

アルテミア幼生のエイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸の強化法

青戸 泉*・古川 泰久

Examination on the method enriching Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acid of Artemia Nauplii

Izumi AOTO* and Yasuhisa FURUKAWA

はじめに

海産仔稚魚の種苗生産では、餌料の必須脂肪酸（以下、EFAとする）として、エイコサペンタエン酸（以下、EPAとする）とドコサヘキサエン酸（以下、DHAとする）の含有量が重要視され、一般に生物餌料であるシオミズボワムシ（以下、ワムシとする）やアルテミア幼生のEPA及びDHAの含有量を増強して（以下、強化とする）仔稚魚に給餌している。

当センターの最近のオニオコゼ種苗生産では、仔魚期飼育当初は油脂酵母で強化したワムシ及びふ化直後のベトナム産アルテミア幼生を、単独または併用して給餌し、飼育10日目頃からはEPA及びDHAを強化したベトナム産あるいはソルトレイク産などのアルテミア幼生を給餌している。しかし、着底までの生残率の変動が大きく、種苗生産が不安定となっており、仔魚期の飼育技術の開発が課題となっている。これまでアルテミア幼生のEPA及びDHAの強化方法は経験的に行っており、含有量の把握もしていないが、アルテミア幼生のEPA、DHA含有量の違いが種苗生産において安定しない一要因として考えられたことから、これまでの強化法と、強化剤の

量や強化時間を変化させた場合について、アルテミア幼生のEPA及びDHA含有量を調べた。

方法

EPA及びDHAの強化には、いずれも微細藻類をベースとした液体状の強化剤（日清マリンテック社製）を用い、アルテミアはふ化直後にEPAを含むとされているベトナム産を使用した。強化用の水槽は、分析に必要なアルテミア幼生の量に合わせて、0.1～1 m³のポリカーボネート水槽を適宜使用し、いずれの強化試験でも2億尾/m³となるように幼生を収容した。また、EPAのみ強化する間は強通気とし、DHAの強化では、酸素もあわせて送気した。強化中の水温は25℃とした。EPA及びDHAの強化方法と含有量分析の方法は以下のとおりである。

1. EPA及びDHAの強化方法

EPA及びDHAの強化方法を表1、2に示した。

試験1 従来当センターで行ってきた、オニオコゼ仔稚魚に給餌するアルテミア幼生のEPA及びDHAの強化方法に準じて、以下の2区を設定した。

表1 試験1でのEPA及びDHAの強化方法とアルテミア幼生検体の採取時間

区	強化剤種類	強化剤添加量		強化時間 (強化開始後)	分析用アルテミア幼生採取時間(強化開始後)				備考
		強化開始時	9時間後		24	26	28	30時間後	
1	EPA強化剤	0.5L/m ³	0.5L/m ³	24時間	(2)				
	DHA強化剤	—	0.5L/m ³						
2	EPA強化剤	1.0L/m ³	1.0L/m ³	24時間	(3)	(4)	(5)	(6)	
	DHA強化剤	—	1.0L/m ³						

- ・(4)～(6)は、強化終了後簡易ろ過海水に収容したアルテミア幼生。
- ・(2)～(6)は、アルテミア幼生検体の試料番号を示す。

* 現 佐賀県生産振興部水産課

表2 試験2でのEPA及びDHAの強化方法と分析用アルテミア幼生採取時間

区	強化剤種類	強化剤添加量		強化時間	分析用アルテミア幼生採取時間(強化開始後)										備考		
		開始時	24時間後(強化開始後)		0	12	18	24	26	28	30	32	34	36時間後			
1	EPA	1.0L/m ³		24時間					(7)								EPAのみ強化
2	EPA DHA	2.0L/m ³	1.0L/m ³	30時間							(12)	(13)					*1
3	EPA DHA	2.0L/m ³	2.0L/m ³	30時間	(1)	(8)	(9)	(10)	(14)	(15)	(16)	(19)	(20)	(21)			*1,*2
4	EPA DHA	2.0L/m ³	5.0L/m ³	30時間							(17)	(18)					*1
5	EPA	5.0L/m ³		24時間					(11)								EPAのみ強化

