

クロマグロ稚魚用配合飼料におけるタウリン, 摂餌促進物質 およびリン脂質の必要性

Biswajit K. Biswas¹, 吉田 絢¹, Amal Biswas¹, 塚正泰之², 高岡 治³,

合田 満樹³, 井土 孝志³, 滝井健二¹

(養殖グループ)

¹近畿大学水産研究所, ²近畿大学大学院農学研究科, ³近畿大学水産養殖種苗センター

クロマグロ *Thunnus orientalis* は, 代表的な養殖魚種であるブリ *Seriola quinqueradiata* やマダイ *Pagrus major* に比べて成長は著しく早い。特に, クロマグロ稚魚期の成長はブリやマダイの 5~10 倍にまで達する。しかし, クロマグロ稚魚はその早い成長を支えるために, 必要な栄養素を多量に摂取し消化吸収しなければならない。少しでも消化し難い飼料原料や配合飼料を摂取すると, 消化に長時間が費やされるとともに, 空胃時間がずれ込んで摂餌量が大きく減少して, 成長が低下することになる。

これまでの一連の研究から, 1~5) クロマグロ稚魚用配合飼料のタンパク質源として, 多獲性沿岸魚のイワシ類, アジ類, サバ類などを原料にした沿岸魚粉は, 製造工程中に高温で煮沸・乾燥されているのでタンパク質が変性し, 生餌に比べて消化し難く利用できないこと, また, 脂質に関しては中性脂質より極性脂質が, 飽和脂肪酸より不飽和脂肪酸が利用しやすいことなどを明らかにした。そこで, 消化しやすい酵素処理チリ魚粉 (EFM) と, 極性画分が多いサケ・マス類の卵巣や卵から抽出した筋子オイル (SRO), さらに, 飼料添加物のタウリン (Tau), IMP とヒスチジンそしてグルタミンからなる摂餌促進物質 (FS), 大豆レシチ

ン (SL) などをそれぞれ適量配合してクロマグロ稚魚用配合飼料を試作し, イカナゴ切餌と同等の成長と飼育成績が得られることを確認した。しかし, EFM の価格は一般的な FM の 3 倍, SRO は 140 千円/kg, タウリン, IMP, ヒスチジン, グルタミン酸などは試薬で高価であり, 添加物として認められていないものもある。このように, 試作したクロマグロ稚魚用配合飼料は極めて高価で実用には向かない。

そこで, 本研究ではクロマグロ稚魚用配合飼料の低廉化を目指して, まず, Tau, FS および SL の必要性を, それらを一種ずつ除くオMISSIONテストで明らかにしようとした。なお, 本研究では脂質源として SRO の代わりに一般的な魚油を用いた。

材料および方法

飼料組成 飼料 1 は対照飼料で, Tau, FS および SL をそれぞれ 2, 0.5 および 1.43% 添加した。飼料 2, 3 および 4 ではそれぞれ Tau, FS および SL を一種ずつ除き, 代わりにセルロースと魚油を増量した (Table 1)。

Table 1
Ingredient and proximate composition of experimental diets

Ingredients (%)	Experimental diets			
	1	2	3	4
Enzyme treated fish	63.80	63.80	63.80	63.80
Fish oil ²	8.00	8.00	8.00	9.43
α - starch	8.00	8.00	8.00	8.00
Vitamin mixture ³	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral mixture ³	5.00	5.00	5.00	5.00
Taurine	2.00	-	2.00	2.00
Feeding stimulants	0.50	0.50	-	0.50
Soybean lecithin	1.43	1.43	1.43	-
Cellulose	3.85	5.85	4.35	3.85
Wheat gluten	2.26	2.26	2.26	2.26
APM	0.12	0.12	0.12	0.12
Vitamin E (ppm)	0.04	0.04	0.04	0.04
<i>Proximate analysis (% of dry matter basis)</i>				
Crude Protein	49.64 ± 0.1	48.82 ± 0.2	51.03 ± 0.6	51.60 ± 0.2
Crude Lipid	13.40 ± 0.23	12.67 ± 0.28	12.84 ± 0.81	13.21 ± 0.85
Ash	7.73 ± 0.07	7.98 ± 0.15	7.98 ± 0.07	7.73 ± 0.08
Crude sugar	9.08 ± 0.46	8.84 ± 0.01	8.72	8.68
Energy (kJ/g)	21.05 ± 0.21	21.68 ± 0.06	20.97 ± 0.09	20.67 ± 0.13

