

人工種苗「土佐のあゆ」の種苗性評価事業

1 目的

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。このため各河川では、内水面漁協等が中心となり、アユ資源の保全・回復を目的とした種苗放流が行われている。その放流種苗には、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や、生態系を攪乱しないよう天然アユと同等の遺伝的多様性を持つことが求められる。

そこで本県では、高知県内水面漁業協同組合連合会と連携し、県内河川に遡上した天然魚を親魚とする、安全性（病原菌を持たない）及び遺伝的多様性の高い県産人工種苗「土佐のあゆ」の生産・放流に取り組んでいる。

本事業では、県産人工種苗の安定的な生産・放流体制の確立を目的として、天然親魚の採捕及び養成、並びに人工種苗の疾病の検査及び遺伝的多様性の評価を行った。加えて、放流技術の改善の一助とするため、放流後の人工種苗の河川への定着状況を調査した。

2 調査項目

- (1) 放流用人工種苗の生産に用いる親魚の採捕、養成及び保菌検査
- (2) 放流用人工種苗の遺伝的多様性の評価
- (3) 放流用人工種苗の保菌検査
- (4) 人工種苗の放流効果の把握

3 担当者

チーフ	石川 撤	(遺伝的多様性の評価、放流効果の把握)
主任研究員	稲葉太郎	(種苗生産に用いる親魚の採捕と養成)
研究員	中城 岳	(親魚及び放流用人工種苗の保菌検査)

1 放流用人工種苗の生産に用いる親魚の採捕、養成及び保菌検査

稲葉太郎・中城 岳

(1) 目的

遺伝的多様性の高い県産人工種苗「土佐のあゆ」を生産、放流するため、県内の河川に遡上した天然アユを採捕し、種苗生産用親魚として養成する。また、人工種苗の安全性を確保するため親魚の保菌検査を実施する。

(2) 材料と方法

2020年3月7日に奈半利川の田野井堰、2020年3月11日に安田川の焼山堰、2020年3月23日に新莊川の岡本堰において、すくい網及び電撃ショッカー（スミスルート社製）を用いて親魚候補となる天然アユを採捕した。電撃ショッカーの設定は、直流間欠通電、電圧300～400V、通電時間（Duty Cycle）12%、周波数（Frequency）30Hzとした。

採捕したアユは活魚車で高知県内水面漁業センター（以下「当センター」という。）に輸送し、採捕した河川別に屋外の50トン水槽に収容して約半年間養成した。また、輸送時の死魚の体重を測定、平均し、飼育開始時の平均体重とした。

養成した天然親魚（2020年F0群）は、2020年10月に当センターから種苗生産施設である高知県内水面種苗センター（以下「種苗センター」という。）へ活魚車で移送し、種苗センターで養成した親魚（2019年F1群）と併せて種苗生産用親魚とした。

親魚は雄10尾程度及び雌15～20程度を1ロットとした。卵は乾導法により受精させ、採卵マット（120cm×80cm程度）の両面に付着させた後、卵管理水槽に収容し、ふ化直前まで管理した。

また、種苗生産に供した全ての親魚について、1尾当たり数十mgの腎臓片を採取し、採卵ロットごとにまとめたものを1検体として、冷水病及びエドワジエラ・イクタルリ感染症の保菌検査を実施した。検査手法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。

(3) 結果と考察

1) 採捕及び輸送

奈半利川で1,248尾、安田川で1,989尾、新莊川で1,165尾の天然アユをそれぞれ採捕した。活魚車による輸送時の死魚数は奈半利川で26尾、安田川で49尾、新莊川で71尾であった。新莊川の岡本堰ではアユの集積が少なく、他の2河川よりも採捕に時間を要し魚体への負担が大きかったため、輸送時の死亡魚が多くなったと考えられた。

2) 養成

各河川で採捕した天然アユの養成結果を表1に、親魚養成水槽（奈半利川産の収容水槽）の水温の経過を図1に示した。いずれの親魚群も養成開始直後から死亡魚が発生し、死亡魚から冷水病菌が検出されたため、3月14日から5日間、フロルフェニコールを有効成分とする抗菌剤（商品名：水産用フロルフェニコール2%液「KS」）を投与した。しかし、死亡が継続したことから、

