

栄養強化剤の連続添加がワムシの回収率と栄養価に及ぼす効果

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2025-04-24
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 小磯, 雅彦, 島, 康洋, 日野, 明德
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014582

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



短 報

栄養強化剤の連続添加がワムシの回収率と栄養価に
及ぼす効果小磯雅彦^{*1}・島 康洋^{*1}・日野明德^{*2}Benefit of continuous provision of enrichment material on recovery and
nutritional value of the rotifer *Brachionus plicatilis*

Masahiko KOISO, Yasuhiro SHIMA, and Akinori HINO

We examined the survival and nutritional value of the rotifer *Brachionus plicatilis* which received n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acids) enrichment by means of continuous provision of "Fresh Chlorella ω 3" (200 ml/100 million rotifers) for 18 h at 22°C. Rotifer used had been harvested from "extensive continuous culture" fed on fresh-water Chlorella and baker's yeast.

Recovery (survival/inoculum) and nutritional value were 155% and 2.42 g/100 g (DW), respectively, which was better than the values (132% and 1.64 g/100 g DW) obtained from the rotifer that received the conventional enrichment. In the usual method, the excessive concentration of material due to the provision in a batch at the beginning of enrichment may cause a sudden drop of dissolved oxygen and prolonged physiological stresses. These results suggest that continuous provision in small doses improves the stability and efficiency of enrichment.

2007 年 1 月 4 日受理

一般に、淡水クロレラやパン酵母を餌料として培養されたワムシ類には、海産魚類仔魚の育成に必須である n-3 系列の高度不飽和脂肪酸（以下 n-3HUFA）やアミノ酸、ビタミン類などの栄養成分が不足している^{1,2)}。このため、種苗生産現場では大量培養後のワムシ類にそれらの栄養成分を取り込ませる、いわゆる栄養強化が行われている。現在では栄養強化したワムシを給餌することにより、多くの海産仔魚の健苗育成が可能となりつつある³⁾。

ワムシ類の栄養強化では、ワムシが衰弱または死亡する問題に加えて、強化剤の種類やその添加量、水温、時間およびワムシ密度などの要因によって n-3HUFA 含量が異なること⁴⁾、水槽内にクロレラがあると乳化油脂の取り込みが著しく低下すること⁵⁾、またワムシの増殖状態により栄養強化の効果が異なること⁶⁾、などが報告されている。このため、栄養強化を安定的かつ効率的

に行うには、適正な栄養強化方法を把握する必要がある。

小磯ら⁷⁾は、ワムシへの給餌に関して、連続給餌は餌料を少量ずつ注入することで、至適密度を超えた高すぎる餌料密度や、飢餓および溶存酸素濃度の急激な低下を回避できるため、従来用いられてきた 1 日あたり 1 回または 2 回給餌に比べて増殖率や餌料効率が高くなることを報告している。栄養強化においても、ワムシの衰弱や死亡の発生は油脂系の強化剤を一度に添加した場合にしばしば認められることから、強化剤を少量ずつ連続的に添加することで、ワムシの衰弱や死亡を防止でき、これによって計画的かつ効率的な栄養強化が行えると考えられる。

本研究では、シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis*（以下ワムシ）の栄養強化における強化剤連続添加の効果を検証するために、従来行われてきた 1 回添加法と連

*1 独立行政法人水産総合研究センター 能登島栽培漁業センター 〒926-0216 石川県七尾市能登島曲町15-1-1 (Notojima Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, 15-1-1 Notojima Nanao Ishikawa, 926-0216 Japan).

*2 東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1.

続添加法との2通りで栄養強化を行い、強化中の溶存酸素濃度の推移や強化後のワムシの回収率および n-3HUFA 含量を比較した。

材料と方法

供試ワムシ ワムシは、水産総合研究センター能登島栽培漁業センターで5年以上継代培養している“L型ワムシ小浜株”{携卵個体の背甲長(平均値±標準偏差, n=50): $238 \pm 15 \mu\text{m}$ }を用いた。培養は粗放連続培養⁸⁾で行い、培養液は水温22℃で塩分20 psuとし、培養水量10 klに毎日4 klの培養液を連続的に注水して同量を連続収穫した。餌料は濃縮淡水クロレラ *Chlorella vulgaris* (生クロレラ V12, 細胞密度 1.5×10^{10} 細胞/ml, クロレラ工業, 以下クロレラ)とパン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* (オリエンタル酵母工業)をそれぞれ1日あたり3 lと1.5 kgずつ混合して定量ポンプ(EH-B10, IWAKI)で連続給餌した。これらの条件でワムシ密度が120 個体/mlで日間増殖率が約50%の定常状態^{9,10)}に入ったワムシを収穫し、実験に供した。

