JST MIRAI 未来社会創造事業

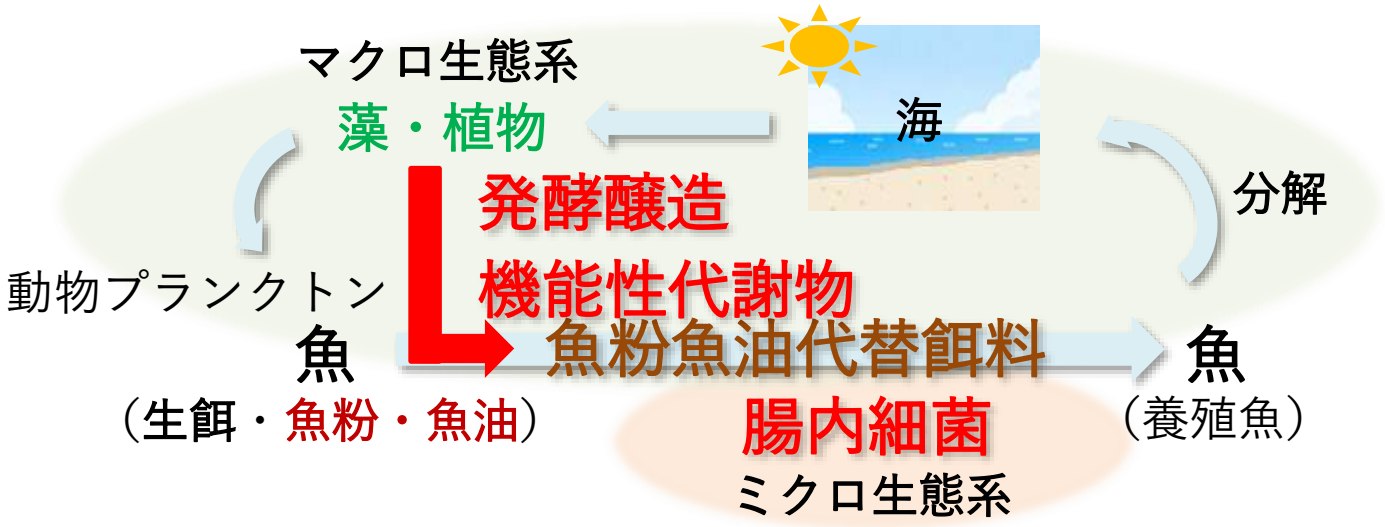
植物資源と発酵技術を利用した資源循環型養殖飼料開発

小川　順
（京都大学大学院農学研究科・応用生命科学専攻）

養殖業が抱える問題点

1、非循環型養殖（魚を魚で育てる状態）
2、餌料代の割合が高い（7-8割）養殖業者への高い経済的負担
3、環境付加低減、食品安全性、動物福祉への対応の遅れ

生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発



現状の科学的課題

- 魚の必須栄養素を魚で供給。
- 魚の必須栄養素に由来する機能性代謝物が特定されていない。
- 魚の消化管研究は極めて少なく腸内細菌機能の解明や活用が不十分。

解決手段

- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵飼料を生産する。
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。
- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。

生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

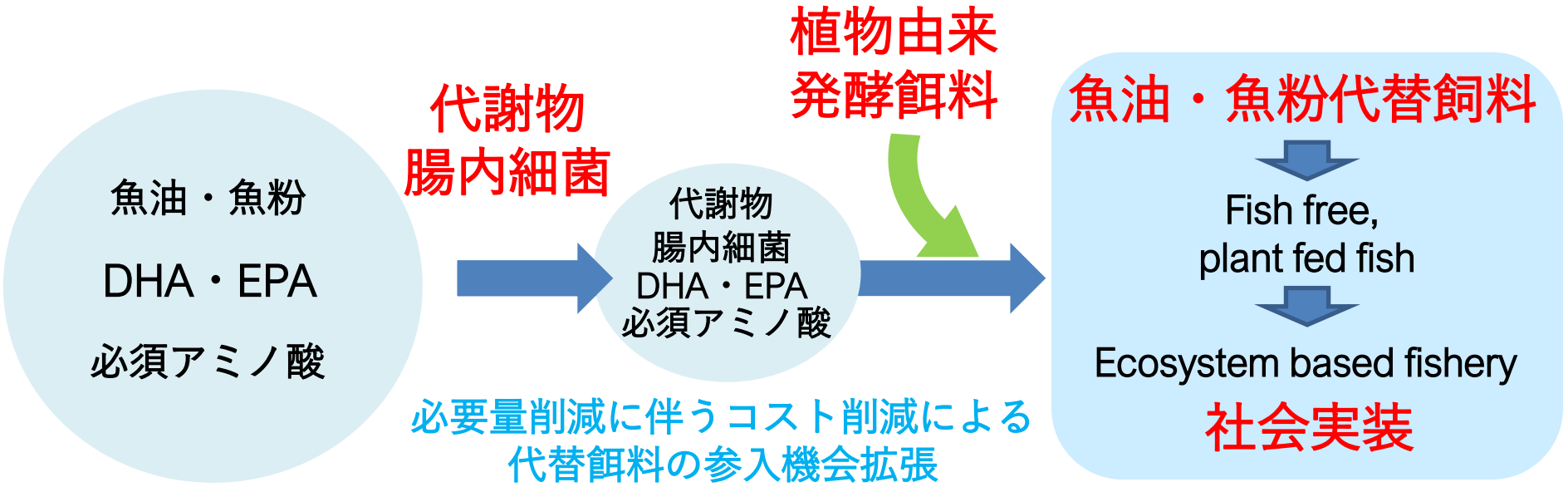
解決手段

- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。　**植物資源を活用したDHA・EPA含有餌料の生産**
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。

新規代謝物の検討

- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。

腸内細菌の検討



生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

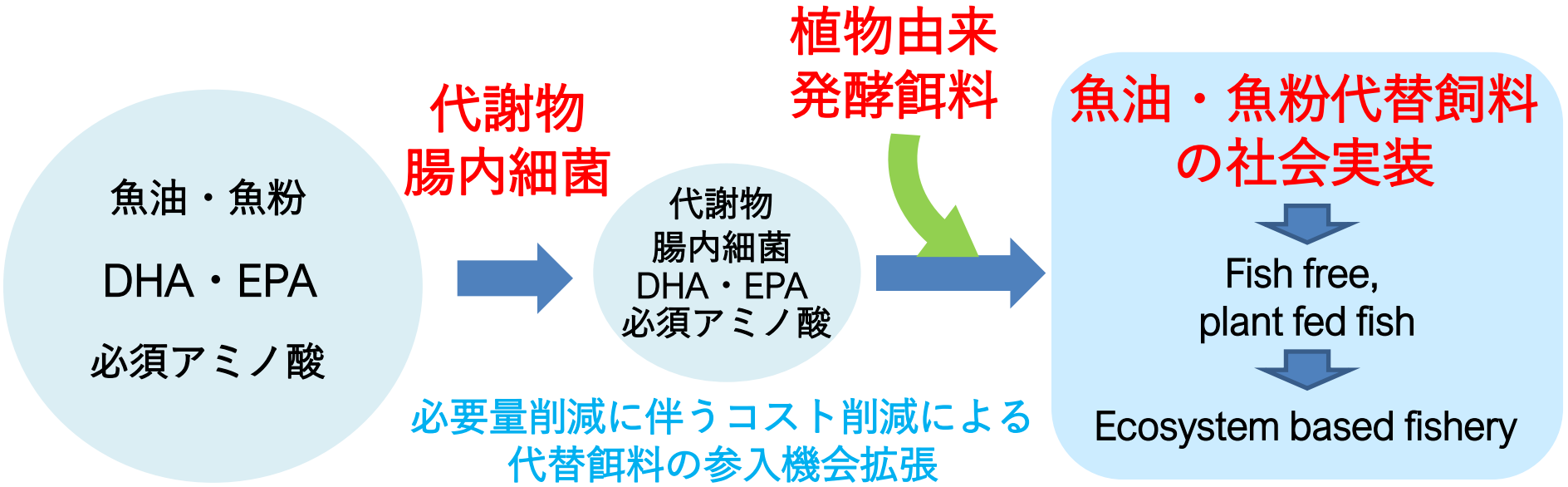
解決手段

- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。　**植物資源を活用したDHA・EPA含有餌料の生産**
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。

