

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：80122

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07564

研究課題名(和文) 新たに植物油で発見した高密度ストレス解消作用によるサケ稚魚の健苗性向上技術の開発

研究課題名(英文) Development of techniques to improve seed quality of chum salmon by reduction of high density-dependent stress using dietary vegetable oil administration

研究代表者

水野 伸也 (MIZUNO, Shinya)

地方独立行政法人北海道立総合研究機構・水産研究本部さけます・内水面水産試験場・主査

研究者番号：70442655

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、植物油添加飼料を用いた稚魚の高密度ストレス解消技術及び原虫病軽減技術の開発を目的とした。検索した植物油の中で、亜麻仁油2%添加飼料の給餌が、高密度ストレス解消(14日以上給餌)と原虫病抑制(7日以上給餌)に最も大きな効果を示し、このストレス解消には脳下垂体-間腎腺系が関与する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Present study aimed at development of techniques to reduce high density-dependent stress and to prevent protozoan diseases in hatchery-reared juvenile chum salmon. Consequently, this study demonstrated that feeding of diet supplemented with linseed oil at 2% for at least successive 14 days reduced high density-dependent stress and prevented protozoan diseases in juveniles. In addition, it was suggested that pituitary-interrenal gland system controlled the reduction of high density-dependent stress.

研究分野：魚類生理学

キーワード：サケ 高密度ストレス 原虫病 亜麻仁油 健苗性

1. 研究開始当初の背景

(1) 北海道内のサケ人工孵化放流を担う孵化場の多くは、予め定められた計画尾数の適正サイズ(体重 1g)稚魚を、限られた少ない水量で飼育せざるを得ず、高密度飼育を余儀なくされている。

(2) 高密度飼育は、稚魚に生理的ストレスを与え、免疫機能を低下させ、原虫病(寄生虫病の一種)をはじめとする疾病の発症を誘発する。

(3) 原虫病の発症は、稚魚の健康阻害や放流後の生残率低下を招き、秋サケ資源減少の1つの要因である可能性が指摘されている。

(4) 課題解決には、高密度ストレスを解消し、原虫病を軽減する技術の開発が急務である。

(5) 予備試験を通して、綿実油等に高密度ストレス解消と原虫病進行の抑制、両作用がある可能性を示している。

2. 研究の目的

放流用稚魚の健康度向上のため、植物の種子油添加飼料を用いた稚魚の高密度ストレス解消技術及び原虫病軽減技術の開発と、この植物油によるストレス解消の作用機序解明を行う。

3. 研究の方法

(1) 高密度ストレス解消に最も大きな効果を示す植物油の種類、市販飼料への添加率、給与期間を明らかにする。
試験項目等: 植物油の種類、給与量、給与期間を変えた稚魚の飼育試験、ストレス関連因子の測定

(2)(1)の植物油の効果が、視床下部-脳下垂体-間腎腺系と視床下部-交感神経-クロム親和細胞系、どの応答経路に作用しているのかを明らかにする。
試験項目等:(1)の技術を用いた稚魚の飼育、コルチゾル、カテコールアミン類、脂質代謝酵素等の測定

(3) 原虫病の進行抑制に最も大きな効果を示す植物油の種類、市販飼料への添加率、給与期間を明らかにする。
試験項目等: 植物油の種類、給与量、給与期間を変えた稚魚の飼育試験、原虫の感染試験と定量

4. 研究成果

(1) 各種油を各濃度で添加した飼料を 42 日間、稚魚に給餌する高密度飼育試験(40kg 稚魚/m³ 飼育水)の結果、亜麻仁油(亜麻)2%添加飼料給餌により、終了時の稚魚の体重が最も増加し、ストレス応答の指標である血漿

コルチゾル量(図1)及び脳下垂体 HSP 遺伝子発現量の増加が最も抑制された。亜麻 2%群のコルチゾル量は、コントロール群のそれに比べ、飼育 14 日目以降有意に低い値を示した。以上の結果、検索した中で、14 日以上の亜麻 2%飼料の給餌が、高密度ストレス解消に最も有効であると結論した。

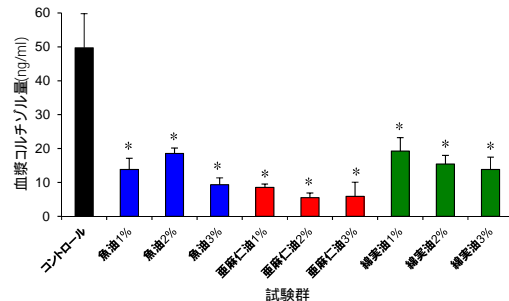


図1. 飼育終了時の各種油給餌稚魚の血漿コルチゾル量

*コントロールとの間の有意差を示す (P < 0.05)

(2) コントロール飼料または亜麻 2%飼料を 14 日間、稚魚に給餌する高密度(40kg/m³)または低密度飼育(10kg/m³)試験の結果、高密度ストレス応答と判断される血漿中のコルチゾル量、糖量及び遊離脂肪酸量の増加、脳下垂体 POMC 及び HSP 遺伝子発現量の増加、肝臓リパーゼ活性の上昇が、亜麻給餌により有意に抑制された。一方、脳 CRH 遺伝子発現量及び血漿ノルアドレナリン、アドレナリン量には、高密度飼育及び亜麻給餌の影響が観察されなかった。以上の結果、亜麻給餌は、脳下垂体-間腎腺系に作用し、その系が誘導する高密度ストレス応答を緩和することが示唆された(図2)。

