

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菌の保菌状況

増成伸文・植木範行

A Percentage of *Flavobacterium psychrophilum* Carrier in Stocked Ayu Juveniles
and Other Wild Fishes in Rivers of Okayama Prefecture

Nobufumi MASUNARI and Noriyuki Ueki

キーワード：冷水病，アユ，在来魚，魚病，1998

アユ *Plecoglossus altivelis* の冷水病は、全国各地の養魚場で多発しているほか、琵琶湖や河川でも発生しており^{1, 2)}、全国的に大きな問題となっている。本県でも養魚場はもとより、1996年に高梁川水系で、'96年に旭川水系の小玉川で、'96, '97, '98年に吉井川水系の香々美川^{3, 4)}でその発生を確認している。河川で発生する冷水病の対策を検討するうえでは、感染経路の解明や冷水病原菌 *Flavobacterium psychrophilum* (以下、冷水病菌という)の保菌状況を把握することが極めて重要であるが、その知見や情報に乏しい。本調査は、アユ放流前の天然在来魚と、放流時の放流アユ種苗の冷水菌の保菌状況を明らかにし、河川で発生するアユの冷水病の対策を検討することを目的として行った。さらにアユ放流後の河川のアユ及び産卵親魚の保菌検査を行ったので、その結果を併せて報告する。

本調査を行うにあたり抗冷水病血清を分与して下さった徳島県水産課沢田健蔵氏と広島県水産試験場飯田悦左

氏に、また供試魚の採捕や提供に協力して下さった内水面漁業協同組合関係各位に心から御礼申し上げます。

材料と方法

1. 供試魚

供試魚の内訳を表1に、サンプリング場所を図1に示した。入手した供試魚は現場の水とともにクーラーボックスに入れ、氷で冷やしながらか持ち帰り、即日検査に供した。以下、種類別にその概要を示す。

天然在来魚 '98年のアユ放流前の'98年4月10日から4月21日に旭川水系2河川3地点、吉井川水系3河川5地点において刺網や投網で採捕したオイカワ *Zacco platypus*、カワムツ *Zacco temmincki* 等の天然在来魚8群計128尾を用いた。

放流アユ種苗 '98年4月18日から6月1日の間に搬入された放流アユ種苗9群(湖産6群、人工産3群)を放流現場で入手し、1群あたりそれぞれ30尾を無作為に

表1 供試魚の内訳

種類	採捕日 ('98年.月日)	W.T. (°C)	捕獲方法	検査尾数	検体の内訳	調査水系		
						高梁川	旭川	吉井川
天然在来魚	4月10~21日	12.5~15.4	刺網,投網	8群128尾	2河川23尾 3河川105尾	○		○
放流アユ種苗	4月18日~6月1日	—	タモ網	9群269尾	湖産6群 180尾 人工産3群 89尾	○	○	○
河川アユ*1	9月10日	21.7	刺網	1群13尾	穴あき症状等(成長良好)6尾 頭部変形等(成長不良)7尾			○
河川アユ産卵親魚*2	10月7日	22.9	掛釣	1群20尾	♀10尾 ♂10尾			○

