

クロマグロ若魚期から成魚期の脂肪蓄積発育変化

澤田好史・阿川泰夫・福岡祐大・本領智紀・倉田道雄・岡田貴彦

Ontogenetic Change of Lipid Accumulation from Juvenile to Adult Pacific Bluefin Tuna

Yoshifumi Sawada^{*1}, Yasuo Agawa^{*1}, Yudai Fukuoka^{*2}, Tomoki Honryo^{*1},
Michio Kurata^{*1}, and Tokihiko Okada^{*3}

To meet various demand of the market, it is necessary to control lipid accumulation in cultured Pacific bluefin tuna (PBF). Previous studies elucidated the effect of rearing temperature on the lipid accumulation from larval to juvenile PBF. This study investigated the ontogenetic change of lipid accumulation by the histological examination in muscles and the function of lipid accumulation by the *PPAR γ* gene expression analysis in cultured PBF from juveniles to adults. Dorsal lateral muscle, ventral lateral muscle, and their red muscles were dissected from cultured 1-yr-old and 3-yr-old PBF to observe histologically by oil red o with hematoxylin and hematoxylin-eosin stain. These muscles were also examined the *PPAR γ* gene expression. Lipid was observed in the endomysium of dorsal lateral muscle, ventral lateral muscle, and their red muscles and no adipose cell was observed. Some muscle fibers accumulated lipid in the red muscle but others did not. For 1-yr-old fish, the *PPAR γ* gene expression was at high level, and on the other hand, it was at high level in the medium fatty ventral lateral muscle and dorsal lateral muscle. These suggested the elevated lipid metabolism in the lipid accumulated muscle fibers and sugar metabolism in the non lipid accumulated muscle fibers. The increased *PPAR γ* gene expression in the dorsal lateral muscle of the 3-yr-old fish indicated the expansion of distribution of adipose cells from the subdermal tissues of ventral muscle to the subdermal tissues of dorsal muscle.

Key words: Pacific bluefin tuna, lipid, juvenile, adult, *PPAR γ*

*¹大島実験場 (Oshima Station, Fisheries Laboratories, Kinki University, Kushimoto, Wakayama 649-3633, Japan)

*²農学部水産学科 (Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kinki University, Nakamachi, Nara 631-8505, Japan)

*³水産養殖種苗センター大島事業場 (Oshima Branch, Fish Nursery Center, Kinki University, Kushimoto, Wakayama 649-3633, Japan)

サバ科に属するマグロ類は、一般的に大西洋クロマグロ, *Thunnus thynnus*, 太平洋クロマグロ, *Thunnus orientalis*, メバチ, *Thunnus obesus*, キハダ, *Thunnus albacares*, ペンナガ, *Thunnus alalunga*, ミナミマグロ, *Thunnus maccoyii*, タイセイヨウマグロ, *Thunnus atlanticus* およびコシナガ, *Thunnus tonggol* の8種類に分類される^{1,3)}。その中で大西洋・太平洋クロマグロはマグロ属魚類全体の生産量のうちわずか2%程度と少なく, その希少価値と美味であることから著しい高値で取引されている⁴⁾。このようにマグロ属魚類は古くから日本人にとって利用され, 刺身の材料や寿司ネタなどとして人気が高く, 最も好まれる魚介類の1つとも言える。その中でも特に希少で価値の高いクロマグロは, 養殖産業に携わる者にとって大変魅力的であり, 近年その養殖が産業として盛んに行われるようになるとともに, 養殖技術向上を目指した研究も盛んになりつつある⁴⁾。そのマグロ属魚類においては可食部位の脂質の多少によって価格が変動し, 特に脂質の多い「トロ」と呼ばれる部位は珍重されマグロの価格決定に大きなウエイトを占めている。

一般に養殖クロマグロでは, 天然マグロに比べ「トロ」の部位が多い他に, 安定した品質で供給可能であることが利点を持つことから, 脂身商材として流通することが多い。しかしながら, 多すぎる脂質の蓄積には, 生鮮で流通することの多いクロマグロの保存期間を短くするという欠点があり, 脂質の適度な蓄積が望まれる。さらに, 養殖クロマグロにおいて脂質蓄積が制御可能になれば, 脂質の蓄積量を変えることにより, 様々な市場のニーズに合致した肉質のクロマグロが生産可能となる。このような養殖クロマグロの脂質蓄積の制御を目指した研究の基礎として, これまでには, トロが形成される前の稚魚期までの脂肪蓄積の様相と, 飼育水温によるその違いが明らかになっている^{5,6)}。

