

地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)

(生物資源分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

「資源の持続的利用に向けたマグロ 2 種の産卵生態と 初期生活史に関する基礎研究」

(パナマ共和国)

国際共同研究期間^{*1}

平成 23 年 4 月 1 日から平成 28 年 3 月 31 日まで

JST 側研究期間^{*2}

平成 22 年 6 月 1 日から平成 28 年 3 月 31 日まで

(正式契約移行日 平成 23 年 4 月 1 日)

*1 R/D に記載の協力期間

*2 開始日=暫定契約開始日、終了日=R/D に記載の協力期間終了日又は当該年度末

平成 26 年度実施報告書

代表者： 澤田 好史
近畿大学水産研究所・大学院農学研究科・教授
<平成 22 年度採択>

I. 国際共同研究の内容（公開）

1. 当初の研究計画に対する進捗状況

項目	H22年度 (10ヶ月)	H23年度	H24年度	H25年度	H26年度	H27年度 (12ヶ月)
1. キハダと太平洋クロマグロの資源管理技術向上を目指した繁殖および初期生活史研究						
1-1 キハダとクロマグロの産卵生態解明	←					→
1-2 キハダの母系解析		←			→	* ←
1-3 キハダと太平洋クロマグロの初期生活史解明	←					→
2. キハダの養殖技術開発						
2-1 キハダ親魚遺伝管理のための遺伝子ツール開発	←					→
2-2 キハダ健康情報収集	←					→
2-3 キハダ親魚候補の捕獲と移送	←					→
2-3 法開発	←					→
2-4 キハダの人工孵化と生簀養殖		←				→
2-4 技術開発		←				→
2-5 キハダ消化器系の発育と餌料開発		←				→

*キハダの産卵停止が約1年続いたため、データ収集・解析が遅れることとなった。

2. プロジェクト成果の達成状況とインパクト

(1) プロジェクト全体

・プロジェクト全体のねらい、当該年度の成果の達成状況とインパクト等

1. プロジェクト全体のねらい

パナマ共和国を含む中米諸国では太平洋でのキハダとクロマグロの漁業、養殖業は重要産業であるが、資源量の大きな変動に加え、漁獲過剰と地球規模の気候変動による減少が危惧され、産業基盤が揺らいでいる。さらにこれら2種は日本にとっても重要な水産資源であり、それらの資源の持続的利用は重要課題である。本課題では両種の将来に亘る持続的な漁業に必要な資源管理技術向上と、キハダの天然資源に頼らない養殖技術確立を、パナマ共和国水産資源庁（ARAP）、日本およびパナマ共和国を含む21の国と地域が加盟する全米熱帯マグロ類委員会（IATTC）との共同研究で目指す。また将来これらの研究を担うパナマの若い専門家の育成も行う。

本課題における上位目標としては、1 つ目として、これまで広大な海域の調査や飼育試験が困難で不可能であったマグロ類 2 種の資源管理と養殖のための国際共同研究が可能であることを示し、今後の国際共同研究の機運を高めること、またそれを日本の研究機関がリードすることで、科学技術外交における日本のプレゼンスを高めることにある。2 つ目としては、日本で発達したマグロ養殖技術を、日本国内の養殖産業と競合しないかたちで海外事業展開を図ることで、日本の養殖企業が国外展開を図れる基盤をつくることにあり、そこではまた日本で養殖を学んだ若い技術者・研究者が、将来海外で事業展開する企業で職を得る機会が増えることが期待される。

2. 当該年度の成果の達成状況とインパクト

平成 26 年度は、キハダの陸上水槽での飼育が、生み出される受精卵の卵質が悪く不調で、稚魚が必要数飼育できず、予定したキハダの研究のうち、キハダの海面生簀での幼魚飼育試験、その成長段階での餌料試験、海面飼育時の魚病の発生状況調査、海面飼育の環境負荷調査ができなかった。それ以外の項目に於いては、概ね予定された研究がなされた。

これまで達成された成果が徐々に国内マスコミ、関連分野諸機関に浸透し、マスコミでの紹介や、プロジェクト内容等の講演の招聘が多くなった。このことはプロジェクトの意義と必要性についての正しい理解が日本国民に得られてきていることを意味している。平成 26 年に、太平洋クロマグロについては、その天然資源量の歴史的な低水準までの減少が、マグロ類資源管理国際委員会から公表され、日本政府は幼魚の漁獲量を半減するなどの措置をとることを決めたため、これが大きくマスコミで取り上げられた。そのようななかで、太平洋クロマグロとキハダの資源管理に資することを目的の 1 つとする本プロジェクトには大きな関心が寄せられている。このことは、同じ太平洋に面し、太平洋クロマグロの流通が重要な産業となっているパナマ共和国政府内でも同様で、プロジェクトへの参画の優先度が増している。

また、平成 26 年度秋の合同委員会では、相手国機関であるパナマ水産資源庁、国際機関の全米熱帯マグロ類委員会ともに、本プロジェクトの活動の、プロジェクト終了後の継続を望むことが確認され、その方策を具体的に探ることが合意されている。

(2) 初期発育解明と飼育技術開発チーム

① 研究のねらい

魚類の資源量は、卵、仔稚魚期に初期減耗が起きることで大きく変動することが知られている。このため、資源管理研究では、仔稚魚期の生残過程を明らかにすることが大変に重要である。本研究チームは大規模回遊魚のクロマグロおよびキハダ仔稚魚の生態的特徴について種間比較を行い、初期減耗の原因を解明するとともに、キハダの資源増強の基礎知識を得ることを目標にしている。具体的にはキハダとクロマグロの卵、仔魚、稚魚、幼魚期までの天然海域での成長、発育、生残の様相、特にこれらと環境要因および餌料との関係を両種で比較しつつ明らかにすることを目的の一つとしている。また、キハダの人工孵化・養殖技術の基盤整備のために飼育下での成長、発育、生残の様相とそれらの改善策を開発することをもう一つの目的としている。

本年度の研究は、下記の研究グループ、PO 毎にそれぞれ検討した。

A 卵発生(PO3-1-1)

自然産卵により得られた受精卵の形態形成過程を追跡するとともに、胚期の各発生段階における始

原生殖細胞の動態を調べた。

B 仔稚魚の環境適応能の発達(PO3-1-7)

仔稚魚の環境変化が生残に及ぼす影響を推察するには、各種環境負荷に対する耐性および応答を調べる必要がある。本年度は、昨年度に引き続いてクロマグロおよびキハダ仔稚魚を飼育し、紫外線に対する耐性を調べた。キハダの水溫耐性については、以前に実施した試料の測定等を行うこととした。

C 視覚の発達過程(PO3-2-1~PO3-2-4)

キハダとクロマグロ仔稚魚の自然環境下における適切な生息環境を推察するには、それぞれの魚の視覚特性と光情報に対する行動、飼育成績を詳細に調べる必要がある。本年度は、昨年度に引き続いて、視物質オプシン遺伝子の同定と仔稚魚期における各種視物質オプシン遺伝子の発現解析を進めた。また、仔稚魚の遊泳行動等に及ぼす光波長の影響を調べた。

D キハダの消化酵素の発達(PO3-1-6)

キハダ消化酵素遺伝子をクローニングして仔稚魚の成長に伴う発現をクロマグロと比較することにより、キハダ初期飼育のための基礎的知見を得ようとした。

E キハダの飼育環境(PO4-4-1)

初期生残の中でも給餌が始まる前までの期間の生残は、卵質に左右されることとしてあまり飼育水環境の問題として評価・検討されてこなかった。本課題ではここに注目し、この期間の生残の評価を行うと同時に、飼育水の微生物環境を制御することでそれを向上させる事を試みる。

F キハダの初期飼育 (PO4-4-1)

クロマグロの仔魚飼育において初期減耗、特に浮上斃死と沈降死による減耗については多くの研究がなされている。浮上斃死の防止策として水表面への油膜形成により仔魚と水表面(空気)との接触を防ぐ方法がクロマグロを始めハタ類の初期飼育でも用いられるが、水表面への油膜形成は鰓開腔を阻害し結果として沈降死を助長しかねない。クロマグロの仔魚飼育ではこの油膜除去のタイミングが重要かつ限られた期間にしか鰓開腔しない事が分かっているがキハダでは知見がない。そこで、キハダの浮上死防止実験を行った。

G 仔稚魚の共食い発生要因(PO4-4-1)

キハダとクロマグロ仔稚魚は、自然環境下でも飼育環境下でも、攻撃行動や共食いが多発するが、その発生原因については不明な点が多い。本年度は昨年度に引き続き、仔稚魚の形態測定を行い、共食いが可能な体サイズについて検討した。また、クロマグロの飼育水溫と攻撃行動との関係も検討した。

②研究実施方法

A 卵発生(PO3-1-1)

