

令和2年度養殖業成長産業化技術開発事業

報告書 (概要版)

令和3年3月

養殖業成長産業化技術開発共同研究機関

(1) 養殖魚の低価格・高効率飼料の開発

【目的】

近年の養殖生産の世界的な増大にともない、飼料原料である魚粉への需要が高まり価格が高騰する一方、安価な輸入養殖魚の流入によって魚価が下落しており、国内の養殖業者にとって厳しい経営状況となっている。給餌養殖において生産コストの6～7割が飼料代であり、飼料代の削減は養殖業者の経営安定と日本の養殖業の国際競争力向上に必須である。そのため、養殖業界からは、より低価格な飼料の開発が求められている。しかし、低価格のために大豆油かすなどの代替飼料原料の比率を上げて魚粉を減らすと、成長が悪くなることが問題になっている。

本課題では、代替原料の使用で価格を抑えながら成長効率のよい飼料の開発を目的とする。養殖重要種であるブリとマダイを用い、代謝産物と遺伝子発現の網羅的解析により代替飼料原料の消化吸收を生理的に評価し、消化生理に基づいて飼料原料配合と成分調整をすることで成長効率のよい飼料を開発する。

【主な成果と今後の見通し】

ア ブリ類及びマダイ用高効率飼料の開発

1) 飼料原料の消化率及びアミノ酸吸収率の評価

マダイ稚魚に代替飼料原料（大豆油かす、コーングルテンミール、濃縮大豆タンパク、チキンミール、フェザーミール）を含む試験飼料を与え、給餌した飼料と排泄された糞の成分を調べることで（間接法）で各成分の消化吸収率を求めた。粗タンパク質、粗脂肪、アミノ酸（タウリン、アスパラギン酸、スレオニン、セリン、グルタミン酸、グリシン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、リシン、ヒスチジン、アルギニン、ヒドロキシプロリン、プロリン）の消化吸収率について、植物性飼料原料の大豆油かす、コーングルテンミール、濃縮大豆タンパクは魚粉と変わらなかったが、動物性飼料原料のチキンミールとフェザーミールは魚粉より低かった。

上記の代替飼料原料を2週間給餌したマダイ稚魚の肝臓に対し遺伝子発現の網羅的解析を行った結果、大豆油かす給餌区は魚粉給餌区と類似した遺伝子発現パターンを示した一方、コーングルテンミールと濃縮大豆タンパクの給餌区ではステロイド代謝に関与する遺伝子発現が増加するなど、代替飼料原料によって発現パターンが異なった。また、代謝産物について網羅的解析を行った結果、大豆油かす給餌区で大豆成分由来物質の増加、コーングルテンミール給餌区でケト酸性アミノ酸の増加、フェザーミール給餌区で糖原性アミノ酸の増加が確認されるなど代替飼料原料によって代謝産物の量が異なっていた。

2) 消化・栄養代謝に関わる生理指標を用いた飼料原料の評価

マダイ稚魚の胃へ代替飼料原料（大豆油かす、コーングルテンミール、濃縮大豆タンパク、チキンミール、フェザーミール）を直接投与し、消化誘導性を魚粉投与区と比較した。魚粉、チキンミール、フェザーミールの投与区では、胆のう重量の減少が見られたが、植物性飼料原料の大豆油かす、コーングルテンミール、濃縮大豆タンパクの投与区では、胆のう重量は変化しなかった。胆のう重量の変化は胆のう内の胆汁（脂質の消化吸収に働く）の変化を示すため、動物性飼料原料は胆汁の分泌を促進するが、植物性飼料原料では分泌は促進されないと考えられた。腸内容物のタンパク質分解酵素活性（トリプシン、キモトリプシン）は、魚粉、大豆油かす、フェザーミールの投与区で増加したが、濃縮大豆タンパク、コーングルテ

ンミール、チキンミールの投与区では増加しなかった。消化酵素分泌の促進作用は飼料原料により異なっていた。

魚粉主体飼料と大豆油かす主体無魚粉飼料を給餌してマダイ稚魚を8週間飼育した結果、大豆油かす飼料区で成長の遅れがあり、肝細胞と直腸上皮細胞に組織変性が観察された。肝臓の遺伝子発現の網羅的解析を行った結果、大豆油かす飼料区では魚粉飼料区と比較してタンパク質及びペプチドの分解に関与する遺伝子群の発現量が低く、コレステロールや脂質の代謝に関連する遺伝子群の発現量が高いことが明らかになった。また、肝臓の代謝産物の網羅的解析を行った結果、両区で含量が異なる低分子化合物があることが明らかになった。

3) 可消化成分含量による飼料原料の評価と消化性の改善方法の検討

育成サイズのブリとマダイに代替飼料原料（大豆油かす、コーングルテンミール、濃縮大豆タンパク、チキンミール、フェザーミール）を含む試験飼料を与え、間接法で各成分の消化吸収率を求めた。ブリでは、コーングルテンミールとフェザーミールの給餌区で粗タンパク質の消化率が低く、マダイではチキンミールとフェザーミールの給餌区で粗タンパク質の消化率が低かった。また、消化管の滞留時間を調べたところ、魚粉40%飼料給餌区に比べ魚粉20%飼料給餌区では胃での滞留時間が短かった。胃での滞留時間を長くすることが低魚粉飼料の消化吸収性向上に役立つ可能性が示唆された。

植物性原料、魚油、アミノ酸などを配合して魚粉含量20%にした低魚粉飼料をブリ1歳魚に与えて20週間飼育し、魚粉含量52%の市販飼料と比較した。成長と飼料効率（魚体増重量／給餌量）は両区で大きな差が無かった。また、0歳時から274日間、魚粉含量25%の低魚粉飼料の摂餌経験をしたブリは、市販飼料で育ったブリと比較して成長は同等だが飼料効率が良い傾向がみられた。低魚粉飼料経験の飼料効率改善効果の可能性が示された。

