

# 同一環境で継代飼育された 2 系統のアユの種苗特性について

三浦 正之・坪井 潤一・岡崎 巧・大浜 秀規・芦澤 晃彦

アユ *Plecoglossus altivelis* は日本の内水面養殖および漁業で最も重要な魚種のひとつであり、全国各地で人工種苗生産が行われている。山梨県水産技術センター（以下、当所）においても種苗生産が行われているが、当所で生産されたアユの用途は主に河川放流用であり、また、本県には天然遡上アユがない河川も多くあることから、放流種苗の果たす役割は非常に大きいものとなっている。しかし、近年河川環境の悪化、冷水病<sup>1)</sup>およびカワウ *Phalacrocorax carbo* による食害<sup>2)</sup> など放流効果を低下させる要因も多く、これらの問題への対策は喫緊の課題である。これらの問題のうち、冷水病対策として、冷水病菌 *Flavobacterium psychrophilum* を保菌していない種苗の単独放流により解禁までの冷水病の発病を抑制する方法が知られている<sup>3,4)</sup>。但し、この対策はどの河川でも有効というわけではなく、上流部に保菌アユが放流されていない、下流からの保菌アユの遡上がないおよび保菌アユが河川上流地域で飼育されていないなどの条件が必要である。この条件を満たさない河川では、無菌種苗放流の効果は期待できないが、本県は前述の前提条件を満たす河川が多く、冷水病フリー種苗の放流効果が活かされやすい。本県でも、ダム建設に伴う漁業補償として琵琶湖産種苗が放流されている河川を除いた河川において、冷水病菌を保菌していない種苗を単独放流することにより解禁前の冷水病を防ぐ対策がとられている。そして、この対策に伴い、本県に放流されるアユに占める当所産種苗の比率は著しく高くなっているため、本県において当所産種苗の釣獲特性を調査し、その特性に配慮した放流を行う意義は大きい。

当所では鹿児島県鶴田ダム湖に移植され定着した陸封型由来の人工産種苗<sup>5)</sup>（継代数 11）（以下、ダム湖産系）と静岡県駿河湾由来の人工産種苗（継代数 4）（以下、海産系）由来の系統を保有しているが、本研究では、同一の飼育環境で継代飼育されたこれらの 2 系統のみが放流された河川において、実際に釣獲実験を行い、その中で両系統の釣られやすさ、冷水病耐性、成熟の時期について検討を行ったので報告する。

## 材料および方法

### 調査場所

調査は山梨県内の荒川の約 800m の区間で行った（図 1）。調査区間の河川形態は Aa-Bb 移行型で、河畔には草本、ニセアカシアが群生している。調査河川の荒川には、昭和初期までは天然アユが遡上したとの情報があるが（山梨中央漁協私信）、現在は富士川本支流に設置されている取水堰により遡上は確認されなくなっている。アユ以外の生息魚種は主にアマゴ *Oncorhynchus masou ishikawae*、オイカワ *Zacco platypus*、アブラハヤ *Phoxinus logowskii steindachneri*、ヨシノボリ類 *Rhinogobius sp.*、カジカ *Cottus pollux* で、このうちアマゴは種苗放流が行われている。水温データロガー（TidbiT v2, Onset 社製）を釣獲試験実施日から調査区間の中心より上流部と下流部にそれぞれ 1 箇所ずつ設置し、10 分間隔で記録した。調査期間を通しての水温は 12.9 ~ 23.4℃であった（図 2、図中では午前 10 時のみの水温を示す）。

