

冷水病保菌親魚から人工種苗生産したアユの保菌検査

誌名	岡山県水産試験場報告 = Bulletin of the Fisheries Experiment Station, Okayama Prefecture
ISSN	09129219
著者名	増成, 伸文 植木, 範行 藤井, 義弘
発行元	岡山県水産試験場
巻/号	24号
掲載ページ	p. 152-155
発行年月	2009年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



冷水病保菌親魚から人工種苗生産したアユの保菌検査

増成伸文・植木範行・藤井義弘*

A Trial to Detect the Pathogen of Bacterial Coldwater Disease (BCWD) from Artificial Seedlings of the Ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* Produced from the BCWD Carrier

Nobufumi MASUNARI, Noriyuki UEKI and Yoshihiro FUJII

キーワード：アユ, 垂直感染, 冷水病, BCWD, *Flavobacterium psychrophilum*

アユの冷水病は内水面漁業に甚大な被害を与えており¹⁻³⁾, 河川へのアユ種苗の放流時には, 非保菌種苗を放流することの重要性が指摘されている^{3,4)}。冷水病はサケ科魚類においては垂直感染することが既に報告されており^{5,6)}, 多くのアユ種苗生産機関で冷水病が発生していることや, アユの成長に伴う様々なステージで冷水病原因菌 *Flavobacterium psychrophilum* (以下, 冷水病菌と略す) が検出されていることから, アユにおいても垂直感染の可能性が強く疑われてきた^{3,7)}。このため, 非保菌種苗を生産する手段として, 保菌親魚に対する薬剤や注射ワクチンの投与, 高水温飼育⁸⁾, 受精卵の消毒^{9,10)}等が検討されてきた¹¹⁾。

本調査では, 上記の手段を一切行わず, 冷水病保菌親魚から生産した種苗を隔離飼育し, 発病の有無及び保菌の有無について産卵期まで追跡調査したので, その概要を報告する。なお, PCR 検査で陰性であった群であっても, 成熟期まで飼育すると発病する例があり, 検査対象群の保菌状況を調査するには成熟期まで隔離して調査す

ることが賢明とされている¹²⁾。

材料と方法

天然親魚から採卵し, 全海水を飼育水に用いた従来の方法¹³⁻¹⁶⁾で種苗生産を行った。その後, 生産した種苗を冷水病が浸入する恐れのない施設で河川水を使うことなく飼育し, 冷水病が発生するかどうかを経過観察した。さらに保菌率が高まるとされている産卵期¹⁷⁾を中心に, 保菌検査を行った。採卵, 種苗生産, 隔離飼育の概要を表1に, 各項目の詳細を下記に示した。

親魚の由来と種苗生産 1999 (平成11) 年, '00年及び'01年の10月に, 愛知県一宮市で木曾川産の天然親魚から乾導法で人工授精し, しゅろブラシに付着させた受精卵を, 湿潤状態で約7時間かけて岡山県水産試験場栽培漁業センター (以下, 栽培センターと略す) に輸送した。

搬入した受精卵を, チオ硫酸ナトリウムで中和した水道水中に収容し, 卵管理した。ふ化完了後, 直ちに海水を注水し, 飼育水を淡水から1/2海水とした。ふ化後12

表1 採卵, 種苗生産, 隔離飼育の概要

採卵 (愛知県一宮市)		種苗生産 (栽培センター)			隔離飼育 (魚病センター)	
親魚の由来	採卵日 (年月日)	卵管理水温 (°C)	ふ化日 (月日)	移動 (月日)	開始時尾数 (尾)	平均体重 (g/尾)
木曾川産	1999.10.13	15.1-20.2	10.27	2000.1.24	4,800	0.44
〃	2000.10.11	15.9-19.8	10.24	2001.2.2	11,000	0.17
〃	2001.10.9	15.8-19.1	10.23	2002.2.6	4,000	0.55
飼育水：淡水		淡水*→1/2海水*→全海水*			淡水	

*：卵管理は淡水。ふ化日に1/2海水とし, その後, 海水で飼育。

日頃までは、飼育水の1/2量の海水による換水を毎日行い、それ以後は海水を注水して飼育を行った。飼育水の塩分濃度を直接測定してないが、海洋観測データ¹⁸⁻²⁰⁾から、全海水の塩分濃度は30~33psuの範囲と考えられた。

