

サクラマスの回帰から大川における増殖方法について

資源課 専門研究員 三好 勝

1 目的

平成 13 年度から、加治川に変わり減耗要因(迷入・密漁)が少ない山北町大川を試験河川とし、継代数の少ない池産系稚魚の標識放流を行い、平成 15 年春のサクラマス回帰初年度の放流効果や資源増大に有効な増殖法を明らかにする。

2 方法

- (1)回帰親魚調査 春期一般採捕における採捕数(尾)、親魚の大きさ及び外部標識の有無を山北町大川漁協に依頼し、この報告をもとに回帰量、親魚特性等について解析した。
- (2)河川内稚魚調査 小出支場で生産した 12 年級 0⁺稚魚に標識(Ad 切除)を施し、平成 13 年 3 月に 18 万尾大川水系中継川と小俣川に放流した。この標識放流から放流魚と天然魚の成長、天然資源量等について、定点 4 ヶ所(中継川 2 ヶ所、小俣川 2 ヶ所)を設け、5 月、7 月、10 月の 3 回投網により調査した。
- (3)降河調査 小出支場で生産した 12 年級 1⁺スモルト稚魚に標識(Lv + リボンタグ)を施し、平成 14 年 3 月に 1 万尾中継川と小俣川に放流した。この標識放流からスモルトの降下時、降河量等について 3 月下旬から 5 月下旬まで河口付近において投網と釣り(山北町漁協の協力を得て)調査した。

3 結果と考察

(1)回帰親魚調査及び河川内稚魚調査から

- ・平成 13 年春(12 年級)に小出支場で生産し放流した 0⁺稚魚(平均体重 1.0 g)の成長は、翌春の降河期まで無標識(天然魚)に比べ遜色なかった。
- ・スモルトの降河時期と回帰魚の遡上時期及び遡上時の大きさ(体重)は、天然と放流魚の間に差はなかった。
- ・平成 15 年春に回帰したサクラマス 92 尾中 10 尾(10.9%)が標識魚であった。
- ・標識放流した 12 年級 0⁺稚魚の回帰率は 0.005%、一方翌春放流した 12 年級 1⁺スモルトの回帰率は 0.01% といずれも低かった。
- ・回帰した天然魚と放流魚の比率から天然再生産量は 0⁺稚魚の時点で約 423 千尾と推定され、これは雌の親魚約 141 尾に相当する。

以上大川の天然再生産は春放流の 0⁺稚魚の約 2.4 倍もの量があり、これがわずかな親魚尾数で支えられていることを考慮すると、本河川における現行のサクラマス資源量増殖法の中で、有効な方策のひとつは、天然親魚の保護と河川内の産卵環境の整備を行うことと考えられる。

(2)降河調査から

- ・ピーターセン法により降河量を 34,000 尾(95%信頼限度は、25,205 ~ 52,587 尾)と推定した。
 - ・この降河量からの回帰率を 0.03% と推定した。
- 以上から稚魚の河川生活期における減耗(自然死亡、鳥害、遊漁者による釣獲等)また、海洋生活期における減耗要因の究明が必要である。

アユの産着卵数と産着石サイズ及び流速について

資源課 専門研究員 富田 政勝

1 目的

アユの産着卵数と着卵石のサイズ・流速等の産卵環境実態を把握し、産卵場造成等の資料とする。

2 方法

調査対象河川を海川とした。海川の高速道橋上流及び厚田橋下流において、着卵の見られた各々数箇所に縦横 20cm 角の型枠を固定してその型枠内の石サイズ測定と産着アユ卵を計数した。同時に採取箇所の流速と水深も計測した。

3 結果と考察

高速道橋上流では 3 箇所 58 粒、厚田橋下流では 7 箇所を調査したうち 4 箇所 468 粒を計数確認した。着卵数と着卵石サイズは、高速道橋上流では 0.6 ~ 2.0 cm サイズに 11 粒 (19%)、2.1 ~ 5.0 サイズに 35 粒 (60%)、5.1 以上サイズ 12 粒 (21%) であった。厚田橋下流では、0.1 ~ 0.5 サイズに 36 粒 (7.7%)、0.6 ~ 2.0 サイズに 257 粒 (54.9%)、2.1 ~ 5.0 サイズに 166 粒 (35.4%)、5.1 以上サイズに 9 粒 (2.0%) を数え 0.6 ~ 2.0 cm のレキに最も多くの着卵を確認した。一方、着卵数と流速は、高速道橋上流においては、流速 0.17m/s 水深 21.0cm の箇所では 0 粒、0.571m/s-14cm の箇所で 4 粒 (6.9%)、0.823m/s-18 cm の箇所で 54 粒 (93.1%) を、また、厚田橋下流では、流速 0.175m/s 水深 9.0 cm の箇所で 176 粒 (37.6%)、0.318m/s-2.0 cm の箇所で 206 粒 (44.0%)、0.426m/s-7.0 cm の箇所で 80 粒 (17.3%)、0.589m/s-20.0 cm の箇所で 6 粒 (1.3%) を計数した。高速道橋上流では、全計数の 93% を流速の早い箇所で確認したが、調査日はやや増水後と見られたことや狭い河川形状から、産卵後の増水により着卵石の流下及び付着卵の流失があったものと推定される。厚田橋では流速と着卵数に関係が見られ (表)、流速が 0.426m/s 以内で 98% の着卵が、また、中でも 0.318m/s の箇所では全数の 44% と最も多くの着卵が見られた。石サイズ・流速についてはすでに知見があるが (石田:1961 他)、着卵石のサイズについては砂粒より大きめの「極小レキ」にも着卵を確認したこと、及び、流速が 0.175m/s とかなり緩やかな箇所でも卵の確認をしたことから、積極的な増殖手段の 1 つである「産卵場造成」等においては、特に、海川のような小型親魚を有する河川においては留意すべき点 (利・活用) と考えられる。

