

ワムシの効果的な栄養強化方法

井上 顕

1. 目的

種苗生産に使用するワムシの効果的な必須脂肪酸強化方法を検討する。

2. 方法

ワムシは S 型岡山株 *Branchionu rotundiformis* (クロレラ工業由来), L 型近代株 *B. plicatilis* (本センター由来), S 型タイ株 *B. rotundiformis-sp* の 3 種類を使用した。L 型, S 型は, 2002 年 7 月, 2003 年 6 月 ~ 8 月, T 株は 2004 年 3 月 10 日にサンプリングし, 水温 29 ~ 31 °C で培養した。

一次培養のエサは, 濃縮淡水クロレラ (クロレラ工業社製: 生クロレラ V12, 以下, V), 濃縮ナンノクロロプシス (以下, CN), 原液ナンノクロロプシス (以下, 原液ナンノ) およびパン酵母 (鐘淵化学工業社製: グリーンイースト) を適宜使用した。表 1 に, 一次培養のワムシの培養環境を示した。

二次培養で使用する強化剤は, スーパー生クロレラ V12 (クロレラ工業社製: 以下, SV), ドコサ・ユウグレナドライ (秋田十籐化成社製: 以下, ドコサ), CN を使用した。一次培養から二次培養へ植え継いだ日を 0 日目とした。強化剤投餌時刻は, 0 日目朝 10:00 ~ 11:00, 0 日目夕方 16:30 ~ 17:00, 1 日目朝 8:00 ~ 8:30 とした。二次培養の餌料系列は, 投餌時刻毎の種類と量及び定量ポンプ使用の有無を

(V, ポンプ SV*1, ドコサ*1.5) のように記載した。この例では 0 日目朝に規定量の V を, 0 日目夕方に定量ポンプで朝まで規定量の SV を, 1 日目朝に規定量の 1.5 倍のドコサを投餌したことを示している。なお V は常に規定量なので投餌量を省いた。規定投餌量は, ワムシ 1 億個体当たり, V と SV を 0.1 リットル, ドコサを 2g とした。

サンプリングは, 2,000~5,000 万個体のワムシをプランクトンネットで回収し, 水道水で洗浄後凍結保存した。脂肪酸分析は, クロレラ工業に依頼した。本稿では 3 種の n-3HUFA 脂肪酸 (以下, HUFA), DHA・EPA・DPA の分析結果について検討した。

3. 結果と考察

S 型ワムシ

(1) 強化剤の特性

a) SV12

表 2 に SV 投餌 6 時間後を 100% としたときの脂肪酸含有量比率を示した。各脂肪酸含有量は, 投餌 6 時間後がピークとなり, メーカーの使用説明と一致した。それ以降の減少量は, DHA が最大で, 次に DPA・EPA の順になった。この傾向は, 異なった投餌量でも同じであった。

表1 ワムシの培養環境

ワムシ	水槽	培養方法	エサ	図	表
S型	1kLポリカーボネート	荏原式連続培養	V	1	
	50kL円形	バッチ式	原液ナンノ・CN・V・パン酵母	1	
	50kL円形	バッチ式	V	2~4	2~4
L型	1kLアルテミアふ化槽	バッチ式	V	5~9	5, 6
	50kL円形	バッチ式	原液ナンノ・CN・V・パン酵母	5, 6, 8	5, 6
T株	50kL円形	バッチ式	原液ナンノ・CN・V・パン酵母	10	

表2 SV投餌6時間後を100%としたときの脂肪酸含有量比率

投餌量	規定量			0.67倍			
	3時間	6時間	15時間	6時間	15時間	20時間	24時間
DHA	78%	100%	57%	100%	53%	44%	40%
EPA	78%	100%	85%	100%	86%	82%	88%
DPA	78%	100%	79%	100%	84%	75%	79%

b) ドコサ

表3と表4に、ドコサ投餌3時間後を100%としたときの6時間後、15時間後の各脂肪酸含有量比率を示した。各脂肪酸含有量は、6時間後でDHA・EPA・DPAそれぞれ平均78%・84%・99%、15時間後では、54%・74%・95%と投餌3時間後にピークになった。それ以降の減少量は、DHAが最大で、次にEPA・DPAの順になった。この傾向は、異なった投餌量でも同じであった。

c) ナンノ

以下の2種類の方法で培養したワムシの脂肪酸含有量を図1に示した。

①50kL水槽で頻繁に原液ナンノとCNを給餌し、2次培養でVのみ2日間培養したワムシに夕方ドコサ*1とSV*0.2を添加したときの翌朝のワムシ

②Vのみを添加した連続培養装置で培養したワムシ

表3 ドコサ投餌3時間後を100%としたときの6時間後の脂肪酸含有量比率

経過時間	8:30						17:00		平均
	規定量	規定量	1.5倍	1.5倍	1.5倍	5倍	等倍	5倍	
DHA	67%	75%	74%	83%	75%	82%	80%	91%	78%
EPA	77%	79%	87%	83%	86%	82%	86%	94%	84%
DPA	85%	83%	97%	103%	100%	108%	96%	120%	99%

