ハマチのビタミン要求に関する研究—I.

B₆ および C 欠乏症について*

坂口宏海・竹田文弥・丹下勝義

(1969 年 10 月 15 日受理)

Studies on Vitamin Requirements by Yellowtail—I.
Vitamin B₆ and Vitamin C Deficiency Symptoms

Hiromi SAKAGUCHI, Fumiya TAKEDA, and Katsuyoshi TANGE**

Although vitamin requirements by fresh water fish have been studied extensively by many workers, only few works have been reported on marine fishes.

We studied vitamin B₆ or C deficiency syndromes of the yellowtail *Seriola quinqueradiata* TEMMINCK et SCHLEGEL by feeding the fish with diets composed of white fish meal, gluten, glucose, cod liver oil, vitamin-mixture without vitamin B₆ or C, and mineral-mixture.

Both vitamin B₆ and C deficiency symptoms appeared after about 40 days (Fig. 1 and Table 2). Characteristics of B₆ avitaminosis of the yellowtail were anorexia, retarded growth, nervous disorder, high mortality, injury at mouth and rostrum regions, exophthalmia and scoliosis (Table 2 and Figs. 1 and 2). The fish fed with a diet lacking vitamin C showed loss of activity and appetite, retarded growth, change of body color, poor growth of operculum, scoliosis, amputation of snout, and hemorrhage in the laterodorsal region (Table 2 and Figs. 1 and 3).

Fat content in the liver decreased in both B₆ and C deficient fish (Table 3).

Serum protein of the yellowtail was separated into four fractions by electrophoresis on cellulose acetate membrane (Fig. 5). In the serum of the fish fed with vitamin B₆ or C deficient diet fraction I decreased but fractions III and IV increased (Table 4).

近年わが国においてもコイ¹⁾, ニジマス²⁾, ウナギ³⁾など淡水養殖魚のビタミン要求に関する研究が広く行なわれているが、海産魚種に関するものは少なく、最近米ら⁴⁾がマダイのイノシット要求を、佐藤ら⁵⁾がハマチのビオチンおよびビタミンC要求に関する報告をおこなっている程度である。著者らはハマチ *Seriola quinqueradiata* T. et S. のビタミン要求を明らかにするため、まず飼料添加ビタミン混合物から B₆ および C を除いた飼料でハマチ稚魚の飼育を試み、これらビタミン欠乏症の有無を検討した。その結果、ビタミン B₆ および C の欠乏症を認めたので、これらの結果について報告する。

実験方法

供試魚および飼育法 供試魚は 1968 年 7 月 12 日兵庫県家島の養成業者から入手した平均体重 30.4 g のものである。本実験開始前 8 日間、イカナゴおよび後述の対照区の試験飼料で予備飼育を行なった。なおこの期間に淡水により寄生虫の駆除を行なった。本試験開始時の平均体重、体長は各々 43.5 g, 13.2 cm であった。

試験区は対照区 (1 区)、ビタミン B₆ 無添加区 (2 区) およびビタミン C 無添加区 (3 区) の 3 区を設

* 本研究の要旨は昭和 44 年 4 月、日本水産学会年会において発表した。

** 兵庫県立水産試験場 (Fish. Exp. St., Hyogo Pref., Nakasaki-machi, Akashi, Japan)

Table 1. Composition in vitamin mixture.

Vitamin	Composition, mg/100 g diet
Thiamine hydrochloride	3.15
Riboflavin	7.35
Pyridoxine hydrochloride	2.63
Cobalamine	0.011
Niacin	26.27
Ca pantothenate	15.76
PABA	42.03
Folic acid	1.05
Biotin	0.084
Inositol	245.10
Ca ascorbate	299.20
α -Tocopheryl acetate*	210.13
Menadion	0.806
Choline chloride	375.00
V. A, D mixture**	45.00

* 250 IU/g.

