

短 報

魚粉含量を極端に減らした低魚粉飼料で  
長期間飼育されたニジマス親魚の生残、  
成長および採卵成績

三浦正之<sup>1,\*</sup>・名倉 盾<sup>2</sup>・岡崎 巧<sup>1</sup>・大浜秀規<sup>2</sup>・  
鈴木伸洋<sup>3</sup>・古板博文<sup>4</sup>・山本剛史<sup>4</sup>

Reproduction performance of rainbow trout  
(*Oncorhynchus mykiss*) fed an extremely low  
fish meal diet for a long term

Masayuki MIURA<sup>1,\*</sup>, Jun NAGURA<sup>2</sup>,  
Takumi OKAZAKI<sup>1</sup>, Hideki OOHAMA<sup>2</sup>,  
Nobuhiro SUZUKI<sup>3</sup>, Hirofumi FURUITA<sup>4</sup>  
and Takeshi YAMAMOTO<sup>4</sup>

**Abstract:** We investigated the growth, survival, and reproduction performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed 5% fish meal diets (ELFM group) from the juvenile stage to the 3-year-old mature stage. Fish in the control group were fed approximately 50% fish meal diets (FM group). The growth of the ELFM group was significantly inferior to the FM group. However, survival rates and egg quality parameters were not significantly different between groups. Thus, a 5% fish meal diet could be used in almost all stages of rainbow trout farming and reproduction for selective breeding.

**Key words:** Rainbow trout; Low fish meal diet; Reproduction performance; Selective breeding

マス類養殖用飼料の原料として多用されている輸入魚粉の価格は、原料魚の漁獲量に左右され不安定であるとともに、中国を中心とした新興国における魚粉需要拡大を背景に上昇傾向で推移している (渡邊 2009; 水産庁 2018)。このことが配合飼料価格の高騰を招く主な要因となっており、飼料中の魚粉を植物性原料に置き換えた低魚粉飼料を利用する必要性は急速に高まりつつある。しかし、魚粉の代替

原料として主に用いられる大豆油粕 (SBM) は、魚粉に比べ安価で安定的な確保が可能な原料であるが、栄養価が劣ることや、抗栄養因子の存在により成長や飼料の利用性が低下することがわかっている (Gatlin et al. 2007)。

一方、SBM の代わりに濃縮大豆タンパク (SPC) を主タンパク源とした場合や (Kaushik et al. 1995)、SBM を用いた場合であっても栄養的な補足や SBM への発酵処理を行うことで (Yamamoto et al. 2007, 2010)、ニジマス *Oncorhynchus mykiss* の成長や飼料効率を損なうことなく、魚粉を置換できることが示されている。但し、これらはコストの面で通常の SBM より不利であるため、実用面で課題が残る。そこで、SBM を主体とした飼料で良好な成績を得るための対策として、植物性原料を効率的に利用できる系統の選抜育種が考えられる。海外では SPC や、トウモロコシや小麦由来のグルテン主体飼料を用いた選抜により、同飼料給餌下でも高成長を示すニジマスを選抜できることが確認されている (Overturf et al. 2013; Callet et al. 2017)。また、わが国においても、魚粉含量を5%まで極端に減らして SBM を50%以上配合した低魚粉飼料 (ELFM 飼料) でアマゴ *Oncorhynchus masou ishikawae* を飼育し、良好な成長を示した個体を親として次世代を作出することで、低魚粉飼料でも高成長を示す魚を選抜できることが明らかとなっている (Yamamoto et al. 2016)。

ニジマスは日本全体の内水面養殖業における生産量の13% (農林水産省 2018)、山梨県においても生産量の73%を占める (山梨県 2018) 重要な養殖魚種である。本種においても、低魚粉飼料で高成長を示す家系作出やそれに係る技術を確立する意義は大きい。

