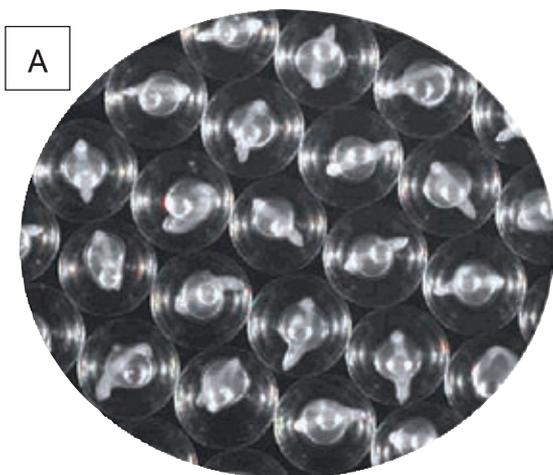


養殖研究レター

第2号(2008年8月)



編集 養殖研究所



独立行政法人
水産総合研究センター

巻頭言

ウナギ種苗生産技術の確立を目指して	3
-------------------	---

研究情報

ウナギ良質卵の安定供給に向けて –卵の良し悪しを母親由来の遺伝子で見分ける–	4
低価値ノリを利用した養殖用飼料の開発	5
「DNAチップ」を用いた新しい魚介類疾病の診断法	6
アユ冷水病を予防できる実用的なワクチンを開発	7

所の動き

海外沖合養殖事情見聞録	8
-------------	---

表紙写真説明

- (A) ウナギ受精卵.
- (B) 有明海におけるアマノリの養殖場と作業風景.
- (C) 「DNAチップ」を用いた診断風景. 複雑な機械や煩雑な手技は不要です.
- (D) 韓国済州島の沖合養殖生け簀. 青いパイプで生け簀支柱に空気を送り込み浮上させているところ.

ウナギ種苗生産技術の確立を目指して



(生産技術部：横山 雅仁)



図1. ウナギレプトケファルス

ウナギは蒲焼などとして日本人にとって馴染みの深い魚です。しかしながら、ウナギの一生は謎につつまれています。日本の遙か南、数千kmもの沖の太平洋で産卵、ふ化し、成長します。この仔魚は海流に運ばれ、我が国の周辺にたどり着きますが、それまでの間は親とは全く異なる木の葉のような形を持ち、レプトケファルスと呼ばれています(図1)。陸地に近づくとウナギらしい形のシラスウナギとなります(図2)。我が国で消費されるウナギの大部分は、このシラスウナギを捕獲して、餌を与えながら育てた(養殖した)ものです。しかし、シラスウナギの捕獲量は年によって大きく変動するだけでなく、近年では世界的に減少しているとも言われています。安定的にウナギを供給するために、ウナギから卵をとり人工授精して、レプトケファルスをシラスウナギまで育てる技術の開発が望まれています。

養殖研究所ではこれまでの長い研究の結果、人工的に採卵し(表紙写真A)、レプトケファ

ルスをシラスウナギまでに育てることに世界で初めて成功しましたが、養殖に必要な品質のシラスウナギを大量に生産できるまでには至っていません。このため現在、農林水産省のプロジェクト研究において、養殖研究所を中心として、多くの研究者が一緒になって、ふ化後の生残率の高い優れた品質の卵を作り、それらの卵からかえったレプトケファルスを安定的に飼育するための技術の開発に取り組んでいます。



図2. シラスウナギ

ウナギは、もともと遠くの海で産卵する魚類です。それを実験室内で産卵させることは簡単ではありません。よりよい品質の卵を得るために、親魚養成方法やホルモンの投与時期や量などについて研究をしています。また、ふ化した仔魚が高い生残率でシラスウナギにまで育つよう、実際の海でどのような餌を食べているのかなどを調べながら、餌や飼育方法の改良に関する研究を進めています。

ウナギ良質卵の安定供給に向けて —卵の良し悪しを母親由来の遺伝子で見分ける—



(生産技術部：玄 浩一郎)

