

アユの河川内での冷水病感受性および放流効果の系統差

原 徹, 桑田知宣, 斉藤 薫

Strain differences of susceptibility to cold-water disease in a river
and stocking effect in ayu

TORU HARA, TOMONORI KUWADA AND KAORU SAITOU

近年アユ(*Plecoglossus altivelis*)漁業の不振が続き、漁獲量は1992年の1,719t¹⁾をピークに減少し、2003年には522t²⁾まで落ち込んでいる。アユ漁業不振の要因の一つとして、冷水病の河川での蔓延による影響がある。アユの冷水病は*Flavobacterium psychrophilum*を原因とする細菌感染症で、1987年に徳島県の養殖場のアユ種苗において初めて確認された。³⁾その後、全国各地で発生が見られるようになり、養殖場のみならず河川にも蔓延し、アユ漁業の不振の一要因となっている。⁴⁾岐阜県では1994年に初めて確認され(未発表)、県内の多くの河川で毎年発生している。これに伴い遊漁者も1992年の721,762人をピークに2002年には347,913人まで減少し、アユの遊漁証の販売枚数も、年券は1992年の51,106枚をピークに、2002年には28,505枚に、日券は1994年の137,070枚をピークに、2002年には69,089枚にそれぞれ減少し、⁵⁾漁業協同組合運営および地域経済にも打撃を与えている。

河川における冷水病の蔓延には、冷水病に罹った種苗の放流が大きな原因となっていると考えられており、⁶⁾冷水病菌を保菌していない種苗の放流により高い放流効果が得られた報告もある。⁷⁾一方で、付着藻類や河川水からも冷水病菌が検出され、冷水病菌が、冬期にも存在している可能性が示唆されている。⁸⁾しかし、河川における疫学的調査が不十分なため、その感染環(動態)が明らかになっていない。

養殖場においては、スルフィゾゾールの経口投与や、加温治療が効果を上げている。⁹⁾しかし、河川に放流したアユではこれらの治療法は応用できない。また、予防免疫に用いることのできるワクチンの研究開発が盛んに行われているが、実用化はされていない。

一方で、アユには遺伝的に異なる二つの系統が存在することが知られている。¹⁰⁾このうち、一つの系統は両側回遊性の生活史を持ち、日本各地の河川に生息している。もう一方は、琵琶湖で陸封された系統であり、琵琶湖とそれに流入する河川を生活の場としている。これら2系統は、生活史だけでなく、生態や性質にも大きな違いがあることが報告されている。¹¹⁾中でも、冷水病に対する感受性にも違いがあることが報告されている。^{12,13)}

河川における冷水病の蔓延には、冷水病に罹った種苗の放流が大きな原因となっていると考えられる。⁶⁾しかし、河川における疫学的調査が不十分なため、その感染環(動態)が明らかになっていない。

本研究では、冷水病菌を保菌していないアユ種苗の放流により、放流から友釣り解禁日までの冷水病被害の状況を調査し、種苗の種類による漁獲状況の違いを明らかにすることを目的とした。

方 法

調査河川

第1図に示した木曾川水系飛騨川支流の竹原川において調査を行った。竹原川下流には数多くのダムがあり、

天然遡上個体は全くいないため、生息しているアユはすべて放流された個体である。

調査区間の流程は902m、平均川幅は6.8mで、標識魚は6,437尾で、放流密度は1.05尾/m²であった。また、調査区間の上流にも標識放流魚と同系統の種苗を標識しない

で放流してあり、その区間の流程は1,030m、平均川幅は6.8mで、放流尾数は10,262尾で、放流密度は1.47尾/m²であった。

放流種苗

標識放流したアユの系統、放流尾数、放流日の平均体重は第1表に示した。すべての系統は当所および当所下呂支所で、継代している親魚より採卵受精した卵から生産した。琵琶湖系人工産アユは継代4代目（以下L-F4）、両側回遊系人工産アユは継代2代目（以下A-F2）であった。また、交雑系人工産アユ（以下H-F1）は、琵琶湖系人工産アユの継代3代目と両側回遊系人工産アユの継代1代目を交雑して生産した。

