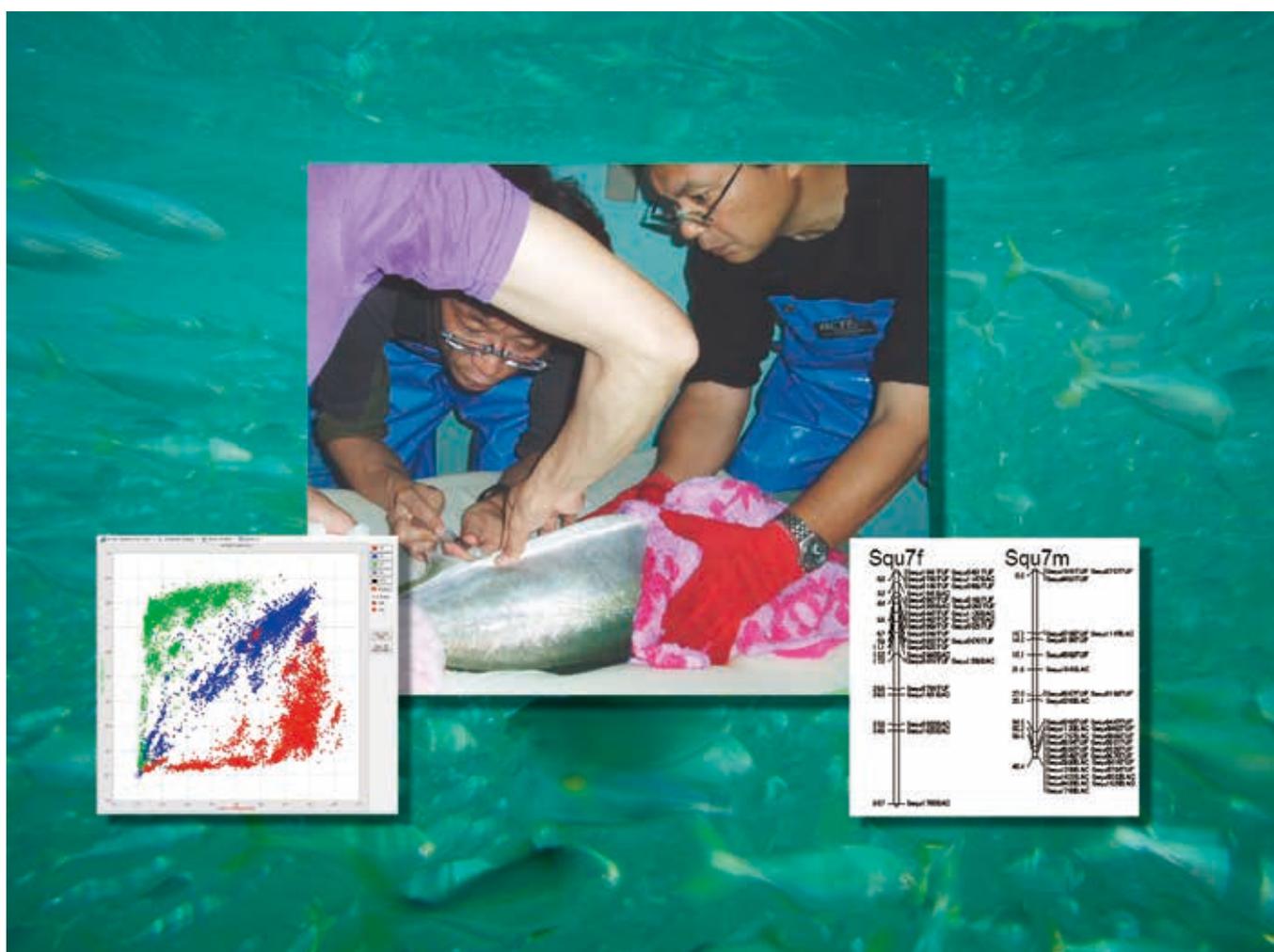


増養殖研究レター

第5号 (2015年2月) 育種特集号



編集 増養殖研究所



独立行政法人
水産総合研究センター

巻頭言

- 養殖の課題解決に育種で貢献 3

研究情報

- 「水産育種研究戦略」
ー水産育種研究の今後の進め方についてー 4
- ブリにおけるハダシ寄生抵抗性遺伝子領域の特定と DNA マーカーアシスト選抜法の成功 5
- 紫外線を利用した不妊化技術の開発
ー育種研究における不妊化技術の役割ー 6
- 育種や作出品種のための凍結保存技術の開発
ークエの卵でブリの凍結精子を評価ー 7