マダイ1歳魚でも同様に魚粉含量10%の低魚粉飼料を作製し、10週間給餌飼育して魚粉含量40%の市販飼料と比較した。成長は市販飼料給餌区より低魚粉飼料給餌区の方が劣るが飼料効率は低魚粉飼料給餌区の方が良い傾向がみられた。また、低魚粉飼料給餌で成長が良い個体を選抜した系統は、通常の養殖系統に比べて両給餌区で成長、飼料効率ともに良い傾向がみられ、選抜の効果がうかがわれた。

以上の結果から、各代替飼料原料の消化吸収性と消化誘導性が明らかになり、消化生理に基づいて効率的な飼料を作製する基盤的情報が得られた。また、代謝産物と遺伝子発現の網羅的解析により代替飼料原料の摂餌時における生理的变化が明らかになり、生理的变化を指標に飼料原料の評価ができる可能性が示された。さらに、飼料組成の調整により低魚粉でも成長に大差なく飼料効率がよい飼料を作製できることが示された。

(2)水素細菌を原料とする純国産養魚飼料開発

【目的】

養魚飼料の主要な原料である輸入魚粉の供給不安や価格高騰が問題視されるようになってから久しい。天然由来かつ輸入品である魚粉に依存した現状から脱却し、今後も養殖業が持続的発展を続けていくためには養魚飼料の低魚粉化技術の高度化とともに新規飼料原料の開発が急務である。新規飼料原料としては単細胞飼料（菌体）、微細藻類、昆虫などいくつか候補が知られ、世界的にも開発が進められている。本課題ではそのうち単細胞飼料、特に無機物（水素・酸素・二酸化炭素および無機塩類）から有機物を合成できる独立栄養生物としての性質を持つ水素細菌群を有力な候補と考え、生産特性、利用特性および産業的量产化の可能性を明らかにし、将来的な養魚飼料の国産化に寄与することを目的としている。

【主な成果と今後の見通し】

ア 単細胞飼料候補細菌の成分・生産特性の解明

ある種の水素細菌では培養条件によって菌体内にポリβヒドロキシ酪酸（PHB）が蓄積されることが知られている。PHBはバイオプラスチックとして有用物質である反面、窒素源とにならない炭素化合物であるため、過度の蓄積は菌体の養魚飼料としての価値を低下させる可能性がある。本研究における単細胞飼料候補の一つである水素細菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* TH-1 は高タンパクの組成と高増殖能を持ち飼料として期待できる反面、培地窒素濃度が低いと菌体内に PHB を蓄積する性質を持つ。本研究では菌体の成分制御のための基盤情報として、PHB と菌体タンパク蓄積の関係および培地窒素欠乏時の PHB 合成制御の分子機構を解析した。元素分析により PHB 蓄積誘導に伴い菌体窒素含量、すなわちタンパク質含量の相対的な低下が確認された。その過程で、二酸化炭素固定経路であるカルビン回路の遺伝子発現上昇が見られた。下流に位置する TCA 回路に属する遺伝子の発現レベルは影響を受けなかったが、一部の TCA 回路関連酵素では酵素活性の抑制が確認された。こうした TCA 回路の抑制に関しては、競合する PHB 合成反応への基質供給増加に繋がっていると説明できる。なお、上記の酵素活性レベルでの TCA 回路調節は他の水素細菌で報告例のない調節機構である。この他に、PHB 合成経路の遺伝子ターゲティングによる機能欠損や突然変異誘発による PHB 合成経路破壊株の構築を進めており、菌体の蓄積とその成分制御を目指した基盤的分子情報を引き続き集積する。

水素細菌 *Hydrogenovibrio marinus* についてはニジマス消化管抽出液を用いた *in vitro* 消化試験で良好な消化性が得られたため、さらなる試験のために凍結乾燥菌体を調製して課題（イ）「単細胞飼料原料の養魚飼料としての利用技術の開発」に提供した。本菌の実験室規模における培養特性は数度の実機運転によりかなり把握できており、今後はさらなる量产化に向けた技術的課題の抽出を中心に研究を進める予定である。

また、新規候補の探索においては、系統解析により *Cupriavidus necator*（日本細菌学会による BSL レベル 1）に最も近縁であることが示された FM-47 株は最適増殖温度を 30℃付近にもち、広範な pH で良好に増殖できる通性独立栄養性の特徴があることがわかった。本菌株では PHB 生産性が確認され、通常の培養条件から窒素欠乏条件へと移行すると、PHB 含量は乾燥菌体あたり 15%から 37%程度に増加した。なお、本菌に関しても飼料としての特性解析用として課題（イ）に凍結菌体サンプルを提供し、共同で養魚飼料化の研究を行う予定である。さらに水素細菌飼料候補の探索を行ったところ、研究室保存の水素細菌分離株から新たに 3 株が実験室レベルでの水素ガス連続通気培養で良好に増殖できることが分かった。今後はこ

これらの菌株の増殖特性等の解析を進めるとともに、自然界からの集積培養サンプル等からさらに探索を進めていく予定である。

イ 単細胞飼料原料の養魚飼料としての利用技術の開発

水素細菌の養魚飼料としての利用を進めるため、水素細菌の生化学的性質および魚類生理に基づく利用性の面からそれぞれ検討を行っている。本年度は課題（ア）「単細胞飼料候補細菌の成分・生産特性の解明」において研究を進めている水素細菌 *H. marinus* を中心に解析した。凍結乾燥菌体はタンパク質含量 50%以上であり、またタウリンなど魚類特有の成分は含まれていないもののアミノ酸組成は一般的な養魚飼料と類似したものであった。その他の成分特性としては、生産工程に起因する鉄分が高含量（6,000ppm 以上）で含まれていることや粗脂肪含量が少ないこと（1%以下）が明らかとなり、養魚飼料化に際して設計上考慮する必要があると考えられた。

一般的な組成（魚粉 50%）の養魚飼料原料からなる基本飼料とそれに 30%の凍結乾燥菌体を配合した飼料の 2 種の試験飼料を作製し、マダイ稚魚への給餌と採糞により菌体窒素成分（タンパク質）の消化吸収率を間接法により測定・算出した。8 日間の飼育実験の結果として、期間中の継続的な摂餌と体重増加が確認され、菌体は少なくとも短期的には摂餌忌避や成長阻害効果は示さないと考えられた。また、採糞から算出した菌体窒素成分の消化吸収率は約 80%であり、通常の養魚飼料（約 90%）よりは劣るものの、試験サンプルが未処理の凍結乾燥品であることを考慮すれば今後、加工段階で改善できる可能性は十分あると期待できる。今回の成分分析や飼育結果については今後の養魚飼料作製に反映させる方針である。

