

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12614

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25850141

研究課題名(和文)水溶性タンパクを付加した新しい仔魚用人工飼料の開発

研究課題名(英文)Development of a new microdiet supplemented with water soluble protein for fish larvae

研究代表者

芳賀 穰(Haga, Yutaka)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・准教授

研究者番号：00432063

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、水溶性タンパク質に富むシラス由来の非加熱タンパク質を配合した微粒子飼料の効果調べた。シラスから調整した加熱および非加熱魚粉を作成し、これらを各々配合した微粒子飼料を孵化後15日目のヒラメ仔魚に与えた。その結果、配合飼料区の飼育成績は、対照区よりも有意に劣ったものの、配合飼料区間では、消化管中に配合飼料が観察される個体の割合が有意に高かった( $p < 0.05$ )。全長および発育についても孵化後35日目及び40日目において非加熱魚粉飼料区が加熱魚粉飼料区よりも有意に大きく、より進んだものがみられた( $p < 0.05$ )。非加熱魚粉飼料中の水溶性タンパク質が飼育成績を改善させたと推察された。

研究成果の概要(英文)：This study examined effect of non-heated fish larvae-based fish meal diet on survival, development and growth of Japanese flounder larvae. Survival and growth of fish fed diets prepared from fish larvae were lower than that of the control fed on live prey. However, growth and percentage of fish ingested the diet were higher in the group of non-heated fish meal group ( $p < 0.05$ ). More advanced stage of fish were also seen in fish fed non-heated fish larvae based fish meal diet than that fed heated fish larvae based fish meal diet ( $p < 0.05$ ). Improved growth seemed to be promoted by intake of dietary water soluble protein rich in non-heated fish larvae based fishmeal.

研究分野：水族栄養学

キーワード：水溶性タンパク 仔魚 微粒子飼料

### 1. 研究開始当初の背景

海産魚類の種苗生産は、未だにワムシやアルテミアなどの動物プランクトンに依存している。しかし、動物プランクトンには、海産魚類の必須栄養素である高度不飽和脂肪酸が含まれていないため、給餌前には必ず栄養強化する必要がある。また、ワムシの培養では、濃縮した藻類を利用した高密度培養法が確立されたものの、濃縮藻類は長期間保存できないという欠点がある。また、生物餌料の培養には熟練した技術が要求されることから培養に不調をきたす欠点も未解決なままである。さらに、生物餌料の培養槽は、病原微生物が繁殖しやすいため、常に感染症のリスクを抱えている。これらの問題点を解決するには、生物餌料に代わる人工飼料を開発する必要がある。

海産仔魚のえさに求められる条件を考えると、人工飼料と生物餌料には、各々の欠点がある。例えば、生物餌料には、大量培養や保存性、海産魚の必須栄養素を含まないという欠点がある。一方、人工飼料には、仔魚には消化吸収が困難であるという欠点がある。また、人工飼料は浮遊性を欠くため、給餌頻度を大幅に上げる必要があるものの、それに伴って水質が悪化するという欠点もある。しかし、人工飼料の給餌やそれに伴う水質悪化については、新技術の開発により解決の目途が立ちつつある。そこで、人工飼料のもう一つの問題点である消化吸収の悪さを改善することが最も重要であると考えられる。また、これまでも生物餌料と人工飼料を給餌した仔魚の体内の栄養成分の変動についての研究がおこなわれてきたものの、高度不飽和脂肪酸の魚体内への取り込みに関するものがほとんどであり、タンパク質やアミノ酸の取り込みや蓄積に関する研究は限られている。

### 2. 研究の目的

海産魚類では、胃腺が機能的となる稚魚期までは、配合飼料を摂取したとしても消化吸収することが出来ない。脂質や糖質の消化吸収機構は、仔魚期と稚魚期以降で同様であるが、タンパク質は異なる。すなわち、海産魚類の仔魚は、腸の上皮細胞が飲作用により直接タンパク質やペプチドを取り込む。これまでの研究では、仔魚期に特徴的な消化吸収機構に配慮した人工飼料の開発が試みられた例は少ない。アユでは、加熱した魚粉では水溶性タンパク質含量が低下して、消化吸収性が低くなることが指摘されている。開口直後の仔魚に給餌するワムシには、吸収に適した低分子の水溶性タンパクなどが含まれている可能性があるがこれらの有効性が調べられた例はない。そこで、本研究では人工飼料の消化性を改善するための原料として水溶性タンパクが有効か否かを調べる。

