

ヒラメ仔稚魚に対する微粒子飼料中の ドコサヘキサエン酸の適正量

山本章造・水戸 鼓

Effects of Dietary Docosahexaenoic Acids on Survival Rates, Growth, and
Colour Abnormalities in the Larval Flounder *Paralichthys olivaceus*

Syozo YAMAMOTO and Tsuzumi MITO

ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の種苗生産においては、初期餌料として生物餌料と併用して微粒子配合飼料が使用され、健全な種苗の育成に心がけられている¹⁾。そして、ヒラメの種苗に対しては、高度不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸とともにドコサヘキサエン酸（以下DHAと略す）が仔稚魚の生残、成長及び活力などに重要であり必須脂肪酸の一種であることが明らかにされている^{2,3)}。しかし、微粒子配合飼料中の適正なDHA量についてはまだ十分に検討されていない。そこで、DHA量が異なる微粒子配合飼料を餌料にしてヒラメ仔稚魚を飼育し、生残、成長、体色異常及び活力などに及ぼす影響を調べた。その結果を報告する。

材料と方法

材料 当栽培漁業センターで養成した親魚から採卵し、4月21日にふ化した仔魚を、水温17~18℃のもとで生物餌料を与えて飼育したふ化後11日目、平均全長5.7±0.55mm(平均値±標準偏差)の仔魚を試験に供した。

試験区 試験飼料として、DHAの添加量を0~2%の範囲で5段階に変えた微粒子飼料を試作した。試験区は対照としての生物餌料単独区と併せて6区設定し、表1に示した。

図1、2に使用した餌料種類別の給餌系列と給餌時刻を示した。給餌方法は基本的にはヒラメ飼育実験マニュアル⁴⁾に準じた。配合飼料の給餌量は試験開始時には1日1槽当たり2gとし、仔稚魚の成長に応じて最終的に4gまで増やした。併用区の生物餌料は、飼育7日目ま

表1 試験区

試験区	1	2	3	4	5	6
餌料の種類	配合	配合	配合	配合	配合	生物
DHA(%)	t r	0.5	1.0	1.5	2.0	t r

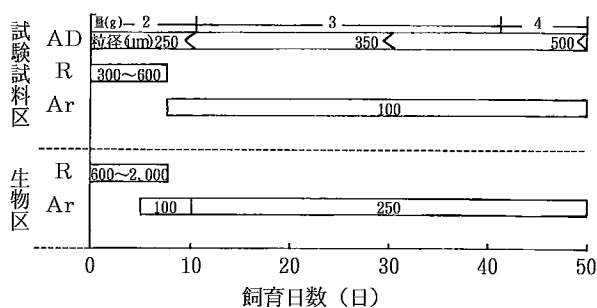


図1 試験区別の給餌系列と給餌量
AD: 配合飼料(g), R: ワムシ(千個体), Ar: アルテミア幼生(千個体)

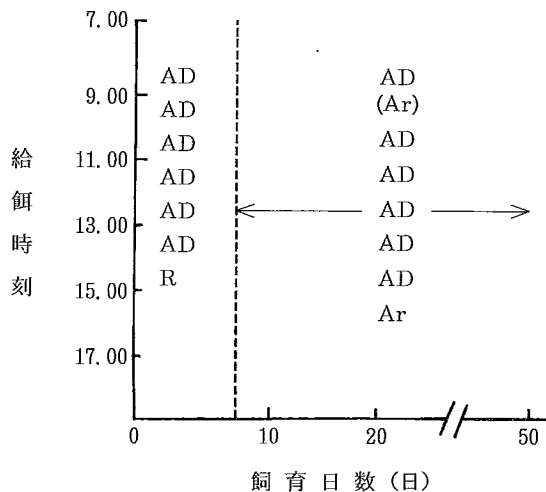


図2 試験飼料と生物餌料の給餌時刻
() は生物餌料区のみ

でシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (以下ワムシと略す) を1日1槽当たり300~600千個体、8日目からはアルテミア *Artemia salina* 幼生を100千個体与えた。また、生物餌料単独区は、ワムシを600~2,000千個体、アルテミア幼生を250千個体与えた。1日の給餌量は、いずれの水槽も等量とした。従って、生残数や成長

