

バイオフィェンス機能活用健康魚づくり技術開発事業

田中真二・井上美佐・栗山 功・西村昭史

目的

薬剤による治療の困難な薬剤耐性菌による細菌病やウイルス病に対しては、飼育管理内容を改善することで魚が本来持っているバイオフィェンス（生体防御）機能を高め、病気を予防することが望まれる。そのためには日常的にバイオフィェンス機能を測定できる手法を確立するとともに、魚種別にその測定項目の標準値を設定し、さらに飼育条件とバイオフィェンス機能との関わりについて明らかにしておく必要がある。本事業では、昨年度までにバイオフィェンス機能の簡易測定手法としてポンドサイドキットをマダイに適用し、養殖現場で十分利用可能なものに改良した。今年度は養殖マダイにおける本キットの各測定項目の標準値を設定するため、養殖現場で飼育されているマダイを用いた測定データを蓄積する。またポンドサイドキットでは、Hb濃度の求め方としてマイクロプレートリーダーで測定した吸光度をもとに、計算式{Hb濃度(g/dl血液)=吸光度×201(希釈倍率)×0.279}により鳴谷の方法による測定値の近似値を算出することとしているが、測定に用いる分光光度計とマイクロプレートリーダーの機種によりこの係数が異なる可能性が考えられることから、当分場

に設置している両機器で同時に測定し、値を比較することにより計算式の検討を行う。

材料および方法

1. ヘモグロビン濃度の計算式の検討

平成12年2月14日および3月13日(水温17~18℃)にマダイ1歳魚(平均体重750g)計28尾から採血し、マイクロプレートリーダー(IMMUNO-MINI NJ-2300, 日本インターメッド)および分光光度計(UV-1600PC, 島津製作所)の両機器により吸光度を測定し、分光光度計により測定したHb濃度を基準値として、マイクロプレートリーダーによる吸光度から近似値を算出するための係数を求めた{係数=Hb濃度÷吸光度÷201(希釈倍率)}。

2. 養殖現場のマダイの測定

三重県南部の異なる漁場で飼育されている2群のマダイ0歳魚(表1)を用い、高水温期の平成11年9月(水温26℃)、水温下降期の12月(水温19℃)、および低水温期の平成12年2~3月(水温16℃)の3回にわたり、各10尾ずつポンドサイドキットによる測定を行った。

表1 測定に用いたマダイ0歳魚の飼育概要

魚群	種苗由来	飼育密度(尾数/小割体積)	給餌内容
A	四国	86 → 27 (12月末に分養) (50,000 → 16,000尾/583 m ³)	エクストルーダー [®] ペレット
B	近畿	17 (6,000尾/351 m ³)	エクストルーダー [®] ペレット

結果および考察

1. ヘモグロビン濃度の計算式の検討

表2のとおり、2回の測定により係数は0.280および0.275と異なる値が算出された。しかし2回の測定で求められた係数を用いて算出されるヘモグロビン濃度は、例えば今回マイクロプレートリーダーで測定された吸光度の平均値0.117の場合で6.58g/dlおよび6.48g/dlで

あり、現行の係数0.279を用いた場合の6.56g/dlとの誤差は0.08g/dl以内とわずかであることから、現行の係数を変更する必要はないと思われる。

2. 養殖現場のマダイの測定

各魚群のポンドサイドキットによる測定結果を表3に示した。A群では第1回目の測定にあたる9月にイリド

ウイルス病が発生し、3%の死亡がみられたが、その後は順調に生育した。測定値をみると、9月の測定では12月および2月と比べてNBT還元能が高く、イリドウイルス病の影響による可能性が考えられるが、B群においてもA群と同様高水温期に高い傾向がみられたことから、成長あるいは季節による正常な変動なのかもしれない。

B群ではイリドウイルス病の発生はみられなかったが、第2回目の測定にあたる12月下旬から1月中旬にかけてピバギナ症が発生し、2%の死亡がみられた。しかし駆虫処理により本症は終息し、その後は順調に生育した。測定値をみると、12月の測定ではピバギナによる貧血のためヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度が低いほか、食食率が高かった。

