

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名	びすわじつと くまる びしゃしゅ Biswajit Kumar Biswas
学位の種類	博 士 (農学)
学位記番号	農 第 1 3 1 号
学位授与の日付	平 成 21 年 3 月 21 日
学位授与の要件	学位規程第4条第1項該当
学位論文題目	Establishment of Formulated Diet for Rearing Juvenile Bluefin Tuna, <i>Thunnus orientalis</i> (クロマグロ稚魚用配合飼料の開発)
論文審査委員 (主査)	教授 滝 井 健 二
	(副主査) 教授 宮 下 盛
	(副主査) 教授 塚 正 泰 之

The Pacific bluefin tuna (PBT), *Thunnus orientalis* is highly valued as a food fish around the world. It is sold fresh and frozen. Quality fish are especially favored in Japan, where they can fetch a high price in the raw seafood market. The demand for PBT has increased sharply all over the world recently and due to meet up the consumer demand, natural stock has been over exploited for last few decades. This important fishery has to be conserved from the point of subsistence. It could be the best idea to ensure mass seedling production providing nutritionally adequate feed in hatchery condition. It is very sensitive issue to fulfill the nutritional requirements of larvae and juvenile because lack of nutritional assessment and knowledge for early development of PBT. All nutrients required for the well-being and normal growth of the fish must be supplied in formulated diets as available (digestible) nutrients. It can be said that the well balanced formulated diets will ensure the improved juvenile quality and mass production of PBT in the future. However, a suitable formulated diet for PBT juvenile is still an unresolved problem. Therefore, we conducted a series of study to formulate a nutritionally balanced diet for juvenile PBT and the findings have been described below briefly.

Dietary Protein and Lipid Requirements for Juvenile PBT

This experiment was done to find out the optimum dietary protein and lipid level required for PBT juvenile. Five test diets, D1-D5, were prepared with varying proportion of protein/lipid, 72.8/9.2, 66.8/14.8, 61.9/17.9, 57.2/21.9 and 53.3/27.0, respectively, using defatted enzyme treated fish meal and salmon egg oil. Raw sand lance, *Ammodytes personatus* was used as the control. Twenty five days old 200 juveniles (mean body weight ca. 0.26 g) were stocked per 15 m³ eight angular tank and

fed the diets to duplicate groups, 6 times daily upto apparent satiation and reared for 10 days. The D3 group outperformed as compared with other diets. These results demonstrated that the artificial diet could be formulated with 61.9% protein and 17.9% lipid considering as suitable for juvenile PBT, and could be used in tuna culture successfully.

Dietary Sugar Requirements for Juvenile PBT and the Compatibility of Formulated Diet with Traditionally used Raw Sand Lance

This study was conducted to find out a suitable dietary sugar level in PBT juvenile for better growth performance using α -starch as a dietary sugar source. Two feeding trials were conducted for this study. In trial 1, 36 days old 150 juveniles with mean body weight 1.6 g were stocked into each of 15 m³ eight angular tank in triplicates; and fed diets 1-4 including 7.0, 12.8, 18.5 and 24.8% α -starch for 8 days under continuous light. Diet 2 group showed the highest growth performance, final whole body protein and lipid contents as well as higher retention efficiency of protein and lipid. Then, in trial 2, 45 days old 165 juveniles with mean body weight 9.7 g were stocked into each 40 m³ circular tank; and fed diet 2 and compared with raw sand lance as a reference feed for 11 days. For this trial, diet 2 brought a comparable growth performance of PBT, but induced higher crude lipid and vitamin C contents than sand lance. Carcass fatty acids, 20:5n-3 and 22:6n-3 contents were also significantly higher in diet 2 group. The results demonstrated that sugar upto 12.8% improved not only physical properties of pellets but also the growth and feed utilization without any adverse effects on juvenile PBT. Overall, the obtained results revealed that diet containing 60% protein, 16% lipid and 13% sugar was suitable for juvenile PBT growth and efficient utilization of these nutrients, and compatible with traditionally practiced

raw sand lance.

