

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

原田慈雄、藤井久之、加藤邦彰、小峰勝利^{*1}、堀木暢人^{*2}、高橋芳明^{*3}

緒 言

近年、アユの冷水病は県内河川において多発の傾向にあり、特にダム上流域において被害が大きく^{1, 2)}、アユ漁業不振の主要な原因となっている。特に有田川ダム上流域においては、2003年の5月上旬から冷水病が発生し、長梅雨も重なって水温が上がらず、大きな被害となった（図1）。アユ冷水病対策協議会作成の「アユ冷水病防疫に関する指針」には防疫のための具体的措置が数多く示されているが、和歌山県においては有効で現実的な対策方法の確立には至っていない。これは特に「冬期に河川に残ったアユ型冷水病菌が春に多大な被害をもたらす冷水病の感染源となる（仮説1）のか、もしくは放流種苗やオトリアユなどに伴って外部から持ち込まれた冷水病菌が感染源となる（仮説2）のか」が不明なためであり、対策方法を確立するためには、この問題を避けては通れない。

そこで、有田川二川ダム上流域において、冷水病菌を保菌していない（以後無菌と呼ぶ）種苗を放流し、また解禁当日用のオトリアユも無菌のものを有料で配付した上で、アユを中心とした魚類の冷水病菌保菌実態調査を行った。なお、有田川は河川延長182.5km、流域面積468km²の和歌山県北中部を流れるアユ釣りで有名な二級河川である。天然アユは二川ダムより上流に遡上することは無く、ダム湖で再生産を行っているという情報も無い。また、アユ養殖業も行われていないことから、冬期にアユは二川ダム上流域付近に存在しないと考えられる。このような条件において、アユ型冷水病菌が解禁前に出現すれば上記仮説1を、解禁後に初めて出現すれば仮説2を支持することとなる。

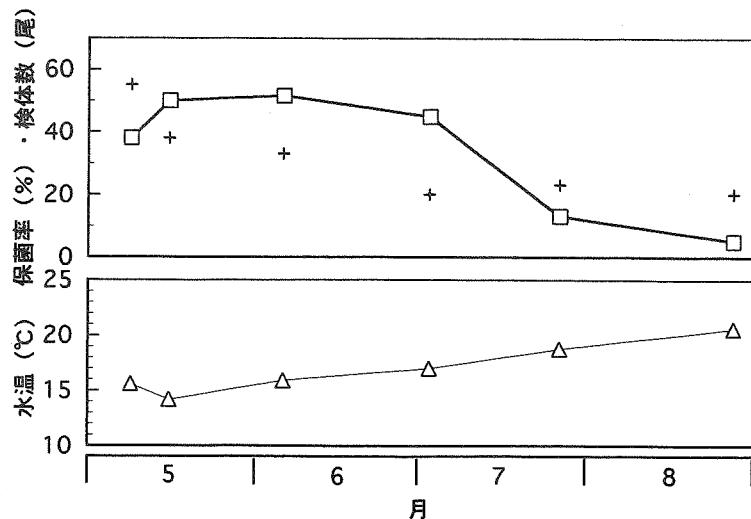


図1 2003年における有田川ダム上流域(St.1～2、図2参照)でのアユの冷水病保菌率(□)および検体数(+)と水温。保菌検査は、2004年と同じ培養法により実施。

*1 和歌山県内水面漁業協同組合連合会

*2 現県庁資源管理課

*3 現水産試験場

材料と方法

1. 放流種苗 和歌山県内水面漁業協同組合連合会が和歌山県産の人工種苗または和歌山県産の海産稚アユを中間育成し、放流種苗とした。2004年4月21、26日に人工産約420,107尾、29日に海産約175,494尾が、主として有田川のSt. 1 - 3 の区間と湯川川のSt. A, B (図2) に放流された。放流の約1週間前に飼育池毎に60尾について保菌検査を行い、また、放流当日にもトラックから一部の個体を持ち帰り、保菌検査を行った。検査は、馬血清を添加した改変サイトファーガ培地に腎臓を塗布し、18°Cで4 - 7日間培養した後、日本水産資源保護協会から配布された抗血清による凝集法および菌の形状観察により行った。

