

平成31年度養殖業成長産業化技術開発事業

報告書 (概要版)

令和2年3月

養殖業成長産業化技術開発共同研究機関

(1) 養殖魚安定生産・供給技術開発

【目的】

主要な養殖対象魚種であるブリとマダイについて低魚粉飼料の開発・普及を進めるとともに、目的に応じた養殖用優良家系の作出に関する実証的な技術開発を行うことにより、国産養殖魚の安定供給と、養殖経営の健全化のための養殖生産体制の構築に資する。

【主な成果と今後の見通し】

ア ブリ類養殖のコスト抑制技術の実証

ブリの試験 EP 飼料の設計は、昨年度までは魚粉 30%であったが、今年度は 25%としてチャレンジした（原料原価比では対照飼料の魚粉 50%の約 1 割減）。夏期用では魚油の 4 分の 1 を植物油で代替した飼料、秋期は脂質を増加した飼料として作製したところ、実証試験での飼育成績は試験区も対照区も差がなかったことから、適正な配合飼料設計と考えられた。また、魚粉代替飼料原料を配合するとタンパク質の消化率が低下したが、水温による影響はほとんどみられず、今後の飼料設計の参考としたい。今後の見通しとしては、魚粉の輸入が限られる中で、魚粉 25%でもブリ養殖生産が可能であると考えられる。

ブリの実証試験は鹿児島県東町漁協の 2 養殖業者の生け簀で行った。養殖業者ごとに生簀を 2 つ（対照 1 区、試験 1 区）使い、同様の設定の飼育試験を行うことにより、実験結果の信頼性を高めた。ブリ種苗は、昨年度（H30）5 月に天然モジャコを種子島に運び、餌付け後に魚粉 30%飼料を与え、成長成績の良いものを選抜し、東町漁協に運んで育成した。試験区（魚粉 25%）は対照区（魚粉 50%）と比べて、尾叉長、日間給餌率、日間増重率ともに大きな差は見られなかった。冬季の低水温期になると肥満度に差が出始め、対照区の肥満度が高い結果を得た。試験期間中における増肉コストは試験区で低い結果を得た。今後の見通しとしては、養殖現場において低魚粉飼料を用いる事で低コスト化が可能になることが示唆された。また、養殖現場でモジャコにも低魚粉飼料が使える事が示された意義は大きい。

長崎県総合水産試験場では小割生け簀を用いて、冬場の低魚粉飼料の油脂原料の原料組成を求めることを目的として、油脂原料の切替え試験を行った。1 歳魚に試験飼料（魚粉 25%）を 23 週間給餌し、その後水温によりパーム油を魚油に代替した飼料へ変更して対照区（魚粉 50%）と成長等を比較した。切替えを水温 23℃で変更した区では、成長面が若干劣ったものの、血液性状等に問題はなく、増肉コストが 10%低い結果が得られた。今後の見通しとしては、魚粉 25%飼料でのパーム油の利用は、水温が 23℃以上であれば、その使用に支障がないものと考えられた。

ブリの肉質評価は、東町漁協 A 業者および長崎県総合水産試験場の飼育魚で行った。最近の消費者ニーズとして「生臭くない」「魚の味がしない」「脂っぽい」魚に人気があることから、魚粉低減化によって消費者ニーズに合った養殖魚の作出をめざし、特ににおいセンサー分析、味センサー分析の測定に重点を置いた。低魚粉飼料を給餌したブリでは機器分析によりその風味が異なることが分かった。試食アンケートによる評価では有意ではないものの対照飼料を与えたブリと識別可能である傾向を示した。さらに無魚粉飼料を給餌したブリでは、機器分析でも試食アンケートでもその風味が異なることが分かった。今後の見通しとしては、無魚粉もしくは低魚粉飼料を給餌することにより、従来とは異なる好ましい品質のブリを作出可能であることが示された。

イ マダイ等養殖のコスト抑制技術の実証

マダイの試験 EP 飼料の設計は、一昨年までは魚粉 20%であったが、昨年度から 15%でチャレンジした（原料原価では対照飼料の魚粉 40%の約 1 割減）。夏期用飼料では魚油の 3 分の 1 以上をパーム油で代替して飼料を作製した。試験区の実証試験での飼育成績は対照区と差がなかったことから、適正な配合飼料設計がなされたと考えられた。また、試験飼料のタンパク質の消化率は水温による影響はほとんどないが、脂質の消化率は僅かながら低下したことは、今後の飼料設計の参考としたい。今後の見通しとしては、魚粉の輸入が限られる中で、魚粉 15%でもマダイ養殖生産が可能であると考えられる。

