

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目 **Impact of Different Environmental Factors on Immuno and Endocrine responses in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus***

It is known that an aquatic environment influences various conditions of physiological and ecological aspects in fish. To date, however, few studies have been conducted on the effects of acute and chronic changes in aquatic environment on physiological and immunological functions in tropical fishes. Using the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, which originates from African rivers and settles from freshwater to brackish waters in the tropical and the subtropical area including Okinawa, physiological and immunological responses of this fish species to various environmental changes were examined in the present study. Plasma levels of cortisol glucose, and hematocrit value were used as parameters of stress responses. Plasma levels of immunoglobulin M (IgM) and lysozyme were measured as specific and non-specific defense substances appearing in the blood circulation, respectively.

When the fish were left in a net for 5 min (net-handling), plasma levels of cortisol and glucose increased significantly at 6 and 12 h and returned to the basal level at 24 h after net-handling. The plasma level of lysozyme, but not that of IgM, increased significantly at 12 and 24 h after exposing the fish to net-handling. These results indicate that responses to stress occur rapidly within 6 h and that certain immune parameters are affected by net-handling.

The fish were exposed to acute changes in different environments such as water temperature (19.9, 23, 28 and 33°C), environmental salinity (0, 12 and 24 part per thousand; ppt), pH (8.4 and 4.0) and suspended red sediments (20, 200 and 2000mg/l) for 6 h. After the fish were transferred to aquaria with the respective temperature, plasma cortisol and glucose concentrations increased with increasing temperature at 19.9, 23 and 28 oC and decreased at higher temperature at 33 oC. Similar results were found with plasma glucose concentration. Hematocrit value decreased at higher temperature. On the other hand, IgM concentrations increased with increasing temperature, salinity and low pH. Plasma lysozyme activity did not change by exposing the fish to all of the acute changes in aquatic environments. These results suggest that the stress and immune system of tilapia change by acute changes in certain aquatic environment factors.

Effects of long-term exposure to different levels of water temperature, environmental salinity, pH and suspended red sediments on lysozyme activity in the plasma of the Nile tilapia was also examined. When the fish were reared at different water temperatures (18.4, 23, 28 and 33 °C), plasma lysozyme activity increased at 28 °C after 2 and 4 weeks. A significant decrease in lysozyme activity was found in the fish reared at 33 °C for 4 weeks. Fish reared at 24 ppt of environmental salinity for 2 and 4 weeks and 12 ppt for 4 weeks resulted in significant increases in plasma lysozyme activity, suggesting that there is a range of water temperature and environmental salinity which affect the amount of plasma lysozyme activity. Plasma lysozyme activity also significantly increased, when the fish were held in the environments of acidic water at pH 4.0 as well as of suspended red sediments at 2000 mg/l for 2 weeks. Effect of various environmental factors on the circulating IgM of Nile tilapia was also examined in the present study. For fish reared at 18.4, 23 and 28 °C, IgM concentration in the plasma increased with increased water temperature for 2 weeks. Rearing the fish at 33 °C resulted in a decrease in IgM concentration, suggesting that the fish possess an appropriate thermal range for production of the specific immune substance. Plasma level of IgM increased significantly with salinity at 12 and 24 ppt. Plasma IgM concentration did not change by exposing the fish to acidification at pH 4.0 and suspended red sediments at 20, 200, and 2000 mg/l. These results suggest that certain immune substances fluctuate with changes in aquatic environments.

It is concluded that inadequately acute and chronic changes in aquatic environments becomes stressors against the fish and affect plasma levels of certain immune substances. If the environmental changes are not lethal, Nile tilapia can tolerate in such environmental conditions. On the contrary, once the fish have adapted to the surrounding environment, humoral defense substances are properly produced. As a result, high resistance against diseases and increased growth rate and reproductive activity.

