

消毒剤のアユ卵に対する安全性および有効性試験

谷本 剛・湯浅明彦

アユ種苗生産施設における冷水病および水カビの感染防止対策として、アユ卵の薬剤による効果的な消毒技術の確立を図ることを目的に研究を進めている。これまでの試験の結果、冷水病対策において、過酸化水素製剤およびポピドンヨード製剤が消毒剤として利用できる可能性が示唆されたことから、両消毒剤についてさらに細かい濃度設定をおこない安全性を検討した結果、実用化を促進するのに十分な成果が得られた。このことから、本試験では実用化に向けての予備試験として、両消毒剤のアユ卵に対する安全性について再現性があるかどうか検討した。また、水カビ対策において、これまでマラカイトグリーンが効果的な薬剤として使用されてきた。しかしながら、薬事法の改正に伴い、今後この薬剤の使用が禁止される状況にあるため早急な代替薬の検討が必要である。このため、既にEUにおいて医薬品として承認されているプロノボル製剤を用いて、アユ卵への安全性および水カビの抑制効果について検討した。

材料と方法

1. 供試卵

徳島県栽培漁業センターの種苗生産用親魚の雌(日和佐川系継代12代目)、雄(吉野川系継代14代目)各5尾を用いて乾導法により受精卵を得た。

2. 消毒方法

平均卵重0.45 mg/粒の受精卵をスライドガラスに付着させ、24時間後に死卵、未受精卵を除去し、正常な受精卵を計数した。その後、冷水病菌消毒剤として過酸化水素製剤およびポピドンヨード製剤、水カビ菌消毒剤としてプロノボル製剤を用いて、以下の希釈率(希釈は対照区と同じ飼育水を使用)の消毒剤250 mlを入れた容器に受精卵を無通気で所定時間薬浴した。なお、プロノボル製剤については、各試験区発眼完了3日後まで毎日1回薬浴した。対照区は飼育水に無通気で所定時間浸漬した。試験はスライドガラスを冷水病菌消毒剤試験区各4枚(対照区6枚)、水カビ菌消毒剤試験区各2枚(対照区2枚)使用しておこなった。

(1)冷水病菌消毒剤試験区

・過酸化水素製剤(H₂O₂濃度29.75%:マリンサワーSP30)

10/1000:20分, 40分

・ポピドンヨード製剤(有効ヨウ素濃度1%:水産用イソジン液)

1/2000:20分, 40分

・対照区(飼育水)

40分

(2)水カビ菌消毒剤試験区

・プロノボル製剤(プロノボル濃度50%:パイセス)

1/10000:30分, 60分

1/2000:30分, 60分

1/1000:30分, 60分

・対照区(飼育水)

60分

3. 飼育と観察項目

受精卵の消毒後、発眼期まで流水で飼育して発眼卵を計数した。その後、発眼卵は孵化まで継続飼育し、正常魚孵化率および奇形率を求めた。また、水カビ菌消毒剤試験区については、試験期間中の水カビの寄生状況を観察した。なお、孵化2日ほど前からは、飼育水を入れた広口ポリ瓶に発眼卵を移しかえ止水で飼育した。水温上昇を抑えるため、広口ポリ瓶の外側には飼育水を流した。試験期間中の水温は16.7~17.3℃であった。

4. 計数法

全数孵化した後、1%となるようにホルマリンを徐々に添加して孵化仔魚を緩慢に死亡させた。その後、5%となるようにホルマリンを添加して固定し、孵化尾数を計数した。奇形尾数は、肉眼観察により奇形の有無を確認して計数した。

結果と考察

各消毒剤のアユ受精卵に対する安全性試験の結果を表1, 2に示した。なお、安全性の基準は、各試験区の発眼率、正常魚孵化率および奇形率の平均値が対照区のそれと比較して90%以上の結果が得られたものについては実用上の悪影響はないものと判断した。

(1)冷水病菌消毒剤試験区

全消毒区において、対照区と比較して発眼率、正常魚孵化率および奇形率に明瞭な影響は認められなかった。このことから、本試験における両消毒剤の処理濃度および時間によるアユ卵への安全性が再確認された。岐阜県によると、冷水病菌の殺菌可能な有効濃度、作用時間は、過酸化水素製剤が2000倍希釈液で30分、ポピドンヨード製剤が10000倍希釈液で5分であることから、両消毒剤ともに本試験で安全性が確認された処理濃度および時間内で冷水病菌の消毒処理が可能であることが示唆された。

