アルテミア給餌期のブリ仔稚魚の活力に対する EPA の DHA 代替効果

石崎 靖朗, 竹内 俊郎, 清水 健, 有元 操, 渡邊 武

(1996 年 12 月 12 日受付)

Substitutable Effect between Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid in *Artemia* on Vitality of Larval Yellowtail*1

Yasuro Ishizaki,*2 Toshio Takeuchi,*2 Ken Shimizu,*3
Misao Arimoto,*3 and Takeshi Watanabe*2

A feeding experiment was conducted to examine the substitutability between dietary eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) in *Artemia* on the vitality of larval yellowtail *Seriola quinqueradiata*. The larval yellowtail (TL, 8.9 mm) were fed *Artemia* containing different levels of EPA (2.3~5.5%) at the same levels of DHA (1.4%), or 5.2% of EPA without DHA for 16 days.

A positive relationship was found between larval vitality and EPA levels in *Artemia* with DHA. In terms of vitality, poor results were observed for larvae fed *Artemia* containing 5.2% of EPA alone. The vitality of larvae fed *Artemia* containing both EPA and DHA tended to be improved by increasing the EPA levels in *Artemia*. The vitality of larvae fed *Artemia* containing 2.3% of EPA with 1.4% of DHA was low, while it was improved when the EPA content in *Artemia* was increased to 4.0%. Moreover, it was also found that larval yellowtail could not convert dietary EPA to DHA.

These results have shown that the vitality of larval yellowtail could be improved by the combination of DHA with high levels of EPA in *Artemia*.

キーワード：ブリ，アルテミア，エイコサペンタエン酸，ドコサヘキサエン酸，仔稚魚，代替効果

海産仔稚魚の健全な発育の促進には、餌・飼料中に含まれる n-3 系列の高度不飽和酸 (n-3HUFA) が重要な因子となっている。仔魚の成長、生残および活力に対する必須脂肪酸 (EFA) としての効果は、エイコサペンタエン酸 (EPA; 20:5n-3) に比べドコサヘキサエン酸 (DHA; 22:6n-3) の方が高く、飼料中の DHA 含量の多少が海産仔稚魚の健苗性に大きな影響を及ぼすことが明らかにされつつある。^{1,2)} 現在種苗生産されているほとんどの魚種で、初期飼料として大量培養が可能なシオミズツボフムシ (以下、フムシと略記) および市販のアルテミアが用いられている。しかし、フムシおよびアルテミアには DHA がほとんど含まれていないことから、健全な仔稚魚の育成を計るためには、これら生物飼料に対し DHA の強化が不可欠である。^{3,4)} アルテミア摂餌期の海産仔稚魚を用いた飼育実験⁵⁻⁹⁾ で、EPA は

DHA に比べ EFA としての効果が劣ることが明らかにされている。しかし、魚種により効果に違いはあるものの EPA 強化アルテミアを摂餌した仔稚魚は、無強化あるいはオレイン酸 (OA) で強化したことから n-3HUFA をほとんど含まないアルテミアを摂餌した仔稚魚に比べ、生残および活力に改善が認められている。すなわち、DHA に比べわずかではあるが、EPA にも生残のみならず活力に対する効果のあることが推察される。

アルテミアは、EPA に比べ DHA の取り込みが劣ることや、¹⁰⁾ 取り込んだ DHA を短鎖化し EPA へ変換してしまうことから、¹¹⁾ フムシに比べ高レベルの DHA を含ませることが容易ではない。またアルテミアへの DHA の取り込みは、水温の影響を受けやすいことから、種苗生産において大型水槽によるアルテミアの培養では、アルテミア中の DHA 含量が仔稚魚の要求量を常

*1 本研究の概要については平成 8 年度日本水産学会秋季大会で発表した。

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

*3 日本栽培漁業協会上浦事業場 (Kamiura Station, Japan Sea-Farming Association, Kamiura, Minamiyabe, Ohita 879-26, Japan).