所の動き

- 第 42 回天然資源の開発利用に関する日米合同会議 (UJNR) 開催報告
- 研究開発推進会議報告 8

表紙写真説明

ブリの選抜候補親魚の成熟状況調査 (中) とゲノム上の一塩基多型解析結果 (左) および連鎖地図 (右)。背景は、養殖現場で飼育中のブリ稚魚 ((株) アクアファーム提供)。

養殖の課題解決に育種で貢献

(育種研究センター長：薄 浩則)



世界の漁業生産量が頭打ちとなるなか、養殖生産はそれを補う形で飛躍的に成長し、大きな期待が寄せられています。

一般的に養殖魚は畜産における牛や豚に比べて飼料を効率よく可食部に転換できることも、増え続ける世界人口へのタンパク供給源として養殖生産が注目される所以です。

一方で我が国の養殖業は、高騰を続ける飼料費や様々な疾病への対策費など生産コストの上昇、地球温暖化に起因すると思われる海水温の上昇などの環境変化による生産の不安定化や品質の低下、日本をターゲットとした輸入水産物との競争の激化など、たいへん厳しい状況に置かれています。さらに、魚介類摂取量の少ない年齢層の拡大が懸念され、消費者の多様な嗜好に沿った水産物の提供も求められています。

このような状況のなか、近年の分子生物学的技術の目覚ましい発展や我が国で組織的に取り組んできた種苗生産の技術的向上という後押しもあって、養殖業の課題解決の一手法として「育種」が改めて注目されるようになったことから、水産総合研究センターは平成25年3月に「水産育種研究戦略」を策定しました。これを受けて、水産総合研究センターの育種研究の中心を担う増養殖研究所は、この戦略を推進するための中核機関として平成26年4月に「育種研究センター」を設立し、戦略の展開への取り組みを開始しました。

育種研究センターは役割を分担した3つ

のグループからなります。

基盤グループは、耐病性や高成長といった優良形質の評価法の開発や、それらの形質を持つ家系を効率的に選抜するための遺伝子マーカーの開発、人為的な変異導入法の開発などを担当します。さらに、実際に選抜系統を作出したうえ有用性の評価にも取り組んでいます。その他、天然資源の生物多様性の保全の観点から、遺伝子組換え魚類の検出や生物多様性への影響評価や外来魚の効率的駆除のための研究開発にも取り組んでいます。既に有用株の作出に成功している餌料用微細藻類では、遺伝資源の有効利用のための取り組みも行っています。

繁殖制御グループは、育種した魚類の野外繁殖の防止や権利の保護などのため、不妊化技術の開発に取り組んでいます。また、海産魚の他に無脊椎動物も対象に、育種のために必要となる成熟制御技術や配偶子の質の評価技術、人工交配技術の開発などに取り組んでいます。

育成グループは、主に海産魚を対象に、人工種苗の形態や生残などの特性の評価とそれらに影響する要因の解明や改善策など、育種素材の育成技術に関する研究開発に取り組んでいます。

育種により養殖業が抱える課題を解決していくためには、こういった基礎技術開発に加え、都道府県や民間企業等に協力戴く中での実証研究や結果のフィードバックが不可欠です。これらは一朝一夕に成し得るものではありませんが、私達は、今後も様々な方々と幅広い連携協力関係を築きながら、研究成果の普及を通じた養殖業への貢献に努めていきたいと思っています。

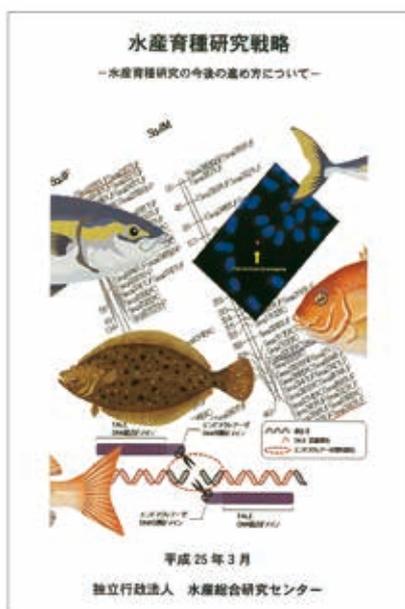
「水産育種研究戦略」 —水産育種研究の今後の進め方について—



(育種研究センター：岡本裕之)

