

## サケ・マス卵の病気 —水カビ病と卵膜軟化症—

野村哲一

062-0922北海道札幌市豊平区中の島2-2 独立行政法人さけ・ます資源管理センター調査研究課

キーワード：サケ・マス卵，病気，水カビ病，卵膜軟化症

### はじめに

サケ・マス類は世界各国で消費され、わが国においては北日本を中心として主要な漁業資源となっている。わが国のサケ・マス資源は主として100年を越す歴史を有する人工ふ化放流により維持されていると考えられるが、その基本をなすものは放流用種苗の安定した生産である。採卵および受精卵の管理は種苗生産の開始時点であるが、卵期に発生する代表的な病害として、水カビ病および卵膜軟化症があげられる。従来、サケ・マス卵の水カビ病はマラカイトグリーン、卵膜軟化症は過マンガン酸カリウムによる卵の薬浴により防止することができたことから、この二つの病気は種苗生産遂行上の問題となることは少なかった。

しかし、2003年7月の薬事法改正により、食用となる魚卵を含む魚類には動物用医薬品以外の薬剤を使用することができなくなった。マラカイトグリーンや過マンガン酸カリウムに替わる有効な薬剤の検索も実施されているが、実用化に至った方法は少ない。本報告ではこれら卵期の病害について取りまとめた。

### サケ・マス増殖事業におけるふ化の工程

サケ・マス増殖事業における受精直後からふ化までの卵管理は、ふ化槽の型式や取り扱い卵数には違いはあるものの、基本的にはニジマスやヤマメ、アマゴなどの養殖サケ科魚類とほぼ同様である。サケ・マス増殖事業の初期にはアトキンス型ふ化槽が多用されていた。スタックと10枚のふ化盆が組み合わせられ、1枚のふ化盆にはサケ卵では2,500粒前後が収容可能である。吸水後の卵をふ化盆に収容する作業は多大の労力を必要とした。ふ化場の規模の拡大に伴いふ化槽での卵管理の効率化を図るため、ふ化槽には種々の形状のものが使用されるようになった。現在ではサケやカラフトマスのように大量の卵を収容する場合はボックス型と呼ばれる96 cm×60 cm×55 cmの箱型の大型ふ化槽が使用される(図1)。ボックス型ふ化槽は底面から水流が均等に上昇するように設計されており、サケ卵では通常50万粒が収容される。サクラマスやベニザケのように収容する卵が中規模の場合は、従来使用されていたアトキン

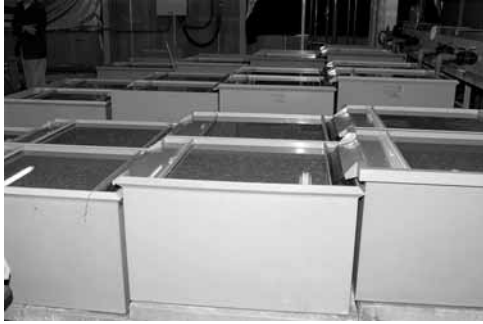


図1. 現在最も一般的に使用されているボックス型ふ化槽. 約50万粒のサケ卵が収容可能であり注水量は40-50L/分が推奨されている.

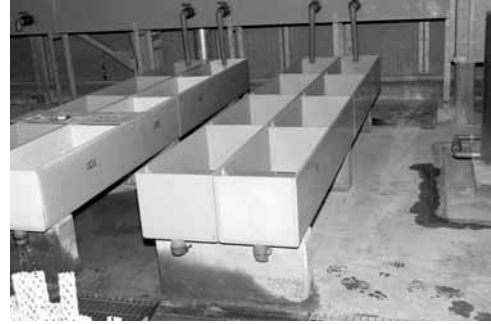


図2. 増収アトキンス型ふ化槽.



図3. 立体式ふ化器.



図4. 浮上槽. 受精後に卵を収容し, 浮上まで管理することが可能である.

ス型ふ化槽を改良した増収アトキンス型ふ化槽(図2)や, さらに実験規模などの卵数が少ない時はアトキンス型ふ化槽が現在でも使用される. 諸外国において広く使用されている立体式ふ化器(リーのふ化器)はわが国での使用はわずかである(図3). 立体式ふ化器は, 設置スペースが少なく, 水の有効利用や卵収容から浮上までの管理が可能であるなどの利点を有す反面, 水量のコントロールが難しく, 仔魚の形態異常が出やすいなどの欠点もある. 立体式ふ化器の欠点を解消し, 受精直後の卵から浮上までを管理できる浮上槽(図4)が本州域を中心として使用されているが, 発眼卵を検卵した後収容し, 浮上まで管理する使用法が一般的である.

ふ化槽での管理においては, ふ化槽への注水量の調整と水カビの発生防止が重要なポイントである. 注水量の過剰は卵の移動を生じさせ, 発眼率の低下や奇形の発生要因となる. 逆に過少のときは部分的な酸素欠乏やふ化槽内の環境の悪化を招く. ふ化槽への注水量は標準的な値がそれぞれのふ化槽の型式毎に決定されている.

## 卵期の病害

サケ・マス卵の病気としては, 本稿の中心となる卵表面でのミズカビの増殖による「卵の水

カビ病」(山本 2002)と卵膜の一部が溶解する「卵膜軟化症」が主要な病気である(小林 1980, 若林 2002). 卵期における病気の種類が少ないのは, サケ科魚類卵が大型であり, かつ強固な卵膜により被われていることによるところが大きい.

#### a 卵の水カビ病

主としてミズカビ科 (*Saprolegniaceae*) のミズカビが死卵や一部の生きた卵に付着することにより発生する. 江草 (1978) はわが国の養殖魚および魚卵の水カビ病からは, ミズカビ科以外の科のものは見出されていないとしている. ミズカビ科の諸属のうち最も重要なものは *Saprolegnia* 属のものである. *Saprolegnia* 属のミズカビは有性生殖世代と無性生殖世代を持つ複雑な生活史を有している (Scott 1964). 卵表面において肉眼で観察されるのは菌糸の段階である.