** A: 30,000 IU/g, D₃: 6,000 IU/g.

あつたので9月3日(45日目)に各区とも20尾を取上げた。飼育水ははじめは砂濾過水を用い、通気しながら開放式で毎時約5トンの流量としたが、9月以降は施設故障のため昼間は急速濾過機(濾材: ナイロン布)による濾過水を開放式で使用し、夜間は砂濾過水を循環させた。

成長度の測定および採血法 魚体の測定は約10日おきにおきに行ない、各区20尾(1, 2回は12尾)について、MS-222(濃度1/10,000)で麻酔した後、体重、体長を測定した。なお第5回(45日目)および最終回(90日目)の測定は屠殺後行ない、同時に肝すい臓の重量も測定した。

採血は尾柄部切断により、試験終了時にのみ行なつた。

飼育魚の化学分析 試験開始後45日目および終了時に魚の筋肉および肝すい臓の水分、脂肪含量を常法で測定した。また最終回のものについては血清蛋白の定量分析をビューレット法⁷⁾で、電気泳動分析をセルローズアセテート膜法⁸⁾によつておこない。泳動像の分画比はアタゴオズマー7型デンシトメーターを用い、吸光度を測定して求めた。なお3区の魚は貧血症状がはげしく、採血が困難であつたため、血清蛋白の分析は行なわず電気泳動のみを行なつた。

水分、脂肪量は筋肉では5尾、肝すい臓では5~10尾を合わせた平均試料を分析に供した。血清の蛋白量は7~10尾から採血した血液を合わせて用い、また電気泳動用血清は各区3尾ずつ個別に採血した後、1夜冷蔵(2~5°C)し、分離した血清を使用した。

結果および考察

成長率および欠乏症 各区ハマチの成長率をFig. 1およびTable 2に示した。実験終了時の体重、体長は1区: 353 g, 25.6 cm, 2区: 229 g, 23.1 cm, 3区: 175 g, 22.0 cmであつた。45日すぎに全区に白点病が発生した。その症状は1区で特にはげしく、4日間程ほとんど摂餌せず、一時成長がおくれた。そのため全区とも魚体を1/5,000 マーキュロクロム水溶液(海水)で5分間ずつ、2日おきに4回水浴消毒したところ、肉眼的に“白点”の消失が認められた。1区には65日すぎ再び発生したため、1区のみマラカイトグリーン(1/10,000, 30秒間)による消毒処理を行なつた。その結果12尾が死亡したが、その後は回

けた。1区に用いた飼料の組成は魚粉 68, グルテン 17, タラ肝油 8.5, ビタミン混合物 3, グルコース 2.5, ミネラル混合物 1 の割合である。ビタミン混合物の組成はTable 1に示した。ミネラル混合物はHALVERの処法⁹⁾に従つた。2および3区の飼料は1区のビタミン混合物から、それぞれビタミン B₆ および C を除き、同量の α -澱粉で置き換えたものである。日本農産工業株式会社中央研究所の分析結果によると、タラ肝油添加前の3区の飼料混合物には21.6 mg% のビタミン C が含まれていた。2区のビタミン B₆ 含量は測定していない。飼餌は上記飼料100に水50を加えてよく練り合わせた後、ミンチで魚体の大きさに応じて成型した。1日の投餌量は体重の4.5%とし、朝夕の2回に分けて与え、約10日おきに体重測定を行ない投餌量を調整した。飼育日数は7月20日より10月18日の90日間である。

試験池は4×1.5×0.6 m(水量3.6トン)のコンクリート水槽3面を用い、それぞれに60尾ずつを飼育したが、ハマチの成長にともない密殖の恐れが

Fig. 1. Average body weights and fatness of fish with experimental diets.

べて多少おそい。この原因として魚種、魚体の大きさ、飼料組成、飼育環境などの相異も考慮すべきであるが、本実験に用いた飼料は魚粉を主体としているため、魚粉中に含まれるビタミンB₆*の影響も無視できないであろう。

ビタミンC無添加区の魚は40日すぎから摂餌量が低下し、50日頃から体色が黒変し、游泳活動が不活発となり、水槽の隅に集まり、外部からの刺激に対してもあまり反応を示さなくなった。またこの時期から

