

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380117

研究課題名(和文) 消化管ホルモンと成長因子を指標とした新規魚粉代替飼料の開発

研究課題名(英文) Development of new low fishmeal diet using hormonal indicators

研究代表者

深田 陽久 (Fukada, Haruhisa)

高知大学・自然科学系・准教授

研究者番号：10380304

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：海産養殖魚用飼料の主成分として大豆タンパク質を多量に使用した際、1)消化・吸収率の低さ、2)魚類の成長に必要なアミノ酸の不足によって従来の魚粉を用いた飼料よりも成長が劣る。これらの改善を、消化管ホルモンと成長因子を指標として行い、以下の成果を得た。消化を促す成分は魚粉の水溶性画分に存在すること。低魚粉飼料(魚粉含量10%)で不足するアミノ酸は魚粉のロットにより異なる事。これらのことから、低魚粉飼料には魚粉を10%配合することとし、魚粉のロット毎に不足するアミノ酸を添加した飼料を作製し、飼育試験を行った。その結果、成長もしくは飼料効率の改善が見られたが、さらなる改善が必要である。

研究成果の概要(英文)：High inclusion levels of soy protein in fish feed for yellowtail result in low growth, because of low digestibility and/or amino acid(s) deficiency. Gut hormone and growth factor were used as indicator to improve those problems. In digestibility, the strong stimulation of gut hormone synthesis and digestive enzyme released was occurred by water-soluble fraction from fishmeal, therefore we decided to blend at least 10% fishmeal for yellowtail feed (LFM). Lacked amino acid(s) in LFM were different by the production lot of fishmeal, but some amino acids were found as deficient amino acid(s) in the diet. Growth performance in fish fed LFM was improved by dietary supplementation of deficient amino acid(s), however further improvement was need to obtain equivalent growth to traditional high fishmeal feed.

研究分野：魚類栄養生理学

キーワード：水産学 栄養学 養魚飼料 成長因子 消化管ホルモン

## 1. 研究開始当初の背景

海産養殖魚用飼料の主成分は、天然魚を原料としたタンパク質(魚粉)である。近年、持続可能な養殖漁業のために、「魚を餌とした魚の生産」から、「魚以外のものを餌とした魚の生産」が進められている。魚粉に代わりうるタンパク質原料には、主に大豆タンパク質(大豆油粕、濃縮大豆タンパク質)がある。大豆タンパク質を多量に使用した際、従来の魚粉を主体とした飼料に比べて成長が劣る。これまで、養殖魚の飼料開発では飼料の栄養成分が研究対象となることが多く、飼料を作り、それを魚に与えることで評価が行われてきた。この方法では魚の生理機構が十分に考慮された飼料開発は困難である。また、ブリは日本の主要な養殖対象種にも関わらず、成長や消化に関する知見は乏しく、生理学的知見に基づいた飼料開発が必要である。

## 2. 研究の目的

大豆タンパク質を多量に配合した餌では、養魚の成長が劣る理由として、1)大豆タンパク質の消化・吸収率の低さ、2)魚類の成長に必要なアミノ酸の不足があげられる。これらの原因を、消化管ホルモン(コレシストキニン:CCK)と成長因子(インスリン様成長因子-1:IGF-1)を指標として解明し、濃縮大豆タンパク質を主タンパク質源とした従来の魚粉飼料に劣らないブリの新規飼料を開発することを本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

試験には全てブリ幼魚を用いる。

【消化・吸収率の改善】消化管ホルモン CCK と消化酵素トリプシンを指標として、魚由来の誘導成分の検索。応答が見られた物質または原料を濃縮大豆タンパク質飼料に添加し、消化・吸収率の改善を確認。

【不足アミノ酸の検索】成長因子 IGF-1 を指標として、濃縮大豆タンパク質を主タンパク質源とした飼料を給与した際に魚体で不足しているアミノ酸を検索。不足アミノ酸を添