に満たしているとは考えにくい。EPA 単独強化では仔魚の発育に改善はみられないが、アルテミア中に EPA および DHA が同時に存在することで、EPA による DHA の一部代替が可能であるなら、生産性の向上が期待できると考えられる。海産仔稚魚に対する EPA あるいは DHA 単独での効果は比較的多くの魚種で研究されており、^{1,2)} 本試験で材料としたアルテミア摂餌期のブリ *Seriola quinqueradiata* 仔稚魚においても、DHA 要求量は生残率を指標とした場合 1.4% 程度、活力を指標とした場合 2.6% 程度であることが報告されている。⁸⁾ しかし今回試験に用いたブリを含め、海産仔稚魚に対する EPA および DHA の相互効果はほとんど報告されていない。

そこで本実験では、DHA 含量が 1.4% 程度（この量は生残率を指標とした場合の DHA 要求量を満たすが、活力を指標とした場合の DHA 要求量を 1.2% 程度下回る）で、EPA 含量を変えたアルテミアを用いてブリ仔魚を飼育し、ブリ仔稚魚の活力に対する EPA の DHA 代替効果を調べた。

実験方法

供試魚 供試魚には、日本栽培漁業協会（日栽協）古満目事業場で養成された親魚から人工採卵で得られた仔魚を孵化後 1 日目に日栽協上浦事業場に移送し、25 m³ コンクリート水槽でワムシーアルテミアの餌料系列により 18 日齢まで飼育した後、パンライト水槽に移送後 2 日間無強化アルテミアで飼育したブリ仔稚魚を使用した。なお、コンクリート水槽での飼育期間中に使用したワムシおよびアルテミアの 2 次強化には、ともに市販の生物餌料強化用サメ卵乾燥粉末（アクアラン：武田科学飼料（株）製）を使用した。

試験区 Table 1 に本実験の試験区を示す。アルテミアの強化には、OA, EPA および DHA の 3 種類の脂肪酸を使用し、アルテミアを栄養強化する際の各脂肪酸の添加量の違いにより 5 試験区（OA 区、EPA 区および EPA : DHA = 1 : 4, 3 : 4 および 5 : 4 添加区）を設定した。アルテミアの強化に使用した OA {純度 98% 以上、東京化成工業（株）製}、EPA {純度 90% 以上、日本水産（株）製} および DHA {純度 90% 以上、日本水産（株）製} はエチルエステル型のものであった。

アルテミアの栄養強化 本試験で使用したアルテミアは北米ユタ産のもので、孵化水槽にアルテミア卵を収容した後、30 時間までに孵化した幼生である。アルテミアの強化方法は、海水 10 l に対しアルテミア孵化幼生を 120 個体/ml の密度となるよう収容し、脂肪酸 1 ml、鶏卵黄 0.2 ml および水道水 100 ml をミキサーで良く攪拌し調製した乳化液を培養水槽に添加した後、18 時間

Table 1. Combination of fatty acid ethyl esters used for enrichment of *Artemia* nauplii

Abbreviation	Fatty acid	Ratio
OA	OA ^{*1}	
EPA	OA : EPA ^{*2}	5 : 5
EPA : DHA = 1 : 4	OA : EPA : DHA ^{*3}	5 : 1 : 4
EPA : DHA = 3 : 4	OA : EPA : DHA	3 : 3 : 4
EPA : DHA = 5 : 4	OA : EPA : DHA	1 : 5 : 4

*1 : OA; oleic acid, purity > 95%.

*2 : EPA; eicosapentaenoic acid, purity > 90%.

*3 : DHA; docosahexaenoic acid, purity > 90%.

Table 2. Rearing conditions for feeding trial of larval yellowtail

	Condition
Fish size (mm) (20 days after hatching)	8.9 ± 1.0 ^{*1} (5.7 ~ 10.6)
Tank volume (l)	100
Number of fish	400
Feeding frequency (times/day)	2
Experimental period (days)	16
Water temperature (°C)	23.2 ± 0.4 ^{*2} (22.4 ~ 23.9)
Illumination (lux)	5,000
Water flow rate (l/day)	100 ~ 300
Air supply (l/min)	200 ~ 600
Amount of food given (× 10 ⁴ nauplii/day)	40 ~ 100

*1 : Mean ± S.D. (n = 34).

*2 : Mean ± S.D. (n = 15).

