

# アユ幼魚の生残、成長及び抗病性に対する ビタミンC高添加飼料の効果

山本 章造・安家 重材

Effects of Dietary Vitamin C Levels on Mortality, Growth,  
and Vibriosis Resistance of Young Ayu *Plecoglossus altivelis*

Syozo YAMAMOTO and Sigeki YASUIE

市販の配合飼料に添加されるビタミンC源としては、大量にしかも安価に入手しやすいカルシウム塩を多く用いている。しかし、これは熱に不安定で水中ではすみやかに分解するために魚に最も欠乏しやすいビタミンの一種<sup>1)</sup>とされている。そこで、ビタミンC源として熱や水に対し高い安定性を有するリン酸-L-アスコルビルマグネシウム（以下APMと略す。）及びL-アスコルビル-6-モノステアレート（同AMS）を用い、アユ幼魚による利用の可能性と効果について検討した。また、ニジマス *Salmo (Salmo) mykiss* やアメリカナマズ *Ictalurus punctatus* ではビタミンCの欠乏症が発現する<sup>2,3)</sup>一方、ビタミンC高添加飼料で飼育すると、免疫機能が向上し抗病性が強まる<sup>4-6)</sup>ことが知られており、高添加効果についても検討した。

## 材料と方法

**試験区** 試験区は4区設け、試験飼料の原料組成を表1に示した。タンパク質源として沿岸魚粉を主体にした飼料に、APMとAMSをビタミンC換算量として、0, 20及び200mg%になるように外割で添加した。なお無添加区のビタミンCを定量した結果、検出されなかった。

**供試魚と飼育方法** 海水で人工生産した種苗を淡水に馴致後約2か月間飼育した幼魚を試験に供した。試験開始時の平均体長は $63.7 \pm 5.42$  mm（平均値±標準偏差）、平均体重は $2.9 \pm 0.87$  g（同）であった。各試験区に200尾ずつ供した。

飼育水槽には1kl容の黒色円形水槽を用い、通気しながら地下水を流水にして飼育した。換水量は1日に2.5回転/槽にした。給餌は1日に体重の3~4%の量を3

回に分けて与えた。

飼育試験の期間は1988年6月15日から8月3日までの54日間であった。飼育期間中の平均水温は $16.4^{\circ}\text{C}$ （9時）及び $17.3^{\circ}\text{C}$ （15時），容存酸素量は46.8~71.2%であり、地下水を使用したために、アユ幼魚の飼育にはいずれもやや低めであった。

**ビタミンC及び脂質の定量** 飼育試験終了時に体長と体重を測定した後、肝臓と筋肉部に分けて凍結し、魚体の分析に供した。魚体中のビタミンC及び脂質の定量は、昭和電工分析物性センターに依頼し、それぞれジヒドロジン法及びエーテル抽出法により行った。

**抗病性** 飼育試験終了時のアユをビブリオ菌に人為感染させ、抗病性を調べた。人為感染に使用した菌株は *Vibrio anguillarum* PT-479株で、血清型はJ-0-1型である。培養直前に魚体を通して新鮮菌を、1%食塩加ブレインハートインヒュージョンブイヨン（日本製）を用いて、 $25^{\circ}\text{C}$ で24時間培養した。

1 ml当たり $2.9 \times 10^6$  個の菌液 5 lに各区20尾の魚を

表1 試験飼料の原料組成 (%)

原 料	1	2	3	4
魚粉	54.0			
小麦粉	20.0			
大豆油かす	8.0			
米ぬか油かす	8.0			
その他 <sup>*1</sup>	9.6			
ビタミンプレミックス <sup>*2</sup>	0.3			
ミネラルプレミックス	0.1			
APM (mg%)	0	43	430	
AMS (mg%)	0	0		430

