

シラスウナギのパラコロ病に関する試験一 I (菌浴感染実験)

伊藤 進

目的 ウナギのパラコロ病は比較的古くから知られ、夏の高水温期に養中から選下（魚体重10～150g）のサイズによく発生した。しかし近年のハウス養殖の普及につれてシラスウナギにも発病するようになり、最近では発生率、被害とも大きくなっている。このシラスウナギのパラコロ病は、餌付期間中（1週間から10日間）、投与するイトミミズに依存している時期に多発するので対策は一層困難になっている。

今年度は自然発症例になるべく近い攻撃方法による感染実験を行い、パラコロ病発生のメカニズム究明の基礎資料とする。

感染方法として2種類の菌浴法を行った。

菌浴攻撃

供試菌株は昭和54年2月22日幡豆郡一色町に於て自然発症例より分離した*E. tarda* Ed 3 A株である。HIA平板培地に26°C、48時間培養した菌を生理食塩水で洗って集め菌原液とし、それを100倍・10000倍に地下水で稀釀した液および対照区の4区設定し、イトミミズにて餌付け後2日目のシラスウナギを1区20尾づつ10分間菌浴させた。この菌原液の生菌数は 7.4×10^8 個/ml、菌浴時の水温は24°Cであった。菌浴後、直ちに25°Cの清水に移し、無給餌で飼育した。飼育は50ℓ容ガラス水槽に1.5ℓの清水を入れた2ℓ容ビーカーを4個並べ、外側の水槽の水を入れてウォーターバス式に加温し水温を25°Cに調節した。1日1回半分飼育水の交換をし充分通気も行なった。実験終了後、各区5尾づつ抽出し各個体の肝より病原菌の分離を行なった。（以下A攻撃と略す）

魚体に傷をつけてからの菌浴攻撃

供試菌株、実験区分、菌数、菌浴時間、飼育方法は全て前出のA攻撃と同じであるが、菌浴前に魚体に傷をつけた。その方法は水にぬらしたサンドペーパー（粒度100）上に供試魚を1分間放置させ、その後菌浴させた。ただし菌浴時の水温は21°Cであった。また実験終了後各区5尾づつ抽出し、各個体の肝より病原菌の分離を試みた。（以下B攻撃と略す）

表1 菌浴攻撃の日別死亡数

W. T. 24.5～25.6°C

区	菌浴液	生菌数	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日～14日	計
1	原液	7.4×10^8 /ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	10^{-2} 希釈	7.4×10^6	0	0	0	* ¹ 1	0	0	0	0	1
3	10^{-4} 希釈	7.4×10^4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	地下水	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表2 傷をつけてからの菌浴攻撃の日別死亡数

W. T. 24.4～27.6°C

区	菌浴液	生菌数	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日～14日	計
1	原液	7.4×10^8 /ml	0	* ¹ 2	* ² 7	0	* ¹ 3	* ¹ 4	0	0	16
2	10^{-2} 希釈	7.4×10^6	0	* ¹ 2	* ² 3	0	* ¹ 3	0	0	0	8
3	10^{-4} 希釈	7.4×10^4	0	* ¹ 1	* ² 4	* ¹ 1	0	* ¹ 2	0	0	8
4	地下水	—	0	0	* ² 3	0	0	* ¹ 3	0	0	6

*1 *E. tarda* 分離されず

*2 エアレーション不調による歎欠

結果	<p>結果は表1、表2に示すとおりではあるが、今回の実験では感染しなかった。A攻撃では実験期間中殆んど死亡ではなく、10^6匹4日目で1尾死亡したが、パラコロ菌の分離は出来なかった。B攻撃では魚体への影響が強く出て死亡例が多数あったが、全ての個体から<i>E. tarda</i>は分離されなかった。但し菌浴後3日目の死亡はエアレーション不調による酸欠と思われる。 ¹⁾ パラコロ病の菌浴感染について静岡水試浜名湖分場も同様に実験しており感染は不成立であった。同報告では供試魚に餌付け前のシラスウナギを用いているが、パラコロ病は腎の造血組織型の膿血症と化膿性肝炎という特性があるので、今回の実験では餌付けし内臓諸器管がある程度発達してから攻撃したが感染はしなかった。そして菌浴の菌数が10^8個/mlと通常の飼育池では考えられない濃度および傷をつけても感染しなかったことは、パラコロ病は皮膚あるいは鰓からの感染の可能性は少ないものと思われる。 ²⁾³⁾</p> <p>また、本実験では14日間無給餌で飼育したが、25～27°Cと高水温のため魚はどんどんやせてゆきいわゆるガリになって来るので、普通の養殖の飼育形態から見て不自然であり、また自然発症例により近い感染方法を確立するためにも、幼魚期における感染実験では無給餌とすべきか検討の余地がある。</p>
参考文献	<p>文 献</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 静岡県水産試験場浜名湖分場 1979 「ウナギのパラコロ病に関する研究」 昭和53年度指定研究（病害）報告書 2) 宮崎照雄 江草周三 1976 「ニホンウナギの <i>Edwardsiella tarda</i> の感染症の病理組織学的研究—I」 （自然感染一化膿性造血組織型） <i>魚病研究</i> 11 (1) 33～44 3) 宮崎照雄 江草周三 1976 「ニホンウナギの <i>Edwardsiella tarda</i> の感染症の病理組織学的研究—II」 （自然感染一化膿性肝炎型） <i>魚病研究</i> 11 (2) 67～76

シラスウナギのパラコロ病に関する試験一Ⅱ（経口感染実験）

伊藤 進

目的	シラスウナギのパラコロ病について菌浴攻撃による感染は不成立であったが、より自然発症例に近い感染方法として経口感染について試みる。
材料・方法	<p>6日間徐々に加温し25°Cに馴致したシラスウナギを2個の50ℓ容ガラス水槽に100尾づつ収容した。1区は充分水洗した市販のイトミミズで餌付けをし、翌日までイトミミズが残るまで与えてパラコロ病の発生を観察した。2区は市販のイトミミズをおおよそ10⁶個/mlのE.tardaの菌液に5分間浸漬させ、10分間水洗してシラスウナギに餌付けさせ、この菌浴イトミミズは7日間連続投与し、その後10日間は市販のイトミミズをそのまま与えてパラコロ病の発生を観察した。この菌浴イトミミズは毎日調製し、菌も26°C、48時間培養したものを毎日使用した。供試¹⁾菌株は前報の菌浴攻撃試験で使用したEd3A株である。本菌株は今年度水産庁より配付のあった抗血清Edk-1に凝集する。水温は25~27°Cに調節し、飼育水は毎日1/2~3/4交換し、充分通気も行なった。実験中に死亡したすべての魚の肝からHIA培地を用いてE.tardaの分離を行なった。再分離菌の同定はグラム染色(Ryuの方法)、検鏡による形状および運動性、抗血清による凝集反応をもって行なった。</p>

