

マイワシ投与によるハマチの 疾患について

藤田真吾・大橋 徹

On the Disease of Cultured Amber Fish Fed on Sardine

Shingo FUJITA* and Tooru OHASHI*

ハマチ *Seriola quinqueradiata* の養殖に於て餌料の問題は種々の意味を含んで重要である。現在なま餌として使用されている餌料魚種のなかで、マイワシ *Sardinops melanosticta* の漁獲が増加し、多用されるようになった。一方、昭和50年夏から秋にかけて京都府下の各地で養殖ハマチが大量に斃死し、その原因として長期間単独に投与されていたマイワシが疑われた。そこで、マイワシを単一餌料とする飼育試験を行ない、長期連続投与がハマチを斃死させることを確認した。その過程で、生理的な変化を追い、発病原因を究明し、診断の指標を求める目的で、肉眼処見・血液性状・血液化学成分について調査した。また、併行して実施したカタクチイワシ単独投与に於る生理的変動と比較検討した。

報告に先立ち、種苗及び餌料の入手に御協力いただいた京都府漁連蓄養場及び栗田漁業協同組合の方々に感謝の意を表します。

実 験 方 法

供試魚及び飼育方法 供試魚と対照区の飼育方法は前報¹⁾と同じである。試験区の餌料として、冷凍マイワシを一夜冷蔵庫内で解凍し、前半はミンチを、後半は適当な大きさに切断したものを使用した。また、この試験に先立って、7月20日から平均体重110gの他県産種苗を用いて予備試験を行った。

試験区の累積斃死率が50%を越えた時点で生残魚を2区に分けて治療試験を行った。治療区には3日間の餌止めの後マアジのミンチを10間与え、その後対照区と同じ餌を与えて1ヶ月間飼育した。

餌料魚の分析 投餌直前の餌料魚を-20℃で凍結保存し、測定に供した。餌料のサンプリングは対照区・試験区について夫々8回行い、分析方法は前報¹⁾に準じた。

採血及び形態の測定 前報¹⁾に準じた。

血液性状及び血液化学成分 キュービエ氏管から採取した血液について血液性状の測定と、塗抹標本の作成を、尾柄切断により得た血清について血清蛋白量(TP)及び血液化学成分の測定を行った。採血・測定及び定量の方法はすべて前報¹⁾に準じた。

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

また被検魚2尾の肝臓について、前報¹⁾と同じ方法でV. B₁と水分量を測定した。
 なお、塗抹血液像に於て、異常な単球や好中球、ヒトの骨髓球²⁾に類似した細胞等が多数出現したが、これらはすべてその他の白血球として処理した。

結 果

餌料魚の品質 餌料魚の分析結果は表1のとおりであった。試験区の餌料は概して高油量で

表1 対照区・マイワシ区・治療区の餌料の品質

	水分量 %	油量 mg/g-dry	POV価 mg当量/油kg	TBA値 mg/kg-wet	TMA量 μg/g-dry	ヒスタミン量 μg/g-dry
対 照 区	68.0~ 77.0	64.4~ 350.1	275.1~ 779.1	16.2~ 65.3	68.8~ 193.1	45.5~ 595.2
マイワシ区	63.0~ 71.6	125.6~ 270.2	77.4~ 502.9	43.1~ 62.0	22.2~ 44.8	160.4~ 375.2
治 療 区	71.0	124.3	79.4	6.9	64.0	181.9

あったが、油の過酸化物量を生餌1kg当りに換算すると、対照区の平均値150.5mg当量/kg-wetに対し、試験区の平均値は85.1mg当量/kg-wetで対照区の1/2であった。またTMA量、ヒスタミン量からみても鮮度の良い餌料とは云えないが、対照区の餌料に比べてとくに品質が劣っていたとは考えられない。

サイアミナーゼに関しては、マイワシの主として内臓に若干含まれているようで³⁾、試験区の餌料にも全魚体あたり0~79.1μg/g-dry・min(分解されたV. B₁量)含まれていた。対照区に投与したカタクチイワシ *Engraulis japonicus* 及びサンマ *Colorabis saira* にもサイアミナーゼが含まれており、一時的にはV. B₁欠乏餌料を摂取していたことになる。

