

養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—IX.
ブラウンミールで飼育したコイの病理組織像

宮崎照雄・津田 晃*・窪田三朗**

三重大学水産学部

Studies on Nutritional Myopathy Syndrome
in Cultured Fishes—IX
Histopathology of Carp fed Brown Meal

Teruo MIYAZAKI, Akira TSUDA*

and Saburoh S. KUBOTA**

Faculty of Fisheries, Mie University

In recent years, the quality of white fish meal for fish diets has become poor because of the decreased quantity of crude protein. On the other hand, quality of brown meal has become improved and its production has increased significantly. In the present study, three different types of diets including brown meal (sardine whole body) were provided. Diet-1 was vitamin E free, included brown meal with a low level of crude protein and was exposed to sun-rays for 5 days after mixture. Diet-2 was vitamin E free, included brown meal with a high level of crude protein and was exposed to sun-rays for 5 days after mixture. Diet-3 was vitamin E free and included brown meal with the low level of crude protein and sun-ray exposure for 5 days. These diets including the deteriorated meal were fed to carp for 160 days.

Carp fed the diet-1 showed good weight gain but on histopathological examination, the red and pink musculature displayed slight to moderate vacuolar degeneration of muscle fibers, and white muscle fibers showed atrophy and necrosis. Carp fed the diet-2 showed good weight gain and only slight vacuolar degeneration of the red and pink muscle fibers. Carp fed the diet-3 showed less weight gain and extensive vacuolar degeneration of the red and pink muscle fibers. A feeding examination was also conducted on the control carp with a diet including white fish meal and vitamin E. The carp showed less weight gain but no obvious patho-

*：現在、奈良県野迫川村役場

**：現在、日本獣医畜産大学

logical change. The results of this study indicate that brown meal is usable for fish diets unless it will be severely deteriorated.

Key words : Brown meal, Carp, Histopathology, Myopathy.

現在、養魚飼料の原料である魚粉には北洋で採れるスケトウダラを原料とするホワイトフィッシュミールとイワシ類を原料とするブラウンミールがある。近年、北洋のスケトウダラ漁をめぐる国際問題のため、本魚を原料とする飼料用ホワイトフィッシュミールは品質低下を余儀無くされている。それに対して沿岸漁業で高漁獲高を示すイワシ類を原料とするブラウンミールは近年、生産高が上がり、品質も向上しており、飼料原料に占める割合も大きくなってきた。ブラウンミールの品質が往年に比較して向上したものの本魚粉は変質しやすく、養魚用飼料に製品化した後、その保管の拙さから悪変した飼料が原因と考えられる疾病が養殖ニジマスで発生している（窪田ら1981）。今回、人為的に悪変させたブラウンミールを基本とする飼料でコイの飼育実験を行い、本魚粉の養魚用飼料原料としての安全性と悪変した魚粉の有害性を病理組織学的に検討した。

材料および方法

供試魚は平均体重約6gのコイ稚魚で、水産庁養殖研究所において1対の親魚から採卵、飼育した魚群の一部である。供試魚粉は粗タンパク含量73%のブラウンミール(BMa)、同69%のブラウンミール(BMb)および同46%のホワイトフィッシュミール(WFM)で、豊橋飼料株式会社から入手した。実験飼料の組成はTable 1に示し、BMaとBMbの組成成分はTable 2に示した。実験条件としての悪変したBMの有害性をみるため、BMbとBMaを基本にビタミンE欠乏飼料を調餌後、5日間日光に曝した飼料(実験区1, 2)、および5日間日光に曝したBMbを基本に調餌したビタミンE欠乏飼料(実験区3)投与区をそれぞれ設けた。また、対照区にはWFMを基本とした飼料を投与した(Table 1)。

飼育実験は50Lのプラスチック水槽に各区20尾ずつ放養し、流水地下水(0.5L/分)で行った。実験期間は5月中旬から160日間で、この間の水温は約16~24℃であった。給餌は1日3回で飽食量とした。