ウ 産業化に向けた生産技術および工業化体制の確立

水素細菌飼料の産業化を考えた場合、ラボスケールから工業的量産体制に至るまで間にはパイロット機や小型実証型などの開発機器での実機運転を行い、経験と改良を重ねて順次スケールアップしていくことになる。本課題では培養時の技術的問題点の抽出としてラボスケールでの培養試作を行い、量産化を意識した生産条件検討を行っている。本年度は水素などの気体原料の有効利用や取り扱い上の安全性確保のため、気相循環などの改良を加えた培養機器の実機運転を行い、菌体の生産性を確認した。今後も引き続き、菌体生産と条件検討を行いながらシステム改良のためのデータ取得を続ける予定である。

単細胞飼料の研究に関して、最終的には産業的規模での菌体生産が目的であるが、その生産方式の将来像は技術の進歩や社会情勢を見ながら更新していく必要がある。例えば主要な気体原料である水素や二酸化炭素に関して、現時点では化石燃料から工業的製法で調達することになるが、将来的にはバイオマスからの生産や自然エネルギーによる水電気分解方式などに軌道修正されていくことが予想される。今後の生産体制構築に向けて、必要とされる技術要素や社会動向についても並行して情報収集を進め、共有できるよう取りまとめているところである。

(3)スジアラ用高効率飼料の開発

【目的】

スジアラは南方系のハタ科魚類であり、鹿児島県や沖縄県では高級魚として取引されている。また、アジア地域、特に中華圏では鮮やかな赤い体色は付加価値が高く、高値で取引されるため水産重要種として注目されている。スジアラは近年の需要の増加に伴い、世界中で天然資源が減少しているため、効率的かつ安定的な養殖生産へのニーズが高まっている。しかしながら、現在のスジアラ養殖においては最適な飼料がないため、成長が遅い、内臓脂肪が多いなどの問題が発生し、効率的な養殖生産が困難な状況にある。これらの問題点を解決し、より効率的かつ安定的なスジアラ養殖を行うためには、スジアラの消化生理特性や栄養要求性に合致した配合飼料の開発が必要不可欠である。また、魚類養殖業において飼料代が経営支出の大部分を占めるため、効率的に成長する飼料の開発により、魚類養殖業全体の成長産業化の促進も期待される。

本課題は、国立研究開発法人水産研究・教育機構と特定国立研究開発法人理化学研究所から組織される共同研究機関が最先端技術を駆使し、科学的根拠に基づいてスジアラ養殖用の高成長、低内臓脂肪等の効率性の高い配合飼料を開発することを目的とする。

そのため、中課題アにおいては、これまで生理学的知見の乏しいスジアラの消化吸収に関する基礎的知見の解明、成長段階に応じた消化吸収動態の解明及び栄養要求性について評価するとともに、腸内細菌叢との共代謝を含む消化生理機構を解明する。中課題イにおいて、他魚種と比較して成長が遅いことや、内臓脂肪及び筋肉中の脂肪蓄積が目立つ個体や背側が隆起する個体が成魚で出現することなどが問題となっているスジアラについて、網羅的な代謝産物解析（メタボローム解析）技術及び遺伝子発現解析（トランスクリプトーム解析）技術を利用し、適切な飼料成分の配合及びアミノ酸等を添加することにより、生産効率の良い飼料の開発を目的とする。また中課題ウでは、スジアラのメタボローム等の分析データ及び成長等の表現型解析について AI 解析技術を高度化することにより、AI を用いた育成飼料中の有効成分に関する情報を中課題イにフィードバックすることで新規飼料の栄養成分等の最適化に貢献する。

【主な成果と今後の見通し】

ア スジアラの消化生理機構の解明

スジアラ消化管に発現する遺伝子群を網羅的に解析した結果、胃及び幽門垂・膵臓においてそれぞれで特徴的な遺伝子の発現量が高いことが明らかになった。令和元年度の成果からスジアラは肝膵臓を持つ魚種であると考えられたが、遺伝子発現解析の結果から幽門垂及び後腸でも膵酵素の合成が活発に行われていることが示唆された。

異なる水温下での消化吸収動態を明らかにするために当歳魚の消化管組織の酵素活性を解析した結果、胃ペプシン及び肝膵臓トリプシンにおいて摂餌後から活性が低下し、12～24 時間後に摂餌前の活性に戻る事が確認された。また、水温間（20、25、30℃）で比較したところ、摂餌前の酵素の貯蔵量は 20℃でやや少ない傾向を示した。同様に消化管内容物の酵素活性の解析結果から、体重あたりの胃内容物のペプシン活性は 25、30℃よりも 20℃で低い傾向が示された。

摂餌後の栄養吸収と代謝の動態を把握するために肝臓のメタボローム解析を行った結果、肝臓における代謝産物は摂餌後に経時的に変化し、24～48 時間後に摂餌前の状態に戻ることが示された。このことから、摂餌後 48 時間までは消化吸収活動に伴う肝臓の代謝物の変動が

大きいことが明らかになった。

スジアラ飼育魚の消化管の腸内細菌叢を解析した結果、天然魚の腸や環境水と比較して構成する細菌の種数が少ないことから多様度が低いことが示唆された。

以上のように、これまで未解明であったスジアラの消化生理機構に関する知見を集積し、中課題イのサンプリング等に反映させていることから、効率的な飼料開発に寄与していると考えられる。

イ メタボローム解析等によるスジアラ育成飼料の評価

配合飼料中の主要栄養素であるタンパク質と脂質の適正な含量を求めるため、令和元年度に引き続き、異なるタンパク質含量と脂質含量の組み合わせで給餌試験を行った結果、日間成長率が最も高いタンパク質含量が明らかになった。この結果は昨年度結果とほぼ同様であることから、適正な量を絞り込むことができたと考えられる。