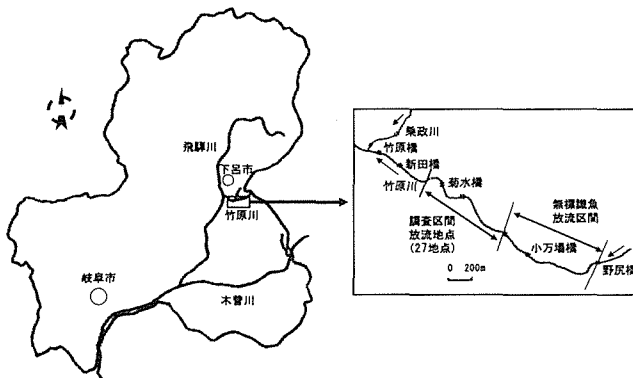
それぞれの種苗は放流前に、L-F4は脂鱭および右腹鱭、A-F2は脂鱭および左腹鱭、H-F1は脂鱭を切除標識し、放流後の識別に用いた。

放流は2005年5月18日に行った。放流日の水況は、平水であった。

なお、放流前日に各系統30尾の鰓および腎臓から冷水病菌の保菌検査を行ったところ、冷水病菌は保菌していなかった（第1表）。

潜水目視調査

放流（5月18日）から友釣り解禁日（6月26日）まで、5月25日、6月9日、および6月22日の3回、調査区間とその上流で潜水目視調査を行い、冷水病の発症状況を記録した。一視野当たりのナワバリ個体数と群れアユ個体数



第1図 調査区間概況図

を計数するとともに、体表に症状（体側の発赤や穴あき症状）が確認できる個体を計数した。

なお、「追い」行動を示してしたものをナワバリ個体、集団で群れていて「追い」行動を示していないものを群れアユ個体とした。

電気ショッカー再捕調査

友釣り解禁（6月26日）前の6月22日に電気ショッカーで標識魚を再捕して、研究所に持ち帰り冷水病菌の保菌検査を行った。

友釣り再捕調査

友釣り解禁日（6月26日）、7月8日、29日および8月24日の4回友釣りでアユを再捕し、各種苗のCPUE（尾/時間/人）の推移を調査した。再捕魚については、冷水病菌の保菌検査を行うとともに、外観症状も確認した。また、友釣りで使用したおとりアユについても、冷水病菌の保菌検査も行った。

冷水病原菌の同定

再捕したアユについて、冷水病菌の保菌の有無を培養法およびPCR法¹⁴⁾により確かめた。アユの鰓および腎臓から滅菌綿棒を用いて釣菌し、改変サイトファーガ寒天培地¹⁵⁾に塗抹、4℃で培養した。培養後、発現した黄色コロニーからDNAを熱抽出した。抽出したDNAを、プライマーPSY-G1¹⁶⁾を用いて、変成が94℃15秒、アニーリングが56.0℃20秒、伸長が72℃60秒で、35サイクルの反応条件でPCRを行い、PCR反応液を試料として、1.1%アガロースゲルを用い、定電圧100V、17分の条件で電気泳動して目標断片の有無を確認した。断片が確認されたDNAについては、プライマーfpPPIC1¹⁷⁾を用いて、さらに変成が95℃15秒、アニーリングが60.0℃30秒、伸長が72℃30秒で35サイクルの反応条件でPCRを行い、PCR反応液を試料として、1.1%アガロースゲルを用い、定電圧100V、17分の条件で電気泳動して目標断片が確認された場合、本研究では陽性検体とした。

