戻し交雑魚マダイ ♀ × F₁ (マダイ ♀ × チダイ ♂) ♂ の
表皮 carotenoid および astaxanthin 含量
—交雑による新タイ科養殖魚種の作出—III—

熊井 英水,^{1*} 中村 元二,^{1a} 坂上 憲晃,¹ 高岡 治,¹
古田 晋一,² 瀬岡 学,¹ 滝井 健二¹

(2000 年 11 月 15 日, 2001 年 3 月 13 日受理)

¹近畿大学水産研究所浦神実験場, ²近畿大学水産養殖種苗センター浦神事業場

Integument Carotenoid and Astaxanthin Contents of A New Backcross Sea Bream,
Red Sea Bream ♀ × F₁ (Red Sea Bream ♀ × Crimson Sea Bream ♂) ♂
—Development of New Sea Bream Seeds by Hybridization—III—

Hidemi Kumai,^{1*} Motoji Nakamura,^{1a} Noriaki Sakajyo,¹ Osamu Takaoka,¹
Shin-ichi Furuta,² Manabu Seoka,¹ Kenji Takii¹

¹Fisheries Laboratory, Kinki University, Wakayama 649-5145, ²Fish Nursery Center, Kinki University,
Wakayama 649-5145, Japan

The pigmentation of a new backcross sea bream (RF₁), red sea bream *Pagrus major* (RSB) ♀ × F₁ (RSB ♀ × crimson sea bream *Evynnis japonica* ♂) ♂, weighing 265 g on an initial mean body weight, was compared with RSB, weighing 280 g on an initial mean body weight, by a 30-day-feeding trial. The F₁ were initially bred as a new hybrid, owing to the improvement of dark cultured-RSB pigmentation with crimson red sea bream in early 1970s. On day 15 of the feeding trial, integument carotenoid and astaxanthin contents of RF₁ fed a diet with 3.0 mg astaxanthin (AS)/100 g diet were significantly higher than RSB and/or RF₁ fed other diets with 0 and 1.5 mg AS/100 g diet. The integument carotenoid and AS contents of RF₁ and RSB rose with an increase in dietary AS amounts on the final day of the feeding trial. Moreover, the contents of RF₁ tended to be higher than RSB at each dietary AS treatment. These indicate that RF₁ have a preferential trait that is effectively pigmented by a shorter rearing duration with a lower AS intake than RSB.

キーワード: マダイ ♀ × F₁ ♂ (マダイ ♀ × チダイ ♂), マダイ, 体色, 合成アスタキサンチン

マダイ *Pagrus major* の養殖による体表の色調黒化を育種学的に改良するために、養殖しても黒化の少ないチダイ *Evynnis japonica* との交雑を試み、交雑種マダイ ♀ × チダイ ♂ (F₁) および戻し交雑種マダイ ♀ × F₁ ♂ (RF₁) を作出した。^{1,2)} これまでの研究から、^{3,4)} F₁ に比べて RF₁ の外部形態や筋肉繊維直径はマダイよりの分散を示すこと、また、選抜育種によって RF₁ の成長や飼育成績をマダイと同程度にまで改善できれば、RF₁ は新しいタイ科養殖種として十分に高い可能性を持つことを示唆した。しかし、これら交雑魚が作出された最大

の目的である体表の色調や色調改善に関する検討は行われていない。色調が優れていることは、新タイ科養殖魚種として見逃すことのできない重要な条件の一つである。

そこで、本報では RF₁ とマダイに合成 astaxanthin 添加および無添加飼料を給与して飼育し、表皮の carotenoid および astaxanthin 含量とそれらの変化から、RF₁ の優れた体表の色調と astaxanthin による色調改善効果を確認しようとした。

* Tel : +81-735-58-0116, Fax : +81-735-58-1246, E-mail : kumai@nara.kindai.ac.jp

^a 現所属: 近畿大学水産研究所中辺路研究分室 (Fisheries Laboratory, Kinki University, Nakahechi Branch, Wakayama 646-1402, Japan)

材料および方法

試験飼料 試験飼料組成と一般成分を Table 1 に示す。飼料 1, 2 および 3 の astaxanthin 含量が 0, 1.5 および 3.0 mg/100 g 飼料になるように、市販の合成 astaxanthin (Carophyl Pink, 日本ロシュ) を 0, 0.019 および 0.038% 添加した。合成 astaxanthin 添加量の違いに基づく飼料組成の過不足は小麦粉で補い、その他の沿岸魚粉、大豆粕、小麦グルテン、イワシ油、 α -デンプン、ビタミンおよびミネラル混合物などは、それぞれ 55, 10, 8.45, 9, 7, 3 および 2.52% になるよう共通して配合した。これらの飼料は 2 軸式エクストルーダーで直径 7 mm のドライペレットに調製し、遮光下で -20