Table 2
Fatty acid composition (% of total fatty acid) of test diets¹

Fatty acids	Experimental diets			
	1	2	3	4
14:0	3.2 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.6 ± 0.3
15:0	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.8 ± 0.0
16:0	16.2 ± 0.2	16.1 ± 0.2	15.9 ± 0.2	16.3 ± 0.4
16:1	4.3 ± 0.0	4.3 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.7 ± 0.2
17:0	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.7 ± 0.0
17:1	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0
18:0	4.6 ± 0.4	5.1 ± 0.5	4.5 ± 0.0	4.7 ± 0.2
18:1n-9	16.1 ± 0.4	15.7 ± 0.4	16.0 ± 0.2	16.5 ± 0.2
18:1n-7	4.6 ± 0.1	4.6 ± 0.0	4.5 ± 0.1	1.7 ± 0.0
18:2n-6	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.4 ± 0.1
18:3n-3	1.3 ± 0.0	1.3 ± 0.0	1.3 ± 0.0	1.4 ± 0.0
20:1	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.0
20:4n-6	5.1 ± 0.1	5.3 ± 0.0	5.1 ± 0.1	5.5 ± 0.1
20:5n-3	6.7 ± 1.0	7.2 ± 0.5	7.5 ± 0.3	7.1 ± 0.3
22:5n-6	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.5 ± 0.0
22:6n-3	21.2 ± 0.7	20.6 ± 0.1	21.2 ± 0.2	21.3 ± 0.6
22:6n-3/20:5n-3	3.20	2.9	2.9	3
18:1n-9/22:6n-3	0.76	0.8	0.75	0.77
Σ n-3 ²	29.2	29.1	30.0	29.8
Σ n-6 ³	11.0	11.2	11.0	11.4
n-3/n-6	2.7	2.6	2.7	2.6

¹ Values represent averages of triplicate samples from each test diet.

² Σ n-3: 18:3n-3, 20:5n-3, 22:6n-3

³ Σ n-6: 18:2n-6, 20:4n-6, 22:5n-6

各飼料の脂肪酸組成についてみると、SL を除いた飼料 4 の 18:1n-7 が他の飼料に比べて低かったが、他の脂肪酸に差異は認められなかった。飼料の一般成分についてみると、粗タンパク質、

粗脂質, 粗灰分および糖質含量が, それぞれ 50, 13, 8 および 9%前後で, エネルギー含量は 21 kJ/g と飼料間に有意な区間差はなかった。

供試魚および試験方法 近畿大学水産種苗センター浦神事業場で種苗生産した, 平均体重 0.34 g, ふ化 27 日後の稚魚を供試した。なお, 供試魚はふ化 20 日後から配合飼料に馴致した。これらの供試魚を屋内の 15 m³ 容コンクリート製円形水槽に 300 尾ずつ収容して, 合計 12 試験区を設けた。飼育試験は各飼料につきトリプリーケートで実施した。これらの試験区に所定の試験飼料を, 05:30, 08:00, 11:00, 14:00, 16:00 および 18:30 に飽食給与して 14 日間飼育した。なお, 開始時には試験区と同一ロットの稚魚 300 尾を同時に採取した。期間中の水温および DO 飽和度はそれぞれ 27℃ および 90%前後であった。また, 期間中は飼育水槽中心の水面 1 m 上に, 40W 電球を取り付けて連続電照を行った。

