

有田川ダム上流域におけるアユ冷水病の感染源について^{*1}

藤井久之、原田慈雄、加藤邦彰、小峠利勝^{*2}

冷水病は、和歌山県ではアユ養殖場で1991年に初めて発生が確認されており、^{1,2)} 河川においてもほぼ同時期に発生し広がったと考えられ、その被害は養殖場と同じく甚大である。³⁻⁵⁾

河川での冷水病対策を確立するには、「オイカワ等の河川在来魚がキャリアとなっている」、「河川で生残した冷水病菌が翌春に多大な被害をもたらす」、もしくは「放流種苗やオトリアユ等に伴って外部から持込まれる」のかを明らかにする必要がある。⁶⁾

有田川ダム上流域は、アユの天然遡上はなくダム湖で再生産も行われていない閉鎖水域で、冬期にアユは河川に生息していない。ここで、オトリアユが外部から持込まれるようになるアユ漁の解禁日まで徹底的に冷水病菌が河川に侵入することを防いだ場合、解禁前に冷水病が発生すれば、キャリアまたは河川に生残していた菌が原因であることに、また解禁以降に発生すればこれら以外に外部からの菌の侵入も原因の一つとして考えられる。

そこで、前年度⁶⁾ に引き続き有田川ダム上流域におい

て冷水病の感染環を解明するための調査を行ったので、その結果を報告する。

材料および方法

調査河川 調査は図1に示した有田川で行った。有田川は、伊都郡高野町の陣ヶ峰(標高1106m)に流れを發し県中北部を南西に流れ、有田市で紀伊水道に注ぐ延長183Km、流域面積468Km²の2級河川である。河口から約38Kmの所に二川ダムがある。

放流種苗の保菌検査 放流種苗は和歌山県内水面漁業協同組合連合会が中間育成した本県産の人工種苗及び海産種苗である。検査は4月15日から25日にかけて行った。検体は放流の約1週間前に池ごとに、また、放流現場まで運搬中に冷水病に感染しないかを調べるため、放流直前にトラックの水槽から60尾ずつ採取した。検査部位は腎臓で、10%馬血清添加改変サイトファーガ培地を用い18℃で4~7日培養した。黄色のコロニーが出現した場合は、菌の形状観察及び日本水

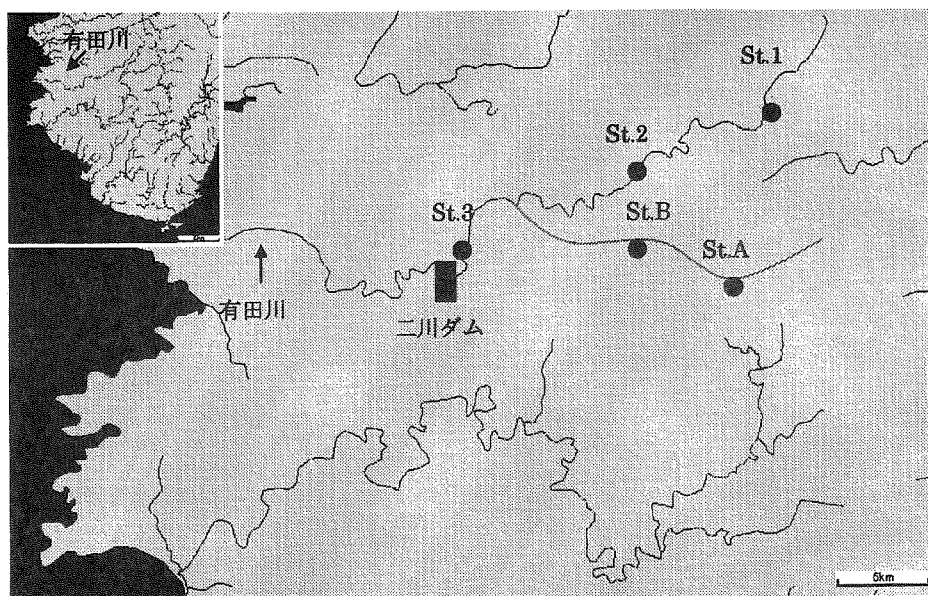


図1 調査定点

※1 環境調和型アユ増殖手法開発事業費による
※2 和歌山県内水面漁業協同組合連合会

産資源保護協会から配付された抗血清による凝集反応で冷水病菌の判定を行い、陽性と判定されたものについてはChelex100を用いて粗DNAを抽出し、2種類のPCR法⁷⁻⁸⁾により確定診断を行い、PCR-RFLP法⁹⁾により遺伝子型の判別を行なった。

