

表 1. 成長に伴う乾燥重量 1mg 当たりの酸素消費量の変化

4.4 各種製剤配合飼料の給餌はヒラメの免疫能を向上させるか？

北本 恵理・田中 麻衣・小谷 知也 (福山大生命工)・倉田 修 (日獣生命大)
 ・伏見 浩 (福山大生命工)・畑井喜司雄 (日獣生命大)

魚病対策として多くの薬剤が使用されているが、食品である養殖魚類には薬品に頼らない防疫対策を開発する必要がある。そこで、FK-23、β-グルカン、魚皇および PHB を添加した配合飼料の給餌がヒラメの生体防御能に与える効果を、包囲化試験および白血球貪食能試験により検討した。

【飼育方法および生体防御測定】

全長 15.46±1.57cm、重量 30.96±10.07g のヒラメを試験に供した。FK-23、および魚皇の含有率を 0.01%、0.05%、0.25%、1.25%、β-グルカンおよび PHB の含有率を 0.25%、0.5%、1%、2% の 4 段階に調整した配合飼料を作製し、給餌した。各種製剤を添加していない区を対照区とした。各水槽の総収容重量に対する 3% 量を 1 日の総給餌量とし、8 時、13 時、17 時の 1 日 3 回給餌した。0.5 m³容ダイライト水槽 17 水槽に 50 尾ずつ収容した。2006 年 11 月 22 日から

10 日間の馴致飼育後、5 週間の飼育実験を行った。飼育実験開始日から 5 週目まで、1 週間おきに各水槽から採取した 3 尾を用いて包囲化試験および白血球貪食能試験を行った。

頭腎から白血球を回収し、Percoll を用いた比重遠心分離により分取した白血球を生体防御試験に使用した。包囲化試験は白血球が異物を認識して起こる非特異免疫能を総合的に評価できる新しい方法である。包囲化試験では異物として *Ichthyophonus hoferi* を使用した。2.0×10⁶ 細胞の白血球、240 球状体ホルマリン固定 *I. hoferi*、5%FBS 加イーグル MEM 培地 (200 μL) を 96 穴平底マイクロプレートのうち 3 穴に混合した。20℃で 12 時間培養し、白血球に *I. hoferi* を包囲させた。包囲化試験の評価方法として包囲形成指標を求めた。白血球が *I. hoferi* を取り囲んだ面積 (写真 1) と *I. hoferi* の面積 (写真 2) を画像解析によって求めた。包囲化試験では白血球が包囲した投影面積を *I. hoferi* の平均投影面積に対する相対的な数値を包囲形成指標として非特異免疫能を評価した。包囲形成指標が 3 以上で包囲形成していることを表す。

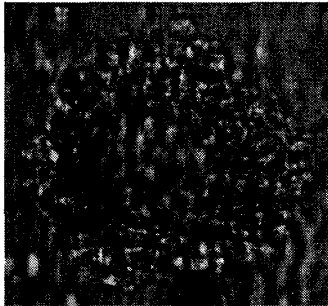


写真1

*I. hoferi*を包囲した白血球

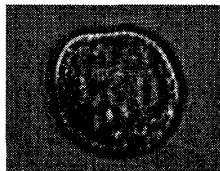


写真2 *I. hoferi*

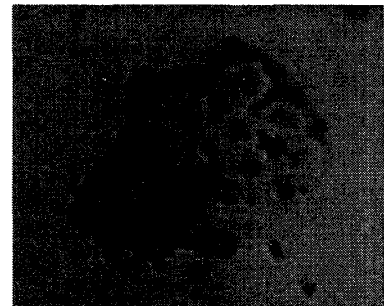


写真3

Zymosanを貪食した腎臓白血球

白血球貪食能試験は異物を無差別に貪食する免疫機構を利用した試験である。白血球貪食能試験では異物として Zymosan を使用した。1.0×10⁶ 細胞の白血球と Zymosan、5%FBS 加イーグル MEM 培地 (105 μL) をマイクロチューブに混合した。20℃で 30 分間培養し、白血球に Zymosan を貪食させ、塗抹後ギムザ染色を施した。顕微鏡で異物を貪食した白血球を観察した (写真 3)。白血球が Zymosan を貪食した割合を貪食率とし、白血球が貪食した Zymosan の数を貪食指数として貪食能を評価した。

【結果】

飼育実験開始時の包囲能および貪食能荷は試験区間に有意差はなかった。

各種製剤添加配合飼料を給餌した区では対照区と比較して包囲能と貪食能に有意差が認められた。各種製剤の含有率が高い区で包囲能および貪食能の向上が認められた (図 1)。FK-23 含有率が高いと給餌開始直後に包囲能の向上が認められたが、その効果は持続しなかった。また FK-23 含有率が低い場合は給餌開始直後に包囲能の顕著な向上は認められなかったが、時間経過とともに上昇傾向が認められた。β-グルカン給餌区では飼育実験開始 1 週間後はどの区でも包囲能の向上が認められたが、その効果は持続しなかった。魚皇と PHB 給餌区ではそれらの含有率が高い場合は給餌開始直後から包囲能の向上が認められ、