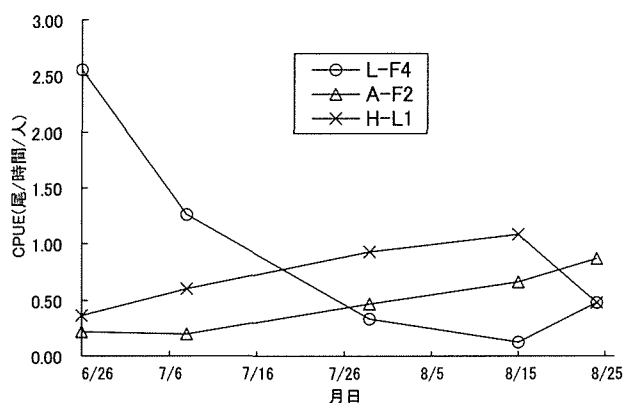
また、この陽性検体の遺伝子型の判別を、fpPPIC1のPCR増幅産物を用いてPCR-RFLP法¹⁷⁾により行った。fpPPIC1のPCR増幅産物を試料として、制限酵素Hinf-Iで37℃で2時間消化したものを3.0%アガロースゲルで定電圧100V、

第1表 竹原川放流種苗の概況

系 統	放流尾数(尾)	平均体重(g)	標準偏差	検査尾数	PCR法(陽性個体数)	
					鰓	腎臓
琵琶湖系人工産アユ(L-F4)	2,261	8.3	2.54	30	0	0
両側回遊系人工産アユ(A-F2)	2,029	6.2	1.85	30	0	0
交雑系人工産アユ(H-F1)	2,183	7.2	1.41	30	0	0

第2表 各調査日における一視野当たりの平均確認個体数

調査日	目視数	ナワバリアユ(尾)	群れアユ(尾)	ナワバリ形成率(%)	冷水病発症個体(尾)
5月25日	12	1.3	25.0	5.06	0
6月9日	30	3.4	57.2	5.66	0
6月22日	30	5.5	44.6	10.91	0



第2図 各種苗のCPUE(尾/時間/人)の推移

30分の条件で電気泳動を行い、遺伝子型を判別した。遺伝子型A型は、154bp、129bp、63bpの3つの断片に、遺伝子型B型は、192bp、154bpの2つの断片になるとされているため¹⁷⁾、192bp、154bp、129bp、63bpの4つの断片がみられたものを遺伝子型A+B型と判定した。

結果

潜水目視調査

潜水目視調査は5月25日、6月9日、22日の3回調査区間とその上流で行ったが、病魚は確認されなかった。

潜水目視調査での調査区間内における一目視野当たりのナワバリアユおよび群れアユの平均確認尾数を第3表に示した。放流から日数が経過するにつれ、ナワバリアユの個体数が増えてナワバリ形成率が上昇し、群れアユの個体数が減少する傾向がみられた(第2表)。

また、各調査時に調査区間とその上流で病魚は確認されなかった(第2表)。

各系統のCPUEの推移

各系統のCPUEの推移を第2図に示した。6月26日および7月8日はL-F4が2.56と他の系統と比較して最も高い値であった。しかし、7月29日、8月15日にはH-F1が、8月24日にはA-F2が最も高い値となった。

各系統の冷水病菌の保菌状況の推移

友釣り解禁日前の電気ショックおよび友釣り再捕魚の保菌検査結果を第3表に示した。

電気ショックによる再捕魚は、鰓および腎臓で冷水

第3表 電気ショックおよび友釣り再捕魚の保菌検査結果

採捕日	系統	検査尾数	PCR法(陽性個体数)		遺伝子型			
			鰓	腎臓	鰓		腎臓	
					A	B	A	B
6月22日	—	30	0	0				
	L-F4	30	15	1	15		1	
6月26日	A-F2	8	3	0	3			
	H-F1	13	8	0	8			
	L-F4	19	18	2	16	2	2	
7月8日	A-F2	3	2	1	2		1	
	H-F1	9	8	2	7	1	2	
	L-F4	5	2	0	2			
7月29日	A-F2	7	0	0				
	H-F1	14	3	0	3			
	L-F4	2	1	0	1			
8月15日	A-F2	11	5	0	5			
	H-F1	18	4	0	4			
	L-F4	6	0	0				
8月24日	A-F2	11	0	1				1
	H-F1	6	0	0				