ミズカビの死亡した卵への付着は種苗生産の歴史の初期の時点から認められていたと考えられる. 卵へのミズカビの付着, 増殖は肉眼により白色の菌糸の出現から容易に観察できることから, 診断も容易であった. また培養が比較的簡便であることから分離も行われていたが, *Saprolegnia* 属には同定の指標となる有性生殖器を作らない不稔性のものはなほが多い (湯浅・畑井 1994). このため卵に付着したミズカビの種名については未解明の点が多い.

卵に付着するミズカビの種類や性状については, Hussein et al. (2001) がわが国のサケ科魚類の卵や魚体から分離された *Saprolegnia australis*, *S. salmonis*, *S. parasitica* についてその性状を報告している. Kitancharoen et al. (1997a) の報告やイワナの卵から検出された *Aphanomyces frigidophilus* に関する Kitancharoen and Hatai (1997) の報告がある. Kitancharoen and Hatai (1996) は遊走子を用いたニジマス卵に関する人工感染実験の結果から, *S. parasitica* と *S. diclina* では死卵に対する感染性に差があり *S. parasitica* が死卵表面に付着しやすいと報告している.

卵および魚の水カビ病の疫学調査においては病原体の同定が出来ない事は大きな障害となる. 形態学的な観察ばかりではなく分子生物学的な手法がミズカビの疫学調査へも応用されている (Whisler 1996; Bangyeekhun et al. 2001; Bangyeekhun et al. 2003).

過去にはホルマリンの薬浴によりミズカビ防止を行った (Barnes et al. 1997; Howe et al. 1995; Waterstrat and Marking 1995). ホルマリンの薬浴は作業者に多大の負担を掛けていたが, アリルメタン系の色素であるマラカイトグリーンを使用するようになりミズカビの防止効果は著しく向上した. 1930年にアメリカ合衆国ではそれまでのホルマリン薬浴に代わり, マラカイトグリーンの薬浴が採用され顕著な効果が報告されている. わが国のサケ・マス増殖事業においてもアメリカ合衆国からのマラカイトグリーンの有効性に関する Roger (1949) の論文に関する情報が1951年に坂野 (1951) により紹介された (高田 1951; 橋本・幸内 1953; 本場事業第二課 1955). それ以後, マラカイトグリーンは顕著なミズカビ防止効果を示すことと安価であることから普及した. 甲斐 (1953), 大屋 (1955a, 1955b) にあるようにサケ科魚類卵以外においても使用されるようになった. サケ・マス類のふ化場では薬液用の配管とタンクを設置し, 薬浴作業の効率的な実施に努めるようになった.

マラカイトグリーンの残留，催奇性等については Meyer and Jorgenson (1983) の報告に始まり， Willoughby and Roberts (1992), Alderman (1985) の報告等がある． Meinertz et al. (1995) は放射性物質でラベルしたマラカイトグリーンを用いて，ニジマス卵における薬浴後の蓄積・残留を検討し，マラカイトグリーンおよびその代謝物は薬浴回数に従い卵内に蓄積され，薬浴終了後も長期に残留することを報告している．それ以後の報告に関しては Plakas et al. (1999) により総説されている．

マラカイトグリーンに替わるミズカビ防止薬の必要性は以前から指摘されており，試験管内での効果判定の方法については， Bailey (1983a), Bailey (1983b) の報告がある．前記したようにミズカビは複雑な生活史を有することから抗ミズカビ効果を判定するときは，供試薬剤の菌糸に対する効果と遊走子に対する効果を検討しなければならない． Bailey (1983a, 1983b) は菌糸に対する効果の判定法を詳細に述べている． Alderman (1982) は40種の薬剤の抗ミズカビ効果を3種の方法で検討し Defungit, Hexylresorcinol, Terbutryne, Salicylanilide, Halquinol, Dichlorophen, Ethyl violet, Thimerosal, Iodine green, Dahlia, Crystal violet, Brilliant green がマラカイトグリーンシュウ酸塩と同等の効果を試験管内で示したことを報告している．湯浅・畑井 (1995) は6種の薬剤の魚類寄生ミズカビ科真菌3属に対する最小発育阻止濃度 (MIC) 値を検討し，マラカイトグリーンが最も低い値を示したこと， *S. parasitica* に対しては Cycloheximide, Chitosan および Tachigaren が有用であることが示唆されたことを報告している． Marking et al. (1994) は21種の薬剤のニジマス卵の抗カビ効果と12℃において60分作用させたときの卵への毒性について報告し過酸化水素水とホルマリンが高い効果を示したとしている．ホルマリン以外には，過酸化水素製剤 (Barnes et al. 1998; 山本ら 2001; Arndt et al. 2001; Stephenson et al. 2003; Kitancharoen 1997c)，電解水 (柏木ら 2000a; 2000b)，NaCl (Kitancharoen et al. 1997b)，Eugenol (Hussein et al. 2000)，海水 (Edgell et al. 1993) による防止効果の報告がある． Howe et al. (1995) はホルマリン保存中に形成されるパラホルムアルデヒドの卵に対する毒性を報告している．タンニン酸の効果に関する小島 (1978)，タンニンについての坂井・小林 (1997) の報告はマラカイトグリーンの代替に食品由来の物質を使用した報告である．ふ化用水を紫外線により殺菌してふ化槽内のミズカビの発生を防止する試みもなされた (木村ら 1980a; 1980b)．三浦 (2004) は銅ファイバーをふ化槽の注水部分に置くことによるニジマス卵の水カビ病防止効果を報告している． Oseid (1977) は *Asellus militaris* (ミズムシの一種) と *Gammarus pseudolimnaeus* (ヨコエビの一種) によるミズカビ防止法を報告している． Hussein and Hatai (2001) は細菌の産生する抗ミズカビ物質について報告し，予防への可能性を示唆している．