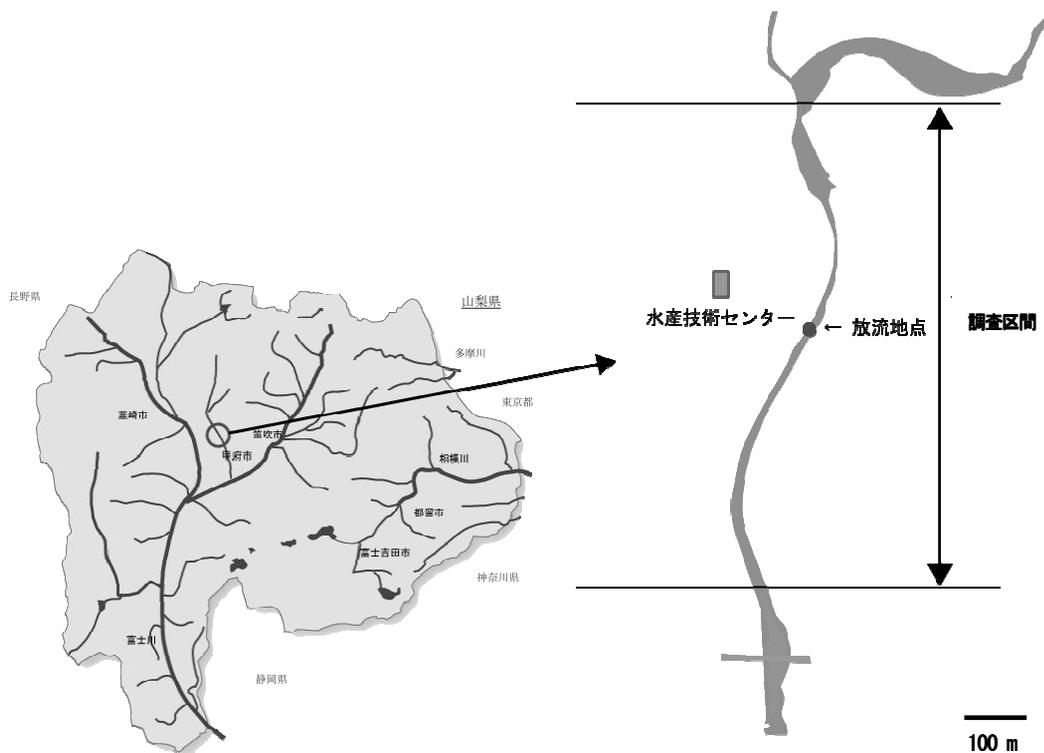


図1 調査河川

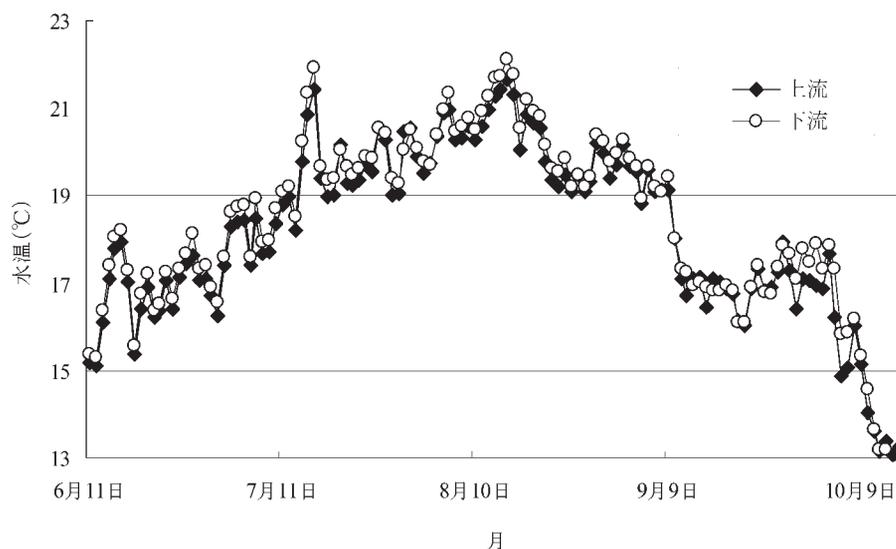


図2 調査区間の午前10時の水温

### 放流種苗

当所で継代飼育されているダム湖産系と海産系を供試放流種苗とした。これらの系統の飼育池での成熟状況は自然日長下では異なることが確認されているため、ダム湖産系の親魚には2008年8月20日～9月3日まで、海産系の親魚には6月16日から8月13日まで長日処理を施し（夕方～翌朝まで電照）、両系統の採卵日がほぼ重なるように調整した。放流用種苗に用いた両系統のそれぞれの孵化日はいずれも2008年10月中旬ごろであった。供試魚の飼料、水温および飼育水の塩分濃度等の飼育条件は両系統でできる限り統一した。また、放流日まで当所の飼育アユすべてで冷水病の発生はなく、飼育中のアユから無作為に選んだ60尾の鰓を用いて行ったPCR検査<sup>6)</sup>でも、冷水病菌は検出されなかった。