測定項目および分析方法 開始時には同時に採取した供試魚を, 終了時には各試験区の供試魚をすべて取り上げて, 体重, 尾叉長, 内臓重量, 消化器官重量などを測定した。また, 成長率 (SGR), 飼料効率 (FCE), 肥満度 (CF) およびみかけの栄養素蓄積率を以下の式により求めた。

$$\text{SGR} = (\ln \text{fBWt} - \ln \text{iBWt}) / \text{D}$$

なお, fBWt: 終了時の平均体重, iBWt: 開始時の平均体重, D: 飼育期間 (日数)。

$$\text{FCE} = \text{期間増重量} \times 100 / \text{期間給餌量}$$

$$\text{CF} = \text{体重} \times 1000 / \text{尾叉長}^3$$

みかけの栄養素蓄積率

$$= \text{期間栄養素蓄積量} \times 100 / \text{期間栄養素給餌量}$$

また, 飼料および開始および終了時の全魚体

のエネルギー含量は爆発熱量計で, 一般分析は AOAC 法によった。飼料の糖質含量はフェノール硫酸法, 飼料および魚体脂質の脂肪酸組成は GC を用いる一般的方法で測定した。

統計処理 一元分散分析で処理の有意性を判定したのち (P<0.05), Tukey's 検定法で区間の有意差判定を行った (P<0.05)。

結果

終了時における平均体重, SGR および FDE に有意な区間差がみられ, 飼料 1, 2 および 3 区間に差異はなかったが, 飼料 4 区では飼料 1 区より低かった。終了時の尾叉長, 総摂餌量, 日間摂餌率および生残率に区間差はなかった (Table 3)。

終了時における全魚体の一般成分では, 水分含量が飼料 4 区で, 粗タンパク質と粗灰分含量は飼料 2 区で, 粗脂質含量が飼料 3 区でそれぞれ統計上は有意に高かったが, 顕著な差異でなく, エネルギー含量に区間差は認められなかった (Table 4)。

終了時における腎臓を除く内臓重, 胃, 肝臓および幽門垂を含む腸重の体重比に区間差はなかった (Table 5)。

一方, 終了時における全魚体の脂肪酸組成では, 飼料の脂肪酸組成を反映して, 飼料 4 区の 18:1n-7 は他の飼料区より低かった。飼料 3 区の 16:0 が飼料 1 区に比べて高く, 逆に, 飼料 3 区の 22:6n-3 が飼料 1 区より有意に低かった。

考察

飼料 4 区の飼育成績が他の区より劣ったことから, クロマグロ稚魚用配合飼料へは SL

Table 3. Growth performances of juvenile bluefin tuna fed the experimental diets with different levels of α - starch as a main source of carbohydrate. Values are means \pm SEM of 3 groups of fish (n=3) with 200 fish per group.

Parameters	Initial	Experimental diets			
		1	2	3	4
Initial body wt (g)	0.34 \pm 0.49				
Initial fork length (cm)	3.21 \pm 0.26				
Final body wt (g)		2.59 \pm 0.06 ^a	2.48 \pm 0.14 ^{ab}	2.4 \pm 0.44 ^{ab}	2.34 \pm 0.05 ^b
Final fork length (cm)		6.11 \pm 0.06	6.1 \pm 0.11	6.02 \pm 0.33	5.96 \pm 0.06
SGR (%)		14.49 \pm 0.16 ^a	14.2 \pm 0.41 ^{ab}	13.96 \pm 0.11 ^{ab}	13.78 \pm 0.16 ^b
FCE (%)*		70.89 \pm 3.5 ^a	65.77 \pm 1.96 ^{ab}	66.40 \pm 1.9 ^{ab}	61.04 \pm 2.9 ^b
Feed consumed (g)*		420.0 \pm 15.9	395.1 \pm 18.9	418.4 \pm 10.7	411.1 \pm 23.3
Daily feeding rate (%)		21.93 \pm 0.4	22.13 \pm 0.6	22.97 \pm 0.2	23.66 \pm 0.7
CF		1.14 \pm 0.02	1.09 \pm 0.01	1.10 \pm 0.01	1.10 \pm 0.01
Survival rate (%)		63.83 \pm 3.21	60.67 \pm 0.76	66.00 \pm 0.5	63.00 \pm 5.57

Values in a row with different letters are significantly different ($P < 0.05$)

* Dry basis

Table 4

Proximate composition, nutrient and energy retention efficiency (%) in fish from different treatments.

