養殖アユのプロバイオティクス利用技術開発（平成 27 年度）
－発酵おから投与による抗病性付与効果の検証Ⅳ－

武田維倫・渡邊長生・石原　学
小堀功男・尾田紀夫

目　的

本県では魚病被害軽減と食の安全に対する消費者からの信頼性向上を目指し，医薬品に依存しない病気に強い魚づくりに取り組んでいる。本課題では，アユ冷水病原因菌に対する抗菌活性が確認されている乳酸菌株を用いて製造した発酵おからのアユに対するプロバイオティクス効果について，冷水病原因菌を用いた攻撃試験により評価した。なお，本研究は県内企業との共同研究として実施した。

材料および方法

試験期間　3 回のアユ冷水病原因菌による攻撃試験を，以下の期間に実施した（第 1 回試験：平成 27 年 6 月 12 日から 7 月 2 日，第 2 回試験：6 月 20 日から 7 月 10 日，第 3 回試験：7 月 3 日から 7 月 23 日，各 20 日間）。

供試魚　栃木県漁業協同組合連合会産アユ人工種苗を用いた。各試験時における供試魚の平均体重(g) ± 標準偏差はそれぞれ 38.5 ± 7.4，48.0 ± 9.5，62.3 ± 14.3 であった。

事前飼育　20 m^2試験池（水量 14.6 t）を用い，毎時間あたり 5.76 tの注水を行った（9.5 回転／池／日）。一部の供試魚には試験開始前の 30 日間発酵おからを市販アユ飼料の重量当たり 10%混合した飼料を投与した。飼料への混合はプラスチック製タライの中で発酵おからに含まれる水分が飼料に均一に吸収されるよう攪拌しながら行った。また，全ての供試魚は試験前の飼育期間を通して日間給餌率 3%を目安に給餌した。

試験区設定　非攻撃区，事前に発酵おからを投与した区（以下，攻撃区 1），事前に通常飼料を投与した区（以下，攻撃区 2）の 3 試験区を設定し，各試験区には 80 尾のアユを収容した。

飼育環境　FRP 水槽（内径 100 cm, 深さ 75 cm）を用い，水量 314 L（水深 40 cm），毎時間あたり 216 L の注水を行い飼育した（16.5 回転／水槽／日）。なお，試験期間中は無給餌とした。

攻撃方法　培養した冷水病原因菌を 4.6×10^8 CFUの濃度で注射することにより冷水病に人為感染させたアユ 50 尾と通常アユ 50 尾を同居飼育することにより冷水病感染アユ群を作出し，その排水を攻撃区の飼育水とした（排水飼育法）。攻撃開始時には 100 尾の冷水病感染群のうち培養冷水菌を注射した 50 尾全てに注射箇所への潰瘍の発症が認められた。冷水病原因菌を多量に排出させるため，死後 2 日間は取り上げず網袋に収容して水槽内に垂下し，さらに同数の健常なアユを随時追加することで試験期間中感染源が途切れないようにした。

死因判定　外観症状により行った。

結果解析　攻撃処理の成否と試験区間の抗冷水病性の差異を評価するため，各試験区の試験開始日後の生残率を逆正弦変換後，一元配置の分散分析を行った。平均生残率は攻撃区の死亡が確認された日から試験終了までの生残率を平均した。また，各試験区間の平均生残率の違いについて Tukey の方法により多重比較を行った。