新規代謝物の検討

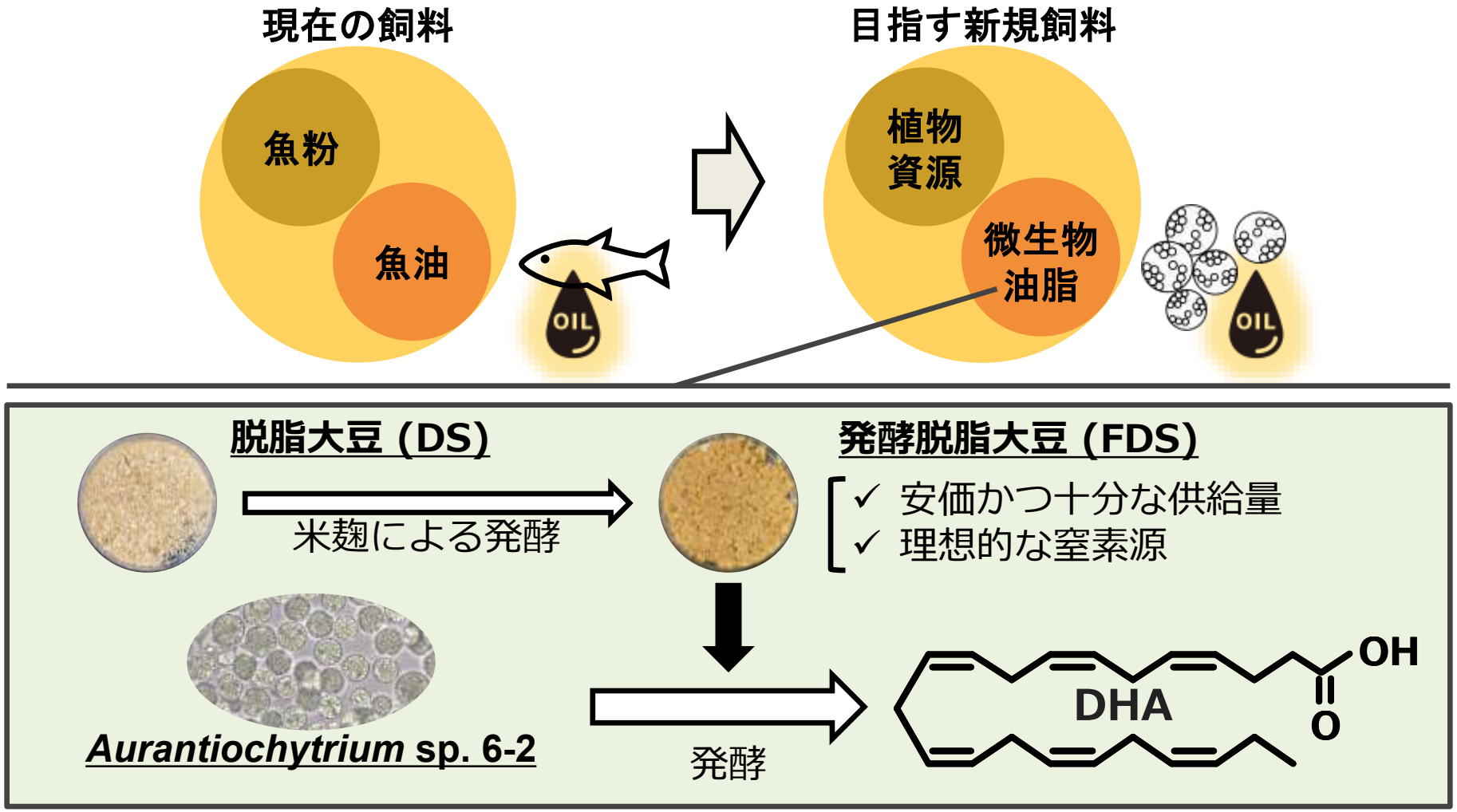
- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。