また、天然仔魚に摂餌される天然動物プランクトンには高度不飽和脂肪酸以外にも遊離アミノ酸が豊富に含まれており、魚類への蓄積や吸収に関する知見はきわめて少ない。そこで、天然動物プランクトンと現在の種苗生産現場で用いられているアルテミアなどをヒラメ仔魚に給餌して、タンパク質含量やアミノ酸組成への影響を調べた。

### 3. 研究の方法

魚粉原料として、市販のカタクチイワシ *Engraulis japonicus* のシラスの全魚体をミキサを用いてミンチにしたものを凍結乾燥した非加熱魚粉および同ミンチを 100 で 6 時間加熱して作製した加熱魚粉を作成した。この魚粉に飼料全体のタンパク質含量が 60% となるようにタウリン、 $\alpha$ -スターチ、DHA、レシチン、ミネラル、ビタミンなどを混合し、ニーダーを用いて 25 で 3 時間攪拌して微粒子配合飼料を作製した。この飼料を孵化後 15 日目の実験開始時平均全長 5.4 mm のヒラメ稚魚に 16 日間 (40 日目まで) と与えて、摂餌活性、飼育成績を調べた。試験区設定は加熱魚粉飼料区 (HFM 区)、非加熱魚粉飼料区 (NHFM 区)、生物餌料区 (LF 区) の 3 つを設定した。二重反復で行い、1 試験区 2 水槽、計 6 水槽を使用した。実験 2 では、孵化後 15 日目のヒラメ仔魚を 6 つの水槽に分け、孵化後 40 日目まで各々冷凍アルテミア、市販の冷凍コペポータ、および生きたアルテミアを給餌した。

生物餌料は 1 日 1 回、微粒子配合飼料を 1 日 10 回給餌した。生物餌料については孵化後 15-24 日齢には S 型ワムシとアルテミア幼生を、25-40 日齢にはアルテミアのみを給餌した。ワムシとアルテミアはナンノクロロプシスを給餌して培養し、10:00 に栄養強化剤を用いて栄養強化し、微粒子配合飼料の給餌量は Wang et al. (2004) を参考に行った。飼育中の水温は 18.0、換水率は 1 日 100-400% に調節した。試験開始時から終了時まで、5 日間おきに各水槽 30 尾ずつサンプリングし、全長の測定、発育ステージの判定、摂餌の確認を行った。

ワムシおよびアルテミアは分析を行う前に 15 分間遠心分離し、分析に使用した。水分含量は常圧加熱乾燥法により測定した。

粗タンパク質含量はケルダール法により定量した。窒素含量に窒素係数 6.25 との積で粗タンパク質含量を算出した。

粗脂肪はクロロホルム/メタノール混液を用いて抽出し、定量した。脂質は、水酸化カリウムによりケン化し、3 フッ化ホウ素メタノールを用いて得た脂肪酸メチルエステルをヘキサンで希釈しガスクロマトグラフィにより分析した。

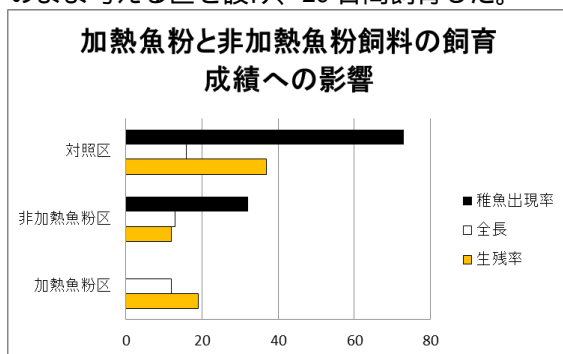
総アミノ酸の分析は 4 mol/L のメタンスルホン酸二より分解し、アミノ酸自動分析器を用いて分析した。遊離アミノ酸の分析では