マダイの実証試験は愛媛県宇和島市の 1 養殖業者の生簀を 2 つ（対照 1 区、試験 1 区）使用して行った。マダイ種苗は、愛媛県農林水産研究所にて低魚粉でも成長が良い個体を選別して得られた低魚粉適応家系の F4 を用いて 10/10~2/13 まで飼育試験を行った（対照飼料は魚粉 40%DP）。両区は同等に成長し、血液性状、身質成分等に異常が見られなかった。また、対照区と比較してコスト削減効果は高水温期で高く、試験期間を通して約 5%のコストが削減された。今後の見通しとしては、低魚粉飼料を使用し養殖を行うことで低コスト化が可能になる可能性が示唆された。

マダイの肉質については屠殺方法が品質に与える影響を調べた。苦悶したマダイでは強い異臭を有することが知られている 1-octene-3on や 2-octanal が顕著に増加していた。今後の見通しとしては、屠殺の際に魚に大きくストレスを与えるとその体表から強い異臭を発生し、品質を著しく劣化させるので、適切な屠殺方法は品質向上の一翼を担うと考えられた。

ウ 低魚粉適応品種の作出に向けた養殖試験

ブリについては、長崎県総合水産試験場において、0 歳魚に魚粉 25%飼料を 12 週間給餌し、魚粉 50%飼料と成長等を比較する飼育試験を行った。魚粉 25%飼料は、成長面が若干劣ったものの、血液性状等に問題はなく、増肉コストが 11%低い結果が得られ、水温 20℃以上においては、実用的なレベルに近いと考えられた。今後の見通しとしては、0 歳魚に低魚粉飼料を使用することで、さらなるコスト削減が可能と考えられた。

愛媛県農林水産研究所において、低・無魚粉飼料でも高成長する系統の有用性の確認として、昨年度（H30）に人工生産したブリ 0 歳魚から 2 系統（低魚粉成長選抜群、通常飼料高成長選抜群）を選抜し、2 飼料（低魚粉飼料、対照飼料）を与えてクロス試験を行った。2 系統ともに、低魚粉飼料区で対照飼料とほぼ同等の成長を示し、増肉係数も大きな差はなかった。今後の見通しとしては、1 歳魚期に低魚粉飼料を使用することで、さらなるコスト削減できると考えられた。

マダイについては、愛媛県農林水産研究所において低魚粉飼料でも高成長した低魚粉適応家系（F4）の有用性と低魚粉飼料（15%）の切替え（夏期用低魚粉飼料から秋期用低魚粉飼料へ）時期の確認を行った。F4 の低魚粉飼料区は対照飼料区と比較して成長は同等であり、この系統の有用性が高まった。切替え試験では、11 月（地先水温 20℃）で切替えた区では 1 月（17℃）の切替えよりも増肉係数が低く、高いコスト削減効果が得られた。F4 マダイの遺伝的な多様性は少なく、低魚粉適応系統として固定化されている可能性が考えられた。今後の見通しとしては、選抜した系統の種苗を用いて、適切な時期に低魚粉飼料を夏期用から秋期用に切替えることにより、さらなるコスト削減効果が考えられた。

(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

水素細菌の一種 *H. thermoluteolus* は従属・独立栄養条件ともに培養可能であるが、窒素飢餓など培養条件次第ではバイオプラスチック原料でもある PHB（ポリβヒドロキシ酪酸）を菌体内に蓄積することが知られている。PHB は栄養成分として窒素を含まないため、過剰な蓄積は養魚飼料としての利用価値を低下させるものと考えられる。そのため、菌体生産に際しては菌体収量の確保と PHB 蓄積抑制を両立させることが望ましい。本年度は PHB 蓄積制御の基盤情報として、ゲノム情報も活用しながら、トランスクリプトーム解析により窒素飢餓時の PHB 合成活性化の分子機構を明らかにした。また、培養試験により、窒素濃度の菌体内 PHB 蓄積への影響や培地栄養条件と PHB 蓄積の関係を解析した。それにより PHB 蓄積を抑制する窒素濃度を把握し、また従属栄養条件より独立栄養条件の方が窒素飢餓での菌体 PHB 蓄積を抑制することなどを明らかにした。今後はこれらの知見を活用し、培養条件、PHB 蓄積および飼料特性の関係解明へと研究を進める予定である。