本研究では, 稚魚期以降の, 本格的なトロが形成されたクロマグロの脂肪蓄積の様相を, 組織学的に明らかにし, さらに脂質代謝に関係する *PPAR γ* , *LPL* (Lipoprotein lipase) -1 遺伝子の組織別の発現量を調べることにより, 稚魚期以降のクロマグロの脂肪蓄積過程を明らかにしようとした。

材料および方法

組織切片による脂肪形態の観察

供試魚 近畿大学水産養殖種苗センター大島事業場で養成された全長 77 cm, 体重 7.1 kg の平成 21 年産人工孵化クロマグロ (1 歳魚) 及び, 平成 19 年に和歌山県沖で捕獲した天然ヨコワを, 近畿大学水産養殖種苗センター大島事業場において養成した, 体重 60 kg 程度の太平洋クロマグロ親魚 (3 歳魚) を用いた。

サンプリング 海上生簀から釣りあげ, 供試魚の第一背鰭の第 5 棘部分を採取した後に, 大トロ, 背部体側筋, 血合筋を摘出した。これらの組織は全て皮下部位ではない。

凍結切片の作成

固定した資料からの凍結切片作成は以下のように行った。まず, 約 24 時間流水によりホルマリンを取り去った。次に, 10% スクロース, 20% スクロース, 30% スクロースの順で, 組織が沈むまで浸漬した。その後, 組織を冷却した OCT コンパウンド (Tissue-Tec, Sakura

Finetechnical Co, Ltd., Tokyo) に 10 分間馴染ませてから、新しく用意した OCT コンパウンドで包埋した。切片作成はクリオスタット (CM1850, Leica Microsystems GmbH Co. Ltd., Wetzlar) で行い、切片の厚さは全て 10 μm とした。薄切した切片は卵白グリセリンを塗ったスライドガラスに貼り付けた。切片は 2 時間冷風で乾燥させてから染色した。

染色 中性脂肪染色は、発色がよく細かい脂肪滴まで染色できるオイルレッド O で行った。オイルレッド O は、中性脂肪を染色し、遊離グリセロール、極性脂質等は染色しない染色特性を持つ。さらに、オイルレッド O に用いたものと、同じ包埋ブロックから薄切した切片を用いて、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。ヘマトキシリン・エオジン染色は切片内にある情報を過不足なく染めることができる。オイルレッド O 染色はグリセリンで封入を行い、カバーガラスの周りをマニキュアで固めた。一方、ヘマトキシリン・エオジン染色は水溶性封入剤 (Softmount, Wako, Osaka) を用いて封入した。

LPL-1 遺伝子の発現解析

材料 平成 20 年に近畿大学水産養殖種苗センター大島事業場において人工孵化・飼育された、全長 52 cm, 体重 2.8 kg の太平洋クロマグロ 1 歳魚を用いた。

サンプリング 遺伝子発現解析用の試料として、頭腎、腸、肝臓、血合筋、脳、背部体側筋、性腺、胆のう、鰓弁、胃、脾臓、閉顎筋、心臓、幽門垂、外眼筋、大トロ、中トロの 17 部位を適量サンプリングした。サンプリングした各部位は、即時液体窒素で凍結し、フリーザーにて分析に使用するまで -80°C で保存した。

Total RNA 抽出 -80°C で保存していた各部位より Total RNA の抽出を行った。冷凍庫から取り出した試料は、即時市販の RNA 保護液 (RNAlater Soln, Ambion, Inc, USA) の溶液に浸漬し、各組織約 20 mg を切り出した。切り出した各組織を 1.5 ml 容チューブに入れ、拡散抽出用薬剤 (セパゾール RNA I Super G, ナカライテスク株式会社, 京都市) を少量ずつ計 1 ml 入れ、ベッスル棒で細かくすり潰した。そこへセパゾール RNA I Super G 1 ml に対し、クロロフォルム 200 μl 加えよく攪拌した後、遠心分離 (12,000 rpm, 4°C , 15 分) を行った。上層の水層を新しいチューブに移し、それと同量のイソプロパノールを加え、軽く上下に振り混合させ、5 分程静置し、遠心分離 (12,000 rpm, 4°C , 5 分) を行った。上澄み液を捨て、得られた pellet を 70% エタノール 500 μl で洗浄し、遠心分離 (12,000 rpm, 4°C , 3 分) を行い、上澄みを捨て pellet を乾燥させた。

Total RNA の定量 乾燥させた RNA pellet を DEPC treated Water ((NIPPON GENE 社, 大阪) に溶解した。溶解した溶液を希釈し、分光器で 260 nm の光波長での吸光度を測定して RNA 濃度を算出した。

