

## 事前試験研究

-----  
研究課題：塩類溶液を用いた水カビ病防除法の開発

担当者名：三浦 正之

予算区分：県単

研究期間：平成 18 年～  
-----

## 背景および目的

アユ *Plecoglossus altivelis* の種苗生産過程で、深刻な問題となっている病気のひとつに卵に発生する水カビ病がある。水カビ病とは採卵したアユ卵を孵化まで管理する過程で、卵の表面にサプロレグニア属などの真菌類が寄生することによって卵の呼吸を阻害し、死滅させる病気である。

アユの種苗生産過程において、卵の水カビ病対策には、従来、安価で極めて効果が高いマラカイトグリーンが使用されてきた。しかし、マラカイトグリーンは薬事法の改正によって、平成 17 年 8 月以降完全に使用禁止となった。代替薬として、プロノポールを主成分としたパイセス(ノバルティス)が水カビ病防除剤として承認されたが、卵体積よりもはるかに大きい体積の付着器材で管理されるアユ卵は、薬浴時に高価格であるパイセスを大量に使用しなくてはならず、コストの面で深刻な問題となっている。また、パイセスは毎日の薬浴が必要となるため、労力の面でも問題がある。

ところで、当所では、水カビ病が淡水魚特有の疾病であり、海水魚には極めて発生しにくいという点に着目し、平成 17 年度にいくつかの塩類を用いて、水カビ病の防除に関する予備的な実験を行った。その結果、海水成分中である、塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウム、塩化カリウムなどのうち、塩化カリウム(以下「KCL」という)が水カビ病防除に有効である可能性が高いことが示唆された。

本研究では、予備試験の結果をもとに、KCL が水カビ病原菌に及ぼす影響を詳細に調査するとともに、実際にアユ卵を KCL 溶液中で管理することによって水カビ病を防除することが可能かどうか検討を行う。本研究で KCL が水カビ病防除に有効であることが明らかとなれば、コスト、労力ともに非常に優れた手法として実用化できる可能性は高く、さらに KCL は食品添加物としても承認されており、食の安全性の面からも使用に際して、問題は極めて少ない。

## 材料および方法

### 試験 1 実験室内で KCL が水カビ病原菌に及ぼす影響

供試菌 水カビ病原菌である *Saprolegnia diclina*(以下「*S. diclina*」という) NJM0246 および *Saprolegnia parasitica*(以下「*S. parasitica*」という) ATCC90213 を用いる。

#### 試験 1-1 KCL が水カビ菌糸の生育に及ぼす影響

所定の KCL 濃度に調整した試験管内の GY 液体培地中に菌糸を生育させた寒天ブロックを 1 個加え、20 °C で静置し、24、48 および 72 時間後に伸長した菌糸の長さをデジタルノギス(Mitutoyo)を用いて測定する。試験区は 0、0.03、0.06、0.12、0.24、0.48、0.96、1.92 および 3.84 % とする。

### 試験1-2 KCL が水カビ遊走子の発芽に及ぼす影響

ガラスシャーレ内で所定濃度の KCL 溶液 10.0 mL と、遊走子浮遊液を 10.0 mL を混合し、その 24 時間後に発芽に必要な GY 液体培地を 1.0 mL 添加後、その 3 時間後に倒立顕微鏡を用いて、無作為に選択した 100 個の遊走子の発芽状況を観察し、発芽率を算出する。試験区は 0、0.03、0.06、0.12、0.24、0.48、0.96、1.92 および 3.84 %とする。

### 試験1-3 KCL が水カビ遊走子の運動性に及ぼす影響

所定濃度の KCL 溶液 10 mL と遊走子浮遊液 10 mL をガラスシャーレ内で混合した後に 20 秒間シャーレを動かすことによって静かに攪拌し、その 40 秒後に倒立顕微鏡を用いて、遊走子の運動状況を観察する。試験区は 0、0.0025、0.005、0.01、0.15、0.03、0.06、0.12、0.24 および 0.48 %とする。

## 試験2 KCL がアユ卵の水カビ病発生に及ぼす影響

### 供試卵

供試卵は海産系アユ雌親魚 2~4 尾から採卵したものを用いる。採精は雄親魚 4 尾から採取し、乾導法によって受精させた後に、受精卵をスライドガラス 1 枚あたり、150 粒程度付着させたものを試験に供する。

### 卵管理

3L 容ガラス製ビーカーに所定の濃度の塩類溶液を調整し、前述したアユ卵をその中に収容し、18.0 °C のインキュベーター内で発眼期まで管理する。試験区は 0、0.03、0.06、0.12 % およびパイセス区とし、パイセス区は受精翌日から毎日 100 ppm、30 分のパイセスによる薬浴を行う。

発眼率および水カビ付着率は受精後 7 日目にそれぞれ試験開始時の着卵数に占める発眼卵数の割合、試験開始時の着卵数に占める水カビ付着卵数の割合から算出する。また、発眼後は地下水を満たした 500 mL 容のポリ瓶に収容し、18.0 °C のインキュベーター内で孵化まで無通気で管理する。孵化率は発眼卵数に対する孵化尾数の割合から算出し、奇形率は孵化尾数に対する奇形尾数(肉眼での形態異常)の割合から算出する。

### 期待される効果と活用面

- KCL が水カビ病に与える影響について調査された研究は過去にひとつもない。
- 当所のアユ種苗生産に速やかに応用することが可能である。
- コイ・マス類等の他魚種の卵だけでなく、淡水魚の魚体に感染する水カビ病に対しても応用できる可能性がある。
- 価格・簡便性・食の安全の面で、優れた手法となり得る。