われわれは低魚粉飼料で高成長を示すニジマスの選抜育種技術を確立するための研究の一環として、稚魚期から満3歳の成熟期までの2年以上にわたり ELFM 飼料のみで飼育されたニジマスの成長、生残および採卵成績などを調べた。この期間、ELFM 飼料のみで養成された親魚からでも正常に次世代が得られることが示されれば、ニジマスの継代飼育のほほすべての段階において ELFM 飼料で養成が可能となる。これにより、ELFM 飼料での選抜期間をより長期に設けることが可能となり、選抜の確実性を高めることができる。また、魚粉をごく少量もしくはまったく含まない飼料を同様の期間用いた場合のマス類再生産に与える影響を調べた研究は非常に少なく、海外での研究事例があるものの、試験に使用されている無魚粉飼料は SBM 主体ではなく、日本では飼料原料として安価かつ安定的に調達す

2018年10月5日受付; 2019年4月2日受理。

<sup>1</sup>山梨県水産技術センター忍野支所 (Oshino Branchi, Yamanashi Prefectural Fisheries Technology Center, Oshino, Yamanashi 401-0511, Japan)。

<sup>2</sup>山梨県水産技術センター (Yamanashi Prefectural Fisheries Technology Center, Kai, Yamanashi 400-0121, Japan)。

<sup>3</sup>東海大学海洋学部水産学科 (Department of Fisheries, School of Marine Science and Technology, Tokai University, Shizuoka, Shizuoka 424-8610, Japan)。

<sup>4</sup>国立研究開発法人水産研究・教育機構増養殖研究所玉城庁舎 (Tamaki Station, National Research Institute of Aquaculture, Japan Fisheries Research and Education Agency, Tamaki, Mie 519-0423, Japan)。

\*連絡先 (Corresponding author): Tel, (+81) 555-84-2029; Fax, (+81) 555-84-3707; Email, miura-ajf@pref.yamanashi.lg.jp (M. Miura)。

ることが困難な小麦由来のグルテンが多く用いられている (Lazzarotto et al. 2015)。今回は、実際にわが国での技術確立を目的とし、SBM 主体の ELFM 飼料を用いて長期間飼育されたニジマス親魚からの採卵成績などを調べた。

山梨県水産技術センター忍野支所において継代飼育されているニジマスから2012年10月に採卵および人工授精により得た稚魚を約7.5 g に育つまで市販飼料 (魚粉57～66%) で飼育した。その後、この群からできるだけ体重が揃うよう500尾ずつ2群を抽出し、一つの群 (対照群) には Table 1 に示す魚粉主体飼料 (FM 飼料) を、もう一つの群 (選抜群) には Table 1 に示す ELFM 飼料を給餌し、約4ヶ月間飼育を行った。なお、飼料はドライペレットに成型し、粗タンパクおよび粗脂肪含量を合わせた (Yamamoto et al. 2016)。給餌率はライトリッツの給餌率表 (長野県水産指導所 1963) を基準とした制限給餌とし、1ヵ月に1回を目安に各群それぞれの総重量を測定し、平均体重から給餌率を決定し給餌量を補正した。約4ヶ月間の飼育終了後、対照群からは体重が中間のサイズの個体100尾を親魚候補として選抜し、選抜群からは体重が上位の100尾を親魚候補として選抜した (Yamamoto et al. 2016)。

その後は、対照群に対しては魚粉主体の市販配合飼料 (EP, 魚粉42～57%) を、選抜群に対しては Table 1 に示す ELFM 飼料を給餌し、満3歳の成熟期までの約2年間さらに飼育を継続した。給餌量の補正は前述と同様とした。成熟期の約2ヵ月前となる2015年8月からは対照群には市販の親魚用飼料 (アスタキサンチン配合) を用い、選抜群の ELFM 飼料には濃度が30～40 ppm となるようにアスタキ

サンチン製剤を添加した。飼育はすべて水温12.5℃の地下水をかけ流しながら行った。また、飼育水槽は FRP またはコンクリート製のものを使用し、概ね飼育密度が30 kg /m<sup>3</sup>を上回らないよう適宜水槽サイズを変更した。