飼育経過 2回の飼育経過はほぼ同様であった。試験開始後約35日で摂餌量が低下した(

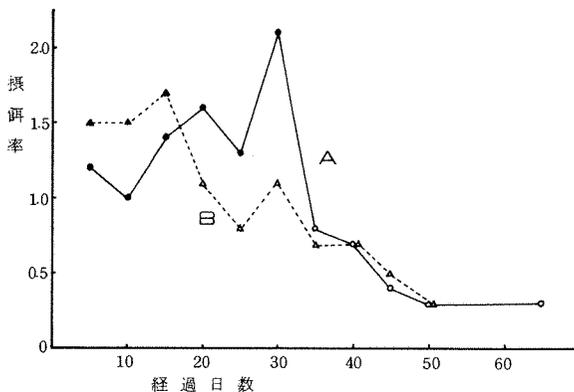


図1 マイワシ投与区の摂餌率
(対照区に対する比)の変化

A: 1回目(予備試験) B: 2回目
 黒塗はミンチ(0.7を乗じてある)白抜きは切断餌料

図1)。40~45日目から特徴的な症状を呈して斃死し、摂餌量も極端に少なくなった。ただ累積斃死率が50%に達した日数は第1回が約65日、第2回は約50日で第2回の方が経過が急であった(図2)。治療区は餌止め後9日目までに40%が斃死したが、その後食欲も回復し、60%が生残した(図3)。

肉眼処見 試験区でみられたおもな症状は以下のとおりであった。まず、摂餌の低下に先立

って体色が青味を帯びる。刺激に対して突然狂奔するものが現われ、斃死が始まる。狂奔に伴って体表やヒレから出血する。この出血は、一見異常のない魚を手網で抄い上げた時にも起こる。体表の粘液が少なく、鱗が剥げやすい。死魚や瀕死魚のヒレ・体表に出血・表皮剥離・びらんがみられる。内臓には特徴的な処見が少ないが、肝臓の黄～黄褐色と広範囲のうっ血、消化管及び幽門垂の充血等が多くみられる。腎臓が灰～褐色を帯び軽い腫脹と混濁が認められるが、カタクチイワシ投与区¹⁾でみられたような白点は認められない。

細菌検査及び組織像 18尾の検査対称魚のうち4尾から細菌が検出されたが、分離菌の2株はビブリオに鑑別され、他の2株は既知の病原菌に該当せず、2次的な侵入者と推定された。また、他の14尾からは細菌は検出されなかった。

10月24日の被検魚8尾について、肝臓及び腎臓の組織像を観察したところ以下のようにであった。一般に肝細胞の形と柵状構造は、よく保存されている。中～小型の空胞が4例、滴状の空胞が1例みられ、脂肪蓄積の程度はまちまちである。4例に於て部分的に大型の空胞が数個～数十個繋がり、個々の肝細胞が不明瞭で崩壊している像が観察された。腎臓では、細尿管上皮の軽度の水腫と混濁が認められるが、全般的に構造はよく保存されている。

平均値の比較 斃死が始まった40日目以降(10月4日～24日)の試験区、および治療後1ヶ月目の治療区(11月24, 30日)と、夫々同じ時期の対照区との間で、各測定値の平均値を比較した(表2, 3)。

肥満度及び内臓・肝臓・脾臓重量比は試験区が有意に低かった。血液性状では、RBC・TPがやゝ低く、MCHがやゝ高い他は、差が認められなかった。血液像はいづれの項目もばらつ

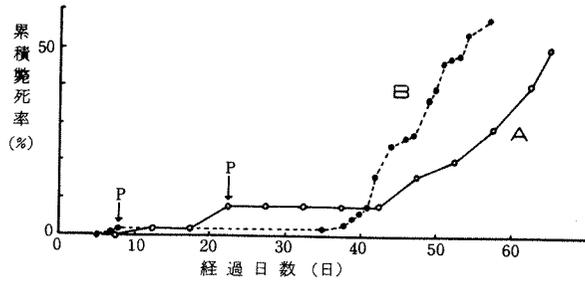


図2 マイワシ投与区の累積斃死率(当初の尾数に対して)の経過

A: 第1回(7月20日～9月25日)5日毎に集計
B: 第2回(8月20日～10月17日)
P: 類結節症発生(その後3～5日間 テトラサイクリン系薬剤を投与)