表 海川・アユ産卵場の環境条件

場 所 項 目	高 速 道 橋 上 流					厚 田 橋 下 流					
	河川水流速 (m/s)			合計 (粒)	率 (%)	河川水流速 (m/s)				合計 (粒)	率 (%)
石サイズ (cm)	0.176	0.571	0.823			0.175	0.318	0.426	0.589		
0.1~0.5	0	0	0	0	-	7	21	7	1	36	7.7
0.6~2.0	0	0	11	11	18.9	86	119	52	0	257	54.9
2.1~5.0	0	1	34	35	60.3	81	64	17	4	166	35.4
5.1~	0	3	9	12	20.8	2	2	4	1	9	2.0
合 計	0	4	54	58	-	176	206	80	6	468	-
率 (%)	0.0	6.9	93.1	-	-	37.6	44.0	17.1	1.3	-	-
水深 (cm)	21.0	14.0	18.0	-	-	9.0	2.0	7.0	20.0	-	-

大崎ダム公園池外来魚調査について

資源課 臨時的任用職員 工藤 周子

1 目的

大崎ダム公園池(砂防ダム 貯砂量 97,000 m³、漁業権外)では外来魚の生息が確認されている。洪水時にダム下流河川(田川)を通じて漁業権水域である魚野川へ外来魚が流入する可能性がある。そこで、ダム公園池内の魚類相を明らかにするとともに、流出防止に関する技術開発を図ることを目的とした。

2 方法

平成 15 年 5 月下旬から 12 月上旬にかけて、大崎ダム公園池、田川及び魚野川を対象に以下の調査を行った。なお、採捕された外来魚はすべて持ち帰り 試験場にて全長 体長 体高 体重を測定した。

外来魚生息状況調査]

大崎ダム公園池においてつり 刺網及びタモ網による採捕を行った。また、田川、魚野川支流においては、電気ショッカー(エレクトロフィッシャー)及び弓網を用いた採捕調査を行った。

流出防止調査]

8 月 27 日から 11 月 10 日までの期間、ダムサイト下のたたきにやなを設置し、水温、水位及び採捕状況を確認した(担当は公園管理人)。また、たたきの水位と流量の関係式から、外来魚流出時の流量を算出した。

3 結果と考察

大崎ダム公園池において、オオクチバスの魚影が確認され、釣りでは 14 尾、刺網では 1 尾採捕された。刺網の混獲率は 91% と高く、その魚種はフナ、コイであった。タモ網ではオオクチバスの稚魚が採捕された。

一方、田川及び魚野川においては、外来魚は確認されなかった。

やなでは、オオクチバスの稚魚及びヨシノボリの稚魚が採捕された。採捕魚の平均値は体長 58.4mm (40.4 ~ 84.4mm)、体重 3.7g (0.7 ~ 8.2g) で大雨の日の洪水時に流出したものであった。たたきの通常水位及び流量がそれぞれ 0.06 ~ 0.1m、0.07 ~ 0.2t/s であるのに対し、0.18 ~ 0.25m の水位であった。

また、この時の流量は 0.53 ~ 0.89t/s ($y=7.0629x^2+2.1376x-0.0831$) と算出された。

大崎ダム公園池のような砂防ダムでは、洪水時に全長 60mm 程度の稚魚が流出する。これらの稚魚をダム内で採捕することも可能であるが、漁獲努力量に見合う成果は得られにくい。一方、流出時にやなで採捕する方法は、ゴミの除去や捕獲状況の確認など管理が可能という条件付きで効果を示すと思われる。

カワウの日中行動から見えてくること

- 現状と課題 -

資源課 臨時的任用職員 工藤 周子

1 目的

カワウ (*Phalacrocorax carbo*) は河川や湖の魚類を食べる大型の留鳥である。成鳥 1羽約 500g/日もの魚類を捕食すると報告されており(亀田ら 2002)、内水面漁業を脅かす存在となりつつある。本県においてもカワウが目撃されているが、生息数、分布域及びその行動に関する情報は乏しい。そこで、県内におけるカワウの日中行動を観察し、本種の生態や「害性の有無」についての知見を得ることを目的とした。

2 方法

平成 15 年 12 月下旬から 16 年 3 月上旬にかけて、蔵王橋(信濃川中流域)を定点としてカワウの日中行動を観察した(2,158 分)。早朝 7:00 からカワウが完全に調査付近から去るまでの間、河原から 8 倍の双眼鏡を用いて観察を行った。カワウの行動が変化した時に、総羽数、出入り・遊泳・潜水・摂餌・休息・羽を乾かすなどの計 6 種類の日中行動及び時刻、天候、その他鳥類を記録した。各行動量は、群れの中でそれぞれの行動を取った個体数とその行動に費やした時間を掛け合わせ延べ時間として算出した。

