

冷水病に強い人工産アユ種苗の開発

選抜履歴が異なる 4 種類の系統の冷水病耐病性の違い

荻谷哲治、桑田知宣、景山哲史

Development of resistant stocks to an infection cold-water disease by using selective breeding in ayu
(*Plecoglossus altivelis altivelis*)

Difference in resistance to cold-water disease among four stocks introduced different selective breeding programs

TETSUJI KARIYA, TOMONORI KUWADA, TETSUSHI KAGEYAMA

アユの冷水病は、*Flavobacterium psychrophilum* を原因とする細菌性感染症であり（井上，2000）、1987年に徳島県で養殖場での発病（アユ冷水病対策協議会，2008）が確認されて以来、現在では全国に蔓延し、アユ養殖業に大きな被害をもたらしている。その対策として、岐阜県では、人工産種苗の利用及び防疫体制の整備を推奨し、その効果により近年の岐阜県のアユ養殖生産量は増加（岐阜県農政部水産課，2011）に転じている。しかし、このような養殖体制は、ひとたび冷水病が発生すると甚大な被害になりやすいという特徴がある。近年は、飼料費や電気代など養殖生産に関わる費用が上昇する一方で、魚価が低迷しており、魚病の発生による被害や治療費を販売価格に転嫁することが困難な経営環境にある。安定的な養殖経営を図るためには、病気の発生予防だけでなく、病気発生時の被害軽減対策が必要であり、その対策の1つとして、冷水病に対する耐病性の高い種苗の開発が求められている。また、安全・安心な生産物を求める消費者に対して効果的に養殖アユをPRするためにも、冷水病耐病性種苗を利用することで治療薬を使用しない養殖アユ生産体制の構築が求められている。

アユの冷水病耐病性には系統差があることや耐病性が次世代に遺伝することが明らかになっている（Nagai et al. 2004；永井・坂本，2006；永井，2009；三浦ほか，2011；鈴木ほか，2005；水戸ほか，2007；熊川ほか，2009；原田ほか，2006；）。そこで本県では、2005年より冷水病耐病性の高い種苗の開発に着手し（桑田，2008；桑田，2009；桑田ほか，2010）、毎世代、非選抜系統も含めて実験感染による冷水病の耐病性評価を行っている。その結果、耐病性選抜系統において冷水病に対する高い耐病性を確認したので報告する。

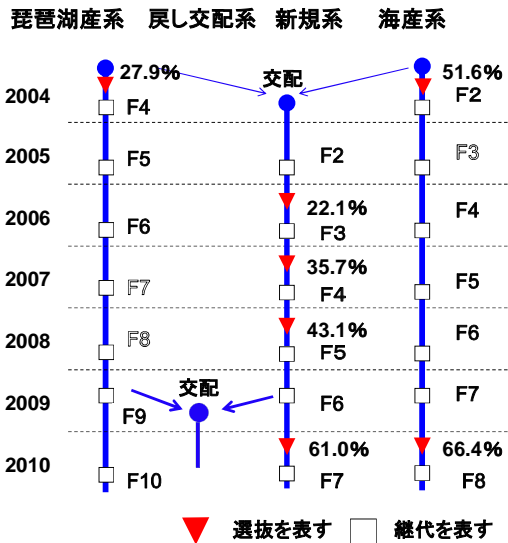
キーワード：冷水病、人工産アユ、耐病性、選抜履歴

方 法

供試魚の作出履歴

供試魚には、2009年9月～10月に当所で作出し養成した4系統の種苗を用いた。各系統の選抜履歴を第1図に示した。湖産系人工産種苗（以下湖産系）は琵琶湖において捕獲されたアユを起源とし、F4世代までは毎世代冷水病の生残魚群、F5世代（2005年）以降は冷水病未感染魚群を親魚に用いて継代した種苗である。海産系人工産種苗（以下海産系）は木曾川採捕アユを起源とし、F2世代作

出時には冷水病の生残魚群、F3世代（2005年）からF6世代（2008年）までは冷水病未感染魚群、F7世代（2009年）は冷水病の生残魚群を親魚に用いて、継代した種苗である。新規系人工産種苗（以下新規系）は2004年10月に湖産系雌（F3）と海産系雄（F1）を交配し、その群を起源として、F3世代（2006年）以降に人為感染により冷水病菌を感染させて生残した魚群を親魚に用いて継代した種苗である。戻し交配系は、2009年秋に湖産系（F8）と新規系（F6）を交配させた種苗である。実験感染による耐病性評価