栄養強化 栄養強化は、能登島栽培漁業センターで通常行われている方法に準拠して行った。その方法は、500 lポリカーボネイト水槽に塩分26 psuの希釈海水を満たし、チタンヒーターで22℃に加温、ワムシ密度は500 個体/mlで行った。通気には、ユニホース(FAL5000, 長さ60 cm, ユニホース)を用い、ワムシ糞等の懸濁物を除去するためのフィルターマット(サラロック, OM-150, 60×60 cm, 旭化成)を水槽底面に設置した。栄養強化剤には、マイクロカプセル化した油脂類を含有した濃縮淡水クロレラ(生クロレラ ω 3, クロレラ工業, 以下MCクロレラ)を用い、添加基準量はワムシ1億個体あたり200 mlとした。強化時間は、多くの種苗生産現場では前日の夕方から当日の朝まで栄養強化を行っているため、一般的な強化時間として18時間とした。強化剤の添加法として、開始時に全量を添加する区(以下1回添加区)と、開始時に全量の1/3量を添加し、残り2/3量をチューブ式定量ポンプ(MICRO TUBE PUMP, MP-3, EYELA)で17時間かけて連続添加する区(以下連続添加区)を設けた。連続添加区では、強化剤の品質劣化を防止するために保冷剤入りのクーラーボックスに入れ、一定の濃度で強化剤を添加するために通気により攪拌を行った。

強化法の評価 両水槽での培養水中の溶存酸素濃度測定とワムシ計数ならびに、脂肪酸分析用サンプル採取は、開始後0, 3, 6, 12および18時間(終了時)に行い、ワムシ密度は、0.2 ml中の個体数を実体顕微鏡下で計数して求め、この操作を3回繰り返した。ワムシの回収率を以下の式で算出した。

回収率(%)=(実験終了時のワムシ密度)/(開始時のワムシ密度)×100

溶存酸素濃度は、酸素電極を用いてDOメーター(model 85, YSI/Nanotech)で測定した。ワムシサンプルは淡水で洗浄後、水分を切って-80℃で凍結保存した。ワムシ乾燥重量は110℃での加熱乾燥した後、また、総脂質重量は加熱乾燥後にFOLCHらの方法¹¹⁾により抽出後、測定した。ワムシ脂肪酸組成は、得られた脂質から脂肪酸を抽出し、三フッ化ホウ素-メタノール法によるメチル誘導体としてガスクロマトグラフ(GC-14A型, 島津製作所)で分析後、荒川らの方法¹²⁾に準拠し、総脂質含量に各脂肪酸の構成比を乗じて定量した。

結 果

ワムシ密度 栄養強化中のワムシ密度は、1回添加区では開始時の490 個体/mlが3時間後に458 個体/mlと一時的に減少したが、以後増加して18時間後には647 個体/mlとなった(図1)。一方、連続添加区では開始から徐々に増加して18時間後には777 個体/mlに達した(図1)。ワムシの回収率は、1回添加区の132%に対して、連続添加区は155%と高かった。

溶存酸素濃度 溶存酸素濃度は、1回添加区では開始時の6.7 mg/lに対して、3時間後には3.4 mg/lと急激に低下したが、6時間後には5.1 mg/lまで回復し、開始から6時間の間で大きく変動した(図1)。一方、連続添加区では開始時の6.5 mg/lに対して、3時間後には5.5 mg/lとやや低下し、その後も5.6 mg/l前後を推移した(図1)。溶存酸素濃度の最大低下幅は、1回添加区の3.3 mg/lに対して、連続添加区では1.0 mg/lと小さかった。

