

養殖アユのプロバイオティクス利用技術開発(平成26年度)

誌名	栃木県水産試験場研究報告
ISSN	13408585
著者名	武田,維倫 小原,明香 渡邊,長生 酒井,忠幸
発行元	[栃木県水産試験場]
巻/号	59号
掲載ページ	p. 15-16
発行年月	2016年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



目的

本県では、魚病被害軽減と食品の安全性に対する消費者の信頼性の向上を目指して、水産用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、これまでの研究により冷水病原菌に対する抗菌活性が確認された乳酸菌株を用いて製造した発酵おからについて、プロバイオティクス効果を評価することを目的として、アユに対し冷水病原菌を用いた攻撃試験を実施した。

本試験では、攻撃後も給餌を行う試験区を設け、発酵おからを継続して給餌した場合の効果の評価した。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 平成 26 年 7 月 24 日から 8 月 3 日までの 10 日間実施した。

供試魚 栃木県漁業協同組合連合会で生産した人工産種苗を用い、供試魚の平均体重(g)±標準偏差は、47.6±10.6 であった。

試験区設定 下表 1 のとおり攻撃前の給餌状況、攻撃の有無、注射内容、攻撃後の給餌状況の 4 つの処理の組み合わせにより 7 試験区 (1 試験区あたり 80 尾) を設定した。

表 1 試験区設定一覧

試験区名	①	②	③	④
攻撃前給餌状況	通常飼料投与	通常飼料投与	通常飼料投与	発酵おから 10%投与
攻撃の有無	無	無	有	有
注射内容	無	培養液	冷水菌液	冷水菌液
攻撃後給餌状況	無	通常飼料投与	通常飼料投与	発酵おから 10%投与

試験区名	⑤	⑥	⑦
攻撃前給餌状況	通常飼料投与	通常飼料投与	発酵おから 10%投与
攻撃の有無	無	有	有
注射内容	培養液	冷水菌液	冷水菌液
攻撃後給餌状況	無	無	無

事前飼育 供試魚のうち、発酵おから 10%投与区については試験開始前の 30 日間発酵おからを 10%含む飼料を投与した。発酵おからについては、市販アユ飼料の重量当たり 10%を混合した。混合作業については、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満遍なく吸収されるよう攪拌しながら実施した。また、全ての試験魚について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。

飼育環境 FRP 水槽 (内径 100 cm, 深さ 75 cm) を用い、水量を 314 l(水深 40 cm), 毎秒あたり 60 ml の注水を行い飼育した (16.5 回転/容器/日)。

攻撃方法 冷水病原菌を単離培養し、 1.5×10^{10} CFU の冷水菌液 100 μ l/個体を腹腔内に注射することにより攻撃処理とした。

死因判定 外観症状もしくは鰓組織からの抽出 DNA の PCR 分析により行った。

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後の生残率を逆正弦変換した後に、試験区間の平均生残率の違いの有無を一元配置の分散分析により確認した。平均生残率は攻撃区の死亡が確認された 3 日目から試験終了までの各試験区間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 Turkey の方法により多重比較を行った。

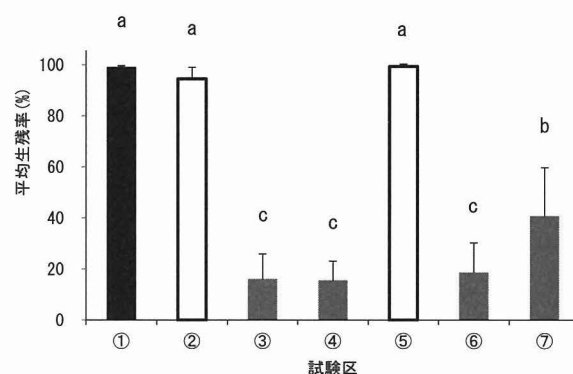


図 1 各試験区間の平均生残率 (第 1 回試験)

同じアルファベット記号間は無差、異なる記号間には有意差あり、バーは標準偏差

結果および考察

今回の試験では、注射無し区 (試験区①) と培養液注射区 (試験区②⑤) の平均生残率間には有意な差が認められず、培養液注射区 (試験区②⑤) と冷水菌液注射区 (試験区③④⑥⑦)、攻撃区 (試験区③④⑥⑦) と非攻撃区 (試験区①②⑤) の平均生残率間に有意な差 ($P < 0.05$) が認められた (図 1)。これらの結果から、注射処理による魚体の損傷が平均生残率に与える影響のほとんど無い状態で冷水菌液注射による攻撃処理が成立したと考えられた。攻撃区 (試験区③④⑥⑦) の死亡個体には、注射箇所及び近接する箇所への潰瘍の発生と下顎欠損の冷水病特有の症状に加え、総排泄口付近の肥厚と発赤が確認された。総排泄口付近の肥厚と発赤については過去に実施した排水飼育法による攻撃や培養液注射区 (試験区②⑤) では確認されなかった症状だが、死亡個体から PCR 法により冷水病原菌が検出され

たことから腹腔内への冷水病原菌液の注射により引き起こされた症状であると考えられた。

攻撃区(試験区③④⑥⑦)では試験開始後3日目から冷水病による死亡が始まった(図2)。死亡数は3日目が最も多く、その後徐々に減少した。この要因は、高濃度の冷水菌液による攻撃処理により冷水病の症状が急速に進行したためと考えられた。攻撃区(試験区③④⑥⑦)の間では試験区⑦(攻撃前発酵おから給餌, 冷水菌液注射, 攻撃後無給餌)とそれ以外の試験区の平均生残率間に有意な差が認められた ($P<0.05$)。この結果から、本試験では、攻撃処理後に給餌をしない条件下では攻撃処理前の発酵おからの投与により冷水病原菌に対する抗菌活性の付与が成立した可能性があると考えられたが、攻撃後の発酵おから給餌は冷水病原菌に対する抗菌活性の付与には寄与しないと考えられた。

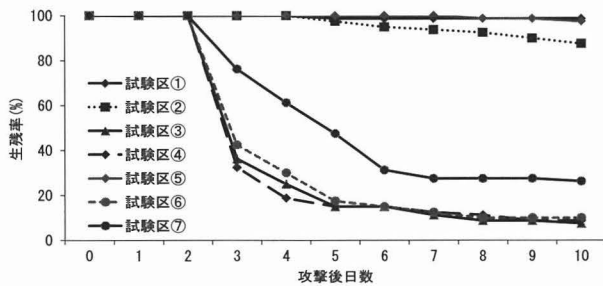


図2 各試験区の生残状況

(水産研究部)

調査試験報告要旨

を製造し、そのプロバイオティクス効果を評価するため、冷水病原菌培養液を腹腔内に注射する方法を用い通常飼料投与群と発酵おから10%入り飼料投与群を攻撃する試験を実施しました。本試験では、攻撃後にも継続して給餌を行う試験区を設け、発酵おからを継続して給餌した場合の効果を評価しました。その結果、攻撃後に発酵おからを給餌した群でも冷水病原菌に対する抗菌活性の付与効果を確認することはできませんでした。

養殖アユのプロバイオティクス利用技術開発—発酵おから投与による抗病性付与効果の検証Ⅱ—
(p15-16)

これまでの研究により冷水病原菌に対する抗菌活性が確認された乳酸菌株を用いて発酵おから