表1 経口感染実験におけるシラスウナギの日別死亡数

実験区	飼育日数	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17																死亡率	水温		
		市販イトミミズのみ投与																			
1区		←市販イトミミズのみ投与→	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	24.3°C ~27.8		
2区		←菌浴イトミミズ→	*	*	0	2	4	0	1	0	0	6	17	25	21	12	0	43	37	39.4	24.8°C ~28.0

* E.tarda 分離されず

結果

考察

表1に結果を示す。1区においては2日目に2尾死亡したのみであった。この死亡魚はパラコロ病の症状は示さず、また肝より菌の分離を試みたが分離されなかった。2区では2日目、3日目に2尾、4尾と死亡したが、症状も出ず菌も分離されなかった。しかし5日目以後に死亡した魚から背鰭、尻鰭の点状およびストライプ状の出血、体幹部において環状出血、そして肝付近の体表が著しく発赤、腫張し一部に壊死融解が、また肛門の発赤拡張、腎の腫大および壊死融解が観察され、自然発症例と極めて似た症状を呈した。そしてすべての個体の肝よりE.tardaがほぼpureに再分離された。この死亡数の変化を見ると菌浴イトミミズを投与してから10日前後が死亡のピークとなり、死亡は1週間以上続いたがこれも自然発症例と似ている。

この実験は感染させることを目的としたため投薬は行なわなかったので、死亡率は39.4%となり自然発症例のだいたい1~2割の死亡に比べ高くなかった。

今回の実験でパラコロ病は感染から発病死亡まではほぼ1週間かかることがわかったが、養殖池では餌付け後1週間から10日頃に多発することから、その感染は餌付けの初期から始まっていると

結果	推定される。シラスウナギの初期餌料であるイトミミズについてパラコロ病菌の検索は行なわれて いるが常に分離されることはなく、また菌浴による感染が出来ないことから、むしろイトミミズの採捕状況からみてたまたま汚染されていたものを食べたウナギが発病するのではないだろうか。 昨年（昭和53年冬）はシラスウナギは不漁であったが、逆にイトミミズは豊富に供給され、パラコロ病は一色町の全経営体の60%で発生した（アンケート調査より）が、今年（昭和54年冬）のシラスウナギは豊漁であったためイトミミズの極端な不足状態となり、例年の数分の一しか投与出来なかったこともあり、今年のパラコロ病の発生は例年になく少ない。このことからもイトミミズからの感染が疑がわしい。
備考	文献 1) 伊藤 進 1979 「シラスウナギのパラコロ病に関する試験—I 菌浴感染実験について」 昭和53年度 愛知県水産試験場業務報告 2) 静岡県水産試験場浜名湖分場 1979 「ウナギのパラコロ病に関する研究」 昭和53年度指定研究（病害）報告書

シラスウナギのパラコロ病に関する試験一Ⅲ（イトミミズの消毒効果）

伊藤 進

目的	シラスウナギのパラコロ病は餌付け後1週間から10日頃に多発しているが、本病の感染経路について不明な点が多い。本菌は養殖池の飼育水および底泥からひんぱんに分離され、また水中での ¹⁾ 菌の生存期間も数ヶ月という報告もあるが、現在感染経路として初期餌料のイトミミズが最も疑がわしいといわれており、前報よりE・tardaの菌浴させたイトミミズによって経口感染が成立することから一層イトミミズからの感染が疑がわれる。しかしイトミミズは天然採捕にすべて依存されており、病原菌フリーのものを入手することは現実的には困難であるのでイトミミズを各種の薬剤により消毒して投与し、その消毒効果を検討する。																								
材料・方法	<p>表Ⅰ 実験区分</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>実験区</th> <th>使 用 薬 剂</th> <th>濃 度</th> <th>薬浴時間</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>上水道区</td> <td>残 留 塩 素</td> <td>0.3 ‰</td> <td>10 分</td> </tr> <tr> <td>イソジン区</td> <td>水産用イソジン液(10%)</td> <td>250 ‰</td> <td>5 分</td> </tr> <tr> <td>ヒビテン区</td> <td>ヒビテングルコネート液(20%)</td> <td>50 ‰</td> <td>5 分</td> </tr> <tr> <td>O T C 区</td> <td>水産用テラマイシン(10%)</td> <td>50 ‰</td> <td>5 分</td> </tr> <tr> <td>対 照 区</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> </tr> </tbody> </table>	実験区	使 用 薬 剂	濃 度	薬浴時間	上水道区	残 留 塩 素	0.3 ‰	10 分	イソジン区	水産用イソジン液(10%)	250 ‰	5 分	ヒビテン区	ヒビテングルコネート液(20%)	50 ‰	5 分	O T C 区	水産用テラマイシン(10%)	50 ‰	5 分	対 照 区	—	—	—
実験区	使 用 薬 剂	濃 度	薬浴時間																						
上水道区	残 留 塩 素	0.3 ‰	10 分																						
イソジン区	水産用イソジン液(10%)	250 ‰	5 分																						
ヒビテン区	ヒビテングルコネート液(20%)	50 ‰	5 分																						
O T C 区	水産用テラマイシン(10%)	50 ‰	5 分																						
対 照 区	—	—	—																						

材料・方法

表1に示すように実験区は5区設定し、50ℓ容ガラス水槽に徐々に加温し25℃に馴致したシラスウナギを1区100尾づつ収容した。市販のイトミミズをおよそ 10^6 / cells / mlのE.tardaの菌液(清水に懸濁させた液)に5分間浸漬し、10分間水洗したものを各薬剤の各濃度および時間で薬浴させてからシラスウナギに投与し餌付けさせた。このイトミミズは翌日に残るまで充分に7日間連続して与え、その後10日間は菌浴させてない市販のイトミミズを与える。パラコロ病の発生の有無を観察した。対照区は菌浴させたイトミミズをそのまま7日間与え、その後10日間は菌浴させていない市販のイトミミズを食べさせた。この菌浴イトミミズは毎日調製し、菌は前報と同じE.d3A株を25℃、48時間培養し順次毎日新鮮株を使用した。水温は25~27℃に調節し飼育水は毎日 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{3}{4}$ 交換し、通気も充分に行なった。実験中に死亡した魚は全て肝より菌の分離を試みた。本実験でのE.tardaの培養は全てHIA培地(栄研)を用い、本菌の固定はグラム染色(Ryuの方法)検鏡による形状、運動性、抗血清凝集反応をもって行なった。なお今回用いたE.d3A株は昭和53年度水産庁より配付のあったパラコロ病抗血清E.d.k-1に凝集する。

結果・考察

表2 イトミミズの消毒効果について(シラスウナギの日別死亡数)