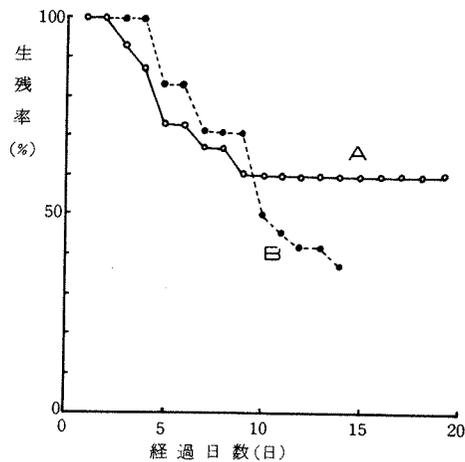


図3 マイワシ投与区の治療効果

A: 治療区 B: マイワシ区

表2 試験区(マイワシ区)と対照区の形態・血液性状・肝ビタミンB₁量の比較

	試験区(10.4~10.24)			対照区(10.6~10.20)			
	N	mean	SD	N	mean	SD	
肥満度	18	14.82	1.31	17	15.59	0.83	S**
内臓重量比 %	18	4.319	0.335	17	5.324	0.531	S
肝臓重量比 %	17	0.928	0.209	17	1.249	0.340	S
脾臓重量比 %	18	0.136	0.055	17	0.207	0.104	S
Ht %	18	45.45	5.51	17	46.53	2.81	NS
Hb g/dl	18	11.98	1.38	17	11.94	0.46	NS
RBC $\times 10^4/mm^3$	16	479.1	57.2	17	514.2	33.9	S
MCV μ^3	16	93.53	7.00	17	90.82	7.88	NS
MCH $\mu\mu g$	16	24.58	1.79	17	23.28	1.71	S
MCHC %	18	26.41	1.07	17	25.70	1.19	NS
TP g/dl	18	4.37	1.09	17	5.07	0.39	S
カルシウム mg/dl	19	17.5	2.2	19	15.9	1.2	S
燐 "	19	14.0	3.0	19	12.2	4.4	NS
コレステロール "	19	341.3	102.9	19	451.7	60.1	S
トリグリセリド "	19	329.8	130.8	19	300.6	143.1	NS
ALP K-G unit/ml	19	2.4	0.4	19	2.5	0.6	NS
LAP G-R unit/ml	19	141.4	41.6	19	209.6	45.4	S
LDH W unit/ml	19	2968	867	19	3930	1220	S
GOT K unit/ml	19	369.3	79.2	19	371.0	80.7	NS
GPT K unit/ml	19	38.6	15.3	19	22.8	4.8	S
肝・水分量 %	2	74.65	2.05	3	64.03	0.91	
肝・ビタミンB ₁ $\mu g/g$ -wet	3	0.57	0.29	3	2.84	0.86	
未熟赤血球 %	18	0.79	1.07	11	5.77	1.43	S
白血球数 $/10^4$ RBC	18	31.3	24.8	11	32.9	15.3	NS
リンパ球 %	18	55.1	31.1	11	87.9	6.4	S
その他*	18	15.7	26.8	11	1.7	1.6	NS

* ほとんど見られない白血球及び異常白血球

** 危険率5%での有意差の検定 S:有意 NS:有意差なし

きが大きい、未熟赤血球(%)とリンパ球(%)は有意に低かった。その他の白血球(%)は有意差が認められなかったが、実際には異常な血球が多数出現し、カタクチワシ投与区¹⁾と同様の像がみられた。

血液化学成分では、Ca・GPTが高く、Chol・LAP・LDHは低かった。TP・Cholの減少はカタクチワシ^{1,4)}やサンマ⁵⁾の単独投与でも認められている。またLAP・LDHの減少はカタクチワシの単独投与で生じることはすでに報告した¹⁾。TG・GOTには有意差は認められなかった。