2003年7月に薬事法の一部が改正され，これにより2005年7月までの，2年間の暫定期間を過ぎると未承認医薬品の食用となる魚類への使用が全面的に禁止されることになった．前述した薬事法の改正後早急な水カビ病対策の確立が求められた．

前記したように，種々の薬剤が試験管内での抗ミズカビ効果を有することが知られていた．

しかし多くの薬剤は諸外国においても動物用医薬品として用いられてはならず，新規に動

物用医薬品としての認可を受けることが必要な薬剤である。新規に動物用医薬品としての認可を受けるためには多くのデータを必要とし、そのデータの取得のためには長い時間と多額の費用が必要となる。

大西洋サケの卵および稚魚の水カビ病治療薬として、Bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol) を50%含有する製剤が動物用医薬品としてヨーロッパで認可されPyceze (パイセス) の商品名で販売されている (Pottinger and Day 1999)。

ブロンポールは古くから殺菌剤として広範に用いられ、化粧品や歯磨き粉の防腐剤、農薬として使用されている。構造中に臭素を含んでいる。水中や環境中では速やかに分解すること、卵内や稚魚の魚体内には取り込まれないことが明らかになっている。

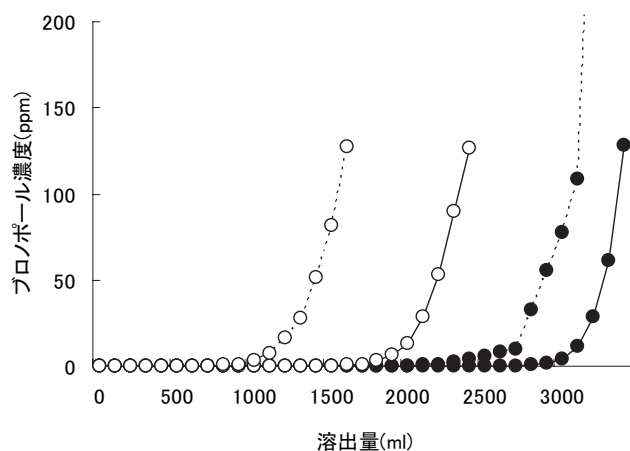


図5 活性炭によるブロンポールの吸着。日本バイオカーボン社白鷺活性炭を40g 充填したカラムにブロンポール濃度として1,000ppmのブロンポール製剤を注入して、カラムからの溶出液中のブロンポール濃度をHPLC法により測定した。SV=2の場合では3Lの溶出液がカラムから流出した時点からブロンポールが観察された。活性炭重量の約10%のブロンポールが吸着可能であった。○-----○; SV=10, ○—○; SV=6, ●-----●; SV=4, ●—●; SV=2とした時のカラムからの溶出液中のブロンポール濃度 (ppm) の変化を示す。

Pyceze の流水式薬浴における効果については、2003年からわが国でもニジマス卵について長野県および山梨県、サケ卵について宮城県およびさけ・ます資源管理センター、アユ卵について岐阜県の各水産試験研究機関でも実施され、これらの一連の試験結果は三柴ら (2004), 景山・中居 (2004), 大野ら (2004), 中居ら (2004) で有効性が報告されている。

パイセスの排水からの吸着に関して野村ら (2004) の報告があり、図5に示したように使用する活性炭容量と処理する水の容積の比率として求めるSV値が大きくなると急激に吸着の能力が低下したことを報告している。SV=2では使用した

活性炭重量の約10%のブロンポールの吸着が可能であったとしている。排水中薬剤やマラカイトグリーンの活性炭による吸着に関してはDawson et al. (1976), Marking et al. (1990) や高橋 (1987) の報告があるが、それらの報告ではSV値は30以上の高い値でもマラカイトグリーン

#### b 卵膜の構造と硬化

本題の卵膜軟化症について記載する前に、若干の卵膜に関する知見のとりまとめを行いたい。

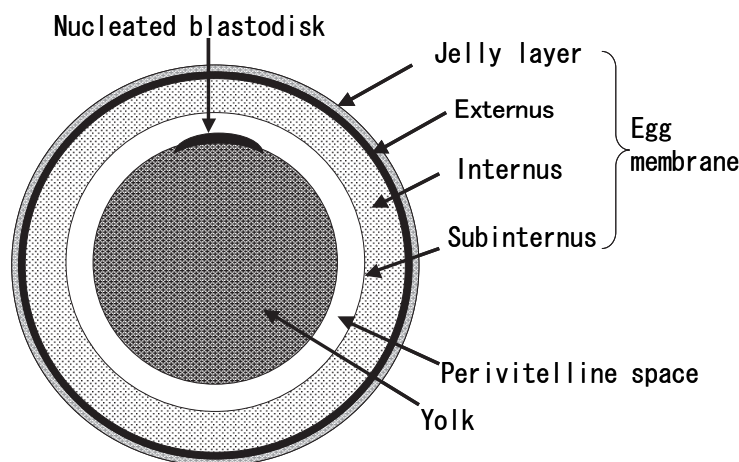


図6. サケ科魚類卵膜の構造. Groot and Alderdice 1985から改写. 各構造の名称は Groot and Alderdice 1985に従った. 図の各部の比率は実際の比率とは異なる.

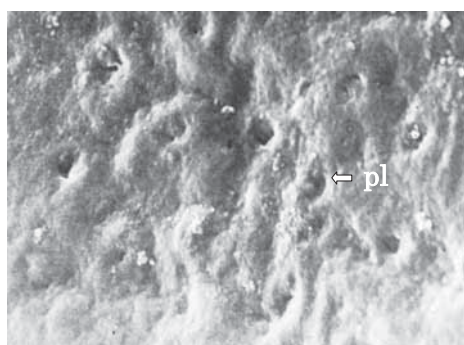


図7. 卵膜表面の走査電子顕微鏡による観察. plはplugを示す.

