

医薬品を使用しないサケ・マス卵のミズカビ病対策

熊谷 明*¹・須藤篤史*²

Control of fungal infection of salmonid eggs by the treatments without drugs

Akira KUMAGAI *¹・Atsushi SUTO*²

キーワード：サケ・マス卵，ミズカビ病，対策，医薬品非使用

卵のミズカビ病防除対策は，サケ・マス類の種苗生産において最も重要な課題である。本病に対してはマラカイトグリーン（MG）が有効であるが¹⁾，使用後のMG廃液の環境への負荷が大きいことから，使用廃液を吸着する等の条件のもとで，MG液へ卵を定期的に浸漬する方法が予防対策としてとられていた。しかしながら，MGが魚体や卵に長期間残留することや^{2,3)}，発癌性が疑われていること⁴⁾から，平成15年7月30日の薬事法等の一部改正に伴い，平成17年7月31日以降食用に供する水産動物の養殖及び種苗生産において，MGの使用が禁止された。

現在，食の安全と安心，環境への負荷の低減は最重要課題であり，より安全・安心な養殖魚を生産するために，薬剤を使用しないサケ・マス卵のミズカビ病対策の確立が求められている。卵のミズカビ病ではミズカビが最初に死卵にしか感染しないため，いかに発眼率を上げるかがまず重要であるとの観点から，採卵・受精から卵管理工程における発眼率を上げるための留意事項を実験的に検証した。

材料と方法

1 親魚選別効果の検討

河川遡上シロサケ親魚群から外見上正常なブナの大型

魚のみ約300尾を選別した後，これらから820,000粒を採卵し，420,000粒と400,000粒の2群に分けた。420,000粒の群を選別親魚区とし，そのままボックス式ふ化槽に収容した。一方，400,000粒の群を未選別対照区とし，ギンケや小型魚から得られた卵20,000粒（5%）を添加して同ふ化槽に収容した（表1）。発眼期に死卵におけるミズカビの感染率（死卵200～300粒におけるミズカビ感染卵の割合）と発眼率を求め， χ^2 検定で有意差（ $P<0.05$ ）の有無を検討した。また，発眼率から有効率（%：1-処理区死亡率/対照区死亡率）を算出した。

2 卵洗浄効果の検討

通常の方法により採卵したシロサケ未受精卵を77,000粒ずつの2群に分けて，1群を洗浄区とし，媒精後，吸水槽に1時間収容し完全に吸水させて，潰卵や精液を除去してから増収型アトキンス式ふ化槽に収容した。一方，残りの1群を未洗浄対照区とし，媒精，接水後，直ちに同ふ化槽に収容した（表1）。前述の方法で有効性を判定した。

3 注水量の検討

通常の方法により得られたシロサケ受精卵を完全に吸水させた後，318,000粒ずつ3群に分け，各群をそれぞれボックス式ふ化槽に収容した。これらの3ふ化槽に毎分50, 75, 100Lずつ注水し，注水量の増加による発眼率向上効果を，前述の方法で検討した（表1）。

*¹内水面水産試験場，*²水産研究開発センター

表1 各試験の卵収容条件等

試験項目	魚種	試験Lot	供試卵数 (粒/区)	ふ化盆密度 (%)	ふ化槽	収容方法 (1区当たり)	水温	受精から検卵 までの日数	検卵時の積 算水温(°C)
親魚選別	シロサケ	1	420,000	—	ボックス式(350L)	直接収容	11.9~13.7	24	306
卵洗浄	シロサケ	1	77,000	—	増収型アトキンス(150L)	直接収容	13.6~14.6	21	298
注水量	シロサケ	1	318,000	—	ボックス式(350L)	直接収容	12.0~13.8	24	308
ふ化用水反復使用	シロサケ	1	50,000	—	増収型アトキンス(150L)	直接収容	13.9~14.7	24	345
卵攪拌	シロサケ	1	313,000	—	ボックス式(350L)	直接収容	13.9~14.7	22	316
ふ化盆密度	イワナ	1	750~3,000	30~120	アトキンス式(188L)	ふ化盆 1枚	8.9~10.1	36	345
		2	750~3,000	30~120	〃	〃	8.9~10.1	36	345
死卵除去	ニジマス	1	2100	—	〃	〃	7.5~8.5	31	252
		ヤمام	1	4200	—	〃	〃	9.5~10	31
	2	2400	—	〃	ふ化盆 2枚	〃	9~10	28	272
	イワナ	1	3300	—	〃	〃	9~10	32	306
		2	3600	—	〃	〃	〃	34	255
	ギンザケ	1	3900	—	〃	〃	9~9.5	29	265
2	2600	—	〃	〃	〃	〃	28	256	