無菌オトリアユの配付と池消毒 オトリアユは和歌山県内水面漁業協同組合連合会が育成したもので、5月10日に1業者に、6月3日に9業者に配付したが、配付前に放流種苗と同様の保菌検査を行い無菌であることを確認し、また配付前の4月21日に調査対象域にあるオトリアユ販売業者の水槽・池の塩素消毒を行った。調査対象域の2004年の解禁は6月5日であり、無菌オトリアユは解禁とほぼ同時に売切れ、販売業者は直ちに民間の養殖業者からオトリアユを仕入れている。

野外調査と採集魚の保菌検査 調査対象域にSt. 1～3(本流)、A、B(支流)の5定点を設け、4月8日から10月20日まで計17回投網または刺網でアユ及びその他の河川在来魚を採集した。アユは各定点で30尾を目安に採集した。検体は、目視で冷水病特有の症状である下顎、体側、尾部の潰瘍症状の有無を観察するとともに放流種苗と同様の方法で保菌検査を行った。また、St. 2とAにデータロガー(米国オンセットコンピュータ社製)を設置し水温を継続的に計測した。

結果および考察

放流種苗の保菌検査 保菌検査結果を表1に示した。検査した種苗から冷水病菌は検出されなかった。調査対象域には4月19日に人工1,200Kg(平均体重10.1g、約11.8万尾)、20日に人工500Kg(平均体重10.8g、約4.6万尾)、25日に海産1,300Kg(平均体重6.2g、約20.9万尾)が放流された。

表1 保菌検査結果

月/日	検査時期	種苗由来	結果	備考
4/15	中間育成時	人工	0 / 60 *	4/19放流
"	"	"	0 / 60	"
"	"	"	0 / 60	4/20放流
4/19	放流当日	"	0 / 60	
4/20	放流当日	"	0 / 60	
"	中間育成時	海産	0 / 60	4/25放流
"	"	"	0 / 60	"
4/25	放流当日	"	0 / 60	

* 陽性数/検体数

野外調査と採集魚の保菌検査 調査結果を表2に示した。採捕された魚種はアユを中心にオイカワ、カワ

表2 アユ及び河川在来魚の保菌検査結果

月/日	アユ	オイカワ	カワムツ	その他 コイ科	*2	ハゼ科	*3	アマゴ	シマ ドジョウ
4/8		1 / 43	0 / 29	0 / 7		0 / 3		0 / 2	
4/26	0 / 167 *1	0 / 7	0 / 15	0 / 0					
5/6	3 / 91	3 / 5	1 / 11	0 / 3					
5/11	0 / 169	0 / 4	0 / 16	0 / 6					
5/18	0 / 157	1 / 5	0 / 7	0 / 2					
5/26	0 / 159	0 / 6	0 / 12	0 / 7					0 / 1
6/1	0 / 169	0 / 3	0 / 7	0 / 3				0 / 1	
6/8	0 / 129	0 / 7	0 / 6	0 / 3				0 / 1	
6/15	2 / 153	0 / 3	0 / 5	0 / 6					
6/23	13 / 160	0 / 6	1 / 9	0 / 4					
6/29	21 / 157	0 / 2	0 / 8	0 / 1					
7/15	34 / 79		0 / 7	0 / 4					
7/29	15 / 137	0 / 1	0 / 8	0 / 1					
8/10	1 / 130	0 / 13	0 / 8	0 / 1					
9/2	0 / 36	0 / 4	0 / 1	0 / 3					
9/16	0 / 57	0 / 2	0 / 1	0 / 1					
10/20	8 / 16	0 / 2							
97 / 1,966		5 / 113	2 / 150	0 / 52		0 / 3		0 / 5	0 / 1

*1 陽性数/検体数

*2 ウグイ、カマツカ、ムギツク

*3 カワヨシノボリ、シマヨシノボリ

ムツ、その他コイ科(ウグイ、カマツカ、ムギツク)、ハゼ科(カワヨシノボリ、シマヨシノボリ)、アマゴ、シマドジョウであった。このうち、冷水病菌が検出されたのはアユ、オイカワ、カワムツの3魚種で、それ以外の魚種からは検出されなかった。

