

魚粉代替原料を用いた低魚粉飼料がマダイの成長と体表組織の厚さに与える影響

中村 砂帆子・宮本 敦史・土橋 靖史

Influence of low-fishmeal diet used the fish powder alternative material on growth performance
and epidermal thickness of red sea bream *Pagrus major*

SAHOKO NAKAMURA, ATSUSHI MIYAMOTO AND YASUSHI TSUCHIHASHI

キーワード：マダイ，養殖，低魚粉飼料，体表組織，成長

マダイ養殖業において，飼料コストは養殖コスト全体の約60%を占めており（農林水産省 2013），養殖経営を左右する最も大きな要素である。養魚用飼料の主原料である輸入魚粉については，近年の世界的な給餌養殖の増産や原料魚の漁獲制限によりその価格が高騰しており，マダイ養殖業者の経営を圧迫している。そのため，魚粉代替原料を利用した，低魚粉・無魚粉飼料の実用化が急務となっている。

マダイ養殖用飼料における魚粉代替原料に関する研究は，1990年代の日本周辺海域におけるマイワシ漁獲量の減少を契機に進展してきた。これまでに，大豆油粕（宇川ら 1994）やコーングルテンミール（高木ら 2000a）等の比較的安価な植物性原料の有用性，およびそれらの組み合わせに関する研究（高木ら 2000b）が行われてきた。魚粉代替原料を用いた低魚粉飼料をマダイに給餌すると成長悪化や緑肝等の弊害が生じる（Goto *et al.* 2001, Takagi *et al.* 2006）が，飼料中にタウリンを添加することでそれらが改善されることが既に報告されている（Takagi *et al.* 2006）。しかし，これらの試験は成長や飼料効率の良い水温15℃以上の中・高水温期に実施されており，摂餌率の低下する低水温期における影響は明らかにされていない。三重県の海水温は冬季には10℃付近にまで低下するため，低水温期における魚体への影響も明らかにする必要がある。

上記の研究成果等を反映した魚粉配合率30～40%程度の低魚粉飼料は，各メーカーから魚粉主体飼料より安価で販売されている。しかし，低魚粉飼料を導入した実際の養殖現場では，体表の薄化やスレがしばしば観察され，病気も多発する傾向にある。また，出荷時の活魚輸送中に脱鱗が起こりやすいことも経験的に

知られている。微細創傷部は魚病細菌の侵入門戸となるため，体表スレは感染症を誘発しやすい（江草 2004）。そのため，飼料コスト削減のために低魚粉飼料を導入しても，後に魚粉主体飼料に戻す養殖業者が多く，現場普及は進んでいない。そのような中，飼料へのタウリン添加がマダイの体表組織を厚くし，脱鱗を抑制する効果があると報告されている（Kato *et al.* 2012）が，この研究には魚粉主体飼料が用いられており，低魚粉飼料におけるタウリン不足の体表への影響は明らかにされていない。市販されている低魚粉飼料にもタウリンは添加されているが，その添加量は主に成長改善に関する研究成果に基づいたものであり，体表組織への影響は検討されていない。

そこで本研究では，魚粉代替原料を用いた低魚粉飼料がマダイの成長と体表組織の厚さに与える影響を異なる水温帯で明らかにすることを目的に，陸上での飼育試験を行った。

材料および方法

1. 試験飼料

試験飼料には，市販の魚粉，大豆油粕，コーングルテンミール，小麦粉，ビタミン，ミネラル，フィードオイル，グアガム，アミエビを配合したモイストレット（MP）を作製した。本研究では，大豆油粕，コーングルテンミールおよび小麦粉を魚粉代替原料とみなした。試験区は4区設定し，タンパク質源に占める魚粉配合率は，対照区で50%（50%区），低魚粉区で30%（30%区）とした。タウリンを添加した2試験区では魚粉配合率を30%とし，タンパク質源に対して外割でタウリ