\*1 飼料用酵母、小麦胚芽など

\*2 ビタミンCを除く

表2 飼育試験結果

試験区	1	2	3	4
尾 数			各区200	
開 始 平均体重 (g)		2.9±0.87		
時 期 平均体重 (mm)		63.7±5.42		
肥 満 度 ( $\times 10^5$ )		1.12		
総 重 量 (g)		580		
尾 数	187	189	189	198
終 終 平均体重 (g)	8.1±2.72	7.6±1.97	8.4±2.80	9.0±2.77
了 了 平均体重 (mm)	84.2±9.72	82.8±5.49	85.2±10.40	85.4±8.58
時 期 肥 満 度 ( $\times 10^5$ )	1.35	1.33	1.35	1.44
総 重 量 (g)	1514.7	1436.4	1587.6	1746.0
死亡尾数	13	11	11	6
給 餌 量 (g)		各区1385 g		
増 重 量 (g)	934.7	856.4	1007.6	1166.0
成 長 倍 率 (%)	279.3	262.1	289.7	310.3
生 残 率 (%)	93.5	94.5	94.5	97.0
飼 料 効 率 (%)	67.5	61.5	72.8	84.2
成 長 率 (%/day)	1.89	1.78	1.97	2.09

表3 魚体中の総アスコルビン酸量 ( $\mu\text{g/g}$ )

部位	区	1	2	3	4
肝臓		52	80	91	102
筋肉		28	32	32	37

表4 魚体中の脂質 (%)

部位	区	1	2	3	4
肝臓		7.5	12.6	8.6	10.6
筋肉		2.5	2.0	2.1	3.0

10分間浸漬して攻撃した。攻撃時の水温は17.3°C、攻撃後の飼育水温は17.1°Cであった。攻撃後10日間飼育し、その間のビブリオ病による死亡状況を観察した。ビブリオ病による死亡の確認はスライド凝集反応によった。

### 結 果

**飼育試験結果** ビタミンC源と添加量が異なる飼料で54日間飼育した結果を表2に示した。飼育試験期間中の生残率はいずれも90%以上で高かったが、添加量が少ない区で若干低い傾向を示した。飼育試験開始後20日頃から1、2及び3区の摂餌がやや不活発になり、まもなく体表背部の表皮が部分的に白斑状を呈し、チョウチン病

の徴候を示す病魚が出現した。この症状はビタミンCの添加量が少ない区ほど早期に現れ、2区で最も激しかった。ほとんどの死魚はこの症状を呈し、白斑部には多数の細菌が付着していたが、死魚の肝臓から病原菌は分離されなかった。この症状はニフルスチレン酸ナトリウムの薬浴によって軽減された。

飼育試験終了時の平均体重は4区で最もすぐれ、ビタミンC低添加区で劣る傾向があったが、有意な差はなかった。肥満度も4区で最も高かった。飼料効率は61.5~84.2%，日間成長率は1.78~2.09%/日の範囲で、この大きさのアユに対しては全体的に低かったが、1、2区に比べ3、4区がすぐれた。飼料効率と日間成長率がいずれの区も劣ったのは、飼育水温が低いこともあるが、試験水槽が小さく収容尾数が少ないなどの飼育条件が十分でなく、魚が常に遊びやすい状態で飼育試験を行ったことも原因となっている。