*1 穴あき症状魚、変形魚を作為的に抽出。ギロダクチルス検査には鮮度不良。

*2 網に入れ河川内で0~3日間蓄養。人工授精用親魚。

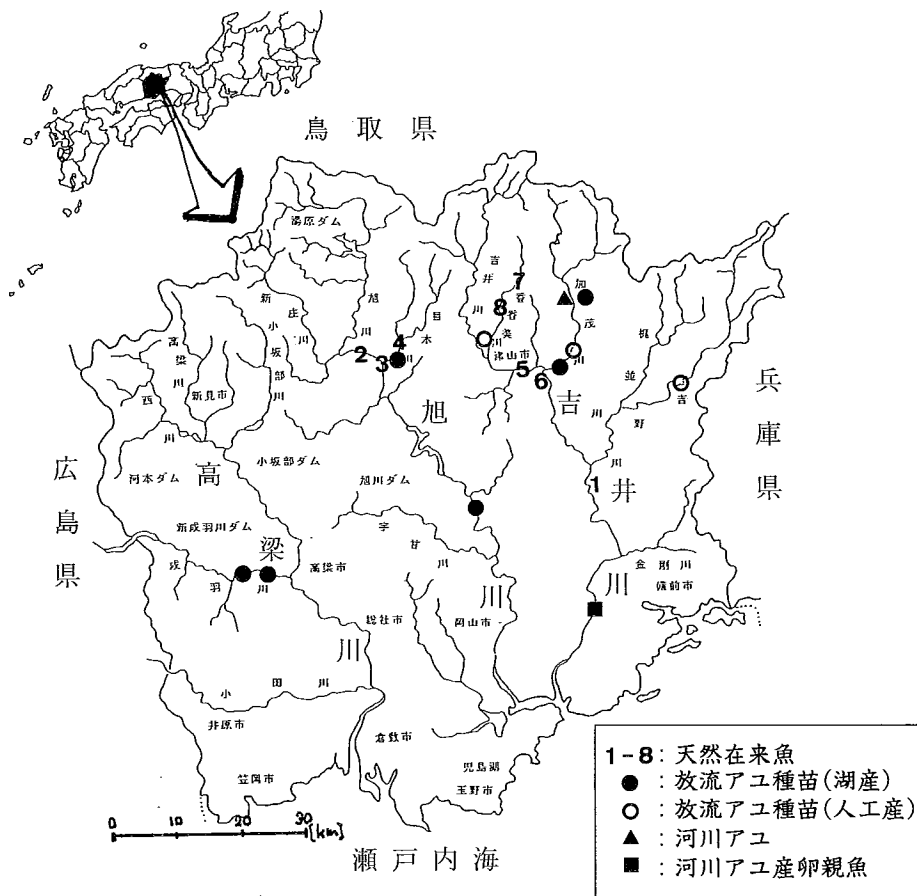


表1 供試魚のサンプリング場所

抽出した。なお、湖産種苗6群は高梁川水系、旭川水系、吉井川水系に各2群ずつ放流され、人工産種苗は3群とも吉井川水系に放流された。人工産種苗は県内で種苗生産され、その後河川に放流するまでの期間、県内の育成場で飼育されたものであった。

河川アユ '98年9月10日に吉井川水系の加茂川において刺網で漁獲されたアユ57尾の体長、体重を測定するとともに、体表の穴あき症状及び奇形の有無を現地で記録した。このうち、穴あき症状等のみられた成長良好魚6尾と、口のねじれや頭部等に変形がみられた成長不良魚7尾の計13尾を持ち帰って保菌検査に供した。また、同時に混獲されたオイカワ4尾も検査に供した。

河川アユ産卵親魚 '98年10月7日に吉井川下流域の産卵場で漁獲されたアユ産卵親魚から、雌雄別に無作為に各10尾、計20尾を入手した。この供試魚は、産卵のため瀬についているアユを掛釣で釣獲後、河川内で網に入れ0～3日間蓄養されていたもので、人工授精に用いた直後の親魚であった。

2. 冷水病保菌検査方法

持ち帰った供試魚は体長、体重を測定した後、口周辺

や体表にみられる冷水病特有の穴あき症状の有無を記録した。その後、改変サイトファーガ寒天培地(付表1)を用いた培養法により、冷水病菌の分離を試みた。培養温度は13～15℃とした。分離部位は、河川アユ産卵親魚については腎臓と生殖腺、その他の供試魚については腎臓のみとした。数日後培地上に生えてきたコロニーのうち、その色や形から冷水病菌の可能性が高いと判断されたものは釣菌し、再度寒天培地で培養した後、冷水病菌か否かの同定を行った。

