

カタクチイワシ投与によるハマチの 餌料性疾患について (予報)

大橋 徹・藤田真吾

On the Disease of Cultured Amber Fish Fed on
Anchovy (preliminary report)

Tooru OOHASHI* and Shingo FUJITA*

カタクチイワシ *Engraulis japonica* の連続投餌によるハマチ *Seriola quinqueradiata* の餌料性疾患及びそれに続く大量斃死は従来から注目され、多くの報告が出されている¹⁻⁴⁾ それにもかかわらず、カタクチイワシが安価な多獲魚であるためハマチ餌料としての中心をなしている。

一方、その斃死原因として石原等^{3,4)}はサイアミナーゼを指摘し、岡¹⁾、阿井等²⁾は過酸化物の毒性を指摘している。これら原因物質の究明もさることながら、カタクチイワシ単独投餌によるハマチの生理的変動及び障害臓器を把握することは魚病診断上意義のあることと考えられる。

そこで著者等はカタクチイワシでハマチを飼育し、症状、血清成分、血液性状、血球組成、組織像及び肝臓中のV、B、の変化について検討を加え、若干の知見を得たので報告する。

報告に先立ち、種苗及び餌料の入手に種々御協力を賜った京都府漁連蕃養場並びに栗田漁業協同組合の方々に感謝の意を表する。

実 験 方 法

供試魚 昭和52年8月11日に平均体重62g、体長16.3cmの地元産ブリ稚魚(釣リツバス)500尾を購入し、小割網いけす(4×4×5m)に收容して餌付け及び予備飼育を行った。餌付段階の斃死魚に類結節症を認めたので、イカナゴミンチにV、E剤とテトラサイクリン系薬剤を混合して6日間投与し、斃死が止まって4日目の8月20日に100尾を選別し、実験区とした。以後、実験終了に至るまで類結節症の症状は見られず、原因菌も検出されなかった。

飼育方法及び試験区 対照区は300尾、実験区は100尾のハマチを用いて60日間(8月20日より)の飼育試験を行なった。対照区の餌料はイカナゴ・サバ・カタクチイワシ・オオナゴ・サンマを交互に用い、飽食の8割を目標に投餌した。実験区は飽食の8~10割を目標にカタクチイワシ丸餌を単独に用いたが、他の小割いけすで軽微の類結節症の発生が見られた時点から3日間はテトラサイクリン系薬剤を投与するためミンチを用いた。投餌は毎日行なっ

* Kyoto Institute of Oceanic and Fishery Science, Miyazu,
Kyoto, Japan

たが、採血の前日は摂餌の影響を除くため休餌した。

餌料魚の分析 投餌直前の餌料魚を -20°C で凍結保存し測定に供した。餌料魚の採取日は図1に示した。測定方法は、過酸化価 (POV) : Lea の方法⁵⁾ チオバルビツール酸値 (TBA) : 水蒸気蒸留による方法⁶⁾ トリメチルアミン量 (TMA) : Dyer 法の改良法⁷⁾、ヒスタミン量 (Hm) : イオン交換樹脂による方法⁸⁾、サイアミナーゼ活性 : 酵素液の調整及び活性測定法は石原等の方法⁹⁾ 残存 V. B₁ の測定はチオクロムケイ光法¹⁰⁾ によって行ない、水分量と油量の測定は常法に従った。

形態の測定 採血後の魚体について、外観及び解剖処見で観察した後、内臓・肝臓及び脾臓重量を測定し、体重に対する重量比 (臓器重量 $\times 100$ / 体重) を求めた。

なお、18尾の死魚、衰弱魚及び発症魚の腎臓について、主して3%食塩加普通寒天培地を用いて細菌検出を試みた。また、一部の被検魚の肝臓及び腎臓を10%ホルマリンで固定、保存し、パラフィン切片・HE染色により組織像を観察した。

