

平成
30年度

私立大学研究 ブランディング事業報告書

千葉科学大学 危機管理学部／薬学部



「フィッシュ・ファクトリー」構想実現のために何が必要か

千葉科学大学
学長 木曾 功



2016年4月に千葉科学大学学長に就任して以来、大学と地域の発展をどのようにして図るかを考えてきました。その中で、私たちは今年、1つの大きな夢への一歩を踏み出しました。それは、千葉科学大学が重点研究対象に掲げてきた「『好適環境水』による次世代型水産技術イノベーション（技術革新）」が、文部科学省の「私立大学研究ブランディング事業」に選定されたことです。

この事業は「全学的な独自色を大きく打ち出す研究に取り組む私立大学に対し、施設費、装置費、経常費などを一体的に支援する」という内容で、私たちの研究は「地域の経済・社会、雇用、文化の発展や特定の分野の発展・深化に寄与する研究」に与えられる「社会発展型」の研究対象に選定されました。大都市部の大学に伍して事業選定されるためには極めて厳しい競争を勝ち抜かねばなりません。本学教員の努力はもちろんですが、地域の皆様からいただいた支援のおかげであると、感謝の気持ちを持って2016年を締めくくることができました。

こうして飛躍の機会をいただいたのですから、今年は「好適環境水」の研究を飛躍的に発展させねばなりません。この研究については地域の皆様方からは既に、相当のご理解をいただいておりますが、ここで再度、私たちが目指す研究の方向についてご説明いたします。

「好適環境水」とは効率的な魚類飼育を目的として成分や濃度を調整した人工飼育水のことです。淡水・海水魚とも飼育可能で、飼育魚の病気抑制や成長促進効果があります。こうした特性を生かし、私たちは「好適環境水」による「フィッシュ・ファクトリー（魚工場）」の実現を目指しています。

近年、世界全体の漁獲高は急増しています。世界的な健康志向の拡大で「肉食より魚食」と考える人が増えているからです。一方、魚の資源量は頭打ちの状況で、需要の急増に追いついていません。人類は養殖技術を発展させることで、拡大する魚需要を満たしてきました。しかし、現在の海で行われる養殖は、残餌（ざんじ、魚に与えて残った餌）や魚の糞の排出などにより環境に大きな影響を与えるという問題点を抱えていました。

しかし「好適環境水」を使い、陸上に「フィッシュ・ファクトリー」を設置することで、こうした環境への影響を最小限に抑えることができます。魚の病気発生率も抑えることができます。魚需要の急増に備えて効率よく魚を飼育することが可能であり、環境にも優しいというのは、千葉科学大学が建学以来掲げてきた「リスク・危機管理」の確立という目標にもぴたりと一致していると考えています。

もちろん、夢実現のためには乗り越えねばならない課題があります。たとえば、地球環境の中では、水は循環することによってきれいになりますが、陸上の養殖では水の交換が必要になります。どうす

れば、効率的に水を交換できるかが大きなポイントになるのです。また地域産業との連携も私たちの大きな任務と心得ています。好適環境水の研究・開発と同時に、地域企業との魚の加工技術の共同研究などを進めていくべきと考えています。

ここ銚子は極めて優良な漁業資源を誇り、それによって大きく発展してきました。しかし近隣諸国の経済発展と漁獲量の拡大に伴い、10年、20年先には、この豊かな漁業資源をいかに維持していくかが課題になると考えます。そのとき、大きく役に立つのが「フィッシュ・ファクトリー」構想です。

私たちの夢である「フィッシュ・ファクトリー」は、世界の魚資源維持と言う大きな目標を掲げています。一方で、夢実現のためには地域の方々との緊密な交流や協力が不可欠です。大きな目標を実現するために、ぜひ「千葉科学大学研究ブランディング構想 『好適環境水』による次世代型水産技術イノベーション」に強い関心と支援をお寄せください。それを今年度の私の最大の努めにしたいと思います。

目次

水槽内構造物の違いによるモクズガニの生残率の比較……………1	小濱 剛, 山本汐音
モクズガニの成長・生存に及ぼす塩分の影響……………2	小濱剛, 新聞貴英
モクズガニの溶存態無機窒素に対する急性毒性……………3	山口太一, 井坂優一
モクズガニの成長促進を目指した餌の選抜……………4	山田詩織, 三森盛亮, 山口太一
日本の各河川に生息するモクズガニのウエステルマン肺吸虫寄生率……………5	小濱剛, 中村大和
魚介類の水銀含有量に関する研究……………6	足立達美, 土橋夏美
モクズガニ中の各部位におけるアスタキサンチンの含有量……………7	山口太一, 鈴木卓磨
モクズガニの体色について……………8	山口太一, 溝井健太, 山下裕司
モクズガニ養殖用種内捕食抑制水槽に対する水質改善装置の開発究……………9	戸田和之, 米崎実
好適環境水飼育下における養殖魚のストレス評価……………10	小濱剛, 篠崎将輝
好適環境水飼育魚類の生体防御機能の変化について……………11	岡本能弘, 増澤俊幸, 鷹野翔太
ADAM-Notch シグナルを介したニホンウナギ繁殖能亢進の可能性……………12	立原 拓真, 川田 浩一
好適環境水利用時の細菌叢の変化および硝化細菌の探索……………13	中山美月, 福井貴史, 小林照幸
「熟成塩ダレ」細菌叢の経時変化……………14	福井貴史, 中山美月, 小林照幸
食中毒菌の増殖に対するサメ肌抗菌シートの効果の検証……………15	照井祐介, 坂本明彦

水槽内構造物の違いによるモクズガニの生残率の比較

千葉科学大学 危機管理学部
小濱剛, 山本汐音

1. はじめに

モクズガニ *Eriocheir japonica* はイワガニ科に分類されるカニの一種で、降河回遊性の通し回遊をおこなう生活史を持ち、河川を降りて海域(汽水域)で交尾、産卵を行う。孵化したゾエア幼生は海域で成長し、メガロパ幼生になると淡水域に入り、稚ガニに変態した後は活発に河川を遡上する¹。甲幅は7-8 cm、体重は180gほどに成長し、天然もので生食によるウエステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* といった寄生虫による呼吸困難等の被害報告がある²。また、近縁種であるチュウゴクモクズガニ *Eriocheir sinensis* は上海ガニとも呼ばれ、高級食材として知られる。中国では、近年の水圏環境の悪化に伴い、天然のチュウゴクモクズガニがダイオキシンやカドミウム等で汚染され、人体に影響がでるほど深刻な状況が報告されている³。もし、モクズガニの閉鎖式陸上養殖方法が確立できれば、生物濃縮や寄生虫等のリスクがない安全なモクズガニの生産と安定した供給が可能になり、新たな食糧資源として期待ができる。現在日本では、モクズガニの種苗放流を目的とした稚ガニの生産、研究がおこなわれているが^{4,5}、成体までの養殖はおこなわれていない。その要因として、モクズガニは気性が荒く、閉鎖空間での飼育に伴う個体同士の共食いが課題となっており、安定した飼育の確立ができていないのが現状である⁶。

そこで本研究では、稚ガニから成体までの飼育方法確立を目指し、養殖において課題となっている個体の共食いを抑制させるため、水槽内構造物の違いによるモクズガニの生残率を比較することを目的とした。また、モクズガニの閉鎖循環式養殖における最適な飼育環境を明らかにする構造物の開発にも着目し研究をおこなった。

2. 方法

モクズガニの飼育に適した構造物を明らかにするため、容量64Lの水槽(W:60×D:30×H:36 cm)を5水槽用い、各水槽に構造物A～E(A:キンラン、B:塩ビ管、C:ハニコム、D:砂、E:コントロール)を設け、稚ガニを30個体収容した計5つの試験区で飼育試験をおこなった。飼育実験期間は2か月間で、期間中の水温と給餌量は一定に保った。

飼育実験期間中は週に1回の頻度で生存個体数をカウントし、死亡個体があった場合は、水質の悪化を防ぐため随時回収した。各水槽における生残率(%)は、(飼育後の生存個体) / (飼育初期の生存個体) × 100で算出した。また、各構造物がモクズガニの成長に与える影響を評価するため、脱皮や個体破損の有無についても確認をおこなった。

3. 結果・考察

各水槽内構造物に対するモクズガニの生残率について図

1に示す。構造物A～Eにおける生残率はそれぞれA 87%、B 73%、C 67%、D 93%、E 83%であり、最も生残率の高い構造物はDの砂であった。この理由として、自然界におけるモクズガニの生育環境は主に転石、流木などが混在する砂泥底であり、個体の大きさに左右されず身を潜めることができるためと推察された。また、同様に自然要素を持ち合わせている繊維質状の構造物Aの生残率も比較的高い結果であった。一方、構造物Eでは身を隠すものがないため、個体同士の衝突が頻繁に発生し、個体破損が多くみられた。構造物B、Cでは、山形水産試験場(2006・未発表)において、同じ構造物による生残率が4ヶ月で60～90%と報告されており、今回の実験においても同様の結果であった。構造物B、Cの生残率がEより低い理由として、構造物B、Cでは、個体の大きさによって構造物に身を隠せない状況が確認されたため、隠れ家の確保を目的とした縄張り争いが発生したと考えられた。このことから、サイズの合わない構造物は共食いや個体の衝突を助長する可能性があり、構造物B、Cでは個体の成長に合わせて構造物の穴の大きさを変える必要があると考えられた。以上の実験結果から最も高い生残率だった構造物はDの砂(93%)であり、モクズガニの飼育下における最適構造物は砂であることが示唆された。

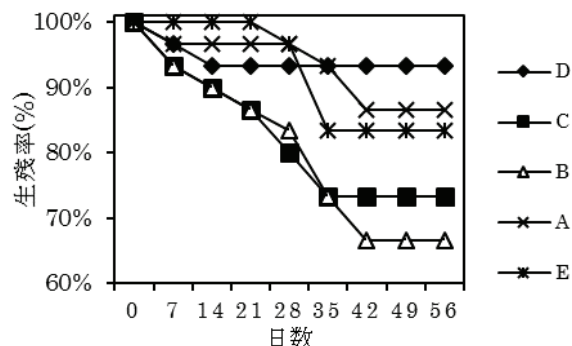


図1 各構造物に対するモクズガニの生残率

参考文献

- 小林 哲 通し回遊性甲殻類モクズガニ *Eriocheir japonica*(DE HAAN)の生態-回遊過程と河川環境と観察, 生物科学, 51, 93-104(1999)
- ウエステルマン肺吸虫症 23 例の臨床的検討 日本呼吸会誌 39 (12), 2001.3.
- 夕刊フジ (2016.12.8)
<https://www.zakzak.co.jp/society/domestic/news/20161208/dms1612081700010-n1.htm>
- 伊藤 靖一 モクズガニの養殖と河川生態系の保全 (特定非営利活動法人北上川流域生態系保全協会)
- 小林 哲 他 モクズガニ *Eriocheir japonica* (de Haan)の生態系と漁業実態に関するアンケート調査 (1997.8.25)
- モクズガニの養殖装置及びその使用方法 (山形県水産試験場,未発表)

モクズガニの成長・生存に及ぼす塩分の影響

千葉科学大学 危機管理学部
小濱剛, 新聞貴英

1. はじめに

モクズガニ *Eriocheir japonicus* は樺太以南、韓国西部、台湾にまで分布するワガニ科のカニであり、日本のほぼ全域の河川あるいは沿岸に生息し、古くから食用とされてきました。日本のモクズガニと近縁種であるチュウゴクモクズガニ(上海蟹)は中国では高級食材として扱われています。しかし現在、その生息域は河川生態系の変化により減少し、千葉、茨城、埼玉、群馬、滋賀の5県では、2017年の時点で準絶滅危惧種に指定されている(レッドデータブック)。このような背景から、河川漁業組合等より、放流用種苗の増産や養殖方法の確立を望む声が高まっているが、水産振興協会等による年毎の種苗生産量は不安定であり、また、成体生産を目的とした養殖技術は確立されていない。

