



Title	環境に調和した水産業と微生物利用
Author(s)	澤辺, 智雄
Citation	農林水産技術研究ジャーナル, 23(11), 36-43
Issue Date	2000-11
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/42705
Type	article
Note	特集：微生物機能の開発と利用
File Information	sawabe_RJFA23.pdf



[Instructions for use](#)

環境に調和した水産業と微生物利用

澤辺 智雄

北海道大学大学院 水産科学研究科

水産業へ有用な微生物機能を積極的に利用する試みがなされている。特に、人工的な環境で増殖を行う水産増殖業では、水の浄化および宿主生物の発育・生育・成長に関与する様々な微生物機能の応用が期待される。このため、環境への負担を最小限にできる閉鎖循環式養殖システムが将来の増養殖体系の主流になることが予想され、微生物利用の可能性も大きく広がるものと考えられる。そこで、本稿では水圏生物では研究が進んでいない微生物共生機能に注目し、これらの共生機能解析へ向けた周辺技術整備の必要性、および共生微生物の宝庫と考えられる消化管内細菌研究の具体例を示し、微生物を利用した環境調和型水産業の将来展望について述べる。

1. 水産業の事業形態と微生物機能の利用

水産業は「水圏が育む生物（水産物）を人類の生活に利用する産業」であり、その業務形態は「漁業」、「水産加工製造業」、「水産増養殖業」の3つに大別される（図1）。各業務形態と微生物機能の利用における接点を考えた場合、「漁業」は天然の生物資源を捕獲・採取することを主とするため、微生物機能を利用する場面がほとんどない。また、「水産加工製造業」は、採捕した水産物を人類の生活により高度に活用することを主体としており、古くから微生物機能の利用が試みられてきた業務形態である。さらに、「水産増養殖業」では、人工的な環境下あるいは自然環境の一部を借用して魚介類を集中して増殖させる形態であり、増養殖環境の整備および生物の発育・生育・成長には様々な微生物の働きが関与することから、この業務形態には微生物機能を利用した技術を応用できる余地が数多く残されている。従って、水産業の中でも、「水産増養殖業」は、微生物機能の高度利用が注目さ

れる産業のひとつである。

現在までの「水産増養殖業」では、自然環境に配慮しない人間本位の資源増産が行われてきた。多くの水産増養殖事業が軌道に乗り進捗しつつあるが、生物自体への負の影響や周辺の増殖環境へ及ぼす水域汚染などの負の付加に対する配慮は充分でなく、病気の発生および環境の汚染が深刻化している事例も多く（吉水，1998）、現状の増養殖体系を促進させることは天然資源にも大きな損害を与えることが危惧されている（Naylor et al., 2000）。従って、水産増養殖業の持続的発展には、増養殖環境に充分配慮し、本来生物が持つ健全な生物機能を最大限引き出す環境調和型の増養殖業が、積極的に採用されるべきである。

「水産増養殖業」には、主に1) 内水面や陸上での淡水増養殖、2) 海面を利用した増養殖、3) 内水面や沿岸域での種苗生産が含まれる（図1）。また、増養殖の結果として生じる周辺環境の汚染問題に対する懸念から、汚染を最小限に食いとめるため閉鎖循環式養殖システムの開発が進んでおり（鈴木，1999）、将来、この閉鎖式システムが日本における主要な増養殖システムになる可能性がある。増養殖施設内で行われ

