

平成27年度

# 事業報告書

第26巻

平成29年3月

高知県内水面漁業センター

# 目 次

1. 内水面漁業センターの概要	1
2. 活動実績	3
3. 事業報告	
(1) 養殖衛生管理体制整備事業	5
(2) 土佐湾産天然アユ回復のための新たな保護増殖手法の開発	9
(3) 人工種苗「土佐のあゆ」による資源添加技術の確立	13
(4) ウナギ養殖における生産効率向上化試験	16
(5) ウナギ生息状況等緊急調査事業	21
(6) 河川利用中山間地域活性化事業	24
4. 参考資料	
(1) 高知県河川漁業生産量の推移	25
(2) 天然アユの市場別取扱量の推移	26

# 1. 内水面漁業センターの概要

## (1) 所在地

住 所：〒782-0016 高知県香美市土佐山田町高川原 687-4

T E L：0887-52-4231 F A X：0887-52-4224

ホームページ：<http://www.pref.kochi.lg.jp/soshiki/040408/>

## (2) 沿革

昭和 19 年 高知県山田養鯉場を設置（土佐山田町八王子）

昭和 42 年 高知県内水面漁業指導所を設置（土佐山田町八王子）  
（高知県山田養鯉場を廃止）

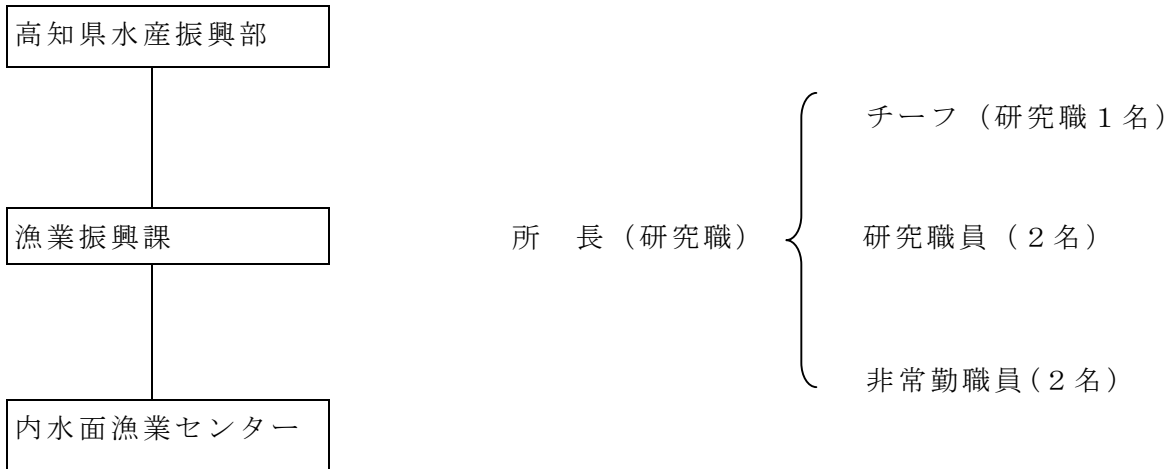
昭和 55 年 高知県内水面漁業センターに改組、移転（現所在地）  
（高知県内水面魚病指導総合センターを併設）

平成 10 年 商工労働部産業技術委員会事務局へ移管

平成 19 年 機構改革により、産業技術部へ移管

平成 21 年 機構改革により、水産振興部へ移管

## (3) 機構組織



## (4) 職員名簿

職 名	氏 名	担 当 業 務
所 長	溝 渕 勝 宣	統 括
チーフ	岡 部 正 也	研究業務総括、育種・増殖技術研究
主任研究員	長 岩 理 央	魚類資源管理、環境調査等全般
研究員	占 部 敦 史	魚病診断、魚病発生動向調査等
非常勤職員	田 中 ひ と み	試験研究補助
非常勤職員	隅 川 和	試験研究補助

(5) 予算(当初)

(単位:千円)

事業費名	予算額	財源内訳			
内水面漁業センター管理運営費	7,525	県費	7,525		
内水面漁業試験研究費	10,964	県費	9,423	諸収入	1,541
内水面漁業振興費	752	県費	752		
養殖振興対策事業費	2,986	県費	1,536	国費	1,450
合計	22,227	県費	19,236	国費	1,450 諸収入 1,541

(6) 施設の概要

- 1) 敷地面積 9,343 m<sup>2</sup>
- 2) 建物
  - ①本館(事務室、問診室、微生物・環境・組織検査室、研修会議室等) 365 m<sup>2</sup>
  - ②隔離実験棟・作業棟(0.9 t × 5面、調餌室、工作室他) 220 m<sup>2</sup>
  - ③恒温水槽棟(10 t × 5面、1 t × 5面) 256 m<sup>2</sup>
  - ④恒温水槽棟(F R P 2 t × 10面) 101 m<sup>2</sup>
  - ⑤野外試験池(50 t × 5面) 362 m<sup>2</sup>
  - ⑥屋内試験池(30 t × 2面) 184 m<sup>2</sup>
  - ⑦管理棟 40 m<sup>2</sup>
  - ⑧その他(ボイラー室、機械室、高架タンク、排水消毒槽等) 147 m<sup>2</sup>

## 2. 活動実績

### (1) 会議への出席 (養殖衛生管理体制整備事業関連については本文中に記載)

開催日	会議名	開催場所	出席者
平成27年	5月20日 平成27年度全国湖沼河川養殖研究会第1回理事会・運営委員会	東京都	溝淵・岡部
	5月26日 中央東福祉保健所管内水質汚濁事故対策連絡会議	中央東福祉保健所	占部
	9月3-4日 全国湖沼河川養殖研究会大会 第88回大会	石川県	溝淵・岡部
	9月14-15日 平成27年度近畿中国四国ブロック内水面魚類防疫検討会	徳島県	長岩・占部
	10月21日 平成27年度水産用医薬品薬事講習会	東京都	占部
	11月11-12日 平成27年度全国湖沼河川養殖研究会西日本ブロック研究会	高知市	溝淵・岡部・長岩
	11月16-18日 平成27年度鰻来遊・生息状況調査事業 中間検討会	高知市	岡部
	11月26日 平成27年度内水面関係研究開発推進会議・生態系保全部会ならびに内水面増殖部会	東京都	岡部
	12月2-3日 平成27年度魚病症例研究会	伊勢市	占部
	平成28年	2月1日 平成27年度全国湖沼河川養殖研究会第3回理事会・運営委員会	東京都
2月22-24日 平成27年度鰻来遊・生息状況調査事業 年度末報告会		東京都	岡部・長岩
3月11日 第30回魚類防疫士連絡協議会通常総会		東京都	占部
3月11日 平成27年度全国養殖衛生管理推進会議		東京都	占部
3月12-13日 平成28年度日本魚病学会春季大会		日本獣医生命科学大学	占部
3月22日 平成27年度高知県内水面魚類防疫推進会議		高知市	岡部・占部

### (2) 講師派遣

内容	講演者	名称	開催場所	対象者
平成27年橋原川・四万川の Ayu 種苗放流後の追跡調査結果について	岡部正也	橋原町魚族保護会総会	橋原町役場	橋原町魚族保護会役員
高知の Ayu を増やす取組み	長岩理央	仁淀川の森と水を考えるシンポジウム	土佐市「グランディール」	内水面漁業関係者
新荘川における Ayu の産卵期の変化について	長岩理央	新荘川漁業協同組合理事会	須崎市役所	漁協関係者
高知の Ayu を増やす取り組み～人工種苗「土佐のあゆ」による資源添加技術の開発	長岩理央	平成27年度全国湖沼河川研究会西日本ブロック研究会	内水面漁業センター	全国湖沼河川研究会西日本ブロック研究会
平成27年橋原川・四万川の Ayu 種苗放流後の追跡調査結果について	岡部正也	橋原・津野町合同魚族保護会	橋原町役場	保護会役員
高知県におけるニホンウナギ資源保護の取り組みについて	岡部正也	高知県内水面漁業に関する研修会	高知会館	内水面漁業関係者
高知県産 Ayu 種苗「土佐のあゆ」の取り組みについて	長岩理央			
河川・用水路で見られたへい死魚の死因について	占部敦史	平成27年度安芸福祉保健所管内水質汚濁事故対策会議	安芸福祉保健所	県市長村担当者
高知の Ayu を増やすために～鏡川での取組事例～	長岩理央	鏡川漁業協同組合総代会	高知市中山間地域構造改善センター	漁協関係者
高知県産 Ayu 種苗「土佐のあゆ」の取り組みについて	長岩理央	嶺北漁業協同組合総代会	嶺北漁業協同組合本所	漁協関係者
平成27年度魚病発生状況	占部敦史	平成27年度高知県内水面魚類防疫推進会議	高知市	高知県魚類防疫推進委員