浸漬した。水温は 22.5°C に調節した。

飼育方法 本実験では、不透明な 100 l パンライト水槽 10 面（5 試験区 × 2 水槽）に仔魚（平均全長約 8.9 mm）を 400 尾ずつ収容した。100 l 水槽に移送当日および翌日の 2 日間は無強化アルテミアを給餌し、その間斃死した個体については同数を別途 100 l 水槽で 2 日間無強化アルテミアで飼育した予備飼育群から補充した。移送後 3 日目から各高純度脂肪酸で強化したアルテミアの給餌を開始し試験開始日とした。飼育期間は 16 日間とし、水温はウォーターバスを使用し 23.2 ± 0.4°C、照度は水銀灯を使用し各水槽水面付近で 5,000 lux となるよう調節した。試験期間中の飼育条件を Table 2 に示す。

魚体の全長の測定には、試験開始時に 34 尾、試験終了時に各試験区からそれぞれ無作為に取り出した 30 尾の仔魚を用いた。また、試験終了時には各試験区から 30 尾ずつの仔魚を網ですくい取り、60 秒間空中に露出した後、30 l 水槽に移して 12 時間後の生残率を活力の

指標とした。

各試験区の強化アルテミアは飼育期間中毎日、仔魚は試験開始時と試験終了時に採集し、水道水でよく洗った後水分を十分に拭き取り、 -80°C で急速冷凍保存し、分析に供した。

分析方法 アルテミアは水分、粗脂肪含量および総脂質中の脂肪酸組成について、試験魚は水分、粗脂肪含量、極性脂質および中性脂質中の脂肪酸組成について分析を行った。アルテミアは 10,000 rpm で 10 分間の遠心分離（遠心分離機：H-200 型 国産遠心機社製）を行い混入した卵やゴミを分離したものを、試験魚は包丁でミンチにし、さらに乳鉢ですり潰したものを分析に供した。アルテミアは各試験区 4 日分のサンプルを混ぜ合わせ、それを 1 回分とし、計 4 回の分析を行い平均値（平均±標準偏差）で示した。

水分は常圧加熱乾燥法により、粗脂肪はクロロホルム/メタノール（2/1, V/V）混液を用いる Folch らの方法¹¹⁾により定量した。試験魚については抽出した粗脂肪をシリカカートリッジ（Sep-pak Silica Cartoridge: Waters Corp. 製）を用いて、クロロホルム 20 ml およびクロロホルム/メタノール（49/1, V/V）混液 20 ml で中性脂質を、次いでメタノール 30 ml で極性脂質を分画した。¹²⁾

総脂質および中性脂質中の脂肪酸組成は、抽出した粗脂肪を 50% KOH とエタノールでケン化後、7% 三フッ化ホウ素—メタノール溶液でメチル化し、¹³⁾ 極性脂質の脂肪酸組成は、分画した極性脂質を 7% 三フッ化ホ

ウ素—メタノール溶液でメチル化したものを、n-ヘキサンに溶解しガスクロマトグラフ（GC-14A 株式会社島津製作所製）により求めた。GC の分析条件は、既報に準じて行った。¹⁴⁾ アルテミアの脂肪酸組成を求める際には、内部標準品として Tricosanoic acid（トリコサン酸：C_{23:0}；Sigma Chemical Co. 製、純度 99% 以上）を添加し脂肪酸量を求めた。

結 果

アルテミアの分析結果 本実験で使用したアルテミア中の乾燥重量当たりの粗脂肪含量および主な脂肪酸含量を Table 3 に示す。粗脂肪含量では、OA 区を除いた 4 試験区間に大きな差は見られず、27.8~29.2% の範囲内であったが、それら 4 試験区の間では、アルテミアを強化する際の EPA の添加量の増加に伴いアルテミア中の粗脂肪含量が増加する傾向が認められた。OA 区の粗脂肪含量は 26.4% と最も低かった。脂肪酸組成に関しては、各試験区のアルテミア強化の際に添加した脂肪酸の影響が顕著に現われていた。すなわち、OA 区は EPA や DHA などの n-3HUFA をほとんど含まず、EPA 区では n-3HUFA としては EPA のみを含有していた。EPA および DHA 併用添加の 3 試験区では DHA 含量が等しく、EPA 含量は 2.3~5.5% の範囲で添加量の増加に伴い増加する傾向が認められた。これら脂肪酸併用添加の 3 試験区のアルテミアに含まれている DHA 含量は、アルテミア摂餌期のブリ仔稚魚において、活力を指標とした場合の DHA 要求量（2.6%）に

Table 3. Certain fatty acids and crude lipid contents (g/100 g dry matter basis) in *Artemia* nauplii used for feeding trial^{*1}