2. 無菌オトリアユの配付と池消毒 2004年4月22, 26日に有田川ダム上流域にある全てのオトリアユ販売業者の各池について塩素消毒を行った。オトリアユについても放流種苗と同様に保菌検査を行い、5月13日に1業者に約8,250尾、6月4日に9業者に計約1,150尾のオトリアユを和歌山県内水面漁業協同組合連合会が有料で配付した。なお、2004年は解禁日（6月5日）から釣り人が多く、解禁後1回目の調査時である6月10日には、無菌オトリアユ以外のオトリアユが販売業者の池に搬入されていたのを確認した。

3. 野外調査と採集魚の保菌検査 2004年2月 - 2005年3月に、5 - 6月は週1回、それ以外の月は月1 - 2回の頻度で、投網および刺網によりSt. 1 - 3, A, B (図2) でアユを中心とした魚類の採集を行った。採集は通常9:00 - 17:00（最大20:00まで）にかけて、St. A, B, 1, 2, 3の順に行った。採集時には基本的に水中眼鏡を装着し、アユの居場所を確認してから網を入れることが多かった。また、水温を各定点で測定した。採集した魚は各定点毎に袋に入れ、氷冷して研究室に持ち帰り、翌日、上記の培養法による菌分離を行った。菌の形状および抗血清による凝集反応で冷水病菌と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^{3, 4)}により冷水病菌であることを確認した後、PCR - RFLP法により遺伝子型の判別を行った⁵⁾。

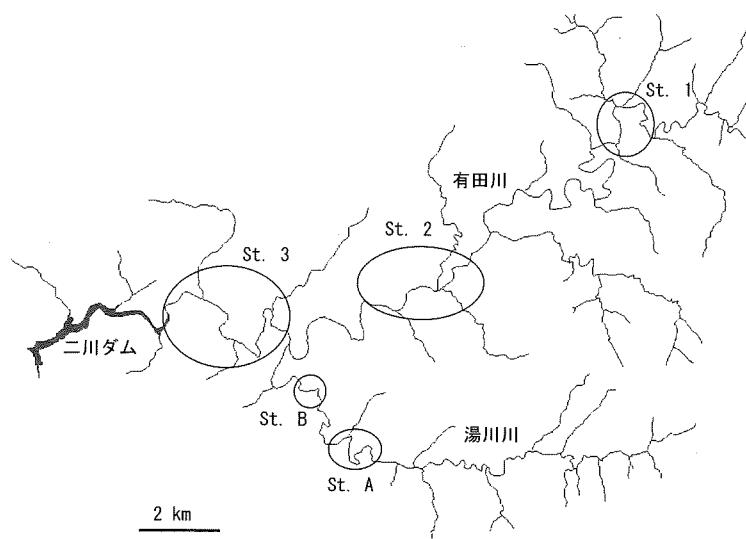


図2. 有田川二川ダム上流域における冷水病調査定点図。
調査は楕円で囲まれた区域の内、有田川本流 (St. 1 - 3) および湯川川本流 (St. A, B) で行われた。

結果と考察

中間育成時または放流直前の放流種苗およびオトリアユから冷水病菌は分離されなかった（表1）。

野外調査については、アユ、オイカワおよびカワムツを中心とした13魚種から菌分離を試みた結果、アユの保菌率は5.5%、オイカワは3.3%、カワムツは0.9%であり、それ以外の魚から冷水病菌は分離されなかった（表2）。

表1. 2004年に有田川ダム上流域に放流されたアユ種苗の冷水病菌保菌検査結果

検査月日	種苗由来	放流河川	飼育時期	検査個体数	冷水病菌保菌個体数	備考
4月14日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	中間育成時	60	0	
4月14日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	中間育成時	60	0	
4月14日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	中間育成時	60	0	
4月21日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	放流当日	60	0	
4月21日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	放流当日	60	0	
4月21日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	中間育成時	60	0	
4月23日	和歌山県海産	有田川ダム上・下流	中間育成時	60	0	
4月26日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	放流当日	60	0	
4月29日	和歌山県海産	有田川ダム上・下流	放流当日	60	0	
5月7日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	中間育成時	60	0	解禁日用おとり
5月11日	和歌山県人工産	有田川ダム上流	中間育成時	60	0	解禁日用おとり