なお、各群ともに満2歳の成熟期に雌雄ともに一部の個体が成熟したため、成熟したメス個体は腹腔内の卵を搾出した上で、成熟したオス個体はそのまま、それぞれ飼育を継続した。

親魚群が満3歳の成熟期となる2015年10月初めから2016年1月末までの期間、週1回の頻度で各群のメスの腹部を触診し、排卵状況を確認した。鑑別を確実に実施するため排卵状況の確認は麻酔剤 (FA100, DS ファーマアニマルヘルス) を1/5,000に希釈した麻酔溶液中で行った。鑑別期間が終了後、各群の全メス個体に占める成熟メス個体の割合を算出した。なお、本研究では満3歳の成熟期にオスの第二次性徴が見られない個体をメスと仮定し、全メス個体数を推定した。

排卵が確認されたメスについては、1尾ずつ体重を測定した後に、プラスチック製容器に採卵するとともに、ステンレス製の金網を用いて卵から体腔液を丁寧に除去した上で、採卵重量および1粒あたりの卵重量を測定した。その後、等張液 (0.9%NaCl 溶液) で洗卵後、等張液に浸した卵に約1,000粒あたり1 ml の同一群の精子を用いて受精させた。精子は複数のオスから採取したものをプールして用いた。なお、精子の運動性については受精日ごとに検鏡により確認したが、各群ともに良好な運動性を示した。受精卵の吸水完了後に個体別に無作為に約500粒ずつ抽出し、それらの受精卵を水温12.5℃の地下水かけ流して仔魚が浮上するまで管理し、発眼率、孵化率、奇形率および正常浮上率を算出した。

試験の結果得られたデータのうち、試験区間の平均の比較は Welch's *t*-test、割合の比較は Fisher's exact test により検定した。有意水準は危険率が5%以下とした。

満3歳の成熟期までの成長および生残状況を Table 2 に示した。500尾の供試魚から100尾の親魚候補を選抜するまでの約4ヶ月の期間において、ELFM 飼料を給餌した選抜群の期間終了時の平均体重は対照群と比べて低かった ( $P < 0.01$ )。また、生残率については群間で差は見られなかった ( $P > 0.05$ )。親魚候補を各群100尾に選抜した後の約2年間の期間においても、選抜群の期間終了時の平均体重は対照群と比べて低かった ( $P < 0.01$ )。また、両群ともに9割以上の生残率が得られ、群間で差は見られなかった ( $P > 0.05$ )。なお、両群ともに全期間で摂餌性に問題は認められず、活発に飼料を摂餌した。

本研究では、成長段階に応じて体重あたりの給餌率を調整する制限給餌により飼育を行った。そのため、対照群よりも低い飼料効率 (Table 2) が成長差の要因となった。今回用いた ELFM 飼料は、SBM に対する栄養的な補足や抗栄養因子に対する処理を最小限にした飼料であるため、飼料効率の差が出たことは妥当な結果であると考えられ、この結果は同様の飼料を用いて行われたこれまでの研究からも支持される (Yamamoto et al. 2007, 2010)。

満3歳の成熟期まで両群の生残率に差がなかったこと

**Table 1.** Formulation and proximate composition of the test diets

Diet	FMD <sup>a</sup>	ELFMD <sup>b</sup>
Ingredients (% wet weight)		
Fish meal (CP <sup>c</sup> = 70%)	50.00	5.00
Defatted soybean meal (CP = 46%)	4.50	50.02
Corn gluten meal (CP = 62%)	3.16	20.11
Wheat flour (CP = 16%)	26.00	8.16
Fish oil	4.71	7.05
$\alpha$ -starch	2.00	1.17
L-Lysine HCl	–	1.39
L-Methionine	–	0.34
Betaine	–	0.50
Vitamin mix <sup>d</sup>	0.50	0.50
Choline chloride	0.25	0.25
Mineral mix <sup>d</sup>	3.00	5.00
Cellulose	5.88	0.51
Nutrients (% dry matter basis)		
Crude protein	47.10	47.30
Crude fat	10.10	10.40
Ash	9.50	8.00
Lysine	3.38	3.31
Methionine	1.24	1.21

<sup>a</sup> Fish meal-based diet. This fish meal diet was used until the fish selection (Table 2). Commercial trout feeds (42-57% fish meal) were used after the fish selection.