タンパク質、脂質以外の有用成分の探索のため、4種類の栄養素をそれぞれ別々に添加した配合飼料を作製し給餌試験を行った。その結果、1種類の栄養素に関してはスジアラの成長が改善される傾向にあることがわかった。また、その成分の添加によって内臓脂肪の減少傾向も見られた。

さらに、上記の4種類の栄養素による給餌試験から得られた糞便のメタボローム解析を行った結果、2種類の栄養素は糞便中では減少していることから体内で代謝されている可能性が示唆された。

4種類の栄養素を添加した飼料による給餌試験時の遺伝子発現解析の結果、それぞれの栄養素の添加により脂肪酸 β 酸化経路上の遺伝子群の発現が上昇する傾向を示した。

他に、一般成分分析や血液生化学分析等も実施しているほか、中課題ア及びウから提供された知見等の活用など、総合的な解析結果から効率的な飼料開発に向けて順調に進捗していると考えられる。

ウ AI を利用した育成飼料の開発の高度化

独自に開発したアルゴリズムを用いたスジアラ体重とメタボローム解析による重要因子との関係の精密化を行うことにより特定の栄養素の重要性を推定することができた。

また、飼料最適化のための成長予測モデルの構築等に向けて、給餌試験時の水槽間の環境の違いと成長について解析を行った結果、水槽ごとの環境の影響は大きくないと考えられたため、予測モデルの構築及び最適化に利用できるデータが得られたことが確認できた。

上記の検証を行った後に、給餌試験の結果に基づいた成長予測モデルの構築等を行った。様々な成長に関する変数の算出を検討するとともに中課題イとも連携して、特に重要と考えられる増重量及び飼料効率に着目して飼料パラメータを検討した。それらのデータから未計測な飼料パラメータでの成長度を予測するモデルを構築することができた。さらに、予測モデルから有望なパラメータの算出を行い、複数の栄養素を推薦することができた。

本課題で推薦することができた栄養素に関しては、今後中課題イで実施する給餌試験において有効性を検証することとしており、効率的な飼料開発に向けて順調に進捗していると考えられる。

(4)サーモン養殖推進技術開発

【目的】

現在、全国でサーモン類の養殖が行われている。一方で、急激な養殖需要の高まりに種苗の供給体制が追いついていないのが現状である。また、海水への移行期の成長停滞や減耗などが種苗不足に拍車をかけている。そこで本課題では、①ニジマス等の海水馴致技術を開発する。さらに、②ニジマスおよび在来マス類を対象とし、日本の短い海面育成期間で、より高成長となる優良系統を開発するための育種基盤を整えるとともに、③人工種苗生産技術は開発されたものの、養殖技術が確立されていないベニザケの養殖技術を開発する。

【主な成果と今後の見通し】

ア サーモン養殖における海水馴致技術の開発

1) 種苗供給および海水成長試験

異なる系群であるドナルドソン・スチールヘッド系（ドナスチ系）およびドナルドソン系（ドナ系）のニジマスについて、通常群と海水経験群を用意し、海水での飼育試験を行った。海水移行後の血漿浸透圧を比較した結果、ドナスチ系では海水経験群が通常群よりも低い値を示したのに対し、ドナ系では差が見られなかったことから、海水経験処理の効果は系群によって異なる可能性が示唆された。また、海面成長優良個体群から作出した F1 について同様の試験を行った結果、浸透圧が最も低く、成長率も他の系統と比べ有意に高くなった。この結果から、海面で成長が良い個体を継代することにより、海水馴致能が高い系統を作出できると考えられた。今後は、海水飼育試験により、稚魚期の海水経験処理の有効性等について調べる。

2) 海水浸漬時のストレス物質

ストレスを非侵襲的に測定するための指標となる物質の探索を目的として、淡水から海水への移行や、水温が 10℃高い水槽に移すことにより、ストレスを与えたニジマスの血中成分の変化を調べた。また体表から発せられる揮発成分を GC-MS により網羅的に解析した。血液分析では、高温海水投入区では K が低下し、グルコースが上昇することが分かった。現在、体表揮発成分の網羅的解析を進めている。

3) 成長優良個体から作成した種苗の海水順応性および成長

海水移行直前の 30 日間について、異なる光条件下でニジマススモルトを淡水飼育した。淡水から海水へ直接移行した際に、青色光照射区で飼育した個体で血漿浸透圧の上昇が抑制され、光条件の使い分けにより海水順応性を高められる可能性が示唆された。

4) 海産種苗の生産および成長試験

海水適応能が高い春期に海水に移行させる技術（海産種苗）の開発を目的として、海水移行できる最小サイズを求めるためのニジマス稚魚の海水移行試験を実施した。その結果、10-50 g の間に海水移行最小サイズが存在することが明らかになった。

5) 海水経験による海水適応向上試験

ニジマスでは稚魚期に海水に浸漬（海水経験）することでその後の海水適応能が高まることが知られている。そこで、長野水試系ニジマスを用いて海水経験処理を施した個体群の海水移行後の塩類細胞における海水型 NKA の発現応答を調べた。海水経験区では非経験区に比べ海水移行後の血漿浸透圧が低く、海水型 NKA の相対発現量が高かったことから、このことが海水順応能の向上に寄与しているものと推察された。さらに、サクラマスについては海水経験可能な最小時期と海水濃度を検討した結果、孵化後 5 週間で 50%海水に 1 週間、その

後 70%海水で 4 週間の馴致を行うことで未経験群に比べ約 40%の体重増加が認められ、海水経験効果が示された。

イ サーモン養殖のための優れた系統の作出

1) ニジマス

昨年度収集した系統に新たに国内から 10 集団、米国農務省から 2 系統を加えた合計 28 系統 408 尾より得られた約 3 万 7 千 SNP を利用して、集団構造解析を行った。その結果、米国由来のニジマス各系統はそれぞれ分集団化しているが、大きく 6 集団に分離されることが分かった。また昨年度及び今年度の結果から、始祖集団として移入されてきた有効集団サイズは小さく、遺伝的多様度は中程度と確認された。今後これらの情報を元に、遺伝的に離れた集団間交配による基礎集団の追加作出を進める。一方、昨年度先行作出した第 1 回基礎集団 12 交配区について成長データの取得を開始した。また新たに、総当たり交配にて第 2 回基礎集団 20 交配区を作出した。次年度は第 3 回基礎集団の交配区の作出を予定している。