そこで本研究では、モクズガニの成体生産を目的とした養殖技術開発を行うため、幼ガニ生育期における塩分適正について明らかにすることを目的とした。先行研究として岡本ら(静岡県栽培漁業センター)の結果に基づき、成長率・生存率に優位性が見られた淡水(塩分0%)から人工海水(塩分1.6%)間の塩分を細分化し、幼ガニの成長・生存に最も適切な塩分について詳細に検討した。

2. 方法

実験は2017年11月28日~12月25日にかけて、淡水区、人工海水(塩分0.4%、0.8%、1.2%、1.6%)、好適環境水(塩分0.8%)の合計6試験区のタフネ水槽を設置し、水槽内にヒーターを入れ、水温を20℃に設定した。各水槽内に10個の飼育用三角フラスコ(1000ml)を設置し、各フラスコにモクズガニを1個体ずつ投入し、水槽内の飼育水をフラスコ内に循環させるシステムを構築した。実験には、山形県水産振興協会が生産したモクズガニ種苗を用いた。実験期間中の給餌は配合飼料を使用し、2日に1度の頻度で与えた。

3. 結果・考察

各試験区における生存率の推移を図1に示す。人工海水(塩分1.2%、1.6%)、好適環境水(塩分0.8%)における28日間の生存率は100%であった。一方、淡水、人工海水(塩分0.4%、0.8%)では、生存率が徐々に低下する傾向を示し、実験終了時の生存率は約50%であった。このことから稚ガニに適した塩分は1.2%以上であり、自然環境下では同等の塩分水域に分布する為、浸透圧が適正であると推察される。また、0.8%人工海水と好適環境水(塩分0.8%)で生存率に差が生じたことから、好適環境水に含まれるNaCl以外の成分濃度によって生存率が高まること推察された。次に各試験区における成長率(重量・甲幅)の推移を図2に示す。成長率は重量・甲幅ともに淡水区が最も低く、塩分1.2%までは塩分の上昇に伴って成長率が増加し、塩分1.6%では低下する傾向を示した。生存率では差が生じていた人工海水(塩分0.8%)と好適環境水(塩分0.8%)で差が確

認されなかったため、成長率においてはNaClに対する濃度依存が大きい可能性がある事が示唆された。一方、一定(塩分1.6%)以上の高濃度の人工海水では成長を阻害する可能性が示唆された。また、今回の実験では、塩分の上昇に伴って脱皮率が高まる傾向も確認された(図3)。同一の塩分0.8%である好適環境水と人工海水を比較すると、成長率の差異は確認されなかったが、人工海水では1割の個体が脱皮をしたのに対し、好適環境水では9割の個体が脱皮した。以上の結果から、稚ガニの飼育における成長率・生存率は1.2%人工海水が最も高く、好適環境水による飼育も可能であり、その脱皮回数が相対的に多いことから、好適環境水では効率的な成長を促す可能性が示唆された。

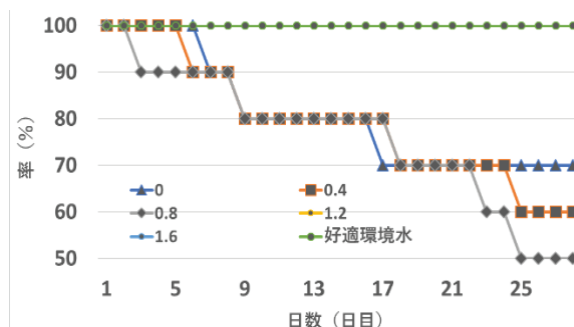


図1 モクズガニ幼ガニ生存率の時系列変化

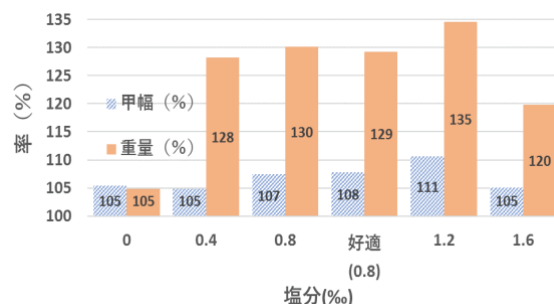


図2 各試験区(塩分)における成長率

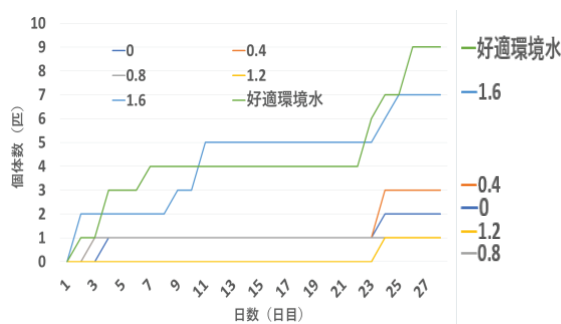


図3 モクズガニ幼ガニ脱皮の時系列変化

モクズガニの溶存態無機窒素に対する急性毒性

千葉科学大学 危機管理学部
山口太一, 井坂優一

1. はじめに

モクズガニ *Eriocheir japonica* は古くは食用として日本の各地域で獲られ、食べられていた。中国においてはモクズガニの近縁種であるチュウゴクモクズガニ *Eriocheir sinensis* (上海蟹) が祝い事の席で食べられる高級食材として有名である。しかし、近年の中国ではこの上海ガニの養殖現場の汚染が発覚・進行しており、食の安全性という点で大きく問題になっている。このことから、日本を訪れた中国人観光客がモクズガニを大量に買い占めるということも少なくないが、天然のモクズガニにもエウステルマン肺吸虫をはじめとする寄生虫のリスクもあり、養殖個体と同様に安全性が確保されていない。近年の日本においてはモクズガニの漁獲量が減少し、食べる機会が減少してしまっている。この原因として挙げられるのは、河川環境の変化や悪化、乱獲による影響である。こういった背景から日本の一部地域ではモクズガニの漁獲制限の実施や種苗生産・種苗放流をおこなっているが、こういった活動をおこなっている地域は少ない¹⁾。

閉鎖循環型陸上養殖によるモクズガニの養殖方法を確立することができれば、水質汚染の影響を受けずに飼育をおこなうことができ、寄生虫等のリスクが無いモクズガニの安定供給が可能となる。モクズガニに関する既往の研究では、種苗生産や種苗放流を目的とした研究がほとんどであり、成体までの養殖を目的とした研究は少なく、稚ガニ以降の養殖方法については確立できていない。そこで本研究では、稚ガニから成体までの飼育方法を確立するため、最も大きな環境要因と考えられる水質に着目し、水生生物を飼育するうえで出てきてしまう毒性物質の亜硝酸とアンモニアについて「海産魚類及び海産エビ類の急性毒性試験法(案)」²⁾を参考に、モクズガニの半数致死濃度(LC₅₀)を求めることを目的として研究をおこなった。

2. 方法

毒性試験はモクズガニを対象に、亜硝酸およびアンモニアを被験物質としておこなった。実験に使用した装置を図1に示す。試験期間は11日間とし、始めの7日間をじゅん化期間、後の4日間を被験期間とした。じゅん化前にすべて供試個体の甲幅(mm)、湿重量(g)を測定し、試験期間中の給餌はおこなわなかった。亜硝酸毒性試験は、初項0.5、公比1.5(0, 2.53, 3.80, 5.69, 8.54, 12.81 ppm)の6濃度区を設け、各濃度区を1M水酸化ナトリウム水溶液を用いてpHを5~7に調整した。アンモニア毒性試験は、初項0.5、公比1.8(0, 5.25, 9.45, 17.01, 30.62, 55.18 ppm)の6濃度区を設け、各濃度区を塩酸を用いてpHを7~8に調整した。モクズガニは1試験区に20個体(甲幅5~13mm)を使用し、試験期間中は、被験物質の添加をおこなってから3, 6, 24, 48, 72, 96時間経過時にモクズガニの状態確認と被験物質濃度(ppm)の測定をおこない、被験期間中の被験物質濃度が一定となるよう、濃度低下が確認された

試験区には再び被験物質を添加した。96時間経過時のモクズガニの死亡個体数から、モクズガニの半数致死濃度(LC₅₀)を求めた。

3. 結果・考察

亜硝酸およびアンモニアに対しておこなった実験データをプロビット法により処理したものを図1,2に示す。この結果から、亜硝酸のLC₅₀は9.957 ppm、アンモニアのLC₅₀は14.40 ppmと算出された。一般にアンモニアは魚類に対して非常に強い毒性を示すとされるが、甲殻類に対しては毒性が低いとされている³⁾。また、本実験によってモクズガニに対してはアンモニアよりも亜硝酸の毒性が強いことが分かった。以上を踏まえ、モクズガニを始めとした甲殻類の飼育をおこなう際には、溶存態無機窒素特に亜硝酸の濃度に注意を払うことが重要である。

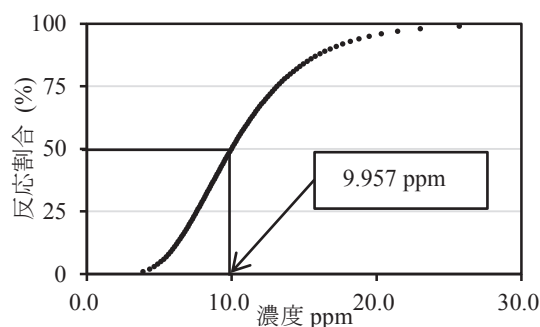


図1 亜硝酸の濃度と死亡割合の関係

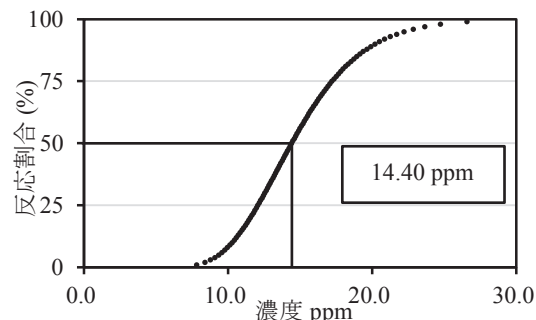


図2 アンモニアの濃度と死亡割合の関係

参考文献

1. 小林哲, 景平真明, 米司隆, 松浦修平 他, 九大農芸芸誌, 第52巻, 第1・2号(1997), pp.89-104
2. 国立環境研究所化学物質環境リスク研究センター, 海産魚類及び海産エビ類の急性毒性試験法(案)(2005)
3. 菊地幹夫, 若林明子, 東京都環境科学研究所年報(1997), pp.143-148
4. Kiki, T., *Trans. of the CRJSJ*, Vol. 129, No. 2, (2001), pp. 156-162

モクズガニの成長促進を目指した餌の選抜

千葉科学大学 薬・危機管理学部
山田詩織, 三森盛亮, 山口太一

1. はじめに

世界的な人口増加によって食糧危機が問題となっているが、完全な問題解決には至っていない。ヒトの主たる食料となる穀物の生産量は足りているが、世界経済の影響を受け、発展途上国を中心にアフリカやアジアなどに分配されていないのが現状である¹⁾。また、これらとは別に今後、地球の温暖化を背景とした生産量の減少も懸念されるため、安定的な食糧生産および供給は、今後の人類にとっての課題である。なかでも、養殖という食糧供給系の構築は問題解決手段の1つと言える。

一方で、先進国における健康志向や途上国における食生活水準の向上により世界の水産物供給量(=消費量)は増加を続けている。世界の1人あたりの年間水産物消費量はこの50年間で約2倍に増加した²⁾。国際連合食糧農業機関(FAO)は、世界の水産物の総需要量は今後とも増加し、世界の漁獲量が頭打ちになる中、今後の食用魚介類の供給量の増加は養殖業の生産増によってもたらされると予想している³⁾。