<sup>b</sup> Extremely low fish meal diet: from 2 months prior to the start of ovulation, this diet was supplemented with 30-40 ppm astaxanthin (carophyll pink).

<sup>c</sup> Crude protein.

<sup>d</sup> Yamamoto et al. (2007).

は、成長が通常より劣るとしても、孵化直後からしばらくの期間を除いたすべての成長段階で生残に影響を与えることなく ELFM 飼料での飼育ができるということである。Lazzarotto et al. (2018) は 0.1 g 台のニジマスを無魚粉飼料で約 60 週間飼育したところ、最初の 11 週（体重約 1 g）までは魚粉 30 ~ 65% の飼料給餌群と比較して生残率が劣ったが、それ以降の生残率（概ね 200 g になるまで）に差はなかったとしており、本研究とは期間や飼料原料が異なるものの歩留まりの観点からは長期飼育に必ずしも高魚粉飼料が必要ないことが示されている。

長期間の ELFM 飼料での飼育がニジマスの成熟に与える影響について、Table 3 に示した。満 3 歳の成熟期における全てのメスに占める成熟メスの割合は両群とも約 8 割と差がなかった ( $P > 0.05$ )。この結果から ELFM 飼料でもニジマスは通常通り成熟するものと考えられた。採卵および人工授精に用いた親魚の体重は選抜群と比較して対照群の方が高く ( $P < 0.01$ )、また 1 尾あたりの採卵数も多かった ( $P < 0.01$ )。しかし、体重あたりの採卵数には差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。また、1 粒あたりの卵重量にも差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。さらに、これらの卵を個体ごとに人

**Table 2.** Growth and survival of rainbow trout from the juvenile stage until maturity (3 years of age)

	FMD	ELFMD	P value
Before selection (June 4–October 17, 2013)			
Initial number of fish	500	500	–
Initial body weight (BW) (g) <sup>a</sup>	7.6 ± 1.2	7.4 ± 1.2	ns <sup>e</sup>
Final number of fish	491	492	–
Final BW (g) <sup>a</sup>	67.9 ± 9.6	54.5 ± 8.5	< 0.01 <sup>e</sup>
Survival rate (%) <sup>b</sup>	98.2	98.4	ns <sup>f</sup>
Specific growth rate (% BW/day) <sup>c</sup>	1.64	1.49	–
Feed efficiency (%) <sup>d</sup>	111.5	100.4	–
After selection (October 18, 2013–October 2, 2015)			
Initial number of fish	100	100	–
Initial BW (g) <sup>a</sup>	65.4 ± 3.1	64.6 ± 3.5	ns <sup>e</sup>
Final number of fish	90	91	–
Final BW (g) <sup>a</sup>	2,425 ± 508	1,585 ± 312	< 0.01 <sup>e</sup>
Survival rate (%) <sup>b</sup>	90.0	91.0	ns <sup>f</sup>
Specific growth rate (% BW/day) <sup>c</sup>	0.54	0.51	–
Feed efficiency (%) <sup>d</sup>	54.8	49.2	–

<sup>a</sup>Data are presented as mean ± standard deviation (SD).

<sup>b</sup>Survival rate =  $100 \times$  Final number of fish / Initial number of fish.

<sup>c</sup>Specific growth rate =  $100 \times (\ln(\text{final BW}) - \ln(\text{initial BW})) / \text{days}$ .

<sup>d</sup>Feed efficiency =  $100 \times (\text{Total final BW} - \text{Total initial BW} + \text{Total dead fish BW}) / \text{Total dry feed intake}$ .

<sup>e</sup>Welch's *t*-test. ns: not significant.

<sup>f</sup>Fisher's exact test. ns: not significant.