2) サクラマス

北海道集団については要因交配により基礎集団を先行作出し、育成を開始した。本州集団については 7 県から精液提供を受け凍結精液を作成し、次年度基礎集団の作出に使用する。一方、ふ化から一定水温で一年間育成したところ、稚魚期に体サイズで分けた大型群から 0+ 秋スモルトが出現する傾向が明らかとなった。このことから、稚魚期に大型個体を分けることで、0+スモルト個体を効率的に選抜できる可能性が示された。この結果から、本州サクラマスの課題であった秋スモルトの確保に一定の目途がたった。また北海道大樹町では、春から秋までの夏季に海面飼育試験により越夏できることを明らかとし、北日本での通年海面養殖の可能性を示すことができた。昨年着手した全ゲノム解析については、ドラフト配列を整備し、それを用いて昨年収集した各地集団から SNP 情報を抽出した結果、各系群間の関係の一部を明らかにできた。これらの情報は次年度基礎集団の交配計画に役立てる予定である。

3) サツキマス

国内集団の精液を確保・保存することを目的として、近畿大学水産実験所および愛知県水産試験場内水面漁業研究所から精子および DNA 分析用個体を採取した。さらに、昨年度作出した系群について、7 月～12 月の淡水飼育と 12 月～4 月の海水飼育の SGR（瞬間成長率）を比較した結果と、同様の値を示した。また、各個体の淡水飼育終了時(12 月)と海水飼育終了時(4 月)の体重を比較すると正の相関を示した。夏季の猛暑でも生残した体サイズの異なるメス・オス 4 尾ずつの要因交配を行った。今後これらを用いて基礎集団を作出する。

ウ ベニザケ養殖実証技術開発

昨年度実施したツノナシオキアミ添加試験を基に、ナンキョクオキアミ給餌の身色向上効果を調べるとともに、アスタキサンチン吸収効率測定法を検討した。合成アスタキサンチン添加配合飼料(蓄積過程を調べるため 300ppm 添加)を与える配合区、ナンキョクオキアミを与えるオキアミ区およびそれらを交互に与える混合区を設け、70 日間飼育した結果、サーモンカラーチャートで判定した身色では、混合区で天然ベニザケに近い値を示す個体もあり、中央値は混合区、オキアミ区、配合区の順に高かった。また、アスタキサンチン蓄積効率はオキアミ区、混合区、配合区の順に高かった。内部標準物質を含む飼料に各種アスタキサンチンを添加して給餌し、給餌前の飼料と消化管内容物の標準物質および色素濃度の比較を行った結果、吸収効率の算出は期待出来たが、消化管内容物の回収手法に改善の余地があった。

（５）養殖業の成長産業化のための優良系統の開発

【目的】

この課題では、輸出商材として適している魚種スジアラの高成長で赤い系統を育種することを目的とする。養殖業の成長産業化のためには国外で価値の高い魚種を特に経済成長著しい東南アジア圏、中華圏の各国に輸出する産業の創出を目指すのは合理的であり、その戦略の中でスジアラは最適な輸出商材である。しかしながら、成長が遅く生産コストがかかり、また、国外のマーケットでは価値がない“体色が黒い”スジアラが養殖下では非常に多いことも問題となっている。そのため本事業では、中課題ア「高成長で赤いスジアラ系統作出のための基盤整備」において、天然集団から広くスジアラの親魚候補を採集し、長期に渡って選抜に耐え得る遺伝的多様性に富んだ育種基礎集団を作出するとともに、中課題イ「スジアラゲノム育種技術の開発」において、育種のためのゲノム情報の整備、精度の高いゲノム予測法の開発を行い、中課題ウ「スジアラ世代交代時間短縮技術の開発」において、世代交代時間を短縮する技術の開発および遺伝資源保存システムを構築することで、高成長で赤いスジアラ系統を生産する基盤を整備し、新たな輸出品目を開発する。

【主な成果と今後の見通し】

ア 高成長で赤いスジアラ系統作出のための基盤整備

高成長で赤いスジアラ系統を育種するためには、遺伝的多様性が高い育種基礎集団を作出することが必須である。そのためには国内のスジアラの遺伝的集団構造を把握し、どの地域集団を使えば最も遺伝的多様性が高い育種基礎集団を作出できるかを検討する必要がある。そこで、小課題１）「親魚収集および育種基礎集団の作出」では、育種基礎集団を作出するための親魚候補として石垣島周辺海域から昨年度の 32 個体に加えて 20 個体の天然魚を確保した。また育種基礎集団を作出するために必須である性ホルモン処理等による計画的 1 対 1 交配技術の開発を行い、ホルモン処理に適した卵巣卵の大きさと成熟を同期させるための環境処理条件を決定した。来年度から高成長で赤いスジアラ系統作出のための育種基礎集団の作出を行う。

小課題２）「親魚の遺伝的多様性調査」では、沖縄県（石垣島）、鹿児島県（奄美大島と甬島）、長崎県（五島列島）、高知県（土佐清水市）から収集した合計 87 個体分の生体試料から DNA データを得て、昨年度取得した 42 個体の情報と合わせてスジアラの遺伝的集団構造を解析した。その結果、日本国内には沖縄県石垣島周辺から鹿児島県奄美地方周辺に生息する集団と九州本土に近い地域から四国地方に生息する集団の 2 集団が存在することが示唆された。一方で、種苗生産拠点である石垣島周辺のスジアラの有効集団サイズが十分に大きく、石垣島周辺のスジアラだけで遺伝的多様性が高い育種基礎集団を作出できる可能性も示唆された。次年度にすべてのサンプル収集を完了し、日本国内におけるスジアラの遺伝的集団構造および有効集団サイズを様々な方法で精査し、育種基礎集団を作出するための最適な親魚候補を選定する。この選抜した親魚を用いることで、遺伝的多様性が高い育種基礎集団を作出できる。

