

連鎖球菌に対するハマチの感受性に 与えるビタミン欠乏の影響

藤 田 眞 吾

Effect of Vitamin Lack on Sensitivity to Streptococcal
Infection in Cultured Yellowtail

Shingo FUJITA*

ハマチ *Seriola quinqueradiata* の養殖において、連鎖球菌症の被害を軽減することは最も大きな課題のひとつである。同一地域で連鎖球菌症が発生しても、最終的な斃死率は業者間でかなり異なることが多い。その原因は色々考えられるが、近年夏から秋の餌料がマイワシ *Sardinopus melanosticta* に偏り、それ以外の餌料魚種の使い方が業者間で異なることがあげられる。ある種のビタミン類の欠乏が魚類の耐病性を低下させると言われている¹⁾。餌料としてマイワシを連用すると、ハマチの肝臓中のサイアミン量が速やかに減少する²⁾が、このような栄養の欠陥が罹病率・斃死率に関与しているのではないかと思われる。そこで、マイワシのみ、及びマイワシとサバ *Scomber japonica* の2種類を餌として飼育したハマチに対して連鎖球菌の人為感染を試みたところ、両者の斃死率及び罹病率に差が認められたので、その結果を報告する。

材料及び方法

実験魚 府下の地曳網で採捕された体重30～80gのブリ稚魚600尾を、昭和55年8月上旬に購入し、予備飼育の後、9月上旬に2区に分け、実験区には体長5～8cmのマイワシを、対照区にはマイワシと冷凍サバを交互に与えた。マイワシについては解凍に伴う変敗の影響を避けるため、可能な限り鮮魚を用いた。

10月中旬に実験区の摂餌が不活発になり、マイワシ連用の影響が認められたので感染実験を開始した。供試魚の尾叉長及び体重は、実験区 21.9 cm・139.1 g, 対照区 24.3 cm・202.0 gであった。対照区からは出来るだけ成長の遅れた魚体を選んだが、両区の体重差は避けられなかった。感染実験は1t容のパンライト水槽を使用し、1日1回約 $\frac{3}{4}$ 量の換水と通気の下で行った。そのため水温は10.4～15.9℃と大きく変動した。

実験1：腹腔内接種 実験区・対照区の供試魚を夫々10尾用いた。昭和55年8月にハマチの腎臓から分離した保存株を一回生体通過し、BHI寒天に穿刺して5℃に保存し、供試菌とし

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

た。BHI寒天斜面上で25℃で48時間増菌し、菌体を0.85%食塩水に懸濁して接種菌液とした。菌数は分光光度計により波長660nmの濁度から算出した。予備実験の結果から、接種菌量は 5.5×10^6 個/尾とした。斃死魚及び実験打ち切りの時の供試魚について解剖観察を行い、症状の不明瞭な場合は腎臓血液をEF寒天(ニッスイ)上に塗抹培養して罹病の有無を確かめた。

実験2：菌液浸漬 実験区・対照区の供試魚を夫々20尾用いた。BHIプロスで、25℃で48時間培養した培養液を直接海水に混入して菌液とした。健康魚を使用して行った予備実験では、濃食塩水に2分間浸漬した後、 3×10^6 個/mlの菌液に3分間浸漬して40%の罹病率を得た。しかし、濃食塩水に2分間浸漬すること自体が実験区の魚を衰弱させたので、感染実験では1～1.5分に短縮した。供試菌株、罹病の確認等は実験1と同様である。

なお、感染後5時間、1, 3, 5, 7, 11, 20日目に各区の5～7尾のキュービエ氏管から少量の血液を採取し、その1滴を馬血液寒天(ニッスイ)に塗抹して、血液中の菌数をオーダーの水準で概算した。

結果及び考察

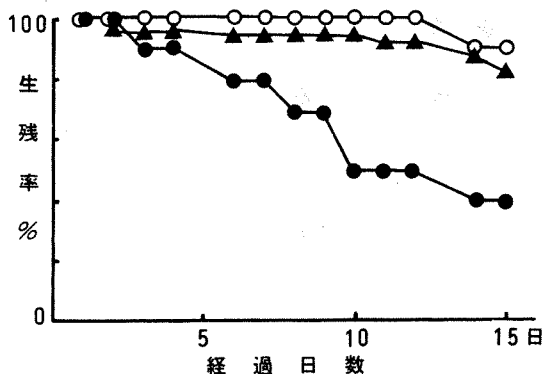


図1 5.5×10^6 個/尾腹腔内接種後の生残率
○対照区 ●実験区 ▲マイワシ単用(接種せず)

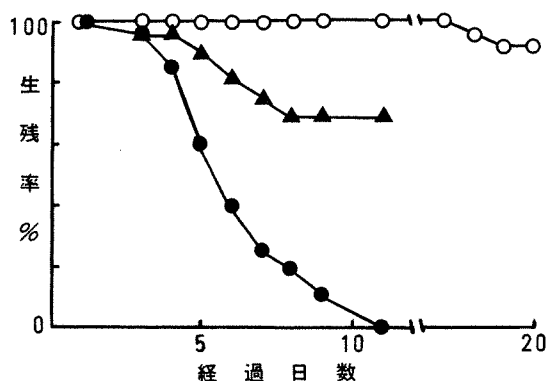


図2 3×10^6 個/ml菌液浸漬後の生残率
記号は図1に同じ

実験1の腹腔内接種の結果は図1のとおりであった。この時期にはマイワシ連用のみの影響で主として小型の飼育魚が死んでおり、感染実験開始の日を起点とした15日間のそれらの生残率は82%であった。次回の実験の都合で15日で観察を打ち切った。連鎖球菌症の症状を示す魚体及び腎臓から多数の菌が検出された魚体を合計すると、対照区の罹病率は80%、実験区のそれは100%であった。