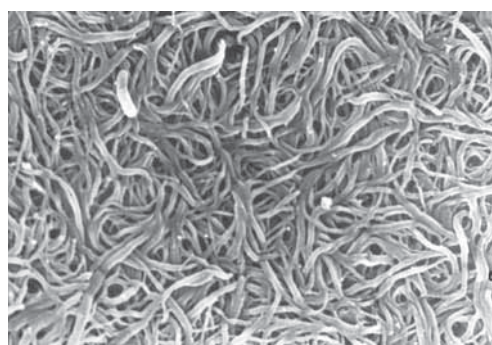


図8. 卵膜内側の走査電子顕微鏡による観察.

卵膜は、卵を取り巻く膜状の構造として認識されているが、生物の中で魚類の卵膜は種々の点で特殊な膜として注目を集めている。サケ科魚類の卵はその外側を厚い膜により覆われている。構造の概略を図6に示した。膜の部分の名称については報告により様々の呼び名があり不統一の感がある (Bell et al. 1969). Alderdice et al. (1984), Groot and Alderdice (1985) はサケ科魚類の卵膜の厚さ (図6の egg membrane として示した部分) はサケの8.1 mm の卵径の卵では平均で $53.05 \mu\text{m}$ , カラフトマスの6.8 mm の卵径の卵では平均で $61.64 \mu\text{m}$  の厚さを示したことを報告している。しかし表面の密な構造である Externus の厚さは前記の卵ではサケで $0.28 \mu\text{m}$ , カラフトマスで $0.25 \mu\text{m}$  と薄いことを報告している。この卵膜を外側から観察すると図7に示したようにほぼ五角形に plug と呼ばれる円形の構造が配置されており内面は図8

に示したように網目状の構造となっている。前記した50  $\mu\text{m}$  余りの膜もその構造は強固な部分は薄く、ほとんどが図8に示したような透過性のよい部分で構成されている。

サケ・マス卵を受精後、ふ化用水中に置くと卵の硬化が起こることは一般に広く知られている。吸水により卵が硬化することに関して、井内（1997）は魚類の卵膜硬化酵素について総説しているが、魚類の卵膜は卵付活後硬化し外界から与えられる機械的、化学的的刺激から胚を保護する役割を担っていると考えられることを示している。卵膜は細胞に観察される膜系とは機能や構造が大きく異なることから膜 (membrane) とは呼ばずに外被 (envelope) と呼ぶ

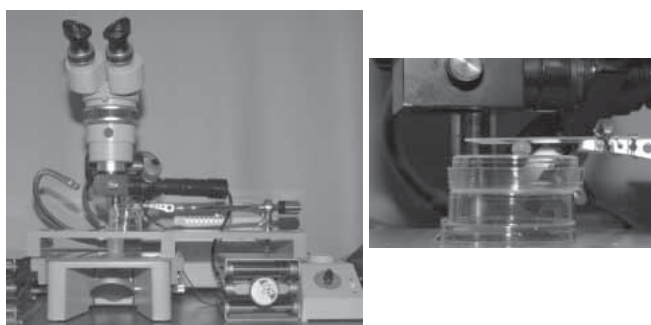


図9. 卵圧測定のための装置. Alderdice et al. (1984) にもとづき作製した。左は測定装置の全体像、右は硝子板で卵に圧力を掛ける部分を示す。

場合もあるが、魚類では卵膜の用語が多用されているようである。井内（1997）は魚類の卵膜の硬化にはたん白質の架橋に大きな作用をするトランスグルタミナーゼ酵素 (TGase) が重要な役割を果たしていることを報告している。また河（1999）は魚類卵膜硬化酵素の分子的基础研究として TGase について検討し、2種の TGase がニジマスでは観察されることを報告している。

井内や河の SDS-Page を用いた一連の研究から、未受精卵のニジマス卵膜には Z1, Z2 と呼ばれる分子量45 kDa 付近と66 kDa 付近のたんぱく質が存在するが、受精および卵付活後1時間あまりで Z1, Z2 のたんぱく質は減少し、新たに57-65 kDa, 110 kDa, 125 kDa のたんぱく質が観察されるが最終的にはいずれのたんぱく質も観察されなくなることを報告している。またこの卵膜の硬化には  $\text{Ca}^{++}$  イオンが重要な役割を果たしていることも報告されている (Iuchi 2001)。受精後の時間の経過とともに SDS-Page により観察されたたんぱく質が消失することは後述するように卵膜が SDS や尿素などに融解しない強靱な膜となったことを示している。このように卵膜硬化酵素により高分子のたんぱく質が形成された卵膜は強靱となり、機械的な刺激にも抵抗を示すようになると同時に化学的にも強靱となる。Bell et al. (1969), 安増・山上 (2002) は強靱となった卵膜はふ化酵素 (hatching enzyme) または pronase 以外では消化されないことを報告している。

本症の診断の基本となる卵内の圧力を測定する方法も報告により様々であり (Alderdice et al. 1984) さらに検討を継続する必要がある。従来、サケ卵の卵圧測定法として果肉硬度計による測定も行われている。著者らは Alderdice et al. (1984) に基づき図9に示したような装置を自作し卵圧の測定を行っている。本装置は人の眼球内の圧力を測定する原理を応用したものであるが、装置自体はレコードプレーヤーの部品を改造することにより容易に作成することが

