

小麦発酵抽出物含有飼料を用いた養殖場におけるアユ飼育試験

湯浅明彦・土佐野治茂*

小麦共生細菌である*Pantoea agglomerans*が含有する低分子糖脂質（以下LPSpと略記する）は、クルマエビの急性ウイルス血症（略称PAVD）の予防に著効が認められるなど¹⁾、強い免疫賦活作用を示すことが報告されている。サケ科魚類のアユでは、シュードモナス病感染試験において予防効果が認められた²⁾。また、アユの細菌感染症として最も被害が大きい冷水病では、室内試験で予防の可能性が認められたが、実用的な防除技術は確立されていない²⁾。LPSpを高濃度で含有する小麦発酵抽出物を飼料に添加して養鶏場のブロイラーに投与することで、廃羽数が減少し成長が促進されることが報告されている。小麦発酵抽出物を養魚用飼料に添加して投与することで感染症の防除効果が期待されることから、本研究ではアユ養殖場の産業規模の飼育施設を用いて野外試験を実施したのでその結果を報告する。本試験は、財団法人とくしま産業振興機構の委託事業である平成17年度地域新生コンソーシアム研究開発事業（バイオ技術による安全安心な感染防除飼料製造技術の開発）により実施した。

材料と方法

土佐野養魚場では、琵琶湖で採捕されたアユ稚魚を11月から飼育し、翌年5月頃から市場に出荷している。琵琶湖産の稚アユには冷水病に感染したものが含まれていて、多くの場合導入直後から発病による死亡が始まる。承認医薬品（合成抗菌剤）による治療が行われるが、再発と投薬が繰り返され、その後薬剤耐性を示すシュードモナス感染症が発病する場合がしばしば見られる。同養魚場で小麦発酵抽出物を添加した配合飼料を投与する飼育槽を設定し、同条件で通常の配合飼料を投与する飼育槽と比較することで効果を検討した。

1 飼育魚

滋賀県琵琶湖で2005年11月にエリ漁法で捕獲された稚アユ（採捕された翌日に輸送したもので「無蓄種苗」と呼ばれる）を1月下旬まで土佐野養魚場で飼育し、自動隙間選別機で魚体重を均一にした後、試験区と対照区の飼育槽に収容した。試験区に平均魚体重12.0g、総重量810kg、約67,000尾を収容し、対照区に平均魚体重10.1g、総重量730kg、72,000尾を収容した。

2 飼育水槽

隣接した面積200平方メートルの2水槽を試験区と対照区

に設定した。水槽は建屋内にあり、ポンプで揚水した地下水を飼育水として使用している。両水槽の取水量と飼育水温（約18℃）は、一定に設定している。

3 小麦発酵抽出物を含有する素材（略称FFPA）と配合飼料への添加

試験区にはヤエガキ発酵技研株式会社が生産した小麦発酵抽出物からニッチク薬品工業株式会社が作製したプレミックスを、製造過程で均一に混合したアユ用配合飼料を投与する予定であった。徳島文理大学健康科学研究所が開発したモノクロナール抗体を用いたELISA法でこの試験用配合飼料のLPSp含有量を測定した結果、予定値（2μg/g）の僅か1.6%（約32ng/g）であることが明らかになった。また、プレミックスのLPSp含有量は、ELISA測定値で約40%に低下していたことが明らかになった。これは、配合飼料を製造する過程で有効成分の約96%が失われたことになる。そこで、試験区に投与する配合飼料はLPSpの含有量が640μg/gとなるようにプレミックス（ELISA測定値256μg/g）を通常の配合飼料に添加混合した（4.投与方法参照）。しかし、この試験用配合飼料もELISA法で測定した結果、LPSp含有量は予定値に対して約41%（262ng/g）であったことが後に判明した。

4 投与方法

試験区にはプレミックスをフィードオイルに混合懸濁させたものを、攪拌機で配合飼料に外添した試験用配合飼料を飼育槽に設置した自動給餌機で投与した。対照区には通常の配合飼料を投与した。一回の投与時間は概ね30分から1時間かけて行い、一日の給餌回数は4回とした。試験用配合飼料の投与は免疫賦活物質の効果的な投与方法とされている間欠法³⁾により実施した。12日間連続投与した後、平成18年1月28日から3日間休み、再び4日間投与し、その後40日間間欠投与を繰り返した。有効成分が1日魚体重（kg）あたり20μgになることが最も効果的な投与量であることから¹⁾、プレミックスの添加量を給餌量に合わせて調整した。前述したように、LPSpの含有量が予定値の約41%であったので、実質投与量は1日魚体重（kg）あたり8.2μgであった。