別種の水素細菌 *H. marinus* については高密度培養法が確立している。本菌は微好気性のため過剰の酸素は増殖を阻害するが、その一方で細胞密度の増加によって酸素律速、すなわち酸素が不足しはじめるとグリコーゲンを蓄積する特徴がある。養魚飼料としてはこれを抑えて高タンパク質含量にすることが好ましいと考えられるが、250mL 小型発酵槽にて糖の蓄積過程を経時的に解析した結果、酸素律速後もしばらくは糖蓄積が誘導されないため、時間差を利用して比較的増殖が速いうち（糖蓄積誘導開始前まで）は培養を継続して菌体密度を高めることができると考えられた。この知見をもとにスケールアップに向けた検討として、原料ガス（水素・酸素・炭酸ガス）の連続通気供給による 10L 発酵槽でのジャー培養を行い、その増殖特性解析と条件の至適化を進めている。また、その過程で凍結乾燥菌体 81g（湿菌体として 414g）を調製し、他課題との連携のもと、養魚飼料としての特性評価を始めている。

加えて新たな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のうち 2 株が小型発酵槽での連続通気培養が可能であることが分かった。今後は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 *H. thermoluteolus* の単細胞飼料としての利用特性を検討するため、ニジマス消化

組織（胃および幽門垂）の組織抽出液を用いた人工消化によりその消化性を検討した。*H. thermoluteolus* 乾燥菌体は胃抽出液での消化は顕著には認められなかったが、幽門垂抽出液ではタンパク質の分解が認められた。また、菌体をオートクレーブ処理することにより幽門垂抽出液での人工消化は促進された。飼料として給与した場合、本菌の消化は主に幽門垂で行われ、また消化性向上にはオートクレーブなどの加工処理が有効であると予想された。本菌は加熱乾燥やオートクレーブなど比較的簡便な加熱処理で不活化できることも確認されており、これらの知見は今後の加工工程開発への活用が期待される。

もう一つの候補細菌である *H. marinus* については、凍結乾燥菌体の人工消化試験において胃・幽門垂の組織抽出液でいずれもタンパク質の消化が認められた。本菌は粗タンパク質約70%と比較的高含量であり飼料タンパク源として期待でき、次年度以降は、他課題と協力しつつ摂餌性や消化吸収率測定など個体レベルでの解析へと進める予定である。

ウ 産業化に向けた生産技術および工業化体制の確立

養魚飼料に用いられる魚粉を代替原料に置き換える場合、その代替原料に関しては栄養学的な特性や安全性が重視されるのは当然であるが、それと併せて必要な供給量が長期安定的に確保されることも重要である。単細胞飼料も例外ではなく、生産体制を整えるためには、個別の技術要素の確立とそれを組み合わせた体系的な生産システム構築の双方が必要である。本年度は単細胞飼料を養魚用の配合飼料として利用することを想定し、原料菌の培養から養魚飼料用の乾燥粉末製造までのプロセスを技術的要素に分解し、各要素について想定される最適技術のブラッシュアップを開始した。

量産化に向けた生産工程を、原料ガス生成、培養、菌体分離、乾燥および梱包に分割してそれぞれ技術要素と定義し、個別技術の選択と精査を行った。例えば、原料ガスである水素の調達に関しては、水蒸気改質により工業的に生産される水素の利用と自然エネルギー利用による水電気分解による生産の二通りが考えられる。それに関しては社会動向も踏まえ、短・中期的には水蒸気改質、長期的には水電気分解法を技術候補として選択し、課題担当機関およびその連携企業間で産業的・技術的な精査を進めている。他の技術要素に関しても同様に検討を進めており、今後は他課題の成果も生産工程設計に反映しつつ、工業的な生産体制確立に向けて、民間企業など外部機関への技術紹介や連携を進めていく予定である。

(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

スジアラの消化酵素の基本的性質の解明のため、胃、肝臓、腸などから各種消化酵素を抽出し至適条件を解析した結果、各消化酵素で活性が最大になる温度が明らかになったため、これらの生化学的特性に基づいて、今後の消化酵素活性試験の測定条件を設定することにした。また、これまで知見のなかったスジアラの膵臓について組織切片を作製したところ、肝臓において膵臓外分泌組織の特徴的な構造が観察されたことから、スジアラは肝膵臓を持つことが示唆された。

異なる水温下での消化吸収動態を明らかにするための飼育試験において、摂餌後経時的に胃内容物の湿重量を測定したところ、体重当たりの摂餌量は水温が高くなるほど多くなった。胃内容物はいずれの温度でも摂餌後から経時的に減少し、24 時間でほぼ消失、48 時間で完全に消失した。また、胃内容物の残存率を算出したところ、摂餌後 12 時間の低水温区で高い値を示したことから、低水温期には摂餌量が減るとともに、胃での滞留時間が長くなることが示唆された。

他に、消化酵素の至適 pH、異なる水温下での飼育試験から得た試料の酵素活性及び遺伝子

発現解析を実施中であり、スジアラの消化生理機構の解明に向けて新たな知見が着実に集積されつつあることから、これら知見を中課題イに提供することにより、より効率的な飼料開発の推進が期待できると考えられる。

