

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 3 月 31 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23688022

研究課題名(和文) 養殖魚における餌止め効果のメカニズム：なぜ、赤潮・魚病による斃死を軽減できるか？

研究課題名(英文) The effect of starvation on fish survival against harmful algal bloom and diseases

研究代表者

太田 耕平(OHTA, KOHEI)

愛媛大学・南予水産研究センター・准教授

研究者番号：10585764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,000,000円

研究成果の概要(和文)：魚類養殖を効率的かつ安定的に行う上で、赤潮と魚病による斃死が最大のネックとなる。これらに対して、現場では日常的に餌止めが行われているが、科学的情報が不足しているため、適切な餌止めが困難である。そこで、餌止めによる生体防御効果(絶食効果)の科学的解明を目的とした。ブリおよびマタイを用いて解析した結果、絶食に伴い呼吸量や血中グルコース量などに加え、特定のアミノ酸濃度、さらに各臓器のATP量が減少した。一方、感染時の各種免疫・代謝関連因子は絶食により上昇した。赤潮暴露では酸欠症状がおこり、呼吸量低下が抵抗性を高める一因と考えられたが、栄養成分低下に起因した興奮抑制効果など、複合的要因も示唆された。

研究成果の概要(英文)：For the sustainable fish farming, harmful algal bloom (HAB) and diseases are serious problems. In the cases of HAB and diseases, fasting is the common technique to prevent the damage of fish. However, the effect of starvation on fish survival is largely unknown. To understand and improve the fasting technique, we studied the physiological and molecular roles of starvation. When fish were starved, decreases in some amino acids levels were observed in addition to serum glucose levels and oxygen consumption rates. On the other hand, starvation induced better immune and metabolic conditions than the non-starved fish after bacterial infection. At the exposure to HAB, acidosis occurred due to the oxygen deficiency, suggesting that the decrease of oxygen consumption in the starved fish leads to higher survivability. Additionally, it was suggested that the decreases of some nutrients enhance the survival through the other mechanisms.

研究分野：農学

キーワード：絶食効果 魚類生理 水産養殖 赤潮対策 魚病対策

1. 研究開始当初の背景

魚類養殖は我が国のみならず、全世界において今や必要不可欠な食料供給源になっており、今後も増加傾向にある。この養殖生産の効率化・安定化を妨げる最大の問題が赤潮と魚病による大量斃死である。

赤潮については、生け簀移動の他、餌止めが有効とされており、経験的に現場で行われている。一方、魚病については、ワクチン等により、特定の病気を予防することが可能となってきたが、ワクチン対象外の魚病など、未だ効果的な防除手段の無い魚病も多い。こうした魚病に対しても、餌止めが行われることが多い。

すなわち、赤潮や魚病が発生した場合、日常的に行われるのが餌止めによる絶食であり、経験的に赤潮やいくつかの魚病については効果が示されている。しかしながら、科学的な情報が不足していることから、給餌量の調節や絶食のタイミングに関する判断が難しく、防除できたはずの被害を発生させるという事例も後を絶たない。

2. 研究の目的

そこで本研究課題では、魚類養殖現場で赤潮や魚病の発生時に行われている、餌止め(絶食)による生体防御効果(絶食効果)を魚類生理学及び分子生物学的手法を用いて科学的に解明し、得られた情報を養殖現場や生産者にフィードバックすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究課題では現象の入口である“絶食”と出口である“生体防御”との関連を軸として、その間のメカニズムに関して明らかにしていく。実験対象種として、我が国の魚類養殖の代表種であるブリ・マダイなどを実験魚として用いて、生理学的及び分子生物学的手法により、以下の実験を行った。

(1) 絶食に伴う生理変化

魚類の生理変化、特に摂食から生体防御までの各種関連因子について解析し、絶食によって変動する因子を明らかにした。各臓器の重量や血中のグルコース量などを調べるとともに、呼吸、代謝、免疫に関わる因子を中心に解析を行った。また、血中のアミノ酸量について網羅的に解析した。

