

ペヘレイ必須脂肪酸の解明Ⅱ

必須脂肪酸および脂肪酸合成経路の解明

勝呂 尚之・石橋 秀之*・工藤 盛徳**

ペヘレイの必須脂肪酸(EFA)を解明するため昨年度は、当歳魚と1歳魚を用いて試験を行い¹⁾、イカ肝油の添加効果が改めて認識された。しかし、試験期間が十分でなかったために、その他の脂肪酸の添加効果については満足な結果が得られなかった。

今年度は、90日間の試験期間で、当歳魚を用いて各種の脂肪酸の添加効果を調べ、ペヘレイの脂肪酸合成能力を解明するとともに、イカ肝油の至適添加量についても検討した。

本文に先立ち、卒業論文課題として御協力をいただいた日本大学農獣医学部水産学科4年の木村聡氏及び北里大学水産学部水産学科4年の永井正樹氏に深く感謝します。

材料及び方法

供試魚及び飼育条件 場内のB試験池内に、500ℓパンライト水槽を9個設置し、ペヘレイ当歳魚(平均体重1.36g)を低脂質飼料で14日間予備飼育した後、各パンライト水槽に200尾ずつ収容した。

平成3年7月30日から10月29日までの90日間、飼育

試験を行った。

飼育水は湧水を使用し、流水式として各試験区ごとに1~5ℓ/minの割合で注水した。

給餌は、1日に魚体重の3%を目安に、1日3回手撒きで与えた。

試験飼料 市販のマス稚魚用配合飼料をソックスレー脂肪脱脂法で脱脂した後、混合ビタミンを加え、各種脂肪酸を添加したものを使用した。

各試験区の飼料を第1表に、また、添加脂質の脂肪酸組成を第2表にそれぞれ示した。

第2表 添加油脂の脂肪酸組成

	ココナツオイル	イカ肝油	クロレオイル
8:0	4.0		
10:0	4.9		
12:0	47.4		0.7
14:0	19.3	4.1	5.6
15:0		0.6	
16:0	9.6	12.6	10.3
16:1		7.5	25.2
16:2n-4		0.8	
18:0	6.5	2.6	
18:1n-9	6.0	18.1	3.5
18:2n-6	2.4	2.6	2.7
18:3n-3		10.9	
18:4n-3		2.3	
20:0		0.4	1.6
20:4n-6		0.9	4.7
20:5n-3		9.5	39.0
22:1		9.8	
22:5n-6		1.5	
22:6n-3		12.4	
24:1		0.9	

第1表 試験区の設定

試験区	添 加 脂 質
1	ココナツオイル15%
2	ココナツオイル10%+オレイン酸 5%
3	ココナツオイル10%+リノール酸 5%
4	ココナツオイル10%+リノレン酸 5%
5	ココナツオイル 5%+オレイン酸10%
6	イ カ 肝 油 5%
7	イ カ 肝 油 10%
8	イ カ 肝 油 20%
9	ココナツオイル 9%+クロレオイル 6%

*東海大学大学院海洋学研究科

**東海大学海洋学部

魚体測定 試験開始30日後及び60日後に各区から無作為に30尾ずつを抽出し、全長、体長、体重の測定を行った。試験終了時の90日後には全個体の測定を行った。

健苗性の測定 試験終了時に各区より無作為に10尾ずつ抽出し、ヘマトクリット値 (Ht 値) と比肝重値 (HSI) を測定した。

採血は腹大動脈から注射器で行い、抗凝固剤にはヘパリンナトリウムを用いた。

試験終了後、その外部形態により奇形魚の判別を行い、脊椎湾曲魚についてソフテックスによるX線撮影を行った。

魚体の脂肪酸分析 給餌開始時、30日後、60日後及び終了時において、各区30尾ずつ脂肪酸組成について魚体分析を行った。分析は魚体を、肝臓と筋肉に区分して行った。

脂肪酸の分析方法は、Folch 法を基本にクロロホルム：メタノール＝2：1 混液によって、抽出した粗脂肪をケン化エステル化し、ガスクロマトグラフ分析を行った。

結果及び考察

1) 飼育結果

実験期間中の水温は、15.7～25.2℃で、平均は18.5℃であった。

飼育結果を第3表および第1図に示した。

1区のココナッツオイル単用区は、試験開始後30日前後から摂餌が鈍り、試験後半はほとんど摂餌しなかったため、他の試験区に比べ成長が悪かった。また、魚体は白っぽくなり、HSIが高かった。これらの摂餌

