ハマチの連鎖球菌症発病に及ぼす飼育餌料の影響^{*1}

谷 口 道 子

(1982 年 7 月 9 日受理)

Effects of the Food Quality on the Appearance of Yellowtail Streptococciosis

Michiko TANIGUCHI^{*2}

To clarify the effects of food quality on the appearance of yellowtail streptococciosis, the tolerance of the fish fed with various quality of foods during the experimental period was examined based on the artificial peroral inoculation method. The vitamin mixture was surely effective to decrease mortality from the diseases during hot season. When garlic extract was fed besides the vitamin mixture, seriously infected individuals were small in number. The incidence of the disease was very low in the experimental group fed with frozen fish in comparison with the experimental group fed with thawed fish. The experimental groups fed with washed fish or the thawed fish mixed with ethoxyquin also showed low incidence of the diseases compared with the group fed with thawed fish. Conclusively, feeding with frozen fish before thawing was the best among the other groups fed with thawed fish.

ハマチの連鎖球菌症において、餌料条件と発病との関係を知ることは重要であり、このための方法として餌料魚の皮下に病原細菌を注入して摂餌させる方法が有用であることを前報^{1,2)}で明らかにした。これらの報告において、菌投与に用いる餌の形状、種類が発病に大きな影響を及ぼすことが明らかにされ、さらに、菌投与に至るまでの期間に用いられた餌料も発病に大きく影響する可能性が示唆された。飼育に用いられた餌料が発病に影響を及ぼすかどうかという問題は、単に実験方法の検討にとどまらず防疫対策に関連する重要な課題である。すでに行われた疫学的調査³⁾の結果では、用いられた餌の種類、栄養剤使用の有無、解凍方法などと被害率との間に密接な関係のあることが指摘されている。実際の養殖漁業の現場においても、餌料性疾患の被害が多かった場合に連鎖球菌症の被害も大きくなる傾向が見られ、連鎖球菌症に罹病した多くの病魚が餌料性疾患の症状も合併している場合が多く、総合ビタミン剤等の積極的な使用によって本疾病の被害を軽減、予防した事例も多い。

本報では、飼育に用いられる餌料と発病との関係を人為経口感染の手法^{1,2)}を用いて実験的に解明しようとした。

実験方法

供試魚 前報¹⁾と同様にして養成したハマチ *Seriola quinqueradiata* を用いた。養成餌料には冷凍イカナゴも

しくは冷凍オオナゴを解凍することなく細断し、総合ビタミン剤を添加して用いた。このようにして養成した魚群の中から必要尾数を取上げ、別的小割網生簀もしくはコンクリート水槽に収容して、それぞれ定めた餌料を一定期間投与したのち感染実験に供した。この期間を飼育期間と呼び、この間に用いた餌料を飼育餌料と呼ぶ。栄養剤の添加効果を知る試験では、種々の餌料を用い、栄養剤添加区と無添加区を設けて発病率の比較を行った。栄養剤には総合ビタミン剤（武田薬品工業製ハマチエード S）に展着剤を混合し、魚体重に対して 0.1% の割合で用いた。つぎに、ウルソデスオキシコール酸（東京田辺製薬製ウルソー 20）、ニンニクエキシ（富士産業製ビタリック・U）および醗酵乳酸カルシウム（島久薬品製 CV カルシウム）をそれぞれ総合ビタミン剤と併用する区を設け、無添加区との比較を行った。餌料には冷凍マイワシを解凍して用いた。デオキシコール酸は魚体重あたり 0.04%、ニンニクエキシ、醗酵乳酸カルシウムは魚体重あたり 0.1% の割合で投与した。

解凍処理方法との関係を知る試験では、解凍区と非解凍区を設け、一部の試験では解凍後水洗区、解凍後エトキシキン添加区を付け加えた。餌料の解凍は、23°C の孵卵器内に一夜置いて行った。非解凍区の餌料は、凍結状態のものをそのまま細断し、解凍しないように投餌直前まで低温に保ったものを用いた。解凍後水洗区の餌料は、解凍区と同様にして解凍した餌料を水道水で水洗し

^{*1} この研究の一部には、水産庁魚病対策技術開発研究費が用いられた。

^{*2} 高知県内水面漁業センター（Kochi Pref. Freshwater Fish. Lab., Tosayamada, Kochi 782, Japan）。

た。解凍後エトキシキン添加区の餌料は、同様の解凍餌料を1%エトキシキン水溶液に5分間浸漬した。エトキシキンはコーキン化学製エトキゾール 10%を用いた。

感染方法および菌液の調整 前報で述べた方法¹⁾によった。

菌投与方法 前報で述べた餌料魚の皮下に菌液を注入して投与する方法¹⁾によった。ただし、菌投与に用いる餌料の発病に及ぼす影響を除くため、飼育餌料の如何にかかわらず、菌投与に用いる餌料は解凍して切身にした同一餌料を用いた。

