

## 過酸化水素の反復処理によるサケマス卵の水カビ病防除効果

熊谷 明<sup>\*1</sup>・須藤 篤史<sup>\*1</sup>

Effect of repeated treatments with hydrogen peroxide on the control of fungal infection of salmonid eggs

Akira KUMAGAI <sup>\*1</sup>・Atsushi SUTO<sup>\*1</sup>

キーワード：過酸化水素，サケマス卵，ミズカビ病，防除効果

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）が有効であり<sup>1)</sup>，MG液で卵を定期的に薬浴する方法が予防対策としてとられている。しかしながら，MGは魚体や卵に長期間残留することや<sup>2,3)</sup>，発癌性が疑われていること<sup>4)</sup>から，平成15年7月の薬事法改正により平成17年7月31日以降の使用が禁止された。

過酸化水素が複数種のミズカビ病病原体の菌糸の発育阻止効果を有すること<sup>5)</sup>，ニジマス卵においてMGと遜色ないミズカビ病防除効果が得られたことが<sup>5,6)</sup>，報告されている。一方，サケマス類の卵は魚種によって過酸化水素に対する感受性が異なることが報告されている<sup>6)</sup>。

本研究では，サケマス卵のミズカビ病防除剤としての過酸化水素製剤の実用化を目的とし，過酸化水素製剤に対する魚種毎の卵の感受性および処理方法（濃度・時間）と有効性について検討した。

### 材料と方法

#### 1 *in vitro*での菌糸発育阻止濃度の検討

2002年に宮城県内で分離されたイワナ卵由来ミズカビ菌糸（I株），シロサケ卵由来ミズカビ菌糸（S株）を供試

菌株とし，マリンサワーSP30（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>29.8%溶液，片山化学）の菌糸発育阻止効果を検討した。

サブロー寒天培地（ニッスイ）を用い，20℃で48時間増殖させた供試菌株を，培地ごと5mm角のブロックに切り出し，得られた菌糸ブロック（3ブロック/区）を，0，150，300，600，900，1200，1800，2400ppmの過酸化水素溶液に，30分または1時間浸漬（処理温度20℃）した後，蒸留水で2回洗浄し，同培地に接種した。その後，20℃で48時間培養し，菌糸の発育の有無を観察した。

#### 2 安全性試験

吸水完了直後のニジマス，ヤマメ，シロサケ受精卵（約100粒/区×2区）およびニジマス，イワナ，ギンザケ，シロサケ発眼卵（約100粒/区×2区）を，所定濃度（0，600，750，900，1200，1800，2400，4800，9600ppm）のマリンサワーSP30溶液に30分，1時間および2時間浸漬（処理温度7～9℃）した後，7～9℃の飼育水に收容した。48～72時間後に卵の生死を肉眼で判定した。また，ニジマス発眼卵の試験区については，浮上時まで飼育を継続し，ふ化率と浮上率を求めた。

#### 3 用量設定試験

通常の方法により得られたニジマス，ヤマメ，イワナ，シロサケ受精卵を1300～3000粒ずつ8群に分けて，それぞれ

<sup>\*1</sup>水産技術総合センター養殖生産部

れ個別のふ化槽に収容した。このうち6群については、発眼期まで週2回ずつ過酸化水素600, 900, 1200ppmで30分または1時間薬浴処理した。薬液の調整と処理は、開始時に注水を止め、所定の濃度になるようにマリンサワーSP30の原液をふ化槽に加えた後、小型ポンプ(12L/分)で所定の時間用水を循環する方法で実施した。残りの2群は対照区(2回/週, 1時間, 飼育水循環)とMG区(2回/週, 2.5ppm, 1時間, 薬液循環)とした。発眼期に発眼率と死卵におけるミズカビの付着率を求めるとともに、ニジマスとシロサケについては浮上期にふ化率と浮上率を求めた。各試験の飼育条件と発眼率の検査までの日数は表1のとおりである。

#### 4 臨床試験

イワナとギンザケの各2Lotの受精卵を、1500~7400粒ずつ8群/Lotに分けて、それぞれ個別にアトキンスふ化槽に収容した。このうち3群については、発眼期まで週2回ずつ過酸化水素600, 900, 1200ppmで1時間、サイフォンを用いて流水滴下法により薬浴処理した。また、3群については、使用する薬剤量の低減を目的として、同様の濃度・時間・頻度で薬液循環法(注水を止め、所定の濃度になるように薬剤原液をふ化槽に加えた後、小型ポンプ(12L/分)で所定時間薬液を循環)で実施した。残りの2群については無処理対照区とMG区(2回/週, 2.5ppm, 1時間, 薬液循環)とした。