実験終了後、各区より10尾ずつ採取し、採血後、体側筋および内臓諸器官をブアン液で固定し、常法に従って3~5μmのパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン、PAS、アザン、ベルリン青、アルデヒドフクシン、ズダン黒Bなどの染色を施して検鏡した。血液性状は総赤血球数(クレイ・アダムス社 赤血球算定器)、ヘモグロビン量(クレイ・アダムス社 アキユスタトシステム)、ヘマトクリット値(毛細管法)を求めた。

結 果

成長結果 160日間のブラウンミール(BM)投与区と対照のホワイトミール(WFM)投与区の成長結果はTable 3に示した。160日後では5日間日光に曝したBMbを基本に調餌したビタミンE欠乏飼料(実験区3)投与区が有意に悪い成長率を示した。また、BMaとBMb基本ビタミンE欠乏飼料を調餌後、5日間日光に曝して投与した区(実験区1, 2)では成長率は良いが、136日以降に体重の減少が起っていた。WFM基本飼料を投与した対照区は、実験期間中その成長状況に特に異状が無かったが、成長率は悪かった。なお、BMを投与した3実験区の魚は共通して体表のメラニン色素の沈着が顕著で、特に、実験区1, 3では、約100日以降から背こけ

Table 1. Composition of experimental diets for carp

Ingredient	Experiments			Control
	1	2	3	
White fish meal				52 g
Brown meal-a		60		
Brown meal-b	60		60	
α -starch	22	22	22	25
Soybean oil	10	10	10	15
Vitamin mixture *	4	4	4	4
(Vitamin E free)				
Mineral mixture **	4	4	4	4
α -tocopherol				0.025

Experiment 1 : fed the diet exposed to sun-ray for 5 days (diet-1)

Experiment 2 : fed the diet exposed to sun-ray for 5 days (diet-2)

Experiment 3 : fed the diet containing meal exposed to sun-ray for 5 days (diet-3)

Brown meal-a : crude protein 65% guaranteed

Brown meal-b : crude protein 60% guaranteed

White fish meal : crude protein 45.6%

* : MIYAZAKI et al. 1981

** : MIYAZAKI et al. 1981

Table 2. Chemical composition of meal and oil

Ingredient	Brown meal-a	Brown meal-b	Soybean oil
Moisture	7.6%	7.3%	
Crude protein	73.1%	68.6%	
Crude fat	7.5%	8.3%	
Crude fiber	0.0%	0.1%	
Crude ash	11.8%	14.7%	
Soluble non-nitrogen sub.	0.0%	1.06%	
Soluble nitrogen	2.35%	2.42%	
Volatile basic nitrogen	0.07%	0.11%	
Histamin	26mg%	173mg%	
Ethoxyquin	3ppm	99ppm	
Vitamin E	—	1mg%	7mg%
Extracted oil			
Acid value	17.5	23.9	0.2
Peroxide value	15.9meq/kg	2.46meq/kg	—
Iodine value	134	169	137
Carbonyl value	52	18.8	—

症状を示す個体が見られるようになったが、斃死には至らなかった。

病理組織学的所見 160日目にBM投与の3実験区とWFM投与の対照区から各10尾づつ取り上げて病理組織学的観察に供した。コイの体側筋組織は通常白色筋組織と血合筋組織から成るが、厳密には両筋組織の境界部分には桃色筋組織と呼ばれる筋組織が介在する。BM投与の3実験区の魚では共通してその桃色筋組織と血合筋組織の筋線維に空胞変性が起こっていた。空胞変性を起こした桃色筋線維と血合筋線維は、ともに軽度の腫大 (Fig. 1) から肉漿塊の出現を伴う筋原線維の萎縮 (Fig. 2) に至る変化を示していた。しかし、空胞変性の顕著な筋線維でもマクロファージの浸潤像および筋線維周囲の結合織の増殖像は見られなかった。実験区3の魚ではこうした桃色筋組織と血合筋組織における筋線維の空胞変性の出現率は高く、その程度は高度で広範囲に及ぶ個体が多かった (Fig. 2)。それに対して、実験区2では同病変の発生率は低く、個々の個体でもその程度は非常に軽微であった (Fig. 3)。実験区1では同病変の発生率は高かったが、その程度は概して軽度から中等度であった。また実験区1では白色筋組織の筋線維の萎縮と壊死が併発している個体も見られた。その壊死した筋線維はマクロファージの浸潤と貪食を受け、その周りには結合織が増殖していた (Fig. 4)。内臓諸器官の病変として、セロイドを貪食したマクロファージの浸潤像が肝臓、脾臓、腎臓、膵臓に見られたが、3実験区の魚ともその程度は軽度であった。また肝臓や腎臓の実質に異状像は見られなかった。

