

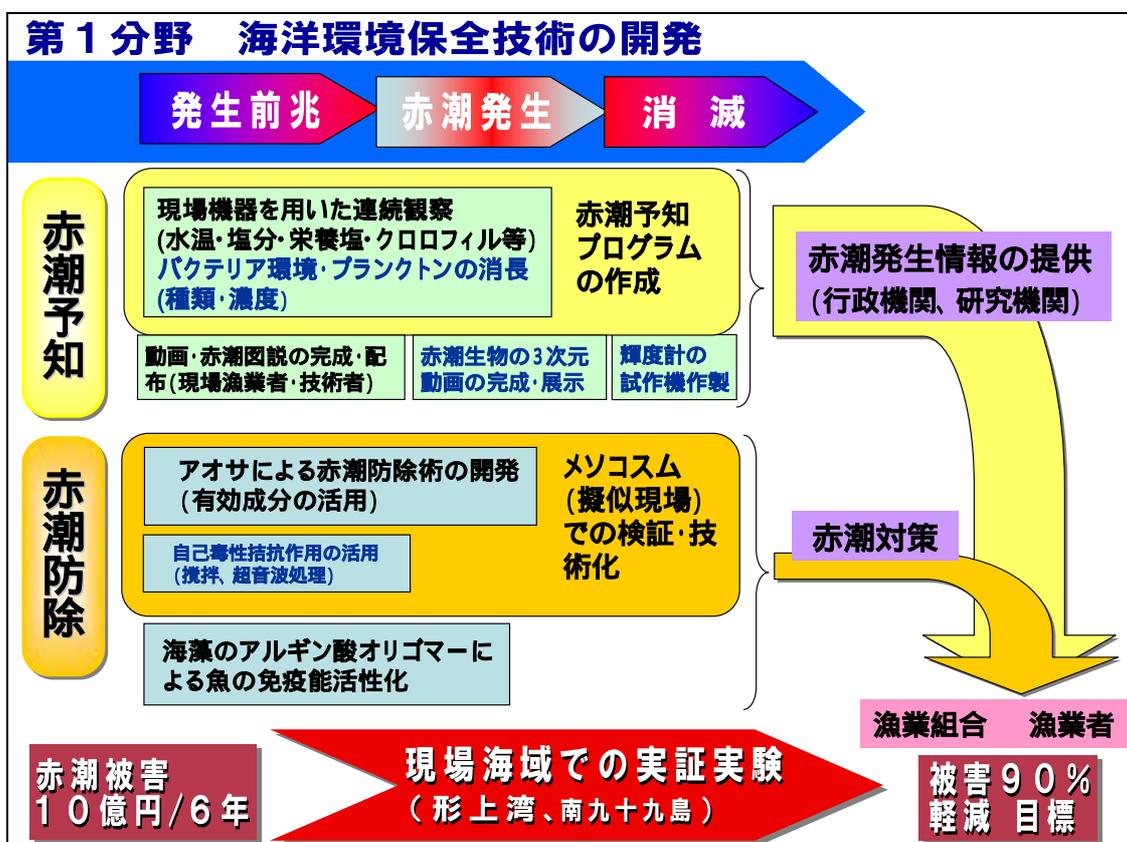
### (3) 研究成果

個々の研究テーマの成果については、様式6、7に示した通りである。本共同研究では個別のテーマで成果を上げることも大切ではあるが、異なる研究組織、研究分野の研究者が連携して問題の解決に当たったことにより、個別に研究では解決困難な命題を解決することができた点にも意義がある。研究成果については、IV成果報告で詳細に述べられるので、ここでは研究統括として概括するに留める。

#### 第1分野 海洋環境保全技術の開発

長崎県は海洋県であり、海洋環境の保全に関する技術開発は、県の海洋関連産業の発展には欠かせない。なかでも赤潮の発生は、漁業、養殖業、観光事業に多大な影響を与える現象である。その被害対策技術等はかなり研究され、現場的には対策が練られつつあるが、その発生予測、被害対策は長崎県のみならず全国的にも発展が望まれる技術である。第1分野の研究目的・手法については図4に模式的に示した。なお、本共同研究でターゲットとした赤潮は、養殖魚介類に甚大な斃死被害をもたらす有害有毒プランクトンの大増殖である。