表4 ドコサ投餌3時間後を100%としたときの15時間後の脂肪酸含有量比率

投餌時刻	17:00		平均
	規定量	5倍	
DHA	58%	50%	54%
EPA	79%	69%	74%
DPA	89%	102%	95%

に、2次培養の餌料系列(V,ドコサ*1+SV*0.3)で行ったときの翌朝のワムシ

両試験区の脂肪酸含有量は、ほぼ同じレベルだった。一次培養で得たナンノ由来の高いEPA含有量は、3日間でほぼ保有していない可能性が示唆された。

(2) 栄養強化方法

a) 朝に使用するワムシ

2次培養最初のエサとしてV, SV, ドコサを投餌したときの朝の脂肪酸含有量状態を図2に示した。参考までに、2次培養最初のエサ投餌6時間後(夕方)の脂肪酸含有量をSVとドコサについて同図に記載した。2次培養最初のエサを強化剤にすることで、翌朝の脂肪酸含有量はDHAで2.5倍、EPAで1.5倍、DPAで3.5倍に増加した。最も脂肪酸含有量が高かったものは、(SV*1, SV*1)と、(SV*1, ドコサ*1.5)の餌料系列であった。これらは、(V, ドコサ*5)よりも脂肪酸含有量が高かった。

夕方の栄養強化剤を定量ポンプで給餌したときの朝の脂肪酸含有量を図3に示した。参考までに、2次培養最初のエサ投餌6時間後(夕方)の脂肪酸含有量をSVについて同図に記載した。定量ポンプを使用したときは、使用しなかったときと比較して、

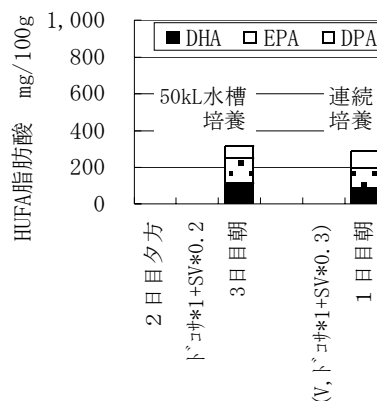


図1 3日後のナンノ由来のEPA含有量

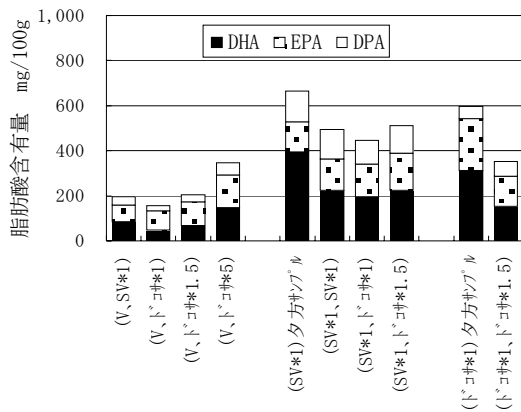


図2 二次培養最初のエサと 1 日目朝の脂肪酸含有量
DHA では 1.5 ~ 2.8 倍, EPA では 1.3 ~ 1.7 倍, DPA では 3.2 ~ 5.2 倍になった。

以上の結果から, 脂肪酸含有量(特に DHA と DPA)は, 二次培養最初の餌を V から強化剤にすることで増加し(図 2), 前日夕方のエサを定量ポンプで給餌することで, さらに高くなることが分かった(図 3)。定量ポンプによるドコサ強化は行っていないが, SV と比較して大きな差はないと推定され, 経費が SV の 2 倍かかるので, 朝に投餌するワムシには, (SV*1, ポンプ SV*1) が最も経済的かつ効果的な栄養強化方法だと考えられる。