観察材料には、陸上親魚水槽で 22~23 時に自然産卵された受精卵を採取して、水溫 26.0℃で培養した発生卵を用いた。孵化までの間、胚期の形態形成状況と発生段階の決定を行うとともに、5分ごとに発生卵を採取してブアン氏液で固定した。それらのうち胚期の各発生段階の卵を常法で 6 μm 厚のパラフィン切片として器官形成過程と始原生殖細胞の動態を観察した。

B 仔稚魚の環境適応能の発達(PO3-1-7)

クロマグロ仔魚を近畿大学農学部で飼育し、紫外線に対する半数致死濃度をそれぞれ調べた。また、アチョチヌス研究所のキハダ卵およびふ化仔魚を用い、紫外線に対する半数致死濃度をそれぞれ調べ

た。キハダの水温耐性については、顕微鏡カメラと計測ソフトを用い、以前に実施した試料の形態測定等を行った。

C 視覚の発達過程(PO3-2-1~3-2-4)

キハダ視物質オプシン遺伝子の同定は、既報のクロマグロオプシン遺伝子配列を参考にプライマーを作成し、仔稚魚期における各種視物質オプシン遺伝子の発現解析を進めた。また、昨年引き続き、仔稚魚の遊泳行動に及ぼす光波長の影響を調べるため、波長の異なる各種 LED 下で仔稚魚の遊泳行動を調べ、遊泳速度、摂餌量等をそれぞれ測定した。

D キハダの消化酵素の発達(PO3-1-6)

孵化後 20 日齢のキハダより消化酵素（アミラーゼ、キチナーゼ、トリプシン、キモトリプシンおよびペプシン）の cDNA をクローニングし、全長の塩基配列を決定してアミノ酸配列を推定するとともに、孵化後 30 日目までの仔稚魚におけるそれら遺伝子の発現を RT-PCR 法により調べ、すでに解析済みであるクロマグロと比較した。

E キハダの飼育環境(PO4-4-1)

ふ化直後のキハダ仔魚を 3 種類の飼育水を用意した試験水槽に収容し、給餌開始期（ふ化後 3 日目）までの生残を観察・比較した。飼育水には、現地で培養したナンノクロロプシス培養液（以下ナンノ）または市販の冷蔵濃縮ナンノを添加した。また、何も添加しない（通常の飼育法、対照区）飼育水も用意した。摂餌開始（ふ化後 3 日目、餌料の投餌はしないで終了）時の生残尾数を計数し初期生残への影響を検討した。

F キハダの初期飼育 (PO4-4-1)

キハダの飼育技術開発特に鰾開腔の促進を目的とし、まずは浮上斃死を油膜形成により防除できるのか検討した。また水表面への油膜形成が鰾開腔を阻害するのか飼育試験を行い成長・生残等を比較した。これらの知見を基に適切な油膜除去のタイミングを検討する為の予備試験を行った。

G 仔稚魚の共食い発生要因(PO4-4-1)

本年度は昨年度に引き続き、仔稚魚の全長、体長、体高、上鰭長、口径等の形態測定を行い、共食いが可能な体サイズについて調べた。また、異なる飼育水温下でクロマグロ仔魚を飼育し、複数の観察者で攻撃行動等を測定した。

③当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

A 卵発生(PO3-1-1)

26℃における胚期の発生段階の進行を詳細に観察した。発生開始後、卵割期は 20 mpf（受精後分）、胞胚期は 110 mpf、原腸胚期は 270 mpf、体節形成期は 610 mpf にそれぞれ始まり、孵化は発生開始後ほぼ 1380~1440 mpf（23~24 時間）で起こった。本種の胚発生過程の進行は、クロマグロ（26℃、孵化 30 時間）と比較すると、後期胞胚に入る時間がやや遅く、逆に後期胞胚から胚環形成に至る時間はやや速いこと、またその後の被覆運動にかかる時間はクロマグロの約 2 倍かかり、その分 20 体節期までの体節形成にかかった時間がキハダではクロマグロの約 1/2 と著しく速く進行したことで異なっていた。

また、これまで行ってきたキハダの生殖巣形成過程に続く胚発生過程における生殖細胞の起源を調べる目的で、孵化期以前の胚期の一部における始原生殖細胞の動態を調べた。80%被覆期には側板の細胞延長部と卵黄細胞膜の間に観察されたが、眼胞形成期には側板近傍に移動し、20 体節期から 30

体節期には体節下部に移動し、孵化期には消化管後端の左右側部に8~10個集中して存在することがわかった。しかしそれ以前の動態については、始原生殖細胞が他の胚細胞と判別が困難なことから、生殖細胞において特異的に発現する本種の *vasa* 遺伝子をクローニングし、発現解析用プローブを作製して、さらなる解析準備を進めるとともに、この解析に用いる胚期の各発生段階および10日齢までの初期発育期のサンプルの採取を新たに今年度6月に行った。現在、発現の解析を進めている。

B 仔稚魚の環境適応能の発達(PO3-1-7)

クロマグロの紫外線耐性に関しては、近畿大学農学部キャンパスで飼育した仔魚を用い、当初の計画に従って実施することができた。キハダの紫外線耐性については、アチョチヌス研究所での卵およびふ化仔魚を用いて実施したが明瞭な結果は得られなかった。キハダの水温耐性については、以前に実施した試料の測定し、データ解析を行った。

C 視覚の発達過程(PO3-2-1~PO3-2-4)

クロマグロ仔稚魚の発育に伴う視物質オプシン遺伝子の発現解析を進めた。キハダの視物質オプシン遺伝子の配列を解読し、同定を行うため、現在は作成したcDNA遺伝子の構造解析を継続している。また、昨年が続いてクロマグロ仔魚を農学部キャンパスで飼育し、遊泳行動に及ぼす各種LED光の影響を調べたところ、再現性が確認された。

D キハダの消化酵素の発達(PO3-1-6)

アミラーゼおよびキチナーゼ遺伝子を各1種類ずつ、トリプシンの前駆体であるトリプシノーゲン、キモトリプシンの前駆体であるキモトリプシノーゲンおよびペプシンの前駆体であるペプシノーゲン遺伝子を各2種類ずつの塩基配列をそれぞれ決定し、分子系統樹を作成したところ全ての遺伝子がクロマグロと同じクラスターに位置し、いずれの消化酵素もクロマグロとその構造が類似していることが推測された。消化酵素遺伝子の発現時期もクロマグロとキハダでは類似していたが、発現の開始がキハダの方がわずかに遅い可能性が考えられた。

E キハダの飼育環境(PO4-4-1)

今回試験における飼育事例では、摂餌開始までに対照区でも半数の仔魚が死亡している事が確認された。市販の濃縮ナンノを添加した事例では飼育成績のばらつきが大きくなり、その添加が飼育水環境を不安定化させる可能性が示唆された。また、培養したナンノも生残が対照区よりも劣るケースもみられ、添加量の過多や培養液のコンディション不良などの条件下では、飼育水環境を悪化させる要因となりうると考えられた。この点については繰り返し試験をする必要がある。ふ化から摂餌開始までの期間は、生残尾数の検討があまり行われておらず、飼育水の管理という考え方もほとんどない期間である。この期間の生残以上に沖出し稚魚が生き残ることはあり得ないので、今回の結果は有用な知見となると考える。

F キハダの初期飼育 (PO4-4-1)

キハダの飼育技術開発に向けて浮上斃死の防止方法と、生残の関係を明らかにする為の基礎的な知見を得る事ができた。適切な油膜除去のタイミングを検討したが再現性を確認する為にも追試する必要がある。

G 仔稚魚の共食い発生要因(PO4-4-1)

クロマグロ仔稚魚の全長、体長、体高、上鰭長、口径等の形態測定を行った。そのデータをもとに、共食いができる魚体差について調べ、飲み込が可能な大きさを求めることができた。また、水温によって攻撃行動の発生頻度に変化のあることが示唆された。

④初期発育解明と飼育技術開発チームのカウンターパートへの技術移転の状況

B 仔稚魚の環境適応能の発達(PO3-1-7)

キハダについては、実験に必要な仔稚魚が十分に採取できなかったため、以前に実施した試料で未測定の数値やデータ解析を中心に進めた。また、論文作成に関する技術の指導に努めた。

E キハダの飼育環境(PO4-4-1)

微生物解析用の試料の採取および作成技術について習熟してもらった。また、初年度より継続して、キハダ仔魚を共同で実施しており、仔魚飼育の技術についても習熟が見込まれている。

F キハダの初期飼育 (PO4-4-1)

CP(Angel Guillen 氏)自身が主体的にクロマグロの知見を基にしてキハダでの飼育試験の立案から実施まで行い、飼育技術やデータ解析・取り纏め方法等の技術移転を行った。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