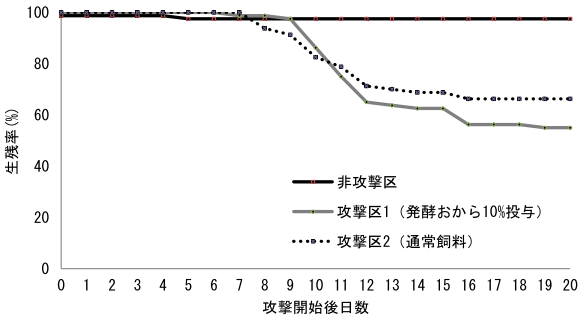

図 1 各試験区の生残状況（第 1 回試験）

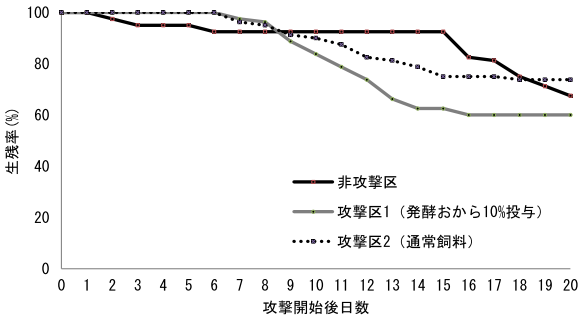

図 2 各試験区の生残状況（第 2 回試験）

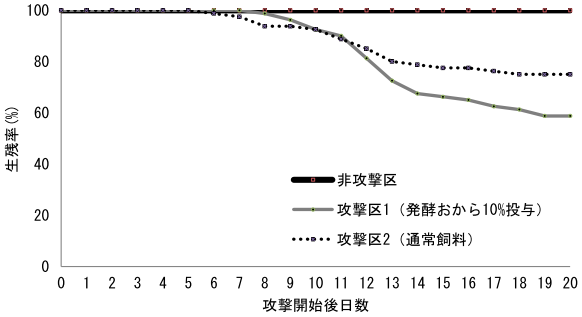

図 3 各試験区の生残状況（第 3 回試験）

結果および考察

アユの死亡は第 1 回試験では試験開始後 7 日目，第 2 回試験では 7 日目，第 3 回試験では 6 日目からそれぞれ始まった（図 1，2，3）。各試験での死亡数は，それぞれ 8–12 日目，9–13 日目， 12–13 日目にピークに達し，以後は次第に減少した。3 回の試験ともに，攻撃区の死亡個体には冷水病特有である下顎の欠損や体側の潰瘍といった外観症状が確認されたことから，感染試験は成立したとみなした。なお，第 2 回試験では試験開始後 16 日目に非攻撃区でチョウチン病が発症したことから 15 日目までのデータを解析に用いた。

3 回の試験ではいずれも非攻撃区と攻撃区の平均生残率（%）間に有意な差が認められたことから（$p < 0.05$），攻撃処理は成立したと考えられた（図 4，5，6）。しかしながら，3 回の試験ではそれぞれ攻撃区 1（発酵おから 10% 投与）と攻撃区 2（通常飼料投与）の平均生残率間には差が認められなかった（図 4，5，6）。発酵おからの製造に使用した乳酸菌株は培地上で冷水病原因菌に対する抗菌活性が確認されているが，今回実施した試験では冷水病原因菌に対する抗病性の付与効果は確認できなかった。

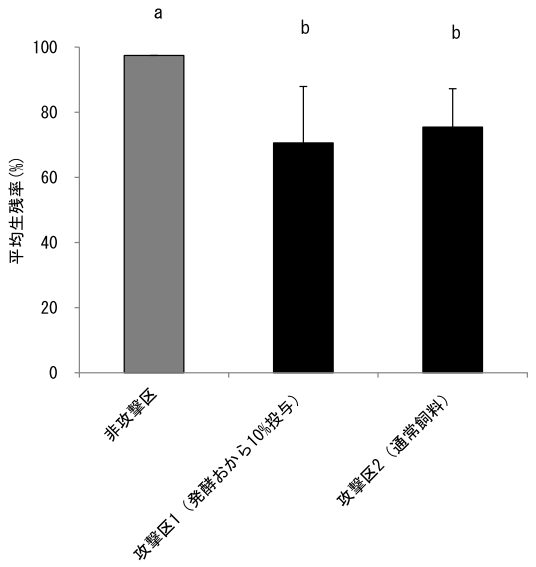

図 4 各試験区の平均生残率（第 1 回試験）
同じアルファベット記号間は有意差無し，バーは標準偏差

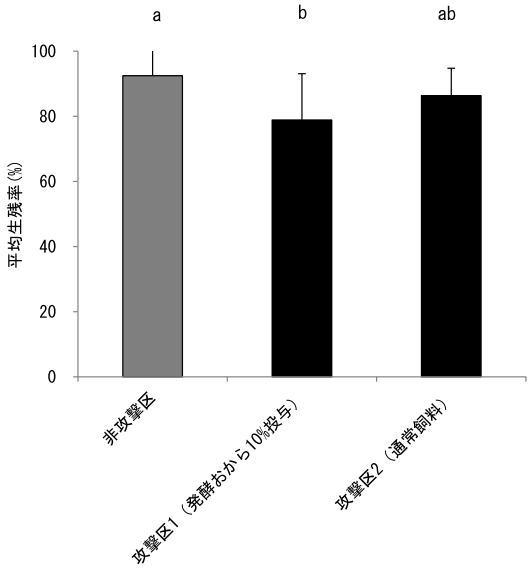

図 5 各試験区の平均生残率（第 2 回試験）
同じアルファベット記号間は有意差無し，バーは標準偏差

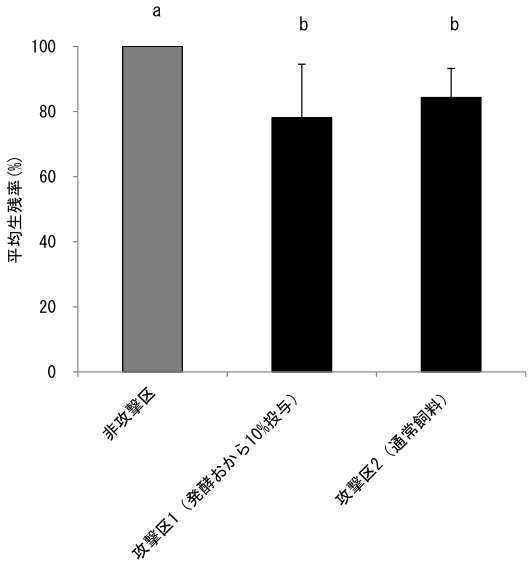

図 6 各試験区の生残状況（第 3 回試験）
同じアルファベット記号間は有意差無し，バーは標準偏差

（水産研究部）