また、シロサケ受精卵を83000粒ずつ3群に分けて、2群については、発眼期まで週2回ずつ流水滴下法および

薬液循環法(小型ポンプを2台使用, 24L/分)により、過酸化水素600ppmで1時間薬浴処理し、残りの1群を無処理対照区とした。なお、流水滴下区では、実験開始から3回目の処理まではサイフォンで滴下したが、その原理から設定濃度を安定して保つことが困難であったため、4回目以降は定量ポンプに変更した。さらに、2300粒ずつ3群のシロサケ受精卵をアトキンスふ化槽に収容し、同様の処理条件(流水滴下区では毎回定量ポンプを使用)で第2回目の試験を行った(表2)。

過酸化水素の減衰の程度を明らかにするために、シロサケの臨床試験の流水滴下区および薬液循環区において、試験開始後5, 10, 20日目に、1時間の薬浴処理中10分ごとに用いる水中の過酸化水素濃度を1/10N過マンガン酸カリウム溶液の滴下法により定量した。

## 結 果

### 1 *in vitro*での菌糸発育阻止濃度の検討

30分処理で900~1200ppm, 1時間処理では600ppmで菌糸発育阻止効果が認められた(表3)。

### 2 安全性試験

30分, 1時間, 2時間における各魚種卵の安全濃度を図1に示した。なお、安全濃度は、岐阜県淡水魚研究所(2003)<sup>9)</sup>の方法に従い、各時間・濃度における卵の生残率(図2, 3)が、対照区のその90%以上を示した濃度とした。

表1 用量設定試験の飼育条件

魚種	供試卵数 (粒/区)	ふ化槽	収容方法	水温(°C)	受精から検卵 までの日数	検卵時の積 算水温(°C)
ニジマス	3000	縦型(80L)	ふ化盆 2枚	8~9	35	294
ヤマメ	1300	"	ふ化盆 1枚	9.5~10	31	272
イワナ	2700	"	ふ化盆 2枚	9~10	34	318
シロサケ	1700	"	ふ化盆 2枚	7~9	49	394

表2 臨床試験の飼育条件

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(°C)	受精から検卵 までの日数	検卵時の積 算水温(°C)
イワナ	1	7400	75	アトキンス式(188L)	ふ化盆 4枚	9.3~10.1	37	358
	2	7400	75	アトキンス式(188L)	ふ化盆 4枚	8.9~10.1	36	345
ギンザケ	1	1500	60	アトキンス式(188L)	ふ化盆 1枚	8.7~10.1	36	334
	2	4600	90	アトキンス式(188L)	ふ化盆 2枚	7.9~9.2	35	307
シロサケ	1	83000	—	増収型アトキンス(150L)	直接収容	13.6~14.6	22	313
	2	2300	90	アトキンス式(188L)	ふ化盆 2枚	13.1~14.1	25	341

表3 *in vitro* での菌糸発育阻止効果

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 濃度(ppm)	30分処理		1時間処理	
	I株	S株	I株	S株
0	+++	+++	+++	+++
0.05%(150)	+++	+++	+++	+++
0.1%(300)	+++	+++	+++	+++
0.2%(600)	+++	+++	—	—
0.3%(900)	+++	—	—	—
0.4%(1200)	+	—	—	—
0.6%(1800)	—	—	—	—
0.8%(2400)	—	—	—	—
MG(2.5)	—	—	—	—

+++ : 3ブロック全て発育、+ : 1ブロックのみ発育  
 — : 3ブロック全て発育せず

(1) 受精卵

魚種により安全濃度が大きく異なり、ヤマメでは30分、1時間、2時間ともに9600<ppmであったが、ニジマスでは30分・9600<ppm、1時間・4800ppm、2時間・2400ppm、シロサケでは30分・4800ppm、1時間・1200ppm、2時間・1200ppmと低下した。(図1A, 2)。

(2) 発眼卵

受精卵と同様に魚種により安全濃度が大きく異なり、ニジマスでは30分・9600<ppm (9600ppmより大きい)、1時間・9600<ppm、2時間・2400ppm、イワナでは30分・4800<ppm、1時間・4800<ppm、2時間・2400<ppm、ギンザケでは、30分・9600<ppm、1時間・9600<ppm、2時間・4800ppm、シロサケでは30分・4800ppm、1時間・2400ppm、2時間・900ppmと、シロサケの感受性が最も高かった(図1B, 3)。浮上まで飼育を継続したニジマス卵は、安全濃度を超えた2時間・4800ppm区と2時間・9600ppm区のみで、ふ化率がそれぞれ87%、78%に低下したものの、その他の試験区は98%以上であった。また、いずれの試験区でも浮上率は98%以上であった(表4A)。