実験区	飼育日数	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17															死 亡 数	パラコロ病の死 亡 数	パラコロ病の死 亡 数	水 温
		←菌浴イトミミズを消毒→ × 市販イトミミズを投与→																		
上水道区	*	0 6 1 0 0 0 0 3	10	8 6 6 1 0 1 0													42	尾 35	37.6%	26.0~29.0
イソジン区	*	0 4 0 0 0 0 0 0	8	2 3 1 2 1 1 0													22	18	18.8%	26.2~27.6
ヒビテン区	*	0 2 0 0 0 0 0 0	3	0 3 1 1 1 0 1													12	10	10.2%	24.4~27.0
OTC区	*	0 2 1 0 0 0 0 0	5	4 5 7 7 1 0 1													33	30	30.9%	24.0~27.6
対照区	**	0 2 4 0 1 0 0 6	17	2 5 2 1 1 2 0													43	37	39.4%	24.8~28.0
		←菌浴イトミミズ→ × 市販イトミミズを投与→																		

*, E.tarda 分離されず

実験開始2~3日後各区で1~6尾の死亡があったがいずれの肝からもE.tardaは分離出来なかった。しかし対照区の5日目に死亡した1個体より初めて本菌が再分離されはじめ、菌浴イトミミズから市販イトミミズに変わった8日目から11日にかけて各区とも死亡のピークが表われた。死亡魚の肝および腎附近の体表は著しく発赤、腫張し壞死融解して破れたり、鰓の出血、体幹部のリング状出血等典型的なパラコロ病の症状を呈した。またこれらの全ての死亡魚の肝からE.tardaが再分離された。

上水道区のパラコロ病による死亡率は37.6%になり対照区と変りはなく、消毒効果は認められない。またOTC区でも死亡率30.9%とあまり効果はなかった。一方ヒビテン区およびイソジン区ではパラコロ病は発生したが死亡率はヒビテン区10.2%、イソジン区18.8%と対照区に比べ死亡数は明らかに少なく、ある程度の効果はあったが発病を阻止するまでには至らなかった。

結果 ・ 考 察	<p>一般に消毒剤は低濃度長時間作用させる方より高濃度短時間の方が効果が高いと言われるが、今回の実験で用いた薬浴濃度を高くすることは難かしいと思われる。それは特にイソジン、ヒビテンにおいて今回の濃度でもイトミミズはかなり弱てしまい部分的に白化して來るので、今後イトミミズの消毒にはイトミミズに対する毒性も考慮する必要がある。</p> <p>今回の実験からイトミミズを消毒することによりパラコロ病の経口感染をある程度おさえることが可能であるので消毒剤の種類、濃度、薬浴時間、安全性等の検討がパラコロ病予防のため必要であろう。</p>
備 考	<p>文 献</p> <p>1) 静岡県水産試験場浜名湖分場 1979 「ウナギのパラコロ病に関する研究」 昭和53年度指定研究「病害研究」報告書</p> <p>2) 伊藤 進 1979 「シラスウナギのパラコロ病に関する試験」—II 経口感染実験について 本誌</p>

シラスウナギのパラコロ病に関する試験—IV（昭和53年度の分離菌の薬剤感受性） 伊藤 進

目的	病原菌の薬剤感受性を知ることは投薬上薬剤の選択に重要なことであり、また耐性化を知る一つの目安となるので病魚からの分離菌の薬剤感受性について調べる。
材 料 ・ 方 法	<p>昭和54年1月より3月までシラスウナギのパラコロ病から分離された15株を用いた。検査はディスク法および一部の菌は希釀法の両方行なった。ディスク法はHIA平板培地に25°C、48時間培養した菌の2白金耳分を5mlの0.85%食塩水に懸濁し、その0.5mlをHIA平板培地上に流し込みコンラージ棒で均一に塗布しクリーンベンチ内で培地の表面を乾かした。ディスクを1平板当たり4枚置いて冷蔵庫で1時間静置後、25°C、48時間培養し昭和ディスクー濃度測定法により判定した。市販していないディスクーニフルピリノール(24γ)スルフィソゾール(400γ)オキソリン酸(10γ)はメーカーから提供を受けた。希釀法は化学療法学会標準法に準じて製薬メーカーに依頼して測定した。</p> <p>なお今回検査した15株は昭和53年度水産庁より配付のあったエドワードジェラ感染症抗血清Edu-k-1に全て凝集した。</p>
結果 ・ 考 察	検査結果は表1に示す。今年1~3月に分離した15株はいづれもサルファ剤に対しては感受性を示さなかった。フラン剤ではフラゾリドンが4A~4Dを除いて高い感受性を示したが、ニフルピリノールは3A、3B、3Cのみ高い感受性を示した。抗生素質は1B~1E、2A~2Dで高い感受性を示したが、3A~3C、4A~4Dの耐性化が目立っている。菌株名の同じ数字は同一養殖池から分離されたことを意味するので、同一池での各分離株間において感受性の違いは殆んどなかったが、養殖池によっては薬剤の感受性にかなりの差があった。特に4の池はアミノベンジル

ペニシリソ以外の薬剤には殆んど高い感受性を示さず、治療が困難と予想された。実際に4の池では水産用承認薬による化学療法では効果はなく死亡が続き、結局は餌止めし放置した。

E d 4 A～4 Dのような分離菌の出現を防ぐためにも、本病の治療に当っては薬剤の選択および適切な使用方法に充分な注意が必要である。

結

表1 薬剤感受性試験結果

薬剤名	菌株 ED -	1B	1C	1D	1E	2A	2B	2C	2D	3A	3B	3C	4A	4B	4C	4D
アミノベンジルペニシリソ	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+	+
クロラムフェニコール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.78	0.78	0.78	>100	>100	>100	>100
	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+	+	+	+
オキシテトラサイクリン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>100	>100	>100	>100
	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+	+	+	+
テトラサイクリン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>100	>100	>100	50	50	50	50
	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+	+	+	+
スルファセノメトキシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
スルファジメトキシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
スルファゾゾール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
フルザリドン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.56	1.56	1.56	50	50	50	50
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
ニフルビリノール	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.56	1.56	1.56	-	-	-	-
ニフルスレテン酸ナトリウム	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
ナリジック酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	50	50	50
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
オキソリソ酸	#	#	#	#	#	#	#	#	#	0.10	0.10	0.10	1.56	1.56	1.56	1.56
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