平成 25 年 3 月に、独立行政法人水産総合研究センター (FRA) は、「水産育種研究戦略」を策定しました。その概要について簡単に紹介します。

(http://www.fra.affrc.go.jp/publications/manuals/Strategy_of_breeding_research.pdf)



「水産育種研究戦略」は、「我が国として、育種により新しい養殖品種を作出し、その優位性を実証して普及させるための戦略」であり、そのために「育種の技術開発およびそれを取り巻く現状を踏まえつつ、具体的な育種目標や関係機関の役割分担と連携・協力等を含めて取りまとめた」ものです。その内容は、「1. 水産育種技術開発の現状と課題」、「2. 水産育種の推進方向と推進方策」から構成されています。今回は戦略の中核である 2. について見てみましょう。

(1) 対象種

全国レベルでは、「産業規模が大きいもの、多くの地域で生産されているもの」を対象と

すること。具体的には、ブリ類、ハタ類、ニホンウナギ、クロマグロ、サケ・マス類、ノリ、アサリ、カキ、クルマエビなどが挙げられています。

また一方で、「地域の環境にあった品種（地域特産種）の作出」も必要であると指摘しています。

(2) 育種目標

基本的な 4 目標を定めています。

- 1) 飼育管理上の特性（生産コストの低減）
- 2) 環境適応性（環境変化への適応）
- 3) 経済的特性（付加価値の付与）
- 4) 抗病性（コスト低減、安定生産など）

また育種を進めるために下記の研究開発や研究推進体制の整備が必要です。

(3) 推進方策

- 1) 基盤技術の開発
- 2) 評価法の開発
- 3) 家系の開発
- 4) 遺伝資源保存法の開発

(4) 品種の普及促進

- ・成果を活用するための体制の整備
- ・魚類等の作出品種の知的財産保護
- ・作出品種の中間育成産業の創出・育成
- ・販売促進、市場開発の取り組み

(5) 育種推進体制の整備

それぞれの詳しい内容については、是非一度、お手にとってご確認いただければと思います。“WASHOKU”が注目されている昨今、日本国内はもちろん世界にも、日本の水産物をアピールしていけるよう、いつでも美味しく安定した提供に貢献できるようにがんばります！！

ブリにおけるハダムシ寄生抵抗性遺伝子領域の特定と DNA マーカーアシスト選抜法の成功



(育種研究センター：尾崎照遵)

ハダムシはブリの成長不良や細菌感染症を引き起こす原因となっており、ブリ養殖において深刻な問題となっています(図1)。ハダムシの駆除には頻りにブリを淡水につける作業が行われますが、多くの労力が必要なため、養殖業者にとって大きな負担となっています。



図1. ハダムシはブリ養殖において深刻な問題となっています

水産総合研究センターの増養殖研究所と西海区水産研究所、東京海洋大学の研究チームは、天然魚にはハダムシが付きにくいブリと付きやすいブリがいることに着目しました。そして両者の DNA の差を探索した結果、ハダムシが付きにくくなる形質には外部寄生虫への抵抗性を左右すると考えられる2つの遺伝子座(図2)が大きく関与していることを突き止めました。これは、外部寄生虫が付きにくくなる遺伝子の存在を証明した例として、魚類で初めてのことです。

これらの遺伝子の解析結果を元に、同じ兄弟(F₁)の中から特定の遺伝子領域が高く保存されている個体と、保有されていない個体を選びだし、それぞれ親魚候補として養成しました。さらにDNAマーカーアシスト選抜法により、それら親魚候補の中からハダムシが付きにくくなる遺伝子領域をもつブリ親魚同士による交配からなる次世代集団(F₂)と遺伝子領域をもたないブリ親魚同

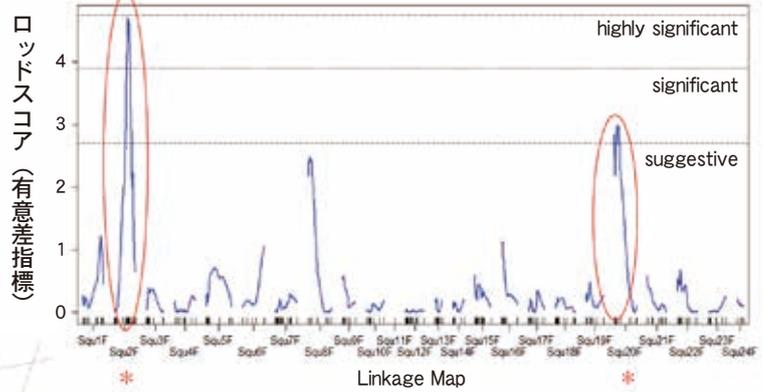


図2. ブリ遺伝子連鎖群2番(Squ2)*と20番(Squ20)*がハダムシの付きにくくなる形質に関連した遺伝子座の存在を示しています。縦軸は遺伝子の存在の有意差を数値で示したもので、この数値が大きければ遺伝子座が存在していると判定されます。