*1 : 3区でEPAを24時間強化後、直ちに分槽するとともに、DHA強化剤を添加し、30時間まで強化。
 *2 : (19~21)は、強化終了直後に簡易ろ過海水に收容したアルテミア幼生。
 ・(1)、(7)~(21)は、アルテミア幼生検体の試料番号を示す。

1区は、強化開始時にEPAの強化剤を0.5L/m³添加し、9時間経過後にEPAとDHAの強化剤をそれぞれ0.5L/m³添加した。強化開始からの通算強化時間は24時間である。

2区では、強化剤の添加時期は1区と同じとし、それぞれ強化剤の添加量を1.0L/m³とした。

試験2 まずEPAのみで24時間強化した。EPA強化剤の添加量は1.0L/m³(1区)、2.0L/m³(3区)、5.0L/m³(5区)とした。さらに、EPA強化終了直後の3区を分槽して、DHA強化剤を1.0L/m³(2区)、2.0L/m³(3区)、5.0L/m³(4区)添加し、6時間強化した。EPAとDHAの強化時間は、1、5区では24時間、2、3、4区では通算30時間である。

2. EPA及びDHAの含有量

EPA及びDHA含有量を分析するためのアルテミア幼生は、表1、2に示した時間に採取した。

なお、強化終了後のアルテミア幼生体内のEPA及びDHA含有量の変化を把握するため、試験1では2区、試験2では3区の強化終了後の幼生を回収し、簡易濾過海水を溜めた別水槽にそれぞれ再收容した。再收容した幼生は無投餌とし、水温は強化時と同じ25℃とした。

アルテミア幼生の検体は、プランクトンネットでペースト状となるまで水切りした後、水道水で軽く洗浄し、再び水切りにより出来るだけ水分を除去して、ポリエチレン製サンプル瓶に入れ、-20℃で保存した。

結果

試験1及び試験2の脂肪酸組成分析結果を表3に示した。なお、EPA及びDHA含有量は、アルテミア幼生の乾燥重量当たりの値で示した。

試験1 EPA含有量の変化を図1に、DHA含有量

の変化を図2に示した。ふ化直後のアルテミア幼生のEPA含有量は15.7mg/dry g(以下、/dry gは省略)、DHAは0mg(検出限界以下)であった。強化終了時のEPA含有量は、1区が12.9mg、2区が13.7mgとふ化直後よりやや少なかったが、強化剤の添加量による大きな差は見られなかった。また、2区の強化終了から6時間後のEPA含有量は11.5mgと大きな減少は見られなかった。

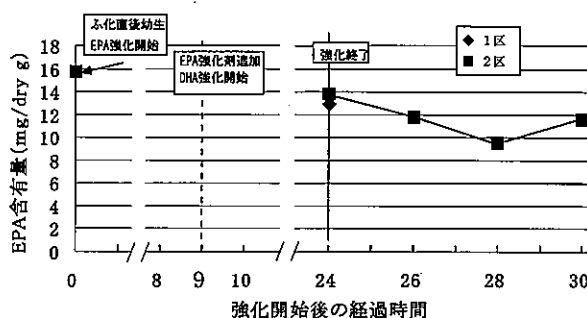


図1 試験1でのEPA含有量変化

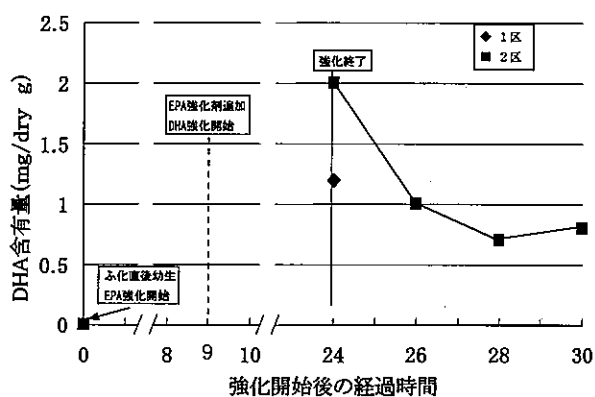


図2 試験1でのDHA含有量変化

DHAの強化終了時の含有量は、1区が1.2mg、2区が2.0mgとなり、微量ではあるがふ化時(0mg)より増加した。また、2区の強化終了後のDHA含有量は時間の経過と共に減少し、強化終了から6時間後には0.8mgとなった。