DNase I 処理 抽出した pellet に含まれるゲノム DNA を除去するために DNase I 処理を行った。Total RNA 30 μg , 10X DNase I Buffer (TaKaRa 社, 草津市) 10 μl , Ribonuclease Inhibitor 1 μl , DNase I (RNase-free) (TaKaRa 社) 2 μl , DEPC treated Water を計 100 μl になるように加え、 37°C で 30 分間インキュベートした。その後 DEPC treated Water 100 μl , 酸性フェノール 250 μl を加え、よく攪拌した後、遠心分離 (12,000 rpm, 4°C , 5 分) を行った。上層の水層を新しいチューブに移し、上層の 1/9 量の 3M NaAC, Ethachinmate (NIPPON GENE 社) 2 μl 加え、よく攪拌し、それと同量のイソプロパノールを加え、5 分程静置し、遠心分離 (12,000 rpm, 4°C , 10 分)

を行った。上澄み液を捨て、生成された RNA pellet を 70% エタノール 500 μ l で洗浄し、遠心分離 (12,000 rpm, 4°C, 3 分) を行い、上澄みを捨て RNA pellet を乾燥させ、DEPC treated Water に溶解し、もう一度 Total RNA の定量を行った。

cDNA 合成 抽出された total RNA 1 μ g を用いて cDNA を合成した。Total RNA 1 μ g, Random Primer 100 p/mol (TaKaRa 社) 1 μ l, DEPC treated Water を計 10 μ l になるように加え、65°C で 5 分間インキュベートした後、即氷上で 1 分間置き、5X RT Buffer 4 μ l, dNTP Mixture 2.5 mM each (TaKaRa 社) 4 μ l, RNase inhibitor 1 μ l, ReverTra Ace (TOYOBO, 東京) 1 μ l を混合し、最終容量 20 μ l で、30°C で 10 分、42°C で 60 分、70°C で 15 分の条件で逆転写反応を行い、cDNA の合成を行った。

定量 PCR 本研究では自ら作成したプラスミド DNA を検量線作成用のテンプレートとし、それぞれのプラスミド DNA を段階希釈して検量線を作成した。cDNA は上記の方法で、平成 21 年に石井らによって作成されたものを用いた。LPL-1 は Real Time 定量 PCR 用に設計されたプライマー sense primer 8.0 pmol / μ l を 1 μ l, anti sense primer 8.0 pmol / μ l を 1 μ l, 2X SYBER Ex Taq II (TaKaRa Bio Inc., Kusatsu) 10 μ l, 滅菌蒸留水 7 μ l, 鋳型 1 μ l を含む最終容量 20 μ l でリアルタイム定量 PCR 装置 (Rotor-gene, QIAGEN 社) を用いて Real Time 定量 PCR を行った。PCR 反応条件は 95°C で 2 分間 (Stage 1), 95°C で 10 秒, 60°C で 15 秒, 72°C で 20 秒 (Stage 2) の 40 サイクルで行った。

太平洋クロマグロ 3 歳魚における β アクチンの測定

供試魚 実験 1 と同じ平成 19 年産天然捕獲太平洋クロマグロ 3 歳魚における血合筋、背部体側筋、大トロ、中トロの 4 部位の cDNA を用いた。

方法 リアルタイム定量 PCR により、発現量を解析した。反応条件は 95°C で 2 分間 (Stage 1), 95°C で 10 秒間 (Stage 2), 57°C で 15 秒, 72°C で 20 秒間の 35 サイクルで行った。

イガタ 17 部位 + 水

プライマー β アクチン Forward 5'-ACCCACACAGTGCCCATCTA-3'

β アクチン Reverse 5'-TCACGCACGATTTCCCTCT-3'

H₂O

2 \times Extaq

クロマグロの筋肉組織別 *PPAR* γ 遺伝子発現解析

本研究では、*LPL-1* 遺伝子の発現解析で信頼性のある結果が得られなかったため、*LPL-1* と同じく、脂質代謝に関与している *PPAR* γ (peroxisome proliferator-activated receptor: ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体) 遺伝子の発現解析を行った。

材料 供試魚には、実験 2 と同じ石井らによって作成された cDNA と、実験 1 と同じ平成 19 年産天然捕獲クロマグロ親魚を用いて実験 2 と同じ方法で作成された、cDNA を用いた。