イ メタボローム解析等によるスジアラ育成飼料の評価

タンパク質含量を3段階（低、中、高）、脂質含量を2段階（低、中）の組み合わせによる計6試験区の給餌試験を行った。日間成長率、タンパク質効率は、飼料脂質含量に関係なく中程度の飼料タンパク質含量区が高いことから、スジアラの飼料のタンパク質含量は中程度が適していると考えられた。この結果は、タンパク質含量が多すぎると成長効率が低下することを示唆していることから、今後の新規飼料の開発において重要な知見となった。内臓脂肪体指数は低脂質含量区においてタンパク質含量が増えると内臓脂肪が増える傾向が示されたが、中脂質含量区では内臓脂肪量に差がなかった。肝臓体指数はタンパク質含量の増加に伴い増える傾向が見られたが、統計的な有意差はなかった。

給餌試験において経時的に採集した糞便のメタボローム解析を行った結果、主成分分析の第1主成分からは経時的な変化に伴い変動する代謝産物、第2主成分からはタンパク質含量比を反映して変化する代謝産物が検出された。いずれの代謝産物も飼料中に必要不可欠な重要な栄養成分であったことから、これら成分の動態解明が期待される結果となった。また、筋肉組織のメタボローム解析から各試験区を特徴づける4種類の代謝産物の抽出に成功し、これらが飼料の変化に伴う代謝産物の変動に寄与していた。そのうち2種類の代謝産物は中脂質含量区において増加傾向にあることがわかった。

他に、上記給餌試験の各試験区から採集した個体の遺伝子発現解析、腸内細菌叢解析、血液生化学分析等を実施中で、これらの総合的な解析結果から飼料吸収特性のヒントが得られる可能性が示唆されていることから、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

飼料最適化のための説明変数と目的変数の検討について、今年度はタンパク質含量と脂質含量を説明変数、スジアラの成長度（日間成長率、餌料効率、増重率、体長増加）等を目的変数に設定し、成長に重要な因子の特定を行った。また、飼料成分最適化の手法検討について、ベイズ最適化手法を用いて検証を行った。

成長に関するデータ取得のために各個体の体長・体重等を計測する必要があるため、飼育水槽中での直接計測のための画像解析手法の検討を行い、安価かつ頑健なシステムを構築可能なことがわかった。さらに解析用画像の収集、観察ユニットの考案による撮影と実証などを実施中であり、AIを利用した飼料開発の高度化のための新たな知見が集積されつつあることから、これらの情報を中課題イに提供することにより、スジアラ用の高効率飼料の開発の進展が期待される。

(4) サーモン養殖推進技術開発

【目的】

本事業では、①現在、問題となっているニジマスの海水馴致技術を高度化する。②生食の需要が高いにも関わらず国産養殖魚の供給量が少ないために国内シェアを拡大することができないニジマスや在来マス類について、制限要因である短い海面育成期間で高成長となる優良系統を開発するための育種基盤を構築する。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と優良個体の選抜

1) 淡水の種苗供給基地における系統選抜

淡水の種苗供給基地で3系統（ドナ系、ドナスチ系、長野系）を用意し、これら種苗の海水飼育試験を2機関で行った。海水移行後の血漿浸透圧上昇幅はドナスチ系2才魚が最も小さかった。ドナ系とドナスチ系の成長および生残率が高く、海水馴致能が優れていると考えられた。今後は、稚魚期に海水経験処理した区や海面成長優良個体F1区等を含め、海水飼育試験により有効性を調べる。

冷凍・解凍技術の高度化のため、屠殺方法および凍結前鮮度の違い、再凍結による肉質変化を機器分析によって調べ、すべてが解凍後の品質に影響することを示した。また、海水への浸漬などストレスを与えた時にニジマス体表からアルデヒド類やアルコール類が放出されていることが分かった。今後は、海水浸漬時に体表から放出される低分子物質を網羅的に解析して、海水馴致ストレスの非侵襲的測定法の開発を目指す。

2) 海水飼育した親魚からの選抜育種

海水飼育で高成長を示した個体から得られた種苗の海水順応性の確認を目的とした。高成長個体を淡水の閉鎖循環飼育下で採卵しF1発眼卵を得た。現在、得られた稚魚の淡水飼育を異なる2機関で進めている。今後は、海水移行における馴致能を確認する。