3区と4区のAPMとAMSは、ビタミンC換算量として等量を飼料に添加したが、飼育試験結果ではAMS区がAPM区よりも成長がすぐれる傾向を示した。

なお、54日間の飼育試験の期間中に、体形異常や出血などのビタミンCによる外観的な欠乏症は現れなかった。

**魚体中のビタミンCと脂質の蓄積量** 飼育試験終了時に、試験区別のアユの肝臓と筋肉組織中のビタミンC及び脂質量を定量した結果を表3、4に示した。ビタミンCは、無添加区でも、肝臓に52 μg/g、筋肉に28 μg/g

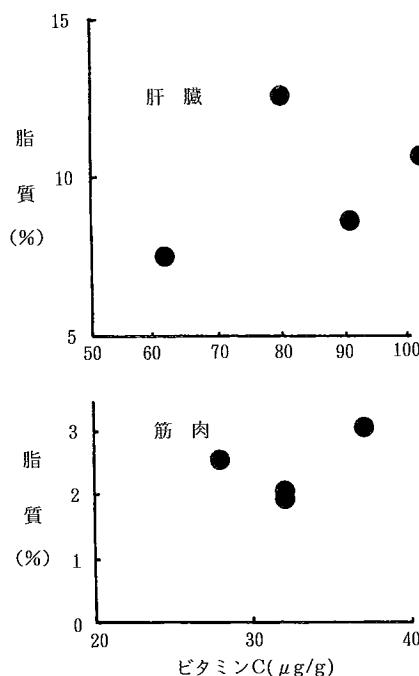


図1 組織中のビタミンCと脂質の関係

蓄積されており、飼料中のビタミンC量が多いほど肝臓及び筋肉中の量も多い傾向があった。その蓄積量は筋肉よりも肝臓に多く、APM区よりもAMS区に多かった。これらのことから、アユ幼魚はビタミンC源としてAPMとAMSをともに利用できるが、蓄積量から見るとAPMよりもAMSの方が有効性が高いことが明らかになった。

肝臓中の脂質は、ビタミンC無添加区7.5%に対し、添加区は8.6~12.6%の範囲でいずれもわずかに高かったが、ビタミンC添加量との相関はなかった。次に、組織中のビタミンCと脂質の関係を図1に示した。肝臓と筋肉のいずれの組織においても、ビタミンCと脂質との間の相関は低かった。

**ビブリオ菌に対する抵抗性** 飼育試験終了時のアユを、ビブリオ菌で攻撃した後の死亡状況の変化を表5に

示した。

死亡は攻撃後3日目から始まり5日目まで続いた。いずれの死魚も、ビブリオ病の急性的な症状を呈し、攻撃が強すぎる傾向があった。ビブリオ病による最終的な死亡率は75~95%の範囲で、死亡率とビタミンC添加量との間に相関は認められなかった。ただ、ビタミンC高添加区では死亡のピークが若干遅れる傾向があった。

### 考 察

ビタミンCを高添加した飼料でアユ幼魚を飼育しても、成長にはあまり差を生じなかったことから、ビタミンCの高添加による成長促進の効果は期待できないと思われた。

アユのビタミンC欠乏症としては、後期仔魚期に、体形異常や脊索白化の症状が現れ<sup>7)</sup>、体重2g以上では9週間飼育すると、眼球の突出、眼球や鰓基部の出血、鰓蓋や下顎部の損傷などの症状<sup>8)</sup>が観察されている。また、ニジマス<sup>9)</sup>やアメリカナマズ<sup>10)</sup>にも欠乏症が発現し成長段階によってビタミンCの要求量が変わることが知られている。アユ幼魚をビタミンC無添加飼料で54日間飼育しても欠乏症は現ず、また、魚体中にビタミンCが蓄積されていたことから、アユはある程度の生合成能を有すると考えられた。また、アユのビタミンC欠乏症は60日間以上の飼育で発現する<sup>8)</sup>ことから、飼育期間が短すぎたとも考えられる。

ニジマスではビタミンCが不足すると、外観的な欠乏症が現れてなくとも、皮膚や骨のコラーゲン形成が阻害され、損傷を受けやすくなつて治癒能力が低下する<sup>9)</sup>ことが知られている。アユ幼魚では、飼育試験開始20日以後からチョウチン病の徴候である表皮の潰瘍が発現し、ビタミンCの添加量が少ない区ほど、その症状は顕著であった。これはビタミンCの不足によって表皮のコラーゲン形成が阻害された結果、発病しやすかつたためと考えられる。

ビブリオ菌による人為感染試験では攻撃力の問題などがあつて死亡率の差が少なく、ビタミンCと抗病性の関

表5 攻撃後の死亡数の変化

試験区	0	1	2	2 9時	20時	経過日数					死亡数合計	死亡率%
						3	4	5	6	7		
1			6	3	8						17	85
2			3	7	8	1					19	95
3			3	3	7	3	1				17	85
4			2	4	6	3					15	75

