

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	日本のアユ型冷水病菌の遺伝的多様性と進化	
研究者所属・氏名	研究代表者：永田 恵里奈 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

魚類の冷水病菌 (*Flavobacterium psychrophilum*) は、世界中のサケ科魚類の養殖に甚大な被害を及ぼしている。申請者らの研究により、一種類だと思われていた冷水病菌集団の中に、様々なタイプの集団が存在することが明らかとなった。どのグループの冷水病菌が実際にアユに病気を引き起こすのか、冷水病菌グループ間の関係は共生か競合かを理解するために、天然の河川をモデルとして、複数年にわたって冷水病菌の分離株を収集し、その遺伝子型の変化や冷水病菌集団内の優占グループの変化について調べる。そして、今後の冷水病の動向を予測する。

2. 研究経過及び成果

滋賀県琵琶湖水系の天然河川をモデルとして、2011年6月、9月そして12月に野外調査を行った。前年度までの研究で、アユの存在が河川での冷水病菌の分布に影響を与えることが示唆されていたことから、河川にアユが遡上してくる6月、産卵期の9月、アユが河川からいなくなる12月に絞って調査を行った。調査では、アユをはじめとする様々な魚類(ニゴイ、カジカ、ヨシノボリ、チチブ、スナヤツメ)、河川水、浮泥、水草、水生昆虫を採取し、寒天平板を用いてこれらの試料から冷水病菌の分離・培養を試みた。分離したコロニーが冷水病菌であるかどうかを、16S rRNA 遺伝子と DNA ジャイレースサブユニット B 遺伝子 (*gyrB*) を標的とした PCR により確認した。そして、分離した冷水病菌の DNA ジャイレースサブユニット A 遺伝子 (*gyrA*) を用いた簡易ジェノタイピングを行い、冷水病菌を3つのタイプ(アユに感染するアユ型、サケ科魚類に感染するサケ・マス型、様々な魚種に感染する多魚種型)に型別した。さらに、6月に分離されたアユ型冷水病菌3株と9月に分離されたアユ型冷水病菌7株に対して、遺伝子配列の差異(シークエンスタイプ: ST)を multilocus sequence typing (MLST) 法を用いてさらに詳細に調べた。

6月、9月そして12月という季節毎に分布調査を行ったところ、分離される冷水病菌の種類が季節ごとに変化することがわかった。6月の試料からアユ型と多魚種型の冷水病菌がそれぞれ70株と3株分離された。9月の試料からは、アユ型冷水病菌のみが178株分離された。12月の試料からはサケ・マス型冷水病菌のみが3株分離された。6月から9月の間の夏季には、河川水温が冷水病菌の最適温度である15℃以上になってしまい、冷水病菌にとっては生き残りにくい環境となる。6月にアユ型や多魚種型の冷水病菌が分離されたにも関わらず、9月にはアユ型の冷水病菌のみになってしまった理由として、河川水温による影響が考えられる。アユ型、多魚種型、サケ・マス型冷水病菌の温度耐性について、今後詳細に調べていく必要がある。

6月と9月にアユ型冷水病菌が分離されたが、12月の調査ではアユ型冷水病菌はまったく分離されなかった。アユは年魚であり、9月～10月の秋季に河川で一斉に産卵したのち、その一生を終える。次に河川に稚アユが遡上してくる春から初夏までの間、河川からアユがいなくなる。このアユの不在の間(12月)には、アユ型冷水病菌はおらず、別のタイプ(サケ・マス型)の冷水病菌が河川に存在することが分かった。この結果は、前年度までの結果とも一致しており、再現性が確認された。12月にサケ・マス型冷水病菌が分離された理由として、琵琶湖固有のマスであるピワマスの遡上・産卵が挙げられる。天然河川に存在する魚種によって、その河川に存在する冷水病菌の種類も変わることが本研究で示された。

6月に分離されたアユ型冷水病菌3株と9月に分離されたアユ型冷水病菌7株に対してMLST解析を行った。これまでの報告者らの研究で、MLST法により、アユ型冷水病菌は、遺伝的に異なる2つの集団に分かれ、一方がアユに対して病原性が強い集団、他方はアユに対して病原性が弱い集団であることが明らかになっている。6月に分離されたアユ型冷水病菌は3株すべてが病原性の強いグループに属していたが、9月に分離されたアユ型冷水病菌は6株が病原性の弱いグループに、1株が病原性の強いグループに属していた。同じアユ型冷水病菌が6月と9月のどちらの月でも分離されているが、アユ型冷水病菌のなかでも、さらに病原性の強いタイプが6月に多く、病原性の弱いタイプが9月に多いという結果となった。6月のアユに比べて9月のアユは産卵に全エネルギーを費やすため免疫力がほとんど無いに等しい状態にある。病原性の異なるアユ型冷水病菌が6月と9月に分離されたのは、アユの生理学的な変化に起因しているのかもしれない。これについては、今後も分布調査を行い再現性を確認するとともに、室内実験においても確認する必要があると考える。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究により、冷水病菌株間で温度耐性の違いを調べる必要が出てきた。さらに、冷水病菌のアユに対する病原性の強弱とアユの生理学的な変化との関連性が示唆された。今後は、この二つのテーマについて取り組む必要がある。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
日本魚病学会秋季大会	口頭(研究発表)	2011年10月2日
Flavobacterium 2012	口頭(招待講演)	2012年6月6日