

学 位 論 文 要 旨

氏 名 オルハン ウヤン

題 目 海産魚におけるリン排泄量低減に関する研究
(Study on Lowering Phosphorus Excretion in Marine Fish)

水産養殖において、飼料中代替タンパク質源の開発および飼料由来のリン (P) および窒素 (N) 排泄の抑制は周辺環境への負荷を低減すると同時に、効率の良いタンパク質源の利用につながり、水産養殖を持続的に遂行する上で必須である。本研究では飼料タンパク質源のPおよびN排泄量に及ぼす影響と、その効率的な利用方法を検討した。

(実験1および2) 魚粉をマグロ筋肉加工残渣 (TMP) で段階的 (0: 対照区, 25, 50, 75および100%) に置き換えた試験飼料を用い、ヒラメ (3.6g) およびマダイ (6.6g) 稚魚に対してそれぞれ40日および50日間の飼育試験を行った。両魚種共に75および100%区は対照区および25, 50%区と比較して低い増重率を示した。一方、25および50%区は対照区と同等の増重率を示した。また、試験飼料中のTMP含量の増加に伴いP排泄量は減少する傾向にあり、50%区では対照区と比較してヒラメでは約50%、マダイでは約66%のP排泄量が減少した。以上の結果より魚粉に対してTMPの置き換え可能な割合は両魚種共に50%付近であると推定された。

(実験3および4) 3段階のタンパク含量 (46, 50および54%) それぞれについて、エネルギーが2段階 (5.0および5.2 kcal/g) となるよう脂質添加量を調整した試験飼料を用い、ブリ稚魚 (180g) に対して55日間の飼育試験を行った。タンパク含量46%、5.2kcal区は全試験区中で最も低いPおよびN排泄量を示したが、各試験区間の増重率に有意な差は見られなかった。従って、ブリ飼料中のタンパク含量は飼料脂質の割合を19.5%とすることで、46%まで低減可能であると示唆された。また、飼料中魚粉の10%を脱脂大豆粉末 (SBM) で置き換え、タンパク含量を43%に低減させたものに飼料脂質含量が3段階 (10, 16および20%) となるよう脂質添加量を調整した試験飼料を用い、ブリ (420g) に対して80日間の飼育試験を行った結果、脂質含量20%の試験飼料区は全試験区中で最も低いPおよびN排泄量を示したが、増重率に試験区間で有意な差は見られなかった。

(実験5) 飼料性P含量が魚類の健全性および正常な成長に与える影響を明らかにするため、Pおよびリン脂質 (PL) 添加量をそれぞれ3段階 (0, 0.6および1.2% P × 0, 1.8および3.5% PL) 組み合わせた9種類の半精製試験飼料をヒラメ (1.0g) に対して40日間給餌した。全試験区中、0.6% P × 3.5% PL区は最も高い増重率を示した。飼料中P含量が要求量に対し不足していると考えられる試験区では成長の遅延、背骨の形態異常および非石灰化現象が観察された。また、ヒラメ体表粘液中のリゾチーム活性および殺菌活性は飼料中P含量の増加に伴い高くなった。

以上より、TMPやSBMを飼料中タンパク質源として用い、飼料エネルギー量を調節することで、魚類の良好な成長および健全性を妨げることなくPおよびN排泄量低減が可能であると考えられた。

学 位 論 文 要 旨

氏 名 Orhan UYAN

題 目 Study on Lowering Phosphorus Excretion in Marine Fish
(海産魚におけるリン排泄量低減に関する研究)

To supply the growing global demand with sufficient amount of aquatic products, planning and management for sustainable aquaculture development is essential. This expansion can only be kept in sustainable limits if the ecological impact of aquaculture is minimized. Therefore, the major source of the most common aquaculture pollutants associated with feed, phosphorus (P) and nitrogen (N) excretion, must be lowered by means of dietary manipulation without affecting growth and health in fish.

To do that, tuna muscle by-product powder (TMP) was replaced with fishmeal with the levels of 25%, 50%, 75% and 100% of fishmeal protein in the diets, and fed the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) (3.6 g initial weight) and red sea bream (*Pagrus major*) (6.6 g initial weight) for 40 and 50 days, respectively. Results indicated that the weight gains (WG) were not significantly different among the fish fed the control, 25% and 50% TMP containing diets in Japanese flounder and red sea bream juveniles. However, WG significantly decreased in fish fed the diets containing TMP at 75 and 100% compared to those fed the diets containing TMP at 0%, 25% and 50% in both species. Among the 0, 25 and 50% replacement level, P excretion of the fish fed the diet containing 50% TMP was significantly lower than the others. In conclusion, 50% of dietary fishmeal protein could be replaced by TMP without reduction of growth performances resulting in about 50 and 66% lower P loading than the control group in Japanese flounder and red sea bream, respectively.