の低下による成長の悪化、魚体の白化および HSI の増加はペヘレイの EFA 欠乏症と考察されるが、生残率は比較的高く、奇形魚の発生も見られなかった。

2区のリノール酸添加区、3区のリノレン酸添加区は1区のココナッツオイル単用区の低成長を改善した。しかし、2区は生残では1区に劣り、3区も飼料効率と生残では1区に劣っている。さらにこれらの脂肪酸は、添加量は異なるが6区や7区のイカ肝油添加区には、成長及び生残等において明らかに劣っている。

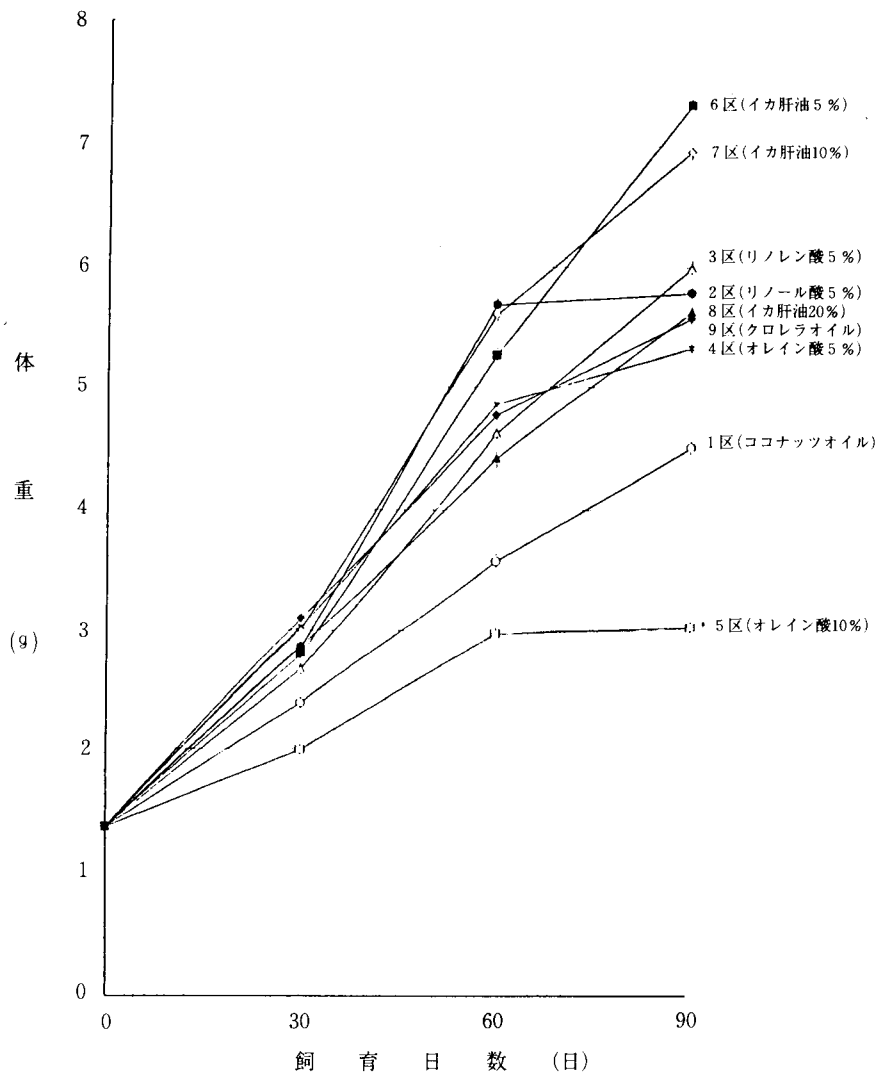
4区のオレイン酸5%添加区は、1区のココナッツオイル単用区の低成長を改善した。しかも、生残率では、2区のリノール酸や3区のリノレン酸を上回っており、オレイン酸はリノール酸やリノレン酸と同程度の添加効果があるようである。しかし、添加量を10%にした5区では過剰投与の悪影響が顕著に現れ、成長、生残、飼料効率及び Ht 値は全試験区中、最低であった。