4 ふ化用水反復使用の影響の検討

通常の方法により得られたシロサケ受精卵を完全に吸水させた後、50,000粒ずつ8群に分けた。このうち4群を、2槽連結した増収型アトキンスふ化槽(1間槽)の4区分(2区分/槽×2槽)に収容し、1段目から4段目までの発眼率等を前述の方法で比較した。また、残りの4群については、同ふ化槽2槽を個別に設置し、それぞれの2区分に1群ずつ収容し、上段と下段で発眼率等を比較した(表1)。

5 卵の攪拌の影響の検討

通常の方法により得られたシロサケ受精卵を完全に吸水させた後、313,000粒ずつ2群に分け、それぞれボックス式ふ化槽に収容した。このうち1群を卵攪拌区とし、死卵にミズカビの感染が確認された収容後7日目以降、週2回ずつ、目合い2cm四方のステンレス製の網を用い、ふ化槽内をゆっくり移動する方法で、卵を攪拌した(表1)。残りの1群については攪拌しなかった。前述の方法で有効性を判定した。

6 ふ化盆における卵収容密度の影響の検討

通常の方法により得られたイワナ受精卵を完全に吸水させた後、ふ化盆全体に一層に隙間なく卵を収容した時の卵重を求めた。そして、これに対し30, 60, 90, 120%の卵を計量し、それぞれの卵をふ化盆1枚ずつに収容した。各試験区間の発眼率等を前述の方法で比較した。同様の試験を2回実施した(表1)。

7 死卵除去効果の検討

ニジマス、ヤمام、イワナ、ギンザケ受精卵を供試し、受精吸水完了後に死卵を除去して収容する1回除去区、

その後も毎週1回ふ化盆を水中から取り上げ死卵を除去する毎週除去区、および受精吸水以降全く死卵を除去しない対照区を設定した(表1)。各試験区間の発眼率等を前述の方法で比較した。一部の毎週除去区と対照区については、浮上時まで飼育を継続し、ふ化率と浮上率を求め、ふ化・浮上に及ぼす毎週除去によるハンドリングの影響の有無を検討した。

結 果

1 親魚選別効果の検討

発眼率は未選別対照区の80.1%に対し、選別親魚区では95.5%と有意に高く($p < 0.05$, χ^2 検定)、有効率は77.4%であった。一方、死卵におけるミズカビ感染率は70.9~73.4%と両試験区間に差がなかった(図1A, 表3)。

2 卵洗浄効果の検討

発眼率は未洗浄対照区の71.6%に対し、洗浄区では89.6%と有意に高く($p < 0.05$, 同)、有効率は63.4%であった。また、死卵におけるミズカビ感染率は、未洗浄対照区が96.2%、洗浄区が19.1%と両者に有意差($p < 0.05$, 同)が認められた(図1B, 表3)。

3 注水量の検討

各区の発眼率は83.5~87.3%、死卵におけるミズカビ感染率は66.2~74.3%といずれも有意差はなく、注水量を増加させても発眼率の上昇やミズカビ感染率の低下は認められなかった(図1C, 表3)。