また、ねぐら(与板)に飛来する数から信濃川水域における分布数を明らかにした。

3 結果と考察

カワウは1日の 83%を休息に充てることが分かった。遊泳、羽を乾かす行動に費やした時間はともに 3%と低い値を示した。出入りに費やす時間は 10%で、潜水、摂餌に費やした時間はそれぞれ、1%、0.1%という結果が得られた。休息を除いた活動時間のみで算出すると、潜水は 8%、摂餌は 1.7%であり、実際に捕獲した魚類も少ないものと思われた。カワウの潜水は、遊泳の延長である水浴と摂餌のための潜水が考えられる。

そこで、「摂餌時間 / 潜水に費やした時間」として摂餌成功率を算出すると 21%という結果となった。一方、水浴には 79%もの時間を費やしたことが分かった。しかし、カワウは他の水鳥と比べ羽毛の油分が少なく、長時間の遊泳や潜水を好まないと考えられていることから、摂餌以外の時間を水浴と判断するには疑問が残る。探り等の摂餌に結びつく行動を取っているのか見極める必要がある。

また、2月20日の行動の時間変化を追うと、9:00 ~ 12:00 と 15:30 ~ 17:30 の間に潜水行動が確認された。16:20 前後の 4 羽による 4 分間、7 ~ 10 回の潜水が最大であった。

調査定点での最大個体数は 20 羽であったが、定点以外でもカワウの飛来情報が寄せられている。日の入りかねぐらに飛来する数から、信濃川水域に分布する数は 350 羽以上と推測され、冬季におけるカワウは、日中小さな集団ごとに分散する傾向にあることが示唆された。また、ねぐらで巣を確認したことから、今後繁殖による個体数の増加が予想される。

以上のことから、現状と今後の課題をまとめた。

〔現状〕冬期間のカワウは、活発な摂餌行動を行わない

水中で過ごす時間がわずかなため、摂餌以外で魚類に与える影響は少ない

〔課題〕春～夏季、特にサケ、アユの放流時期に群れとしての潜水行動を追う

捕食魚種を特定し、カワウによる漁獲量を算出する

カワウに食べさせる余裕が本当に無いのか、共存の道を探る

イワナにおけるキャッチアンドリリースの効果

小出支場 専門研究員 兵藤 則行

1 目的

イワナのキャッチアンドリリースについては、これまでフッキングモータリティー、C&R 区間での漁期前後の生息尾数の変化等から、その効果が確認されている。しかし漁獲後リリースする遊漁者と持ち帰る遊漁者が混在する一般河川において、全体の資源に対して、リリースが資源維持にどれだけ効果があり、逆に持ち帰りがどれだけ資源へ影響を与えているのかについては明らかにされていない。

今後、C&R 区間の設定のみならず、県内遊漁者に対する C&R の啓発のためには、リリース、持ち帰りを含めた釣獲行為が、イワナ資源全体に与える影響を把握することが不可欠であり、これらの知見を得るため、調査を実施した。

2 方法

新潟県塩沢町を流れる魚野川支流登川の約 45 km を調査対象とした。

- ・6月上旬及び9月上旬のイワナ資源量(全長 15cm 以上)を、ピーターセン法、シュナーベル法、デルーリー法により推定した。
- ・6月上旬～9月上旬の3ヶ月間におけるイワナ釣獲尾数(うちリリース尾数、持ち帰り尾数)をアンケート調査及び遊漁者現地確認により推定した。
- ・アンケート調査により、遊漁者のキャッチアンドリリースに対する意識を把握した。

3 結果と考察

- ・ピーターセン法(シュナーベル法)から、6月上旬における資源量は2,610尾(95%信頼区間 1,921～4,070尾)、9月上旬では1,946尾(95%信頼区間 1,638～2,401尾)と推定した。
- ・デルーリー法(変法)から、5月下旬の資源量は約1,900尾と推定した。
- ・ピーターセン法(シュナーベル法)から、6月上旬～9月上旬の3ヶ月間の減少量を664尾と推定した。この値は釣獲行為により減少したものと推察した。
- ・6月上旬～9月上旬の3ヶ月間における釣獲尾数を1,760尾、うちリリース尾数を1,050尾、持ち帰り尾数を710尾と推定した。
- ・リリース後の死亡率を10%と仮定すると、釣獲行為による死亡は815尾と推定できた。
- ・異なる方法による資源の減少量の推定値と釣獲死亡量(持ち帰り量+リリース量×死亡率)の推定値がほぼ一つの数値に収束した。
- ・これらの結果からシミュレーションを行うと、釣獲魚のすべてがリリースされた場合、9月上旬において2,400尾が生残し、すべてが持ち帰られた場合、生残魚は850尾になるものと推定した(現状 1,946尾)。
- ・当該漁場を利用する遊漁者のキャッチアンドリリースに対する意見は、肯定75%、否定8%、どちらでもない17%であった。

受精卵の露出による水生菌の抑制について

- ふ化槽の水抜き -

小出支場 専門研究員 関 泰夫

1 目的

サケ・マス類の発眼卵を生産する場合、受精卵は発眼するまでの間定期的にマラカイトグリーンで消毒をして水カビの防除を行っている。しかし、今後この薬剤の使用が出来なくなるため、マラカイトグリーンに代わる水カビの対策方法が必要になっている。このことから薬剤を使わないで水カビの発育を防止し、発眼卵の生産を試みた。