試験2 EPA含有量の変化を図3に、DHA含有量

表3 アルテミアの脂肪酸組成

サンプル番号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	
水分(g/100g)	87.90	92.7	92.2	92.7	93.6	93.5	93.9	91.5	92.4	93.6	92.2	92.2	93.1	92.7	92.5	92.5	93.1	92.3	93.5	93.3	93.6	
脂肪酸組成(%)																						
C14:0	1.8	2.6	3.2	2.8	2.2	2.1	1.4	1.7	1.6	1.5	1.7	5.5	4.9	4.4	4.5	4.3	5.5	5.4	3.9	3.6	3.2	
C15:0	3.8	2.7	2.5	2.5	2.4	2.4	3.0	3.2	3.1	2.8	2.6	2.0	2.0	2.2	2.0	2.0	1.8	1.6	2.0	2.0	2.0	
C16:0	11.7	13.9	16.2	14.1	12.9	12.4	11.0	11.8	11.5	11.1	12.5	19.3	18.2	15.4	16.4	16.6	16.4	16.1	15.7	15.5	14.6	
C16:1	11.1	9.1	9.2	8.7	8.2	8.2	9.4	10.7	10.1	9.1	10.6	8.4	8.5	8.9	8.7	8.6	9.2	9.3	8.7	8.6	8.4	
C17:0	4.1	3.6	3.4	3.5	3.7	3.5	4.1	3.9	3.9	4.1	3.7	2.7	2.8	2.9	2.7	2.8	2.4	2.2	2.9	2.9	3.1	
C17:1	14.8	12.0	10.9	11.5	11.6	11.7	13.3	13.5	13.2	12.9	11.5	8.1	9.0	9.4	8.7	8.9	7.7	7.1	9.2	9.4	9.6	
C18:0	3.5	5.4	5.3	5.9	6.8	6.4	5.4	4.5	4.9	5.8	5.6	4.5	4.9	4.3	4.2	4.5	3.8	3.6	4.8	5.1	5.7	
C18:1	25.6	25.3	23.6	25.2	26.4	26.9	27.6	25.6	26.5	27.5	25.5	19.7	21.1	20.9	19.8	20.4	18.0	17.1	21.6	22.4	23.1	
C18:2 n-6	3.8	3.4	3.2	3.4	3.5	3.5	3.7	3.7	3.7	3.8	3.7	2.3	2.7	2.7	2.5	2.6	2.2	2.1	2.7	2.8	2.9	
C18:3 n-3	1.1	1.1	0.9	1.1	1.0	1.1	1.2	1.1	1.1	1.1	1.0	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.9	0.9	
C18:3 n-6	0.7	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	
C18:4 n-3	0.5	0.3	0.4	0.4	0.3	0.5	0.3	0.4	0.4	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	
C20:0	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	
C20:1	0.5	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5	
C20:2 n-6				0.1			0.1	0.1	0.1												0.1	
C20:3 n-6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C20:4 n-3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	
C20:4 n-6	4.8	5.1	4.9	5.1	5.3	5.4	5.3	5.0	5.1	5.3	5.0	4.5	4.6	4.4	4.4	4.7	4.2	4.3	4.9	5.1	5.3	
C20:5 n-3	11.2	11.8	11.9	12.2	12.2	12.5	12.1	12.6	12.7	12.5	14.2	10.5	10.8	9.9	9.9	10.5	9.2	9.3	10.8	11.3	11.8	
C22:0	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	
C22:5 n-6		0.4	0.6	0.4	0.2	0.3						2.6	1.8	2.8	3.2	2.8	4.0	4.6	2.4	2.0	1.7	
C22:6 n-3		1.1	1.7	1.0	0.9	0.9						7.2	5.5	8.6	10.0	8.5	12.7	14.6	7.1	6.0	5.1	
総脂肪酸量(g/100g)	1.7	0.8	0.9	0.7	0.5	0.6	0.4	1.0	0.8	0.5	0.8	1.0	0.8	0.9	1.0	0.9	1.0	1.2	0.8	0.8	0.6	
EPA量(mg/dry g)	15.7	12.9	13.7	11.7	9.5	11.5	7.9	14.8	13.3	9.8	14.6	13.5	12.5	12.2	13.2	12.6	13.3	14.5	13.3	13.5	11.1	
DHA量(mg/dry g)	0.0	1.2	2.0	1.0	0.7	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	9.2	6.4	10.6	13.3	10.2	18.4	22.8	8.7	7.2	4.8	