**Table 3.** Biometric parameters and reproduction performance of brood fish, and egg quality parameters of rainbow trout

	FMD	ELFMD	P value
Total number of fish	90	91	–
Number of matured males	32	39	–
Number of females <sup>a</sup>	58	52	–
Number of matured females	49	39	–
Female maturation rate (%) <sup>b</sup>	84.5	75.0	ns <sup>h</sup>
Number of females used for egg collection and fertilization	45	39	–
BW of females used for egg collection and artificial insemination (g) <sup>c</sup>	2,637 ± 504	1,844 ± 271	< 0.01 <sup>i</sup>
Total eggs collected / fish <sup>c</sup>	6,480 ± 1,825	4,555 ± 1,109	< 0.01 <sup>i</sup>
Eggs collected / gram fish BW <sup>c</sup>	2.51 ± 0.70	2.49 ± 0.53	ns <sup>i</sup>
Ova weight (mg) <sup>c</sup>	59 ± 11	61 ± 12	ns <sup>i</sup>
Eyed egg rate (%) <sup>c,d</sup>	69.9 ± 27.4	64.8 ± 27.4	ns <sup>i,j</sup>
Hatching rate (%) <sup>c,e</sup>	97.0 ± 4.7	95.7 ± 5.3	ns <sup>i,j</sup>
Fry deformity rate (%) <sup>c,f</sup>	2.4 ± 1.7	2.5 ± 3.2	ns <sup>i,j</sup>
Swim-up fry rate (%) <sup>c,g</sup>	95.6 ± 2.8	90.8 ± 15.8	ns <sup>i,j</sup>

<sup>a</sup>Number of females = Number of fish at the start of maturation - Number of matured males.

<sup>b</sup>Female maturation rate =  $100 \times$  Number of matured females / Number of females.

<sup>c</sup>Data are presented as means ± SD.

<sup>d</sup>Eyed eggs rate =  $100 \times$  Number of eyed eggs / Number of fertilized eggs.

<sup>e</sup>Hatching rate =  $100 \times$  Number of hatched fry / Number of eyed eggs.

<sup>f</sup>Fry deformity rate =  $100 \times$  Number of deformed fry / Number of hatched fry.

<sup>g</sup>Swim-up fry rate =  $100 \times$  Number of swim-up fry / Number of hatched fry.

<sup>h</sup>P values produced by Fisher's exact test. ns: not significant.

<sup>i</sup>P values produced by independent sample Welch's *t*-test. ns: not significant.

<sup>j</sup>Data were tested after arcsine transformation.

工授精させ卵の発生状況を調べたが、発眼率、孵化率、奇形率および正常浮上率ともに群間で差は認められず ( $P > 0.05$ )、卵の発生への ELFM 飼料の影響は確認されなかった。

これらの結果から、今回用いた ELFM 飼料を長期間親魚養成に用いても次世代を得る上で特段問題がないことが確認された。海外では無魚粉飼料を用いて稚魚期から満3歳の成熟期まで養成したニジマスの採卵成績が調べられており、無魚粉飼料でも正常に成熟し、卵のサイズが市販飼料(魚粉43%)給餌群と比較して小さかったが、卵の発生能は市販飼料給餌群(魚粉43%)に劣らなかったと報告されている(Lazzarotto et al. 2015)。われわれの研究とは飼料原料や給餌率が異なるため一概に結果の比較はできないが、ニジマスの成熟において高い魚粉含量は必須ではないと考えられた。また、今回用いた飼料と同様の ELFM 飼料を用いてアマゴの選抜を行った研究では(Yamamoto et al. 2016)、詳細な採卵成績は報告されていないが、正常に次世代稚魚が得られている。

