

学 位 論 文 要 旨

氏 名 アスダ ライニング

題 目 フィターゼ添加による海産魚類のミネラル利用性改善に関する栄養学的研究
(Nutritional study on the improvement of mineral utilization with dietary supplemental phytase for marine fish)

植物性素材中に存在するフィチン酸(IP6)は、これら素材の養魚飼料への利用に大きな障害となっている。魚類は IP6 を分解するフィターゼを持たないため、IP6 中のリン (P) を有効利用できず、また、IP6 はミネラルとキレート化合物を生成し魚類のミネラル利用性を低下させることが知られている。本研究は海産魚におけるフィターゼとミネラルの至適添加量を明らかにするとともに、フィターゼ、P およびカルシウム (Ca) の交互作用について検討を行った。

大豆タンパク質を主なタンパク源とした飼料を用いて、3 つの飼育実験 (1. トラフグにおける飼料性 Ca:P 比とフィターゼ添加量の影響, 2. マダイにおける無機 P とフィターゼ添加量の影響, 3. ヒラメにおける飼料性 Ca, P およびフィターゼ添加量の影響) を実施し、海産魚に対するフィターゼの添加効果およびミネラルとの交互作用を調べた。また、ヒラメ稚魚の消化管における IP6 分解を観察するために、摂餌後の血漿ミネラル含量とアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性についても測定した。

トラフグでは、低 Ca:P 比 (0.5)・フィターゼ添加区が他の区に比べて高い成長を示した。特に Ca:P 比 (1.5)・フィターゼ添加区は、成長と脊椎骨と全魚体中の P および亜鉛 (Zn) 含量が最も低い値を示した。この結果から、飼料性 Ca の過剰添加はトラフグのミネラル利用性を低下させるとともに、消化管での飼料性フィターゼ活性を阻害することが示唆された。また、トラフグの成長、P および Zn の消化吸収率、脊椎骨と全魚体の P および Zn 含量について、Ca:P 比とフィターゼ添加量の交互作用がみられた。マダイにおいては、無機 P とフィターゼ添加は成長を有意に向上させたが、成長に関しては両者の交互作用は検出されなかった。無機 P およびフィターゼ無添加区では、脊柱側湾による奇形が発生したことから、マダイ稚魚は飼料性フィターゼが無ければ IP6 を有効に利用できず、正常な成長を維持できないことが明らかになった。また、フィターゼ添加 (2000FTU/kg 飼料) によって、0.25% 無機 P 区の成長が 0.5% 無機 P 区とほぼ同様の値を示したことから、マダイはフィターゼにより生成した IP6 由来の P を効率よく利用できること、無機 P 含量が低い時に効果が表れやすいことが示唆された。これはフィターゼ添加区で摂餌後 6 時間経過したヒラメ稚魚の血漿中無機 P、Mg 含量および ALP 活性が 0.25% および 0.5% 無機 P 区ともほぼ同様の値を示したことから裏付けられる。ヒラメでは、無機 P とフィターゼ添加量は成長に対して有意な要因であったが、飼料性 Ca 添加は成長に効果を示さなかった。しかし、FCR と脊椎骨中の P 含量に対しては、3 つの因子とも有意に影響した。

本研究の結果、海産魚飼料の無機 P 添加量をフィターゼ添加により減らすことが可能であり、その至適配合量はそれぞれ 0.25% および 2000FTU/kg 飼料であることが明らかにされた。また、フィターゼの効果を防げることなく骨格の正常な発達を維持できる飼料性 Ca の最少添加量は 0~0.2% であることが明らかにされた。

学 位 論 文 要 旨

氏 名	Asda Laining
題 目	Nutritional study on the improvement of mineral utilization with dietary supplemental phytase for marine fish (フィターゼ添加による海産魚類のミネラル利用性改善に関する栄養学的研究)

Presence of phytic acid (IP6) in plant ingredients becomes the major impediment toward their use in aquafeed. The main concern about IP6 is that fish can not effectively utilize it due to lack of phytase and its ability to chelate mineral cations leading to decrease mineral utilization in fish. In order to obtain the information of optimal combination between phytase and mineral levels, a series of experiments was carried out to determine the interactions between phytase, phosphorus (P) and calcium (Ca).