血液性状及び血球組成 キューピエ氏管から採血した血液について血液性状を測定した。ヘマトクリット値 (Ht) は久保田のヘマトクリット兼用遠心器 (11000 rpm. 10分)、血色素量 (Hb) はアメリカン・オプティカル社のスペンサーHbメーターを用いて測定した。赤血球数 (RBC) はトーマの算定盤を用いて常法により計数した。血清蛋白量 (TP) は尾柄切断により採取した血液の血清を用い、アタゴの屈折計を使用して測定した。また、塗抹標本 (May-Giemas 染色) を作成して未熟赤血球 (%)、白血球数 (Cells/ 10^4 RBC) を求め、白血球を好中顆粒球・単球・リンパ球・その他に分類してその編組率を求めた。

血液化学成分の分析 図2に示したように実験期間中、5回の採血を行なった。1% MS-222 水溶液をエラに噴霧し、尾柄切断により採血し、室温に2時間放置後、血清を分離し測定に供した。

定量は Ca · Chol · TG · ALP · LDH · GOT · GPT (国際試薬KK)、Pi · LAP (ヤトロン) の市販キットを用いて行なった。

肝臓中の V. B₁ 及び水分量の測定 魚体測定及び採血に用いた魚体から検体の肝臓を採取し、 -20°C で凍結したサンプルを測定に供した。V. B₁ の測定はチオクロムケイ光法¹⁰⁾ により、水分量の測定は常法に従った。

実 験 結 果

餌料魚の品質 餌料魚の油量・TMA量・Hm量・TBA値・POV値は表1に示した。

表1 カタクチ実験区の餌料品質

	水分量 (%)	油量 (mg/gdry)	POV 値 (mg当量/油kg)	TBA 値 (mg/kgwet)	TMA 量 ($\mu\text{g/gdry}$)	ヒスタミン量 ($\mu\text{g/gdry}$)	サイアミナーゼ活性 (分解された V. B ₁ $\mu\text{g/g.dry.min}$)
対照区	68.0 ~ 77.0	64.4 ~ 860.1	275.1 ~ 779.1	16.2 ~ 65.3	68.8 ~ 198.1	45.5 ~ 595.2	
実験区	74.0 ~ 78.0	4.0 ~ 66.9	188.6 ~ 508.4	1.9 ~ 21.3	56.3 ~ 129.2	224.0 ~ 489.9	67.9 ~ 234.1

実験区餌料の油酸化の程度は 188.6~504.4 mg当量/油Kg (POV値)、1.9~21.3 mg/Kg wet (TBA値) であるが、油量は非常に少かった。従って、過酸化物質を生餌1Kg当りに換算すると、対照区では150.5 mg当量/Kg wet (平均) であるのに対して、実験区は16.2 mg当量/Kg wet (平均) と少く、約1/10であった。また、TMA量は56.3~129.2 μg/gdry、Hm量は224.0~489.9 μg/gdry であり、全体的に鮮度のよい餌料とは云えないが、対照区よりは良かった。実験区における餌料魚のサイ

アミナーゼ活性は57.9~234.1 分解されたV.B₁ μg/g.dry.min であった。

一方、対照区におけるカタクチイワシ、サンマのサイアミナーゼ活性は32.1~306.4 (分解されたV.B₁ μg/g.dry.min)・539.0 (分解されたV.B₁ μg/g.dry.min) であったが、石原等^{3,11)}が報告しているV.B₁ 欠乏の影響が出る程の連続投餌は行なわなかった。

飼育経過 摂餌率の経過は図1に示した。カタクチイワシ投餌区は実験開始から30日目まで20%内外の摂餌率を示した。35日目頃から摂餌しにくくなり、40日目で急激な摂餌の低下が生じた。従って隔日の投餌を行なったが、摂餌率は更に低下し2%になった。対照区は10%内外の摂餌率であった。

斃死率は 過を図2に示した。40日目から斃死が始り、55日目までは徐々

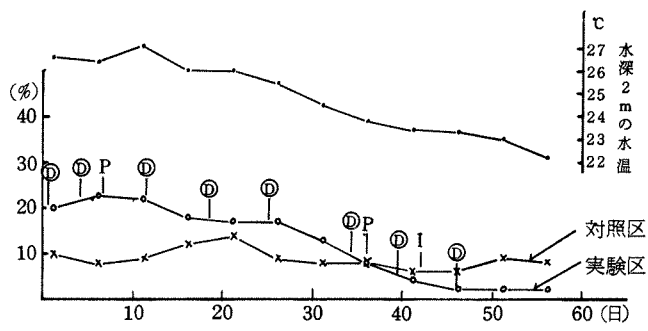


図1 カタクチ連続投与試験区の摂餌率と水温の経過
 ○ 集計は5日毎に行った(8月20日~10月20日)
 ○ P: テトラサイクリン系薬剤投与開始日
 ○ I: 一日毎の投餌開始
 ○ ①: 餌料の検査