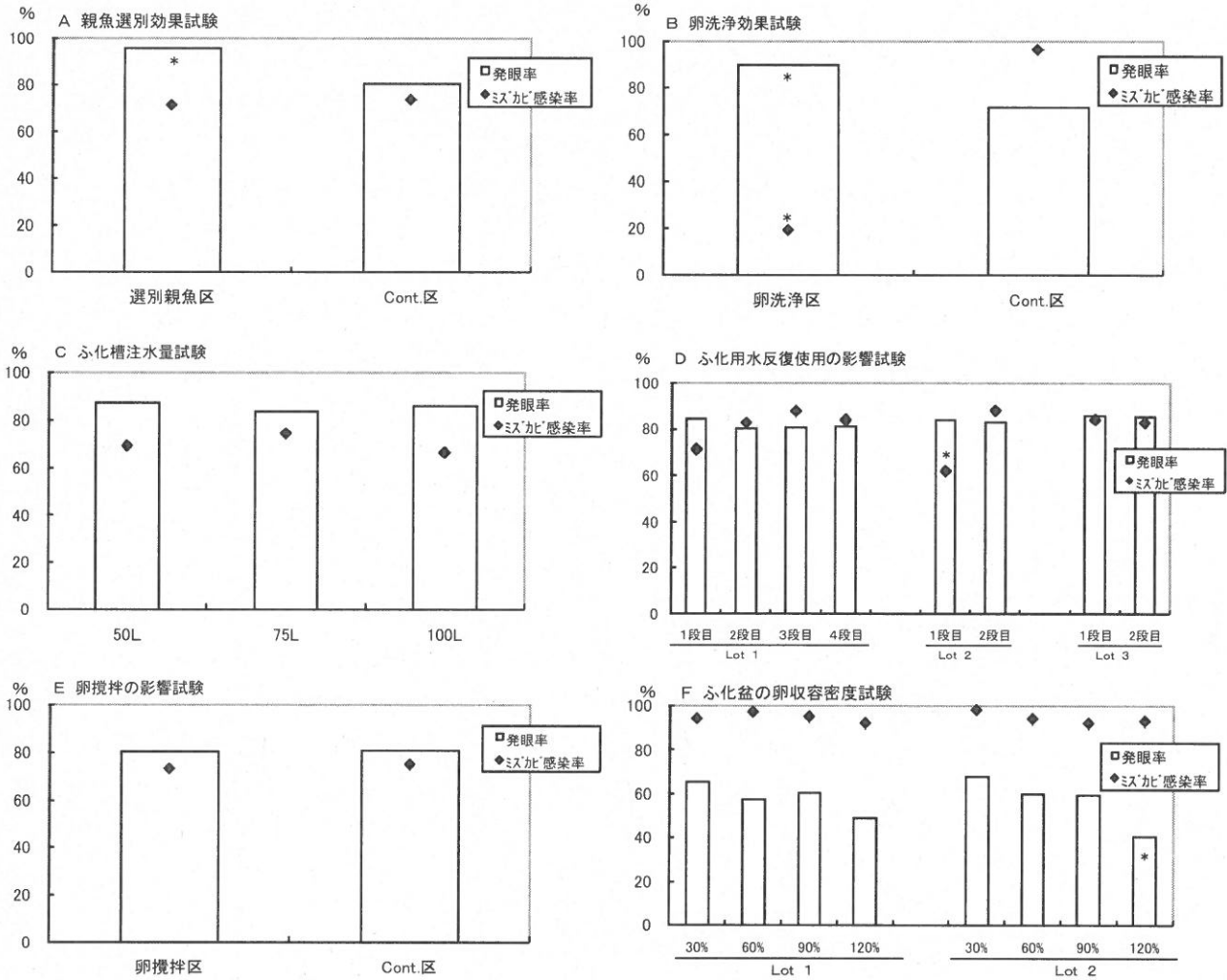


図1 各試験の発眼率と死卵における水カビ感染率
*: χ^2 検定, $p < 0.05$

4 ふ化用水反復使用の影響の検討

各区分の発眼率は Lot1 が 80.2~84.4%, Lot2 が 83.2~84.2%, Lot3 が 85.4~85.9% で、いずれの Lot においても上流から下流に配置された区分間に有意差がなく、ふ化用水の反復使用に伴う発眼率の低下は認められなかった。また、ミズカビ感染率については、Lot2 のみ 1 段目が 61.7%, 2 段目が 87.7% と、2 段目で有意に増加したが ($p < 0.05$, 同), Lot1 および Lot3 では有意差が認められなかった (図 1D, 表 3)。

5 卵の攪拌の影響の検討

発眼率は 80.5~80.9%, 死卵におけるミズカビ感染率は 73.2~74.7% であり、両試験区間に有意差はなく、攪拌の影響による発眼率の低下は認められなかった (図 1E,

表 3)。

6 ふ化盆における卵収容密度の影響の検討

Lot1 では発眼率が 30% 区の 65.4% に対し 120% 区では 48.9%, Lot2 では 30% 区の 67.8% に対し 120% 区では 40.9% と、両 Lot ともにふ化盆の卵収容密度が高くなるほど発眼率が低下する傾向が認められ、特に 120% 区で大きく低下した (Lot.2 の 120% 区: $p < 0.05$)。一方、死卵におけるミズカビ感染率は Lot1 が 92.2~96.9%, Lot2 が 92.1~97.7% と、両 Lot ともに卵収容密度間に差がなかった (図 1F, 表 3)。