成長、飼料効率及び生残率等で特に、優れていたのは、6区のイカ肝油5%添加区であり、次が7区のイカ肝油10%添加区であった。ペヘレイにとって、イカ肝油の飼料への添加が有効であるというこれまでの知見²⁾や、昨年度の当歳魚を用いた試験結果¹⁾と一致した。

7区のイカ肝油の10%添加区は、6区との比較では成長や飼料効率、生残において明らかに劣り、10%では、過剰投与であると推察された。さらに、8区のイカ肝油の20%添加区では、過剰投与による悪影響は明確で、成長や生残は極端に悪化し、奇形魚の発生率も高かった。また、血液の Ht 値は低く、さらに HSI も異常に高くなり、健苗性が損なわれてしまった。

第3表 魚 体 測 定 結 果

		1 区 ココナツ油	2 区 リノール酸	3 区 リノレン酸	4 区 オレイン酸5%	5 区 オレイン酸10%	6 区 イカ肝油5%	7 区 イカ肝油10%	8 区 イカ肝油20%	9 区 クロレライ
開 始 時	尾数(尾)	200								
	全長(mm)	65.2								
	体長(mm)	54.1								
	体重(g)	1.4								
	肥満度	10.4								
終 了 時	尾数(尾)	121	113	98	122	44	134	119	98	130
	全長(mm)	94.7	100.1	100.0	100.2	84.4	108.8	105.9	99.5	99.9
	体長(mm)	79.2	83.7	84.0	84.1	70.2	91.0	89.0	82.9	83.7
	体重(g)	4.5	5.8	6.0	5.6	3.0	7.3	7.0	5.6	5.3
	肥満度	9.1	9.9	10.1	9.5	8.8	9.7	9.9	9.8	9.1
生残率(%)		86.4	80.7	70.0	87.1	31.4	95.7	85.0	70.0	92.9
飼料効率(%)		50.2	57.3	48.6	56.0	17.3	74.4	67.2	53.9	55.1
奇形発生率(%)		0	8.0	6.1	1.6	20.5	0.7	0.8	15.3	6.9
Ht 値(%)		42.8	46.3	43.6	45.8	34.8	48.9	51.5	41.6	38.8
HSI		2.05	1.35	1.76	1.94	1.71	1.21	1.34	1.60	0.87



第1図 魚体重の変化

ここで、ペヘレイに対するイカ肝油の至適添加量を検討すると、今回の6区の5%添加区が、最高の添加効果を示し、10%以上の添加では過剰であった。さらに、過去の試験結果²⁾で、添加量が2.5%では効果はほとんどなかったことから、イカ肝油の至適添加量は飼料中5%前後であることが判明した。これは、n-3HUFAとしては約1%であり、それ以上の添加は成長、生残にむしろ悪影響を与えることがわかった。

9区のクロレラオイル添加区は、ココナッツオイル単用区の低成長を改善し生残率も高かった。しかし、成長や飼料効率で、6～8区のすべてのイカ肝油添加区には及ばなかった。ここで、イカ肝油の主成分は、

エイコサペンタエン酸(EPA)やドコサヘキサエン酸(DHA)のn-3HUFAであり、クロレラオイルの主成分はEPAである。そのため、イカ肝油の成長に対する添加効果は、EPAよりもそれ以外のイカ肝油の主成分であるDHAによるところが大きいと推察される。