5月下旬にかけて計4回の投薬を実施し、水温が16℃を超えた6月に入ってようやく終息した。また、冷水病対策として養成開始時、また、4月、6月、7月及び8月に各1回の塩水浴を実施した。1回3日間を基本とし、塩分濃度は1.5%程度とした。塩水浴中の水温は、4月に22.5℃、6月に26.5℃、7月に31.6℃、8月に29.1℃まで上昇した。これらの対策の結果、種苗センターへの出荷前の検査では、いずれの親魚群からも冷水病菌は検出されなかった。なお、7月の塩水浴の際に安田川系で変形魚14尾がまとまって死亡したが、変形は主に短軀で、遊泳障害により摂餌量が少なく衰弱していた個体が、高水温に耐えられず死亡したものと考えられた。

給餌はクランブル飼料を推定魚体重の4%を基本に与え、雨天時には半量、荒天時及び塩水浴時は餌止めとした。

成熟の調整については10月中旬の採卵を企図し、5月29日から8月11日の期間に明期18時間、暗期6時間で長日処理を行った。養成終盤(9月29日時点)におけるGSIは、奈半利川産親魚で雄12.2、雌22.7、安田川産親魚で雄12.2、雌21.4、新莊川産親魚で雄12.3、雌23.8と十分な成熟が認められ、10月7日に種苗センターへ全てを移送した後、10月13日に採卵に供した。

奈半利川産の親魚は3月7日から10月7日までの養成の結果、1,002尾を取り上げた。生残率は82.0%(死亡魚には測定用にサンプリングした32尾を含む)で、同川産親魚の養成時の過去5年間の平均(96.0%)よりも低かった。餌料効率は0.73と過去5年間の平均(0.77)よりも低かったが、出荷時の平均体重は71.1gと、過去5年間の平均(46.5g)と比較して大きかった。

安田川産の親魚は、3月11日から10月6日までの養成の結果、1,694尾を取り上げた。生残率は87.3%(死亡魚には測定用にサンプリングした27尾を含む)で、前回の同川産親魚の養成時(2018年、97.7%)よりも低かった。餌料効率は0.73と前回(0.70)よりも高く、出荷時の平均体重は77.9gと、前回(39.5g)と比較して大きかった。

新莊川産の親魚は、3月23日から10月6日までの養成の結果、883尾を取り上げた。生残率は83.4%(死魚には測定用にサンプリングした23尾を含む)で、前回の同川産親魚の養成時(2019年、84.8%)と同程度であった。餌料効率は0.73と前回(0.76)よりも低かったが、出荷時の平均体重は62.2gと、前回(39.1g)と比較して大きかった。

3) 親魚の保菌検査

種苗生産に供した全ての親魚について、冷水病及びエドワジエラ・イクタルリ感染症の原因菌の保菌検査を実施したところ、いずれの原因菌も検出されなかった。

表1 親魚養成結果の概要

採捕河川(池番号)	奈半利川	新莊川	安田川
	(501)	(502)	(503)
親魚移送尾数	1,222	1,064	1,940
収容尾数	1,002	887	1,694
収容時の平均体重(g)	1.00	1.40	1.40
生残率	82.0%	83.4%	87.3%
出荷時の平均体重(g)	71.1	62.2	77.9
餌料効率	0.73	0.73	0.73
GSI	オス	12.3	11.7
	メス	24.9	22.3
排卵・放精済個体の数	0/12	0/10	0/10