イ スジアラゲノム育種技術の開発

正確なゲノム情報を利用することで高品質な一塩基多型 (SNP) 情報の取得が可能となり、高精度のゲノム育種価推定および優良親魚の選抜が可能となる。そこで、小課題１）「ゲノム情報、遺伝子地図情報の整備」では、2 家系分のスジアラの連鎖地図を作成し、その情報お

よび既に中国から公表されているスジアラゲノム配列の情報を利用して昨年度に整備したドラフトゲノム配列を修正することで完成度をさらに高めた。これにより本事業におけるスジアラ参照配列が完成した。次年度は遺伝子領域の予測とその情報を付加することで、ゲノム情報の整備を完了する予定である。これらのゲノム情報は高品質な一塩基多型を取得する基盤となる。

小課題2)「多型解析とゲノム予測手法の開発」では、昨年度に引き続き Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct (GRAS-Di) 法による多型情報取得の条件検討およびフラグメント解析の検討を行った。GRAS-Di 法は近年魚類でも使われ始めているランダムプライマーを用いた PCR によりゲノム全体の多型情報を得る方法である。その結果、スジアラでの家系判別においては、DNA 抽出に tail 溶液を用いた GRAS-Di16A 法 (16 種類のランダムプライマーを使用する方法) もしくはフラグメント解析を予算と労力に応じて使い分けること、またスジアラのゲノム育種価推定には tail 溶液を用いた GRAS-Di64 法 (64 種類のランダムプライマーを使用する方法) を用いるのが適切であることがわかった。以上のように、スジアラにおいて家系判別およびゲノム育種価推定に使用できる安価な多型解析手法を確立した。この多型解析手法と来年度完成するゲノム情報を使うことで高品質な多型情報を取得できる。来年度は、多型情報を利用して優良な個体を選抜する手法であるゲノム予測の開発に着手し、最終目標であるスジアラの優良系統の作出に資する。

ウ スジアラ世代交代時間短縮技術の開発

スジアラの場合、雌として成熟するまでに 3~5 年、雄に性転換するのに 5~7 年を要すると言われており、選抜・交配のサイクルを循環させ世代を回す必要のある育種においては大きな問題となる。そのため、性ステロイドホルモンやエストロゲンの合成阻害剤 (AI) 等をスジアラ雌個体に投与し性転換させる世代交代時間短縮技術を開発することが重要である。そこで小課題1)「早期成熟技術の開発」では、効率的な薬剤投与方法の検討として昨年度の AI に引き続き合成雄性ステロイドホルモンのメチルテストステロン (MT) の投与方法を検討し、MT の徐放的投与にはサイラスティックチューブを用いることが有効であると結論した。さらに確立した投与方法を用いスジアラ雌成魚 (4 歳) への代表的 AI であるレトロゾール (Let) および MT の投与試験を行い、Let を投与することで性転換させ、運動活性のある精子を採取することに成功した。このことは、スジアラにおいて世代交代時間が 1~3 年短縮でき、少なくとも 4 年で 1 世代を回すことが可能になったことを意味し、スジアラにおける育種の世代交代時間の長さという大きな問題を解決することができた。来年度からはさらなる世代交代時間の短縮を目指した技術開発を行う。

小課題2)「遺伝資源保存システムの構築」では、スジアラの精子凍結技術開発として、すでに短期間の保存ができることを確認しているジメチルスルホキシド (DMSO) と非動化ウシ胎児血清 (FBS) を用いた精子凍結法について 1 年の長期保存期間中での精子活性および精子洗浄の影響を調査した。また、スジアラ精子凍結に適した保存液の検討のため、DMSO と FBS 以外の凍結保護剤および希釈液について有用性を調査した。その結果、約 1 年間における凍結保存では精子の質は落ちないが、人工精漿による精子洗浄は解凍後の精子活性に影響を及ぼす可能性が示唆された。また、凍結保護剤としては 15%DMSO が最良であった。希釈液については実験に用いた精子の質が悪かったことから次年度に再検討し、次年度内にスジアラにおける安定的な精子凍結技術を開発し、運用へとシフトする予定である。

(6)環境変化に適応したノリ養殖技術の開発

【目的】

秋季の海水温の上昇及び冬季の色落ちの発生は、ノリ養殖に多大な影響を及ぼすことから、ノリ養殖の安定した生産を図るため、抜本的な対策が業界等から強く望まれている。そこで、本課題では、高水温に適応したノリ育種素材の養殖試験を行うことにより、高水温適応品種の実用化を進めるとともに、ノリと栄養塩を競合する植物プランクトンを消費し、栄養塩を添加（排出）する二枚貝の増養殖を組み合わせたノリ色落ち対策技術を開発することで、高品質なノリの安定的な生産に資することを目的とする。

【主な成果と今後の見通し】

ア ノリ高水温適応素材を用いた養殖試験

野外養殖試験及び培養試験による育種素材の高水温耐性調査については、それぞれ浮き流し式養殖と野外水槽を用いて、農林水産技術会議委託プロジェクト研究等で育成された高水温耐性育種素材の現場環境での高水温耐性や生長性等について明らかにしてきた。野外養殖試験の課題では、育種素材をもとに室内培養で優良個体の選抜を行い、再選抜株を育成した。再選抜株のうち 4C-5 を用いて漁場試験を実施した結果、元株や対照品種と比較して良好な生長と収量が得られたが、品質面でのさらなる向上が求められた。野外培養試験では、上記育種素材と独自に開発した品種との生長性等の比較を進めた。

有明海漁場に適合した高水温耐性品種の開発と養殖適性の調査については、育種素材を高水温期に短期間支柱式養殖漁場で栽培し、高水温で生き残った個体を選抜した。選抜した個体を持ち帰り、室内培養で栽培を継続することにより、さらに生長の良い優良個体の選抜を行い、再選抜株を育成した。これら再選抜株等を用いて、支柱式漁場で養殖試験を実施した。秋芽網期の結果では、水温の高い初期は育種素材 6C の生長が良く、その後は再選抜株 6C-1 の生長が良好であった。さらに、6C-1 は細葉の形態を示し養殖品種として良好な形質を持っているので、さらなる改良に期待が持てる株と考えられた。

