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

鄭 鋒, 竹内俊郎, 與世田兼三,
小林真人, 廣川 潤, 渡邊 武

(1995 年 8 月 21 日受付)

Requirement of Larval Cod for Arachidonic Acid,
Eicosapentaenoic Acid, and Docosahexaenoic Acid
using by Their Enriched *Artemia* Nauplii

Feng Zheng,^{*1} Toshio Takeuchi,^{*1} Kenzo Yoseda,^{*2}
Masato Kobayashi,^{*2} Jun Hirokawa,^{*2} and Takeshi Watanabe^{*1}

Two feeding experiments were conducted to determine the requirement of larval cod *Gadus macrocephalus* for arachidonic acid (AA), eicosapentaenoic acid (EPA), and docosahexaenoic acid (DHA) by feeding *Artemia* nauplii enriched with different levels of AA, EPA, and DHA.

The 20~22-day old larvae were fed *Artemia* enriched with different fatty acids for 11, 15 or 19 days. The larvae fed *Artemia* containing 7.46~8.94% EPA (dry matter basis) showed good growth and survival, but the survival at the 30 second vitality test was low. Feeding *Artemia* having EPA lower than 6.46% resulted in no improvement of growth, survival, and vitality. On the other hand, the larvae fed *Artemia* containing 1.56~2.10% DHA showed the best growth performances including vitality. The *Artemia* enriched with AA provided no improvement in survival and vitality for cod larvae.

It has been shown that adequate level of DHA in *Artemia* nauplii for cod larvae was estimated to be 1.6~2.1% on dry matter basis. Thus, DHA was found to be far superior to EPA as an essential fatty acid for larval cod.

キーワード: マダラ, アルテミア, エイコサペンタエン酸, ドコサヘキサエン酸, 要求量, アラキドン酸, 仔稚魚

n-3 高度不飽和酸 (n-3HUFA) は海水魚の必須脂肪酸 (EFA) として知られる。¹⁾ 海産魚の種苗生産における初期生物餌料であるワムシ *Brachionus plicatilis* およびアルテミアの栄養価はこれらの餌料中に含まれる n-3HUFA 中のエイコサペンタエン酸 (EPA; 20:5n-3) およびドコサヘキサエン酸 (DHA; 22:6n-3) の含量によって大きく影響される。²⁻⁵⁾ また、海水魚に対する EFA としての効果は EPA より DHA の方が優れていることも明らかにされつつある。⁶⁾ 前報⁷⁾で、マダラ *Gadus macrocephalus* Tilesius 仔魚の成長および生残の改善に必要なワムシ中の DHA 含量は乾燥重量当たり 1% 前後であることを報告した。その中で、乾燥サメ卵粉末 (商品名: アクアラン) で強化したワムシ (アクアラン

ワムシ) はマダラ仔魚の成長および生残に対して有効であることも明らかにした。⁷⁾ さらにアクアランワムシはマダイやヒラメにも効果があることが明らかにされている。^{*3} このワムシの栄養強化に用いたアクアランは従来の冷凍ナンノクロロプシス (以下、冷凍ナンクロと略記) と異なり、DHA を豊富に含んでおり、このような強化ワムシの使用によって、ワムシ給餌期間中のマダラ仔魚の成長および生残率は大きく向上した。一方、マダラの種苗生産ではワムシ以降の餌料としてアルテミア幼生が大量に使用されている。アルテミア給餌期におけるマダラ仔稚魚の EPA および DHA の要求性とこれらの要求量の解明は本種の種苗生産技術開発の重要な課題の一つである。また、Castell ら⁸⁾は配合飼料でカレイの一種、

^{*1} 東京水産大学資源育成学科 (Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries, Minato, Tokyo 108, Japan).

^{*2} 日本栽培漁業協会能登島事業場 (Notojima Station, Japan Sea-Farming Association, Notojima, Kashima, Isikawa 926-02, Japan).

^{*3} 竹内俊郎, 杉浦雅行, 鄭 鋒, D. Jusadi, 山本喜彦, 渡邊 武: 平成 4 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 1992, p. 51.