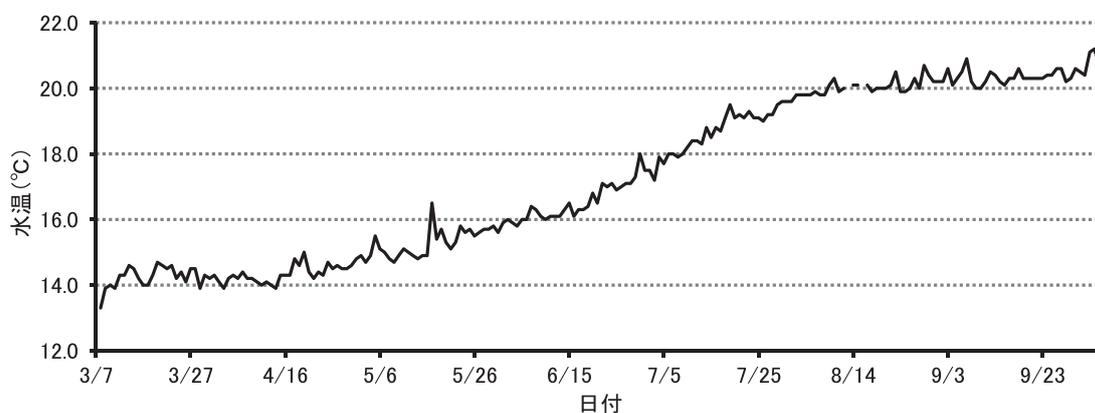


図1 親魚養成水槽（奈半利川産の収容水槽）の水温経過

2 放流用人工種苗の遺伝的多様性の評価

石川 徹・隅川 和

(1) 目的

放流種苗には、遺伝的攪乱を生じさせないように、天然アユと同等の遺伝的多様性を持つことが求められる。そこで、県産人工種苗「土佐のあゆ」の遺伝的多様性を評価した。

(2) 材料と方法

2020年度に放流したF1種苗（2019年度に養成した天然親魚を親とする種苗で、有効親魚数は約300尾。以下「2020F1」という。）とF2種苗（2019年度に生産したF1種苗を親とする種苗で、有効親魚数は約1,000尾。以下「2020F2」という。）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) および Hara et al. (2006) の2遺伝子座 (Palayu194 および 199) の計9遺伝子座について、マイクロサテライトDNA多型解析を行った。

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 (Ar)、ヘテロ接合体率の観察値 (H_0) と期待値 (H_e) をFSTAT (Goudet 2001) 及びARLEQUIN (Excoffier et al. 2007) で算出し、2020F1及び2020F2の遺伝的多様性について評価した。

(3) 結果と考察

2020年に放流した県産人工種苗(2020F1及び2020F2)の各遺伝子座のアリルリッチネス(Ar)及び平均ヘテロ接合体率(H_0 、 H_e)を表1に示した。なお、過去に放流した県産人工種苗8集団(2016~2019F1, F2)及び土佐湾産天然海産アユ7集団(占部ら 2018)の数値も比較のために併記した。

アリルリッチネスの各遺伝子座の平均は、2020F1及び2020F2でそれぞれ12.9及び12.1、過去に放流した人工種苗のF1種苗及びF2種苗でそれぞれ11.1~12.4及び10.2~11.2、天然海産アユで11.5~12.5であった。また、平均ヘテロ接合体率の観測値(H_0)は、2020F1及び2020F2でそれぞれ0.716及び0.709、過去に放流した県産人工種苗のF1種苗及びF2種苗でそれぞれ0.694~0.732及び0.69~0.714、天然海産アユで0.698~0.727であった。

県産人工種苗「土佐のあゆ」では遺伝的多様性を有することの指標としてアリルリッチネスで10以上、平均ヘテロ接合体率で0.7程度を目安としている。2020年に放流した人工種苗についてはアリルリッチネス及びヘテロ接合体率がいずれも目安とする値を満たしており、天然海産アユと同等の遺伝的多様性が保持されていたことが確認された。