Real-Time 定量 PCR クロマグロ *PPAR* γ では、阿川が作成したプラスミド DNA を検量線作成用のテンプレートとし、それぞれのプラスミド DNA を 10⁶ から 10⁸ まで段階希釈して検量線を作成した。*PPAR* γ は Real Time 定量 PCR 用に設計されたプライマー sense primer 8.0

pmol/μl を 1.0 μl, anti sense primer 8.0 pmol/μl を 1.0 μl, 2X SYBER Ex Taq II (TaKaRa 社) 10 μl, 滅菌蒸留水 7.0 μl, 鋳型 1.0 μl の最終容量 20.0 μl でリアルタイム定量 PCR 装置 (Rotor-gene, Corbett) を用いて Real Time 定量 PCR を行った。PCR 反応条件は 95℃ で 2 分間 (Stage 1), 95℃ で 20 秒, 60℃ で 20 秒, 72℃ で 30 秒 (Stage 2) の 40 サイクルで行った。

結 果

中性脂肪蓄積の観察 1 歳魚の大トロ及び、背部体側筋では筋内膜に中性脂肪が観察された (Fig. 1, 3)。一方、血合筋では筋内膜と筋繊維中に中性脂肪が観察された (Fig. 5)。また、血合筋では中性脂肪を蓄積している筋細胞と、していない筋細胞が共存していた。ヘマトキシリン・エオジン染色では、どの部位においても脂肪細胞は確認されなかった (Fig. 2, 4, 6)。3 歳魚でも、それぞれの部位で 1 歳魚と同様の脂肪蓄積が確認された (Fig. 7-12)。

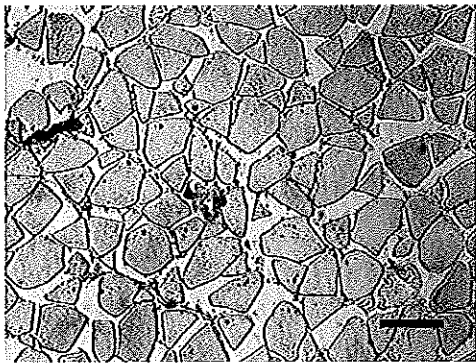


Fig. 1. Oil red o stained dorsal lateral muscle of 1-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

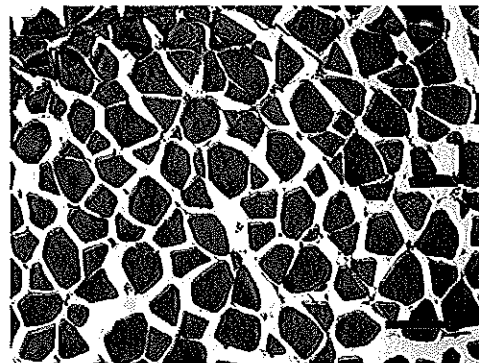


Fig. 2. Hematoxylin-eosin stained dorsal lateral muscle of 1-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

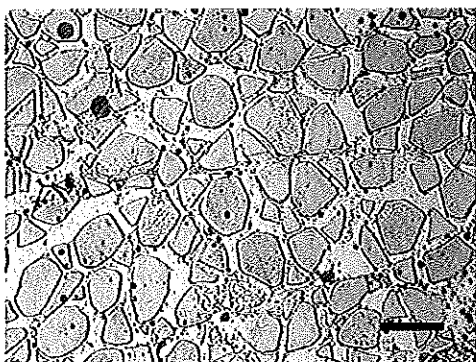


Fig. 3. Oil red o stained fatty ventral lateral muscle of 1-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.



Fig. 4. Hematoxylin-eosin stained fatty ventral lateral muscle of 1-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

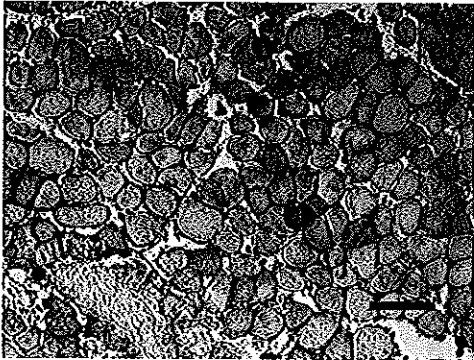


Fig. 5. Oil red o stained red muscle of 1-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

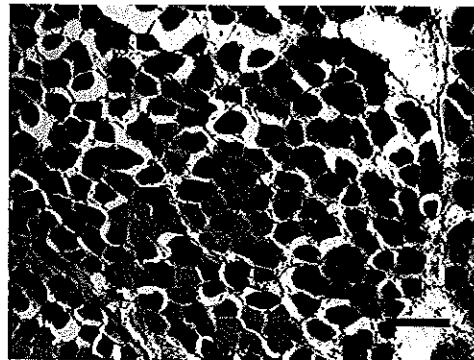


Fig. 6. Hematoxylin-eosin stained red muscle of 1-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