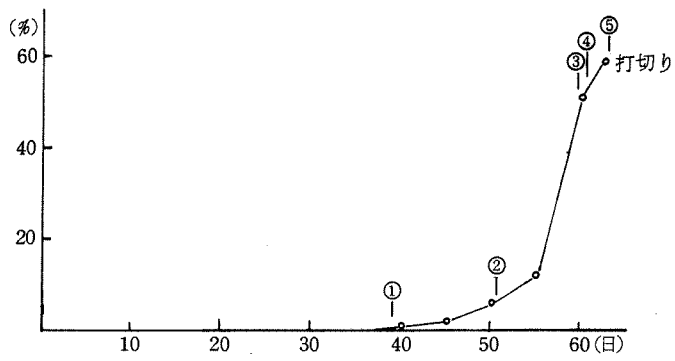


図2 カタクチ連続投与試験区の累積斃死率 (当初の尾数に対して)
 ○ 集計は4日毎に行った(8月20~10月20日)
 ○ ①~⑤: 取上げ日を示す(肝臓サンプルも同時採取)

に斃死が増加した。55日目から60日目にかけて急激な斃死率の増加が認められた。対照区には全く斃死が見られなかった。

肉眼処見 摂餌低下に続いて、無力な水面での遊泳、無方向の旋回がみられた。体側の後半から尾柄にかけて強い出血を示し、斃死魚ではその部分が脱鱗・びらんし、脊ヒレと腹ヒレ、きに尾ヒレにも強い出血がみられた。エラ蓋裏面の充血、消化管全体及び幽門垂の充血が激しい場合も多かった。肝臓は小さく、色調の変化は著しくないが、充血またはうっ血した像が多かった。腎臓は、とくに実験の後半において色調に変化が見られ、やゝ腫張し白濁するものが多く、一部には白点や灰褐色の粟粒状を呈する場合もあった。

細菌検出及び組織像 細菌検出を試みた18尾のうち、死魚2尾、衰弱魚1尾から細菌が発育したが、他は全く検出されなかった。とくに白点を認めた腎臓については BHI 培地、小川培地等も使用したが、細菌は検出されなかった。

組織像は10月13日の実験魚数尾のみについて観察したもので、検体数が少く、病理組織学的な観察も不十分ではあるが、その処見は以下のとおりであった。

肝臓の血管内に多量の血球のうっ滞が見られ、洞様血管が拡張している。肝細胞自体は特別な変化は認められず、柵状構造もよく保存されているが、脂肪滴(空胞)をほとんど含まず、全体に小さい感じを受ける。肝臓に較べて腎臓の変化は著しく、細尿管・集合管上皮の崩壊脱落が各所に認められる。また、その内腔にコロイド滴状または無構造の物質がエオジンに弱く染まって認められる。ボウマンのうはよく保存されている部分もあるが、糸球体の萎縮・崩壊像も認められる。間質はやゝ粗である。さらに特徴的な像として、腎実質及び間質を大きく包み込む繊維状構造が見られ、その小型のものは類結節症の病魚に見られる構造に似る。しかし細菌集落らしい像は認められない。大型のものでは、中心部は無構造または繊維状と化している。