Three experiments using plant-based diet were arranged to evaluate interaction between dietary Ca (Ca:P ratio) and phytase levels in tiger puffer; dietary inorganic P (IP) and phytase levels in red sea bream; and dietary Ca, P and phytase levels in Japanese flounder, respectively. Investigating the IP6 degradation in the gut was also carried out along with corresponding postprandial plasma mineral and alkaline phosphatase (ALP) levels in juvenile Japanese flounder. Results indicated that puffer fish fed diet at low Ca:P ratio (0.5) together with phytase had significant higher growth compared to groups fed higher Ca:P ratio, and those fed a diet with highest Ca:P ratio (1.5) particularly with phytase showed the poorest growth and lowest P and Zn content in vertebrae and whole body. This meant that excessive dietary Ca had an inhibitory effect on mineral availabilities as well as an effect on decreasing the activity of phytase along the digestive track. An interactive effect between Ca:P ratio and phytase was observed on growth, P and Zn digestibility and their content in vertebrae and whole body. In red sea bream, dietary IP and phytase supplements significantly enhanced the growth but their effect was independent. A skeletal malformation syndrome of scoliosis occurred in fish fed diet without both dietary IP and phytase supplement. This indicated that fish can not utilize P from fishmeal and soybean protein isolated to support the normal growth. Supplementation of dietary 0.25 and 0.5% IP had similar effect on growth when 2000 FTU phytase/kg was supplemented in diet revealing that availability of P originated from IP6 was more available after being degraded by phytase and become more pronounced at lower dietary IP. This was supported by the concentration of 6-h postprandial plasma IP, Mg and ALP in fish fed 0.25% IP which was similar to group fed 0.5% IP with the presence of dietary phytase at the same level. Both dietary IP and phytase, not dietary Ca had significant effect on growth of juvenile Japanese flounder. In addition, these three dietary compounds had significant effects on FCR and vertebral P content.

In conclusion, supplementation of dietary phytase could reduce supplemental level of dietary IP in marine fish and dietary 0.25% IP and 2000 FTU/kg diet might be the optimum combination supplement in fish diet. To optimize the effect of dietary phytase, dietary Ca should be kept to the minimum level between 0 - 0.2% without compromising skeletal integrity.

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	アスダ・ライニング
審査委員	主査 鹿児島 大学 教授 越塩 俊介
	副査 鹿児島 大学 教授 小山 次朗
	副査 鹿児島 大学 教授 藤井 信
	副査 鹿児島 大学 准教授 侯 徳興
	副査 鹿児島 大学 教授 山本 淳
審査協力者	
題 目	<p>Nutritional study on the improvement of mineral utilization with dietary supplemental phytase for marine fish (フィターゼ添加による海産魚類のミネラル利用性改善に関する栄養学的研究)</p>
<p>植物性素材中に存在するフィチン酸(IP6)は、植物性素材の養魚飼料への利用に大きな障害となっている。魚類は IP6 を分解するフィターゼを持たないため、IP6 中のリン (P) を有効利用できず排泄している。さらに IP6 はミネラルと難消化性のキレート化合物を生成し魚類のミネラル利用性を低下させることが知られている。本研究は海産魚におけるフィターゼ添加による植物性素材の有効利用を目的とし、フィターゼとミネラルの至適添加量を明らかにするとともに、フィターゼ、無機 P およびカルシウム (Ca) の相互作用について検討を行っている。</p> <p>大豆タンパク質を主なタンパク源とした飼料を用いて、3つの飼育実験(1. トラフグにおける飼料性 Ca:P 比とフィターゼ添加量の影響, 2. マダイにおける無機 P とフィターゼ添加量の影響, 3. ヒラメにおける飼料性 Ca, P およびフィターゼ添加量の影響)を実施し、さらに、無機リンおよびフィターゼ摂取後のヒラメ稚魚の血漿無機 P, Ca 含量およびアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の経時的変化についても検討している。</p>	

トラフグでは、低 Ca:P 比 (0.5)・フィターゼ添加区が他の区に比べて高い成長を示すことを明らかにし、高 Ca:P 比 (1.5)・フィターゼ添加飼料を摂取した場合、成長と脊椎骨と全魚体中の P および亜鉛 (Zn) 含量が低下することを示した。この結果は、飼料性 Ca の過剰添加は他の動物群で報告されているのと同様にトラフグにおいてもミネラル利用性を低下させるとともに、消化管での飼料性フィターゼ活性を阻害している可能性を示唆していると考えられる。マダイにおいては、無機 P とフィターゼ添加は成長を有意に向上させることを明らかにした。また、無機 P およびフィターゼ無添加区では、脊柱側湾による奇形の発生を確認し、マダイ稚魚は飼料性フィターゼが無ければ IP6 を有効に利用できず、無機 P 無添加では正常な成長を維持できないことが明らかにしている。また、フィターゼ添加 (2000FTU/kg 飼料) によって、0.25%無機 P 区の成長が 0.5%無機 P 区とほぼ同様の成長を示し、マダイはフィターゼにより遊離した IP6 由来の P を効率よく利用できること、無機 P 含量が低い時にフィターゼ添加の効果が表れやすいことが明らかにしている。ヒラメでは、無機 P とフィターゼ添加量が成長に対して有意な要因であり、飼料性 Ca 添加は成長に効果を示さないことを確認している。また、血漿中の無機 P 含量は飼料無機 P 添加量に影響を受けること、摂餌 6 時間後のヒラメ稚魚の血漿中無機 P、Mg 含量および ALP 活性が 0.25%無機 P・フィターゼ添加区と 0.5%無機 P・フィターゼ区でほぼ同様の値を示し、飼料無機 P より遅れてフィチン酸由来の P が血漿中に出現することを明らかにしている。