5 評価方法

試験期間中の給餌量、飼育魚の死亡重量と死亡尾数及び飼育魚の目視観察の結果について試験区と対照区で毎日記

*有限会社土佐野養魚場

録した。試験期間中に7~8回飼育魚をタモ網ですくい、重量と個体数を測定して平均体重を算出することにより成長量を求めた。飼育魚の目視観察の結果は、「大変良い」「良い」「普通」「悪い」 ϕ 「大変悪い」の5段階で評価した。

結 果

1 給餌量

1日あたりの給餌量は試験区及び対照区ともに期間を通じてほぼ同様の増加傾向を示した(図1)。試験期間中に摂餌の低下に伴う給餌量の減少が、試験区は3度、対照区は1度みられたが、長い場合でも一週間後に摂餌が回復した。総給餌量は、試験開始時点の給餌量が多かった試験区(1647.4kg)が対照区(1573.8kg)を上回った。

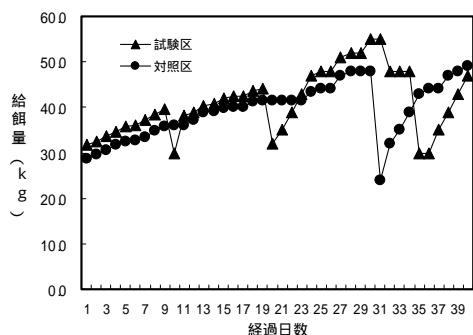


図1 1日当たりの給餌量の推移

2 斃死魚の重量と尾数

一日当たりの斃死魚重量を図2に示した。平年と比較して、池入れた魚体重に対する斃死魚重量が多いことは無かった。試験開始13日までの斃死重量は低めに推移していたが、15日以降、冷水病の影響により増加に転じた。抗菌剤(スルフィソゾール)の投与により26日以降斃死魚は減少した。抗菌剤の魚体重当たり投薬量と投薬期間は、試験区と対照区で同条件にした。飼育開始後15~33日の斃死重量は両区とも同様の傾向を示し、斃死魚の総重量は試験区で29.95kg、対照区で29.34kgであった。斃死魚数は斃死魚重量とほぼ同様の傾向を示し(図3)、斃死魚総数は試験区で2,616尾、対照区で2,534尾であった。

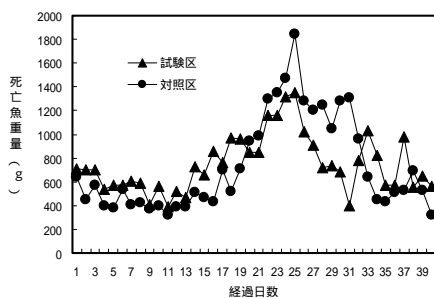


図2 1日あたりの斃死魚重量の推移

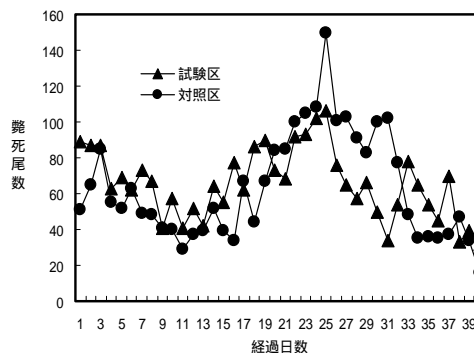


図3 1日あたりの斃死魚尾数の推移

3 成長

試験期間中に測定した平均魚体重の推移を図4に示した。対数値の回帰直線とその指数関数式を図中に示した。試験区と対照区における回帰係数は、0.0159と0.0182であり、対照区の値が大きい。しかし、体重の小さいアユほど餌料効率が良く成長率も大きく見積られる傾向があることから、対照区の平均体重の初期値(10.1g)を試験区(12.0g)とほぼ等しくなるように回帰式を用いて補正した。この補正後の回帰係数は0.0163であり、試験区の回帰係数にほぼ一致した。