* 試験せず

考

察

目的	魚類の細菌性疾病等の治療に薬浴法が多用されているが、薬剤の効果を高めるため塩水浴処理を行なってから薬浴した場合の薬剤吸収差について検討する。
材料および方法	<p>供試魚 ニホンウナギ (85~180g) 5日間馴致してから用いた。</p> <p>供試薬剤 オキシテトラサイクリン (水産用テラマイシン 以下OTCと略す) および AB-206 (5-Methoxy-5,8-dihydro-8-Oxo-1,3-dioxolo [4,5-g] quinoline-7-carboxylic acid) の5%散剤</p> <p>実験区分および方法 表1に示すように塩分濃度は5%と2.5% 薬剤濃度は2段階の計10区設定した。各区2尾づつ用いて各濃度の塩水浴 (岩塩使用) を行い、直ちに規定の薬剤で薬浴した。24時間薬浴後ウレタン麻酔した供試魚の血液、肝、腎を採取した。ヘパリン処理済みの血液は4,000 rpm、5分間遠沈し上澄液を、肝および腎は表面を軽く水洗後凍結保存し後日まとめて定量した。定量法は化学療法学会標準法に準じて各メーカーの研究所にて行なわれた。定量限界はOTCについては血漿0.1 μg/ml、肝0.25 μg/ml、AB-206については血漿0.04 μg/ml、腎0.22 μg/mlである。なお実験期間中の水温は25~28°Cであった。</p>
結果と考察	<p>OTCについては表1に示すように4区 (2.5% NaCl OTC 5μl) では全く検出されないが、3区 (2.5% NaCl OTC 20μl) ではわずかに検出されるようになった。塩分濃度の高い2区 (5% NaCl OTC 5μl) ではわずかに検出されるが、1区 (5% NaCl OTC 20μl) の肝からは0.34 μg/ml検出された。これは同じ濃度のOTCの薬浴は塩水浴をした方がより多く、また2.5% 塩水浴より5%塩水浴の方がより多く吸収されると言える。通常の薬浴は実験5区のような方法で行なわれているが、薬浴吸収は良くなく血中、臓器からOTCは検出されてない。しかし治療効果は認められているのでわずかながら吸収はされているが塩水浴処理によって薬浴吸収はさらに効果的になると思われる。しかしながら今回行なった5%、60分塩水浴は体色の白化、狂奔遊泳とウナギに対し相当なダメージを与えるので、塩水浴時間の検討が必要であろう。</p> <p>一方AB-206の薬浴吸収は良く塩水浴無処理の5区でも血中濃度は4.13 μg/mlと上昇し、1区 (5% NaCl 10μl) の4.23 μg/ml、3区 (2.5% NaCl 10μl) の3.30 μg/mlとほぼ等しく、また腎でも10μl薬浴の1区、3区、5区はほぼ等しく塩水浴処理効果は認められなかった。</p> <p>OTCにおいて塩水浴の効果がありAB-206でなかったことはこれらの成分の分子量の大きさにも関係があると思われる。つまり吸収量は細胞膜において物質が通過する際に分子量の大きさに影響を受け、OTCでは塩水浴処理により吸収は良くなったが分子量は496.90であるのに対しAB-206は263.22である。AB-206のように分子量263くらいでは塩水浴処理で生じる浸透圧にかかわりなく吸収される大きさであろう。</p> <p>このAB-206の薬浴吸収が良いことはウナギのパラコロ病の薬浴治療試験でも認められ、塩水浴処理を必要としない薬浴剤として利用出来よう。</p>

参考文献

1) 水産薬詳解 田中二良 1977

表1 実験区分および測定結果

備考

		O T C					A B - 2 0 6				
実験区		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
塩分濃度(%)		5	5	2.5	2.5	0	5	5	2.5	2.5	0
薬剤濃度(%)		2.0	5	2.0	5	2.0	1.0	5	1.0	5	1.0
塩水浴時間(分)		60	60	60	60	0	1.0	1.0	1.0	1.0	0
薬浴時間(時間)		2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
供試尾数(尾) 魚体重(g)		2 160・170	2 105・180	2 160・170	2 145・165	2 140・110	2 100・80	2 170・90	2 115・90	2 90・85	2 95・85
測定結果 μg/ml	血 漿	0.11	0.1	ND	ND	ND	4.23	1.41	3.30	1.80	4.13
	肝	0.34	0.25	ND	ND	ND	*	*	*	*	*
	腎	*	*	*	*	*	2.38	0.66	2.75	1.05	3.90
定量限界		血漿 0.1 μg/ml 肝 0.25 μg/ml				血漿 0.04 μg/ml 肝 0.22 μg/ml					

* 試験せず ND定量限界以下

シラスウナギのアンモニア排泄量

伊藤 進

目的	近年のウナギ養殖は広い露地池飼育からハウス養殖へとその生産形態は高度集約化が進んで来た。それに伴い用水の使用も多くなり各地で用水不足が起きている。この用水の有効利用を図るためにもウナギ自身の汚染負荷量を明らかにしておく必要がある。ウナギの排泄量について大きなサイズ ¹⁾ では牛山が報告しているが、シラスウナギについては報告がない。特にシラスウナギの飼育池（元池）は小さく、体重当りの酸素消費量が最も大きい時期なので元池の水質環境を良くすることは養殖上極めて重要と思われる。この元池の水質環境を経時的に調査しアンモニア排泄量を試算する。
材料および方法	昭和53年1月13日より1月20日までの8日間豊橋市二川町の業者のハウス池を調査した。この池は軽量鉄骨の塩化ビニール板張りのハウス内にコンクリート製水槽が2面設置してある。1面の面積は64.4 m ² 、水深40cm、水量は約25tである。1月13日に日本産シラスウナギ30kgを放養し、餌付けの終了した1月20日まで連続して水温を測定し、水質分析は毎日1回正午ごろ採水し、DO、COD、PH、NH ₄ -N、NO ₂ -N

材料 および 方法	について分析した。D Oはワインクラー法、C O Dはアルカリ窒化ソーダ変法、P Hは比色法、N H ₄ -Nはネスラー法、N O ₂ -NはG R法を用いた。
	シラスウナギを放養した1月13日より16日までは無給餌で加温し、16日の夕方よりイトミズを与え始め、1日当たりのイトミズ投与量は16日に1kg、17日は3kg、18日は4kg、19日は6kg、20日は8kgと増量した。飼育水は16日に20%、18日に30%交換したが、16日は採水前に、18日は採水後交換した。

結果 考察	表1 水質分析結果								
		1月13日	14日	15日	16日	17日	18日	19日	20日
	P H	7.6	7.3	7.3	7.5	7.8	7.8	7.8	7.8
	D O %	97.5	-	-	100.0	97.7	-	-	91.3
	C O D mg	0.38	0.61	1.07	1.25	1.60	2.21	3.28	4.73
	N H ₄ - N mg	0.12	0.33	0.56	0.66	1.08	1.80	2.40	3.20
	N O ₂ - N mg	0.025	0.022	0.021	0.021	0.025	0.037	0.047	0.062
	N H ₄ - N 増加量	0.18	0.19	0.20	0.36	0.62	0.52	0.69 mg/kg/day	