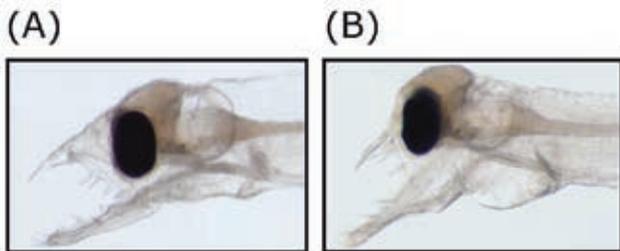


図1. ウナギの仔魚にみられる形態異常
(A) 正常な個体 (B) 上顎が短い異常個体

養殖研究所では、人為的に稚魚を育てることが極めて困難なウナギの種苗生産技術の開発に長年取り組んで来ました。これまでに世界で初めて受精卵からシラスウナギまでの人工飼育に成功していますが、仔魚の生残率は極めて低く、シラスウナギの安定的な供給には至っていません。生残率が低い原因の一つに、仔魚期に高い頻度でみられる様々な形態異常があげられます(図1)。

近年メダカなどを用いた研究から、受精前の卵(未受精卵)の中には来るべき仔稚魚の発育に必要な種々の因子が蓄えられていることがわかって来ました。特に、卵ができる過程で卵内に蓄積された「母親由来の遺伝子」は、受精後の体のつくり非常に重要な役割を果たしており、その種類や量がおかしくなると形態異常が起きることが明らかとなっています。そこで、私たちは、この「母親由来遺伝子」に着目し、ウナギ仔魚が正常に育つ卵に多く含まれる「母親由来遺伝子」(良質卵関連遺伝子と命名)の単離を行って来ました。これまでに約1,200種類の良質卵関連遺伝子の単離に成功しており、それら遺伝子の構造を明らかにしました(図2)。さらに、遺伝子の量や種類を一度に調べる方法

(マイクロアレイ法)を用いて未受精卵中の良質卵関連遺伝子の蓄積量や種類の異常を一度に検出できる技術を開発しております。

今後、良質卵関連遺伝子量の低下とそれぞれの異常との関連性を調べることで、卵質診断技術としての本方法の有効性を検証することが必要ですが、卵が元気に育つかどうかを受精前に明らかにできる画期的な卵質診断技術として種苗生産現場への応用が期待できます。

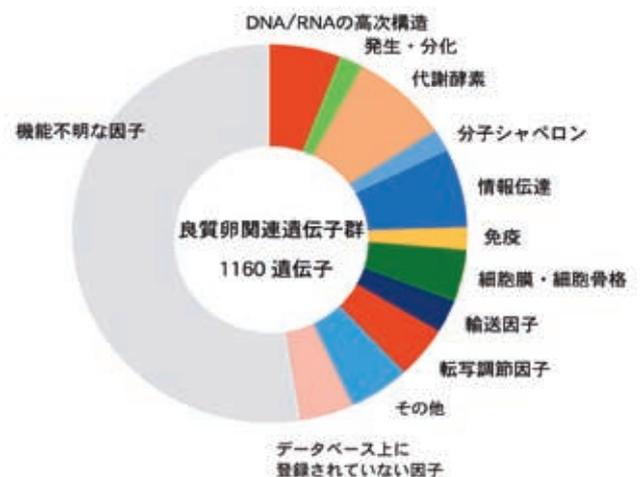


図2. ウナギ仔魚が正常に育つ卵には、色々な役割を持つ遺伝子が含まれています。これまで、約1200種類の遺伝子(良質卵関連遺伝子と命名)を見つけました。そのうち半分は役割の分からない遺伝子でした。

また、良質卵関連遺伝子群を用いた卵質診断技術は、原理的には他の養殖対象魚種でも応用可能であり、これから検討していく予定です。さらに、人為催熟によって得られた卵の卵質評価に利用される他、人為催熟技術の有効性を科学的に評価することにも活用が可能です。良質卵関連遺伝子を用いた魚類の卵質診断技術については現在特許出願中です。

低価値ノリを利用した養殖用飼料の開発



(生産システム部：吉松 隆夫)