B 仔稚魚の環境適応能の発達(PO3-1-7)

クロマグロに関して、カウンターパートの ARAP スタッフが指定時期に日本国内に派遣される事が困難となり、近畿大学スタッフのみで一部を実施した。また、キハダについては、実験に必要な仔稚魚が十分に採取できなかったため、以前に実施した試料の測定やデータ解析を中心に進めた。いずれも当初計画では想定していなかったが、代替処置でいくらかは対応できた。

D キハダの飼育環境(PO4-4-1)

仔魚の初期生残を検証する実験系のため、キハダ親魚が産卵していることと、初期餌料生物（シオミズボウムシ）が安定して生産されていること、の二点が整っていることが望ましい。しかし、これらは完全に予定どおりになるとは限らない（いずれも生物であるため）ので、試験が十分にできない場合があった。この点については、摂餌開始までの期間を実験対象としたり、ナンノクロロプシスの培養条件についても検討対象に含めたりすることで、仔魚や餌料生物が不足している期間に研究の進行が滞る事態を回避できたと考えている。

(3) 産卵生態研究チーム

①研究のねらい

キハダと太平洋クロマグロの資源予測技術向上を目指した天然海域での年毎の産卵状況の把握法開発と、キハダの人工孵化・養殖技術の基礎となるキハダ親魚の飼育下での産卵生態解明、系統判別と育種のための基盤整備を目指している。平成 25 年度はこれらの本格的な研究を継続した。内容としては、1. キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集 (PO 1-1. ~1-4.)、2. キハダと太平洋クロマグロの母系解析 (PO 2-1、PO2-2)、3. 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備 (PO 4.1 : PO 4-1-1~PO4-1-7) である。

A キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集 (PO 1-1~PO1-4)

B キハダと太平洋クロマグロの母系解析 (PO 2-1.~2-2.) 北太平洋におけるクロマグロ *Thunnus orientalis* およびキハダ *T. albacares* について、資源管理を行う上で重要な情報となる遺伝的集団構造の把握を行う。

C 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備 (PO 4.1 : PO 4-1-1~PO4-1-7)

- ・キハダ BAC ライブラリーは整備済 (PO 4-1-1)。
- ・これまでにキハダ肝臓、幽門垂、頭腎由来 cDNA、クロマグロの肝臓、幽門垂、脾臓由来クロマグロ cDNA 情報を得た。これに加え、生殖腺生理状態の指標として、雌雄生殖腺の転写産物の配列を 2015 年 1 月より分析中である。分析は年度内に修了する (PO 4-1-2)。
- ・クロマグロおよびキハダについて、様々な遺伝的解析に応用可能であるマイクロサテライト領域を増幅するためのプライマーの開発を行う (PO4-1-3)。
- ・クロマグロおよび BAC と Gene pool が完成したことで、両種の遺伝子配置解析の基礎が出来た (PO 4-1-4)。
- ・筋肉形成に関わる GH、IGF および MyoD 遺伝子のクローニングと発現解析プローブの開発を行う (PO4-1-5、PO4-1-6)。
- ・キハダ雌雄判別 DNA マーカーは産卵新魚群編成に有効である。まずはクロマグロ性に連鎖した断片の情報をキハダに適用することを考えた (PO 4-1-7)。

②研究実施方法

A キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集 (PO 1-1~PO1-4)

B キハダと太平洋クロマグロの母系解析 (PO 2-1、PO2-2)

2-2北太平洋の東西からクロマグロおよびキハダを採集し、ミトコンドリア (mt) DNA およびマイクロサテライト領域の解析を行い、両種について北太平洋の東西の集団間における遺伝的差異の有無を明らかにする (PO2-1)。

C 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備 (PO 4.1 : PO 4-1-1~PO4-1-7)

- ・新鮮なキハダ精巢を地元漁師(串本町)より譲渡して頂き、BAC ライブラリー作成に至った (PO 4-1-1)。
- ・クロマグロの新鮮な内臓および生殖腺を得て、total RNA を抽出した。次世代シーケンサーで情報取得し、得られたデータをアッセンブルした。生殖腺分については今年度末までに配列データ取得する。他臓器については既に終了した。cDNA バンクをデータとして収集した (PO 4-1-2)。
- ・クロマグロおよびキハダの BAC クローンを作製し、両末端の塩基配列を決定する。得られた塩基配列からマイクロサテライト領域を探索し、それらを増幅するための PCR プライマーを開発する (PO4-1-3)。
- ・GH、IGF、MyoD の各 cDNA のクローニングを行うため、脳、肝臓、筋肉の採取および、mRNA の抽出と cDNA 合成、および特異的配列の解読と 5'、3'RACE を行い、cDNA の塩基配列の解読を行うとともに、解読配列からの発現解析用プローブの開発と、実際の初期発育期における発現解析を行う (PO4-1-5、4-1-6)。
- ・クロマグロ雌雄に特徴的な DNA を詳細に調べ、キハダに適用する予定 (PO 4-1-7)。

③当初の計画 (全体計画) に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

A キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集 (PO

1-1～PO1-4)

オーバーフロー方式による採卵法に加えて巻き網方式による採卵法について検討するために巻き網採卵ネットの製作に着手した。

B キハダと太平洋クロマグロの母系解析 (PO 2-1、PO2-2)

ミトコンドリア DNA の分析では、クロマグロの日本産 36 個体および中米産 35 個体について 398 塩基対を、キハダの日本産 25 個体およびパナマ産 20 個体について 411 塩基対の調節領域の塩基配列を決定した。マイクロサテライト領域の分析では、クロマグロについて 12 遺伝子座、キハダについて 8 遺伝子座を解析した。その結果、ミトコンドリア DNA およびマイクロサテライト領域において、両種とも太平洋東西の集団間に遺伝的差異は見られなかった (PO 2-1、PO2-2)。

C 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備 (PO 4.1 : PO 4-1-1 から PO4-1-7)

PO 4-1-1、PO 4-1-2、PO 4-1-4 については計画通り順調に進行、終了した。

クロマグロでは、作製した BAC クローンにおける末端の塩基配列を基に、多型が見られるマイクロサテライト領域を増幅可能な 25 の PCR プライマーセットを開発した。キハダでは、作製した BAC クローンにおける末端の塩基配列を決定し、PCR プライマーを開発中である。(PO4-1-1: 当初計画を終了、PO4-1-3: 当初計画の 60% が終了)。

クロマグロ雌雄 DNA マーカーについては、開発したものは近畿大学完全養殖群に適用可能であるが、天然魚群には適用できない事が分かった。よってキハダへの適用は不可能である。DNA マーカーの代わりに、雄ホルモン 11-kt の定量で雌雄判別を試みている。血液を用いた予備試験では、雌雄判別可能であることが分かった (PO 4-1-7)。

キハダおよびクロマグロの発育関連遺伝子の解析は、既に解読できたインシュリン様成長因子(IGF) 遺伝子の一部、および体節形成に関わる Myo-D 遺伝子の一部配列をプローブにして発現解析を進めている。また、それぞれの完全長 cDNA の解読を引き続き継続中である (PO4-1-5、PO4-1-6)。

④産カウンターパートへの技術移転の状況

A キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集 (PO 1-1～PO1-4)

B キハダと太平洋クロマグロの母系解析 (PO 2-1、PO2-2)

標本の採集および保存の方法やミトコンドリア DNA の解析方法 (DNA 抽出、PCR、シーケンス、データ解析など) について、指導を行った。

C 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備 (PO 4.1 : PO 4-1-1～PO4-1-7)

受精卵 1 粒からの産卵親魚推定技術を CP スザンナ氏に伝えた。11-kt での雌雄判別法もスザンナ氏に伝授した。その他分子生物学的実験手法をパナマ人 CP カーラ氏、イリアナ氏、ジャンカルロ氏、スザンナ氏に伝えた。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

A キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集 (PO 1-1～PO1-4)

昨年（H25 年度）に採集した親魚候補が、今年度 5 月中旬から産卵を開始した。このことを受けて産卵生態や初期発育に関する研究も再開出来たが、産卵時刻がこれまでの 22～23 時でなく、14 時～14 時 30 分ごろと、大幅に変化した。これが親魚の遺伝的影響か年齢の影響によるものかは定かではない。産出卵の卵質の安定化を測るべく、今後の状況を見据えたい。

B キハダと太平洋クロマグロの母系解析（PO 2-1、PO2-2）

C 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備（PO 4.1：PO 4-1-1～4-1-7）

先にも記述したが、PO 4-1-7 クロマグロ雌雄 DNA マーカーについては、開発したものは近畿大学完全養殖群に適用可能であるが、天然魚群には適用できない事が分かった。よってキハダへの適用は不可能である。よって DNA マーカーの代わりに、雄ホルモン 11-kt の定量で雌雄判別を試みている。血液を用いた予備試験では、雌雄判別可能であることが分かった。