図4



## テーマ1 海洋環境モニタリング

長崎県には閉鎖性海域の代表ともいえる大村湾がある。大村湾は昭和40年以来、渦鞭毛藻による赤潮が頻発し水産業に多くの被害を与えている。赤潮発生の予知予察には、まず、現場海域に原因となる赤潮生物の存在をいち早く発見すること、その生物の最適増殖環境を調査し、現場海域の環境がその生物の増殖に適した環境であるかを判断すること、さらに、長年にわたる現場海域の海洋環境連続観察から近未来の藻類量(クロロフィル)の推移を予測する技術を完成することが肝要である。

大村湾の枝湾である形上湾に定点を設け、赤潮発生期間である7月から11月まで三年間にわたって生物環境、物理・化学環境、微生物環境の推移を共同で観測した。それらの結果を基に、大村湾の形上湾における赤潮発生の予察技術の開発に努めた。赤潮プランクトンの存在有無(正確な種同定には分子系統学的手法を併用)、赤潮状態にまで増殖する可能性(実験室内および現場での最適増殖環境の把握、)およびクロロフィル量の近未来予測(リアルタイムプイを現場に設置し、クロロフィル等の時間変動を把握し、ニューラルネットワークを教育し予測)について研究した。その結果、現場漁業者への迅速な情報提供が可能になり、養殖業者は対策を早めにとることが可能とする技術が開発されつつある。本共同研究開始後、長崎県における赤潮被害が激減したのには、本共同研究の成果が関与している部分が多いと思う。しかし、赤潮の発生現象には、共通の原理はあるものの、特定水域、特定種については個別に論ずべきものであることは言うまでもない。すなわち、個々の地域、個々の赤潮に適用する赤潮発生予測を打ち立てる際に、形上湾で得られた予測手法が参考になるものと確信している。これらの共同研究の成果は、各研究者が様式6に示したように、各テーマについての研究を実施し、それぞれの成果を積み上げたことによって成立している。赤潮発生の予測にはいち早くその発生の兆候をつかむことが重要で、赤潮原因生物の現場での早期発見が必要である。そこで、本研究チームでは漁業者・現場の技術者に赤潮生物の発見を容易にするための図説「長崎周辺海域の有害植物プランクトン」を発行した。この図説が従来のものと違うのは、長崎県下で被害を及ぼした赤潮生物を中心に纏めたことと、現場の海水を観察した際に赤潮生物の識別が容易になるように赤潮生物の運動を捉えた動画CDを添付した点にある。さらに、赤潮現象の理解・普及を図るため赤潮原因生物の運動を3次元映像として映し出せる技術を開発した。さながら、海中で小動物となって、赤潮現象に遭遇したかのごとき映像が現出される。個別の赤潮生物の増殖の可能性(赤潮の発達予測)に関する研究としては、分子生物学的手法を活用した赤潮生物の系統に関する研究、赤潮生物の増殖特性に関する研究、赤潮発生と環境微生物の動態との関係について分子生物学的手法を活用しての研究などがあり、赤潮発生予測、赤潮現象解明に関する重要な基礎的知見を得ている。過去の観測データ(クロロフィル、風、水温)からのシミュレーション予測では2日後の赤潮発生予測を75%の精度で可能とした。しかし、クロロフィル量では有害赤潮(鞭毛藻)の判別はできないので、クロロフィル量の時系列データの自己相関係数を用いて、鞭毛藻(有害赤潮種が多い)か珪藻かの判定を行う技術(自己相関係数法)も開発した。赤潮現象を海色(吸収係数、散乱関数)から

追求しようとする研究も成果をあげている。

## テーマ2: 海洋環境修復/赤潮防除技術の開発

海域に赤潮生物の出現が確認された場合(テーマ1による)、その増殖を抑制して赤潮被害の発生を未然に防ぐ技術と、養殖魚(特に種苗)の抵抗力を増大させて、赤潮による養殖に対する被害を軽減させる技術の開発を試みた。