ンを1% (30%+T1区) または2% (30%+T2区) 添加した (Table 1)。飼料の一般成分については、水分は常圧加熱乾燥法 (110°C)、粗タンパク質はケルダール法、粗脂肪はジエチルエーテルを用いたソックスレー法、灰分は直接灰化法で分析した ((社) 日本食品科学工学会 1996)。粗脂肪含量は試験区間で大差なかったが、粗タンパク質含量は対照区の方が低魚粉区より乾物換算で約5%多かった (Table 2)。

2. 供試魚および飼育方法

供試魚には、入手が容易であった放流用人工種苗のマダイ当歳魚を用いた。試験開始までは、市販のマダイ用固形配合飼料 (林兼産業株式会社) を給餌して飼育した。試験は高水温期、水温下降期、低水温期の飼育環境において行い、水温は自然水温とした。飼育期間は順に、高水温期 2012年8月3日～10月4日 (63日間)、水温下降期 10月16日～12月13日 (59日間)、低水温期 2013年1月7日～3月7日 (60日間) で、水温 (平均水温) は順に、24.6～28.7°C (26.9°C)、14.6～24.2°C (20.0°C)、11.8～15.0°C (13.5°C) であった。試験開始時の魚体の平均尾叉長および平均体重は、高

水温期が 13.0cm, 49.4g, 水温下降期が 16.2cm, 96.4g, 低水温期が 17.8cm, 127.0g であった。各区には容量 500L のポリエチレン製円形水槽 2槽を用い、水量は 400L とした。試験期間を通じて飼育密度を 10kg/m³ 以下に維持するため、1水槽当たりの収容尾数は高水温期が 30尾, 他は 18尾とした。試験飼料は毎日1回、飽食量を給餌した。各水槽には、砂ろ過海水を1時間当たり 280L (0.7回転/時間) 注水し、適量の通気を施した。

3. 飼育成績

飼育開始時と終了時の全供試魚の体重と尾叉長を測定し、水槽ごとの平均体重を算出するとともに、飼育成績として増重率および飼料効率を算出した。算出方法は以下の式に従った。死亡魚があった場合は推定重量を算出し、増重率および飼料効率の補正を行った。

$$\text{増重率 (\%)} = (\text{終了時総重量 (g)} - \text{開始時総重量 (g)} + \text{死亡魚推定重量 (g)}) / \text{開始時総重量 (g)} \times 100$$

$$\text{飼料効率 (\%)} = (\text{終了時総重量 (g)} - \text{開始時総重量 (g)} + \text{死亡魚推定重量 (g)}) / \text{給餌量 (g)} \times 100$$

Table 1. Ingredient of the experimental diets for red sea bream

Ingredient (% wet weight)	Dietary group			
	50%	30%	30%+T1	30%+T2
Fish meal	25.00	15.00	15.00	15.00
Defatted soybean meal	12.50	15.83	15.83	15.83
Corn gluten meal	6.67	10.83	10.83	10.83
Wheat flour	5.83	8.33	8.33	8.33
Vitamin mixture	0.83	0.83	0.83	0.83
Mineral mixture	0.83	0.83	0.83	0.83
Feed oil	3.33	4.17	4.17	4.17
Guar gum	2.50	2.50	2.50	2.50
Opossum shrimp	5.00	5.00	5.00	5.00
Water	37.50	36.67	36.67	36.67
Taurine	0.00	0.00	0.50	1.00

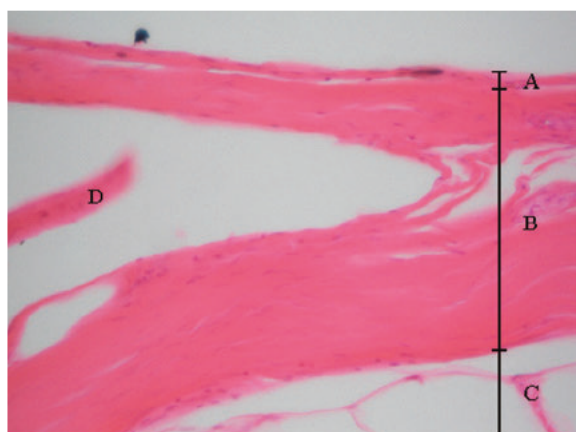
Table 2. Proximate composition (%) of the experimental diets for red sea bream