復した。

ビタミンB₆およびC無添加区の魚はいずれも40日すぎから異常が認められた。ビタミンB₆無添加区には40日すぎからけいれん性発作を示す個体が現われ、水面ではげしい円運動や、水槽壁に激突する個体がみられるようになり、摂餌量が低下しはじめた。45日頃から眼球突出、眼球損傷、口吻部の裂傷、脊椎彎曲 (Fig. 2) などがみられ、游泳活動も不活発となった。50日すぎからは死亡魚が増加し、25日目から投与しはじめた直径約7.5 mmの飼料の摂餌が困難となったが、飼料の粒度を小さくしたものは捕食した。終了時までこれらの症状のうち眼球突出は9個体、眼球損傷：8個体、脊椎彎曲：9個体、口吻部裂傷：全個体が観察された。これらビタミンB₆無添加区でみられた症状のうち眼球突出、けいれん性発作、狂奔、游泳不活発、高死亡率などはコイ¹⁾、ウナギ⁹⁾、ニジマス²⁾、マスノスケ⁶⁾などのビタミンB₆欠乏症と類似しているため、これらの症状はハマチのビタミンB₆欠乏症と考えてよいであろう。しかし脊椎彎曲症は他の魚種ではまだ認められていない。ハマチのビタミンB₆欠乏症の発現時期はコイ、ニジマス、マスノスケなどにくら

Table 2. Effects of vitamin-deficient diets on yellowtail.

Group No.	Body weight (g)			Fatness			Wt. of hepatopancreas Wt. of body × 100			Number of dead fish	
	A*	B*	C*	A	B	C	A	B	C	B	C
1***	43.5	180	353	15.9	18.1	21.1	1.25	2.08	1.94	0	12**
2	43.5	180	229	15.9	18.0	18.6	1.25	1.79	1.80	2	26
3	43.5	182	175	15.9	20.0	16.4	1.25	1.70	0.97	1	21

* A: Initial, B: Intermediate (45th day), C: Final (90th day).

** Attributed to ichthyophthiriasis like disease.

*** Composition of diet is as follow: fish meal 68%, gluten 17%, vitamin-mixture 3%, cod liver oil 8.5%, glucose 2.5%, and mineral mixture 1%. In groups 2 and 3, B₆ and C vitamin are replaced by same amount of α-starch, respectively.

* 橋本ら¹⁰⁾によれば魚粉中には0.24~1.22 mg%のB₆が含まれている。

Fig. 2. Vitamin B₆ deficiency symptoms observed with the yellowtail.

- A: Injury at mouth and rostrum region.
B: Exophthalmia.
C: Scoliosis.

Fig. 3. Vitamin C deficiency symptoms.

- A: Poor growth of operculum.
B: Scoliosis.
C: Amputation of strait.

脊椎が彎曲した個体が 2, 3 みられたほか、魚体測定時に峡部が離脱する個体が増加した。65 日すぎからは全く摂餌しなくなり、脊椎彎曲、鰓蓋の發育不良 (Fig. 3) 背側筋部の出血など認められた。飼育終了時までにこれらの症状のうち、峡部離脱は 13 個体、脊椎彎曲: 15 個体、鰓蓋の發育不良: 18 個体、体色の黒変: 全個体であつた。背側筋の出血は剖検した 5 個体のいずれにもみられた。ビタミン C 欠乏症はニジマス^{2,11-13)}では認められているが、マスノケ⁶⁾ではみられていない。またコイの L-グルノラクトン酸化酵素の活性はニジマスにくらべてかなり強くなつており¹⁴⁾、したがつて魚種によりビタミン C 要求量にかなりの差がみられるようである。鰓蓋の發育不全、脊椎彎曲、筋肉内の出血病状はニジマス¹³⁾でも認められており、ハマチとニジマスのビタミン C 欠乏症は類似しているようである。また峡部の離脱症状はすでにビタミン添加量の少ない飼料で飼育したハマチにもみられているが¹⁵⁾、これも直接にはビタミン C 欠乏によるものと考えられる。