平均値の比較 実験開始から30日目以降(9月21日~10月18日)の試験区と9月21

表2 実験結果

項目	対 照 区			実 験 区			差 の 有意性
	検体数	平均値	標準偏差	検体数	平均値	標準偏差	
Ca mg/dl	19	15.9	1.2	31	16.8	2.5	NS
Pi mg/dl	19	12.2	4.4	31	13.7	4.0	NS
Chol mg/dl	19	451.7	60.1	31	265.3	118.2	S
TG mg/dl	19	300.6	143.9	31	161.3	103.6	S
ALP K-A unit	19	2.5	0.6	31	2.5	1.0	NS
LAP G-R unit/ml	19	209.6	45.4	31	135.5	42.5	S
LDH W unit/ml	19	3930	1220	31	2669	1061	S
GOT K unit/ml	19	371	80.7	31	324.7	83.2	NS
GPT K unit/ml	19	22.8	4.8	31	31.1	6.5	S
PTP g/dl	17	5.07	0.39	32	3.74	1.27	S
Fatness	17	15.59	0.83	34	13.70	1.08	S
VW %	17	5.324	0.531	34	4.331	0.500	S

項 目	対 照 区			実 験 区			差 の 有意性
	検体数	平均値	標準偏差	検体数	平均値	標準偏差	
LW %	17	1.249	0.340	34	0.907	0.237	S
SW %	17	2.067	1.034	34	1.730	0.748	NS
Ht	17	46.53	2.81	32	41.28	6.27	S
Hb	17	11.94	0.46	32	10.61	1.76	S
RBC	17	514.2	33.88	32	456.1	63.9	S
MCV	17	90.823	7.882	32	90.639	7.919	NS
MCH	17	23.283	1.707	32	23.246	2.209	NS
MCHC	17	25.702	1.187	32	25.664	1.393	NS
L-index	17	0.196	0.060	34	0.124	0.031	S
肝臓中の水分 %	3	64.03	0.91	5	74.06	4.76	S
〃 V.B ₁ $\mu\text{g/gwet}$	3	2.84	0.86	5	0.99	0.32	S

危険率5%で平均値に有意差を認める(S)。認めない(NS)。

日から10月20日までの対照区とて、各測定項目のそれぞれの平均値を比較した(表2)。

肥満度・内臓重量比・肝臓重量比は有意に(危険0.1%)低く、脾臓重量比には差を認めなかった。Ht・Hb・RBC(1%)、TP(0.1%)は有意に低く、MCH・MCV・MCHCには差が認められなかった。即ち、正球性正色素性貧血と判断された。

未熟赤血球はほとんど消失し、白血球の組成ではリンパ球が非常に少く、単球及びその他の血球が有意に高率を占めた。その他の血球は必ずしも容観的な基準に基くものでなく、異常な単球や好中球、ヒトの骨髓球¹²⁾に類似したもの等を含み、対照区では通常見られない血球の総称である。

血清中の各成分中、Chol・TG・LAP・LDH・GPTは危険率0.1%で有意差が認められた。マイワシの場合¹³⁾と異りCaには有意差が認められなかった。対照区に較べてGPTは増加したが、Chol・TG・LAP・LDHは減少した。

TP・Chol.の減少はマイワシ¹³⁾カタクチワシ⁴⁾サンマ¹¹⁾の単独投餌で報告されている。TGの減少はカタクチワシ⁴⁾サンマ¹¹⁾の報告と一致するが、マイワシ¹³⁾では報告されていない。LAP・LDHの減少とGPTの増加はマイワシの報告¹³⁾と一致する。

肝臓中の含水率は増加しV.B₁含量は極度に減少した。

本実験において特徴的に認められた外観症状及び解剖処見と血液性状・血球組成・血清成分との関連を検討した結果、体表の出血とリンパ球の減少には関連が認められたが、ほとんどの項目間で強い関連は認められなかった。

経過 対照区(9月21日～10月20日)の平均値を1とし、実験区における各回の平均値の比率を求めた(図3)。サンプルの取り上げ方に問題があり十分なデータは得られなかったので、それぞれの傾向を記載する。