また、他の試験区との比較では、HSIが異常に低くなり、ペヘレイにとってはEPA主体のクロレラオイルだけでは、健苗性に何らかの支障があったものと考えられる。

2) 奇形魚の発生

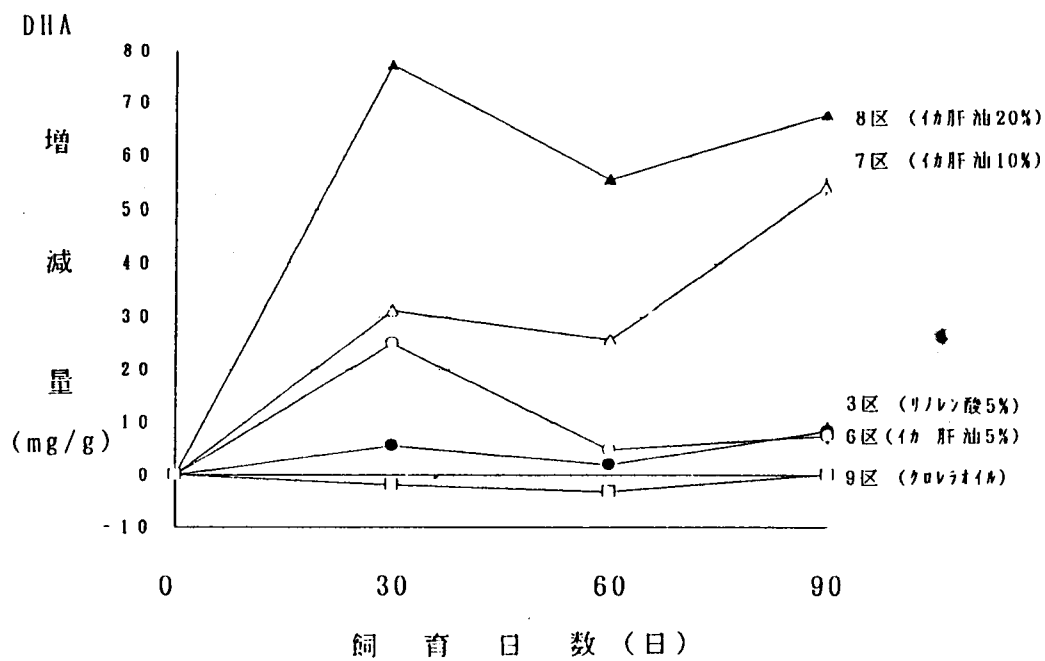
1区のココナッツオイル単用区を除くすべての試験区で、脊椎湾曲魚が発生した。特に5区のオレイン酸

