

## アマゴの冷水病発症時の生残特性に関する遺伝的影響

桑田知宣, 中居 裕, 森 美津雄\*

Genetic effect on resistance to cold-water disease in amago salmon

*Oncorhynchus masou ishikawae*

TOMONORI KUWADA, YUTAKA NAKAI AND MITSUO MORI†

サケ科魚類の冷水病は1946年に北米のマスの疾病として初めて記載された。<sup>1)</sup>日本では1990年にギンザケで最初の発症例が確認された。<sup>2)</sup>以来、ニジマス、ヤマメ、アマゴ等でも発症が確認され、多くの県で流行が認められるようになった。<sup>3,4)</sup>岐阜県では1995年5月にニジマスで初めて確認され、以後毎年その発症が確認されるようになった。<sup>3,4)</sup>

当所では雌性発生技術を育種に応用するための基礎資料を得る目的でアマゴのクローン魚を作出しその特性評価を行ってきた。<sup>5)</sup>1996年の春に各種クローンを同一条件下で比較飼育したところ、全ての区で冷水病によると考えられる疾病が発症し、生残について明瞭な系統差が観察された(第1図)。<sup>6)</sup>この系統差は飼育条件を変えても観察され(第2図)、<sup>7)</sup>1996年以降毎年確認されるようになった。そこでこれらの生残性に関する系統差が遺伝的差異に基づくものであることを確認するために、特性の異なる系統間で戻し交配を行い、各戻し交配群の冷水病自然発症時の生残性を比較したので報告する。

## 材料および方法

## 1. 供試に用いた親魚およびその系統

戻し交配の親系統には、クローン1系<sup>8)</sup>とクローン3系<sup>9)</sup>を用いた。これら2つの系統は1991年に第1卵割阻止型雌性発生魚から雌性発生によって作出した系統である。1993年以降は各系統の一部を性転換し、性転換雄と雌との交配によって各系統を継代した。また、1995年に両系統を正逆交配したクローン1×3と3×1を作出した。クローン1系は冷水病発症時の生残率が高い系統、クローン3系はそれが低い系統である(第1, 2図)。

## 2. 戻し交配群の作出

作出は1997年11月に行った。クローン1×3雌より採卵した卵を二等分し、それぞれにクローン1性転換雄及びクローン3性転換雄の精子を媒精して、クローン1へ

の戻し交配群(BC1)とクローン3への戻し交配群(BC3)を作出した。それらを浮上まで同じたて型ふ化槽で管理した。

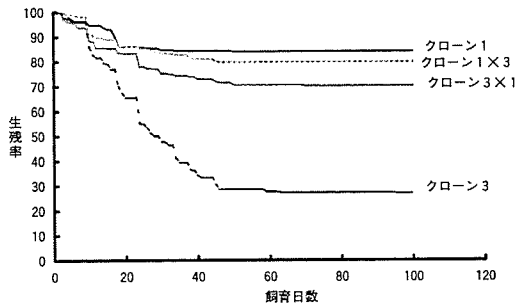
## 3. 飼育条件

1998年1月26日に供試魚が餌付け適期に達したため、各戻し交配群から無作為に1000尾抽出し、さらにそれらを2等分して各500尾を小型水槽(55×38×15(D)cm)に収容した。これによって戻し交配群ごとに2区、計4区の試験区が設定された。各区の給餌は、小型自動給餌器で行い、飽食量(少量の餌が残る)となるように調整した。各区の餌付けから140日後までの自然発症による死亡を調査した。

## 4. 死亡魚の検査

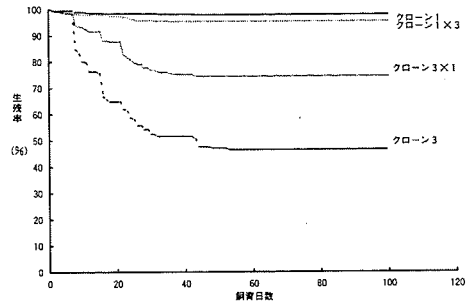
一部の死亡魚の患部および腎臓より白金耳で釣菌し、改変サイトファーガ培地に塗抹して4℃で培養した。出現した黄色のコロニーについて菌の形状を観察し、