Table 1. Formula and proximate composition (%) of test diets

Ingredient	Diet no.		
	1	2	3
Brown fish meal	55	55	55
Soybean meal	10	10	10
Wheat gluten	8.48	8.48	8.48
Sardine oil	9	9	9
α -Corn starch	7	7	7
Vitamin mixture* ¹	3	3	3
Mineral mixture* ¹	2.52	2.52	2.52
Soybean lecithine	2	2	2
Wheat flour	3	2.98	2.96
Carophyll pink* ²	—	0.02	0.04
Astaxanthin content (mg/100 g diet)	—	1.5	3
Proximate composition			
Crude protein	52.1		
Crude lipid	14.5		
Crude ash	12.8		
Crude sugar	13.1		

*¹ Halver (1957)¹⁷⁾.

*² Roche Vitamin Japan.

℃のフリーザーに保存した。

飼料の粗タンパク質、粗脂質、粗灰分および粗糖質含量は、それぞれ 52, 15, 13 および 13% であった。

供試魚および飼育方法 供試魚には前報⁴⁾と同一起源のものを用いた。すなわち、本研究所浦神実験場でふ化養成したマダイ親魚 (魚体重約 1 kg) 1 尾から得た完熟卵を、2 分してそれぞれにマダイおよび F₁ の精子で人工受精した。ふ化後は両魚種ともに一般的な餌料系列で飼育し、体重がそれぞれ 280 g および 265 g に達した時点で体色改善試験に供した。なお、いずれの魚種も屋内 3 m³ 水槽に 40 尾ずつ収容して 3 試験区を設け、所定の飼料を日間給餌率が 1.3% になるように与えて 30 日間飼育した。また、各試験区には毎分 20 l の割合で濾過海水を注水し、絶えずエアレーションを行った。飼育期間中の水温は 25~20℃ の範囲であり徐々に低下した。

飼育開始、中間および終了時には体重測定を実施するとともに、各区からランダムに 5 尾ずつ取り上げて、頭部と鰭を除く魚体左側表皮を注意深く採取し、液体窒素で瞬間凍結してから -80℃ のフリーザーに遮光保存した。

分析方法 鱗を含む左側表皮をハサミで細切して凍結乾燥し、その 3~5 倍量 (v/w) の acetone とともに 10 分間ホモジナイズして色素を抽出した。この操作を 5 回繰り返してから窒素気流下で減圧濃縮し、diethyl ether に転溶した一部を用いて McBeth の方法⁵⁾ で総 carotenoid 含量を求めた。また、benzene: ethyl acetate (98:2) を展開溶媒として、抽出液を Silicagel 60 薄層プレートで展開してから、クロマトスキャナー (Shimadzu CS-9000) を用いて astaxanthin 含量を測定した。

統計処理 飼料および魚種間の差異を一元分散分析 ($p < 0.05$) で確認した後、それら平均値の差異を Duncan's multiple range test⁶⁾ で有意差判定 ($p < 0.05$) した。

結 果

Table 2 に開始および終了時における各区の平均体重

Table 2. Growth performance of red sea bream (RSB) and RSB ♀ × F₁ (RSB ♀ × crimson sea bream ♂) ♂ (RF₁) fed diets 1, 2, and 3 for 30 days

Diet no. Fish	1		2		3	
	RSB	RF ₁	RSB	RF ₁	RSB	RF ₁
Mean body weight (g)						
Initial	288 ± 18	260 ± 28	289 ± 20	266 ± 23	276 ± 29	273 ± 20
Final	370 ± 25	323 ± 35	347 ± 61	336 ± 36	355 ± 45	343 ± 30
Survival (%)	100	100	100	100	100	100
Gain (%)	26.6	22.3	19.1	24.6	26.8	24.4
Daily feeding (%)	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
Feed efficiency (%)	71.5	61.7	52.2	66.6	73.8	66.1

Fig. 1. Integument carotenoid and astaxanthin contents of RSB* (□) and RF₁* (■) fed diets 1, 2, and 3 on the initial, 15, and 30 days of the feeding trial. Mean ± SD ($n=5$). Different superscript letter on bars donates significant difference between the fishes and dietary treatments ($p<0.05$) on each day.

*See in Table 1.