アユの定点別の保菌検査結果を表3に、定点別の冷水病の発生状況を図2に示した。解禁(6月5日)までの間についてみると、最初に冷水病が発生したのはSt.Aであり5月6日に3尾のアユから冷水病菌が検出され、図5に示すように遺伝子型はBS型であった。泉ら⁹⁾、田畑¹⁰⁾はBS型冷水病菌はアユに大きな被害を及ぼす原因とはなっていないと報告している。また、BS型冷水病菌が検出されたアユに冷水病の症状はみられなかったことより、検出されたBS型菌は冷水病発症の原因とはなっていないと考えられる。また、放流から解禁までの間に912尾のアユを検査したが、アユに病原性のあるAS・AR型の冷水病菌は検出されなかった。

次に解禁以降についてみると、解禁から10日後の6月15日にSt.Aで2尾のアユからAS型冷水病菌が検出され、このうち1尾はハナカンが付いており、放流アユに比べると内臓脂肪が多いことからオトリアユと考えられる。その後、冷水病は爆発的に蔓延し、6月下旬にはSt.3を除く全定点で保菌アユが確認された。図3、4に示すように2005年は6月までの降水量が少なくこの時期まで河川の水温は上昇した。しかし、7

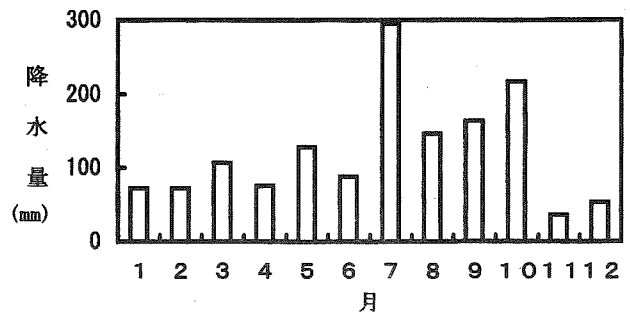


図3 2005年の和歌山県清水における月別降水量 (気象庁気象統計情報 <http://www.data.kishou.go.jp/> による)