(4) 栄養要求と配合飼料開発チーム

① 研究のねらい

キハダおよびクロマグロの資源増殖や養殖技術開発には、栄養要求に関する基礎知見とそれらに基づいた配合飼料開発が必要である。成長が極めて速いマグロ類では、タンパク質はもとより他の栄養素の要求性は高く、単位体重の増加に必要な栄養素の要求量も極めて多いことが容易に推察できる。平成 26 年度において本研究チームでは、キハダ仔魚のアミノ酸吸収、クロマグロ稚魚におけるエネルギー分配と大豆タンパク質の利用性について、以下に示す有用な知見を得た。

A キハダ仔魚における腸上皮ペプチド輸送隊の発現（PO4-5-3）

初期発育における栄養素吸収能の発現と特徴を知ることは、摂餌開始の特定とともに餌料密度の適正化に有為な示唆が得られる。本研究ではマグロ属 2 種（太平洋クロマグロおよびキハダ）の栄養吸収開始時期を特定しようとした。

B クロマグロ稚魚における大豆タンパク質の利用（PO3-4-2）

これまで、配合飼料の主要なタンパク質源として魚粉が使用されている。しかし、原料魚の急激な資源減少や世界的な養殖漁業の拡大が魚粉の高騰を招き、我が国においても養殖産業の先行きが危ぶまれている。今後とも、魚粉の安定した供給が望めないことから代替タンパク質源の開発が急がれている。これまで、代替タンパク質として大豆粕の利用性が注目され検討されてきたが、それに含まれる生理阻害物質に海産魚類が高い感受性を示し、魚粉に対する最大の代替率は 30%程度で淡水魚の 60～100%より大きく劣っている。そこで、生理阻害物質を低減させた大豆タンパク質の可能性を明らかにする。マダイ稚魚では魚粉の 80%を大豆タンパク質に代替しても優れた成長と飼育成績が得られている。

C 実用配合飼料によるキハダ稚魚の飼育（PO3-4-2）

パナマでキハダ養殖産業を発展させるには、キハダ種苗量産技術の確立が是非に必要なことになる。そのためには、ふ化後 25～30 日からの稚魚期から配合飼料での飼育が欠かせない。これまで、市販のクロマグロ稚魚配合飼料（近畿大学技術指導）がキハダ稚魚にも利用できることが示されていることから、キハダ種苗生産過程での実用性について調べた。

② 栄養要求と配合飼料開発チームの研究実施方法

A キハダ仔魚におけるロイシン吸収担体の発現 (PO4-5-3)

マグロ属2種(太平洋クロマグロおよびキハダ)を孵化直後から2週間飼育し、得られたサンプルを用いて組織学的実験、分子生物学的実験を行った。

B クロマグロ稚魚における大豆タンパク質の利用 (PO3-4-2)

対照飼料(D-1)には65%EU産酵素処理魚粉(EFM)と15%アジ魚粉を、D-2には65%EFM、12%大豆タンパク質(SP)および4%コーングルテンミール(CGM)を、D-3には50%EFM、24%SPおよび8.74%CGMをそれぞれ配合し、脂質および糖質源として魚油および小麦粉・デンプン混合物を加え、ビタミン・ミネラル混合物や大豆レシチンを添加した。屋内15 m³八角水槽に200尾ずつ稚魚(平均体重0.79 g・ふ化後28日)を収容して試験区を設け、所定の飼料を1日6回飽食給与して10日間飼育した。

C 実用配合飼料によるキハダ稚魚の飼育 (PO3-4-2)

種苗生産用7 m³円形水槽にふ化後35日の稚魚40尾程度を収容した。約1週間かけてふ化仔魚からクロマグロ用配合飼料に馴致し、その後、1日5~6回配合飼料を飽食給与して親魚用水槽に収容するまで約10日間飼育した。

③当初の計画(全体計画)に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

A キハダ仔魚におけるロイシン吸収担体の発現 (PO4-5-3)

クロマグロに比べキハダは消化管の発達および栄養吸収関連遺伝子(ペプチド輸送体)の発現がおよそ1日遅れることが分かった。

B クロマグロ稚魚における大豆タンパク質の利用 (PO3-4-2)

飼料の粗タンパク質、粗脂質、糖質、粗灰分およびエネルギー含量は、それぞれ58%、19%、14%、7%および24 kJ/gで大きな差異はなかった。成長と飼料効率(体重増加量・100/飼料摂取量)はSP含量の増加により低下した。成長は各区間で、飼料効率はD-1・2とD-3の間で有意差がみられたが、日間摂餌率、肥満度および生残率に違いはなかった。全魚体の一般成分に有意な区間差はみられたが、SP配合量の違いに基づくと考えられる傾向は得られなかった。また、みかけの脂質蓄積率(体脂質増加量・100/脂質摂取量)にも区間差はみられなかったが、みかけのタンパク質蓄積率(体タンパク質増加量・100/タンパク質摂取量)はD-1がD-2・3より有意に優れていた。体重に対する胃・幽門垂重の割合に有意な区間差はなかったが、D-3が高い傾向にあった。

SP配合量の増加すなわち魚粉に対する代替率を高めると成長、飼料効率、タンパク質蓄積率などが低下し、体重に対する消化器官重量が上昇したことから、SPに対するクロマグロ稚魚の消化吸収能は低いことが示された。また、魚類に対するSPの制限アミノ酸としてメチオニンが知られており、このアミノ酸バランスの不均衡が関与していた可能性も残されている。SPの栄養価改善、特に、タンパク質低分子化に向けた検討が必要である。

C 実用配合飼料によるキハダ稚魚の飼育 (PO3-4-2)

ふ化後35日の稚魚を配合飼料に馴致するのは難しく、1週間で生残尾数は大きく減少し約20尾が生残する状況であった。クロマグロにおいても、餌料のふ化仔魚から配合飼料に切り替える時期は、ふ化後20~25日が適切であることが知られている。キハダの成長はクロマグロに比べて遅いことを考慮しても、ふ化後35日までに配合飼料への切り替えを行うことが望ましい。

④カウンターパートへの技術移転の状況

C 実用配合飼料によるキハダ稚魚の飼育 (PO3-4-2)

卵質あるいは初期餌料に問題が生じたためか、当初に計画されたキハダ稚魚の生産尾数が達成されず、配合飼料を用いた実用化試験はできなかった。そこで、これまで得られたデータを用いて詳細に説明し、カウンターパートの深い理解を促しこれからの検討課題について論議した。また、機器分析の原理や論文の作成についても指導した。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

親魚飼料の検討 (PO1-3-1、PO1-3-2) および生物餌料の栄養強化については、親魚群が1群のみで比較研究ができないこと、また、産卵成績が好ましくなくワムシの栄養価について試験を実施できないことなど、想定外のできごとが続き成果を上げることができなかった。一方、パナマ水産資源庁の希望で新たにキハダの養殖研究が組み込まれたため、沖出し後の養成用配合飼料の開発も視野に入れた展開が必要になった。

II. 今後のプロジェクトの進め方、および成果達成の見通し (公開)

プロジェクトは平成27年度で終了する。それを勘案し、平成27年度はプロジェクト最終年度として、プロジェクト開始当初に予定した共同研究内容の確実な実施、研究成果のプロジェクト参加者・参画機関内での共有と理解、プロジェクトの今後の社会実装を目指した活動、プロジェクト活動の継続を目指した活動の4点に重点を置いてプロジェクトを進める。以下この4点について詳述し、またそのなかで成果達成の見通し、成果のインパクトなどについて説明する。

1. 各分野でプロジェクト開始当初予定された研究内容が全て確実に終了されるように研究を実施する。

これまで一部の内容を除いて課題で予定した内容が終了しているか、平成27年度で全て終了できる見込みである。未終了の内容は、主としてキハダ稚魚の海面生簀での飼育実験であり、パナマでのキハダ飼育親魚産卵停止(約1年間)、産卵再開後の低い卵質による孵化仔魚の生残率低下(平成26年度)で、当初計画より実施が遅れている。人工孵化キハダ稚魚の海面生簀での飼育実験は、世界で全く例がなく、本プロジェクトでの様々な研究分野での成果が統合された大きなマイルストーンである。

実際に人工孵化キハダ稚魚が海面生簀で飼育され遊泳する姿は、資源管理研究、養殖技術開発関係者に大きな印象と今後の同様の研究が実施できるという希望をもたらし、今後同様の国際共同研究が始まる契機となりえるなど、そのパナマ共和国内、日本国内、国際社会への発信効果は非常に大きい。そのような効果は、今後も継続した資源研究・養殖研究が必要なマグロ類研究での本プロジェクトの上位目標の1つである。またこのような分野での科学研究の国際化を日本の組織がリーダーシップをとって進めることで、日本の科学技術のあるいは科学技術外交でのプレゼンスを高めることにも繋がる。