第4表 肝臓における脂肪酸組成

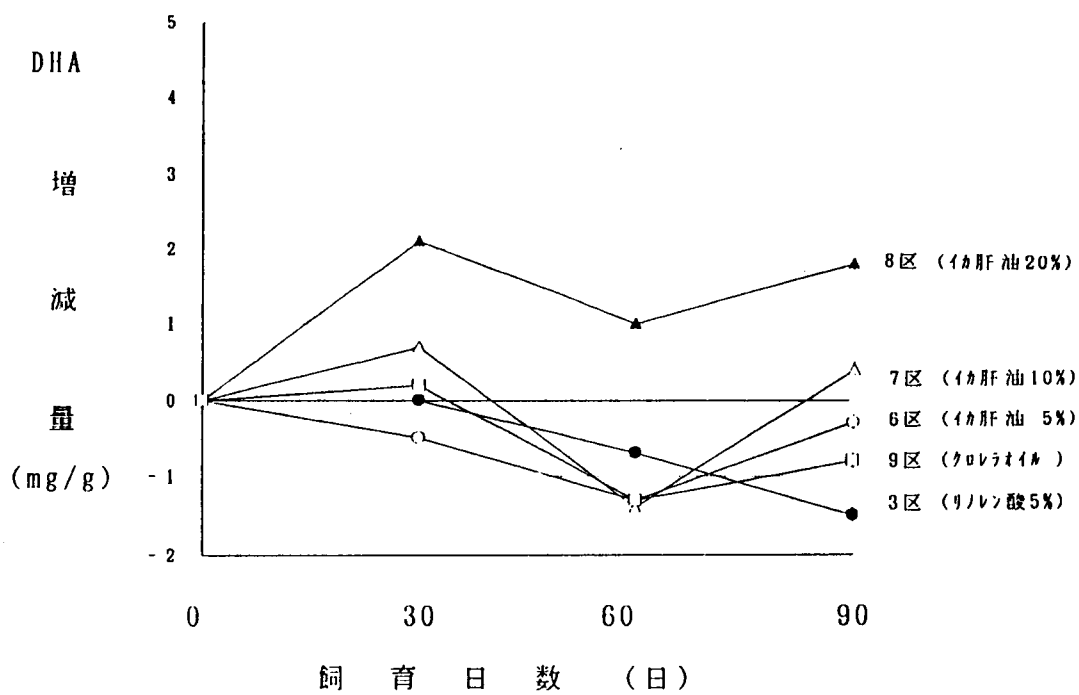
	試験前	1 区 ココナツオイル	2 区 リノール酸	3 区 リノレン酸	4 区 オレイン5%	5 区 オレイン10%	6 区 イカ肝油5%	7 区 イカ肝油10%	8 区 イカ肝油20%	9 区 クロレラオイル
10:0		0.26	0.04	0.30	0.00					0.03
12:0	4.23	7.37	5.36	6.97	3.65	1.94	0.02	0.20	0.05	6.96
14:0	11.77	15.22	14.67	11.94	12.22	9.04	3.39	3.50	3.06	12.78
15:0	0.07	2.02		1.08	0.98	0.43	0.25	0.35	0.47	4.99
16:0	20.69	15.73	14.10	13.99	13.33	11.64	18.32	16.59	14.23	16.57
16:1	7.71	15.60	4.50	8.17	12.19	10.19	12.49	11.16	10.23	14.13
16:2	0.52	2.79			2.45	1.11	0.66	0.82	1.09	
18:0	5.11	1.80	3.69	2.01	1.80	1.61	2.60	2.44	1.84	2.56
18:1n-9	30.72	22.38	19.97	23.56	31.25	37.07	39.50	33.70	29.68	30.01
18:2n-6	9.04	10.91	12.47	8.41	15.40	14.35	9.12	5.56	4.41	7.40
18:3n-3	2.16	1.10		6.53	1.24	2.08	4.29	5.60	8.04	0.94
18:4n-3	0.86	1.28	0.66	5.90	1.45	1.76	1.14	1.36	1.65	0.50
20:0	2.20	1.81	17.51	4.05	2.57	3.81	0.88	0.88	0.71	1.95
20:3n-9	0.17	0.34	3.49	0.28	0.20	0.46	0.07	0.06	0.04	0.22
20:4n-6	0.04		0.04	1.46					0.61	0.03
20:5n-3	0.31	0.16	0.04	0.57	0.25	0.17	0.31	1.24	1.35	0.09
22:0		0.91			0.74	0.58				0.10
22:1	0.49	0.33	1.45	0.64	0.28	0.26	1.83	2.76	4.15	0.42
22:5n-6	0.26	0.05	0.04	0.44	0.11	0.05	0.27	1.26	1.20	0.06
22:6n-3	2.15	1.11	1.08	3.33	1.08	1.62	4.32	12.08	15.92	2.09
24:1	0.06	0.21	0.78	0.11	0.06	0.27	0.08		0.24	0.24
Σ n-3	8.31	2.37	1.17	11.90	2.57	3.87	8.91	18.92	25.91	3.15
Σ n-6	9.30	10.96	12.50	8.85	15.51	14.40	9.39	6.82	5.60	7.46
Σ n-9	30.89	22.71	23.46	23.84	31.45	37.53	39.57	33.76	29.73	30.24
Σ n-3HUFA	2.50	1.27	1.17	5.37	1.33	1.78	4.63	13.32	17.87	2.21
20:3n-9/ 22:6n-3	0.08	0.31	3.22	0.08	0.19	0.29	0.02	0.01	0.00	0.11
18:1n-9/ 20:n-3	12.49	17.62	17.83	6.04	23.50	20.71	8.53	2.53	1.72	13.77