なお、検査尾数に占める冷水病菌検出魚の割合を冷水病保菌率として、次式により示した。

$$\text{冷水病保菌率(\%)} = (\text{冷水病菌分離尾数} / \text{検査尾数}) \times 100$$

3. 冷水病菌の同定方法

抗冷水病血清を用いた凝集試験で凝集反応が陽性、かつ長桿菌であったものを冷水病菌 *F. psychrophilum* と判定した。本菌は多くの場合強い自発凝集性を有するため、凝集試験では自発凝集を防ぐ必要がある。そこで、凝集試験は以下に示す方法1または方法2によった。抗血清は、天然在来魚分離株には抗 ZH9306⁵⁾ (広島県オイカワ分離株) 血清を、アユ分離株には抗 PT87024 (=

FPC840⁶⁾ 徳島県アユ分離株) 血清を用いた。菌の形態はスライドガラス上でウェット・マウントにより顕微鏡下で観察した。また必要に応じ、ZH9306, PT87024以外の既知の冷水病菌を陽性対照において同定を行った。

凝集試験方法1 寒天培地上の黄色コロニーを滅菌蒸留水に懸濁させて得た懸濁菌液を、ホール・スライドガラス上の2穴にピペットで各1滴ずつ滴下する。その後、一方にはPBS(-)を1滴、他方には滅菌蒸留水で希釈した抗血清を1滴、滴下して凝集試験を行った。ただし両者の凝集反応が陽性の場合には方法2によった。

凝集試験方法2 方法1の懸濁菌液を高圧滅菌器により121℃3分間処理し、放熱後、方法1と同様にして凝集試験を行った。なお、抗血清は常法どおりPBS(-)で希釈したものをを用いた。

4. ギロダクチルス⁷⁾の寄生状況

河川でアユの冷水病とギロダクチルス症の混合感染事例が多いことから、アユについてはギロダクチルス *Gyrodactylus japonicus* の寄生状況を検査した。左腹鰭1枚あたりの寄生数(虫体/鰭)を実体顕微鏡下で計数した。それぞれ10尾検査し、その平均値(平均ギロダクチルス寄生数)で示した。

結 果

1. 天然在来魚

検査結果を表2に示した。アユ放流前の2水系5河

川で採捕されたカワムツ、オイカワ、ムギツク *Pungtungia herzi*, ウグイ *Leuciscus (Tribolodon) hakonensis* 等の天然在来魚8群計128尾を検査したが、冷水病菌は分離されなかった。

なお、調査した全5河川は湖産及び人工産アユ種苗が放流されている河川であった。また、供試魚128尾のうち2群66尾は、'96, '97年にアユの冷水病が発生した香々美川で採捕したものであった。香々美川では'98年5月21日以降アユの冷水病の発生が確認された⁴⁾。

2. 放流アユ種苗

検査結果を表3に示した。

湖産 検査した6群180尾のうち、穴あき症状は5群38尾で観察された。穴あき率は群により0~70%で、6群全体では21%であった。冷水病菌は4群14尾で検出された。保菌率は群により0~20%で、6群全体では8%であった。ギロダクチルスは6群中4群で確認され、6群全体の平均寄生数は2.2(虫体/鰭)であった。また、穴あき症状が確認された5群のうち4群で冷水病菌が分離された。分離されなかった1群の穴あき率は3%と低かった。なお、冷水病の特徴的な症状の一つとされる下顎の発赤は、その殆どの場合が穴あき症状を伴っていた。

人工産 人工産種苗3群89尾を検査したが、3群いずれも、穴あき率0%、冷水病保菌率0%、ギロダクチルス寄生数0.0(虫体/鰭)であった。

表2 アユ放流前の天然在来魚の保菌状況

群番号	2	3	4	1	5	6	7	8	計
検査日(月・日)	4.15	4.15	4.15	4.10	4.16	4.16	4.21	4.21	—
河川名	旭川水系			吉井川水系					2水系
W.T.(℃)	旭川	目木川	目木川	吉野川	吉井川	吉井川	香々美川*	香々美川*	5河川
	12.5	15.0	15.4	13.1	15.0	14.5	13.5	13.6	—
供試魚の内訳(尾)									
カワムツ			5				24	20	49
オイカワ		2	4	2	8	17		10	33
ムギツク		2			2				14
ウグイ	5	5					4		14
カマツカ						6			6
タカハヤ							1	3	4
ニゴイ						2			2
ヨシノボリ								2	2
シマドジョウ							2		2
ズナガニゴイ						1			1
ギギ						1			1
計	5	9	9	2	10	27	31	35	128
冷水病保菌率(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* 香々美川では'96, '97年にアユの冷水病の発生を確認している。'98年5月21日以降発生を確認。