表 1 2020 年に放流した人工種苗 2 集団 (2020F1, 2020F2) を含むアユ 17 集団のアリルリッチネス
及びヘテロ接合体率

遺伝子座	人工種苗										
	2020F1	2020F2	2019F1	2019F2	2018F1	2018F2	2017F1	2017F2	2016F1	2016F2	
Pal1	Ar	17.8	18.0	16.7	15.6	17.5	15.6	15.9	14.7	17.3	15.0
Pal2	Ar	15.8	12.0	18.7	14.6	14.8	14.8	14.0	13.8	16.9	15.0
Pal3	Ar	17.0	16.7	16.7	16.7	16.7	13.8	16.7	17.9	18.7	14.8
Pal4	Ar	15.9	18.6	24.2	20.6	22.7	15.7	19.6	19.8	22.2	19.8
Pal5	Ar	4.9	3.9	2.9	3.0	3.0	2.9	2.0	2.0	2.8	2.0
Pal6	Ar	8.9	6.0	6.0	6.8	7.0	5.9	7.9	6.9	7.6	7.0
Pal7	Ar	12.8	11.8	7.8	5.9	7.9	4.9	6.8	6.0	7.7	6.9
Palayu194	Ar	14.5	10.8	12.4	11.8	11.6	12.6	12.7	14.7	12.6	9.7
Palayu199	Ar	8.9	10.8	3.0	4.0	4.0	5.8	3.9	5.0	6.1	6.0
平均	Ar	12.9	12.1	12.0	11.0	11.7	10.2	11.1	11.2	12.4	10.7
	Ho	0.72	0.71	0.69	0.70	0.69	0.69	0.70	0.71	0.73	0.71
	He	0.79	0.76	0.74	0.76	0.75	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74

遺伝子座	天然遡上魚							
	松田川	新莊川	仁淀川	鏡川	物部川	伊尾木川	奈半利川	
Pal1	Ar	16.8	14.8	14.7	14.9	14.8	15.8	19.7
Pal2	Ar	15.8	15.9	14.0	18.6	17.6	16.7	16.7
Pal3	Ar	17.8	20.0	18.0	19.6	18.6	17.9	17.9
Pal4	Ar	18.8	25.2	20.9	21.6	22.6	26.3	22.8
Pal5	Ar	3.0	2.9	2.9	2.0	2.9	3.0	3.8
Pal6	Ar	7.9	7.0	8.9	7.8	8.9	8.9	7.0
Pal7	Ar	6.9	6.0	5.9	6.8	7.7	7.0	6.8
Palayu194	Ar	11.4	11.5	11.8	11.5	11.5	10.8	8.8
Palayu199	Ar	4.9	5.8	5.9	5.8	4.9	6.0	4.9
平均	Ar	11.5	12.1	11.5	12.1	12.2	12.5	12.1
	Ho	0.70	0.68	0.70	0.72	0.73	0.71	0.73
	He	0.72	0.73	0.74	0.73	0.73	0.74	0.72

アリルリッチネス:Ar, ヘテロ接合体率の観察値:Ho, ヘテロ接合体率の期待値:He

文献

- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. (2005) AREQUIN (version3.0) : An integrated software package for population genetics data analysis1. *Evol. Bioi. Online*, 1, 47-50.
- Goudet, J. (1995) FSTAT (Version 1.2) : A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.*, 86, 485-486.
- Takagi, M., Shoji, E. and Taniguchi, N. (1999) Microsatellite DNA polymorphism to reveal genetic divergence in ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.*, 65 (4), 507-512.
- Hara, M., Sakamoto, T., Sekino, M., Ohara, K., Matsuda, H., Kobayashi, M. and Taniguchi, N. (2006) Characterization of novel microsatellite DNA markers in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.*, 72, 208-210.
- 占部敦史, 隅川和 (2019) 人工種苗「土佐のあゆ」による資源添加技術の確立及び種苗性の確保, 高知県内水面漁業センター事業報告書, 第 30 巻, 26-28.

3 放流用人工種苗の保菌検査

石川 徹

(1) 目的

アユの放流用人工種苗には、天然アユ資源に大きなダメージを与える疾病の原因菌を保菌していないことが求められる。そこで、県産人工種苗「土佐のあゆ」の安全性を確保するため、冷水病及びエドワジェラ・イクタルリ感染症の原因菌の保菌検査を実施した。

(2) 材料と方法

2020年放流分の人工種苗（放流時期：2020年3月から5月）の全生産群12池（分槽先の池は同系統群として除く。）について、冷水病及びエドワジェラ・イクタルリ感染症の原因菌の保菌検査を実施した。

1池あたり60尾を無作為に抽出し、供試魚とした（10尾ずつを1検査ロットとして1池6ロット、合計12池72ロット）。保菌検査は「アユ疾病に関する防疫指針（アユ疾病対策協議会、2011年12月）」に従って実施した。