両群に共通した傾向としては、上記のNBT還元能の

ほか、白血球の食食率も2～3月の測定値が低く、成長あるいは季節による変動であることが考えられる。またいずれの項目の測定値も両群でそれほどかけ離れた違いはみられなかった。このようにわずか2群であるが、互いに近い測定値および経時的な変動がみられたことから、今後こうした測定事例を増やすことにより、成長段階および季節（水温）毎の標準値を設定することができると思われる。

関連報文

日本水産資源保護協会：平成11年度バイオディフェンス機能活用健康魚づくり技術開発事業研究成果実績報告書

表2 分光光度計とポンドサイドキットによるヘモグロビン濃度の測定結果

(2月14日分)					(3月13日分)				
分光光度計での分光光度計でのポンドサイド					分光光度計での分光光度計でのポンドサイド				
検体No.	吸光度	Hb濃度 (g/dl)	キットの吸光度	係数	検体No.	吸光度	Hb濃度 (g/dl)	キットの吸光度	係数
1	0.162	5.96	0.104	0.285	1	0.174	6.46	0.115	0.279
2	0.172	6.33	0.112	0.281	2	0.190	7.04	0.128	0.274
3	0.181	6.66	0.117	0.283	3	0.061	2.32	0.035	0.330
4	0.170	6.25	0.110	0.283	4	0.197	7.30	0.132	0.275
5	0.193	7.10	0.123	0.287	5	0.172	6.38	0.119	0.267
6	0.175	6.44	0.113	0.284	6	0.200	7.41	0.133	0.277
7	0.139	5.11	0.088	0.289	7	0.204	7.55	0.138	0.272
8	0.064	2.34	0.042	0.277	8	0.190	7.04	0.129	0.272
9	0.207	7.62	0.138	0.275	9	0.175	6.49	0.119	0.271
10	0.180	6.62	0.121	0.272	10	0.180	6.68	0.128	0.260
11	0.178	6.55	0.118	0.276	11	0.182	6.75	0.124	0.271
12	0.194	7.14	0.130	0.273	12	0.097	3.64	0.067	0.270
13	0.161	5.92	0.108	0.273	13	0.190	7.04	0.128	0.274
平均				0.280	14	0.177	6.57	0.122	0.268
標準偏差				0.006	15	0.186	6.90	0.128	0.268
分光光度計の検量線：y 36.88079x 0.01708 (r 0.9999)					平均 0.275 標準偏差 0.016 分光光度計の検量線：y 36.58488x+0.091611 (r 0.9999)				

表3 養殖現場のマダイの測定結果

魚群	測定日	体重 (g)	Ht値 (%)	Hb濃度 (g/dl)	NBT還元能 (ODat540nm)	ポテンシャルリソチーム (ODat540nm)	リソチーム活性値	(平均値±標準偏差)	
								食食率 (%)	食食指数
A群	9月9日	65±11	34.1±6.8	6.0±1.2	0.080±0.025 ^a	0.003±0.013	97.1±53.4	15.7±16.3 ^{a,b}	2.6±1.2
	12月21日	176±29	33.1±3.9	6.4±0.8	0.007±0.005 ^b	0.004±0.004	92.7±89.2	20.0±17.1 ^a	3.5±1.4
	3月3日	277±40	29.5±2.3	6.5±0.7	0.012±0.007 ^b	0.005±0.002	48.2±49.8	6.6±2.8 ^b	2.4±1.2
B群	9月17日	64±9	43.4±6.8 ^a	6.1±0.4 ^a	0.034±0.010 ^a	0.003±0.003 ^{a,b}	82.2±62.6	7.2±5.0 ^a	3.5±1.6 ^a
	12月24日	157±15	26.5±7.1 ^b	4.5±1.3 ^b	0.022±0.006 ^b	0.005±0.005 ^a	48.3±52.8	23.2±12.5 ^b	1.6±0.6 ^b
	2月25日	173±33	31.2±3.5 ^b	5.7±0.5 ^a	0.016±0.006 ^c	0.001±0.001 ^b	83.8±34.6	3.0±2.7 ^c	1.4±0.5 ^b

a b c : 異符号間に有意差あり (p < 0.005)