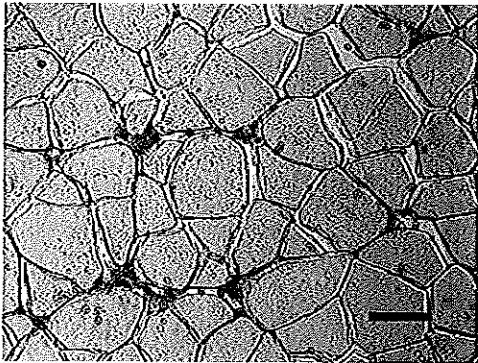


Fig. 7. Oil red o stained dorsal lateral muscle of 3-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

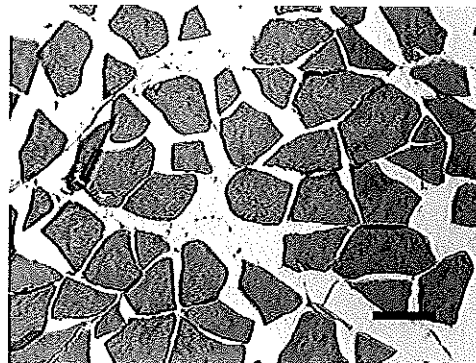


Fig. 8. Hematoxylin-eosin stained dorsal lateral muscle of 3-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

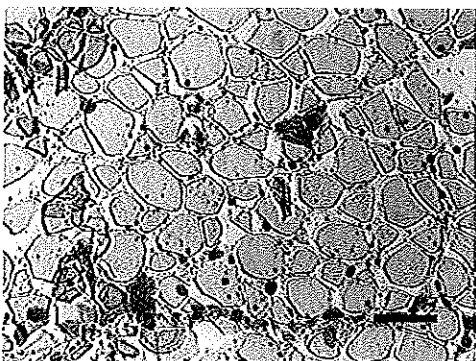


Fig. 9. Oil red o stained fatty ventral lateral muscle of 3-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

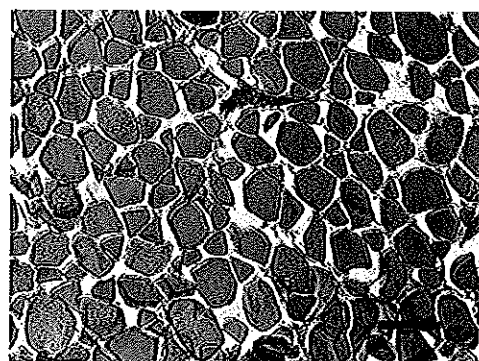


Fig. 10. Hematoxylin-eosin stained fatty ventral lateral muscle of 3-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

クロマグロ若魚期から成魚期の脂肪蓄積発育変化

LPL-1 遺伝子の発現解析 17 部位における LPL-1 遺伝子の発現比は血合筋が一番多く、肝臓、中トロ、大トロの順となった (Fig. 13)。しかし、この定量結果は、Ct 値にばらつきがあったため、信用性が低い。そこで、プライマーを変更して、再度同条件で定量 PCR を行ったが、改善がみられず原因の特定に至らなかった。

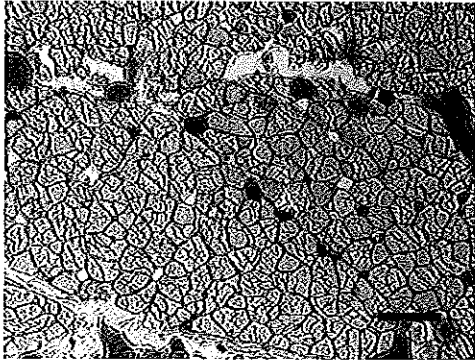


Fig. 11. Oil red o stained red muscle of 3-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

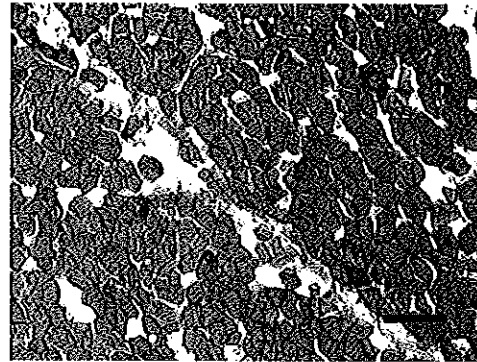


Fig. 12. Hematoxylin-eosin stained red muscle of 3-yr-old Pacific bluefin tuna. Bar=0.01 mm.