Scophthalmus maximus 稚魚を飼育し, EPA および DHA の外に, アラキドン酸 (AA; 20:4n-6) も EFA として効果があることを報告している。

そこで, 本研究ではマダラ種苗生産技術開発における生残率および種苗性の向上を目的とし, 冷凍ナシクロムシおよびアクアランワムシで 20 日間前後飼育したマダラ仔稚魚を用いてアルテミア摂餌期における EPA および DHA の要求量について調べるとともに, マダラに対する AA の EFA としての有効性についても検討した。

実験方法

実験区 Table 1 に飼育試験の実験区を示す。実験 I ではオレイン酸 {OA; 18:1, 東京化成(株)製}, EPA および DHA {いずれもマルハ(株)中央研究所製} の 3 種類の脂肪酸を用いて 7 実験区を設けた。実験 II では OA (前述), EPA, DHA {日本水産(株)中央研究所製} および AA {出光マテリアル(株)} の 4 種類の脂肪酸を用いて 10 実験区を設定した。

アルテミア幼生の栄養強化 実験に用いたアルテミア幼生は北米ユタ産 {新東亜貿易(株)} の耐久卵をアルテミアふ化水槽に収容後, 28~30°C で 28~30 h (実験 I) および 24~28 h (実験 II) 経過した後分離したふ化幼

生である。分離した幼生は約 100 個体/ml の割合で 13 l のバケツ (実験 I, 水量 5~10 l) あるいは 22 l のバケツ (実験 II, 水量 10~20 l) に収容した後, 直接法による栄養強化を行った。強化の方法は既報⁹⁾に準じて行った。強化時間は実験 I では 18 時間とし, 実験 II では 17 および 22 時間とした。栄養強化期間中, ウォーターバス内は 22.2~23.7°C に保温した。なお, 試験に使用した脂肪酸はいずれもエチルエステル型である。各脂肪酸の純度は, 実験 I で使用した OA は 95%, EPA は 90%, DHA は 87% 以上, 実験 II では OA 95%, EPA は 95%, DHA は 90%, AA は 80% 以上 (その他ステアリン酸 4.9%, オレイン酸 8.0%) であった。

供試魚 供試魚には 1993 年 3 月および 1995 年 2 月に石川県能登島町えの目漁協で漁獲された成熟親魚 (平均体重 5 kg 前後) から人工採卵し, 日本栽培漁業協会能登島事業場でふ化させた仔魚を用いた。実験 I ではふ化後 1~2 日目の仔魚を 2 面の 0.5 m³ 黒色円型ポリエチレン水槽に約 2.5 万尾ずつ収容し, 冷凍ナシクロ 4000~5000 万セル/ml で 18 h 2 次培養した L 型ワムシを用いて, 20 日間の予備飼育を行った後, 実験に供した。実験 II ではふ化後 1~2 日目の仔魚を 50 m³ コンクリート八角形水槽に約 50 万尾収容し, アクアラン 8 g {武田科学飼料(株)}/10 l で 15 h 2 次培養した L 型ワムシを用いて 22 日間の飼育を行った後, 実験に供した。

飼育方法 実験 I では全長 7.27±0.43 mm, 実験 II では 7.52±0.51 mm の仔稚魚を 0.5 m³ のポリエチレン水槽にそれぞれ 1200 尾ずつ収容した。収容後 3 日間は無強化アルテミア幼生を給餌し, その間の斃死魚は同じ予備飼育群から魚を補充した。本実験期間は実験 I では 11 日間, 実験 II では 15 日間行い, このうち実験 II のみは一部の実験区について 19 日間行った。Table 2 にそれぞれの飼育条件および給餌量を示す。

魚体の全長測定には実験開始時に 30 尾, 終了時に 50 尾を用いた。さらに, 実験終了時に各区から 50 尾ずつ仔稚魚を取り上げ, 水腫魚および肝臓萎縮魚の発生状況の観察を行った。また, 活力試験として各区 50 尾 (実験 I) または 30 尾 (実験 II) の魚を金魚網ですくい取り, 空中に 10 秒あるいは 30 秒間露出した後, 30 l の水槽に移して 24 時間後の生残率を求め, その値を活力の指標とした。アルテミアの分析用サンプルは各区から, 飼育期間中それぞれ 4 回 (実験 I) および 6 回 (実験 II, 午前および午後各 3 回), 魚体は実験開始時および終了時に採取した後, -45°C の冷凍庫で急速に冷凍させ保存した。

分析方法 アルテミア幼生および魚体の分析方法は前報⁷⁾に準じた。なお, 幼生の分析はそれぞれ 2 日分 (実験 I) および 1 日分 (実験 II) を混ぜ合わせてひとま