の違いによって日間給餌率は異なることになった。

ワムシはナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* で2日間、パン酵母で2日間培養したものと及びアルテミアはアメリカ(ユタ)産の24時間培養でふ化する幼生を用いた。これらの生物餌料にはDHAがほとんど含まれていないことが明らかになっている^{5,6)}。また、試験餌料以外からのDHAの混入を避けるために、いずれも油脂類による栄養強化は行わず、給餌前に10ppmのニフルスチレン酸ナトリウムで薬浴後給餌した。

飼育条件 飼育水槽には0.2kl容ポリカーボネイト製の円形水槽を使用し、屋内に各試験区に2槽ずつ設置した。水面上の日中最高照度は7,000lux以下を保つように遮光幕を用いて調整し、水槽の側壁は黒色のポリエチレンシートでおおい、側面からの光の透過を遮断した。実験開始前日に、各水槽に前記の仔魚を1,000尾ずつ計数して収容した。飼育水は、ろ過海水を大型水槽に貯めて加温、曝気した後、水中ポンプを用いて各水槽に注水した。飼育水温は17℃以上に調整し、自然水温が17℃を越えた時点で加温を中止した。1日当たりの注水量は、実験開始時に水槽の2倍量とし、仔魚の成長に応じて徐々に増加し、最終的に5倍量とした。飼育水の水質は、毎日10時に水温、pH及び溶存酸素量を測定し、水質判定の目安とした。飼育水槽の底掃除は原則として2日に1回サイフォン式で行い、その際に吸い込まれる仔稚魚と死魚を計数した。底掃除にかかる時間は1槽につき5分と決め、その間に吸い込まれる数で仔稚魚の活力を比較した。

飼育試験は1992年5月3日～6月22日までの50日間行った。その間10日ごとに仔稚魚を30尾ずつ採集し、全長を測定して成長状況を把握した。飼育試験終了時には全数を取り上げて計数した後、全長と体重を測定し、体

色異常と体形異常を肉眼的に調査した。

結果については、分散分析と最小有意差法(1sd)によって、飼料間の有意性を検討した。

結果と考察

表2 飼育試験期間中の水質

項目	平均	最低	最高
水温(℃)	18.7	17.2	20.9
pH	7.96	7.79	8.10
DO(%)	97	90	100

飼育試験期間中の水質測定結果を表2に示した。平均の水温は18.7℃、pHは7.96及び酸素飽和度は97%で、仔稚魚を飼育するうえで特に問題はなかった。

飼育試験開始時の摂餌状況と給餌率 試験を開始してから数日間は、多くの仔魚が水槽の底に擬着底したが、これらは飼育3日目になると正常に遊泳を始め、水槽の底掃除が行えるようになった。試験餌料は浮遊性と分散性が高く物性が優れていたことから、試験開始2日目ですでにほとんどの仔魚が試験餌料を摂餌し始め、飼育日数を経過するにつれて摂餌量は増加した。

期間別の日間給餌率を表3に示した。給餌量はいずれの水槽もすべて等量にしたことから、成長が良好で、生残率が高い水槽ほど給餌率は低くなる結果となった。飼育30日目までの給餌率はいずれの水槽も30%以上で、翌朝にも配合餌料の残餌が認められたことから、給餌量は十分量であった。しかし、飼育40日目における4区の給餌率は10%近くにまで低下し、残餌がみられないこと、遊泳している稚魚が多く認められたことから、給餌量は不足していると思われた。

表3 飼育時期別の日間給餌量と給餌率

試験区 No.	水槽 No.	飼育開始時		飼育30日目		飼育40日目		飼育50日目	
		給餌量 (g)	給餌率 (%)	給餌量 (g)	給餌率 (%)	給餌量 (g)	給餌率 (%)	給餌量 (g)	給餌率 (%)
1	1	1.6	155.3	3.3	107.7	3.3	59.1	4.3	40.8
	2	1.6	155.3	3.3	85.3	3.3	90.5	4.3	41.5
2	3	1.6	155.3	3.3	67.7	3.3	46.3	4.3	42.2
	4	1.6	155.3	3.3	57.4	3.3	42.7	4.3	32.4
3	5	1.6	155.3	3.3	47.6	3.3	15.0	4.3	18.2
	6	1.6	155.3	3.3	45.5	3.3	21.7	4.3	14.8
4	7	1.6	155.3	3.3	37.9	3.3	11.4	4.3	18.8
	8	1.6	155.3	3.3	31.9	3.3	12.4	4.3	16.0
5	9	1.6	155.3	3.3	42.1	3.3	23.8	4.3	17.9
	10	1.6	155.3	3.3	55.9	3.3	25.9	4.3	28.7
6	11	0.8	77.7	0.7	10.1	0.7	16.7	0.7	12.3
	12	0.8	77.7	0.7	9.0	0.7	10.6	0.7	8.5