7 死卵除去効果の検討

1 回除去区の発眼率は、7Lot のうちイワナの Lot1, ギンザケ Lot2 を除く 5Lot で、いずれも対照区に比べ 2~

23%高く (2Lot で有意差あり), これらの有効率は-4.6~37.8% (平均 12.9%) であった。一方, 毎週除去区については, 6Lot のうちギンザケ Lot2 を除く 5Lot で, 発眼率が対照区に比べ 8~40% 高く (3Lot で有意差あり), これらの有効率は-3.1~47.1% (平均 26.1%) であり, 高い有効性が認められた (図 2, 表 3)。また, ふ化率, 浮上率に及ぼす毎週除去のハンドリングの影響について検討した 3 Lot における毎週除去区と対照区のふ化率はそれぞれ 97~98% と 89~97%, 両試験区の浮上率はそれぞれ 97~99% と 96~99% であり, いずれも差が認められなかった (表 2)。

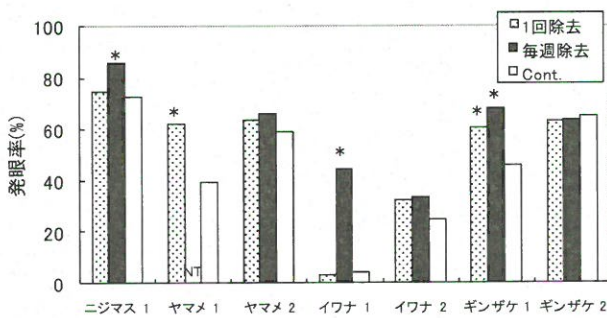


図 2 死卵除去試験の発眼率

表 2 死卵除去試験のふ化率と浮上率

Lot No	ふ化率 (%)		浮上率 (%)	
	毎週除去区	対照区	毎週除去区	対照区
イワナ 2	97.5	96.5	97.8	96.4
ギンザケ 1	98.3	92.7	98.6	99.3
ギンザケ 2	97.1	89.1	99.3	97.9

表 3 各試験の有効率

試験項目	試験条件 魚種	回数	有効率		備考*
			平均	(最大-最小)	
親魚選別	シロサケ	1	77.4		対照区
卵洗浄	シロサケ	1	63.4		〃
注水量	シロサケ 75L	1	-29.9		毎分 50L
	シロサケ 100L	1	-11.0		〃
ふ化用水反復使用	シロサケ 1段目	3	10.2	(3.4 - 21.2)	2段目
卵攪拌	シロサケ	1	-2.1		対照区
	シロサケ	1	-2.1		〃
ふ化盆密度	イワナ 30%	2	38.9	(32.3 - 45.8)	120%
	イワナ 60%	2	24.3	(16.4 - 32.1)	〃
	イワナ 90%	2	27.3	(23.1 - 31.4)	〃
1回死卵除去	ニジマス	1	8.1		対照区
	ヤマメ	2	24.8	(11.7 - 37.8)	〃
	イワナ	2	4.7	(-0.9 - 10.3)	〃
	ギンザケ	2	11.6	(-4.6 - 27.7)	〃
毎週死卵除去	ニジマス	1	47.1		〃
	ヤマメ	1	18.2		〃
	イワナ	2	26.8	(11.5 - 42.1)	〃
	ギンザケ	2	18.9	(-3.1 - 40.9)	〃

* 有効率の算出のための基準とした試験区

考 察

シロサケのふ化場では採卵親魚数に余裕があり, いわゆる外観上立派なブナの大型魚のみから採卵した場合に発眼率が高いが, 採卵親魚数に余裕がなく, ギンケや小型魚も採卵親魚として使用せざるを得ない場合には発眼率が低下する傾向がある。親魚選別効果を検討した試験において, ギンケや小型魚から得られた卵を 5% 添加した試験区では, 対照区に比べ発眼率が約 15% 低下した。卵のミズカビ病では死卵に感染した菌糸が生卵に蔓延することから, 収容当初の死卵 (体内死卵や前期死卵) の数量がその後の卵の発眼率に大きく影響を及ぼす。これらギンケや小型親魚から得られた卵に質の悪いものが混入していた可能性が高く, 実際の採卵に当たってはできる限りこれら親魚の使用を避けることが重要である。

卵洗浄効果を検討した試験において, 受精・接水後に直ちに収容した試験区の発眼率は, 完全吸水後に卵洗浄を十分に行って余分な精液や死卵・潰卵等を除去して収容した試験区に比べて 18% 低下した。完全吸水後に収容した卵は, ふ化槽内において卵と卵の間に隙間が生じ通水が良好であるが, 不十分な吸水状態でふ化槽に収容した卵では卵間の隙間が狭く, さらに余分な精子や夾雑物が存在していることにより, 卵の集塊が生じやすい。この結果, ふ化槽内の水の流れに偏りが生じ, 酸素欠乏やミズカビ病の蔓延により発眼率が低下すると考えられる。一部のふ化場では採卵場所の立地条件の関係で, 無接水でふ化場に運搬し, 不十分な吸水・洗卵で収容している事例があるが, 十分に吸水し, 洗卵した卵を収容すべきである。