\* 現在、岐阜県農林水産局水産振興室



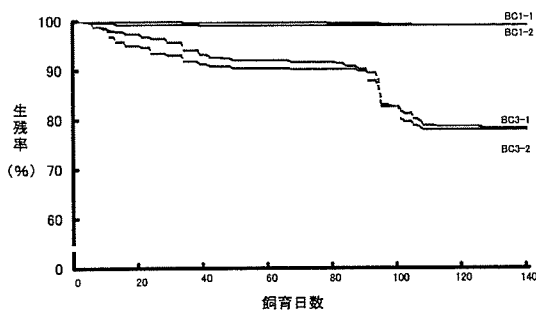
第1図 各クローン系統の生残状況

1996年4月15日より各クローン300尾を小型水槽(55×38×15cm)に収容し井戸水(7.4~12.9℃)で比較飼育した際の7月23日までの生残状況を示す。収容後まもなく、尾柄部の欠損、鱗のあれ、鰓の貧血を特徴とする死亡が起こった。死亡は、スルフィソゾール塩の経口投与によってほぼ終息した。



第2図 異なる飼育環境における各クローン系統の生残状況

1996年4月15日より各クローンをFRP水槽(120×65×15cm)に収容し井戸水(7.4~12.9℃)で比較飼育した際の7月23日までの生残状況を示す。4月15日の収容尾数は、クローン1 1500尾、クローン1×3 1500尾、クローン3×1 1200尾、クローン3 267尾である。死亡は、スルフィソゾール塩の経口投与によってほぼ終息した。



第3図 各戻し交配家系の生残率

BC1はクローン1への戻し交配家系 BC3はクローン3への戻し交配家系を示す。

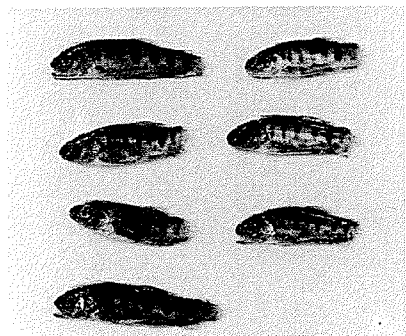
長桿菌によって構成されたコロニーについては、間接蛍光抗体法によって冷水病原菌の同定を行った。その他の細菌性疾患について調べるために腎臓から釣菌し寒天培地(ブレインハートインフュージョン)に塗抹して15℃で培養した。また、常法に従いEPC細胞株を用いてウィルス検査を実施した。

### 5. 統計処理

ふ化140日後の各区の生残率を逆正弦変換し一元配置分散分析によって戻し交配家系間の生残率の違いについて検定した。

## 結 果

各区の生残状況を第3図に示した。クローン3への戻し交配群(図中:BC3-1、BC3-2)では餌付け5日後ごろから冷水病によると思われる病魚が観察され始め、いったんはおさまったものの、餌付け80日後ごろから再び死亡が始まり、餌付け140日後までの間にBC3-1で21.8%、BC3-2で22%の死亡があった。一方、クローン1への戻し



第4図 BC3区の死亡魚の外観

交配群(図中:BC1-1、BC1-2)のこの期間の死亡率は、ともに1%であり、BC3のそれに比べて有意に低かった(ANOVA  $p < 0.001$ )。大部分の死亡魚は尾柄部が欠損しており(第4図)、各鱗の糜爛および鰓の貧血等の外部所見を示した。病魚の患部を用いた改変サイトファーグ培地による細菌分離では、多数の黄色コロニーが分離された。間接蛍光抗体法によって冷水病原菌であることを検査したところ冷水病原菌であることが確認された。寒天培地を用いた腎臓からの細菌分離では、既知病原菌は分離されなかった。また、EPC細胞株を用いたウィルス検査においても、ウィルスは検出されなかった。餌付け開始(1月26日)からほぼ死亡が終息した5月15日までの飼育水温は3.1~12.4℃であった。

## 考 察

冷水病病原菌は卵を経由し親から仔魚へと感染し、<sup>7)</sup>その病勢は飼育環境によって変わることが知られている、<sup>8,9)</sup>BC1とBC3は同一雌親魚(クローン1×3)由来で

## 文 献

あること、それらは作出時より同じふ化槽で管理し浮上後同一環境で管理していたことにより、母子感染や観察以前の初期感染について両家系は同条件であったと判断出来る。従って、BC1とBC3との間で観察された死亡状況の違いは、雄親(性転換雄)由来の遺伝的な差異に基づくものと考えられる。魚類の抗病性に関する遺伝学的研究には、ニジマスの伝染性腭臓壊死症(IPN)、<sup>10)</sup>伝染性造血器壊死症(IHN)、<sup>11-13)</sup>ギンザケの細菌性腎臓病(BKD)、<sup>14)</sup>アユのピブリオ病<sup>15)</sup>等があり、それぞれに選抜育種による抗病系統作出の可能性が示唆されている。実際にそれらの中には、選抜により対照群より抗病性を示す系統を作出できた例も報告されている。<sup>10, 11, 15)</sup>今回観察した事例より、アマゴの冷水病についても選抜育種によって抗病系統の作出が可能であると考えられる。