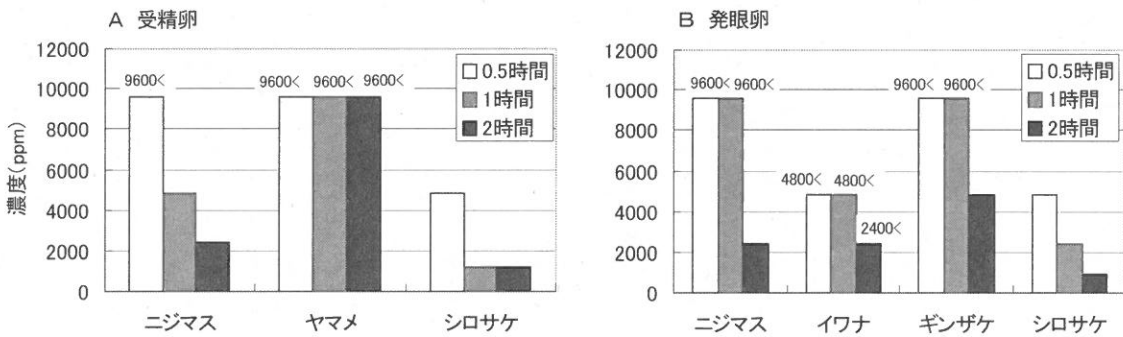


図1 過酸化水素製剤(1回浸漬)に対する受精卵と発眼卵の安全濃度

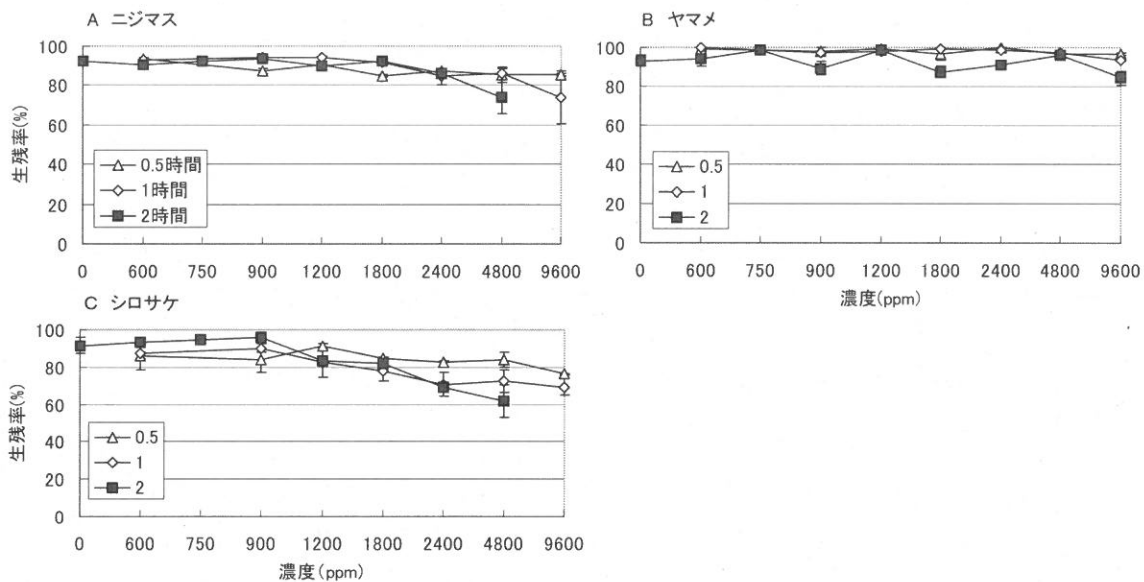


図2 過酸化水素製剤に1回浸漬した受精卵の生残率

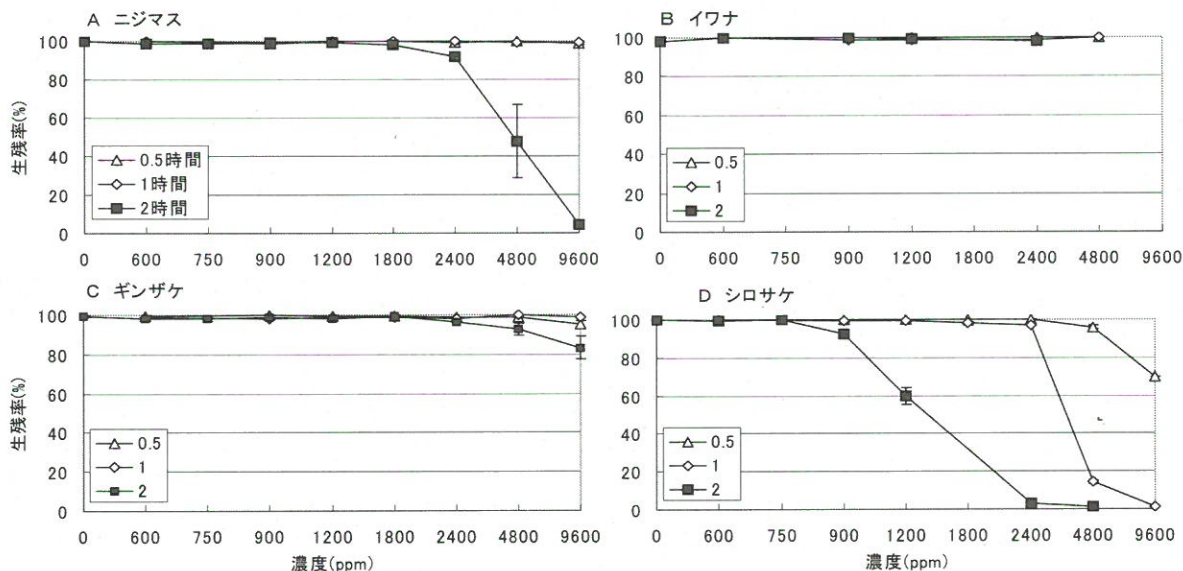


図3 過酸化水素製剤に1回浸漬した発眼卵の生残率

表4 安全性試験と用量設定試験におけるふ化率と浮上率

A 安全性試験					B 用量設定試験				
Lot	処理条件		ふ化率(%)	浮上率(%)	Lot	処理条件		ふ化率(%)	浮上率(%)
	濃度(ppm)	時間				濃度(ppm)	時間		
ニジマス発眼卵	600	0.5	99.0	98.1	ニジマス	0	1	95.8	94.7
	900	0.5	98.2	99.5		600	0.5	97.9	95.7
	1200	0.5	100.0	99.5		900	0.5	97.1	95.2
	1800	0.5	99.0	98.1		1200	0.5	98.4	93.5
	2400	0.5	99.1	99.5		600	1	98.0	94.6
	4800	0.5	100.0	99.5		900	1	93.0	94.7
	9600	0.5	99.0	98.5		1200	1	92.8	94.0
	600	1	100.0	99.1		シロサケ	0	1	95.6
	900	1	98.7	98.6	600		0.5	97.4	100.0
	1200	1	99.5	98.6	900		0.5	95.5	100.0
	1800	1	98.1	99.5	1200		0.5	86.8	100.0
	2400	1	99.1	99.1	600		1	95.9	100.0