生物餌料は1個体の湿重量をワムシ2ug、アルテミア幼生14ugとし、その1/5量を配合餌料換算量とした。

表4 飼育試験結果

試験区	1		2		3		4		5		6		
	水槽No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
月日	5.6												
開尾数(尾)	1,000												
始平均全長(mm)	5.7=0.55												
時平均体重(mg)	C. V. =9.60 (n=30)												
総重量(g)	1.03												
終	月日	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22	6.22
尾数(尾)	146	112	202	296	373	284	279	439	336	203	88	94	
平均全長(mm)	21.2	22.4	18.8	18.3	19.8	22.8	22.5	20.5	21.1	22.0	21.6	23.3	
標準偏差(n=50)	2.76	3.68	2.94	2.21	3.62	4.8	3.09	3.14	3.09	2.37	3.93	4.29	
変動係数	13.01	16.42	15.63	12.07	18.28	21.05	13.73	15.31	14.64	10.77	18.19	18.41	
了	平均体重(mg)	72.2	92.5	50.5	44.8	63.4	102.1	83.4	61.4	71.4	73.8	87.1	
標準偏差	26.48	45.4	25.84	16.81	39.29	69.05	37.71	28.7	34.07	19.89	41.47	55.42	
変動係数	36.67	49.08	51.16	37.52	61.97	67.62	45.21	46.74	47.71	26.95	64.09	63.62	
時	肥満度	7.577	8.229	7.600	7.310	8.167	8.614	7.321	7.127	7.600	6.930	6.420	6.885
総重量(g)	10.54	10.36	10.20	13.26	23.64	28.99	23.26	26.95	23.99	14.98	5.693	8.187	
飼育日数(日)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
死亡数(尾)	519	612	525	420	395	405	120	356	369	446	546	571	
サンプル数(尾)	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	
不明数(尾)	215	156	153	164	112	191	486	85	175	231	246	215	
生残率(%)*1	26.6	23.2	32.2	41.6	49.3	40.4	39.9	55.9	45.6	32.3	20.8	21.4	
個体増重量(mg)	71.17	91.47	49.47	43.77	62.37	101.0	82.37	60.37	70.37	72.77	63.67	86.07	
総増重量(g)	9.51	9.33	9.17	12.23	22.62	27.97	22.24	25.92	22.96	13.95	4.66	7.16	
総給餌量(g)	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	151.5	
餌料効率(%)	6.28	6.16	6.05	8.07	14.93	18.46	14.68	17.11	15.16	9.21	13.54	20.81	
日成長量(mm/日)	0.31	0.33	0.26	0.25	0.28	0.34	0.34	0.30	0.31	0.33	0.32	0.35	
日間成長率(%/日)*2	8.49	8.99	7.78	7.54	8.23	9.18	8.78	8.17	8.47	8.53	8.27	8.87	

* 1 生残率: (終了時尾数+サンプル数) / 1,000 × 100

* 2 日間成長率: $\log(\text{終了時体重} / \text{開始時体重}) \times 230 \times \text{飼育日数}$

つきに、50日間の飼育試験結果をまとめて表4に示した。

生残 試験終了時の生残数は、1水槽当たり88~439尾、死亡数の合計は120~612尾の範囲であった。その結果、生残率は20.8~55.9%の範囲となり、DHAを多く含む飼料区ほど生残率が高い傾向が認められた。そこで生残率について試験区間の分散分析を行った結果、危険率が5%水準で試験区間に有意差が認められ、さらに最小有意差法により多重比較を行うと、1sdは17.479となり、1, 6区に比べ2~4区の生残率は有意に高かった。

底掃除は飼育3日目から始め、その際に採集された死魚を計数してまとめた累積死亡数の推移を図3に示した。いずれの試験区も飼育20日頃まで死亡が続き、死魚は試験飼料を十分に餌餌できず、衰弱した小型のものが多かった。

20日目以後、死亡数の推移は試験区によって様相を異にした。DHAを含まないかあるいは少ない1, 2及び6区は死亡数がより多くなり、40日以降まで続いた。これらDHA量が少ない区の子稚魚は、摂餌行動が不活発で、底掃除の際にサイフォンから逃避できずに吸い込まれたり、わずかな刺激に過敏になって狂奔死したりする活力の低いものが多く、DHAの欠乏症状と考えられた。