加した飼料を作製し、IGF-1 遺伝子発現量を確認するとともに、成長を確認。

上記の知見をあわせた濃縮大豆タンパク質を主タンパク質源とした飼料を作製し、飼育試験を行う。消化吸収率・成長成績を評価する。

## 4. 研究成果

### 【消化・吸収率の改善】

CCK の遺伝子発現量と消化酵素のトリプシンの活性を指標として、それを誘導する魚粉の成分を検索した。魚粉を水溶性画分と不溶性画分に分け、in vivo と in vitro 試験において CCK 合成とトリプシン分泌は、ともに水溶性画分 > 魚粉 > 不溶性画分の順で強く誘導された。以上のことから、水溶性画分に誘導成分があることが明らかになり、その分子量は電気泳動によって分子量 1,000 以下であった。そこで誘導成分の候補として、遊離アミノ酸を用いて検討したが、水溶性画分ほど強く CCK 合成とトリプシン分泌を誘導しなかった。これらのことから、アミノ酸が複数存在すること、もしくは核酸成分など他の成分の共存がそれらの誘導には重要と考えられた。飼育試験には、水溶性画分を大量に調整することは困難なため、魚粉を 10%含ませることとした。

### 【不足アミノ酸の検索】

飼料中魚粉を 10%まで削減した飼料(嗜好性原料としてオキアミを 4 または 5%含む)で馴致したブリ幼魚の背部筋肉中に水溶性アミノ酸の投与を行い、筋肉 IGF-1 の応答を確認した。本試験は魚粉のロット毎に確認を行った。その結果、魚粉 1 では、グルタミンとプロリン IGF-1 が増加し、これらのアミノ酸が飼料中に不足していると考えられた。

魚粉 2 では、必須アミノ酸では、アラニンとグルタミン、非必須アミノ酸では、リジン、ヒスチジンおよびメチオニンが不足していると考えられた。

### 【飼育試験】

対照飼料に高魚粉飼料（魚粉含量 60%以上）を用い、試験飼料には魚粉含量 10%とし、主タンパク質源として濃縮大豆タンパク質を用いた低魚粉飼料を用いた（嗜好性原料としてオキアミを 4 または 5%含む）。これに必須アミノ酸とタウリンを補足するとともに、IGF-1 によって不足するとされたアミノ酸を添加した。その結果、魚粉 1 を用いた試験では、プロリンを対照飼料より 2%多くなるように添加することで、対照飼料区と同等の成長が得られた（試験終了時平均体重：対照区 = 277.6g, プロリン区 = 276.1g）。魚粉 1 を用いた飼料効率は対照区で 48.3%, プロリン添加区で 46.3%でありほぼ同等であった。魚粉 2 を用いた非必須アミノ酸の添加では、アラニンとグルタミンの複合添加によって大幅に低魚粉飼料の成長は改善されたが（試験終了時平均体重：対照区 = 470.8g, 複合添加区 = 391.9g, 未添加区 = 343.3）, 対照区には及ばなかった。この際の飼料効率は対照区で 70.1%, プロリン添加区で 45.7%, 未添加区で 44.4%であり対照区と大きな差が見られた。魚粉 2 を用いた必須アミノ酸の添加では、メチオニンとリジンの複合添加によって低魚粉飼料の成長は改善されたが（試験終了時平均体重：対照区 = 393.7g, 複合添加区 = 328.8g）, 対照区には及ばなかった。この際の飼料効率は対照区で 64.2%, 複合添加区で 56.4%であり差が見られたが、非必須アミノ酸の添加時よりも改善が見られた。

以上のことから、低魚粉飼料として魚粉を 10%配合し、さらに IGF-1 によって検索されたアミノ酸を添加することで、成長または飼料効率を改善できることがわかったが、質の良い魚粉を用いた高魚粉飼料と同等の成長を得るためには、さらなる改善が必要である。

#### 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 6 件)

Kaoian P, Ogita H, Watanabe H, Nishioka M, Kanosue F, Nguyen HP, Fukada H, Masumoto M. Effects of taurine supplementation to low fish meal practical diet on growth, tissue taurine content and taste of 1 year yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture Science*, 62, 415-423, 2014. 【査読有】

<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/aquaculturesci>

Kaoian P, Nguyen HP, Ogita Y, Fukada H, Toshiro M. Taurine supplementation and palm oil substitution in low-fish meal diets for young yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture* 420-421, 219-224, 2014. 【査読有】

DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.11.012

Fukada H, Fujii Y, Matsumoto H, Takahashi N, Hosomi N, Morioka K, Masumoto T. Quality improvement of fish feed by using insulin-like growth factor 1 as a potential indicator of amino acid deficiency in yellowtail. *Aquaculture* 426-427, 264-269, 2014. 【査読有】 DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.02.012

