

## 飼育水温および飼育密度がアユの胸腺の発達に与える影響

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	原, 日出夫 山本, 充孝 村木, 誠一 三輪, 理
巻/号	72巻2号
掲載ページ	p. 182-185
発行年月	2006年3月

## 飼育水温および飼育密度がアユの胸腺の発達に与える影響

原 日出夫,<sup>1\*</sup> 山本充孝,<sup>2a</sup> 村木誠一,<sup>3b</sup> 三輪 理<sup>4</sup>

(2005年5月9日受付, 2005年10月11日受理)

<sup>1</sup>神奈川県水産技術センター内水面試験場, <sup>2</sup>滋賀県水産試験場,<sup>3</sup>富山県水産試験場, <sup>4</sup>独水産総合研究センター養殖研究所Influence of water temperature and rearing density on thymus development of cultured ayu *Plecoglossus altivelis altivelis*, and relation between the thymus volume.HIDEO HARA,<sup>1\*</sup> MICHITAKA YAMAMOTO,<sup>2a</sup> SEIICHI MURAKI<sup>3b</sup> AND SATOSHI MIWA<sup>4</sup><sup>1</sup>Inland-water Fisheries Experimental Station, Kanagawa Prefectural Fisheries Technology Center, Sagami-hara, Kanagawa 229-1135, <sup>2</sup>Shiga Prefectural Fisheries Experimental Station, Hikone, Shiga 522-0057, <sup>3</sup>Toyama Prefectural Fisheries Research Institute, Namerikawa, Toyama 936-8536, <sup>4</sup>Inland Station, National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency, Tamaki, Mie 519-0423, Japan

We investigated the effects of water temperature and rearing density on the development of the thymus in juvenile ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* from three different origins, Shiga, Toyama and Kanagawa. The thymus volume of the ayu that had been reared at high water temperature (about 20°C) was significantly smaller than that of the ayu reared at low water temperature (about 15°C). Rearing density ranging from 0.58 to 10.95 kg/m<sup>3</sup> water at the end of the experiment did not affect the thymus development.

キーワード: アユ, 胸腺, 水温, 密度

アユは我が国の内水面漁業および養殖業において重要な魚種となっているが, 近年, 冷水病<sup>1)</sup>や細菌性出血性腹水病<sup>2)</sup>などの細菌性疾病が発生し大きな被害を与えている。アユ冷水病の原因菌は *Flavobacterium psychrophilum* で, 主な症状は, 鰓の貧血や体表の穴あきである。治療薬が市販されているが, 既に穴があいたアユには商品価値がなく, 投与により一旦治まっても再発することがある。また, 養殖場のみならず天然河川においてもしばしば発生し, 被害を大きくしている。細菌性出血性腹水病の治療薬は市販されていない。このため, これらの疾病に対するワクチン等予防技術や病気に強い種苗の開発が期待されている。

このような状況の中, アユ種苗には病気に強い種苗と弱い種苗があるのでないかという風評があるが, これを裏付ける具体的な知見はない。一方, 人工種苗は天然種苗に比較して胸腺の発達が悪い場合が多いことが報告され

ている。<sup>3)</sup> 胸腺の発達が悪いと抗病性が劣るという具体的な知見はないが, 哺乳類と同様, 魚類においても胸腺は生体防御に重要な役割を果たしていると考えられている。<sup>4)</sup> したがって, 胸腺の発達は抗病性に何らかの影響を及ぼすのではないかと考えられる。人工種苗における胸腺の発達不良の原因としては, 高水温と高飼育密度が予備の実験結果として上げられている。<sup>3)</sup> しかしこの結果は, 琵琶湖産アユを用いた1回のみの実験結果であることから, 異なる由来のアユを用いた複数の実験によって確認を行う必要がある。そこで本研究では, 飼育水温および飼育密度が胸腺の発達に与える影響に関する実験を複数の施設で行い, その結果について検討した。

## 材料および方法

供試魚 供試魚は, 2003年2月28日に琵琶湖内のエリと呼ばれる定置網で漁獲されたもの(S), 神通川

\* Tel: 81-042-763-2007. FAX: 81-042-763-6254. Email: hara.g8zq@pref.kanagawa.jp

<sup>a</sup> 現所属: 滋賀県農政水産部水産課 (Fisheries Division of Agriculture and Fisheries Department Shiga Prefectural Government, Otsu, Shiga 520-8577, Japan)<sup>b</sup> 現所属: 富山県農林水産部水産漁港課 (Fisheries and Fishing Port Division of Agriculture, Forestry and Fisheries Department Toyama Prefectural Government, Shinsogawa, Toyama 930-8501, Japan)

