コイに対する B₁₂ 及び抗菌性物質の効果

橋 本 芳 郎

(東大農学部)

Effect of Antibiotics and Vitamin B₁₂ Supplement

on Carp Growth

Yoshiro HASHIMOTO

In the first experiment, the young carps (four weeks old) were fed on the all vegetable ration (Table 1) and, in the second experiment, the one-age carps on the soybean meal protein and the silkworm pupa protein diets (Table 3). These basal diets were supplemented respectively with vitamin B₁₂ and antibiotics (Table 2 and 4).

The results obtained may be summarized as follows:

- 1) No growth response was observed on the carps fed vitamin B₁₂, and the carps fed no vitamin B₁₂ supplement contained an ordinary level of the vitamin in their bodies. The fact may indicate that carps are able to supply vitamin B₁₂ for themselves, perhaps by the aid of intestinal micro-organisms.
- 2) Antibiotics tested, both alone and together with vitamin B₁₂, showed no remarkable growth stimulation for carps, differing from the case of chicks and other domestic animals.
- 3) It was revealed that the quite another APF factor differing from vitamin B₁₂ seems to be necessary for carps.

最近鶏、豚等で B₁₂ 及び各種抗菌性物質 Aureo-mycin, Penicillin, Streptomycin, Terramycin 等の投与が著しい生長促進効果を示すことが発見され、既に畜産界では実用化されている。即、抗菌性物質製造残渣は生産された B₁₂ と残留した抗菌性物質を含み、これを飼料に添加すれば家畜の生長促進、疾病予防等に効果があるので、種々の商品名で販売されている。抗菌性物質の作用機構に関しては、未だ確定的なものはないが、腸内細菌に及ぼす影響（例えば悪性細菌の抑制）によるものと考えられている。²⁾

B₁₂ 及び抗菌性物質が魚類に対しても有効かどうかは養魚上重要な問題と思はれるが未だ報告されたものを見ないのでこの研究を企てた。然し、魚には肉食、雑食、草食性のものがあり、畜産物同様種類によつて著しく食性が異なり、恐らく種特有のものと思はれる。例えば鶏は飼料中に B₁₂ を必要とするのに対し、牛は胃に共棲する放線菌によつて B₁₂ を自給している事等はその適例で、B₁₂ 或いは抗菌性物質の効果を魚類一般として論ずことは勿論不可能で、各魚種に就て検討することが必要である。我々は実験上の便宜と産業上の意味を考慮して、最も代表的な養殖魚であるコイに就て試験を行つた。

2 回の試験中、第 1 回目は孵化後約 4 週間目の稚魚を用い、出来るだけ厳密な条件のもとでコイが B₁₂ を必要とするか否か、又抗菌性物質が成長促進効果を有するか否かを試験した。第 2 回は前回の追試をかね、2 才魚を用いて産業的な規模に近く試験を行つた。

両回の試験により、コイに対しては B₁₂ の添加は無益であり、コイが B₁₂ を自給し得ること及び産業的には抗菌性物質の投与が殆ど効果のないことが判つたが以下その詳細を報告する。

第 1 回 試 験

使用魚、期間及び飼育法

東京都水試水元分場で昭和 27 年 5 月 5 日前後孵化した稚コイ 500 匹中より 110 匹選別使用した。同様に抽出した 20 匹の全長 1.9 ± 0.14 cm, 体重 69.5 ± 18.3 mg. この稚魚は天然餌料（ミジンコ）期を過ぎ約 1 週間サナギ 3, 小麦 7 で餌付けしたものである。

6 月 2 日より 8 日間を予備期間とし、後に述べる基本餌料で飼育し、6 月 11 日より試料を加え 8 月 10 日迄 60 日間飼育、10 日目毎に一群の総体重を測定した。

飼育には円形のガラス鉢（ 30×15 cm.）を用い、これに 5 L の水を入れた。各群 2 個の水槽を用意し、毎日交代に使用した。即、投餌後魚を取揚げ前日から用意した新しい水槽へ移す。実験室内で飼育したが、通風、採光等が可及的均一になる様に毎日水槽の位置を変え、水槽には昆虫、塵埃が入らない様に綿布で覆を施した。水は水道を用いたが浮游物其他を除くため、松江氏の方法³⁾に準じ木炭、砂等を用いた濾過槽を通して 1 夜放置して用いた。

基本餌料

組成及び分析結果は第 1 表に示す通りである。黄色トーマロコシ及び脱脂大豆は乾燥後ボール・ミルで粉

Table 1. Basal diet* in the first experiment.