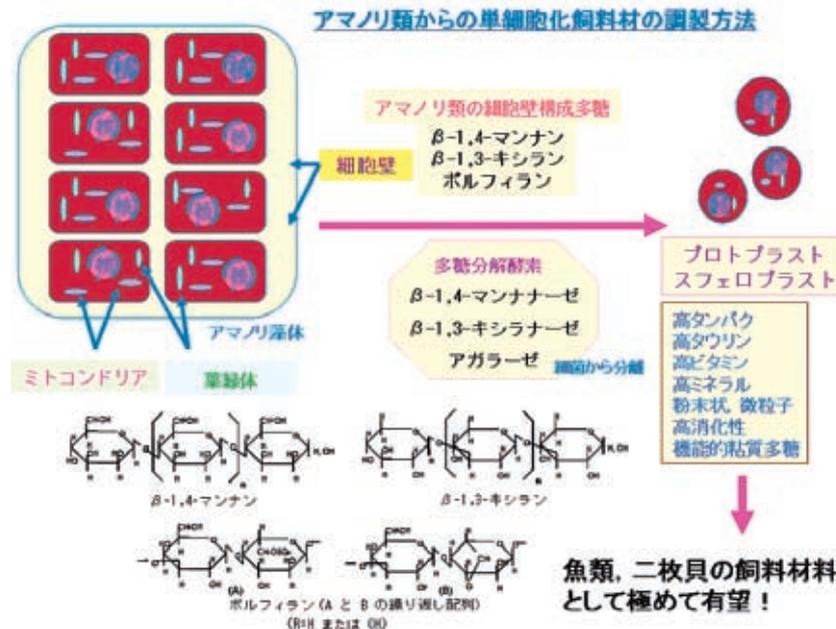


図. アマノリ類海藻からの単細胞化飼料材（プロトプラストやスフェロプラスト）の調整方法とその利用に関する概念図

海藻類はバイオマスも豊富で良質の栄養分も多く含んでおり、植物プランクトンと共に海洋の一次生物生産を支える重要な構成要素で地球の炭素循環にも大きな役割を果たしています。また人間活動により排出された栄養塩類の吸収媒体として沿岸域での富栄養化の防止に役立つ働きも大きいとされており、海藻類の積極的な利用方法の開発とその促進を図ることは、生物資源の有効利用という面のみならず海域環境の浄化とその改善効果も期待されます（表紙写真B）。しかしながら、近年、有明海を始め瀬戸内海や全国各地の内湾域で種々の原因による色落ち被害や病害症が食用海藻の代表選手であるアマノリ類に多発し、産業的にも大きな問題となっています。

本研究（先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「酵素処理によるアマノリ無利用資源の有効活用に関する研究」）は三重大学大学院生物資

源学研究科およびオリエンタル酵母工業株式会社と共同で、そのような商品価値を喪失した被害ノリや、低い等級となって利益率の低下した低価値ノリに新たな生物資源としての経済的価値を付加し、積極的に利用することによって、産業の維持とその持続的発展に貢献することを目指して実施したものです。この研究の中でわれわれは、ノリの細胞壁を細胞壁構成多糖分解酵素を用いた酵素処理によって大量に単細胞化して従来にない特性を引き出し、これを水産用飼料材料に用いることによって新たな用途開発の道を開こうとしました。その結果、単細胞化されたノリは数%程度の添加でマダイ、クロダイ等の飼料成分の利用効率や生残率を著しく向上させ、また資源減少により増殖技術の進展が求められているアサリの養成用飼料としてもきわめて有望であることが明らかとなりました。

「DNAチップ」を用いた新しい魚介類疾病の診断法

(札幌魚病診断・研修センター：大迫 典久)



質を利用して、調べたい病原体のDNAを一本鎖として印をつけ、これとチップ上に貼り付けてある一本鎖のDNA（病原体）と結合させ、印のついた場所のDNAをリストと照合することにより病気（病原体）の診断が出来るわけです。

魚介類の養殖産業が発展するにつれ、その生産量が増加するだけでなく、様々な種類の魚介類が養殖されるようになってきました。しかしながら、養殖対象種が多様化するのに伴って病気が頻発かつ多様化してきており、その被害額は年間100～200億円にも達しています。このように病気が安定的な養殖生産を阻害する大きな要因となっていることから、魚病の被害を低減するためには、迅速にしかも正確に病気を診断することによって病気の初期発生段階での適切な処置を行い、病気の蔓延を防止することが重要となってきています。そこで、先端技術を活用した農林水産業高度化事業の中で、

現在までに、主要な養殖魚介類の疾病の原因となる病原体に対して、細菌では35種類を検出するDNAチップ、特にビブリオ科細菌19種類を検出するためのDNAチップ、ウイルス15種類を検出するDNAチップの3種類を作製しました（図1、2）。