Table 1. Combination of fatty acid ethyl esters used for enrichment of *Artemia* nauplii in Experiments I and II

Expt. I*		Expt. II*	
Tank no.	Materials used for <i>Artemia</i> enrichment	Tank no.	Materials used for <i>Artemia</i> enrichment
1	OA	8	No enrichment
2	OA:EPA=7:3	9	OA
3	OA:EPA=3:7	10	OA:EPA=7:3
4	EPA	11	OA:EPA=3:7
5	OA:DHA=7:3	12	EPA
6	OA:DHA=3:7	13	OA:DHA=7:3
7	DHA	14	OA:DHA=3:7
		15	DHA
		16	OA:AA=7:3
		17	AA

* OA, oleic acid ester (purity, 95% < in Experiments I and II).

EPA, eicosapentaenoic acid ethyl ester (purity, 90% < in Expt. I; 95% < in Expt. II).

DHA, docosahexaenoic acid ethyl ester (purity, 87% < in Expt. I; 90% < in Expt. II).

AA, arachidonic acid ethyl ester (purity, 80% < in Expt. II).

One ml of each ethyl ester was added to 10 l medium.

Table 2. Rearing conditions for larval cod in Experiments I and II

	Experiment	
	I	II
Fish size (mm)	7.27±0.43*	7.52±0.51*
Tank capacity (l)	500	500
Number of fish	1200	1200
Water temperature (°C)	11.1~12.9	7.2~11.2
Water circulation (%)	200	150
Feeding frequency (times/day)	2	2
Quantity of <i>Artemia</i> nauplii (ind./tank)	10~18×10 ⁴	10~30×10 ⁴
Feeding period(days)	11	15 or 19

* Total length, mean±S.D. (n=30).

とめにし、実験Ⅰでは2検体、実験Ⅱでは3検体について行った。幼生中の主要な脂肪酸含量についてはトリコサン酸 (23:0) を用いる内部標準法により求めた。

結 果

アルテミア幼生の脂肪酸含量 Table 3 および 4 に実験ⅠおよびⅡに用いたアルテミア幼生中の乾燥重量当たりの主要な脂肪酸および n-3HUFA 含量を示す。まず、実験Ⅰ (Table 3) をみると、強化前に比べ、強化後の幼生中のリノレン酸 (LNA; 18:3n-3) 含量は全ての実験区で減少した。OA 区では OA 含量が大きく増加し、EPA 含量はわずかに減少した。EPA 強化の 2, 3 および 4 区では EPA 添加量の増加に伴い、その含量も増加した。最高は 4 区の 6.43% であった。しかし、こ

れらの区ではいずれも DHA は検出されなかった。一方、DHA 強化区では EPA および DHA 含量は DHA 添加量の増加に伴い、両者ともに増加した。n-3HUFA 含量については、1 区が 0.32% で最も低く、次いで 5 区の 1.57% であった。一方、EPA 単用の 4 区が 6.53% と最高であり、その他は 2.41~4.13% の範囲であった。実験Ⅱのアルテミア幼生の主要な脂肪酸含量 (Table 4) にも実験Ⅰと同様な傾向が見られた。すなわち、強化脂肪酸の種類および添加量の違いにより幼生体内の脂肪酸組成も強化前に比較して、大きく変動した。EPA を 7 割添加した 11 区および単用の 12 区では幼生中の EPA 含量は高く、それぞれ 7.46 と 8.94% であり、実験Ⅰの最高の値である 6.43% より 16~39% 程高かった。一方、DHA を 7 割添加した 14 区では DHA 含量は 2.07% であり、実験Ⅰの DHA を 7 割添加した 6 区および単用の 7 区とはほぼ同程度であったのに対して、DHA 単用の 15 区では 1.56% と多少低い値を示した。AA 強化区では幼生中の AA 含量は強化前に比べ大きく増加したが、EPA 含量は若干減少し、DHA 含量は微量または検出されなかった。n-3HUFA 含量は同様に 12 区 (EPA 単用区) の 9.38% が最も高く、次いで 11 区の 7.87% に対し、9 区および AA 強化の 16, 17 区ではいずれも 1% 以下と低く、無強化区は 1.08% であった。その他の区では 2.23~4.22% であった。なお、EPA および DHA 強化区の幼生中の OA 含量は OA 添加量の減少と一致した。