その後も効果が持続した (図 2)。

以上の結果から、FK-23 0.05%、 β -グルカン 0.5%、魚皇 1.25%、および PHB 2% を含む配合飼料の給餌が包囲能を向上させたと考えられる。

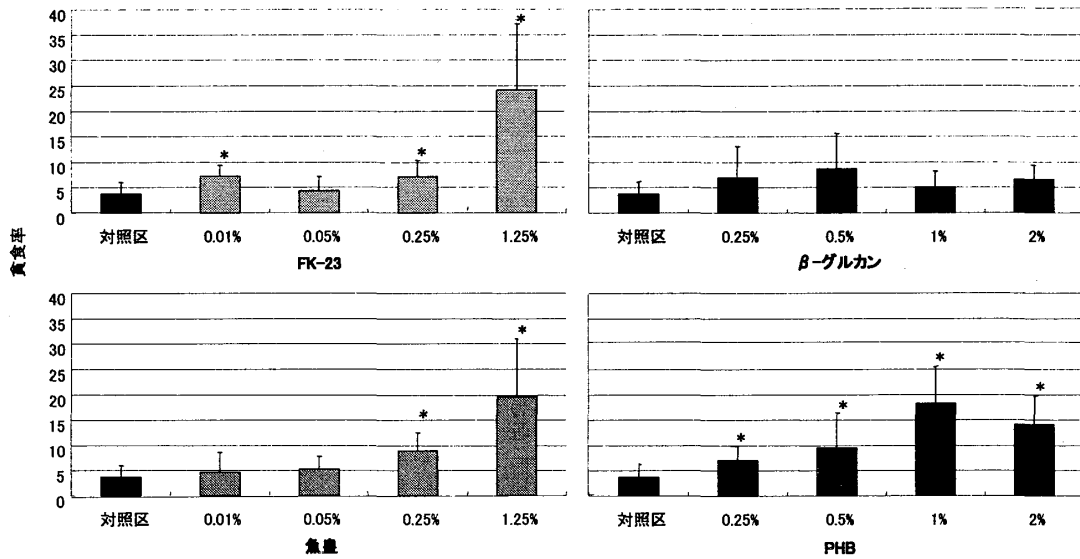


図1 各種製剤を給餌した区の飼育実験開始5週目における食食率

*印は対照区間での統計学的検定の結果を表す
(Mann-WhitneyのU検定, * : p < 0.05)

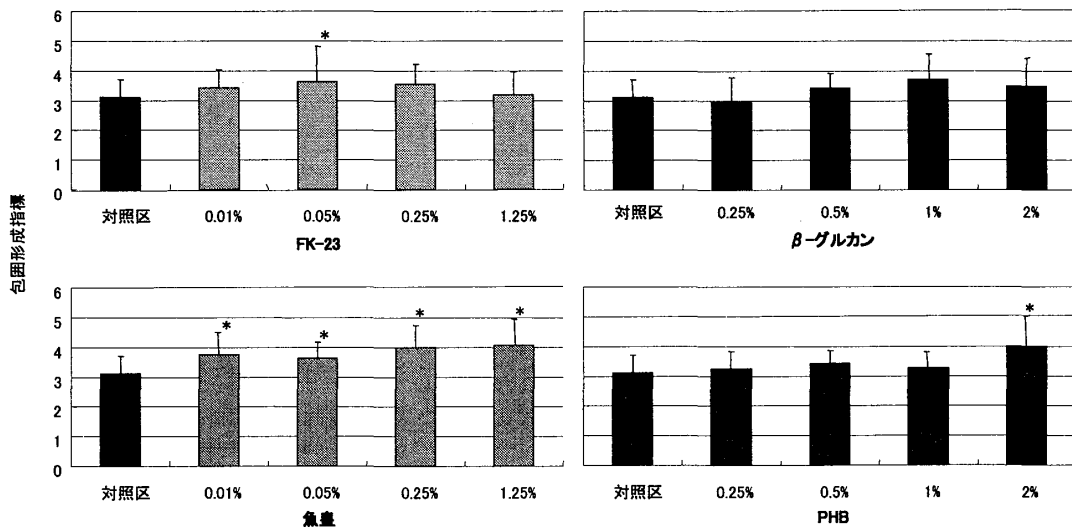


図2 各種製剤を給餌した区の飼育実験開始5週目における包囲形成指標

*印は対照区間での統計学的検定の結果を表す
(Mann-WhitneyのU検定, * : p < 0.05)