3) 種苗選抜における検証

海面での飼育において、成長や生残の高い個体と低い個体について、種苗の浸透圧調節能の応答を調べるとともに、淡水期に海水経験を与えて浸透圧調節能を高める技術の開発を進めた。昨年度の海水経験は40gサイズで行ったが、本年度はさらに幼少時の10gサイズで行ったところ、海水馴致能の向上がみられた。今後は、引き続き海水経験技術の基礎データを収集し、海水経験手法の最適化を目指す。

イ サーモン養殖のための優れた系統の作出

1) 遺伝的多様性の解析と交配方法の検討

育種の根幹となる基礎集団の作出に先立ち、国内のニジマス及びサクラマスの遺伝的多様性の解析に着手した。全国養鱈技術協議会等を通じ、ニジマスについては9県から合計16集団（飼育集団）、サクラマスについては12県から31集団（飼育集団及び地域集団）の組織サンプル（各集団当たり15～24個体）を収集した。ニジマスについては、飼育集団当たり12個体に対して、市販のDNAチップを用いて集団構造解析を行った結果、遺伝的に大きく5集団に分かれることが明らかとなった。有効集団サイズから、遺伝的多様性は中程度であることが推定された。今後、有効集団サイズを減らさずに基礎集団を作出するため、遺伝的に離れた5集団による交配を実施予定である。また、今年度未解析のニジマス継代飼育集団につい

ても同解析を進める。サクラマス 31 集団およびサツキマス 5 集団については、総数 864 個体からゲノムワイドに DNA 配列データを取得した。ニジマス同様に、今後遺伝的多様性について解析する。

2) 地域集団等の収集と選抜基礎集団の作出、予備成長試験

3 年後に計画している基礎集団の作出に向けて、公設試にニジマスおよびサクラマスの精液あるいは卵の提供を依頼した。平成 31 年度は、サクラマスにおいて、北海道、北大、北水研、石川県より精液の提供を受けた。1 集団当たり 10 個体、1 個体あたり 0.5ml ストロー34 本を目安に 11 集団の精子凍結を実施した。サツキマスについては近大、増養殖研、兵庫県の 3 集団について実施した。解凍後の運動率は、30%以下から 80%程度まで様々であった。今後、運動性の低かった集団と新たな集団について、再度精子凍結を実施する。成長試験については、サクラマス及びサツキマスにおいて、淡水期と海水期の成長試験を実施した。北海道では、淡水飼育試験開始後あるいは海水飼育移行後の 1 か月間と全試験期間（6-7 か月）との間で成長の相関は低かったが、2 か月間と全試験期間との間では比較的強い相関が認められた。岩手では、淡水期で 10 月以降成長しない個体が見られ、それらは海水移行後も成長しなかったため退行型スモルトであったことが示され、本州サクラマスでは秋スモルトを維持することが課題であることが明らかとなった。サツキマスについては、夏の高水温期に成長の良い個体（上位 10%）を選抜すると、15%早熟オスを含む可能性があることが明らかとなり、海水移行直前の 11-12 月に海水飼育個体を選抜することが望ましいことが示唆された。

ウ ベニザケ養殖実証技術開発

1) ベニザケ養殖実証技術開発

放流用種苗は、0 才の成長を促進すると 1 才での成熟率が高まることが経験的に知られているため、放流時期の 1 才 5 月時点で 30 g 程度に成長抑制して飼育している（通常群）。しかし、養殖用には同時期に 200 g 程度の大型種苗が必要と考えられることから、1 才での成熟を抑制しつつ大型の種苗を育成する目的で、淡水期の飼育方法を検討した。成長促進を 0 才 8 月に前倒ししたところ、1 才 5 月（海面導入期）の体重は 146g に達し（通常群は 19.7g）、目標とする 200g に近づいた。一方、スモルト化率は 73.9%に留まり（通常群は 96.7%）、雄の成熟率は 7 割を超えた。成長促進開始時期をこれ以上前倒しすると、成熟率をさらに高めて養殖に不適な種苗となる可能性が高い。そのため、強制的に成熟を抑制する技術（別事業で取り組む光周期を利用した成熟抑制など）を併用することが不可欠である。また、天然魚の紅い身色に近づける目的で、飼料への抗酸化物質（セレノネイン）添加、および生物餌料（ツノナシオキアミ）の給餌が身色に及ぼす影響を調べた。セレノネイン添加では筋肉の赤味は強まらず、想定していたアスタキサンチンの消費抑制効果は確認できなかった。一方、配合飼料の 30%をツノナシオキアミに置換すると、筋肉の赤味が強まった。今後は、生物餌料の種類や給餌方法を検討する。

(5) 養殖業の成長産業化のための優良系統の開発事業

【目的】

この研究開発では、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、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、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、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。