b) 夕方使用するワムシ

以下の 3 グループの餌料系列で培養を行い, 餌料添加完了 3 時間後と 6 時間後の脂肪酸含有量を調べ

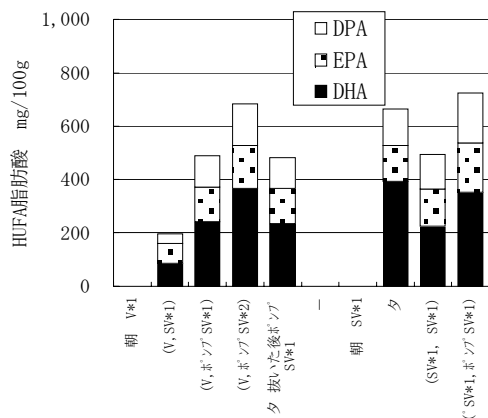


図3 夕方~朝の定量給餌と 1 日目朝の脂肪酸含有量
た。

餌料系列①: 0 日目で種苗生産水槽へ給餌する方法, 試験区は (SV*1), (ドコサ*1) の 2 区。

餌料系列②: 0 日目朝 V 使用し, 0 日目夕方と 1 日目朝強化剤を添加する方法, 試験区は (V, V, ドコサ*1), (V, SV*1, SV*1), (V, SV*1, ドコサ*1.5), (V, ドコサ*1.5, ドコサ*1.5) の 4 区。

餌料系列③: 0 日目から 1 日目朝まで強化剤を添加する方法, 試験区は (SV*1, SV*1, ドコサ*1), (SV*1, SV*1, ドコサ*1.5), (SV*1, ドコサ*1.5, ドコサ*1) の 3 区。

結果を図 4 に示した。6 時間後の HUFA が最も高いのは (SV*1, ドコサ*1.5, ドコサ*1) であった。DHA だけを見ると (SV*1) が最も高く, この値は朝試験

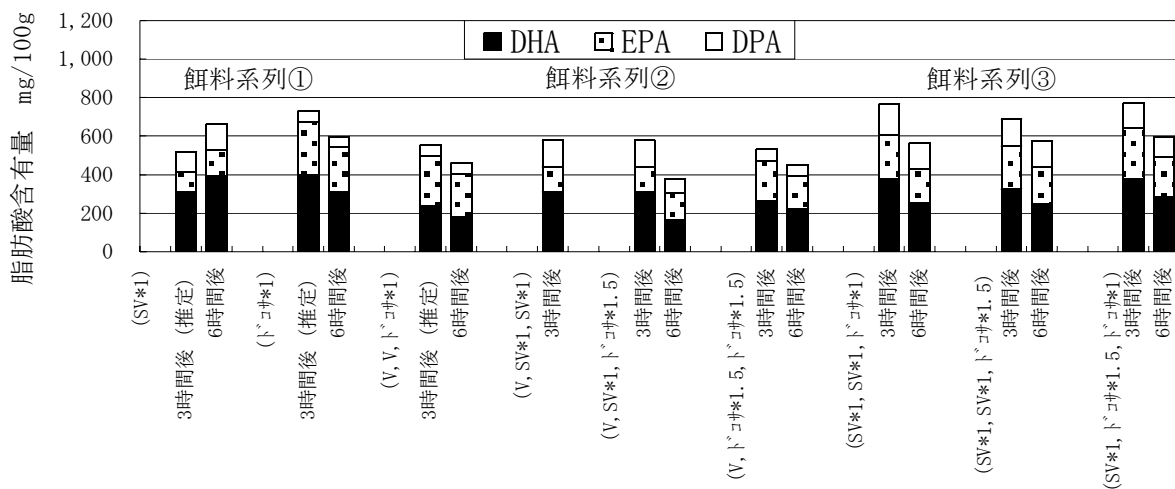


図 4 S 型における強化剤添加方法別に分けた餌料系列と脂肪酸含有量の経時変化

(推定) : SV は表 2, ドコサは表 3 より求めた。

表5 栄養強化剤投餌3時間後を100%としたときの6時間後の各脂肪酸含有量比率

強化剤 投餌時刻	ドコサ											SV				
	17:00					8:30						17:00		8:30		平均
	V12		CN			V12		CN				V12	CN	V12	CN	
等倍	3倍	5倍	3倍	3倍	等倍	3倍	5倍	3倍	3倍	2倍	2倍	2倍	2倍			
DHA	82%	77%	75%	86%	54%	67%	92%	74%	70%	72%	75%	108%	86%	92%	70%	89%
EPA	95%	81%	86%	77%	63%	68%	88%	78%	76%	78%	79%	116%	65%	88%	76%	86%
DPA	111%	85%	100%	86%	72%	99%	113%	103%	85%	88%	94%	111%	74%	113%	85%	96%

