

未来社会創造事業 探索加速型  
「持続可能な社会の実現」領域  
終了報告書(探索研究)

令和2年度 終了報告書
----------------

平成30年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：堀 克敏]

[国立大学法人名古屋大学大学院工学研究科・教授]

[研究開発課題名：微生物パワーによる次世代閉鎖循環式陸上養殖システムの構築]

実施期間：平成30年11月15日～令和2年3月31日

## §1. 研究開発実施体制

(1)「名古屋大学」グループ(国立大学法人名古屋大学)

① 研究開発代表者:堀 克敏 (名古屋大学工学研究科、教授)

② 研究項目

- ・表皮プロバイオティクスの基礎技術の確立
- ・表皮プロバイオティクスの実養殖魚への拡張性の検討(ニジマス)

(2)「三重大学」グループ(国立大学法人三重大学)

① 主たる共同研究者:田丸 浩 (三重大学生物資源学研究科、教授)

② 研究項目

- ・表皮プロバイオティクスの実養殖魚への拡張性の検討(ナマズ)
- ・免疫賦活化飼料の基礎技術の開発

## §2. 研究開発実施の概要

\*表皮プロバイオティクスの基礎技術の確立(名大グループ)

ゼブラフィッシュ表皮から有用菌候補として、魚類病原菌の生育に対して拮抗作用をしめす、複数の細菌株を取得した。それら細菌株の一つである *Pseudomonas* 属細菌 KH-ZF1 株が、ゼブラフィッシュの表皮に付着し、病原菌の表皮占有を一時的に妨げることで、魚類病原菌である *Yersinia ruckeri* の経皮感染を低減することが示された。KH-ZF1 株は培地中に殺菌物質を生産し、共培養実験で *Y. ruckeri* を殺菌する効果があることから、表皮への付着作用と殺菌物質の生産によって、*Y. ruckeri* がゼブラフィッシュへ経皮感染するのを妨げる効果があることが示された。

\*表皮プロバイオティクスの実養殖魚への拡張性の検討(名大・三重大グループ)

名大グループでは、養殖場のニジマスの表皮細菌叢を解析し、表皮細菌叢が飼育水のそれとは異なる特有の構成を示すこと、通年では細菌叢の中で時期により存在量が大きく変化する細菌群と、変化の少ない細菌群が存在することを明らかにした。大きく変動する細菌群は主に表皮を一時的に占有することで、表皮細菌叢の変動をもたらしていた。主な細菌属として *Pseudomonas* 属細菌、*Flavobacterium* 属細菌、*Acinetobacter* 属細菌、*Enhydrobacter* 属細菌、*Yersinia* 属細菌および *Vibrio* 属細菌が挙げられ、特徴として魚類病原菌またはそれらを含む細菌種に属しているものが多かった。また、表皮を占有する条件は、突発的、季節的または他の細菌の関与が示唆された。

また、ニジマス表皮由来の有用細菌のスクリーニングでは、*Aeromonas* 属細菌、*Yersinia* 属細菌、*Vibrio* 属細菌のどれかに対して抗菌作用を示す 43 クローンの細菌種の候補を得た。これらの単離した有用菌候補はほとんどが *Pseudomonas* 属細菌と *Yersinia* 属細菌であり、一部に *Acinetobacter* 属細菌と *Lactococcus* 属細菌が含まれていた。これらは魚類病原菌に近縁な種を多く含んでいた。これらのうち年間を通じて表皮に一定割合で存在している細菌属として、*Pseudomonas* 属細菌に注目した。上記 *Pseudomonas* 属細菌のうち、特に複数の病原性細菌の生育を阻害したものを KH-RT1, KH-RT2, KH-RT3, KH-RT4, KH-RT5 とし、種の同定とニジマス稚魚・稚魚への暴露実験を行い、病原性がみられないことを確認した。さらに、三重大学と共にニジマス幼魚を用いた感染防除実験を行い、これらの有用菌の混合物を複数回の暴露することで、*Y. ruckeri* がニジマス幼魚に感染することを防止し、生存率を高めた。これらのことから表皮プロバイオティクスによる病害防除が養殖魚においても実現可能であることが示された。

三重大グループではニジマスを用いた検討と並行して、養殖場のニホンナマズの表皮細菌叢の解析を行った。月齢の異なる個体の細菌叢を比較した結果、成長に伴い、特有の細菌叢を形成することが推察された。

ナマズ表皮からの有用細菌のスクリーニングにおいては、新たに 4 菌株の有用細菌候補株を得た。これら有用菌候補株の表皮プロバイオティクスとしての有用性の検討を開始した。

また、ナマズの表皮細菌叢と他魚種の表皮細菌叢の比較では、それぞれの魚種に固有の表皮細菌叢が存在していることが示された。

\*免疫賦活化飼料の基礎技術の開発(三重大グループ)

*Clostridium cellulovorans* およびアスタキサンチン生産酵母 *Xanthophyllomyces dendrorhous* の大量培養の検討を行い、ミカン残渣および果皮を炭素源として *C. cellulovorans* の大量培養が可能であることが示された。また、*X. dendrorhous* は培地 1L あたり約 3g の菌体を得た。