

## 事後試験研究

---

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～

---

### 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。水カビ病とはアユ卵を孵化まで管理する過程で、卵の表面に *Saprolegnia* 属などの真菌類が感染することによって卵が死滅する疾病である。

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、ブロン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、コスト、労力の面で課題が残っている。

本研究では、マラカイトグリーンに代わる安価で効果の高い手法の開発を目的とし、海水成分である塩化カリウム（以下「KCL」という）が水カビ病原菌に及ぼす影響を調査するとともに、そのアユ卵の水カビ病に対する予防効果を検証した。

### 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

##### 試験 1-1 KCL が水カビ菌系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（供試菌株 *Saprolegnia diclina*, *Saprolegnia parasitica*）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測定した。

##### 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（供試菌株 *S. diclina*, *S. parasitica*）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、発芽率を算出した。

##### 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（供試菌株 *S. diclina*, *S. parasitica*, *Achlya sp.*）10 mL をガラスシャーレ内で混合した後に 20 秒間静かに攪拌し、その 40 秒後に遊走子の運動状況を観察した。

#### 試験 2 KCL のアユ卵の水カビ病予防効果の検証

3L 容ガラス製ビーカーに所定の濃度の KCL 溶液を調整し、その中にスライドグラスに付着させたアユ卵を収容し、18.0 °C のインキュベーター内で発眼期まで管理し、発眼率、水カビ付着率、孵化率を算出した。試験は 2 回行い、第 2 回目の試験のみ、発眼後に KCL を含まない地下水で孵化まで管理し、孵化率、奇形率を算出した。

## 結果の概要

### 実験室内で KCL が水カビ病原菌に及ぼす影響

- *S. diclina*、*S. parasitica* の菌糸の伸長は 0.48 %KCL 濃度中であってもほとんど抑制されなかった (図 1~2)。
- *S. diclina*、*S. parasitica* の遊走子のは 0.48 %KCL 濃度中であってもほとんど抑制されなかった (図 3~4)。
- *S. diclina* の遊走子の運動性は、0.03 %の KCL 溶液中で 1 分後に微弱となり、10 分後に完全に失われた (表 1)。*S. parasitica* の遊走子の運動性は 0.03 %の KCL 溶液中で 1 分後に完全に失われた (表 2)。また、*Aclya. sp* の遊走子の運動性は 0.015 %の KCL 溶液中で 1 分後に完全に失われた (表 3)。このことから、KCL は水カビ病原菌類の遊走子の運動性を著しく抑制することが明らかとなった。

### KCL のアユ卵の水カビ病予防効果の検証

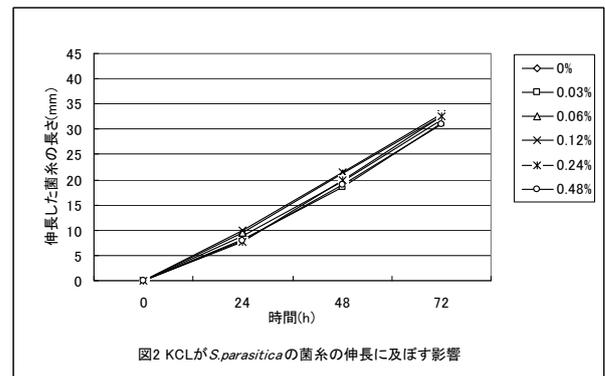
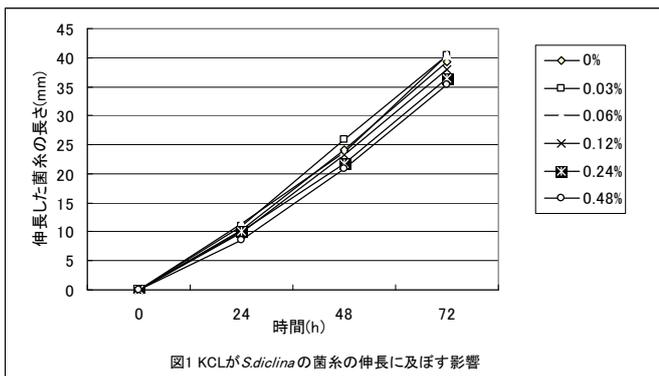
- アユ卵を 0.03~0.12 %の KCL 溶液中で管理したところ、これらの試験区は 2 回の試験ともに水カビ付着率が対照区よりも有意に低く ( $p < 0.01$ )、発眼率、孵化率、奇形率等においてほとんど悪影響は観察されなかった。この結果は KCL の遊走子の運動性阻止効果が実際にアユ卵の水カビ病予防に効果的であったことを示唆する結果といえる。

## 成果の活用面と留意点

- KCL が水カビ病の感染に関与するとされる遊走子の運動性を抑制することが、本研究で初めて明らかにされた。また、この効果によってアユ卵の水カビ病を予防できる可能性についても示唆された。
- 本手法はアユ養殖において、コスト、労力、食の安全の面で優れた手法として実用化できる可能性は高い。また、アユ以外の他魚種についても応用できる可能性がある。
- 本手法において、KCL は遊走子の運動性は抑制するが、菌糸の伸長、遊走子の発芽は抑制しないため、治療効果は期待できない。あくまで予防法としての認識が必要である。