表6 栄養強化剤投餌3時間後を100%としたときの15時間後の各脂肪酸含有量比率

強化剤 投餌時刻	ドコサ						SV	
	17:00					17:00		
	V12		CN			平均	V12	CN
投餌量	等倍	3倍	5倍	3倍	3倍	2倍	2倍	
DHA	87%	50%	36%	71%	49%	59%	72%	56%
EPA	100%	67%	47%	52%	69%	67%	109%	41%
DPA	109%	71%	64%	82%	92%	84%	96%	62%

区 (SV*1, ポンプ SV*1) (図3) とほとんど変わらなかった。後で述べるタイ株では夕方試験区 (SV*1, ポンプ SV*1, SV*1) の HUFA が極端に多くならなかったことを考慮すると, (SV*1), つまり 0 日目種苗生産水槽へ給餌する方法が, 細菌増殖軽減や経済的な面から優れた方法と考えられる。

c) 昼使用するワムシ

昼に使用するワムシは, 種苗生産水槽への添加時刻, 2 次培養への植え継ぎ時刻によって, 強化方法を選択する必要がある。しかし, 昼使用するワムシを, 全く異なった餌料系列で強化することは大きな作業量の増加となる。「a) 朝使用するワムシ」で提案した餌料系列 (SV*1, ポンプ SV*1) と, 「b) 夕方使用するワムシ」で提案した餌料系列 (SV*1) の作業線に次の 2 つ強化方法が考えられる。一つは, (SV*1, ポンプ SV*1) のワムシ全体量を増やし, 1 日目の朝再強化剤を添加する方法で, もう一つは, (SV*1, ポンプ SV*1.5 ~ 2) で夕方から翌日までポンプ給餌して 18 ~ 24 時間強化を行う方法である。

L型ワムシ

(1) 強化剤の特性

a) ドコサ・SV

栄養強化剤の種類 (ドコサ・SV), 投餌時刻 (17:00

と 8:30), 一次培養の餌 (V と CN), 投餌量 (規定量等倍 ~ 5 倍) を変え, 脂肪酸含有量を調べた。栄養強化剤投餌 3 時間後を 100%としたときの 6 時間後, 15 時間後の比率をそれぞれ, 表 5, 表 6 に示した。ドコサ試験区では, 投餌時刻・一次培養のエサ・投餌量に関係なく, DHA, EPA 含有量ピークが 3 時間後にあり, 6 時間後でそれぞれピークの平均 75%, 79%, 15 時間後で平均 59%, 67%であった。規定投餌量だった 15 時間後の含有量は 6 時間後より高かったが, それは 3 時間後の DHA・EPA はともに 79.4mg/100g とかなり低いためと思われた。DPA 含有量はばらつきがあった。SV 試験区では, はっきりとしたピークがみられなかった。

b) ナンノ

1kL アルテミアふ化槽で V を投餌した L 型と, 50kL 水槽で CN を投餌した L 型を使用し, 二次培養の餌料系列 (V・ドコサ*3・ドコサ*3) と (V・SV*1・ドコサ*3) 2 種類の脂肪酸含有量をそれぞれ図 5 と図 6 に示した。CN で一次培養したワムシの DHA 含有量は, V で一次培養したワムシより低くなった。また, 一次培養で得られた EPA と DPA が減少していくことがわかった。吉松ら¹⁾は, S 型ワムシをイカ肝油で栄養強化し, 同様な結果を得ている。