### (3) 口頭発表

年	月	日	内容	講演者	名称	開催場所
平成27年	9月14-15日		高知県内の養殖ウナギに発生したシュードダクテロギルス症について	占部敦史	平成27年度近畿中国四国ブロック内水面魚類防疫検討会	徳島県
	11月16-18日		高知県におけるシラスウナギの来遊状況とニホンウナギの移動状況等の把握	岡部正也	平成27年度鰻来遊・生息状況調査事業中間検討会	高知市
平成28年	2月2-3日		高知県における遡上 Ayu 初期成長の年変動および河川間での違いについて	長岩理央	平成27年度全国湖沼河川養殖研究会 Ayu 資源部会総会および報告会	東京都
	2月22-24日		高知県におけるシラスウナギの来遊状況とニホンウナギの移動状況等の把握	岡部正也	平成27年度鰻来遊・生息状況調査事業年度末報告会	東京都

学会・研究会等での発表

#### (4) 研修受け入れ

開催日	内容	講師	対象者
平成27年 6月4日	県内放流用種苗「土佐のあゆ」の取組みについて	長岩理央	津野山魚族保護会役員
11月16-18日	鰻来遊・生息状況調査事業 鰻の個体識別実習	岡部正也	事業関係者

#### (5) 論文等

題目	著者名	所属	学会誌名
加熱調理されたアユの耳石 Sr/Ca 比 (英文, 短報)	占部敦史 海野徹也	高知県内水面漁業センター 広島大学生物圏科学研究科	水産増殖. 63, P447-449, (2015)

### 3. 事業報告

## 養殖衛生管理体制整備事業

占部 敦史・長岩理央

近年、食の安全性について消費者の関心が高まり、水産物の安全性が重要視されている。内水面養殖業においても、生産物の安全性を確保するため、魚病被害の軽減を図り、水産用医薬品の適正使用を推進することが重要となっている。また、特定疾病であるコイヘルペスウイルス病（KHVD）のまん延防止や県内河川におけるアユ冷水病の発生動向把握、新たな魚病の発生などに対応するため、より迅速な魚病診断体制の確立が必要となっている。このため、当事業では、効率的な魚病診断体制の整備、医薬品適正使用の指導、養殖場の巡回調査、医薬品残留検査等を行う。

### 総合推進対策

以下の会議に出席し、情報収集及び関係者への情報提供に努めた。

- ・ 平成27年水産防疫の枠組みの見直しに関する説明会 平成27年8月 東京都
- ・ 平成27年度水産用医薬品薬事監視講習会 平成27年10月 東京都
- ・ 平成27年度全国養殖衛生管理推進会議 平成27年3月 東京都
- ・ 平成27年度高知県内水面魚類防疫推進会議 平成27年3月 高知市

### 養殖衛生管理指導

#### 1. 医薬品の適正使用指導

養殖場の巡回時に、医薬品の適正使用について指導するとともに、魚病診断において投

薬治療が必要と判断された場合は、分離細菌に対する薬剤感受性試験を行った。平成27年4月から平成28年3月に5養鰻業者15飼育池のウナギから分離されたパラコロ病原菌（*Edwardsiella tarda*）25株について薬剤感受性試験を行った結果、薬剤耐性菌が14株確認された。薬剤耐性菌については、SOおよびOAの1剤耐性がそれぞれ6株および1株確認された。また、OTC-SOの2剤耐性が2株、OTC-SO-FFの3剤耐性が5株、OTC-SO-FF-OAの4剤耐性が1株確認された（表1）。薬剤の略称について、SOはスルファモノメトキシシリンおよびオルメトプリム配合剤、OAはオキソリン酸、OTCは塩酸オキシテトラサイクリン、FFはフロルフェニコールを示す。

#### 2. 養殖衛生管理技術の普及・啓発

##### (1) 養殖衛生管理技術対策

以下の会議に出席し、知見の収集、関係者への情報提供などに努めた。

- ・ 中央東福祉保健所管内水質汚濁事故対策連絡会議 平成27年5月 香美市
- ・ 第29回近畿中国四国ブロック内水面魚類防疫検討会 平成27年9月 徳島県
- ・ 平成27年度魚病症例研究会 平成27年12月 三重県
- ・ 平成27年度安芸福祉保健所管内水質汚濁事故対策連絡会議 平成28年2月 安芸市



- ・平成 28 年度日本魚病学会春季大会  
平成 28 年 3 月 東京都

## (2) 養殖技術指導

### 1) アユ

放流用種苗の保菌検査，養殖アユの細菌性鰓病及び異型細胞性鰓病の混合感染対策（塩水浴）指導

### 2) ウナギ

各種疾病に対する対策（餌止め，換水，投薬，飼育水の昇温）指導

### 3) コイ，キンギョ等の観賞魚

各種疾病の対策（塩水浴）指導

## 3. 養殖場の調査・監視

### (1) 魚病被害・水産用医薬品使用状況調査

県内のアユ・ウナギ・アマゴ養殖業者を対象に，平成 26 年度の魚病被害・水産用医薬品の使用状況について，調査票に基づく調査を行った。

### (2) 医薬品残留検査

養殖ウナギ 2 検体について，トリクロロホン，オキシリン酸，フロルフェニコールおよびスルファモノメトキシンの 4 種類の医薬品を対象に残留検査を実施した。検査は一般財団法人日本冷凍食品検査協会に依頼し，公定法で実施したところ，検体から対象医薬品は検出されなかった。

## 4. 疾病の発生予防・まん延防止

### (1) 魚病診断

#### 1) 天然水域等での診断件数

平成 27 年度の天然水域等（個人池・ため池を含む）における魚病診断件数は 19 件で，魚種別ではアユ 6 件，コイ 6 件，キンギョ 5

件，フナ 1 件，カワムツ 1 件であった（表 2）。アユでは冷水病が 3 件発生した。コイでは，コイヘルペスウイルス病（KHVD）の発生はなかったが，個人池において，カラムナリス病およびエロモナスサルモニシダによる新穴あき病が発生した。キンギョでは，キンギョヘルペスウイルス性造血器壊死症が 3 件発生した。

#### 2) 養殖場での診断件数

平成 27 年度における養殖場での診断件数は 47 件で，魚種別では，アユ 7 件，ウナギ 40 件であった（表 3）。

アユでは，チョウチン病及び細菌性鰓病と異型細胞性鰓病との混合感染が発生した。チョウチン病については，前年度にも同養殖業者で発生し死亡率が 30%であったが，本年度は死亡がほとんどみられなかった。しかし，背部の潰瘍により商品価値が低下するという問題が生じた。細菌性鰓病と異型細胞性鰓病との混合感染については，死亡率は 25%で，1%塩水浴を 1 日おきに 3 回実施したところへい死がとまった。

ウナギでは，パラコロ病が 23 件，シュードダクチロギルス症が 22 件，カラムナリス病が 13 件発生した。一方，例年発生がみられるウイルス性血管内皮壊死症は発生しなかった。件数については，他疾病との混合感染を含んでいる。平成 23 年から平成 27 年度の主要 4 疾病（パラコロ病，シュードダクチロギルス症，カラムナリス病およびウイルス性血管内皮壊死症）の発生状況については，パラコロ病は減少傾向にあったが，平成 27 年度は増加し，薬剤耐性菌も多く出現した。シュードダクチロギルス症は増加傾向にあり，カラムナ

リス病及びウイルス性血管内皮壊死症は減少した（表4）。また、近年、パラコロ病とシェードダクチロギルス症の合併症が多く発生し（H27: 15件）、重篤化した養殖池では摂餌の低下によりパラコロ病の治療を目的とした薬剤の経口投与で効果がみられないことが多かった。そのため、継続したへい死が発生し、問題となっている。

表 1. 耐性薬剤数およびパターンごとの株数

耐性薬剤数	株数	耐性薬剤パターン	株数
1剤	7	SO	6
		OA	1
2剤	2	OTC, SO	2
3剤	5	OTC, SO, FF	5
4剤	1	OTC, SO, FF, OA	1

表 2. 天然水域等での魚病診断件数

魚種	病名	月												小計		
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
アユ	冷水病			1	2											3
	不明				2			1								3
	小計	0	0	1	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6
コイ	カラムナリス病	1						1								2
	エロモナスサルモニダによる新穴あき病	2														2
	不明								1	1						2
小計	3	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	6	
キンギョ	キンギョヘルペスウイルス性造血器壊死症	1			1											2
	キンギョヘルペスウイルス性造血器壊死症+カラムナリス病							1								1
	不明				2											2
小計	1	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	
フナ	不明													1		1
	小計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
カワムツ	不明												1			1
	小計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
合計		4	0	1	5	2	0	3	1	1	1	1	1	0		19

表 3. 養殖場での魚病診断件数

魚種	病名	月												小計	
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
アユ	異型細胞性鰓病+細菌性鰓病				1										1
	チヨウチン病		1	1		1	1	1							5
	その他(健康診断等)	1													1
	小計	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	7
ウナギ	パラコロ病		1							1			3	5	
	パラコロ病+シュードダクチロギルス症					3	1			1	2	2	2	11	
	パラコロ病+カラムナリス病									1			1	2	
	パラコロ病+シュードダクチロギルス症+カラムナリス病						1		1		1			3	
	パラコロ病+ヘルペスウイルス性鰓弁壊死症+カラムナリス病							1						1	
	パラコロ病+ヘルペスウイルス性鰓弁壊死症+シュードダクチロギルス症								1					1	
	カラムナリス病							1	2					3	
	カラムナリス病+シュードダクチロギルス症	2						1						3	
	シュードダクチロギルス症				3	1								4	
	連鎖球菌症(L. garviae)+カラムナリス病	1												1	
	スレ					1								1	
	不明								1				2	3	
	その他(水質等、健康診断等)			2										2	
	小計	3	1	2	0	6	4	3	5	3	3	4	6	40	
合計	3	2	2	0	6	4	4	5	4	3	4	9	47		