FAOは2012年に日本の1人当たりの魚の消費量は世界第6位であると報告した。このように魚の消費大国と言える日本では、養殖漁業において特に多くの研究が既におこなわれており事業化している。養殖事業の主な魚種として、ホタテ、コンブ、ノリ、ハマチ、マダイ、シマアジ、カキ、クルマエビ、ブリ、ヒラメなどが展開されており、近年では産学連携事業としてマグロも商品化している。中でも嗜好性の高い食材の供給は市場価値も高く、今後の発展が期待できる。

本ブランディング事業において、我々は嗜好性の高いモクズガニ(*Eriocheir japonica*)に着目している。モクズガニは中国の上海ガニと同属異種のカニであり、日本では北海道から福岡まで全国各地で名前を変え親しまれているが、捕獲量が少なく、家庭の食卓に上ることはほとんどない食材である。

成体(親)は河川、湖沼で3~4年ほど生活し、秋から冬に産卵のために海に下る。汽水域で繁殖をし、ふ化した稚ガニは夏には河川を上る。基本的には水中にある植物をエサとしているが、動物質のものも食べる。一方で河川に生息しているため肺吸虫が寄生している可能性があり、安定的かつ安全に食用化するためには養殖することが望ましい。

そこで本研究では、このモクズガニの安定的供給と商品としての品質向上、また商品化サイクルを早める目的で餌の探索を行っている。

2. 方法

約60L(W:600×D:300×H:360mm)の水槽4槽に、各水槽30尾の稚ガニを3か月間飼育した。餌は魚粉を水と増粘剤でまとめたものをコントロールとして、さらに試験区Mol Aには分子(Mol) A、試験区Mol BにはMol B、試験区Mol A+BにはMol AとBを配合し、1週間に2回与えた。稚ガニの測定方法は、各水槽10尾をランダムに

取り、それらの平均を餌による成長度として重量と甲幅を1か月に1回測定した。それらの結果を図1に示した。

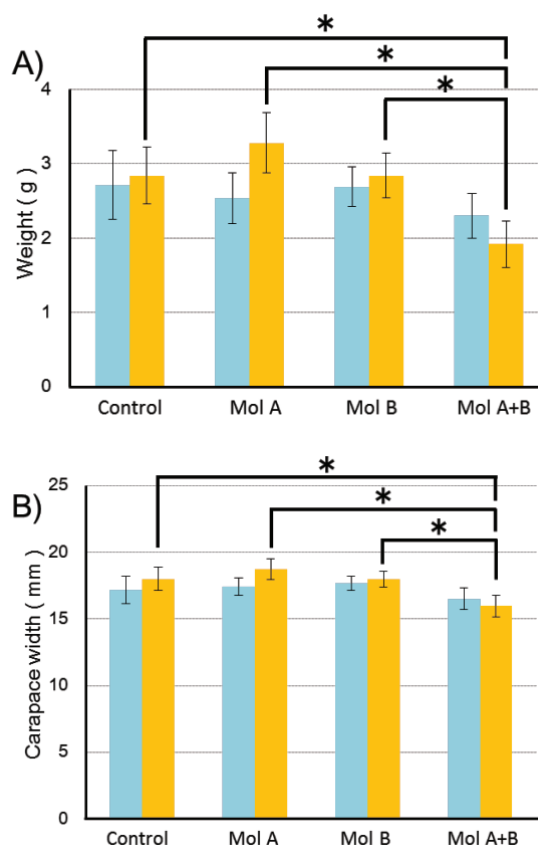


図1. 60日後(青)と90日後(黄)の重量A)と甲幅B)の測定結果(n=10, Bars: SE, *: p<0.05 by non-paired t-test).

3. 結果・考察

Mol A+Bの試験区が他の群との比較で有意に小さい結果となった。これは、調べた個体数が少ないことに加え、成長した比較的大きな個体がへい死したことにより、その影響が群間の差に出たことが考えられる。

今後は、本学の強みである好適環境水を試用しながら、引き続き餌を改良し、商品として付加価値が高く、出荷サイクルを大きく、また早くできるように検討を行いたい。

参考文献・資料

1. (公社)国際農林業協働協会(JAICAF), 世界の食料不安の現状 2015年報告 2015年の国際的な飢餓削減ターゲットの達成: 不均一な進捗状況を検証する, (2015)
2. FAO「Food balance sheets」(日本以外の国)及び農林水産省「食料需給表」(日本)に基づき作成
3. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010

日本の各河川に生息するモクズガニのウエステルマン肺吸虫寄生率

千葉科学大学 危機管理学部
小濱剛, 中村大和

1. はじめに

1958~1959 にかけて、文部省の総合研究班によって全国的な寄生虫調査が行われて以降、全国的なモクズガニ肺吸虫の寄生状況調査は行われていない。小原ら (2018) によれば、2017-2018 年にかけて千葉県内で実施したモクズガニ肺吸虫調査結果から、これまで報告されていない一部河川において、メタセルカリア (幼虫, 以下 Mc) が検出されている。そこで本研究では、かつて日本各地で見られた、ヒトを主な終宿主とする 3 倍体型のウエステルマン肺吸虫の現状について、全国的規模で明らかにするため、3 倍体型の主たる第 2 中間宿主であるモクズガニを対象に、その寄生状況について調査を行った。

2. 方法

検査に用いたモクズガニは、表 1 に示す沖縄等離島を含む日本各地の 14 河川において漁協から購入または捕獲した計 206 個体である。モクズガニは、まず甲殻幅、重さ、雌雄を記録した後、鰓を取り出し 6cm×10cm のガラス板 2 枚に挟んで押しつぶすようにして実体顕微鏡下にて Mc 寄生の有無と寄生数を調べた。一方その他の部分はハサミを使って細切し、人工胃液消化法で 37°C、3~4 時間、筋肉組織などを消化した後メッシュを用いて濾過し、その沈査を水道水で数回洗浄した後上清を除去した。その後、最終的に透明化したその沈査から実体顕微鏡を用いて Mc を分離した。得られた Mc は光学顕微鏡下でそれぞれの大きさを計測すると共に、形態的特徴の観察を行った。

3. 結果・考察

本研究におけるウエステルマン肺吸虫 Mc のモクズガニ体内における寄生状況は以下の表 1 に示したとおりである。調査を行った 14 河川中 2 河川のカニに寄生が認められ、陽性カニ数並びに陽性率は、それぞれ下津深江川で 27 個体中 3 個体 (11.1%)、川内川で 14 個体中 1 個体 (7.1%) であった。得られた Mc の大きさは、両河川ともに殆ど同程度だった。



図 1 モクズガニに寄生するウエステルマン肺吸虫の Mc (下津深江川)

今回の調査によって、下津深江川と川内川からウエステルマン肺吸虫が検出された。下津深江川は 1960 年の調査でも検出されており (片峰ら 1960)、一部河川では現在も肺吸虫が繁殖できる環境が維持されていると考えられるが、1958~59 年における調査に比べて Mc 陽性率が低いことから、この 70 年間で減少したことが示唆された。また、大正 7 年の内務省衛生局の調査では濃厚分布域とされた対馬では、今回分析を行ったモクズガニから Mc は発見されなかった。このように Mc の陽性率が低くなった要因として、①Mc の代表的な中間宿主となりうる野生動物 (イノシシ・ヤマネコ等) の個体数が、島内において減少した可能性、②肺吸虫に関する情報がモクズガニを食する島民に普及し、モクズガニの調理時に十分な加熱や冷凍処理を施すようになり、ヒトを媒介とした肺吸虫の生活環が断たれた可能性、③河川の護岸工事などにより、モクズガニが野生動物に補食されにくい環境が整った可能性等が考えられる。なお、本調査は現在継続であり、現時点における調査個体数が過去の調査に比べて少ないため、今後は調査河川及び個体数を拡大し、詳細に調べる必要があると考えられた。

参考文献

1. 柴原壽行, 寄生虫雑誌, 第 31 巻, 第 6 号, 545~559 頁, 1982
2. 柴原壽行, 宮城県獣医師会会報, 第 55 巻, 1 号, 2002 松岡 貞夫, カニの肺吸虫寄生について, 23~29 頁
3. 坂西ら, Med. Entomol. Zool. Vol. 69 No. 1 p. 1-5 2018
4. 片峰ら, 長崎大学風土病紀要 2 (3), p.212-221, 1960
5. 里見ら, 長崎大学風土病紀要 6 (2), p.109-112, 1964

表 1 モクズガニ肺吸虫の寄生率調査実施河川および肺吸虫メタセルカリア (Mc) の寄生状況

県名	河川名	採取時期	甲殻 最大-最小 (mm)	分析個体数 (♀♂+♀♂)	陽性個体数 (♀♂+♀♂)	検出Mc数	陽性カニ1個体当たりの寄生数 (平均)	最小-最大
茨城県	那珂川	2018年5月	83.4-59.0	28(20+8)	—	—	—	—
北海道	石狩川	2018年5月	57.0-64.2	23(4+19)	—	—	—	—
	名倉川	2018年8月	59.8-28.7	6(3+3)	—	—	—	—
	トアアラ川	2018年9月	7.4-8.6	4(4+0)	—	—	—	—
沖縄県	宮良川	2018年8月	78.3-92.2	—	—	—	—	—
	美田良川	2018年8月	—	—	—	—	—	—
	ゲーカ川	2018年8月	—	—	—	—	—	—
	西表島	2018年1月	78.3-92.2	8(8+0)	—	—	—	—
熊本県	下津深江川	2018年10月	58.8-74.1	27(10+17)	3(1+2)	4	1.3	1-2
	川内川	2018年10月	60.0-78.4	14(6+8)	1(1+0)	1	1	1-1
高知県	四方十川	2018年10月	51.7-71.8	6(2+4)	—	—	—	—
鳥取県	高津川	2018年10月	54.0-70.8	21(9+12)	—	—	—	—
兵庫県	河島	2018年10月	45.3-75.0	29(8+21)	—	—	—	—
兵庫県	円山川	2018年10月	47.2-77.6	20(8+12)	—	—	—	—
山形県	赤川	2018年11月	61.8-67.9	10(+)	—	—	—	—
福岡県	糸島川	2018年11月	54.1-88.8	10(+)	—	—	—	—

魚介類の水銀含有量に関する研究

千葉科学大学 薬学部
足立達美, 土橋夏美

1. はじめに

魚介類は、タンパク質や高度不飽和脂肪酸などを豊富に含んでおり栄養的価値が高いが、その反面、水銀などの有害化学物質を含有していることが知られている。¹ 水銀摂取量の調査結果では日本人の水銀摂取量の80%以上が魚介類由来である^{1,2}ことが明らかになっており、食の安全を考える上では魚介類における水銀含有量の把握と低減の試みは重要な課題であると考えられる。

本研究では、安全な魚介類の提供に寄与することを目的として、ブランディング事業の対象である魚介類（モクズガニ、ウナギ）における水銀含有量を把握し、その結果を踏まえて好適環境水での飼育など飼育環境を制御することによる水銀含有量低減の可能性を模索する。

平成30年度は、国内で採取されたモクズガニの食用部位（中腸腺）における水銀含有量の分析を行い、水銀濃度の分布範囲を明らかにするとともに、採取場所（生息場所）に起因する差や雌雄差の有無を調べた。

2. 実験方法

昨年度採取した国内の河川産のモクズガニの中腸腺（肝臓）を測定試料とした。測定試料の湿式灰化は、昨年度実施した水銀分析マニュアル³に記載されている測定試料溶液の調製方法を一部変更した方法に従って、硝酸-過塩素酸-硫酸を用いて行った。測定試料溶液中の水銀量の測定は、昨年度の水銀測定方法の検討結果を踏まえて、還元法の水銀分析装置（平沼水銀測定装置 HG-400）を用いて行った。