Soybean oil meal	70	Moisture	8.8
Yellow corn meal	20	Crude fat	7.3
Soybean oil	6	Crude protein	36.5
Salts	4	Crude ash	6.5
(McCollum and Simmons No. 115)		Carbohydrate	40.9
		(by difference)	

1. Vitamins supplemented per kilogram diet: vitamin A 5000 I.U., vitamin D₃ 2500 I.U., α -tocopherol 3 mg., thiamine hydrochloride 3 mg., riboflavin 5 mg., Ca pantothenate 30 mg., niacin 30 mg., pyridoxine hydrochloride 5 mg., biotin 0.3 mg., choline chloride 2 g., p-aminobenzoic acid 50 mg., folic acid 10 mg., methionine 0.3 mg., inositol 1 g.
2. 10 % fresh clover was added.

* B₁₂ 0.0 r %.

砕し 40 メッシュ以上の微粉とした。

マスに就てはかなりよく研究されているが⁴⁾、コイに対しては果してどのような餌料特にビタミン類が適当かは尙吟味の余地があると思われる。コイに対するビタミン類の要、不要及び必要量等に関しては僅かの研究⁵⁾しかないので、一応 Oleson⁶⁾の幼鶏に対する処方⁶⁾に準じた。次に在来⁷⁾に従えばこゝに用いた基本餌料はその成分の点では決してコイにとつて不適当なものではない。然し植物性餌料は動物性餌料に著しく劣る⁷⁾ので、実際にはこのような組成の餌は用いられない。

添加ビタミン中脂溶性のものは大豆油にとかし、他は水溶液とし、一定量を試料に添加した。

投餌方法

基本餌料に 3 倍量の水を加え約 30 分湯煎上で加熱、放冷後大豆油を加え水で基本餌料の 3 倍量に調整、これに予め良く播潰したクローバー、ビタミン類及び試料を加え、良く播つて投与する。これを 1 日 2 時間自由に与える。（投餌時間の制限は夏期高温となり餌に微生物が発生することを防ぐために行つた。）水中で試料の溶解散逸を防ぐため、播餌状態を見ながら 3 ～ 4 回に分けて投与する。尙この際水溶性成分が水中に溶

出する虞れがあるが、赤インクを加えて試験した処、この程度の煉方にすれば溶出は極めて少く夫程心配する必要のないことを確めた。攝餌終了後魚は他の水中で泳がせて洗い、前日から用意してある水槽に移した。

結 果

B₁₂ (武田製薬, フレスミン), Terramycin (Pfizer, Cryst. Terramycin HCl), Aureomycin, Streptomycin (協和醸酵, Dihydrostreptomycin), 牛生肝臓 (市販品) を添加した結果は第2表の通りである。この添加量は鶏, 豚に対する諸氏の研究結果中最適と思われる量に従ったものである。尚死亡したものは殆ど水生菌, 黒点病によるもので瘦細り, 食餌をとらなくなり最後に衰弱死亡した。

Table 2.

Supplement to basal ration		Starting total weight g.	After 60 days			
			Total weight g.	Average body weight g.	Rate of increase	B ₁₂ % of total fish body
None	(control)	0.77(10)*	1.08(8)	0.135±0.078**	100	1.0
B ₁₂	30 r/kg	0.74(10)	1.22(9)	0.136±0.050	107	2.6
B ₁₂	90 r/kg	0.73(10)	0.82(6)	0.137±0.063	110	2.4
Terramycin	50 mg/kg	0.67(10)	1.16(9)	0.127±0.035	103	
Terra. 50 mg/kg+B ₁₂	30 r/kg	0.76(10)	0.88(5)	0.177±0.075	174	
Aureomycin	50 mg/kg	0.72(10)	1.48(9)	0.164±0.065	159	0.8
Aureo. 50 mg/kg+B ₁₂	30 r/kg	0.78(10)	1.34(10)	0.134±0.034	97	1.8
Streptomycin	50 mg/kg	0.80(10)	1.22(8)	0.153±0.056	121	
Strepto. 50 mg/kg+B ₁₂	30 r/kg	0.75(10)	0.95(8)	0.119±0.035	76	
Freshcattle liver***	5 %	0.77(10)	1.52(9)	0.169±0.055	159	
Fresh cattle liver	10 %	0.84(10)	1.74(10)	0.174±0.064	155	2.6

* Numbers in parentheses refer to number of carps.