表 4. 養鰻場での主要 4 疾病の魚病診断件数

	H23	H24	H25	H26	H27
パラコロ病	10	34	22	8	23
シュードダクチロギルス症	0	0	7	19	22
カラムナリス病	15	18	32	33	13
ウイルス性血管内皮壊死症	0	9	7	2	0

# 土佐湾産天然アユ回復のための新たな保護増殖手法の開発

長岩理央・占部敦史・隅川 和・岡部正也

高知県のアユ資源は、河川環境の悪化などによって低い水準にあり、回復のための対策が強く求められている。アユ資源を回復させるためには、産卵親魚を保護し、産卵量を確保することが必要である。そこで本課題では、各漁協が取り組む親魚保護事業（産卵場の造成、親魚保護期間・区域の設定など）をより効果的なものにするため、産卵に関するデータ（産卵場所・期間・量）および遡上に関するデータ（遡上時期・量や遡上魚の孵化日組成）を収集し、それらを整理・分析した資料を各内水面漁協に提供することを目的とする。

## 材料と方法

表1. 遡上状況調査の調査地点および調査日

調査河川	調査地点	調査日
野根川	鴨田堰	3/5,25,4/8,22,5/11,27
奈半利川	田野井堰	3/5,20,25,4/8,22,5/11,27
安田川	焼山堰	3/5,25,4/8,27,5/11,27
伊尾木川	有井堰	3/5,25,4/8,27,5/11,27
安芸川	中之橋	3/5,25,4/8,27,5/11,27
物部川	物部川橋	3/6,25,4/27,5/11,27
鏡川	トリム堰	3/6,17,4/10,24,5/22
仁淀川	八田堰	3/7,26,4/9,23,5/22
新荘川	高保木堰	2/13,3/27,4/10,23,5/22
四万十川	赤鉄橋	3/26,4/9,24,5/21
松田川	河戸堰	3/8,26,4/9,24,5/21

**遡上量の評価** 2015年3～5月に、県内11河川の定点（表1）において、箱メガネまたは潜水目視によって、表2の遡上スコアに基づいて遡上量を評価した。

表2. 遡上評価に用いるスコアとその基準

スコア	基準
0	魚影なし、食み跡なし
1	魚影なし、食み跡あり
2	観察される一群の大きさが100尾未満
3	観察される一群の大きさが100尾以上1,000尾未満
4	観察される一群の大きさが1,000尾以上

**遡上魚の孵化日の推定** 新荘川では2月13日、3月27日および4月10日、仁淀川では3月7日と4月9日、物部川では3月6日と4月28日に、遡上スコアを観察した定点（表1）において、投網で遡上魚を採捕した。採捕した遡上魚から耳石扁平石を摘出した後、光学顕微鏡下で日周輪を計数し、採捕日から日輪数を差し引いたものを孵化日とした。

**流下ピークおよび流下量の評価** 新荘川、仁淀川、鏡川において、表3に示す定点、期間、時刻に、網口に濾水計を取り付けた仔魚ネット（口径50cm、側長150cm、目合い335 $\mu$ m）を流心近くに3分間設置して流下仔魚を採集し、実験室で計数した。得られた流下仔魚数を、濾水計の値をもとに流下仔魚量（尾/m<sup>3</sup>）に換算し、その経月変化を見ることで流下ピークを推定した。さらに、X軸に月日、Y軸に流下仔魚量をとった折れ線グラフ（10月30日と1月20日を0と仮定して作成）とX軸で囲まれる部分を積分し、その値をLOG<sub>2</sub>変換した値を流下仔魚指標値として、その年、その河川の流下量を評価した。また、四万十川、物部川、

表3. 流下仔魚調査を行った河川

調査河川	調査定点	調査日	調査時刻
新莊川	長竹橋下	10/29,11/6,24,12/7,15,23,1/6,20	19:00
仁淀川	行当、中島	10/7,21,28,11/4,11,18,25,12/2,12/9,16,23,1/6,20	20:00
鏡川	トリム堰下	12/1,7,15,22,1/5,20	20:00
四万十川 ※	平元、小畑	10/26,11/2,9,16,23,30,12/7,14,21,28,1/4,11,18,25	19:00
物部川 ※	横瀬	11/17,24,12/1,8,22,29,1/5,12,19	18:00,19:00, 20:00
伊尾木川 ※	鉄道橋下	11/5,12,19,26,12/3,10,17,24,1/7,14,21,28	19:00
安芸川 ※	国道橋下	11/5,12,19,26,12/3,10,17,24,1/7,14,21,28	19:30

※、各漁協からデータ提供を受けた河川

伊尾木川および安芸川については、四万十中央、物部川、芸陽の各漁協が調査した結果を提供してもらい、データの解析に供した。

## 結果と考察

**遡上スコア** 平成27年度の各河川の遡上スコアを表4に示した。その年の最大スコアを一番初めに示した月・旬を遡上ピークとすると、各河川の遡上ピークは、安田川、物部川、松田川は3月上旬、奈半利川は3月中旬、仁淀川は3月下旬、野根川と鏡川は4月上旬であった。伊尾木川、安芸川、新莊川、四万十川は、遡

上観察期間を通してスコアが変わらず、明瞭なピークが認められなかった。各河川の年平均スコア（調査期間中の全スコアを平均したもの）の経年推移を見ると、四万十川では平年より低め、松田川では平年より高め、その他の河川においては、ほぼ平年並みであった（表5）。

**遡上魚の孵化日組成** 遡上魚の孵化日組成をみると（図1）、新莊川の2月および3月遡上群（2月13日および3月27日採捕群）は11月中旬生まれ、4月遡上群（4月10日採捕群）は11月下旬から12月上旬生まれが主体であった。仁淀川と物部川では、3月遡上群は11月中～下

表4. 平成27年度の遡上状況調査の結果

	野根川	奈半利川	安田川	伊尾木川	安芸川	物部川	鏡川	仁淀川	新莊川	四万十川	松田川
	鴨田堰	田野井堰	焼山堰	有井堰	中之橋	物部川橋	トリム堰	八田堰	高保木堰	赤鉄橋	河戸堰
3月	上旬	0	3	3	2	2	3	2	1		3
	中旬		4				2				
	下旬	2	3	3	2	2	3	4	3	2	3
4月	上旬	3	3	3	2	2	4	4	3	2	3
	中旬										
	下旬	3	3	3	2	2	2	3	4	3	2
5月	上旬										
	中旬	2	2	2	2	2	2				
	下旬	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2
平均	2.0	2.9	2.7	2.2	2.0	2.4	2.6	3.0	3.0	2.0	2.8

旬生まれ、4月遡上群は12月中～下旬生まれが主体となっていた。

仁淀川では3月に比べて4月、物部川では4月に比べて3月のほうが遡上スコアが良かったことから、平成27年度の両河川のアユ資源は、仁淀川では12月生まれ、物部川では11月生まれが主体となっていたと推察される。新荘川においては、遡上スコアが一定であったため、その年の資源の主体となる孵化群を推定できなかった。

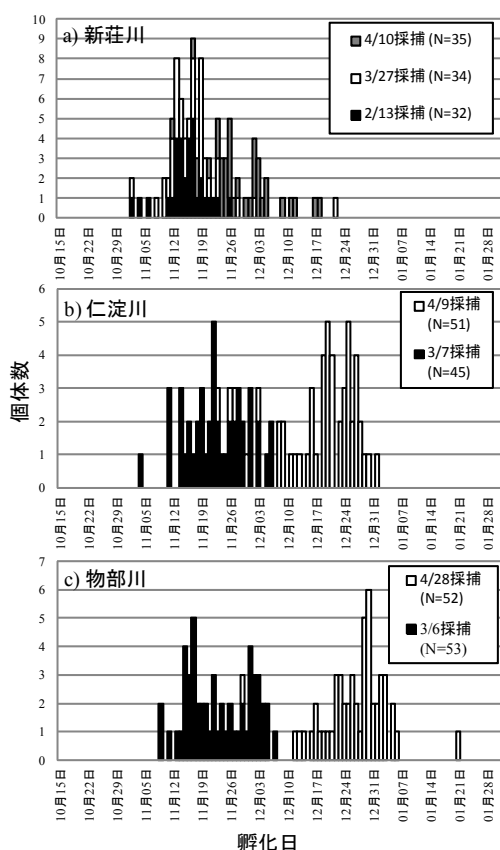


図1. 新荘川、仁淀川、物部川のアユ遡上魚のH27遡上魚の孵化日組成

**流下ピークおよび流下量の評価** 各河川における流下仔魚量の推移を図2に示す。四万十川、仁淀川、鏡川および伊尾木川では12月上旬、新荘川では11月上旬と12月上旬、物部川と安芸川では12月上旬と1月上旬に流下のピークが認め

られた。平成27年の流下仔魚指標値と平年値を比べると、仁淀川、物部川、伊尾木川は平年並み、四万十川は平年より高め、新荘川は低めであった(表6)。上記河川のうち、鏡川と安芸川を除く5河川の平成21年から26年までの流下仔魚指