Dietary Vitamin C Requirements for Juvenile PBT

Following our previous studies on suitable dietary protein, lipid and sugar levels in juvenile PBT, the present trial was conducted to evaluate the requirement of ascorbic acid (AsA) using its most popular phosphate derivative, L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg (APM). Five different test diets were formulated using 0, 400, 800, 1200 and 1600 mg APM/kg, and named as APM₀, APM₄₀₀, APM₈₀₀, APM₁₂₀₀ and APM₁₆₀₀, respectively. The PBT juveniles of 0.27 g body weight were fed on these diets together with sand lance, 6 times daily for 2 weeks. For this experiment, 300 juveniles were stocked in each of duplicate 15 m³ eight angular tank for each treatment. The weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio and survival of PBT fed APM₁₂₀₀ were best among the dietary treatments including sand lance. The PBT fed APM₀ started showing AsA deficient signs such as anorexia, dark pigmentation and ataxia from day 5 and reached at around 80% mortality on day 11 after the start of feeding trial. The AsA levels of liver and brain also reached a peak in juvenile fed APM₁₂₀₀ and reached a plateau in APM₁₆₀₀ indicated maximum saturation of this stage of juvenile. However, APM₀ showed no AsA content in their liver. The results obtained from this experiment indicated that the optimum level of AsA is about 670 mg/kg diets (1200 mg APM/kg diet) for PBT juvenile under this experimental condition. Interestingly, we also observed the juvenile showed remarkable domesticated behaviors after adding sufficient level of APM.

Dietary Lipid Sources for Juvenile PBT

This study was conducted to find out the suitable alternative lipid sources for

論文審査結果の要旨

juvenile PBT by replacing expensive salmon egg oil with pollock liver oil and soybean oil. Four different test diets were prepared using salmon egg oil 100% (D1), 50% replaced with pollock liver oil (D2), 100% pollock liver oil (D3) and 50% replaced with soybean oil (D4). Two feeding trials were conducted. In trial 1, 280 juveniles of 25 days old having 0.32 g body weight were stocked into each 15 m³ eight angular tank. Diet was given to triplicate groups, 6 times daily upto apparent satiation under continuous light. In trial 2, 600 juveniles of 33 days old having 1.48 g body weight were stocked into 40 m³ circular tank maintaining the same feeding regime. In both trials, D3 and D4 groups showed better growth performance than D1. In addition, fatty acid profile of test diets reflected that of in carcass in which highly unsaturated fatty acids (HUFA) were almost balanced in all treatments. These findings suggested that salmon egg oil could be replaced by 50% with SO or 100% with PLO, providing opportunity to reduce the cost of formulated diet.

From these studies, we could draw conclusion for the first time in the world that the ingredients we used as mentioned here to prepare diet is ready to meet up the nutritional demand for juvenile PBT; their suitable dietary levels are 60% protein, 16% lipid, 13% sugar and 670 mg AsA/kg diet, respectively. In addition, salmon egg oil could be replaced partially and fully by soybean oil and pollock liver oil, respectively, to reduce the cost of diet production. Finally, the formulated diet from these studies will contribute to the mass production of juvenile successfully, and we do believe that this diet will boost up the PBT aquaculture in a sustainable manner in future.

クロマグロとして供給・消費されているのは、太平洋クロマグロ (PBT), *Thunnus orientalis*, 大西洋クロマグロ, *Thunnus thynnus* およびミナミマグロ, *Thunnus maccoyi* であり、漁獲圧の過重により近年になって資源量が激減し、The International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas および The Commission for the Conservation of Southern Bluefin tuna によって、大西洋クロマグロおよびミナミマグロに対して厳しい漁獲制限が布かれており、今後さらに制限が拡大されようとしている。このような状況下で、我が国を含めたクロマグロに対する世界的な需要増加を支えるには、クロマグロ養殖による生産増に期待するほかにないが、その養殖には現在のところ天然種苗が用いられており、今後の漁獲制限がその発展を全面的に拒んでいる。そこで、クロマグロ種苗の産業的量产に向けた各分野の研究が、21世紀 COE およびグローバル COE プログラムで進められ、本研究で生餌に勝るとも劣らない稚魚用配合飼料を開発し、種苗量产の実現に大きく寄与した。以下にその概要を示す。

1) タンパク質および脂質要求量

タンパク質および脂質が魚類の主なエネルギー源であることから、至適な飼料配合量について個別に調べるのではなく、両栄養素の適正な配合割合について検討した。飼料タンパク質/脂質比を 72.8%/9.2%, 66.8%/14.8%, 61.9%/17.9%, 57.2%/21.9% および 53.3%/27.0% になるように、脱脂酵素処理魚粉およびスジコ油で調整した試験飼料を、ふ化 25 日後、体重 0.26 g の PBT 稚魚に、1 日 6 回飽食給与して 10 日間飼育した。成長、飼料効率、タンパク質・脂質蓄積率などの飼育成績から、クロマグロ稚魚には 61.9%/17.9% のタンパク質/脂質比が適していることを明らかにした。