生産した種苗の淡水馴致は、'99年及び'00年採卵群については岡山県水産試験場魚病指導センター（以下、魚病センターと略す）で、'01年採卵群については栽培センターで行った。

隔離飼育 生産した種苗を、'00年1月、'01年2月、'02年2月に魚病センターに移送し飼育を開始した。種苗の運搬には1/2~1/3海水を用い、約2時間かけて魚病センターに搬入した。飼育水には地下水、脱塩素水道水（活性炭を用いた脱塩素装置でろ過した水道水）及びチオ硫酸ナトリウムで中和した水道水を用いた。飼育当初は1kL黒色ポリエチレン水槽を用い、夏以降は、5kL角形コンクリート水槽を併用した。飼育開始時の尾数は1年目が4,800尾、2年目が11,000尾、3年目が4,000尾であった。餌料には市販の配合餌料を用いた。飼育水の最高水温はいずれも8月に記録し、'00年が22.3℃、'01年が21.9℃であり、冷水病の発生抑制に有効とされる高水温⁷⁾に達することはなかった。なお、魚病センターの飼育施設内で、冷水病が発生したことは過去に無く、飼育魚から原因菌が検出されたことも無かった。

保菌検査方法（冷水病菌の検出方法） 保菌検査は、改変TYE寒天培地⁹⁾を用いた分離培養法で行った。検出部位（分離部位）は、採卵親魚については腎臓及び生殖腺とし、生産した種苗については腎臓とした。13~15℃で14日間培養し、冷水病菌と疑われるコロニー（透明感のある山吹色のコロニー）を形成し、長桿菌で、抗冷水病血清（抗FPC840⁶⁾血清）を用いた凝集試験で陽性、の三条件全てを満たすものを冷水病菌と判定した。なお、ほとんどの冷水病菌は自発凝集するため、供試菌を滅菌蒸留水に懸濁後、80~90℃で2~3分間処理し自発凝集性を無くした後に、凝集試験を行った。

検査魚 天然親魚は、採卵後、現地でクーラーボックスに収容し、冷やした状態で約7時間かけて魚病センターに持ち帰り、上記の保菌検査に供した。

魚病センターで隔離飼育した'99年採卵群と'00年採卵群については、2月から11月までの期間ほぼ毎月、保菌検査を行った。サンプリングは原則としてランダムに行ったが、遊泳不良等の異常個体は努めてサンプリングし保菌検査に供した。冷水病の発生時期である7月までは毎月10~100尾を検査し、その後、成熟期に該当する10月

以降は月100尾程度を検査した。

また、'99年採卵群のうち、高梁川漁業協同組合で2月以降飼育されていた同一群についても、10月に保菌検査した。'01年採卵群のうち、旭川中央漁業協同組合で2月以降飼育されていた同一群についても、3月に保菌検査した。

結 果

'99~'01年の3年間にわたって保菌親魚（保菌率16~63%）から採卵し人工生産した種苗を産卵期まで隔離飼育したが、冷水病は発生しなかった。また、生産したアユ（計1,332尾）の保菌検査を実施したが、冷水病菌は検出されなかった。詳細を以下に示した。

採卵親魚の保菌検査結果 種苗生産に用いた天然親魚の保菌検査結果を表2に示した。腎臓からは'99年33%、'00年63%、'01年16%と、高率に冷水病菌が検出された。生殖腺での保菌率は'99年3%、'01年2%と、腎臓に比較すると、1桁低い保菌率であった。雌雄による保菌率の差は確認されなかった。

生産したアユにおける発病の有無と保菌検査結果 保菌親魚から生産した'99年採卵群及び'00年採卵群を、魚病センターで晩秋まで隔離飼育したが、冷水病は発生せず順調な飼育が行われた。更に、周年にわたって保菌検査を実施したが、冷水病菌は全く検出されなかった（表3）。'99年採卵群を2月以降、産卵期まで飼育した高梁川漁業協同組合においても、冷水病の発生は無く、10月に採卵親魚（52尾）を保菌検査したが、原因菌は検出されなかった。'01年採卵群を2月から5月末まで中間育成した旭川中央漁業協同組合においても、冷水病の発生は無く、3月に100尾を保菌検査したが、原因菌は検出されなかった。