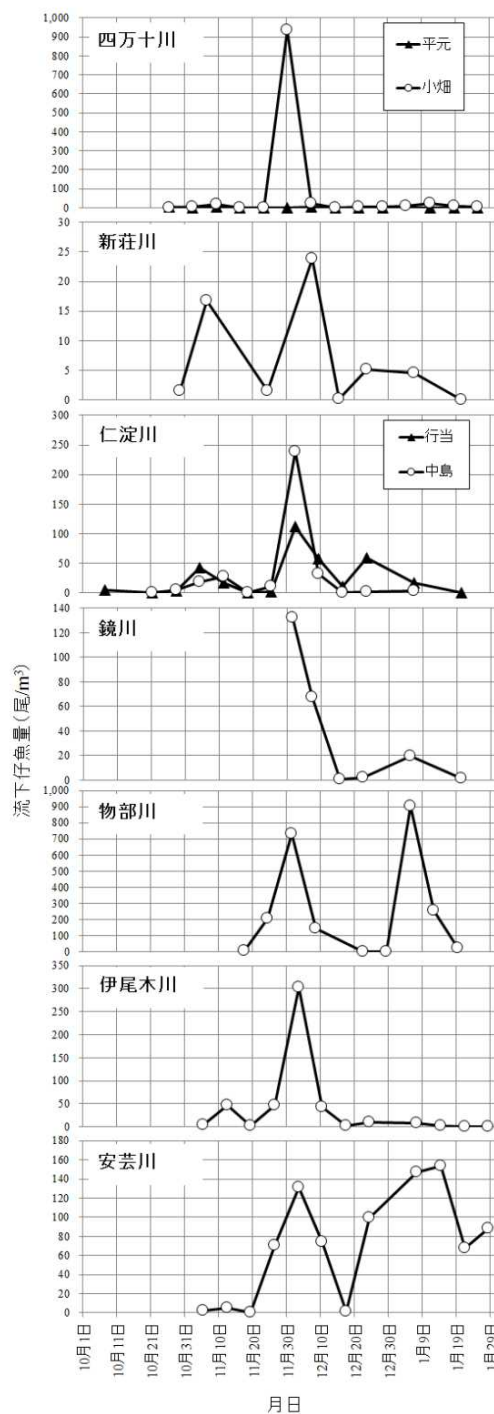


図2. 県内7河川におけるH27流下仔魚量の推移

標値と、その流下に対応する遡上スコアの年平均をプロットしたところ（図3）、有意な正の相関（ $r = 0.38$ ,  $p = 0.048$ ）が認められ、親魚保護の結果として表れる流下仔魚量と翌年の資源量に関連があることが示唆された。

これらの結果は、報告書として各漁協に提供するとともに、いくつかの漁協については、理事会、シンポジウム、広報誌などで結果を紹介し、親魚保護の重要性の普及に努めた。

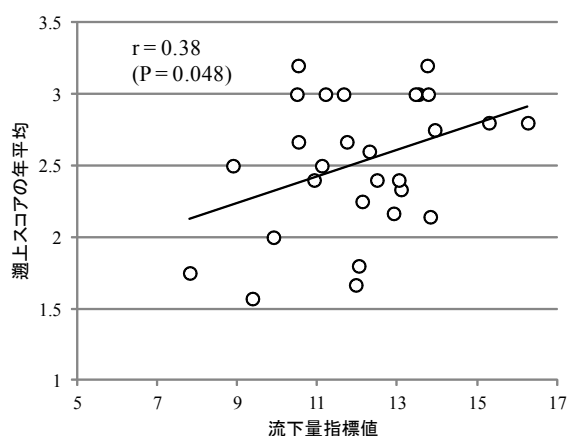


図3. 流下仔魚指標値と遡上スコアの年平均の散布図

表5. 平成22年～27年における各河川の遡上スコアの平均

年	H22	H23	H24	H25	H26	H27	平年値 (H22-26平均)
野根川	1.7	-	-	2.8	2.8	2.0	2.4
奈半利川	2.8	2.8	1.5	3.4	2.6	2.9	2.6
安田川	3.0	2.8	1.6	3.4	3.0	2.7	2.8
伊尾木川	2.0	2.5	1.8	2.4	2.8	2.2	2.3
安芸川	2.3	2.0	1.8	2.5	1.8	2.0	2.1
物部川	2.8	3.2	3.0	1.8	2.3	2.4	2.6
鏡川	-	-	-	-	2.7	2.6	2.7
仁淀川	2.8	3.2	2.7	2.4	2.3	3.0	2.7
新荘川	2.7	3.0	2.5	2.8	3.0	3.0	2.8
四万十川	1.8	4.0	1.7	2.7	3.0	2.0	2.6
松田川	1.6	2.7	2.3	3.0	2.2	2.8	2.3

表6. 各河川におけるH27流下仔魚指標値

	流下仔魚指標値	
	H27	平年値 (H21-26平均)
四万十川	12.8	10.7
新荘川	9.2	13.2
仁淀川	11.3	11.6
物部川	14.0	13.5
伊尾木川	11.7	11.4

# 人工種苗「土佐のあゆ」による資源添加技術の確立

長岩理央・占部敦史・岡部正也

近年、県内のアユ漁獲量は、河川環境の悪化などによって減少している。そのため、各河川では、内水面漁業協同組合を中心として、アユ資源の保全・回復を目的とした種苗放流を行っているが、放流種苗には、天然アユ資源に大きなダメージを与える冷水病やエドワジエラ イクタルリ感染症の原因菌を持たないこと、天然アユの遺伝的多様性を攪乱しないよう天然魚と同等の遺伝的多様性を持つことが求められている。そこで本県では、高知県内水面漁業協同組合連合会（以下、内漁連）と連携し、県内河川に遡上した天然魚を親魚とする、高い遺伝的多様性と安全性（病原菌を持たない）を持つ県産人工種苗「土佐のあゆ」の生産・放流に取り組んでいる。本課題では、安定的な生産・放流体制を確立することを目的として、天然親魚の採捕と養成、人工種苗の疾病に対する安全性検査、人工種苗の遺伝的多様性評価を行っているため、その結果を報告する。

## 材料と方法

**天然親魚の採捕と養成** 親魚候補となる天然遡上魚は、松田川河戸堰および奈半利川田野井堰において、松田川では平成 27 年 3 月 8 日、奈半利川では 3 月 20 日に、それぞれ、のぼりうえ、すくい網で採捕した。採捕したアユは、内漁連所有の活魚車で当センターまで輸送し、すぐさま屋外の 50 トン水槽に収容し、養成を開始した。

**人工種苗の疾病に対する安全性検査** 平成 27 年度に生産した人工種苗については放流前、平成 28 年度放流用の人工種苗生産に供した親魚（本課題で養成した親魚および平成 27 年度に

生産した F1 種苗を親魚として養成したもの）については採卵後（人工授精した卵から仔魚が孵化する前まで）に、冷水病およびエドワジエラ イクタルリ感染症の保菌検査を実施した。放流前種苗は全ての生産池（16 池）からそれぞれ無作為抽出した 60 尾（10 尾ずつプールしたものを 1 サンプルとして 96 サンプル）、親魚は全数（1 回の人工授精に供した雌雄数十尾をプールしたものを 1 サンプルとして 66 サンプル）を検査に供した。これらの検査は、アユ疾病に関する防疫指針（アユ疾病対策協議会、平成 23 年 12 月）に従った。

**人工種苗の遺伝的多様性評価** 平成 27 年度に生産・放流を行った F1 種苗（平成 26 年度に養成した親魚から生産した種苗。以下、H27F1）と F2 種苗（平成 26 年度に生産した F1 種苗から生産した種苗。以下、H27F2）の 2 集団 96 個体（各 48 個体）を用いて、Takagi *et al.*(1999) の 7 遺伝子座（Pal 1~7）について、マイクロサテライト DNA 多型解析を行った。また、対照群として、平成 25 年に新莊川（N=69）、仁淀川（N=96）、松田川（N=96）、奈半利川（N=96）、物部川（N=83）で採捕した天然遡上魚 5 集団および平成 18 年度に生産した 4 代継代種苗（N=48）（以下、H18F5）についても同様の解析を行った。

得られたデータをもとに、各集団の各座におけるアリルリッチネス (Arich)、固定指数 (Fis)、ヘテロ接合体率の観察値 ( $H_O$ ) と期待値 ( $H_E$ ) ならびに Hardy-Weinberg 平衡逸脱の確率を FSTAT (Goudet 2001) および ARLEQUIN (Excoffier *et al.* 2007) を使用して求めた。