の変化を図4に示した。1、3、5区の24時間強化終了時のEPA含有量は7.9~14.6mgで、EPA強化剤の添加量が多い試験区ほど多かった。また、EPA強化終了後DHAを強化した2~4区では、EPA含有量が再び増加し、DHAの強化開始後4時間後には13.2~13.5mgとなった。DHA強化終了後のEPA含有量の変化を3区について分析したところ、4時間後まで13mg前後の安定した値で推移した後減少に転じた。

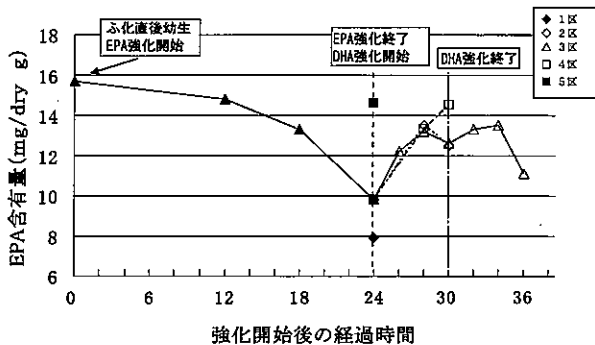


図3 試験2でのEPA含有量変化

一方強化前はほとんど含まれていなかったDHAの含有量は、2区と3区でDHAの強化開始から4時間経過した時点で9.2mg、13.3mgと最高の値を示したが、4区では強化終了時点の6時間経過後で22.8mgを示し、DHA強化剤の添加量の増加と共にDHAの含有量が多くなる傾向が見られた。

2区と3区ではDHA強化開始後4時間経過後から減

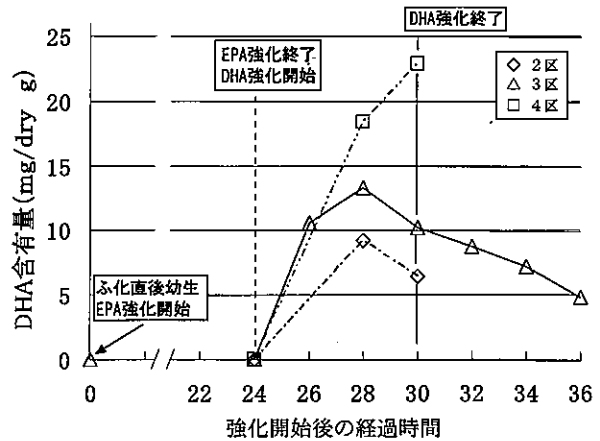


図4 試験2でのDHA含有量変化

少し、3区では強化終了から6時間後には最も多かった値の3分の1程度の4.8mgと急速に減少した。

考 察

種苗生産に使用するワムシとアルテミア幼生のEPA及びDHAの強化と仔稚魚への効果については、これまで多くの報告がある。ワムシについては、マダイ仔魚の空中露出試験の結果、EPAよりもDHAを強化したワムシを給餌した仔魚の活力が高いと報告されている¹⁾。アルテミア給餌期の海産魚仔稚魚へ給餌するアルテミア幼生のEPA及びDHA含有量については、マダイ、ブリ、シマアジ、マダラなどについての報告²⁻⁵⁾があり、

EPA含有量についてはマダイではアルテミア幼生の乾燥重量に換算して2.25%、ブリでは3.65%、マダラでは7.46%~8.94%で生残は確保されるが、空中露出などのストレスには著しく脆弱であり、シマアジでは3.1%でも生残率、活力共に効果がないとしている。一方、DHAについては、マダイでは0.95%~1.62%、ブリでは1.39%~2.63%、シマアジでは1.6%~2.2%、マダラでは1.6%~2.1%で生残率、活力とも高いとしており、これらの海産魚類の種苗生産初期においては、EFAとしてDHAが非常に重要であることを報告している。