なお対照区の魚には肝臓、脾臓、腎臓、膵臓に非常に軽微なセロイドを貪食したマクロファージの浸潤像が見られたが、体側筋組織に特に異状は認められなかった。

血液性状 ブラウンミールを投与した3実験区および対照区との間で血液性状に特記すべき変化は見られなかった (Table 4)。

考 察

近年、飼料用ホワイトフィッシュミールの原料不足と品質の低下のためイワシ類を原料としたブラウンミールの生産高が大きくなりその品質も良くなってきた。ブラウンミールは養魚飼料の原材料として多用されるようになり、養魚飼料の一部にはブラウンミールを主原料とした製品も出ている。また、ブラウンミールを主原料としたブリ用配合飼料も実用段階の物が開発された (高知水試1984)。しかしながら、過去にはブラウンミールの品質が悪く、それを含む飼料を摂取した魚は短期間で重篤な中毒症に陥ったと言われている (石丸 私信)。また最近でも、ブラウンミールを多く含む養魚用飼料は保管中の悪条件によって変質することがあり、それによる事故がニジマスで起こっている (窪田ら1981)。本実験では二種類の品質の異なるブラウンミールを日光に曝すことによって悪変させ、それを原料にしてコイの飼育実験を行った。そのうち、低タンパク価のブラウンミール (BMb) と高タンパク価のブラウンミール (BMa) をそれぞれ基本とした飼料を、調餌後日光に曝して悪変させて投与した実験区1と2の供試魚を比較検討すると、低タンパク価のブラウンミールを投与した実験区1のほうが成長率が悪く、ミオパチーの発現率も高かった。この事実はブラウンミールを含有した飼料が悪変すると魚にミオパチーを起こすが、高品質のブラウンミールのほう (BMa) は変質しにくく、かつ魚に対する障害作用も弱いことを示している。本実験では、悪変後のブラウンミール基本飼料の脂質の状態やビタミン類の成分量を検討していないが、供試魚に発現したミオパチーは変敗した脂質を摂取した魚に見られたミオパチー (宮崎ら1881, MIYAZAKI 1985) と同じであった。このことから、ブラウンミール基本飼料の悪変に際してブラウンミールに含有されていた脂質分が変敗して、供試魚の筋組織にミオパ

Table 3. Weight gain of carp fed brown meal and white fish meal

Weight gain (g) (mean ± SE)				
Days	Ex. 1	Ex. 2	Ex. 3	Cont.
0	5.1 ± 1.6	6.2 ± 1.1	7.2 ± 1.5	6.5 ± 0.9
64	20.5 ± 2.9	22.2 ± 3.7	18.6 ± 4.1	14.8 ± 2.7
86	35.4 ± 7.9	37.7 ± 8.2	35.8 ± 7.3	30.9 ± 2.2
108	45.8 ± 12.4	57.3 ± 16.4	55.9 ± 13.8	50.1 ± 9.4
136	60.8 ± 20.6	67.6 ± 15.2	58.7 ± 22.3	56.1 ± 9.5
160	53.6 ± 16.6	67.4 ± 9.7	62.0 ± 16.5	63.3 ± 20.0
Gain (%)	951	987	761	874

Average of 10 fish

Feeding: satiation. Flow-through system with subterranean water (16-24 °C)

Table 4. Hematological data of carps fed brown meal and white fish meal at the 160th day

	Ex. 1	Ex. 2	Ex. 3	Cont.
RBC	178 ± 21.7	177 ± 23.1	171 ± 0.6	168 ± 3.5
Hb	10.1 ± 1.4	10.4 ± 1.3	9.2 ± 1.1	7.2 ± 0.6
Ht	39.3 ± 8.4	43.2 ± 6.0	39.2 ± 6.4	38.9 ± 5.3