魚介類の病気に対する迅速・高度診断用のDNAチップの開発に取り組んで来ました。

「DNAチップ」とは多種類の微量なDNAを1枚のナイロン膜やスライドガラス等の基板の上に点状に貼り付けたもので、それぞれの病原体に特徴的なDNAを貼り付けたものが診断用のDNAチップです。DNAは二本の鎖でできており、一本鎖に解離しても同じ相手と再度結合して二本鎖となる性質を持っています。この性



現在、これらDNAチップの使用方法を習得するための講習会を開催し、一部の都道府県の水産試験研究機関で使用しています（表紙写真C）。今後もこのDNAチップに改良を加えて、診断可能な病気の種類を増やし、広く普及することをめざしています。

アユ冷水病を予防できる実用的なワクチンを開発

(病害防除部：乙竹 充)

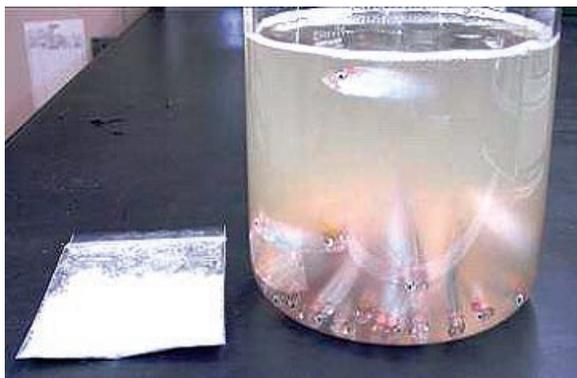


図1. 凍結乾燥ワクチンとその投与

ワクチンは保管や運搬に便利のように、凍結乾燥されており(写真上)、使用直前に飼育水に溶かします。約2gの濃縮ワクチンから750mLのワクチン液(写真上)が作製出来ます。このワクチン液にアユを5分間浸けて免疫します。初回の処理の2週間後に、ワクチン液を再調整して2回目の浸漬処理を行います。この量のワクチン液で、1.9gの稚魚ならば、最大100尾程度にワクチンを投与出来ます。

冷水病はアユにおいて最も被害の大きい病気です。河川ではアユの棲息水域の2割を超える水域で発生し、養殖場では平成15年度には推定被害額が数億円に達しました。平成13年度からは、国、都道府県、全国内水面漁業共同組合連合会等により、「アユ冷水病対策協議会」が組織され、いくつかのワクチンが試作されました。そこで、これらの試作ワクチンを実用化する際に必要となる製造方法、有効性、魚に対する安全性等の解明を目的とする研究を実施しました。

研究の成果ですが、はじめに、各種冷水病菌の性状を明らかにし、ワクチン作製用株をPH-0424に決定しました。次に、新培地を使用したワクチン製造方法を確立し、人工アユにも湖産アユにも使用できる投与方法(ワクチン液に魚を浸ける方法：浸漬投与)を決定しました

(図1)。

この浸漬投与ワクチンは、投与時の水温が15-25℃の範囲で有効で(図2)、少なくとも製造後1年間は有効性が維持されました。これらの結果に基づき、浸漬投与ワクチンについて実用的な製造方法と使用方法を提案しました。

現在、これらの成果を受けて、共同研究機関である製薬メーカーが主導して、市販のために必要な申請に向けた試験が進められています。また、研究過程で開発された冷水病菌の遺伝子型の判別法は、アユ冷水病対策協議会の「アユ冷水病防疫に関する指針(平成20年3月改訂版)」に取り入れられました。

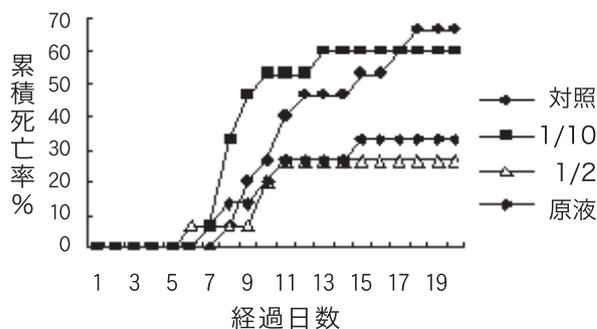


図2. 凍結乾燥ワクチンの有効性

ワクチンで免疫後、実際に冷水病に人為感染させて20日間観察し、各試験区の死亡率を対照区(ワクチンを与えていない区、図では●)と比較しました。10倍希釈ワクチン区(■)では効果は認められませんが、無希釈(◆)または2倍希釈のワクチン(△)を与えた区では、対照区より有意に(危険率5%)多くの魚が生残しました。1年間保存したワクチンでも同様の効果が得られています。