当センターの平成14年度までのアルテミア幼生強化法に準じて行った試験1では、EPAの含有量はふ化直後より若干減少して13.7mgと12.9mg(乾燥重量換算で1.37%と1.29%)、DHAは2.0mgと1.2mg(0.2%と0.12%)であり、前述の海産仔稚魚の飼育に必要とされるEPAとDHAの含有量に比べ、いずれも著しく少なかった。オニオコゼ仔魚のEPA及びDHA要求量についての報告例はないが、平成14年度までの強化法では特にDHA含有量が少なかったと推測され、このことがオニオコゼ仔魚飼育において着底前後の大量へい死の一因になっていた可能性も考えられる。

一方、試験2の結果からは、EPAの強化法についてはふ化直後のアルテミア幼生のEPA含有量を上回るほどの強化結果を得られなかったが、DHAの強化法については強化剤の添加量が2L/m³では4時間、5L/m³では6時間強化することでそれぞれ13.3mg(1.33%)と22.8mg(2.28%)までDHA含有量を高めることができ、DHA強化剤を使って比較的短時間でマダイ等前述の海産魚仔稚魚のDHA要求量まで強化できることが明らかになった。

また、アルテミア幼生のDHA含有量は、短時間で増加する一方、強化剤がなくなるとすみやかに減少したことから、アルテミア幼生の残餌を解消する飼育技術の検討も必要であろう。

今後はオニオコゼ仔魚のDHA要求量等について把握し、効果的な強化時間や、強化剤の添加量等について検討していく必要がある。

要 約

1. オニオコゼ仔魚期の生産の不安定要因として、アルテミア幼生のEPAとDHAの含有量不足が疑われたため、EPA強化剤で9時間、引き続きEPA強化剤とDHA強化剤を同量加えて15時間強化する従来の強化法を検証した。この結果、特にDHA含有量が少ないことが明らかとなった。
2. EPA強化剤で24時間強化後、DHA強化剤で6時間強化する方法で、従来の方法と同量のEPA及びDHA強化剤を用いた場合と比べ、DHAについては4.6倍の効率的な強化ができた。また、EPA強化剤を2L/m³添加して24時間強化し、DHA強化剤を2L/m³以上添加して強化することで、マダイ、シマアジなどの海産魚仔稚魚が必要とするDHA含有量に匹敵する強化ができた。
3. また、DHA強化剤添加後速やかにアルテミアのDHA含有量は増加するが、強化剤が無くなるとDHA含有量の減少も早いことが明らかとなった。

文 献

- 1) T.Watanabe, M.S.Izquierdo, T.Takeuchi, S.Satoh and C.Kitajima 1989: Comparison Between Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acid in Term of Essential Fatty Acid Efficacy in Larval Red Sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55 (9), 1635-1640.
- 2) H.Furuita, T.Takeuchi, M.Toyota and T.Watanabe 1996: EPA and DHA Requirements in Early Red Sea Bream Using HUFA Enriched Artemia Nauplii. *Fisheries Science*, 62 (2), 246-251.
- 3) H.Furuita, T.Takeuchi, T.Watanabe, H.Fujimoto, S.Sekiya and K.Imaizumi 1996: Requirements of Larval yellowtail for Eicosapentaenoic Acid, Docosahexaenoic Acid and n-3 Highly Unsaturated Fatty Acid. *Fisheries Science*, 62 (3), 372-379.
- 4) T.Takeuchi, R.masuda, Y.Ishizaki, T.Watanabe, M.Kanematsu, K.Imaizumi and K.Tsukamoto 1996: Determination of Larval Striped Jack for Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid Using Enriched Artemia Nauplii. *Fisheries Science*, 62 (5), 760-765.
- 5) 鄭 鋒, 竹内俊郎, 興世田兼三, 小林真人, 廣川潤 渡邊 武 1996: アルテミア幼生摂餌期のマダラ仔稚魚のアラキドン酸, EPAおよびDHA要求. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 62 (4), 669-676.

1. オニオコゼ仔魚期の生産の不安定要因として、アルテミア幼生のEPAとDHAの含有量不足が疑われたため、EPA強化剤で9時間、引き続きEPA強化剤とDHA強化剤を同量加えて15時間強化する従