	4800	1	98.6	99.1	900		1	62.7	100.0
	9600	1	99.1	98.6	1200		1	NT*1	NT
	0	2	99.5	98.6	*1: 発眼卵が得られなかったため、未実施。				
600	2	99.0	100.0						
750	2	100.0	98.0						
900	2	98.6	99.0						
1200	2	99.0	99.5						
1800	2	99.5	99.5						
2400	2	97.9	98.4						
4800	2	86.9	97.7						
9600	2	77.8	100.0						

3 用量設定試験

ニジマスの各試験区の発眼率は77~84%で、試験区間に差はみられなかった。ミズカビの付着率は、対照区で71%と高かったが、1時間・1200ppm区とMG区では10%前後に、その他の過酸化水素区でも30~40%に低下し、いずれの試験区でも対照区に対し有意差 ( $p < 0.01, \chi^2$ 検定) が認められた (図4A)。各試験区のふ化率は93~98%、浮上率は94~96%であり、ふ化や浮上時の異常は認められなかった (表4B)。

ヤマメの発眼率は59~71%と試験区間に差はみられず、ミズカビの付着率においても対照区の72%に対し、MG区が9%と大きく低下したものの、過酸化水素区では51~71%とわずかな低下にとどまった (図4B)。

イワナの発眼率は対照区で1%と大きく低下したのに対し、MG区では43%、過酸化水素区ではいずれの試験区でも16~29%で有効性が認められた ( $p < 0.01$ )。ミズカビの付着率においても対照区の99%に対し、MG区が43%、過酸化水素区では74~87%とそれぞれ低下し、有効性が