本研究によって、ニジマスの次世代稚魚を残すという観点から親魚の成長、生残および成熟に深刻な影響を与えることなく、継代飼育のほぼすべての段階で SBM を50%以上含む ELFM 飼料を使用できることが示された。これにより、低魚粉飼料でも高成長を示すニジマス家系を作出する際に、選抜の確実性をより高めることが可能となる。今後は、実際にこの飼料を用いてニジマスの選抜を行い、その選抜効果を確認するとともに、民間のマス類養殖場でも行うことができるような選抜技術を確立し、飼料の低魚粉化による原料単価の削減と選抜育種の両輪で飼料コスト当たりの生産量の増加を図り、収益向上に繋げていく必要がある。

## 謝 辞

本研究を進めるに際し、DSM ニュートリションジャパンよりアスタキサンチン製剤をご提供いただきましたことにお礼申し上げます。また、実験魚の飼育にご協力くださった山梨県水産技術センター忍野支所の職員の皆様にお礼申し上げます。

## 文 献

Callet, T., F. Médale, L. Larroquet, A. Surget, P. Aguirre, T. Kerneis, L. Labbe, E. Quillet, I. Geurden, S. Skiba-Cassy and M. Dupont-Nivet (2017) Successful selection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on their ability to grow with a diet

completely devoid of fishmeal and fish oil, and correlated changes in nutritional traits. *PLoS ONE*, **12**, e0186705.

Gatlin III, D. M., F. T. Barrows, P. Brown, K. Dabrowski, T. Gaylord, R. W. Hardy, E. Herman, G. Hu, A. Kroghdahl, R. Nelson, K. Overturf, M. Rust, W. Sealey, D. Skonberg, E. J. Souza, D. Stone, R. Wilson and E. Wurtele (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquacult. Res.*, **38**, 551-579.

Kaushik, S. J., J. P. Cravedi, J. P. Lalles, J. Sumpter, B. Fauconneau and M. Laroche (1995) Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **133**, 257-274.

Lazzarotto, V., G. Corraze, A. Leprevost, E. Quillet, M. Dupont-Nivet and F. Médale (2015) Three-year breeding cycle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a plant-based diet, totally free of marine resources: consequences for reproduction, fatty acid composition and progeny survival. *PLoS ONE*, **10**, e0117609.

Lazzarotto, V., F. Médale, L. Larroquet and G. Corraze (2018) Long-term dietary replacement of fishmeal and fish oil in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effect on growth, whole body fatty acids and intestinal and hepatic gene expression. *PLoS ONE*, **13**, e0190730.

長野県水産指導所 (1963) ますとさけの養殖: 訳本. 長野県水産指導所, 長野, p. 107.

農林水産省 (2018) 平成29年漁業・養殖業生産統計. 農林水産省大臣官房統計部, 東京, pp. 42-46.

Overturf, K., F. T. Barrows and R. W. Hardy (2013) Effect and interaction of rainbow trout strain (*Oncorhynchus mykiss*) and diet type on growth and nutrient retention. *Aquacult. Res.*, **44**, 604-611.

水産庁 (2018) 水産白書. 農林統計協会, 東京, pp. 74-75.  
渡邊 武 (2009) 魚類養殖と養魚飼料の現状. 改訂魚類の栄養と飼料 (渡邊 武編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 1-16.

Yamamoto, T., N. Suzuki, H. Fruita, T. Sugita, N. Tanaka and T. Goto (2007) Supplemental effect of bile salts to soybean meal-based diet on growth and feed utilization of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish. Sci.*, **73**, 123-131.

Yamamoto, T., Y. Iwashita, H. Matsunari, T. Sugita, H. Furuuta, A. Akimoto, K. Okamoto and N. Suzuki (2010) Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **309**, 173-180.

Yamamoto, T., K. Murashita, H. Matsunari, H. Oku, H. Furuuta, H. Okamoto, S. Amano and N. Suzuki (2016) Amago salmon *Oncorhynchus masou ishikawae* juveniles selectively bred for growth on a low fishmeal diet exhibit a good response to the low fishmeal diet due largely to an increased feed intake with a particular preference for the diet. *Aquaculture*, **465**, 380-386.

山梨県 (2018) 平成29年農業及び水産業生産額実績. 山梨県農政部農政総務課, 山梨, p. 10.