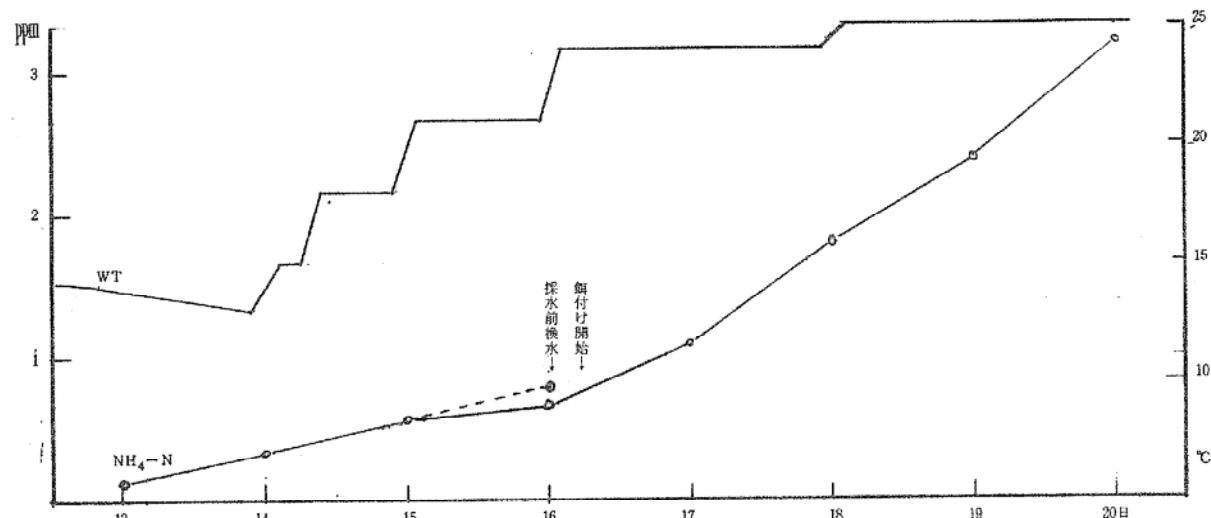


図1 水温とN H₄-Nの変化

結果	<p>水質分析の結果を表1に、NH₄-Nと水温の変化を図1に示した。PHの変化は少なく、DOも水車で曝気しているので常に飽和に近い状態であった。CODは餌付け後から加速度的に上昇し、NH₄-Nも同様に増えて行き急速に汚れていく。しかしNO₂-Nは初めの5日間は変化がなく6日目から増加して来ており、NH₄-Nと比べ時間的に遅れるようである。魚体重当たり・1日当たりのNH₄-N増加量は前日とのアンモニア濃度の差と水量および総魚体重により求められるので、シラスウナギ放養後のNH₄-N増加量を計算すると表1の下段のようになった。4日目には採水前に20%換水しているので、仮に換水しないとして図1より点線上に増加したとすると無給餌シラスウナギのアンモニア排泄量は0.18～0.20 g/kg魚体重・日となり、しかも水温が13°Cから21°Cへと上昇しているにもかかわらず一定であった。イトミミズは配合飼料に比べて水中への散失は少ないので無視して計算したところアンモニア排泄量はイトミミズを投与した翌日の5日目は0.35 g/kg魚体重・日、6日目は0.62、7日目は0.52、8日目は0.69となった。7日目の値が低いのは換水の影響と思われる。またこの排泄量から無給餌時の排泄量すなわち基礎代謝量0.2 g/kg魚体重・日を差し引いたものが餌=イトミミズによる汚染負荷量である。この負荷量を餌重量当たりに換算すると0.06～0.12 g/kg魚体重・日・イトミミズ重量(平均0.083 g)となった。一般にシラスウナギの飽食量はイトミミズでは体重の40～50%と言われているので、今回調査した池ではシラスウナギが30 kgなので12～15 kgのイトミミズで飽食になると思われ、その飽食時の汚染負荷量は1.0～1.2 g/kg魚体重・日と推定された。この汚染負荷量に基礎代謝量を加えたものつまり1.2～1.4 g/kg魚体重が1日当たりのシラスウナギのアンモニア排泄量と思われる。</p>
	<p>1) アンモニア排泄量について牛山が行なった実験では休餌魚は19.5 mg/kg・日と報告しており、今回の無給餌シラスの0.18～0.20 g/kg・日と全く一致した。これはウナギの場合、幼魚も成魚も体重当たりの基礎代謝量は同じと考えられた。しかし摂餌した魚のアンモニア排泄量は給餌量および餌の種類の違いなどから当然変わって来ると思われるが、牛山は配合飼料の場合成魚で9.60 mg/kg・日と報告しているが、シラスウナギにイトミミズを飽食させたとして計算すると、1.2～1.4 g/kg・日になり若干高くなつた。</p>
考察	<p>一方ウナギのアンモニア排泄量を配合飼料から見れば熊井が計算しているように配合飼料1袋=20 kgには蛋白質として9.4 kg(Nとして1,504 g)含まれており、一般に飼料効率は70%前後だから魚体へは蛋白質として2.8 kg(生換質1.4 kg)残り6.6 kgの蛋白質(Nとして1,056 g)が増重量以外のものとして水中へ排出されることになる。給餌率を2%とすれば配合飼料1袋(20 kg)はウナギ1 tに相当するので1日当たりのアンモニア排泄量は1 g/kgとなり水中アンモニア濃度からの測定結果とほぼ一致する。</p>
	<p>今回の計算結果は一例にすぎないので今後詳細な実験によりシラスウナギの基礎代謝量および餌料種類別、給餌率別の代謝量を検討する必要がある。</p>
備考	<p>参考文献</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 牛山 宗弘 1977 第7回養鰻研究協議会要録 2) 熊井 恒夫 1977 私信(日本配合飼料KK 中央研究所)