Parameters	Initial	Experimental diets			
		D 1	D 2	D 3	D 4
Moisture	80.5 \pm 0.56	80.94 \pm 0.15 ^c	81.12 \pm 0.63 ^{bc}	81.90 \pm 0.35 ^{ab}	82.02 \pm 0.58 ^a
Crude protein	13.36 \pm 0.26	13.10 \pm 0.29 ^b	13.7 \pm 0.25 ^a	13.12 \pm 0.32 ^{ab}	13.31 \pm 0.56 ^{ab}
Crude lipid	1.52 \pm 0.11	1.23 \pm 0.07 ^b	1.25 \pm 0.19 ^b	1.63 \pm 0.05 ^a	1.26 \pm 0.14 ^b
Crude ash	2.74 \pm 0.05	2.92 \pm 0.14 ^{ab}	3.00 \pm 0.18 ^a	2.81 \pm 0.14 ^{ab}	2.75 \pm 0.08 ^b
Energy (kJ/g)	19.43 \pm 0.17	20.11 \pm 0.64	20.2 \pm 0.76	20.31 \pm 0.61	20.33 \pm 0.89
<i>Retention efficiency</i>					
PRE		15.1 \pm 0.74 ^a	15.09 \pm 0.44 ^a	13.86 \pm 0.40 ^{ab}	12.9 \pm 0.61 ^b
LRE		4.99 \pm 0.26 ^b	4.97 \pm 0.16 ^b	6.99 \pm 0.19 ^a	4.51 \pm 0.24 ^b
ERE		47.5 \pm 2.34	46.66 \pm 1.36	49.2 \pm 1.4	41.59 \pm 2.01

Values are means \pm SEM of 3 groups of fish (n=3) with 10 fish per group.

Values in a row with different letters are significantly different ($P < 0.05$)

Table 5

Biological measurements of the digestive organs in juvenile fish from different treatments.

Values are means \pm SEM of 3 groups of fish (n=3) with 5 fish per group.

Treatments	Experimental diets			
	D 1	D 2	D 3	D 4
VSI	11.6 \pm 1.2	11.7 \pm 0.2	11.5 \pm 0.7	11.0 \pm 0.4
SSI	1.1 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1	1.5 \pm 0.3
HSI	2.5 \pm 0.5	2.3 \pm 0.4	2.3 \pm 0.7	1.9 \pm 0.1
ISI	4.3 \pm 0.4	4.6 \pm 0.2	4.3 \pm 0.2	4.4 \pm 0.0

Table 6

Fatty acid composition (% of total fatty acid) in lipid of tuna juvenile¹

Fatty acids	Initial	Experimental diets			
		1	2	3	4
C14:0	1.4±0.3	0.9±0.2	0.9±0.0	1.1±0.1	0.9±0.1
C15:0	0.3±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.1	0.5±0.0
C16:0	21.7±0.6	18.5±0.5 ^b	19.2±0.4 ^{ab}	20.9±1.0 ^a	20.3±0.5 ^{ab}
C16:1	3.4±0.1	2.4±0.2	2.5±0.0	2.5±1.1	2.8±0.1
C17:0	0.3±0.0	0.6±0.2	0.7±0.3	0.9±0.1	0.9±0.1
C17:1	0.3±0.0	0.3±0.1 ^b	0.3±0.1 ^{ab}	0.5±0.0 ^{ab}	0.6±0.0 ^a
C18:0	8.2±0.7	10.0±1.0	10.2±0.3	9.4±0.0	9.4±0.4
C18:1n-9	16.3±1.0	15.1±0.6 ^b	15.7±0.2 ^{ab}	16.9±0.1 ^a	16.9±1.0 ^a
C18:1n-7	4.1±0.1	3.4±0.1 ^a	3.3±0.2 ^a	3.5±0.3 ^a	1.1±0.1 ^a
C18:2n-6	1.1±0.0	1.8±0.1	1.9±0.1	2.0±0.1	1.8±0.1
C18:3n-3	0.3±0.1	0.3±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0	0.3±0.1
C20:1	0.4±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
C20:4n-6	4.4±0.1	3.3±0.0	3.1±0.2	3.1±0.2	3.7±0.4
20:5n-3	7.7±0.0	10.0±0.9	10.5±1.4	10.1±1.5	9.4±1.3
22:5n-6	2.2±0.0	1.1±0.1 ^a	1.0±0.0 ^b	0.9±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b
22:6n-3	22.5±0.5	23.7±1.1 ^b	22.3±0.2 ^{ab}	20.5±0.4 ^a	22.9±1.6 ^{ab}
22:6n-3/20:5n-3	2.9	2.3	2.1	2	2.4
18:1n-9/22:6n-3	0.7	0.6	0.7	0.8	0.7
Σn-3	30.5	34	33	30.9	32.6
Σn-6	7.7	6.2	6	6	6.5
n-3/n-6	4.0	5.5	5.5	5.2	5.0