士による交配からなる次世代集団(F₂)を作成し、さらにDNAマーカー無選抜の交配区を対照区として、同一の沖イケスで混合飼育をして、ハダムシ寄生数調査を計8回、約一年間行ったところ2世代にわたる遺伝子解析、感染試験の結果から、ハダムシ抵抗性遺伝子領域をもつ親からの次世代集団(F₂)が、ハダムシ抵抗性遺伝子領域をもたない親からの次世代集団(F₂)、及びDNAマーカー無選抜の交配区(対照区)よりハダムシ寄生虫が付きにくいことがわかりました(図3)。これらの結果は育種法としてDNAマーカーアシスト選抜法が有効な方法であることを示しています。

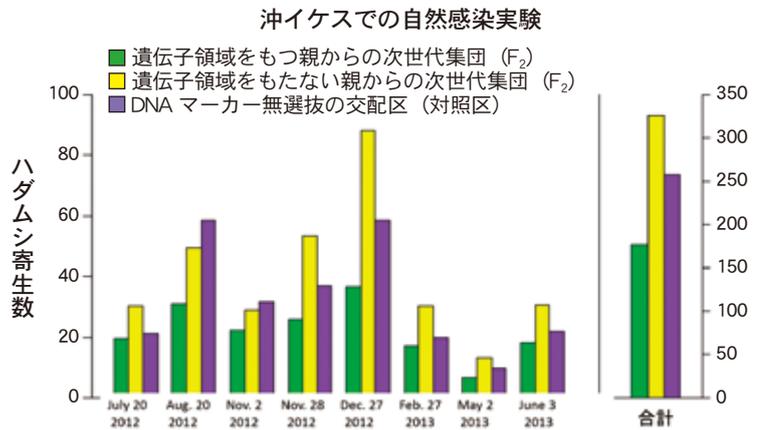


図3. ハダムシ寄生数の計測日

紫外線を利用した不妊化技術の開発 — 育種研究における不妊化技術の役割 —



(育種研究センター：山口寿哉)

育種研究センターの繁殖制御グループでは育種に係わる周辺技術の開発を行っており、その一つとして養殖魚の不妊（不稔）化の研究を行っています。水産分野でも優良系統を作出する育種技術が発達してきましたが、出荷された養殖魚の交配により優良系統が育成者に断り無しにコピーされてしまうことが懸念されます。また、魚種によっては卵巣や精巣が成熟することで肉質が低下し、さらに、養殖魚が自然界へ逃亡した場合は遺伝子攪乱も問題となります。これらの課題を解決する為に養殖魚の不妊化が必要とされています。不妊化させることにより生きたまま出荷しても次世代を残さず、卵や精子も作らないのでその分のエネルギーで肉質や成長も良くなる可能性が考えられます。このように養殖魚の不妊化は育種や養殖現場において有用な技術であることから私達は海産養殖魚の不妊化技術を開発するための研究を行っています。

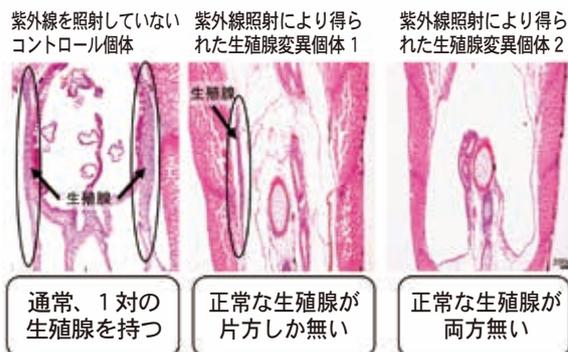
不妊化の既知の手法としては、染色体操作による三倍体化や放射線を利用した不妊化があります。三倍体化は長期間の飼育と交配が必要なため開発には長い時間とコストがかかります。さらに魚種によっては完全な不妊にならないことが知られています。放射線による不妊化は三倍体作出ほどの時間はかかりませんが、食用魚に使用するには抵抗が大きいと思われることや放射線の取り扱いの危険性が考えられます。そこで、既知の手法よりも簡易で低コストになる不妊化手法として、紫外線（UV：Ultraviolet rays）を利用した不妊化に着目しました。紫外線による不妊化は短期間の処理で時間とコストが比較的にかからないと考えられ、放射線より危険性が低いので取り扱いについても比較的容易と考えられます。また、ゼブラフィッシュや両生類においては受精卵に紫外線を照射することで、