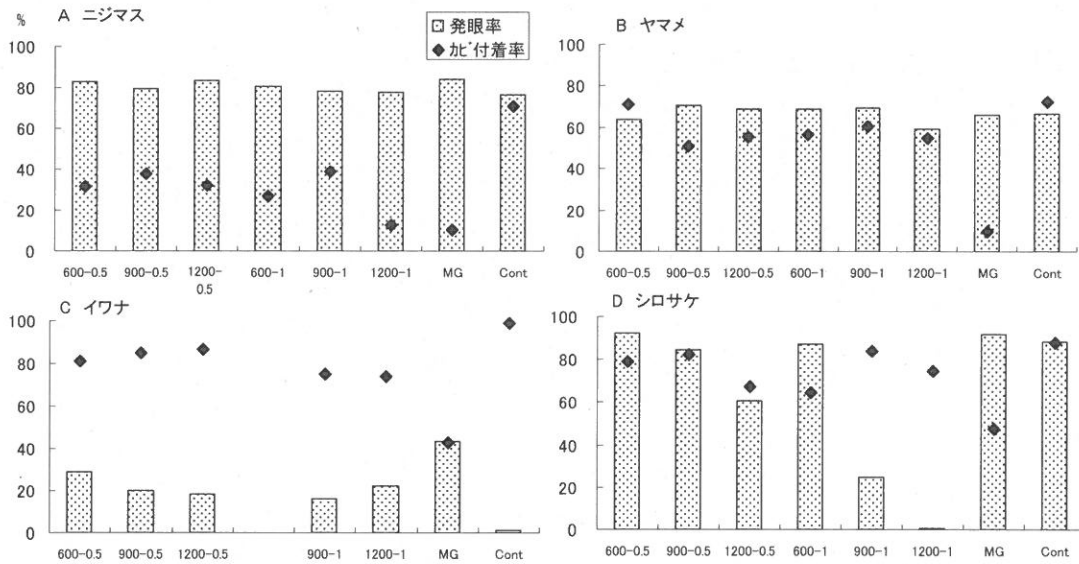


図4 用量設定試験における発眼率とカビ付着率

認められた ( $p < 0.01$ ) (図4C)。

シロサケの発眼率は、30分・600ppm区、1時間・600ppm区および30分・900ppm区では低下しなかったが、1時間・900ppm区、30分・1200ppm区、1時間・1200ppm区では大きく低下した。ミズカビの付着率は、対照区の88%に対し、MG区は47%と大きく低下し、その他の試験区でも65~84%とわずかに低下した。(図4D)。

ふ化率は、発眼率が低下した30分・1200ppm区と1時間・900ppm区でそれぞれ87%と63%に低下したが、浮上率はいずれの試験区でも100%と高かった(表4)。

#### 4 臨床試験

##### (1) イワナ

第1回目の試験では、全ての過酸化水素製剤区の発眼率が対照区に比べ2~9%高かったものの、有意差は認められず、有効率は9~41%であった。一方、ミズカビ付着率は全ての過酸化水素製剤区で対照区に比べ9~30%低下し、いずれの処理区でも有意差が認められた ( $p < 0.05$ , 同)。

第2回目の試験では、過酸化水素製剤区の発眼率が対照区に比べ11~27%高く、循環600ppm区と流水1200ppm区を除き有意差が認められた ( $p < 0.05$ , 同)。有効率は24~57%であった。一方、ミズカビ付着率は循環600ppm区を除く全過酸化水素製剤区で対照区に比べ0.3~20%低

下したものの、有意差は循環1200ppm区でのみ認められた ( $p < 0.05$ , 同)。

両試験におけるMG区の発眼率は対照区より12~36%高く ( $p < 0.05$ , 同)、有効率も58~78%と高かった。さらに、ミズカビ付着率は対照区より46~71%低く、いずれも有意 ( $p < 0.05$ , 同) であった(図5, 表5)。

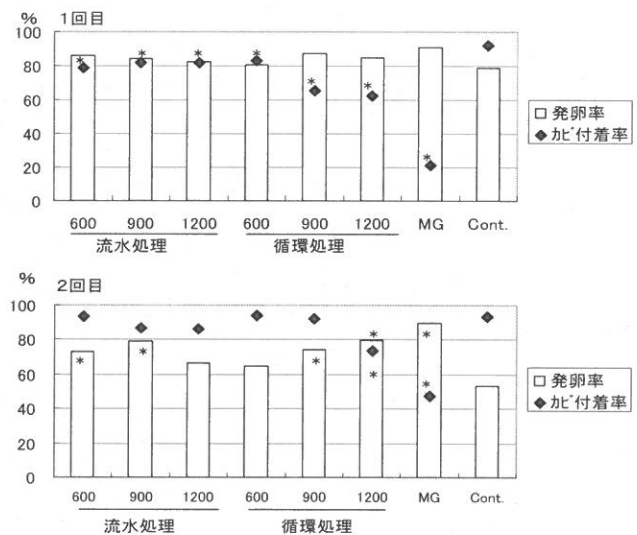


図5 イワナ臨床試験における発眼率とミズカビ付着率

\*:  $\chi^2$  検定,  $p < 0.05$

(2) ギンザケ

第1回目の試験では、全ての過酸化水素製剤区の発眼率が対照区に比べ4~29%高く、循環1200ppm区を除いた全処理区で有意差が認められた (p<0.05, 同)。有効率は7~48%であった。一方、ミズカビ付着率の低下は認められなかった。

第2回目の試験では、流水600ppm区を除く過酸化水素製剤区で発眼率が対照区に比べ7~26%高く、流水900ppm区、流水1200ppm区、循環900ppm区で有意差が認められた (p<0.05, 同)。有効率は0~55%であった。一方、ミズカビ付着率の低下は認められなかった。

両試験におけるMG区の発眼率は対照区より36~40%高く (p<0.05, 同)、有効率も59~84%と高かった。さらに、ミズカビ付着率は対照区より52~56%低く、いずれも有意 (p<0.05, 同) であった (図6, 表5)。