また、肝臓中のV・B₁含量は対照区よりも明かに少く、含水率は高かったが、これらはカタ

表3 マイワシ投与・治療区と対照区の形態・血液性状・肝ビタミンB₁量の比較

	マイワシ治療区 (11.24 ~ 30)			対照区 (11.28 ~ 30)			
	N	mean	SD	N	mean	SD	
肥満度	10	15.66	0.66	10	17.22	0.93	S**
内臓重量比 %	10	5.92	0.52	10	6.40	0.61	S
肝臓重量比 %	10	1.61	0.35	10	2.22	0.25	S
脾臓重量比 %	10	0.178	0.097	10	0.182	0.085	NS
Ht %	10	53.36	4.39	10	50.89	3.41	NS
Hb g/dl	10	14.00	0.74	10	13.76	0.83	NS
RBC $\times 10^4/mm^3$	9	547.4	50.9	10	517.0	43.3	NS
MCV μ^3	9	96.41	4.12	10	98.83	7.91	NS
MCH $\mu\mu g$	9	25.49	1.89	10	26.70	1.72	NS
MCHC %	10	26.32	1.31	10	27.06	0.83	NS
TP g/dl	10	6.75	0.74	10	6.66	0.49	NS
カルシウム mg/dl	10	17.0	1.0	8	15.6	1.3	S
磷 "	10	8.0	1.3	8	7.7	0.9	NS
コレステロール "	10	450.3	71.4	8	519.4	77.0	NS
トリグリセリド "	10	303.1	100.6	8	407.3	169.1	NS
ALP K-G unit/ml	9	2.8	0.6	8	2.1	0.4	S
LAP G-R unit/ml	10	195.8	29.9	8	204.3	26.1	NS
LDH W unit/ml	10	2748	669	8	3750	1227	S
GOT K unit/ml	10	294.0	61.6	8	381.9	111.1	S
GPT K unit/ml	10	21.5	4.2	8	21.1	5.1	NS
肝・水分量 %	1	55.3	—	1	46.5	—	
肝・ビタミンB ₁ $\mu g/g$ -wet	1	2.27	—	1	2.01	—	
未熟赤血球 %	10	5.09	1.57	10	5.03	1.77	NS
白血球数 $/10^4$ RBC	10	82.2	36.6	10	60.0	27.4	NS
リンパ球 %	10	86.0	18.3	10	90.2	8.8	NS
その他*	10	0.9	1.7	10	2.0	4.6	NS

* 通常ほとんど見られない白血球及び異常白血球

** 危険率5%での有意差の検定 S:有意, NS:有異差なし

クテイワシ単独投与の場合^{1,4)}に一致する。

治療区の肥満度・内臓及び肝臓重量比は、同時期の対照区に比べて有意に低いが、血液性状及び血液像には差が認められなかった。また、Ca・LDHには依然有意差が認められたがLAP・GPT、肝臓中のV. B₁含量及び含水率は対照区のレベルに回復した。たゞ、ALPは対照区よりも高く、GOTは低くなった。

なお、病魚を個体の水準で比較すると、体表の出血の著しい個体に於いて、リンパ球が少なく、異常な血球が多い傾向が認められたが、他の項目との間には明瞭な関連は認められなかった。

経過 試験開始後 30 日目の両区の体重は同じか、むしろ試験区が勝ったが、摂餌の低下に伴って増重が緩慢になり成長が停止した(図 4)。30 日目から終了までの対照区(9 月 21

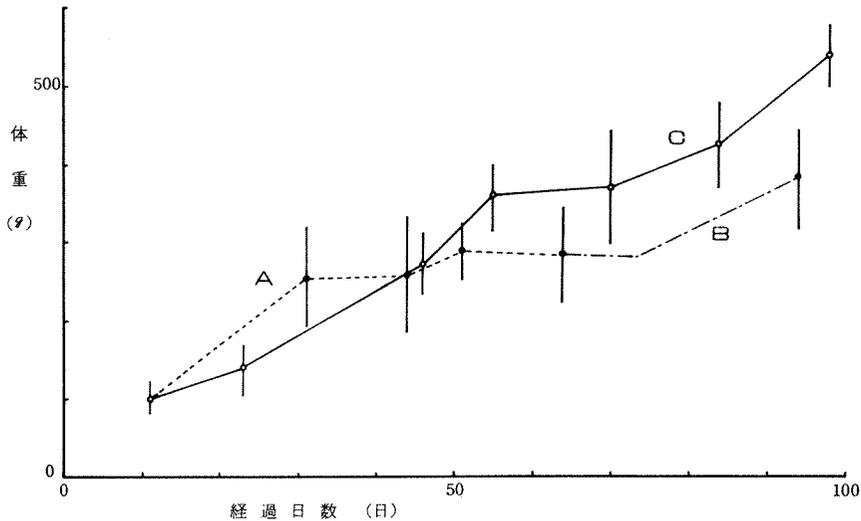


図 4 マイワシ投与区 (A) 及び対照区 (C) の体重の経過 (B はマイワシ投与・治療区)