Table 1 Experimental groups and rearing conditions

Group designation	S-LTLD	S-LTHD	S-HTLD	T-LTLD	T-LTHD	K-LTLD	K-HTLD
Date of the start of the experiments	2003 Apr 4	2003 Apr 4	2003 Apr 4	2003 Feb 19	2003 Feb 19	2003 Jan 23	2003 Jan 23
Average Water temperatures (°C) (range of fluctuation)	15.0 (14.3~15.9)	15.6 (14.3~15.7)	19.6 (17.6~21.3)	11.8 (9.8~15.9)	11.9 (9.8~15.9)	15.1 (13.2~17.9)	19.8 (18.5~22.3)
Numbers of fish <sup>1)</sup>	287	2,977	275	500	5,000	1,000	1,000
Average body weight of fish (g/fish) <sup>1)</sup>	0.65	0.63	0.68	1.50	1.50	1.00	1.00
Density of fish (kg/m <sup>3</sup> ) <sup>1)</sup>	0.25	2.50	0.25	0.38	3.75	0.37	0.37
Cumulative mortality during the experiments (%)	83.3	59.0	30.9	0.4	10.0	3.5	5.0
Average body weight of fish (g/fish) <sup>2)</sup>	9.04	6.72	9.34	6.90	4.00	11.62	11.03
Rearing density (kg/m <sup>3</sup> ) <sup>2)</sup>	0.58	10.95	2.37	1.72	9.00	4.15	3.88
Total amount of diet during the experiment (g)	777	11,954	1,383	4,837	30,255	3,029	3,218

S-, Shiga; T-, Toyama; K-, Kanagawa. LTLD, low water temperature and low rearing density; LTHD, low water temperature and high rearing density; HTLD, high water temperature and low rearing density.

<sup>1)</sup> at the start of the experiments.

<sup>2)</sup> at the end of the experiments.

由来のアユを継代飼育した親魚（継代数 4）を用いて、富山漁業協同組合神通川アユ・マス増殖場で 2002 年 9 月に採卵され、ふ化後は富山湾で採水、運搬された海水を  $18.6 \pm 1.3^\circ\text{C}$  として一定期間飼育後、淡水馴致し、 $15.6 \pm 0.8^\circ\text{C}$  の井戸水のかけ流しで飼育されたもの (T)、多摩川、相模川、木曾川および群馬県水産試験場由来のアユを継代飼育した親魚（継代数 25）を用いて、神奈川県水産総合研究所内水面試験場で 2002 年 9 月 17 日に採卵され、ふ化後は室温の人工海水による止水飼育、1 週間後から循環ろ過飼育を行い、水温  $18.7 \pm 1.4^\circ\text{C}$  となるよう適宜加温して飼育されたもの (K) の計 3 群を用いた。S は滋賀県水産試験場で、T は富山県水産試験場で、K は神奈川県水産総合研究所内水面試験場でそれぞれ予備飼育した。なお、S については細菌感染症を予防するため、予備飼育期間中  $23^\circ\text{C}$  の加温飼育を 3 日間、加温終了から 4 日後にフロルフェニコールの経口投与 ( $10 \text{ mg/BW}(\text{kg})/\text{日}$ ) を 5 日間、フロルフェニコール最終投与日から  $28^\circ\text{C}$  の加温飼育を 3 日間、加温終了から 8 日後に再度  $28^\circ\text{C}$  の加温飼育を 3 日間行った。

**飼育条件** 各供試魚の飼育条件を Table 1 に示した。S は、低水温低密度群 (S-LTLD)、低水温高密度群 (S-LTHD) および高水温低密度群 (S-HTLD) を設定した。飼育水槽は角型コンクリート製 1 t 水槽 3 基を用いた。飼育水は井戸水とし、各水槽に  $0.75 \text{ m}^3$  用意し、かけ流しで飼育した。アユの成長に応じて市販の配合飼料 (日本配合飼料株式会社初期飼料 F No. 2, No. 3 および鮎アルファ・メガ 1C, 2C) を魚体重の 3.0% となるよう投与し、総投与量について S-LTLD は 777 g、S-

