

学 位 論 文 題 名

Studies on the Quantitative Genetics and
Breeding in Salmonid Species

（サケ科魚類の量的形質と育種に関する研究）

学位論文内容の要旨

育種研究は経済形質の遺伝的改良を最終目的としているため、水産増養殖産業の振興を計るためには対象とする魚介類の育種研究は極めて重要である。特に植物や陸上の動物においてはこれらの経済形質の大半が量的形質に属していると思われ、これらの形質に関する遺伝的研究の重要性が示唆されている。さらに、表現型分散、遺伝分散および遺伝率、表現型と遺伝の相関関係等は育種を考えるうえで欠かせない重要な資料である。これらの資料により選抜方法の決定をはじめ、選抜反応および育種効果を予測することが可能となる。

一方、魚類の養殖場では高い密度で飼育するため病気の発生の可能性は非常に高く、これらの病気に対処するためには個体毎に有する耐病性のメカニズムを知ることが重要である。MHC遺伝子は抗原とT細胞の間に介在し、自己と非自己を区別し免疫反応をコントロールする役割を持っているため、MHC 遺伝子の構造や機能を理解することは、魚の耐病性育種やワクチンによる病気の対策を図る上で有用と考えられる。

本研究はサクラマスの育種研究を展開させるために必要な遺伝学的基本資料を得ることを目的とし、サクラマスにおける経済的に重要な量的形質：成長、塩分耐性、再生産、生残、スモルトおよび耐病性形質を調べ、遺伝学的解析を行った。また、サクラマスのウイルスに対する耐病性の仕組みを調べる第一段階としてMHC遺伝子の同定を行った。

まず、サクラマスの成長形質における遺伝特性を調べるために1993年および1994年に全同胞20家族、半同胞10家族を作成し、サクラマス稚魚の摂餌開始4ヶ月、8ヶ月後に成長形質における遺伝率、遺伝相関および表現型相関を調べた。その結果、両年において各形質の遺伝率は摂餌開始4ヶ月後では0.30-0.51、0.47-1.10、8ヶ月後では0.07-0.26、0.40-0.62の範囲であり、遺伝相関および表現型相関は両年の摂餌開始4ヶ月、8ヶ月後ともに高い値を示した。

サクラマスの成長形質における遺伝特性については同じ材料を用いて2才の成魚になるまで追跡実験を行った。その結果1995年のサクラマス2才魚の成長形質の遺伝率は摂餌開始23ヶ月後に0.08-0.18であり、1996年では摂餌開始19ヶ月後では0.22、23ヶ月後では0.19-0.36の範囲であり、遺伝相関および表現型相関は両年の摂餌開始19ヶ月、23ヶ月後ともに1に近い相関を示した。以上の結果から、サクラマスの成長形質における育種において個体、家族、いずれの選抜でも高い選抜効果が期待できることが示唆された。

塩分耐性においてはふ化後45日目のシロザケおよびふ化後50日目、105日目のサクラマスで海水浸漬実験を行い、遺伝率および死亡と水温の関係、死亡に対する体重の独立性および各家族間の体重と生残の比較を行った。その結果、シロザケの塩分耐性の遺伝率は0.32-0.34(h^2_S)であり、死亡に対する水温の影響は雄間、同一雄の雌間にも有為な差が認められた($p < .001$)。サクラマスの塩分耐性の遺伝率はふ化後50日目には0.07(h^2_S)、ふ化後105日目には0.29(h^2_S)であった。また、両種とも各家族間での体重は有為差があったものの($p < .0001$)、塩分耐性に対する体重の影響は認められなかった。

一般に培養された卵の初期発育段階で死亡率が高いことが知られており、そのため発育初期段階での死亡に関する遺伝の影響、死亡と成長形質の関係について調べた。その結果サクラマスの発育の初期段階での生残率の遺伝率は両年において摂餌開始4ヶ月後で雄親成分(h^2_S)で各々0.13、0.54、8ヶ月で0.18、0.18であり、4ヶ月までの生残率は8ヶ月までの生残率と高い相関を示したが、成長形質との相関は低かった。