・ 調査した5河川には湖産及び人工産アユ種苗が毎年放流されている。

表3 放流アユ種苗の保菌状況

群番号	湖産1	湖産2	湖産3	湖産4	湖産5	湖産6	湖産計	人工1	人工2	人工3	人工計
検査日(月日)	4.18	4.23	4.24	4.25	4.26	4.29		4.25	4.28	6.01	
種苗出荷者	a	b	b	c	d	a		A	A	B	
放流場所	旭川水系		吉井川水系		高梁川水系			吉井川水系			
検査尾数	30	30	30	30	30	30	180	29	30	30	89
平均体重(g)	15.8	6.0	5.4	14.3	17.3	17.2	—	6.6	11.3	21.8	—
穴あき症状(尾)	3	0	1	10	23	1	38	0	0	0	0
率(%)	10	0	3	33	70	3	21	0	0	0	0
冷水病保菌魚(尾)	4	0	2	2	6	0	14	0	0	0	0
保菌率(%)	13	0	7	7	20	0	8	0	0	0	0
平均ギロダクチルス寄生数(虫体/鱗)	0.0	1.1	2.0	7.7	0.0	2.5	2.2	0.0	0.0	0.0	0.0

・穴あき率(%) = (穴あき症状魚数/検査尾数) × 100

・平均ギロダクチルス寄生数(虫体/鱗) = 左腹鱗1枚あたりのギロダクチルス寄生数(10尾の平均値)

表4 河川アユの現地調査結果

調査項目	手捕り分	一網分	計	備考
検査尾数	35	22	57	
平均体重(g)	99	97	98	
穴あき症状(尾)	4	5	9	
率(%)	11	23	16	
変形魚(尾)	21	17	38	口のねじれ, 頭部変形等
率(%)	60	77	67	

手捕り分: 網入れ後川に入り早く網に掛かったアユを手でとったもの。

数網分の漁獲物。

一網分: 1網(30m)に掛かった漁獲物。

表5 河川アユの保菌状況

群内の分類	検査尾数(尾)	平均体重(g)	穴あき症状(尾)	穴あき率(%)	冷水病保菌魚(尾)	平均ギロダクチルス寄生数(虫体/鱗)
傷等のある成長良好魚	6	102	5	83	0	0.5
変形のある成長不良魚*	7	50	3	43	2	0.1
計	13	74	8	61	2	0.3

・*口のねじれ, 頭部変形等のみられた変形魚。

・同時に混獲されたオイカワ♀4尾は冷水病保菌率0%であった。

3. 河川アユ

現地調査の結果を表4に示した。現地調査した57尾のうち、穴あき症状が9尾(穴あき率16%)に、また、口のねじれや頭部変形等の変形が38尾(変形率67%)にみられた。

次にこの57尾のうち、穴あき症状等のみられた成長良好魚6尾と、変形を伴った成長不良魚7尾の計13尾を持ち帰り、保菌検査した結果を表5に示した。冷水病菌は成長良好魚6尾からは検出されなかったが、頭部変形等を伴った成長不良魚7尾のうち2尾から検出された。ギロダクチルスの寄生数は、供試魚13尾を平均すると0.3(虫体/鱗)であった。なお、供試魚によっては治癒途中と思われる穴あき症状がみられたが、穴あき症状として判定した。