前者については、海藻のアオサと赤潮生物とが共存しない現象に着目し、アオサの赤潮生物に対する殺藻効果、または、増殖阻害効果を活用することを試みた。アオサの殺藻成分について生化学的に分析した結果、アオサの藻体に含まれるヘキサデカ-4,7,10,13-テトラエン酸、オクタデカ-6,9,12,15-テトラエン酸、及び  $\gamma$ -リノレン酸がその有効成分であることが分かった。有効成分である3種の高度不飽和脂肪酸含量の総和は、おおむね乾燥藻体1グラムに対して13ミリグラムで、 $\gamma$ -リノレン酸の殺藻効果と増殖抑制効果は *Heterosigma akashiwo* に対してLD<sub>50</sub>(4時間後)1.13 mg/L、およびGI<sub>50</sub>(3日後)0.3 mg/Lと分かった。実際にアオサまたはその有効成分の撒布を現場での赤潮対策技術として確立するには、撒布がその現場の環境や、他生物に与える影響、有効な撒布方法など、実用化に当たってクリアしなければならない段階が多い。そこで、本テーマでは大村湾の枝湾である形上湾に4基のメソコスムを設置し、擬似現場での現場対応試験を実施した。その結果、撒布すべき試料、撒布成分、撒布の方法、時期等を工夫すれば実用化が可能であろうとの結論に達した。

その他、赤潮生理活性作用に拮抗する機能を赤潮生物自身も持っていることを赤潮被害防除に使う試みなども検討されたが、実験室レベルでの有効性は確認できたが、技術として実用化するための実験的検討にまではいたらなかった。

海藻のアルギン酸の分解生成物であるアルギン酸オリゴマーが、哺乳類に対して免疫賦活作用をもつことを見出した。その免疫賦活作用をマハタの稚魚・幼魚に適用することにより、魚類の健康増進をはかり、赤潮被害を軽減することができるかを検討した。魚体のウイルス病に対する抵抗力を高めることを含め、稚魚の健康度を高めることが、養殖魚の赤潮に対する抵抗力を高めることにもなり、赤潮対策として有効ではないか、との考えで研究をスタートした。

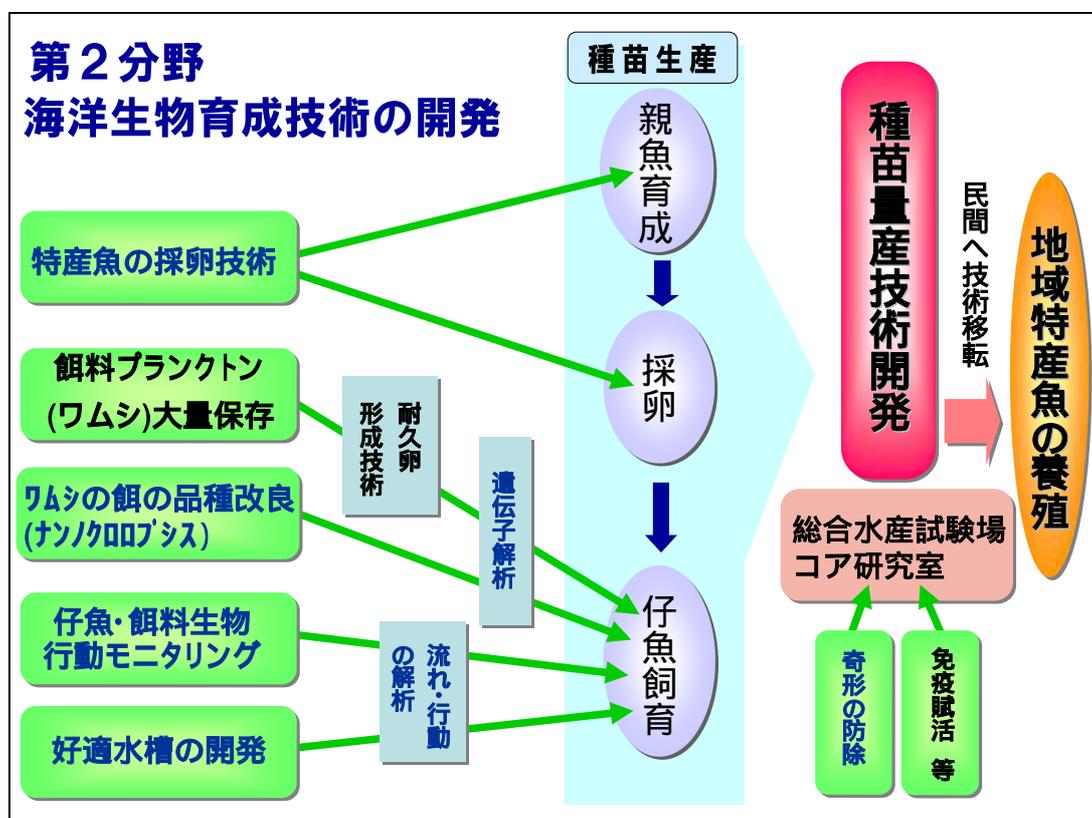
アルギン酸オリゴマーの生理作用に関する基礎的研究から、その作用はオリゴマーの化学構造および分子サイズにより大きく異なることがわかってきた。これらの研究にはまず、アルギン酸ポリマーからポリグルロン酸(PG)とポリマンヌロン酸(PM)ブロックをそれぞれ調製した後、特異的酵素分解により、分子サイズが異なるグルロン酸オリゴマーとマンヌロン酸オリゴマーを調製した。本研究では3-9量体(G3-G9)及びM3-M9)を得ることができた。これら精製オリゴマーをマウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 細胞に添加し、24時間後、上清中のサイトカインについて ELISA 法で解析した結果、腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )や顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)等のサイトカインを主に誘導することをつき止めた。調べたオリゴマーの内、3量体オリゴマー(分子量約600)に比較的強い活性が見出されたことは注目に値する。哺乳類や鳥類と同様に魚類に対しても免疫賦活効果があるかについては、目下その科学的根拠について