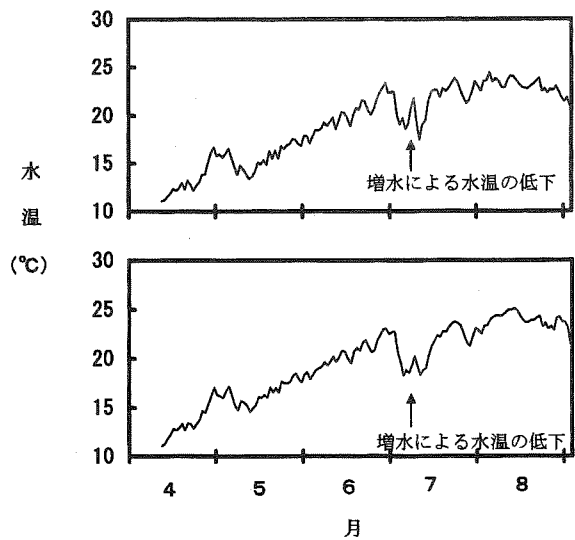


図4 St. AとSt. 2の水温の推移

表3 アユの定点別の保菌検査結果

月/日	St. A			St. B			St. 1			St. 2			St. 3		
	症状のある個体の尾数	菌分離された個体の尾数	検体数	症状のある個体の尾数	菌分離された個体の尾数	検体数	症状のある個体の尾数	菌分離された個体の尾数	検体数	症状のある個体の尾数	菌分離された個体の尾数	検体数	症状のある個体の尾数	菌分離された個体の尾数	検体数
4/26	0 ()	0 ()	30	0 ()	0 ()	33	0 ()	0 ()	32	0 ()	0 ()	32	0 ()	0 ()	40
5/6	0 ()	3 (9.7)	31	0 ()	0 ()	28	0 ()	0 ()	32						
5/11	0 ()	0 ()	32	0 ()	0 ()	32	0 ()	0 ()	35	0 ()	0 ()	34	0 ()	0 ()	36
5/18	0 ()	0 ()	31	0 ()	0 ()	34	0 ()	0 ()	31	0 ()	0 ()	31	0 ()	0 ()	30
5/26	0 ()	0 ()	29	0 ()	0 ()	32	0 ()	0 ()	34	0 ()	0 ()	31	0 ()	0 ()	33
6/1	0 ()	0 ()	34	0 ()	0 ()	35	0 ()	0 ()	34	0 ()	0 ()	31	0 ()	0 ()	35
6/8	0 ()	0 ()	14	0 ()	0 ()	30	0 ()	0 ()	27	0 ()	0 ()	30	0 ()	0 ()	28
6/15	0 ()	2 (6.3)	32	0 ()	0 ()	31	0 ()	0 ()	33	0 ()	0 ()	28	0 ()	0 ()	29
6/23	4 (12.9) *	5 (16.1)	31	6 (16.7)	3 (8.3)	36	1 (2.8)	3 (8.3)	36	4 (13.8)	2 (6.9)	29	0 ()	0 ()	28
6/29	12 (38.7)	6 (19.4)	31	13 (40.6)	10 (31.3)	32	12 (37.5)	5 (15.6)	32	6 (18.8)	0 (0.0)	32	0 ()	0 ()	30
7/15	3 (50.0)	1 (16.7)	6	8 (61.5)	6 (46.2)	13	9 (69.2)	6 (46.2)	13	26 (89.7)	12 (41.4)	29	15 (83.3)	9 (50.0)	18
7/29	9 (26.5)	12 (35.3)	34	2 (5.9)	3 (8.8)	34	0 ()	0 ()	28	0 ()	0 ()	21	0 ()	0 ()	20
8/10	3 (30.0)	0 ()	10	4 (16.0)	0 ()	25	1 (2.3)	1 (2.3)	43	2 (5.6)	0 ()	36	0 ()	0 ()	16
9/2	0 ()	0 ()	1	0 ()	0 ()	4	2 (12.5)	0 ()	16	0 ()	0 ()	13	0 ()	0 ()	2
9/16	0 ()	0 ()	1	0 ()	0 ()	11	0 ()	0 ()	12	1 (5.0)	0 ()	20	0 ()	0 ()	13
10/19													7 (43.8)	8 (50.0)	16

* 尾数(割合%)