2. 最終年度として、これまでの活動が総括され、それがプロジェクト参加者各員に共有されるとともに、近畿大学、パナマ共和国水産資源庁、全米熱帯マグロ類委員会の各参画機関に十分にその意義が理解されるようにする。

本課題の研究内容は多岐に亘り、研究参加者や研究参画機関がその全貌やそれぞれの成果の意義の把握は困難であるが、課題の意義の正確な理解に必要であり、相手国と日本側での人材育成に大きく貢献するため、成果全体の共有を意識して実施する。具体的には、国際シンポジウムでの可能な限り多くのプロジェクト参加者の講演、成果報告の和文・英文・西文での作成を行う。また、参画研究者が実験等で多く集まる春・秋季の IATTC アチョチネス研究所、夏季の近畿大学水産研究所でのインハウスセミナーを実施する他、ほぼマンツーマン体制で実施されている近畿大学研究者によるカウンターパート指導でも、研究内容の十分な理解に考慮した活動を行う。

3. プロジェクト成果の社会実装を促進するため、研究成果の学会、学術雑誌での公表以外に、活動内容をパナマ国内、日本国内、また関連分野の国際組織等にウェブ上ホームページへの掲載などにより発信する。また、特に成果報告と国際社会の関連分野各機関への提言などを内容とする単行本の発行準備を行う。

パナマ国内での情報発信は、プレスリリース、関連分野の学部・部門を持つ大学や研究所の教職員・学生、地元住民、養殖民間企業関係者、パナマ政府関係者の見学会を予定している。日本国内の情報発信は、プレスリリース、テレビ、雑誌などマスコミでの内容紹介、講演会での内容紹介を予定している。さらに、パナマ在住邦人の見学会も予定している。国際社会への提言としては、国際学会での内容紹介、マグロ類の国際資源管理委員会関係者への内容紹介を予定している。これらはこれまでも実施してきたものも数多くあり、その方法やルートについては十分に準備されている。

加えて、パナマ国内でのエビ養殖に替わる魚類養殖振興、途上国に多い脂質と糖質中心の食生活に起因する生活習慣病の予防策としての魚食促進に向け、養殖業者、政府厚生関係者、飲食業界関係者との意見交換を実施する。

4. プロジェクトの共同研究がプロジェクト終了後も継続されるよう、参画機関の間で、あるいはそれ以外の関連分野の機関と、その具体的な方策について協議する。

マグロ類の資源管理技術向上を目的とした研究、養殖技術開発は、短期間で終了するものではなく、今後の継続的な共同研究活動の目標を設定し、必要な条件や環境を洗い出し、それらを整える準備を行う。

Ⅲ. 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など (公開)

(1)プロジェクト全体

I.プロジェクト全体の現状と課題

I-1. 相手国機関であるパナマ水産資源庁を含む政府の組織改革

パナマ共和国では2014年6月に大統領選挙が実施され、新たな大統領が選ばれて政府役職の顔ぶれが一新されたことの影響が大きい。大統領選に伴い、それ以前の数ヶ月と、それ以降も現在に至るまでカウンターパート機関であるパナマ水産資源庁を含む政府の組織改革が進行中で、プロジェクト実施において重要な地位を占める水産資源庁長官および研究部長が未定となっているなどして、プロジェクト活動に関する意志決定が一部滞っている。その最たるものは、パナマ人研究者の日本での研修である。平成26年度に予定していたパナマ水産資源庁研究者の日本研修が水産資源庁内で許可できる責任者がおらず、研修ができなくなり、技術移転・習得に影響があった。

一方で、パナマ国内での活動については、水産資源庁内のほとんどのプロジェクトが停止するなか、本プロジェクトへの予算措置や人員の配置は問題なく行われたので影響はなかった。特にパナマ人研究者の全米熱帯マグロ類委員会アチョチネス研究所での共同研究に必要な旅費などは十分措置されるなど、この点についてはかつては大きな課題であったが、それが改善した。このあたりはプロジェクトが進んで、その重要性や意義についての理解を促す努力が実ってきたことを示している。

しかしながら現在でもこの組織改革がいつ終了するのかの見込みが立たないままとまっている。幸いに、そのような中でも、予算獲得、人員配置にはカウンターパートが自発的に努力をし、この面では自立発展性、将来の活動継続性が見える結果となっている。

I-2. パナマ共和国における主なプロジェクト活動拠点である全米熱帯マグロ類委員会アチョチネス研究所の経費の負担

当プロジェクトのパナマ共和国における主な活動拠点である全米熱帯マグロ類委員会アチョチネス研究所では、春季（4-7月）と秋季（9-12月）の年2回、近畿大学専門家が派遣されるとともに、パナマ水産資源庁（ARAP）および全米熱帯マグロ類委員会（IATTC）のカウンターパートがほぼマンツーマンとなるような体制で、それぞれARAPおよびIATTCの費用で派遣され、共同研究、プロジェクト運営のための協議、研究セミナーなどが行われてきた。これらにおいては、ARAP、IATTCによるカウンターパートの旅費・滞在費の負担の他に、カウンターパートではないものの共同の研究、協議などで必要となるそれぞれの職員の協力が得られている。それらはしばしば通常の業務以外の範疇に属するものであり、臨時の支出をとまなうものであった。さらに、アチョチネス研究所での光熱費やプロジェクトで使用する自動車、船舶の燃料費、専門家およびカウンターパートの研究所滞在のための宿泊に必要な費用などが、両カウンターパートから支出されている。これらのことは、両組織のプロジェクトに対する協力的な態度を表すと同時に、プロジェクト終了後もこの研究体制が維持される可能性を高めている。しかしながら、両カウンターパート組織の財政的な支援はなお不足気味であり、今後より充実すべきことが課題として挙げられる。

II. 各種課題を踏まえ、研究プロジェクトの妥当性・有効性・効率性・自立発展性・インパクトを高めるために実際に行った工夫

II-1. プロジェクトの研究対象であるマグロ類以外の魚類の技術移転と人材育成

本プロジェクトは、マグロ類を対象としてその持続的利用が可能となることを目的とする国際共同研究であるが、マグロ類の飼育技術は魚類の飼育技術でも最も高度で難しいものであり、プロジェクトで移転された技術は他の魚類の資源管理のための研究、養殖技術開発で応用可能である。またそこで育成された人材は、マグロ類以外を対象とする資源管理を行う機関、魚類養殖企業での活躍が十分予想される。

そこで本プロジェクトでの技術移転は、そのような他の魚類についても資源管理研究・調査、養殖技術開発が行えるような工夫がされている。例えばキハダの仔稚魚飼育では、現地の魚類の親魚に産卵させて得る受精卵から孵化したばかりの仔魚を生きのまま餌として与える必要があるため、マグロ類以外の親魚養成、催熟、採卵の技術が必要となる。そこで本プロジェクトではこの餌用親魚に、現地でよく消費され商品価値の高いフェダイを選定し、カウンターパートにその養成、催熟、採卵、また孵化した仔魚の飼育を行わせることにより、将来フェダイの資源管理研究、養殖技術開発がなされるように工夫されている。

これにより、開発途上国における共通の課題であるカロリー過剰と摂取栄養素の偏り（野菜類の摂取量が少ない）が原因の肥満と生活習慣病の予防対策として、高タンパク低脂肪の魚食の普及をはかる大きな社会的インパクトが得られることが期待される。

II-2. プロジェクトで取り組む活動内容の情報発信

マスコミでの当プロジェクトの紹介については、以下 V. 日本のプレゼンスの向上で記したプレス見学会の他に、日経新聞、産経新聞、ウェブ上での紹介も行われた。また、近畿大学専門家は国内の各種講演会でもプロジェクトの紹介を積極的に行った。例えば JST の SSH 採択校での招待講演（平成 26 年 11 月 18 日）、グリーンフロート構想研究会 第 11 回状況報告会（平成 26 年 7 月 17 日）での招待講演、G1 サミット関西（平成 26 年 10 月 19 日）でのパネルディスカッションである。

III. プロジェクトの自立発展性向上のために、今後相手国（研究機関・研究者）が取り組む必要のある事項

まず、カウンターパート自身によるプロジェクト成果の積極的な発信が求められる。国際社会、中南米圏、パナマ共和国内で今後カウンターパートがさらに積極的に、本プロジェクトでの活動の継続を意識した成果の公表、広報を行うことが必要である。これらはプロジェクトの意義について、それぞれの社会で理解を得て、プロジェクト活動の継続と発展の機運を高めるために必須の事項である。本プロジェクトで研究対象となっているマグロ類の持続的利用は、地球規模の課題であるとともに、パナマを含む中南米の地域的な課題であることを周知させ、プロジェクト活動を進められるような支持を得ることが重要と考えられる。