2%スルホサリチル酸により分解し、同様にして分析した。水溶性タンパク質は、20倍量の蒸留水で抽出したタンパク質を上述と同様にして算出した。分析結果はTukeyの多重比較検定によって各試験区間の有意差を検出した。

#### 4. 研究成果

シラスから調整した加熱および非加熱魚粉を作成し、これらを各々配合した微粒子飼料を孵化後15日目のヒラメ仔魚に26日間与えた。対照区には、動物プランクトンを飽食給餌し、配合飼料区にはその1/3の生物餌料を配合飼料と併用給餌した。その結果、配合飼料区の飼育成績は、対照区よりも有意に劣ったものの、配合飼料区間では、消化管中に配合飼料が観察される個体の割合が有意に高かった( $p < 0.05$ )。全長についても孵化後35日目及び40日目において非加熱魚粉飼料区が加熱魚粉飼料区よりも有意に大きくなった( $p < 0.05$ )。また、発育ステージも孵化後35日目及び40日目において非加熱魚粉飼料区が加熱魚粉飼料区よりも発育段階の進んだ仔魚の出現率が有意に高かった( $p < 0.05$ )。水溶性タンパク質含量は、非加熱魚粉飼料の方が加熱魚粉飼料よりも高かった。

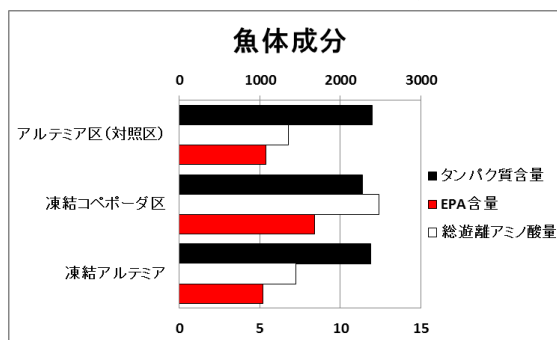
次に水溶性タンパクに富むと考えられる天然動物プランクトンならびにアルテミアノープリウス幼生を15日齢のヒラメ仔魚に給餌して、飼育成績ならびに体成分を調べた。市販の凍結天然動物プランクトンおよびDHA強化後に冷凍したアルテミアノープリウス幼生を与える区を設け、比較対象としてDHA強化したアルテミアノープリウス幼生をそのまま与える区を設け、26日間飼育した。



その結果、生残率、成長および発育については、市販の凍結天然動物プランクトンおよびDHA強化後に冷凍したアルテミアノープリウス幼生を与える区の間には差は見られなかった。しかし、魚体内の成分では、凍結コペポータダを与えたもののエイコサペンタエン酸ならびに遊離アミノ酸含量が有意に高かった( $p < 0.05$ )。

以上のことから、水溶性タンパクを含む飼料は、ヒラメ仔魚の飼育成績の向上に有効であることが示唆された。また、天然動物プラン

クトンを与えると、仔魚の遊離アミノ酸の蓄積量が増加することが示唆された。



#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1) Yutaka Haga, Hikari Ohtoshi, Reiji Masuda, Tomoko Itoh, Shin Gyonho, Shuichi Satoh. DEVELOPMENT, GROWTH AND FEED INTAKE OF JAPANESE FLOUNDER *Paralichthys olivaceus* LARVAE AND JUVENILE FED A NON-HEATED FISHMEAL BASED DIET. World Aquaculture 2015, May 27th 2015, 「Jeju(Korea)」.

2) 大歳光・芳賀 穂・益田玲爾・伊藤智子・申鏡浩・佐藤秀一. ヒラメ仔稚魚の発育および飼育成績に及ぼす非加熱魚粉配合微粒子飼料および水溶性タンパク質の影響. 日本水産学会秋季大会、2014年9月20日、「三重大学(三重県・津市)」.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

芳賀 穰 (Haga Yutaka)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・准教授

研究者番号：432063

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：