

## アルテミア摂餌期におけるノコギリガザミ幼生への EPA と DHA の給餌適正量

小林 孝幸, 竹内 俊郎, 荒井 大介, 関谷 幸生

(2000年2月4日受付, 2000年6月19日受理)

### Suitable Dietary Levels of EPA and DHA for Larval Mud Crab During *Artemia* Feeding Period

Takayuki Kobayashi,\*<sup>1</sup> Toshio Takeuchi,\*<sup>1</sup>  
Daisuke Arai,\*<sup>2</sup> and Sachio Sekiya\*<sup>2</sup>

The suitable dietary levels of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) were determined for larval mud crab during the *Artemia* feeding period. Two feeding experiments were carried out in one liter plastic beakers, each containing 30 larvae (first stage zoea) and later fed *Artemia* enriched with different levels of DHA (0-2.9%) and/or 1.2-2.2% of EPA on a dry basis were used from the zoea 3 stage. The survival rate, carapace width of the first crab and total days to reach each stage of larval development were measured.

The crab fed unenriched *Artemia* containing 1.3% EPA alone showed the best survival rate and highest molting rate. A high survival rate and large carapace width of the first crab were also observed in the crab fed DHA-enriched *Artemia* containing traces to 0.46% DHA (plus 1.3-1.7% EPA). However, DHA levels in *Artemia* of more than 0.46% (plus 1.7% EPA) resulted in low survival rate, especially when the *Artemia* contained 2.9% DHA, due to mortality linked to molting failure prior to the megalopa stage.

These results suggest that the larval mud crab definitely needs EPA for survival, while DHA was required for the growth of the carapace and the suitable levels of EPA and DHA in *Artemia* were about 1.3-2.5% and 0.46%, respectively.

キーワード：ノコギリガザミ, 幼生, エイコサペンタエン酸, 適正量, ドコサヘキサエン酸, アルテミア, 脱皮失敗

先にノコギリガザミ幼生は、ワムシおよびアルテミアの単一給餌では、ワムシのみでメガロパ幼生に至るまでの生育が可能なこと、アルテミアのみで第1齡稚ガニまでの飼育が可能なこと、および第2あるいは第3齡ゾエア期からはワムシよりもアルテミアを給餌する方が生残率が向上することを明らかにした。<sup>1)</sup> さらに、生残率および第1齡稚ガニの全甲幅長は、それら餌料中へのn-3高度不飽和酸(n-3HUFA)の強化が大きく影響し、ノコギリガザミ幼生は、必須脂肪酸(EFA)としてn-3HUFAを要求すると推察した。また、生残率の向上に対しては、ドコサヘキサエン酸(DHA)よりもエイコサペンタエン酸(EPA)を要求しているものと推察された。<sup>1)</sup> 一方、多くの海産仔稚魚では、EFAとし

ての効果はEPAよりもDHAの方が高く、<sup>2-6)</sup> 甲殻類ではクルマエビ稚エビにおいても同様の効果が認められている。<sup>7)</sup> そこで本実験ではアルテミア摂餌期におけるノコギリガザミ幼生へのEPAとDHAの影響を明らかにすることを目的に、2回の飼育実験を行った。まず実験Iでは、EPAとDHAの栄養強化の違いについて、実験IIでは、DHAレベルの異なるアルテミアを用いてEPAとDHAの適正量について検討した。各齡期に達した時の生残率、平均到達日数および第1齡稚ガニの全甲幅長を指標とし、さらに餌料として使用したワムシやアルテミアの脂肪酸含量等により実験結果を評価した。

なお、最近ではノコギリガザミは複数種の存在が示唆

\*<sup>1</sup> 東京水産大学資源育成学科 (Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries, Minato, Tokyo 108-8477, Japan).

\*<sup>2</sup> 日本栽培漁業協会玉野事業場 (Tamano Station, Japan Sea-Farming Association, Tamano, Okayama 706-0002, Japan).

され、本実験で使用した幼生は、Estampador,<sup>8)</sup> 大城,<sup>9)</sup> Fuseya and Watanabe,<sup>10)</sup> によれば *Scylla tranquebarica* に、Keenan *et al.*<sup>11)</sup> に従えば *S. paramamosain* に同定される。

### 材料および方法

**試験区の設定** 飼育実験は2回行い実験IおよびIIとし、それぞれ6区および4区を設け、その餌料系列をFig. 1に示す。

**実験I**：1~3区は、第2齢ゾエア期まではナンノクロロプシス *Nannochloropsis* で強化したワムシ (N-R) を与え、4~6区は、油脂酵母 (協和醗酵工業株式会社製) とナンノクロロプシスで強化したワムシ (YN-R) を与えた。第3齢ゾエア期以降、1および4区は、無強化のアルテミア (Un-Ar) を、2および5区は、EPA エチルエステル (純度90%, マルハ株式会社製) を用いて30  $\mu$ l/lの濃度で強化したアルテミア (EPA30-Ar) を、3および6区は、DHA エチルエステル (純度95%, 日本水産株式会社製) 60  $\mu$ l/lで強化したアルテミア (DHA60-Ar) をそれぞれ与えた。

**実験II**：第2齢ゾエア期までは、全区にN-Rを与えた。第3齢ゾエア期以降、1区はUn-Arを、2~4区にはDHA エチルエステル (前述) を用いて8, 20および50  $\mu$ l/lで強化したアルテミア (DHA8-Ar, DHA20-Ar およびDHA50-Ar) をそれぞれ与えた。

		Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	M
Expt. I	Lot 1	N-R		Un-Ar			
	Lot 2			EPA30-Ar			
	Lot 3			DHA60-Ar			
	Lot 4	YN-R		Un-Ar			
	Lot 5			EPA30-Ar			
	Lot 6			DHA60-Ar			
Expt. II	Lot 1	N-R		Un-Ar			
	Lot 2			DHA8-Ar			
	Lot 3			DHA20-Ar			
	Lot 4			DHA50-Ar			

**Fig. 1.** Feeding schedules of larval mud crab in Expts. I and II.

Abbreviations: Z1-Z5, first to fifth zoea; M, megalopa. N-R, *Nannochloropsis*-rotifer; YN-R,  $\omega$ -Yeast + *Nannochloropsis*-rotifer; Un-Ar, Unenriched *Artemia*; EPA30-Ar, *Artemia* enriched with 30  $\mu$ l/l-EPA ethyl ester; DHA60-Ar, *Artemia* enriched with 60  $\mu$ l/l-DHA ethyl ester; DHA8-Ar, *Artemia* enriched with 8  $\mu$ l/l-DHA ethyl ester; DHA20-Ar, *Artemia* enriched with 20  $\mu$ l/l-DHA ethyl ester; DHA50-Ar, *Artemia* enriched with 50  $\mu$ l/l-DHA ethyl ester. EPA ethyl ester (purity, 90% <); DHA ethyl ester (purity, 95% <).

**ワムシの培養と栄養強化** ワムシは、S型ワムシ *Brachionus rotundiformis* を用いた。培養方法および栄養強化方法は前報<sup>1)</sup>と同様に行った。実験IでのN-Rには、ナンノクロロプシス (凍結濃縮ナンノクロロプシス) を5 lビーカーに4000万 cells/mlになるように添加した。YN-Rで強化したワムシには、油脂酵母3gとナンノクロロプシス2000万 cells/mlになるように5 lビーカーに添加した。実験IIも同様に行った。なお、栄養強化時の水温は、実験Iでは22.5 $\pm$ 1.1 $^{\circ}$ C (20.2~24.1 $^{\circ}$ C)、実験IIでは25.1 $\pm$ 2.3 $^{\circ}$ C (21.9~29.3 $^{\circ}$ C)であった。

**アルテミアの栄養強化** アルテミアの卵 (ブラインシユリンブエッグス, 日清ファインケミカル株式会社製) を100 lの透明ポリエチレンふ化装置に収容し、水温26 $^{\circ}$ Cにおいて24時間後にふ化していたノープリウスを栄養強化に使用した。栄養強化方法は前報<sup>1)</sup>と同様に行った。実験IおよびIIの無強化アルテミアは、ふ化したアルテミアを5 lビーカーに収容後、そのまま18時間培養したものである。実験IでのEPA30-Arは、EPA エチルエステル150  $\mu$ lと乳化剤の鶏卵黄0.1 mlおよびろ過海水100 mlを合わせ約1分間攪拌して強化剤とし、それをアルテミア収容後の5 lビーカー内に添加したものである。DHA60-Ar, 実験IIのDHA8-Ar, DHA20-ArおよびDHA50-Arは、それぞれ300, 40, 100および250  $\mu$ lのDHA エチルエステルを用いて同様の操作を行った。なお、栄養強化時の水温はワムシの場合と同様、実験Iでは22.5 $\pm$ 1.1 $^{\circ}$ C (20.2~24.1 $^{\circ}$ C)、実験IIでは25.1 $\pm$ 2.3 $^{\circ}$ C (21.9~29.3 $^{\circ}$ C)であった。

**飼育方法** ノコギリガザミ幼生の入手方法および飼育方法は、前報<sup>1)</sup>に準じ、飼育条件をTable 1に示す。ただし、ふ化水温は実験IおよびII共に24.0 $^{\circ}$ Cとし、ふ化幼生を1 l飼育ビーカー内に収容直後、24.0 $^{\circ}$ Cから28 $^{\circ}$ Cに設定した。第1齢ゾエア期間中の水温は、実験Iでは28.0 $^{\circ}$ C、実験IIでは27.8~28.0 $^{\circ}$ C、第2齢ゾエア期以降は実験Iでは29.7~30.2 $^{\circ}$ C、実験IIでは29.7~30.2 $^{\circ}$ Cであった。また、換水時に70%海水を100 mlずつ置換し、11日目には全量70%海水になるよう調節したことから、飼育ビーカー内の期間中の塩分濃度は、実験Iでは33.0%から24.0%へ、実験IIでは32.0%から22.5%へと変化した。

なお、各試験区にはそれぞれ2個ずつビーカーを用い、結果は平均値で示すこととした。生残率の結果は有意水準5%で母比率の差の検定を行うとともに、平均到達日数については母平均の差の検定、および全甲幅長についてはDuncannの多重比較検定<sup>12)</sup>を行った。

**分析方法** 本実験で使用したワムシおよびアルテミアは、毎日採取し-80 $^{\circ}$ Cで凍結保存した。ワムシは採取

期間を2つに分け2試料を, アルテミアは同様に3つに分け, 3試料についてそれぞれ以下の分析に供した。

実験Iで使用した餌料は, 水分, 粗脂肪含量および総

脂質中の脂肪酸組成を, 実験IIではそれらに加え, 粗タンパク質含量, 粗灰分含量および中性脂質と極性脂質の割合についても分析した。分析方法は既報<sup>1,3,13)</sup>に準じた。

**Table 1.** Rearing conditions for larval mud crab in Expts. I and II

	Experiment no.	
	I	II
Tank volume (l)	1	1
Number of larvae	30	30
Water temperature (°C)		
Z1	28.0	27.8-28.0
Z2-M	29.7-30.2	29.7-30.2
Water exchange*2	Once a day	
Feeding	Once a day	
Rearing period (days)	30	30
Light intensity	Natural indoor light	
Density of feed in culture medium (individuals/ml)	Rotifer 40~50	Rotifer 40~50
	<i>Artemia</i> 5	<i>Artemia</i> 5

\*1 One liter polyethylene white beaker in duplicate was used.