2 方法

卵を管理する室の床面に落ちている死卵には、水カビの菌糸が発育していないことに着目して、受精卵に寄生する水カビの発育を抑制するために、試験区として卵を収容しているふ化槽(竪型)の底栓を毎日一定の時間抜いて用水を排水して、受精卵を空气中に露出した状態を繰り返し、卵が発眼して検卵作業の出来る時期(水温は12～13℃で受精後21～25日)まで行い、発眼及びふ化の状況と稚魚の飼育について観察した。

試験をした魚種は支場で飼育している池産サクラマスを中心にギンザケ、ニジマス、イワナ、カワマス、アメマス、ブラウンマス、魚野川に遡上したサケの各受精卵である。

なお、試験は通常の生産業務のなかで行ったもので、多くの魚種は用水を排水する試験区のみを設定し、対照区は設けなかった。試験は9月下旬～2月中旬の間である。

3 結果と考察

試験は卵を用水から露出させるため、その露出が卵に与える影響を考えて、始めの試験では露出する時間を出来るだけ短くするように1日2回、1回の露出時間を最大5分程度を目途に栓を抜いて行った。しかし、このように露出時間が短いと発眼率には差はないものの、試験区では水生菌が発育して菌糸が伸び、卵が固まって数cm大の葡萄の房状の卵塊が幾つか現れた。これら卵塊は、人手による検卵作業ではあまり支障はないものの、卵を一粒ずつ分離させる必要のある機械による検卵作業では大きな欠陥となる。

そこで、受精卵の露出時間を30分～100分程度の間隔で試みたところ、100分間の露出でも卵に影響なく卵塊の大きさも小さくて、それらは検卵作業の前に行う卵揉みをすることで、卵は個々に分離し、機械による検卵の出来る目途が立った。

池産サクラマス以外の魚種でも同様にして発眼卵を生産することが出来た。発眼卵は、検卵後ふ化させて仔魚の異常を観察したが、各群とも特別な状況は見られず引き続き飼育を行い、餌付け後約1ヶ月を経過したが減耗もなく異常は無いと判断されたので試験を終了した。

なお、この方法では受精卵が収容されているふ化槽を通る用水は卵の周囲を均一に通水させることが必要で、支場で卵を収容するふ化盆(市販の製品で27cm・20cm・深さが約4cmを1槽に5枚使用したり)、深さが約25cmの内箱を使うが、収容する卵の量は少なくとも厚さが1cm以上となる位が適しているものと考えられた。卵の量が少ないとふ化盆のなかを通る用水が卵群を除けて通ることが推定され、通水の不良により卵塊の出来る状態が見られた。

今後に残された課題としては、この試験は竪型ふ化槽の例だけであり他の形式のふ化槽では検討されていないこと、大量の規模での試験例の少ないこと、試験をした用水は水温12～13℃、pHは6であり、これ以外の異なる水質での試験が必要である。

受精卵の管理でこの方法が実用化されるならば、現在の施設をそのまま使えることや特別な手法を必要とせず誰でもが簡単に行える作業で、薬剤を使わずに発眼卵を生産出来る可能性がある。

マラカイトグリーン廃液の処理について

病理環境課 主任研究員 唐木沢 秀之

1 目的

魚、卵の水カビ病の予防、治療等で広く用いられていたマラカイトグリーンは薬事法の改正により使用が禁止されたが、卵・稚仔魚(1g未満)の消毒については平成17年7月31日までは猶予期間として適正に廃液を処理する場合に限り使用が認められることになった。廃液は活性炭等で吸着させることにより処理できることが知られているが、詳細な方法については知見がない。また、2年後以降は全面的に使用が禁止されるため、2年間の使用を考えた安価で簡易的にマラカイトグリーンを吸着させる方法について試験を行った。

2 方法

吸着剤には市販されている活性炭(粒径約1mm)及びくん炭(稲のもみ殻を炭にしたもの 粒径3mm未満)を用いた。

底面に直径6mmの穴を開けた15Lのプラスチックバケツに吸着剤を入れ、上から約4ppmのマラカイトグリーン水溶液を1時間流し込み、開始直後から15分毎に排水のマラカイトグリーン濃度を分光高度計により測定し、吸着層の厚さと吸着率について検討した。試験はそれぞれの限界最大流量で行った。

3 結果

<活性炭>

バケツ1層(活性炭の厚さ:20cm)におけるマラカイトグリーン吸着量は75.1%であったが、2層(活性炭の厚さ:37cm)にしたところ時間経過により97.9~91.2%に推移し、排液を肉眼視しても、わずかに青色が残る程度まで吸着された。ただし、活性炭層内を充分浸潤させずに廃液を処理したところ効果は不安定で吸着率も低下した。バケツ2層での活性炭の総重量は乾燥時で12kg、最大流量は17.1L/分であった。試験時の水温は17~18度であった。