放流魚の標識作業はダム湖産系では2009年4月30日および5月1日、海産系では4月28日に行った。アユの鰭の切除は遊泳能力と成長に悪影響を与えないことがわかっているため<sup>7)</sup>、ダム湖産系は脂鰭および右側腹鰭、海

産系は左側腹鰭を切除することで標識した。5月8日に両系統の体重を測定後、それぞれ8,000尾ずつを132 m<sup>3</sup>のコンクリート飼育池で混合飼育した。なお、この時の平均体重はダム湖産で9.65 g、海産系で9.38gであった。5月15日に前述のアユを調査区間の中心の地点1箇所(図1)に活魚移送ポンプ(ピンピン Z-100L, 松阪製作所社製)を用いて直接放流した。放流時の河川の水温は12.5℃であった。なお、試験を行った調査区間は上流および下流からのアユの移入はなく、2009年には供試魚以外のアユは一切放流されていない。

## 採捕調査

6月から10月まで毎月1回実施した(表2)。釣獲試験前日に投網(18節, 1,000目, 目合9mm)を用いて、投数を定めずにおよそ100個体を上限として、調査区間全域で無作為に捕獲を行った。投網ではアユの体サイズ、性別、系統によらず捕獲効率を一定と仮定した。釣獲は、毎回2日間5人の筆者らが友釣りによって行った。仕掛けは統一せず、時期やアユのサイズに合わせて適宜変更した。アユが釣獲された際には、系統と時間を分単位で記録し(釣れた時間と水温ロガーのデータを照合し、釣れた時の水温とした)、釣獲された個体はそのままオトリとして使用した。投網または釣獲によって捕獲された個体は釣獲時のばらし等の特殊な事情を除いてすべて持ち帰り全長および体重を測定した。

また、7月には調査区間で冷水病が発生したため(8月の調査時までには終息)、捕獲された全個体の冷水病特有の症状<sup>9)</sup>、すなわち体表の潰瘍、顎の欠損、顎、鰭の出血等の有無を確認した。また、8月以降の調査では次の式によりGSIを算出し、成熟の指標とした。

$$GSI = \text{卵巣または精巣の重量} / \text{体重} \times 100$$

表2 採捕調査スケジュール

	投網	釣獲
第1回	2009年6月10日	2009年6月11日, 12日
第2回	2009年7月21日	2009年7月22日, 23日
第3回	2009年8月17日	2009年8月18日, 19日
第4回	2009年9月14日	2009年9月15日, 16日
第5回	2009年10月13日	2009年10月14日, 15日

## 実験感染下での冷水病耐性

両系統の冷水病に対する耐病性を比較するために、浸漬攻撃による感染実験を行った。感染実験は2005年に山梨県内河川のアユから分離された冷水病菌 *F. psychrophilum* (YFTB 0501) を供試菌株として実施した。感染用の菌液は、冷水病菌株を改変サイトファガ液体培地<sup>9)</sup>に接種し、18℃, 200rpmで24時間振盪培養したものを用いた。供試時の液体培地の菌濃度は  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL であった。

実験感染には2009年5月8日から実験開始前日の7月14日までの間、同一の飼育池で飼育されたそれぞれの系統のアユを60尾ずつ供試した。供試時の平均体重はダム湖産系で24.8g、海産系で23.4gであった。200LのFRP製水槽2水槽それぞれに、両系統を30尾ずつ混合して収容し、供試菌を含んだ液体培地50mLを試験水槽に添加した。これらの水槽にエアレーションを行いながら供試魚を12時間止水水中で浸漬した後に、水温約18℃の地下水を毎秒約100mL注水し、毎日魚体重の2%の配合飼料を給餌しながら飼育を行った。毎日1回死亡魚の数と系統を確認し、さらに改変サイトファガ寒天培地を用いた腎臓および患部からの細菌分離または患部からの間接蛍光抗体法により死因が冷水病であるかどうかを確認した。対照区として、200L水槽に前述と同様に両系統を30尾ずつ収容した水槽を1水槽設け、菌液の代わりに滅菌改変サイトファガ液体培地を50mL添加したこと以外すべて攻撃水槽と条件を統一したものを設定し、同様に観察を行った。試験は7月15日から8月9日までの25日間行った。