表2. 2004年2月－2005年3月に有田川ダム上流域で冷水病菌検査の対象とした魚種とその検体数および冷水病菌保菌個体数

魚種		検体数	保菌個体数
<i>Plecoglossus altivelis altivelis</i>	アユ	1929	107
<i>Zacco platypus</i>	オイカワ	338	11
<i>Zacco temminckii</i>	カワムツ	422	4
<i>Opsariichthys uncirostris uncirostris</i>	ハス	1	0
<i>Tribolodon hakonensis</i>	ウグイ	54	0
<i>Pseudogobio esocinus esocinus</i>	カマツカ	10	0
<i>Pungtungia herzi</i>	ムギツク	30	0
<i>Carassius auratus langsdorfii</i>	ギンブナ	7	0
<i>Cobitis biwae</i>	シマドジョウ	4	0
<i>Rhinogobius flumineus</i>	カワヨシノボリ	43	0
<i>Rhinogobius</i> sp. CB	シマヨシノボリ	5	0
<i>Tridentiger brevispinis</i>	ヌマチチブ	1	0

アユについては、ダム上流域の解禁まで冷水病菌は分離されなかった（図3）が、オイカワおよびカワムツについては3月から冷水病菌が分離された（図4）。遺伝子型をみてみると（図5）、3-5月にオイカワ属から分離された冷水病菌のうち、遺伝子型を確定できたものは全てアユに無害とされるBS型⁶⁾であった。

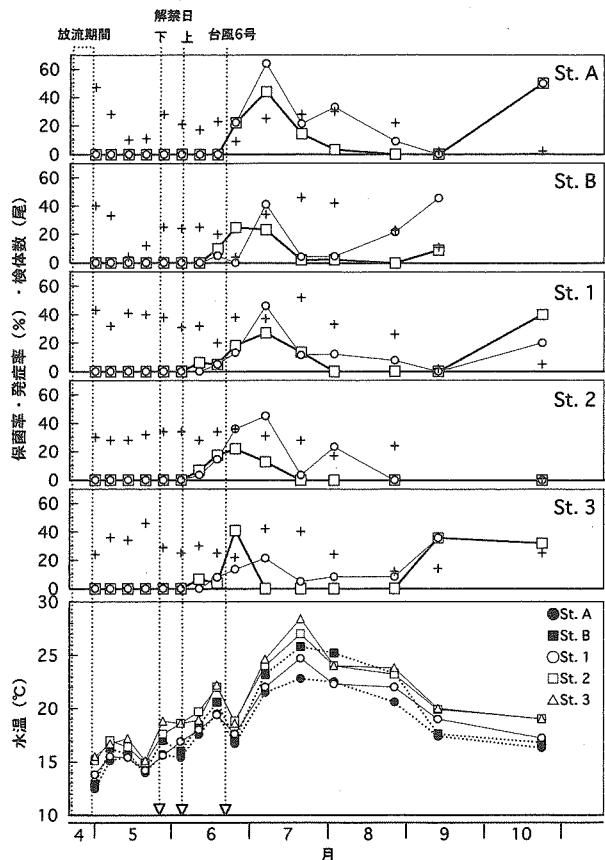


図3. 2004年における有田川の各定点（図1参照）でのアユの冷水病保菌率（□）、冷水病発症率（○）および検体数（+）と水温。解禁日の下および上は、それぞれダム下流域およびダム上流域の解禁日を、放流期間はダム上流域への放流期間を表す。