## 残された問題とその対応

- アユ以外の魚種についても検討を行う必要がある。
- 実用化を検討するにあたり、ふ化後~成魚に至るまでに現れる KCL による悪影響の有無についても調査が必要である。



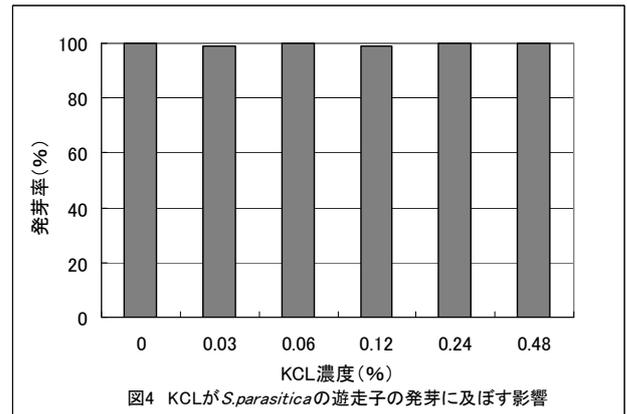
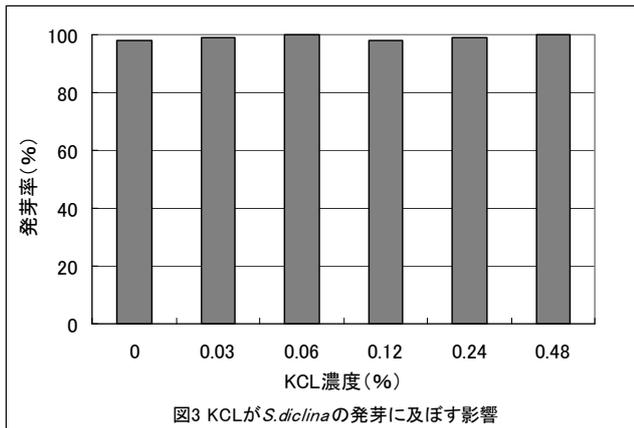


表1 KCLが*S. diclina*の遊走子の運動性に及ぼす影響

KCL濃度(%)	1分後	10分後
0	—	—
0.0025	D	D
0.005	D	D
0.01	C	C
0.015	C	B
0.03	B	A
0.06	B	A
0.12	B	A
0.24	A	A
0.48	A	A

A: 1視野中の遊走子全てが運動性を有しない。

B: 1視野中の遊走子のほとんどが運動性を有しないが、一部の遊走子が極めて微弱な運動性を有する。

C: 運動性はBとDの間

D: 0%区と同様の運動性を有する

表2 KCLが*S. parasitica*の遊走子の運動性に及ぼす影響

KCL濃度(%)	1分後	10分後
0	—	—
0.0025	D	D
0.005	C	C
0.01	C	C
0.015	B	A
0.03	A	A
0.06	A	A
0.12	A	A
0.24	A	A
0.48	A	A

A: 1視野中の遊走子全てが運動性を有しない。

B: 1視野中の遊走子のほとんどが運動性を有しないが、一部の遊走子が極めて微弱な運動性を有する。

C: 運動性はBとDの間

D: 0%区と同様の運動性を有する

表3 KCLが*Achlya.sp*の遊走子の運動性に及ぼす影響

KCL濃度(%)	1分後	10分後
0	—	—
0.0025	D	D
0.005	D	D
0.01	C	C
0.015	A	A
0.03	A	A
0.06	A	A
0.12	A	A
0.24	A	A
0.48	A	A

A: 1視野中の遊走子全てが運動性を有しない。

B: 1視野中の遊走子のほとんどが運動性を有しないが、一部の遊走子が極めて微弱な運動性を有する。

C: 運動性はBとDの間

D: 0%区と同様の運動性を有する

表4 KCLのアユ卵の水カビ病予防効果(第1回目)

	水カビ付着率(%)	発眼率(%)
0.03%	10.6**	70.9
0.06%	0.0**	77.6*
0.12%	18.5**	65.7
パイセス区	0.0**	73.7
対照区	29.3	67.8

\*\* ,対照区と比較して $p < 0.01$ で有意差. \* ,対照区と比較して $p < 0.05$ で有意差.

表5 KCLのアユ卵の水カビ病予防効果(第2回目)

	水カビ付着率(%)	発眼率(%)	孵化率(%)	奇形率(%)
0.03%	2.6**	60.1	99.1*	0.9
0.06%	3.5**	59.9	91.6	2.0
0.12%	0.5**	55.6	96.2	2.6
パイセス区	0.7**	63.9*	90.8	1.3
対照区	37.3**	53.9	91.6	2.0

\*\* ,対照区と比較して $p < 0.01$ で有意差. \* ,対照区と比較して $p < 0.05$ で有意差.