3. 結果・考察

モクズガニ中腸腺における総水銀濃度を測定し、採取場所（雌雄各3匹以上のモクズガニを入手できた河川）、性別にまとめた結果を表1に示す。7つの河川で採取された合計70匹のモクズガニの中腸腺における総水銀濃度の最大値は99.33 ng/g、最小値は検出限界以下であった（表1）。魚介類の水銀暫定的規制値は、総水銀で0.4 μg/g (ppm)、メチル水銀（水銀として）で0.3 μg/gであるが、河川産魚介類（湖沼産の魚介類を含まない）については適用されない。従って、今回用いたモクズガニはこの規制値の適用外と考えられるが、中腸腺の水銀濃度が最も高い個体でも99.33 ng/g (0.09933 μg/g)であり、0.4 μg/gを超える個体は見られなかった（表1）。

性・採取場所（河川）別にモクズガニ中腸腺における総水銀濃度をプロットすると、70匹中63匹が50 ng/g未満の値であり、新川、栗山川、長尾川、平久里川では雌雄どちらにも50 ng/gを超える個体は見られなかった（表1、図1）。一方、加茂川では雌のみに50 ng/gを超える個体が見られたのに対して、いすみ川、上総湊川では、雌雄どちらにも50 ng/gを超える個体が見られ、雄の方が水銀濃度の高い個体が多かった（表1、図1）。さらに、モクズガニ中腸腺における総水銀濃度について、雌雄別の採取場所に

依存する差や、採取場所毎の雌雄差の有無を調べたが、有意な差は見られなかった。

表1 性・採取場所別のモクズガニ中腸腺における総水銀濃度の最小値、最大値、平均値

河川名	性別	検体数	総水銀 (ng/g)		
			最小値	最大値	平均値
新川	雄	4	5.94	30.02	14.46
	雌	3	5.80	12.68	8.38
栗山川	雄	5	10.24	39.97	20.64
	雌	5	4.64	30.64	11.75
いすみ川	雄	7	5.17	99.33	39.54
	雌	7	11.93	52.45	28.20
加茂川	雄	5	18.46	21.52	20.67
	雌	4	16.98	57.54	34.93
長尾川	雄	5	15.18	41.79	23.96
	雌	5	10.60	19.92	15.02
平久里川	雄	5	-	26.86	15.48
	雌	5	2.57	33.24	20.23
上総湊川	雄	5	24.29	88.20	48.17
	雌	5	22.71	50.73	30.03

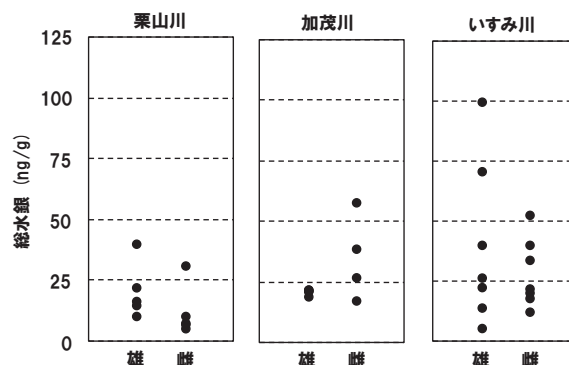


図1 性・採取場所別のモクズガニ中腸腺における総水銀濃度の分布（代表例）

4. まとめ

モクズガニの中腸腺における総水銀濃度は個体差が大きく、採取場所・雌雄間における有意な差は見られなかった。今年度得られた結果は、モクズガニ中腸腺の水銀濃度を陸上養殖によって低減することができるかどうかを今後検討していく際に有用な知見として利用できると考えられる。

参考文献

- 厚生労働省, 魚介類に含まれる水銀について,
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/>
- 厚生労働省, 魚介類による水銀の摂取量について,
<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/06/s0603-4s.html>
- 環境省, 水銀分析マニュアル,
<http://www.env.go.jp/chemi/report/h15-04/>

モクズガニ中の各部位におけるアスタキサンチンの含有量

千葉科学大学 危機管理学部
山口太一, 鈴木卓磨

1. はじめに

モクズガニ *Eriocheir japonica* は、イワガニ科モクズガニ属に分類される甲殻類の一種であり、北海道から八重山諸島まで、日本全国の河川に分布している¹。モクズガニの近種であるチュウゴクモクズガニ *Eriocheir sinensis* は、中国では非常に高価な食材として浸透しており、加熱後の甲羅の赤色が強いほど高価で取引される。

モクズガニの甲羅は緑黒色を呈しているが、熱を加えることで *astaxanthin* (astx) 由来の赤色に変化する。Astx は非常に高い抗酸化力を持ち、一重項酸素クエンチ作用² や脂質過酸化抑制作用³ などを有することから、健康食品として注目されている。一方、モクズガニのような食用甲殻類から astx を取り入れる場合、甲羅や殻などを廃棄するため、モクズガニがもつ astx をどの程度摂取できるかが不明となる。そこで本研究では、可食部における astx の含有量を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

モクズガニ 8 個体 (雄 4 尾, 雌 4 尾) を各部位 (甲羅, 鰓, 内臓, 筋肉: 本体, 筋肉: 第 1-第 5 胸脚, 殻: 本体, 殻: 第 1-第 5 胸脚) に分け、72 時間凍結乾燥機によって十分乾燥させた後、乾燥重量 (g) を測定しホモジナイズした。さらに、100 mL/g のエタノールを添加し、50°C で 3 時間抽出した後、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮し、アセトンで溶解した後、これを同様に濃縮し、抽出液を得た。その後、アセトンにて 100 mL にメスアップした。この溶液とあらかじめ用意した内標準溶液を 0.1 mL ずつ HPLC バイアルへ添加し、HPLC によって分析をおこなった。また総 astx の定量は、標品のアスタキサンチンと内標準溶液より検量線を作成し、内標準法に従って、クロマトグラムの検出面積より算出した。

3. 結果・考察

算出した総 astx の含有量を図 1 に示す。部位ごとに定量した結果、雌の内臓で平均 10.79 mg となり雌雄の各部位の中で最も多く含まれ、雌雄間での比較において $p < 0.05$ で優位に高いことが分かった。一方、胸脚の筋肉では雌雄ともにほとんど含まれておらず、雄ではもっとも低い値であった。

一般的に遡河回遊性のサケやニジマスでは、雌個体がアスタキサンチンを卵へ供給し、卵の保護やふ化後の仔魚を紫外線や酸化物質などの環境ストレスから守る⁴ ことに役立っていることが知られている。また、卵のふ化率と仔魚の生残率は、卵中のカロテノイド濃度の増加とともに優位に高まり相関関係があることが報告されている^{5,6}。本実験においてもアスタキサンチンが雌の内臓に多く含まれた要因として、卵への供給をおこない、ふ化率や生残率の向上に役立っていると考えられる。なお、本実験の結果で雌の内臓にほとんど含まれていなかった個体が 1 個

体存在したことでばらつきが大きくなったが、それを省く雌雄間での比較により $p < 0.01$ で優位となり、この個体が産卵を終えた個体であったことが示唆された。

以上の結果から、astx はモクズガニの可食部にも含まれ、特に雌に多く含まれることがわかった。また、モクズガニを養殖するに際し、産卵をとまなわない雄個体もしくは雌雄を隔離した状態で、モクズガニにアスタキサンチンを経口投与し、甲羅や内臓への蓄積を高めることができれば、その産業的価値を向上できる可能性が示唆された。

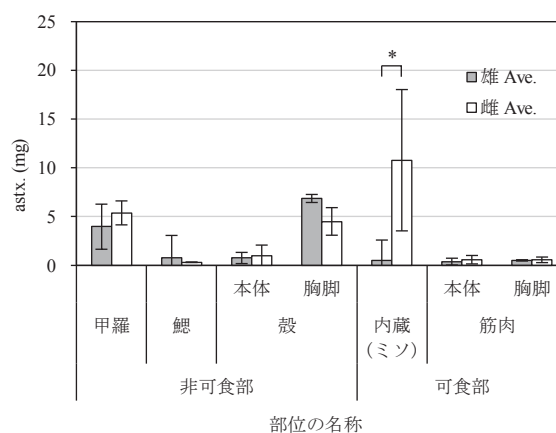


図 1 モクズガニ中の各部位におけるアスタキサンチン含有量 (mg, n=4, Bars:SD, *:p<0.05 by non-paired t-test)

参考文献

- 小林哲 : 通し回遊性甲殻類モクズガニ *Eriocheir japonica* (De Haan) の生態-回遊過程と河川環境と観察. 生物科学, 51, 93-104, 1999.
- Nishida Y, Yamashita E, Miki W : Quenching Activities of Common Hydrophilic and Lipophilic Antioxidants against Singlet Oxygen Using Chemiluminescence Detection System. Carotenoid Science, 11, 16-20, 2007.
- 倉繁迪, 岡添陽子, 沖増英治, 安東由喜雄, 森将晏, 幹渉, 井上正康, 内海耕隼: フリーラジカルによる生体膜障害とアスタキサンチンによるその防止. Cytoprotection & biology, 7, 383-391, 1989.
- Kessler, E., Czygan, F.: *Chlorella zofingiensis* Donz, Isolierung neuer stamme und ihre physiologisch- biochemischen eigenschaften, Ber. Deuts. Botani. Gesell., 1965, 78, 343-347.
- Andrewes, A.G., Phaffia, H.J., Starr, M.P. : Carotenoids of *Phaffia rhodozyma*, a red pigmented fermenting yeast, Phytochem., 1976, 15, 1003-1007.
- Burgess, M.L., Barrow, K.D., Gao, C., Heard, G.M., Glenn, D. : Carotenoid glycoside esters from the thermophilic bacterium *Meiothermus ruber*, J. Nat. Prod., 1999, 62, 859-863.

モクズガニの体色について

千葉科学大学 †危機管理学部, §薬学部

‡高崎健康福祉大学 薬学部

山口太一†, 溝井健太‡, 山下裕司§

1. はじめに

体色は水産分野において、市場価値に影響する重要な要素の1つである。以前より、養殖マダイの体色改善のために飼料添加物の astaxanthin (以下 astx) が用いられてきた。1. 近年、チュウゴクモクズガニを始め2, 楊貴妃メダカ3 やエンゼルフィッシュ4 などで、astx を給餌した際の体色評価について報告されるなど、水産生物の体色に対する関心が高まっている。

一方 astx は赤橙色を示す色素 (Figure 1) であり、carotenoid の一種である。自然界では甲殻類やサケ、タイなどの水産生物や、植物、微生物など幅広い生物に含まれている。5. Astx は活性酸素消去作用を始め、様々な効果を有することが報告されており6, 健康食品が販売されるなど脚光を浴びている。

本研究では日本固有の水産種であるモクズガニ (*Eriocheir japonica*) を対象に、その体色と astx 含有量の関係を解明することとした。本発表では生息地域の異なる天然個体について分光測色計を用いた体色評価と個体差の影響を検討した。

2. 方法

茨城県那珂川, 千葉県湊川, 北海道石狩川より採捕されたモクズガニ (n=15, 雄) を用いた。Long らの報告2を参考に、加熱処理前後の甲羅の色味を分光測色計 (CM-700d, KONICAMINOLTA, Tokyo, Japan) を用いて測定した。測定部位は背面甲羅の5カ所とし、甲羅表面の水分を拭拭後、測色した。体色は、明度 (L 値, L*(D65)), 赤み (a 値, a*(D65)), 黄色み (b 値, b*(D65)) で表した。