肝すい臓の重量比は終了時には 1 区: 1.94%, 2 区: 1.80%, 3 区: 0.97% の値を示し、対照区にくらべビタミン B₆ 無添加区 (2 区) では多少減少し、ビタミン C 無添加区 (3 区) では著しく減少した (Table 2)。ニジマスでは肝臓の重量比はビタミン B₆ 欠乏区で増加し、ビタミン C 欠乏区では減少することが報告されている¹¹⁾が、これは本実験におけるビタミン B₆ の結果とやや異つてゐる。本実験のビタミン B₆ および C 無添加区における重量比の減少は欠乏症発現後の摂餌量低下による飢餓の影響^{16,17)}を受けたためであらう。

筋肉、肝すい臓の水分、脂肪含量ならびに血清蛋白量 各区のハマチの化学分析の結果を Table 3 に示した。45 日目の肝すい臓の脂肪含量には試験区間の差はあまりみられなかつたが、終了時の含量は 45 日目の値とくらべ、1 区では 20.2% に増加、2 区は 11.0% で差がなく、3 区は 4.6% に減少した。ニジマスでは肝臓の脂肪含量はビタミン B₆, C 欠乏で減少しており¹¹⁾、ハマチの欠乏症もニジマスの場合と類似の傾向を示した。ビタミン B₆ 無添加区の肝すい臓の脂肪含量は 11.0% であり、1 区の約 1/2 にすぎない。

Table 3. Analysis of the muscle, hepatopancreas and serum of the yellowtail.

Group No.	Muscle		Hepatopancreas		Serum protein (%)
	Fat (%)	Moisture (%)	Fat (%)	Moisture (%)	
1 B*	2.7	74.3	11.5	68.5	4.98
C*	7.2	70.0	20.2	59.2	
2 B*	2.9	74.0	10.7	70.4	3.62
C*	3.4	74.7	11.0	66.3	
3 B*	4.2	73.3	11.8	68.2	
C*	3.6	75.8	4.6	75.1	

* B: 45th day, C: 90th day.

また水分量は1区の59.2%に対し、ビタミンB₆無添加区では66.3%に増加しており、これには欠乏症発現後の摂餌量の低下が代謝機能に大きく影響したものと思われる^{16,17)}。この傾向は65日以降全く摂餌しなくなったビタミンC無添加区で顕著であつた (Table 3)。

血清蛋白量は1区では4.98 g/dlであるが、2区では3.62 g/dlとかなり減少している。貧血症状を呈したハマチでは血清および血漿蛋白量の減少が認められているが^{17,18)}、このことから本実験2区の魚も貧血症の状態にあつたものと思われる。

Fig. 4. Electrophoretic patterns of the serum protein.

血清蛋白の電気泳動像および分画比 各試験区の魚について測定した血清蛋白の電気泳動像および各分画の分画比を Fig. 4 および Table 4 に示した。ハマチの血清蛋白の電気泳動像はセルローズアセテート膜法では4分画に分離されるが、クロダイ¹⁹⁾、カサゴ²⁰⁾、コイ²¹⁾などでは5分画に分離されており、泳動像は魚種によりかなり相異が見られる。泳動像の各分画を陽極側から仮にI, II, III, IV分画とすると、その分画比は飼料の種類によつて異なり、I, IIIおよびIV分画の変動が大きい。I分画の分画比は1区: 44.6% であるが、欠乏症が顕著な2区および3区ではそれぞれ35.3%, 29.7% で前

Table 4. Composition of each fraction of serum protein separated by electrophoresis on cellulose acetate membrane.

Group No.	Fraction (%)			
	I	II	III	IV
1	range	42.5 46.7	24.2 27.7	17.0 17.7
	mean*	44.6	26.0	17.4
				12.1
2	range	30.9 39.6	23.8 26.4	20.8 26.2
	mean*	35.3	25.3	23.2
				16.3
3	range	26.8 35.1	18.5 24.4	20.4 33.3
	mean*	29.7	22.9	22.4
				24.8

* Mean of 3 individuals.