Fatty acid	Before enrichment	OA	EPA	EPA : DHA		
				1 : 4	3 : 4	5 : 4
16 : 0	3.2±0.1 ^{*2}	2.6±0.3	2.9±0.3	3.3±0.3	2.8±0.1	2.5±0.1
18 : 0	1.1±0.0	1.0±0.1	1.2±0.1	1.3±0.2	1.2±0.0	1.1±0.1
18 : 1	6.8±0.2	14.9±0.9	12.9±0.7	14.6±1.6	10.8±0.1	7.3±0.2
18 : 2n-6	1.3±0.0	1.0±0.1	1.1±0.1	1.3±0.1	1.1±0.0	1.0±0.1
18 : 3n-3	6.5±0.2	5.3±0.2	5.8±0.2	6.4±0.3	5.6±0.1	4.9±0.1
20 : 4n-6	0.2±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
20 : 4n-3	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
20 : 5n-3	1.0±0.1	0.9±0.1	5.2±0.4	2.3±0.1	4.0±0.2	5.5±0.2
22 : 5n-3	ND ^{*3}	ND	ND	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
22 : 6n-3	ND	ND	ND	1.4±0.1	1.4±0.1	1.4±0.1
Σn-3HUFA	1.2±0.1	1.1±0.2	5.4±0.4	4.0±0.2	5.8±0.1	7.4±0.3
Crude lipid	23.7±0.3	26.4±1.2	29.2±2.2	27.8±2.1	28.4±2.5	28.6±2.0

^{*1} : *Artemia* nauplii were enriched with different oils for 18 h at 22.5°C.

^{*2} : Mean±S.D. (n=4).

^{*3} : ND; not detected.

は達していないが、生残率を指標とした場合の DHA 要求量 (1.4%) は満たしていた。OA 含量は OA 区、EPA 区および 1:4 添加区ではほぼ同程度 (12.9~14.9%) であったが、OA 添加量の等しい EPA 区および 1:4 添加区では EPA 区の方が 1:4 添加区に比べ若干低かった。また、3:4 添加区および 5:4 添加区ではアルテミアへの OA 添加量をよく反映していた。リノール酸 (LA: 18:2n-6) およびリノレン酸 (LNA: 18:3n-3) 含量は、強化に使用した脂肪酸の違いによる影響は認められず、いずれの試験区においても強化前に比べ強化後では減少する傾向がみられた。ドコサペンタエン酸 (DPA: 22:5n-3) は、DHA を添加した 3 試験区のみから検出された。アルテミアの n-3HUFA 含量は、5:4 添加区が 7.4% と最も高く、次いで EPA 区および 3:4 添加区がそれぞれ 5.4% および 5.8% とほぼ同程度であった。OA 区は 1.1% と、強化前のアルテミアとはほぼ同じレベルであった。

飼育結果 飼育結果および活力試験の結果を Table 4 に示す。成長に関しては OA 区を除いた 5 試験区間に有意な差 ($p < 0.05$, Scheffé's F) は認められなかった。生残率に関しては、アルテミア中に DHA を含まない OA および EPA 区の 2 試験区を比較すると、OA 区に比べ EPA 区が若干高かったが、これら 2 試験区はそれぞれ 37.8 および 48.3% と他の 3 試験区に比べかなり劣っていた。EPA および DHA 混合添加の 3 試験区では、アルテミア中の DHA 含量がアルテミア摂餌期のプリ仔稚魚における生残率を指標とした場合の DHA 要求量

Table 4. Results of a 16-day feeding trial of larval yellowtail

Group	Total length (mm) *1	Survival rate (%)	Vitality rate (%) *2
OA	17.7±3.7 ^{a*}	37.8 ^{a*}	19.4 ^{a*}
EPA	19.6±3.9 ^b	48.3 ^a	36.7 ^b
EPA : DHA=1 : 4	19.5±2.4 ^b	80.3 ^b	70.0 ^c
EPA : DHA=3 : 4	20.9±2.7 ^b	88.8 ^b	96.7 ^d
EPA : DHA=5 : 4	20.8±2.6 ^b	79.8 ^b	100.0 ^d

*1: Mean±S.D. (n=30).

*2: Survival rate at activity test.