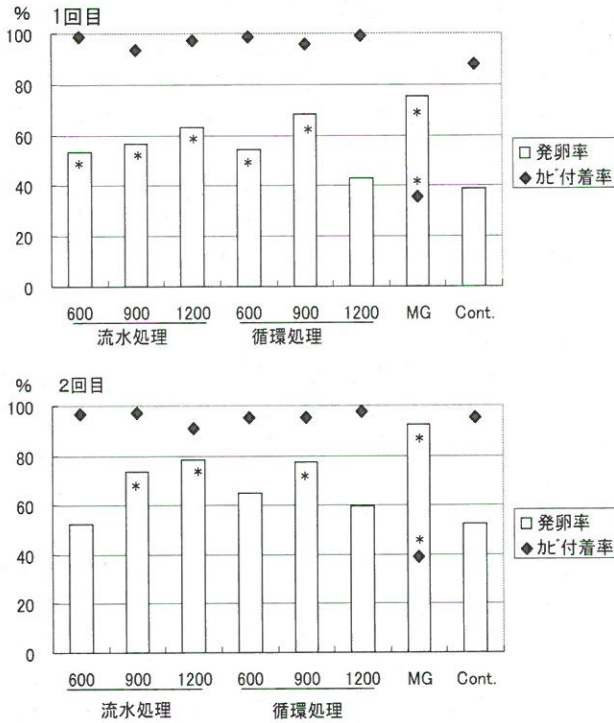


図6 ギンザケ臨床試験における発眼率とミズカビ付着率

\*:  $\chi^2$  検定, p<0.05

(3) シロサケ

第1回目の試験では、ミズカビ付着率が対照区よりも、流水600ppm区で80%、循環600ppm区で61%低かったが (p<0.05, 同)、発眼率はそれぞれ3.8%および5.2%ずつ

低下した。

第2回目の試験では、流水600ppm区および循環600ppm区の発眼率が対照区に比べ50~53%高く、いずれも有意差が認められた (p<0.05, 同)。また、ミズカビ付着率は対照区が97%とほぼ全体的に感染したのに対し、循環600ppm区では42%、流水600ppm区では3%と大きく抑制され、有意差 (p<0.05, 同) が認められた (図7, 表5)。

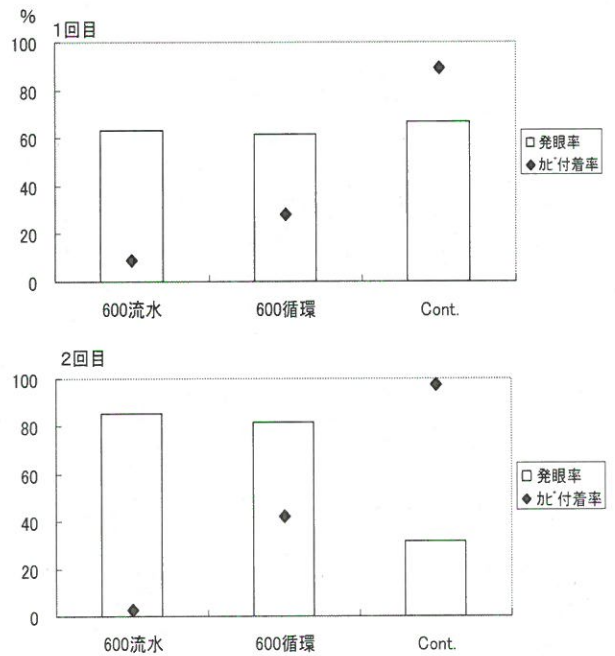


図7 シロサケ臨床試験における発眼率とミズカビ付着率

\*:  $\chi^2$  検定, p<0.05

表5 臨床試験の有効率

製剤	試験条件	回数	有効率			
			平均	範囲(最小-最大)		
過酸化水素	流水 イナ	600ppm	2	38.5	34.1 - 42.9	
		900ppm	2	40.6	25.7 - 55.6	
		1200ppm	2	38.0	19.2 - 56.8	
"	ギンザケ	600ppm	2	11.8	-0.2 - 23.9	
		900ppm	2	36.6	28.9 - 44.3	
		1200ppm	2	47.2	39.9 - 54.6	
"	シロサケ	600ppm	2	33.4	-11.5 - 78.4	
		循環 イナ	600ppm	2	16.9	9.3 - 24.4
			900ppm	2	43.3	41.1 - 45.5
"	ギンザケ	1200ppm	2	42.9	29.0 - 56.8	
		600ppm	2	25.6	25.3 - 25.8	
		900ppm	2	50.2	47.7 - 52.7	
"	シロサケ	1200ppm	2	10.6	6.5 - 14.7	
		600ppm	2	28.5	-16.4 - 73.4	
		マカイトグリーン イナ	3.3ppm	2	67.9	57.9 - 77.8
	ギンザケ	3.3ppm	2	71.7	59.3 - 84.0	

\* 有効率: 発眼率から算出

#### (4) 過酸化水素濃度の変化

サイフォンにより流水滴下した場合、10分後には過酸化水素濃度が689ppm（設定濃度600ppmの115%）であったが、その後徐々に低下し、60分後には446ppm（74%）となった。一方、定量ポンプで流水滴下した場合、濃度の変化はなかった（図8）。

薬液循環法では、試験開始5日目に薬液中の過酸化水素濃度が60分後で598ppm（100%）、10日目には60分後で561ppm（94%）で、処理時間内における有効濃度の減衰は小さかったが、20日目には10分後462ppm（77%）、30分後には168ppm（28%）、60分後には28ppm（5%）と、処理時間中に大きく減衰した（図9）。