肥満度(図3-1)とTP(図3-7)、内臓重量比と肝臓重量比(図3-2)、Ht(図3

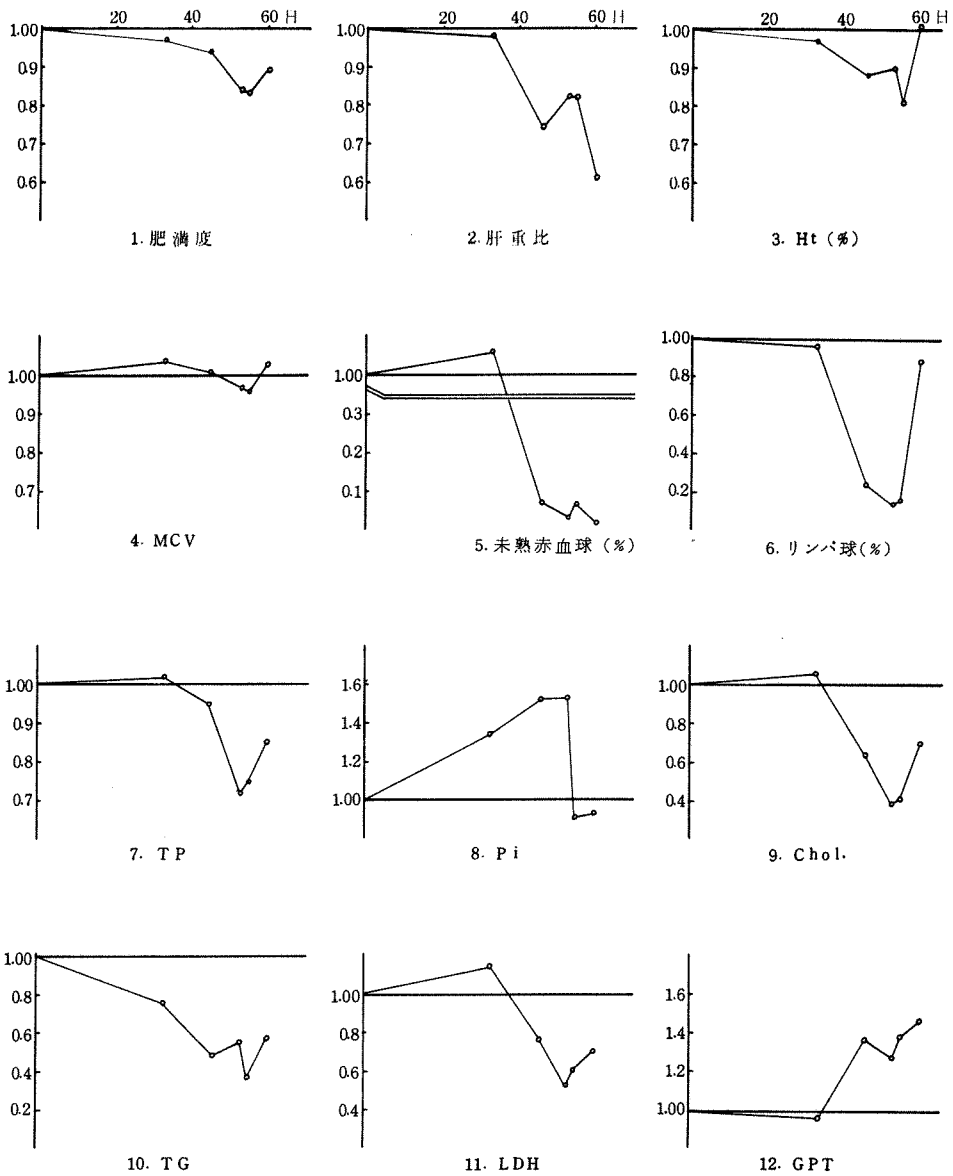


図3 カタクチイワシ連続投餌による経過
 対照区の値を1.0とした時の実験区の比率で示した。
 (実験区の値/対照区の値)

3)・Hb・RBC がそれぞれ類似の経過をたどった。未熟赤血球(%) (図3-5)は33日目には対照と差がなく、その後急激に低下した。その他の血球(%)は33日目までは対照区と変わらずほとんど出現しなかったが、46日目には異常に増加した。リンパ球(%) (図3-6)はこれとほぼ反対の傾向を示したが、60日目にはむしろ対照魚の値に近くなった。TG (図3-10)・LAPは漸次減少し、55日目には対照区のほぼ1/2にまで減少した。Chol (図3-9)・LDH (図3-11)・TP (図3-7)は33日目では対照区と差がむく、その後急激に減少した。GPT (図3-12)の増加はマイワシ¹³⁾に較べて時期も遅く、増加の割合も軽微であった。平均値に有意差の認められなかったPi (図3-8)の初期における増加の傾向と後半での減少は著しく、46~53日目では1.5倍にまで増加し、55日目以降はほぼ対照区のレベルにまで減少した。Ca・ALP・GOTには顕著な傾向は認められなかった。