第1図 各系統の選抜履歴

図中の数値は選抜時の生残率を表す。

2010年5月21日に試験を開始した。以後、6月23日までの死亡状況を水槽ごとに記録した。6月23日にすべての水槽の生残魚を取り上げて体重を測定し、試験を終了した。試験は、種苗ごとにそれぞれ3水槽の実験感染区を設けた。感染区の人為感染は、凍結病魚を用いた冷水病人為感染法により行った(山本・二宮, 2000)。すなわち、湖産系種苗を収容した水槽上部に実験開始まで -80°C で保管していた2008年度の感染実験での冷水病死亡魚を垂下することにより冷水病の発生を促し、その排水を各感染区水槽に導入することにより冷水病菌を感染させた。実験水槽には中央部から排水されるように加工した容量100Lの丸型タライ水槽(直径65cm)を用いた。飼育水には井戸水を用い、上部水槽から各試験水槽への注水量を50ml/秒、水深を16cmとした。馴致のため、供試魚は5月19日に各区水槽の平均体重がおおよそ6.3gになるように調整し、水槽ごとに25尾ずつ収容した。給餌は、原則として、1日2回手まきで行い各水槽の生残や死亡魚の体重を考慮して増減した。

冷水病菌検査

系統ごとに供試魚と同一飼育群のアユ30尾の鰓を用いて保菌検査を行った。検査は、検査部位を改変サイトファーガ寒天培地に塗抹、 4°C で培養後、発現した複数の黄色コロニーからDNAを熱抽出し、抽出したDNAを鋳型にプ

ライマーfpPPICI(吉浦ほか, 2006)を用いたPCRを行い、電気泳動によって増幅産物を確認することによって行った。

データ解析

系統間の冷水病耐病性の差異を評価するために、各感染区の試験開始日後の生残率を逆正弦変換した後に、系統の違いが生残率に及ぼす影響を一元配置分散分析により確認後、各系統間の平均生残率の違いについてTukeyの方法により多重比較を行った。また、試験期間中の成長を調べるため、各系統間の平均補正飼料効率を算出し、その違いについてTukeyの方法による多重比較を行った。

結果

各区の死亡状況の推移を第2図に示した。

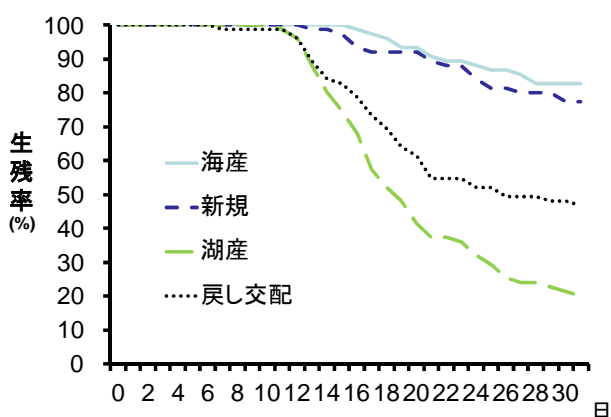
同一飼育群のアユ30尾の鰓の保菌検査で冷水病菌は検出されなかった。冷水病による死亡は、試験開始7日後より始まり、21日後まで多発したが、以後は次第に減少した。試験初期の湖産系と戻し交配系の死亡経過は、似通っていたが、その後湖産系の死亡が増える一方で、戻し交配系はなだらかな増加を示した。新規系、海産系は死亡開始日が他の2系統より数日遅く、新規系と海産系の比較では、海産系の方が数日遅い状況であった。試験終了時の各系統の平均生残率は、第3図に示した。海産系82.7%、新規系77.3%、湖産系20.0%の順で高かった。湖産系と海産系及び新規系との間に有意な差が認められた($p < 0.05$)。また、湖産系と新規系を交配させた系統は、新規系と湖産系の生残率の中間を示し、湖産系より有意に高く、新規系より有意に低い結果となった。

本試験の飼育成績を第1表に示した。

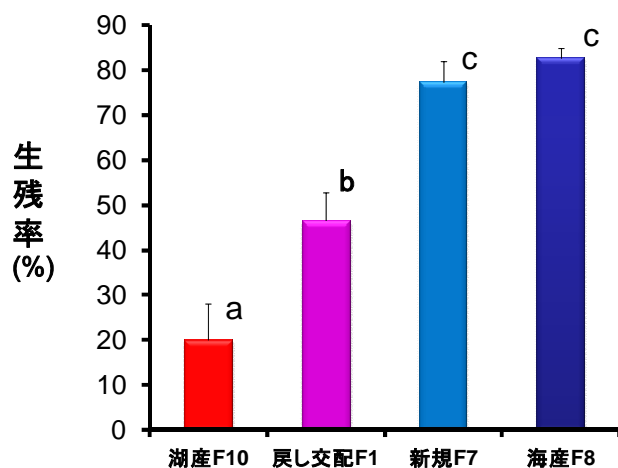
試験期間中に給餌を行ったが、戻し交配系や湖産系は試験開始して早い段階で、摂餌が不活発になり、死亡が終息したころでも不活発の状態が維持された。一方、海産系や新規系では、試験開始してから摂餌が不活発になる時期は前述の2系統に比べて遅く、死亡が終息したころには、活発に摂餌する魚が観察され、補正飼料効率は、海産系、新規系、戻し交配系、湖産系の順になったが、有意な差はなかった($p > 0.05$)。