(2) 魚病感染試験

次に、マダイを用いて、ワクチン等の効果的な対処法がない、エドワジェラ菌による感染実験を行い、各種因子の変化について調べ

るとともに、絶食による効果について解析した。

(3) 赤潮暴露試験

天然で発生した赤潮有害プランクトンを採取し、ブリ幼魚に対して暴露することにより、その後の生理変化について解析した。

これらの結果をもとに、各種絶食関連因子が生体防御にどのように関わっているかを解析した。

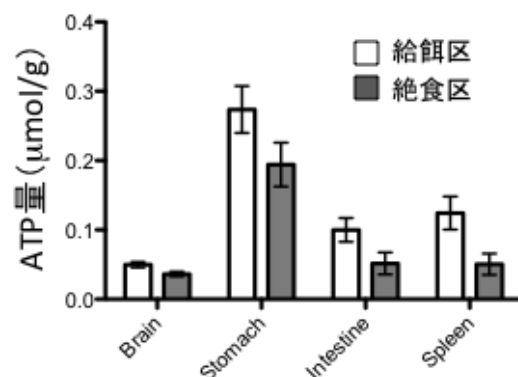
4. 研究成果

(1) 絶食に伴う生理変化

ブリ・マダイなどを用いて、水槽内で各種試験を行い、生理変化について解析した。絶食試験を行った結果、マダイはブリに比べ、比較的長期間の絶食に適応する傾向が見られ、体重減少も遅く、軽度であったことから、絶食に対する個体の適応能は種によって大きく異なることが示唆された。

次に、絶食に伴う各臓器の重量変化を調べた結果、ブリとマダイは両種ともに、肝臓重量が絶食開始後に減少傾向を示したのに対し、脾臓重量は絶食後、一定期間維持されていた。また、血液中のグルコース量は速やかに減少したのに対し、各種アミノ酸量はそれぞれ、特異的な変動パターンを示した。なかでも、アラニン、チロシン、セリン、及びアルギニンは両種ともに低下した。加えて、各組織におけるエネルギー量を調べるため、絶食10日後のマダイを用いて、脳、胃、腸、および脾臓におけるATP量を測定した結果、測定したいずれの組織においても、絶食により低下する傾向が見られた。すなわち、絶食により各器官におけるエネルギー代謝量が全体的に低下していると考えられた。一方、免疫に関わる効果を調べるために、白血球の貪食活性を調べた結果、マダイ、ブリ共に、絶食群と給餌群との間に有意な差は認められなかった。

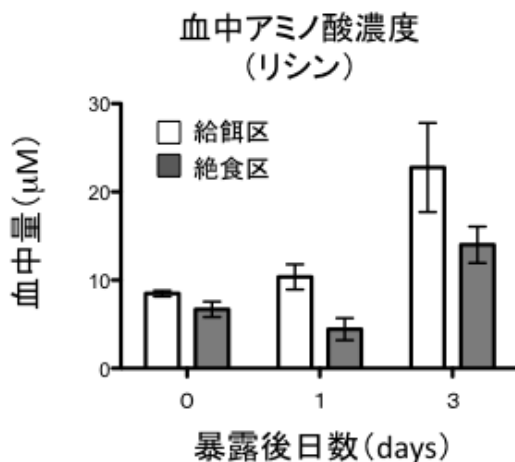
各組織におけるATP濃度



呼吸量については絶食群が給餌群より酸素消費速度が少ない傾向が見られたが、マダイにおいて、酸欠死に至る酸素濃度を指標とした低酸素耐性について調べたところ、両群ともほぼ同等であった。加えて、嫌氣的代謝の指標として、血液中の pH と乳酸量を測定した結果、絶食群と給餌群との間に明瞭な差は見られなかった。

(2) 魚病感染試験

次に、養殖魚に対する病原菌の暴露実験を行い、経時的な変化と絶食の有効性について解析を行った。□マダイを用いて *Edwardsiella tarda* (*E. tarda*) の感染実験を行った結果、給餌群と絶食群ともに、感染によって数種のアミノ酸の血中量に変化がみられた。特に、絶食群と給餌群ともに、リシンの濃度が感染後に上昇したことから、細胞及びタンパク質の分解が起きていると考えられた。