¹ Values represent averages of triplicate samples from each dietary treatment.² Σn-3: 18:3n-3, 20:5n-3, 22:6n-3³ Σn-6: 18:2n-6, 20:4n-6, 22:5n-6

ND= Not detected

の添加が有効であることが示された。SL, すなわち、極性脂質の飼料添加効果については多くの報告がある。この作用機序として消化管内で体内から分泌された胆汁酸と共同して、飼料脂質の消化吸収を促進すること、また、吸収されたのちはさまざまな構造変化を受けると考えられるが、リン脂質の基本的構造を残すのであれば、循環器系における脂質の運搬に大きく寄与することが考えられる。飼料 4 区で有意な区間差でなかったが、みかけの脂質蓄積率が最も低かったことと関連しているのかもしれない。

Tau については、ヒラメやブリは Tau を合成できないか、できても必要量を賄うことができないため、飼料への Tau 添加が推奨されている。クロマグロ稚魚でも Tau 合成に関する研究が必要である本

研究条件下においては Tau 添加の必要のないことが示された。おそらく、EFM には多くの Tau が含まれているものと考えられる。FS として IMP, His および Glu 混合物を用いた。IMP は飼料添加物として認められているが、His と Glu については認可されていない。従って、配合飼料には本来この FS を添加できない。本研究から FS 添加が必要ないことが示され、低廉化にも大きく貢献できる。なお、これまで 2・3 の養殖魚種で FS の成長促進効果が報告されている。クロマグロ稚魚で FS 添加効果が得られなかったのは、早い成長を支えるために多くの栄養素を摂取する必要があることに関係しているのかもしれない。配合飼料の味や匂いに多少の問題があっても、生き残り戦略としてできる限り摂取することが、クロマグロ稚魚にとって重要なので

あろう。

一方、魚体の脂肪酸組成についてみると、いずれの飼料区でも飼料の脂肪酸組成を反映していた。今回、脂質源として SRO の代わりに FO を用いても大きな問題はなかった。今後詳細に検討する必要がある。なお、全魚体の脂質含量は飼料 3 区で他の区より有意に高かったが、僅かに 0.4% 程度の差であり、大きな意味をもたないと考えられるが、Tau と PL が相乗的に作用して脂質吸収率を高めた可能性も残されている。いずれにしても、全魚体の脂質含量はタンパク質含量に比べて極めて少なかった。飼料脂質はいずれも 13% 前後であったので、脂質をエネルギー源として利用し、タンパク質を選択的に蓄積する方向で早い成長を支持していることがうかがえる。必須脂肪酸とともに今後に残された興味ある検討課題である。

参考文献

- 1) Takii K, Hosokawa H, Shimeno S, Ukawa M, Kotani A and Yamada Y. Anesthesia, fasting tolerance and nutrient requirement of juvenile northern bluefin tuna. *Fish. Sci.* 2005; **71**: 499-505.
- 2) Kohbara J, Miyazaki T, Takii K, Hosakawa H, Ukawa M, and Kumai H. Gustatory responses in Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel). 2006; **37**: 847-854.
- 3) Seoka M, Kurata M, Tamagawa R, Biswas AK, Biswas BK, Yong ANK, Kim Y.-S., Ji S.-C., Takii K and Kumai H. Dietary supplementation of salmon roe phospholipid enhances the growth and survival of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* larvae and juveniles. *Aquaculture* 2008; **275**: 225-234.
- 4) Biswajit BK, Ji S-C, Biswas AK, Seoka M, Kim Y-S, Kawasaki K and Takii K. Dietary protein and lipid requirements for the Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* juvenile. *Aquaculture* 2008; **288**: 114-119.
- 5) Biswas BK, Ji S-C, Biswas AK, Seoka M, Kim Y-S and Takii K. *Aquaculture Sci.* 2009; **57**: 99-108.