\*2 After start the feeding experiment, 100 ml seawater (70%) was exchanged every day, then seawater concentration was adjusted at 70% after 11 days of the feeding experiment.

20 µg/l of streptomycin in each tank was added to prevent the occurrence of filamentous bacterium.

**Table 2.** Result of survival rate (%) to reach each larval stage and carapace width (mm) of first crab (C1) in Expts. I and II

Lot no.	Survival rate (%) <sup>*1</sup>							Carapace width (mm) <sup>*2</sup>
	Z1 <sup>*3</sup>	Z2	Z3	Z4	Z5	M	C1	C1
Expt. I								
1	100 <sup>*4</sup>	100	100	100	100	100 <sup>a</sup>	96.7 <sup>a</sup>	3.40±0.11 <sup>*5 b</sup> (n=58)
2	100	100	100	100	100	76.7 <sup>b</sup>	55.0 <sup>c</sup>	3.45±0.12 <sup>b</sup> (n=33)
3	100	100	100	100	100	40.0 <sup>c</sup>	23.3 <sup>d</sup>	3.56±0.20 <sup>a</sup> (n=14)
4	100	100	100	100	100	95.0 <sup>a</sup>	76.7 <sup>b</sup>	3.44±0.10 <sup>b</sup> (n=46)
5	100	100	100	100	100	83.3 <sup>b</sup>	70.0 <sup>b,c</sup>	3.43±0.16 <sup>b</sup> (n=42)
6	100	100	100	100	100	33.3 <sup>c</sup>	23.3 <sup>d</sup>	3.47±0.18 <sup>b</sup> (n=14)
Expt. II								
1	100	100	100	100	100	98.3 <sup>a,b</sup>	86.7 <sup>a</sup>	3.38±0.17 <sup>b</sup> (n=52)
2	100	100	100	100	100	100 <sup>a</sup>	90.0 <sup>a</sup>	3.42±0.12 <sup>b</sup> (n=54)
3	100	100	100	100	100	91.7 <sup>b,c</sup>	81.7 <sup>a,b</sup>	3.58±0.17 <sup>a</sup> (n=49)
4	100	100	100	100	100	83.3 <sup>c</sup>	66.7 <sup>b</sup>	3.55±0.18 <sup>a</sup> (n=40)

\*1. Survival rate (%) = (total number of larvae molted to each stage) / (number of larvae stocked just after hatching) × 100.

\*2 Carapace width was measured as maximum width of carapace including lateral spines.

\*3 See the footnote Table. 1. C1, first crab.

\*4 Mean value (n=2).

\*5 Mean±SD.

a,b,c Values within a column with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

## 結 果

**飼育結果** 実験IおよびIIの飼育結果を Table 2, 3 Fig. 2 および 3 に示す。

実験I: 各齢期の生残率の推移 (Table 2, Fig. 2) をみると, N-R を与えた 1~3 区では, Un-Ar を与えた 1 区が特に優れ, 96.7% の第 1 齢稚ガニが得られた。次いで EPA30-Ar の 2 区, DHA60-Ar の 3 区の順であった。DHA60-Ar の 3 区では, 第 5 齢ゾエア期までは 100% の生残率を示していたが, その時メガロパへの変態に際し, 脱皮失敗によるへい死が多数みられた。EPA30-Ar の 2 区でも同様な現象が見られたが, 3 区ほど顕著ではなかった。YN-R を与えた 4~6 区では, 1~3 区と同様に Un-Ar の 4 区が最も優れ, 次いで 5 および 6 区の順であった。DHA60-Ar の 6 区では, 3 区と同様に第 5 齢ゾエア期までは生残率は 1 および 4 区と同等であったが, メガロパへの変態に際し, つまり変態日には多数の脱皮失敗によるへい死が観察された。EPA30-Ar の 5 区では, 同じアルテミアを与えた 2 区ほど生残率の低下は認められず, 70.0% の稚ガニが得られた。次に全甲幅長 (Table 2) をみると, DHA60-