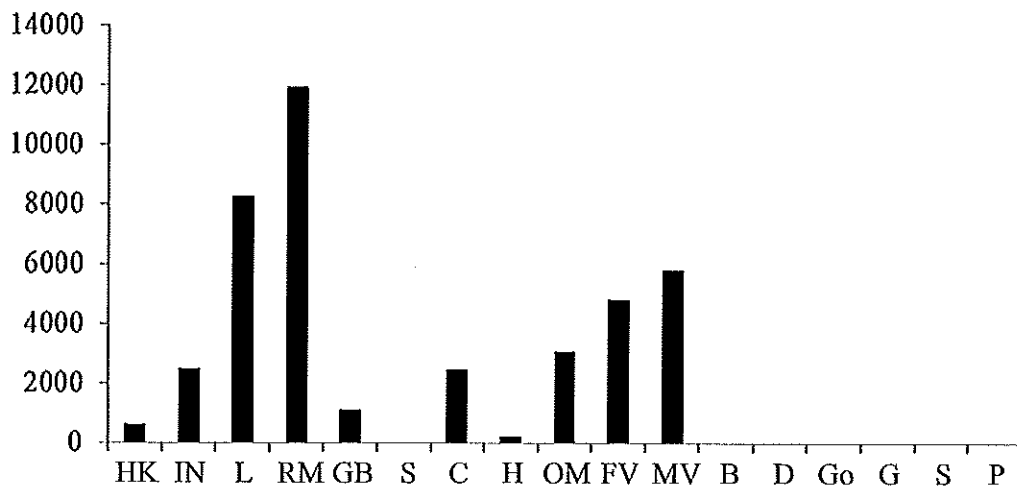


Fig. 13. Relative LPL-1 gene expression of in each body parts of 1-yr-old Pacific bluefin tuna. HK: head kidney, IN: intestine, L: liver, RM: red muscle, GB: gall bladder, S: spleen, C: cheek muscle, H: heart, OM: ocular muscle, FV: fatty ventral muscle, MV: Medium-fatty ventral muscle: B: brain, D: dorsal lateral muscle, Go: gonad, G: gill, S: stomach, P: pyloric appendage.

1歳魚, 3歳魚におけるβアクチンの測定 βアクチン定量の結果, 全ての部位から発現が認められ, RNA抽出とcDNA合成が適切に出来ていることが確認できた (Fig. 14)。

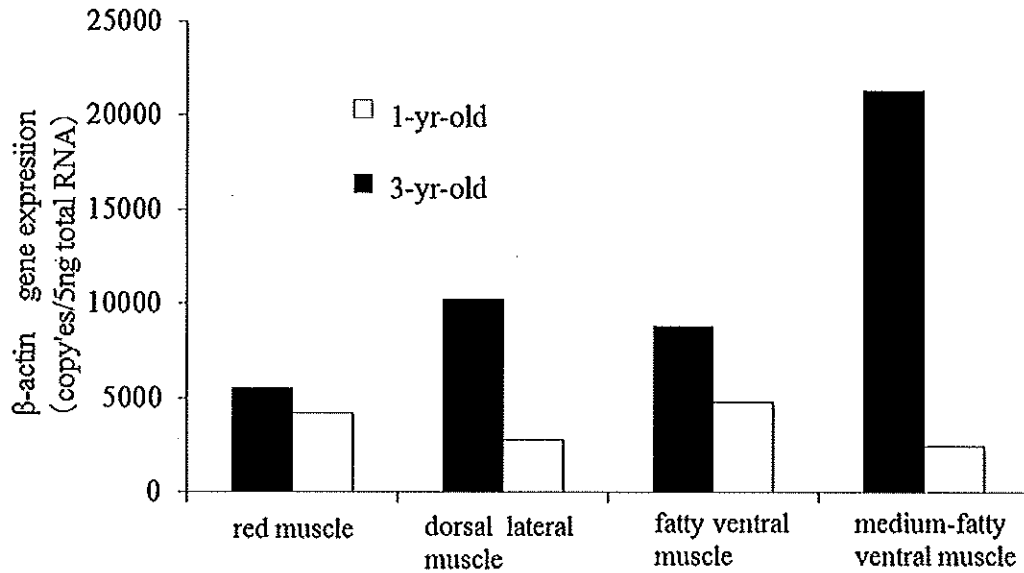


Fig. 14. Absolute *β-actin* gene expression in each body parts.