At the third trial, effects of dietary protein and energy levels on nitrogen and phosphorus excretion in young yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) were investigated. Two levels of dietary energy (5.0 and 5.2 kcal/g) and three levels of protein (46, 50 and 54%) were tested in a complete randomized design with a 2 x 3 factorial arrangement for 55 days. Results indicated that, to obtain the lowest P and N excretion values without growth retardation, the diet containing 46% protein and 19.5% lipid with 5.2 kcal/g gross energy was recommended for yellowtail growing from ~ 180 g to ~ 460 g. At the fourth trial, 10% of dietary fishmeal of control diet having 43% protein was replaced by defatted soybean meal (SBM) at 10, 16 and 20% lipid level in young yellowtail. After 80 days of feeding trial, result demonstrated that 10% FM replacement by SBM with 20% lipid from the diet containing 43% protein could be recommended to obtain lower P and N excretion without growth retardation in yellowtail weighing from ~ 420 g to ~ 900 g.

At Chapter III, the effect of dietary P levels on fish health was investigated. At the fifth trial, the effects of dietary P and phospholipid (PL) concentration on growth and health condition were investigated in juvenile Japanese flounder with the initial weight of 1.0 g for 40 days. Nine semi-purified diets supplemented with 3 levels of P (0%, 0.6% and 1.2%) and PL (0%, 1.8% and 3.5%) was tested. In conclusion, the fish fed the diet supplemented with 0.6% P and 3.5% PL produced the maximum growth. Phosphorus deficiency signs were mainly characterized by poor growth, deformed operculum and failure in bone mineralization in juvenile Japanese flounder. According to the results of the last trial (Chapter III Part 2), mucus lysozyme and bactericidal activities were also influenced by the dietary P level and significantly improved by increasing P in diets in juvenile Japanese flounder.

In brief, the research findings suggest that P excretion could markedly be lowered by dietary manipulation in fish without growth retardation. To minimize the P excretion, not only growth but also health condition of fish must be considered.

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	Orhan Uyan
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 宮 崎 大学 教授 村田 壽
	副査 鹿児島 大学 教授 田中 淑人
	副査 宮 崎 大学 教授 伊丹 利明
審査協力者	
題 目	Study on Lowering Phosphorus Excretion in Marine Fish (海産魚におけるリン排泄量低減に関する研究)
<p>世界的な養殖業の発展に伴い、環境への影響も考慮されるようになった。特に、養殖事業からのリンや窒素の環境への負荷は海域汚染を引き起こし、富栄養化及び赤潮の原因ともなる。これらの現象は、バクテリアやウィルスの発症源ともなり、養殖魚ばかりでなく天然魚の疾病へとつながる恐れがある。そこで、最近、リンや窒素の負荷を低減する努力が各国で試みられている。このような環境を考慮した持続的養殖業を継続的に発展させるための試みの一つの手段として、養魚飼料の改善が考えられる。</p> <p>本研究は、リンに注目し、魚類における餌料性リンの役割を明らかにし、リンの排泄を低減する方法を検索することを目的として、①リンの排泄に最も影響する飼料中のタンパク質、特に魚粉、を低減し、その代替タンパク質源の適正添加量を決定し、②飼料中魚粉量を低減するとともに、脂質によりエネルギー量を調整し、その生産性を損なうことがない最適配合量を決定し、</p>	

③ 摂取リン量が要求量を下回るといろいろな弊害が起こる事が指摘されていることから、成長と魚の健全性を保つための、リンとリン脂質の最適配合量について解明した。

本学位論文は、5つの研究から構成されており、まず、魚粉をマグロ筋肉加工残渣（TMP）で置き換え、ヒラメ・マダイ稚魚に対する添加効果を解明した。その結果、飼料中のTMP50%が最適代替率であり、ヒラメでは50%、マダイでは66%のリン排泄量を減少させることが可能となった（研究1、2）。

飼料中のタンパク質含量及び脱脂大豆粕による魚粉代替率を変えた飼料をブリに与え、リンの排泄量を検討した。その結果、飼料中のタンパク質含量を54%から46%まで減少させ、脱脂大豆粕を添加することにより、成長を損なう事無くリン排泄量を低減させることが判明した（研究3、4）。