3. 結果・考察

原那珂川, 湊川, 石狩川産におけるモクズガニの体色を Figure 2 に示した。モクズガニの加熱処理前 (Figure 2A) では、平均の L 値は 33~37, a 値は 2~4, b 値は 9~11 であった。一方、加熱処理後のモクズガニの体色は、L 値が 44~48, a 値が 19~26, b 値が 23~29 となった (Figure 2B)。これより、明度だけでなく、彩度も上昇していることが分かる。特に a 値の増加率は大きかった。モクズガニの生息地で比較すると、加熱処理の有無に関わらず明度・彩度もともに湊川のモクズガニが最も高い値を示しており、また、石狩川で採捕されたモクズガニは彩度が低い傾向にあった。加熱処理前後の色差 (ΔE) は石狩川 (22.6 ± 5.4) < 那珂川 (28.7 ± 4.3) < 湊川 (30.6 ± 4.0) の順に大きかった。

各河川で採捕されたモクズガニに対して、分光測色から得られた L 値, a 値, b 値はバラつきが小さく、再現性の良いデータが得られた。また、加熱処理による a 値と b 値の上昇は色相が橙色へシフトすることを意味しており、実際のヒトの色覚と一致した。さらに、加熱処理前のモクズガニも a 値, b 値ともに正の値を示しており、モクズガニ甲羅は青味があるわけではなく、彩度の低い黄色であるこ

とが分かった。

今回の検体では生息地による明確な違いは見られなかったが、加熱処理後の明度・彩度の増加 (ΔE) は加熱処理前の測色から予測できる可能性が示唆された。すなわち、生きたモクズガニから茹でた後の色味を予測できることを意味しており、これは品質の高いモクズガニを選定する上で重要な情報と思われる。今後の astx 量との関係が明らかになれば、さらにモクズガニの付加価値向上に貢献できる手法として分光測色計の利用が期待される。

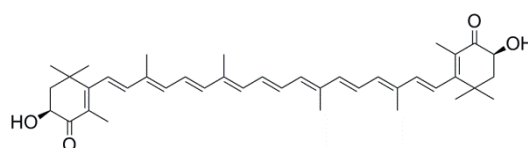


Figure 1. Structure of the all *trans* astaxanthin

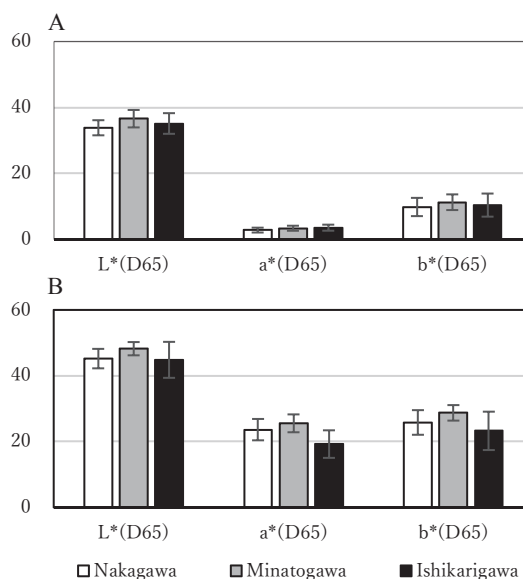


Figure 2. Shell color of *Eriocheir japonica*. A is before boiling of male (n=15) and B is after boiling of male (n=15). Values are means \pm S.D.

参考文献

1. Shitanda, K., *et al.*, *Aquacult. Sci.*, 35(1), (1987), 11–18.
2. Long, X., *et al.*, *Aquaculture*, 473, (2017), 545–553.
3. Shiode, Y.; Nakata, K., *Aquacult. Sci.*, 65(3), (2017), 203–208.
4. Kouba, A., *et al.*, *J. Appl. Ichthyol.*, 29, (2013), 193–199.
5. Nishida, Y., *J. Oleo Sci.*, 12(10), (2012), 525–531.
6. Itakura, H.; Takahashi, J.; Kitamura, A., *Jpn. J. Compl. Alternative Med.*, 5(3), (2008), 173–182.

モクズガニ養殖用種内捕食抑制水槽に対する水質改善装置の開発研究

千葉科学大学 危機管理学部
戸田和之, 米崎実

1. はじめに

現在、食用のモクズガニは天然資源に依存しているが、河川環境の悪化により捕獲量が激減している。河川に生息している天然のモクズガニにはウェステルマン肺吸虫という寄生虫が潜伏している可能性が高く、口からの摂取により人体に入り込んでしまうと、胸膜炎、嘔吐、頭痛等の症状をとめない、最悪の場合、命にかかわることもある。モクズガニにウェステルマン肺吸虫が寄生するのは河川での生態系に原因があり、安全な水や餌で育てる事ができれば、安全にモクズガニを食べることができると考えられる。モクズガニの養殖を行なうためには、稚ガニの仕入先、餌の選定、水質の保全、逃避の防止、種内捕食（以下共食い）の防止などが課題となっている¹。そこで、本研究では水質の保全、逃避の防止、共食いの防止が可能なモクズガニ養殖に適した水槽の開発を試みた。

2. 方法

水質の悪化原因は、モクズガニの食べ残した残餌と糞尿である。これらはどちらも水に沈むため、水槽の底面に回収装置を挿入すれば、残餌と糞を効率的に回収できるようになるのではないかと考えた。まずは、考えた案をCADによる3Dモデルで表現した(図1-a)。なお、回収装置の上には、パンチングメッシュが置いてあり、蟹をパンチングメッシュの上で飼育し、糞や残餌は、パンチングメッシュの穴から落ちて回収される。モクズガニの逃避については、全周をガラスで作製するなどの対策をとった。蟹の甲幅が5mm~30mmまでは、多くの稚ガニを育てる事のできる水槽(図1-b)を使用し、共食いの防止には、山形県鮭川村の井口雅陽が開発した管状構造物集積体を流用しようと考えた。30mm~80mmまでは、管状構造物集積体の代わりに、新たな引き出し型構造物を設置しようと考えている。どちらの水槽にも回収装置を使用するため、本研究では、回収装置を作製し、効果の検証を行った。

3. 結果・考察

本研究で作製した回収装置の水質改善効果を検証するため実験を行った。1.2mmのペレット状の餌を残餌や糞に見立て、40gを水槽底面に撒いた。流量約20/minで水換えを行ないながら、水槽真上に設置したカメラで、30分後まで5分毎に底面の撮影を行なった。なお、実験は回収装置ありと回収装置なしの2ケースを行なった。解析方法は、Bitmapファイルの各ピクセルの輝度の高さで評価した。輝度が高いとピクセルは白(255)に近づき、輝度が低いとピクセルは黒(0)に近づく。グレースケールの画像で餌を見ると、色が濃いため、ピクセル輝度は低くなる。なお、実験時に水槽の底面には白い塩ビ板が置かれているため、餌が回収された部分のピクセル輝度は高くなる。画像の処理は、Bitmapのバイナリデータを、16進数ASCIIデータに変換し²⁻³、その後さらに10進数ASCIIデータに変

換した。これらの画像データは0~255の数値の羅列であり、横軸が輝度、縦軸がピクセルの出現頻度のヒストグラムに表し評価した。餌なし、0分、30分の比較を図2に示す。30分後の値は0分の値に比べて餌なしの値に近づいている。図3は横軸が時間、縦軸が画像の輝度の平均のグラフであり、回収装置ありと回収装置なしの比較が行われている。このグラフを見ると、0分から10分の間は輝度が下がっている。この原因は餌の膨張や重なりが原因と考えている。重なっている部分の餌はカウントされないため、餌が崩れた場合、画像内の餌の占める面積が増えてしまう。よって、本実験の測定方法では必ずしも正しい餌の量を測れるわけではないかもしれない。グラフ全体の値を見ると、回収装置なしは輝度が下がっており、水質が悪化している事を表しているのに対して、回収装置ありは輝度が上がっており、水質改善に効果があることが分かる。

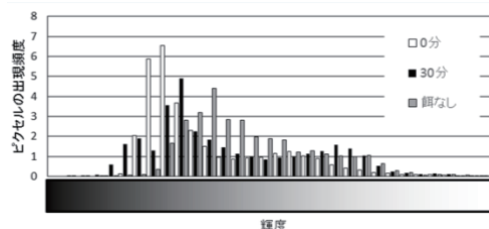
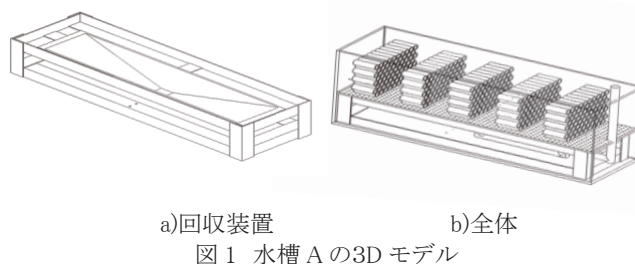


図2 回収装置あり0分と30分と餌なしの比較

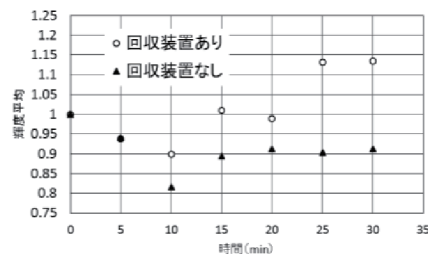


図3 回収装置ありと回収装置なしの比較

参考文献

1. 山形県鮭川村, モクズガニ養殖実用化事業報告書 (2002~2004)
2. 中田幹久, 離岸流の陸上からの発生予測に関する研究 (2008), pp. 10-13
3. 野口健, 離岸流の陸上からの発生予測に関する研究 (2009), pp. 23-40

好適環境水飼育下における養殖魚のストレス評価

千葉科学大学 危機管理学部
小濱剛, 篠崎将輝

1. はじめに

養殖魚は自然環境とは異なる環境で飼育されていることから、ストレスを受けていることが報告されている¹⁾。このことから、飼育環境に伴う飼育魚類の免疫低下や成長阻害等が危惧される。特に好適環境水を用いた飼育においては、天然環境に比べ水質も大きく異なるため、飼育魚のストレス評価は重要である。

魚類体内では、ストレスを受けると1次反応でコルチゾールが血中に分泌され、それを受けてグルコース濃度が上昇する。そのため、コルチゾールとグルコースの分泌量には一定の相関性が認められており、グルコース濃度は魚類のストレス指標となることが報告されている¹⁾。

そこで本研究では、ニホンウナギ *Anguilla japonica* およびコイ *Cyprinus carpio* を対象に淡水と好適環境水による飼育比較実験をおこない、各刺激に対する飼育魚の血中グルコース濃度の変化について検討をおこなった。

2. 方法

原 1200 mm 水槽 (W:1200×D:450×H:450 mm) を 2 水槽用い、淡水・好適環境水をそれぞれの水槽に注水した。その後、各水槽内に仕切り版を設け、刺激を与えないコントロール区 (A 区) と刺激を与える試験区 (B 区) に分割し、各区に対象魚を 5 個体ずつ導入した。ニホンウナギは 8 月 14 日～9 月 18 日、コイは 2018 年 11 月 15 日～12 月 20 日にかけて飼育実験をおこなった。

A 区では、実験開始から 1 週間後に個体に麻酔 (FA100: DS ファーマアニマルヘルス) をかけ、鰓が止まるのを確認した後、1 mL 注射器を用いて血管から約 0.3 mL 採血をおこなった。また、B 区では、実験開始から 1 週間後、麻酔をかける直前に各刺激を与え、その 30 分後に A 区と同様の手順で採血をおこなった。ここで、B 区に与えた刺激条件①～③を以下に示す。

- ① 個体の背が露出するまで水位を下げる。
- ② 淡水飼育個体を好適環境水水槽に、好適環境水飼育個体を淡水水槽に約 10 分間浸す。
- ③ 市販の生理食塩水を 100 μ L 腹腔内に投与。

その後、採取血液は 1.5 mL 小型遠心分離チューブに入れ、3,000 \times g、15 分、4 $^{\circ}$ C で遠心分離し、その血漿をグルコース C-II キット (和光純薬工業) を用いて測定をおこなった。