筋肉組織別 PPAR γ 遺伝子発現解析 1歳魚の各部位の PPAR γ 遺伝子の絶対的発現量は, 血合筋で一番多く, 中トロ, 大トロ, 背部体側筋の順となった。3歳魚の各部位の PPAR γ 遺伝子の絶対的発現量は, 中トロで一番多く, 背部体側筋, 大トロ, 血合の順となった (Fig. 15)。

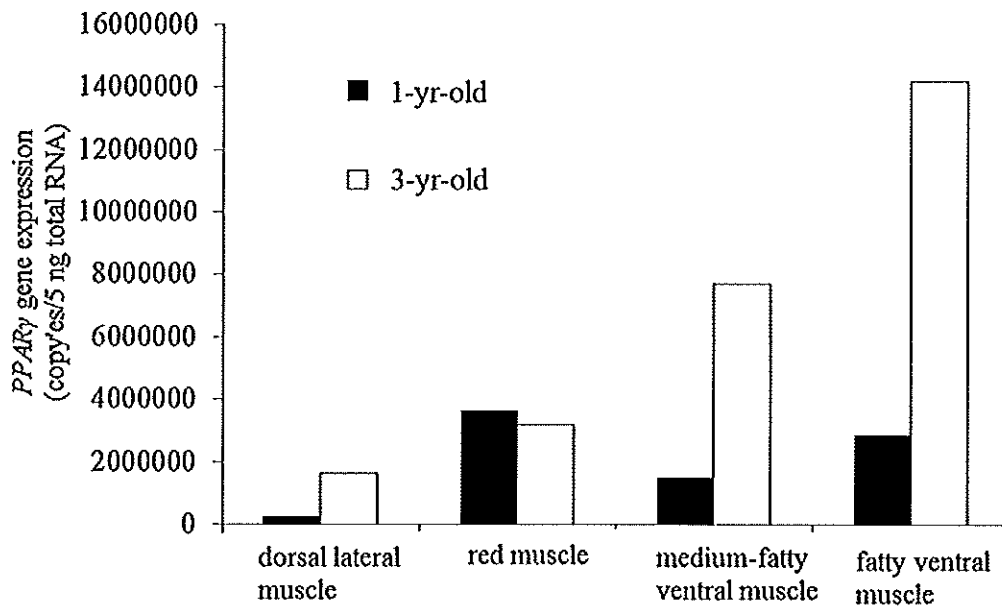


Fig. 15. Absolute *PPARγ* gene expression in each body parts.

考 察

組織切片による脂肪蓄積の観察 哺乳類では、脂肪は脂肪細胞の中に蓄積している。魚類でもこれまでに大西洋サケ、脂肪細胞内に脂肪を蓄積していることが確認されている⁷⁾。またマダイなどでは、脂肪組織は腹腔内脂肪組織として存在する他、皮下や筋肉間にも分布するとされている⁸⁾。しかし、本研究では、クロマグロの背部体側筋、腹部体側筋においては、脂肪は筋内膜に、脂肪細胞を持たずに蓄積されることが明らかとなった。また血合筋においては、これに加えて筋細胞中にも脂肪が観察された。これらのことは腹腔内脂肪組織を持たないクロマグロの資質蓄積の特徴であると考えられる。脂肪細胞は食欲や血圧、血糖、血流、免疫などを調節するホルモンのような物質を分泌し生理作用を持つことが知られているが、クロマグロはこの役割を他の器官が果たしている可能性がある。また、脂肪細胞を持つ生物とは異なる脂質代謝の過程を持っていることも考えられる。

血合筋は筋内膜だけでなく、筋繊維の中に脂肪が確認され、脂肪を蓄積している筋繊維としていない筋繊維があった。このような脂肪蓄積形態は、黒毛和牛とホルスタインでも確認されている⁹⁾。血合筋は巡航遊泳に用いられ、常にエネルギーを必要としているため、脂質をエネルギーとして常に利用するためにこのような蓄積形態になったと考えられる。脂肪を多く蓄積している筋繊維は主として脂質代謝を、脂肪をあまり蓄積していない筋繊維は主として糖代謝などによりエネルギーを得ている可能性がある。今後、内臓周囲の脂肪組織や、異なる年齢のクロマグロ、または他魚種で脂肪蓄積の様相を観察し、この点について明らかにする必要がある。

クロマグロの筋肉組織別 *PPAR* γ 遺伝子発現解析 1歳魚の各部位における *PPAR* γ 遺伝子の絶対的発現量は血合筋で一番多く、大トロ、中トロ、背部体側筋の順になった。3歳魚では、中トロが一番多く、背部体側筋、大トロ、血合筋の順となった。*PPAR* γ 遺伝子は前駆脂肪細胞内で発現し、成熟脂肪細胞への分化・誘導を行う。本研究において、脂肪細胞が無かった1歳魚の血合筋で、*PPAR* γ 遺伝子の発現が高かったということは *PPAR* γ は脂肪細胞分化・誘導以外の何らかの機能があると考えられる。