日~10 月 20 日) の平均値を 1 として、試験区の各回の比率を求め、その経過を見た。同様にして求めた治療区の比を図に加えた(図 5)。45 日目(10 月 4 日)の測定値は被検魚のサンプリング方法に問題があって、すべての項目について明瞭な経過が得られたとは云えないが、予備試験の経過を併せ考慮すると次のような傾向がみられた。

肥満度(図 5-1)は次第に低下する。内臓及び肝臓重量比(図 5-2)も減少する。血液性状には大きな変化はない(図 5-3)。未熟赤血球(%)は 30 日目にすでに減少し、50 日目ではほとんど消失する(図 5-4)。リンパ球(%)は 30 日目に低下し、その後変化がない(図 5-5)。一方、斃死魚の出現に伴って異常な白血球(%)が増加する。TP(図 5-6)は 30 日目には対照区よりやや多いが、その後減少し、その経過は肥満度とよく一致する。Ca(図 5-7)は 30 日目にすでに対照区の 1.15 倍に増加し、その後同程度の高値を保つ。GPT(図 5-11)は 30 日目に急激に増加した後減少し、一過性の傾向がみられる。平均値の比較では有意差の認められなかった TG・GOT(図 5-10)は、試験期間の後半になってわずかに増加する。Chol(図 5-8)及び LAP(図 5-9)は、低下し、これらの変化は 45 日目の測定値を含めて TP に似ている。