3. 結果・考察

原各刺激に対するニホンウナギのグルコース濃度を図 1 に示す。好適環境水飼育において相対的にグルコース濃度は低く、刺激①では淡水 A と好適 A で有意的に低くなる傾向を示した (t-test, $P < 0.05$)。一方、コイでも好適環境水飼育において相対的にグルコース濃度が低くなる傾向が確認されたが、統計的有意差は得られなかった。

次に、刺激①～③における淡水 A と好適 A のグルコー

ス濃度の平均を図 2 に示す。好適 A においてグルコース濃度が有意に低くなる傾向を示した (t-test, $P < 0.01$)。コイでも好適環境水飼育において相対的にグルコース濃度が低くなる傾向が確認されたが、統計的有意差は得られなかった。以上の結果から、好適環境水飼育によるストレスの軽減は魚種によって異なり、ニホンウナギについては定常的にストレスが軽減される可能性がある。さらに、ニホンウナギについては、ストレスが軽減されたことに伴う成長促進や魚病抑制効果が期待されることから、好適環境水を用いた新たな養鰻技術の確立が望まれる。

ニホンウナギの刺激によるグルコース濃度を比較すると、刺激②が高く、次に刺激③、刺激①という結果であった。刺激①においてグルコース濃度が相対的に低い理由として、ニホンウナギは自然環境下で浅瀬などにも分布するため、水位低下によるストレスが比較的小さいと推察される。なお、各刺激に対するストレス感受性について淡水と好適環境水を比較すると、明確な差は確認されなかったため、好適環境水飼育に伴うストレス感受性の変化はないと推察された。

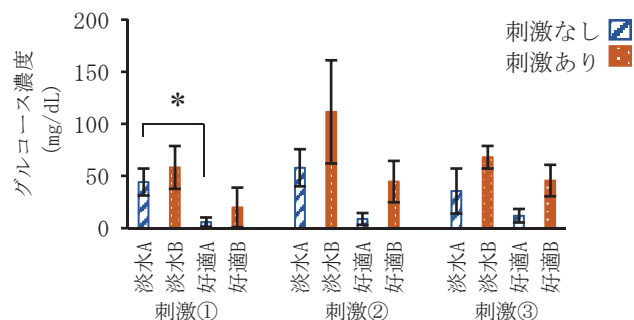


図 1 各刺激に対するニホンウナギのグルコース濃度 n=5, *: $P < 0.05$

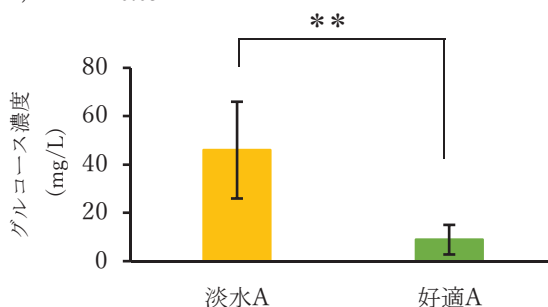


図 2 ニホンウナギの刺激①～③における淡水 A と好適 A のグルコース濃度の平均 n=15, **: $P < 0.01$

参考文献

1. 橋口健太郎・川合研兒・今城雅之・大嶋俊一郎, 水産増殖, 2014 年, 62 巻, 4 号, p.385-392

好適環境水飼育魚類の生体防御機能の変化について

千葉科学大学 薬学部, 危機管理学部
岡本能弘, 増澤俊幸, 鷹野翔太

1. はじめに

魚類を好適環境水で飼育した場合、魚病細菌感染症に罹りにくいことが知られている¹⁾。この現象の原因として、①好適環境水が一般の淡水や海水よりも病原体の生存に不利であること、あるいは、②好適環境水飼育により飼育魚の生体防御能が亢進することなどが考えられる。本研究の目的は、上記②の可能性について検討するため好適環境水で飼育した魚類の魚病細菌感染症に対する獲得免疫(特異的抗体産生)に及ぼす影響を明らかにすることである。今回、我々はモデル魚類としてコイを、モデル抗原として卵白アルブミン(ovalbumin, OVA)を用い、好適環境水飼育により、特異的抗体の産生量がどのように変化するか検討した。

2. 方法

2.1 抗原の感作と採血

ニシキゴイ (*Cyprinus carpio*) は、250 L 水槽中、好適環境水 (Na^+ 2777 ppm, K^+ 95.1 ppm, Ca^{2+} 300 ppm, 塩分 8 psu) あるいは、淡水を用いて2か月間馴化を行った後、抗原を投与した。抗原投与群には、OVA 0.8 $\mu\text{g}/\text{匹}$ (Sigma-Aldrich 社, USA), 対照コントロール群には、リン酸緩衝液(PBS)を麻酔下(オイゲノール, FA100, ニチドウ)腹腔内に投与した。(OVA 感作群 $n=10$, 対照コントロール群 $n=10$)。抗原投与後3日目に麻酔下で採血を行った。また、採血時に再び抗原及びPBSの投与を行い、7日後再び採血を行った(2次感作)。血清分離後、酵素免疫測定法により血中OVA特異的抗体価を測定した。

2.2 酵素免疫測定法による抗体価測定

炭酸緩衝液(0.02 mol/l, pH 9.8)にOVA(200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、あるいはKLH(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)を溶解し、50 $\mu\text{l}/\text{well}$ ずつマイクロタイタープレート(Nunc Immunoplate Maxisorp, Thermo Fisher Scientific, Inc., Denmark)に添加後、4°C、一晩放置し、抗原を固相化した。その後、1% BSA/1%スクロース/PBSを100 $\mu\text{l}/\text{well}$ ずつウェルに添加し、室温下、60分間ブロッキングを行った。その後、0.05% Tween20を含んだPBS(PBS-T)でプレートを3度洗浄した。洗浄後PBS-Tにて希釈したコイ血清試料50 $\mu\text{l}/\text{well}$ をウェルに加えて2時間室温で反応させた。インキュベーション後にmouse anti-Carp/Koi Carp(*Cyprinus carpio*) IgM (1/66, Aquatic Diagnostic Ltd, Scotland)を添加し、2時間室温で放置した。再度プレート洗浄後 horseradish peroxidase(HRP) labeled goat anti-mouse IgG (1/3000, Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc., USA)を添加し、1時間室温で放置した。プレートを再びPBS-Tで洗浄した後に、発色基質として3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)溶液を50 $\mu\text{l}/\text{well}$ 加えた。室温放置20分後に50 $\mu\text{l}/\text{well}$ の5 mol/l sulfuric acidを加えて酵素-基質反応停止させ、Microplate Reader Model 680 (BioRad Laboratories, USA)を用いて、吸光度(490 nm)を測定し、抗体価とした。

3. 結果・考察

OVA 感作3日後、及び2次感作7日後のコイ血清中OVA特異的抗体価を測定した結果をFig.1に示す。二次感作時に初回感作時以上の高い抗体価上昇が確認された。また、好適環境水飼育個体は淡水飼育個体と比べ、抗体産生量が低かった。好適環境水飼育により飼育魚の生体防御能が亢進し、抗体産生能も亢進すると仮説を立てて実験を行ったが、予想に反して今回の実験条件では逆の結果となった。淡水魚であるコイにとっては好適環境水飼育が負荷となっている可能性がある。今後、海水魚を含めた検討が必要がある。今回の検討では抗原投与と採血のタイミングを3日、7日後に実施したが抗体価が十分に上昇したタイミングで採血を行えていない可能性が考えられる。魚類の場合、抗体価が上昇するタイミングが哺乳動物とは異なる可能性が考えられる。

今後は、海水魚を含む他魚種での検討、抗原投与後の血中抗体価の経時的な変動について詳細な検討を実施する予定である。また、本プロジェクトの重要対象魚種である二ホンウナギについて、ニシキゴイと同条件で検討を試みたが抗原感作後の血中特異的抗体価を検出できていない。原因は抗体検出ELISA系で抗ウナギIg二次抗体が機能しなかったためである。現在は、抗ウナギIg抗体の作製を含め新規抗体検出系開発を検討している。

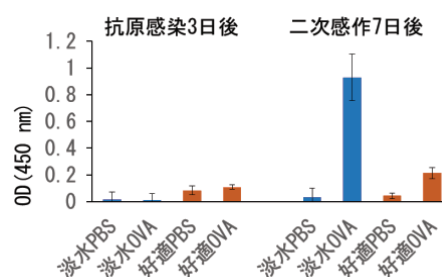


Fig. 1 Effect of suitable environment water on OVA-specific antibody production

淡水あるいは好適環境水飼育のニシキコイにモデル抗原としてOVAを投与し、初回感作3日後、および二次感作7日後に血清採取し、PBSでX40~640に希釈しELISAに供した。PBS; コントロール(PBS投与)群, OVA; OVA投与群

参考文献

1. 学校法人加計学園, 株式会社K2ライフラボ, 人工飼育水及び人工飼育水生生成物質, PCT/JP2009/002689, 2009年12月23日

ADAM-Notch シグナルを介したニホンウナギ繁殖能亢進の可能性

千葉科学大学 薬学部
立原 拓真, 川田 浩一

1. はじめに

本研究では、ニホンウナギの養殖の効率化を図るとともに生産性の向上を最終目的とする。まず、本研究では、生殖腺に高発現する A disintegrin and metalloproteinase (ADAM) ファミリーに着目した。哺乳動物において、ADAM ファミリーには複数のサブタイプが存在し、その中でも ADAM10 および ADAM17 は個体の精子形成や受精の促進に強く関わっている¹。ADAM10 および ADAM17 は、 α セクレターゼとして Notch を切断し、生成される Notch 細胞内ドメイン (NICD) が核内に移行することで精子形成や受精の促進などの生理現象を引き起こす²。この ADAM ファミリーは水系生物にも発現が確認されている³。つまり、ニホンウナギにおいても ADAM ファミリーは精子形成や受精を促すことが推察できる。また、哺乳動物において、アリウム属 (ネギ属) に含まれる三硫化アリル (DATS) が ADAM10 および ADAM17 の発現を有意に減少させる一方で、短鎖脂肪酸および多価不飽和脂肪酸 (DHA) は、ADAM10 の活性を有意に上昇させることが報告されている^{3,4}。

したがって、本研究では、ニホンウナギにおいて、三硫化アリルや短鎖脂肪酸などの天然物が ADAM10 および ADAM17 に及ぼす影響を解析するとともに NICD を介した精子形成や受精に与える影響を調査し、ニホンウナギの飼育環境について考察する。

2. 方法

ニホンウナギ (40-60 g) について、DHA (20 mg/kg/day) あるいは DATS (2.5 mg/kg/day) を餌に混ぜ、4 週間飼育した。その後、雄性ウナギから性腺を摘出し、ADAM10/17 および Notch ファミリー (NICD1/2/3) の発現を解析した。

3. 結果

ニホンウナギ 8 例 (対照群 2 例, DHA 群 4 例, DATS 群 2 例) の性腺について、ADAM10 および ADAM17 の発現

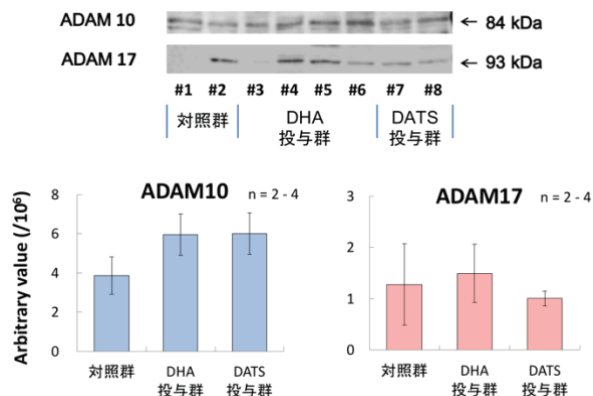


Fig.1 ニホンウナギの性腺における DHA および DATS 投

与による ADAM の発現変化

を解析したところ、対照群と比較して DHA 群および DATS 群ともに ADAM10 の発現量は増加した (Fig. 1 左)。一方、ADAM17 の発現量はいずれも変化が認められなかった (Fig. 1 右)。