Proximate composition (%)	Dietary group			
	50%	30%	30%+T1	30%+T2
Crude protein	27.8	25.5	25.3	26.2
Crude lipid	5.5	5.9	6.1	6.1
Crude ash	5.6	4.1	4.2	4.2
Moisture	47.5	47.3	46.7	46.2
Proximate composition (% dry matter basis)				
Crude protein	53.0	48.4	47.5	48.7
Crude lipid	10.5	11.2	11.4	11.3
Crude ash	10.7	7.8	7.9	8.0

$$\text{死亡魚推定重量 (g)} = (\text{開始時尾数} - \text{終了時尾数}) \\ \times (\text{開始時平均体重 (g)} + \text{終了時平均体重 (g)}) / 2$$

4. 体表組織の厚さ

最終給餌日の翌々日に各水槽から7尾を無作為に採取し、開腹し、胸鰭先端部と接する部位の体表組織を筋肉ごとおおよそ10mm四方の立方体に切り取り、10%中性リン酸緩衝ホルマリンで固定した。なお、開腹時に、緑肝の有無を目視確認した。固定後、5%硝酸水溶液と5%硫酸ナトリウム水溶液で脱灰・中和処理した後、常法によりパラフィン包埋し、厚さ6μmの組織切片を作製した。組織切片をヘマトキシリン・エオジン染色後、顕微鏡下で撮影した組織像をパソコンに取り込み、モニターに投影して、鱗囊を含まない部位の表皮と真皮を合わせた体表全体の厚さを測定した (Fig. 1)。表皮と真皮の識別は日比谷 (1982) に従った。



A: epidermis
B: dermis
C: subcutaneous adipose tissue
D: scale

Fig. 1. Histological section of the skin of red sea bream (H&E, ×200).

5. 統計処理

飼育成績および体表組織の厚さ測定で得られた各試験区2水槽の平均値について、Tukey-Kramerの多重比較検定により有意差を判定した (有意水準5%)。

結果

1. 飼育成績

飼育成績を Table 3 に示す。飼料組成の違いによる摂餌状況の差は観察されず、日間給餌率はいずれの水

温期においても試験区間で差はなかった。高水温期においては、増重率、飼料効率共に50%区で高く、30%区で低下し、30%+T1区および30%+T2区で改善する傾向が見られたが、いずれも有意差はなかった。水温下降期においては、いずれも明瞭な傾向は見られなかった。低水温期においては、増重率、飼料効率共に50%区で高く、30%区、30%+T1区および30%+T2区で低下する傾向が見られたが、有意差はなかった。なお、飼育期間中に、体表組織の厚さに影響を及ぼすような体表への寄生虫の寄生や病気の発生等は認められなかった。

2. 体表組織の厚さ

体表組織の厚さを Fig. 2 に、各試験区の典型的な体表組織像を高水温期を例として Fig. 3 に示す。高水温期における体表組織の厚さは、50%区、30%区、30%+T1区、30%+T2区の順に、 $107.6 \pm 40.6 \mu\text{m}$ 、 $81.7 \pm 15.2 \mu\text{m}$ 、 $129.9 \pm 37.3 \mu\text{m}$ 、 $125.4 \pm 24.8 \mu\text{m}$ であり、30%+T1区と30%+T2区が30%区より有意に厚かった ($p < 0.05$)。水温下降期においては順に、 $115.2 \pm 33.9 \mu\text{m}$ 、 $88.5 \pm 20.5 \mu\text{m}$ 、 $99.1 \pm 15.9 \mu\text{m}$ 、 $112.9 \pm 17.8 \mu\text{m}$ であり、50%区と30%+T2区が30%区より有意に厚く ($p < 0.05$)、有意差はなかったものの、30%+T1区で改善傾向がみられた。低水温期においては順に、 $106.7 \pm 27.8 \mu\text{m}$ 、 $97.8 \pm 25.5 \mu\text{m}$ 、 $107.6 \pm 29.5 \mu\text{m}$ 、 $110.6 \pm 33.8 \mu\text{m}$ であり、30%区で50%区より体表組織が薄く、30%+T1区および30%+T2区で改善傾向が見られたが、体表薄化の度合いおよびその改善幅は他水温期と比較して小さく、有意差もみられなかった。