4. 河川アユ産卵親魚

検査結果を表6に示した。冷水病菌は、腎臓では20尾中14尾(♀7尾♂7尾, 保菌率70%)から、生殖腺では20尾中2尾(♀1尾♂1尾, 保菌率10%)から検出された。なお、どちらの部位からも冷水病菌が検出されなかった個体は、20尾中6尾(♀3尾♂3尾)であった。一方、穴あき症状は8尾(穴あき率40%)でみられた。平均ギロダクチルス寄生数は4.2(虫体/鱗)であった。なお、検体によっては体表にスレ状の浅いキズがみられたが、穴あき症状とは判定しなかった。

考 察

冷水病は現在、全国の養殖サケ科魚類¹⁾、アユ養魚場の湖産、人工産、海産種苗²⁾で発生しているほか、天然

表6 河川アユ産卵親魚の保菌状況

雌雄別	検査尾数 (尾)	平均体重 (g)	穴あき症状 (尾) (%)		冷水病保菌率				平均ギロダクチ ルス寄生数 (虫体/鱗)
					腎臓		生殖腺		
					(尾)	(%)	(尾)	(%)	
♀	10	154	4	40	7	70	1	10	3.7
♂	10	134	4	40	7	70	1	10	4.6
計	20	144	8	40	14	70	2	10	4.2

域においては琵琶湖や河川のアユ^{1, 2)} さらにオイカワ⁵⁾等の天然在来魚でも発生が報告されている。ドイツでは河川のコイ科魚類¹⁾や野生ウナギ⁷⁾での報告もある。本県でも養殖サケ科魚類、アユ養魚場の湖産(湖産のみ飼育)、人工産種苗(人工産のみ飼育)のほか、河川のアユでも発生を確認している^{3, 4)}。

河川で発生する冷水病の感染源としては、放流湖産アユ種苗が保菌している可能性が高いとか、人工産アユ種苗も保菌している等が疑われているほか、既に河川内に冷水病菌が常在しており天然在来魚や天然遡上アユ等も保菌しているのではないかなどことが疑われているが、その真相は明らかになっていない。

今回行った腎臓からの培養法による保菌検査の結果から、湖産種苗が放流時点で既に冷水病菌を体内に保菌していることが明らかになった。このことから、保菌した湖産種苗の放流が、河川で発生する冷水病の感染源の一つになりうると考えられた。一方、アユ放流前の天然在来魚の保菌検査結果から、冷水病が発生した河川の天然在来魚が保菌したまま生残し、翌年5、6月頃に河川で発生するアユの冷水病の感染源となっている可能性は、完全には否定できないが、仮に感染源になっていたとしてもその影響力は比較的小さいのではないかと考えられた。人工産種苗についても同様に、今回の調査結果だけから判断して冷水病フリーであるとまでは断言できないが、仮に保菌していたとしても、その影響力は比較的小さいと考えられた。現在、岡山県では全アユ放流量の約半分を湖産種苗に依存しており、毎年約19トンもの湖産種苗が県内の各河川に放流されている(付表2)。今回の調査結果によると湖産種苗の保菌率が平均8%にも及んでいたことから、保菌した湖産種苗の放流による河川への影響力は大きいと考えられる。このため、もし仮にこれ以外に感染源が存在しないとすれば、河川で発生する冷水病の対策としては、保菌した種苗を放流しないことが有効であるはずである。

次に、河川内で冷水病が発生した場合、どの程度他の健康なアユや天然在来魚に感染し、発病へい死するのか、また、これらが保菌魚としてどの程度生残するのかを解

明することが重要である。今回の調査では9月の河川アユ及び10月の河川アユ産卵親魚から冷水病菌が検出されたことから、少なくともアユの産卵時期である10月頃までは、保菌したアユが河川内に存在している可能性が高いといえる。特に河川アユ産卵親魚が高率に保菌していたことから、今後、垂直感染の有無を確認する必要がある。