第4表 友釣り再捕魚の外観症状

採捕日	系統	検査尾数	外観症状が確認された個体数				
			顎発赤	顎穴	体側穴	鰭基部発赤	患部治癒跡
	L-F4	30	1				
6月26日	A-F2	8					
	H-F1	13					
	無標識魚	10					
	L-F4	19		3			
7月8日	A-F2	3					
	H-F1	9	1				
	無標識魚	7				1	
	L-F4	5		3		1	
7月29日	A-F2	7	1				
	H-F1	14				4	
	無標識魚	9	1	2			
	L-F4	2		1		1	
8月15日	A-F2	11					1
	H-F1	18					1
	無標識魚	11	1				1
	L-F4	6		3			1
8月24日	A-F2	11	1	2			
	H-F1	6		1		1	
	無標識魚	7		2			2

病菌を保菌していなかった(第3表)。

友釣り再捕魚の冷水病菌の保菌率は、鰓では、6月26日(友釣り解禁日)に37.5%(A-F2)~61.5%(H-F1)であったが、7月8日には66.7%(A-F2)~94.7%(L-F4)と全体的に高くなった。その後、7月29日には全体的に分離率が低くなり、8月24日にはどの種苗からも保菌は確認されなかった。腎臓では、6月26日(友釣り解禁日)にL-F4の1検体のみが保菌していたが、7月8日にはすべての系統で保菌が確認された。その後、7月29日および8月15日にはどの系統からも保菌が確認されなかったが、8月24日にA-F2で1個体が保菌していた。

検体された冷水病菌の遺伝子型は、7月8日のL-F4の鰓で2検体、H-F1の鰓で1検体がB型であったが、それ以外は

第5表 おとりアユの保菌検査結果

検体日	検体尾数	PCR法(陽性個体数)		遺伝子型				
		鰓	腎臓	鰓		腎臓		臓
				A	B	A+B	A	
6月26日	23	20	11	20		11		
7月8日	8	5	0	3	2			
7月29日	9	9	2	8		1	2	
8月15日	9	6	1	3		3	1	
8月24日	9	3	1	3			1	

全てA型であった(第3表)。

再捕魚の外観症状を第4表に示した。友釣り解禁日(6月26日)再捕魚にはL-F4の1尾の下顎に発赤が認められたが、その他の再捕魚には異常は見られなかった。しかし、7月8日再捕魚には、下顎や鰭基部が発赤したものに加えて下顎に穴あき症状がある個体が見られた。7月20日に潜水目視調査を行ったところ、体側等に穴あき症状がある個体が、流れの緩やかな場所等に群れている状況が確認された。その後7月29日再捕魚には7月8日同様に下顎や鰭基部が発赤したものに加えて下顎に穴あき症状が認められる個体が見られたが、8月15日および24日再捕魚の中には体側等の穴あき症状が治癒しかけているものや治癒したものが見られた。

友釣りで使用したおとりアユの保菌検査結果および遺伝子型を第5表に示した。鰓ではすべての調査日で、保菌が認められた。腎臓では6月26日(友釣り解禁日)に47.8%と高い割合で検出されたが、その他の調査日は0~22.2%と保菌検体の割合は低かった。検出された冷水病菌の遺伝子型は、7月8日の鰓の2検体でB型、7月29日の鰓の1検体、8月15日の鰓3検体でA+B型が確認された。それ以外は全てA型であった。