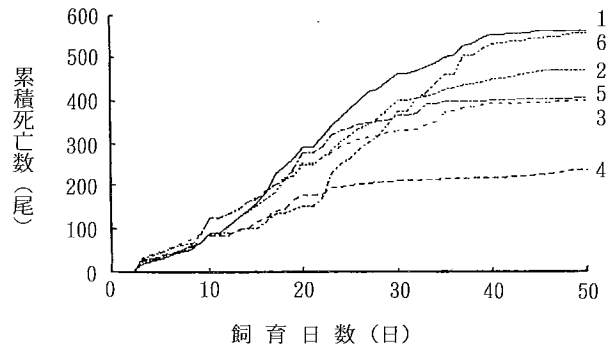


図3 試験区別の累積死亡数の推移
図中の番号は試験区

また、2区の生残率は水槽間で差が大きく、DHAが少ないと飼育が不安定になることを示していると考えられた。一方、DHAをより多く含む3~5区においては、20日目以後死亡数は減少し、着底後の稚魚は活発な摂餌行動と逃避行動を示して活力は高く、ほとんど死亡することはなかった。

以上の結果、仔魚の生残から考えると、ヒラメ仔稚魚に対する微粒子飼料へのDHAの適正な添加量は1~2%と考えられた。

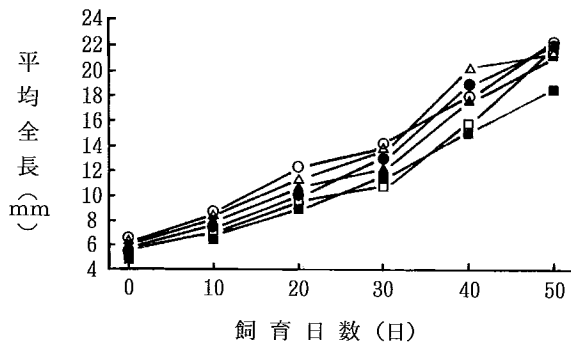


図4 試験区別の平均全長の推移
□: 1区, ■: 2区, ▲: 3区, △: 4区, ●: 5区, ○: 6区

成長 平均全長5.7mmの仔魚を50日間飼育した結果、18.3~23.3mmになり、試験区間で若干の成長差を生じた。

試験区別の成長経過を図4に示した。試験区間の成長差は飼育10日目ですでに現れはじめ、20~40日目にかけて顕著になった。生物餌料だけを与えた6区は初期の成長が優れたが、20日目以後DHAの欠乏症状が現れ、仔魚は遊泳行動が緩慢になって活力が低下し死亡数の増加とともに、成長は停滞した。また、水槽内における個体差も大きくなった。微粒子飼料区では、DHA量が少ない1, 2区は6区と同様な傾向を示し、20日目以降遊泳が緩慢で弱々しい仔魚が目立ち、成長の遅れと成長差が顕著になった。しかし、これらの区にも成長が非常に良好ないわゆるとびが出現し、これらを栄養的などの様にとらえるかは今後重要な問題であると思われる。一方、DHAを多く含む3~5区は摂餌行動も活発で良好な成長を示し、水槽内の個体差も少なかった。また、着底後も活発な逃避行動を示し、活力も良好であった。

試験区別の成長差は40日目で顕著であったが、試験終了時の50日目になると1, 6区の平均全長は他区と変わらなくなった。1, 6区はDHA欠乏症によって多くの小型魚が死亡して相対的に大型魚が残ったこと、また、生残率が低い水槽では摂餌率が高くなったことから、見かけの成長が優れる結果になり、試験区間の差が少なくなったと考えられた。

そこで、ほとんどの稚魚が着底し、成長が餌料の良否を直接に反映していると考えられる40日目の平均全長について、分散分析を行った。その結果、危険率5%水準で試験区間に有意差が認められ、さらに、 $1\text{sd}=2.463$ となり、3~6区は1, 2区より有意に高く、DHAの添加によって成長が優れることが明らかになった。