ワムシのn-3 HUFA 含量 n-3 HUFA 含量(乾物重量あたり)は、1回添加区では開始6時間で最大値の1.89

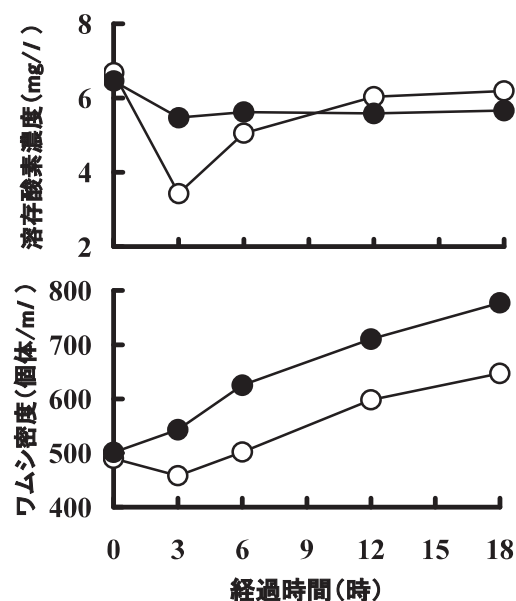


図1. 強化剤の添加方法の違いによる栄養強化中のワムシ密度と溶存酸素濃度の推移
●: 連続添加区, ○: 1回添加区

g/100g となり、12 時間後には 1.74 g/100g に低下し、18 時間後には 1.64 g/100g となった（図 2）。一方、連続添加区では、開始から徐々に高くなり、18 時間後には 2.42 g/100g に達した（図 2）。強化終了時（18 時間後）の n-3 HUFA 含量は、1 回添加区に比べて連続添加区では約 1.5 倍高かった（図 2）。この傾向は EPA や DHA 含量においても同様であった（図 2）。

考 察

ワムシの回収率に関して、強化剤連続添加区が 1 回添加区よりも優れたことについては、強化中の溶存酸素濃度やワムシ密度が関与していると考えられる。溶存酸素濃度は、1 回添加区では強化開始から 3 時間で低下幅が 3.3mg/l と大幅に低下したが、連続添加区ではわずかな低下にとどまっていた（図 1）。溶存酸素濃度が 6.3mg/l から 4.6mg/l へ急激に低下するとワムシの摂餌量は一時的に低下すること¹³⁾ が示されており、1 回添加区ではこの間に強化剤の取り込みが低下したため、連続添加区よりも高い強化剤濃度であったにもかかわらず、同程度の強化レベルにとどまったと考えられる。なお、同じ時間帯に、ワムシ密度は 1 回添加区で減少したが、連続添加区では徐々に増加した（図 1）。至適密度を超えた高すぎる餌料密度はワムシの増殖を阻害すること

^{7,14-19)} から、1 回添加区では溶存酸素濃度の急激な低下と高い強化剤濃度に曝されたことで衰弱や死亡が発生したものと考えられる。

ワムシの n-3 HUFA 含量は、連続添加区では徐々に高くなり、終了時には 1 回添加区よりも高くなったが、1 回添加区では開始 6 時間後にピークとなり、以後低下した（図 2）。1 回添加区では、開始直後から強化槽の水面周辺部に大量の強化剤の付着が観察されたことから、強化剤同士がフロック化して浮上し水中の強化剤が減少したため、強化時間の後半では強化剤がほとんどなくなっていたと考えられる。これに対して、連続添加区では強化剤を少量ずつ時間をかけて添加したことで、1 回添加区のような強化剤の無駄が発生せず、効率的にワムシに取り込まれたことで強化レベルが高くなったと考えられる。

本栄養強化実験でのワムシの n-3HUFA 含量は最大で 2.42g/100g（乾物重量あたり）であったが、マダイ、ブリおよびシマアジ仔魚の n-3 HUFA の要求量が 3 ~ 4g/100g（同）である³⁾ ことから、これらの魚種の種苗生産では、ワムシにはさらに高いレベルでの油脂強化を行う必要がある。その場合、強化剤添加量の増加や、より油脂含量の高い強化剤の利用などにより、強化剤（油脂）濃度がさらに高くなり、強化剤の取り込みの阻害や溶存酸素濃度の低下を招く結果、ワムシが衰弱・死亡する危険性がさらに高くなると考えられる。このような栄養強化においても、強化剤の連続添加は阻害要因を回避あるいは軽減できると考えられる。

栄養強化剤の連続添加は、使用する強化剤の種類や添加量によって効果の大きさが異なると考えられる。しかし、少なくとも n-3HUFA 含量およびワムシ回収率の向上は栄養強化にかかるコストの低減を可能とし、また、強化剤の取り込みの阻害や溶存酸素濃度の低下を招かないことでワムシの活性を高く維持できることは、仔魚飼育成績の向上に貢献すると考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、実験の準備等でご協力をいただいた北川貴子氏ならびに有益な御助言・御協力をいただいた水産総合研究センター能登島栽培漁業センターの職員諸氏に深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) 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ツボワムシの栄養価。日水誌，44，1109-1114.
- 2) 吉松隆夫（2001）ワムシ高密度大量培養用餌料の開発。日水誌，67，1144-1145.
- 3) 竹内俊郎（1991）魚類における必須脂肪酸要求の多