できる。図9に装置の全体と卵に圧力を加える部分を示したが、本装置は卵の手触りの硬さと良く対応することが観察されている。受精直後、積算温度105°C、200°C、430°Cの卵を測定した結果、圧遍部の直径は発眼までは増加を示しその後は孵化まで一定となった。井内（1997）は卵膜硬化の測定法について考察し、従来使用されていた果肉硬度計による測定や、梅原ら（1985）の報告のように秤等で卵全体に重力を加えていき卵破壊に必要な重量を測定する方法は、卵膜の引っ張りに対する抵抗性を測定しているものであろうとしている。この方法は簡便であり最も実感的であるが、卵圧とは異なるものを測定していることになる。卵膜軟化症なる病名により時として卵膜の軟らかさ（硬さ）と卵圧が混同されて論議されているきらいがある。卵膜の硬さの定義はないことから、卵膜の厳密に定義された物理量としての硬さを測定することは困難を極めるとされている（井内 1997）。メダカ卵を一定距離押しつぶすのに必要な力をもって卵膜の硬さを検討した報告もあるが、この方法は著者らが使用している装置と類似している測定とも考えられる。Iuchi et al. (1995) はメダカ卵の一端から振動を与え、他端への振動の伝わりをレーザ光線で検出することによる測定法を紹介している。

ニジマス卵膜では1N-NaOH や8M-尿素または1-3%の sodium dodecyl sulfate (SDS) に対する溶解性を検討した報告もある。この方法は簡便であるとともに可溶化されたたんぱく質を SDS 電気泳動法 (SDS-Page) により詳しく調べることもできる利点がある。

### c 卵膜軟化症

養殖マス類の卵膜軟化症に関する情報は少ないが、本病も古くから増殖事業のサケ卵に大きな被害を与える病気として知られている。本病の病名については種々見られるが、日本魚病学会の定めた病名に従うなら「卵膜軟化症」となる。本稿においては混乱を避けるため従来の報告にある、軟化卵等の病名の記載は用いず「卵膜軟化症」に統一した。原因には種々の説があるがいまだ特定されてはいない（保科ら 1965, Wedemeyer 1996, 野村 1998）。近年増加傾向にあるふ化場もあり、一部では薬剤の使用中止による水カビ病の増加との関連が指摘されている。

高安ら（1934）、大野（1929）武田（1930）など本病の発生状況に関する記載はいずれも1930年ごろの本病発生の記録である。高安ら（1934）は1927年より見られた西別川の西別鮭鱒孵化場においてサケ卵に本病が見られたことを報告している。斉藤（1930）は択捉島有萌孵化場、同島紗那孵化場、同島留別孵化場、北海道の上の国孵化場、尻別孵化場、千歳孵化場、斜里孵化場、薫別孵化場、釧路孵化場、遊楽部孵化場において卵膜軟化症の発生が観察されたとしている。関根（1930）は斉藤（1930）に加え、魚種は不明であるが本州においても卵膜軟化症が見られたことを報告している。武田（1929）が西別孵化場における本病の発生を報告するなど1930年前後には、本病が北方領土を含む広い範囲に発生していたことが伺われる。江草・中島（1973）はそれまでの我が国における魚病に関する報告を整理した中で、本病に関する報告が1940年代より見られないことから、本病に関する問題は当時すでに解決したと思われるとしている。新谷（1998）はサクラマス卵に発生したことを、Cousins and Jensen



(1994) は全てのサケ科魚類の卵が本病に感受性があるが、特にマスノスケとギンザケの卵において発症しやすいと述べている。伊澤ら (1998) はニジマスやサクラマス卵に本病がしばしば見られるとしている。カラフトマス卵における本病の発生については情報を得られなかった。

本病に関する我が国での最初の系統的な研究の報告は、前記した高安ら (1934) の1927年より西別川の西別鮭鱒孵化場におけるサケ卵の被害についての報告であろう。高安ら (1934) はこの病気が欧米で見られる *soft-egg disease* と類似していることを報告し、その疫学的調査結果、細菌学的調査結果および薬剤による消毒効果を報告している。顕微鏡による卵膜断面の観察から、卵膜表面に窪みができていたことを報告している。細菌学的な検討では、分離された菌はその生化学性状から、*Bacterium* 属や *Pseudomonas* 属に属するものとしているが、現在の細菌の分類体系とは同等とすることができない。消毒効果は過マンガン酸カリウムの薬浴が有効であることを示している。卵膜軟化症に関する報告は我が国ばかりではなく、Toney (1971) や Wolf (1971) などの報告にあるようにアメリカ合衆国やカナダにおいても見られている。

梅原ら (1985) は岐阜県で発生したアマゴの卵膜軟化症について報告し、光学顕微鏡では様々の大きさのほぼ円形の小孔が観察され、走査電子顕微鏡による観察では卵表面、とりわけ小孔の内部や周縁に真菌および短桿菌が多数存在したことを報告している。観察結果から、本病は細菌性の病気であろうと考察している。

Cousins and Jensen (1994) はマスノスケ卵に発生した卵膜軟化症について水温との関連を検討し、14°Cで管理された卵は8°Cで管理された卵より卵圧が高くなり、plug が上昇することにより条件性病原性を示す細菌の侵入が容易となることから卵膜軟化症が発生するとしている。

多くの報告が本病と細菌の関連を推定しているが、伊澤ら (1998) は水質と本病発生の関連を検討し、1mM以上の水中の硫酸イオンが卵膜軟化症の発生を促進すること、水中のカルシウムイオンが発生を抑制すると考えられることを報告している。また伊澤ら (1998) は本病の発生に細菌は関与していないと推察している。

治療については過マンガン酸カリウムの薬浴が有効であることが示されているが、2003年の薬事法改正以後、過マンガン酸カリウムは動物用医薬品ではないため使用することはできない。茶カテキンに受精直後に卵を浸漬することにより卵が軟化することが防止できることが示唆されている。

水カビ病と同様に古くから知られている卵膜軟化症は、水カビ病に比べると知見が少なく、現状の発生状況も明確ではない。卵膜軟化症の発生に細菌が関与しているとする報告が多いが、卵膜軟化症卵の表面に観察される細菌が原因菌なのか二次的に増殖をした細菌かの結論は今後の検討を待たなければならない。

現状のふ化事業は卵を移動することが可能であることを基本としてふ化場の諸施設が設計され、種苗生産の工程が組み立てられている。卵膜軟化症による卵の移動が不可能になると