*3: Values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

(1.4%) を満足していたため、3 試験区間に大きな差は見られず、80% 以上の生残率を示した (Fig. 1)。活力に関しても、生残率同様に OA 区および EPA 区が他の 3 試験区に比べかなり劣っていたが、この 2 試験区間では、OA 区に比べ EPA 区が高かった。

OA 区では 60 秒後に元の水槽に入れた時点で半数以上が死んでいるかあるいは水槽の底部で横になったままの状態であり、活力試験終了時に残っていたのは比較的大きな個体のみであった。また、OA 区および EPA 区では、仔魚を網ですくった際に、そのわずかな刺激によって死に至る個体がしばしば見られ、これらの死体個体の大部分はいわゆる“ショック死”の症状を呈していた。EPA および DHA 併用添加の 3 試験区では、1:4 添加

Fig. 1. Survival rate of larval yellowtail fed *Artemia* nauplii enriched with various experimental lipids.

区が 70% と他の 2 試験区に比べ若干劣っており, 3:4 添加区および 5:4 添加区はそれぞれ 96.7% および 100% とほぼ同程度に優れていた。すなわち, EPA および DHA 混合添加の 3 試験区では, 餌料アルテミア中の EPA 含量の増加に伴い活力の改善が認められた (Fig. 2)。

仔魚の分析結果 試験開始時および試験終了時の魚体の粗脂肪含量, 極性脂質および中性脂質中の主な脂肪酸含量を Table 5 に示す。試験終了時の魚体の粗脂肪含量は, いずれの試験区でも開始時に比べ減少していた。その中で OA 区は最も高い値であったが, 全ての試験区で 12.8~14.7% の範囲にあり大きな差異は認められな

Fig. 2. Relationship between n-3 HUFA contents in dietary *Artemia* nauplii and vitality of larval yellowtail. The dotted line in the figure indicates the requirement of larval yellowtail for DHA, based on larval vitality, during *Artemia* feeding period.⁹⁾

Table 5. Certain fatty acids of whole body polar (PL) and neutral (NL) lipid in larval yellowtail (g/100 g dry matter basis)

Fatty acid	Initial		Final									
			OA		EPA		EPA : DHA					
	PL	NL	PL	NL	PL	NL	1 : 4		3 : 4		5 : 4	
18 : 0	0.8	0.1	0.5	0.5	0.7	0.4	0.6	0.6	0.6	0.4	0.7	0.5
18 : 1	1.9	1.8	1.7	4.5	1.7	2.9	1.4	2.6	1.4	2.0	1.3	2.1
18 : 2n-6	0.3	0.4	0.2	0.4	0.2	0.3	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	0.3
18 : 3n-3	0.4	1.0	0.4	1.1	0.3	0.9	0.2	0.6	0.2	0.6	0.2	0.8
20 : 4n-6	0.4	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
20 : 5n-3	1.0	0.9	0.6	0.2	1.2	0.5	0.4	0.4	0.6	0.5	0.7	0.7
22 : 5n-3	0.2	0.1	0.1	tr ^{*2}	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1
22 : 6n-3	0.5	0.2	0.1	tr	0.1	tr	0.8	0.2	0.9	0.2	1.0	0.2
ΣSaturate	2.5	1.9	1.5	1.6	1.9	1.5	1.8	1.8	1.9	1.4	2.1	1.8
ΣMonoene	2.2	2.5	1.8	5.0	1.8	3.4	1.5	3.0	1.5	2.3	1.4	2.5
Σn-3	2.3	2.4	1.3	1.6	1.9	1.5	1.7	1.4	2.0	1.4	2.2	2.0
Σn-6	0.8	0.7	0.6	0.7	0.5	0.6	0.4	0.6	0.5	0.5	0.4	0.6
Σn-3 HUFA	1.7	1.2	0.8	0.3	1.5	0.6	1.4	0.7	1.7	0.7	1.9	1.1
Polar lipid ^{*1}	8.0		5.4		6.4		5.9		6.4		6.6	
Neutral lipid ^{*1}	8.1		9.2		7.2		6.9		6.6		7.1	
Crude lipid ^{*1}	16.1		14.7		13.6		12.8		13.0		13.7	

*1 : g/100 g dry matter basis.

*2 : tr, trace.

Fig. 3. n-3 HUFA contents of whole body polar lipid in larval yellowtail fed *Artemia* nauplii enriched with various experimental lipids.