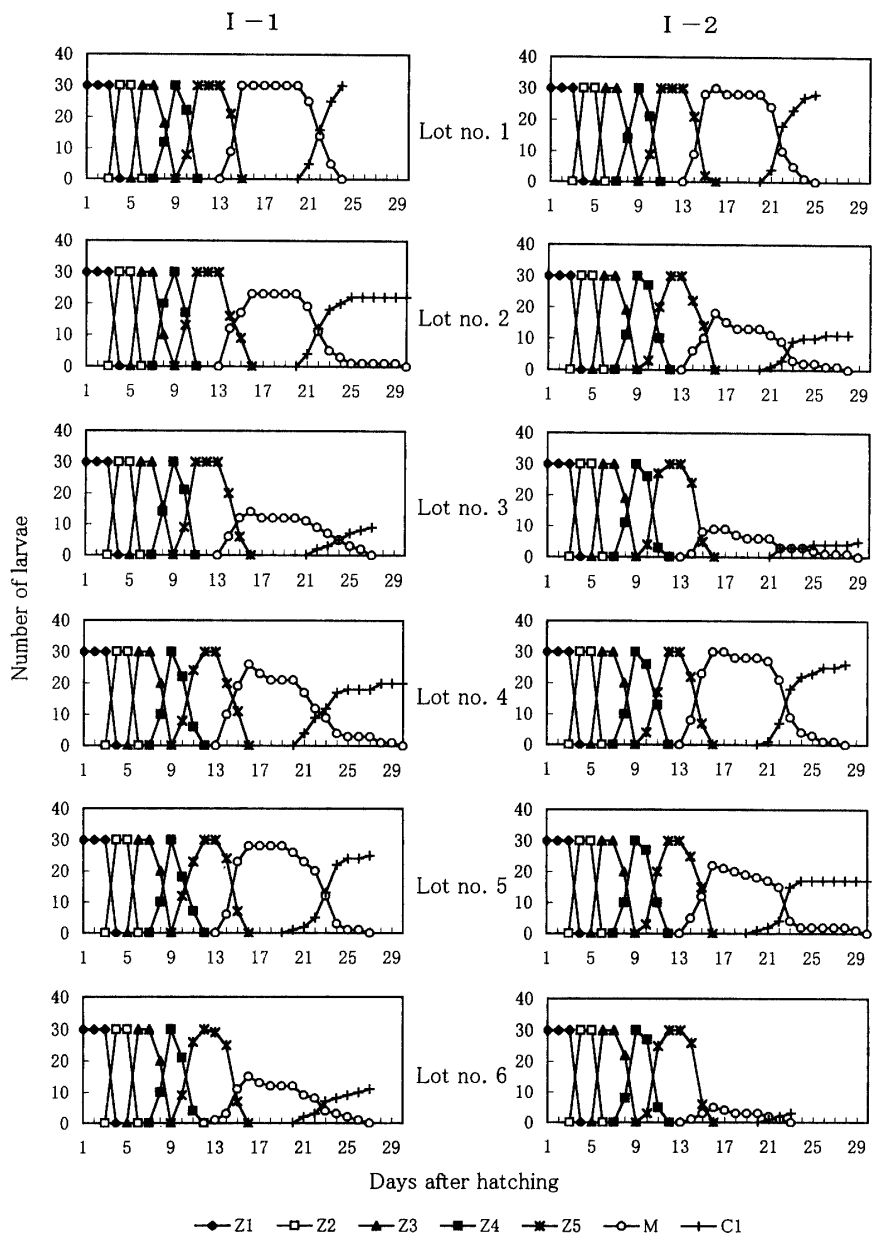


Fig. 2. Prolonged development of reared mud crab larvae in Expt. I.

Ar の 3 区が有意に高い値を示した。他の試験区間には有意差は認められなかった。平均到達日数 (Table 3) をみると、1 区が若干速く、脱皮が同調していたが、最も遅い 3 区では、逆に同調していなかった (Fig. 2)。

実験Ⅱ：生残率の推移 (Table 2, Fig. 3) をみると、第 5 齢ゾエア期までは全区 100% の生残率を示していた。第 1 齢稚ガニの生残率は、DHA8-Ar の 2 区が最も優れ 90.0% を示し、次いで Un-Ar の 1 区、DHA20-Ar の 3 区、DHA50-Ar の 4 区の順であった。目視による観察のため、データの数値化はしていないが、1 および 2 区でのへい死は、メガロパ変態後のへい死であったが、3 および 4 区でのへい死は、メガロパへの変態時における脱皮失敗によるものが大半であった。また脱皮

失敗個体数は、3 区よりも 4 区の方が多かった。全甲幅長 (Table 2) をみると、DHA20-Ar を与えた 3 区が最も大きく 3.58 mm を示し、次いで 4 区、2 区および 1 区の順であった。また 3 および 4 区は、1 および 2 区に比べ有意に大きくなっていった。平均到達日数 (Table 3) に関しては、1 区と 2 区が若干速いが、第 1 齢稚ガニまでの到達日数は、全区 20 日前後であった。

