

ブリの戻し交配家系を用いたイリドウイルス感染試験

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-06-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 長倉, 義智, 西村, 卓哉, 大原, 恵理子, 佐藤, 純, 虫明, 敬一, 岡本, 信明 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014703

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



ブリの戻し交配家系を用いたイリドウイルス感染試験

長倉義智^{*1}・西村卓哉^{*2}・大原恵理子^{*2}・佐藤 純^{*1}

虫明敬一^{*3}・岡本信明^{*2}

(^{*1} 五島栽培漁業センター, ^{*2} 東京海洋大学, ^{*3} 栽培漁業部)

ブリ *Seriola quinqueradiata* は日本における最も重要な養殖対象魚種の一つであり, その年間生産量は約15万トンに達する。しかし, 本種では発生する病気の種類も多く¹⁾, より計画的な生産を行うためには, 耐病性を有する人工種苗が必要と考えられる。

これまで, 水産生物の耐病性の向上については, サケ・マス類を中心に多くの解析が行われ, 耐病性形質の遺伝支配様式が明らかにされてきた²⁾。特に, 最近ではそれらの魚種において QTL (Quantitative Trait Loci) 解析による耐病性関連遺伝子の特定が行われるようになり, 水産生物におけるゲノム育種の有効性が示唆されている³⁾。一方, ブリについては, すでにマイクロサテライト DNA マーカーによる遺伝子連鎖地図が作製されている⁴⁾ が, その耐病性に関する遺伝学的知見の蓄積は十分ではない。

このような中で, 近年, 海産養殖において広く問題となっているマダイイリドウイルス病⁵⁾ について, ブリとその近縁種であるヒラマサ *Seriola lalandi* とで感受性が異なっていることが明らかとなった^{6,7)}。このため, それらの交配実験がマダイイリドウイルス病に対する耐病性の遺伝学的解析に有効であると考えられる。

これらのことから, 本報では, ブリとヒラマサを用いた戻し交配 (Back cross, 以下 BC) 家系を作出して感染試験を行い, マダイイリドウイルス病に対する耐病性に遺伝的要因が関わっているかどうかを検討した。

材 料 と 方 法

BC 家系の作出 BC 家系の作出には, 親魚としてブリ雌とヒラマサ雄との雑種第1代 (F_1) 1尾と, その親世代のブリ雌1尾を用いた。これらの親魚は, 背部筋肉内に HCG を注射 (600IU/kg) し, 2日後に人工授精 (乾導法) による交配に供した。これにより得られたふ化仔魚を0.5kℓおよび7kℓ水槽において飼育した。飼育では, 餌料としてシオミズツボウムシ (L型), アルテミアノープリウスおよび配合飼料を成長に合わせて順次与えた。また, 地先の海水温が22℃を超えるまでは, 加温により飼育水温22℃を維持した。飼育魚は日齢35で取り揚げ, その後は50kℓ水槽で飼育

を継続した。

感染試験 供試魚には平均全長 114 ± 2 mm の稚魚400尾を用い, これらはあらかじめ0.5kℓ水槽で8日間飼育して設定水温の25℃に馴致した。

試験には100 ℓ円形ポリエチレン水槽 (実容量60 ℓ) を用いた。試験区は, ウイルス接種区7区とウイルス非接種区1区を設け, 各区に50尾ずつの供試魚を用いた。ウイルス接種区では, マダイイリドウイルス液 (イリドウイルス病に罹患したマダイの磨砕液を MEM で 10^{-4} に希釈) を, 腹腔内に1尾当たり 100μ ℓ接種し, ウイルス非接種区では MEM のみを接種した。接種時には供試魚を2-フェノキシエタノールで麻酔した。

各区とも餌料には配合飼料を与え, 試験期間は20日間とした。25℃に調温した海水を換水率100回転/日となるように注水するとともに, ウォーターバス方式により25℃を維持した。試験期間中の死亡魚は直ちに持ち上げて脾臓を用いた蛍光抗体法を行い, 陽性と判定された個体をイリドウイルスの感染による死亡魚とした。

結 果 と 考 察

ブリとヒラマサの F_1 とブリとの人工授精を行った結果, 33.4万粒の受精卵が採取され (総採卵数41.3万粒), これらから22.4万尾のふ化仔魚が得られた。このうち15.4万尾を飼育に用いた結果, 日齢35で6,500尾 (生残率4.2%) の稚魚が得られ, ブリとヒラマサの BC 家系が作出できた。これらの個体を用いたマダイイリドウイルスの感染試験では, ウイルス非接種区では感染による死亡は認められなかったが, ウイルス接種区では接種後11~18日目に死亡がみられ累積死亡率は14.6~24.0%となった (図1)。

長倉は, ブリおよびヒラマサを用いて本報と同様の感染試験を行い, 累積死亡率はそれぞれ55.1~56.3%および4.0~8.0%と報告している^{6,7)}。本試験の累積死亡率をこれらと比較すると, ブリより有意に低くヒラマサより有意に高い値を示し (Mann-Whitney 検定, $p < 0.05$), BC 家系におけるマダイイリドウイルス病に対する感受性は両者の中間に位置する結果が示された。このことは, ブリおよびヒラマサのイリドウイルスに対する耐病性に遺伝的要因が関わっていることを