以上のように、保菌した湖産種苗の放流が河川で発生する冷水病の感染源の一つとして疑われる一方、天然在来魚や人工産種苗の感染源としての影響力は無いかなどでも比較的小さいのではないかと考えられた。しかし、その影響力は無視できる程小さいのか否かについては、明確にできなかった。今後調査すべきは、保菌した湖産種苗の放流以外の感染源(天然在来魚や人工産種苗を含む諸々の感染源)が存在するのか、またその影響力は無視できるほど小さいのかを解明することである。このためには、冷水病フリーと考えられる人工産種苗のみを単独河川に放流し、冷水病の発生を防止できるか追跡調査することが有効であると考えられ、その実施が強く望まれる。また、今後は今回調査した天然在来魚や放流アユ種苗等に加え、天然遡上アユの保菌状況を把握することにより、冷水病が河川で発生する原因や対策の方向性がより明確になるものと思われた。

要 約

1. アユ放流前の天然在来魚、放流アユ種苗(湖産及び人工産)、河川アユ、河川アユ産卵親魚の冷水病菌 *F. psychrophilum* の保菌検査を、腎臓からの培養法により実施した。
2. 冷水病菌の保菌率は天然在来魚0%、人工産種苗0%、湖産種苗0~20%(平均8%)、河川アユ15%(作為抽出魚)、河川アユ産卵親魚70%であった。また、冷水病の保菌検査手法として腎臓からの培養法が有効であることがわかった。
3. 保菌した湖産種苗が放流されていることが明らかになり、このことが河川で発生する冷水病の感染源の一つとして考えられた。これ以外に感染源が存在しなけ

れば、対策としては保菌した種苗を放流しないことが有効であると考えられた。

4. 河川のアユは河川水温が22, 23℃になっても腎臓に冷水病菌を保菌しており、産卵親魚では生殖腺からも冷水病菌が分離された。
5. 冷水病菌は、湖産種苗の放流される4月下旬頃からアユの産卵時期である10月頃までの期間は、河川内(保菌アユを含む)に存在していると考えられた。
6. ギロダクチルスは人工産種苗には確認されなかったが、湖産種苗の6群中4群や、河川アユ及び河川アユ産卵親魚にはその寄生が確認された。

文 献

- 1) 室賀清邦・江草周三編集, 1996: 魚病学概論, 初版, 177pp.
- 2) 社団法人日本水産資源保護協会, 1995: 魚類防疫技術書シリーズ XIII 最近問題となっている魚病 (サケ科魚類およびア

ユ), 67pp.

- 3) 植木範行・増成伸文, 1998: 1996と'97年に吉井川支流の香々美川でみられたアユの冷水病について, 岡山水試報, 13, 33-36.
- 4) 増成伸文・植木範行・直原治子, 1999: 平成10年度内水面の魚病診断状況, 岡山水試報, 14, 153-158.
- 5) Y. IIDA and A. MIZOKAMI, 1996: Outbreaks of coldwater disease in wild ayu and pale chub, *Fish Pathology*, 31(3), 157-164.
- 6) H. WAKABAYASHI, T. TOYAMA, and T. IIDA, 1994: A study on serotyping of *Cytophaga psychrophila* isolated from fishes in Japan, *Fish Pathology*, 29(2), 101-104.
- 7) 社団法人日本水産資源保護協会, 1992: 未侵入重要魚病の防疫No.2 EHN, 旋回病, 冷水病, 27pp.
- 8) 全国内水面漁業協同組合連合会, 1999: ないすいめん, No.16, 9.

付表1 改変サイトファーガ寒天培地の組成

Trypton (Difco)	2.0 g
Yeast Extract (Difco)	0.5 g
Lab-Lemco Powder (Oxoid)	0.2 g
CH ₃ COONa·3H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 g
Bacto-Agar (Difco)	13.0 g
Distilled Water	1,000ml
pH試験紙によりpH7に調節する	
(広島水試飯田氏私信)	

付表2 岡山県の河川におけるアユ放流量 ('98年度)⁸⁾

	琵琶湖産	人工産	海産	合計
放流量 (トン)	19.2	22.7	0.5	42.4
	45%	54%	1%	100%