考 察

本県が別途行った天然アユの保菌状況調査によると、河川のアユ、特に産卵親魚では高率に冷水病菌が検出されたが、一方で、保菌種苗が放流される以前（4月以前）の海産の天然遡上アユからは、冷水病菌は検出されなかった^{22・23)}。

冷水病菌は塩分濃度0.8%以下では発育可能だが、2%以上では発育しない⁷⁾とされる。このため、全海水を用いた種苗生産において垂直感染が成立するには、海水飼育を開始する以前に、冷水病菌が魚体内に侵入することが必須と考えられる。

本県のアユ種苗生産では、ふ化後、直ちに海水を注水

し1/2海水(塩分約1.6%)とし、翌日には3/4海水とする。また、アユ受精卵の表面から冷水病菌が検出されるが、卵表面を消毒すると、卵表面だけでなく卵内からも冷水病菌が検出されないことから、卵内感染の可能性は低いともされている¹⁰⁾。

今回の調査結果と上記のことを併せ考えると、現時点では、全海水を用いたアユの種苗生産においては、冷水病が垂直感染する可能性は低いと考えられた。

文 献

- 1) 井上 潔, 2000: アユの冷水病, 海洋と生物, 22, 35-38.
- 2) 土佐野治茂, 2002: 冷水病による甚大な被害, 魚病研究, 37, 214.
- 3) 若林久嗣, 2000: アユを死に追いやる冷水病の正体(そこが知りたい探偵団), 月刊釣り情報, 2000年5月号, 58-63, ミリオンエコー出版(株), 広島.

表2 種苗生産に用いた親魚の冷水病保菌検査結果

検査日 (採卵日)	水温 (℃)	検体数 (尾)		穴あき症状*1 (尾) (%)		保菌率				備考
						腎臓		生殖腺		
						(尾)	(%)	(尾)	(%)	
1999年10月	17.3	♀	30	9	30%	9	30%	1	3%	
		♂	30	11	37%	11	37%	1	3%	
		計	60		33%		33%		3%	
2000年10月	18.4	♀	26	17	65%	18	69%	・	・	
		♂	26	5	19%	15	58%	・	・	
		計	52		42%		63%			
2001年10月	19.7~21.5	♀	31	1.5	5%	5	16%	1	3%	
		♂	30	2	7%	5	17%	0	0%	
		計	61		6%		16%		2%	
合計 (平均)			173		(27%)	63	(38%)	3	(2%)	

*1: 冷水病特有の体表や口周辺の穴あき症状(潰瘍)。

表3 保菌親魚から生産したアユの冷水病保菌検査結果

検査日	検査回数	水温 (℃)	検体数 (尾)		穴あき症状*1 (尾) (%)		保菌率*2		飼育場所*3	
							(尾)	(%)		
2000年	2月	14	7.5~14.3	62	0	0%	0	0%		
	3月	6	11.4~13.9	51	0	0%	0	0%		
	4月	1	12.9	29	0	0%	0	0%		
	5月	1	19.8	25	0	0%	0	0%		
	6月	4	17.2~18.9	20	0	0%	0	0%		
	8月	1	20.5	15	0	0%	0	0%		
	10月	1	18.5	♀	26	0	0%	0	0%	高梁川漁協 (採卵親魚)
				♂	26	0	0%	0	0%	" "
	〃	2	17.9~18.5	109	1.5	1%	0	0%		
	翌年 1月	1	7.2	♀	57	0	0%	0	0%	
			♂	46	0	0%	0	0%		
計				466		0%		0%		
2001年	3月	1	15.0	30	0	0%	0	0%		
	4月	4	14.9~15.1	50	0	0%	0	0%		
	5月	1	18.8	102	0	0%	0	0%		
	6月	1	19.4	84	0	0%	0	0%		
	10月	1	18.7	100	3	3%	0	0%		
	11月	1	18.0	100	26	26%	0	0%		
	11,12月		13.4~18.8	300	1	0%	0	0%		
	計				766		5%		0%	
2002年	3月	1	12~13	100	0	0%	0	0%	旭川中央漁協	
	計				100		0%		0%	
合計 (平均)				1,332		2%	0	(0%)		