## 結果と考察

**天然親魚の採捕と養成** 採捕尾数は、松田川で 5,449 尾、奈半利川で 1,536 尾であった。それぞれ 50 トン水槽に収容したが、松田川は飼育密度が高かったため、5 月 8 日に 2 池に分けた（以下、501 松田川、502 松田川とする）。成熟を調整するため、501 松田川は 5 月 15 日から 7 月 20 日、502 松田川と奈半利川は 5 月 29 日から 8 月 3 日の間、明期 18 時間、暗期 6 時間のサイクルで長日処理を実施した。松田川は 219 日間、奈半利川は 210 日間飼育し、10 月 13～17 日に種苗生産を行う内漁連に移送（出荷）した後、順次、種苗生産に供した。各池の出荷尾数および収容から出荷までの生残率は、501 松田が 2,783 尾、98.2%、502 松田が 2,592 尾、99.7%、奈半利川が 1,520 尾、99.0%であった。

**人工種苗の疾病に対する安全性検査** 平成 27 年度に生産した人工種苗は全ての池において、両疾病とも陰性であった。平成 28 年度放流用の人工種苗生産に供した親魚は、冷水病は全て陰性であったが、エドワジエラ イクタルリ感染症が 2 サンプルで陽性となった。そのため、2 サンプルから生産した受精卵については、孵化前に廃棄処分した。

**人工種苗の遺伝的多様性評価** 各集団の遺伝的多様性を表 1 に示す。遺伝的多様性の指標となるアリルリッチネスの各集団の平均、近親交配の指標となる固定指数の遺伝子座全体の値（正に大きければホモ接合体過剰を示す）および Hardy-Weinberg 平衡から有意に逸脱した遺伝子座は、天然遡上魚 5 集団がそれぞれ 13.1～13.8, 0.012～0.044, 1 遺伝子座、継代を重ねた H18F5 が 8.5, 0.067, 1 遺伝子座であったのに対して、H27F1 は 12.7, 0.002, 逸脱した遺伝子座なし、H27F2 は 11.7, 0.005, 逸脱した遺伝子座なしとなっており、若干 H27F2 のアリルリッ

チネスが低いものの、人工種苗と天然遡上魚集団に遺伝的多様性の差異は認められなかった。

遺伝的多様性の減少は、ヘテロ接合体率よりもアリル数に大きな影響を与えることが知られており（Allendorf 1986, 原・関野 2006），人工種苗における遺伝的多様性の減少は、限られた親のみが生産に関与することによるボトルネック効果が大きな原因になると推察されている（Allendorf and Phelps 1980）。今回、H27F2 の遺伝的多様性は天然遡上魚と差異がないものの、アリルリッチネスがやや低かったことは、F2 種苗の親魚となる F1 人工種苗の養成に改良の余地（例えば、複数の F1 人工種苗飼育池から親魚候補を取り上げる）があることを示すものと考えられる。

## 引用文献

- Allendorf F W (1986) Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoo Biol.*, **5**, 181-190.
- Allendorf F W, Phelps S R (1980) Loss of genetic variation in hatchery stock of cutthroat trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **109**, 537-543.
- 原 素之・関野正志 (2006) マイクロサテライト DNA マーカーからみたアワビ人工種苗の遺伝的変異性. 水産総合研究センター研究報告, 別冊 **5**, 127-135.
- Takagi M, Shoji E, Taniguchi N (1999) Microsatellite DNA polymorphism to reveal genetic divergence in ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.*, **65** (4), 507-512.

表1 平成27年度に生産した人工種苗2集団(H27F1,H27F2)を含むアユ8集団の遺伝的多様性

遺伝子座	人工種苗				天然遡上				
	H27F1	H27F2	H18F5	H25新荘川	H25仁淀川	H25松田川	H25奈半利川	H25物部川	
Pal1	Arich	16.9	15.0	11.0	18.2	18.2	16.1	17.5	15.5
	$H_o/H_e$	0.938/0.922	0.875/0.916	0.563/0.864	0.912/0.927	0.823/0.916	0.938/0.913	0.885/0.917	0.867/0.909
	HWE-P	0.557	0.026	0.000 *	0.915	0.008	0.666	0.815	0.480
Pal2	Arich	14.0	17.0	10.0	16.0	16.0	17.7	17.8	15.8
	$H_o/H_e$	0.766/0.887	0.851/0.891	0.896/0.832	0.899/0.883	0.844/0.882	0.833/0.882	0.969/0.897	0.880/0.875
	HWE-P	0.147	0.590	0.624	0.629	0.000 *	0.179	0.332	0.964
Pal3	Arich	18.9	14.9	13.0	17.5	18.8	17.1	19.1	18.2
	$H_o/H_e$	0.917/0.919	0.958/0.917	0.813/0.889	0.768/0.915	0.833/0.931	0.771/0.919	0.771/0.925	0.780/0.912
	HWE-P	0.385	0.421	0.077	0.000 *	0.010	0.000 *	0.000 *	0.000 *
Pal4	Arich	20.9	19.9	13.0	22.4	22.7	22.4	23.6	22.0
	$H_o/H_e$	0.958/0.931	0.896/0.927	0.958/0.895	0.870/0.935	0.872/0.910	0.875/0.927	0.948/0.924	0.916/0.931
	HWE-P	0.266	0.598	0.145	0.025	0.517	0.002	0.226	0.861
Pal5	Arich	3.0	3.0	2.0	3.7	2.5	2.5	3.0	3.4
	$H_o/H_e$	0.250/0.284	0.313/0.270	0.188/0.237	0.420/0.424	0.379/0.348	0.479/0.423	0.271/0.297	0.361/0.312
	HWE-P	0.419	0.620	0.187	0.858	0.639	0.100	0.633	0.077
Pal6	Arich	8.0	6.0	5.0	7.8	7.5	7.9	8.1	9.2
	$H_o/H_e$	0.729/0.702	0.574/0.565	0.646/0.677	0.667/0.726	0.719/0.737	0.792/0.745	0.750/0.710	0.747/0.734
	HWE-P	0.674	0.547	0.092	0.512	0.969	0.009	0.029	0.511
Pal7	Arich	7.0	6.0	6.0	8.8	7.4	7.6	7.9	8.1
	$H_o/H_e$	0.792/0.716	0.688/0.692	0.604/0.605	0.754/0.721	0.745/0.726	0.745/0.711	0.667/0.683	0.807/0.751
	HWE-P	0.122	0.433	0.243	0.990	0.404	0.845	0.055	0.770
平均	Arich	12.7	11.7	8.5	13.5	13.3	13.1	13.8	13.2
	Fis	0.002	0.005	0.067	0.044	0.044	0.016	0.017	0.012

Arich, アリルリツチネス;  $H_o$ , ヘテロ接合体率の観察値;  $H_e$ , ヘテロ接合体率の期待値; HWE-P, Markov-chain法を用いたFisherの正確確率検定で求めたHardy-Weinberg平衡のP値; \*, Bonferroni補正した有意水準 ( $P < 0.0009$ ) で有意と判定されたもの

# ウナギ養殖における生産効率向上化試験

占部敦史・長岩理央

ウナギ養殖は高知県の主要産業の一つであるが、近年、シラスウナギの不漁や資材の高騰に加え、魚病被害の深刻化が経営を圧迫している。なかでも、「えら病」による被害は大きく、被害額は県全体で数千万円に及ぶと推定されており、生産効率を損なう大きな要因となっている。

「えら病」とは、鰻に障害を起こす疾病の総称である。その原因には、ウイルス性疾病であるウイルス性血管内皮壊死症（原因ウイルス：JEECV）、ヘルペスウイルス性鰻弁壊死症（原因ウイルス：HVA）、細菌性疾病であるカラムナリス症（原因細菌：*Flavobacterium columnare*）および寄生虫疾病であるシュードダクチロギルス症（原因寄生虫：*Pseudodactylogyrus spp.*）がある。

「えら病」のうち、最近ではカラムナリス症が県内養殖場で頻発しており（診断件数 H25：32 件，H26：33 件，H27：12 件）、治療方法がないことから治療および予防方法の確立が求められている。

当事業におけるこれまでの研究によると、魚病の発生は、養殖池の水質や細菌群集組成と関係することが報告されている（長岩ら，2015，2016）。そのため、水質や細菌群集組成を良好な状態に維持することで、病原菌の増殖を抑制し、魚病の発生を予防することができる可能性がある。しかし、上述のような定性的な知見は集まってきているものの、病原菌の増減と水質や細菌群集組成あるいは魚病の発症との関係

を定量的に調べた知見はない。一方、環境水をフィルターでろ過・DNA 抽出し、その中にいる細菌量をリアルタイム PCR（以下、qPCR）を用いて細菌の遺伝子のコピー数を測定し定量モニタリングする手法がいくつか報告されている（嶋原ら，2015）。しかしながら、*F. columnare* についてはフィルターろ過およびろ過フィルターからの DNA 抽出で得られた遺伝子量もとの細菌量をどの程度反映しているかを調べている研究はない。そこで本事業では、*F. columnare* の増減を定量的にモニタリングするための技術を開発することを目的として、環境水中からの当該菌の DNA 抽出方法の検討と qPCR で定量するための検量線の作成を行った。