開腹時に行った肝臓の目視観察では、いずれの試験区も緑肝を呈する個体は確認されなかった。

考察

本研究の飼育試験において、マダイの成長は高水温期および低水温期いずれにおいても魚粉30%区で低い傾向が認められ、特に低水温期における増重率および飼料効率は50%区が低魚粉区の約2倍の値を示したにもかかわらず、有意な差は認められなかった。このことについては、まず、各試験区のサンプルサイズが2と小さく、また、両水槽間の飼育成績のばらつきが大

Table 3. Growth performance of red sea bream fed the experimental diets

Experimental period			Dietary group		
			50%	30%	30%+T1
High water temperature period	Fork length (cm)	Initial	12.9±0.8	13.0±0.8	12.9±0.9
		Final	16.5±1.3	16.3±1.3	16.3±1.4
	Body weight (g)	Initial	48.7±9.8	49.6±10.0	48.0±10.4
		Final	111.0±27.0	105.7±26.8	106.9±27.9
	Weight gain (%)		124.6±25.6	112.3±2.7	118.2±20.3
	Feed efficiency (%)		27.6±4.5	26.6±0.8	27.5±5.0
	Daily feed intake (%)		4.4±0.2	4.3±0.1	4.3±0.3
Survival rate (%)		95.0±2.4	98.3±2.4	95.0±7.1	
Dropped water temperature period	Fork length (cm)	Initial	16.1±0.6	16.2±0.6	16.2±0.5
		Final	17.7±0.7	17.7±1.0	18.0±0.9
	Body weight (g)	Initial	95.2±11.0	96.1±11.0	98.4±9.8
		Final	126.7±19.7	127.6±23.0	132.3±23.3
	Weight gain (%)		31.7±2.2	31.1±0.4	32.3±5.5
	Feed efficiency (%)		13.5±0.3	13.3±0.6	14.2±2.4
	Daily feed intake (%)		3.5±0.3	3.6±0.1	3.5±0.1
Survival rate (%)		91.7±3.9	97.2±3.9	100.0±0.0	
Low water temperature period	Fork length (cm)	Initial	17.9±0.7	17.7±0.6	17.7±0.7
		Final	18.5±0.8	18.1±0.7	18.3±0.8
	Body weight (g)	Initial	129.7±13.7	124.7±14.9	127.3±16.4
		Final	140.0±17.8	129.5±17.2	130.9±17.7
	Weight gain (%)		7.9±1.9	3.8±0.1	2.8±1.2
	Feed efficiency (%)		11.5±3.4	6.0±0.1	4.6±2.3
	Daily feed intake (%)		1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1
Survival rate (%)		100.0±0.0	97.2±3.9	100.0±0.0	

Data are shown as mean±standard deviation (n=2).

きかったことが影響したと考えられる。次に、本研究では供試魚に放流用人工種苗を用いたため、高成長を目的として育種されている養殖用種苗よりも、魚体の成長に与える影響が小さかったと考えられる。さらに、マダイの飼料研究の既報では、試験開始2ヶ月後の平均体重が魚粉主体飼料区、タウリン添加低魚粉飼料区、低魚粉飼料区の順で高かったものの有意な差はなく、魚粉主体飼料区と他区との成長差が有意に現れたのは、開始から4ヶ月目以降であったことを Takagi *et al.* (2006) が報告している。本研究では飼育期間を2ヶ月間という短期間で区切っていたため、低魚粉飼料の給餌による成長への影響が顕著に現れていない可能性が考えられる。以上のことより、魚粉配合率を30%にまで削減した低魚粉飼料がマダイの成長に影響を与えないとは言いきれず、特に低水温期においてはサンプルサイズを大きくして、より長期的な影響を調べる必要がある。

マダイの体表組織の厚さについては、高水温期および水温下降期において低魚粉飼料給餌による体表組織の薄化が生じていた。加えて、高水温期において魚粉30%区と比較して魚粉30%+T1区および30%+T2区で、また水温下降期において30%+T2区で、それぞれ体表