生物餌料の分析結果 実験ⅠおよびⅡで使用した餌料の一般分析および脂肪酸含量を Table 4 に、総脂質中の脂肪酸組成を Table 5 に示す。

実験Ⅰ：水分含量は、ワムシ群、アルテミア群ともに大きな差はみられなかった。粗脂肪含量(乾燥重量当り)は、ワムシ群では 11% 前後、アルテミア群では、Un-

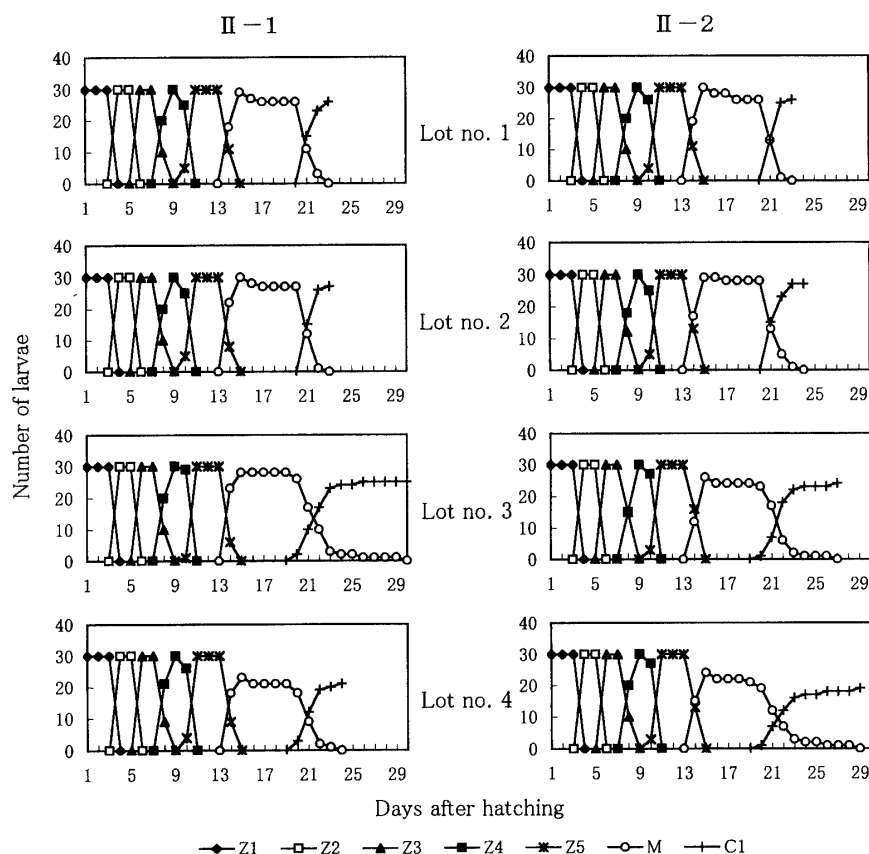


Fig. 3. Prolonged development of reared mud crab larvae in Expt. II.

Table 3. Developmental average period to reach each larval stage\*1 in Expts. I and II (day)

Lot no.	Stage*2					
	Z2	Z3	Z4	Z5	M	C1
Expt. I						
1	3.0	5.0	7.6 <sup>a,b</sup>	9.7 <sup>a</sup>	13.7 <sup>b</sup>	21.4 <sup>c</sup>
2	3.0	5.0	7.5 <sup>b</sup>	9.9 <sup>a,b,c</sup>	14.0 <sup>a,b</sup>	21.7 <sup>b,c</sup>
3	3.0	5.0	7.6 <sup>a,b</sup>	9.8 <sup>b,c</sup>	13.9 <sup>a,b</sup>	23.1 <sup>a</sup>
4	3.0	5.0	7.7 <sup>a</sup>	10.1 <sup>a</sup>	13.9 <sup>a,b</sup>	22.3 <sup>a,b</sup>
5	3.0	5.0	7.7 <sup>a</sup>	10.0 <sup>a,b</sup>	14.1 <sup>a</sup>	22.1 <sup>a,b</sup>
6	3.0	5.0	7.7 <sup>a</sup>	10.0 <sup>a,b</sup>	14.1 <sup>a,b</sup>	22.1 <sup>a,b,c</sup>
Expt. II						
1	3.0	5.0	7.3	9.9	13.4	20.5 <sup>b</sup>
2	3.0	5.0	7.4	9.8	13.4	20.5 <sup>b</sup>
3	3.0	5.0	7.4	9.9	13.4	21.1 <sup>a</sup>
4	3.0	5.0	7.3	9.9	13.3	20.9 <sup>a,b</sup>

\*1 Mean value ( $n=14-60$ ).

\*2 See the footnote of Table. 1. C1, first crab.

<sup>a,b,c</sup> Values within a column with different superscript letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

Ar が 24.2% で, EPA30-Ar および DHA60-Ar はオイル添加の影響を反映し, それぞれ 25.1% および 30.0% と増加した。EPA (20:5n-3), DHA (22:6n-3) および

n-3HUFA 含量 (乾燥重量当り) は, N-R では, EPA が 1.7%, DHA は微量, n-3HUFA は 2.2% 含有し, YN-R は, N-R に比べ DHA は増加したが, EPA および n-3HUFA は低い値を示した。無強化アルテミアでは, EPA は 1.3%, DHA は含まれず, n-3HUFA は 1.4% 含まれ, EPA30-Ar では, EPA は 3.5%, DHA は含まれず, n-3HUFA は 3.6%, DHA60-Ar では, EPA は 2.0%, DHA は 2.9%, n-3HUFA は 5.1% 含まれていた。総脂質中の脂肪酸組成 (area%) は, ワムシ群では, 両餌料とも 16:0, 16:1n-7 およびリノール酸 (LA, 18:2n-6) が 10% 以上の値を示し, N-R では EPA, YN-R では 18:1 も 10% 以上の値を示した。アルテミア群では, いずれの餌料とも 16:0, 18:1 およびリノレン酸 (LNA, 18:3n-3) が 10% 以上と高い値を示し, EPA30-Ar の EPA も 14.0% と高い値であった。DHA60-Ar では Un-Ar に比べ, ドコサペンタエン酸 (DPA, 22:5n-3) や EPA が増加し, DHA の短鎖化<sup>2-6)</sup>が認められた。

実験 II: 水分含量はいずれの餌料とも 90% 前後であった。粗タンパク質含量 (湿重量当り) は, N-R では 9.7%, アルテミア群では 6% 前後であった。粗灰分含量 (湿重量当り) は, いずれの餌料とも 1% 前後で大

