

アユ養殖場における冷水病対策—Ⅱ ～ 養殖場における海産系アユの冷水病に対する耐病性 ～

原田英明¹・永江 彬¹・田中 実²・太田政孝²
高橋幸則¹・稲川裕之^{1*}

Prevention of Bacterial Coldwater Disease in Ayu Fish Farm—Ⅱ Evaluation of the Resistance to Bacterial Coldwater Disease of Amphidromous Stocks Ayu in Fish Farm

Hideaki Harada¹, Akira Nagae¹, Minoru Tanaka², Masataka Ohta²
Yukinori Takahashi¹ and Hiroyuki Inagawa^{1*}

It is already reported that amphidromous stock (AS)-ayu (*Plecoglossus altivelis*) has higher resistance against BCWD (bacterial coldwater disease) than landlocked stock (LS)-ayu in the experimental model. In this study, we evaluated the resistance to BCWD of AS-ayu in comparison with LS-ayu in the fish farm. The pathogen of coldwater disease (*Flavobacterium psychrophilum*) was continuously detected by PCR in supplied water that was drawn from the river-bed water of Fushino River into the fish farm. The cumulative mortality of AS-ayu by BCWD was 1.1% while that of LS-ayu was 5.3% from April to July 2004. This result suggested that the introduction of AS-ayu into fish farms was effective in order to lessen the damage by BCWD.

Key words : *Flavobacterium psychrophilum* · *Plecoglossus altivelis* · resistance · PCR · bacterial coldwater disease

1 緒 言

現在、日本の自然水域および養殖場において、*Flavobacterium psychrophilum*を病原菌とする冷水病が流行しており、アユ (*Plecoglossus altivelis*) の養殖産業に大きな被害を与えている*¹。アユの冷水病は、1987年に徳島県の養殖場で初めて発生が確認された¹⁾。自然水域においては、1993年に広島県で初めて発生が確認され²⁾、本病が発生した都道府県数は年々増加し、2002年には34都道府県で発生が確認されている*¹。

本病の対策として、スルフィソゾールナトリウムとフロ

ルフェニコールなどの抗菌剤が使用されているが*²、薬剤耐性菌の出現や、残留薬剤の影響等が懸念され、抗菌剤によらない防除法の開発が望まれている。このような状況下にあつて、ワクチンの開発や耐病性アユの作出が検討されているが、ワクチンについては未だ実用化されていない。

耐病性アユの作出に関しては、太田川漁業協同組合（広島県）の累代系アユに天然アユを交配させた海産交配系アユと琵琶湖産アユを交配させた湖産交配系アユ（以下、海産系アユと湖産系アユ）を育種し、野外感染実験において海産系アユが湖産系アユに比べ冷水病に対する斃死率が低

* 1 アユ冷水病対策協議会取りまとめ（平成16年3月）

* 2 アユ冷水病研究部会取りまとめ（平成12年3月）

2006年1月18日受付。Received January 18, 2006.

1 水産大学校生物生産学科（Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University, 2-7-1 Nagata-honmachi, Shimonoseki, Yamaguchi 759-6595, Japan).

2 榎野川漁業共同組合（Fushinogawa Fisheries Corporative Association, Yamaguchi, Yamaguchi 753-0831, Japan)

* 別刷り請求先（Corresponding author）

いことをNagai *et al.* が報告している³⁾。上記の実験に用いた池の規模は4 m²×0.5mであり、池1面あたりの検体数は95~160尾であった。しかし、一般的なアユの養殖池の規模は100~150m²×0.7~0.8mと大きく、また、飼育密度も125~250尾/tと高い¹⁾。さらに、Nagai *et al.*³⁾の感染実験におけるアユの飼育は、養殖池の大きさや攪水機による養殖池の水流等の飼育環境、または飼育尾数や飼料の投与等の飼育条件において実際の養殖場とは異なることから、彼らの結論が養殖場にも当てはまるかどうか確かめることは有意義と思われる。しかし、これまで海産系アユと湖産系アユを養殖場に導入して、冷水病の発生状況を比較した報告はないことから、本研究では養殖場における海産系アユの耐病性の評価を試みた。

2 材料および方法

2.1 供試魚

供試魚は、Nagai *et al.*¹⁾ が評価した交配種のアユを継代飼育したものをを用いた。

本研究に用いた海産系アユとは、太田川漁業協同組合（以下、太田川漁協）において累代飼育されたアユ（累代系アユと称す）の雌（F24）と、鹿児島県産の遡上アユ（雄）を1997年に交配させ、得られた種苗から親魚を育成し、以後、累代飼育したもの（F6）である。太田川漁協において得られた海産系アユの受精卵を、2003年9月から10月にかけて山口県栽培漁業公社の内海栽培漁業センター（以下、栽培センター）に搬入して孵化させ、約0.5gまで育成したのち、2003年12月から翌年2月にかけて山口県の樺野川漁業協同組合（以下、樺野川漁協）に搬入して実験に供した。