<くん炭>

バケツ1層(くん炭の厚さ:20cm)におけるマラカイトグリーン吸着量は99.3%であったが、時間の経過に伴い1時間後には67.4%まで低下した。バケツ3層(くん炭の厚さ:40.5cm)では1時間経過しても99.9%の吸着率であり、排液を肉眼視しても全く青色が認められなかった。ただし、くん炭層内を充分浸潤させずに排液を処理したところ吸着率は顕著に低下した。バケツ3層でのくん炭の総重量は乾燥時で3kg、最大流量は5.5L/分であった。試験時の水温は17~18度であった。

4 考察

吸着層の厚さを同程度にした場合、くん炭の吸着率が活性炭より良好であった。これは、くん炭の粒径が粉状から直径約3mmまで分布し均一でなく、吸着層内の空隙が少なかつたためであると考えられる。これは最大流量にも示されており、くん炭の最大流量は活性炭の約3分の1であった。ただし、活性炭についても吸着効果は認められており、くん炭と同様にマラカイトグリーン廃液の処理に使用可能であると考えられる。

また、吸着層内を十分に浸潤させることは効果の持続と向上に必要な不可欠であった。

本試験においては安価で簡易的な方法として、15Lプラスチックバケツをモデルとして用いたが、塩ビ管等、筒状のものであれば代用可能である。その際、吸着層の厚さは40cm程度以上で、吸着層の面積(バケツ、管の底面積)については廃液の最大流量と比例関係にあると仮定し、Xを廃液流量、yを吸着層面積とすると、 $y = 26.5 \times x$ で許容面積を求めることができると考えられる。両者の関係を下表に示す。

表 水量と吸着層の関係

	水量 (L/分)	バケツが満水になる時間(秒)		吸着層面積 (cm ²)	吸着層直径 (cm)	底面の穴 (φ6mm)の数
		10L	15L			
活性炭	20	30	45	530	26	59
	50	12	18	1330	41	147
	100	6	9	2650	58	294
くん炭	20	30	45	1640	46	182
	50	12	18	4100	72	455
	100	6	9	8190	102	909

冷水病菌のオイカワに対する病原性と保菌の可能性の検討

病理環境課 研究員 渡辺 寛子

1 目的

検査によって冷水病菌を持たないことを確認したアユ種苗を放流した河川でも、アユに冷水病が発生することがある。これは冷水病菌が河川に常在していることを示している。オイカワ、ウグイ等アユ以外の魚種においても冷水病の発病が報告されていることから、保菌したこれらの魚種からアユに冷水病が感染するのではないかと考えた。本研究では、アユ冷水病菌がオイカワに病原性を持つかどうか、またオイカワがアユ冷水病菌を保菌し続けるかについて検討した。

2 方法

村上産人工生産アユを同居感染によって冷水病に感染させ(原区)、その水槽の水を導入した水槽でアユとオイカワを飼育した。設定した試験区は、アユ 30 尾(試験区アユ)、オイカワ 20 尾(試験区 1)、アユ・オイカワ各 15 尾ずつ同居(試験区 2)、網もみど注射針により傷つけたオイカワ 20 尾(試験区 3)、網を張った水槽で飼育したオイカワ 20 尾(試験区 4)である。各試験区は 60L の水槽を用い、試験区 1 ~ 4 は試験区アユとコントロール区を同時に設定した。

冷水病による斃死かどうかは、斃死魚の腎臓、鰓を改変サイトファーガ寒天培地に塗抹する分離培養法によって判定した。また試験終了後、生残魚のうち 5 尾の腎臓および鰓について PCR 法を用いて冷水病原菌 *Flabobacterium psychrophilum* の検出を試み、保菌の有無を確認した。

試験区 4 のオイカワは試験後循環飼育を続け、3 ヶ月後に再び 5 尾の腎臓および鰓について PCR 法を用いて *F.psychrophilum* の検出を試みた。

3 結果

(原区)試験 7 日目から斃死が見られ、3 週間で 65 ~ 72 % の死亡率であった。斃死魚の腎臓および鰓から *F.psychrophilum* が分離された。

(試験区アユ)3 週間で 53 ~ 60% の死亡率であった。斃死魚の腎臓から *F.psychrophilum* が分離され、生残魚の腎臓および鰓から *F.psychrophilum* が検出された。

(試験区 1)斃死は見られなかった。生残魚の検査では、5 尾全ての鰓から冷水病菌が検出された。

(試験区 2)アユは 3 週間で 76% の死亡率であり、オイカワに斃死は見られなかった。斃死したアユの腎臓および鰓から *F.psychrophilum* が分離された。

アユおよびオイカワの生残魚の検査では、全ての鰓およびアユ 2 尾の腎臓から *F.psychrophilum* が検出された。

(試験区 3)1 尾の斃死が見られたが、腎臓および鰓から *F.psychrophilum* は分離されなかった。生残魚の保菌検査では、5 尾全ての鰓から *F.psychrophilum* が検出された。

(試験区 4)斃死は見られなかった。生残魚 5 尾の腎臓および鰓を検査したところ、全ての鰓から *F.psychrophilum* が検出された。3 ヶ月後に、5 尾の腎臓および鰓を検査したところ、*F.psychrophilum* は検出されなかった。

4 考察

アユに高い斃死を起こす菌であってもオイカワが発病することはなく、3 ヶ月後の検査から保菌し続ける可能性も低いと考えられる。今後、オイカワ以外の魚種からアユに冷水病が感染するかについても検討し、河川における冷水病菌の感染環を解明する必要があると思われる。