**Table 4.** Proximate composition and main fatty acid contents of total lipid in live foods\*1 in Expts. I and II (%)

Expt. I	Rotifer*2			Artemia*3	
	N-R	YN-R	Un-Ar	EPA30-Ar	DHA60-Ar
Moisture	88.3±0.5*6	86.2±0.2	90.8±0.3	89.6±0.9	89.2±0.1
Crude lipid (wet)*4	1.3±0.2	1.6±0.1	2.2±0.4	2.6±0.1	3.2±0.1
(dry)*5	11.0±2.2	11.3±0.6	24.2±3.1	25.1±1.6	30.0±0.9
20:4n-6 (dry)	0.2±0.0	0.1±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0
20:5n-3 (dry)	1.7±0.3	0.9±0.1	1.3±0.1	3.5±0.1	2.0±0.2
22:6n-3 (dry)	tr*7	0.1±0.0	nd*7	nd	2.9±0.6
Σn-3HUFA (dry)	2.2±0.4	1.3±0.1	1.4±0.1	3.6±0.1	5.1±0.8
Expt. II	Rotifer*2			Artemia*3	
	N-R	YN-R	Un-Ar	EPA30-Ar	DHA60-Ar
Moisture	88.5±0.0	91.4±0.8	91.3±0.9	89.9±0.9	89.2±0.8
Crude protein (wet)*4	9.7±0.0	5.9±0.9	5.6±0.3	5.6±0.2	6.4±0.2
Crude ash (wet)	1.0±0.2	0.9±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
Crude lipid (wet)	1.3±0.1	1.9±0.1	2.0±0.1	2.5±0.2	3.1±0.1
(dry)*5	11.5±1.3	22.7±0.9	23.2±1.1	25.0±0.8	28.7±1.7
Neutral lipid (dry)	4.8±0.7	12.5±0.4	13.2±0.8	14.0±0.5	17.3±1.6
Polar lipid (dry)	6.7±0.6	10.2±1.2	10.1±0.4	11.0±0.5	11.3±0.5
20:4n-6 (dry)	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
20:5n-3 (dry)	1.8±0.1	1.2±0.0	1.3±0.0	1.6±0.1	2.2±0.1
22:6n-3 (dry)	tr	nd	tr	0.46±0.0	1.7±0.0
Σn-3HUFA (dry)	2.3±0.1	1.4±0.0	1.4±0.0	2.2±0.1	4.1±0.1

\*1 See the footnote of Table 1. \*2 n=2. \*3 n=3. \*4 In wet basis. \*5 In dry basis. \*6 Mean±SD. \*7 nd, not detected; tr, trace.

差なかった。粗脂肪含量(乾燥重量当り)は、N-R では 11.5% の値を示し、アルテミア群ではオイル添加の増加に伴い粗脂肪含量も増加する傾向がみられた。中性脂質と極性脂質の割合は、N-R では極性脂質の方が多く、アルテミア群では中性脂質の方が多く含有していた。またアルテミア群において、極性脂質はいずれの餌料とも 11% (乾燥重量当り) 前後の値であったが、中性脂質はオイル添加量の増加に伴い増加する傾向が認められた。EPA, DHA および n-3HUFA 含量は、N-R では実験 I とほぼ同様な値を示した。Un-Ar および DHA8-Ar はほぼ同量含まれ、DHA20-Ar では、EPA は 1.6%、DHA は 0.46%、n-3HUFA は 2.2% 含有し、DHA50-Ar では、EPA は 2.2%、DHA は 1.7%、n-3HUFA は 4.1% 含有していた。総脂質中の脂肪酸組成は、アルテミア群では 18:1 および LNA が 20% 以上の高い値を示し、16:0 は 10% 以上であった。また、DHA20-Ar や DHA50-Ar では、DHA からの短鎖化が認められた。

### 考 察

ノコギリガザミ幼生の生残および脱皮の同調性におい

て有効な給餌方法は、実験 I では N-R+Un-Ar、実験 II では N-R+Un-Ar および N-R+DHA8-Ar の組み合わせであった。そのワムシ中には乾燥重量当り 1.7~1.8% の EPA、微量の DHA および 2.2~2.3% の n-3HUFA を含有し、アルテミア中には 1.3% の EPA、微量の DHA および 1.4% の n-3HUFA を含有していた。今回のワムシおよびアルテミア中の含有量は、前報<sup>1)</sup>の両適正量をほぼ満足していた。実験 I において DHA60-Ar (EPA2.0%、DHA2.9%、n-3HUFA5.1%) を使用した試験区では、メガロパ幼生への変態に際し、多くの脱皮失敗によるへい死が観察された。EPA は前報<sup>1)</sup>の適正量を満たしていることから、2.9% の DHA がノコギリガザミ幼生に対して過剰であったものと推察された。また、実験 II における DHA20-Ar (EPA1.6%、DHA0.46%、n-3HUFA2.2%) 区でも、少数ではあるがメガロパへの変態時に脱皮失敗がみられるとともに、DHA50-Ar (EPA2.2%、DHA1.7%、n-3HUFA4.1%) 区では、多くの脱皮失敗が観察された。以上のことから、アルテミア中の DHA 含量は 0.46% 以下にする必要があり、それ以上 DHA を強化するとメガロパへの変