LTHD は 11,954 g および S-HTLD は 1,383 g とした。飼育期間は 95 日間とした。T は、低水温低密度群 (T-LTLD) および低水温高密度群 (T-LTHD) を設定した。飼育水槽は角型コンクリート製 2 t 水槽 2 基を用いた。飼育水は井戸水とし、各水槽に  $2.0 \text{ m}^3$  用意し、かけ流しで飼育した。市販の配合飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社アユ稚魚用配合飼料 PC No. 1) を魚体重の 3.0% となるよう投与し、総投与量について T-LTLD は 4,837 g および T-LTHD は 30,255 g とした。飼育期間は 100 日間とした。K は、低水温低密度群 (K-LTHD) および高水温低密度群 (K-HTLD) を設定した。飼育水槽は円型 FRP 製 3 t 水槽 2 基を用いた。飼育水は人工海水とし、各水槽に  $2.7 \text{ m}^3$  用意し、循環ろ過により飼育した。アユの成長に応じて市販の配合飼料 (林兼産業株式会社あゆっ子 2, 3 および日本配合飼料株式会社アルファ・メガ 1C, 2C) を魚体重の 2.5~3.0% となるよう設定し、総投与量について K-LTLD は 3,029 g および K-HTLD は 3,218 g とした。飼育期間は 113 日間とした。なお、どの群も自然日長下で飼育した。

**胸腺の固定と体積の測定** 胸腺の体積の測定時のアユの体長と体重を Table 2 に示す。S は試験開始から 94 日後 (7 月 7 日)、T は 99 日後 (5 月 29 日) および K は 112 日後 (5 月 15 日)、それぞれの飼育群のアユをオイゲノール (田辺製薬株式会社、FA100) で麻酔後、各 10 尾ずつ胸腺の固定を行った。まず、アユを断頭後脱血し、下顎と吻端を切り取った頭部全体を Davidson の固定液 (エタノール 330 mL、市販ホルマリン原液 220 mL、氷酢酸 115 mL、蒸留水 335 mL) で固定した。その後、胸腺を含むより小さなブロックにトリミングし

**Table 2** Body weight and standard length of fish sampled at the end of experiment

Groups	S-LTLD	S-LTHD	S-HTLD	T-LTLD	T-LTHD	K-LTLD	K-HTLD
Date of sampling	2003 July 7	2003 July 7	2003 July 7	2003 May 29	2003 May 29	2003 May 15	2003 May 15
Numbers (fish)	10	10	10	10	10	10	10
Body weight (g) <sup>1)</sup>	6.9±1.0	5.5±0.9	6.2±0.8	5.3±0.5	5.4±0.5	10.9±1.0	10.9±0.8
Body length (cm) <sup>1)</sup>	8.6±0.4	7.9±0.5	8.3±0.4	8.3±0.2	8.3±0.2	9.5±0.2	9.4±0.3

S-, Shiga; T-, Toyama; K-, Kanagawa. LTLD, low water temperature and low rearing density; LTHD, low water temperature and high rearing density; HTLD, high water temperature and low rearing density.

<sup>1)</sup> data are expressed as means ± S.E.

た。組織は定法に従ってパラフィン包埋して切片を作成し、ヘマトキシリン-エオシン (HE) 染色を施して検鏡した。

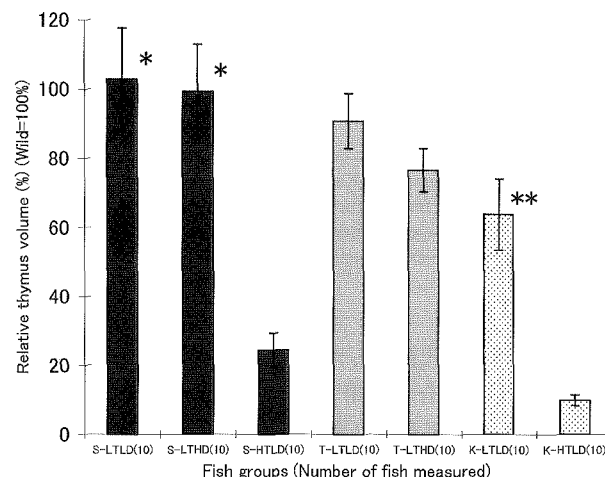
Miwa *et al.*<sup>3)</sup> に従って各個体の右体側の胸腺の体積を測定した。ただし顕微鏡用デジタルカメラは DP-50 (オリンパス) を用い、画像解析ソフトは Image-Pro PLUS version 4.5.1 (Media Cybernetics, Inc., USA) を用いた。さらに各個体の胸腺の体積について、同体長の天然アユの胸腺の体積値に対する百分率を求めるため、Miwa *et al.*<sup>3)</sup> の天然アユの体長と胸腺体積の回帰曲線を用い、各個体の体長に相当する天然アユの回帰曲線上の値を 100 として各個体の胸腺の割合を算出した。