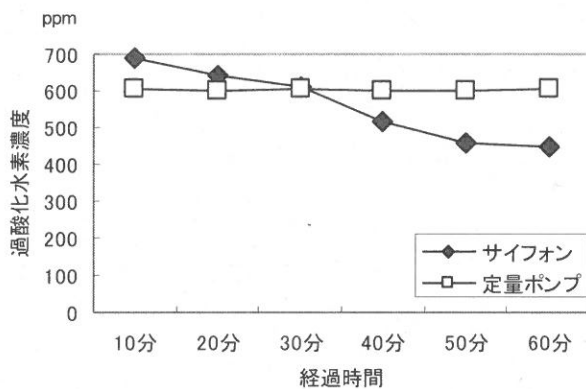


図8 流水滴下試験区における処理中の過酸化水素濃度の変化(シロサケ1回目試験)

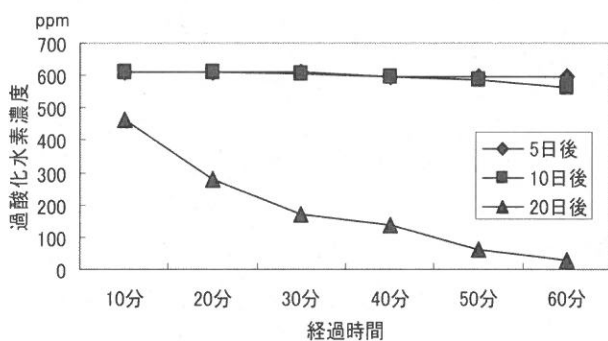


図9 薬液循環試験区における処理中の過酸化水素濃度の変化(シロサケ1回目試験)

## 考 察

Kitancharoen *et al.* (1997) は国内のふ化場のサケマス卵から、*Saprolegnia* 属等の5属のミズカビを分離し<sup>10)</sup>、1000ppmの過酸化水素60分処理が、これらの菌糸の発育を完全に阻止することを報告した<sup>5)</sup>。本実験においても同様の結果が得られたことから、*in vitro*における過酸化水素の菌糸発育阻止効果が再確認されたと考えられる。

過酸化水素1回処理に対する卵の安全性を検討した結果、ニジマス、ヤマメ、イワナ、ギンザケの受精卵および発眼卵は過酸化水素の薬浴に対し強い抵抗性を有し、30分と1時間処理では4800~9600ppm以上の濃度まで安全であるが、シロサケはこれらの魚種に比べて極端に弱いことが明らかになった。山本(2001)らも、サケマス類の卵は魚種によって過酸化水素に対する抵抗性が異なることを報告している<sup>6)</sup>。

*in vitro*における過酸化水素の菌糸発育阻止試験および1回処理に対する卵の安全性試験において有効性と安全性が示された600、900、1200ppmの濃度で、週2回ずつ30分または1時間反復薬浴し、適正用量を検討した結果、ニジマスとイワナにおいて600~1200ppmの各濃度で有効性が確認され、毒性は認められなかった。しかし、シロサケでは、30分薬浴では1200ppm以上で、1時間薬浴では900ppm以上で発眼率が大きく低下した。これらの試験区を毎日観察した結果、試験開始後約1ヶ月間は卵の生残率が高かったが、発眼直前に大きく低下した。本試験では効果判定まで14回薬浴処理を行っており、反復薬浴が卵膜の表面に断続的に損傷を与え、最終的に斃死した可能性と、他魚種で知られているように<sup>9,11)</sup>、卵の発生段階により消毒剤処理に対する感受性が異なる可能性が考えられるが、原因は不明である。いずれにしても、受精卵および発眼卵の1回浸漬の結果だけで、卵に対する過酸化水素の安全性を評価することは困難であり、受精から発眼期まで薬浴処理した上で、安全性を評価する必要があると考えられる。

安全性試験と用量設定試験に用いた3Lotを浮上まで飼育し、過酸化水素薬浴がふ化と浮上に与える影響の有無を検討した結果、安全濃度を超えて処理し発眼率が低下した試験区においてのみ、ふ化率の低下がみられた。

また、全試験区で浮上率の低下はみられなかった。したがって、発眼率に影響を与えない濃度での薬浴処理は、ふ化と浮上にも影響を与えないと考えられる。

臨床試験において、イワナ、ギンザケでは 600～1200ppm・1 時間、シロサケでは 600ppm・1 時間の処理条件について、流水滴下法および薬液循環法により検討した。その結果、イワナでは循環 900, 1200ppm, 流水 600, 900ppm の各処理で有効性が確認された。事業規模で実施したシロサケの臨床試験（第 1 回目）の薬液濃度測定結果のとおり、循環処理法においては収容卵数が多いと過酸化水素濃度が著しく減衰することから、循環 600ppm で顕著な効果が認められなかった原因として、有効濃度が低下していた可能性が考えられる。一方、サイフォンによる薬液の滴下は養殖現場においてしばしば利用されているが、シロサケ臨床試験（第 1 回目）における薬液濃度経時変化の測定結果のとおり、その原理から処理時間の前半は薬剤が過剰に滴下される一方、処理時間の後半は薬液濃度が薄くなる欠点がある。サイフォンによる流水 1200ppm 処理では毒性により発眼率が低下した可能性がある。