腸内細菌の検討



発酵DHA生産

■ 植物資源発酵物を活用した，魚油を使用しない新規飼料の開発による持続性が高い養殖業の実現

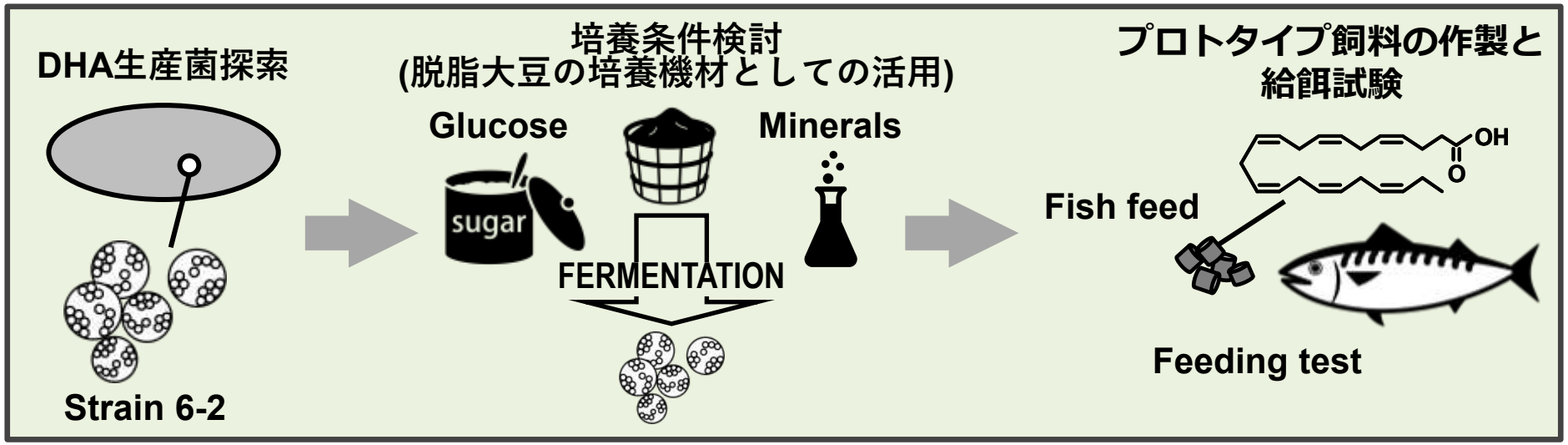


① DHA高生産菌の単離およびスクリーニング

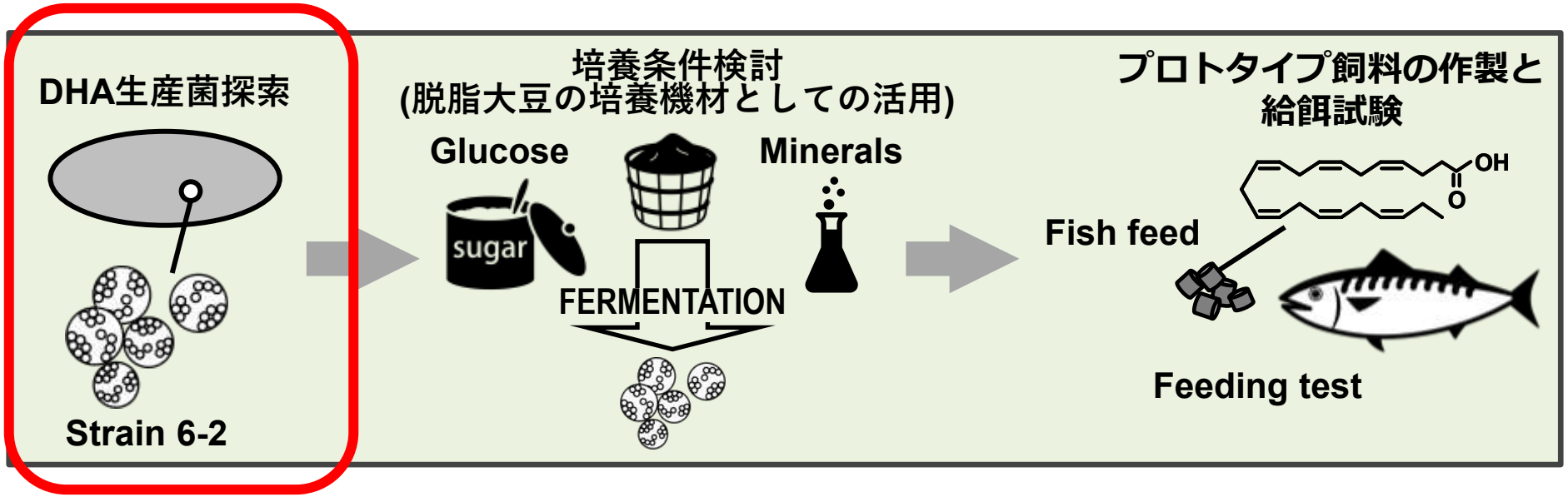
② DHA発酵生産における植物資源の窒素源としての利用可能性

③ DHA発酵生産に対し，無機栄養成分が与える影響

④ 実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験

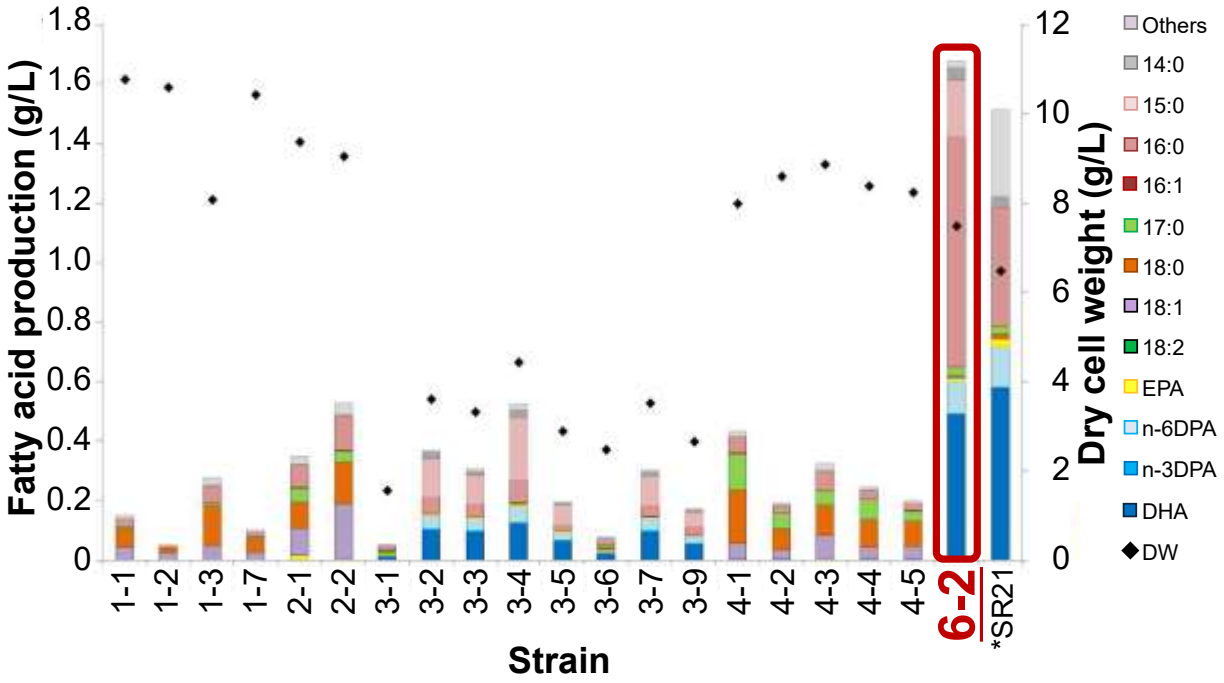


① DHA高生産菌の単離およびスクリーニング



DHA高生産菌の単離およびスクリーニング

Methods:



GYA medium:

Glucose	20 g/L
Yeast extract	10 g/L
Artificial sea salts	18 g/L

in 10 mL deionized water

Cultivation condition:

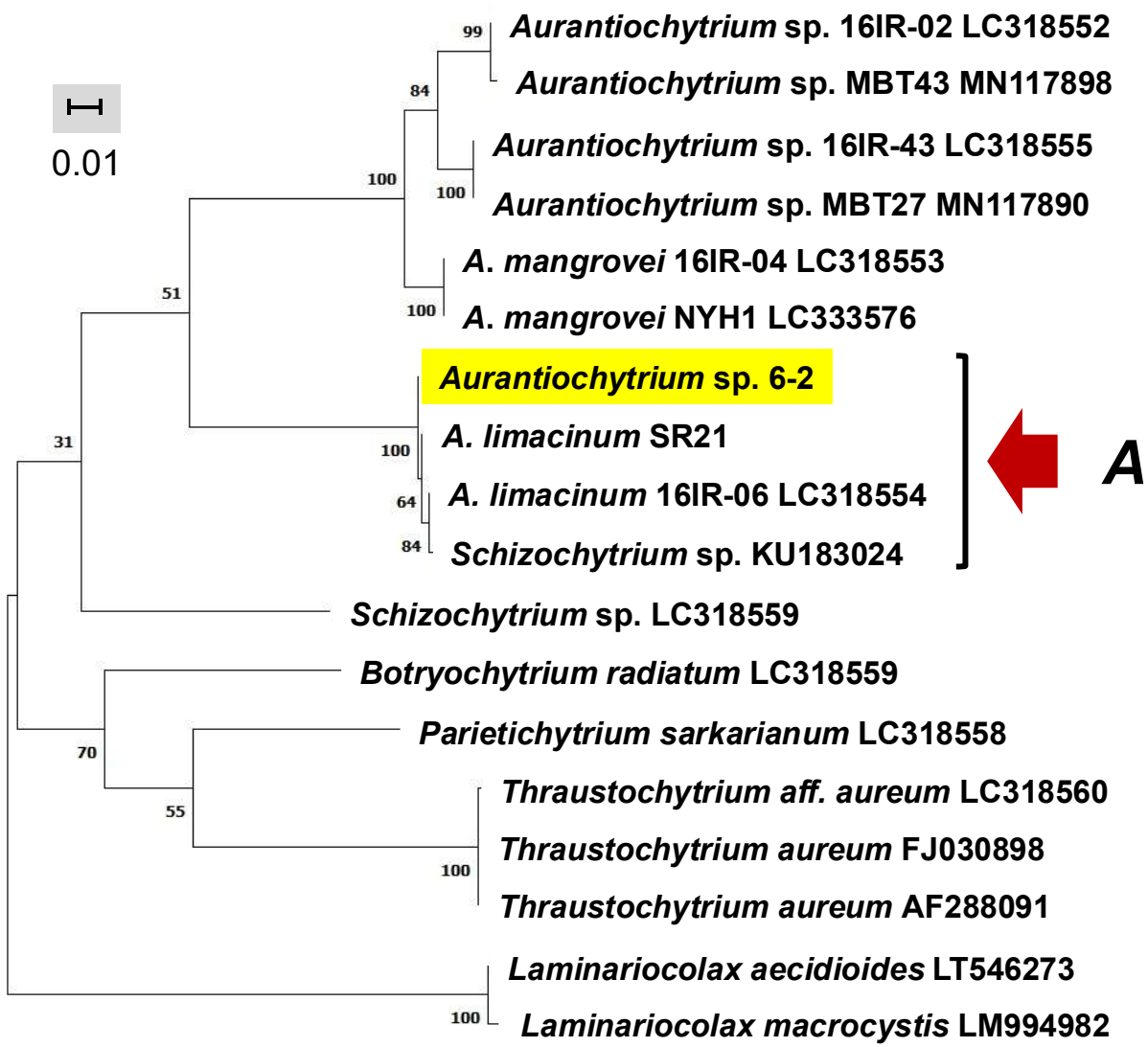
28 ºC, 300 strokes/min, 4 days

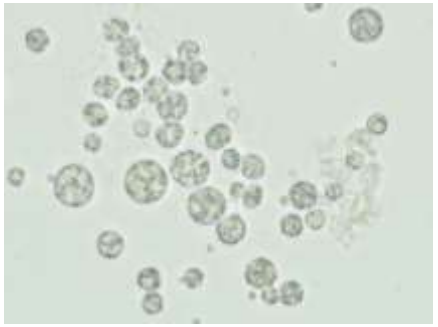
- *Aurantiochytrium limacinum* SR21 was used as a reference strain

- **既存の株よりも多く油脂を生産し，活発に生育する有望株（6-2株）を単離**

DHA高生産菌の単離およびスクリーニング

■ COI遺伝子における系統樹解析 (Nishitani & Yoshida, 2018)