第5表 筋肉における脂肪酸組成

	試験前	1 区 ココナツオイル	2 区 リノール酸	3 区 リノレン酸	4 区 オレイン5%	5 区 オレイン10%	6 区 イカ肝油5%	7 区 イカ肝油10%	8 区 イカ肝油20%	9 区 クロレラオイル
10:0		0.13	0.46	0.28	0.02					0.02
12:0	1.95	5.15	6.31	9.00	6.56	1.71	0.06	0.21	0.07	7.44
14:0	4.87	9.91	11.14	13.29	11.91	5.08	2.50	2.43	2.48	14.92
15:0	0.58				0.09	0.53	0.45	0.27	0.42	
16:0	20.76	14.87	14.97	14.12	16.23	14.14	21.43	17.96	16.11	21.04
16:1	5.38	9.62	3.54	5.02	7.90	7.55	7.99	7.04	7.40	9.19
16:2	0.43	2.79			0.66	1.01	0.57	0.63	0.78	0.28
18:0	6.52	4.08	4.09	2.54	2.64	2.75	3.42	3.08	2.59	3.63
18:1n-9	23.52	20.39	13.39	16.38	31.13	37.06	28.49	25.26	23.10	19.97
18:2n-6	7.76	9.25	17.50	8.67	10.60	11.44	5.34	3.82	3.37	5.54
18:3n-3	1.91	1.42		10.81	0.98	1.54	3.66	4.61	6.21	0.91
18:4n-3	0.48	1.32	0.64	5.20	0.72	1.13	0.76	0.83	1.39	0.32
20:0	1.18	2.12	12.04	2.38	2.04	2.38	0.68	0.51	0.55	1.47
20:3n-9	0.48	0.85	3.05	0.48	0.37	0.85	0.07	0.13	0.11	0.23
20:4n-6	0.15			1.35	0.46	0.52				
20:5n-3	2.04	1.11	0.23	0.78			2.37	3.01	3.90	1.66
22:0		1.83			0.66	0.71	0.08			
22:1	2.36	1.67	2.27	1.11	0.71	1.63	2.54	4.07	4.42	1.22
22:5n-6	1.64	0.48		0.71	0.16	0.56	0.84	1.83	1.89	0.97
22:6n-3	15.98	12.06	5.78	7.74	5.20	7.91	18.24	22.65	25.32	10.80
24:1	0.99	2.03	4.19	0.03	0.64	0.86	0.27	0.83	0.77	0.43
Σ n-3	20.08	14.58	6.01	20.68	6.64	9.97	24.27	30.28	35.44	13.37
Σ n-6	9.40	9.72	17.50	9.38	10.76	12.00	6.18	5.64	5.27	6.51
Σ n-9	23.99	21.25	16.44	16.86	31.50	37.91	28.56	25.39	21.21	20.21
Σ n-3HUFA	18.17	13.17	6.01	9.86	5.66	8.43	20.61	25.67	29.23	12.46



第3図 肝臓におけるDHAの増減



第4図 筋肉におけるDHAの増減

n-3高度不飽和脂肪酸として、約1.5%である。10%以上の添加は、むしろ成長や生残に悪影響を及ぼし、20%の添加では、脊椎湾曲魚が多く発現した。

6) 魚体の脂肪酸分析結果から、ペヘレイはリノレン酸(18:3n-3)からエイコサペンタエン酸(20:5n-3)を経てドコサヘキサエン酸(22:6n-3)を合成することができることが判明した。しかし、その能力はあまり高くないものと推定されるので、ペヘレイの飼料中にはn-3高度不飽和脂肪酸の添加が必要である。

文 献

- 1) 勝呂尚之・石橋秀之・工藤盛徳 (1992):ペヘレイ必須脂肪酸の解明-I, 神奈川県淡水魚増殖試験場報告28, 15~21.
- 2) 戸井田伸一 (1990):ペヘレイ健苗量産技術開発試験, ペヘレイ飼料への油脂添加がペヘレイの成長・活力に及ぼす影響, 神奈川県淡水魚増殖試験場報告26, 28~34.
- 3) 竹内俊郎・渡邊教美・雍文岳・渡邊武(1991):ソウギョの必須脂肪酸, 日本水産学会誌57(3), 467~474.
- 4) 石崎博美 (1979):ペヘレイにみられた骨格異常について, 神奈川県淡水魚増殖試験場報告15, 27~30.
- 5) 鹿山光 (1964):魚類の脂肪酸代謝(昭和39年度日本水産学会春季大会シンポジウム記録), 日本水産学会誌30(8), 647~659.
- 6) 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(9), 571~580.
- 7) 米康夫 (1978):養魚と飼料脂質, 水産学シリーズNo.22, 恒星社厚生閣, 43~59.