と生残率, 増重率および飼料効率を示す。

飼育期間中の各飼料区に全く斃死は認められなかった。飼料2を摂取したマダイ区の増重率や飼料効率はRF₁区に比べて若干劣ったが, 他の飼料を摂取したマダイ区ではRF₁区より僅かに優れていた。従って, これら飼育成績には飼料への色素添加に伴う差異や一定の傾向は得られなかった。

Fig. 1に開始, 中間そして終了時に測定した表皮の総carotenoid および astaxanthin 含量を示す。

まず, 色素無添加の飼料1を給与した場合には, RF₁区の総carotenoid 含量がマダイ区より高く推移したが, いずれも経時的に僅かに低下する傾向にあった。飼料2を給与したRF₁区およびマダイ区については, 飼育開始から中間時にかけての総carotenoid 含量に変化はなく, 有意な種間差も認められなかったが, RF₁区では中間から終了時にかけて著増し, 終了時ではマダイ区に比べて有意に高かった。一方, 飼料3を給与したRF₁区の総carotenoid 含量は, 開始から中間時にかけて顕著に増加し, 中間時ではマダイ区より有意に高く終了時におけるマダイ区と同等のレベルにまで達していた。しかし, マダイ区でも中間から終了時にかけて著増したことから, 終了時には有意な種間差は認められなかった。

次いで, astaxanthin 含量についてみると, 色素無添加の飼料1を給与した場合には, 終了時のRF₁区はマダイ区より有意に高かったが, 開始および中間時には種間差はなくいずれも低値を維持した。しかし, 飼料2および3を給与したRF₁およびマダイ区のastaxanthin 含量は経時的に増加し, 中間時には飼料3のRF₁区が有意に高かった。また, 終了時もRF₁区がマダイ区よ

りいずれも高い傾向にあったが, 有意差は認められなかった。

考 察

飼料2を給与したRF₁区の成長率および飼料効率は, 同一の飼料を給与したマダイ区より若干高かったが, 飼料1および3を給与した場合にはいずれもマダイ区が僅かに優れていて, 先の成長と栄養素代謝²⁾における飼育結果を再確認した。

これまでマダイの体色改善には, 餌飼料として astaxanthin 含量が豊富で比較的高価な甲殻類が繁用されてきた。⁷⁾しかし, 体色改善には甲殻類を1カ月以上にわたって長期間投与する必要があるし, astaxanthin が容易に酸化されることから, 甲殻類の保存管理にも多大な経費が必要で,⁸⁾マダイの生産コストを大きく押し上げる原因になっている。さらに, 甲殻類の必須アミノ酸バランス⁹⁾がマダイの要求¹⁰⁾と異なることから, 体色改善期間の成長は若干低下する。そこで, 本研究では酸化され難く, 配合飼料に容易に混入できる合成 astaxanthin を用いて検討した。¹¹⁾

合成 astaxanthin 無添加の飼料1を給与したRF₁区とマダイ区では, 表皮の総carotenoid 含量は経時的に低下する傾向にあったが, RF₁区がマダイ区より高く推移した。また, 飼料2および3を摂取したRF₁区の表皮総carotenoid および astaxanthin 含量は, 同一飼料を摂取したマダイ区より高い傾向にあった。さらに, 終了時における観察からもRF₁の体表の色調はマダイに比べて赤色が鮮やかであった。これらの結果から, RF₁の合成 astaxanthin による体表の色調改善はマダイより短期間で効率的に行えることが示された。これまでの報告

から、マダイの表皮には carotenoid 系色素として α -carotene, tunaxanthin, lutein, zeaxanthin, α -doradexanthin ester および astaxanthin が存在し、¹²⁾ 黒色の melanine 色素も加わって深みのある独特の色調になることが知られている。また、チダイ表皮の carotenoid 系色素にはマダイと若干異なるが、 α -cryptoxanthin, tunaxanthin, lutein, zeaxanthin, 3-hydroxy-canthaxanthin, astaxanthin などが同定されている。¹³⁾ 一方、海産魚における carotenoid 系色素の代謝は、astaxanthin から β -carotene triol, zeaxanthin, lutein そして tunaxanthin の順に、赤色色素から黄色色素へと変化することが推定されている。¹⁴⁾ 表皮の黒色素胞の数や melanine 含量の違いも色調に大きな影響を及ぼすが、RF₁ では表皮における astaxanthin から zeaxanthin そして tunaxanthin への代謝、さらに、表皮から他の臓器への tunaxanthin の移行がマダイに比べて遅いのかもしれない。