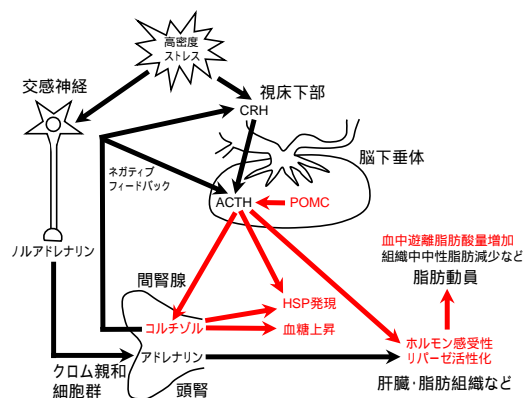


図2. 亜麻仁油給餌が高密度ストレス応答に与える作用

亜麻仁油給餌は、赤色のストレス応答を緩和すると推察される

(3) 原虫感染の経験のない稚魚に、各種油を各濃度で添加した飼料を 0~14 日間予防給餌した後、給餌を継続したまま 28 日間の鞭毛

虫イクチオポド、繊毛虫トリコジナの混合感染試験を行った。亜麻 2%飼料の給餌により、稚魚への原虫寄生は最も抑制され(図3) この抑制効果は予防給餌を7日以上行った時に有意だった(図4)。以上の結果、検索した中で、7日以上亜麻 2%飼料の給餌が、稚魚の原虫病抑制に最も有効であると結論した。

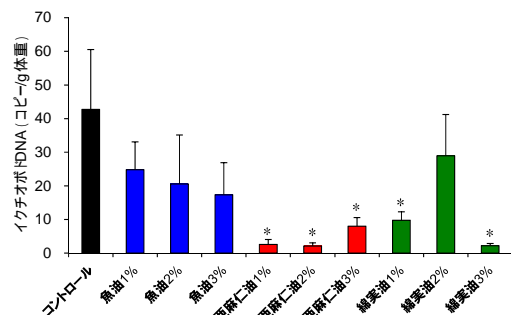


図3. 7日間予防給餌を行った場合の飼育終了時における各種油給餌稚魚のイクチオポド寄生量
*コントロールとの間の有意差を示す($P < 0.05$)

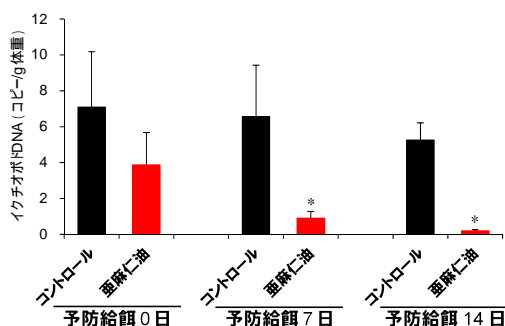


図4. 予防給餌の日数が飼育終了時の稚魚のイクチオポド寄生量に与える効果
*同一予防給餌日数におけるコントロールとの間の有意差を示す($P < 0.05$)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

Mizuno S, Urawa S, Miyamoto M, Saneyoshi H, Hatakeyama M, Koide N, Ueda H, Epidemiology of ectoparasitic protozoans, *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae*, on wild chum salmon ectoparasitic flagellate infecting juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*, Diseases of Aquatic Organisms, 査読有、126巻、2017、99-109 DOI:10.3354/dao03162

Mizuno S, Urawa S, Miyamoto M, Hatakeyama M, Koide N, Ueda H, Quantitative analysis of *Ichthyobodo salmonis* an ectoparasitic

flagellate infecting juvenile chum salmon in hatcheries, Fisheries Science, 査読有、83巻、2017、283-290 DOI:10.1007/s12562-016-1055-z

Mizuno S, Urawa S, Miyamoto M, Hatakeyama M, Saneyoshi H, Sasaki Y, Koide N, Ueda H, The epidemiology of the trichodinid ciliate *Trichodina truttae* on hatchery-reared and wild salmonid fish in Hokkaido, Fish Pathology, 査読有、51巻、2016、199-209 <https://doi.org/10.3147/jsfp.51.210>

〔学会発表〕(計5件)

Mizuno S, Urawa S, Miyamoto M, Hatakeyama M, Koide N, Tada S, Okubo T, Inada K, Ueda H, Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on prevention of ectoparasitic protozoans, *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae*, and on physiology in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*, 10th International Workshop on Salmonid Smoltification, 2017

水野 伸也, 浦和 茂彦, 佐々木 義隆, 上田 宏, 亜麻仁油添加飼料の給餌が高密度飼育されたサケ稚魚のストレス応答に与える効果、平成29年度日本水産学会春季大会、2017

水野 伸也, 宮本 真人, 畑山 誠, 小出展久, 佐々木 義隆, 浦和 茂彦, 上田 宏, 紫外線照射による飼育用水の殺虫がサケ稚魚の原虫病予防に与える効果、平成28年度日本水産学会秋季大会、2016

水野 伸也, 宮本 真人, 畑山 誠, 小出展久, 鈴木 邦夫, 浦和 茂彦, 大久保 隆, 稲田 薫, 上田 宏, オレガノ精油添加飼料の給餌によるサケ稚魚の原虫病予防技術実証試験、平成28年度日本水産学会春季大会、2016

水野 伸也, 宮本 真人, 畑山 誠, 小出展久, 鈴木 邦夫, 浦和 茂彦, 大久保 隆, 稲田 薫, 上田 宏, 亜麻仁油添加飼料の給餌がサケ稚魚の原虫病予防及び生理機能に与える効果、平成28年度日本水産学会春季大会、2016

6. 研究組織

(1)研究代表者

水野 伸也 (MIZUNO, Shinya)
地方独立行政法人北海道立総合研究機構・さけます・内水面水産試験場・主査
研究者番号：70442655

(2)研究協力者

上田 宏 (UEDA, Hiroshi)
浦和 茂彦 (URAWA, Shigehiko)