また、試験終了時の水槽別の総重量は、1, 2及び6区が10g前後であるのに対し、3~5区は20g以上にな

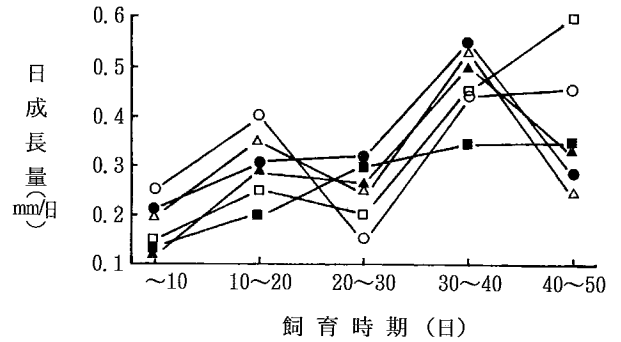


図5 時期別の日成長量の推移
□: 1区, ■: 2区, ▲: 3区, △: 4区, ●: 5区, ○: 6区

り、DHA量が多い区ほど重く、その差は一層顕著であった。しかし、肥満度は6.4~8.6の範囲であり、DHA量の違いにかかわらず試験区間の差は少なかった。これは成長が優れた水槽ほど、給餌率が低くなり、その結果として、肥満度の差が少なくなったと考えられた。

次に、期間別の日成長量(mm/日)を図5に示した。日成長量は、飼育20日目ですでに試験区によって差が現れ、生物餌料区がすぐれ、1, 2区が劣った。20~30日にかけてはいずれの試験区も減少した。この時期は仔魚が着底を開始する時期に、また、1, 2及び6区においてはDHAの欠乏症状が現れる時期に相当することから、日成長量が減少したと考えられる。着底後の仔稚魚の成長は再び良好になり、飼育40日目における日成長量は、試験区によって差はあるもののいずれも増加し、その増加量はDHAが多い区ほど多かった。

また、飼育40日目以後、同じ試験区でも飼育密度が高い水槽での成長量が若干少なかった。密度が高い水槽の試験終了時における飼育量は、飼育水1klあたりに換算すると、約1,500尾、湿重量で130g程度であることから、今までの飼育例¹⁾に比べても決して高い値ではなく、密度効果が現れる量でもない。従って、この時期の成長の停滞は、おそらく給餌率が低かったためと考えられる。

活力 DHAはヒラメ仔稚魚にとって必須の脂肪酸であることから、DHAが不足すると活力が低下し²⁾、逃避行動などの遊泳敏しょう性が劣ると考えられる。仔稚魚の活力の判定法はいろいろ試みられている³⁾が、サイフォンで底掃除をする際に吸い込まれる数は、逃避行動の瞬発性を示し、仔魚の活力の指標の1つになると考えられる。そこで、吸い込み数を飼育時期別に図6に示した。吸い込み数は、仔魚の遊泳力が弱い飼育5日目までは1槽に50~70尾に達したが、10日目になると20~40尾に減少した。その後、試験区間で差を生じ、20日目以後

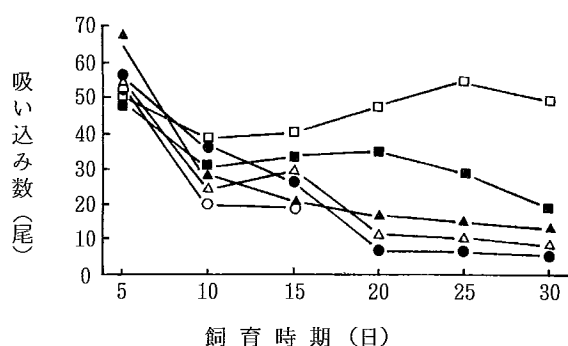


図6 試験区別の吸い込み数の推移
□: 1区, ■: 2区, ▲: 3区, △: 4区, ●: 5区, ○: 6区

その差はいっそう顕著になった。着底期になると、DHA量が多い3～5区の稚魚はさらに敏しょうになり、10尾前後に減少した。一方、DHA量が少ない1, 2, 6区はDHAが不足して衰弱した成長の遅れた魚が増えるに従い、吸い込まれる仔稚魚の数も増加した。従って、DHAが不足すると、仔稚魚の活力は飼育15～20日目から低下すると考えられた。

着底率 水槽別の着底率を表5に示した。飼育15日目頃から着底する稚魚が現れ始め、その数は水槽によって異なった。50%以上が着底する時期は、3～5区では飼

表5 水槽別の着底率 (%)

水槽No. 飼育日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	10	0	10	20
20	20	30	40	40	50	50	80	60	50	60
30	30	40	60	50	60	60	90	60	80	80
35	40	50	80	80	70	70	95	80	90	90
40	50	60	90	90	95	95	95	90	95	95
45	95	95	100	95	95	95	100	90	95	100