なお、実験感染前日に供試魚と同一群のアユ30尾の鰓を用いてPCR検査を行い、供試魚が冷水病に感染していないことを確認した。

## 結果

### 放流後の移動分散の状況

6月の調査時に投網で93尾のアユを捕獲した。採捕箇所を放流地点から上流と下流で分けた場合、上流では、ダム湖産系、海産系がそれぞれ23および20尾、下流ではそれぞれ27および23尾のアユが採捕され、上流と下流で両系統の割合に差は認められなかった ( $\chi^2$  検定,  $p = 0.96$ )。

### 釣獲試験

6月から10月までの5回の調査において、投網で337個体、友釣りで383個体のアユを捕獲した。放流時の全長が両系統で同一であったと仮定した場合、アユの成長は系統間に差はみられなかった (表3, 共分散分析,  $p = 0.7966$ )。また、投網よりも釣獲の方が大型であった (共分散分析,  $p < 0.0001$ )。

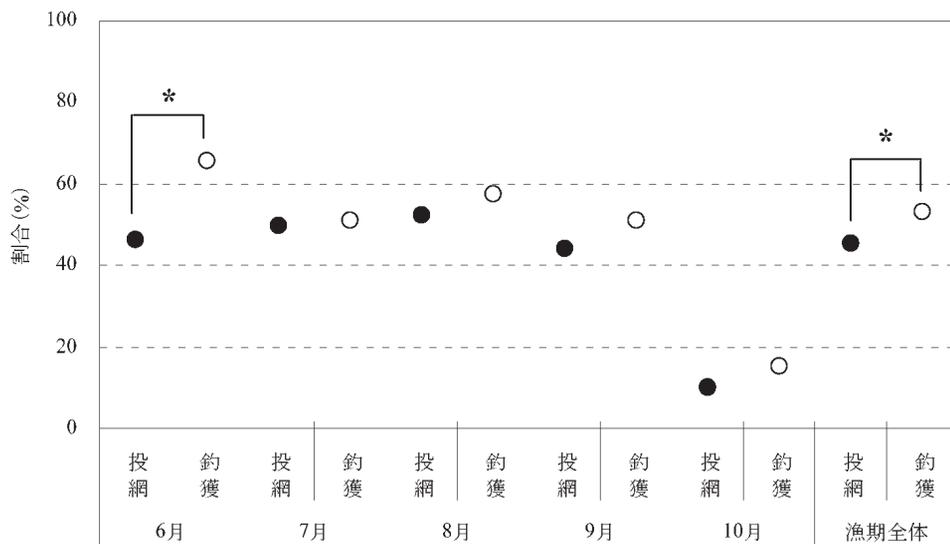
6月の調査では投網よりも釣獲の方がダム湖産の占める割合が高かった (図3,  $\chi^2$  検定,  $p = 0.0208$ )。7~10月の調査では、投網と釣獲で系統の比に差はみられなかった ( $p = 0.421 \sim 0.841$ )。漁期全体でみる、投網よりも釣獲でダム湖産系の占める割合が高かった ( $p = 0.034$ )。前述の結果がもたらされた要因と水温との関連を調べるため、釣獲された個体の中でダム湖産系が占める割合を従属変数、6月1日を起点とした日付およびアユが釣獲された時の水温を説明変数としてロジスティック重回帰分析を行った結果、釣獲個体に占めるダム湖産系の割合を説明する有効な変数として、水温ではなく日数のみを選択された (表4)。

成熟の指標として用いたGSIは9月の調査でオスがダム湖産系で  $6.09 \pm 3.21$  (平均  $\pm$  標準偏差)、海産系で  $4.22 \pm 3.07$  であり系統間に差がみられた (図4, スチューデントのt検定,  $p = 0.188$ )。メスではそれぞれ  $3.31 \pm 2.69$  および  $5.08 \pm 3.04$  で同様に差がみられた ( $p = 0.0140$ )。また、10月の調査では投網での捕獲アユに占めるダム湖産系の割合は10%であり、ダム湖産系の割合は著しく低かった (図3)。

7月の調査で全捕獲魚の冷水病の症状の有無を観察した結果、ダム湖産系の方が症状が観察される個体が多かった (図5,  $\chi^2$  検定,  $p = 0.00014$ )。捕獲方法間では症状の有無に有意差はなく ( $p = 0.749$ )、冷水病の症状がある個体が釣られにくい傾向はなかった。

表3 6月1日を起点とした日数、捕獲方法および系統が全長に及ぼす影響 (共分散分析)