実験中である。しかし、実際にオリゴマーを添加した飼料で稚仔魚を飼育した場合、ウイルス性神経壊死症(VNN症)の発症抑制効果がありそうだとの実験結果を得ている。この結果については、第2分野において、水試との共同研究として実施したので、第2分野で詳述する。さらに、アルギン酸オリゴマーの生理活性作用を人類の健康増進に役立てる試みも行った。

## 第2分野 海洋生物育成技術の開発

長崎県は全国的にみても、その長い海岸線を活用して、海面養殖が盛んな県である。養殖魚の安定生産には安定した種苗の供給が不可欠である。特に養殖生産魚を県特産魚として他県や他国に優位な立場を占めさせるには、健全種苗の大量生産技術をいち早く確立することが重要である。そのような観点から本共同研究では、県総合水産試験場が推進しているマハタを主体にし、オニオコゼ、メバルを含め、種苗生産技術を高度化し、安定化することを目的とした。魚類の健全種苗の大量生産技術は、学問分類でいえば、魚類生理、生態、発生、餌料、成熟、環境、等の技術・知識・研究を糾合して開発する技術である。そこで、第2分野では、種苗生産を目的とした個別の技術を開発するテーマ3と、これらの開発された技術を導入してマハタ等の魚種ごとの種苗生産技術を開発するテーマ4とに便宜的に分けた。テーマ4は県総合水産試験場とコア研究室が中心となって推進した。なお、第2分野の研究目的・手法については図5に模式的に示した。

図5



### テーマ3 餌料用プランクトンの培養・育種と仔魚飼育環境の最適化

魚類の種苗生産の成否は、まず第一に適切な餌生物が十分量供給されることである。孵化した稚魚の初期餌料としては、海産のシオミズツボワムシがもっぱら用いられている。ブラインシュリンプが耐久卵を天然湖などから採取して供給されているのと異なり、この餌料生物の供給は、種ワムシから継代培養(無性生殖)し大量培養することにより行われている。このワムシが有性生殖によって作る耐久卵を大量に作成し、それを保存し、種ワムシとして利用できるようにするならば、種苗の初期餌料の供給が容易になり、種苗生産技術に革命的な変革をもたらすものと思われる。さらに、ワムシの耐久卵の生産は有性生殖によって行われるので、耐久卵の生産技術の根本的な開発には、有性生殖誘導要因の解明、さらには誘導遺伝子の解明が必要になる。このような観点から、ワムシ耐久卵の大量生産、保存、保存後の孵化率向上の技術研究を基礎から応用まで、共同研究を行い、数十億個規模でのワムシ耐久卵の生産が可能となり、ほぼ、実用化の目処がたった。ワムシの優良品種の作出のためにも有性生殖誘導要因の研究は重要であり、現に耐久卵形成能の優れたワムシ品種が交雑により作られている。この研究に関連して、シオミズツボワムシの餌藻類として重要なナンクロプシスの品種改良にも取り組み、EPA、DHA含量の多い品種を作出できた。ワムシ類の耐久卵形成は、いわゆるブラインシュリンプが野生での産物をただ集めているのに対して、培養産物であるため、種苗の計画生産や病原体除去が可能である等の優位な点がある。