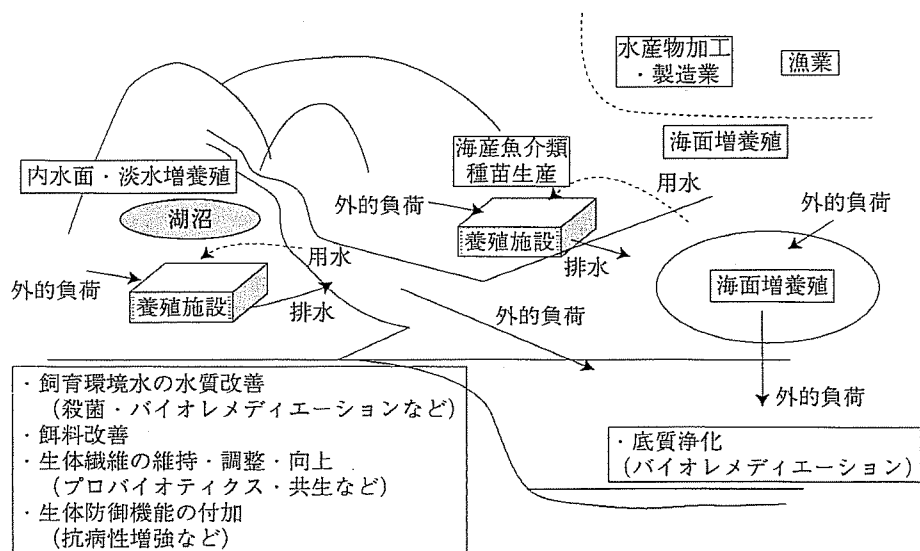


図1 水産物の形態と微生物機能の利用

る淡水・海水養殖や種苗生産では、比較的閉鎖性の高い空間で業務を行えるため、①飼育環境水の水質改善、②増養殖対象生物の生体機能の維持・調整・向上、③生体防御機能の付与、を目的とした微生物機能の利用が考えられる(図1)。閉鎖循環システムが主流となれば、開放系養殖システムに比べ、より効果的に微生物を利用することが可能となる。

本稿では、研究の歴史が古いものの、水圏生物では十分に解明が進んでいない、優れた微生物機能のひとつである“共生”に焦点を当て、この微生物共生機能の解明に向けた周辺技術の確立の必要性、そして、共生機能の水産増養殖業への利用の可能性について紹介する。

2. 水産生物と微生物共生の事例

生態系において微生物はさまざまな生物との共生関係を発達させ、生態系維持に大きな役割を担っている。表1に共生の種類とよく知られているいくつかの事例を示した。共生の型には、片利共生、相利共生、中立的共生、対立的共生の4つが知られている。片利共生は2種の生物間で、一方が利益を得るが、他方は利も害もない共生である。片利共生の代表例としては、ヒト腸内での通性嫌気性細菌による酸素消

費で嫌気性条件が成立し、恩恵を受ける偏性嫌気性細菌の関係が知られている。相利共生では、共生する2種の生物とも利益を得る共生の形であり、地衣、根菌、草食動物消化管内(反芻)、好木性昆虫消化管(シロアリなど)での微生物共生が著名な例として知られる。中立的共生は2生物間で両者とも利害がない場合であり、対立的共生は一方に利益が生じるが、他方には害が生じる共生の型として定義される。ここでは具体例を示さなかったが、海洋生物あるいは水産増養殖分野で重大な問題である感染症は、対立的共生の代表的な事例である。なお、対立的共生を回避するために利用できる微生物機能(例えば、ワクチン、疾病履歴診断のための抗体作製など)は、水産増養殖分野で研究が進められ実用化に至っているものもある。

海洋生物-微生物共生の事例も表1にまとめて示した。まず、片利共生関係にあると考えられている事例に、海産甲殻類の表面に多数観察される付着微生物の存在が挙げられる。これら付着微生物の中で、珪藻類、原生動物および一部の細菌類は、甲殻類の代謝産物を一方的に利用していると考えられている。次に、相利共生と考えられる事例は多く、1) 光照射から海綿を保護する共生藍藻類、2) 海産甲殻類に病原性

表 1 共生の種類

共生の型 ¹⁾	生物 A	生物 B	共生の代表例			海洋生物で知られている例		
			事例/場所	Aに相当する生物	Bに相当する生物	事例/場所	Aに相当する生物	Bに相当する生物
片利共生	+	0	ヒト腸内	偏性嫌気性細菌	通性嫌気性細菌	海産甲殻類表面(?) ²⁾	甲殻類	珪藻・原生動物
相利共生	+	+	地衣	真菌	光合成微生物	海綿(?) ²⁾	海綿	共生藍藻類
			菌根	豆科植物	<i>Rhizobium</i>	卵表面(?) ²⁾	海産甲殻類卵	海洋細菌
			草食動物消化管内	ウシ・ヤギ	ルーメン微生物	食藻動物消化管内(?) ²⁾	アワビ類	<i>Vibrio halioticoli</i> ・ other gut microbes
			好木性昆虫	シロアリ	消化管内微生物	発光器管	イカ類	発光細菌 (<i>Photobacterium</i> , <i>Vibrio</i>)
						深海熱水噴出口生態系	チューブワーム・ 二枚貝類	化学合成独立栄養細菌
中立的共生 ³⁾	0	0						
対立的共生 ³⁾								
別居 ³⁾	0	-						
寄生 ³⁾	+	-						
捕食 ³⁾	+	-						

