

氏名	Supranee Wigraiboon		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博 甲 第 7943 号		
学位授与年月日	平成 28年 9月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Study on Effect of Essential Oils from <i>Houttuynia cordata</i> Thunb Supplemented Diets on Growth Performance and Immune Response of Hybrid Red Tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> Linn. × <i>Oreochromis niloticus</i> Linn.) ( <i>Houttuynia cordata</i> Thunb(ドクダミ)から抽出されたエッセンシャルオイルを添加した飼料のHybrid Red Tilapia( <i>Oreochromis mossambicus</i> Linn. × <i>Oreochromis niloticus</i> Linn.) に対する増殖および免疫賦活作用に関する基礎的研究)		
主査	筑波大学准教授	博士(農学)	野村 名可男
副査	筑波大学教授	博士(農学)	北村 豊
副査	筑波大学教授	博士(生物工学)	楊 英男
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	山田 小須弥

## 論 文 の 要 旨

本論文は、日本及び東南アジアで食用のために広く養殖されている重要な水産資源であるハイブリッドティラピアの高密度養殖での病原体に関する問題の解決法として従来、用いられてきた抗生物質に代わる新たな素材として、アジア全域に生息しているドクダミ(*Houttuynia cordata* Thunb.)に着目し、病原性耐性、成長促進効果があることを明らかにしたことが述べられている。

第1・2章では関連する既往研究に関しての調査を詳細に行い、ドクダミはすでに動物飼料としての応用研究は多数行われているが、水産動物への応用例がほとんどなく、特に全世界で食用として広く養殖されている、ティラピア(Hybrid Red Tilapia, *Oreochromis mossambicus* Linn. × *Oreochromis niloticus* Linn.)への応用研究はこれまで全く行われていないことが述べられている。さらにドクダミ成分の中で病原体耐性強化、成長促進に効果のある有効成分を効果的に飼料添加物として用いるためにはエッセンシャルオイルを抽出して飼料に添加することが最適であることも述べられている。著者は既往研究の調査において、最先端の世界的な有名な学術誌から、養殖が最も盛んに行われているタイおよび東南アジアにおいてローカルな学術発表が行われている報文まで調査することにより、本論文で行われた研究の独創性で養殖への応用の可能性を強調している。

第3章では、タイのドクダミ農場から採取した素材からエッセンシャルオイル(HEO)を調整し、その成分についてGC-MSで定量分析を行い、他の研究で得られたデータと比較して、動物飼料としての有効成分である、2-undecanonが

ほぼ同レベルにあること、さらに主要成分が $\beta$ -myrceneであることが明らかにされている。また、様々な抽出方法を検討した結果、温水抽出が最も効果的で、0.057% v/wの収率が得られている。既往研究の成果を巧みに応用しつつ、本論文の目的である水産養殖への応用を見据え、抽出方法などに様々な改良を加えている。

第4章では、ティラピア養殖において最も深刻な被害を引き起こしている微生物病原体に対するHEOの効果について検討された。養殖池で感染死した養殖ティラピアから単離された*Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus* sp., *Flavobacterium columnare* に対する、最少増殖阻害濃度(MIC)、最少殺菌濃度(MBC)を測定したところ、水産養殖で汎用されているAmpicillinと同等の効果(供試された3種の病原性細菌すべての増殖を阻害する最少濃度500ppm)があることを明らかにしている。病原性が不確定な場合が多いカルチャーコレクションから購入できる菌株ではなく、養殖場での応用を想定して、感染養殖魚から直接単離された病原性細菌を用いることにより、調整されたHEOの養殖現場での効果を検証することに成功している。

第5章では、タイ北部チャンマイの養殖場を実験サイトとし、養殖ティラピアにHEO添加飼料を給餌することにより、成長促進、免疫活性に対する効果を検討している。第4章の結果から得られた500 ppmという濃度をもとに、餌に対する添加量を1.5、3.0 g-HEO/kg-feedとし、コントロールとして大豆油を添加した。結果から、餌消費量および体重の変化によって得られた増殖に対する効果、ライソザイム分析および血球数計数から得られた免疫活性に対する効果ともに1.5 g-HEO/kg-feedの濃度でHEOを添加した飼料が最も優れた結果を示した。このことから、HEOの添加量は1.5 g-HEO/kg-feedが最適であることが示唆された。

本論文は、薬用植物として機能性食品または飼料としてヒト及び畜産動物で研究が行われているドクダミ(*Houttuynia cordata* Thunb.)について、東南アジアを中心に世界的に広く食用のために養殖されているティラピア(Hybrid Red Tilapia, *Oreochromis mossambicus* Linn. × *Oreochromis niloticus* Linn.)への機能性飼料として応用するための世界初の研究である。試料への適用方法としては、植物原材料に含まれる有効成分の濃度を考慮するとエッセンシャルオイルという形で植物から抽出し、飼料に混ぜ込むことが最適であることを見出し、さらに病原性微生物に対する増殖阻害、免疫活性化に関しては最適な添加量を明らかにしている。これらの結果は、学術的な重要性を有するだけでなく、病原体汚染により生産量が低調状態にある養殖場で特效薬としてすぐに活用することで、ティラピア養殖産業の復興、および新規飼料添加物としてのドクダミの大規模栽培という新たな産業を活性化できるという経済的効果も有する、という点も評価できる。

## 審 査 の 要 旨

本研究はドクダミ(*Houttuynia cordata* Thunb.)から抽出されたエッセンシャルオイルが水産養殖として大きな市場を持つHybrid Red Tilapia(*Oreochromis mossambicus* Linn. × *Oreochromis niloticus* Linn.)の病原性耐性、成長促進に有効であることを見出し、その抽出法、飼料への添加方法及び最適添加濃度を明確にしている点で、養殖産業の持続的発展への貢献が期待できる結果が多く含まれており、博士学位に値する成果が得られている。

平成28年8月2日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。