将来の卵や精子のもとになる生殖細胞が発生過程で除去されることが知られています。このような背景により紫外線を利用した不妊化技術の開発に取り組んでいます。

私達はヒラメの受精卵に対し、紫外線照射装置を用いて受精後からふ化までの間の特定の段階で紫外線を照射し、紫外線の照射条件とふ化時期の生残の関係について調べました。次いでふ化後ある程度飼育した後に組織学的解析により生殖腺の状況を観察するとともに、生殖細胞で特異的に発現する遺伝子の発現を調べることで、生殖細胞の有無を確認しています。これまでの実験の結果、100%不妊にすることはできませんでしたが、生殖細胞を持たない不妊化したヒラメが出現することが分かりました。

紫外線による不妊化は他の魚種への応用も考えられますが、ヒラメにおいてもまだまだ条件の検討が不十分な面もありますので引き続き研究を続けていきます。また、他の不妊化手法として遺伝子編集技術による不妊化変異体の作出についても今後検討する予定です。遺伝子編集技術は技術的に困難な手法ですが100%の不妊化が期待できます。それ以外の三倍体化なども含め、必要とされる不妊化のニーズに合わせて手法を使い分けることで対応できるようにしたいと考えています。

孵化後 60 日 HE 染色



育種や作出品種のための凍結保存技術の開発 —クエの卵でブリの凍結精子を評価—



(育種研究センター：嶋田幸典)

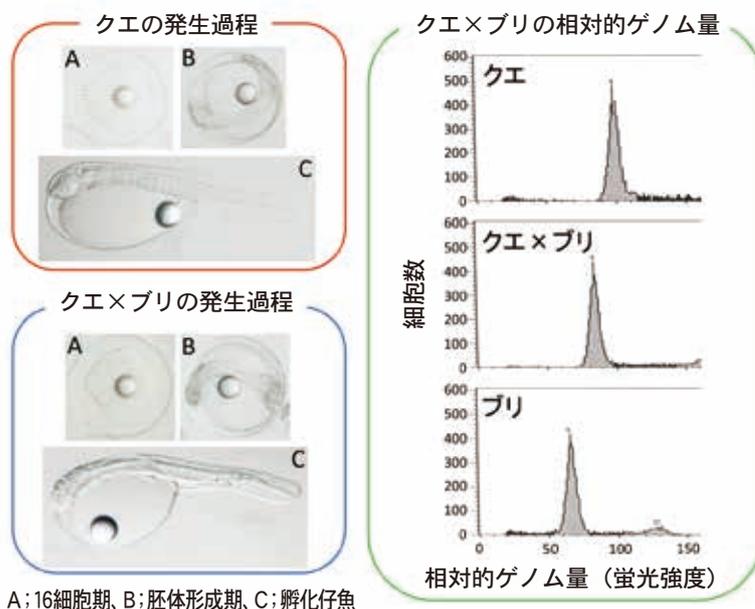
増養殖研究所育種研究センターでは選抜育種技術やゲノム編集技術を用いて、ノルウェーサーモンや「WAGYU」のような国際的競争力のあるブランド品種を「養殖生産量1位のブリ」で作出したいと考えています。しかし、大型魚である本種は海面生け簀で飼育されますので、作出された品種は常に赤潮や疾病による喪失の危険にさらされています。ブリは世代交代に3年もの期間を必要としますが、継代を重ねて長期間にわたって育種研究を進めるには、品種改良技術の開発と並行して飼育（生体保存）に頼らない保存・復元方法を確立することが重要です。筆者らは、ブリで1) 精子の凍結保存方法の開発、2) 生殖細胞の凍結保存方法の開発、3) 生殖細胞移植による卵の生産方法の開発を目指しています。