1) +:利益、-:害、0:影響なし

2) 証明が完全にされていないか、証明が難しい例

3) 代表例が多いため、記載していない

を示すカビから卵を保護する卵表面の抗カビ物質産生海洋細菌, 3) アワビ類の消化管に優占して分布し餌料消化に貢献していると考えられるビブリオ・ハリオティコリ (*Vibrio halioticoli*) (澤辺, 2000), 4) イカ類, 魚類などの発光器に定着している発光細菌のビブリオ・フォトバクテリウム (*Photobacterium*) 細菌 (McFall-Ngai and Ruby, 1991), 5) 深海熱水噴出口生態系の主要生物であるチューブワームおよび二枚貝類の特殊器官に共生している化学合成独立栄養細菌などが知られている。

なお, 1970年後半から天然の生理活性物質の研究が進み, 海産の動物および植物から, 数多くの生理活性物質が見いだされてきたが, 一部の生理活性物質は, 動物・植物と密着した生活をしている微生物の代謝産物であることが明らかになっている。しかも微生物が宿主生物と共生している場合にのみ, 生理活性物質を産生する事例も明らかにされている。抗腫瘍活性物質として実用段階にあるコケムシ類共生細菌により産生される bryostatin 1 は, 産生細菌を宿主組織とともに培養することにより, 収率が増加する代表的な例として知られている。共生に伴う

生理活性物質の生産効率の増加, およびその機構は, 生理活性物質の有効利用に重要な知見をもたらすとともに, 生態学的な面からの共生関係および共生因子の役割の解明が注目されている。

以上の例は, 非常に多くの種類の海洋生物間で共生が成立していることを予測させるものである。しかし, 海洋動物消化管内細菌を含め, 水中生活をおくる宿主生物からは, 部位選択的あるいは全ての部位から微生物を除去することが難しく, 海洋生物と微生物の共生関係を証明することは困難である場合が多い。後述するノトバイオロジーのような, 海洋生物-微生物間の相互作用を解析するための実験系の作成が強く求められており, それによって, 今後の海洋生物-微生物共生の研究において, 多くの利用可能な機能や知見が見いだされると考えられる。

3. 海洋生物-微生物相互作用の解明に向けて

1) ノトバイオロジー

Germ-free (無菌) 条件下での哺乳類の飼育に成功して以来, ノトバイオロジー (gnotobiology) の分野が切り開かれた。ノトバイオトとは

“存在する全ての微生物種が明らかな動物”のことで、動物消化管内細菌が、宿主動物にどのような影響を及ぼすのかを調べる研究に大きく貢献している(伊藤, 1994)。

海洋生物および水産業において重要な生物で、無菌動物あるいはノトバイオートの作製を試みた例は少なく、病原菌フリー(SPF)な魚類で知られているのみである。なお、SPF魚類の開発は、疾病に左右されない養殖事業の安定化が目的であり、動物-微生物間相互作用の解析を目的としてはいない。また、完全なノトバイオートとはいえないが、アワビ、カキ、ウニ、アメフラシでは、餌料に抗生物質を添加し、消化管内細菌の増殖を抑制し、消化管内細菌の役割あるいは宿主動物の生理への影響を検討する試みがなされてきた。今後、海洋生物および水産分野における重要な生物と微生物の共生を詳細に解析し、共生微生物機能を水産分野に積極的に応用するためにも、無菌動物やノトバイオートを作製するための技術開発が必要不可欠と考える。特に、海洋生物のノトバイオート作製には、無菌飼育が可能な海洋動物飼育施設、膨大な量の滅菌海水を作製できる装置、微生物相互作用を調べるための特殊化された密封型無菌飼育装置(アイソレーター)あるいは水槽などの設備開発も同時に必須となる。ノトバイオートを作製できる生物種の選定と詳細な生理生態の把握も必要である。なお、世界的に見ても、大規模な海洋生物無菌飼育施設を所有している国はない。海洋に囲まれた日本にこそ、産学官の連携により、この分野の先端的な研究が展開できる施設・装置を積極的に設置・運営していく必要がある。