サケ科魚類は体重1kg当たり1000個以上の卵を産出するため、再生産形質はこれまであまり重要視されてこなかった。しかし、卵のサイズや質が成長や生残と関係がある場合、再生産形質の選抜が成長や生残形質の育種を行う上で負の影響を与える可能性がある。そのため卵サイズと成長との相関関係を調べる必要がある。本研究で行った再生産形質の分散および再生産形質と成長形質の相関を調べた結果から、成長形質もしくは再生産形質に対して選抜を行っても相互に影響を与えることはないと推察された。

サクラマス¹の1才魚スモルトにおいて遺伝的分析を行った。その結果全同胞群および半同胞群家族のスモルト率はタンク内の密度による影響は認められなかったものの、各家族の体長・体重などの成長形質との間では高い相関を示した。また、スモルト形質に関する遺伝率は雄親成分 (h^2_S) で0.47 を示した。

ウイルス性旋回病は多くのサケ科魚類で発症が知られているが、本研究の過程でもウイルス性旋回病ウイルスが確認された。そこで本病に対する耐病性遺伝率を求めた結果、死亡個体数から0.33-0.56と求められた。この遺伝率から生残個体からの耐病性育種が期待できると判断された。薬剤使用による魚病対策については環境汚染や人体への影響、経済的負担等で問題があり、今後の魚病対策として耐病性育種研究は極めて重要である。特にウイルス病には有効な対策がなく、病原性ウイルスに対する耐病性の育種は急務である。そこで本疾病に対する耐性をニワトリやマウスの例を参考に非感受性を1遺伝子座の優性遺伝子A、その対立遺伝子をaと仮定し、死亡魚および家族の死亡パターンから使用した両親の遺伝子型を推定し、その遺伝子型から遺伝子頻度を求めた結果、 $a=0.696$ 、 $a=0.588-0.663$ ではほぼ一致し、ウイルス病に対する耐性には単純なメンデル遺伝モデルによる遺伝支配のあることが示唆された。この仮説が正しければウイルス性旋回病に対する耐病性育種はAA型ホモ個体の選抜により容易に可能となる。そのため仮説について交配実験による検証が必要である。本研究は上記の仮説の検証のための第一段階としてサクラマスの半同胞群を作出してウイルス感染実験を行い、ウイルス抵抗性に主働的に関与すると考えられているMHC class I 遺伝子に注目し、8尾の作出した半同胞群の両親から

MHC遺伝子の同定を行った。その結果、サクラマス(MHC 遺伝子class I A1、 A2 およびA3、 class II B1がPCRにより同定され、14(A1)、6(A2)、13(A3)および10 (B1)の対立遺伝子と考えられる変異のあることが確認された。これらの塩基配列から求められた非同義置換率はclass I A1およびA2、 class II B1で示され、Peptide binding region (PBR) とNon-PBRとで置換数を比較すると明らかにPBRで高かった。

胚の培養から成魚の養成までの飼育管理を効率よく行うためには今後遺伝育種管理が極めて重要となる。そのためにはそれぞれの目標とする形質について効果的な選抜を行う必要が生じるが、少なくともサクラマスでの本研究で調べた成長、塩分耐性、生残、スモルト、耐病性の諸形質においては選抜効果が期待されること、および育種により飼育効率を上げることができると判断された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 山 崎 文 雄
副 査 教 授 菅 野 泰 次
副 査 助 教 授 後 藤 晃

学 位 論 文 題 名

Studies on the Quantitative Genetics and Breeding in Salmonid Species

(サケ科魚類の量的形質と育種に関する研究)

水産増養殖の振興を図るためには、遺伝的に優れ、飼育が容易で成長が早く、且つ耐病性にも優れた健康な種苗を確保しなければならない。このためには対象とする魚介類の量的形質に関する遺伝特性を把握し、選抜効果を予測する基礎資料が不可欠である。しかし我国の魚介類に関する育種研究は欧米と比較して極めて遅れており、有用魚種であるサケ・マスについても、大規模な増養殖が行われているにもかかわらず、育種学的研究は極めて少ないのが現状である。

申請者はこの点に注目し、サクラマスとシロサケを主要な研究材料として用い、成長形質として、体重、体長、体高等を取り上げ育種学的に検討した。その他、稚魚期の塩分耐性、再生産関連形質として卵サイズ、卵量、稚魚の耐病性、特にウイルス病耐性等、育種目標として重要なこれらの諸形質について遺伝率を求め、育種の可能性について検討した研究で、次の諸点を特に評価した。

