

## ポビドンヨード製剤を用いたアユ卵消毒法の検討

景山 哲史, 中居 裕

Disinfection method for fertilized eggs of ayu (*Plecoglossus altivelis*) using povidone-iodine

TETSUSHI KAGEYAMA AND YUTAKA NAKAI

アユの冷水病は、1987年に徳島県で養殖場での発病が確認<sup>1)</sup>されて以来、現在では全国に蔓延し、アユ養殖業に大きな被害をもたらしている。

そのことを受けてアユの種苗供給実態は近年大きく変化し、従来、供給種苗の大部分を占めていた琵琶湖産アユはその割合を大きく減らし、その代替として人工種苗の比率が急増している。それに伴い、人工種苗生産施設における冷水病の防疫対策の確立が急務となっている。

本研究では、アユの人工種苗生産における冷水病原因菌の垂直感染の防止を主目的にポビドンヨード製剤を用いた卵消毒技術開発を行った。

なお、本研究は、社団法人日本水産資源保護協会委託事業「平成13・14年度魚病対策技術開発研究」の一部として実施し、平成13年度に発足した国、都道府県、全国内水面漁業協同組合連合会等で構成するアユ冷水病対策協議会の活動と歩調を合わせて実施された。

### 方 法

#### 1. 供試親魚

雄親魚には第1回試験では琵琶湖系親魚(交配1代目、以下「F1」と表記。)21尾(平均体重:38.2g)、両側回遊系親魚(F1)8尾(平均体重:54.8g)、第2回試験では琵琶湖系親魚(交配2代目、以下「F2」と表記。)6尾(平均体重:42.1g)、両側回遊系親魚(F1)5尾(平均体重:35.5g)を用いた。各個体より腹部圧迫により採精し、系統毎に精液を混合して以下の試験に用いた。

雌親魚は第1回試験では琵琶湖系親魚1尾(体重:52.9g、卵重量:0.24mg/粒)、両側回遊系親魚(F1)5尾(平均魚体重:52.1g、卵重量:0.42mg/粒)、第2回試験では琵琶湖系親魚(F2)6尾(体重:55.3g、卵重量:0.42mg/粒)、両側回遊系親魚4尾(平均魚体重:56.7g、卵重量:0.26mg/粒)を用いた。

#### 2. 精子の培養方法

採精した精液を精液重量(g)の約20倍量のニジマス用人工精漿<sup>2)</sup>で希釈し、15°Cで1時間培養した。その後、運動性を確認し、試験に用いた。

#### 3. 媒精方法

採卵した卵重量(g)と等量のコイの受精液(0.4%NaCl・0.3%尿素)を混合後、ただちに卵の0.1倍量の培養精液で受精させた。

#### 4. 着卵方法

コンテナの中にスライドガラスを並べ、水深30cm程度となるよう飼育水を張った。その後、受精卵を水中に投入し、水を攪拌しながら、スライドガラス1枚につき150粒程度の卵を付着させた。

5. アユ受精卵のポビドンヨード製剤(有効ヨウ素濃度1%水産用イソジン液 明治製菓)処理および発眼率調査  
着卵の約1時間後、表に示す有効ヨウ素濃度、処理時間無通気で浸漬処理した。ポビドンヨード製剤の希釈には井戸水を使用した。その後、発眼期まで井戸水により流水飼育を行い、発眼率を求めた。対照区はポビドンヨード製剤の希釈に用いた井戸水に浸漬した。各試験区につきスライドガラスを2枚使用した。

#### 6. 統計解析

各試験区と対照区の発眼率の違いを検定するために、各区の処理方法の違いについて一元配置分散分析を行い、Fisher's PLSDによる多重比較検定を行った。

表 ポビドンヨード製剤によるアユ卵処理試験区

供試卵の系統	第1回試験		第2回試験	
	濃度 (ppm)	時間 (分)	濃度 (ppm)	時間 (分)
琵琶湖系	10	5	10	5
		10		10
		5		5
		10		10
	6.7	5	2.5	5
		10		10
		15		20
		30		5
	5	5	1.25	10
		10		20
		15		40
		30		80
	0	30	0	10
		40		20
80		40		
80		80		
両側回遊系	10	5	10	5
		10		10
		5		5
		10		10
	6.7	5	2.5	5
		10		10
		15		20
		30		40
	5	5	1.25	20
		10		40
		15		80
		30		20
	0	30	0	40
		40		80
80		80		
80		80		