かった。また、OA 区を除いた 4 試験区では、アルテミア中の脂質含量と同様に、アルテミア中の EPA 含量の増加に伴い魚体の脂質含量が増加する傾向が見られた。また、試験開始時の極性脂質と中性脂質はほぼ同量であったが、試験終了時では各試験区とも極性脂質に比べ中性脂質が高く、特に OA 区で顕著であった。

試験終了時の極性脂質および中性脂質中の主な脂肪酸含量には、いくつかの脂肪酸で顕著な違いが見られた。すなわち、いずれの試験区でも、OA は主に中性脂質に取り込まれており、極性脂質では減少していた。また、LNA 含量は極性脂質および中性脂質ともに、いずれの試験区とも試験開始時とはほぼ同程度か若干減少していたが、EPA および DHA 混合添加の 3 試験区でその減少の割合が大きかった。EPA 区の EPA 含量は極性脂質では増加し、中性脂質では減少していたのに対して、他の 4 試験区では両脂質の EPA 含量が減少する傾向にあり、終了時における EPA 含量はほぼ同じであった。OA 区および EPA 区では試験終了時には両脂質画分ともに DHA 含量は著しく減少していた。一方、EPA および DHA 混合添加の 3 試験区では、試験終了時の極性脂質の DHA 含量は増加していたが、中性脂質では試験開始時のレベルと同じであった。また、これら 3 試験区では餌料として用いたアルテミア中の DHA 含量は同じであったが、アルテミア中の EPA 含量の増加に伴い魚体の極性脂質中の DHA 含量も増加する傾向が認められた (Fig. 3)。EPA 区および 5:4 添加区では、アルテミア中の EPA 含量は同程度であったが、魚体の極性脂質の EPA 含量は、EPA 区が 5:4 添加区に比べ約

1.6 倍程度高かった。したがって、本試験では DHA が主に極性脂質に蓄積されるのに対し、EPA は OA 区および EPA 区では極性脂質に、他の 3 試験区では極性脂質および中性脂質にはほぼ同じ割合で蓄積されたと言える。また、EPA 区および 5:4 添加区では他の 3 試験区に比べ EPA 含量が若干高かった。

考 察

アルテミアへの EPA 添加量の等しい EPA 区および 5:4 添加区のアルテミアに含まれていた EPA 含量は、EPA 区に比べ 5:4 添加区で高かった。これは 5:4 添加区では DHA が短鎖化され EPA に転換されたことに起因するものと推察された。

試験開始後 3 日目から OA 区および EPA 区の生残率が徐々に低下し始めた (Fig. 1)。移送時のハンドリングによるショック死も一因と考えられるが、試験 2 日目まではいずれの試験区にも斃死魚は見られないこと、またこの 2 試験区では無強化アルテミア摂餌期間 (100 l 水槽移送後 2 日間) を含め 5 日間 DHA を含まないアルテミアを摂餌していたことから、DHA 欠乏による斃死が主な原因であるものと判断された。Furuita *et al.*⁸⁾ の実験では、同様の斃死傾向が試験開始後 8 日目あたりから認められている。また、竹内¹⁾はアルテミア給餌によるブリの飼育実験で、OA 強化アルテミアを摂餌したブリ仔稚魚では試験 6 日目頃から EPA 欠乏によると考えられる遊泳異常が観察されたと報告しているが、本試験の OA 区では、8 日目あたりから同様の遊泳異常が観察された。本実験とそれらの実験に若干の差異がみら

れたのは、試験開始時の供試魚のサイズの違いによるか、あるいは鄭ら⁷⁾が述べているように、試験開始時の仔稚魚体中の栄養状態の違いによるものと考えられた。また、OA 区および EPA 区において活力試験でみられた“ショック死”の症状は、マダイ²⁾やシマアジ⁵⁾で報告された症状と一致していた。