浮き流し養殖漁場に適合した高水温耐性品種の開発と養殖適性の調査については、高水温条件で付着力の強さを基準に育種素材の室内培養での選抜試験を実施し、再選抜株 6C 愛知を育成した。この再選抜株等を用いて、浮き流し式漁場で養殖試験を実施した結果、6C 愛知には目標である高水温時の付着力の強さと生長性の良さの両方を確認することができた。しかし、摘採回数が増えると再選抜株の葉幅に顕著な増加がみられ、実用品種としての利用には新たな課題が生じている。また、育種素材と付着力の強い品種との交雑育種も進めており、交雑株より良好な形質を持つ個体を選抜した。

派生株の高水温耐性調査および育成株の成分調査については、未調査で高水温耐性が期待される派生株を材料に高水温耐性を調査することに加え、育成株については、野外養殖試験と野外培養試験等で栽培された葉状体の遊離アミノ酸組成を分析し、呈味性の面での養殖品種としての適性を調査した。未調査の派生株については、アサクサノリ野生種倉岳を高水温条件でプロトプラスト選抜した株を、さらに高水温条件での障害の少なさを基準に再選抜した。これらの高水温耐性を室内培養で調査した結果、高水温再選抜株と倉岳再選抜株で良好な結果が得られた。

今後は、上記の高水温適応育種素材の再選抜株や独自選抜株について、養殖試験及び野外培養試験を継続して実施し、高水温耐性能や実用品種として重要な生長性および呈味成分（遊離アミノ酸）に関する知見を蓄積するとともに、良好な形質を示す個体の選抜を進める予定

である。これらのことにより、実際の漁場環境やニーズに適合した高水温耐性系統の育成を促進し養殖現場への適用を目指す。

イ 二枚貝の増養殖等を組み合わせたノリ色落ち軽減技術の開発

二枚貝を用いたノリの高品質化効果の評価手法の開発のうち、二枚貝からノリへの栄養塩供給量の推定手法の開発では、これまでに開発した窒素安定同位体を指標とした評価手法を福岡県、佐賀県及び熊本県の地先漁場で実施された実証試験に適用し、アサリやマガキの窒素排泄物のノリへの供給量や寄与率を推定した。養殖現場におけるノリの生理状態の評価手法の開発では、クロロフィル蛍光測定によるノリの生理状態評価手法の開発を進めた結果、養殖現場での速やかな診断を想定した自然光下での短時間の蛍光測定から算出する実効収率を指標とした診断は困難であり、暗条件で数分の時間を要する蛍光測定による非光学消光機能 NPQ の評価が必要であると判断した。また、ノリ葉状体の遺伝子発現の網羅的解析では、栄養塩制限下でエンドサイトーシスやタンパク質分解に関わるパスウェイが活性化されることが推定された。さらに、ノリ葉状体の吸収スペクトルがノリの栄養塩の不足や充足を診断する指標となる可能性が示唆された。

二枚貝の増養殖等によるノリ養殖の高品質化については、有明海及び八代海のノリ養殖施設周辺で二枚貝類の養殖試験を実施するとともに、二枚貝類の増養殖と組み合わせることにより、相乗的な色落ち軽減効果が期待できる技術開発にも取り組んだ。佐賀県地先海域では、野外試験により、二枚貝（カキ）の垂下養殖と干出中のノリ網への栄養塩供給による色落ち軽減効果について検証した。その結果、マガキ養殖との併用区及びノリ網への栄養塩供給区では、漁場の栄養塩が減少している状況下で、ノリの色落ちが軽減するとともに生長も確認できたことから、海況が好転するまでノリの生産を継続させる方法のひとつとなることが示唆された。八代海においても、マガキ養殖と併用することにより、ノリの色調の改善が確認されたが、試験海域の栄養塩状況が良好で、対照区においても色調の回復が見られたことから、ノリの色調の改善がマガキとの複合養殖によるものかを確認することはできなかった。低栄養条件に適応したノリ養殖品種の開発と実証については、水産研究・教育機構が保有しているフタマタスサビノリの色調変化を指標とした選抜試験および低栄養耐性を把握するための養殖試験を実施した。その結果、選抜試験によって 2 株を確保した。また、養殖試験においてはフタマタスサビノリには基準品種 U51 に比べて一定の低栄養耐性が確認された。

酸処理剤の影響調査については、今年度も有明海のノリ漁場内及び八代海、大村湾（対象海域）に設けた観測定点において、酸処理の実施前と実施中に海水及び底泥間隙水中に含まれる有機酸濃度のモニタリング調査を実施した。その結果、表層水および底層水については、いずれの観測定点においても有機酸は検出されなかったが、底泥間隙水中からは、酸処理実施前に有明海の 1 定点で、酸処理実施中に有明海の 1 定点と八代海の定点で微量の乳酸が検出された。

以上の成果をもとに、二枚貝からノリへの栄養塩供給量の推定手法や養殖現場におけるノリの生理状態の評価手法の開発については、さらに詳細な解析や追加試験を実施し、実用性の高い手法の開発を目指す。また、二枚貝の増養殖等によるノリ養殖の高品質化については、二枚貝の増養殖と組み合わせることにより、相乗的な色落ち軽減効果が期待できる技術開発にも取り組むことで、効率的かつ実用的なノリの色落ち対策の提言を目指す。さらに、酸処理剤に含まれる有機酸濃度等の調査を継続して実施することで、酸処理剤の使用が生態系や生物に及ぼす影響を評価する上で基盤となる情報を蓄積する予定である。