(3) 結果と考察

保菌検査を実施した12池72ロットのいずれからとも、冷水病菌及びエドワジェラ・イクタルリ感染症の原因菌は検出されなかった。

文献

アユ疾病に関する防疫指針. アユ疾病対策協議会 2011
魚病診断マニュアル. 養殖研究所魚病診断・研修センター 2008

4 人工種苗の放流効果の把握

石川 徹・隅川 和

(1) 目的

放流効果の高い人工種苗の生産および放流技術の開発に向けては、放流後の河川への定着状況の把握が不可欠である。そこで、人工種苗が河川でどのように成長し、漁獲に貢献しているのか調査した。

(2) 材料と方法

2020年6月5日から10月8日に高知県内の河川（奈半利川、四万十川、安田川及び吉野川）で採捕されたアユ553個体について、占部・海野（2018）の方法に従い側線上方横列鱗数（背鰭第5条基部）の計数による由来判別を行った。また、個体ごとの体重を測定し、同一地点、同一日に採捕されたアユについて人工と天然の平均体重を比較した。

(3) 結果と考察

採捕されたアユ553個体のうち、人工種苗由来のアユ（以下「人工」という。）は174個体（側線上方横列鱗数15枚以下）、天然由来（陸封型を含む。）のアユ（以下「天然」という。）は326個体（側線上方横列鱗数17枚以上）、また由来が判別できない個体（以下「不明」という。）は53個体（側線上方横列鱗数16枚）であり、全体の構成比率は人工31%、天然59%、不明10%であった（表1、表2）。

上流、中流及び下流の別で人工の混入率をみると、上流では0～100%の範囲で平均55%、中流では0～60%の範囲で平均21%、下流では15%と、上流にいくほど高くなる傾向が見られた（表1、表3）。

次に、漁法別の人工の混入率をみると、友釣りでは0～100%の範囲で平均37%、網及び火振では0～79%の範囲で平均29%となり、明確な差はみられなかった（表1、表4）。

また、時期別の人工の混入率をみると、6月から7月では0～100%の範囲で平均36%、9月から10月では0～71%の範囲で平均37%と、明確な差はみられなかった（表1、表5）。

人工の混入率の多寡は、採捕場所における各由来魚の構成比率に依存していたと考えられ、天然遡上が少なく、放流により人工の密度的優位が保たれる上流で高くなる傾向がみられた。一方、漁法や時期では明瞭な差がなく、人工が友釣りで釣獲されにくいことを示す根拠は得られなかった。

同一地点、同一日に採捕されたアユについて、人工と天然の平均体重を t 検定により比較すると、17例中6例で人工よりも天然が有意に大きく、人工が天然よりも有意に大きい例はみられなかった（表1）。これは、2020年の天然遡上が例年よりも早く、早い時期に大型に成長した天然個体が多かったためと考えられる。