アルテミア中に DHA を含まない OA 区および EPA 区を比較すると、EPA 区の活力が若干優れていた。EPA 区と 1:4 添加区を比較すると、1:4 添加区のアルテミア中の EPA 含量は EPA 区の 1/2 程度であり、n-3HUFA 含量も低かったが、活力では高い値を示した。また、アルテミア中の n-3HUFA 含量がほぼ等しい EPA 区と 3:4 添加区を比較すると、アルテミア中に DHA を含む 3:4 添加区の活力が優れていたことから、既報の結果⁵⁻⁹⁾と同様に、活力に対する EPA としての効果は DHA の方が高く、EPA の効果は著しく劣ることが確認された。アルテミア中の DHA 含量が等しい EPA および DHA 併用添加の 3 試験区では、1:4 添加区の活力が他の 2 試験区に比べ劣り、3:4 添加区および 5:4 添加区の活力はほぼ同程度に優れていた。この結果から、アルテミア中に DHA が 1.4% 程度含まれている場合、アルテミア中に 2% 程度の EPA が含まれていても活力の改善はわずかしみられないが、4% 程度含まれていれば活力が改善されるものと推察された (Fig. 2)。すなわち、アルテミア中の DHA 含量がアルテミア摂餌期のブリ仔稚魚における活力を指標とした場合の DHA 要求量 (2.6%) を満たしていない場合でも、アルテミアに EPA と DHA を同時に強化することにより EPA と DHA が相補的に作用し、活力に対する EPA の DHA 代替効果が現れるものと考えられた。Furuita *et al.*⁸⁾の実験では、アルテミア中の DHA 含量が 2.6%、EPA 含量が 1.2% で活力の改善が認められたが、本試験では、アルテミア中の DHA 含量が 1.4%、EPA 含量が 2.0% では活力の改善は認められず、EPA 含量が 4.0% で活力が改善された。すなわち、活力に対する EPA の DHA 代替効果を発現するには、DHA に比べ多量の EPA がアルテミア中に必要であるものと推察された。Watanabe²⁾がマダイの実験で指摘したように、ブリ仔稚魚においても餌料中の n-3HUFA における EPA と DHA のバランスが重要であるものと考えられた。アルテミアでは DHA に比べ EPA の取り込みが優れていることから、⁹⁾ 既存の強化剤にナンノクロロプシスや高 EPA 含有珪藻類などを同時に添加することによって、生産性の向上が期待できるものと推察された。

OA 区および EPA 区を比較すると、試験終了時の魚体における極性脂質中の DHA 含量は同程度であった。また、アルテミア中の DPA は EPA および DHA 併用

添加の 3 試験区のみから検出されたが、魚体の DPA 含量は、OA 区および 1:4 添加区に比べ EPA 区、3:4 添加区および 5:4 添加区で若干高かったことから、アルテミア摂餌期のブリ仔稚魚では餌料中の EPA を魚体内で DPA までは転換できるが DHA には転換できないことが示唆された。これは、ワムシ摂餌期のブリ仔魚¹⁵⁾および他の海産仔稚魚^{5-8,16-18)}で報告された結果と一致していた。すなわち、EPA および DHA 併用添加の 3 試験区で、アルテミア中の EPA 含量の増加に伴い魚体の極性脂質中の DHA の増加が見られたのは餌料中の EPA からの転換ではなく、EPA と DHA の補償効果により魚体中の DHA の消費が節約されたことに起因するものと判断された。

最近、¹⁴C 標識 DHA で強化したアルテミアを用いたブリの飼育実験では、¹⁹⁾ DHA が脳、脊索および網膜に選択的に取り込まれることが報告された。ヨーロッパカレイ²⁰⁾でも同様な実験で脳から DHA が多く検出されている。また、ニシン稚魚では餌料中の DHA が欠乏すると、視覚において暗順応の能力が著しく低下し、低照度の環境では摂餌が不可能になると報告された。¹⁸⁾ さらに魚類の脳には、ラットなど多くの哺乳類に比べ EPA が多く含まれており、²⁰⁻²²⁾ これらは魚類において脳、神経系および視覚の発達に対する EPA と DHA の重要性を示しているが、その生理学的なメカニズムについては未だ明確にはされていない。今後、生存率あるいは活力に対する EPA および DHA の効果を生理学および生態学的な側面から解明する必要がある。

以上の結果から、アルテミア摂餌期のブリ仔稚魚では、アルテミア中に DHA が含まれている場合、EPA と DHA が相補的に作用することによって、アルテミア中の DHA の不足分を EPA で代替できる可能性が示唆された。すなわち、アルテミアを強化する際に、既存の強化剤と高 EPA 含有物質の併用添加により、仔稚魚の健全な発育を促進しうるものと考えられた。また、アルテミアへの脂肪酸の強化には DHA に比べ EPA が容易かつ安価であることから、現在種苗生産されている他の魚種についても本実験で得られた効果に応用することにより、コストの低減と生産性の向上が期待できるものと考えられる。今後、餌料中の DHA の不足分に対する EPA の代替可能なレベルを検討する必要がある。