飼育結果 実験ⅠおよびⅡの飼育結果をそれぞれ Table 5 および 6 に、実験Ⅱの活力試験の結果を Table 7 に示す。

実験Ⅰ: 1 区では実験開始 7 日目頃から EFA 欠乏によると思われる水面に浮上する仔稚魚、いわゆる遊泳異

Table 3. The contents of major fatty acids in total lipids of enriched *Artemia* nauplii for Experiment I

	Initial	Tank no.*1						
		1	2	3	4	5	6	7
Total lipid (%) ^{*2}	25.45	23.61	24.41	26.01	26.29	23.21	26.25	26.78
Fatty acid (g/100 g dry weight)								
18:1	4.00	8.03	9.84	5.47	4.09	8.60	5.68	4.14
18:3n-3	3.61	2.63	3.58	2.62	3.16	3.12	3.00	3.41
20:4n-6	0.04	0.05	0.06	0.04	0.05	0.05	0.06	0.05
20:4n-3	0.06	0.04	0.05	0.04	0.04	0.07	0.10	0.11
20:5n-3	0.25	0.24	2.30	4.04	6.43	0.59	0.76	0.86
22:5n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.02	0.03
22:6n-3	ND	ND	ND	ND	ND	0.86	2.01	2.10
Σn-3HUFA ^{*3}	0.31	0.28	2.35	4.08	6.47	1.52	2.89	3.10

*1 See Table 1. *2 In dry basis.

*3 Σn-3HUFA=20:4n-3+20:5n-3+22:5n-3+22:6n-3.

Table 4. The contents of major fatty acids in total lipids of enriched *Artemia* nauplii for Experiment II

	Tank no. *1									
	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Total lipid (%) *2	28.65±2.63 *3	27.08±0.37	29.37±0.16	31.29±1.27	31.68±0.21	29.15±0.57	30.25±0.47	28.63±0.76	30.75±0.74	31.19±1.72
Fatty acid (g/100 g dry weight)										
18:1	8.89±0.30	15.01±2.22	13.65±0.61	9.69±0.19	6.42±0.24	12.83±1.48	9.82±0.63	8.35±1.10	12.17±0.62	9.13±1.53
18:3n-3	8.98±0.23	6.85±0.53	6.46±0.32	6.39±0.09	5.92±0.37	6.17±0.02	6.75±0.36	7.69±0.97	6.32±1.61	7.70±1.30
20:4n-6	0.41±0.14	0.16±0.03	0.23±0.01	0.32±0.01	0.36±0.03	0.14±0.01	0.14±0.00	0.16±0.02	3.71±1.95	7.62±1.91
20:4n-3	0.18±0.01	0.14±0.01	0.17±0.01	0.24±0.02	0.26±0.03	0.12±0.01	0.13±0.00	0.14±0.01	0.12±0.03	0.14±0.01
20:5n-3	0.67±0.04	0.58±0.03	3.89±0.18	7.46±0.49	8.94±0.54	0.90±0.04	1.09±0.03	1.14±0.10	0.48±0.16	0.55±0.03
22:5n-3	ND	ND	ND	tr	tr	0.09±0.01	0.20±0.01	0.17±0.03	ND	ND
22:6n-3	ND	tr	ND	ND	tr	0.96±0.03	2.07±0.14	1.56±0.10	0.01±0.01	ND
Σn-3HUFA *4	0.85±0.06	0.72±0.05	4.05±0.22	7.70±0.64	9.21±0.70	2.08±0.06	3.51±0.19	3.01±0.27	0.61±0.23	0.69±0.05

*1 See Table 1.

*2 In dry basis.

*3 Mean±S.D. (n=3).

*4 See Table 3.