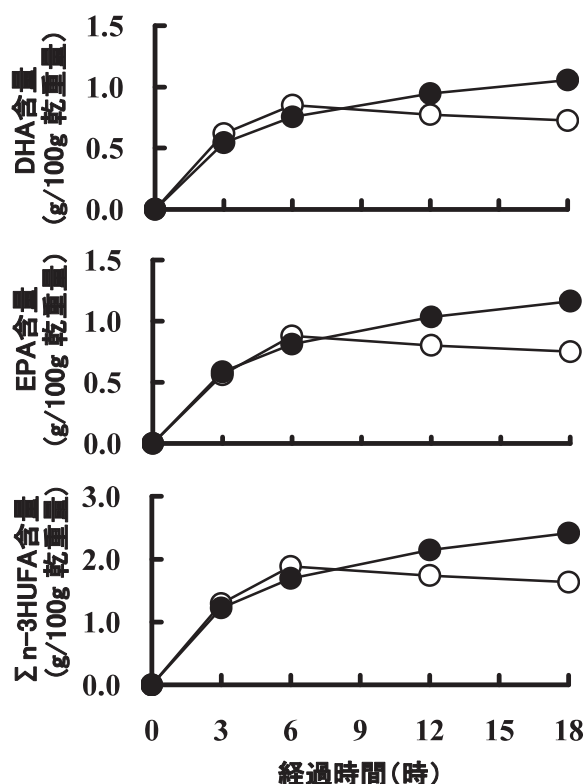


図2. 強化剤の添加方法の違いによる栄養強化中のワムシ密度と溶存酸素濃度の推移
●：連続添加区，○：1回添加区

- 様性. 化学と生物, **29**, 571-580.
- 4) 高橋隆行 (2000) 生物餌料の栄養強化を左右するもの. アクアネット, **3**, 50-54.
 - 5) YOSHIMATSU, T., H. IMOTO, M. HAYASHI, K. TODA, and K. YOSHIMURA (1997) Preliminary results in improving essential acids enrichment of rotifer cultured in high density. *Hydrobiologia*, **358**, 153-157.
 - 6) 友田 努・小磯雅彦・桑田 博・陳 昭能・竹内俊郎 (2005) 増殖ステージが異なるシオミズツボワムシのヒラメ仔魚に対する餌料価値. 日水誌, **71**, 555-562.
 - 7) 小磯雅彦・友田 努・桑田 博・日野明德 (2005) ワムシの増殖と生産コストに及ぼす連続給餌の効果. 栽培技研, **32**, 1-4.
 - 8) 桑田 博 (2000) 粗放連続培養. 海産ワムシ類の培養ガイドブック, 栽培漁業技術シリーズ No.6, 日本栽培漁業協会, 東京, 92-107.
 - 9) 日野明德 (2000) 新しく開発された連続培養法. 海産ワムシ類の培養ガイドブック, 栽培漁業技術シリーズ No.6, 日本栽培漁業協会, 東京, 80-81.
 - 10) 桑田 博 (2000) 用語の定義. 海産ワムシ類の培養ガイドブック, 栽培漁業技術シリーズ No.6, 日本栽培漁業協会, 東京, 2-4.
 - 11) FOLCH, J., M. LEES, G. H. STANLEY. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem*, **226**, 497-509.
 - 12) 荒川敏久・石崎靖朗・中田 久・清水 健・有元操・竹内俊郎 (2002) 飼育および天然ブリ稚魚の脂質組成および脂肪酸組成の比較. 日水誌, **68**, 374-381.
 - 13) 小磯雅彦・日野明德 (2006) シオミズツボワムシの増殖および摂餌に対する溶存酸素濃度の急激な低下の影響, 水産増殖, **54**, 37-41.
 - 14) HIRAYAMA, K., and S. OGAWA (1972) Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture—I. Filter feeding of rotifer. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **38**, 1207-1214.
 - 15) 山崎繁久・平田八郎 (1985) シオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*) の摂餌率および増殖率に及ぼす給餌密度. 水産増殖, **32**, 225-229.
 - 16) 山崎繁久・平田八郎 (1986) L 型及び S 型シオミズツボワムシの摂餌率. 水産増殖, **34**, 137-140.
 - 17) WALZ, N. (1993) Element of Energy Balance of *Brachionus angularis*. in "Plankton Regulation Dynamics", Springer-Verlag, Berlin, pp. 106-122.
 - 18) ROTHHAUPT, K. O. (1993) Rotifers and continuous culture techniques, Model systems for testing mechanistic concepts of consumer-resource interactions. in "Plankton Regulation Dynamics", Springer-Verlag, Berlin, pp. 178-192.
 - 19) AOKI, S., and A. HINO (1996) Nitrogen flow in a chemostat culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Fish. Sci*, **62**, 8-14.