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32個体の天然魚を確保しつつ、鹿児島県、長崎県、高知県を中心に各県の水産課や漁協、漁業者へ聞き取り調査を実施した。その結果、スジアラは沖縄県や鹿児島県だけでなく、長崎県（五島・対馬・長崎）では10年ほど前から漁獲量が増加していること、高知県でも少ないながら漁獲があることが明らかとなり、スジアラの生息域が南日本全体に広がっていることが示唆された。また長崎県では再生産している可能性が示唆された。

小課題2) 親魚の遺伝的多様性調査においては、石垣島海域で収集した32個体と長崎県五島列島周辺で収集した10個体の遺伝的集団構造解析を行い、石垣と五島集団間では遺伝的分化程度は高くないものの生殖隔離があり、両者が単一の任意交配集団を形成しているわけではないことを明らかにした。

以上のことから、育種基礎集団を作出するにあたっては、生産拠点の石垣島海域だけでなく、五島列島周辺からも親魚を確保し利用していくことで遺伝的多様性が高い育種基礎集団を作出できると考えられた。さらに今後、鹿児島県、高知県からサンプルを収集し、遺伝的集団構造解析を行い、再来年度中に育種基礎集団を作出するための親魚を収集する地域を決定できる見通しである。

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。

小課題1) ゲノム情報、遺伝子地図情報の整備においては、Chicago法およびHi-C法によるスキャフォールドリングを行い、ゲノム情報を整備した。その結果、1,356本に分断されて

いたスジアラドラフトゲノム配列が、275 本に纏められた。275 本のスキュフォールドの総塩基長が 823, 050, 783bp であったのに対して、上位 24 本だけで計 815, 462, 891bp になった（総塩基長の約 99. 1%）ことから、ゲノム配列の「長さ」という点では、染色体レベルのゲノム配列が構築できたと考えられる。また、遺伝子領域に着目したドラフトゲノムの完全度を調べる BUSCO 解析および CEGMA 解析の結果から「質」的にも本課題で構築したスジアラゲノムはモデル生物に匹敵するレベルにあると考えられた。来年度、連鎖地図を作成するとともに、それを利用して、さらなるゲノム情報の高度化を進め、再来年度中に育種のためのゲノム情報の整備が完了する見込みである。

小課題 2）多型解析とゲノム予測手法の開発では、GRAS-Di (Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct) 法による多型情報取得の条件検討を行った。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 によりゲノムワイドにジェノタイピングを行う方法である。12、16 および 64 プライマーセットを用いた GRAS-Di 法を行い、全てにおいて万単位の高品質な SNP を取得できた。最も多くの SNP 座を取得できる 64 プライマーセットを用いた GRAS-Di 法と、最もコストパフォーマンスが高い 16 プライマーセットを用いた GRAS-Di 法を、解析に必要なマーカー数に応じて使い分けることで、安価に多型解析が可能になると考えられた。今後、再現性の確認を行い、来年度中にスジアラにおける多型解析手法が完成する見通しである。

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、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。

小課題 1）早期成熟技術の開発では、まず脂溶性薬剤の代表的な徐放性投与として知られているココアバターとサイラスティックチューブを用いて、代表的な AI の一つであるレトロゾール (LZ) の投与方法を検討した。スジアラ雌親魚は貴重であり条件検討の実験には使用できないため、未熟な雌ウナギをモデル魚として実験に用いた。その結果、ココアバターおよびサイラスティックチューブいずれの方法で投与しても LZ の卵黄蓄積への抑制効果は認められるものの、ココアバターを用いた投与方法がより有効であることが示された。このことから、スジアラの雄化を目的として LZ 投与を行う際にもココアバターを用いることが最適であると強く示唆された。スジアラの産卵期直前にあたる 3 月 6 日よりスジアラ雌へのココアバターを用いた LZ 投与によるオス化実験を開始する。来年度は、スジアラの雌個体に対する AI の投与実験を継続するとともに、代表的な合成アンドロゲンであるメチルテストステロン (MT) の投与実験を開始する。

小課題 2）遺伝資源保存システムの構築では、すでに短期間の保存ができることを確認しているウシ胎仔血清 (FBS) とジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた精子凍結法について、半年～1 年の長期保存期間中での精子活性変化の調査および人工精漿を用いた精子洗浄による安定した採精技術開発の検討を行った。その結果、凍結保護剤として DMSO を用いた精子凍結により少なくとも半年の精子の保存が可能であることが明らかとなった。また、人工精漿を使った精子洗浄をした凍結保存が可能であり、尿や糞のコンタミネーションの影響を軽減し、安定的に精子を凍結できる可能性が示唆された。今後、1 年の長期保存期間中での精子活性変化の調査を継続しながら、他の凍結保存液の利用について検討する。再来年度内に、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見込みである。