組織の厚さに改善が見られた。また、有意差はなかったものの、低水温期においても低魚粉区と比較してタウリン添加区で体表組織の厚さに改善傾向が見られたことから、飼料中のタウリン含量が体表組織の厚さに影響を与えていることが示唆された。Kato *et al.* (2012) によると、魚粉主体飼料にタウリンを1%もしくは2%添加した場合、添加区で体表組織が厚くなったと報告している。彼らはこの結果をもとに、生魚から魚粉を製造する過程でタウリンが減少するため、魚粉主体飼料でもタウリン不足による体表の薄化が生じたが、タウリン添加によってこれが解消されたのではないかと考察している。同研究では、水温が13.1～20.2℃で推移した11月末から1月末までの約2ヶ月間で飼育試験を実施しており、本研究での水温下降期に相当し、2ヶ月間のタウリン添加飼料の給餌で体表が強化された結果も一致していた。また、本研究では、低魚粉飼料という条件でも体表強化が確認できた。こうした既報および本研究の結果より、高水温期や水温下降期ではタウリンの添加が必要であると考えられる。本研究では、高水温期においては、体表組織の厚さが魚粉30%+T1区と魚粉30%+T2区ではほぼ同等であった。このことから、魚粉配合率30%の低魚粉飼料へのタウ

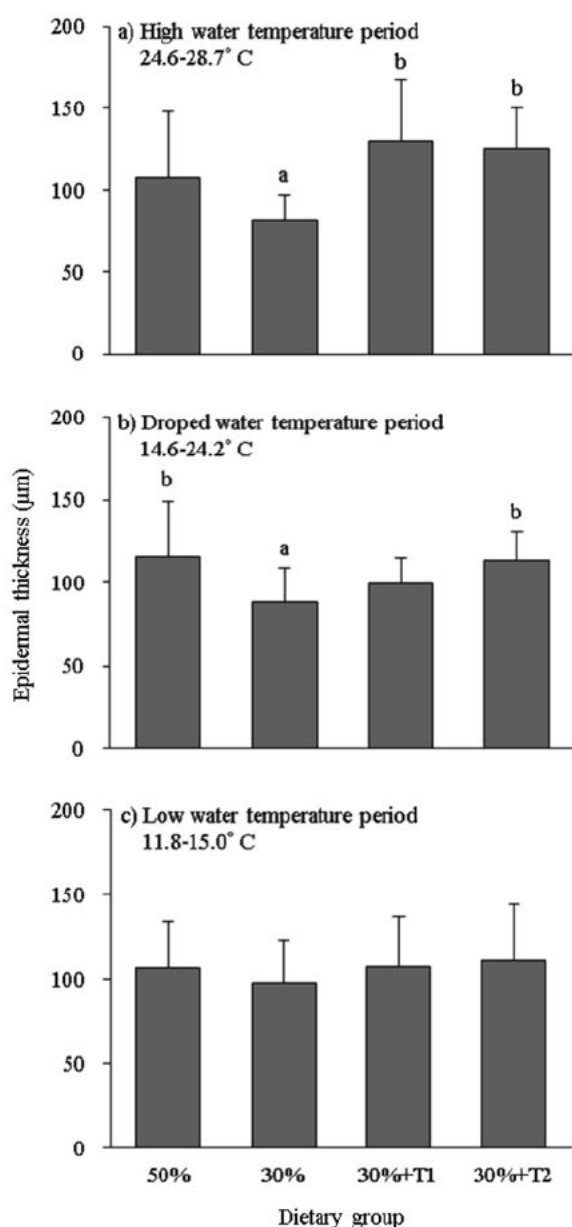


Fig. 2. Influence of the experimental diets on epidermal thickness in red sea bream in each period. Vertical bars indicate the standard deviation. Different letters (a and b) indicate that there is a significant difference ($P < 0.05$).