RBC: Red blood cell count (x 10⁴ cell/ml), Hb: Hemoglobin (g/dl)

Ht: Hematocrit (%)

チーを主徴とする障害を及ぼしたと考えられた。

低タンパク価のブラウンミール (BMb) では、調餌後と調餌前にそれぞれ悪変させて投与実験 (実験区 1, 3) に供した。その結果実験区 3 のほうが成長が悪く、また個々の魚のミオパチーの程度も高度であった。この事実は調餌後の悪変操作では飼料中に含有しているビタミン類が脂質の変敗を弱めたのに対し、調餌前にブラウンミールを悪変した場合にはそのなかの脂質の変敗が進み供試魚により強い障害を及ぼしたと考えられた。また、これら悪変したブラウンミール基本飼料で飼育した魚に発現したミオパチーは、体側筋のうち特に血合筋組織と桃色筋組織に好発していた。それに対してホワイトフィッシュミール基本飼料 (宮崎ら 1981) やカゼイン基本飼料 (MIYAZAKI 1985) で実験的に起こしたコイのミオパチーは白色筋組織に好発する傾向があった。飼料原料によってミオパチーの発現部位が異なるのはそれぞれの筋線維の代謝との関連を考える上で興味深い。

以上の実験結果から、近年生産されているブラウンミールはかなり厳しい悪変操作が行われた時、摂取した魚に障害を及ぼす事がわかった。そのうち特に高品質のブラウンミールではかなり厳しい悪変操作がなされても、摂取した魚にはそれほど激しい障害が現れない事がわかった。以上の事から、ビタミン類や抗酸化剤の添加によって有効な悪変防止がなされたブラウンミールは養魚用飼料原料として十分に利用可能と言えよう。

ホワイトフィッシュミール基本飼料を投与した対照区の魚には病理組織学的に異状を認めなかったが、その成長率はブラウンミール基本飼料を投与した魚に比してやや劣っていた。本実験ではそれぞれの飼料の厳密なカロリー調整は行っていないが、ホワイトフィッシュミール基本飼料を投与した対照区の魚の成長率がやや劣っていたのはホワイトフィッシュミールのタンパク含量がブラウンミールのタンパク含量に比して劣っていたためと思われる。このように近年養魚用に生産されるホワイトフィッシュミールの品質はかなり悪いと言わざるをえず、養魚用飼料原料をホワイトフィッシュミールだけに頼るべきではない。

本研究を進めるにあたりブラウンミールと北洋ミールを供与いただいた豊橋飼料の石丸盛斌氏、また、ビタミン類等を供与いただいたエーザイ株式会社若林高明氏に篤く御礼を申し述べる。

文 献

- 高知県水産試験場 1984. ハマチ配合飼料の開発に関する研究. 1-48.
- 窪田三朗・宮崎照雄・津田茂美・糟谷浩一, 1981. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究-IV. ニジマスの激しいセロイド症をともなう栄養性ミオパチー. 三重大水産研報, 8, 107-115.
- MIYAZAKI T., 1985. Nutritional myopathy of carp fed oxidized methyl linoleate. *J. Nutri.* (投稿中)
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1981. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究-VI. コイに対する蚕蛹油と魚油の投与実験-i. 脱脂北洋ミール基本ビタミンE欠乏飼料. 三重大水産研報, 8, 131-147.

Explanation of Plate

- Fig. 1 Vacuolar degeneration of pink muscle fibers of fish fed the diet-1. Degenerated muscle fibers were also swollen. Azan stain, X80.
- Fig. 2 Marked vacuolar degeneration of red muscle fibers of fish fed the diet-3. Degenerated muscle fibers underwent atrophy accompanying appearance of the sarcoplasm. Azan stain, X160.
- Fig. 3 Slight vacuolar degeneration of muscle fibers in the pink musculature of fish fed the diet-2. P: pink muscle, W: white muscle. Azan stain, X80.
- Fig. 4 Necrotized muscle fibers in the white musculature of fish fed diet-1. Necrotized fibers were invaded by macrophages and other fibers were atrophic accompanied by production of connective tissue around them. Azan stain, X100.