ウナギの越冬中の体重減耗

深谷昭登司・瀬古幸郎

目的	ウナギの露地池養殖においては、冬期長期間の絶食にともなう体重の減少・体力の消耗が避けられない。そこで外部環境の相違による体重減耗・生理的変化等の状況を把握する。また越冬後の体重回復についても加えて比較検討する。
方法	<p>ニホンウナギを使用し、試験区として、実験区Ⅰ（200W水中ポンプ可動、水が常に動いている状態）実験区Ⅱ（水中ポンプは可動せず水が静かな状態）、実験区Ⅲ（200W水中ポンプ可動および池の約半面に10cmほど砂を敷き、水が常に動いているが、ウナギは砂にもぐっており水の動きは直接には、魚体にあたらない状態）の3区を設定した。</p> <p>供試魚は、一実験区あたり10kgとし、10m²の水深約40cm屋外コンクリート水槽を使用して飼育した。各試験区とも止水としたが、水漏れ等でやむを得ない場合のみ注水を行った。また水温が高く、摂餌をすると予測できる時のみ給餌した。毎日午後1時頃、水温の測定を行った。PH、DO、NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N、CODについては、適宜チェックした。</p> <p>魚体測定は、開始時（11月9日）、越冬終了時（4月17日）、試験終了時（5月29日）に全量測定した。越冬終了時および試験終了時においては、各試験区から4尾づつ採取し、体長、体重、肝重量、肥満度、肝重比、赤血球数、ヘマトクリット値等を測定した。</p>
結果	各試験区の環境要因・飼育結果・魚体測定結果は、図1～2、表1～5のとおりである。実験区Ⅲにおいては、越冬初期には砂にもぐらないものが多くみられたが、厳寒期には、かなり砂にもぐっていたようである。水温は、大きな差はみられなかったが、越冬中のPH、DOにおいては、実験区Ⅱが他区に比べて高い値を示した。NH ₄ -N、NO ₂ -N、NO ₃ -Nは、越冬中には無給餌であるため非常に低い値であった。CODは実験区Ⅱが最も高い値を示し、各試験区とも越冬中は、日数の経過とともに値が上昇した。越冬直前は、水温が低いため、摂餌量は少ない。
および デ タ	<p>減耗率は、実験区Ⅰ 1.4%、 実験区Ⅱ 1.23%、 実験区Ⅲ 1.65%であり、 実験区Ⅱが最も減耗が少なかった。</p> <p>越冬後の体重回復については、給餌後1カ月で越冬前の体重をかなり上回った。 増重量・増重量率等は、実験区Ⅰが他区に比べややよかつた。</p> <p>越冬終了時の平均肥満度は、実験区Ⅰ 1.41、実験区Ⅱ 1.38、実験区Ⅲ 1.34であり、実験区Ⅰ > 実験区Ⅱ > 実験区Ⅲとなつた。</p>

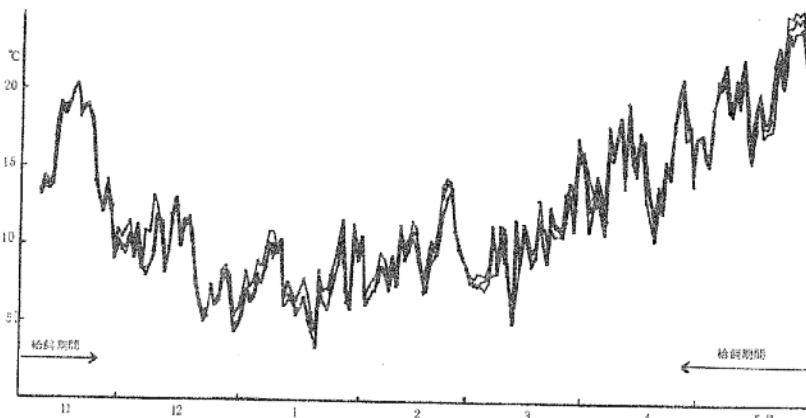


図1 W, Tの変化

結果およびデータタ

平均肝重比は、実験区 I 1.19%、実験区 II 1.22%、実験区 III 1.30%であり実験区 IIIと他区の間に差がみられた。平均赤血球数は、実験区 I 257×10^4 個、実験区 II 188×10^4 個、実験区 III 258×10^4 個であり実験区 II と他区との間に差がみられた。平均ヘマトクリット値は、実験区 I 36.0%、実験区 II 26.8%、実験区 III 30.3%であり、各区とも差がみられた。外観による健康度判定の差は認められなかったが、実験区 I は他区に比べ皮膚に傷が多くみられた。また実験区 I、II は褐色が強く腹部も黒ずんでいるのに対し、実験区 III は、青黒く腹部も白いものが多くみられた。えらについては、顕微鏡観察によれば、各区とも膨潤がみられたが、えらの欠損、寄生虫は認められなかった。

試験終了時の平均肥満度は、実験区 I 1.64、実験区 II 1.54、実験区 III 1.61であり、越冬終了時と比べて各区とも増加しており、実験区 II と III の順位が逆転した。平均肝重比は、実験区 I 2.72%、実験区 II 2.49%、実験区 III 1.86%であり、越冬終了時と比べて各区とも増加しているが、実験区 I は約 2.3 倍、実験区 II は約 2.0 倍、実験区 III は、約 1.4 倍となり、実験区 III の増加率が小さく、各区の順位が逆転した。平均赤血球数は、実験区 I 211×10^4 個、実験区 II 208×10^4 個、実験区 III 273×10^4 個であり、実験区 I は減少したが、実験区 II、III はやや増加した。平均ヘマトクリット値は、実験区 I 22.2%、実験区 II 24.7%、実験区 III 29.7%であり、各区とも減少したが、実験区 I の減少が顕著であった。外観による健康度の差は認められずえらについては、顕微鏡観察によれば越冬終了時に比べ各区とも膨潤が軽くなり、えらの欠損、寄生虫についても異状が認められなかった。

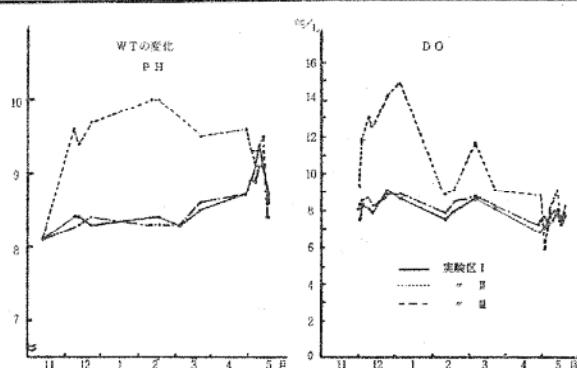


図 2 PH 及び DO の変化

表 1 水質分析結果（実験区 I）

項目	1月15日	2月5日	3月5日	4月2日	5月1日	5月15日
NH ₄ -N 酸	0.01	0.01	tr	0.01	tr	0.04
NO ₂ -N 酸	0.02	tr	tr	0.01	0.01	0.01
NO ₃ -N 酸	0.09	0.02	0.02	0.03	0.05	0.27
C O D 酸	1.48	3.02	0.67	5.76	2.36	7.77

（実験区 II）

項目	1月15日	2月5日	3月5日	4月2日	5月1日	5月15日
NH ₄ -N 酸	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.10
NO ₂ -N 酸	0.01	0.01	tr	tr	tr	0.01
NO ₃ -N 酸	0.04	0.02	0.07	0.02	—	0.09
C O D 酸	2.87	4.66	5.03	7.25	3.60	7.80

（実験区 III）

項目	1月15日	2月5日	3月5日	4月2日	5月1日	5月15日
NH ₄ -N 酸	0.02	0.01	tr	0.01	0.01	0.03
NO ₂ -N 酸	0.01	tr	tr	tr	tr	0.08
NO ₃ -N 酸	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.24
C O D 酸	2.16	3.07	3.77	4.44	2.74	5.96

表 2 越冬中の飼育結果

項目	試験区		
	実験区 I	実験区 II	実験区 III
開始時(尾数)	10000(69)	10000(72)	10000(71)
重量(g)	1449	1389	1408
越冬終了時(尾数)	8550(68)	8770(72)	8350(71)
平均体重(g)	1257	1218	1176
給餌量	618	657	546
死魚	尾数	0(0)	0(0)
(不明)	重量(g)	0	0
攝食量(g)	1450	1230	1650
個体減耗率(%)	192	171	232
減耗率(%)	145	123	165
個体減耗率(%)	133	123	165
尾数歩留率(%)	986	1000	1000