リン添加量はタンパク質源に対して1%で十分であると考えられる。水温下降期においては、30%+T2区で体表改善効果が認められた。一方で、30%+T1区においても体表の改善傾向にあるものの、その効果は2%添加区に及ばなかった。したがって、水温下降期において、本研究で用いた低魚粉飼料で体表組織を50%区に相当するまでに厚くするためには、タンパク質源に対して2%量のタウリンの添加を要するものと考えられる。低水温期においては、低魚粉飼料の給餌による

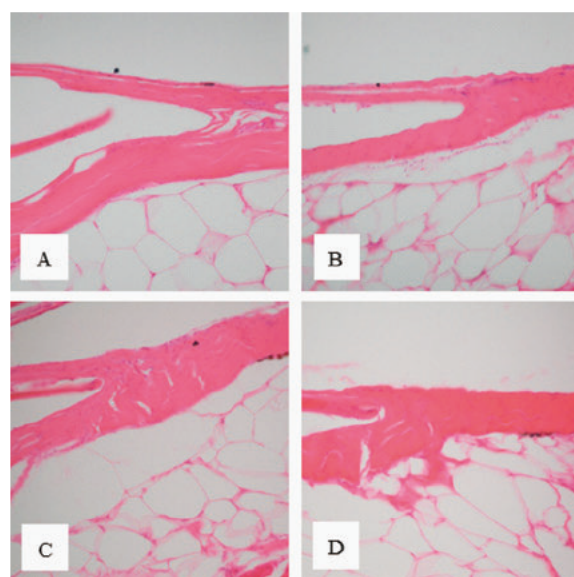


Fig. 3. Histological sections of the skin of red sea bream in high water temperature period (H&E, $\times 200$). A: Fish fed fish meal based diet (50%). B: Fish fed low fish meal diet (30%). C: Fish fed 30% based diet supplemented with taurine at levels of 1% (30%+T1). D: Fish fed 30% based diet supplemented with taurine at levels of 2% (30%+T2).

体表薄化の度合いは他水温期と比較して非常に小さく、今回の条件ではタウリンの添加の必要性は認められなかったが、長期的な試験をすれば、差が出る可能性が考えられる。

低魚粉飼料あるいは無魚粉飼料をマダイに投与した場合には、タウリン不足によってビリルビンやビルバルジンがタウリン抱合体を形成できず、肝臓に鬱積し緑肝を呈することが明らかにされている (Goto *et al.* 2001, Takagi *et al.* 2006)。Goto *et al.* (2001) によると、魚粉配合率15%の低魚粉飼料をマダイに給餌した場合、給餌開始から6ヶ月後に緑肝を示す個体が確認されたと報告している。一方、本研究では飼育期間が2ヶ月間と短く、緑肝を示す個体は確認されなかった。また、魚粉配合率が最低でも30%と高かったため、本研究の低魚粉飼料で数か月間飼育しても緑肝を呈する可能性は低いと考えられる。

タウリンは必須アミノ酸であるメチオニンから合成される。その代謝経路で、中間代謝物であるシステイン硫酸がシステイン硫酸脱炭酸酵素 (CSD) によってタウリンの前駆物質であるヒポタウリンに脱炭酸され、その後タウリンとなる (竹内 2005)。マダイを始めとする海産魚類はこのCSD活性が低いいため、摂餌によるタウリン摂取が必要不可欠であることが明らかにされ

ている（後藤 2002, 竹内 2005, Yokoyama *et al.* 2001）。マダイ稚魚のタウリン必要量は成長を指標とした場合、カゼインをタンパク質源として調べられた実験で乾物飼料に対して0.5%であると報告されている（Matsunari *et al.* 2008a, b）。本研究では、試験飼料のタウリン含量は分析していないが、魚粉配合率30%の低魚粉飼料をマダイに給餌した場合、25℃以上の高水温期においてはタンパク質源に対してタウリンを1%、水温下降期においては2%添加することで体表組織の薄化は改善されることが示唆された。本研究で示したように、飼育水温によって魚粉配合率やタウリン添加の有無がマダイの成長や体表組織の厚さに与える影響の大きさは異なるため、水温期に応じてそれらを変えていく必要があるのではないかと考える。