実験2の菌液浸漬では、実験区の魚は11日間ですべて斃死した(図2)。対照区は15日目までは斃死せず、18, 19日目に夫々1尾が斃死して90%が生残した。この時期には餌料性疾患のみによる斃死も

多く、感染実験開始から11日間の、マイワシ連用区の生残率は70%であった。従って、浸漬処理の際に衰弱魚・小型魚は除き、処理翌日の斃死魚を除いてはあるが、実験区の魚に対する浸漬処理または取扱い自体の影響は否定できない。しかし、5日目以後の斃死魚の多くは典型的な肉眼的症状を示したので、実験区の魚の斃死は明らかに連鎖球菌の感染によるものである。

2回の実験のいずれにおいても、感染後3～5日目以降の死魚には心外膜炎が顕著に認められ、10日間以上生存した罹病魚には眼球突出、胸鰭・臀鰭の基部及び鰓蓋内面に小膿巢を生じて典型的な症状を呈した。一方、早期の斃死魚では、腎臓から多量の菌が発育するが症状に乏しい。養殖場から持込まれる病魚でもときおり後者のような例に遭遇するが、それらに対しては細菌感染以外の、または以前の別の原因を疑ってみる必要がある。

実験2における血液中の菌数の変化は図3のようであった。採血及び塗抹培養の操作が厳密に無菌的ではないので、発育した集落の数が10個未満の場合はそれが連鎖球菌であっても省いてある。実験区の魚体内では急速に増菌が行わ

実験区	経過日数	対照区
○ ○ ○ ○ ○	14	○ ○ ○ ○ ○
○ ○ ○ ○ ○ ●	1	○ ○ ○ ○ ○ ○
○ ○ ● ● ● ●	3	● ○ ○ ○ ○
● ● ● ● ● ●	5	● ● ○ ○ ○ ○
○ ● ●	7	● ○ ○ ○ ○ ○
	11	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
	20	● ○ ○ ○ ○

図3 菌液浸漬後のハマチ血液中の菌数の変化 ($\frac{1}{3}$ 注射針1滴中)
 ● $> 10^3$, ● 10^2 , ● 10^1 , ○ < 10 または発育せず

れ、感染後5日目の実験区では、採血した6尾のすべての血液から連鎖球菌が検出された。対照区では、大部分の魚の血管内に菌が侵入しなかったか、除菌されたかのいずれかである。血液から菌が検出されなかった魚体に於ても、その塗抹血液像では顆粒白血球が著しく増加している*。ウナギ *Anquilla japonica* に *Aeromonas*³⁾及び *Vibrio*⁴⁾を接種した場合、ハマチに *Nocardia*を接種した場合⁵⁾等、種々の細菌感染初期に好中顆粒球が増加すると言われているので、本実験に於ても初期感染は成立したと考えられる。

以上、実験区の魚がすでに餌料性疾患末期の状態に近かったために極端な結果が得られたが、マイワシの連続投与が連鎖球菌の感染に対するハマチの抵抗力を弱めたと考えられる。その原因としてここではサイアミン欠乏のみを想定した。餌料性疾患に続いて細菌感染症が発生する例は多く経験するから、特定のビタミン欠乏に限らず、もっと広範囲な生理的異常が魚体の防禦能の低下に関与しているのかも知れない。

* 未発表

一般に魚は個体差が大きいから、不適當な餌料管理のもとで長期間飼育されたハマチの集団内には種々の程度の異常魚が混在していると考えられる。それらの異常魚は、餌料性疾患の症状を示す程重症でなくても細菌感染に対する防禦能が低下していて、集団内で最初の感染と生体通過の場を病原細菌に提供することになり、あるいは投薬によって治療しても再発の出発点になるのではなからうか。

稿を終えるにあたり、実験について有益な助言及びご校閲をいただいた塩川司所長、並にご校閲をいただいた松岡祐輔部長、田中俊次主任研究員に深謝の意を表します。

要 約

- 1) 正常なハマチと、マイワシの連続投与でビタミン欠乏症に陥ったハマチに連鎖球菌を人為感染させ、斃死率を比較した。
- 2) 菌液の腹腔内接種及び菌液浸漬のいずれの感染方法によっても、欠乏症のハマチの罹病率・斃死率が明らかに高かった。
- 3) サイアミンの欠乏が連鎖球菌に対するハマチの防禦能を低下させると考えられた。また、集団（生簀）内での初期の感染機構を推察した。

文 献

- 1) C. van DUIN, Jnr : Diseases of Fishes, 3rd ed., Iliffe, London, 1973, pp. 292 - 293.
- 2) 藤田眞吾・大橋徹：マイワシ投与によるハマチの疾患について，本誌 2， 57 - 66(1978).
- 3) 畑井喜司雄：魚における血流中接種細菌の動態に関する研究 - II，魚病研究, 7 (1), 34-43 (1972).
- 4) 室賀清邦：*Vibrio anguillarum* およびその感染症に関する研究，広島大水畜産学部紀要, 14， 101 - 215 (1975).
- 5) 池田弥生：養殖ハマチの血液成分に関する診断学的研究，京大農学部学位論文， 1 - 91 (1976).