続いて、ニホンウナギの性腺における Notch ファミリーの発現を解析したところ、Notch1 および Notch2 で発現が認められなかった (Fig. 2 上図)。一方、Notch3 は、対照群と比較して DHA 群で増加することが判明した (Fig. 2 左)。

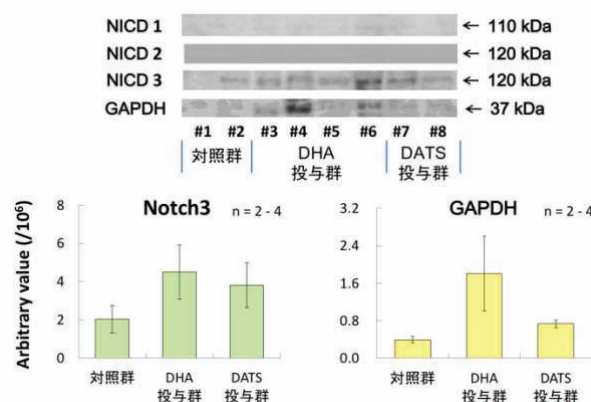


Fig.2 ニホンウナギの性腺における DHA および DATS 投与による Notch3 の発現変化

4. 考察

ニホンウナギにおいて、DHA は ADAM10 の発現増加を介して Notch シグナリングを活性化させる可能性が見出された。Notch シグナリングは精子形成能を亢進させるので DHA を餌に混入させて養殖することで繁殖能が増進し、効率の良い繁殖が期待される。一方、DATS は、期待していた作用とは異なり、ADAM10 の発現量を増加させた。このことから、ニホンウナギは DATS によっても繁殖能亢進の期待があることが判明した。

参考文献

- Li Q, Xie J, He L, et al., Gene, Vol. 562, No. 1, 117-127 (2015)
- Edwards DR1, Handsley MM, Pennington CJ., Mol Aspects Med., Vol. 29, No. 5, 258-289 (2008)
- Kiesel VA, Stan SD., Biochem Biophys Res Commun., Vol. 484, No. 4, 833-838 (2017)
- Grimm MO, Hauptenthal VJ, Rothhaar TL, et al., Int J Mol Sci., Vol. 14, No. 3, 5879-5898 (2013)

好適環境水利用時の細菌叢の変化および硝化細菌の探索

千葉科学大学 薬学部

中山美月, 福井貴史, 小林照幸

1. はじめに

好適環境水を利用した活魚輸送および閉鎖循環式陸上養殖において問題となるのは飼育する魚から排泄されるアンモニアである。アンモニアは魚にとって有毒であるが環境中であれば通常2群の硝化細菌(アンモニアから亜硝酸および亜硝酸から硝酸への酸化)により最終的に硝酸塩にまで酸化される。更に条件によっては硝酸塩から窒素ガスへの脱窒が行われる。このように好適環境水を用いた閉鎖循環式陸上養殖において細菌は非常に深く関わっているにもかかわらず、好適環境水に関わる細菌の報告はほとんど見られない。本研究では各地から海水、淡水を採取し、これらに含まれる細菌を好適環境水で培養した。培養前後の細菌叢を比較することにより、種々の細菌に及ぼす好適環境水の影響を明らかにすることを目的とした。また、昨年度報告した硝化作用を有すると考えられた AS15-1 株については硝化作用の再現率が低く引き続き高効率に硝化を行う細菌や培養が容易な硝化細菌の発見と単離を目指している。

2. 方法

2.1 細菌叢解析 千葉県銚子市内の4ヶ所から海水および淡水を採取した。採取した試料100mlを濾過・濃縮し、全量を通常の1/100倍になるように調整したNB培地(Difco)と0.1mM NH₄Clを含む100mlの好適環境水に添加して25°Cで浸透培養した。1週間ごとに1/1000倍になるように調整したNB培地と0.01mM NH₄Clを添加し、3週間培養を行った。培養後、細菌のゲノムDNAを抽出し、16S rRNAをコードする領域をPCRにより増幅した。この試料をMiSeq(Illumina)でシーケンスして細菌叢の解析を行った。

2.2 硝化細菌の単離 細菌叢解析を行う為に使用した試料を更に3~6ヶ月培養し、この培養液から硝化細菌の単離を試みた。培養は好適環境水にリン酸カリウム、硫酸マグネシウム、微量元素を加え25°Cで行った。液体培地で数回継代培養した後に、培地を含んだニトロセルロース膜上でコロニーを形成する細菌を選択して硝化作用の有無を確認した。

3. 結果・考察

細菌叢解析の結果得られたリード数、属および種の総数を表1に示した。各試料の種の総数、属の総数を比較すると好適環境水での培養後には種・属ともに減少していることが分かった。この結果から、好適環境水は海水、淡水などに比べ、細菌に対する選択性を有している可能性が高く、これは浸透圧の違いにより海水、淡水どちらの細菌も増殖し難くなるという考えに一致するものであった。

表1. 細菌叢解析によって得られた属・種数の変化

	培養前				培養後			
	SW1	SW2	R1	R2	SW1	SW2	R1	R2
総リード数	33646	35528	29755	31778	37358	37714	39177	33177
属の総数	324	277	286	229	182	137	199	178
種の総数	1646	1347	1213	2032	1203	445	909	523

SW1, SW2: 海水を培養, R1, R2: 淡水を培養

好適環境水の影響を検討するためには培養前後の細菌叢の比較が必要である。そこで、培養前の試料全てと培養後の試料全てをそれぞれまとめ、培養前と培養後の2種類の細菌叢として捉え比較した(図1)。その結果、好適環

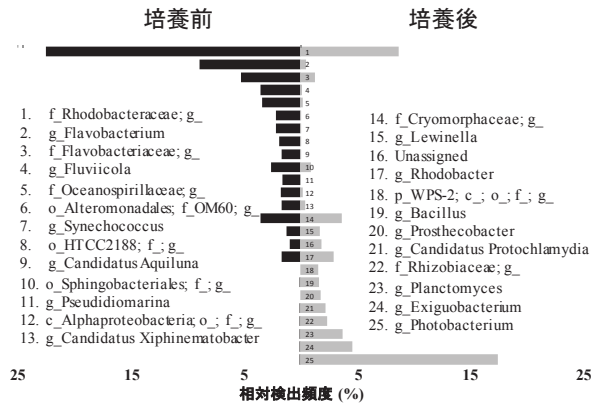


図1. 培養前後の相対検出頻度の変化が大きい細菌

境水を用いて培養することにより特定の細菌が選択的に減少もしくは増殖することが明らかとなった。培養前後で減少する細菌と増加する細菌の性質を調べていないため、その原因は不明であり今後の課題である。また、本解析によりアンモニアを酸化する細菌を含む *Nitrosomonadaceae* 科の細菌、亜硝酸酸化細菌である *Nitrospira* 属の細菌が見つかった。

硝化細菌の単離については、コロニーの形成した細菌を数株単離及び培養したが、現在のところ明らかな硝化作用を示す細菌は見つかっていない。

4. まとめ

種々の細菌を好適環境水で培養した場合、*Rhodobacteraceae* 科、*Flavobacteriaceae* 科の細菌群が培養後に減少しており、*Exiguobacterium* 属、*Photobacterium* 属の細菌が増加していた。培養後には属および種の総数も減少していた。これらの結果から好適環境水は明らかに細菌の増殖に影響を与え、特定の細菌に対して選択的に作用しているということが示された。現在、硝化細菌の単離には至っていないが、細菌叢解析に用いた好適環境水の培地から単離を進めている。

「熟成塩ダレ」細菌叢の経時変化

千葉科学大学 薬学部
福井貴史, 中山美月, 小林照幸

1. はじめに

日本で水揚量が最も多い魚種はサバ類であり、年間約50万トンが水揚げされ、日本の総漁獲の約10%を占める。また銚子漁港におけるサバ類の水揚げ量は約16.5万トン(平成28年)と、総水揚げ量の約60%を占める。実に日本の総漁獲量の30%以上のサバ類が銚子に水揚げされており、銚子漁港で取り扱う主要な魚種となっている。漁獲されるサバ類はその多くが加工用原料として一律に凍結され、食用から飼料まで様々な用途に向けられているため、生食に供される量は極めて少ない。理由としてアニサキス等による食中毒の予防が第一に挙げられるが、一方で関さばや松輪サバのように、徹底した鮮度保持により生食を可とすることでブランド化し商品価値を高める機会を逸失しているともいえる。そのような中で、銚子うめえもん研究会、及びカントリーハウス海辺里(つべり)店主である渡辺義美氏は銚子で水揚げされたサバの生食を可能とするため、魚介類の鮮度保持・加工・保存のための技術開発に取り組み「熟成塩ダレ」の製法を確立し、製法特許を取得するに至った(特許番号4309375号)。この「熟成塩ダレ」はカキ殻アルカリ、香味野菜、及び海藻を、素焼の甕で熟成した天然発酵液であり、鮮度保持、旨味向上、矯臭作用に優れた効果があることが経験上わかっているが、発酵食品である「熟成塩ダレ」に含まれる有用微生物の同定などの微生物学的分析はいまだなされていない。我々はこれまでに「熟成塩ダレ」より微生物を培養・分離し、単離された微生物を分子遺伝学的手法により同定したが、培養条件などから培養可能な菌種が限られ、「熟成塩ダレ」の微生物叢を反映したものとは言い難かった。そこで次世代シーケンシングにより「熟成塩ダレ」の発酵・熟成による細菌叢の変化を網羅的に解析した。

2. 方法

熟成開始時、及び熟成開始後2週間、4週間、8週間、12週間の期間の異なる「熟成塩ダレ」よりDNAを抽出・生成し、2-Step tailed PCR法により16S rRNA遺伝子を増幅した。得られた増幅産物によるライブラリーについて、次世代シーケンシングによる解析を行い、熟成前後の細菌叢の比較をした。

3. 結果・考察

「熟成塩ダレ」各熟成期間の細菌叢解析における総リード数と検出された科の総数を表1に示した。熟成前の段階で検出された細菌は26科であったが、検出される細菌の科の総数は、熟成の進行に伴って減少していることが分かった。他に、科まで帰属できないのがStreptophyta目に2種類、Rickettsiales目に1種類確認された。検出リード数がいずれかの熟成段階で25以上のもの(相対検出頻度約0.1%)について、熟成による個別の相対検出頻度の変化を図1に示した。熟成前の「熟成塩ダ

レ」から検出された細菌は、86.9%がChromohalobacter属の2種類の細菌で占められていた。

表1 熟成期間による検出細菌科数の変化

	熟成期間(週数)				
	0	2	4	8	12
総リード数	27074	22977	24320	23331	27099
科の総数	30	26	24	20	16

これら2種類の細菌は熟成に伴って検出頻度が著しく減少したが、12週間後には検出頻度が上昇した。

一方で、これ以外の検出頻度の大きな変化が観察された細菌であるHaererehalobacter属、Halomonas属、Salinivibrio属、Salinisphaera属、Vibrio属のそれぞれいくつかの細菌は、熟成2週間後より検出され、8週間まではその検出頻度が経時的に増大するが、12週間後には再度検出頻度が低下した。しかしながらSalinisphaera属に属する1種類のみは熟成に伴って検出頻度は増大し、12週間後には60%を超える検出頻度を示した。