考察

新規系及び海産系の冷水病発生後の生残率は、湖産系より有意に高く、冷水病耐病性が高いという有意性を確認することができた。



第2図 各系統の生残状況



第3図 各系統の生残率
 垂線は標準偏差を表す。
 同じアルファベット記号間には有意差がないことを示す。
 (Tukey's HSD test $p < 0.05$)

2010年の試験の生残率は、海産系 F7 (61.3%)、新規系 F4 (61.3%)、湖産系 F5 (10.7%) で (桑田ほか, 2010)、本試験の生残率は、海産系 82.7%、新規系 77.3%、湖産系 20.0%となり、大幅な向上が見られた。また、今回の試験では、新規系と湖産系を交配させた戻し交配系を作成し、評価したところ、生残率は 46.7%となり、新規系と湖産系の中間の値となった。本研究結果より、冷水病耐病性は、系統によって異なり、その違いは遺伝し、選抜育種によって改善できることが示された。アユの冷水病耐病性に系統差があることは、広島県 (Nagai et al. 2004; 永井・坂本, 2006; 永井, 2009)、山梨県 (三浦ほか, 2011)、群馬県 (鈴木ほか, 2005)、岡山県 (水戸ほか, 2007)、長野県 (熊川ほか, 2009)、山口県 (原田ほか, 2006) の人工産種苗においても知られており、海産アユが比較的高い耐病性を示していることが報告されている。本研究においても、海産系と湖産系アユを交配させた新規系と海産系は、高い冷水病耐病性を示したのに対して、湖産系は、選抜母群から第3世代にかけて4回にわたる耐病選抜の履歴があるにも関わらず、冷水病耐病性が低かった。これらの結果から、冷水病耐病系統を作出するためには、海産アユを選抜母群として選定することが重要であると考えられる。卵のサイズや適水温などの種苗生産に影響する重要な特性には系統差があるため (関ほか, 1994; 岡部ほか, 2003)、最適な種苗生産方法は種苗ごとに異なると考えられる。このため養殖場では、自家の種苗に適した方法を摸索しつつおき、その結果、種苗生産方法は養殖場ごとにそれぞれ異なっている (荻谷, 2006)。このため今回開発した冷水病耐病系を養殖場に普及させる際には、各養殖場の種苗生産方法への適合が課題となる。適合が悪い場合には、耐病系統に適合させた種苗生産方法を導入するか、耐病系統を当該養殖場の生産方法に適合するように改変しなくてはならない。後者として、交配により耐病形質を当該養殖場で

第1表 飼育成績

系統 項目/水槽	海産系			新規系			湖産系			戻し交配系		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
開始時												
平均体重(g)	6.4	6.3	6.3	6.4	6.3	6.2	6.3	6.3	6.2	6.5	6.3	6.3
収容尾数(尾)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
総重量(g)	160.0	157.5	157.5	160.0	157.5	155.0	157.5	157.5	155.0	162.5	157.5	157.5
終了時												
平均体重(g)	12.3	12.2	11.4	10.2	12.7	11.9	13.3	12.2	8.4	12.2	11.4	12.0
生残尾数(尾)	21	20	21	20	20	18	7	3	5	12	13	10
総重量(g)	259.0	244.9	239.6	204.7	254.5	213.7	93.3	36.6	42.0	146.5	148.5	120.4
給餌量(g)	296.0	300.0	299.0	291.0	288.0	298.0	227.0	201.0	207.0	231.0	253.0	244.0
補正飼料効率(%)*	47.1	44.3	40.4	26.4	49.1	40.1	40.9	30.5	25.7	37.7	32.3	35.0

* 補正飼料効率 = $100 \times (\text{終了時総重量} + \text{死亡魚総重量} - \text{開始時総重量}) / \text{給餌量}$