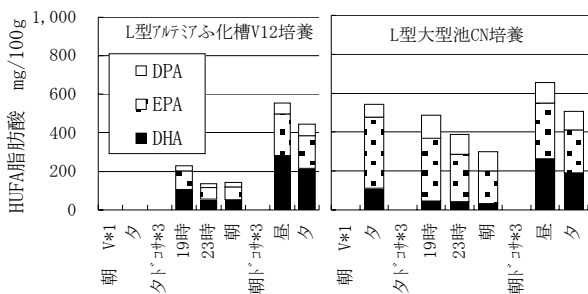


図5 VあるいはCNで培養したL型ワムシ二次培養の餌料系列 (V, ドコサ*3, ドコサ*3) と脂肪酸含有量

(2) 栄養強化方法

a) 朝使用するワムシ

図 7 に、(V, ドコサ*1.5 ~ 5) としたときの 1 日目朝の脂肪酸含有量を示した。脂肪酸含有量は、規定量と 3 倍量では大きな違いはなく、5 倍量が最も高い値を示した。また S 型ワムシの同じ餌料系列の脂肪酸含有量と比較すると、S 型 (V, ドコサ*1.5) と L 型 (V, ドコサ*3) は同レベル、S 型 (V, ドコサ*5) と L 型 (V, ドコサ*5) は S 型の方が多かった (図 2, 7)。餌料系列 (V, ドコサ*3) と (SV*2, ドコサ*3) の 1 日目朝の脂肪酸含有量は、DHA, EPA, DPA それぞれで、後者は前者の 356%, 203%, 421% となった (図 8)。0 日目朝に SV を添加することで、脂肪酸含有量が増加することは S 型と同じ結果にな

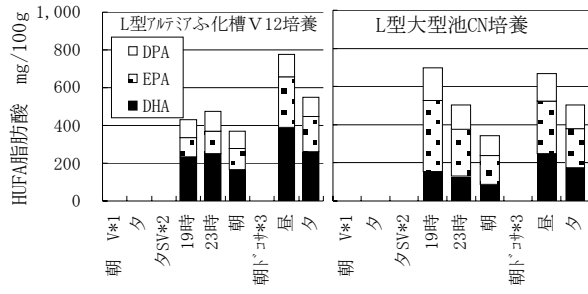


図6 VあるいはCNで培養したL型ワムシ二次培養の餌料系列 (V, SV*1, ドコサ*3) と脂肪酸含有量

り、(SV*2, ドコサ*3) の 1 日目朝の脂肪酸含有量は、S 型 (SV*1, ドコサ*1.5) と同レベルであった (図 2, 8)。この結果から L 型ワムシの 1 日目朝の脂肪酸含有量を S 型と同レベルまで栄養強化するためには、給餌量が 2 倍以上必要であると考えられる。給餌量の増加は経済的なデメリットである。定量ポンプを使用したとき、S 型の脂肪酸含有量が大きく変化したことを考えると、今後 L 型でも同様な方法を試験し、効果的な強化方法を模索する必要がある。

b) 夕方に使用するワムシ

図 9 に、餌料系列 (SV*2), (V, SV*2), (V, ドコサ*3, ドコサ*3), (V, ドコサ*5, ドコサ*5) の投餌完了 3 時間後と 6 時間後の脂肪酸含有量を示した。餌料系列 (SV*2), (V, SV*2), (V, V, SV*2) の間で比