Family	Genus	Species	熟成期間(週)				
			0	2	4	8	12
Actinobacteria	Microthecium	Microthecium	0.0	0.45	0.26	0.22	0.00
Actinobacteria	Microthecium	Microthecium	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
Actinobacteria	Microthecium	Microthecium	1.05	2.46	1.42	0.53	0.13
Actinobacteria	Microthecium	Microthecium	0.13	0.05	0.05	0.01	0.03
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.58	1.60	1.10	0.64	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.11	0.00	0.00	0.00	0.04
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.45	0.50	0.40	0.31	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.54	0.00	0.00	0.05	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.11	0.00	0.10	0.11	0.04
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.00	0.34	0.13	0.27	0.16
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.00	0.15	0.14	0.00	0.07
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.11	0.30	0.21	0.24	0.01
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.00	0.11	0.12	0.15	0.53
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.19	0.20	0.19	0.19	0.17
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.07	0.00	0.14	0.10	0.21
Bacteroidetes	Bacteroides	Bacteroides	0.07	0.20	0.24	0.19	0.14
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	71.27	5.50	4.79	7.39	16.37
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	15.60	1.22	0.90	1.12	2.73
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.12	5.35	4.81	5.32	6.66
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.23	12.83	10.81	7.54	6.65
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.11	6.51	5.54	5.93	4.92
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.15	0.00	0.13	0.04	0.91
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	1.62	1.39	1.01	0.55
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.24	0.17	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.71	7.02	6.12	5.67	4.77
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	2.29	1.86	1.38	0.74
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.22	1.68	1.47	1.05	0.53
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.20	0.05	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.81	0.51	0.31	0.21	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.90	0.82	0.78	0.45	0.19
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.67	0.57	0.47	0.25	0.17
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.11	1.02	0.55	0.24	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.54	0.30	0.12	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.53	0.23	0.12	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.50	0.32	0.12	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.54	0.30	0.10	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.22	10.79	29.93	54.82	62.01
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	1.30	0.43	0.47	0.20
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.12	0.11	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	14.60	1.20	3.00	0.84
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	1.82	0.96	0.60	0.13
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	3.98	1.57	0.60	0.23
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.22	1.91	0.80	0.36	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	1.66	0.81	0.45	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.00	0.93	0.13	0.20	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.14	0.07	0.00	0.00	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.24	0.10	0.21	0.13	0.00
Chloroflexi	Chromohalobacter	Chromohalobacter	0.11	0.07	0.05	0.05	0.00

図1 熟成に伴う相対検出頻度の経時変化

これらのことから、熟成ダレの塩濃度が高く選択圧が高いため熟成に用いる甕由来のChromohalobacter属の検出がほとんどとなるが、熟成に伴って細菌叢は変化し多くの細菌の検出頻度が上がったと考えられた。また、「熟成塩ダレ」の熟成は8~12週で完成し、その後熟成した塩ダレ中の栄養環境の変化に伴って、細菌叢が変化したと考えられた。

食中毒菌の増殖に対するサメ肌抗菌シートの効果の検証

千葉科学大学 薬学部
照井祐介, 坂本明彦

1. はじめに

食中毒患者数のうち細菌が原因となる食中毒は約 40% に当たる。食中毒を引き起こす細菌として、サルモネラ、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌、大腸菌(腸管出血性、その他下痢原性)、腸炎ビブリオなどがある。これら食中毒菌は各々食中毒を引き起こす機構は異なるが、食中毒を防ぐには、食品中に付着する細菌の増殖を抑制することが重要である¹。

アメリカの研究チームは、サメの肌(鱗)にフジツボや藻類などが付着しないことに着目し、サメの肌を模してシリコンのシート Sharklet AF™ を開発した²。Sharklet AF™ は、黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* のバイオフィルム形成を抑制するが、シート自体が厚く、可塑性に欠け、汎用性が低い。そこで我々は、可塑性に富んだアクリル酸系樹脂を用いてサメ肌抗菌シートを開発した(図1)³。本研究では、このサメ肌抗菌シートを用いて、常在菌や食中毒菌に対する抗菌効果を検討した。

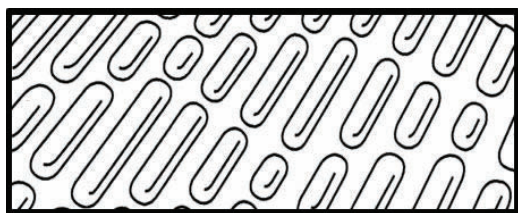


図1 サメ肌抗菌シートの模式図

2. 結果・考察

サメ肌で凹凸のある抗菌シート(サメ肌抗菌シート; shark skin)を液体培地中に加え、振とう培養により緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* 及び黄色ブドウ球菌 *S. aureus* の細胞増殖速度を測定したところ、無添加及び未加工のシート(smooth シート)に比べて細胞増殖速度に変化は見られなかった。次に、このサメ肌抗菌シートを 96 well plate に敷き、菌(10⁶/mL)を静置培養し、バイオフィルム形成を測定したところ、smooth シートに比べ、サメ肌抗菌シートではおよそ 70%と強いバイオフィルム形成抑制効果が認められた。また、緑膿菌 *P. aeruginosa* を 0.5%寒天培地に植菌し、その上にシートを被せ、細菌の運動性(swarming motility)の抑制効果を比較したところ、smooth シートに比べサメ肌抗菌シートでは 65%の抑制効果を示した。これらの結果から、これら抗菌シートは静置培養下において、菌のバイオフィルム形成能及び swarming motility を強く阻害することを明らかにした⁴。

これまでの研究により、好適環境水を用いた魚類の飼育水において、一部の細菌の増殖が減少するという基礎データが得られている。したがって、好適環境水で魚類を養殖し、好適環境水を輸送水として用いることで、細菌汚染を抑えた安心・安全な輸送が可能となる。さらに、サメ肌抗

菌シートのパッケージなどによる鮮魚輸送が可能となれば、好適環境水との相乗効果により品質向上が見込まれる。そこで、食中毒の原因菌である大腸菌 *Escherichia coli* 及び腸炎ビブリオ *Vibrio parahaemolyticus* を用いて、サメ肌抗菌シートによる細胞増殖抑制効果を検証したところ、振とう培養では細胞増殖抑制効果は見られなかったが、swarming motility に対して、緑膿菌 *P. aeruginosa* 及び黄色ブドウ球菌 *S. aureus* と同様におよそ 70%の阻害効果が見られた(図2)。したがって、サメ肌抗菌シートは食中毒菌に対して細胞増殖抑制効果があることが示唆された。

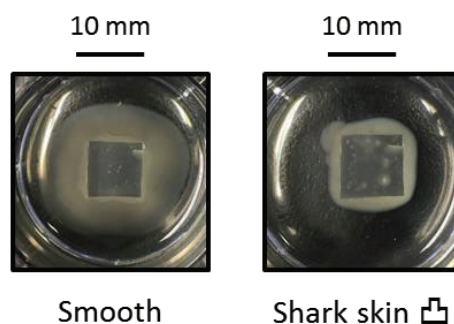


図2 大腸菌の swarming motility に対するサメ肌抗菌シートの抑制効果

3. 今後の課題

アクリル酸系樹脂によるサメ肌様に加工したシートの食中毒菌に対する抗菌効果が得られたが、食品には使用できないため、現在食品にも使用できるサメ肌抗菌シートを作製中である。したがって、新たな抗菌シートにおいても食中毒菌に対して抗菌効果を示すか検討予定である。

4. 参考文献

1. Fux CA, Costerton JW, Stewart PS and Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilm. *Trends Microbial*, **13**, (2005), 34-40
2. Chung KK, Schumacher JF, Sampson EM, Burne RA, Antonelli PJ, and Brennan AB. Impact of engineered surface microtopography on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. *Biointerphases*, **2**, (2007), 89-94.
3. 特許：株式会社シンク・ラボラトリー。「非電導性抗菌シート及びその製造方法並びに抗菌方法」。W02015/072364, (2015).
4. Sakamoto A, Terui Y, Horie C, Fukui T, Masuzawa T, Sugawara S, Shigeta K, Shigeta T, Igarashi K and Kashiwagi K. Antibacterial effects of protruding and recessed shark skin micropatterned surfaces of polyacrylate plate with a shallow groove. *FEMS Microbiol Letter*, **361**, (2014), 10-16.

平成 30 年度 千葉科学大学研究ブランディング事業
「フィッシュ・ファクトリー」システムの開発及び「大学発ブランド水産種」の生産
における『研究の手段、方法及び成果』に対する評価について

千葉科学大学
学長 木曾 功 殿

平成 31 年 3 月 11 日

以下のとおり、貴学研究ブランディング事業における『研究の手段、方法及び成果』に対する評価コメントを記します。

1. 『研究の手段、方法及び成果』に対する評価コメント（総論）

貴学研究ブランディング事業の平成 30 年度計画において、①陸上養殖技術開発については各試験に取り組み、生残率向上のための環境、塩分濃度や飼育中に蓄積する溶存態無機窒素等の飼育環境の比較試験により有効な知見が得られている。また、好適環境水における細菌叢の分析も進められており、併せて今後の養殖技術開発に繋がるものと思われる。

②輸送・加工技術開発については、好適環境水の飼育下では一部の魚種のストレスが軽減されることが示される一方、淡水魚の一部には負荷となる可能性も出ており、好適環境水の特徴の詳細な把握が進められることで、今後のより効果的な活用方法の技術確立に向かっているとと思われる。また、品質向上に向けた成分の分析試験やサメ肌抗菌シートの効果等が示されており、加工技術開発の進展を期待したい。

③研究成果報告については、C I Sフォーラムが定期的で開催されており地域社会への発信がなされていると思われる。

以上のことから、平成 30 年度における研究は実施計画のとおり進捗していると認められる。引き続き地域の要望等を適切に把握するとともに、地域の水産業と連携して成果の活用を図ることが重要と思われる。

2. 各研究に対する評価コメント（各論）

平成 30 年度の実施計画達成に向け各試験に取り組み、新たな知見が得られていることが認められる。また、想定した結果とならない場合もその要因を分析しており、今後の研究の進展に繋がるものと思われる。

団体名 : 千葉県銚子水産事務所

所属長 : 千葉県銚子水産事務所長 小嶋 一隆

平成 30 年度 千葉科学大学研究ブランディング事業
「フィッシュ・ファクトリー」システムの開発及び「大学発ブランド水産種」の生産
における『研究の手段、方法及び成果』に対する評価について

千葉科学大学
学長 木曾 功 殿

平成 31 年 3 月 12 日

以下の通り、貴学研究ブランディング事業における『研究の手段、方法及び成果』に対する評価コメントを記します。

1. 『研究の手段、方法及び成果』に対する評価コメント（総論）

本研究は、検体として「モクズガニ」に着目し、成体までの養殖の可能性を模索している。生残率を高めるため課題として、水槽内構造物、塩分、毒性物質、餌、水質、ストレスなどのもたらす影響を取り上げている。アスタキサンチン含有量に着目し、食材としての価値を高めるための研究も行われている。養殖は、寄生虫、病気等のリスクを軽減し、食材の安定した供給に有効な手段とされている。今後の「フィッシュ・ファクトリー」システムの開発及び研究の進展に期待する。

2. 各研究に対する評価コメント（各論）

今回、モクズガニ養殖のための環境整備に必要なと考えられる各種実験が行われた。実験のいくつかで、養殖に対し、有効な手法であると示唆されたものがあり、また、今後、研究を進めていくため必要と考えられる知見も得られている。さらなる検証を進めてもらいたい。

実験のいくつかに好適環境水が用いられている。昨年度の貴学ブランディング事業報告書にて、好適環境水によるコストの低減、魚体の成長の速さ、病気のかかりにくさが報告されている。本年度の報告書にも「効率的な成長を促す可能性」との記述があり、今後の研究の発展に注目していきたい。

団体名 : 銚子市

所属長 : 水産課長 浪川 秀樹