## 結 果

体長に対する胸腺体積の割合について、天然アユを 100% として各飼育群の胸腺の大きさを比較した結果を Fig. 1 に示す。また、各飼育群の代表的なサンプルとして、それぞれの胸腺のほぼ同じ位置の組織像を Fig. 2 に示す。高水温飼育区の S-HTLD および K-HTLD は、明らかにアユの胸腺の体積は小さく、S-HTLD は S-LTLD と、K-HTLD は K-LTLD と比較してそれぞれ有意差 ( $p < 0.01$ ,  $t$  検定) が認められた。一方、高密度飼育の S-LTHD および T-LTHD を同じ由来の魚群の低密度飼育区と比較すると、胸腺の体積には有意な差は認められなかった。

## 考 察

アユの胸腺の発達は、高水温飼育により抑制されることが確認された。一方、Miwa *et al.*<sup>3)</sup> は高密度飼育でも胸腺の発達が抑制されたと報告しているが、本研究では高密度飼育により胸腺の発達は抑制されなかった。したがって、高密度飼育による直接的効果により胸腺の発達が抑制されることはない可能性が高いと考えられる。Miwa *et al.*<sup>3)</sup> において高密度飼育で胸腺の発達が抑制されたのは、水質の悪化等他の要因が原因となった可能性が考えられる。アユの養殖適水温は 15~25°C とされている<sup>5)</sup> が、本実験の結果は、アユ稚魚を 20°C 前後で飼育すると胸腺の発達程度が有意に低くなる可能性を示唆



**Fig. 1** Relative thymus volume of the ayu in seven different experimental groups after rearing for 95–113 days. Vertical axis indicates the percentage of thymus volume of experimental fish to the value on the correlation curve for the wild fish at the corresponding body length. Data are expressed as means ± S.E. \* significantly different from S-HTLD ( $p < 0.01$ ). \*\* significantly different from K-HTLD ( $p < 0.01$ ). S-, Shiga; T-, Toyama; K-, Kanagawa. LTLD, low water temperature and low rearing density; LTHD, low water temperature and high rearing density; HTLD, high water temperature and low rearing density.

している。今回の実験結果と Miwa *et al.*<sup>3)</sup> の結果を考え合わせると、湖産、海産ともアユの胸腺が正常に発達するためには、稚魚期に 16°C 以下の水温で一定期間飼育する必要があると思われる。天然アユの場合には、ふ化仔魚は秋に降海または降湖して冬季に低水温を経験する。たとえば相模湾では冬季の水温は 12°C 前後まで低下し、<sup>6)</sup> 琵琶湖では 7°C 前後まで低下するが、<sup>7)</sup> アユの胸腺の発達はこのような生活史における環境条件に適応しているものと考えられる。しかし、本研究でみられた高水温による胸腺の発達の抑制がどのような機構によるのかは不明である。アユは夏至以降日長が短日になるに従って生殖腺が発達し、それに伴って胸腺が退縮することが知られているが、<sup>8)</sup> 今回の実験は 7 月初旬までに終了していることから、そのような影響は無かったものと考