## 材料と方法

**qPCR による増幅確認** 本研究では Panagala ら（2007）が *F. columnare* の chondroitin AC lyase 遺伝子の塩基配列をもとに設計したプライマーおよびプローブを用いた。また、プローブの 5'末端に FAM，3'末端に TAMRA を付加した。これらのプライマーおよびプローブが養鰻池に存在する他の病原細菌や環境細菌と非特異的に反応する可能性があることから、これらの特異性を再確認するため、表 1 に示す *F. columnare* 3 株，*F. psychrophilum* 1 株，*F. oncorhynchi* 1 株，*F. indicum* 1 株，*F. hercynium* 1 株，*Aeromonas hydrophila* 1 株，*Edwardsiella tarda* 1 株および *Lactococcus garvieae* 1 株の合計 10 株

について、ターゲットとする遺伝子が qPCR で増幅検出されるかを調べた。DNA の抽出・精製は、単離した菌株から DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN 社)を用いた。qPCR 反応組成は、テンプレート DNA 2.5 $\mu$ L , FastStart Essential DNA Probes Master (Roche)5 $\mu$ L , プライマー各 0.25 $\mu$ L (最終濃度各 0.75 $\mu$ M) , プローブ 0.2 $\mu$ L (最終濃度 0.2 $\mu$ M) を混合し、超純水 (DDW) で最終液量 10.0 $\mu$ L に調整した。qPCR 反応は Light Cycler® 96 (Roche)を用い、初期熱変性を 95°C 10 分, 続いて 2 ステップサイクル (95°C 15 秒, 60°C 1 分) を 50 サイクル行った。

表 1. 菌株情報

サンプル No.	細菌名	分離情報			菌株番号
		年月日	魚種	部位	
1	<i>Flavobacterium columnare</i>	2014/5/2	ウナギ	鰓	KFFCB0211
2	<i>Flavobacterium columnare</i>	2014/6/9	ウナギ	鰓	KFFCB0216
3	<i>Flavobacterium columnare</i>	2014/6/24	ウナギ	筋肉	KFFCB0218
4	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	2014/4/21	アユ	筋肉	KFFCB0206
5	<i>Flavobacterium oncorhynchi</i>	2014/2/3	ウナギ	筋肉	KFFCB0171
6	<i>Flavobacterium indicum</i>	2013/2/22	ウナギ養殖池	水	KFFCB0059
7	<i>Flavobacterium hercynium</i>	2014/4/15	アマゴ	鰓	KFFCB0200
8	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2014/2/3	ウナギ	筋肉	KFFCB0175
9	<i>Edwardsiella tarda</i>	2013/9/25	ウナギ	腎臓	KFFCB0141
10	<i>Lactococcus garvieae</i>	2015/4/16	ウナギ	腎臓	KFFCB0266

qPCR の検量線の作成 カラムナリス菌 KFFCB0218 株をプライマーで PCR 増幅後に、2%アガロースゲルで電気泳動を行い、ゲル内の増幅産物を High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) を用いて精製した。次いで、精製物の DNA 濃度を Qubit® Fluorometer(Thermo Fisher SCIENTIFIC)で測定し、DNA 濃度と分子量およびアボガドロ定数からコピー濃度 (copies/ $\mu$ L) を算出した。測定した精製物を Easy Dilution (TaKaRa)で段階希釈 (10<sup>-8</sup> - 10<sup>0</sup>) し、スタンダードを作成した。各スタンダードを用いて 3 回の qPCR を行い、各希釈系列の Ct 値 (Threshold cycle) の平均を求め、検量線を作成した。

フィルターろ過による DNA 抽出方法とサンプルの凍結保存方法の検討 カラムナリス菌 KFFCB0218 株を MCYT 液体培地で 28°C, 24 時間培養し、その菌液から段階希釈系列 (10<sup>-7</sup> - 10<sup>0</sup>) を作成した。各希釈系列の菌濃度 (菌数/ $\mu$ L) は、バクテリアカウンター (WAKEN) で 10<sup>-3</sup> 菌液 1 $\mu$ L の菌数を計数して算出した。

ろ過したメンブレンフィルターからの DNA 抽出効率を確認するため、各希釈系列の菌液 10 $\mu$ L をカラム抽出法により DNA 抽出する方法 (コントロール) と、各希釈系列の菌液 200 $\mu$ L を 40mL 蒸留水 (DW) に懸濁させ、懸濁液を孔径 0.2 $\mu$ m のメンブレンフィルター (Whatman) でろ過して DNA を抽出する方法 (試験区 1) を用いて、それぞれで得られた DNA を qPCR し、コピー濃度を測定した。また、サンプルの凍結保存ができるかを検証するため、各希釈系列の菌液 200 $\mu$ L に 40mL 蒸留水 (DW) を加えた懸濁液を -20°C で冷凍保存し、後日、懸濁液を解凍して試験区 1 と同様にろ過および DNA 抽出を行い (試験区 2) , qPCR でコピー濃度を測定した。ろ過したメンブレンフィルターからの DNA 抽出・精製方法は、嶋原ら (2015) に従った。qPCR で得られたコピー濃度はコントロールと試験区 1 およびコントロールと試験区 2 で比較した。

## 結果と考察

qPCR による増幅確認 供試した 10 株のうち qPCR により増幅確認できたのは *F. columnare* の 3 株のみであり (図 1) , *F. columnare* と同属の *Flavobacterium* 属 4 株の遺伝子は増幅されなかった。このことから、本 qPCR 法により *F.*

*columnare* を特異的に検出することができるものと判断された。

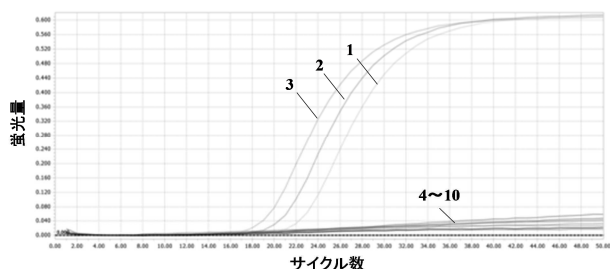


図 1. *F. columnare* の qPCR による検出確認

**qPCR の検量線の作成** KFFCB0218 株から得られた精製物の DNA 濃度は 0.638ng/μL で、コピー濃度は  $5.15 \times 10^9$  copies/μL であった。これを段階希釈 ( $10^{-8} - 10^0$ ) したスタンダードを qPCR したところ、相関係数 1.00, 増幅効率 1.98, 傾き -3.37 および Y 切片 36.79 からなる検量線が得られた (図 2)。

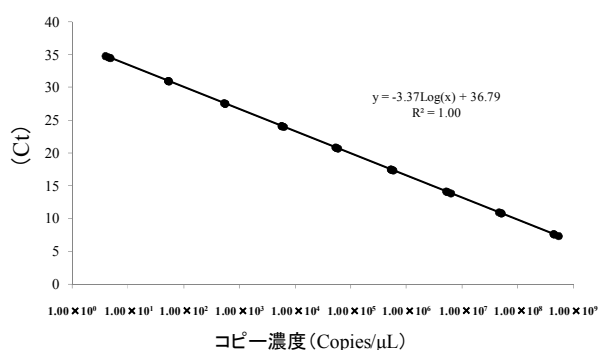


図 2. 検量線

### フィルターろ過による DNA 抽出方法の検討

$10^{-5} - 10^0$  の希釈系列の菌濃度は  $5.25 \times 10^0 - 5.25 \times 10^5$  細菌数/μL であった。一方, qPCR で測定したコピー濃度は, コントロールでは,  $10^{-7}$  および  $10^{-5}$  で検出限界値以下,  $10^{-6}, 10^{-4} - 10^0$  で  $9.19 \times 10^1 - 3.36 \times 10^5$  copies/μL であった。試験区 1 では  $10^{-7} - 10^0$  で  $1.08 \times 10^1 - 2.24 \times 10^5$

copies/μL, 試験区 2 では  $10^{-7} - 10^0$  で  $7.31 \times 10^0 - 3.24 \times 10^5$  copies/μL であった (表 2)。

表 2. 菌濃度とコピー濃度

	菌濃度 菌数/μL	コントロール Copies/μL	試験区1 Copies/μL	試験区2 Copies/μL
$10^0$	$5.25 \times 10^5$	$3.36 \times 10^5$	$2.24 \times 10^5$	$3.24 \times 10^5$
$10^{-1}$	$5.25 \times 10^4$	$1.04 \times 10^5$	$7.30 \times 10^4$	$5.22 \times 10^4$
$10^{-2}$	$5.25 \times 10^3$	$1.03 \times 10^4$	$6.68 \times 10^3$	$6.73 \times 10^3$
$10^{-3}$	$5.25 \times 10^2$	$8.29 \times 10^2$	$6.33 \times 10^2$	$6.96 \times 10^2$
$10^{-4}$	$5.25 \times 10^1$	$9.19 \times 10^1$	$1.12 \times 10^2$	$8.44 \times 10^2$
$10^{-5}$	$5.25 \times 10^0$	ns	$1.90 \times 10^1$	$1.96 \times 10^1$
$10^{-6}$	ns	$4.83 \times 10^2$	$1.08 \times 10^1$	$7.57 \times 10^0$
$10^{-7}$	ns	ns	$1.44 \times 10^1$	$7.31 \times 10^0$

ns: 未検出

培養液の各希釈系列の菌濃度とそのコピー濃度 (コントロール) は, 1 細菌あたり 1 コピー濃度とした時の検量線とほぼ一致した (図 3)。したがって, 本 qPCR 法で得られたコピー濃度は細菌数に置き換えられることが明らかとなった。また, 本研究の結果, コントロールにおいて  $10^{-5}$  までは検出限界以下もしくは検出結果が不安定であったことから, 定量する場合にはコピー濃度で  $9.19 \times 10^1$  copies/μL 以上, 細菌濃度で  $5.25 \times 10^1$  細菌数/μL 以上が必要であることが分かった。このことから, 細菌数をモニタリングする際には, 当該濃度以上の細菌数となるよう, 飼育水の採水量を考慮する必要がある。