海外沖合養殖事情見聞録

(生産システム部：生田 和正)

(現：本部業務企画部チーフ研究開発コーディネーター)

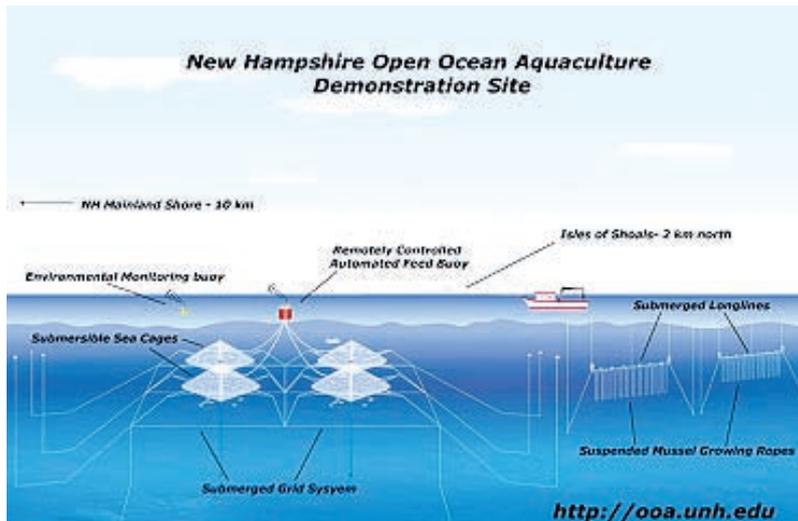


図1. 沖合養殖施設概念図. 米国ニューハンプシャー大学の沖合養殖実証試験施設(ニューハンプシャー大学大西洋海面養殖センターHPより)

近年、世界的な魚食ブームでマグロの消費量が急増しており、さまざまな国で養殖による生産の拡大がはかられています。日本でも奄美大島などで、天然クロマグロ稚魚を内湾の網生け簀で育成する養殖が行われています。水産総合研究センターではクロマグロ完全養殖システムの確立を目指し、人工種苗生産技術の開発を進めています。

将来的な養殖クロマグロ増産のニーズに応えるためには、漁業権や環境汚染の観点からこれ以上沿岸に新たな養殖場の拡大を図ることは困難であり、一つの技術的方策として沖合域での養殖技術の開発が考えられます。そこで、マグロ沖合養殖の可能性を探るため、2007年養殖研究所と水産工学研究所が共同で海外における沖合養殖の現状調査を行いました。

沖合養殖技術は、米国海洋大気庁 (NOAA) の研究開発が先行しており、ニューハンプシャー大学の実証試験施設 (大西洋タラ)、商

業生産を行うハワイの民間企業2社 (ヒレナガカンパチ、ツバメコノシロ)、NOAAの技術を韓国国立水産科学院と連携して移転した済州島のベンチャー企業 (マダイ、イシダイ等) を訪れました。

NOAA沖合養殖施設は、波浪や潮流に耐えるソロバン型の浮沈下式生け簀で (図1)、給餌はパイプで行い、ニューハンプシャーでは巨大な自動給餌ブイを使用していました (写真1)。

掃除や死魚の取り上げ等はダイバー作業で行います。沖合とはいえ、どこも海岸から5~10km程度の場所であり、作業を考えると外洋に面していればなるべく港に近い方が効率的なのでしょう (表紙写真D)。



写真1. 沖合養殖用集中管理自動給餌ブイ。ディーゼル発電と太陽光パネルで稼働。

米国、韓国ともマグロ養殖に強い興味を示しており、球形をした新たなマグロ用沈下式生け簀の開発を進めています。日本も、世界の趨勢に遅れることなく、将来に向けた新たな養殖技術の開発に挑戦していく必要があります。