発病の判定 前報で述べた方法¹⁾によった。ただし、一部の実験においては、発病の軽重を知るために、1個体に3種類または3カ所以上の病徴がある場合を重症魚とし、これが全供試魚に占める割合をもって重症率とした。また、病原細菌の検出検査において血液または臓器1gあたり 10^4 コロニー以上検出された個体を高濃度菌検出個体とし、これが全供試魚に占める割合をもって高濃度菌検出率とした。

なお、結果をとりまとめるにあたり、実験が独立して行われた場合には単独の実験番号 (Exp-No.) を付し、同時に平行して行われた実験には同一実験番号に a, b というローマ字符号を付した。

結果ならびに考察

栄養剤が発病に及ぼす影響 飼育期間中の総合ビタミン剤の使用が発病に及ぼす影響を Table 1 にまとめた。Exp-1, 2 では、病原細菌の検出が、培地をおおう雑菌の出現によって困難になったため詳細な検討ができなかったが、全体の傾向として、発症率においては、栄養剤使用の有無による差がほとんど認められず、また、へい死率においては、いずれの実験においても栄養剤使用区が

著しく低い値であった。これらの実験の飼育期間は10~14 日間であり、このような短期間でも 両区の間に大きな差を生じたことは注目すべきことである。Exp-3, 4 では、発症率、菌検出率、へい死率いずれにおいても栄養剤使用の有無による差は認められなかった。Exp-1, 2 と Exp-3, 4 で栄養剤使用の効果が大きく異なったことの理由として飼育時期の相違、すなわち、Exp-1, 2 は高水温期、Exp-3, 4 が低水温期であったことによると思われる。Exp-3, 4 における飼育期間は 30 日間と比較的長期間であったにもかかわらず栄養剤使用の有無による影響が明瞭には認められなかった。このことについては、原田⁴⁾が指摘しているように低水温で餌料の栄養的欠陥の影響が現われにくいということと無関係でないと思われる。Exp-5 では、総合ビタミン剤使用区においてへい死率が高いという他の6回の実験とは逆の結果が得られた。これは、つぎのような原因によるものと考えられる。すなわち、この実験の飼育に用いられた餌料は2カ年にわたって性能の低い冷凍庫に保存されていた変敗カタクチイワシである。総合ビタミン剤無添加区では解凍によって生じたドリップが餌料容器に残され、摂取されなかったのに対し、総合ビタミン剤添加区では、その展着効果によってドリップがほとんど全て吸着されたため、摂取された変敗物質の悪影響が総合ビタミン剤添加効果を上まわったものと思われる。

これらの結果から、総合ビタミン剤の発病防止の効果が用いる時期、餌料の質によって左右されるものの、連鎖球菌症の被害を軽減する一つの方策として恒常的な使用の必要性が示されたと考えられる。

つぎに、各種栄養剤すなわち、ウルソデスオキシコール酸、ニンニクエキス、醗酵乳酸カルシウムをそれぞれ総合ビタミン剤と併用した場合の結果を Table 2 に示し

Table 1. Effect of vitamin mixture of food used during experiment on the tolerance against streptococciosis of yellowtail by the artificial peroral inoculation. The inoculum was injected under the skin of food fish

Food used during experiment		Exp-1a*	Exp-1b*	Exp-2a*	Exp-2b*	Exp-3	Exp-4	Exp-5
Without vitamin	Symptom positive (%)	67	67	30	33	70	38	53
	Pathogen positive (%)					0	6	47
	Mortality (%)	100	100	100	100	10	0	21
With vitamin mixture	Symptom positive (%)	40	50	50	50	87	24	41
	Pathogen positive (%)					7	0	47
	Mortality (%)	10	30	40	60	0	0	41

The foods used during experiment were thawed anchovy in Exp-1, thawed sand lance (small size) in Exp-2, thawed mackerel in Exp-3, thawed sardin in Exp-4, and deteriorated anchovy in Exp-5. The fishes examined were reared for 14 days in July in Exp-1, 10 days in September in Exp-2, 30 days in February in Exp-3, 30 days in March in Exp-4, and 30 days in November in Exp-5.

Strains used as the inoculum were St-34 in Exp-1, 2, 3, 4, and St-36 in Exp-5.

Dosed number of inoculum was 2×10^{10} cells per individual in Exp-1, 1×10^{10} in Exp-2, 8×10^8 in Exp-3, 3×10^9 in Exp-4, and 6×10^9 in Exp-5.

* Experiments a and b were tried at the same time.

Table 2. Effect of vitamin and nutriment used during the experiment on the tolerance against streptococcosis of yellowtail by the artificial peroral inoculation. The inoculum was injected under the skin of food fish

Food used experiment	Symptom positive		Pathogen positive		Mortality (%)
	Total (%)	Serious (%) ^{*1}	Total (%)	Serious (%) ^{*2}	
Without drags	83	42	75	67	100
With vitamins and ursodesoxycholic acid	100	33	67	42	100
With vitamins and garlic extract	85	27	18	9	100
With vitamins and calcium lactate	83	42	70	40	100

The food used during the experiments was thawed sardine. The period of experiment was 20 days.