考 察

放流種苗の冷水病菌の保菌検査では、どの系統も冷水病菌を保菌しておらず、潜水目視でも症状の見られる個体や死魚は確認されておらず、友釣り解禁4日前の電気ショッカー再捕魚においても陰性であったため、冷水病菌を保菌していないアユ種苗の放流により、友釣り解禁日までの冷水病被害の抑制効果が期待できると考えられた。

友釣り解禁日には冷水病の被害は出しておらず、再捕魚にも外観症状のみ見られる個体は確認されなかった。しかし、再捕魚からは、遺伝子型がA型の冷水病菌が検出され、冷水病の被害は出ていないが、保菌状態であることが確認された。友釣り解禁2日前から流域では、おとりアユ

が蓄養されており、友釣り解禁日に使用したおとりアユからも遺伝子型がA型の冷水病菌が検出された。これまでこのような短期間で冷水病菌が持ち込まれて感染した事例の報告はないが、遺伝子型がA型はおとりアユによって持ち込まれ、放流種苗に感染した可能性が考えられ、感染力が強いことが推察された。今後は遺伝子型A型の冷水病菌の河川への供給源の一つになっている可能性が高いと考えられるおとりアユの生産と供給体制の整備についても検討する必要がある。

本調査では、3種類の種苗の比較放流も行い、種苗による漁獲時期の違いや冷水病の影響についても調査した。澁谷ら¹⁸⁾は、海系アユと琵琶湖系アユのナワバリ性と水温の関連について、海系アユのナワバリ形成率は24℃の水温区で最大値であったのに対し、琵琶湖系アユは21℃の水温区で最大値で、攻撃性についても同様の傾向であったと報告している。本調査でのCPUEは、解禁当初はL-F4が他の種苗と比較して非常に高く、漁期後半にA-F2が最も高くなっており、琵琶湖系アユと両側回遊系アユのそれぞれの水温特性により漁獲時期に違いがみられたと考えられた。

また、L-F4のCPUEは冷水病が蔓延して冷水病菌の保菌率が高くなると急激に低くなった。これは、2004年に大洞川で行った琵琶湖系人工産アユ(L-F3)の単独放流の結果¹⁹⁾と同様の傾向で、琵琶湖系人工産アユは、冷水病蔓延後に急激に釣れなくなるため、冷水病耐性が弱いことが示唆された。一方、H-F1は、冷水病が蔓延して再捕魚の保菌率が上昇した7月中旬~8月中旬もCPUEは他の種苗より高くなった。これは、雑種強勢によってH-F1の冷水病耐性や水温適性が琵琶湖系人工産アユと両側回遊系人工産アユの間に現れている可能性が推察された。

今後冷水病に強く、冷水病の蔓延後も良く釣れる種苗という観点で種苗の開発を考えた場合、交雑系人工産アユの育種による継代種苗の開発が有効と考えられた。しかし、交雑系人工産アユを育種して河川に放流する場合、特に天然アユ資源への遺伝的な影響が懸念されるため、開発する種苗の遺伝的な特徴を把握して、天然資源への

影響をリスク管理できるようなモニタリング体制を構築するとともに、種苗を放流する河川や場所についても吟味して行く必要がある。

要 約

1. 木曾川水系飛騨川支流の竹原川において、当所で生産した琵琶湖系人工産アユ(L-F4)、両側回遊系人工産アユ(A-F2)および交雑系人工産アユ(H-F1)をそれぞれ緒切除標識して放流し、冷水病菌を保菌していないアユ種苗の放流効果と種苗の種類による漁獲状況を調査した。
2. 冷水病菌を保菌していないアユ種苗の放流により、友釣り解禁日までの冷水病被害を抑制することが期待できると考えられた。
3. おとりアユが遺伝子型がA型の冷水病菌の河川への供給源の一つになっている可能性が高いと考えられ、今後冷水病菌を保菌していないおとりアユの生産と供給体制の整備が必要と考えられた。
4. 琵琶湖系人工産アユは、解禁当初に他の種苗よりよく釣れるものの、冷水病に弱い傾向がみられた。
5. 両側回遊系人工産アユは漁期後半に釣れるようになったが、これは種苗の水温特性の影響と推察された。
6. 冷水病に強く、冷水病が蔓延した後も良く釣れる種苗の開発を考えた場合、交雑系人工産アユの育種が有効と考えられたが、天然資源への影響をリスク管理できるようなモニタリング体制の構築や、放流河川や場所の選定も吟味して行く必要がある。