また、SOD活性やカタラーゼ活性などの各種免疫関連因子や糖代謝等の代謝関連因子について解析を行った結果、感染後の個体においては、給餌群よりも絶食群において高い値を示した。さらに、TNF α 、IL8、およびMHCなどの免疫関連遺伝子についても発現量を解析した結果、それぞれ特異的な変動パターンを示し、絶食群の方が給餌群よりも比較的良好な値を示した。すなわち、絶食処理が魚病感染の際に正の効果を持つことが示された。この要因として、摂食・消化にかかるエネルギーの消費を抑え、免疫・代謝に多く分配するためと考えられた。

しかしながら、これらの生理変化がもたらす効果は、病原体の種類により異なると考えられ、*E.tarda* に対しては、絶食群と給餌群の間で感染の進行度に顕著な違いは見

られなかった。

(3) 赤潮曝露試験

ブリの幼魚に対して、天然で発生した赤潮有害プランクトン *Karenia mikimotoi* (*K.mikimotoi*) を 7,000 cells/ml の濃度で暴露した。その結果、約 20 分でいずれの個体も死亡した。この間、暴露 5 分では回復可能であるのに対し、暴露 10 分では回復しなかった。死亡直前の血中 pH や乳酸量は既に低下しており、酸欠による酸性血症が起っていたと考えられた。直接的には有害プランクトンによる鰓の損傷がみられることから、餌止め時の鰓の損傷は呼吸量の低下により軽減されると考えられる。ただし、摂食・消化による呼吸量の違いは、絶食効果を説明するのは不十分であり、絶食による栄養素の低下に起因した興奮抑制の効果など、複合的な要因も示唆された。

一方で、これら一連の研究を通じて、*K.mikimotoi* などの代表的な赤潮原因プランクトン及び *E.tarda* などの魚病病原体の定量的な測定系について確立できた。また、血液中の各種アミノ酸の変動が養殖魚の生理状態の指標として利用できる可能性が示唆された。

以上の結果より、赤潮や魚病の際に養殖現場で行われている餌止め（絶食効果）のメカニズムに関して、基盤的な部分を明らかにすることができた。しかしながら、魚病に対する効果に関しては病原体の種類により、違いがあると考えられた。したがって、今後、各種病原体に対する応答メカニズムとそれに関わる絶食効果の違いを詳細に明らかにすることにより、現場において適切に餌止めを行うための情報を提供できると考えられる。また、赤潮に対する効果としては、単なる摂食・消化による呼吸量の違いに加え、栄養素の低下に起因する効果など、複合的な要因も示唆された。今後、これらのメカニズムをさらに解析することにより、効果的な餌止めのみならず、赤潮被害防除のための特定機能を付加した餌料や飼育方法の開発、さらには育種などに利用していくことができると期待される。このように、赤潮および魚病に対する魚側の生理メカニズムの全体像が詳細に明らかにされていくことにより、養殖生産のさらなる安定化と効率化に寄与していくことができると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3件)

Mohapatra, S., Chakraborty, T., Miyagawa, S., Zhou, L., Ohta, K., Iguchi, T., Nagahama, Y., Steroid responsive regulation of IFN γ 2 alternative splicing and its possible role in germ cell proliferation in medaka, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 査読有、400巻、2015、61-70.

DOI: 10.1016/j.mce.2014.10.012

Ohta, K., Sakai, M., Sundaray, J.K., Kitano, T., Takeda, T., Yamaguchi, A., Matsuyama, M., Bidirectional sex change induced by sex steroid implantation in the hermaphrodite fish, *Pseudolabrus sieboldi*, *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 査読有、317巻、2012、552-560

DOI: 10.1002/jez.1747

Kitano, H., Irie, S., Ohta, K., Hirai, T., Yamaguchi, A., Matsuyama, M., Molecular cloning of two gonadotropin receptors and their distinct mRNA expression profiles in daily oogenesis of the wrasse *Pseudolabrus sieboldi*, *General and Comparative Endocrinology*, 査読有、172巻、2011、268-276

DOI: 10.1016/j.ygcen.2011.03.012

〔学会発表〕(計 8件)

Mohapatra S., Chakraborty T., Shimizu S., Urasaki S., Ohta K., Matsubara T., Nagahama Y. Starvation: An Eco-Prophylactic measure against bacterial infection in Red seabream, *Pagrus major* (養殖マダイの生体防御に関わる絶食効果). 平成 27 年度日本水産学会秋季大会. 平成 27 年 9 月 21 日. 福岡