考 察

肥満度・肝臓重量比・TP・Cholの低下は、実験区が低栄養状態であることを示している。また、実験区は群集としては明らかに貧血を起している。ただ実験区の血液性状はばらつきが大きく、極端に低い個体が含まれているためであって、 $\bar{X} + SD$ の値は対照区とそれほど異ならない。カタクチワシの連続投餌によって摂餌が低下し、斃死が盛んな時期でもTPは減少するが、Ht・Hbに有意差を認めない報告¹⁶⁾もある。一方、貧血が進行すると報告されている例^{2,17,18)}も多い。被検魚の抽出方法によって結果が異なるかも知れないが、カタクチワシ投餌による症状の発現時期に大きな個体差があるためであろう。しかし、未熟赤血球の減少と後述するような腎臓機能低下から、貧血に片寄らない個体も腎臓障害によって造血能が低下していることは充分考えられる。

異常な白血球細胞の増加を伴うリンパ球の減少も個体差が大きい。ヒトでは強い衰弱や末期的な症状でリンパ球の減少が見られるという¹⁹⁾体表の出血が著しい個体でリンパ球の減少が著しいことから、この変化は末期的な病魚に共通の像なのかも知れない。マイワシ連続投餌による重症魚¹³⁾も同じ像が見られる。外観及び血液像の末期的な症状はかなり急性に現われ、死に転帰するものと判断される。

摂餌低下に伴うハマチの低栄養状態についてはすでにいくつかの報告があり、カタクチワシの単独投餌の場合と比較した(表3)。表からも明らかなように、単なる摂餌低下(越冬魚・絶食魚)ではChol・TPの低下は生じるが、TGの減少は起らない。マイワシの単独投餌が消化管の赤変に認められる吸収不良を伴っているとは云え、摂餌低下による低栄養状態であるのに対して、カタクチワシの単独投餌では、TP・Chol・TGの著しい減少、消化管の赤変あるいは肝臓中の脂肪滴の消失が認められ、腸管からの脂肪吸収不良及び肝臓での脂質合成能の低下が考えられる。即ち、本実験におけるハマチの生理状態は脂質代謝異常を伴った極度の低栄養状態であると推察された。また、40日目以降に生じる急激な摂餌の低下は低栄養状態を促進したと考えられる。なお、採血に際して、前日は無投餌であったので、TGの減少は内因性TGの減少を現わしていると考えられる。従って、早い時期(30日目)の内因性TG

表 3 いくつかの低栄養状態のパターン

	Chol	TP	TG	消化管	肝臓中の脂肪滴
カタクチイワシ単独投餌魚	減少		初期から減少し続ける	赤化	無
越冬魚（文献14）	減少		増加の傾向	正常	
絶食魚（文献15）	減少		初期に軽微の減少その後は増加	—	
マイワシ単独投餌魚（文献13）	減少		若干増加の傾向が認められる	赤化	有

の減少は、摂餌低下に伴う外因性 TG の補給不足よりも先に、まず脂質合成能の低下が起ることを示しており、カタクチイワシの単独投餌において生じる特徴的な症状である。

GPT はわずかに上昇したが、経過でも見られたように、マイワシの場合¹³⁾よりも増加の割合は低く、GOT の増加も認められない。その上、肝臓にも著変は認められず、肝臓機能の障害はあっても軽微であると考えられる。しかし、肝臓自体は小さくなっており（図3-2）、肝臓の含水率も増加しているため、肝臓実質部の減少が推察される。LAP・LDHの減少する理由は不明であるが、斃死の盛んな時期に、特に減少する経過から推察すると活力の低下を示しているのかもしれない。初期における Pi の急激な増加及び細尿管、集合管上皮の崩壊脱落は腎臓機能障害を暗示している。一方、後半における Pi の回復はサンプリングの問題もあるが、摂餌低下による餌止めの影響であるのかもしれない。