生産されている既存系統に導入する方法が考えられる。

このため本研究では、耐病性を有する新規系を感受性系統である湖産系に戻し交配してその冷水病耐病性を評価した。その結果、戻し交配系の冷水病発生時の生残率は、新規系より有意に低くなることが確認された。この結果は、冷水病耐病系統に湖産系を交配すると冷水病耐病系統と同等の耐病性を期待できなくなることを示しており、交配による耐病形質の導入を図る際には、注意が必要である。養殖種苗にとって冷水病耐病性の高さは重要な特性であるが、養殖生産の効率化を図るためには、それ以外の特性も重要である(斎藤・岡部, 2000; 吉沢, 1998)。今後は、養殖生産現場において海産系と新規系の2系統の耐病系統について実用化試験を実施し、種苗の成長や形など冷水病耐病性以外の形質も含めた生産の可能性を検討しつつ、各養殖場の種苗生産方法への適合なども考慮しながら導入系統の選定を進めていく予定である。

文 献

- 関 伸吾・浅井康弘・佐藤健人・谷口順彦. 1994. 継代飼育したアユ親魚由来の卵の水温感受性における地理的品種間の差異. 水産増殖, 42(3), 459-463
- 吉沢和俱. 1998. 種苗生産に用いられるアユの形態とその遺伝的特徴. 群馬県水産試験場研究報告, 4, 9-19
- 井上 潔. 2000. アユの冷水病. 海洋と生物. 生物研究社, 22:35-38
- 斎藤洋昭・岡部正也. 2000. 低温耐性種における高度不飽和脂肪酸の蓄積, アユ *Plecoglossus altivelis* 3品種でのDHA蓄積量の相違. 平成12年度日本農芸化学学会講演要旨集, 30
- 山本充孝・二宮浩司. 2000. 凍結病魚を用いた冷水病人為感染試験. 平成12年度滋賀県水産試験場事業報告, 106-107
- 岡部正也・関 伸吾・西山 勝・桑原秀俊・佐伯 昭・山岡耕作. 2003. 同一環境下で継代飼育されたアユ *Plecoglossus altivelis* 3品種間における温度適応力の差異. 日本水産学会誌, 69(5), 717-725
- Takahiro Nagai, Tatsuhiro Tamura, Yoshitake Iida, and Takashi Yoneji. 2004. Differences in Susceptibility to *Flavobacterium psychrophilum* among Three Stocks of Ayu *Plecoglossus altivelis*. Fish Pathology, 39(3), 159-164
- 鈴木究真・久下敏宏・新井 肇・泉庄太郎. 2005. 人工継代アユの遺伝的・形態的特性および冷水病耐性. 群馬県水産試験場研究報告, 11, 41-43
- 荻谷哲治. 2006. 琵琶湖産系人工産アユ種苗量産化試験. 平成16年度岐阜県淡水魚研究所業務報告, 20-21
- 原田英明・永江 彬・田中 実・太田政孝・高橋幸則・稲川裕之. 2006. アユ養殖場における冷水病対策Ⅱ～養殖場における海産系アユの冷水病に対する耐病性～. Journal of National Fisheries University, 55(1), 19-22
- 永井崇裕・坂本 崇. 2006. 異なるアユ系統間の冷水病感受性と免疫応答. 魚病研究, 41(3), 99-104
- 吉浦康寿・釜石 隆・中易千早・乙竹 充. 2006. Peptidyl-prolycis-trans isomerase C 遺伝子を標的としたPCRによる *Flavobacterium psychrophilum* の判別と遺伝子型. 魚病研究, 41(2):67-71
- 水戸 鼓・村田 守・近藤正美. 2007. アユ親魚の由来による冷水病耐性の違いについて. 岡山県水産試験場研究報告, 22, 33-35
- アユ冷水病対策協議会. 2008. アユ冷水病対策協議会取りまとめ, 1-23
- 桑田知宣. 2008. 冷水病耐病性の系統差と冷水病耐病性系統の選抜. 平成18年度岐阜県河川環境研究所業務報告, 12-13
- 熊川真二・小原昌和・小川 滋. 2009. アユ2系群の冷水病に対する感受性の比較(環境調和型アユ増殖手法開発事業). 平成19年度長野県水産試験場事業報告, 14
- 桑田知宣. 2009. 冷水病耐病性に関する選抜. 平成19年度岐阜県河川環境研究所業務報告, 16
- 永井崇裕. 2009. アユに発生する細菌性疾病の防除に関する研究. 広島大学博士論文.
- 桑田知宣・景山哲史・大原健一・原徹・斎藤薫. 2010. 冷水病に強く、良く釣れる人工産アユ種苗の開発と利用冷水病耐病性、釣獲特性、遺伝的特性の系統間差. 岐阜県河川環境研究所研究報告, 55, 5-15
- 岐阜県農政部水産課. 2011. 岐阜県の水産業, 14-16
- 三浦正之・坪井潤一・岡崎 巧・大浜秀規・芦沢晃彦. 2011. 同一環境で継代飼育された2系統のアユの種苗特性について. 平成21年度山梨県水産技術センター事業報告, 15-23