表 3 越冬後(飼育後)の飼育結果

項目	試験区		
	実験区 I	実験区 II	実験区 III
越冬終了時(尾数)	8060(64)	8350(68)	7840(67)
平均体重(g)	1259	1228	1170
越冬終了時(尾数)	11010(63)	11010(67)	10370(66)
平均体重(g)	1748	1643	1571
給餌量	4614	4635	4084
死魚	尾数	0	1
(不明)	重量(g)	0	150
增重量(g)	2950	2560	2530
個体増重量(g)	489	415	401
日間始減率(%)	151	150	11
増重率(%)	366	31.9	3236
個体増重率(%)	388	238	343
個体効率(%)	630	574	619
尾数歩留率(%)	984	955	985

考 察	表4 越冬終了時の 魚体測定結果							
	実 験 区 I	体長mm	体重(g)	肥満度	肝重量(g)	肝重比(%)	赤血球数 $\times 10^4$	
	436	109	1.32	1.14	1.05	192	35.0	
	430	111	1.40	1.35	1.22	262	33.5	
	432	125	1.55	1.43	1.14	279	37.5	
	472	144	1.37	1.90	1.32	294	38.0	
	平均値		1.41	—	1.19	257	36.0	
	実 験 区 II	426	109	1.41	1.25	1.14	173	21.0
	424	90	1.18	0.95	1.06	156	37.5	
	406	105	1.57	1.10	1.05	209	27.0	
	440	117	1.37	1.85	1.58	214	21.5	
	平均値		1.38	—	1.22	188	26.8	
	実 験 区 III	476	168	1.56	2.13	1.27	270	34.0
	446	109	1.23	1.55	1.42	230	33.5	
	431	98	1.22	1.21	1.23	226	23.8	
	466	137	1.35	1.77	1.29	307	30.0	
	平均値		1.34	—	1.30	258	30.3	
考 察	表5 試験終了時の 魚体測定結果							
	実 験 区 I	体長mm	体重(g)	肥満度	肝重量(g)	肝重比(%)	赤血球数 $\times 10^4$	
	500	208	1.66	6.64	3.19	206	26.5	
	474	171	1.61	4.49	2.63	208	28.0	
	467	184	1.81	5.22	2.84	166	17.8	
	461	145	1.48	3.24	2.23	265	16.5	
	平均値		1.64	—	2.72	211	22.2	
	実 験 区 II	486	171	1.49	5.34	3.12	189	31.8
	457	147	1.54	3.31	2.25	183	22.0	
	496	228	1.87	4.92	2.16	249	25.5	
	451	116	1.26	2.82	2.43	212	19.5	
	平均値		1.54	—	2.49	208	24.7	
	実 験 区 III	447	159	1.78	2.87	1.81	348	32.5
	493	180	1.50	3.45	1.92	265	33.0	
	460	161	1.65	2.86	1.78	273	27.3	
	456	144	1.52	2.76	1.92	207	25.8	
	平均値		1.61	—	1.86	273	29.7	

目的	飼料用活性納豆菌B N株 (<i>Bacillus subtilis natto BN</i>) を市販のウナギ飼料に添加投与し、成長の促進、体力補強の効果、飼料の効率向上等を検討する。
方	<p>ニホンウナギ (<i>Anguilla japonica</i>) 1年魚を使用し、試験区として、対照区（市販配合飼料飽食給飼）、実験区I（活性納豆菌を市販配合飼料に外割で0.5%添加飽食給飼）、実験区II（活性納豆菌を市販配合飼料に外割で1.5%添加飽食給飼）、実験区III（活性納豆菌を市販配合飼料に外割で3.0%添加飽食給飼）の4区を設定した。</p> <p>供試魚は、1実験区当たり2kg（平均体重約15g）とし、1m³（1m×1m×1m）の循環瀧過飼育実験水槽（図1）を使用し対照区と実験区I、実験区IIと実験区IIIをそれぞれ1組にして飼育した。</p> <p>毎日1回午前9時頃、約1時間の飽食給飼とし、残飼はとりあげ秤量した。毎日午後1時頃、水温、PH、溶存酸素量（D、O）の測定を行ない、NH₄-N（アンモニア態窒素）、NO₂-N（亜硝酸態窒素）、NO₃-N（硝酸態窒素）、CODの測定は、週1回程度実施した。魚体測定は、開始時（9月25日）、第1回測定時（10月25日）、第2回測定時（11月15日）、第3回測定時（12月6日）、第4回測定時（12月26日）、試験終了時（1月16日）の計6回全量測定した。斃死魚は尾数と重量を記録した。</p>
法	<p>各試験区の環境要因・飼育結果は、図2～図5表1のとおりである。</p> <p>水温・PHの変化は、図2・図3に示したとおりであり、各試験区でおおむね似かよった値であった。D、Oは、図4に示したとおりであり、実験区II・実験区IIIの組は、対照区・実験区Iに比べ、やや低い値であった。水質分析結果は、図5に示したとおりであり、NH₄-N、CODにおいては、大きな差は認められなかったが、対照区・実験区Iの組に比べ、実験区II・実験区IIIの組はNO₃-Nにおいては低い値であり、NO₂-Nにおいては高い値であった。</p> <p>飼育結果は、表1に示したとおりである。増重量、飼料効率、個体増重量率、増重量率においては、</p>
結果	
よび データ	<p>図1 循環瀧過実験装置模式図</p> <p>図2 水温の変化</p> <p>図3 PHの変化</p>