変数	自由度	平均平方	F値	P値
6月1日を起点とした日数	1	225308.6	568.916	<0.0001
捕獲方法	1	12883.8	32.532	<0.0001
系統	1	26.3	0.066	0.7966
捕獲方法×系統	1	490.1	1.238	0.2663
誤差	715	396.0		

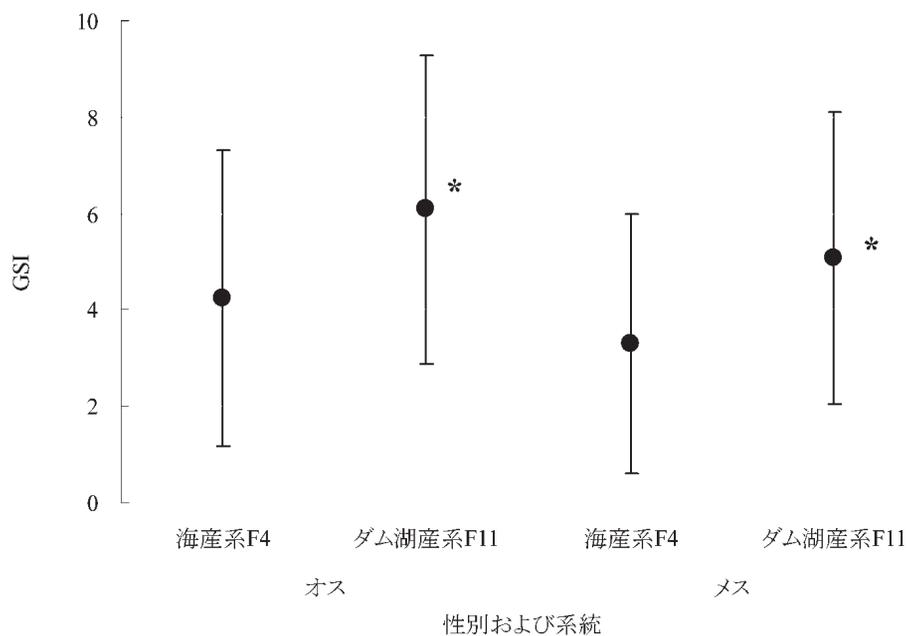


調査時期および捕獲方法  
\* 投網と釣獲で有意差あり ( $\chi^2$ 検定,  $p < 0.05$ )

図3 捕獲魚に占めるダム湖産系の割合

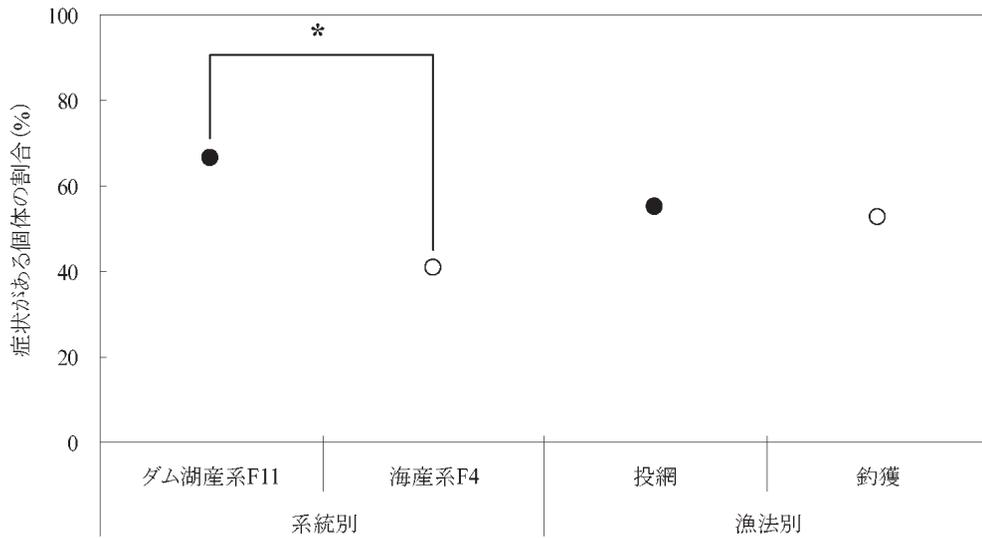
表4 6月1日を起点とした日数および水温が釣獲における両系統の比率に及ぼす影響 (ロジスティック重回帰分析)