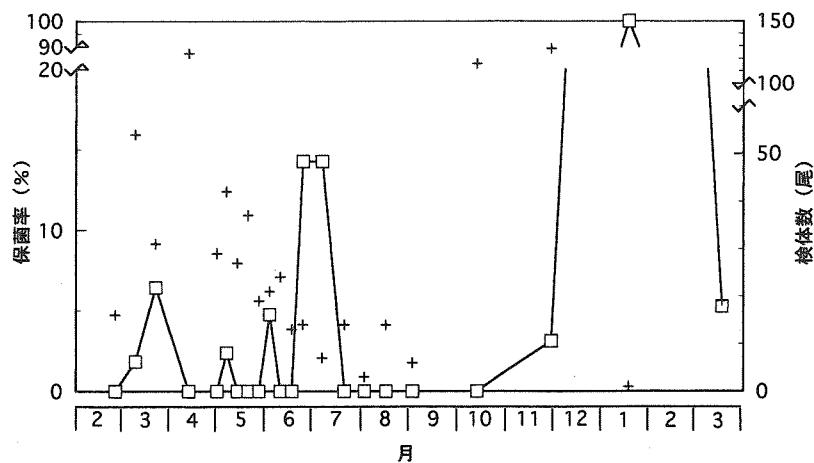


図4. 2004年2月-2005年3月における有田川ダム上流域でのオイカワおよびカワムツの冷水病保菌率（□）と検体数（+）。

アユからは、解禁 5 日後の調査において初めて冷水病菌が分離され、St. 1 – 3 で各 2 尾（計 6 尾）の陽性個体が出現した。St. 1 の陽性個体は、2 尾とも体色が他の個体よりも青白いことが潜水観察中にも容易に区別され、消化管にはほとんど餌が無く、同時に採集された個体に比べ明らかに腹腔内脂肪が多くなったことから、養殖のオトリアユを釣り人が放流した可能性が高いと推測される。なお、この 2 尾は他のアユと淵で群れていた。また、St. 3 で採集された内の 1 尾も、同時に採集された個体に比べ明らかに腹腔内脂肪が多く、養殖のオトリアユである可能性は高いと思われる。したがって、養殖オトリアユから冷水病菌が河川に侵入する可能性は高いと考えられる。

しかし一方で、これら養殖オトリアユと思われた 3 個体の遺伝子型は全て AR 型であり、被害が大きくなった 6 – 7 月に St. 1 – 3 で多かったのは AS 型であった（図 5）。AS 型がどの時点で出現したかをみてみると、最初に分離されたのは 6 月 3 日の St. 2 のオイカワからであり、アユでは 6 月 10 日の同じく St. 2 の個体からであった。オイカワは基本的に A 型を保菌しないとされているが⁶⁾、アユの冷水病菌が蔓延する 6, 7 月には同所的に生息するアユと同じ遺伝子型の冷水病菌を保菌しており（図 5）、環境中に多数存在する冷水病菌を一時的に保菌するものと思われる（ただし、BS 型を保菌しているオイカワ属は斃死または瀕死状態である個体が多いのに対し、A 型を保菌しているオイカワ属は元気）。したがって、オイカワが冬期から AS 型を保菌し続けていたと考えるよりも、解禁直前に AS 型がなんらかの理由で河川に比較的多数出現したと考えたほうが良さそうである。この出現理由については不明であり、憶測の域を出ないが、「河川に残留していた冷水病菌の活性化する温度になったため」や、「ダム下流域の解禁から 1 週間経つており、ダム下流域の魚をオトリとして畜養し、その廃水が流入したため」などの理由が挙げられる。

解禁付近から出現した A 型冷水病菌の保菌率は、水温の上昇とともに増加し、台風 6 号の襲来とともに急激に増加して、全定点で 18% を上回り（図 3）、多数の斃死魚が認められた。この時、水温は急低下しており、これが大量斃死の引き金となった可能性は高い⁷⁾。保菌率のピークは、水温上昇の比較的速いと思われる本流下流域では台風直後に認められたが、支流上流域および本流上流域ではやや遅れる傾向にあった。一方、冷水病の症状が認められた個体の割合（発症率）は、全定点で共通し、台風から 15 日後の調査時であった。これらのことから、水温上昇の速い下流部では、