田中俊也、浦崎慎太郎、山下亜純、松原孝博、太田耕平、清水園子. 養殖漁場における魚病ハザードマップの構築. 平成 27 年度日本水産学会秋季大会. 平成 27 年 9 月 21 日. 福岡

北川雄也、向井幸樹、田中俊也、清水園子、浦崎慎太郎、久米洋、永江彬、松山幸彦、松原孝博、太田耕平. 赤潮毒性評価および魚類斃死機構解明のための実験モデルの構築. 平成 27 年度日本水産学会秋季大会. 平成 27 年 9 月 21 日. 福岡

向井幸樹、鎌田翔太、清水園子、中田知公、浦崎慎太郎、宮村和良、小泉喜嗣、松原孝博、本城凡夫、太田耕平. 漁場底質における有害プランクトン遺伝子の定量と *Cochlodinium polykrikoides* 遺伝子の挙動. 平成 27 年度日本水産学会秋季大会. 平成 27 年 9 月 21 日. 福岡

鎌田幸介、Sipra Mohapatra、清水園子、浦崎慎太郎、松原孝博、太田耕平. 養殖魚の

赤潮・魚病に対する絶食効果. 平成 27 年度日本水産学会秋季大会. 平成 27 年 9 月 20 日. 福岡

柳ヨンウン、田中真誠、石田大二、後藤理恵、太田耕平、松原孝博. カツオー本釣り用カタクチイワシ (*Engraulis japonia*) 養殖基盤のための成長と変態特性の解明. 平成 25 年度日本水産学会春季大会. 平成 25 年 3 月 30 日. 東京

清水園子、浦崎慎太郎、松原孝博、太田耕平. 養殖海域における有害プランクトン 4 種の高感度モニタリング. 平成 25 年度日本水産学会春季大会. 平成 25 年 3 月 29 日. 東京

太田耕平、浦崎慎太郎、清水園子、井戸篤史、三浦智恵美、松原孝博、三浦猛. 愛媛県愛南町海域における有害プランクトン早期検知システム. 平成 23 年度日本水産学会秋期大会. 平成 23 年 10 月 1 日. 長崎

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

名称: 赤潮検出用プライマーセット、及び赤潮検出方法

発明者: 太田耕平、清水園子、松原孝博、浦崎慎太郎

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 2014-021749

出願年月日: 平成 26 年 2 月 6 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

会議・報告

太田耕平. 「高感度有害プランクトン監視と水域情報“可視化”の試み」第 39 回全国海水養殖シンポジウム第 1 分科会『赤潮と漁場環境』, 宇和島市. 2014 年 2 月 17 日.

太田耕平. 「遺伝子解析による赤潮プランクトン検出と環境研究」宇和島地区青年漁業者 OB 会. 宇和島市. 2013 年 7 月 27 日.

太田耕平. 「愛南町海域環境調査について」第 2 回愛南町水産フォーラム. 愛南町. 2012 年 2 月 7 日.

ホームページ

<http://umilike.jimdo.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

太田 耕平 (OHTA, Kohei)

愛媛大学・南予水産研究センター・准教授
研究者番号: 10585764

(2) 連携研究者

松原 孝博 (MATSUBARA, Takahiro)

愛媛大学・南予水産研究センター・教授
研究者番号: 60443389

(3)研究協力者

浦崎慎太郎 (URASAKI, Shintarou)
愛媛大学・南予水産研究センター・客員研究員・愛南町

清水 園子 (SHIMIZU, Sonoko)
愛媛大学・南予水産研究センター・准教授

MOHAPATRA, Sipra
愛媛大学・南予水産研究センター・博士研究員

CHAKRABORTY, Tapas
愛媛大学・南予水産研究センター・博士研究員

鎌田 幸介 (KAMADA, Kousuke)
愛媛大学・農学部・海洋生産科学特別コース・学生

向井 幸樹 (MUKAI, Kouki)
愛媛大学・農学部・海洋生産科学特別コース・学生

田中 俊也 (TANAKA, Shunya)
愛媛大学・農学部・海洋生産科学特別コース・学生

北川 雄也 (KITAGAWA, Yuuya)
愛媛大学・農学部・海洋生産科学特別コース・学生