2) 糖質要求量とイカナゴとの成長比較

タンパク質・脂質に引き続いて、適正な飼料糖質の配合割合を明らかにするとともに、適正な三大栄養素の配合割合に基づいた基本飼料の実用性を、一般的に種苗生産に用いられているイカナゴと比較検討した。

タンパク質/脂質を 61.9/17.9 とした混合物の飼料配合量を調整し、糖質含量を 7.0, 12.8, 18.5 および 24.8% に成るように α -スターチを配合して調製した飼料を、ふ化 36 日後、体重 1.6 g の PBT 稚魚に 1) と同様に飽食給与して 8 日間飼育した。飼育成績、魚体の一般化学成分・脂肪酸組成などから、至適な糖質含量は 12.8% (13%) であり、この時のタンパク質および脂質含量は 60 および 16% で

あることを示した。

至適な三大栄養素配合量に基づいて調製した基本飼料と、適正に細断したイカナゴ切餌を、ふ化45日後、体重9.7gのPBT稚魚に、1)と同様に飽食給与して11日間飼育した。基本飼料区の飼育成績はイカナゴ切餌区に匹敵し、しかも、魚体のビタミンC (AsA) 含量は飼料区が顕著に高かった。

以上の結果から、配合飼料でもPBT稚魚を問題なく飼育できること、また、PBT実用飼料の至適なタンパク質、脂質および糖質含量は、それぞれ60、16および13%であることを明らかにした。

3) AsA 要求量

2)のイカナゴ切餌区における魚体のAsA含量は配合区より低かったことから、稚魚期に頻発する衝突死の原因の一つとしての可能性が考えられた。そこで、AsA効力を持つ誘導体AsA-2-リン酸・Mg塩 (APM) を用いて、PBT稚魚のAsA要求量について検討した。先の基本飼料1kgにAPMを0, 400, 800, 1200 and 1600 mg添加した各飼料を、ふ化25日後、体重0.27gのPBT稚魚に1)と同様に飽食給与して2週間飼育した。0 mg APM飼料を与えると5日後から食欲不振・遊泳不活発・体色黒化・斃死などが認められるようになり、11日後の斃死率は80%に達した。一方、飼育成績、生残率、肝臓・脳のAsA含量などから、PBT稚魚のAsA要求量は1200 mg APM/kg飼料であることを示した。

以上の結果から、クロマグロもAsAを必須のビタミンとして要求し、その要求量は1200 mg APM/kg飼料、すなわち、670 mg AsA/kg飼料であることを明らかにし、他の代表的な養殖魚のブリやマダイより格段に高い要求量であることを示した。

4) 脂質代替源

本研究で開発した基本飼料には高価な原料が使用されているため実用は難しい。なかでも、スジコ油は30,000円/kg程度と最も高く、それに代わる安価な脂質源を検索する必要がある。そこで、基本飼料のスジコ油の半量あるいは全量を、スケトウダラ肝油およびダイズ油に代替した飼料を、ふ化25日後、体重0.32gおよびふ化33日後、体重1.48gのPBT稚魚に1)と同様に飽食給与して、それぞれ9日間飼育した。いずれの供試魚を用いても、スジコ油の全量をスケトウダラ肝油に、また、半量を大豆粕にそれぞれ代替した飼料区の飼育成績は、スジコ油飼料区より優れていた。さらに、PBT稚魚でも魚体の脂肪酸組成は、飼

料のそれを反映することも分かった。

以上の結果から、スジコ油の全量をスケトウダラ肝油 (魚油) に代替できること、さらに、植物油の利用の可能性も示唆され、基本飼料の低廉化に向けた貴重な知見を示した。

本研究は、クロマグロの配合飼料を世界に先駆けて検討・開発したもので、PBT種苗の量産だけでなく養成期におけるPBT実用配合飼料の開発に、不可欠で貴重な多くの知見を提供している。

寄って本論文は博士 (農学) 論文として価値あるものと認める。

なお、審査に当たっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経た上、平成21年2月9日の農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が充分であると認められた。