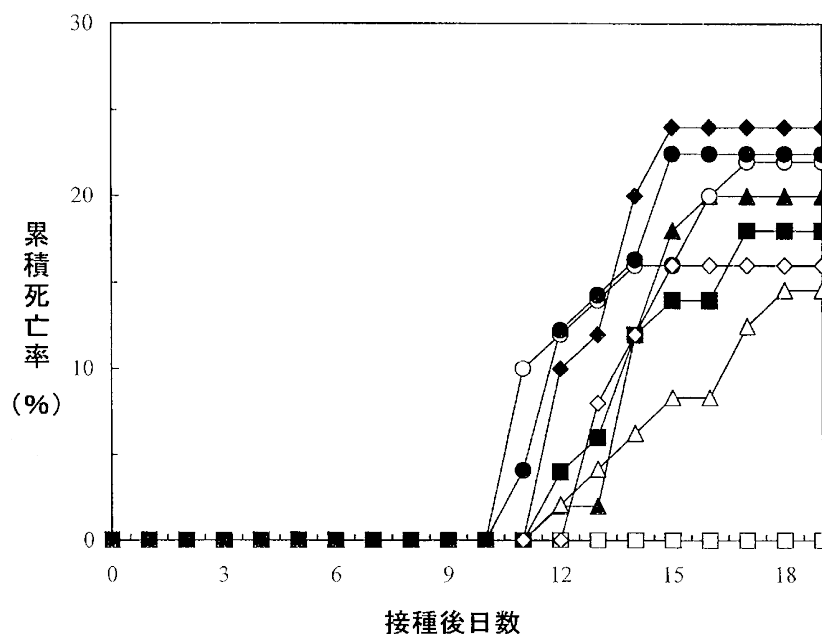


図1 戻し交配家系のイリドウイルス感染試験による死亡状況

ウイルス非接種: □ (対照区)
ウイルス接種: ▲, △, ■, ◇, ◆, ○, ●

示唆しているものと考えられる。

一方、BC 家系および DNA マーカーを用いた連鎖解析により、ニジマスの IPN および IHN 耐病性関連遺伝子座や^{8,9)}、ヒラメのリンホシスチス病耐病性関連遺伝子座¹⁰⁾ など、有用な耐病性関連遺伝子が特定されるようになった。このため、ブリにおいても、本報の結果にもとづいて連鎖解析を行うことで、耐病性に関連する遺伝子が特定できると考えられる。

文 献

- 1) 若林久嗣 (2004) 序論. 魚介類の感染症・寄生虫病 (若林久嗣・室賀清邦編). 恒星社厚生閣, 東京, pp. 1-27.
- 2) 山崎文雄 (1998) 耐病性. 水産育種に関わる形質の発現と評価 (藤尾芳久・谷口順彦編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 55-66.
- 3) 尾崎照彦・大原恵理子・藤 加菜子・原 拓矢・坂本 崇・岡本信明 (2004) 水産経済動物のゲノム研究および QTL 解析. 動物遺伝育種研究, **32**, 53-67.
- 4) Ohara, E., T.Nishimura, Y.Nagakura, T.Sakamoto, K.Mushiake, and N.Okamoto (2005) Genetic linkage maps of two yellowtails (*Seriola*

quinqueradiata and *Seriola lalandi*). *Aquaculture*, **244**, 41-48.

- 5) 室賀清邦 (2004) マダイイリドウイルス病. 魚介類の感染症・寄生虫病 (若林久嗣・室賀清邦編). 恒星社厚生閣, 東京, pp. 75-79.
- 6) 長倉義智 (2003) II - 1 各事業場において実施した技術開発, 14五島事業場, 6. (2)優良親魚育種技術開発. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成14年度), 331-332.
- 7) 長倉義智 (2003) II - 1 各事業場において実施した技術開発, 14五島事業場, 6. 優良親魚育種技術開発 (ブリ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成15年度), 129-130.
- 8) Ozaki, A., T.Sakamoto, S.Khoo, K.Nakamura, M.R.M.Coimbra, T.Akutsu and N.Okamoto (2001) Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility of infectious pancreatic necrosis (IPN) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mol. Genet. Genomics*, **265**, 23-31.
- 9) Khoo, S.K., A.Ozaki, F.Nakamura, T.Arakawa, S.Ishimoto, R.Nickolov, T.Sakamoto, T.Akutsu, M.Mochizaki, I.Denda and N.Okamoto (2004) Identification of a novel chromosomal region

associated with infectious hematopoietic necrosis (IHN) resistance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathol.*, **39**, 95-101.

- 10) 藤 加菜子・長谷川 理・小林一展・M. R. Coimbra・坂本 崇・岡本信明 (2002) 平成14年度日本魚病学会大会講演要旨集, pp. 36.