** Standard deviation *** B₁₂ 10 r %

第 2 回 試 験

第1回目の追試をかねると共に、第2回目には産業的規模に近くした、また前回肝臓が有効と思はれたので、コイのAPFに就ても知見を得る為、今回は植物性餌料群と動物性餌料群を設けた。

使用魚, 期間及び飼育法

淡水区水産研究所上田支所で前年孵化した2才のコイを使用した。平均体重 52.1±10.3 g., 同全長 14.3±1.0 cm., のもので各群 10 尾宛とした。飼育期間は8月14日より8週間で、2週間毎に体重を測定した。飼育には上田支所内の屋外コンクリート流水池 (90×530×75 cm.) を使用し、千曲川から導入した河水で水位を 50 cm. 前後に保つよう調節した。

基本飼料

組成及び成分は第3表の通りである。ここにあげた動物性餌料 (B) は実際養鯉に用いられ最も理想的と在来考えられ実用されている餌料に極めて近いものである。B complex は米糠で補うよう配慮し前回同様 10 % のクローバーを与えた。

投餌方法

前回と略同様に調餌したが、前回3倍量に水を加えて調製したのに対し、今回は2倍量とした。1日の投餌量は基本餌料として魚体重の約 10 % とし、之を4~5回に分け魚の攝餌状態をよく観察しながら充分投

Table 3. Basal diets in the second experiment.

Basal diet A; soybean oil meal 60, yellow corn meal 20, rice-bran 10, soybean oil 6, salts 4. (moisture 11.6, crude fat 8.4, crude protein 30.8, crude ash 6.5, carbohydrate 42.7)

Basal diet B; defatted silk-worm pupa meal* 60, wheat meal 20, rice-bran 10, soybean oil 6, salts 4. (moisture 9.2, crude fat 17.9, crude protein 40.4, crude ash 4.9, carbohydrate 27.6)

1. Vitamins supplemented per kilogram diet: vitamin A 5000 I.U., vitamin D₃ 2500 I.U.

2. 10 % fresh clover was added.

* B₁₂ 0.1 r %.

餌した。餌を底え落とす泥を食う恐れがあるので金網にのせ底から 10~15 cm. の処で与え、食残しの餌は夕刻除去した。

結果

使用 B₁₂, Aureomycin, Terramycin は前回と同じものである。vitafeeds は日本科学飼料研究所製のもので 1 g. 中 3 mg. の Streptomycin を含み家畜に対しては 0.5 % の添加量で充分効果があるとされている。

得た結果は第 4 表の通りである。

Table 4.

Basal diet	Supplement to basal ration	Starting total weight g.	After 8 weeks			
			Total weight g.	Average body weight g.	Rate of increase	B ₁₂ r % of intestine
A	None (control)	530(10)	885(10)	88.5±21.7	100	1.0
	B ₁₂ 90r/kg	520(10)	746(8)	93.3±17.1	116	2.6
	Aureomycin 50 mg/kg	525(10)	817(9)	90.8±19.7	108	
	Aureomycin 100 mg/kg	515(10)	843(10)	84.3± 9.6	92	1.7
	Aureo. 50 mg/kg+B ₁₂ 90r/kg	500(10)	870(10)	87.0±22.8	104	
B	None (control)	520(10)	1375(9)	152.8±61.4	100	0.5
	Aureomycin 50 mg/kg	515(10)	1743(10)	174.3±83.1	122	0.7
	Terramycin 50 mg/kg	522(10)	1380(9)	153.3±50.4	100	
	Vitafeeds* 5 g/kg	520(10)	1116(7)	159.4±82.6	107	
	Vitafeeds 15 g/kg	505(10)	1359(8)	169.9±53.5	119	

* A commercial APF supplement prepared from streptomycin fermentation. (streptomycin 3 mg/g)

考 察

特に第 1 回試験では魚の生長に対して種々の制限(水量, 投餌回数, 厩舎な魚体の取扱等)が加つているので天然のものに比べると成長が悪かつた。然しその制限が各群平等に加つたものとして, 第 1 回, 第 2 回の試験を通じて次のことが言えよう。

1) 試験終了時各群各魚体の体重を測定し, それを用いて第 1 回及び第 2 回 A, B 内の各群の差異を検討した処, 危険率 1 % では両回を通じ各群間には何等有意の差が認められず, 危険率 5 % では第 1 回の対照と Aureomycin+B₁₂ 区間, 第 2 回の B₁₂ 90 r/kg 区と B₁₂ 90 r/kg+Aureo. 50 mg/kg 区の間にも有意の