2) 定着・共生因子の解明

ところで、共生微生物が“なぜ”、“どのようにして”共生状態を成立させ、維持しているのかには、多くの興味・関心が払われている。特に、海洋生物と微生物が共生を成立させるため

の機能因子(定着因子・共生調節因子など)が同定されれば、微生物機能の高度利用に大きく貢献できる。この研究の進展には、共生に関与する遺伝子群の同定とそれらの遺伝子欠損株の作製、そして各微生物の宿主となる生物のノトバイオートあるいはそれに準ずるものを用いた実験系の確立が必要である。例えば、根粒細菌-植物共生で、根毛への定着と根粒の発達に関与する遺伝子の同定が盛んにすすめられ、50種類近い遺伝子産物の影響が検討されている。また、海洋生物の例では、Visick and Ruby (1998)が、孵化直後の稚仔イカとビブリオ・フィッシュェリ(*V. fischeri*)変異株を用いた発光器定着試験により、カタラーゼをコードする*katA*遺伝子が、孵化直後の稚仔イカ発光器へのビブリオ・フィッシュェリの定着に大きく関与していることが示された。その後、宿主の酸素および活性酸素種の発生機構に関する知見が得られ、微生物定着阻害反応の主体である過酸化水素(H_2O_2)を除去できることが発光器への定着の鍵であることが示唆された。つまり、Ruby and McFall-Ngai (1999)は、ビブリオ・フィッシュェリの産生するカタラーゼが、イカ発光器組織内でオキシデイティブ・バーストにより生ずる H_2O_2 を分解し、宿主のハライド・ペルオキシダーゼへの基質の供給を妨げることで殺菌効果の高い次亜塩素酸の産生を抑制する役割を果たすことを示した。また、ルシフェラーゼの反応は、明反応および暗反応とも酸素への親和性が高く、宿主組織から供給される酸素と H_2O_2 分解により生じる酸素の消費に大きな役割を果たすことも示した。

草食動物消化管内微生物の共生因子として明確にされているものは少ないが、主要な植物多糖であるセルロースを分解する細菌の中に、セルロース付着性領域を有するセルラーゼ複合体を産生する細菌が存在することは興味もたれる。水産生物の共生微生物の可能性があるエゾアワビ消化管共生細菌ビブリオ・ハリオティコ

リ (澤辺, 2000) は, 海水中でゲル化させたアルギン酸塩に密集して付着する性質が観察されている。この付着因子はまだ特定がなされていないが, 特殊な因子を有することも考えられるため, 今後の解析が待たれる。

さらに, 図2には, 今後明らかになると考えられる新たな宿主生物と共生微生物の相互作用の概念図を示した。これまでの宿主と共生微生物の関係は, “一種の宿主” 対 “一種の微生物” の場合として研究されてきた。しかし, 今後は, “一種の宿主” 対 “複数種の微生物 (菌叢)” の例も考えられる。しかも, 菌叢を形成する複数種の微生物が相互に作用を及ぼしあっている可能性がある。例えば, 菌叢の形成においては, 菌叢を構成する全ての微生物が一様に増殖して菌叢を形成しているわけではなく, 周りの環境の影響を受けながら個々の微生物が順次増加し, 菌叢の構成種となると考える。それを制御する微生物間相互作用の順番が明らかになれば, 高度利用を行いたい微生物の増殖を安定させる補助的役割を担う微生物の発見及びその活用が可能となる。これにより, 菌叢形成の人工的な制御が可能となり, 微生物機能を応用する上で新しい展開が期待できるものと考えている。筆者は, この技術を, 微生物を連鎖的に反応させるという意味で, “マイクロビアル・チェーン・リアクション (Microbial Chain Reaction)” と称し, これらの技術の開発を期待している。