*2: 検出部位は腎臓。 *3: 空欄は全て魚病センター。

- 4) アユ冷水病対策研究会・水産庁, 2001: アユ冷水病対策研究会取りまとめ[2], 月刊養殖, 2001年10月号, p111-115.
- 5) アユ冷水病対策研究会, 2001: アユ冷水病防疫に関する申し合わせ事項, 2001年3月.
- 6) 銀ザケの冷水病の防疫, 熊谷 明, 月刊海洋, 号外No.14, 魚類防疫, 168-174.
- 7) 若林久嗣, 細菌性冷水病, 2004: 魚介類の感染症・寄生虫病(江草周三・若林久嗣・室賀清邦), p177-183.
- 8) 遠藤 誠・孝橋賢一・高橋 誓・岩崎治臣, 2001: アユの冷水病に対する加温処理の予防効果 I, 滋賀県水産試験場研究報告, 48, 1-4.
- 9) 中居 裕, 2002: アユ卵の化学的消毒法の検討, 平成13年度水産研究成果情報.
- 10) 熊谷 明, 卵消毒によるアユ冷水病の垂直伝播防止, 2004: 魚病研究, 39, 183-187.
- 11) アユ冷水病非保菌種苗の生産技術確立及び放流効果の評価に関する総括報告書, 2003: 平成12~14年度先端技術等地域実用化研究促進事業, 実施研究機関(岩手県内水面水産技術センター・福島県内水面水産試験場・水産種苗研究所, 和歌山県農林水産総合技術センター・水産試験場内水面研究所, 徳島県立農林水産総合技術センター水産研究所, 福岡県水産海洋技術センター), 指導協力機関(水産総合研究センター, 中央水産研究所内水面利用部).
- 12) アユ冷水病対策協議会, 2000: アユ冷水病対策協議会取りまとめ, 平成20年3月, 20.
- 13) 藤井義弘, 2007: アユの種苗生産, 平成18年度栽培漁業技術中央研修会テキスト集 仔稚魚の生理・生態に応じた種苗量産技術—名人芸を技術へ—, (社)全国豊かな海づくり推進協会.
- 14) 村田 守・藤井義弘・泉川晃一, 2000: アユの種苗生産, 岡山水試報, 15, 166-170.
- 15) 藤井義弘・村田 守・泉川晃一, 2001: アユの種苗生産, 岡山水試報, 16, 175-178.
- 16) 藤井義弘・村田 守, 2002: アユの種苗生産, 岡山水試報, 17, 194-197.
- 17) アユの冷水病研究, アユ冷水病研究部会 平成6年~平成11年度のとりまとめ, 2000: 57, p62, 全国湖沼河川養殖研究会 アユ冷水病研究部会.
- 18) 林 浩志・藤沢邦康・小橋啓介, 2000: 岡山県沿岸海域の海況及び水質(平成11年度), 岡山水試報, 15, 55-58.
- 19) 林 浩志・藤沢邦康・小橋啓介, 2001: 岡山県沿岸海域の海況及び水質(平成12年度), 岡山水試報, 16, 71-75.
- 20) 林 浩志・藤沢邦康・小橋啓介, 2002: 岡山県沿岸海域の海況及び水質(平成13年度), 岡山水試報, 17, 120-124.
- 21) 増成伸文・難波洋平・植木範行・河原栄二郎, 2001: アユ冷水病に対する注射ワクチンの予防効果, 岡山水試報, 16, 49-57.
- 22) 増成伸文, アユの冷水病対策研究, 我が県の内水面振興作戦, 岡山県水産試験場魚病指導センター, 37-39, 2001: 広報ないすいめん, 第24号, 2001, 4, 全国内水面漁業協同組合連合会.
- 23) 増成伸文・植木範行, 1999: 岡山県の河川における天然在来魚及び放流アユ種苗等の冷水病原因菌の保菌状況, 岡山水試報告, 14, 64-69.