家畜では品種間交雑による雑種強勢が古くから利用されており強健性については顕著に発現することが知られている。<sup>16)</sup>魚類ではヒラメにおいてヘテロクロンの強健性がホモ型クロンより優れていたことが報告されている。<sup>17)</sup>1996年の観察においてヘテロクロンの生残率は、いずれの飼育条件においても生残率の高い親を越えることはなかったが、生残率の高い系統を雌親に用いたクロン1×3の生残率は、いずれの飼育環境においても両親の中間値より高い値となった。この結果は、アマゴにおいても交雑が冷水病感受性系統に抗病性を付与するための有効な手段であることを示している。またクロン1×3とクロン3×1の生残特性に違いがあることから、交雑時の方向性によってヘテロクロンの抗病性が異なる可能性がある。交雑育種を行う場合には交配組み合わせごとに両方向の交雑について検討する必要がある。

## 要 約

1. 冷水病自然発症時の生残特性の異なるクロン系統間で交雑を行い2種類の戻し交雑家系を作出した
2. 各戻し交雑家系を同一条件下で飼育し冷水病自然発症時の生残について調査した。
3. ふ化後5日から140日にかけて冷水病の自然発症が観察された。
4. 生残率の高い系統への戻し交雑群の生残率は、低い家系へのそれに比べて有意に高く、生残特性の違いは遺伝することが確認された。

- 1) Davis HS. Care and diseases of trout. US Department of the Interior Research Report No.12. US Government Printing Office, ashington, DC. 1946; 98pp.
- 2) 若林久嗣, 堀内三津幸, 文谷俊雄, 星合愿一. 日本で発生したギンザケ稚魚の冷水病. 魚病研究 1991; 26(4): 211-212.
- 3) 平成8年度魚病発生動向調査事業魚病発生状況調査表. 日本水産資源保護協会, 東京. 1997.
- 4) 平成9年度魚病発生動向調査事業魚病発生状況調査表. 日本水産資源保護協会, 東京. 1998.
- 5) 桑田知宣, 都竹仁一, 武藤義範, 中山一郎. 染色体操作によるサケ科魚類の育種に関する研究-I クローンアマゴの特性について. 岐阜水試研報 1995; 40, 19-33.
- 6) 岐阜県水産試験場. 雌性発生技術を応用したアマゴの育種に関する研究平成8年度地域実用化技術開発促進事業報告書, 岐阜県水産試験場, 岐阜. 1997.
- 7) Kumagai A, Takahashi K. Imported eggs responsible for the outbreaks of cold-water disease among cultured coho salmon in Japan. *Fish Pathol.* 1997; 32(4): 231-232.
- 8) Holt RA, Rohovec JS, Fryer JL. Bacterial cold-water disease, bacterial disease of fish. Blackwell sci. publ., London. 1993: 3-22.
- 9) 宮城県内水面水産試験場. ギンザケ外来魚対策事業, 平成5年度宮城県内水面試験場事業報告, 宮城県内水面水産試験場, 宮城. 1993: 58-64.
- 10) 花田博, 牛山宗弘. IPN耐病性ニジマスの発現について. 静岡水試研報 1985; 20: 51-57.
- 11) McIntyre JD, Amend DF. Heritability to tolerance for infectious hematopoietic necrosis in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Trans. Am. Fish. Soc.* 1978; 107(2): 305-308.
- 12) 荒井 真, 熊崎隆夫. マス類のウィルス病に関する研究-VIII ニジマスのIHN耐病系の選抜について. 岐阜水試研報 1985; 30: 29-32.
- 13) 山本 聡, 三城 勇, 佐藤良三, 小原昌和, 田原偉成. ニジマスのIHNに対する抵抗性の遺伝率の推定. 日水誌 1991; 57(8): 1519-1522.

- 14) Withler RE, Evelyn TP. Genetic variation in resistance to bacterial kidney disease within and between two strains of coho salmon from British Columbia. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1990; 119:1003-1009.
- 15) 稲田善和, 筑紫康博, 辻村明夫, 谷口順彦. 雌性発生アユにおける抗ビブリオ病形質の選抜反応. *日水誌* 1997; 63(5): 722-727.
- 16) 水間 豊, 猪 貴義, 岡田育穂. 家畜育種の方法 雑種強勢の利用, *家畜育種学*, 朝倉書店, 東京. 1982; 139-147.
- 17) 山本栄一. ヒラメの人為的性統御とのクローン集団作出に関する研究クローン集団の作出と特性ホモ型クローンとヘテロ型クローンの比較. *鳥取県水産試験場報告* 1995; 34: 94-104.