常魚が増加した。4 および 5 区においても同様な現象が観察され、9 日目以後死魚が増加した。実験終了時における各区の生残率は 1 区が 28.7% と最も低く、2 および 3 区はともに 57% 前後であった。4 区の生残率は 49.6% であったが、EPA 添加の 3 区の間に大きな差が見られなかった。一方、DHA 添加の 5, 6 および 7 区では DHA 添加量の増加に伴い、生残率も向上し、それぞれ 42.9, 69.4 および 74.6% となった。また、実験終了時の仔魚について、全長、体重の測定および水腫魚出現率と肝臓萎縮率の観察を行った結果、成長は DHA 添加の 5, 6 および 7 区は DHA 添加量の増加に伴い向上する傾向を示したのに対して、EPA 添加の 2, 3 および 4 区では逆に EPA 添加量の増加に伴い低下する傾向を示した。水腫魚出現率および肝臓萎縮率にも同様な傾向が見られた。10 秒間の空中露出による活力試験の結果、1 および 3 区はそれぞれ 6.0, 10.0% と低く、4 と 5 区はいずれも 35% 前後であった。一方、6 および 7 区は 60% 以上と優れていた (Fig. 1)。

実験 II：実験期間中、実験 I で観察されたような遊泳異常の魚は出現しなかったが、15 日目の生残率は EPA または DHA を 7 割添加した区およびそれぞれの単用区 (11, 12, 14 および 15 区) で 70% 以上と高い値を示したのに対して、他の区では 28.6~39.0% と低い値を示した。成長は DHA を 7 割添加した区および DHA 単用区では優れていたが、他の区では AA 添加区の体重が若干低い他には大差なかった。10 秒間露出の活力試験の結果を見ると、EPA 各添加区、DHA 7 割添加および単用区では生残率が 66.7~83.3% と高い値を示し、EPA 強化と DHA 強化の間に大差はなかった。しかし、AA 添加区では 26.7 および 30.0% と低かった (Table 7)。さらに、11, 12, 14 および 15 区を 19 日まで飼育した結果、成長には各実験区間で大差はなかったが、生残率は EPA または DHA 単用区 (12, 15 区) でいずれも 75% 前後と高く、逆に、EPA および DHA を 7 割添加した 11 および 14 区ではそれぞれ 39.7, 54.7% と低かった。30 秒間露出による活力試験では DHA 添加区 (14, 15 区) はそれぞれ 60% と 83.3% と高い値を維持したのに対して、11 および 12 の EPA 添加区では 26.7% と低い値を示した (Table 7)。

仔稚魚の体脂肪酸組成 Table 8 および 9 にそれぞれ実験 I および II の実験開始時および終了時の仔稚魚、Table 10 に実験 II における 19 日間飼育後の仔稚魚の主要な脂肪酸組成 (area %) を示す。両実験開始時の仔魚の体脂質の主要な脂肪酸組成を比較すると、n-3HUFA には大差はなかったが、LNA, EPA, ドコサペンタエン酸 (DPA, 22:5n-3) および DHA の割合には大きな相違が見られた。とくに、DHA は、ふ化仔魚では 25

Table 5. Result of a 11-day feeding in Experiment I with cod larvae

Tank no. ^{*1}	Total length (mm)	Body weight (mg)	Dropsy rate (%)	Hepatic atrophy index (%)	Survival rate (%)
1	9.05±0.65 ^{*2}	3.61	44	30	28.7
2	9.75±0.84	6.56	0	0	56.9
3	9.50±0.93	5.01	58	10	57.3
4	9.34±0.92	5.08	60	32	49.6
5	9.18±1.01	4.85	56	24	42.9
6	10.48±1.11	6.82	2	0	69.4
7	10.41±1.00	7.08	2	0	74.6

^{*1} See Table 1.^{*2} Mean±S.D. (n=50)

Table 6. Result of the feeding in Experiment II with cod larvae

Tank no. ^{*1}	15-day feeding				19-day feeding		
	Total length (mm)	Body weight (mg)	Dropsy rate (%)	Survival rate (%)	Total length (mm)	Body weight (mg)	Survival rate (%)
8	9.94±1.25 ^{*2}	5.64	0	30.4			
9	9.51±0.97	5.01	4	29.9			
10	10.13±1.27	5.75	4	29.8			
11	9.96±1.18	6.14	2	70.6	11.95±1.52 ^{*2}	8.68	39.7
12	10.17±1.21	6.64	2	81.6	11.99±1.51	9.95	75.4
13	9.58±1.13	5.98	2	28.6			
14	11.47±1.29	8.39	2	74.2	11.91±1.49	10.58	54.7
15	11.04±1.34	7.53	0	79.6	11.72±1.38	9.53	75.0
16	9.46±0.94	4.42	2	30.7			
17	9.06±1.07	4.85	4	39.0			

^{*1} See Table 1.^{*2} Mean±S.D. (n=50).Table 7. Results of the vitality^{*1} with cod larvae in Experiment II (%)

Tank no. ^{*2}	15-day feeding (10 s)	19-day feeding (30 s)
8	33.3	
9	53.3	
10	66.7	
11	83.3	26.7
12	73.3	26.7
13	43.3	
14	80.0	60.0
15	70.0	83.3
16	26.7	
17	30.0	

^{*1} Survival rate at activity test. Number of fish, 30.^{*2} See Table 1.