変数	回帰係数	標準誤差	自由度	P値
6月1日を起点とした日数	-0.0085	0.0032	1	0.0079
水温	0.0407	0.0421	1	0.3328
定数	-0.1012	0.8708	1	0.9075



\* 系統間で有意差あり (スチューデントのt検定,  $p < 0.05$ )

図4 9月捕獲魚のGSI(バーは標準偏差)



\* 系統間で有意差あり ( $\chi^2$ 検定,  $p < 0.05$ )

図5 捕獲魚に占める冷水病の症状がある個体の割合

### 実験感染下での冷水病耐性

*F. psychrophilum* による攻撃開始後, ダム湖産系は8日目, 海産系は9日目から冷水病による死亡が確認された。25日間の累積死亡率はダム湖産系が31.7%, 海産系が16.7%でありダム湖系 F11の方が死亡率が高い傾向がみられた (図6,  $\chi^2$ 検定,  $p = 0.055$ )。

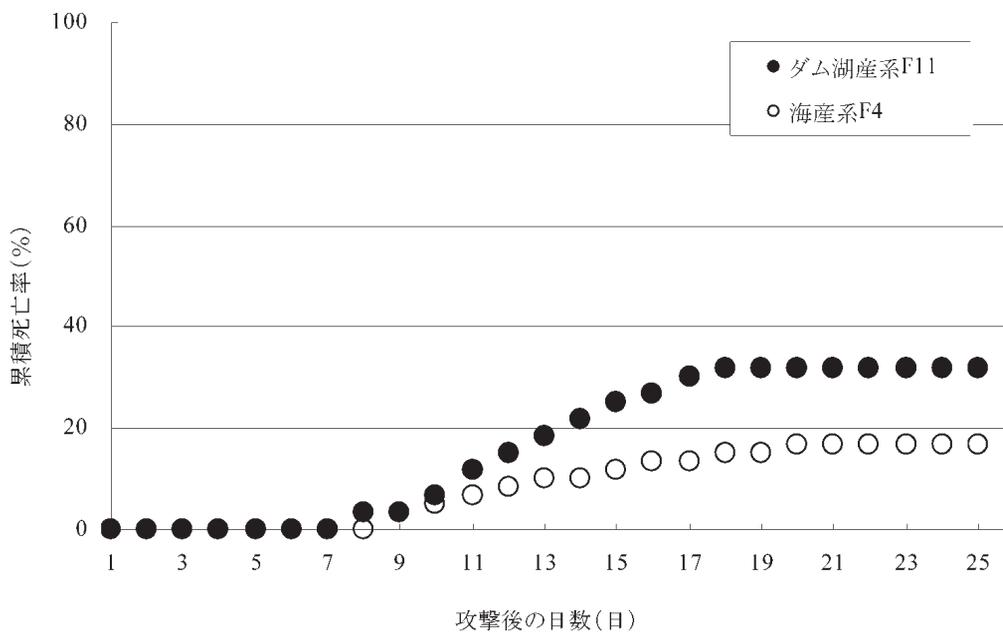


図6 冷水病実験感染における累積死亡率

## 考 察

本県の場合、当所で生産されたアユが単独もしくは極めて高い割合で放流されている河川が多い。このことは、冷水病対策<sup>3,4)</sup>としての意味合いが大きいのは当然のことであるが、出荷から放流までの距離、時間が短く高密度で輸送される際のアユへのストレス<sup>10)</sup>が少ない、輸送にかかる経費が少ないなど冷水病対策以外のメリットも大きい。その一方、当所産の種苗の割合が高いということは仮に種苗の性質や放流方法が適切でなかった場合に、釣果の低下を招き漁協の経営に悪影響を及ぼす危険性を有する。そのリスクを減らすためには、当所で生産される種苗の特性を十分に把握した上で有効な放流方法を検討することが重要である。当所では、新規に系統を入れ替えることは防疫や計画生産の観点から頻繁に行うことができないため、はじめに取り組むべきことは、現在保有している系統内での性質の比較を行い、その特性の違いを最大限に活かせる放流方法を検討することである。また、このことは今後新規の種苗を導入する上でも重要な指標となる。