**Table 5.** Fatty acid composition (area%) of total lipid in live foods in Expts. I and II

Fatty acid	Expt. I					Expt. II				
	Rotifer*2		Artemia*3			Rotifer*2	Artemia*3			
	N-R	YN-R	Un-Ar	EPA30-Ar	DHA60-Ar		N-R	Un-Ar	DHA8-Ar	DHA20-Ar
14:0	3.1±0.0**	2.3±0.1	1.0±0.0	0.8±0.0	0.8±0.1	3.2±0.3	1.0±0.0	1.0±0.2	1.0±0.1	0.8±0.0
16:0	17.0±0.4	12.7±0.2	12.2±0.4	11.2±0.1	11.2±0.8	18.0±1.7	12.0±0.1	11.9±0.2	12.1±0.0	11.3±0.2
16:1n-7	11.8±0.2	13.6±0.5	5.9±0.1	4.7±0.3	4.9±0.5	12.5±0.5	5.6±0.1	5.9±0.2	5.5±0.1	5.1±0.2
16:3n-6	0.2±0.0	2.4±0.0	1.1±0.0	0.9±0.0	1.0±0.1	0.6±0.5	1.0±0.0	1.0±0.1	1.0±0.0	1.0±0.0
16:3n-3	3.0±0.7	0.3±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0	0.4±0.0	1.2±1.6	0.3±0.0	0.3±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0
18:0	3.4±0.2	4.3±0.1	4.1±0.0	4.3±0.1	3.9±0.2	3.6±0.3	4.6±0.2	4.3±0.3	4.5±0.2	4.1±0.1
18:1	7.1±0.4	19.8±0.9	28.8±0.2	27.6±0.3	26.6±0.9	7.1±0.4	29.6±0.4	28.7±1.4	28.8±0.4	27.3±0.4
18:2n-6	15.4±0.7	13.9±0.9	5.2±0.0	4.9±0.1	4.8±0.1	14.3±0.5	5.2±0.0	5.2±0.1	5.1±0.0	4.9±0.0
18:3n-6	0.2±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
18:3n-3	3.8±0.3	3.6±0.6	23.8±0.5	20.4±0.3	19.9±0.1	3.9±0.2	22.8±0.5	23.6±0.6	21.9±0.2	20.8±0.0
18:4n-3	0.1±0.0	0.1±0.0	2.5±0.1	1.8±0.1	1.9±0.1	0.1±0.1	2.2±0.1	2.4±0.1	2.0±0.1	1.8±0.1
20:1	1.6±0.0	2.7±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0	1.6±0.1	0.5±0.0	0.4±0.0	0.5±0.0	0.4±0.1
20:2n-6	1.3±0.0	1.2±0.1	0.1±0.0	0.3±0.4	0.1±0.0	1.3±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
20:3n-6	1.4±0.1	1.1±0.0	tr*5	tr	tr	1.5±0.2	tr	tr	tr	tr
20:4n-6	2.1±0.1	1.3±0.1	1.1±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	2.2±0.0	1.3±0.0	1.2±0.0	1.1±0.0	0.9±0.0
20:3n-3	0.5±0.1	0.5±0.1	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.6±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
20:4n-3	1.1±0.1	1.4±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	1.2±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
20:5n-3	15.3±0.1	8.0±0.7	5.2±0.2	14.0±0.7	6.7±0.3	15.5±0.5	5.4±0.2	5.4±0.2	6.5±0.1	7.6±0.1
22:1	0.2±0.0	0.5±0.0	tr	tr	tr	0.3±0.0	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.1±0.0	tr	tr	tr	0.1±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	tr	tr
22:5n-6	nd*5	0.3±0.0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
22:5n-3	2.6±0.2	0.7±0.1	nd	nd	0.1±0.0	2.9±0.7	nd	nd	nd	0.1±0.0
22:6n-3	0.1±0.1	1.2±0.0	nd	nd	9.7±1.9	0.1±0.0	nd	0.1±0.0	1.8±0.1	6.0±0.5
Σ Monoene	20.6±0.6	36.6±1.4	35.1±0.2	32.7±0.6	31.9±1.4	21.5±0.8	35.8±0.3	35.0±1.1	34.8±0.4	32.9±0.4
Σ n-6	20.8±0.9	20.2±0.7	7.9±0.1	7.3±0.3	7.0±0.1	20.4±0.7	8.0±0.1	7.8±0.2	7.6±0.1	7.1±0.1
Σ n-3	26.5±0.9	15.8±0.2	32.4±0.7	37.0±0.8	39.1±2.3	25.5±2.6	31.3±0.8	32.2±0.7	33.0±0.3	37.3±0.6
Σ n-3HUFA	19.7±0.0	11.8±0.7	5.7±0.2	14.5±0.7	16.9±2.1	20.3±1.3	6.0±0.3	6.0±0.2	8.8±0.1	14.3±0.5

\*1 See the footnote of Table 1. \*2 n=2. \*3 n=3. \*4 Mean±SD. \*5 nd, not detected; tr, trace.

態に際し、脱皮失敗を引き起こすことが示唆された。<sup>\*3</sup> DHA などの n-3HUFA 過剰症はニジマス<sup>14)</sup>やマダラ<sup>15)</sup>などでも報告され、それらはビタミン E(VE) の添加により改善されることが知られている。<sup>14-16)</sup> 一方、EPA30-Ar (EPA3.5%, DHA 含まず, n-3HUFA3.6%) 区でも脱皮失敗が観察されたことから、3.5% の EPA は過剰であったと思われる。しかし、実験 I の 5 区では、70.0% の稚ガニが得られていることから、EPA 過剰症の発現する含量は DHA 過剰症を発現する含量水準よりも高いものと推察された。また EPA レベルの異なるアルテミアを用いて EPA 過剰投与の影響を調べた実験では、7.8% の EPA (n-3HUFA8.0%) を含むアル

テミアを与えた試験区で 40% 近い生残率を得ている。<sup>\*4</sup>

次に全甲幅長をみると、EPA をアルテミア中に強化しても全甲幅が大きくなる効果はなかった。一方、実験 I の 3 区や実験 II の 3 および 4 区では、全甲幅が大きくなっていくことと、前報<sup>1)</sup>の結果とを合わせて考えると、餌料中への DHA の強化が C1 の全甲幅を大きくする効果を持つと考えられた。

C1 への平均到達日数においては、Un-Ar 区と DHA 強化アルテミア区との間には大きな差がなかったことから、EPA や DHA などの n-3HUFA4 強化を行うことによって、平均到達日数を早めることはできないと推察された。

<sup>\*3</sup> 小林孝幸, 竹内俊郎, 荒井大介, 関谷幸生: アルテミア摂餌期におけるノコギリガザミ幼生の DHA 適正量と過剰量, 平成 11 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1999, p. 134.