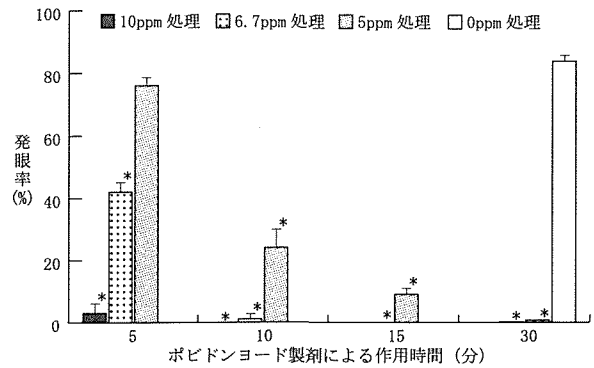
## 結果

第1回試験で琵琶湖系卵を用いて行った試験で、5ppm・5分処理区以外の試験区の発眼率が対照区と比べて、有意 ( $p < 0.05$ ) に低かった(第1図)。両側回遊系の卵を用いた試験では6.7ppm・5分、5ppm・5、10分以外の処理区では発眼率が0ppm・30分処理区に比べて、有意 ( $p < 0.05$ ) に低かった(第2図)。

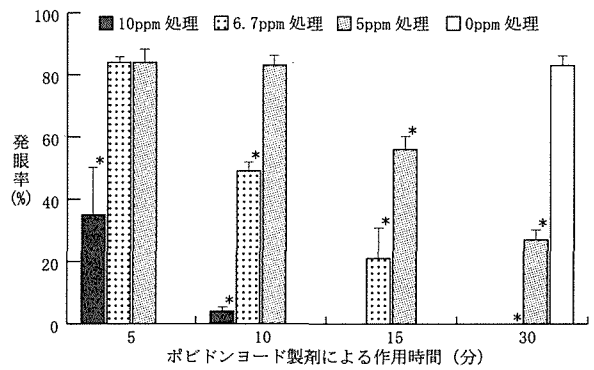
また、第2回試験で琵琶湖系卵を用いて行った試験では10ppm・5、10分5ppm・10、20分、2.5ppm・80分の処理区で発眼率が0ppm・80分処理区のそれより有意 ( $p < 0.05$ ) に低かった(第3図)。両側回遊系卵を用いた試験では10ppm・5、10分、5ppm・5、10、20、40分、2.5ppm・80分の処理区で発眼率が0ppm・80分処理区に比べて、有意 ( $p < 0.05$ ) に低かった(第4図)。

## 考察

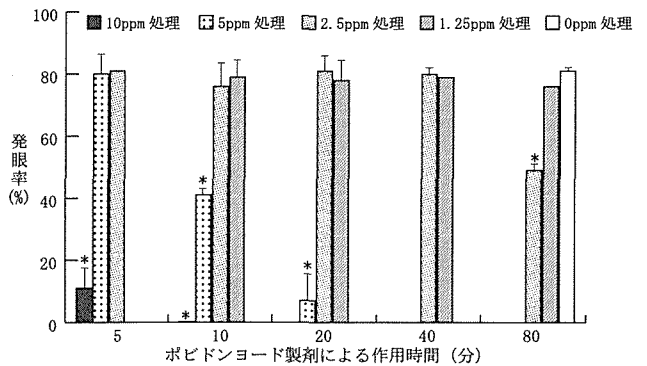
ポビドンヨード製剤濃度と作用時間がアユ卵へ与える影響について検討を行ったところ、琵琶湖系卵は5ppm・5分、2.5ppm・40分、1.25ppm・80分まで、両側回遊系卵は6.7ppm・5分、5ppm・15分、2.5ppm・40分、1.25ppm・80分まではそれぞれ0ppm・30分処理区と比較して発眼率に悪影響が認められなかった。一方、冷水病原菌に対