近年の景気低迷の影響を大きく受けて、魚類養殖業の現状は厳しく将来の発展が危ぶまれている。畜産の分野では流通のグローバル化によって、生産コストの大幅な削減と高品質化が果敢に実行されてきた。これからの魚類養殖業も畜産業と同様な状況に置かれるのは必至と考えられる。おそらく、これからも海外からの水産物の輸入は増加し、価格はさらに低く維持されるであろう。¹⁵⁾ これまでの魚類養殖業の構造や形態、技術などについて根本的な見直しを行う時期であるのかもしれない。一連の本研究を含め、これまで近畿大学水産研究所が行ってきた養殖魚類の育種学的応用研究¹⁶⁻¹⁸⁾は、将来における魚類養殖業を模索・確立する上の重要な道しるべであり、試金石の一つであると考えられる。

謝 辞

本研究を行うに当たって、近畿大学水産研究所浦神実験場と水産養殖種苗センター浦神事業場の職員ならびに学生各位にご助力をいただいた。また、(株)サンバイオレックスの眞岡孝至博士に数々のご助言を賜った。ここに記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) 熊井英水, 中村元二. マダイとチダイの人工交配とふ化仔魚の飼育. 昭和48年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1973; 75.
- 2) 熊井英水, 中村元二. 交雑魚マチダイの戻し交雑について. 昭和52年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 1977; 75.
- 3) 中村元二, 坂上憲晃, 滝井健二, 浦川敬一, 熊井英水.

- マダイおよびチダイ間交雑魚の外部形態と筋線維直径. 日水誌 2001; **67**: 829-832.
- 4) 滝井健二, 坂上憲晃, 中村元二, 白川雅仁, 熊井英水. 戻し交雑魚マダイ♀×F₁ (マダイ♀×チダイ♂) の成長と栄養素代謝. 日水誌 2001; **67**: 833-837.
- 5) McBeth JW. Carotinoids from nudibranchs. *Comp. Biochem. Physiol.* 1972; **41B**: 55-68.
- 6) Harter HL. Critical value for Duncan's new multiple range tests. *Biometrics* 1960; **16**: 671-685.
- 7) Watanabe T. Intensive marine farming in Japan. In: Shepherd J, Bromage N (eds) *Intensive Fish Farming*, BSP Professional Books, Oxford, 1988; 239-267.
- 8) 今田 克. マダイ・甲殻類. Ⅲ. 水産養殖へのカロテノイドの応用「水産学シリーズ25 水産食品のカルテノイド」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京, 1978; 108-122.
- 9) Lim CC, Persyn A. Practical feeding-Penaeid shrimp. In: Lovell T (ed) *Nutrition and Feeding of Fish*, Chapman & Hall, London, 1989; 205-232.
- 10) Foster I, Ogata HY. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* 1998; **161**: 131-142.
- 11) 四反田勝久, 鈴木 弘, 中山 寛, 水谷 清, 飯田九州男, 中村元二, 熊井英水. 合成アスタキサンチン給与によるマダイの体色改善. 水産増殖 1987; **35**: 11-18.
- 12) Katayama T, Shintani K, Shimaya M, Imai S, Chichester CO. The biosynthesis of astaxanthin-IX. The transformation of labelled astaxanthin from the diet of sea bream, *Chrysophrys major Temminck and Schlegel*, to their body astaxanthin. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1972; **38**: 1399-1403.
- 13) Katayama T, Miyahara T, Tanaka Y, Sameshima M, Simpson KL, Chichester CO. The biosynthesis of astaxanthin-XV. The carotenoids in chidai, red sea bream, *Erynnis japonica Tanaka* and [the incorporation of labelled astaxanthin from the diet of red sea bream] to their body astaxanthin. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1974; **40**: 97-103.
- 14) 鴻巣章二. 魚介類の色・味・香り. 「水産食品学」(須山三千三, 鴻巣章二編) 恒星社厚生閣, 東京, 1987; 71-94.
- 15) 多屋勝雄. 水産物需要の動向 小売店・外食店・中食店の攻勢が需要を変える 鏽. 「食料白書 新たな漁業秩序への胎動」(食料・農業政策研究センター編) 農産漁村文化協会, 東京, 1999; 59-77.
- 16) 宮下 盛. 種苗. 「海産魚類の養殖技術の現状と課題. 最新海産魚の養殖」(熊井英水編著) 湊文社, 東京, 2000; 18-20.
- 17) 家戸敬太郎. 育種. 「海産魚類の養殖技術の現状と課題. 最新海産魚の養殖」(熊井英水編著) 湊文社, 東京, 2000; 21-24.
- 18) 村田 修, 家戸敬太郎. 交雑魚. 「海産魚類の養殖技術の現状と課題. 最新海産魚の養殖」(熊井英水編著) 湊文社, 東京, 2000; 25-30.
- 19) Halver JE. Nutrition of salmonid fish-III. Water-soluble vitamin requirements of chinook salmon. *J. Nutr.* 1957; **62**: 225-243.