本研究では、安定した飼育環境である陸上水槽において短期間の飼育試験を行ったが、実際の海面生簀では魚に荒天や疾病等の大きなストレスがかかっており、養殖期間は長期にわたる。養殖現場で安心して使える飼料を開発するためには、長期的な試験を行うこと、成長のみならず生理状態や抗病性について詳細に検討すること、水温帯や成長段階に応じて検討すること等が、必要不可欠である。

要約

魚粉配合率 50%, 30%, 30%+タウリン 1%, 30%+タウリン 2%のモイストペレットを水温期別で約2ヶ月間マダイに給餌したところ、高水温期、低水温期では30%区で成長が低下し、高水温期ではタウリン添加区で改善の傾向がみられたものの、いずれも有意差は認められなかった。水温下降期においては明瞭な傾向は認められなかった。一方、体表組織の厚さについては、高水温期および水温下降期で魚粉代替原料を用いた低魚粉飼料の給餌による体表組織の薄化がみられ、高水温期においてはタウリン 1%および 2%添加区で、水温下降期においてはタウリン 2%添加区で、体表改善が認められた。したがって、高水温期および水温下降期において低魚粉飼料へのタウリン添加が体表組織を厚くするのに有効であると示唆された。

文献

- 江草周三 (2004): 魚介類の感染症・寄生虫病 (若林久嗣・室賀清邦 編). 恒星社厚生閣, 東京, PP. 7, 8.
- Goto, T., Takagi, S., Ichiki, T., Sakai, T., Endo, M., Yoshida, T., Ukawa, M., and Murata, H. (2001): Studies on the green liver in cultured red sea bream fed low level and non-fish meal diets. *Fish. Sci.*, **67** (1), 58-63.
- 後藤孝信 (2002): 魚類のタウリン生合成経路の多様性. *化学と生物* **40**(10), 学会出版センター, 東京, 635-637.
- 日比谷京 (1982): 魚類組織図説—正常組織と病理組織. 講談社, 東京, PP.8
- Kato, K., Yamamoto, M., Phuc, N, P., Fukada, H., Biswas, A., Yamamoto, S., Takii, K., Murata, O., and Miyashita, S. (2012): Effect of Taurine Supplementation on Skin Thickness and Scale Detachability in Red Sea Bream *Pagrus major*. *Aquaculture Sci.*, **60** (1), 59-64.
- Matsunari, H., Furuita, H., Yamamoto, T., Kim, S., Sakakura, Y., and Takeuchi, T. (2008a): Effect of dietary taurine and cysteine on growth performance of juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, **274** (1), 142-147.
- Matsunari, H., Yamamoto, T., Kim, S., Goto, T., and Takeuchi, T. (2008b): Optimum dietary taurine level in casein-based diet for juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Fish. Sci.*, **74** (2), 347-353.
- 農林水産省 (2013): 平成 23 年漁業経営調査. 社団法人日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会: 新・食品分析法. 光琳, 茨城, PP.6-9, 33-40, 46-48, 100, 101.
- 高木修作・細川秀毅・示野貞夫・宇川正治 (2000a): マダイ飼料におけるコーングルテンミールの利用. *日本水産学会誌*, **66** (3), 417-427.
- 高木修作・示野貞夫・細川秀毅・宇川正治 (2000b): マダイ 1 歳魚飼料における代替タンパク質源併用による魚粉の削減. *水産増殖*. **48** (3), 545-552.
- Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Ichiki, T., Endo, M., Hatate, H., Yoshida, T., Sakai, T., Yamashita, H., and Ukawa, M. (2006): Efficacy of taurine

supplementation for preventing green liver syndrome and improving growth performance in yearling red sea bream *Pagrus major* fed low-fishmeal diet. *Fish. Sci.*, **72** (6), 1191-1199.

竹内俊郎 (2005): 魚類のアミノ酸・ペプチド研究における最近の進歩. 必須アミノ酸研究 **174**, 9-17.

宇川正治・滝井健二・中村元二・熊井英水 (1994): マダイ用配合飼料に対する大豆油粕の利用. 水産増殖. **42** (2), 335-338.

Yokoyama, M., Takeuchi, T., Park, GS., and Nakazoe, J. (2001): Hepatic cysteinesulphinatase decarboxylase activity in fish. *Aquaculture Res.*, **32**, 216-220.