本研究の結果、海産魚飼料の無機 P 添加量をフィターゼ添加により減らすことが可能であること、その至適配合量はそれぞれ 0.25%および 2000FTU/kg 飼料であることを明らかにした。また、フィターゼの効果を妨げることなく骨格の正常な発達を維持できる飼料性 Ca の最少添加量は 0~0.2%であることが確認している。

本研究は、養魚飼料への植物性素材の利用拡大の障害となっているフィチン酸の有効利用について重要な知見を提示しているだけでなく、リン含量の低い低環境負荷配合飼料の可能性も示唆しており、魚類養殖の発展に大きく寄与するものと期待できる。

以上の理由から、本論文は博士(水産学)の学位論文として価値を十分満たしていると考えられる。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	アスダ・ライニング
審査委員	主査 鹿児島 大学 教授 越塩 俊介
	副査 鹿児島 大学 教授 小山 次朗
	副査 鹿児島 大学 教授 藤井 信
	副査 鹿児島 大学 准教授 侯 徳興
	副査 鹿児島 大学 教授 山本 淳
審査協力者	
実施年月日	平成22年 1月 19日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・ <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査及び副査は、平成22年1月19日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者アスダ・ライニングが博士(水産学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	アスダ・ライニング
<p>[質問1] トラフグにおいて、Ca/P比が成長に及ぼす影響を調べているが、Ca/P比とCa添加量どちらの影響を調べているのか。どちらが重要だと考えられるか。高Ca添加は成長の阻害を生じる恐れがあるのではないか。</p> <p>[回答1] 本研究では、Ca添加量を一定としてP添加量を変化させて、Ca/P比を変えているので、Ca添加の影響は本実験では同じと考えている。しかし、他の動物では高Ca添加により成長阻害が報告されているため、Ca添加量が重要だと考えている。</p> <p>[質問2] 本研究で血漿中のALP活性を測定しているがその理由はなにか。</p> <p>[回答2] 他の動物で、Ca摂取がALP活性に影響があるという報告があったため、測定を行った。</p> <p>[質問3] 高Ca添加がフィターゼの酵素活性を阻害するという記述があるがその機構はなにか。</p> <p>[回答3] 阻害を直接には確認していないが、Ca源として炭酸カルシウムを使用すると消化管内のpHが変化して活性が低下するのではないかと推測している。</p> <p>[質問4] 活性をin vitroでは調べていないのか。酵素活性は生体内とin vitroでは異なるため測定すべきである。</p> <p>[回答4] 本研究で使用したフィターゼはすでに市販されているものであるため、in vitroでの測定は行っていない。</p> <p>[質問5] Ca/P比が低いと摂餌量が増加しているのはなぜか。</p> <p>[回答5] Ca/P比が増加するにつれ成長が低下し、その結果、高Ca/P比区の摂餌量が下がったと考えられる。</p> <p>[質問5] 脊椎骨中のCa含量は測定していないのか。</p> <p>[回答5] 魚体が小さかったため、全魚体を用いてCa含量を測定した。</p> <p>[質問6] フィターゼはどのように飼料に混合したのか。また、フィターゼの安定性はどうか。</p> <p>[回答6] フィターゼは粉末状で、粉末素材に混合して飼料を作製した。使用したフィターゼは市販されており熱に安定であるとされている。</p> <p>[質問7] 脊椎骨が変形した奇形魚は、P欠乏区で何尾出現したのか。</p> <p>[回答7] P欠乏区では1匹だけである。</p> <p>[質問8] 奇形魚の脊椎骨中のCa含量は測定したのか。</p> <p>[回答8] 電頭試料作製のため、使用したので測定できなかった。</p> <p>[質問9] フィターゼを添加した場合、飼料価格はどのくらい上昇するか。</p> <p>[回答9] フィターゼの種類によるが、種類によって50\$/kgから5\$/kgまでである。飼料コストについては今後検討する必要があると考えている。</p>	

学位申請者
氏名

アスダ・ライニング

[質問10] 奇形魚は1尾しか出現しなかったが、飼育期間を継続するとさらに増加すると考えられるか。また、欠乏区にP添加飼料を与えると回復すると考えられるか。

[回答10] 継続すると奇形魚は増加したと考えられる。P添加飼料を与えると回復することが他の動物で報告されているので、回復するのではないかと思われる。