係については十分に論議できないが、発病の遅れは若干認められた。ビブリオ菌などの感染門戸の一つは体表と考えられている<sup>10)</sup>が、体表には菌の付着を抑制する能力があつて<sup>11)</sup>、体表粘液中に非特異的な抗菌性物質の存在が確かめられている<sup>12)</sup>。また、ニジマスやアメリカナマズにビタミンCを大量投与すると、免疫機能が高まり<sup>4-6)</sup>、抗病性が強まることが知られている。アユ幼魚の体表における発病の程度に差があったことから、ビタミンCの大量投与による抗病性の強化は十分に推察できると思われた。また配合飼料に添加されるビタミンの量は、成長の低下や外観的な欠乏症を起さない量を基準に考えられており<sup>13)</sup>、抗病性の強化という観点からも添加量を検討すべきであると思われた。

ビタミンC源としてのAPMとAMSのアユによる利用能について考えると、AMS区はAPM区よりも、アユ幼魚の成長が若干すぐれ、表皮の発病の程度が低く、さらに魚体中のビタミンC蓄積量が多かった。これらのことからアユ幼魚はAPMよりもAMSをビタミンC源として効率的に利用していると考えられた。この利用率の差はAPMが水に可溶であるのに対し、AMSは不溶であることの物性の差による可能性があると考えられた。

#### 要 約

1. アユ幼魚の生残、成長及び抗病性に対するビタミンC源とその高添加飼料の効果について検討した。
2. 生残率はいずれの区も90%以上で高かった。成長は2区で若干劣ったほか、対照区とほとんど変わらなかった。
3. ビタミンC無添加区でも欠乏症は発現しなかつたが、試験期間中の死魚は体表背部に白斑を生じるチョウチン病の徴候を呈した。この症状はビタミンC低添加区で顕著であった。
4. 魚体中のビタミンC量は筋肉よりも肝臓に多く蓄積され、それは投与量に応じて増加した。また、無添加区でも蓄積され、アユ幼魚はビタミンCをある程度生合成すると考えられた。
5. ビタミンCの蓄積量や表皮の発病状況から判断すると、アユ幼魚はビタミンC源として、APMよりもAMSをより有効に利用すると考えられた。
6. ビブリオ菌による人為感染に対し、ビタミンC高

添加区で発病に若干の遅れはあるものの死亡率に大差はなかった。

#### 文 献

- 1) 北村佐三郎、1969：ニジマスのビタミンC欠乏症概説、魚病研究、3, 73-92
- 2) 北村佐三郎・大原脩平・諷訪富雄・仲川憲一、1967：ニジマスのビタミン要求に関する研究-II, 14種ビタミンの欠乏症について、日水誌、33, 1120-1125
- 3) R. T. LOVELL, 1973:Essentiality of vitamin C in feeds for intensively fed caged channel catfish, J. Nutr.103, 134-138
- 4) V. S. BLAZER and R. E. VOLKE, 1984: Effect of diet on the immune response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41, 1244-1247
- 5) Y. Li and R. T. LOVELL, 1985:Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish, J. Nutr.,115, 123-131
- 6) 鈴木雄策、1986：8. アスコルビン酸大量投与による抗ウイルス性試験、静岡水試事報、昭和60年度、326-329
- 7) 山本章造、1980：アユの仔魚期の配合飼料に関する研究-IV、仔魚の生残と生長、および体形異常発生に及ぼす飼料中リン酸塩及びビタミンCの影響 岡山水試事報、昭和54年度、173-178
- 8) 森 政治、1978：アユの水溶性ビタミン欠乏症、日本水産学会春季大会講演要旨、
- 9) M. SATO, R. YOSHINAKA and S. IKEDA, 1978 : Dietary ascorbic acid requirement of rainbow trout for growth and collagen formation, Nippon Suisan Gakkaishi,44, 1029-1035
- 10) 室賀清邦・M. C. DELA CRUZ, 1987:Fate and location of *Vibrio anguillarum* in tissues of artificially infected Ayu (*Plecoglossus altivelis*), Fish Path.22, 99-103
- 11) 川合研児・楠田理一、1981：ビブリオ病経口ワクチンによるアユの免疫機構の研究-I、体表における感染防御作用、魚病研究、16, 1-8
- 12) 伊丹利明・高橋幸則・川原逸郎、1986：アユにおける溶菌性物質の分布ならびに性状、日水誌、52, 1443-1447
- 13) 荻野珍吉、1980：魚類の栄養と飼料、pp335、恒星社厚生閣、東京