本調査では、系統ごとの釣られやすさを実際に河川で友釣りをを行うことで比較した。6月の調査では投網よりも釣獲でダム湖産系の割合が高く、ダム湖産系は供試した2系統のうち、解禁向けの種苗として有効である可能性が示された。また、漁期全体を通じてみた場合もダム湖産系の方が釣られやすい傾向がみられたものの、7月以降の調査結果を月別に見ると、両系統の釣られやすさに明確な差はみられなかった。よって、漁期中盤以降であれば海産系も有効であると考えられた。種苗の種類により、なわばり行動が活発となる水温帯に違いがあることが実験的に確かめられているが<sup>11)</sup>、今回記録された水温の範囲内(12.9～23.4℃)では、ダム湖産系が釣られやすかった要因を説明する有効な変数として水温は選択されず、釣られやすさと水温との関連性は見出せなかった。この解析では有効な説明変数として時期が選択され、ダム湖産系はシーズン前半に釣られやすいということは示唆されたが、漁期前半にダム湖産系が釣られやすかったことに影響を与えている要因については今後の検討課題である。なお、今回の調査でダム湖産系が6月に釣られやすかったにもかかわらず、組合員や遊漁者による釣りが行われている調査河川において7月の調査時にダム湖産系の割合が低くならなかったことについては、この河川が2009年の放流量(試験用に16,000尾のアユが放流されたことは非公表)に対する釣り人の数が圧倒的に少なかったこと(山梨中央漁協私信)によるものと考えられる。

天然河川で釣られやすさの検討を行う場合、たとえ調査河川に放流された種苗の比率が明らかになっていたとしても遊泳による分散、釣獲圧、増水や冷水病の発生等による流下、その他様々な要因により母集団の組成に変化が生じる可能性がある。本調査ではその影響を考慮し、2日間の釣獲の前には必ず投網での捕獲により両系統の割合を算出した。本調査において、投網で捕獲されたアユと釣獲されたアユの大きさには差がみられたものの、天然河川で種苗ごとの釣られやすさを比較する方法としては、現行で実施可能な手法の中では比較的精度の高い方法であり、小規模な河川で釣られやすさの検討を行う場合に有効な手法であると考えられる。

成熟に関しては、ダム湖産系は海産系よりも9月のGSIが高く成熟の時期が早いことが示された。10月に捕獲されたアユに占めるダム湖産系の割合が著しく低かったことも、この時期に大規模な冷水病の発生や大きな増水がなかったことから、成熟によるダム湖産系の下流への移動が原因であると考えられた。天然遡上がない河川では、成熟の時期と友釣りが可能な時期は密接な関連を持つため、成熟の時期が遅い海産系の放流は漁期を延ばす上で有効であろう。

7月の調査では、調査河川で冷水病が発生していたが、6月の調査時にはそのような個体は1尾も確認されなかったため、調査河川の解禁日である6月20日以降に遊漁者等により冷水病菌が持ち込まれたものと考えられた。7月の調査時の全捕獲魚のうち、冷水病の症状を有する個体の割合は海産系よりもダム湖産系の方が高く、ダム湖産系の方が冷水病に対する感受性が高い可能性が示唆された。湯浅ら<sup>12)</sup>の調査では、河川における種苗ごとの冷水病症状の保有率と実験感染での累積死亡率が一致したと報告されているが、本調査においても実験感染ではダム湖産系の方が死亡率が高い傾向がみられ、河川での冷水病症状の保有率が種苗の耐病性を評価する上で有効な指標となる可能性が示された。8月の調査時には症状があるアユが殆ど確認されなくなったため、7月の調査後に速やかに冷水病は終息したものと推察された。これは7月中旬以降の調査河川の水温が冷水病の最も発生しやすい水温<sup>13)</sup>よりも高い水温の日が続いたことが要因であると思われる。

本県の河川のように当所で生産された2系統の種苗をメインに放流している漁場において、系統ごとの種苗特性に関する情報は、放流される種苗に占める両者の比率を検討する上で非常に有益な情報となる。例えば、① 解禁