これらの第一歩として、まずブリ精子の凍結保存方法を検討しました。凍結保存では凍結過程で生じる氷結晶により、細胞が破壊されることが問題になります。そのため、凍結精子の作製には凍結保護剤（一般にジメチルスルホキシド；DMSO）が使われます。本研究では筆者が勤務する上浦庁舎で飼育しているブリから採取した精子を用いて、最適なDMSO濃度を調べることから始めました。1から20%までの異なるDMSO濃度の溶液で凍結精子を作製したところ、10% DMSO溶液で保存することで高い精子運動率（約80%）を示すことがわかりました。

次に、凍結精子の受精能力を知りたいのですが、ブリは産卵期が短く、採卵も難しい魚です。そこで、同じスズキ目魚類のクエに注目しました。クエも大型で取り扱いの難しい魚ですが、ブリより1～2ヶ月遅れて産卵期を迎え、上

浦庁舎で採卵できる魚です。また、クエとブリの相対的ゲノム量は約1.5倍の違いがありますので、両種が受精可能なら、ハイブリッドのゲノム量は両種の間を示すはずで、筆者は液体窒素中に2ヶ月間保存して解凍したブリの凍結精子とクエ卵を人工授精しました。クエ卵×クエ新鮮精子の受精率は51.5%、クエ卵×ブリ凍結精子のそれは39.5%でした。クエ×ブリはクエと同様に発生が進み、奇形を示すもののふ化することがわかりました（下図左側）。そこで、ブリ、クエおよびクエ×ブリのふ化仔魚のゲノム量を調べました。クエ×ブリは両種の間の中間のゲノム量を示したので（下図右側）、クエ卵にブリ精子のゲノムが確かに取り込まれたハイブリッドであることがわかりました。

今回、クエ新鮮精子の75%以上の受精能力を持つブリ凍結精子を作製できたことから、今後は特定の雄系統を飼育なしで半永久的に保存できることが期待されます。また、判定に利用可能な異種を増やすことができれば、いつでも確実に受精能力を持つ凍結精子を選ぶことができるようになります。



第42回天然資源の開発利用に関する日米合同会議(UJNR)を開催しました

平成26年9月30日～10月3日にかけて、米国カリフォルニア州サンディエゴ市およびロングビーチ市において事務会議、今年度から始まる第9期3カ年計画「増養殖における育種研究」をテーマにしたシンポジウム、現地検討会が開催されました。事務会議では、日米間双方での情報交換が行われ、次回開催について協議をしました。科学シンポジウムでは、日本側から6題、米国側から9題の育種研究について研究発表がありました（増養殖研究所のホームページに、プログラムと要旨集を掲載しています）。現地検討会では、ハブスシーワールド研究所、NOAA 南西部水産研究センター、スクリプス海洋研究所等を訪問し、米国西海岸地域の最先端の養殖業を間近に見学することができ大変有意義なものとなりました。



事務会議 (NOAA 南西部水産研究センター 9.30)



シンポジウムの風景
(NOAA 南西部水産研究センター 10.1)

研究開発推進会議を開催しました

増養殖研究所が担当する各推進会議・部会は、今年度も以下の様に開催されました。今年度の「中央ブロック水産関係開発推進会議」と「内水面関係研究開発推進会議」は、昨年度同様に傘下の部会よりも前に開催し、研究課題整理及び外部資金獲得へ向けた検討を行う戦略会議として位置づけて開催しました。また、これら両会議の活動状況については「活動報告」資料として後日関係機関へ配布される予定です。

1. 中央ブロック水産関係開発推進会議

日時：平成26年8月20日(水)
場所：愛知県産業労働センター
参加機関：12機関(41名)

2. 水産増養殖関係研究開発推進会議

1) 養殖産業部会

日時：平成26年12月2日(火)
場所：伊勢シティーホテル
参加機関：21機関(67名)

2) 魚病部会

日時：平成26年12月5日(金)
場所：伊勢シティーホテル
参加機関：19機関(43名)

3. 内水面関係研究開発推進会議

日時：平成26年10月2日(木)～3日(金)
場所：栃木県総合文化センター
参加機関：26機関(45名)

増養殖研究レター No.5 (平成27年2月)
編集・発行：(独)水産総合研究センター増養殖研究所
業務推進部(板倉 茂、皆川昌幸、鈴木由美)

〒516-0193 三重県度会郡南伊勢町中津浜浦 422-1
TEL: 0599-66-1830 FAX: 0599-66-1962
URL: <http://nria.fra.affrc.go.jp/>