(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 ノリ高水温適応品種の開発・実証

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高水温耐性調査と優良個体の選抜を進めた。両小課題ともに、育苗期にはやや問題が生じたもののおおむね順調に進捗した。野外養殖試験では、岡山県選抜株 D が対照品種や育種素材 6C より良好な生長を示したが、高水温障害の面では、育種素材と対照品種との間に目立った差はみられなかった。また、昨年度の野外養殖試験において、高水温障害の影響が少なかった育種素材 4C の葉状体から選抜した株を室内培養した結果、元株より良好な生長がみられた。

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、育種素材等を高水温期に短期間漁場で栽培し、葉体の障害の状況等について調査するとともに、優良個体を選抜し、高水温耐性の向上を目指した。福岡県有明海区における今年度漁期の始期である 10 月下旬よりも高水温帯での試験として、9 月下旬および 10 月上旬に支柱式での短期栽培試験を実施した。その結果、10 月に実施した短期栽培試験で生残個体がみられたことから、室内培養試験に供したところ、高水温耐性育種素材である 6C が最も生長が速いことが確認された。このことから、今回用いた品種の中で、福岡県有明海域における高水温耐性品種として適性を有する可能性が最も高いのは、6C であると推測された。

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、育種素材と基部発達に優れた愛知県株（付着力の強い株）の高水温条件での選抜試験等を実施した。昨年度、付着力の強さを基準にして選抜した株すべてに付着力の向上がみられたが、6C 選抜株の中に付着力及び生長が特に良好な個体が発見された。また、交雑育種についても検討し、本年度は交雑株の葉状体に関する予備的な培養実験を実施した。

細胞融合等による育種素材の室内培養による特性調査および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系統を材料に高水温耐性を調査することに加え、育種素材については、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。未調査株については、女川スサビとアサクサノリ野生種を高水温条件でプロトプラスト選抜した株を調査した。高水温条件での培養実験の結果、女川スサビとアサクサノリ野生種の選抜株は、元株と比較してどちらも高水温耐性の向上がみられた。アサクサノリとその選抜株は女川スサビと比べ高水温耐性がやや弱い傾向がみられた。遊離アミノ酸については、野外養殖試験における 4C 及び岡山 D の遊離アミノ酸含量と組成は、対照品種と同様の値であった。また、野外培養試験では 4C 及び 6C の組成は対象品種と同様であり、含量についてはやや上

回る結果となった。

今後は、上記の高水温適応育種素材や選抜株について、野外培養試験及び養殖試験を継続して実施し、高水温耐性能に関する知見を蓄積するとともに、強い高水温耐性を示す個体の選抜や未調査の育種素材派生株等の高水温耐性調査、呈味成分である遊離アミノ酸組成の調査を進める予定である。これらのことにより、実際の漁場環境に適合した高水温耐性系統の育成と養殖現場への適用を目指す。

Ⅰ 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については、窒素安定同位体を指標とした評価手法の開発に継続して取り組み、アサリ及びマガキの窒素排泄物のノリへの供給量の推定式を培養実験の結果から求めた。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、ノリ葉状体ディスクを用いた培養試験を行い、栄養塩制限に伴う自家蛍光の低下、光化学系Ⅱのエネルギー利用率の低下と消光機能の変化、さらには遺伝子発現の変化が明らかとなった。また、栄養塩添加に応答し、短時間で実効収率の上昇と消光機能の変化が生じることも確認された。

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着手した。佐賀県地先海域では、カキ養殖との複合養殖に加え、相乗効果が期待できる栄養塩添加技術の開発にも取り組んだ。その結果、栄養塩添加海水に葉体を浸漬後に干出させる作業を3日間以上連続で実施することで色落ちの軽減が確認できた。一方、カキ養殖、干出中の栄養塩添加及び両者を組み合わせたいずれの現場試験においても、色落ちの回復が確認されたが、試験期間中の栄養塩濃度の回復により、対照区においても色落ちの回復が見られたことから、カキとの複合養殖等による色落ち軽減効果を確認するまでには至らなかった。八代海においても、マガキ養殖と併用することにより、色調の回復が認められたが、対照区においても色調の回復が見られたことから、マガキとの複合養殖による色落ち軽減効果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、低栄養環境でも色落ちが遅いノリ品種の実用化を進めるための室内培養試験を実施した。その結果、試験に供試した品種のうち、フタマタスサビノリには一定の低栄養耐性があることが示唆された。

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、酸処理の実施前には、いずれの観測定点においても有機酸は検出されず、酸処理の実施中は、八代海の底泥間隙水中のみから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】