(7)酸素充填解凍を用いた生鮮用冷凍水産物の高品質化技術開発

【目的】

ブリ類の約9割が冷凍状態で輸出されている。この理由は、生鮮ブリ類の短い賞味期限（3～6日）、航空便による高い輸送費、輸出相手国におけるコールドチェーンの不備等のため生鮮での流通は輸出の10%に満たない。海外へ輸出される生食用冷凍ブリ肉には血合筋褐変防止のため一酸化炭素処理が施されている。アメリカでは食肉への一酸化炭素処理が認められており、水産物への利用も禁止されていない。冷凍ブリフィレーの輸出はアメリカ向けが9割を占め、偏った貿易となっている。コロナ禍において、輸出相手国の経済動向に流されず、経済への影響を最小限にするためには輸出先の多様化が重要である。今後、ブリ類の輸出を増大させるには、北米への輸出強化に限定されず、アジアやEU等への輸出拡大が極めて重要であるが、多くの国・地域では、食品への一酸化炭素使用が禁止されており、ブリ類の輸出拡大は容易ではない。一方、国内においてもブリの出荷時期は冬季に集中するため、国内需給バランスが崩れやすく、魚価低下が発生しやすい。余剰に生産されたブリを適切に凍結貯蔵し、生食用製品として国内外に出荷したいという現場ニーズは極めて強い。しかし、現状では一旦凍結解凍すると、解凍とともに血合筋の急激な褐変が生じるため、生食用としては取り扱うことはできない。また、国内では食品に一酸化炭素を使用することは食品衛生法第6条に違反する。生食用冷凍ブリ類製品が国内流通しない理由は、血合筋の褐変を防止できないことに大きく起因している。既存の一酸化炭素処理に置き換わる生食用冷凍水産物の高品質化技術が不可欠であるが、現在のところ、該当する実用技術は見当たらず、国内消費拡大および輸出促進の大きな律速となっている。

代表機関である水産研究・教育機構は、ガス置換包装（Modified Atmosphere Packaging: MAP）を使用し、高濃度の酸素ガス存在下で凍結水産物を解凍することにより、魚肉の褐変を抑制することができる技術（酸素ガス置換包装又は酸素ガス置換貯蔵を用いたマグロ類等の筋肉の冷蔵、冷凍、解凍、貯蔵法、並びに酸素ガス置換包装されたマグロ類等の筋肉、2019年特許査定）を開発し、解凍後の色調保持及び肉質改善を可能にした。この技術を養殖ブリに適用した結果、冷凍ブリ血合筋の褐変を抑制する作用を持つことを見出した。しかし、通常のMAPでは血合筋内部に酸素ガスを充填することは困難であったが、昨年度までに特殊な充填方法を開発し、ブリ血合筋の褐変を防止することに成功している。本年度は、酸素ガスの使用量が極めて多く、コスト面で大きな課題があった。また、酸素ガスの処理時間が長いことおよび歩留まりが低いことも問題であった。そこで、今年度は、都道府県研究機関とともに、現状の流通環境に合わせ、量産を見越した技術の改良に取り組んだ。当初は製品をアジア圏に持ち込み、現地のバイヤーへの売り込みが課題に含まれていたが、コロナ禍に伴い、海外出張が制限されたため、国内外のブリ生産者、流通および販売にかかわる関係者にサンプルを郵送もしくは持参し、製品に対する意見の聞き取りを行った。また、製品の安全性にかかわるデータを取得し、昨年（2020年）12月に関連するデータおよび情報を厚生労働省に提出した。

【主な成果と今後の見通し】

ア 魚肉の品質劣化の原因と酸素充填解凍技術（MAP技術）の作用機序の解明

課題イにおいて、酸素ガスを用いたブリ血合筋の褐変防止技術の改良が進み、より実用的な技術となった。本技術の作用機序を解明するために、キャピラリー電気泳動質量分析計を用いたメタボロミクスによる代謝物の網羅的解析を実施したところ、血合筋への酸素充填

によって NAD、NADP および ATP などエネルギー物質が増加した。魚肉中の ATP 含量が高い状態で凍結する血合筋の褐変抑制効果が報告されているが、それを裏付ける結果が得られた。また、NADP の補酵素類は活性酸素などの還元反応に寄与することが知られており肉質の向上に寄与すると考えられた。ミオグロビンの自動酸化速度に及ぼす温度、pH、脂質酸化物および死後の筋肉中で消長する各種低分子化合物の影響を明らかにした。分子動力学シミュレーションの結果、オキシミオグロビンの遠位ヘムポケット内の水分子数に対する各種生体低分子の影響を調べ、多くの物質がメト化抑制能を持つことが示された。

イ MAP 技術の実用化技術の確立

昨年度までに基本技術が確立したものの、実用化までには多くの課題が残されていた。本年度は、技術の効率化および製造コスト削減に寄与する技術改良を行った。参画する各都道府県研究機関と共に、問題点の抽出、改善策の検討を繰り返し、多くの問題が解決された。水産研究・教育機構が中心となり、都道府県への技術移転を進めた。大分県では、酸素充填にかかわる器具の構造が歩留まり向上、技術の効率化および製造コスト削減に重要であることを見出した。また、宮崎県および鹿児島県では処理中の製品温度および鮮度が製造された製品の品質に大きく影響することを発見した。北海道では、製品の身割れによる品質劣化を防止するため、酸素充填の条件を見直した。鳥取県では高真空処理による褐変抑制効果を確認した。各都道府県で個別に試験が実施され、酸素充填処理の有効性が確認された。開発された技術は、特許出願を検討中である。水産研究・教育機構開発調査センターでは、佐賀県定置網で漁獲されたブリに対して酸素充填処理を施し、福岡の日本遠洋旋網漁業協同組合において官能試験を行った。全国海水養魚協会は、ブリ養殖加工業者、大学の研究者、民間水産会社、水産卸、包装会社等、約 10 社にサンプルを郵送し、官能評価を実施するとともに、今後の実用化に向けた課題について議論した。

ウ 消費者や厚生労働省等への MAP 技術の正確な情報提供等

水産研究・教育機構はガス充填処理された水産物の安全性に関するデータを取得し、昨年 12 月に関連するデータおよび情報を厚生労働省に提出した。今後、食品安全委員会における審査に入る可能性もあり、新たに提案する本研究課題により水産物（特に生食用水産物）への MAP の安全性に関するデータをさらに蓄積することは極めて有意義である。