人工孵化事業の遂行が困難となる。発症後の稚魚に与える影響も明確になっていない。卵膜軟化症の原因と対策についての早急な対応が望まれる。

### 今後の課題

ミズカビは種苗生産時に高頻度に観察される病原微生物であるが、前記したように過去にはその防止にはマラカイトグリーンが使用され、現状でも数種の有効な薬剤が報告されている。今後動物用医薬品として承認される薬剤が増加することによりより有効なミズカビ防止が可能となるであろうが、使用する薬剤やその処理費など種苗生産効果に直接影響を与える。卵管理技術の改良やふ化槽の改良により薬剤に頼らないミズカビ防止技術を確立することが今後必要となる。100年以上の歴史を有するサケ・マス増殖事業の開始時点から卵の水カビ病と卵膜軟化症は知られているが、卵に感染するミズカビの種の解明すら十分ではない。マラカイトグリーンや過マンガン酸カリウムにより問題が解決済みとした従来の姿勢を改め、卵の生理学、疫学や病原体に関する知見を基礎とした卵期の病気に対する再度の検討が必要である。

2003年夏季よりのマラカイトグリーンに代わる水産用医薬品の開発は一定の成果を得ることができ、ブロンポール製剤がサケおよびアユ卵の消毒の目的で、動物用医薬品として認定される見込みとなった。今後の水産用医薬品の開発では多くの機関が共同で行うことが必須となるが、より実際の事業に近づけた野外試験の実施可能場所は少ない。市場規模の小さい魚類用動物薬においては、動物薬の製造者のみで新規薬剤の製造認可申請に必要な全ての試験を実施することには困難が伴う。今後どのように開発について連携を図るかが重要な課題となると考える。

### 引用文献

- Alderdice, D. F., J. O. T. Jensen, and F. P. J. Velsen. 1984. Measurement of hydrostatic pressure in salmonid eggs. *Can. J. Zool.*, 62: 1977-1987.
- Alderman, D. J. 1982. *In vitro* testing of fisheries chemotherapeutants. *J. Fish Dis.*, 5: 113-123.
- Alderman, D. J. 1985. Malachite green: a review. *J. Fish Dis.*, 8: 289-298.
- 新谷康二. 1998. 森支場で池産サクラマス卵に発症した卵膜軟化症について. *魚と水*, 35:13-18.
- Arndt, R. E., E. J. Wagner, and M. D. Routledge. 2001. Reducing or withholding hydrogen peroxide treatment during a critical stage of rainbow trout development: effects on eyed eggs, hatch, deformities, and fungal control. *North Am. J. Aquat.*, 63: 161-166.
- Bailey, T. A. 1983a. Method for *in vitro* screening of aquatic fungicides. *J. Fish Dis.*, 6: 91-100.
- Bailey, T. A. 1983b. Screening fungicides for use in fish culture: evaluation of the agar plug transfer, cellophane transfer, and agar dilution methods. *Prog. Fish-Cult.*, 45: 24-27.
- Bangyeekhun, E., P. Pylkkö, P. Vennerström, H. Kuronen, and L. Cerenius. 2003. Prevalence of a

- single fish-pathogenic *Saprolegnia* sp. clone in Finland and Sweden. *Dis. Aquat. Org.*, 53: 47-53.
- Bangyeekhun, E., S. M. A. Quiniou, J. E. Bly, and L. Cerenius. 2001. Characterisation of *Saprolegnia* sp. isolates from channel catfish. *Dis. Aquat. Org.*, 45: 53-59.
- Barnes, M. E., R. J. Cordes, and W. A. Saylor. 1997. Use of formalin during incubation of eyed eggs of inland fall chinook salmon. *Prog. Fish-Cult.*, 59: 303-306.
- Barnes, M. E., D. E. Ewing, R. J. Cordes, and G. L. Young. 1998. Observations on hydrogen peroxide control of *Saprolegnia* spp. during rainbow trout egg incubation. *Prog. Fish-Cult.*, 60: 67-70.
- Barnes, M. E., R. J. Cordes, and W. A. Saylor. 2003. Soft-egg disease in landlocked fall chinook salmon eggs: possible causes and therapeutic treatments. *North Am. J. Aquacult.*, 65: 126-133.
- Bell, G. R., G. E. Hoskins, and J. W. Bagshaw. 1969. On the structure and enzymatic degradation of the external membrane of the salmon egg. *Can. J. Zool.*, 47: 146-148.
- Cousins, K. L., and J. O.T. Jensen. 1994. The effects of temperature on external egg membranes in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and the occurrence of soft-shell disease. *Can. J. Zool.*, 72: 1854-1857.
- Dawson, V. K., L. L. Marking, and T. D. Bills. 1976. Removal of toxic chemicals from water with activated carbon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 105: 119-123.
- Edgell, P., D. Lawseth, W. E. McLean, and E. W. Britton. 1993. The use of salt solutions to control fungus (*Saprolegnia*) infestations on salmon eggs. *Prog. Fish-Cult.*, 55: 48-52.
- 江草周三. 1978. 真菌症. 魚の感染症, 恒星社厚生閣, 東京. 292-303.
- 江草周三・中島健次. 1973. 魚病に関する文献集. 第1集 寄生体性疾病と寄生体. 魚病研究, 7:137-229.
- Groot, E. P., and D. F. Alderdice. 1985. Fine structure of the external egg membrane of five species of Pacific salmon and steelhead trout. *Can. J. Zool.*, 63: 552-566.
- 河 咏洛. 1999. 魚類卵卵膜硬化の分子的基礎. 生命科学研究所紀要, 18: 53-62.
- 橋本武三郎・幸内憲六. 1953. マラカイトグリーンによる鮭卵消毒試験 (第一報). 魚と卵. 昭和28年十月号: 6-7.
- 保科利一・江草周三・四竈安正. 1965. 卵膜軟化病, 川本信之編, 養魚学総論, 恒星社厚生閣, 東京. 270-272.
- 本場事業第二課. 1955. 水生菌の予防について. 魚と卵, 6: 28.
- Howe, G. E., L. L. Marking, T. D. Bills, and T. M. Schreier. 1995. Efficacy and toxicity of formalin solutions containing paraformaldehyde for fish and egg treatments. *Prog. Fish-Cult.*, 57: 147-152.
- Hussein, M. M. A., and K. Hatai. 2001. *In vitro* inhibition of *Saprolegnia* by bacteria isolated from lesions of salmonids with Saprolegniasis. *Fish Pathol.*, 36: 73-78.
- Hussein, M. M. A., K. Hatai, and T. Nomura. 2001. Saprolegniosis in salmonids and their eggs in Japan. *J. Wildlife Diseases*, 37: 204-207.