飼料性リンが魚類の健全性及び正常な成長に与える影響を明らかにするために、ヒラメを用いて、リンとリン脂質との交互作用を考慮した飼育実験を行い、その結果、成長指標に関してはリンとリン脂質は独立的に働き、リン摂取が不足するとリン脂質が十分摂取されていても骨格異常が観察され、また、免疫応答はリン摂取量が高くなるにつれて増加したことが判明した（研究5）。

以上のように、本論文から、海産魚類の成長、生残、免疫反応に関するリンの役割についての新たな基礎的知見が得られ、また、産業副産物や植物由来タンパク質源を有効に用いる事及び飼料エネルギー量を調節することによって、魚類の成長と健全性を妨げることなくリンの環境への負荷を低減できる事が示された。さらに、本研究は、魚粉を低減した新たな養魚飼料開発に貢献するという実用的な面からも価値が高いと判断される。したがって、本研究成果は世界的な海産魚類・甲殻類増養殖の発展に寄与すると思われ、審査委員会は本研究論文が学位論文として十分な内容であると判断した。

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏 名	Orhan Uyan
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 宮 崎 大学 教授 村田 壽
	副査 鹿児島 大学 教授 田中 淑人
	副査 宮 崎 大学 教授 伊丹 利明
審査協力者	
実施年月日	平成18年12月25日
試験方法（該当のものを○で囲むこと。） <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査及び副査の5名は、平成18年12月25日（月曜日）、学位申請者本人に対して学位論文の内容について説明を求めるとともに、その内容及び関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員会は、申請者が大学院連合農学研究科博士課程修了者として十分な学力並びに識見を有するものと認め、博士（水産学）の学位を与えるに足る十分な資格をもつものと判定した。</p>	

学位申請者
氏 名

Orhan Uyan

[質問 1] SEM 画像では骨組織の形態異常が観察されるが、骨組織中リン、リン酸塩レベルおよびコラーゲン量を測定したか。

[回答 1] 本実験では測定していないが、リンのみでなく、カルシウムの不足によって形態異常が起こったものと考えている。骨組織において、リンはヒドロキシアパタイトの一部として代謝されるが、これはリン、カルシウムを 1 : 5 の比率で含んでいるため、リンが欠乏するとカルシウムの代謝も自動的に阻害されるものと考えられる。

[質問 2] TMP のような産業副産物を利用する場合、その品質を一定に保つことは可能であるか。

[回答 2] TMP の原料となるマグロ加工残渣は単一種のマグロより生産されるものではない。したがって、すべての生産ロットについて常に品質検査を行う必要がある。しかしながら、TMP は骨、皮、頭等のリンを多量に含む部位を使用していないため、リン含量においてロット毎に大きな変動はないものと考えられる。

[質問 3] 魚種および発育段階の違いによって TMP の効果は異なるのか。

[回答 3] リン排泄量を最も減少させる TMP 代替率は、ヒラメでは 50%、マダイでは 60%と異なっていた。これはリン要求量、代謝が魚種によって異なることを示唆している。また、発育段階初期の魚類では、飼料中のリン含量のみならずアミノ酸組成にも高い質を要求するため、より大型の魚と比較して TMP の魚粉代替率は低くなるものと考えられる。

[質問 4] リン摂取による生体防御能活性化の作用機序は明らかになっているか。

[回答 4] 本研究で測定した血清の殺菌活性は主として補体タンパクによるものであるが、これらのタンパク質は ATP 依存性である。生体内での ATP 合成もしくは構成要素としてリンは必須であることから、リン摂取量の増加に伴いこれらの活性も上昇したものと考えられる。

[質問 5] TMP 代替率が 50% 以上では成長率が低下するのはなぜか。

[回答 5] TMP は魚粉と比較してヒスチジンを多く含む一方、遊離アミノ酸含量は少ない。これらが摂餌量減少の要因となり、成長率を低下させたものと考えられる。また、摂餌誘因物質の添加によってこの問題は解決されるであろう。

[質問 6] 血清の殺菌活性測定に非病原性の *Escherichia coli* を用いた理由は。

[回答 6] 本実験で採用した殺菌活性測定系はあくまでもモデルであり、実際の病原菌に対する殺菌活性を示すものではないが、病原性の細菌を用いた殺菌活性測定も行いたいと考えている。