懸濁液 (40mL DW に培養液 200μL 懸濁) をメンブレンフィルターでろ過した後, DNA を抽出したコピー濃度 (試験区 1) および冷凍保存したコピー濃度 (試験区 2) は, 培養液から直接 DNA 抽出したコピー濃度 (コントロール) とほぼ一致した (図 4)。このことは, 本研究で用いたフィルターろ過および DNA 抽出方法が, 採水中に存在する全ての *F. columnare* を捉えることができることを示している。また, 懸濁液を冷凍保存しても当該細菌の DNA 回収率は変わらないことから, 飼育水を冷凍で保存す

ることも可能であることが分かった。

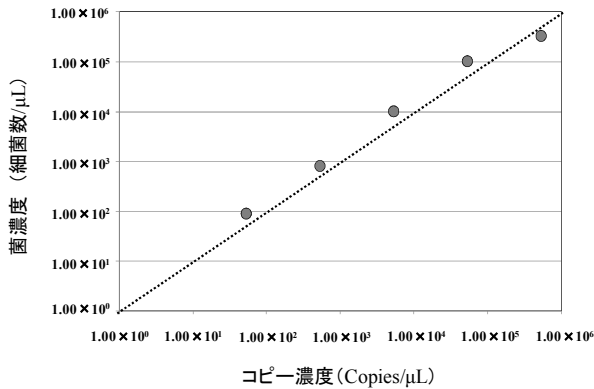


図 3. 培養液の菌濃度とコピー濃度  
点線：1 細菌あたり 1 コピー数濃度である時に得られる線

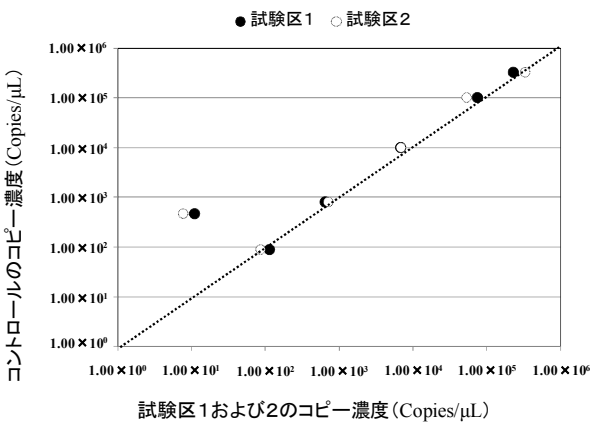


図 4. 試験区 1 および 2 の DNA 回収率  
点線：コントロールと同じ DNA 回収率を表した線

## まとめ

本研究の結果では、qPCR を用いて *F. columnare* を定量するための DNA 抽出方法を検討した。飼育水をメンブレンフィルターでろ過して細菌を捕集した後、そのフィルターから DNA を抽出して qPCR することで、飼育水中の *F. columnare* の細菌数をモニタリングできることが分かった。また、サンプルの保存方法として飼育水を冷凍保存できることも分かった。今

後、この手法を用いて飼育水中の *F. columnare* 量のモニタリングを行い、病気の発生の有無との関連性のほか、飼育水の水質および細菌群集組成と比較することで *F. columnare* の増殖抑制に関係する因子を抽出し、当該疾病の予防および治療方法の開発につなげていきたい。

なお、環境 DNA を用いた資源量調査研究では、河川水に PCR 阻害物質が含まれることが報告されており (高原ら, 2016), 養鰻の飼育水にも同様に PCR 阻害物質が含まれている可能性があるため、今後、阻害物質の有無や除去についても検討していく必要がある。

## 謝辞

本研究をするにあたり、多大な情報や助言をいただきました国立研究開発法人 水産研究・教育機構増養殖研究所 嶋原佳子博士に深く御礼申し上げます。

## 引用文献

- 長岩理央・岡部正也 (2015) 高知県内の養殖場における飼育環境の比較と魚病発生状況の把握. 平成 25 年度事業報告書 (調査研究報告), **24**, 37 - 43.
- 長岩理央・岡部正也 (2016) ウナギ養殖における生産効率向上化試験. 平成 26 年度事業報告書 (事業報告), **25**, 21 - 23.
- Panagala V. S., Shoemaker C. A. and Klesius P. H. (2007) Taqman real - time polymerase chain reaction assay for rapid detection of *Flavobacterium columnare*. *Aqua. Res.*, **38**, 508 - 517.

嶋原佳子・河東康彦・柳宗悦・前野幸二・釜石  
隆（2015）養殖場における *Nocardia seriolae*  
の分布に関する研究．平成 27 年度日本魚病  
学会春季大会．

高原 輝彦・山中 祐樹・源 利文・土居 秀  
幸・内井 喜美子（2016）環境 DNA 分析の  
手法開発の現状－淡水域の研究事例を中心  
にして－．日本生態学会誌，**66**，583 - 599．

# ウナギ生息状況等緊急調査事業

岡部正也・坂下 徹（漁業振興課）・隅川 和

近年、わが国の沿岸に来遊するウナギ属シラスは著しい減少傾向にあり、資源の枯渇が懸念される状況にある。しかしながら、ニホンウナギの保護増殖に不可欠なウナギ属シラスの来遊時期や来遊パターン、ニホンウナギ成魚の河川における生息状況などに関する情報は極めて少ない。

そこで、本事業では、水産庁からウナギ供給安定化事業（平成 27～29 年度）のうち「鰻来遊・生息調査事業」を受託し、高知県におけるシラスウナギの来遊状況および黄ウナギ・銀ウナギの生息状況の把握並びに追跡調査における DNA 多型解析を用いた個体識別の有効性の検証を行った。

なお、成果の詳細については水産庁に報告書として提出しており、また、後日、学術雑誌への投稿を予定しているため、ここでは、その概要を報告する。

## 全体計画

**ウナギ属シラス調査** 高知県中央部に位置する 2 級河川、夜須川の河口（図 1）においてウナギ属シラスの遡上調査を行い、来遊時期および来遊パターンを年間通じて発育段階ごとに把握する。

**ウナギ成魚調査** 高知県東部に位置する 2 級河川、奈半利川（図 1）においてニホンウナギ成魚を定期的に採集し、黄ウナギ、銀ウナギの河川内での分布および出現時期を把握する。また、採集したニホンウナギは、外部標識装着後採集地点

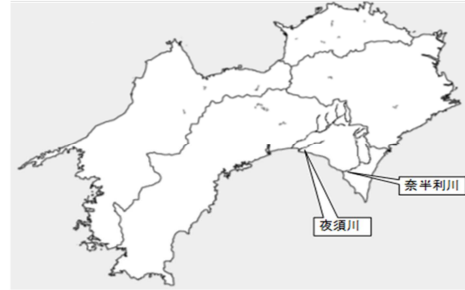


図 1. 調査河川の概要

に放流して追跡し、再捕された個体について遺伝標識を用いた個体識別を行い、成長、成熟および移動の把握を試みる。

## 追跡調査における DNA 多型解析を用いた個体識別の有効性検証

ニホンウナギの河川内における生態を把握することは、本種の包括的な資源管理を行うために不可欠であるが、シラスウナギ～クロコ～成魚に至るまでの発育段階を網羅した知見は乏しい。そこで、本課題では、河川遡上直後から成魚に至るまでの過程を個体レベルで追跡するための基盤技術として、魚体への負担が少ない非侵襲的な DNA サンプルの採取法を開発する。また、本研究で開発した個体識別法をマニュアル化し、参画機関との技術情報の共有をはかる。

## 材料と方法

**ウナギ属シラス調査** 来遊状況の把握について、高知県中央部に位置する夜須川の河口において、新月を基準に 1 回/月、日没、干潮後の上げ潮時に調査員 3 名のすくい網による約 2 時間の採集を行った。また、調査地点にはデータロガー



を設置し、水温の推移を把握した。

発育段階の推定については、採集したウナギ属シラスの全長、体重を測定後、色素の発現状態 (Fukuda et al. 2013) に基づき、発育段階を推定した。

**ウナギ成魚調査** 黄ウナギ、銀ウナギの出現状況の把握：高知県東部に位置する奈半利川において、筒漁法によりニホンウナギ成魚を1回以上/月の頻度で採集し、全長、体重を測定後、Silvering index (以下 S.I.) (Okamura et al. 2007) に基づき成熟段階を推定して記録した。