3歳魚で、最も脂肪の多い大トロではなく、中トロや背部体側筋の方が発現量が多かったことは、大トロでは幼魚から成魚にかけて成長とともに脂肪細胞の分化誘導は減衰し、背部での脂肪細胞の分化誘導が盛んになったことを示唆する。これは、幼魚から成魚にかけて成長とともに十分に脂質が蓄積された腹部皮下から、背部皮下へと脂質蓄積がなされてゆく過程を示している。

要 約

将来クロマグロの脂質蓄積量をコントロールすることで、様々な市場のニーズに応えられるようにしたい。その基礎として、クロマグロの脂肪蓄積の様相を明らかにする。これまではクロマグロ仔稚魚期の脂肪蓄積の様相と飼育水温によるその違いが明らかとなっている。本研究では稚魚期以降のクロマグロを対象に、筋肉組織別に脂肪蓄積の様相を組織切片により観察し、蓄積する働きを *PPAR* γ 遺伝子の発現解析により調べた。1歳の人工クロマグロと3歳の天然捕獲クロマグロを用いた。背部体側筋、腹部体側筋、血合筋の凍結切片を作成し、オイルレッ

ドOとヘマトキシリン、ヘマトキシリン・エオジンの2通りの染色を行った。さらに、同じ年齢のクロマグロでリアルタイム定量PCR法によりPPAR γ 遺伝子の発現解析を組織切片と同じ部位で行った。

【結果と考察】背部体側筋、腹部体側筋、血合筋において脂肪は筋内膜に観察された。脂肪が蓄積されていた個所に脂肪細胞はなかった。血合筋では筋繊維中にも脂肪が観察された。脂肪を蓄積している筋繊維としていない筋繊維があった。PPAR γ 遺伝子の発現解析では、1歳魚は血合筋の発現量が高く、3歳魚では中トロと背部体側筋が高かった。組織切片で脂肪細胞が観察されなかった血合筋で、PPAR γ 遺伝子の発現量が多かったのは、PPAR γ が脂肪細胞分化増殖以外の機能を持っているからだと考えられる。血合筋において脂質を蓄積していた筋繊維は脂質代謝で、蓄積していなかった筋繊維は糖代謝によりエネルギーを得ていると考えられる。3歳魚において、中トロや背部体側筋で発現量が高かったのは、稚魚期から腹部皮下に増え始めた脂肪蓄積が、成長とともに背部皮下へと及ぶ過程を示すと思われる。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、近畿大学水産養殖種苗センター大島事業場岡田貴彦場長、倉田道雄場長補佐を始めとする大島事業場職員各位には、本研究において多大なるご協力を賜りました。また、近畿大学大学院農学研究科水産学専攻の小宮貴文氏、根来央氏、近畿大学農学部水産学科増殖学専攻の福井俊介氏、住友亜衣氏にもご協力を頂きましたことに深く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Collette, B. B. and C. E. Nauen (1983) : An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitons, and related species known to date. *FAO species catalogue, vol.2. Scombrids of the world, FAO Fish. Synop.*, **125**, 1-137.
- 2) 岩井 保・中村 泉・松原喜代松 (1965) : マグロ類の分類学的研究. 京都大学みさき臨海研究所特別報告, **2**, 1-51.
- 3) 中村 泉 (1994) : マグロ類の分類. 海洋, **26**(9), 521-528.
- 4) 澤田好史・熊井英水 (2000) : クロマグロ. 「海水魚の養殖」(熊井英水編) 湊文社, 東京, 212-216.
- 5) 須藤 充 (2006) : 人工孵化クロマグロ仔稚魚における中性脂肪蓄積に関する研究. 平成17年近畿大学大学院修士論文.
- 6) 山本 剛生 (2006) : 人工孵化クロマグロの仔稚魚における中性脂肪分布の発育変化とその飼育水温による違い. 平成17年度近畿大学卒業論文.
- 7) Nanton D. A., A. Vegusdal, A. M. Bencze Rørå, B. Ruyter, G. Baeverfjord, B. E. Torstensen (2007) : Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. *Aquaculture*, **265**, 230-243.
- 8) 奥 宏海 (2008) : 魚類における体脂肪蓄積機構の解明. 水研センター研報, **24**, 63-68.
- 9) 鈴木 惇・大和田 修一・玉手英夫 (1978) : 黒毛和種とホルスタイン種の骨格筋における筋線維内脂肪滴の有無と各筋線維型の割合と太さ. 日本畜産学会報, **49**, 262-269.