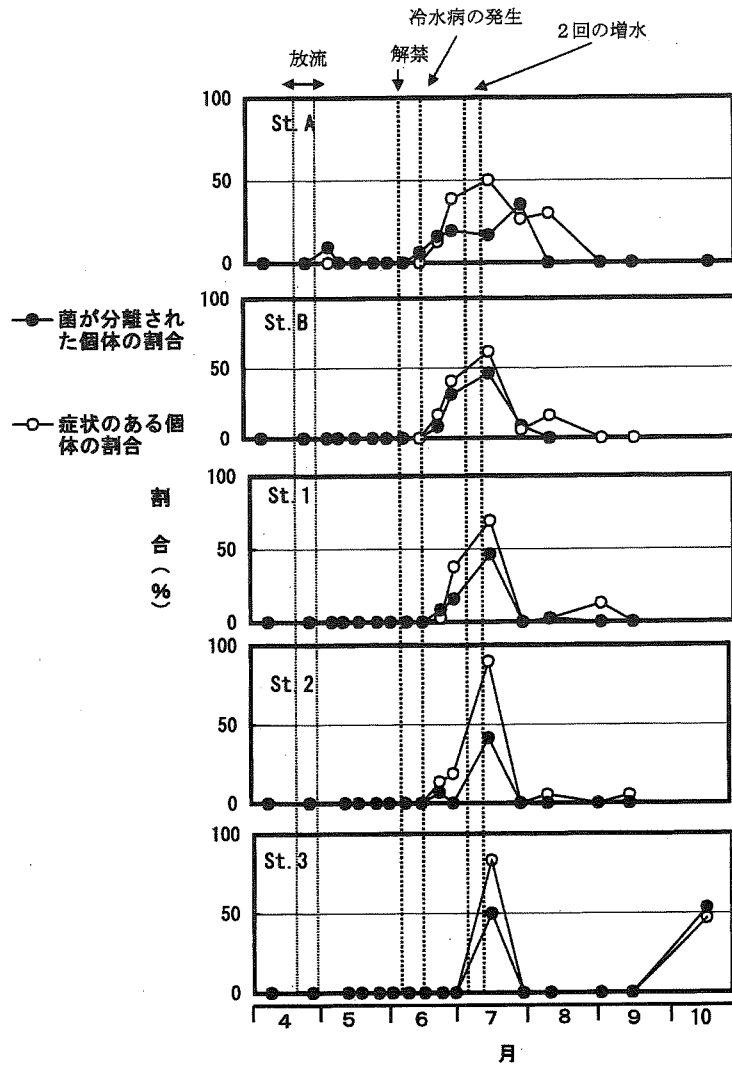


図2 定点別の冷水病発生状況

月上旬に2回の大雨があり、急激に水温が低下し、これが引き金となり冷水病は全定点に広がった。その後、水温の上昇とともに冷水病は終息し7月下旬から9月末まで保菌魚はみられなかったが、10月下旬の調査で再び保菌魚がSt. 3で採捕された。

前年度は、解禁5日後にSt. 1～3で各2尾(計6尾)のアユから冷水病菌から検出され、そのうち3尾は内臓脂肪が多いことからオトリアユと推測された。⁶⁾ 2年続けて解禁後にオトリアユから冷水病菌が検出され、その後河川で冷水病が蔓延したことより、釣人の持込むオトリアユが感染源の一つになっていると考えられる。今後、オトリアユによる冷水病菌の侵入を防ぐための検査体制を確立し、水温上昇期まで冷水病の発生を遅らせることで被害を軽減できるものと思われる。

更に、オトリアユ以外の感染源についても調査・研究し、感染環の全容を解明することが必要である。

遺伝子型判別結果 野外調査で分離された冷水病菌の遺伝子型判別結果を表4に示した。アユからは97株の冷水病菌が分離され、そのうち94株について遺伝子型が判別でき、AS型が85で最も多く、次いでAR型

表4 遺伝子型判別結果

魚種	分離された株数	遺伝子型が判別できた株数	遺伝子型		
			AS	AR	BS
アユ	97	94	85	6	3
オイカワ	5	4			4
カワムツ	2	2	1		1
計	104	100	86	6	8

が6、BS型が3であった。アユからBS型が検出されているが、この時同時に採捕されたオイカワ、カワムツからもBS型が検出されているのでアユが偶発的に同型の菌を保菌していたものと考えられる。オイカワとカワムツからは、7株の冷水病菌が検出され、そのうち6株ついて遺伝子型が判別でき、AS型が1、BS型が5であった。カワムツからAS型が検出されているが、アユにAS型冷水病菌が蔓延している時期であったので、昨年と同様⁶⁾、環境中に大量に存在するAS型冷水病菌をカワムツが一時的に保菌していたものと考えられる。

次にアユから分離した冷水病菌の遺伝子型判別結果を図5に示した。BS型は5月6日にSt.Aで検出されただけであった。AS型は6月15日から10月19日まで全定点で検出されたのに対し、AR型は6月29日にSt.Aで、7月15日にSt.BとSt.1のみみられただけであった。冷水病菌の遺伝子型については、泉らは魚種により分離される冷水病菌の遺伝子型が異なり、アユからはAS型が最も多く、次いでBS型とAR型が検出されたと報告している。⁹⁾ また、田畑は同一河川で同所的に生活するアユとオイカワ等から分離された冷水病菌の遺伝子型について調査し、アユからはAS型とAR型が、オイカワからはBS型が検出され、アユとオイカワの冷水病菌の間には宿主をめぐって一定の隔離があると報告している。¹⁰⁾ しかし、同一河川において調査定点・日による遺伝子型の違いを調査した例はなく、今回の調査でAS型は全定点で長期間みられるのに対しAR型は一部の定点で散発的にみられることが明らかになった。このような違いが生じた原因は①冷水病は河川においてアユの移動により広がるので、地理的に離れた定点間で遺伝子型に違いが生じる、②遺伝子型によりアユに対する病原性に差がある、③遺伝子型により好適水温が異なる、といったことが考えられるが、今後調査を継続し、様々な事例を検討する必要がある。