標識放流による追跡のため、採集したニホンウナギの全個体に共通のイラストマータグ (2013年度は左目の上に赤色、2014年度は左目の上に白色、2015年度は左目の上に黄色) を装着し、採集された地点に放流した。さらに放流時には胸鰭の一部を DNA サンプルとして採取、保存し、再捕時にマイクロサテライト DNA 多型解析に基づく遺伝標識により個体識別を試みた。

**追跡調査における DNA 多型解析を用いた個体識別の有効性検証** シラスから成魚の魚体への負担が少ない非侵襲的な DNA 採取法について検討した。

## 結 果

**ウナギ属シラス調査** 夜須川河口において2012年11月15日～2016年2月8日の期間にウナギ属シラスの来遊状況を調査した。その結果、2015年漁期の採集個体数は、過去4年間で最も不漁であつ

た2012年漁期のパターンに類似しており、12月10日に最初の来遊が見られたが、2016年1月までの採集個体数はごくわずかであり、2月以降やや増加傾向にあったものの、総じて少ない状況であった。

**ウナギ成魚調査** 奈半利川において2013年7月10日～2015年11月30日の期間に採集したニホンウナギ成魚にイラストマータグを装着し、放流して追跡した個体のうち、再捕個体について個体識別を行い、河川内での成長、成熟、移動に関する知見を得た。これらの個体は、放流地点と再捕地点から遡上、降下、定位個体に分類された。

**追跡調査における DNA 多型解析を用いた個体識別の有効性検証** 魚体への負担が少ない非侵襲的な DNA サンプルの採取法の開発に取り組み、DNA 多型解析に用いることが可能な品質で、再現性のある方法を開発した。この手法のマニュアル化にも着手し、水産庁委託事業の参画機関に対して技術情報として提供した。

## 文 献

- Fukuda N., Miller M. J., Aoyama J., Shinoda A., Tukamoto K. (2013) Evaluation of the pigmentation stages and body proportions from the glass eel to yellow eel in *Anguilla japonica*. Fish Sci, **79**, 425-438.
- Okamura A., Yamada Y., Yokouchi K., Horie N., Mikawa N., Utoh T., Tanaka S.

and Tsukamoto K. (2007) A silvering index for the Japanese eel *Anguilla japonica*. Environ. Biol. Fishes., **80**, 77-89.

## 河川利用中山間地域活性化事業 アマゴ生息状況調査

長岩理央・岡部正也

高知県では、平成21年度から産業振興計画に基づく成長戦略の一環として、アユ漁終了後の中下流域を「アマゴの冬季釣り場」として開放し、交流人口の増加によって中山間地域の活性化を図る取組を行っている。本事業では、この取組の候補となった河川において、事業の推進に必要なアマゴの生息状況などの基礎データを収集することを目的として調査を行っている。これまでに松田川と新荘川で調査を行い、松田川ではアマゴの生息が確認できなかった。また、新荘川では支流の赤木川において再生産を確認するとともに、本流域では夏季の水温がアマゴの致死限界温度である26°Cを超えるため、周年の生息には厳しい環境であることが分かった（平成26年度事業報告）。本年度は、これまでの結果を両漁協に報告し、「アマゴの冬季釣り場」開設に向けた協議を行った。また、既に開設されている奈半利川の支流野川川においては、豪雨によって崩落した道路や護岸の工事が続いているため、休止状態となっている。そのため、比較的被害の少なかった支流の西谷川での開設に向けて、奈半利川漁協との協議を行った。

### 材料と方法

5月28日に奈半利川漁協、6月10日に松田川漁協、7月15日に新荘川漁協で協議を行った。

### 結果

各漁協とも「アマゴの冬季釣り場」の開設は見送ることとなった。今後、いずれかの漁協から冬季釣り場開設の要望があった場合には、データの提供またはデータの収集・補完のための調査を行い、中山間地域の活性化に向けた取組を支援していく。

## 4. 參考資料

# (1) 河川漁業生産量の推移

(単位:トン)

年	アユ	ウナギ	コイ	マス類	その他魚類	貝類	エビ	その他動物	合計
1971	603	145	122	10	444	15	113	186	1,638
1972	429	84	39	2	342	7	60	167	1,130
1973	795	80	42	4	365	6	61	349	1,702
1974	1,558	136	58	53	423	9	103	253	2,593
1975	2,257	193	116	68	514	8	131	304	3,591
1976	1,807	168	88	75	405	7	101	323	2,974
1977	1,340	163	69	20	353	7	72	241	2,265
1978	1,402	166	72	21	341	7	58	227	2,294
1979	1,052	168	75	21	372	17	58	205	1,968
1980	1,479	181	75	26	362	11	70	444	2,648
1981	1,837	177	76	32	346	9	103	208	2,788
1982	1,754	184	74	37	359	31	103	438	2,980
1983	1,630	157	66	36	307	40	129	542	2,907
1984	1,290	106	54	36	233	37	149	177	2,082
1985	1,270	122	59	44	212	37	155	253	2,152
1986	1,153	129	60	40	184	26	111	279	1,982
1987	1,053	124	67	37	198	25	114	248	1,866
1988	1,369	127	65	40	196	14	108	282	2,201
1989	1,422	131	66	66	194	14	106	224	2,223
1990	1,368	117	59	62	194	13	104	281	2,198
1991	1,430	101	47	69	187	10	109	258	2,211
1992	1,283	112	48	64	184	6	103	230	2,030
1993	1,195	111	47	67	182	6	105	60	1,773
1994	1,115	112	52	69	181	6	104	202	1,841
1995	821	59	35	66	127	5	64	136	1,313
1996	849	59	34	65	125	5	60	123	1,320
1997	721	51	32	43	118	4	50	141	1,160
1998	591	63	28	42	104	3	52	30	913
1999	559	64	21	40	74	2	52	37	849
2000	564	74	17	39	54	2	56	97	903
2001	492	67	13	36	50	2	56	98	814
2002	453	56	13	34	49	2	62	92	761
2003	262	60	10	34	36	2	55	54	513
2004	134	36	5	18	21	0	55	90	359
2005	333	57	5	18	25	0	56	98	592
2006	140	*	3	2	*	0	*	*	145
2007	97	*	3	1	*	0	*	*	101
2008	106	21	3	1	18	-	33	45	227
2009	139	*	3	1	*	-	34	151	328
2010	100	*	2	1	*	-	8	54	165
2011	112	7	2	1	8	-	6	36	172
2012	100	8	2	1	9	-	8	36	164
2013	103	3	1	1	8	-	3	26	146
2014	106	4	1	1	7	-	1	17	138
2015	105	3	1	1	8	-	1	18	138

その他魚類には、うぐい・おいかわを含む

※農林水産省 農林水産統計より集計

## (2) 天然アユの市場別取扱量の推移

(単位：kg)

年	西土佐 鮎市場	四万十川 上流淡水	仁 淀 川	芸 陽	幡多公設 卸売市場	計 (トン)
1977					14,812	14.8
1978					18,368	18.4
1979					7,681	7.7
1980	4,870				17,636	22.5
1981	6,500				27,559	34.1
1982	3,400				15,227	18.6
1983	1,700				11,806	13.5
1984	5,183				17,912	23.1
1985	1,425		4,445		15,526	21.4
1986	1,409		6,546		9,582	17.5
1987	1,299		4,814		7,704	13.8
1988	3,112	1,614	5,050		17,508	27.3
1989	1,513	1,613			10,356	13.5
1990	1,523	1,944			8,991	12.5
1991	4,788	3,970	3,537		11,887	24.2
1992	1,527	3,524	4,043		7,680	16.8
1993	2,855	3,720	1,573		8,134	16.3
1994	2,040	2,129	2,674		6,379	13.2
1995	2,194	2,621	3,308	299	7,871	16.3
1996	3,326	4,101	2,821		7,490	17.7
1997	2,121	3,231	2,991	234	7,365	15.9
1998	1,059	2,850	2,882	150	2,738	9.7
1999	2,144	3,370	1,948	177	5,211	12.9
2000	2,984	2,819	1,527	297	5,774	13.4
2001	3,188	3,632	2,459	231	7,174	16.7
2002	3,650	2,695	2,469	343	6,739	15.9
2003	1,049	785	2,034	168	2,380	6.4
2004	384	1,257	1,033	338	2,487	5.5
2005	1,055	2,761	1,648	326	5,202	11.0
2006	1,550	1,040	2,137	126	4,232	9.1
2007	1,039	1,080	1,453	116	3,930	7.6
2008	665	1,693	2,476	165	3,862	8.9
2009	2,730	1,583	1,626	302	1,574	7.8
2010	1,708	1,122	1,626	127	2,270	6.9
2011	2,606	1,412	1,024	97	2,012	7.2
2012	2,390	796	1,065	73	3,470	7.8
2013	1,884	1,346	1,328	175	1,084	5.8
2014	2,116	1,296	1,554	178	1,420	6.6
2015	5,328	1,556	613	82	3,766	11.3

※聞き取り調査により集計