治療区については平均値の比較の項で述べたので省略する。

考 察

飼育経過及び肉眼処見 2 回の飼育試験に於て、予備試験の方が斃死の経過がゆるやかであ

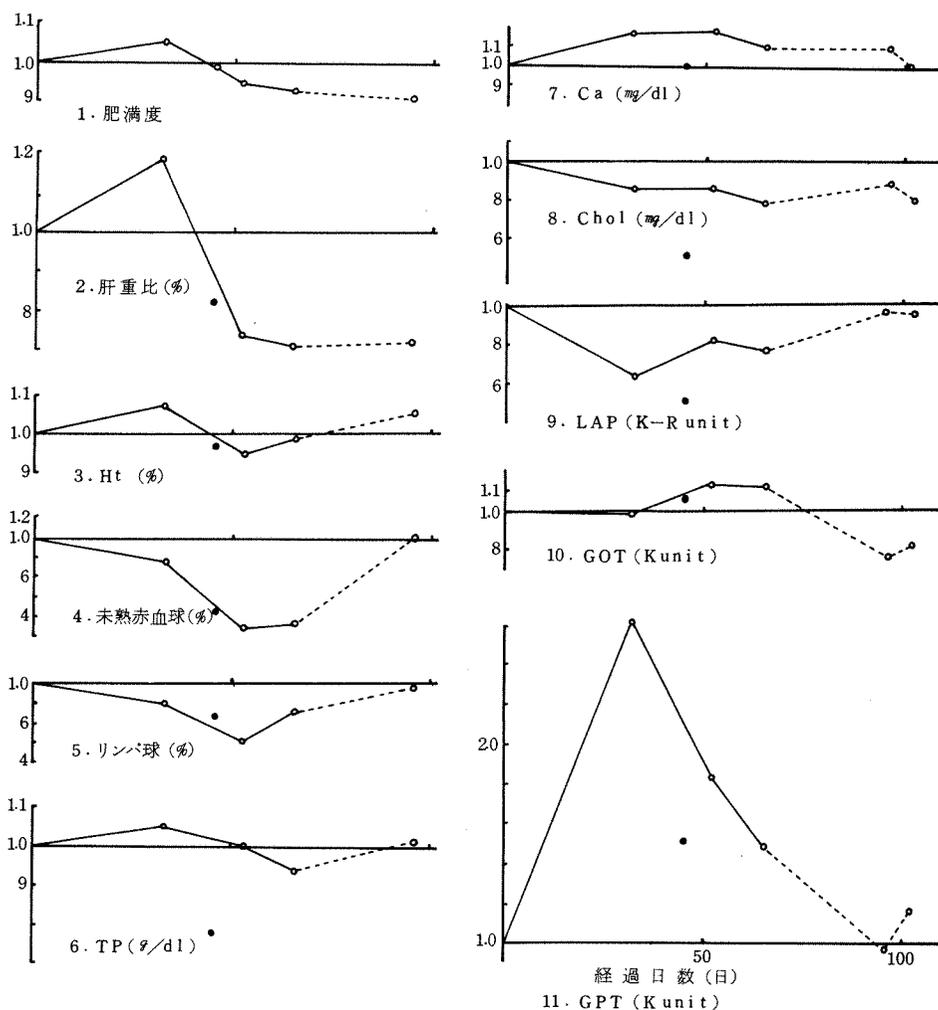


図5 各測定項目の経過(9月21日~10月20日の対照区の平均値に対する試験区の比
10月4日の測定値(黒塗)にはサンプリング上問題があったと思われる。

った。その原因は主として試験開始時の魚体重に約2倍の開きがあったためと考えられる。いづれにしても、マイワシを投与して30日頃から何らかの代謝異常に陥り、摂餌が低下して成長が止まり、消耗の過程に転化する。ハマチの体色は種々の条件で変化するので、客観的でないかも知れないが、摂餌の低下以前に現われる体色変化は早期診断の手掛りとなる。酸化タラ油の投与で青味を帯びることが報告されている⁶⁾

次に、行動に現われる特徴として、狂奔・旋回はカタクチイワシの投与でも観察されている^{1), 7~9)}狂奔に伴う出血の記載は手元の文献には見当たらない。脱鱗¹²⁾ヒレの充血⁸⁾ヒレの発赤と浅い潰瘍⁹⁾等が、本報に於る瀕死魚の処見に似ている。後2者の報告には細菌感染

の疑いが示唆されているが、本報の病魚は細菌感染症とは考えられない。即ちマイワシ単独投与によって引き起こされた症状である。たゞ、解剖処見も含めて、肉眼的にはカタクチイワシによる障害と明瞭に区別することは出来ない。

肝臓及び腎臓の組織像に於ては、カタクチイワシ投与区¹⁾との間にいくつかの差が認められた。肝細胞に脂肪が残存する個体が多いのは、発病以前の脂肪の蓄積量と関係していると考えられる。カタクチイワシ投与区では見られなかった肝組織の部分的な崩壊像については後述する。腎臓の変化は比較的軽微で、この点も後述の血液化学成分の所見と一致する。

形態及び血液性状 平均値の比較に於ても、また肥満度や肝重比の経過を見ても、試験区の低栄養状態による成長停止は明かである。しかし、血液性状にはほとんど差がない。平均値の比較で試験区の赤血球数が有意に低いが、その標準偏差が示すように低値に向ってのばらつきが大きいためである。したがって、貧血の個体が存在してもそれは本症の主症状とは云えない。たゞ、未熟赤血球が極端に少いので、さらに長期間生存すれば貧血が進行するのであろう。また造血の低下は肥満度や肝重比が高い時点ですでに現われているので、摂餌の低下が直接の原因であったとは考えられない。造血能の低下の原因が餌料のマイワシ自体に存在したと考えられる。

血液化学成分 P ang¹¹⁾は魚類の腎臓に存在するスタニウス小体が血液 Ca の上昇を抑えることと報告している。本報に於る血清 Ca の増加もスタニウス小体の機能低下を暗示している。また、Ca の増加と TP の減少は、イオン型 Ca の増加を意味するもので、興味ある事実である。一方、Pi は増加せず、腎臓組織の変化も軽微であったことから、腎臓機能の障害は認められず、カタクチイワシ投与の場合¹⁾とは異っている。

GPT の増加に続く GOT の増加はヒトの肝臓障害の傾向と似ており、試験区に於る肝臓障害の可能性が推察される。肝組織にみられた部分的な崩壊像もこのことを裏付けているようである。

正常な越冬魚では LAP 及び LDH と GPT との間に高い相関が認められる¹²⁾。また、GPT と肝重比との間の相関も高い¹³⁾。このように、3種の酵素は肝臓と密接な関連を持ち、ヒトでは肝機能障害によって増加すると云われている。然るに GPT の増加にも拘らず LAP・LDH が増加しなかったことは注目すべきであろう。むしろこの場合の LAP・LDH の減少は、斃死に至る魚体の活力の低下を示しているのかも知れない。

TP・Chol. が減少する時期は摂餌量が低下した時期に一致している。越冬魚¹²⁾や絶食魚¹⁴⁾でも TP・Chol. は減少するので、本試験区でのこれらの減少は摂餌低下に伴う低栄養状態を示しているものと推察される。しかも TG にあまり変化がなく、肝細胞中に脂肪滴が存在することから、カタクチイワシ投与区¹⁾に比べると、その低栄養状態はより軽度であったと考えられる。