者にくらべて値が小さい。他方ⅢおよびⅣ分画の分画比はそれぞれ1区: 17.4%, 12.1% に対し, 2区: 23.2%, 16.3%, 3区: 22.4%, 24.8% に増加しており, 栄養障害, 飢餓の影響はこれら3分画に反映するものと思われる。

要 約

ハマチ稚魚をビタミン B₆ および C 無添加飼料で 90 日間飼育し, 次の結果を得た。

1. ビタミン B₆ および C 欠乏によると思われる症状はいずれも 40 日すぎに発現し, 前者では摂餌量の減少, 成長不全, 游泳不活発, 眼球突出, 眼球損傷, けいれん性発作, 狂奔, 脊椎彎曲, 高死亡率などが認められ, 後者では摂餌量減少, 成長停止, 体色黒変, 游泳不活発, 脊椎彎曲, 鰓蓋の發育不全, 峡部離脱, 背側筋部の出血, 高死亡率などがあつた。
2. 終了時の筋肉および肝すい臓の脂肪含量は対照区にくらべ, 2, 3 区では減少し, 水分量が増加した。
3. 血清蛋白量は対照区と比較してビタミン B₆ 無添加区では減少した。
4. 血清蛋白の電気泳動像は4分画に分離し, 各分画の分画比は B₆ および C 無添加区ではⅠ分画が減少, ⅢおよびⅣ分画が増加した。

終わりにのぞみ, 懇切なるご指導と本稿のご校閲を頂いた香川大学農学部岡市友利博士, 東京大学農学部橋本芳郎教授に深く感謝の意を表する。また血清蛋白の電気泳動についてご助言, ご協力を頂いた本場浜口章博士, 神戸大学医学部亀野俊行技官, 試験油を提供して頂いた吉川製油株式会社, 飼料調製にご配慮を頂いた日本農産工業株式会社中央研究所に厚くお礼申し上げるとともに試験遂行に際し常にご鞭撻とご助言を頂いた本場井沢康夫場長, 試験魚の管理などにご協力頂いた福田正一氏, 中井晃三研究員その他場員の方々に深謝する。

文 献

- 1) 荻野珍吉: 本誌, **31**, 546~551 (1965) など.
- 2) 北村佐三郎・大平脩平・諏訪富雄・仲川憲一: 同上, **31**, 818~824 (1965) など.
- 3) 橋本芳郎・新井 茂・能勢健嗣: 日本水産学会年会講演 (1968) など.
- 4) 米 康夫・古市政幸: 日本水産学会秋季大会講演 (1968).
- 5) 佐藤正明・平田貞郎・北島 力: 広島水試昭和 43 年度指定研究報告, p. 1~15 (1969).
- 6) J. H. HALVER: *J. Nutrition*, **62**, 225~243 (1956).
- 7) 清水文彦監修: 衛生検査技術講座, **7**, p. 366~367, 医歯薬出版 (1967).
- 8) 清水文彦監修: 同上, **7**, p. 377~378, 医歯薬出版 (1967).
- 9) 橋本芳郎・新井 茂・能勢健嗣: 日本水産学会年会講演 (1969).
- 10) 橋本芳郎・岡市友利: 水産研究叢書, **9** (1968).
- 11) B. A. McLAREN, E. KELLER, D. J. O'DONNELL, and C. A. ELVEHJEM: *Arch. Biochem.*, **15**, 169~178 (1947).
- 12) 北村佐三郎・諏訪富雄・大平脩平・仲川憲一: 本誌, **33**, 1120~1125 (1967).
- 13) 日比谷 京・北村佐三郎: 日本水産学会年会講演 (1965).
- 14) 北村佐三郎・諏訪富雄・仲川憲一・日比谷 京: 同上 (1968).
- 15) 佐藤正明・川西正衛・北島 力: 広島水試, 昭和 42 年度餌料研究報告書, p. 1~11 (1968).
- 16) Y. INUI and Y. OHSHIMA: *This Bull.*, **32**, 492~501 (1966).
- 17) 藤谷 超・塚原宏子: 南海海区水研報, No. 1, 63~69 (1969).
- 18) 高橋高三・伊佐良信・篠岡久夫: 水産増殖, **14**, 11~15 (1966).
- 19) 平野礼次郎・佐藤英雄・高野 洋: 日本水産学会年会講演 (1968).
- 20) 山下秀夫: 本誌, **34**, 1059~1065 (1968).
- 21) 坂口宏海: 未発表.