さらに、本プロジェクトの成果は、マグロ類のみならず他の魚介類でも応用が可能であることから、水産資源の持続的利用や稀少生物の保護などにおいて、カウンターパートが積極的な活用を図ることが必要である。そのようにできれば本プロジェクト成果の波及効果は大きく、さらに自律発展的な展開が期待される。

しかしながら、これらのことは、プロジェクト終了後カウンターパートのみでは困難が予想され、近畿大学専門家のプロジェクト終了後の積極的な支援が必要であると考えられる。カウンターパート組織は、それが可能となるような制度的、財政的支援体制を構築することが必要とされる。また本プロジェクトの研究内容・成果はパナマ共和国側だけでなく、日本にとっても、食糧供給や日本の若手人材の育成の観点から大変重要なものであるため、今後も自立はしながらも、日本とのパートナーシップを維持できるように日本側もすべきである。

IV. 社会実装（研究成果の社会還元）（公開）

(1)成果展開事例

1. 日本国内での社会実装

- ・ JST のスーパーサイエンスハイスクール（SSH）指定校である熊本県立熊本北高校から、SSH 活動の一環として平成 26 年度講演会に講師として研究代表者が招聘され、今後の科学技術開発を担う高校生に当プロジェクトの活動内容、その背景と意義、さらに国際社会のなかでの日本の科学技術のプレゼンス向上について理解を得る機会を得た。

2. パナマ共和国での社会実装

- ・ パナマ共和国では、大統領選挙が実施され、新大統領が誕生して共同研究相手であるパナマ水産資源庁を含む組織改革が進められようとしており、水産資源庁内ではほとんどのプロジェクトが停止している。そのなかで、本プロジェクトはその必要性が理解されており、実施すべきプロジェクトとして一部その影響はあるものの、必要な予算措置がとられ、重要な施策として実施されている。
- ・ パナマ共和国でスギの魚類養殖事業を展開する企業に、当プログラムで学んだ養殖技術や研究技術を持つ同国水産資源庁カウンターパートが就職し、今後のスギ養殖にそれらを活かすこととなった。

(2)社会実装に向けた取り組み

- ・ 本プロジェクトの詳細についてはインターネット（URL: <http://satreps-kinkiuniv.jp/japanese/index.html>）で公開し、一般に情報提供がなされている。

V. 日本のプレゼンスの向上（公開）

プロジェクト意義の理解の促進としての本邦・現地マスコミへの紹介

本プロジェクトでは、パナマでのキハダ稚魚飼育が可能となったことを一つの到達点とし、その成果を本邦マスコミ（NHK テレビ、毎日新聞）、現地マスコミに紹介し、それらが放映あるいは紙面に掲載された。このことは、まず本邦で、日本の科学技術協力・外交におけるプロジェクトの意義、重要性の理解を図り、さらに将来これを担う若い研究者を育成することに大きなインパクトを与えた。我々は、本プロジェクトでは、日本の進んだ科学技術を持って研究の国際化を図り、開発途上国に広く共通する地球規模課題を解決することで日本の存在感を高めるとともに、本邦で魚類資源管理や養殖を学ぶ学生が、国際研究機関や海外の養殖企業で職を得ることに繋がると考える。そのようなプロジェクトのインパクトについては、十分国内でも周知・理解促進が必要である。

一方でパナマでは、水産資源管理の将来に亘る利用における重要性や養殖による供給の可能性についての理解がまだ一般人には浸透しておらず、これについて理解を広めることがパナマ国内あるいは周辺スペイン語圏の国々でのプロジェクトの意義の理解、将来の継続性を得るうえで大変に重要なことであり、広報活動の意義がそこにある。

VI. 成果発表等（公開）

VII. 投入実績（非公開）

VIII. その他（公開）

以上

VI(1)(公開)論文発表等

	国内	国際
原著論文 本プロジェクト期間累積件数	7	17

①原著論文(相手側研究チームとの共著論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記ください。)
Amado CANO, Yang-Su KIM, Darys I. DELGADO, Vernon P. SCHOLEY, Yoshifumi SAWADA. Comparative Efficacy of Anesthetics among MS-222, 2-Phenoxyethanol, and Clove Oil in Early Juvenile Yellowfin Tuna <i>Thunnus albacares</i> . <i>Aquaculture Science</i> 2014. 62(1). 107-110.		国内誌	出版済み	
Yang-Su Kim, Tsukasa Sasaki, Masato Awa, Maho Inomata, Tomoki Honryo, Yasuo Agawa, Masashi Ando, Yoshifumi Sawada. Effect of dietary taurine enhancement on growth and development in red sea bream <i>Pagrus major</i> larvae. <i>Aquaculture Research</i> 2014, 1-12.	10.1111	国際誌	in press	
Kobayashi T, Honryo T, Agawa Y, Sawada Y, Tapia I, Macias KA, Cano A, Scholey VP, Margulies D, and Yagishita N. 2015. Gonadogenesis and slow proliferation of germ cells in juveniles of the cultivated yellowfin tuna <i>Thunnus albacares</i> . <i>Reprod. Biol.</i> (in press).	doi:10.1016/j.repbio.2015.01.003	国際誌	in press	
Nomura S., T. Kobayashi, Y. Agawa, D. Margulies, V. Scholey, Y. Sawada and N. Yagishita*. 2014 (Nov.). Genetic population structure of the Pacific bluefin tuna <i>Thunnus orientalis</i> and the yellowfin tuna <i>Thunnus albacares</i> in the North Pacific Ocean. <i>Fish. Sci.</i> , 80: 1193-1204.	10.1007/s12562-014-0789-8	国際誌	出版済み	
Tanaka T., Takahashi K., Adachi K., Ohta H., Yoshimura Y., Agawa Y., Sawada Y., Takaoka O., Biswas A., Takii K., Zaima N., Moriyama T., and Kawamura Y. Molecular cloning and expression profiling of procollagen $\alpha 1(I)$ of cultured Pacific bluefin tuna. <i>Fish. Sci.</i> (2014)	10.1007/s12562-014-0737-7	国際誌	in press	
Angel Guillen, Tomoki Honryo, Juan Ibarra, Amado Cano, Daniel Margulies, Vernon P Scholey, Jeanne B Wexler, Maria S Stein, Toru Kobayashi and Yoshifumi Sawada, "Effect of Water Temperature on Embryonic Development of Yellowfin Tuna <i>Thunnus albacares</i> Inhabiting the Eastern Pacific Ocean", <i>Aquaculture Science</i> , 62(3),319-322.		国内誌	出版済み	
Tomoki Honryo, Teruyoshi Tanaka, Angel Guillen, Jeanne B Wexler, Amada Cano, Daniel Margulies, Vernon P Scholey, Maria S Stein, Yoshifumi Sawada, "Effect of water surface condition on survival, growth and swim bladder inflation of yellowfin tuna, <i>Thunnus albacares</i> (Temminck and Schlegel), larvae", <i>Aquaculture Research</i> , 2014, in press	10.1111/are.12641	国際誌	in press	

論文数 7 件
うち国内誌 2 件
うち国際誌 5 件
公開すべきでない論文 0 件

②原著論文(相手側研究チームとの共著でない論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記ください。)
Y. Agawa, M. Iwaki, T. Komiya, T. Honryo, K. Tamura, T. Okada, N. Yagishita, T. Kobayashi, Y. Sawada. Identification of male sex-linked DNA sequence of the cultured Pacific bluefin tuna <i>Thunnus orientalis</i> . <i>Fish. Sci.</i> , 81: 113-121.	DOI 10.1007/s12562-014-0833-8	国際誌	出版済み	世界初サバ科魚類の性に連鎖したDNA配列を特定。養殖条件下では雄ヘテロの性染色体構成。
Ohnishi, T., Biswas A., Kaminaka K., Nakao T., Nakajima M., Sakakibara N. and Takii K. Energy partitioning in cultured juvenile Pacific bluefin tuna, <i>Thunnus orientalis</i> (Temminck & Schlegel, 1844). <i>Aquacult. Res.</i> (2014)	10.1111/are.12658	国際誌	in press	
白樫 正, 養殖マグロにみられる寄生虫, 獣医寄生虫学会誌. 2013, 12, 65-104		国内誌		
Polinski, M., Shirakashi, S., Bridle, A., Nowak, B., Transcriptional immune response of cage-cultured Pacific bluefin tuna during infection by two <i>Cardicola</i> blood fluke species. <i>Fish & Shellfish Immunology</i> , 2014, 36, 61-67	10.1016/j.fsi.2013.10.008	国際誌	出版済み	
Yokoyama, H., Suzuki, J., Shirakashi, S., Kudoa hexapunctata n. sp. (Myxozoa: Multivalvulida) from the somatic muscle of Pacific bluefin tuna <i>Thunnus orientalis</i> and re-description of <i>K. neothunni</i> in yellowfin tuna <i>T. albacares</i> . <i>Parasitology International</i> , 2014, 571-579	10.1016/j.parint.2014.03.006	国際誌	出版済み	
T. Matsumoto, Y. Agawa, T. Okada, Y. Sawada, Y. Ishibashi. Opsin gene analysis in the cultured kawakawa <i>Euthynnus affinis</i> . <i>Aquaculture Sci.</i> in press		国内誌	in press	