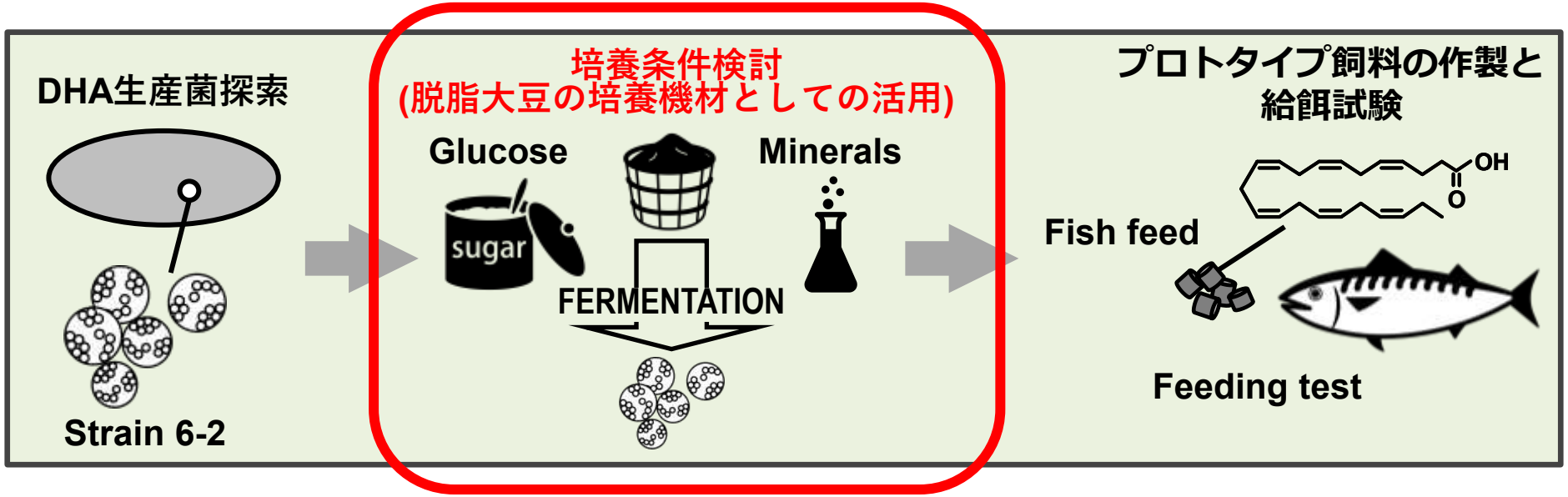


Aurantiochytrium sp. 6-2

***A. limacinum* cluster**

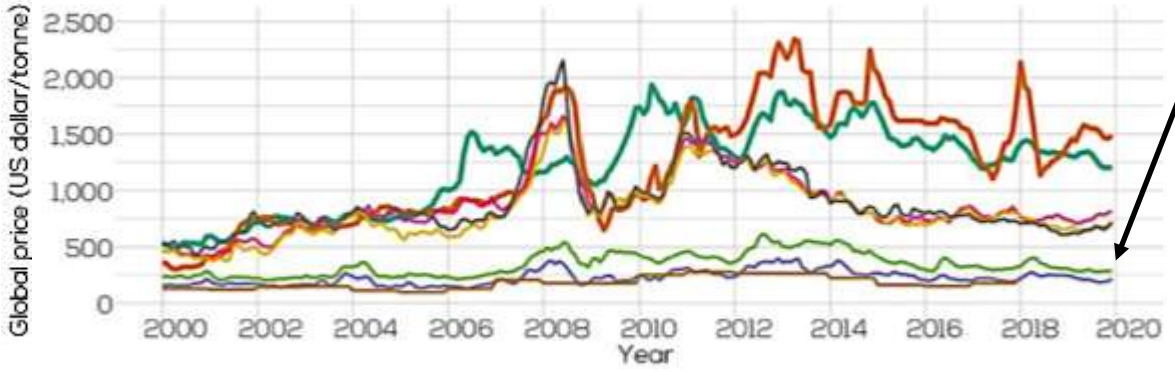
- COI: Mitochondrial Cytochrome *C* Oxidase Subunit I
- Phylogenetic tree was generated with the maximum likelihood method
- Bootstrap values are given as percentages of 1000 replicates
- The scale bar represents the number of substitutions per site

② DHA発酵生産における植物資源の窒素源としての利用可能性



DHA発酵生産における植物資源の窒素源としての利用可能性

■ 脱脂大豆 (DS)



DS

- 比較的安価な生産コスト
- 十分な供給量
- 持続可能な植物資源

(Naylor *et al.*, 2021)

■ 発酵脱脂大豆 (FDS)

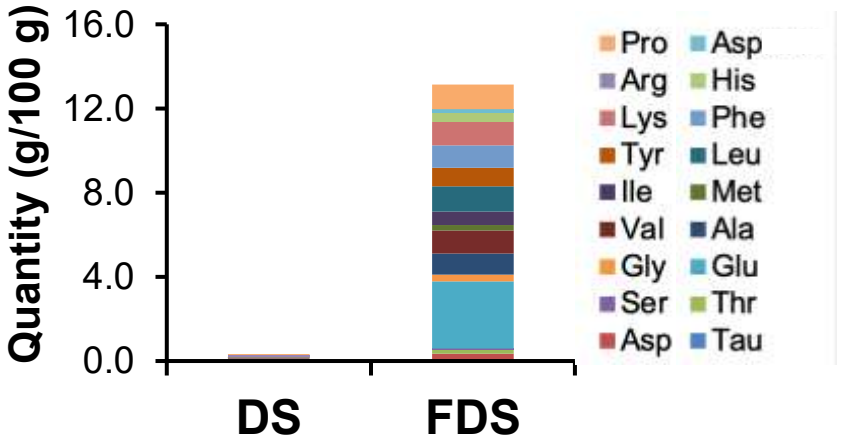
DS

40 ºC, 7 days

米麹による発酵

FDS

遊離アミノ酸量

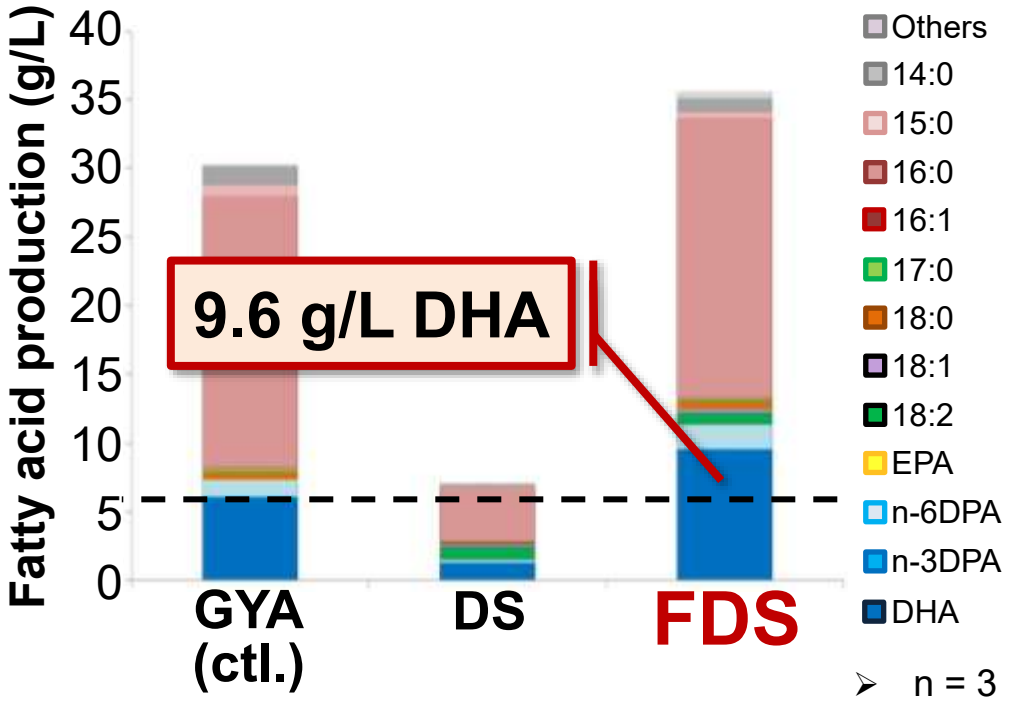


DHA発酵生産における植物資源の窒素源としての利用可能性

■ FDS培地におけるDHA生産量

Medium:	FDS/DS medium	GYA medium	
Glucose	150	150	g/L
FDS/DS	200	-	g/L
Yeast extract	-	20	g/L
Artificial sea salt	-	18	g/L
KH_2PO_4	3	-	g/L
Na_2SO_4	3	-	g/L
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.1	-	g/L
$CaCl_2$	0.3	-	g/L

in 5 mL deionized water

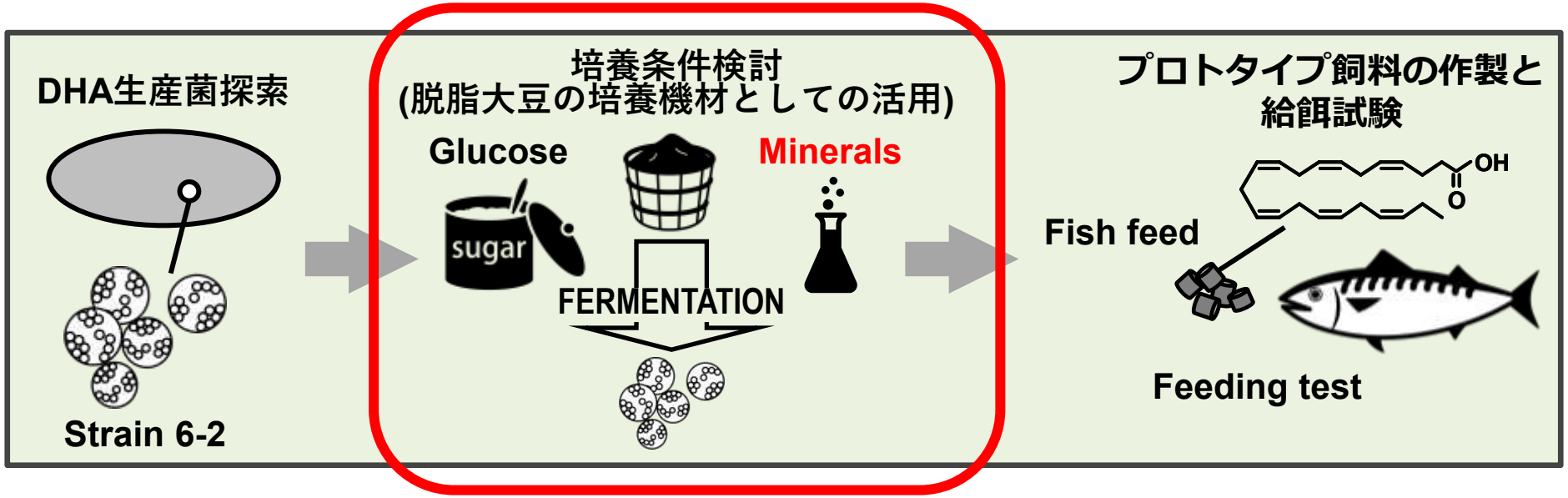


Cultivation conditions:

28 ˚C, 250 strokes/min, 4 days

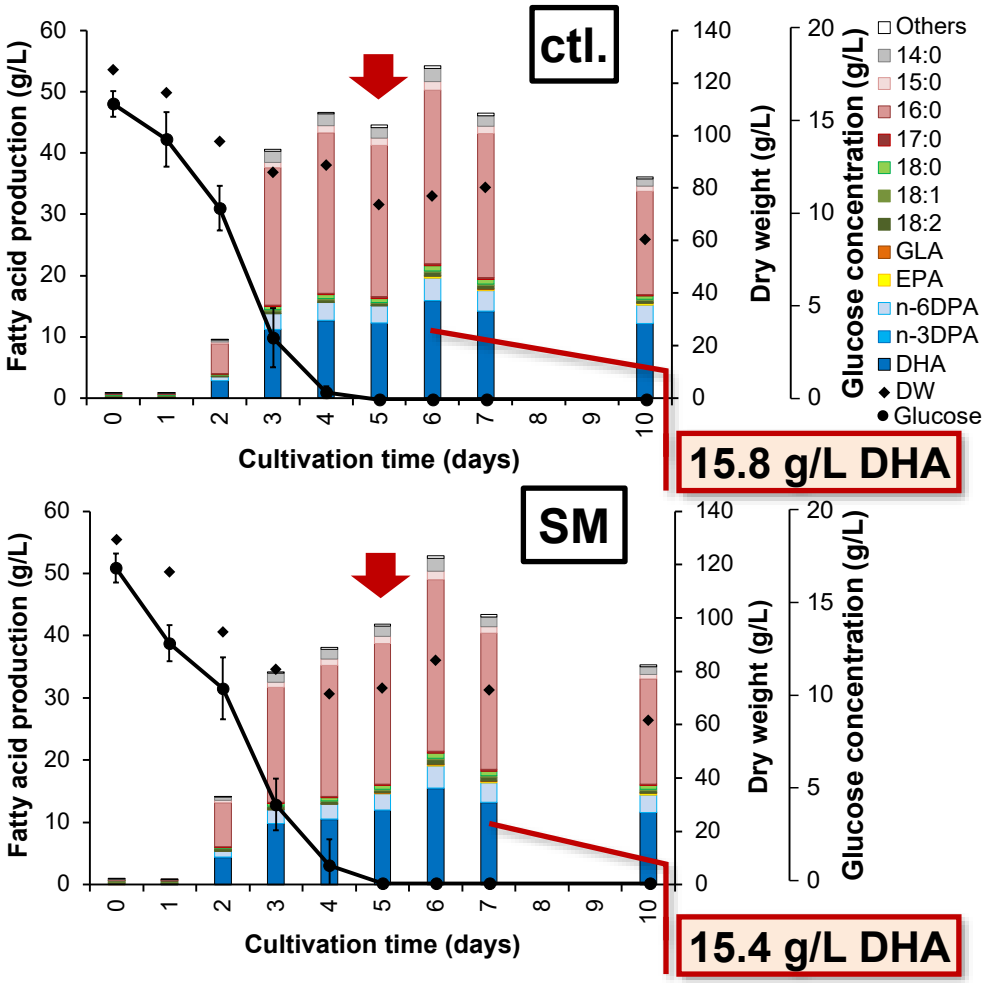
- **FDSは6-2株にとって優れた窒素源として機能した**

② DHA発酵生産における植物資源の窒素源としての利用可能性



DHA発酵生産に対し無機栄養成分が与える影響

■ 坂口フラスコを用いた1 LスケールでのDHA発酵生産



FDS medium:	ctl.	Simplified medium (SM)	
Glucose	150	150	g/L
FDS	200	200	g/L
KH_2PO_4	3	-	g/L
Na_2SO_4	3	3	g/L
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.1	**2.68**	g/L
$CaCl_2$	0.3	-	g/L

in **1000 mL** deionized water

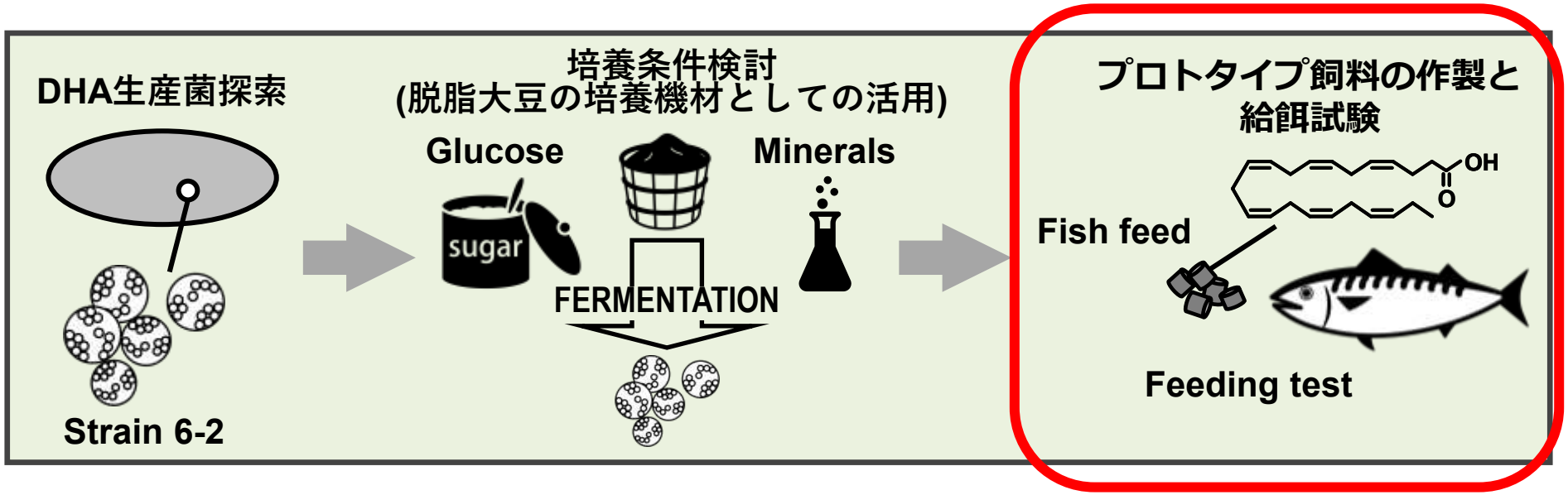
Cultivation conditions:

28 ˚C, **120 strokes/min**, 10 days

- n = 3
- Glucose depletion point is shown with a red arrow
- mean ± SD

- **標準FDS培地と単純化FDS培地におけるDHA生産量とグルコース消費量に有意な差は見られなかった (T-test, p< 0.05)**

④ 実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験



実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験

第1世代発酵DHA

液体培養
炭素源：グルコース
窒素源：発酵脱脂大豆（FDS）
単一菌培養系

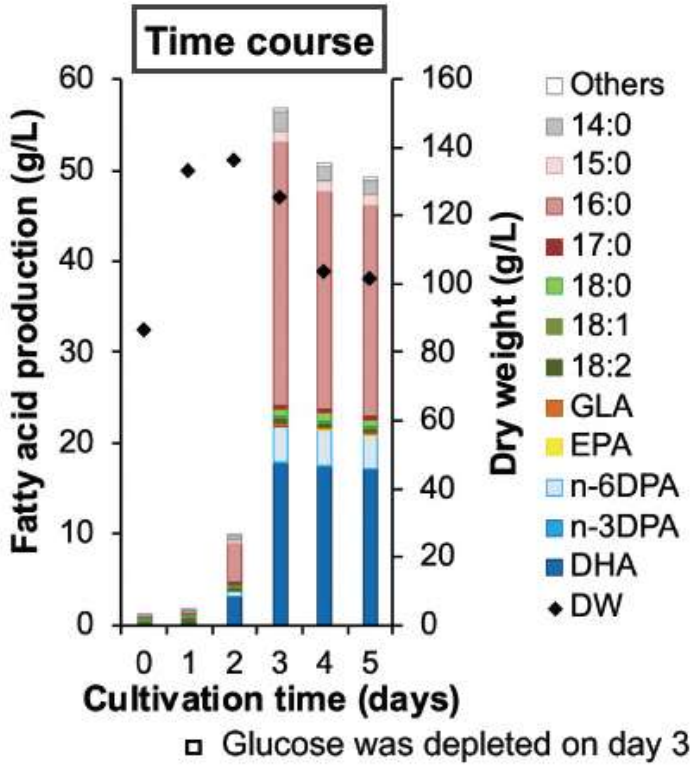
Strain:
Aurantiochytrium sp. 6-2

Medium:

Glucose	150	g/L
FDS	200	g/L
KH_2PO_4	3	g/L
Na_2SO_4	3	g/L
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.2	g/L
$CaCl_2$	0.3	g/L

in 5 mL deionized water

Cultivation conditions:
28 °C, 250 strokes/min, 5 days



DHA: 17.3 g/L

第2世代発酵DHA

液体培養
炭素源：可溶性デンプン
窒素源：発酵脱脂大豆（FDS）
共培養系

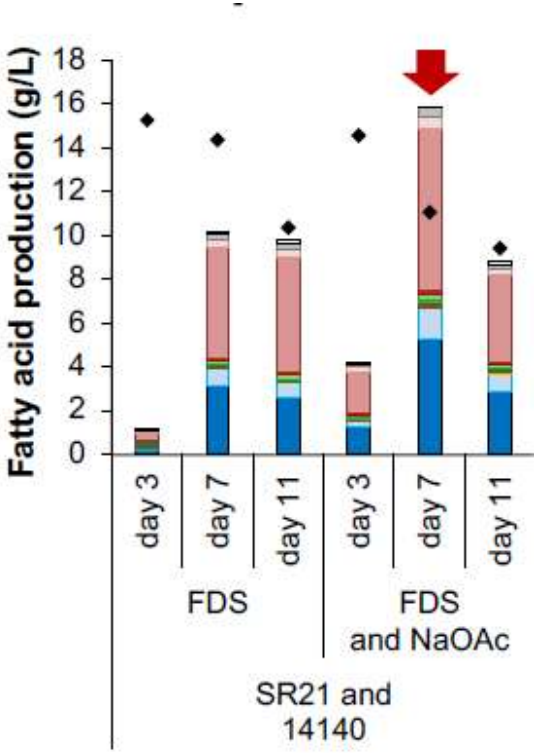
Strains:
- *A. limacinum* SR21
  ＋デンプン分解
  共培養株（14140）

FSS Medium:

Soluble starch	150	g/L
Fermented DS (FDS)	200	g/L
Sodium acetate	10	g/L
KH_2PO_4	3	g/L
Na_2SO_4	3	g/L
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.2	g/L
$CaCl_2$	0.3	g/L

in 5 mL deionized water

Cultivation conditions:
28 °C, 250 strokes/min, 0-11 days



DHA: 5.3 g/L

実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験

試験飼料（6週間）

試験区①：陽性対照（魚粉代替 20%）

第1世代発酵DHA

試験区②：発酵DHA 20％代替区（飼料中発酵DHA 2.8％添加）

試験区③：発酵DHA 30％代替区（飼料中発酵DHA 4.2％添加）

試験区④：発酵DHA 50％代替区（飼料中発酵DHA 7.0％添加）

第2世代発酵DHA

試験区⑤：共培養発酵DHA30％代替区（飼料中発酵DHA 4.2％添加）

試験区⑥：共培養発酵DHA30％代替区（飼料中発酵DHA 4.2％添加）

飼育個体数（1~2週：30、2~4週：18、4~6週：15）

結果

・発酵DHA（第1世代）50％代替区でも陽性対象区と同等の成長を示した。

・共培養発酵DHA（第2世代、可溶性デンプン活用可）でも30％代替で問題なく成長した。

実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験

安価で大量供給可能な大豆発酵物の導入

第3世代発酵DHA
液体培養
炭素源：グルコース
窒素源：安価で大量供給可能な大豆発酵物
単一菌培養系

試験飼料（6週間）

魚粉44％飼料（2割代替）

飼料1：陽性対照（飼料中DHA 2.3％）

飼料2：陰性対照（飼料中DHA 0.2％）

飼料3：**第3世代**発酵DHA **15％代替**区（飼料中DHA 2.4％）

飼料4：**第3世代**発酵DHA **28％代替**区（飼料中DHA 2.5％）

飼料5：**第3世代**発酵DHA **38％代替**区（飼料中DHA 2.8％）

飼料6：**第3世代**発酵DHA **53％代替**区（飼料中DHA 2.7％）

飼育個体数（1~2週：30、2~4週：20、4~6週：15）

- **第3世代発酵DHA代替（53% 代替）でも陽性対照と同等の成長を示した。**
- **試験試料⑥では、飼料中DHA 1.43％に相当、魚粉由来DHAを勘案すれば魚油は必要ない結果。**
  ⇒通常の魚粉中DHA：0.69-1.48％（平均1.01％（13検体））、今回、用いた魚粉は特別に脂質が少ないものを特別に製造した。