一方、湖産系アユとは、1997年に前述の累代系アユの雌（F24）と琵琶湖産アユ（雄）を交配し、育成した親魚（雌）を、琵琶湖産アユ（雄）と太田川漁協で2000年まで毎年交配したもの（F3）である。2000年9月から10月にかけて、湖産系アユの受精卵を栽培センターに搬入し、2001年に樺野川漁協に稚魚として導入したのち、2004年まで累代飼育（F3）して実験に供した。

樺野川漁協へ稚魚を搬入する際、あらかじめ山口県水産研究センターにおいてPCR法で検査し、冷水病菌を保菌していないことを確認した。耐病性評価の開始時（2004年5月18日）における供試魚の平均体重は海産系アユが7.5g、湖産系アユが10gであった。評価期間のアユの飼育には、

樺野川漁協の平川養殖場の160t（200m²×0.8m）養殖池2面と60t（75m²×0.8m）7面を用いた。海産系アユは160t池1面と60t池4面で計約163,600尾を飼育した。また、湖産系アユは160t池1面と60t池3面で計約97,800尾を飼育した。評価開始時における海産系アユの160tの池には約70,000尾（438尾/t）、60t池には約8,300~50,000尾（138~833尾/t）が飼育されていた。一方、湖産系アユは160t池で約50,800尾（318尾/t）、60t池で約12,000~18,000尾（200~300尾/t）が飼育されていた。飼料は5月31日までEP-2（林兼産業）を用い、6月1日から7月22日まではEP-3（林兼産業）を用いた。なお、冷水病の症状が確認されたアユの養殖池には、海産系と湖産系ともにスルfoisゾールナトリウム（セラケム）200mg/kg（魚体重）/日を1週間投与した。

2.2 耐病性評価法

著者らは実験に用いた樺野川漁協の養殖池に関して、同年、冷水病の原因菌である冷水病菌（*Flavobacterium psychrophilum*）が樺野川河川（平川）の伏流水を通して、1年間を通して侵入していることを報告している³⁾。そのことから、本研究では供試魚を同池に入れて冷水病の自然感染実験を行い、同疾病に対する耐病性を評価した。2004年4月1日から同年7月22日まで、各池において、冷水病症状を呈する魚の死亡尾数を毎日調べ、アユの搬出・放流等による母集団の変動を考慮して毎日の死亡率を求めた。試験期間中に死亡した魚の一部をPCR法（2.3）とトブラマイシン（和光純薬工業）添加（5μg/ml）の改変サイトファーガ平板培地³⁾を用いて細菌検査を行い、*F. psychrophilum*を検出した。海産系アユと湖産系アユの累積死亡率を χ^2 法による統計学的検定を行い、系統の異なるアユの耐病性について評価した。

2.3 冷水病診断

冷水病に特有の症状である体表の潰瘍、下顎の発赤を有するアユを樺野川漁協の養殖池から採取した。採取したアユの鰓から改変サイトファーガ平板培地（トブラマイシン添加）を用いて菌分離し、冷水病菌特有の黄色コロニーを確認すると共に、本コロニーが冷水病菌であることをPCRにより確認した。また、鰓の一部からDNAzol（Invitrogen）を用いてDNAを抽出し、nested PCRにより冷水病菌の有無を調べた。なお、これらのPCRは前報³⁾と同様に行なった。

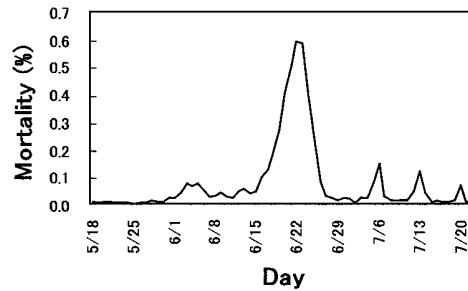
3 結果および考察

2004年の5月30日、6月14日そして6月29日において、養殖池で冷水病症状である体表の潰瘍、下顎の発赤を有する死亡アユが前報で報告したように確認された³⁾。これらについて2.3に従い、冷水病の診断を行なった。その結果、症状のある死亡個体13尾中全てが、症状の無い死亡個体23尾中8尾が陽性反応を示したことは前報告³⁾で確認した。このことから、樺野川漁協の養殖池において、アユが冷水病に自然感染していることが示された。

海産系および湖産系アユの冷水病による日間死亡率は2004年5月30日から7月22日の間で共に上昇したが、湖産系アユの死亡率は6月22日に最大となり、0.6%であった。一方、海産系アユの死亡率は6月26日に最大となったが、0.06%であった (Fig. 1)。