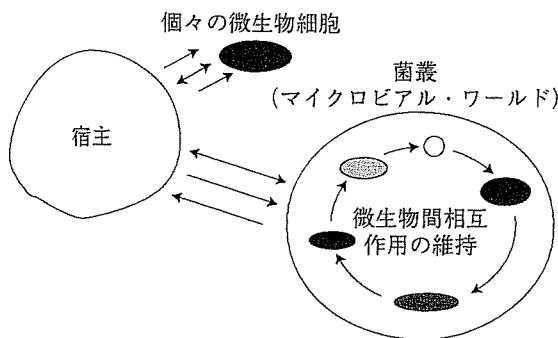


図2 微生物機能と宿主生物との相互作用
矢印の向きが, 作用の方向を示す

4. 水産動物消化管内細菌とその利用の可能性

多くの水産動物は固有の消化管内細菌叢を有している。それらの細菌叢は, 栄養面のみならず, 免疫機能や生体防御機能など宿主の生物機能の維持・向上に大きく貢献していることが考えられる。軟体動物・甲殻類などの無脊椎動物および魚類では古くから消化管内細菌叢の研究が進められ, 近年, 消化管内細菌叢に関する基礎研究例が集積されつつある。また, ヒトや陸上動物などの例では, 消化管および腸内に宿主に対し有効な作用を示す微生物が存在することから, これらの微生物を飼料添加物として利用することが伝統的に行われてきた。現在では, これらの機能性微生物はプロバイオティクスと定義され (Reuter, 1998), プロバイオティクスとして利用される微生物群の占有率を維持・向上させる物質 (プレバイオティクス) と共に活発に利用されている。本節では, 近年積極的に試みられている水産増養殖への消化管内細菌の利用の実例を示す。

1) 魚類の腸内細菌叢によるウイルス病の制御

魚類は「水産増養殖業」で一番重要な対象生物種である。しかし, 高密度飼育及び残餌による汚染などにより, 本来, 飼育水が有する自浄作用を大幅に超えた劣悪な環境で魚類の飼育が行われ, 病気の発生が絶えない。特に, ウイルスによる魚類の疾病は, 優れた化学療法剤がないため, 大きな問題となっている。吉水・絵面(1999)は, 魚類ウイルス病の制御に新しい試みを取り入れている。この取り組みは, ①魚類増養殖環境に病原ウイルスを進入させないこと, ②抗ウイルス物質産生細菌を魚類腸内に定着させ, 魚類にウイルス病抵抗性を付与すること, ③ワクチンおよび免疫増強物質を添加した餌料の投与により魚類の生体防御能を向上させること, ④施設の排水を殺菌し, 病原微生物を環境に排出させないこと, を基本

的な理念としており、魚類本来の持つ生体防御能の向上と病原微生物による環境の汚染を最小限に留める配慮がなされている優れた対策である。環境調和を目指した新たな水産業を展開させる先駆的な事例である。

特に、抗ウイルス物質産生細菌を魚類腸管内に定着させ、魚類ウイルス病の予防に応用する試みは、微生物機能を高度に「水産増養殖業」に取り入れられるものと評価される。吉水・絵面(1999)は、サケ稚魚期に猛威を振るう伝染性造血器壊死症ウイルス(IHNV)およびマツカワ・ヒラメなどの異体類の増養殖時に問題となる数種のウイルスに対し、抗ウイルス物質を産生する細菌を、各宿主の腸内から分離した。これらの細菌を餌料に添加して投与を行った後、ウイルス攻撃試験を行い、①抗ウイルス物質産生細菌が宿主の腸内に定着しうること、②ウイルス病に対する予防効果が認められることを示した。今後は、抗ウイルス物質産生細菌が魚類疾病の予防のためのプロバイオティクスとして利用が期待されることから、魚類腸内でより効果的に抗ウイルス物質を産生する餌料と成分(プレバイオティクス)及び補助微生物などを検討する必要がある。

2) 消化管内細菌叢の微生物制御を取り入れたアワビ増殖の展望

コイおよび軟体動物の増養殖量は全世界の生産量の3/4を占める。これらの動物は草食性であるため、その増養殖に魚肉や魚油を投入する必要がなく、地球規模での水産増養殖の崩壊を食いとめるための栄養要求の低い魚介類として増養殖が推奨されている(Naylor et al., 2000)。アワビ類もこれに該当する。

筆者らは、陸上草食性動物に見られる消化管内微生物共生と同様の事例を、海に生息する草食性動物に見いだすために、アワビ類およびウニ類の消化管内細菌叢を調べてきた。アワビ類およびウニ類は褐藻類、特にコンブ類に嗜好性