謝 辞

本実験を行うに当たり、EPA および DHA を提供していただいた日本水産(株)中央研究所に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 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).
- 2) T. Watanabe: Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquacult. Soc.*, **24**, 152-161 (1993).
- 3) T. Watanabe, T. Tamiya, A. Oka, M. Hirata, C. Kitajima, and S. Fujita: Improvement of dietary value of live foods for fish larvae by feeding them on ω 3 highly unsaturated fatty acids and fat-soluble vitamins. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **49**, 471-479 (1983).
- 4) T. Takeuchi, M. Toyota, and T. Watanabe: Comparison of lipid and n-3 highly unsaturated fatty acid incorporations between *Artemia* enriched with various types of oil by direct method. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 277-281 (1992).
- 5) H. Furuita, T. Takeuchi, M. Toyota, and T. Watanabe: EPA and DHA requirement in early juvenile red sea bream using the HUFA enriched *Artemia* nauplii. *Fisheries Sci.*, **62**, 246-251 (1996).
- 6) T. Takeuchi, R. Masuda, Y. Ishizaki, T. Watanabe, M. Kanematsu, K. Imaizumi, and K. Tsukamoto: Determination of the requirement of larval striped jack for eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid using enriched *Artemia* nauplii. *Fisheries Sci.*, **62**, 760-765 (1996).
- 7) 鄭 鋒, 竹内俊郎, 與世田兼三, 小林 真, 廣川 潤, 渡邊 武: 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. 日本誌, **62**, 669-676 (1996).
- 8) H. Furuita, T. Takeuchi, T. Watanabe, H. Fujimoto, S. Sekiya, and K. Imaizumi: Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and highly unsaturated fatty acid. *Fisheries Sci.*, **62**, 372-379 (1996).
- 9) H. Ako, C. S. Tamura, P. Bass, and C. S. Lee: Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding of enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, **122**, 81-90 (1994).
- 10) T. Watanabe, F. Oowa, C. Kitajima, and S. Fujita: Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia salina* and their content of ω 3 highly unsaturated fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **46**, 35-41 (1980).
- 11) J. Folch, M. Lees, and H. S. Stanley: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-506 (1957).
- 12) P. Juaneda and G. Rocqelin: Rapid and convenient separation of phospholipids and nonphospholipids from rat heart using silica cartridge. *Lipids*, **20**, 40-41 (1985).
- 13) L. D. Metcalfe and A. A. Schmitz: Rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, **33**, 367-372 (1961).
- 14) T. Watanabe, T. Takeuchi, T. Arakawa, K. Imaizumi, S. Sekiya, and C. Kitajima: Requirement of juvenile striped jack *Longirostris delicatissimus* for n-3 highly unsaturated fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1111-1117 (1989).
- 15) 石崎靖朗, 竹内俊郎, 三橋直人, 今泉圭之輔, 渡邊武: ドコサヘキサエン酸およびタイプと含量が異なる VE を取り込ませたユーグレナ強化ワムシによるブリ仔魚の飼育試験. 水産増殖, **44**, 517-525 (1996).
- 16) G. Mourente and D. R. Tocher: Incorporation of 14 C-labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) *in vivo*. *J. Fish Biol.*, **38**, 335-347 (1993).
- 17) F. Linares and R. J. Henderson: Incorporation and metabolism of 14 C-labelled polyunsaturated fatty acids in wild-caught juveniles of golden grey mullet, *Liza aurata*, *in vivo*. *Fish Physiol. Biochem.*, **12**, 119-130 (1991).
- 18) M. V. Bell, R. S. Batty, J. R. Dick, K. Fretwell, J. C. Navarro, and J. R. Sargent: Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids*, **30**, 443-449 (1995).
- 19) 益田玲爾: シマアジの群れ行動の個体発生に関する研究. 博士学位論文, 東京大学, 東京, 1995, pp. 160-169.
- 20) D. R. Tocher, G. Mourente, and J. R. Sargent: Metabolism of [$1-^{14}$ C] docosahexaenoate (22: 6n-3), [$1-^{14}$ C] eicosapentaenoate (20: 5n-3), and [$1-^{14}$ C] linolenate (18: 3n-3) in brain cells from juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*. *Lipids*, **27**, 494-499 (1992).
- 21) D. R. Tocher and D. G. Harvie: Fatty acid composition of the major phosphoglycerides from fish neural tissues; (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cod (*Gadus morhua*) brains and retinas. *Fish Physiol. Biochem.*, **5**, 229-239 (1988).
- 22) M. A. Crawford, N. M. Casperd, and A. J. Sinclair: The long metabolism of linoleic and linolenic acids in liver and brain in herbivores and carnivores. *Comp. Biochem. Physiol.*, **54B**, 395-401 (1976).