Furutani T, Masumoto T, Fukada H. Molecular cloning and tissue distribution of cholecystokinin-1 receptor (CCK-1R) in yellowtail *Seriola quinqueradiata* and its response to feeding and in vitro CCK treatment. *Gen Comp Endocrinol*, 186, 1-8, 2013. 【査読有】

DOI:10.1016/j.ygcen.2013.02.003

Fukada H, Murashita K, Furutani T, Masumoto T. Yellowtail insulin-like growth factor 1: molecular cloning and response to various nutritional conditions. *Domest Anim Endocrinol*, 42, 220-229, 2012. 【査読有】

DOI:10.1016/j.domaniend.2011.12.00

5

Furutani T, Masumoto T, Fukada H. Response of cholecystokinin and digestive enzymes mRNA levels to various feed ingredients in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Fish Sci, 78, 1075-1082, 2012. 【査読有】

DOI: 10.1007/s12562-012-0537-x

〔学会発表〕(計 9 件)

Fukada H, Takahashi N, Hosomi N, Morioka K, and Masumoto T. Insulin-like growth factor 1 as a potential indicator for amino acid deficiencies in the yellowtail fish. 11th International Congress on the Biology of Fish. Heriot-Watt University, 3-7 August 2014, Edinburgh, Scotland.

Hosomi N, Takahashi N, Masumoto T, Fukada H. Appetite-regulating hormones in the yellowtail: cDNA cloning and response to nutritional conditions. 11th International Congress on the Biology of Fish. Heriot-Watt University, 3-7 August 2014, Edinburgh, Scotland.

Murashita K, Takahashi N, Hosomi N, Yamamoto Y, and Fukada H. Effect of fish meal component on gene expression levels of cholecystokinin and pancreatic digestive enzymes in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. 11th International Congress on the Biology of Fish. Heriot-Watt University, 3-7 August 2014, Edinburgh, Scotland.

深田陽久・高橋紀行・細美野里子・森岡克司・益本俊郎. プリにおけるインスリン様成長因子1型の不足アミノ酸検索ツールとしての検討. H26年度 日本水産学会春季大会 3月27-30日 北海道大学水産学部(北海道,函館市).

深田陽久・松本弘志・藤井陽平・高橋紀行・細美野里子・矢吹 洋・古谷尚大・益本俊郎. プリ IGF1 のアミノ酸投与への応答. H25 年度日本水産学会春季大会 3月 27-29 日. 東京海洋大学(東京都,品川区).

高橋紀行・細美野里子・益本俊郎・深田陽久. プロリン添加によるプリ用低魚粉飼料の改善. H25 年度日本水産学会秋季大会 9月 19-22 日. 三重大学(三重県,津市).

深田陽久・高橋紀行・細美野里子・益本俊郎. プロリン添加飼料を給餌されたプリ幼魚におけるインスリン様成長因子 1 型の遺伝子発現量. H25 年度日本水産学会秋季大会 9 月 19-22 日. 三重大学(三重県,津市).

Fukada H, Fujii Y, Matsumoto H, Furutani T, Masumoto T. Improvement of fish feed using insulin-like growth factor-I as an indicator of amino acid deficiency in yellowtail. 6th World Fisheries Congress, 7-11th May 2012, Edinburgh, Scotland.

Takahiro T, Fukada H, Masumoto T. Effect of various feed ingredients on cholecystokinin and peptide YYb expression in yellowtail. 6th World Fisheries Congress, 7-11th May 2012, Edinburgh, Scotland.

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 養殖魚用飼料および該飼料を用いた養殖魚の成長促進方法

発明者: 深田陽久・高橋紀行

権利者: 協和発酵バイオ株式会社・高知大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2013/053288

出願年月日: 2013 年 2 月 12 日

国内外の別: 国外

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

深田 陽久 ( FUKADA, Haruhisa )

高知大学・教育研究部自然科学系・准教授

研究者番号 : 10380304

### (2)研究分担者

村下 幸司 ( MURASHITA, Koji )

(独)水産総合研究センター・研究員

研究者番号 : 60597649

森岡 克司 ( MORIOKA, Katsuji )

高知大学・教育研究部自然科学系・教授

研究者番号 : 90230094