を示すが、消化管から分離された細菌にはコンブ類に多量に含まれる難分解性多糖であるアルギン酸を分解するものが非常に多いことが明らかとなった。このことは、消化管内細菌が餌料の分解に大きく貢献している可能性を示すものであった。また、エゾアワビとエゾバフンウニの消化管から分離されたアルギン酸分解細菌では、それぞれ種の構成、および産生する酵素の分解特異性が異なることが明らかとなり、固有の細菌叢形成には餌料分解活性のみでなく、動物種側に由来する何らかの要因も重要な役割を果たしていることが示唆された。特に、エゾアワビ消化管で優勢であったアルギン酸分解性細菌は、ビブリオ属の新種ビブリオ・ハリオティコリと同定された(澤辺, 2000)。その上、エゾアワビが孵化・変態し、着底生活に移行した後、附着藻類摂餌性から褐藻類摂餌性に変化する時点から、固有の細菌叢が形成され始め、ビブリオ・ハリオティコリの占有率が増加し、約1年で細菌叢が安定することが明らかとなった(図3)。さらに、遺伝子マーカーを用いたビブリオ・ハリオティコリの種特異検出で、①ビブリオ・ハリオティコリは稚貝の餌料となる附着藻類に附着する傾向が認められ、摂餌される附着藻類とともに、稚貝の消化管に達すること、②エゾアワビ以外にも、クロアワビ、トコブシ、フクトコブシ、サザエなどにも本菌が存在することが示唆された。しかし、メガイアワビ、チョウセンサザエ、ウニ、ホタテ、アメフラシからは検出されず、本菌は宿主特異的に消化管に定着していることが明らかにされた。

以上の結果から、ビブリオ・ハリオティコリとアワビ類との間には、餌料分解をめぐる共生関係が成立している可能性が強く示唆された。本菌のアワビに対する作用はまだ明らかではないが、アワビによって摂餌された配合飼料および褐藻に含まれるアルギン酸が本菌により分解・利用された結果、有機酸が産生され、これが宿主により生理作用を及ぼしている可能性が

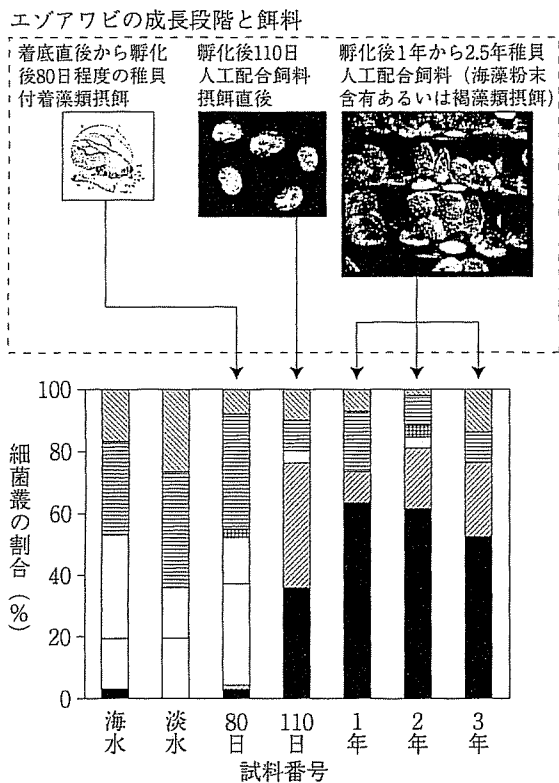


図3 エゾアワビ *Haliotis discus hannai* の消化管内細菌叢の形成過程

■ *Vibrio haliotocoli*
 □ *Pseudomonas*
 ▨ *Cytophaga*
 ▩ Unidentified
 ▤ *Vibrio*
 ▥ *Alteromonas*
 ▦ Other genera

考えられる。本菌のアワビ増養殖への応用として、①稚貝増殖時の減耗率の低下、および、②夏場の水温上昇に伴う摂餌量の低下と消化不良の改善、に利用することなどがあげられる。な