**Miriam Dominguez**

( 様式第 5 — 1 号 )

平成 17 年 2 月 20 日

琉球大学大学院  
理工学研究科長 殿

論文審査委員

主査 氏 名 土屋 誠  
副査 氏 名 中村 將  
副査 氏 名 渡久山 章  
副査 氏 名 竹村 明洋



学位 ( 博士 ) 論文審査及び最終試験の終了報告書

学位 ( 博士 ) の申請に対し、学位論文の審査及び最終試験を終了したので、下記のとおり報告します。

記

申請者	専攻名 海洋環境学専攻 氏名 Dominguez, Miriam 学籍番号 <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span>
指導教官名	土屋 誠
成績評価	学位論文 <span style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; padding: 2px;">合格</span> 不合格 最終試験 <span style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; padding: 2px;">合格</span> 不合格
学位論文名	Impact of Different Environmental Factors on Immuno and Endocrine responses in the Nile tilapia <i>Oreochromis niloticus</i>
審査要旨 ( 2000 字以内 )	
<p>この研究は熱帯・亜熱帯水域に起こりうる短期的及び長期的環境変化が、魚類 ( テラピア、<i>Oreochromis niloticus</i> ) の免疫及び内分泌応答にどのような影響を及ぼすかについて検討したものである。この研究を進めるために液性免疫指標物質として免疫グロブリン ( IgM、特異的物質 ) 及びリゾチーム ( 非特異的物質 ) 、そしてストレス指</p>	

標物質としてコルチゾル（ストレスホルモン）及びグルコースに主に着目し、これらの血中量の変動を様々な環境条件下で測定した。第一に、標準的なストレス（空気中の魚のネッティング）を魚に付加したときに起こる上記指標物質の変化を調べた。魚にストレス付加した後に、血中コルチゾル量や血中グルコース量が6時間以内にピークに達し、24時間までにストレス付加前のレベルにまで減少することを明らかにした。これらの結果は、熱帯性魚のストレス応答とストレスからの回復が、温帯域や亜寒帯域の魚類のそれとよく似ていることを示していた。またストレス付加に伴って液性免疫系も変動する可能性を示した。上記の結果に基づき、想定しうる水域環境変動（水温、塩分濃度、pH及び赤土懸濁）について急激な変化を魚に付加した結果、魚は6時間以内にストレス応答を示すとともに、液性免疫系も変化した。特に、血中IgM量は水温、塩分濃度及びpHの変化で増加するが、リゾチーム活性には変化が見られないことを示した。水域環境の急激な変化は魚にとってストレスとなり、ストレス付加の程度にあわせて免疫応答も変化することが明らかとなった。次に、液性免疫物質に関する水域環境変動の長期的影響について検討が加えられた。その結果、リゾチーム活性は水温、塩分濃度、pH及び赤土懸濁の設定条件において変動が見られたが、血中IgM量は水温及び塩分濃度のみで変動が見られた。このような結果から、長期的な水域環境変化に魚は対処し、変動幅にあわせて液性生体防御成分を変動させていることが判明した。長期的な環境変動に魚は環境に適応しており、液性生体防御成分の変化は生理的適応の結果と考えられた。

本研究の成果は以下の点にある。1) 熱帯性魚類のストレス応答について初めて言及し、その過程を明らかにしたこと、2) ストレス物質と液性免疫物質を併用して考慮することにより、魚類のストレス応答に関して客観的に判断できること、3) 短期的な水域環境変動は魚にとって耐えうるものであるが、ストレスになりうること、4) それぞれの魚が持つ耐性範囲を超えた急激な環境変化は致死性になりうること、5) 長期的な水域環境変動は魚にとってストレスではなく、変動幅にあわせて生理的・生態的に適応できること、などを示した。このような成果は、熱帯・亜熱帯水域に生息する生物の環境適応に重要な情報を提供するものであり、今後の環境生物学的研究や水産振興に貢献するものと期待される。以上のことから、本論文は海洋環境学専攻における博士の学位論文として十分価値のあるものであると判断された。審査委員全員一致で合とした。