- Hussein, M. M. A., S. Wada, K. Hatai, and A. Yamamoto. 2000. Antimycotic activity of eugenol against selected water molds. *Aquat. Anim. Health*, 12: 224-229.
- 井内一郎. 1997. 魚類の卵膜硬化酵素. *生命科学研究紀要*, 16:13-26.
- Iuchi, I. 2001. Further analysis of egg envelope (Chorion) hardening in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: a role of  $Ca^{2+}$  released from the activated egg. *Sophia Life Science Bulletin*, 20: 43-52.
- Iuchi, I., C-R. Ha, and K. Matsuda. 1995. Chorion hardening in medaka (*Oryzias latipes*) egg. *Fish Biol. J. Medaka*, 7: 15-20.
- 伊澤敏穂・新谷康二・村上 豊・北村隆也・坂井勝信. 1998. 卵膜軟化症の発症原因. *魚と水*, 35:19-28.
- 甲斐哲夫. 1953. 各種消毒剤による鯉卵の孵化効果について (予報). *水産孵化場試験報告*, 8: 119-124.
- 景山哲史・中居 裕. 2004. アユ卵の化学的消毒法の検討 II: 過酸化水素製剤によるアユ卵消毒法の検討. 平成16年度日本魚病学会講演要旨, 60.
- 柏木正章・前川 縁・田中洋美・吉岡 基・上野隆二・星合愿一・畑井喜司雄・出野 裕・中村雅昭. 2000a. 弱アルカリ性電解水のミズカビ病原菌 *Saprolegnia parasitica* に対する殺菌効果. *水産増殖*, 48: 565-569.
- 柏木正章・佐藤亜紀子・坂東英太郎・吉岡 基・上野隆二・中村雅昭・出野 裕. 2000b. 殺菌作用を有する電解水 3 種の物理化学的性質と保存性. *水産増殖*, 48: 559-564.
- 小島 博. 1978. タンニン酸のミズカビ防除効果. *孵化場研報*. 33: 45-53.
- 木村喬久・吉水 守・田島研一・絵面良男. 1980a. 養魚用水の紫外線殺菌について-II. 魚病原因ミズカビの紫外線 (U.V.) 感受性について. *魚病研究*, 14: 133-137.
- 木村喬久・吉水 守・阿刀田光紹. 1980b. 養魚用水の紫外線殺菌について-III. U.V.処理水使用によるサケ・マス孵化成績について. *魚病研究*, 14: 139-142.
- Kitacharoen, N., and K. Hatai. 1996. Experimental infection of *Saprolegnia* spp. in rainbow trout eggs. *Fish Pathol.*, 31: 49-50.
- Kitancharoen, N., and K. Hatai. 1997. *Aphanomyces frigidophilus* sp. nov. from eggs of Japanese char, *Salvelinus leucomaenis*. *Mycoscience*, 38: 135-140.
- Kitancharoen, N., K. Hatai, and A. Yamamoto. 1997a. Aquatic fungi developing on eggs of salmonids. *J. Aquat. Anim. Health*, 9: 314-316.
- Kitancharoen, N., A. Ono, A. Yamamoto, and K. Hatai. 1997b. The fungistatic effect of NaCl on rainbow trout egg *Saprolegniasis*. *Fish Pathol.*, 32: 159-162.
- Kitancharoen, N., A. Yamamoto, and K. Hatai. 1997c. Fungicidal effect of hydrogen peroxide on fungal infection of rainbow trout eggs. *Mycoscience*, 38: 375-378.
- 小林哲夫. 1980. 増殖事業におけるサケ・マスの疾病. *魚病研究*, 14: 151-157.