(2)水カビ菌消毒剤試験区

全消毒区において、対照区と比較して発眼率および奇形率に明瞭な影響は認められなかった。しかしながら、1/2000希釈の60分区および1/1000希釈の60分区において、対照区と比較して正常魚孵化率に影響が認められた。水カビの寄生状況については、全消毒区において寄生が確認されなかった。一方、対照区においては、ほぼ全ての死卵に寄生が確認された。以上の結果から、プロノポール製剤は水カビに対して強い抑制効果があることが確認され、本試験で安全性が確認された処理濃度および時間内の範囲であれば水カビ菌の消毒処理が充分可能であることが示唆された。

表1 過酸化水素製剤およびポピドンヨード製剤のアユ受精卵に対する安全性

薬剤	希釈率	時間(分)	受精卵数	発眼卵数	発眼率(%)	正常魚孵化尾数	正常魚孵化率(%)	奇形尾数	奇形率(%)
過酸化水素	10/1000	20	42	15	35.7	9	60.0	0	0.0
			43	24	55.8	16	66.7	0	0.0
			47	24	51.1	15	62.5	2	8.3
			47	29	61.7	27	93.1	0	0.0
		計	179	92	51.4	67	72.8	2	2.2
		40	45	21	46.7	13	61.9	1	4.8
			48	27	56.3	13	48.1	0	0.0
			47	22	46.8	10	45.5	0	0.0
			53	24	45.3	15	62.5	1	4.2
		計	193	94	48.7	51	54.3	2	2.1
ポピドンヨード	1/2000	20	57	26	45.6	13	50.0	2	7.7
			46	25	54.3	22	88.0	0	0.0
			49	29	59.2	22	75.9	0	0.0
			51	28	54.9	12	42.9	1	3.6
		計	203	108	53.2	69	63.9	3	2.8
		40	55	32	58.2	23	71.9	1	3.1
			56	31	55.4	25	80.6	2	6.5
			48	30	62.5	23	76.7	1	3.3
			49	24	49.0	17	70.8	1	4.2
		計	208	117	56.3	88	75.2	5	4.3
対照区	40	49	25	51.0	20	80.0	0	0.0	
		54	35	64.8	20	57.1	0	0.0	
		45	24	53.3	7	29.2	1	4.2	
		55	32	58.2	16	50.0	1	3.1	
		47	18	38.3	16	88.9	1	5.6	
		44	25	56.8	16	64.0	1	4.0	
計	294	159	54.1	95	59.7	4	2.5		

表2 プロノポール製剤のアユ受精卵に対する安全性

希釈率	時間(分)	受精卵数	発眼卵数	発眼率(%)	正常魚孵化尾数	正常魚孵化率(%)	奇形尾数	奇形率(%)
1/10000	30	107	45	42.1	39	86.7	2	4.4
		112	51	45.5	46	90.2	0	0.0
	計	219	96	43.8	85	88.5	2	2.1
	60	113	51	45.1	44	86.3	0	0.0
110		48	43.6	42	87.5	0	0.0	
計	223	99	44.4	86	86.9	0	0.0	
1/2000	30	109	46	42.2	32	69.6	0	0.0
		107	44	41.1	43	97.7	0	0.0
	計	216	90	41.7	75	83.3	0	0.0
	60	83	43	51.8	23	53.5	1	2.3
101		42	41.6	26	61.9	1	2.4	
計	184	85	46.2	49	57.6	2	2.4	
1/1000	30	114	58	50.9	45	77.6	0	0.0
		136	67	49.3	51	76.1	0	0.0
	計	250	125	50.0	96	76.8	0	0.0
	60	118	56	47.5	39	69.6	1	1.8
131		48	36.6	35	72.9	1	2.1	
計	249	104	41.8	74	71.2	2	1.9	
対照区	60	115	53	46.1	50	94.3	1	1.9
		139	64	46.0	50	78.1	3	4.7
	計	254	117	46.1	100	85.5	4	3.4