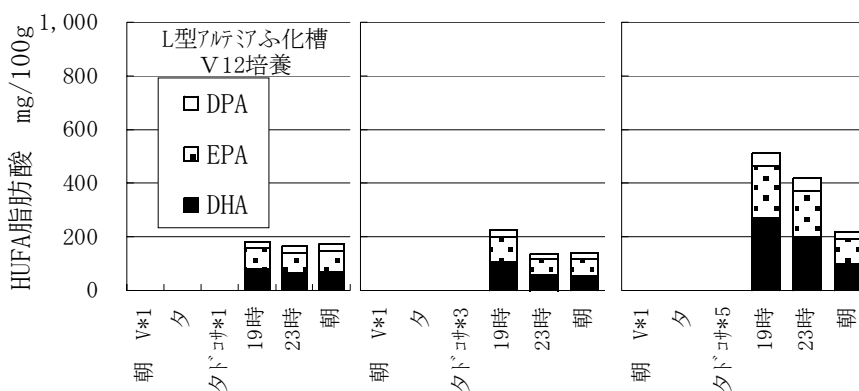


図7 ドコサの投餌量別脂肪酸含有量の経時変化

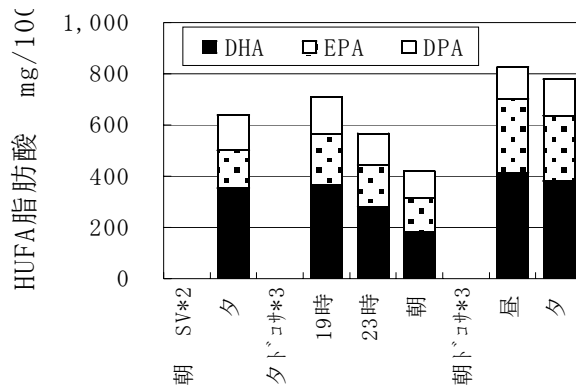


図 8 餌料系列 (SV*2, ドコサ*3) における脂肪酸含有量の経時変化

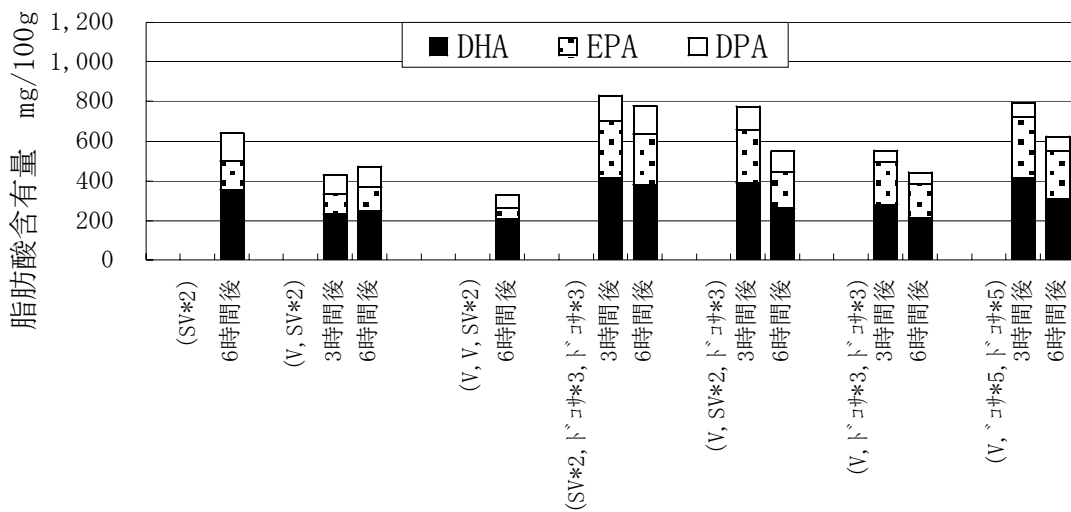


図 9 L 型の強化剤添加方法別に分けた餌料系列と脂肪酸含有量の経時変化

較すると、強化剤添加までに V を入れる培養時間が長くなるほど、HUFA 量が低下した。また最も高い脂肪酸含有量を示した餌料系列は、(SV*2, ドコサ*3, ドコサ*3) であった。しかし、6 時間後の脂肪酸含有量を餌料系列 (SV*2, ドコサ*3, ドコサ*3) と (SV*2) で比較したとき、前者の方が 2 倍の EPA 量が得られた以外は、ほぼ同じであった。この EPA の増加は、DHA が EPA へ短鎖化 (retroconversion) した結果と考えられる。餌料コストは、前者は後者の 4 倍であり、EPA 強化を目的にしないのであれば、餌料系列 (SV*2)、つまり 0 日目朝 SV を規定量 2 倍添加し、6 時間後に種苗生産水槽へ給餌する方法が、細菌増殖軽減や経済的な面から優れた方法と考えられた。ただし、定量ポンプによる夜間の強化剤添加を行って

いないため、今後の検討課題として残った。また昼使用するワムシの強化方法は、S 型ワムシ「c) 昼使用するワムシ」と同じ方法が考えられる。

タイ株

図 10 に 2003 年の S 型および L 型の栄養強化方法の結果を受けて行ったタイ株の脂肪酸含有量の経時変化を示した。定量ポンプを使用することで朝の脂肪酸含有量が高く維持でき、そのレベルは S 型岡山株と同じであることがわかった。また、一次培養で得られたナンノ由来の EPA がしだいに減少するという特性は、株に留まらず、種超えても同じ傾向にあると考えられた。

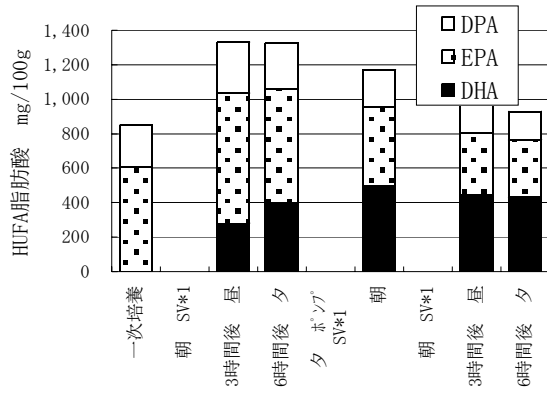


図 10 タイ株の脂肪酸含有量の経時変化

4. 参考文献

- 1) 吉松隆夫, 林雅弘. 高密度ワムシの栄養強化技術. 養殖; 1997, (5); 76-78.