差を認め得た。尙試験開始時はかなりよく魚の大きさを揃えたが試験終了時は一群内で著しい大小を生じ判定を不確実に行っている。この点、この種実験に適したよく選別育種された試験魚を育成することが極めて必要であると痛感された。

2) コイに対する B_{12} の投与は生長の促進に何等の効果も示さず又 B_{12} 無添加群の魚体は通常量の B_{12} 含量を示した。尙第2回試験のA群の対照魚の肝臓(3匹平均)は B_{12} 8.7%を示し、B群のコイ及び市販のものと大差なかつた。これは特に外界からの B_{12} の供給を絶つた第1回試験に於て明らかであるが、コイが B_{12} を自給していることを示している。恐らく腸内微生物の合成によるものであらう。

一方池底の泥に B_{12} が認められること(第2回試験・A・対照群の池の底土0.7%、及び別の実験で不忍池その他の池の泥が0.5~3%の B_{12} を含むという結果を得た。)は、魚が比較的容易に B_{12} を取り得る環境にあることを示している。淡水魚が泥を意識的に食べたと思はれる場合はかなりあるようであるが、この際 B_{12} 以外に泥中の微生物が生産した各種ビタミン類を魚類が攝取していることは容易に想像される。魚に対する泥のもつ意義は再検討する必要がある。

3) コイでは抗菌性物質の本実験の規模に於ける投与は、単独或いは B_{12} との併用双方とも家畜に見られるような効果を示さなかつた。只 Aureomycin だけは1、2回を通じて多少の効果があるようであるが、産業的に採用した方が有利だとは考え難い。尙家畜では抗菌性物質と B_{12} の併用が単独の場合より一般に効果が著しい。第1回試験で Terramycin + B_{12} 群は平均体重は大であるが死亡数多く、稚コイで死ぬものは殆ど全部が瘦細つて死ぬので、死亡数が多いと著しく平均体重が大となる。従つてこの組合せが特に有効であつたとは認め難い。

4) 古くからマスで植物質に全くなく動物質にのみ存在する特殊生長因子が知られ H-factor と命名されている。この因子はコイにも必要であることが古く富山氏⁹⁾ によつて述べられている。この因子は今日の言葉でいえば APF の一種ということになるであらう。鶏等では B_{12} が APF の主要なものであることが判つているが、コイでは既に述べたように恐らく B_{12} を自給しているので、飼料としては B_{12} 以外のものが APF の重要な因子ということになる。第1回試験に於て牛生肝臓の微量添加が、コイの外観、健康、生長に有効であつたこと及び第2回試験に於てサナギを主にした餌料が脱脂大豆を主にしたものより遙に優れた結果を示したことは、H-factor 或いは APF がコイに必要なことを示すようにも見える。但し第2回試験はこの推察のためには多少不適当な実験で、サナギを主にした餌料の方が粗脂肪、粗蛋白とも約10%高いこと、大豆中の Trypsin 阻害因子は投餌前加熱しているので問題ないが、コイに於ける大豆蛋白の消化率が不明であること、及びコイが動物性餌料を好み多少攝餌量が多かつたことなどがある。然し何れにせよ、コイが H-factor を必要とするにしても、この因子は B_{12} 以外のものであることを明かに示し得た。

最後に種々御教示を賜つた森教授、熱心に研究に従事された甲賀・上田両氏並びに施設その他の便を図つて頂いた淡水研上田支所に感謝の意を述べる。

文 献

- 1) 1950 年以降の Proc. Soc. Exp. Biol. Med., Arch. Biochem., Biochem. J., J. Nutrition, Poultry Sci., 等に極めて多数の報告がある。
- 2) J. Cravioto-Munoz et al: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 77, 18 (1951).
R.L. Davis and B.F. Chow: Ibid., 77, 218 (1951).
J.R. Stern and J. McGinnis: Arch. Biochem., 28, 364 (1950).
- 3) 松江・板沢: 採集と飼育 13, 241 (1951).

- 4) N. Karick : U.S. Dept. Interior, Secretary Fish & Wildlife Service. Fishery Leaflet 325 (1948)
A.M. Phillips et al : Fish. Res. Bull. No. 9, 10, 12 (1946~7), Progress. Fish. Culturist,
10, No. 3 (1948).
- 5) 松井・大島 水試報 第6号 (1935).
原・高田 栄研, 2, 509 (1933).
- 6) J.J. oleson et al Arch. Biochem., 29, 334 (1950).
- 7) 古田・花岡・都築 : 水試報 No. 8 (1937).
- 8) 富山 水産学会講演 (昭和 12 年 4 月) (1937).