The strain used as pathogen was St-36. Dosed number of inoculum was 9×10^9 cells per individual.

^{*1} The symptoms were counted more than three. ^{*2} The pathogen were counted more than 10^4 CFU/g.

た。従来のとおりのまとめ方による発症率、菌検出率、へい死率には、各種栄養剤併用区と無添加区の間にはほとんど差が認められなかった。しかしながら、発病の軽重を分けてみると、各種栄養剤併用区において明らかに重症率が低く、高濃度検出率も低かった。なかでも、ニンニクエキス併用区は特に低い値であった。これは、このような栄養剤が魚体内での病原細菌の増殖や発症を抑制していることを示していると考えられ、病原細菌の菌量、病原力、環境条件など他の発病要因の条件如何によっては、発病を防止しうるものと思われる。

解凍方法が発病に及ぼす影響 つぎに、飼育期間中に用いる冷凍餌料魚の解凍処理の方法が発病に及ぼす影響について検討し、得られた結果を Table 3 にまとめた。いずれの実験においても非解凍区において解凍区よりも

発病率が低かった。また、解凍後水洗処理区やエトキシキン添加区では解凍区すなわち解凍後無処理の区に比較してわずかながら発病率が低かった。これら4種類の処理方法を比較したとき、非解凍区において特別に発病率が低かった。今回の実験は、宿主の飼育餌料のみを異にした場合の比較であるので、得られた結果は宿主の抵抗性を反映していると考えられ、凍結餌料の使用が宿主の抵抗性向上のために効果のあることが実験的に明らかにされたと言える。

前報²⁾で明らかにした菌投与に用いた餌料の状態と発病の関係においても、解凍餌料区では発病率が高く、解凍処理過程における病原細菌の増殖によってさらに発病が助長されることが明らかにされた。したがって、非解凍餌料の使用は、宿主の抵抗性を向上させる点と、餌料

Table 3. Effect of food condition fed during experiment on the tolerance against streptococcosis of yellowtail by the artificial peroral inoculation. The inoculum was injected under the skin of the food fish

Food used during experiment		Exp-1	Exp-2
Thawed	Symptom positive (%)	24	53
	Pathogen positive (%)	0	47
	Mortality (%)	0	41
Not-thawed	Symptom positive (%)	7	11
	Pathogen positive (%)	0	5
	Mortality (%)	0	0
Washed after thawing	Symptom positive (%)	—	21
	Pathogen positive (%)	—	31
	Mortality (%)	—	5
Thawed with ethoxyquine	Symptom positive (%)	—	37
	Pathogen positive (%)	—	26
	Mortality (%)	—	5

The food used during experiments were sardine in Exp-1 and anchovy in Exp-2. The period of experiment was 1 month in both cases. Strains used as pathogen were St-34 in Exp-1 and St-36 in Exp-2. Dosed number of inoculum was 3×10^9 cells per individual in Exp-1 and 6×10^9 in Exp-2.

からの経口感染の危険を軽減する点の両面から連鎖球菌症の防疫対策として有効であると考えられる。このような給餌方法は、すでに高知県の一部の養殖漁家によって実施され、防疫効果として明るい見通しが得られている。なおこの方法を防疫対策として積極的に押し進めるためには飼育成績等に関しても充分注意を払う必要がある。この点については、次報で詳細な検討を行いたい。

要 約

ハマチの連鎖球菌症において、飼育餌料が発病に及ぼす影響を明らかにした。試験は種々の餌料で飼育した試験魚について人為経口感染を行い、発病率を比較した。得られた結果はつぎのとおりに要約される。

1. 総合ビタミン剤を添加した区でのへい死率は、高水温期の実験では、無添加区に比較して低く、低水温期に実施した実験では差が認められなかった。
2. 総合ビタミン剤にニンニクエキスを併用した区では重症魚や高濃度菌検出個体が少なかった。
3. 解凍後水洗餌料区や解凍後エトキシキン添加区の

発病率は、解凍区に比較してわずかながら低かった。

4. 冷凍餌料を解凍せずにそのまま給餌した区では、上記の三種類の解凍餌料区に比較して、特に発病率が低かった。

終りに臨み、本研究は高知県水産試験場において、当試験場の病害防除試験の一部として行われたものであり、研究を進めるにあたり、多大のご理解とご協力をいただいた場長はじめ職員諸氏に感謝いたします。

また、醗酵乳酸カルシウムの供与をいただいた島久薬品株式会社、エトキシキンの供与をいただいたコーキン化学株式会社にあつくお礼申します。

文 献

- 1) 谷口道子：日水誌，**48**，1717-1720 (1982)。
- 2) 谷口道子：日水誌，**48**，1721-1723 (1982)。
- 3) 谷口道子：海産養殖魚類の病害対策の現状と問題（南西海区ブロック会議 魚貝類研究会 魚病班編），日本水産資源保護協会，東京，1980。
- 4) 原田輝雄：近畿大学農学部紀要，**3**，1-291 (1965)。