文 献

- 1) 宇野悦夫、辻村明夫、見奈美輝彦：魚病対策指導。平成3年度和歌山県内水面漁業センター事業報告、17、33-34(1992)。
- 2) 宇野悦夫、辻村明夫、見奈美輝彦：養殖アユの1985～1994年における疾病発生状況。平成7年度和歌山県内水面漁業センター事業報告、21、19-24(1996)。

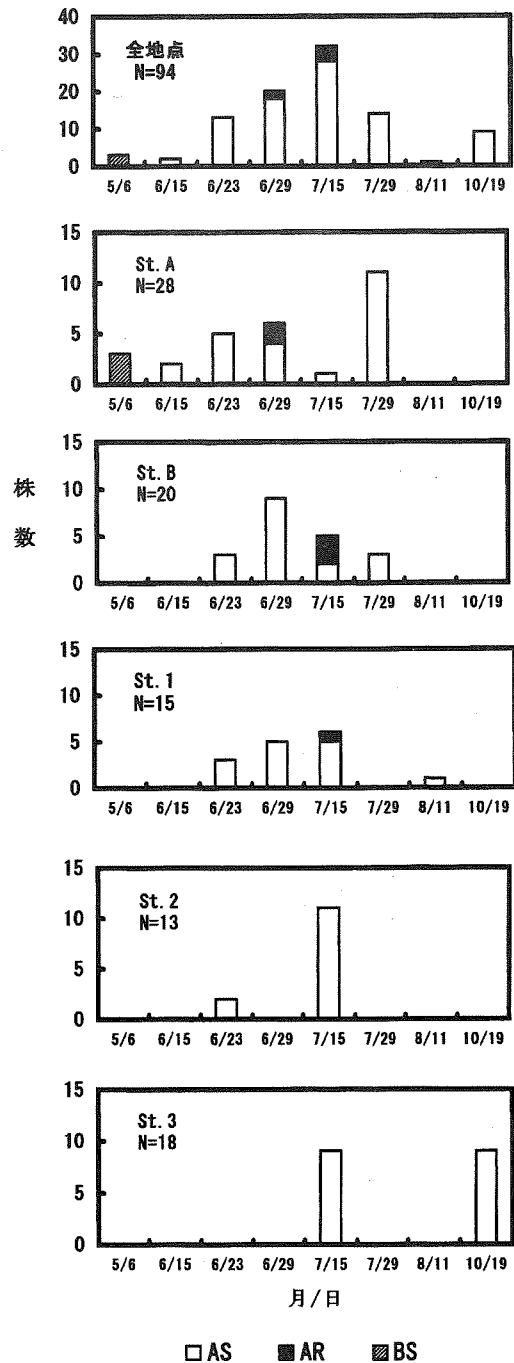


図5 アユから分離された冷水病菌の遺伝子型

- 3) 高橋芳明、田上伸治、堀木暢人、宇野悦夫：河川における冷水病調査結果について。平成13年度和歌山県農林水産総合技術センター内水面漁業センター事業報告、27、42-44(2003)。
- 4) 堀木暢人、高橋芳明：河川における冷水病調査結果について。平成14年度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事業報告、**28**、
28-32(2004).
- 5) 堀木暢人、高橋芳明：河川における冷水病調査結果について。平成16年度和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場内水面試験地事業報告、**30**、
28-32(2006).
- 6) 原田慈雄、藤井久之、加藤邦彰、小峠利勝、堀木暢人、高橋芳明：有田川ダム上流域におけるアユ冷水病の感染源に関する研究－I。平成16年度和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場内水面試験地事業報告、**30**、18-23(2006).
- 7) Toyama, T., K. Kita-Tsukamoto and H. Wakabayashi : Identification of *Cytophaga psychrophila* by PCR Targeted 16S Ribosomal RNA, *Fish Pathol*, **29(4)**, 271-275(1994).
- 8) Izumi, S. and H. Wakabayashi : Sequencing of *gyrB* and Their Application in the Identification of *Flavobacterium psychrophilum* by PCR, *Fish Pathol*, **35(2)**, 93-94(2000).
- 9) Izumi, S., F. Aranishi and H. Wakabayashi : Genotyping of *Flavobacterium Psychrophilm* using PCR-RFLP analysis, *DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS*, **56**, 207-214(2003).
- 10) 田畑和男：河川における冷水病菌をめぐる在来魚と放流アユとの関係。日本水産学会誌、**70(3)**、
318-323(2004).