%前後含まれているが、実験Ⅰの開始時（ふ化後約20日）には4.4%まで減少し、実験Ⅱ（ふ化後22日）の14.4%に比べて低い値を示した。これは初期餌料であるワムシの栄養強化に使われた栄養強化剤の違いによる影響と推察された。実験終了時の魚体の脂肪酸組成はアルテミア幼生の脂肪酸組成をよく反映していた。実験開始時に比べ、いずれの区においてもOAおよびLNAは大きく増加し、DPAは減少した。Fig. 2に実験Ⅱの魚体中のAA, EPAおよびDHA含量の変化を示した。実験開始時に比べ実験終了時の魚体脂質中ではAA強化区ではAA, EPA強化区ではEPAの割合が添加脂肪酸の増加に伴い増加した。DHA強化区ではDHAの割合が減少したが、他の強化区に比べその減少割合が小さく、さらに、DHAの添加量が多いほど、減少割合も小さかった。また、アルテミア幼生の給餌が19日目に達すると、15区の仔稚魚中のDHAの割合はほぼ実験開始時の値まで回復する傾向が見られた（Table 10）。

Fig. 1. Effect of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) levels in *Artemia* nauplii on the survival rate of cod larvae at the vitality test in Experiment I.

Vitality test: fifty fish were taken out of the water, held in the air by scoop net for 10 s and moved to 30 l tanks to check their survival after 24 h.

考 察

アルテミア幼生は実験に用いた強化脂肪酸を良く取り込み、幼生中の OA, EPA または AA 含量はその添加量の増加に伴い大きく増加した。一方, DHA 7 割添加および単用区の幼生では DPA が検出され, さらに, EPA 含量も増加したことから, すでに報告されているようにアルテミア体内で DHA が他の脂肪酸へ短鎖化する現象^{4,10)}が本試験でも確認された。また, 本試験ではアルテミア幼生中乾燥重量当たりの DHA 含量は実験 I における 2.1% が最高であり, 実験 II における DHA 単用区 (15 区) は 7 割添加区 (14 区) の約 75% 程度であった。しかし, Rainuzzo ら¹¹⁾は混合オイル (DHA 約 58%) で強化したアルテミア幼生には, 今回の実験に比べ約 5.4% という高い値を得ている。冷凍サンクロワムシで飼育した仔魚では 20 日目で DHA は大きく減少したが, DHA 強化アルテミアで継続飼育すると, 幼生中の DHA 含量の増加に伴い, 仔稚魚の成長が改善され, さらに, 水腫魚発生率および肝臓萎縮率も減少する傾向が見られた。また, DHA 強化幼生中の DHA 含量の増加に伴い, 仔稚魚の活力も向上した

Fig. 2. The arachidonic acid (AA), eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) contents (g/100 g dry weight) in total lipids of cod larvae fed *Artemia* enriched with different fatty acid ethyl esters in Experiment II.

⁴⁴ 竹内俊郎, 古板博文, 佐藤博雄, 渡邊 武: 平成 4 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1992, p. 212.

Table 8. The compositions of major fatty acids in total lipids of cod larvae in Experiment I

	Initial	Tank no.*1						
		1	2	3	4	5	6	7
Total lipid (%) *2	16.85	12.17	15.61	14.43	12.32	14.02	14.56	16.82
Fatty acid (area %)								
18:1	14.79	19.87	22.45	22.06	20.23	20.56	25.27	22.46
18:3n-3	tr	6.19	6.42	6.77	6.58	9.35	8.06	8.81
20:4n-6	4.75	1.90	1.84	1.79	1.76	2.18	1.96	1.86
20:4n-3	0.30	0.42	0.39	0.37	0.36	0.89	0.73	0.72
20:5n-3	16.45	6.30	11.43	18.26	21.86	11.37	9.32	9.44
22:5n-3	7.03	1.26	1.93	2.82	3.30	1.78	2.25	2.03
22:6n-3	4.38	0.88	1.00	1.16	1.24	4.61	15.95	16.52
Σn-3HUFA *3	28.16	8.86	14.75	22.61	26.76	18.65	28.25	28.71

*1 See Table 1.