ニシキゴイと荷包紅鯉との交雑魚における耐病性とDNA マーカーとの関連性について

養殖課 主任研究員 佐藤 将

1 目的

核 DNA 由来のマイクロサテライトDNA マーカーは、両親の遺伝情報を引き継ぎ、単純なメンデル遺伝をする。ニジマスなどでは耐病性とマーカーの DNA 型との間に関連性があり 特定の DNA 型の個体は病気に強いことが知られている。これは耐病性と感受性から交雑魚 (F1) もどし交雑魚 (BC1) を作出し、耐病性と感受性との DNA 型を比較し関連性を見いだした。この解析には、F1 が約 100% 生残、BC1 は約 50% 生残する系統の組み合わせが必要になる。

ニシキゴイと荷包紅鯉との F1 は、新穴あき病原菌に直接浸漬する感染試験を行っても、へい死がほとんどない。一方、ニシキゴイはほとんどがへい死し、F1 とニシキゴイを交配した BC1 は、へい死と生残とがほぼ半々となる。これらを用い、ニジマス同様の解析を行うことで、DNA 型を指標に荷包紅鯉の病気に強い遺伝子のみをニシキゴイに取り込む育種が可能になると考えられる。

本研究では、病気に強いニシキゴイを作る新しい育種法に取り組むため、交雑魚 F1 もどし交雑魚 BC1 を用いて、新穴あき病に対する耐病性とDNA 型との関連性について調査した。

2 方法

供試魚 H14 に F1 (荷包紅鯉×紅白) および BC1 (H11 作出 F1×紅白) を作出した。F1・BC1 の作出に用いた雄親魚 (紅白) は同じ個体である。H15.5.21、養成した 1 歳魚 (F1 区 40 尾、BC1 区 28 尾) を PIT タグで個体識別した。外見から試験区を識別するため、F1 区は左腹鰭、BC1 区は右腹鰭を切除し、切除した鰭は DNA 分析に供するため、99.5% エタノール中に保存した。各供試魚は、800L の FRP 水槽に収容し、約 40 日間、通常の飼育を行った。

感染試験 H15.7.2、新穴あき病原菌の非定型 *Aeromonas salmonicida* の浸漬感染 (3.6×10^5 cfu/ml) を行い、へい死状況を観察した。へい死魚は、鰭切除の部位および PIT タグにて個体確認した。へい死の観察は H15.8.12 まで行い、最終的な生残魚を PIT タグにて個体確認した。

DNA 分析 基本的に Crooijmans ら (1997) および Aliah ら (1999) の方法に従い、5 つのマーカー (M1~5) の PCR 産物について、ABI377DNA シーケンサーを用いて電気泳動と解析を行った。

3 結果と考察

図 1 に新穴あき病感染試験による生残尾数の推移を示した。F1 区では観察期間中のへい死は認められなかったが、終了時のチェックで 1 尾不明魚があった。BC1 区ではへい死と生残とがほぼ半々であり、耐病性と DNA 型との関連性を比較するための供試魚として適当なことが示唆された。

F1 の M2, M3, M5、BC1 の M4 では、3 倍性を示すなど想定されない DNA 型が検出された (表 1)。これは、コイが 4 倍性であることや、ニシキゴイに染色体異常があることに関係するなどが考えられるが、詳細は不明である。また、F1 と BC1 との比較でも想定されない DNA 型があり F1 作出の際、H11 と H15 とで使用した親魚 (荷包紅鯉) が異なっていたことが考えられる。今回の結果では、DNA 型と耐病性との関連性は見られず、さらに多くのマーカーについて調査する必要がある。

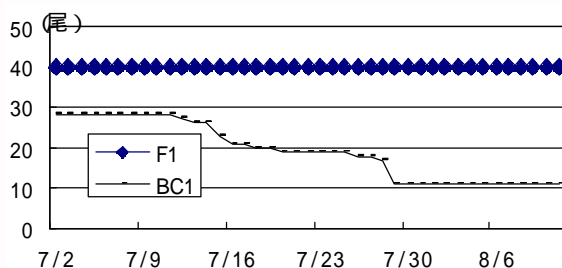


図 1 新穴あき病感染試験による生残尾数の推移

	F1	BC1
M1	AA/AB/BB	AA/AB/BB
M2	BC/BD/CE/CD/DE	AB/BB
M3	BC/BD/BCD	AB/BB
M4	CC/CD/DD	BB/AD
M5	BC/BE/CD/DE/BDE	AC/AE/CE/CC
M : マーカー		

コイ用人工精漿について

養殖課 主任研究員 佐藤 将

1 目的

ニシキゴイの種苗生産では、任意の交配組合せができることや高いふ化率が得られるといった利点から、人工採卵法を行う場合が多い。これまで人工採卵では、採取した精液をリンゲル液で 100 倍希釈したものを使用してきた。通常、NaCl 等の塩分濃度が高いリンゲル液中では精子は運動せず、水で希釈されることで精子は運動を開始する。しかしながら、精液をリンゲル液で希釈しても精子が運動する場合があります。ふ化率低下の一因となるため、何らかの対策が必要であった。