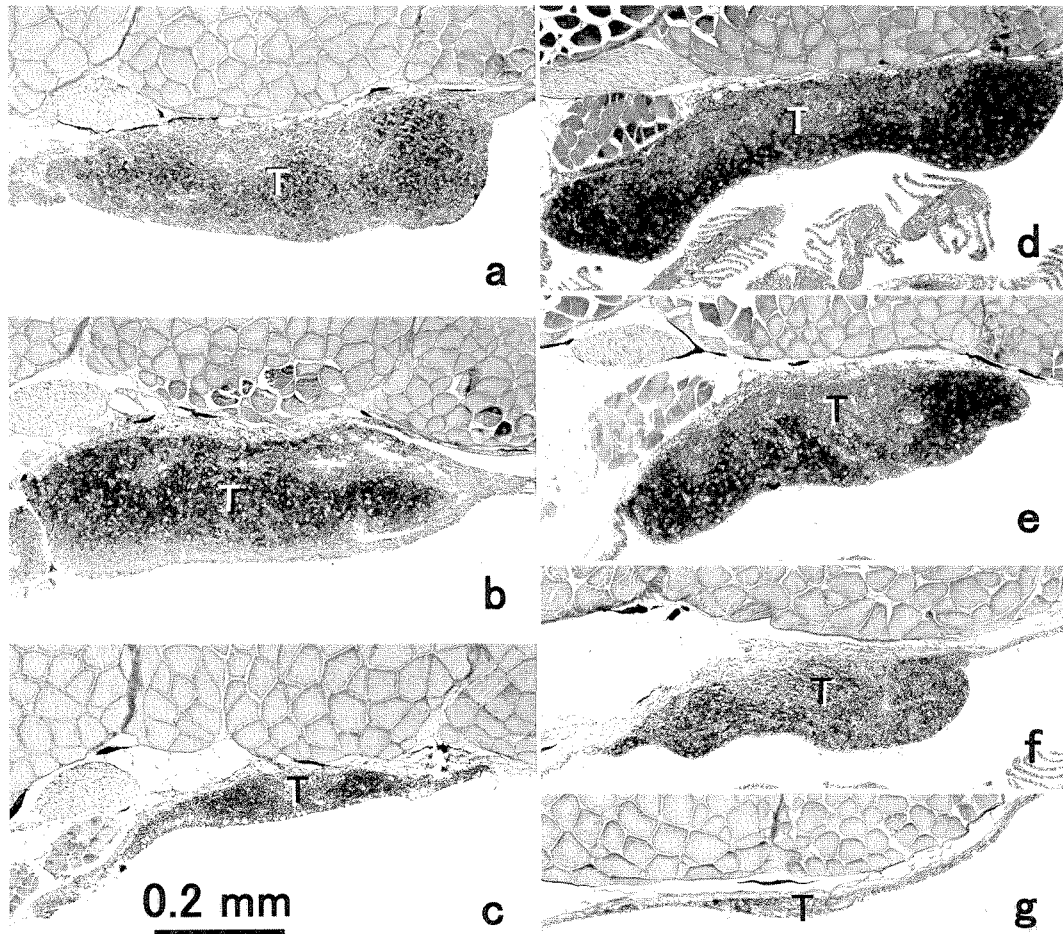


Fig. 2 Representative sections of the thymus of the ayu reared under different conditions. The sections are at about the same relative position of the fish body and shown at the same magnification. The sections were cut transversely. Hematoxylin and eosin. T, thymus. a, S-LTLD; b, S-LTHD; c, S-HTLD; d, T-LTLD; e, T-LTHD; f, K-LTLD; g, K-HTLD. See text for the explanation of the groups.

えられる。本研究の高水温飼育区で観察された、胸腺の発達抑制を起こす機序の詳細は不明であったが、冬季に琵琶湖産アユを 14℃ または 18℃ で恒常的に飼育し、3～5月における GSI を両温度区で比較したところ、14℃ 区では GSI の上昇が認められなかったが 18℃ 区では認められたとの報告があることから、<sup>9)</sup> 今回の実験のように夏至前に 18℃ 以上の水温で稚アユを飼育することにより、生殖腺がある程度成熟を開始し、それによって胸腺の発達が抑制された可能性も考えられた。

今後は、胸腺の発達の異なる種苗を用いた人為感染実験等を行い、胸腺の発達程度と抗病性との関連を総合的に検討する必要があると考える。

#### 謝 辞

本研究をすすめるにあたり、アユ種苗を提供していただいた富山漁業協同組合および同組合神通川アユ・マス増殖場に厚くお礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) 井上 潔. アユの冷水病. 海洋と生物 2000; **126**: 35-38.
- 2) 若林久嗣, 沢田健蔵, 二宮浩司, 西森栄太. シュードモナス属細菌によるアユの細菌性出血性腹水症. 魚病研究 1996; **31**: 239-240.
- 3) Miwa, S., Sakai, A., and Nakane, M. Impairment of thymus development in cultured osmerid fish, the ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Aquaculture*. 2003; **221**: 535-548.
- 4) 会田勝美, 小林牧人, 金子豊二. 内分泌, 「魚類生理学」(板沢靖男, 羽生功編), 恒星社厚生閣, 東京. 1991; 229-230.
- 5) 鈴木規夫. アユ. 「淡水養殖技術」(野村稔編) 恒星社厚生閣, 東京, 1982; 254-267.
- 6) 東京都水産試験場, 千葉県水産研究センター, 神奈川県水産総合研究所, 静岡県水産試験場. 一都三県魚海況速報—2003年版—(4398号~4640号). 2004; 1-370.
- 7) 孝橋賢一, 井嶋重尾, 津村祐司, 二宮浩司, 山本充孝, 里井晋一. 琵琶湖定点定期観測(平成12年度). 滋賀水試研報 2003; **50**: 65-101.
- 8) 本間義治, 田村栄光. 日誌 1972; **38**: 995-1005.
- 9) 酒井明久. 冬季の飼育水温と長日処理がアユの性成熟に及ぼす影響. 滋賀水試研報 2005 (印刷中).