- Marking, L. L., J. J. Rach, and T. M. Schreier. 1994. Evaluation of antifungal agents for fish culture. *Prog. Fish-Cult.*, 56: 225-231.
- Marking, L. L., D. Leith, and J. Davis. 1990. Development of a carbon filter system for removing malachite green from hatchery effluents. *Prog. Fish-Cult.*, 52: 92-99.
- Meinertz, J. R., G. R. Stehly, W. H. Gingerich, and J. L. Allen. 1995. Residues of [<sup>14</sup>C]-malachite green in eggs and fry of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), after treatment of eggs. *J. Fish Dis.*, 18: 239-247.
- Meyer, F. P., and T. A. Jorgenson. 1983. Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbits. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112: 818-824.
- 三柴 徹・野村哲一・熊谷 明・土田奈々・小川 滋・梶原敬太・大野平祐・畑井喜司雄. 2004. サケ科魚類卵の水カビ病に対するブロナポールの薬浴効果. 平成16年度日本魚病学会講演要旨集, 62 p.
- 三浦正之. 2004. 銅ファイバーを用いたニジマス卵の水カビ病防除. *養殖*, 519: 80-83.
- 中居 裕・景山哲史・宇賀神光男・古澤和具・名倉 盾・原 日出夫・降幡 充・畑井喜司雄・梶原敬太. 2004. アユ卵に対するブロナポールの安全性試験および水カビ病発生防除効果. 平成16年度日本魚病学会講演要旨集, 61 p.
- 野村哲一. 1998. サケ科魚類の細菌病. *月間海洋*, 14: 20-25.
- 野村哲一・糸屋雅子・梶原敬太・畑井喜司雄. 2004. 循環式薬浴によるブロナポールのサケ卵ミズカビ病防止効果. 平成16年度日本水産学会北海道支部大会講演要旨集, 26 p.
- 大野磯吉. 1929. 西別孵化場鮭被害卵消毒試験経過. *鮭鱒彙報*, 1 ; 3-6.
- 大野平祐・畑井喜司雄・桐生 透・土田奈々・三浦正之. 2004. ニジマス卵の水カビ病および原因菌に対するブロナポールの効果. 平成16年度日本魚病学会講演要旨集, 61 p.
- 大屋善延. 1955a. マラカイト・グリーン（青竹粉）に依る鯉卵消毒試験. *魚と卵*, 6: 38-44.
- 大屋善延. 1955b. マラカイト・グリーンに依る鯉卵消毒試験. *水産孵化場試験報告*, 10: 109-114.
- Oseid, D. N. 1977. Control of fungus growth on fish eggs by *Asellus militaris* and *Gammarus pseudolimnaeus*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 106: 192-195.
- Plakas, S. M., D. R. Doerge, and S. B. Turnipseed. 1999. Disposition and metabolism of malachite green and other therapeutic dyes in fish. *In Xenobiotics in fish*. ed. by Smith, D. J., W. H. Gingerich, and M. G. Beconi-Barker. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 149-166.
- Pottinger, T. G., and J. G. Day. 1999. A *Saprolegnia parasitica* challenge system for rainbow trout: assessment of Pyceze as an anti-fungal agent for both fish and ova. *Dis. Aquat. Org.*, 36: 129-141.
- Roger, E. B. 1949. Prophylactic treatment for control of fungus (*Saprolegnia parasitica*) on salmon eggs. *Prog. Fish-Cult.*, 11: 97-102.
- 斉藤光雄. 1930. 鮭鱒卵の卵膜軟化症に就いて. *鮭鱒彙報*, 2: 7-10.
- 坂井勝信・小林美樹. 1997. さけます授精卵の防微とマラカイトグリーン代替品. *魚と水*, 34:

130-131.

- 坂野栄一. 1951. マラカイトグリーン 米国における鮭鱒卵の水生菌防止に関する一文献の紹介. 魚と卵, 2: 36-42.
- Scott, W. W. 1964. Fungi associated with fish diseases. Develop. Ind. Microbiol., 5: 109-123.
- 関根秀三郎. 1930. 斉藤光雄君の「鮭鱒卵の卵膜軟化症に就きて」を読み. 鮭鱒彙報, 2: 1-3.
- Stephenson, H., M. Gabel, and M. E. Barnes. 2003. Microbial inhibition in response to treatments of hydrogen peroxide and formalin on landlocked fall chinook salmon eyed eggs, as determined by scanning electron microscopy. North Am. J. Aquacult., 65: 324-329.
- 高田幸一. 1951. マラカイトグリーン及びロツカールの生体に対する作用の考案. 魚と卵, 2: 31-33.
- 高橋一孝. 1987. マラカイトグリーンの簡便な排水処理方法. 養殖, 24:109-113.
- 高安三次・武田志麻之輔・大野儀吉. 1934. 西別鮭鱒孵化場鮭卵被害調査. 水産調査報告, 37: 1-140.
- 武田志麻之輔. 1929. 西別孵化場鮭卵被害状況. 鮭鱒彙報, 1: 1-4.
- 武田志麻之輔. 1930. 最近本道孵化場に起れる鮭卵の病害の原因に就いて. 鮭鱒彙報, 2: 1-7.
- Toney, D. P. 1971. Soft-egg disease and acriflavine. Prog. Fish-Cult., 33:159.
- 梅原光夫・隆島史夫・立川 互. 1985. アマゴの卵膜軟化症. 水産増殖, 32: 230-232.
- 若林久嗣. 2002. 魚類の感染症—我が国の現状と課題—. 日水誌, 68: 815-824.
- Waterstrat, P. R., and L. L. Marking. 1995. Clinical evaluation of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride for the treatment of *Saprolegnia parasitica* on fall chinook salmon eggs. Prog. Fish-Cult., 57: 287-291.
- Wedemeyer, G. A. 1996. Soft-shell disease (Soft-egg disease), Physiology of fish in intensive culture. Chapman and Hall, New York. 97-98.
- Whisler, H. C. 1996. Identification of *Saprolegnia* spp. pathogenic in chinook salmon. Final report, Period of report: January 15, 1993 to June 14, 1996. Report to Bonneville Power Administration, Contract No. 1990B0P2836, Project No. 199006100, 58 electronic pages (BPA Report DOE/BP-02836-2).
- Willoughby, L. G., and R. J. Roberts. 1992. Towards strategic use of fungicides against *Saprolegnia parasitica* in salmonid fish hatcheries. J. Fish Dis., 15: 1-13.
- Wolf, K. 1971. Soft-egg disease of fishes. U. S. Fish. Wildl. Serv. Fish Dis. Leaflet, No. 34. 12p.
- 山本 淳. 2002. サケ科魚卵の水カビ病. 養殖, 2002年8月号: 35-36.
- 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水カビ病の防除. 魚病研究, 36: 241-246.
- 安増茂樹・山上健次郎. 2002. 脊椎動物の孵化酵素. 生命科学研究所紀要, 21: 89-97.
- 湯浅 啓・畑井喜司雄. 1994. 淡水魚類の水カビ病原菌の生物学的性状による分類の試み.

日本菌学会会報, 35: 104-110.

湯浅 啓・畑井喜司雄. 1995. 淡水魚類の水カビ病原菌の薬剤感受性. 防菌防微誌, 23: 213-219.