*2 In dry basis.

*3 See Table 3.

Table 9. The compositions of major fatty acids in total lipids of cod larvae in Experiment II-A*1

	Initial	Tank no.*2									
		8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Total lipid (%) *3	16.28	14.56	13.60	15.88	16.04	14.19	16.60	15.68	15.30	14.14	16.38
Fatty acid (area %)											
18:1	17.56	24.79	27.39	27.33	24.15	19.90	29.26	27.36	21.91	25.08	20.06
18:3n-3	4.46	18.36	14.19	12.85	10.44	10.34	15.08	12.45	13.25	12.98	13.20
20:4n-6	4.44	2.47	2.67	2.07	2.09	2.08	1.70	1.80	2.03	10.59	16.16
20:4n-3	0.69	1.17	0.89	0.71	0.72	0.76	0.64	0.74	0.67	0.61	0.49
20:5n-3	10.64	5.72	6.91	14.53	20.35	23.39	6.08	5.88	7.60	4.81	3.40
22:5n-3	3.55	1.08	1.20	1.04	1.20	1.28	1.00	1.65	1.46	1.03	0.98
22:6n-3	14.42	4.09	4.97	3.39	2.64	2.38	6.11	8.61	12.20	4.44	4.34
Σn-3HUFA *4	29.30	12.06	13.97	19.67	24.91	27.81	13.83	16.88	21.93	10.89	9.21

*1 Feeding period was 15-day.

*2 See Table 1.

*3 In dry basis.

*4 See Table 3.

(Fig. 1) のに対して、EPA 強化アルテミアではその傾向が見られなかった。実験 I に比べ、実験 II では無強加アルテミアで飼育しても水腫魚発生率および肝臓萎縮率ともに低い値を示した。これらの結果は、マダラの種苗生産過程において多発する水腫魚および肝臓萎縮魚の原因の一つとして初期餌料であるワムシの栄養状態、特にワムシ中の DHA 含量が大きく関与することを示唆している。

実験 I ではアルテミア中の乾燥重量当りの EPA 含量は 6.4% であったが、良い飼育成績が得られなかった。実験 II ではアルテミア中の EPA 含量は 8.9% で、成長および生残率は良好な成績を示したが、活力試験の結果は劣っていた。EPA の EFA としての効果はマダラ仔

稚魚体中に含有している DHA の多少によって、すなわち前述したようにワムシの栄養状態によって左右されることが考えられる。一方、両実験の DHA 7 割添加および DHA 単用の場合には冷凍ナシワムシで、あるいはアクアランワムシで飼育した仔魚のいずれにおいても、成長、生残率および活力試験等すべてにおいて優れた成績が得られた。すなわち、アルテミア摂餌期のマダラ仔稚魚に対する幼生中の適正 DHA 含量は 1.6~2.1% と推察された。この値はマダイ仔稚魚の 0.95~1.62%¹²⁾ やマダイ稚魚における 0.5~1.0%¹³⁾ より高く、ブリ仔稚魚における 1.39~2.63%¹⁰⁾ に近い値であった。

アルテミア幼生中に DHA および EPA が共存している場合、DHA 含量が EPA より約 1.4~2 倍前後高く、

Table 10. The compositions of major fatty acids in total lipids of cod larvae in Experiment II-B^{*1}

	Tank no. ^{*2}			
	11	12	14	15
Total lipid (%) ^{*3}	15.04	13.58	14.53	13.80
Fatty acid (area %)				
18:1	22.30	20.21	25.36	21.43
18:3n-3	10.38	8.69	12.44	11.49
20:4n-6	2.02	2.24	1.78	1.96
20:4n-3	0.68	0.74	0.68	0.67
20:5n-3	22.83	27.12	7.25	7.66
22:5n-3	1.20	1.78	1.26	1.49
22:6n-3	2.39	2.31	11.51	14.09
Σn-3HUFA ^{*4}	27.10	31.95	20.70	23.91

^{*1} Feeding period was 19-day.

^{*2} See Table 1.

^{*3} In dry basis.