1. 成長形質の遺伝特性を調べるために1993年および1994年に完全同胞20家族、半同胞家族10家族を作出し、これを分離または標識により混合飼育して、摂餌開始後4ヶ月、8ヶ月、19ヶ月、23ヶ月後に全ての家族を測定し遺伝率を求めた。遺伝率については両年共類似の結果を得ており、4ヶ月後で0.30～0.51、または0.47～1.10と極めて高い値を示した。8ヶ月後で0.07～0.62、19ヶ月後で0.22、0.51、23ヶ月後で0.08～

0.36といずれも高く、十分に選抜効果が期待できる値であることを明らかにした。また体重、体長、体高等の遺伝相関、および表現型相関は両年とも1に近い値であり、選抜にはどの形質を選抜対象としても効果が期待できることを明らかにした。

2. ふ化45日、50日、105日後のシロサケについて塩分耐性と温度との関係を調べ、海水浸漬の結果求めた塩分耐性の遺伝率は0.32～0.34 (h^2)で、シロサケ稚魚にも塩分耐性に遺伝的変異があり、しかもこの耐性には温度が強く関わっていることを明らかにした。塩分耐性に対する温度の影響は雄間においても、また同一雄の雌間にも差があり、温度が低いと耐性が弱くなることを示した。

3. 初期発育段階での死亡率に関する遺伝率は雄親成分で摂餌開始後4ヶ月で0.13～0.54、

8ヶ月で 0.18 と推定し、4ヶ月までの生存率は8ヶ月までの生存率と高い相関があるが、成長形質との相関は低いこと、また卵サイズと成長形質との相関も低く、成長形質もしくは再生産形質に対して選抜を行っても相互に影響を与えることはないことを示唆し、初期発育段階における選抜のあり方に指針を与えた。

4. 耐病性、特にウイルス病耐性に関する育種学的研究は我国では皆無の状態です。ウイルス病発生に対しては何ら対策が立てられず、飼育魚の焼却、養殖池の完全消毒が施されるのみで、生残魚の遺伝特性に関する研究も行われていない状態であった。本研究では諸形質の遺伝特性を解明中にウイルス性旋回病の発生があり、飼育中の家族分集団が全てウイルスに汚染されたのを機に耐病性の遺伝特性の解明に当たった。耐病性遺伝率を死亡個体数から $0.33 \sim 0.56$ と求め、耐病性品種作出の可能性を示した。更に各家族の死亡率の分布パターンから耐病性に関わる遺伝支配として耐性優勢遺伝子 A、その対立遺伝子 a を仮定し、a の頻度を死亡個体数から $a=0.696$ と求めた。更に死亡パターンから推定される親個体の遺伝子型から $a = 0.588 \sim 0.663$ と求め両者の値が近似すること、更に、半同胞群からも同様の方法で a 値を求めて、それぞれが近似することから、耐病性遺伝支配として、一遺伝子座の耐性優勢遺伝子 A とその対立遺伝子 a による仮説を示し、これを支持した。更にウイルス病抵抗性に主動的に関与すると考えられる MHC class I 遺伝子に注目し、8尾の半同胞群の親魚から MHC class I 遺伝子の同定を行った。その結果 MHC class I 遺伝子を構成する3つのエクソン A₁、A₂、A₃ の塩基配列を明らかにした。A₁ エクソンには14個、A₂ エクソンには6個、A₃ エクソンには13個の対立遺伝子が存在すること、また A₁ エクソンには大きく2つに分けられる変異が存在することを明らかにした。ヒトの MHC class I の対比から蛋白結合部位を推定し、A₁、A₂ 共に蛋白結合部位に相当する塩基に置換が多いことを示した。先の1遺伝子座、2対立遺伝子による耐病性遺伝支配仮説と、MHC class I 遺伝子の対立遺伝子がどのように関連するか極めて興味深い問題を提示し、魚類におけるウイルス耐病性の遺伝支配に関して新しい研究分野を拓いた。

以上本研究はサケ・マスの量的形質に関する遺伝率の推定、各形質間の遺伝相関、表現型相関を求め、各形質の選抜における家族選抜と個体選抜の有効性を指摘した点、更にウイルス病耐性の遺伝支配と育種の可能を示唆するなど、水産育種研究の基礎とその応用に貢献するところが大きいと判断された。これらの評価を総合して審査員一同は本研究の申請者が博士（水産学）の学位を授与される十分な資格を有すると判断した。