すべて実験区Ⅲ>実験区Ⅰ>対照区>実験区Ⅱとなり、実験区Ⅱは対照区に比べてよくなかった。尾数歩留においては、実験区Ⅱ>実験区Ⅲ>対照区>実験区Ⅰとなった。

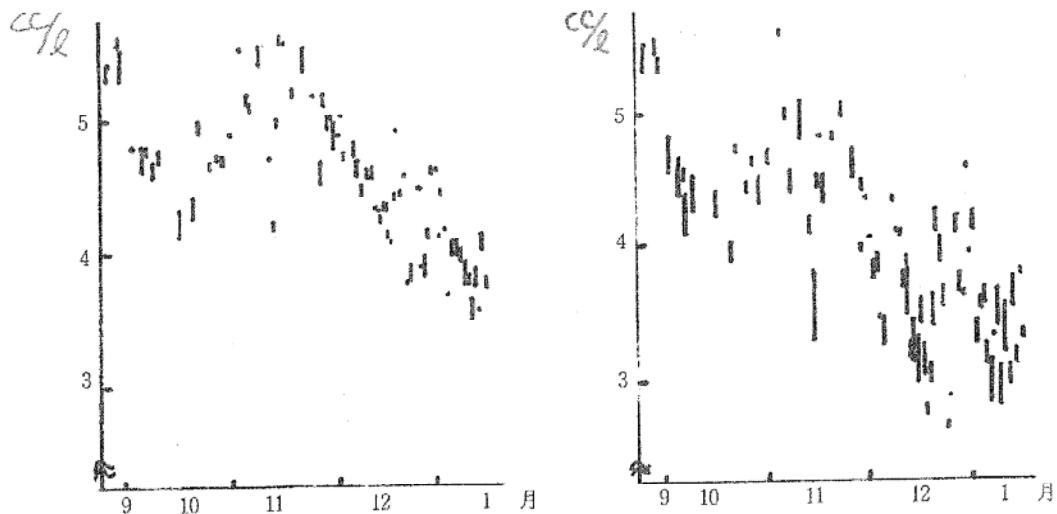


図4 D.O.の変化

成長促進効果として、対照区と実験区Ⅲを比較してみると、平均体重、増重量、給飼量、飼料効率、個体増重率、増重率、尾数歩留において、実験区Ⅲが対照区を上回っている。実験区Ⅱにおいては、むしろ対照区を下回っているが、実験区Ⅰでは対照区を上回り効果が認められた。

活性納豆菌製剤の作用として、腸内細菌のバランスを整える働きがあり、家畜に対する配合飼料添加物としては、すでに市販されている。魚では空腹時に腸内はほとんど無菌に近くなるといわれ腸内微生物の影響は家畜の場合ほど著しくないと思われる。このことは、家畜で成長促進効果に有効な各種抗生物質が魚類では、ほとんど無効であることと一致するようである。活性納豆菌の作用としてビタミンB群の合成、消化酵素の産生については家畜と同様に効果が認められるとしても家畜飼料への添加率0.05～0.1%では、家畜ほどの効果は表われないものと思われる。3%添加区では、成長促進効果が顕著に認められたが、それ以下では効果が顕著に表われにくいものと思われる。

表1 飼育結果

項目 試験区	試験開始時			試験終了時										備考
	尾数	重量	平均体重	尾数	重量	平均体重	増重量	給飼量	納豆菌量	飼料効率	個体増重率	増重率	尾数歩留	
対照区	123	2000	16.3	114	3750	32.9	1750	4,217	0	41.5	10.23	8.75	9.27	斃死6尾(85g) 不明3尾
実験区Ⅰ	118	2000	16.9	109	4030	37.0	2030	4,207	204	48.0	11.81	10.15	9.24	斃死9尾(120g)
実験区Ⅱ	144	2000	13.9	138	3630	26.3	1630	3,933	56.8	40.9	8.94	8.15	9.58	斃死5尾(75g) 不明1尾
実験区Ⅲ	139	2000	14.4	131	4360	33.3	2360	4,734	136.5	48.5	13.13	11.80	9.42	斃死2尾(20g) 不明6尾

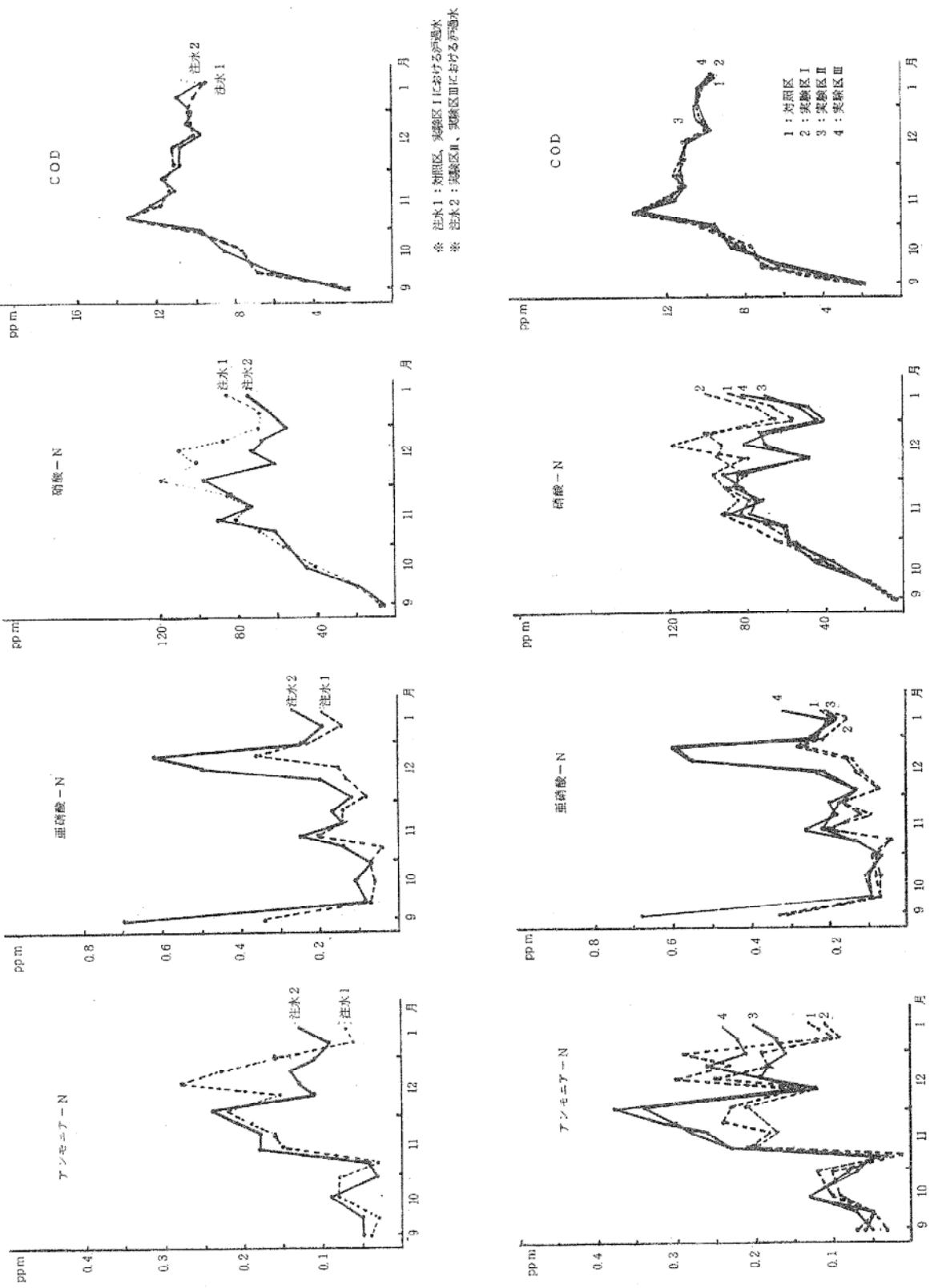


図5 水質分析結果