^{*4} See Table 3.

n-3HUFA 含量が約 2.9~3.7% である時, マダラ仔稚魚の成長と生残等が改善された。一方, EPA 強化アルテミアは n-3HUFA 含量が DHA 強化区より高かったが, DHA はほとんど含まれていなかった。n-3HUFA の主成分として EPA が約 6.5% (実験 I) 含まれていても, マダラ仔稚魚の成長および生残の改善に明瞭な効果がみられなかった。n-3HUFA 含量が 7.9~9.4% になると成長および生残ともに向上する傾向がみられたが, 活力は DHA 7 割添加および単用区より劣った。

本実験の結果より, マダラ仔稚魚に対する EFA としての効果はマダイ, プリオおよびシマアジ¹⁴⁾と同様, EPA よりも DHA の方が高いことが明らかになった。また, AA 強化区のアルテミア幼生中の AA 含量はそれぞれ 3.7 および 7.6% と高かったにもかかわらず, 飼育した仔稚魚の成長または活力はほとんど改善されなかったことから, ヒラメ仔魚^{*5}と同様に, アルテミア摂餌期におけるマダラ仔稚魚に対する AA の EFA としての効果は極めて劣ると推察された。

謝 辞

本研究を行うに当たり EPA および DHA オイルを提供していただいたマルハ(株)中央研究所および日本水産(株)

中央研究所に厚くお礼申し上げる。なお, 本研究の一部は文部省科学研究費および水産庁受託研究費各補助金によった。ここに謝意を表する。

文 献

- 1) T. Watanabe: Importance of docosahexaenoic acid in marine fish larvae. *J. World Aquacult. Soc.*, **24**, 152-161 (1993).
- 2) 渡邊 武, 北島 力, 荒川敏久, 福所邦彦, 藤田矢郎: 脂肪酸組成からみたシオミズツボワムシの栄養価. 日本誌, **44**, 1109-1114 (1978).
- 3) 渡邊 武, 大和史人, 北島 力, 藤田矢郎: 脂肪酸組成からみた *Artemia* の栄養価. 日本誌, **44**, 1115-1121 (1978).
- 4) 渡邊 武, 大和史人, 北島 力, 藤田矢郎, 米 康夫: シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* の栄養価と $\omega 3$ 高度不飽和酸. 日本誌, **45**, 883-889 (1979).
- 5) M. S. Izquierdo, T. Watanabe, T. Takeuchi, T. Arakawa, and C. Kitajima: Requirement of larval red sea bream *Pagrus major* for fatty acid. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 859-867 (1989).
- 6) T. Watanabe and V. Kiron: Prospects in larval fish diets. *Aquaculture*, **124**, 223-251 (1994).
- 7) 竹内俊郎, 鄭 鋒, 與世田兼三, 廣川 潤, 渡邊 武: DHA 強化ワムシのマダラ仔魚に対する栄養価. 日本誌, **60**, 641-652 (1994).
- 8) J. D. Castell, J. G. Bell, D. R. Tocher, and J. R. Sargent: Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot. *Aquaculture*, **128**, 315-333 (1994).
- 9) T. Watanabe, M. Ohta, C. Kitajima, and S. Fujita: Improvement of dietary value of brine shrimp *Artemia salina* for fish larvae by feeding them on $\omega 3$ highly unsaturated fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **48**, 1775-1782 (1982).
- 10) H. Furuita, T. Takeuchi, T. Watanabe, H. Fujimoto, S. Sekiya, and K. Imaizumi: Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid and n-3 highly unsaturated fatty acid. *Fisheries Sci.*, **62**, in press (1996).
- 11) J. R. Rainuzzo, K. I. Reitan, L. Jorgensen, and Y. Olsen: Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. **107A**, 669-710 (1994).
- 12) H. Furuita, T. Takeuchi, M. Toyota, and T. Watanabe: EPA and DHA requirements in early juvenile red sea bream using HUFA enriched *Artemia* nauplii. *Fisheries Sci.*, **62**, 236-251 (1996).
- 13) T. Takeuchi, M. Toyota, S. Satoh, and T. Watanabe: Requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1263-1269 (1990).
- 14) 竹内俊郎: 魚類における必須脂肪酸要求の多様性. 化学と生物, **29**, 571-580 (1991).

^{*5} 金澤昭夫, 松本裕由, 手島新一, 越塩俊介, 尾田 正: 平成 6 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 1994, p. 74.