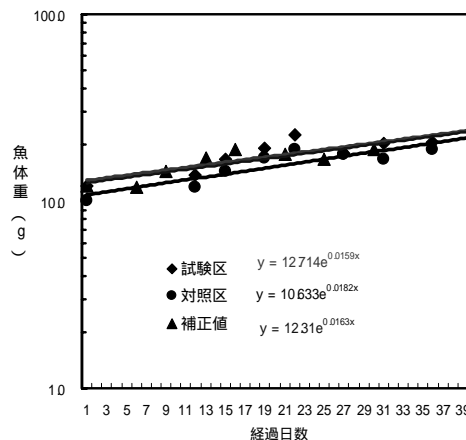


図4 試験魚の成長

4 目視観察

摂餌状態から見た飼育魚の活力を、飼育日単位で評価した。表1に示したように、「良い」「大変良い」と判断された日数は、試験区が23日で対照区が19日であった。「普通」と判断された日数は、試験区が7日で対照区が14日、それに対して、「悪い」あるいは「大変悪い」と判断されたのは、試験区が10日で対照区が7日であった。

試験開始直後は試験区の調子が相対的に良好であったが、中期以降は対照区が良く、後期には再び試験区の調子が良かった。試験期間を通じて対照区の飼育魚の活力がやや良好であったが、大きな差は認められなかった。

文 献

表1 摂餌状態の目視観察結果

	試験区	対照区
大変良いと判断された日数	2	1
良いと判断された日数	21	18
普通と判断された日数	7	14
悪いと判断された日数	6	5
大変悪いと判断された日数	4	2

考 察

小麦発酵抽出物をプレミックス (FFPA) に加工する過程で、有効成分が約40%に低下し、これを添加して製造された配合飼料中の有効成分が4%に低下した原因は明らかではない。FFPAを油脂に懸濁して混合した配合飼料を阻害物質の影響がない条件下で測定した結果、有効成分量が予定値の41%に低下した。一方、ホモジナイザー (キネマチカ社製ポルトロン) を用いて小麦発酵抽出物を同じ油脂に懸濁させた場合には有効成分量の低下はみられなかった。このことから、配合飼料中には有効成分のLPSpを吸着又は測定を阻害する物質が含まれ、配合飼料の製造過程の加熱と加圧でLPSpの分解と吸着が促進された可能性がある。測定値が低下した原因を解明するとともに、必要なLPSpを含有する飼料を製造する技術を確立する必要がある。

摂餌量、斃死魚重量、斃死尾数の推移及び目視観察の結果から、小麦発酵抽出物を投与することによる明瞭な効果は認められなかった。LPSpを経口投与することで得られる免疫賦活作用の特徴は、微量 (数十 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}$) で強い効果が得られるが、有効投与量の幅が狭いことが指摘されている。本試験ではシュードモナス病によるアユの攻撃試験から、有効性が期待できる20 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}/\text{day}$ を投与する予定であったが、実質の投与量は約8.2 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}/\text{day}$ であった。その結果十分な効果が得られなかったものと考えられる。また、試験期間中の冷水病の病勢が例年より弱く、死亡尾数が少なかったことも対照区と試験区間の差が明瞭でない要因であったと考えられる。

近年、アユ養殖に被害をもたらす最大の要因は*Flavobacterium*属細菌が感染することで発病する冷水病である。室内感染実験ではLPSpを経口投与することで冷水病を予防することはできなかった²⁾。冷水病に対する感受性はアユの系統により異なり、琵琶湖産の稚アユは両側回遊を行う海産稚アユと比較して抗病性が劣ることが報告されている⁴⁾。このような場合、自然免疫の高進では防御免疫として不十分であり、ワクチンによる更に強力な獲得免疫が冷水病の防御のために必要であることが考えられる⁵⁾。

- 1) Y. Takahashi *et al.* Enhancement of disease resistance against penaeid acute viraemia and induction of virus-inactivating activity in haemolymph of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, by oral administration of *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide (LPS). *Fish Shellfish Immunology* (2000)**10**, 555-558
- 2) 湯浅明彦, 谷本 剛. 低分子リボポリサッカライドの投与による魚病予防の効果試験. 徳島県立農林水産総合技術センター水産研究所事業報告書 (2002) 61-63 .
- 3) 高橋幸則, 伊丹利明, 近藤昌和. 魚類およびエビ類に対する免疫賦活物質の作用. 月刊海洋 (1998) 号外 No14.154-158
- 4) T. Nagai, T. Tamura, Y. Iida, T. Yoneji. Differences in Susceptibility to *Flavobacterium psychrophilum* among Three Stocks of Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish Pathol.* (2004)**39**(3), 159-164.
- 5) 湯浅明彦. 免疫賦活物質とはなにか. 徳島水研だより (2002)No.48