表 1 アユの由来判別等の結果

採捕日	採捕場所等			漁獲方法	採捕 個体数 (尾)	人工			天然		人工・天然 体重比較	
	河川	流域	採捕場所			個体数 (尾)	混入率 (%)	体重 (g)	個体数 (尾)	体重 (g)	T test P-value	備考
6月19日	四万十川	上流	大野見	友釣り	18	16	89%	51.2 ± 10.5	2	43.9 ± 4.9	0.2376	
6月19日	四万十川	上流	東津野	友釣り	13	13	100%	64.5 ± 19.9	0	±		
6月19日	四万十川	上流	松葉川	友釣り	10	0	0%	±	10	78.9 ± 17.6		
7月21日	四万十川	上流	大野見	網	19	15	79%	44.7 ± 9.9	4	72.9 ± 15.4	0.0258	天然>人工
7月23日	四万十川	上流	三堰	友釣り	19	8	42%	32.6 ± 11.9	11	34.1 ± 11.5	0.7899	
7月23日	四万十川	上流	松葉川(上秋丸)	網	23	5	22%	60.1 ± 34.6	18	77.5 ± 29.3	0.3442	
7月24日	四万十川	上流	大野見	友釣り	11	0	0%	±	11	83.5 ± 36.3		
7月24日	四万十川	上流	三堰	火振	35	14	40%	36.7 ± 13.8	21	42.8 ± 20.0	0.2917	
10月1日	四万十川	上流	津賀野川	友釣り	13	7	54%	62.5 ± 5.7	6	75.5 ± 5.7	0.0017	天然>人工
10月7日	四万十川	上流	作屋	友釣り	7	5	71%	92.5 ± 8.3	2	147.1 ± 18.7	0.1571	
10月8日	四万十川	上流	津賀野川	友釣り	2	0	0%	±	2	86.7 ± 3.2		
6月5日	四万十川	中流	大正	友釣り	18	0	0%	±	18	51.4 ± 12.1		
6月5日	四万十川	中流	十和三島	友釣り	3	0	0%	±	3	53.5 ± 3.1		
6月19日	四万十川	中流	大正	友釣り	13	1	8%	69.1 ±	12	69.6 ± 17.6		
6月25日	四万十川	中流	今なり	友釣り	21	0	0%	±	21	83.7 ± 20.3		
6月25日	四万十川	中流	昭和	友釣り	18	0	0%	±	18	64.7 ± 13.1		
6月25日	四万十川	中流	長生	友釣り	20	4	20%	59.2 ± 9.1	16	71.9 ± 23.9	0.1133	
7月23日	四万十川	中流	大正	友釣り	5	3	60%	56.8 ± 9.5	2	51.3 ± 28.8	0.8370	
7月23日	四万十川	中流	十和	友釣り	14	2	14%	43.2 ± 6.4	12	60.2 ± 35.8	0.1583	
6月17日	奈半利川	上流	小川	友釣り	7	7	100%	46.4 ± 9.4	0	±		
7月15日	奈半利川	上流	小川	友釣り	20	19	95%	53.7 ± 18.2	1	42.2 ±		
7月15日	奈半利川	中流	奈半利川中	友釣り	15	9	60%	63.2 ± 10.1	6	69.1 ± 8.5	0.2502	
7月15日	奈半利川	下流	奈半利川下	友釣り	20	3	15%	49.9 ± 4.5	17	52.8 ± 8.7	0.4338	
9月15日	仁淀川	中流	柳瀬	火振	47	1	2%	39.8 ±	46	64.5 ± 23.5		
7月8日	安田川	中流	-	友釣り	17	4	24%	40.8 ± 4.4	13	58.4 ± 10.3	0.0003	天然>人工
7月31日	安田川	中流	-	友釣り	24	5	21%	56.3 ± 7.5	19	69.6 ± 14.1	0.0144	天然>人工
9月26日	安田川	中流	-	友釣り	20	12	60%	57.4 ± 9.1	8	66.7 ± 9.0	0.0392	天然>人工
9月27日	安田川	中流	-	友釣り	18	5	28%	51.0 ± 10.1	13	75.1 ± 29.6	0.0206	天然>人工
10月3日	安田川	中流	-	友釣り	8	1	13%	30.3 ±	7	60.7 ± 19.0		
6月17日	吉野川	上流	地藏寺川合流点	友釣り	11	9	82%	83.6 ± 27.6	2	99.4 ± 59.3	0.7767	

表 2 採捕個体に占める人工と天然の個体数及び比率

	人工種苗由来	天然由来	不明	合計
個体数	174	326	53	553
比率	31%	59%	10%	100%

表 3 上流、中流及び下流の別の人工種苗の混入率

	調査点数	混入率		
		最小	最大	平均
上流	14	0%	100%	55%
中流	15	0%	60%	21%
下流	1	-	15%	-

表 4 漁法別の人工種苗の混入率

	調査点数	混入率		
		最小	最大	平均
友釣り	26	0%	100%	37%
網・火振	5	0%	79%	29%

表5 時期別の人工種苗の混入率

	調査点数	混入率		
		最小	最大	平均
6～7月	26	0%	100%	36%
9～10月	5	0%	71%	37%

文献

占部 敦史・海野 徹也 (2018) 人工および天然アユにおける計数形質の比較. 水産学会誌, 84, 70-80.