論文数 6 件
うち国内誌 2 件
うち国際誌 4 件
公開すべきでない論文 0 件

	国内	国際
その他の著作物 本プロジェクト期間累積件数	7	9

③その他の著作物(相手側研究チームとの共著のみ)(総説、書籍など)

著者名,タイトル,掲載誌名,巻数,号数,頁,年	出版物の種類	発表日・出版日	特記事項

著作物数 0件
公開すべきでない著作物 0件

④その他の著作物(相手側研究チームとの共著でないもの)(総説、書籍など)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	出版物の種類	発表日・出版日	特記事項

著作物数 0件
公開すべきでない著作物 0件

⑤研修コースや開発されたマニュアル等

研修コース概要(コース目的,対象,参加資格等)、研修実施数と修了者数	開発したテキスト・マニュアル類	特記事項
クロマグロ小離鱸の11-ktホルモン定量による雌雄判別 目的 雌の多いキハダ親魚群編成 研修実施数1、修了者1	クロマグロ小離鱸の11-ktホルモ ン定量による雌雄判別法実験手 法	

VI(2)(公開)学会発表

	国内	国際
招待講演 本プロジェクト期間累積件数	3	7
口頭発表 本プロジェクト期間累積件数	14	21
ポスター発表 本プロジェクト期間累積件数	12	15

①学会発表(相手側研究チームと連名のもののみ)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の別	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
平成26年度	国内学会	松本太郎, 橋本伸一郎, Daniel Margulies・Vernon P. Scholey, 石橋泰典・キハダのオプシン遺伝子. 平成26年度日本水産学会秋季大会, 福岡市, 九州大学. H26/9/20 要旨集p.107/ 講演番号848			○
平成26年度	国内学会	本領智記, Angel Guillen・, Amado Cano, Daniel Margulies, 倉田道雄, 澤田好史 キハダ仔稚魚期における適切な餌料系列の検討 平成27年度日本水産学会春季大会(東海洋大, 品川),平成3月27日~31日演題番号1118			○
26年度	国内学会	金 良珠,Amado Cano,Darys I. Delgado,Vernon P. Scholey,澤田好史「キハダ初期稚魚における適正麻酔剤(MS-222, 2-フェノキシエタノール, Clove oil)の検索」平成27年度日本水産学会春季大会(東海洋大, 品川),平成3月27日~31日			○
			0	0	3

②学会発表(相手側研究チームと連名でないもの)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の別	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
26年度	国際学会	Y. Agawa, Y. Yamane, M. Iwaki, T. Honryo, M. Kurata, T. Okada, Y. Sawada. Identification of male and female characteristic DNA marker of aquacultured pacific bluefin tuna, Thunnus orientalis. AE 2014, San Sebastian, Spain, October 14-17, 2014.			○
26年度	国際学会	Biswas A., Ahn H., Onishi T., Takahashi Y., Uemura S., Nakajima M., Nakao T. and Takii K. Growout feed development for Pacific bluefin tuna, Thunnus orientalis: utility of normal fish meal and squid meal. AE 2014, San Sebastian, Spain, October 14-17, 2014.		○	
26年度	国際学会	Shirakashi, S., Suzuki, J.,Yokoyama, H.,, Kudoa (Myxozoa: multivalvulida) infections in cultured pacific bluefin tuna in Japan, World Aquaculture Adelaide 2014, Adelaide convention centre. June 7-11,2014		○	
26年度	国内学会	松浦大貴・家戸敬太郎・安 孝珍・石橋泰典・澤田好史・宮下 盛(近大水研)、キハダ消化酵素遺伝子のクローニングと仔稚魚における発現、平成26年度日本水産学会近畿支部例会、京都、11月22日		○	
26年度	国内学会	加賀俊生、阿川泰夫、本領智記、岡田貴彦、澤田好史 成長優良クロマグロに特徴的なDNAマーカーの探索 平成26年度日本水産学会秋季大会, 福岡市, 九州大学. H26/9/20 講演番号891			○
26年度	国内学会	佐々木つかさ, 倉田道雄, 本領智記, 金 良珠, 阿川泰夫, 片山茂和, 澤田好史. 水槽壁面色がカンパチ仔魚の成長, 生残, 顎形態異常に及ぼす影響.平成26年度日本水産学会秋季大会, 福岡市, 九州大学. H26/9/20 要旨集p.43/ 講演番号407		○	
26年度	国内学会	阿川泰夫, 加賀俊生, 岩城真結, 岡田貴彦, 澤田好史「完全養殖クロマグロ成長に関連すると思われるアレルについて」平成27年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学 3月27-31日 演題番号1108			○
26年度	国内学会	谷和樹, 白樫正, 石丸克也, 本領智記(近大水研), 内田紘臣(串本海中公),小川和夫(目黒寄生虫館), クロマグロ養殖生簀周辺のフサコカイに寄生していた住血吸虫(予報), 日本魚病学会平成27年春期大会, 東京海洋大学2015年3月		○	
26年度	国内学会	倉田道雄, 田村慶希, 本領智記, 石橋泰典, 澤田好史 光周期がクロマグロ仔魚の成長・鰓開閉および生残に及ぼす影響平成27年度日本水産学会春季大会(東海洋大, 品川),平成3月27日~31日演題番号1114			○
26年度	国内学会	田村慶希, 倉田道雄, 本領智記, 石橋泰典, 澤田好史 照度がクロマグロ仔魚の成長, 鰓開閉および生残に及ぼす影響平成27年度日本水産学会春季大会(東海洋大, 品川),平成3月27日~31日演題番号547		○	
26年度	国内学会	澤田好史, 佐々木つかさ, 倉田道雄, 本領智記, 金 良珠, 阿川泰夫, 片山茂和, 岡田貴彦 水槽壁面の明度環境がカンパチ仔稚魚の顎形態異常, 行動, 成長, 生残に及ぼす影響平成27年度日本水産学会春季大会(東海洋大, 品川),平成3月27日~31日演題番号549			○
			0	6	5

VI(3) (特許出願した発明件数のみを公開し、他は非公開)特許出願

①国内出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する外国出願※
記載例	2012-123456	2012/4/1	○○○○						戦略太郎	○○大学 ◎◎研究科△△専攻	PCT/JP2012/123456
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

※関連する外国出願があれば、その出願番号を記入ください。

国内特許出願数
公開すべきでない特許出願数

②外国出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する国内出願※
記載例	PCT/JP2012/123456	2012/9/20	○○○○						戦略太郎	○○大学 ◎◎研究科△△専攻	特願2010-123456
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

※関連する国内出願があれば、その出願番号を記入ください。

外国特許出願数
公開すべきでない特許出願数

VI(5) (公開)ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等の活動

①ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2014年5月	NHK高校講座 地理	東京		研究代表者澤田好史とプロジェクトメンバー阿川泰夫がNHKEテレ 高校講座 地理 第10回現代世界の系統地理的考察【資源と産業】編 林業・水産業と世界の自然環境 に出演し、マグロ養殖の現状とその意義について解説した。
2014年6月21日	海南ライオンズクラブ総会	和歌山県海南市	30名	研究代表者澤田好史が、海南ライオンズクラブ総会にてマグロ養殖の現状と将来について講演し、そのなかでSATREPS本プロジェクトについて紹介した。
2014年7月15日	近鉄情報セミナー	大阪市	200名	研究代表者澤田好史が、近鉄情報システム株式会社主催の近鉄情報セミナーにてマグロ養殖の現状と将来について講演し、そのなかでSATREPS本プロジェクトの紹介を行った。
2014年7月17日	グリーンフroot構想研究会第11回状況報告会 「グリーンフrootにおける水産資源を活用したビジネスモデル構築江ノ低減」	東京	80名	研究代表者澤田好史が、スーパー連携大学院コンソーシアムが主催する「グリーンフroot構想研究会」第11回状況報告会「グリーンフrootにおける水産資源を活用したビジネスモデル構築への提言」で講演依頼のあった「赤道直下のキハダ養殖の技術課題」について講演し、SATREPS本プロジェクトの紹介を行った。
2014年8月24日	NHK Eテレ サイエンスZERO	東京		研究代表者澤田好史とプロジェクトメンバー本領智紀が、NHKEテレ サイエンスZERO No.476「完全養殖マグロ 大量生産に挑む！」に出演し、マグロ養殖研究と資源保護を目的とした研究について解説した。
2014年9月11日	第38回近畿地区公立学校事務長会研究協議会・ 第12回近畿地区特別支援学校事務長・事務職員 研究協議会	和歌山市	300名	研究代表者澤田好史が、近畿公立学校事務長会及び近畿地区特別支援学校事務長・事務職員協会協議会においてマグロ養殖の現状と将来について講演し、SATREPS本プロジェクトの紹介を行った。
2014年10月19日	G1関西	大津市	200名	研究代表者澤田好史が、一般社団法人G1サミット主催のG1関西パネルディスカッション「食から紐解く一次産業の未来」で登壇し、マグロ研究とその社会実装についてディスカッションを行った。
2014年10月21日	北海道大学全学教育科目「海と生命」	札幌市	110名	研究代表者澤田好史が、北海道大学全学教育科目「海と生命」第4週講義でマグロ類の資源管理と養殖について講演し、そのなかでSATREPS本プロジェクトの紹介を行った。
2014年11月11日	平成26年度熊本北高等学校スーパーサイエンス ハイスクール講演会	熊本市	700名	研究代表者澤田好史が、平成26年度熊本北高等学校スーパーサイエンスハイスクール講演会においてマグロ類の資源管理、マグロ養殖の現状と将来について講演し、SATREPS本プロジェクトの紹介を行った。