毎分 50, 75, 100L を注水したボックス式ふ化槽間の発眼率に大きな差がなかったことから, 注水量は毎分 50L (50 万粒) 以上あれば十分であると考えられる。また, ふ化槽を多段式に配置することによるふ化用水の反復使用が発眼率に与える影響を検討した結果, 上段側と下段側の発眼率には差が無く, ふ化槽の多段配置も問題ないと考えられる。

シロサケ卵は卵分割が開始する受精後 9 時間以降から積算水温 300℃ までは衝撃に弱い⁵⁾ が, 本研究で収容 1 週間後から週 2 回ずつゆっくりと卵を攪拌しても発眼率

の大きな低下なかった。ミズカビ病の蔓延によりふ化槽内で大きな卵の集塊が形成された場合、酸欠死やさらなるミズカビ病の進行を防除するために、ゆっくりとした攪拌は有効であると考えられる。

ふ化盆に收容する卵の密度について検討した結果、收容密度が高くなるほど発眼率が低下する傾向が認められ、特に120%区で大きく低下した。卵の收容密度が100%以上になると、死卵と生卵が密着しているため、死卵に感染したミズカビ菌糸が生卵にも感染しやすくなることや、ふ化盆全体の通水が悪くなり酸素欠乏状態が起こることが考えられる。

卵のミズカビ病では、菌糸が始めに死卵に感染し増殖しながら、1週間程度で隣接する生卵を侵す。本研究において、毎週1回ずつ死卵を除去することにより、ふ化率と浮上率に影響を与えることなく発眼率を向上させることが明らかとなった。また、收容時のみの1回死卵除去でもある程度の有効性が確認されたことから、シロサケふ化場のように、採卵数が多く、ボックス式ふ化槽や増収型ふ化槽を利用するところでは、定期的な死卵除去は困難であるが、少なくとも收容時の死卵除去は励行すべきと考えられる。

要 約

医薬品を使用しないサケ・マス卵のミズカビ病防除法を確立することを目的として、採卵・受精から卵管理工程における発眼率を上げるための留意事項を実験的に検証した。

1) 親魚選別を徹底し、良質卵のみを採卵すること、およ

び吸水後の卵洗浄を十分に行い、余分な精液や潰卵・死卵を除去して收容することが、発眼率を向上させる上で重要であった。

- 2) ふ化盆を使用するふ化場ではふ化盆への收容密度を90%以下にすること、および毎週1回ずつ死卵を除去することも有効であった。これら一連の事項を徹底することにより、医薬品を使用しない卵のミズカビ病対策が可能であった。
- 3) 注水量は卵50万粒当たり毎分50Lあれば十分で、ふ化槽の多段式配置による用水の反復利用が発眼率に与える影響も少なかった。
- 4) 收容1週間後から週2回ずつゆっくりと卵を攪拌しても影響は少ないことが明らかとなった。ミズカビ病の蔓延によりふ化槽内で大きな卵の集塊が形成された場合、酸欠死やさらなるミズカビ病の進行を防除するために、ゆっくりとした攪拌は有効であると考えられる。

謝 辞

シロサケ卵を使用した一連の研究の実施にあたり本吉町鮭増殖組合及川慶一氏に多大な御協力をいただいた。ここに厚く御礼申し上げます。また、本研究推進に御協力いただいた内水面水産試験場職員に心から感謝申し上げます。本研究は(社)日本水産資源保護協会の養殖衛生管理技術開発研究委託事業「サケ・マス卵のミズカビ病防除に関する研究(平成15~16年度)」により実施した。記して謝意を表します。

参考文献

- 1) Alderman DJ. Malachite green: a review. *J. Fish Dis.* 1985; **8**: 289-298.
- 2) 春日洋二・菱田美由紀・棚橋宣康・荒井 真. 養殖ニジマスにおけるマラカイトグリーンの消長について. *食衛誌.* 1992; **33**: 539-542.
- 3) Meinertz JR, Stehly GR, Gingerich WH, Allen JL. Residues of [¹⁴C]-malachite green in eggs and fry of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), after treatment of eggs. *Dis. Aquat. Org.* 1995; **18**: 239-247.
- 4) Meyer FP, Jorgenson TA. Teratological and other effects of malachite green on the development of rainbow trout and rabbits. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 1983; **112**: 818-824.
- 5) 本州鮭増殖協会. サケ人工ふ化放流事業百問百答(改訂版). 2003; 1-144.