直後の釣果を優先したい漁協では、ダム湖産系の比率を高くする。②天然遡上が全くない河川では、海産系を混合することで漁期を延ばす（本県では8月後半～10月ごろに釣られる大型のアユを要望する漁協も少なくない）。③夏場であっても水温が上昇しにくく、冷水病の被害が長期化するリスクがある漁場では海産系の比率を高める、など特性の違いを放流計画に活かすことが可能となる。但し、継代飼育により意図しなくても自然に選抜がかかりその形質が長年にわたり次世代に引き継がれる保証はないため、一定期間ごとに特性の評価はなされる必要がある。また、今回調査した特性以外にも流速耐性、水温耐性、体型など遊漁資源として留意すべき事項は他にもあるため、これらについても必要に応じて検討がなされるべきである。

今回、同じ施設で同一の飼育環境で飼育された2系統のアユであっても、河川における特性に明確な差があることが確認された。このことは本県の河川漁協が仮に当所以外から人工産種苗を購入する場合であっても、種苗には性質の差があることを認識し、購入の際には購入先から可能な限りその系統の特徴を聞いた上でその種苗にあった放流を行う必要があることを示している。

さいごに、継代種苗が天然魚の遺伝子に与える影響への配慮は現在直面している極めて重要な課題である。しかし、釣獲対象として優れた種苗を安定生産するというのと、この課題をクリアしていくことの両立は決して簡単なことではない。このことについては、早急に多くの研究・議論がなされ、全国的な方針が示される必要がある。

## 要 約

1. 山梨県水産技術センターで孵化からほぼ同一の飼育環境で継代飼育された鹿児島県鶴田ダム由来の人工産種苗（ダム湖産系 F11）と静岡県駿河湾由来の人工産種苗（海産系 F4）のアユの特性の比較を行った。
2. 河川で行った友釣りによる釣られやすさの比較では、ダム湖産系の方が6月の調査で釣られやすかった。7-10月の調査では2系統の釣られやすさに明確な差はなかった。
3. ダム湖産系は海産系よりも9月のGSIが高く、10月の河川で採捕される割合が低く、海産系よりも成熟が早いと考えられた。
4. 河川で冷水病の症状がある個体の割合はダム湖産系の方が高く、ダム湖産系は海産系よりも冷水病に対する感受性が高いと考えられ、この結果は実験感染でも支持された。
5. 同一環境で継代飼育されたアユであっても、特性に差があるため、その特徴の差を活かした放流計画を立てることが重要である。

## 文 献

- 1) Iida, Y. and A. Mizokami (1986) : Outbreak of cold water disease in wild ayu and pale chub. *Fish Pathol.*, 31, 157-164.
- 2) 環境省 (2004) : 特定鳥獣害保護管理計画技術マニュアル (カワウ編)
- 3) 川之辺素一・沢本良宏・山本聡 (2005) : 千曲側におけるアユの放流効果と冷水病の関係. 長野県水産試験場研究報告, 7, 10-15.
- 4) 原徹・桑田知宜・荻谷哲治 (2008) : 冷水病を保菌していない小型アユ種苗の放流効果. 岐河環研研報, 53, 1-5.
- 5) 関伸吾・谷口順彦 (1988) : 天然湖および人工湖の移植陸封アユおよび人工種苗アユの由来について. 水産育種, 13, 39-44.
- 6) 吉浦康寿・釜石隆・中易千早・乙竹充 (2006) : 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, 41 (2), 67-71.
- 7) Katano, O. and K. Uchida (2006) : Effect of partial fin clipping as marking technique on the growth of four fresh water fish. *Aquaculture Sci.*, 54 (4), 577-578.
- 8) 井上潔 (2000) : アユの冷水病. 海洋と生物, 126, 35-38.
- 9) Wakabayashi, H. and S. Egusa (1974) : Characteristics of mixobacteria associated with some fresh water disease in Japan. *Nippon suisan Gakkaishi*, 40, 751-757.
- 10) Iguchi, K., M. Nagae, F. Ito (2003) : The influence of rearing density on stress response and disease

susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*) . *Aquaculture*, 202, 515-523.

- 11) 澁谷竜太郎・関伸吾・谷口順彦 (1995) : 海系アユおよび琵琶湖系アユのなわばり行動の水温別比較 . 水産増殖, 43 (4) , 415-421.
- 12) 湯浅明彦・竹内章 (2009) : 成長の良さに基づいて選抜された世代数が異なるアユ種苗の河川における冷水病耐性の差異 . 水産技術, 2 (1) , 19-24.
- 13) 三浦正之 (2005) : 細菌性冷水病 (BCWD) Bacterial cold-water disease. 新魚病図鑑 . 緑書房, 東京, 58.