Magyary ら(1996)は、コイ精液の凍結保存を行うための希釈液として、Kurokura ら(1984)のコイ用人工精漿を改変したものを考案した。精漿は精液のうち精子を除いた液体の部分であり人工精漿はその化学的組成を人工的に再現したものである。内水面水産試験場では、試験的に Magyary らの改変コイ用人工精漿を用いたところ、精子の運動性の制御はもちろん、水での希釈後の活性も高く、冷蔵保存での保存性も高かった。しかし、これらは経験的に知ったことでありデータとしての蓄積がなかった。

本研究では、ニシキゴイ精液の保存溶液として適当と考えられる Magyary らの改変コイ用人工精漿の有効性について、種々のデータを得ることを目的とした。

2 方法

ニシキゴイ(紅白、三色)、マゴイ、パイテク魚から採取した精液を3種類の希釈液(コイ用人工精漿・淡水魚用リンゲル液・0.8%塩水)に100倍希釈した。各希釈液の組成は表1のとおりである。それぞれについて、希釈当日の希釈液ごとの活性と活性維持時間および長期保存での活性を調査した。活性の確認は、スライドグラス上で希釈精液1滴に対し水1~3滴を加え、顕微鏡(100倍)で観察を行った。希釈精液は、希釈直後から当日の検鏡まで、氷上に新聞紙を敷いたスチロール箱中に保管し、その後は一般家庭用冷蔵庫で保存した。

希釈液	組成
コイ用人工精漿	NaCl:3.6g, KCl:10.0g, CaCl ₂ :0.22g, MgCl ₂ :0.08g, NaHCO ₃ :0.2g, 蒸留水:1000ml
淡水魚用リンゲル液	NaCl:7.5g, KCl:0.2g, CaCl ₂ :0.2g, 蒸留水:1000ml
0.8%塩水	NaCl:8.0g, 蒸留水:1000ml

3 結果と考察

結果を表2,表3に示した。希釈当日の人工精漿の精子活性は高く、活性維持時間も極めて長かった。6/24のリンゲル液はpH調整を行わなかったため、希釈直後であっても精子の運動性が失われた。リンゲル液はNaHCO₃でpH7.2-7.6に調整する必要がある。長期保存では、水を加える前から精子の運動が観察されたが、人工精漿での運動性が高かった。人工精漿はコイ精液の希釈液として適当と考えられ、1週間程度であれば冷蔵保存も可能である。

表2 希釈液ごとの活性と維持時間							表3 長期保存した希釈精液の活性												
採精日	品種	希釈液	pH	活性	活性維持時間		採精日	品種	希釈液	7/18		7/22		活性維持時間					
					直後状態	運動停止				希釈前	活性	直後状態	運動停止	希釈前	活性	直後状態	運動停止		
6/24	紅白	人工精漿	8.0	+++	35s	8m<	7/15	紅白	人工精漿	+ -	++	20s	40s	+	+	30s	1m20s		
		リンゲル液	6.0	-	*	*			リンゲル液	<+ -	+	23s	56s	+ -	+	20s	40s		
		塩水	6.0	+	60s	3m<			塩水	+ -	++	20s	40s	-	+ -	*	*		
6/24	三色	人工精漿	8.0	+++	50s	3m<	7/15	マゴイ	人工精漿	<+ -	++	20s	40s	+	+	30s	45s		
		リンゲル液	6.0	-	*	*			7/15	ハイク魚	人工精漿	<+ -	++	22s	40s	-	+	30s	45s
		塩水	6.0	+	50s	1m30s					水で希釈直後の運動状態	+++ 90%以上, ++ 50%程度, + 10-30%, + : わずか, - 停止							
7/15	紅白	人工精漿	8.0	+++	45s	5m<	**水を加えず運動状態を観察												
		リンゲル液	7.4	++	35s	2m													
		塩水	7.4	+	30s	2m													

*水で希釈直後の運動状態
+++ 90%以上, ++ 50%程度, + 10-30%, + : わずか, - 停止

ニシキゴイ輸出方法改善試験 -

養殖課 専門研究員 小池 利通

1 目的

ニシキゴイを輸出する際に、輸送コストの軽減と輸送で活力を低下させない方法を開発する。

2 方法

(1)試験方法

試験 1 :平成 15 年 2 月 24 ~ 27 日に平均体重 57.2 ~ 72.6 g のニシキゴイ当才魚を用いて、袋詰め時間 48 時間 (静置)、25℃ 定温で行った。試験内容として輸送水への薬剤の添加 (エルバージュ、ピオトク)の有無、輸送補助剤 (アルフィッシュ)の有無、収容尾数 (30 ~ 50 尾)を設定した。輸送用袋は 53 × 100 cm、袋内の輸送水は 0.5 % 食塩水 8 ℓ とした。

試験 2 :平成 15 年 7 月 22 日 ~ 8 月 2 日に平均体重 36.5 ~ 41.1 g のニシキゴイ 2 才魚を用いて、袋詰め時間 42 時間 (静置時間 31 時間、自動車運搬 11 時間)、温度制御無し (23.6 ~ 27.5℃)で行った。試験内容として輸送補助剤 (アルフィッシュ)の有無、収容量 (3.0 ~ 4.0 kg)を設定した。輸送に使用した袋と水は試験 1 と同一とした。