文 献

- 1) 農林水産省統計情報部. 内水面漁業漁獲量. 平成4年漁業・養殖業生産統計年報 1994;188-189.
- 2) 農林水産省統計情報部. 内水面漁業漁獲量. 平成15年漁業・養殖業生産統計年報 2005;164-165.
- 3) 井上潔. アユの冷水病. 海洋と生物. 2000;22:35-38.
- 4) 岐阜県農林水産局水産振興室. 遊漁状況, 岐阜県の水産業 2004;13-15.
- 5) 若林久嗣, 沢田建蔵, Bertolini JM, Rohovec JS. アユの冷水病について. 平成4年度日本魚病学会春季大会講演要旨集 1992;5.
- 6) 植木範行, 増成伸文. 一河川の発病経過から見たアユの冷水病の特性. 岡山水試報 2000;15:47-50.
- 7) 川之辺素一, 沢本良一, 山本 聡. 千曲川におけるアユの放流効果と冷水病の関係. 長野水試研報 2005;7:10-15.
- 8) 網田健次郎, 星野正邦, 本間智晴, 若林久嗣. 河川における*Flavobacterium psychrophilum*の分布調査. 魚病研究 2000;35(4):191-197.
- 9) アユ冷水病対策協議会. 予防・治療対策. アユ冷水病対策協議会取りまとめ 2004;13-17.
- 10) 谷口順彦, 関 伸吾, 稲田善和. 両側回遊型、陸封型および人工採苗アユ集団の遺伝変異保有量と集団間の分化について. 日水誌 1983;49(11):1655-1663.
- 11) 関 伸吾, 谷口順彦, 村上幸二, 米田 実. 湖産アユと海産アユの成長・成熟および行動の比較. 淡水魚 1984;10:101-104.
- 12) Nagai T, Tamura T, Iida Y, Yoneji T. Differences in susceptibility to *Flavobacterium psychrophilum* among three stocks of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish Pathol.* 2004;39 (3):159-164.
- 13) Nagai T, Sakamoto T. Susceptibility and immune response to *Flavobacterium psychrophilum* between different stocks of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish Pathol.* 2006;41(3):99-104.
- 14) Beverton RJH, Holt SJ. On the dynamics of exploited fish populations. *Fish. Invest. Ser. II* 1957;19:533.
- 15) Izumi S, Wakabayashi H. Use of PCR to detect *Cytophaga psychrophila* from apparently healthy juvenile ayu and coho salmon eggs. *Fish. Pathol.* 1997;32:169-173.
- 16) Izumi S, Aranishi F, Wakabayashi H. Genotyping of *Flavobacterium psychrophilum* using PCR-RFLP analysis. *Dis. Aqua. Org.* 2003;56:207-214.
- 17) 吉浦康寿, 釜石 隆, 中易千早, 乙竹 充. Peptidyl-prolyl cis-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 2006;41(2):67-71.
- 18) 澁谷竜太郎, 関 伸吾, 谷口順彦. 海系アユおよび琵琶湖系アユのなわばり行動の水温比較. 水産増殖 1995;43(4):416-421.
- 19) 原 徹. 冷水病に罹っていない健康な琵琶湖産系人工産アユの放流による漁獲回復実証研究, 琵琶湖産系人工産アユの特性研究. 平成16年度岐阜県淡水魚研究所業務報告 2006;18.