以上述べたようにカタクチイワシを単独に長期間投餌すると、ハマチは極度の低栄養状態を現出し、その上に腎臓機能障害や正球性正色素性貧血が合併した、非常に弱った生理状態になることが認められた。こういった生理状態のときに V・B₁ 欠乏症や過酸化物の毒性等といった障害により斃死した可能性が高いと考えられる。

摘 要

1. カタクチイワシ単独投餌による生理的変動を検討した。
2. 正球性正色素性貧血を生じた。
3. 重度の低栄養状態であった。
4. 腎臓機能障害が認められた。
5. 肝臓中の V・B₁ 含量の減少と含水率の増加が認められた。

文 献

- 1) 岡 正雄：養殖ハマチの食餌性疾病に関する研究，魚病研究，1（2），1-19（1967）。
- 2) 阿井敬雄・松原荘六郎・阿部勲雄：カタクチイワシ投与によるハマチの栄養性疾患につ

- いて、静岡水試研報，4，67-87（1971）。
- 3) 石原 忠・保田正人・柏木 哲・八木基明：海産魚のチアミナーゼIの研究-V，日水誌，40（7），675-682（1974）。
 - 4) 石原 忠・保田正人・柏木 哲・秋山むつ子：八木基明：海産魚のチアミナーゼIの研究-IV，日水誌，40，(8)，775-781（1974）。
 - 5) H. L. A. TARR: Control of Rancidity in Fish Flesh, J. Fish. Res. Bd. Can., 7 (3), 137-153 (1947)。
 - 6) B. G. TARLADGIS, B. M. WATTS and M. T. YOUNATHAN: A. Distillation Method for the Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods., The Journal of the American Oil Chemists Society, 37, 44-48 (1960)。
 - 7) 橋本芳郎・岡市友利：トリメチルアミン及びトリメチルアミンオキシドの定量法について、日水誌，23（5），267-272（1957）。
 - 8) 河端俊次・内田大・赤野多恵子：イオン交換樹脂（Amberlite CG-50）によるスタミンの簡易定量法，日水誌，26（12），1183-1191（1960）。
 - 9) 石原忠・保田正人・諸岡等：海産魚チアミナーゼIの研究-I，日水誌，38（11），1281-1288（1972）。
 - 10) 東大農学部農芸化学教室：実験農芸化学（上）第2版，朝倉書店，東京，1971，PP. 142-144，
 - 11) 石原忠，原研治，中山英則，保田正人：海産魚のチアミナーゼEの研究-VII，日水誌，44（6），653-657（1978）。
 - 12) 小宮正文：図説血球の見分，第7版，南山堂，東京，1977，p 98-99。
 - 13) 藤田真吾，大橋徹：マイワシ投与による養殖ハマチの疾患について（予報），本誌，2，（1978）。
 - 14) 大橋徹，藤田真吾：養殖ハマチの血液学的研究-I，本誌2
 - 15) 坂口宏海：絶食時におけるハマチの血液、肝すい臓の化学成分などの変化について、日水誌，42（11），1267-1272（1976）。
 - 16) K. NARBA, H. NABGAWA, S. MURACHI, M. KAYAMA, and T. Nakamura : Blood Properties of Cultured Yellow Tail, *Seriola Quinqueradiata* TEMMINCK and SCHLEGEL, J. Fac. Fish Anim. Hush., Hiroshima Univ., 12, 89-99 (1973)。
 - 17) 松崎幸夫・松森茂・菅昭人：ハマチ餌料に関する研究-III，山口外海水試研報，11（1），35-41（1969）。
 - 18) 藤井修生・水津洋志・松崎幸夫・松星寿彦：カタクチイワシ毒性に対する各種薬剤投与効果について、山口外海水試研報，12（4），34-62（1977）。
 - 19) 清水 行：血液病・代謝異常，病態栄養学双書．6．第2版，第一出版，東京，1974，pp. 111-112，