次に海産系・湖産系アユの累積死亡率の推移をFig. 2に示した。湖産系アユの累積死亡率は最終測定日に5.3%に達したが、海産系アユの累積死亡率は1.1%であり、統計学的に有意な差がみられた ($P < 0.0001$; χ^2 検定)。また、各池における累積死亡率を調べたところ、全ての池において冷水病が発生したが、湖産系アユでは海産系アユに比べて、高い死亡率を示す池が存在した (Table 1)。5月18日以降、各池で放流および搬出のために魚の取り上げがあったが、各池における飼育密度、取り上げによる飼育尾数の変化等に死亡への関連性は見出せなかった。また、評価期間中、養殖場においてアユに冷水病症状が見られた時点で、その池では投薬が行われた。海産系アユの各池への投薬は6月15日から6月21日に実施し、すべての(5つの)池で約1週間の投薬を行った。一方、湖産系アユの池では

A) Landlocked stock



B) Amphidromous stock

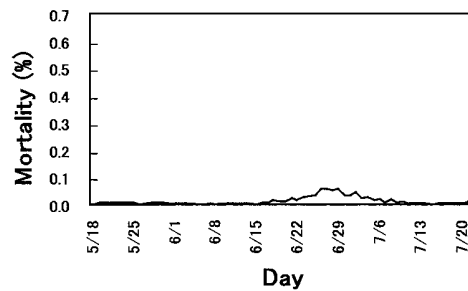


Fig. 1. Mortality of ayu by BCWD in Hirakawa Fish Farm in 2004.

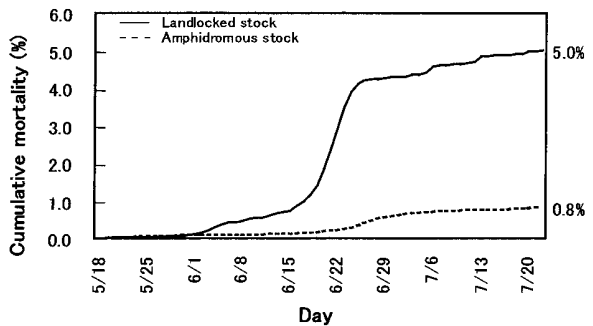


Fig. 2. Cumulative mortality of ayu by BCWD in Hirakawa Fish Farm in 2004.

Table 1. Cumulative mortality of ayu by BCDW in each pond of Hirakawa Fish Farm. The numbers of cultured ayu varied in each pond. The cumulative mortality was calculated in the period of May 18~July 22.

	Pond No. (Scale)	Cumulative mortality (%)
Amphidromou stock	1 (160t)	0.2
	2 (60t)	3.7
	3 (60t)	6.6
	4 (60t)	0.4
	5 (60t)	1.4
Landlocked stock	6 (160t)	0.9
	7 (60t)	13.5
	8 (60t)	22.4
	9 (60t)	0.2

4面中3面において5月30日から6月12日に実施し、こちらも約1週間の投薬を行った。投薬後の病勢は、海産系アユの死亡が投薬後に治まったのに対し、湖産系アユでは冷水病の再発が見られた。これらのことから、海産系アユが耐病性と共に、薬の治療効果の感受性が高いという可能性が考えられた。

Nagai et al.³⁾は1群95～160尾の野外感染実験において、海産系アユは冷水病に対する耐病性が湖産系アユに比べて高いことを報告している。一方、本研究では約97,800～163,600尾のアユを用いた養殖場での評価において、海産系アユは同様の耐病性を示すことを明らかにした。しかしながら、本結果は一養殖場における結果であり、確実な評価を得るためには、さらに多くの施設での比較研究を用いた横断的研究が望まれる。

謝 辞

本研究を遂行するあたり、種々のご助言を賜った広島県立水産海洋技術センター栽培養殖部長米司隆氏、研究員永井崇祐氏に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) H. Wakabayashi, T. Toyama and T. Iida : Fish Pathol., **29**, 101-104 (1994).
- 2) Y. Iida and A. Mizokami : Fish Pathol., **31**, 157-164 (1996).
- 3) T. Nagai, T. Tamura, Y. Iida and T. Yoneji : Fish Pathol., **39**, 159-164 (2004).
- 4) 野村 稔・隆島史夫・尾城 隆・平野礼次郎・片田 実・渡辺 武・佐野徳夫・木島利通：水産増養殖,「改訂版 新水産ハンドブック, 川島利兵衛・田中昌一・塚原 博・野村 稔・隆島史夫・富水正道・浅田陽治編」, 講談社, 東京, 387-388 (2000).
- 5) 原田英明・永江 彬・田中 実・太田政孝・近藤昌和・高橋幸則・稲川裕之：水産大学校研究報告, **55**, 13-17 (2006).
- 6) A. Kumagai, C. Nakayasu and N. Oseko : Fish Pathol., **39**, 75-78 (2004).
- 7) S. Izumi and H. Wakabayashi : Fish Pathol., **32**, 169-173 (1997).