ギンザケでは、流水 900ppm, 同 1200ppm, 循環 900ppm の各処理で 2 回の試験のいずれでも有効性が確認された。なお、循環 1200ppm 処理では 2 回とも発眼率の低下が認められたが、この原因は不明である。

シロサケの第 1 回目の試験において、ミズカビの感染は抑えられたものの発眼率が対照区より低下した要因として、実験開始後 3 回目までの薬浴処理をサイフォンで行ったために、薬剤が過剰に滴下され毒性を示したことが考えられた。そこで、第 2 回目の試験では定量ポンプで毎回の薬浴処理を行ったところ、顕著な有効性が確認された。シロサケのように過酸化水素に対する感受性の高い魚種では過酸化水素の濃度を一定に保つために定量ポンプを使用する必要がある。また、循環処理については、試験規模で実施した第 2 回目の試験で顕著な有効性を示したものの、事業規模での試験では過酸化水素の大幅な減衰がみられ、有効性は認められなかった。

以上、過酸化水素製剤は MG ほどの顕著な薬効はないものの、イワナ、ギンザケでは実用化の可能性があると思われる。また、ふ化槽に数万～数 10 万の卵を収容して

いるふ化場では、安全濃度と有効濃度を 1 時間程度維持しながら薬液循環法により過酸化水素薬浴を行うことは難しく、今後本製剤を開発する場合は、流水滴下法に絞るべきと考えられる。

## 要 約

サケマス卵のミズカビ病防除剤としての過酸化水素製剤の実用化を目的とし、過酸化水素製剤に対する各魚種卵の感受性および処理方法（濃度・時間）と有効性について検討した。

- 1) *in vitro* で過酸化水素溶液の菌糸発育阻止濃度を検討した結果、30分処理で900～1200ppm, 1時間処理では600ppmで菌糸発育阻止効果が認められた。
- 2) サケマス類の卵は魚種によって過酸化水素に対する抵抗性が異なり、ニジマス、ヤマメ、イワナ、ギンザケは比較的強いが、シロサケは弱いことが明らかとなった。
- 3) 受精卵および発眼卵の 1 回浸漬の結果のみで、卵に対する過酸化水素の安全性を評価することは困難であり、受精から発眼期まで薬浴処理した上で、安全性を評価する必要がある。
- 4) 1500～7400粒収容したイワナ卵とギンザケ卵、2300粒と83000粒収容したシロサケ卵のふ化槽を用いて、流水滴下法と薬液循環法で過酸化水素の臨床試験を実施した結果、イワナでは循環900, 1200ppm, 流水600, 900ppm, ギンザケは流水900ppm, 1200ppm, 循環900ppmで有効性が確認された。シロサケでは2300粒収容した場合は、循環600ppm, 流水600ppmで有効であったが、83000粒収容した場合はいずれも無効であった。
- 5) ふ化槽に数万～数10万の卵を収容しているふ化場では、安全濃度と有効濃度を1時間程度維持しながら薬液循環法により過酸化水素薬浴を行うことは難しく、定量ポンプを用いた流水滴下法を検討すべきである。



## 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。

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 [<sup>14</sup>C]-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) Kitancharoen N, Yamamoto A, Hatai K. Fungicidal effect of hydrogen peroxide on fungal infection of rainbow trout eggs. *Mycoscience.* 1997; 38: 375-378.
- 6) 山本 淳・豊村真之介・実吉峯郎・畑井喜司雄 (2001) 過酸化水素によるサケ科魚卵のミズカビ病の防除. *魚病研究*; 2001: 36, 241-246.
- 7) Pottinger TG, Day JG. A *Saprolegnia parasitica* challenge system for rainbow trout: assessment of Pyceze as an anti-fungal agent for both fish and ova. *Dis. Aquat. Org.*, 1999; 36: 129-141.
- 8) Roth M, Hunter R, Marshall J. Clinical safety and efficacy of Pyceze (bronopol) for the treatment of Saprolegniasis in salmonid eggs and fish. *Abstract of Aquaculture Canada.* 2002.
- 9) 岐阜県淡水魚研究所. アユの冷水病及び細菌性出血性腹水症（シユードモナス病）に関する研究. 平成14年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 2003, 109-125.
- 10) Kitancharoen N, Hatai K. Aquatic fungi developing on eggs of salmonids. *J. Aquat. Anima. Health.* 1997; 9: 314-316.
- 11) 三村 元・長瀬俊哉・片山泰人・長光貴子・難波憲二. オゾン処理海水のヒラメ, *Paralichthys olivaceus*卵に対する影響. *水産増殖* 1998; 46: 101-110.