2014年11月15日	和歌山県歯科医師会総会	和歌山市	80名	研究代表者澤田好史が、和歌山県歯科医師会総会でマグロ養殖の現状について講演し、そのなかでSATREPS本プロジェクトの紹介を行った。
2014年6月11日	プロジェクトテレビ会議(非公開)	神戸市	10名	JICA関西にて、近畿大学専門家、JICA/パナマ事務所、JICA東京本部担当部署が参加し、テレビ会議を実施した。議題は1. 国際学会への参加、2. 短期専門家の航空券の手配・日程連絡、3. 機材の購送、4. パナマ大学の学生対象のプロジェクト訪問、5. 春の派遣時の振り返り⇒秋の派遣に向けて、6. 広報関連、7. 現地購入の機材・部品購入、8. 購入した機材の確認、9. その他 パナマでの政権交代の影響など。
2014年6月11日	プロジェクトテレビ会議(非公開)	神戸市	10名	1. パナマ人研究者学位取得予定者の第三国会渡航について情報交換。 2. 短期専門家の派遣について近畿大学担当者を決め、旅程情報のやり取りは担当者からJICAへ連絡する事を確認、決定。 3. 今年度輸送品については海送で2回までとする事を合意。 4. 産卵から沖出しに関する詳細な人員配置、スケジュールを議論しており、渡航90日前までにJICAへ連絡する事で合意。 5. その他メディア取材については、魚の飼育開始日が見積もれればある程度自動的に設定できる旨説明した。 6. 近畿大学内部の情報共有の為、1週間に1度程度ニュースメールをすることで対応する。 次回テレビ会議を8月に行う事で各々了承した。
2014年8月13日	プロジェクトテレビ会議(非公開)	神戸市	10名	JICA関西にて、近畿大学専門家、JICA/パナマ事務所、JICA東京本部担当部署が参加し、テレビ会議を実施した。議題は1. 国際学会への参加、2. 短期専門家の航空券の手配・日程連絡、3. 機材の購送、4. パナマ大学の学生対象のプロジェクト訪問、5. 春の派遣時の振り返り⇒秋の派遣に向けて、6. 広報関連、7. 現地購入の機材・部品購入、8. 購入した機材の確認、9. その他 パナマでの政権交代の影響など。
2014年8月6日	プロジェクト会議(非公開)	和歌山県白浜町	17名	近畿大学水産研究所白浜実験場において、近畿大学専門家、担当事務職員が参加して全体会議を実施し、プロジェクトの現況の共有と、今後の進め方について協議した。
2015年2月5日	プロジェクト会議(非公開)	東京都	7名	SATREPS当課題の現況報告と今後の活動、さらにプロジェクト後の活動について、JSTおよびJICA担当者と協議した。

②合同調整委員会開催記録(開催日、出席者、議題、協議概要等)

年月日	出席者	議題	概要
2014年11月8日	<p>1) パナマ側参加者: パナマ共和国水産資源庁: 研究開発局長クワイ・ベン, アチョテネス研究所責任者アマド・カノ博士, プロジェクトコーディネーターテルマ・マキンテロ, ジャスミン・ビジャレアル</p> <p>2) 日本側参加者: チーフアドバイザー: 澤田好史, プロジェクトコーディネーター: 阿川, プロジェクトコーディネーター: ビッシャジュアマル, プロジェクトコーディネーター: 川人美智子, JICA事務所パナマ所長: 小林一美, JICA職員: カルロス・ザンブラノ, 竹林あゆみ, 中野敦彦, ダヤンボニーラ</p> <p>3) 全米熱帯マグロ類委員会参加者: 上席研究員ダニエル・マーグリーズ, Achotines研究所長: イング・バーノン・スコリー</p>	<p>内容</p> <p>1) 2014年から2015年のための活動の年間計画と進捗状況の報告。</p> <p>2) 2013-14年の購入機材と2014-15年の機材購入予定。</p> <p>3) カウンターパートの日本研修に関して</p> <p>4) カウンターパートについて</p> <p>5) 各機関の2013年と2014年の予算</p> <p>6) その他の議題に関して。</p>	<p>合同調整委員会はパナマ共和国水産資源庁庁舎で開催され、JICAパナマ支所長挨拶の後に続いて左記の議題について協議が行われた。また、その他の議題では、特に本プロジェクトの活動について互いに意義が大きいことに合意するとともに、プロジェクト終了後の活動について、パナマ共和国水産資源庁、全米熱帯マグロ類委員会ともにプロジェクト関連の活動を積極的に継続する意志が確認された。会議終了後、ミニッツに各機関が署名した。</p>

研究課題名	資源の持続的利用に向けたマグロ類2種の産卵生態と初期生活史に関する基礎研究
研究代表者名 (所属機関)	澤田 好史 (近畿大学 水産研究所 教授)
研究期間	H22採択 (5年間) 平成23年4月～平成28年3月
相手国名	パナマ共和国
主要相手国 研究機関	パナマ国水産資源庁ARAP アチョチネス研究所IATTC

付随的成果

日本政府、社会、産業への貢献	マグロの大量消費国である日本が、マグロの資源管理技術や天然資源に依存しない養殖技術の開発を通じて国際的な責任を果たせる。また研究成果は国内マグロ養殖に適用することで技術開発がさらに進む。
科学技術の発展	知見が少ないマグロ類の生態について、主に飼育研究により新たな科学的知見を数多く付け加えることができる。これらは他所ではなし得ない規模で、マグロ類の資源管理と養殖技術の向上・発展に貢献する。
知財の獲得、国際標準化の推進、生物資源へのアクセス等	現在日本ではできないキハダの親魚、卵、仔稚魚へのアクセスが可能となる。また共同研究により、日本ではできないキハダの養殖技術が知財として新たに獲得できる。またクロマグロについても資源管理に必要な生態情報が獲得できる。
世界で活躍できる日本人人材の育成	プロジェクトでの若手研究者および大学院生のパナマ派遣、一方でパナマからの研究者を受け入れての他国研究者との共同研究では、異なる言語でのやり取り、異なる環境への適応、異なる思考の理解などを体験させることで、若手人材の国際化を図ることができる。
技術及び人的ネットワークの構築	プロジェクトは、マグロ類では今まで全くなかった国際共同研究であり、初めてこの分野で活動的な研究ネットワークが構築される。また、主催あるいは参加する国際会議やシンポジウムでプロジェクト外の研究者とのネットワークが構築される。
成果物(提言書、論文、プログラム、マニュアル、データなど)	プロジェクトでは、相当数の学術論文が公表され、また最終的な成果報告書等が刊行される。さらにそれらのなかでは、マグロ類の生態というグローバルな課題についての国際共同研究の必要性、その内容が提言される。

上位目標

国際資源管理機関が提案するキハダと太平洋クロマグロ資源管理措置が本研究成果の生態学知見に基づいた資源変動予測によって提案され批准される。

キハダの完全養殖の成功により養殖技術の基礎が整備される。

キハダと太平洋クロマグロの資源構造と、資源変動に及ぼす主要因が解明される。キハダの天然魚に頼らない完全養殖技術の有効性が、飼育下での全生活史の完結と、幼魚までの生存率0.5%の達成として示される。

プロジェクト目標

キハダおよび太平洋クロマグロの産卵生態および初期生活史について解明

キハダの完全養殖技術の提案