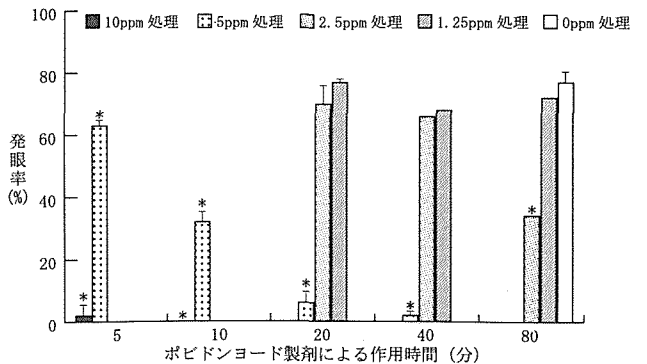
第1図 ポビドンヨード製剤処理によるアユ卵への影響(琵琶湖系)。有効ヨウ素濃度10、6.7、5、0ppmによる処理。各値は各区の発眼率の平均と標準偏差を示している。\*は対照区と有意差があることを示す ( $p < 0.05$ )。



第2図 ポビドンヨード製剤処理によるアユ卵への影響(両側回遊型)。有効ヨウ素濃度10、6.7、5、0ppmによる処理。各値は各区の発眼率の平均と標準偏差を示している。\*は対照区と有意差があることを示す ( $p < 0.05$ )。



第3図 ポビドンヨード製剤処理によるアユ卵への影響(琵琶湖系)。有効ヨウ素濃度10、5、2.5、1.25、0ppmによる処理。各値は各区の発眼率の平均と標準偏差を示している。\*は対照区と有意差があることを示す ( $p < 0.05$ )。



第4図 ポビドンヨード製剤処理によるアユ卵への影響(両側回遊型)。有効ヨウ素濃度10、5、2.5、1.25、0ppmによる処理。各値は各区の発眼率の平均と標準偏差を示している。\*は対照区と有意差があることを示す ( $p < 0.05$ )。

する試験管内有効濃度・時間は、1ppm・5分<sup>3)</sup>であるので、アユ卵に悪影響を与えずに冷水病菌を消毒するには、琵琶湖系卵は濃度で2.5倍・時間で8倍、両側回遊系卵は濃度で2.5倍・時間で4倍まで安全であった。しかし、ポビドンヨード製剤は有機物の存在下ではその殺菌能力が急激に減少することがよく知られており、<sup>4)</sup> 種苗生産の現場において上記の処理濃度・時間をそのまま適用しても冷水病原菌の確実な消毒処理は困難と推測される。確実な消毒処理を行うためには、消毒濃度・時間を1ppm・5分より高濃度・長時間に設定する必要があるが、琵琶湖系卵、両側回遊系卵ともに2.5ppmが悪影響の出ない上限濃度であり、殺菌濃度と悪影響の出ない濃度幅が非常に狭かった。そのため、アユ卵に対して十分な安全を確保した上で、アユ卵消毒技術の開発を行うことは困難と判断された。

## 要 約

1. ポビドンヨード製剤処理によるアユ卵への影響について検討を行い、琵琶湖系卵および側回遊系卵ともに対照区と比較して発眼率に悪影響が認められなかったものの、アユ卵はポビドンヨード製剤に対して感受性が

高いため卵消毒剤としての使用は困難と考えられた。

2. アユ卵消毒剤の技術開発試験を実施するためには、消毒剤の影響以外の要因による影響を排除する試験方法、供試卵の飼育方法を確立する必要がある。

## 文 献

- 1) 若林久嗣, 沢田健蔵, Bertolini JM, Rohovec JS. アユの冷水病について. 平成4年度日本魚病学会春季大会講演要旨集 1992;5.
- 2) 高橋一孝. マス類の染色体操作による育種試験-I (温度ショックによるニジマス染色体の倍数化). 昭和59年度山梨県魚苗センター事業報告書 1985;81-91.
- 3) 岐阜県淡水魚研究所. 新しい疾病の防疫に関する研究「アユの冷水病および細菌性出血性腹水病(シュードモナス病)に関する研究」, 平成12年度魚病対策技術開発研究成果報告書 2001;111-129.
- 4) 羽島秀一, 本西 晃, 西澤豊彦, 吉水 守. 各種消毒剤の *Oncorhynchus masou* (OMV) に対する不活化効果. 魚病研究 2003;38:185-187.