実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験

低水分含量素材開発のための固体発酵技術の導入

実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験

低水分含量素材開発のための固体発酵技術の導入

試験飼料（6週間）

魚粉44％飼料（2割代替）

飼料1：陽性対照（飼料中DHA 2.0％）

飼料2：陰性対照（飼料中DHA 0.2％）

飼料3：液体発酵DHA 20％代替区（飼料中DHA 2.0%）

飼料4：**固体発酵DHA type 1**(96 h) 20％代替区（飼料中DHA 2.0%）

飼料5：**固体発酵DHA type 2** (120 h) 20％代替区（飼料中DHA 2.0%）

飼育個体数（1~2週：30）

- **固体発酵DHA添加区でも問題なく生育。**

実用を目指したプロトタイプ飼料の作製と給餌試験

魚粉代替への取り組み

魚粉代替としての脱脂大豆（DS）ならびに発酵脱脂大豆（FDS）を評価する

試験飼料（6週間）

DHA（魚油ならびに魚粉由来の総量）は2%に統一

全ての試験区でタンパク質量は統一

飼料1：魚粉53%

飼料2：魚粉42%+DS14% （**25%代替**）

飼料3：魚粉37%+DS20% （**35%代替**）

飼料4：魚粉37%+DS14%+FDS4% （**35%代替、発酵脱脂大豆22%**）

飼料5：魚粉32%+DS27% （**46%代替**）

飼育個体数（0~2週：30、 2~4週：20、 4~6週：15）

- **脱脂大豆46%代替でも問題なく生育。**
- **35%代替では、発酵脱脂大豆（22%）の添加効果あり。**

生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

解決手段

・ 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。

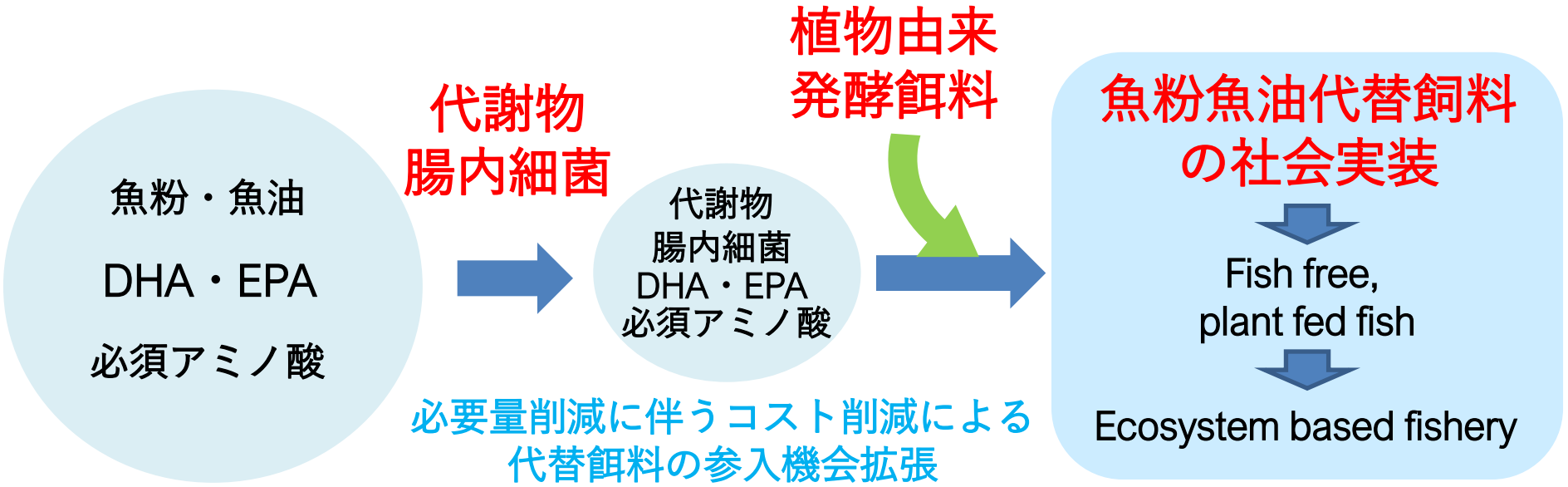
植物資源を活用したEPA・DHA含有餌料の生産

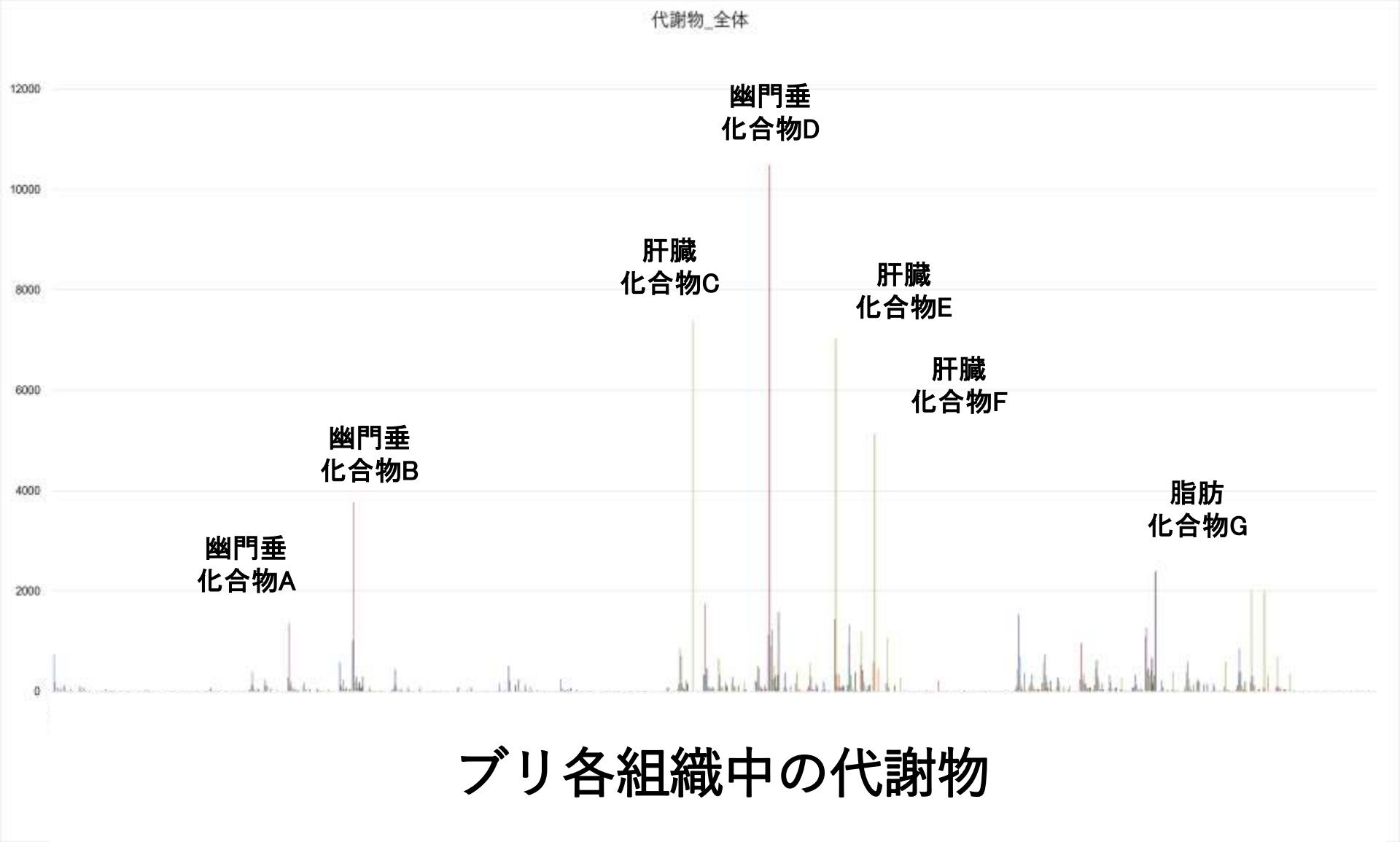
・ 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。

新規代謝物の検討

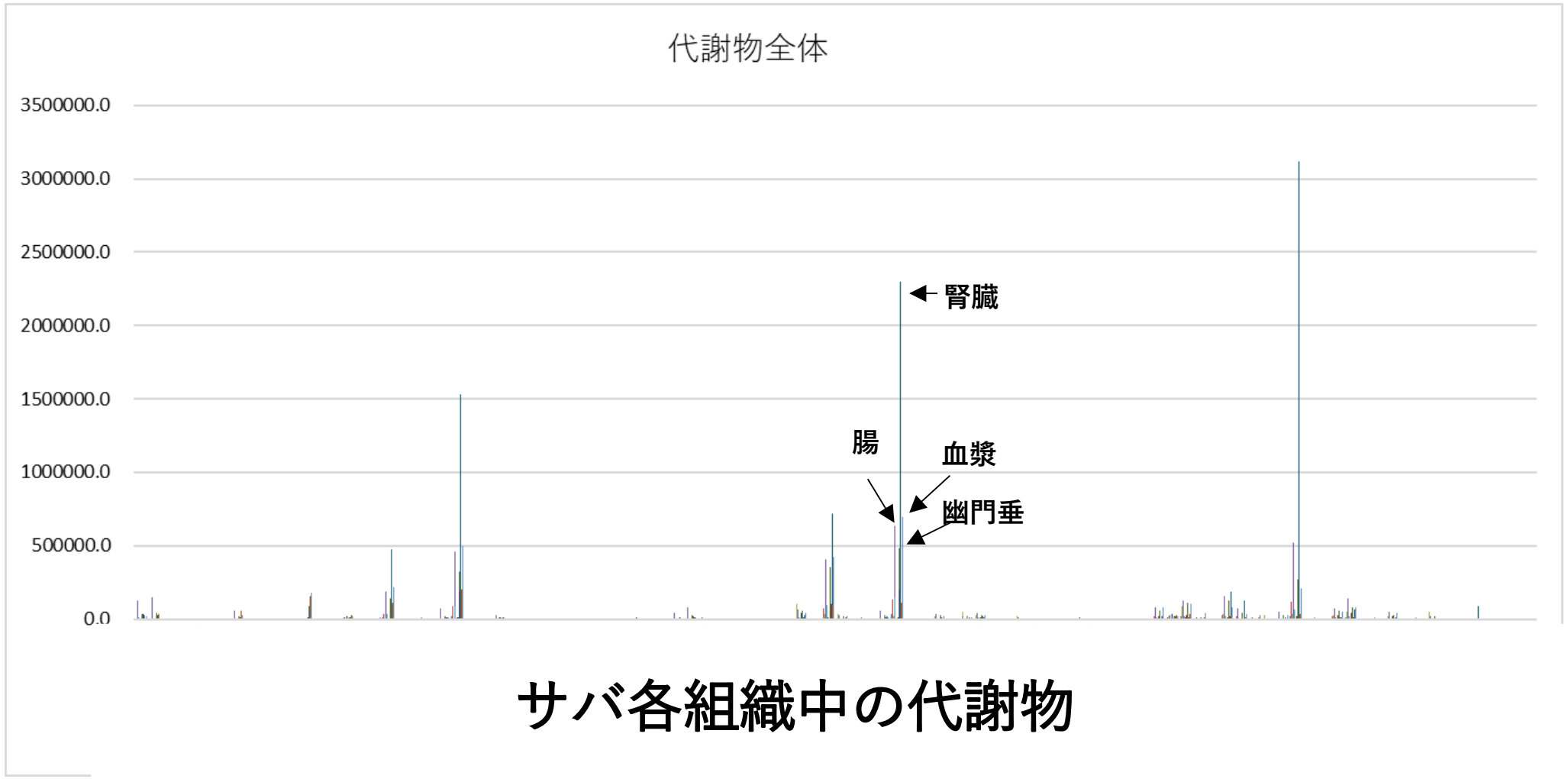
・ 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。

腸内細菌の検討




代謝物_全体
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
幽門垂
化合物D
肝臓
化合物C
肝臓
化合物E
肝臓
化合物F
幽門垂
化合物B
幽門垂
化合物A
脂肪
化合物G

ブリ各組織中の代謝物


代謝物全体
3500000.0
3000000.0
2500000.0
2000000.0
1500000.0
1000000.0
500000.0
0.0
腎臓
腸
血漿
幽門垂