ブリ類は我が国の海面養殖業において重要な養殖魚であり、輸出拡大が期待される。ところが、大部分はアメリカに輸出され、需要が見込めるアジア圏や EU への輸出ができていない。この理由は、輸出用のブリ類の約 9 割が冷凍であること、冷解凍後の血合筋変色（褐変）防止には一酸化炭素（CO）処理が必要不可欠であること、一部の国を除き、食品への CO 処理が禁止されていることが挙げられる。今後、ブリ類の輸出を促進するには、CO 処理を使わない生鮮用冷凍水産物の高品質化技術が不可欠である。しかし、現在のところそのような実用技術は見当たらない。

このような状況に対して、代表機関は水産物を対象としたガス置換包装（MAP）に関する特許（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、JP2015015946A）を保有し、マグロ肉の解凍後の色調保持及び肉質改善を可能にした。この MAP 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は確認されたが、筋肉への酸素ガスの浸透性に課題があることも明らかとなった。

本課題では、上記の課題を解決し、ブリ類を対象とした生鮮用冷凍水産物の高品質化技術を開発するとともに、魚肉の肉質劣化要因と本技術による品質改善の作用機序を解明することを目的とする。一方で、厚労省から食品の品質、鮮度等に関し消費者の判断を誤らせる恐れがあるものは、食品添加物として鮮魚へ使用しないよう指導が出されている。そのため、厚生労働省等に対して、食品としての安全性を示す情報を提供し、本技術が CO 処理とは異なり、人体に影響がないことを示す。

【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の作用機序の解明

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によりブリ血合筋に含まれる代謝物質等を一斉分析した結果、116 代謝物質の定量に成功した。主成分分析の結果、本技術で処理されたサンプルはコントロールと分離され、代謝マップから、本技術で処理されたサンプルでは、好氣的条件で反応が進み、解糖系及び TCA 回路における ATP 産生が亢進し、エネルギー状態を示す指標が上昇した。また、乳酸、ピルビン酸の低下も確認された。TCA 回路の制御に関わる分岐鎖アミノ酸（BCAA）も上昇した。一方、電子顕微鏡観察の結果、冷解凍された血合筋では、ミトコンドリアが崩壊したが、本技術で処理された血合筋では形態が保持された。以上から、ミトコンドリアにおけるエネルギー産生系の保持が肉質劣化を防止するために重要であることを明らかにした。魚肉の褐変の原因となるミオグロビンの自動酸化は、筋肉中で死後に変化する成分（核酸関連物質等）の影響を受けた。また、ミトコンドリア画分に NADH 存在性の還元作用を示す物質が含まれていることも明らかにした。さらに、分子動力学シミュレーションの結果、高酸素存在下ではメト化が抑制され、空气中よりメト化速度が 0.6 倍に低下することを示した。

イ MAP 技術の実用化技術の確立

冷蔵及び冷凍ブリの褐変防止技術として、魚類脱血（血液置換）器具を開発した（3 月中旬出願）。既存の（灌流）血液置換技術と比較して簡便で迅速な操作が可能である。通常のエラ膜静脈の切除による放血と比較して、本法は脱血効率が極めて高かった。生臭み抑制、テク

スチャー保持、賞味期限の延長及び生鮮水産物の血合筋褐変抑制に効果がある。また、血管注入による酸素充填技術の効率が格段に向上した（次年度特許出願）。脱血効率の向上によって酸素ガスが血合筋細部まで浸透することが分かった。冷凍ブリ血合筋の解凍後の褐変抑制に効果があった。以上から、魚体の血合筋に効率的に酸素ガスを浸透させることが可能になり、実用技術として完成した。

今年度は、鹿児島県、大分県、長崎県及び佐賀県において実証試験を実施し、新たに抽出された課題に対する改良を進めているところである。また、各都道府県の参画機関は、代表機関がこれまでに開発した褐変防止法を用い、現場ニーズに合わせた試作品の作製を進めている。次年度は、製造コストの削減、解凍方法の検討、大量処理のための効率化、海外展開のための特許取得及び技術の論文化を進める予定である。

ウ 消費者や厚生労働省等への MAP 技術の正確な情報提供

中課題イにて製造されたブリフィレーの一般生菌数は 4.5×10^2 - 2.4×10^3 cfu/g であった。大腸菌数、大腸菌群数、腸炎ビブリオ菌数は、本試験における検出限界以下であった。このことから、多くの国の冷凍生食用水産物の規格基準を満たしていると考えられた。MAP 試験でも、一般生菌及び乳酸菌は、高酸素存在下で増殖が遅いことが確認された。次年度は、亜急性毒性試験、*in vitro* 小核試験等の分析も実施し、食品安全委員会での評価を受けるためのデータを取得する。