(2)調査項目

袋内ガス濃度... O₂、CO₂

水質...水温、DO、pH、アンモニア、亜硝酸、硝酸、COD

試験水魚毒性...ヒメダカの斃死率

活力判定...横転魚数、麻酔時間 (FA100、1/5000 濃度)、鰓色 (度合 1 ~ 6)、追跡飼育

3 結果と考察

- 1)袋内 O₂ ガス濃度は、時間の経過とともに低下し、収容魚の多かった区ほどその度合は大きい傾向にあったが、アルフィッシュ有りの区の方が低下の度合は小さかった。
- 2)DO は収容魚の多かった区ほど低い傾向、アルフィッシュ有りの区の方が高い傾向にあった。
- 3)袋内 CO₂ ガス濃度は、時間の経過とともに増加し、収容魚の多かった区ほどその度合は大きい傾向にあったが、アルフィッシュ有りの区の方が増加の程度は小さかった。
- 4)アンモニア濃度は、収容魚の多かった区ほど高い傾向にあった。また、静止状態の試験より車による運搬を入れた試験の方が高かったが、これは揺動により魚の代謝が大きかったことによるものと考えられる。
- 5)試験終了時の横転魚の割合は、収容魚の多かった区ほど、また、車による輸送を入れた試験の方が高い傾向にあったが、アルフィッシュ有りの区の方が割合は少なかった。
- 6)エルバージュ、ピオトク添加による水質への影響は明確でなかった。
- 7)試験 1 でのアンモニア濃度 45 ~ 57 ppm の輸送水でヒメダカは 24 時間後に 100 % 斃死した。試験 2 での 150 ppm の水では 1 時間後に 15 ~ 20 %、200 ppm の水では同時間後に 90 % 斃死したが、14 時間後には両者とも 100 % 斃死した。
- 8)試験 2 の 9 日間の追跡飼育では、アルフィッシュ無しの 3.0 kg 収容で 39 %、有りの区では 3.0 kg 収容で 0 %、4.0 kg 収容で 36 % の斃死魚が見られた。
- 9)1 ~ 5,8)からニシキゴイの輸送にアルフィッシュの効果は高いものと考えられるが、7 ~ 8)から水質悪化による影響が考えられ、収容限界量や水質悪化防止、改善策について検討を要する。

新潟県におけるニシキゴイのコイヘルペスウイルス病 対策の取り組みと検査状況について

病理環境課 課長 山田 和雄

1 目的

コイヘルペスウイルス (Koi herpesvirus ;KHV) 病は、日本で発病が確認される以前に、イスラエル、欧州諸国、アメリカ合衆国、インドネシア等へと発生が拡大し、県内にも侵入する危険性が高まった。県内ニシキゴイ業界は、2001年10月からいち早くPCR検査を実施し、侵入時の早期の発見と蔓延防止に努め、合わせて輸出の際のKHV無病を確認することに取り組んできた。

また、県内におけるニシキゴイの発生はないが、マゴイでKHV陽性が確認された(へい死はない)後は、ニシキゴイ業界が移動自粛を実施し、輸出等に携わる対象養殖業者に対して、PCR検査を実施して陰性が確認されたものに移動自粛を解除する方針で、検査を進めている。

2 方法

2001年10～11月には、県内ニシキゴイ養殖業者20経営体を対象に、2002年12月には、県内ニシキゴイ養殖業者30経営体を対象に検査を実施した。2003年7～8月には、輸出をしている主なニシキゴイ養殖業者114経営体を対象にPCR検査を実施した。ニシキゴイに対しては直接殺して検査部位を採取できないため、選別して不要になった稚魚(0才魚)を同居飼育して検査魚とした。水温が18℃以下に下がる冬期間は、20～25℃に加温して3週間同居飼育をした。検査魚の飼育管理の確認、検体採集は業界から選任された代表者が、当試験場の指導のもとで行った。

検査は検査部位(鰓、腎臓、脾臓、心臓、または鰓のみ)を採取して、2～5尾をプールにして1検体として、PCR検査に供した。採取した組織をホモジナイズし、DNA抽出キットを用いて、DNAを抽出した。PCR検査は試料を反応試薬及びプライマーと混合して、プライマーは9/5F、9/5R及びSphF、SphRを用いた。反応産物はアガロースゲル電気泳動し、DNA断片の確認をした。KHV陽性対照には、KHV DNA (R.P.Hedrick博士から分与)を用いた。

3 結果と考察

2001年10～11月の検査では20経営体、2002年12月の検査では、30経営体全てで陰性が確認された。2003年7月の検査では、検査した114経営体全てで陰性が確認された。この間も県内ニシキゴイ養殖業者に対して、講習会、会議等を開催してKHVの知識普及に努め、早期に発見して蔓延を最小限に留めるように努めてきた。

しかし、茨城産マゴイを導入した釣り堀とマゴイ養殖場の2カ所で2003年11月にPCR検査の結果、陽性が確認された。これによって、県内ニシキゴイ業界は移動自粛を実施して、現在も継続中である。2003年12月からは、KHV陰性を確認するとともに、移動自粛を解除するために、輸出等に携わる養殖業者150経営体に対して、1経営体31尾、8検体のPCR検査を実施中である。

また、KHV安全基準を作成し、他から持ち込んだニシキゴイは水温を上げて3週間隔離飼育を行い、感染がないことを確認すること、使用器材、長靴、手の消毒をすること、使用する飼育水は河川水を使わないこと、飼育管理簿の記録を徹底することを指導している。