お、稚貝期における本菌の使用は、投与のタイミングやその手法などを検討しなければならない。現在までに得られた知見から、本菌がアワビ消化管で優占種になる過程は図4のように想定されている。本菌は稚貝の餌料となる附着藻類に付着し、附着藻類が摂餌されると同時に消化管内に取り込まれるが、この時点では稚貝の消化管は本菌が活発に増殖できる環境となっていない。従って、稚貝の消化管内で本菌を優占種とするためには、本菌をより効果的に稚貝の消化管に導入する方法及び消化管に導入された本菌が活発に増殖できる補助飼料の開発が必要となる。また、アワビ消化管内での微生物間相互作用の詳細な解析とノトバイオト実験系の整備を試み、アワビの成長と健全な生物機能を最大限に維持できる人工的な菌叢制御手法の開発も期待される。

5. おわりに

水産生物は、貴重な食糧源であり、今後さらに増養殖技術の向上が期待されている。また、養殖対象魚介類の種も多種にわたることが予想される。水産動物の消化管内細菌叢は、宿主生物が生息している環境の微生物叢の影響を受けず、固有の細菌叢を形成していると考えられ、宿主の生理機能の維持・向上に役割を担ってい

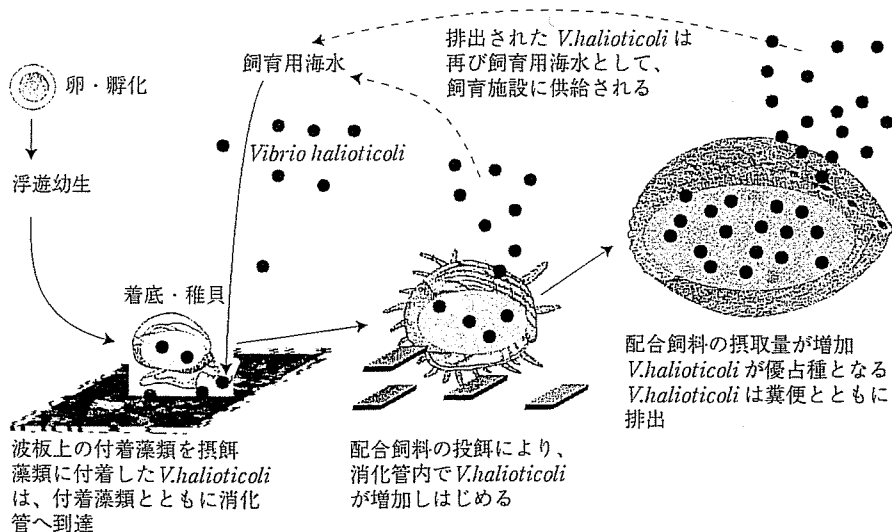


図4 *Vibrio haliotocoli* がエゾアワビ消化管で優占する過程の想像図

る場合が多い。消化管内は、閉鎖的な環境であり、微生物機能を集中して利用できる場として有効であるため、今後、各種水産動物の消化管細菌叢の把握と、栄養的な貢献度、つまり「栄養共生」の把握が必要である。

また、消化管内細菌のみならず、水産生物に付随する数多くの共生微生物が発見される可能性が高い。今後、これらの共生細菌を積極的に水産業へ利用するための研究が進展することを切望する。特に、「水産増養殖業」では、環境への負荷を著しく低下させた閉鎖式循環式増養殖システムの開発が進んでいることから、より微生物を利用しやすい条件も整備されつつある。

参考文献

伊藤喜久治(1994)生物と化学,32:44-47.

MacFall-Ngai, M. J. and Ruby, E. G.(1991)Science, 254: 1491-1494.

Naylor, R. L. et al. (2000)Nature,405: 1017-1024.

Reuter, G. (1998)腸内フローラとプロバイオティクス (光岡知足編), 学会出版センター, pp. 17-40.

Ruby, E. G., and McFall-Ngai, M. J.(1999)Trends in Microbiology, 7: 414-420.

澤辺智雄(2000)日水誌, 66: 615-618.

鈴木祥広 (1999)アオサの利用と環境修復(能登谷正浩編), 成山堂書店, pp. 76-92.

Visick, K. L. and Ruby, E. G.(1998)J. Bacteriol., 180: 2087-2092.

吉水 守(1998) 海洋号外, 14: 112-117.

吉水 守・絵面良男(1999)Microbes and Environment, 14:269-275.

〒041-8611 函館市港町3-1-1