぼ1：1であることから、必ずしも雌化したとは言いきれない。さらに、大豆自体に含まれているイソフ

ラボンの量は2.0~5.4mg/gほどであり (扇谷ほか, 2002)、魚粉の代替タンパクとして配合飼料中に30~40%大豆を配合しても、飼料1gあたりのイソフラボンの含有量は0.6~2.16mgである。これをホルモン力価よりE₂含有量に置き換えると0.04~1.32ng/gほどである。本実験に用いた2種類の試験飼料1gあたりのイソフラボンの含有量は、Gly-dでは76mg (E₂換算値4.89ng)、Ag-dでは49mg (E₂換算値5.04ng)である。したがって、一般的な配合飼料に混合する飼料原料中のイソフラボン含有量は、本実験のイソフラボン配合量より著しく少ないので、オニテナガエビとクルマエビ両種のポストラバ以降に与えても、顕著な雌性誘導の傾向は示さないと考えられる。

Ag-dをオニテナガエビに与えた場合の頭胸甲の伸長や増重では、Con-dと差がなかった。しかし成体にAg-dを与えた場合では、脱皮間飼料効率の中央値がCon-dよりも2.7%劣っていた。またオニテナガエビのポストラバにGly-dを与えた場合、頭胸甲長の中央値がCon-dより2.61mm小さく、1個体あたりの重量が0.83g少なかった。さらに成体でも、Gly-dを与えた場合にCon-dより脱皮間隔の中央値が6.5日長く、脱皮間増重率と脱皮間飼料効率の中央値が、それぞれ12.1%, 7.4%低かった。以上により、オニテナガエビの場合では、飼料中のタンパク質の含有量が同等にもかかわらず、本実験条件のイソフラボン配合量では対照区より成長が劣ることが示唆された。

反対にクルマエビでは、ポストラバにGly-d与えた場合に頭胸甲長の中央値がCon-dより0.97mm大きく、1個体あたりの増重量は37mg多かった。一方稚エビでは、脱皮間隔、脱皮間伸長率、脱皮間増重率、脱皮間飼料効率の各項目で測定値のばらつきが大きく有意差は認められなかった。このように成長段階によって成長の差異が認められるものの、ポストラバ、稚エビいずれの場合も対照区より成長が劣ることはなかった。したがって、本実験条件以下のイソフラボン配合量であれば、クルマエビの成長に支障をきたさないと考えられた。

以上の諸結果より、大豆イソフラボンをオニテナガエビとクルマエビに与えた場合、種による違いや成長段階の違いによる成長率が若干異なることが認められたが、この理由については明らかにできなかった。またPiskula *et al.* (1999) 及び和泉ほか (2000) は、人やラットで2種類のイソフラボンの分子量の違いによる吸収効率の違いを報告しているが、今回の実験ではその差異は特に認められなかった。一方で、オニテナガエビとクルマエビ両種のポストラバ以降に大豆イソフラボンを経口投与した場合、成長が劣る場合があるが、フィトエストロゲンによる著しい雌性誘導の傾向や生残率の悪化は認められなかった。したがって、今回配合したイソフラボン量は試験飼料1gあたりGly-dでは76mg, Ag-dでは49mgと非常に多く、飼料全てを大豆にしても本実験のイソフラボン配合量よりもイ

ソフラボン含有量が少ないことから、大豆を飼料原料としても安全であると考えられる。

謝 辞

東海大学海洋学部教授の加藤登博士には試験飼料の一般成分を分析するにあたって、多大な御協力をいただいた。また、本実験に用いたイソフラボンは株式会社 J-オイルミルズより供与していただき、同社の磯部洋祐氏と齋藤三四郎氏には今回の実験の機会をいただくとともに、実験に関して様々ご助言をいただいた。また、東海大学海洋学部清水教育センターの郷司正彦教授には英文閲覧をしていただいた。東海大学大学院海洋学研究科水産学専攻博士課程前期田中基義氏、東海大学水産学科松浦智則氏は一般成分分析をする際におしめない強力をいただいた。これらの方々のご協力なくば、本研究を遂行することはできなかった。ここに深謝の意を表す。

また、本研究の一部は財) 杉山産業化学研究所の「杉山産業化学研究所研究活動助成」によるものである。ここに記して御礼申し上る。

文 献

- 和泉 亨・小幡明雄・大沢幸子・戸部光一郎・齊藤 実・片岡茂博・菊池 護・久保田芳郎 (2000), イソフラボンアグリコン及び配糖体のヒトでの吸収性について。日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, **54**, 94.
- 金城清昭 (1996), クルマエビポストラバに対するホルモ

ン投与効果 (甲殻類増養殖試験)。沖縄県水産試験場事業報告書, 1994, 140-142.

- Koshio, S., A. Kanazawa and S. Teshima (1992), Nutritional Evaluation of Dietary Soybean Protein for Juvenile Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*., Nippon Suisan Gakkaishi, **58**(5), 965-970.
- Okumura, T. and Sakiyama, K (2004), Hemolymph levels of vertebrate-type steroid hormones in female kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) during natural reproductive cycle and induced ovarian development by eyestalk ablation., Fisheries Science., **70**(3), 372-380.
- Piskula, M. K. J. Yamakoshi and Y. iwai (1999), Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach. FEBS Lett., **447**(2), 287-291.
- Saitoh, S., H. Harada, S. Koshino, S. Teshima, M. Ishikawa, K. Watanabe and T. Yoshida (2000), The Effect of Extruded Soybean Meal on Growth and Digestibility of Kuruma Shrimp, *Penaeus japonicus* Juveniles., Suisan Zoushoku, **48**(4), 649-655.
- 扇谷陽子・相沢 博・大谷倫子・藤田晃三 (2002), 大豆イソフラボンの量について産地による比較。札幌市衛星研究所年報, **29**, 83-89.
- 静岡県栽培漁業センター・静岡県温水利用研究センター (1990), クルマエビ種苗生産の手引き。みどり美術印刷株式会社, 静岡, 48.
- 津崎真一 他 (1996), 第1回 JsoFF 学術集会抄録集。
- 辻野浩代・津崎真一 (2004), 大豆の機能性研究の進展と加工利用, 大豆の健康利用と大豆イソフラボンの生理機能について。食品工業, **47**(2), 30-35.

要 旨

クルマエビとオニテナガエビに対する飼料中の大豆イソフラボンの安全性を調べた。

試験飼料は、魚粉主体の対照飼料 (Con-d) にイソフラボンの配糖体を配合したもの (Gly-d)、同じくアグリコン体を配合したもの (Ag-d)、比較のために E₂ を添加したもの (E₂-d) を用いた。

各飼料を与えた結果、オニテナガエビとクルマエビの両種でフィトエストロゲンによる著しい雌性誘導の傾向や生残の悪化は認められなかった。

オニテナガエビではイソフラボン配合飼料を与えた場合で Con-d の場合より成長が劣っていた。

反対にクルマエビでは、ポストラバに Gly-d を与えた場合に、Con-d より成長が優れていた。一方、稚エビでは Con-d と各試験飼料を与えた場合の成長に差はみられなかった。

以上より、オニテナガエビとクルマエビの種による違いや成長段階によって成長率に若干差異が認められるものの、両種のポストラバ以降に大豆イソフラボンを経口投与しても、著しい雌性誘導の傾向や生残の悪化は認められなかった。したがって、本実験のイソフラボンの配合量は飼料全てを大豆にした場合より多いことから、大豆を飼料原料としても安全であると考えられる。