<sup>\*4</sup> 小林孝幸: トゲノコギリガザミ幼生の必須脂肪酸要求, 東京水産大学修士学位論文, 2000, p. 74.

これらの結果を総合すると、アルテミア摂餌期におけるノコギリガザミ幼生の生残率向上には、DHA を必要とせず、EPA に効果があり、その適正量は 1.3~2.5% 程度であることが示唆された。一方、DHA の効果は、稚ガニの全甲幅長を大きくすることに機能し、DHA 量を 0.46% 以下、すなわち EPA の 3 分の 1 程度かそれ以下にする必要があるものと推察された。ガザミ *Portunus trituberculatus* 幼生では、EPA が生残率の向上に、DHA が齢期所要日数を早めたり、全甲幅を成長させる働きに関与していることが明らかにされており、類似した結果を示した。<sup>19)</sup>

甲殻類のエビ類についての EFA 要求は、海産エビでは n-3HUFA を要求し、汽水産エビでは n-3 系および n-6 系を、淡水産エビでは n-6 系を要求する傾向がみられることが知られている。<sup>7)</sup> 本種の幼生は、n-6 系や LNA は EFA としての効果が低いことから、汽水域に生息している<sup>8,9)</sup>が、EFA 要求は海産型に近いものと推察される。また甲殻類は、ホスファチジルコリン (PC) やホスファチジレイノシトール (PI) などのリン脂質およびコレステロールなどのステロールを必須として要求するが、<sup>7,20,21)</sup> 本種におけるそれらの要求量あるいは DHA 強化の増加に伴う VE 要求量などについては、今後検討する必要がある。

## 謝 辞

本研究を行うに当たり、EPA および DHA のエチルエステ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)中央研究所に厚く御礼申し上げます。また飼育実験を行うに当たり、適切なる御指導および御助言をいただきました(株)日本栽培漁業協会玉野事業場の技術員ならびに職員の皆様に深謝する。

## 文 献

- 1) 竹内俊郎, 小林孝幸, 清水智仁, 関谷幸生: ノコギリガザミ幼生におけるアルテミアの必要性と適正給餌時期の検討. 日本誌, **66**, 984-992 (2000).
- 2) 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).
- 3) H. Furuuta, 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**, 246-251 (1996).
- 4) H. Furuuta, 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**, 372-379 (1996).
- 5) 鄭 鋒, 竹内俊郎, 與世田兼三, 小林真人, 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).
- 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) 金澤昭夫: 栄養・餌飼料, 「エビ・カニ類の増養殖 基礎科学と生産技術」(橋高二郎, 隆島史夫, 金澤昭夫編), 恒星社厚生閣, 東京, 1996, pp. 226-250.
- 8) E. P. Estampador: Studies on Scylla (Crustacea: portunidae), I. revision of the genus. *Philipp. J. Sci.*, **78**, 95-112 (1949).
- 9) 大城信弘: ノコギリガザミ類. 「サンゴ礁域の増養殖」(諸喜田茂充編著), 緑書房, 東京, 1988, pp. 198-209.
- 10) R. Fuseya and S. Watanabe: Genetic variability in the mud crab genus *Scylla* (Brachyura: Portunidae). *Fisheries Sci.*, **62**, 705-709 (1996).
- 11) C. P. Keenan, P. J. F. Davie, and D. L. Mann: A revision of the genus *Scylla* de haan, 1833 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Portunidae). *Raffles Bull. Zool.*, **46**, 217-245 (1998).
- 12) D. B. Duncann: Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, **11**, 1-42 (1955).
- 13) T. Takeuchi: Laboratory work-chemical evaluation of dietary nutrients, in "Fish Nutrition and Mariculture" (ed. by T. Watanabe), Kanagawa International Fisheries Training Center, Japan International Cooperation Agency, 1988, pp. 179-233.
- 14) 竹内俊郎, 渡邊 武: ニジマス成長に対する必須脂肪酸過剰投与の影響. 日本誌, **45**, 1517-1519 (1979).
- 15) 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).
- 16) T. Watanabe, T. Takeuchi, M. Matsui, C. Ogino, and T. Kawabata: Effect of  $\alpha$ -tocopherol deficiency on carp-VII, The relationship between dietary levels of linoleate and  $\alpha$ -tocopherol requirement. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **43**, 935-946 (1977).
- 17) T. Watanabe, T. Takeuchi, M. Wada, and R. Uehara: The relationship between dietary lipid levels and  $\alpha$ -tocopherol requirement of rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **47**, 1463-1471 (1981).
- 18) S. Satoh, T. Takeuchi, and T. Watanabe: Requirement of *Tilapia* for  $\alpha$ -tocopherol. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 119-124 (1987).
- 19) 竹内俊郎, 佐藤敦一, 関谷幸生, 清水智仁, 渡邊 武: ガザミ幼生の脱皮率に及ぼす EPA と DHA の影響. 日本誌, **65**, 998-1004 (1999).
- 20) 金澤昭夫: 水産動物における高度不飽和脂肪酸およびリン脂質の生理効果, 「水産脂質—その特性と生理活性」(藤本健二郎編), 恒星社厚生閣, 東京, 1993, pp. 69-79.
- 21) 手島新一: 甲殻類の必須脂肪酸とステロールの必要性, 「養魚と飼料脂質」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 1978, pp. 60-77.