稚魚飼育中の環境制御については、従来慣習的に行われていたエアレーション等による飼育水槽内の流動(流向・流速等)を徹底的に観測し、魚種ごとに(特にマハタ)最適な飼育水槽の形態、エアレーションばかりでない方法による適正な飼育水の流動を導いた。その結果から、マハタの種苗生産に好適な水槽の開発に成功した。さらに、将来は環境保全の要請から種苗生産や養殖も陸上の閉鎖環境で実施することが求められると思われる。その際に環境ホルモン様物質フリーの用水による飼育を保障することが成品の差別化に繋がると考え、環境ホルモン分解微生物の検索を行い、ノニルフェノール等を選択的に分解する海洋微生物の発見に成功した。

そのほか、稚仔魚や餌料生物の健康度のチェックに稚仔魚の行動、稚仔魚の持つ酵素活性を活用する試み、シオミズツボワムシ以外の餌料生物の開発などの研究が行われ、成果を上げているが、これらについては、様式6に、詳細な研究成果はIV成果報告の項に譲る。

### テーマ4 特産魚種の種苗量産技術の開発

県総合水産試験場と(株)長崎県漁業公社では、従来から長崎県の水産資源の確保と水産養殖の種苗確保の目的で種苗量産技術の開発と技術普及に取り組んでいる。そこで、本共同研究では県特産魚となりうるマハタ、オニオコゼ、メバルを取り上げ、これらの量産技術の開発に当たった。まず、種苗生産の成否を左右する親魚の成熟、健全卵の採取と採卵後の孵化にいたるまでの技術を開発した。その結果、マハタについては、計画的な採卵が可能になり、計

画的種苗生産の推進ができた。これらの技術開発には魚類の成熟の生理についての基礎的研究が基礎となった。なお、マハタの採卵技術については、本共同研究の結果を踏まえ、マニュアルを作成した。

種苗生産上の大きな問題の一つとして、稚仔魚に発生する形態異常魚の問題がある。マハタを主体に形態異常の発生防除について研究をした。当初は脊椎骨等の異常の発生にはビタミンAの過剰投与があるのではないかとの仮説をもっていたが、研究の結果、必ずしもそれだけに要因が求められるものではないことが分かり、飼育方法等も含めて発生要因について幅広く検索中である。しかし、どのような形態異常が成長のどの時期に発生するか、その形態異常がどの時期に外観上も識別できるほどになるか、その形態異常が、成長停滞、死亡にどのように繋がるかなどについては、ある程度の目処をつけることができた。形態異常の問題は消費者の形態上の好み等が絡み、経済的には養殖業者にとって避けては通れない問題ではあるが、食品としての安全性には問題がない場合が多い。長崎県として、今後も形態異常の発生を最小限度にとどめる研究、生産価格に影響を与える形態異常魚を成長早期に発見して排除する技術の開発を継続する必要がある。研究統括としては、消費者にはすべての形態異常魚が食品の安全性に直結するものではないことを強くPRする必要性を感じた。

三年間のマハタ種苗の量産技術開発の結果、平成18年には8.2万尾の生産を上げることができ、マハタについてはかなり、安定的な種苗生産が可能になった。種苗生産中、および、その後の沖だしと養成に当たって、最大の注意点はVNN症の発生を如何に抑えるかにある。ワクチンの開発には今しばらくの時間を要することを考えると、ウイルスの侵入を防ぐ防疫に最大限の注意を払うことが必要である。しかし、沖だし後にまで完全隔離は不可能である。現在考えられる方法の一つは、魚体の健康度を高めることである。赤潮防除対策(テーマ2)において、アルギン酸オリゴマーの投与が哺乳類、鳥類に免疫機能を賦活する効果があることが判明したので、その効果を魚類に応用し、マハタの飼料にアルギン酸オリゴマーを添加することにより、健康度を高め、VNN症の発症を抑制することができないかを検討した。その結果発症抑制を示唆する結果が得られ、マハタ養成中のウイルス感染防除に有効である可能性が高いと考えられた。もちろん魚類に対しての有効性について生化学的な根拠も検討しており、アルギン酸オリゴマーの腹腔内投与により、マハタ血中サイトカインの上昇の可能性が示唆されるなど、その有効性の根拠をある程度示すことができた。

そのほか、オニオコゼの安定的な種苗生産技術の開発に努めた。オニオコゼ種苗の原因不明の大量斃死については、魚卵の持つ活性酸素が関連している可能性を示唆する実験結果を得ている。オニオコゼ、メバル等の長崎県の特産魚となりうる魚類の種苗生産技術についても、今後の継続的な研究が望まれる。