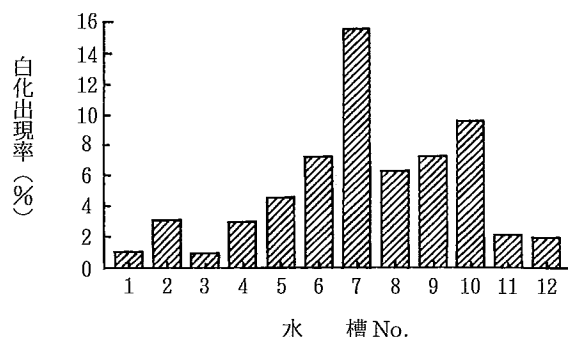


図7 水槽別の白化個体出現率 (%)

育20日頃、2区は30日頃及び1区は35日頃で、その時期は、仔稚魚の成長と比例していた。40日目以後すべての水槽で90%以上着底したが、飼育密度が高い水槽では、常に遊泳個体が認められた。

体色異常 有眼側の体色異常 (以下白化とする) 個体の出現率を試験区別に図7に示した。白化率は生物餌料区が2%前後であるのに対し、1, 2区も2%前後でほとんど変わらなかったが、DHA量が多い3～5区は10%前後に高くなった。また白化の程度は体表の80%以上に黑色素を欠く程度の高いものであった。

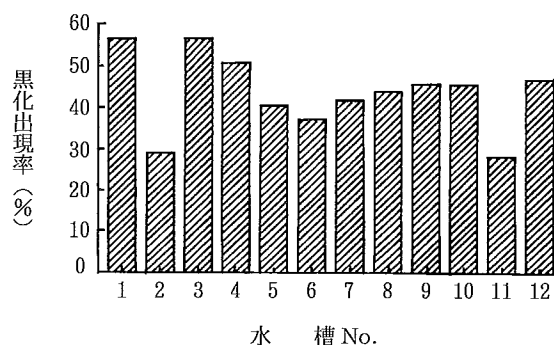


図8 水槽別の黒化個体出現率

一方、黒化個体の出現率を図9に示した。黒化率はいづれの試験区も40～50%の範囲であり、飼料中DHA量との関係は少ないと考えられた。しかし、黒化の程度は、鰭縁辺部や尾柄部がわずかに着色する程度であり、顕著なものは認められなかった。

要 約

1. ヒラメ仔稚魚用の微粒子配合飼料におけるDHAの適正な添加量を明らかにするために、飼育試験を行った。
2. 稚魚の生残及び成長は、DHA量が1～2%の範囲で統計的に有意に優れ、1.5%で成長差が最も少なかった。
3. 飼育試験終了時の水槽当たり総重量は、DHA量が1%以上の区で増加し、1.5%区で最も多かった。
4. 仔稚魚の活力は、DHA量が1～2%の範囲で高かった。
5. DHA量が0.5%以下の区では、飼育開始20日頃から欠乏症状が現れ、遊泳緩慢、成長の停滞及び狂奔死などの症状を示した。
6. 白化率は、DHAの添加量が多くなると若干高くなった。一方、黒化率は40～50%の範囲で試験区間の差は少なかった。
7. 以上の結果、ヒラメ仔稚魚の生残、成長及び活力からみた微粒子飼料中におけるDHAの適正量は、1.5%と考えられた。

文 献

- 1) 山本章造・尾田 正, 1991: ヒラメの種苗生産, 岡山水試報, 6, 236-261
- 2) T. Watanabe, M. Izquierdo, T. Takeuchi, S. Satoh, and C. Kitajima, 1989: Comparison between Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids in Terms of Essential Fatty Acid Efficacy in Larval Red Seabream, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 1635-1640
- 3) 竹内俊郎, 1991: 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
- 4) MF21, 人工配合飼料研究会, 1990: 飼育マニュアル集, 平成1年度重要海産稚仔魚の栄養要求解明及び微粒子配合飼料の開発に関する報告書, 1-61
- 5) 渡辺 武・北島 力・荒川敏久・福所邦彦・藤田矢郎, 1978: 脂肪酸組成からみたシオミズボウムシの栄養価, *日水誌*, 44, 1109-1114
- 6) 渡辺 武・大和史人・北島 力・藤田矢郎, 1978: 脂肪酸組成からみた *Artemia* の栄養価, *日水誌*, 44, 1115-1121
- 7) 丸山敬悟・津村誠一・森岡泰三, 1986: マダイ種苗の健全性に関する試験-I 粗放的生産魚と集約的生産魚の比較, *栽培技研*, 15, 157-167