サバ各組織中の代謝物

生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

解決手段

・ 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。

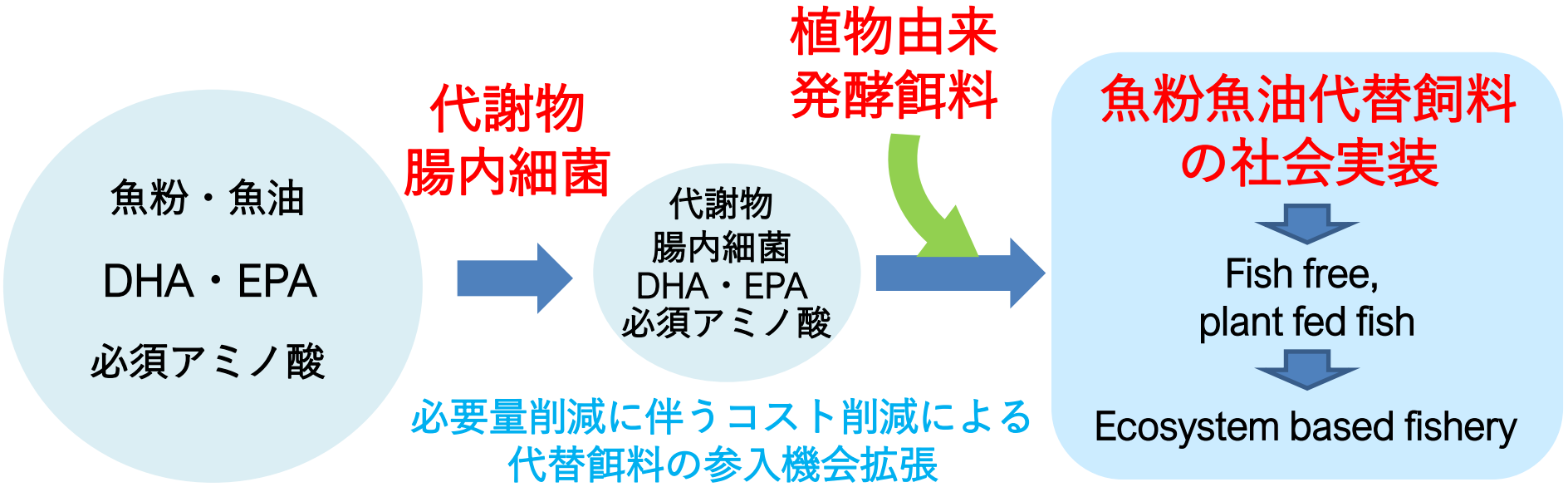
植物資源を活用したEPA・DHA含有餌料の生産

・ 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。

新規代謝物の検討

・ 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。

腸内細菌の検討



新規代謝物を誘導する腸内細菌を活用した新規飼料の開発

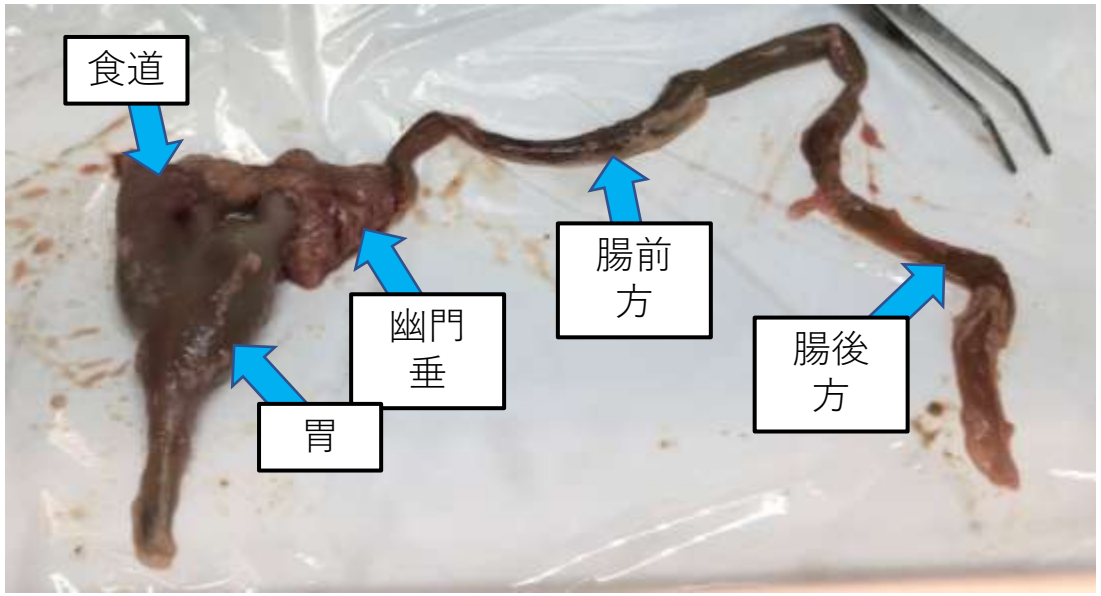
サバ消化管由来微生物の単離

幽門垂は内容物を掻き出すのが難しかったので、たたいて細かくして液体培地に植菌した。

＜採取部位例・大マサバ②＞

口

写真なし



生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

解決手段

- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。

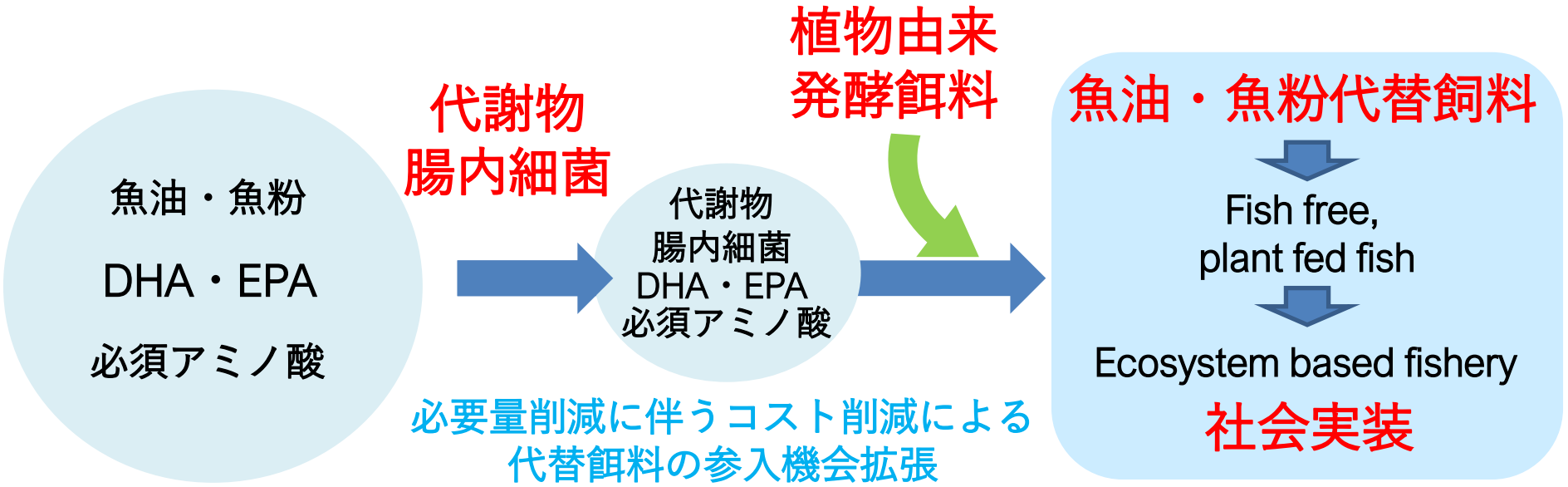
植物資源を活用したDHA・EPA含有餌料の生産
→脱脂大豆からの発酵DHA生産を達成
飼料中の魚油の全量、魚粉のおよそ40%代替を達成

- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。

新規代謝物の検討

- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。

腸内細菌の検討



JST未来社会創造事業：日本型持続可能な次世代養殖システムの開発

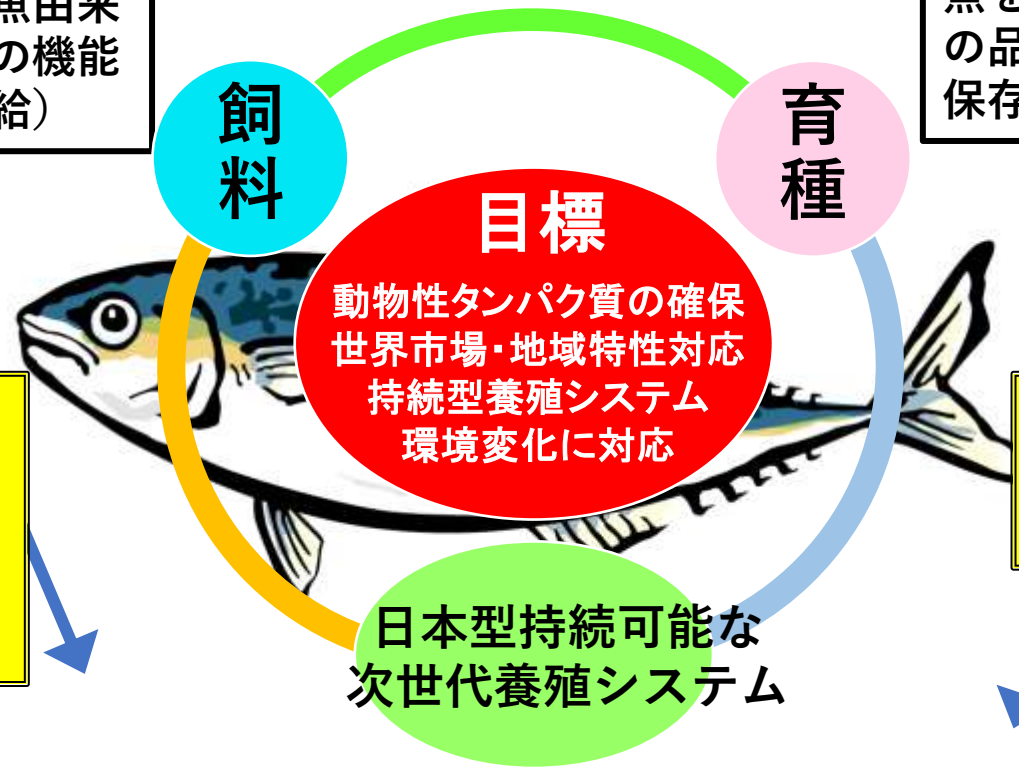
国立研究開発法人　水産研究・教育機構
中山一郎

JST MIRAI 未来社会創造事業

小川G(京大)
植物資源由来の飼料開発（既存の天然魚由来の飼料と同程度の機能・コストにて供給）

①開発した飼料に適合したサバの育種

吉崎G（東京海洋大）
高成長かつ健康な養殖魚を短期間で育種・その品種の保全と半永久保存法を開発



②半閉鎖式養殖システム内での給餌方法の最適化の検討

③半閉鎖式養殖システム内でのサバの行動特性の解析

北澤G(東大)
多様な環境、さまざまな魚種に適用できる養殖システムパッケージを設計