マイワシ投与区の肝臓中の V. B₁ はカタクチイワシ投与区¹⁾と同様に減少したが、カタクチイワシ^{1,3,4)}とは異ってマイワシに高いサイアミンナーゼ活性は認められない。また正常なハマチでも越冬明けの5月には 1.0 $\mu\text{g/g-wet}$ 前後の低い V. B₁ 量を測定している(未発表)。

したがって本試験区に於る肝 V.B₁ 量の減少と含水率の増加はサイアミナーゼのみが原因とは考え難い。

以上述べてきたマイワシ単独投与による生理的な変動を、カタクチワシの場合と比較して表 4 に示した。肉眼的処見では区別の困難な障害の間にも、生理的にはいくつかの相違が認められる。

表 4 マイワシとカタクチワシ単独投餌による生理的変動の比較

	マイワシ単独投餌	カタクチワシ単独投餌
1. 栄養状態	軽度の低下	重度の低下
2. 貧血	軽微	再生不良性
3. 肝臓機能	機能障害	機能低下
4. 腎臓機能	—	機能障害
5. Ca の調節	不良	—
6. 肝臓中の V.B ₁ 含量	減少	減少
" 水分含量	増加	増加

マイワシ投与区のハマチの生理状態は、軽い肝機能障害を伴っているが、それが直接の死因とは考えられない。造血能が低下しているが、斃死を招くほどの貧血状態ではない。低栄養状態も軽度である。肝臓中の V.B₁ の減少も越冬期後半の正常魚と同程度である。また、過酸化脂肪の摂取量は対照区と同程度かそれ以下で、過酸化脂肪単独の障害とも考えられない。したがって、マイワシの単独投与によってハマチが斃死することは事実であるが、その原因を究明することは出来なかった。

なお、餌の切替えによって斃死は止まり、造血機能も 1 ヶ月後には回復した。また GPT の変化から、肝臓機能障害も治癒することが認められた。しかし、肥満度及び肝重比は回復するに致らなかった。10 月後半～11 月は越冬の準備期であり、エネルギー蓄積の時期である。推測の域を出ないが、このような状態のハマチが越冬期を迎えた場合、新たに生理的な負担が生ずるのではなからうか。

要 約

1. ハマチにマイワシを単独投与したところ摂餌の低下と高率の斃死が認められた。また、餌料魚種の切替えによって治癒した。
2. 発病魚の症状として、初期の体色の青変・狂奔に伴う体表及びヒレからの出血・表皮の剝離及びびらん・肝臓のうっ血・消化管及び幽門垂の充血が認められた。
3. マイワシ単独投与による生理的変動として、1) 未熟赤血球の減少、2) 肝機能の軽度の低下、3) スタニウス小体の機能の低下、4) 軽度の低栄養状態、が認められた。

文 献

- 1) 大橋 徹・藤田真吾：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）．本誌，2，48－56（1979）．
- 2) 小宮正文：図説血球の見方，第7版，南山堂，東京，1972，pp. 98～99．
- 3) 石原 忠・紀成尚志・保田正人：海産魚のチアミナーゼⅠの研究－Ⅱ，日水誌，39（1），55－59（1973）．
- 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－Ⅴ，日水誌，40（7），675－682（1974）．
- 5) 石原 忠・原 研治・中山英則・保田正人：海産魚のチアミナーゼⅠの研究－Ⅶ，日水誌，44（6），653－657（1978）．
- 6) 坂口宏海・浜口 章：酸化油添加飼料によるハマチの飼育とビタミンE添加の効果，日水誌，35（12），1207－1214（1969）．
- 7) 藤井修生・水津洋志・松崎幸夫・松里寿彦：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（1972）．
- 8) 酒井博行：餌料研究A，カタクチイワシのハマチ餌料としての適正化試験，昭和43年度愛媛水試事業報告，115－128（1968）．
- 9) 石川雄介・中野 励：岡山県下で起った養殖ハマチ病害の一事例，魚病研究，2（2），128－134（1968）．
- 10) 阿井敬雄・松原壮太郎・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）．
- 11) 小黒千足：下等脊椎動物のCa調節，化学と生物，15（1），27－29（1977），
- 12) 大橋 徹・藤田真吾：養殖ハマチの血液学的研究－Ⅱ，本報，2，36－47（1979）．
- 13) 藤田真吾・大橋 徹：養殖ハマチの血液学的研究－Ⅰ，本報，1，113－129（1977）．
- 14) 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）．