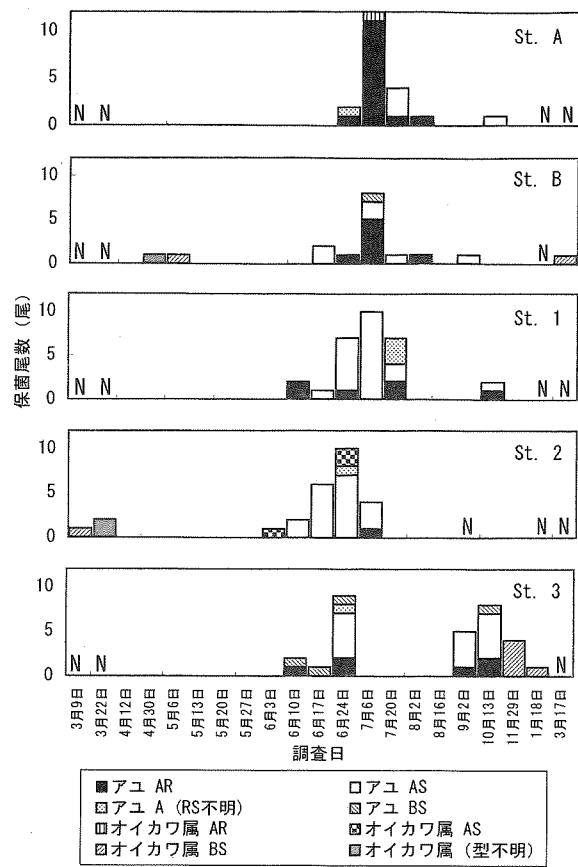


図 5. 2004 年 3 月 – 2005 年 3 月に有田川の各定点（図 1 参照）においてアユ、オイカワおよびカワムツから分離された冷水病菌の遺伝子型⁵⁾の出現様式。N はどの魚種も採集されなかったことを示す。

上流部に比べて冷水病が早く治まると考えられる。

今回の結果からは、前述の仮説 1 および 2 に関する明瞭な解答を得ることは出来なかつたが、2004 年は無菌種苗および無菌オトリアユを配付し、出来るだけ冷水病菌を河川に持ち込まない努力をすることで、2003 年よりも冷水病発生のピークを 1 ヶ月以上遅らせることが出来た。完全な対策には程遠いが、冷水病発生時期を遅らせることで、解禁日付近における年券の購入が期待され、かつ冷水病の発生から水温が上昇するまでの期間が短くなることで、被害を軽減出来るものと思われる。また、今回の調査により、理由は不明であるが、各遺伝子型の出現頻度が定点間で異なるなどの現象も認められており、同様の調査を継続していくことで感染源解明が期待される。

引 用 文 献

- 1) 堀木暢人, 高橋芳明 (2004) : 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.
- 2) 堀木暢人, 高橋芳明 (2006) : 河川における冷水病調査結果について (2002 ~ 2003 年度). 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研究所事業報告, 30, 24 - 28.
- 3) Toyama T (1994) : Identification of *Cytophaga psychrophila* by PCR target 16s ribosomal RNA. Fish Pathol, 29, 271 - 275.
- 4) Izumi S, Wakabayashi H (2000) : Sequencing of gyrB and their application in the identification of *Flavobacterium psychrophilum* by PCR. Fish Pathol, 35, 93 - 94.
- 5) Izumi S, Aranishi F, Wakabayashi H (2003) : Genotyping of *Flavobacterium psychrophilum* using PCR - RFLP analysis. Diseases of Aquatic Organisms, 56, 207 - 214.
- 6) 田畠和男 (2004) : 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. Nippon Suisan Gakkaishi, 70 (3), 318 - 323.
- 7) 谷口道子 (2003) : アユ冷水病の病害発生阻止に関する研究, アユ冷水病防疫対策共同研究チーム編. 平成 14 年度地域連携プロジェクト研究成果報告書, 25 - 32.

謝 辞

本研究を行うにあたり、多大なる御理解と御協力を頂きました有田川漁業協同組合の方々に心より御礼申し上げます。