

次亜塩素酸ナトリウム溶液のミズカビ病原因菌,*Saprolegnia parasitica*に対する殺菌効果

誌名	水産増殖
ISSN	03714217
著者名	柏木,正章 奥村,信哉 中西,佐智 吉岡,基 上野,隆二 星合,愿一 畑井,喜司雄
発行元	水産増殖談話会
巻/号	50巻3号
掲載ページ	p. 385-386
発行年月	2002年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



短 報

次亜塩素酸ナトリウム溶液のミズカビ病原菌,
Saprolegnia parasitica に対する殺菌効果

柏木正章・奥村信哉・中西佐智・吉岡 基
上野隆二・星合愿一・畑井喜司雄

(2002年7月26日受理)

Fungicidal Effects of Sodium Hypochlorite Solution on
a Fish-Pathogen Oomycete, *Saprolegnia parasitica*

Masaaki KASHIWAGI^{*1}, Shin-ya OKUMURA^{*1}, Sachi NAKANISHI^{*1}, Motoi YOSHIOKA^{*1},
Ryuji UENO^{*1}, Gen-ichi HOSHIAI^{*2}, and Kishio HATAI^{*3}

Abstract: We investigated the fungicidal effects of sodium hypochlorite solution (a food additive) on *Saprolegnia parasitica*, a well known pathogen causing saprolegniasis in freshwater fishes. The effects were measured by zoospore germination inhibition and mycelial growth inhibition of the pathogen. Zoospore germination was completely inhibited by a 10 second treatment at the residual chlorine concentration of 2.5 mg/l. Mycelial growth was also completely inhibited by a 60 minute treatment at 20 mg/l. These results indicate that the sodium hypochlorite solution has strong fungicidal activity against *S. parasitica*.

Key words: Sodium hypochlorite solution; Fungicidal effect; *Saprolegnia parasitica*; Saprolegniasis

魚類真菌性疾患ミズカビ病の予防治療剤として、多くの薬剤が検討されているが、マラカイトグリーンに優るものは見出されていない¹⁻³⁾。しかし、マラカイトグリーンは生物毒性⁴⁾、残留性^{5,6)}、催奇性および発癌性⁷⁾が指摘されるなど、その使用が制限されており、これに代わる薬剤の開発が望まれている。

前報⁸⁾では、水道水に少量の食塩を添加して電解した弱アルカリ性電解水が、魚類真菌性疾患のミズカビ病原菌の1種の *Saprolegnia parasitica* に対し、遊走子の発芽阻止効果と菌糸の発育阻止効果を示すことを報告し、マラカイトグリーンに代わりうる有望な抗カビ剤であることを明ら

かにした。この電解水の殺菌効果の主成分は、次亜塩素酸ナトリウムであり、次亜塩素酸ナトリウム溶液（以下、NaClO）は殺菌剤として食品に添加することが認められている^{9,10)}。NaClOも電解水も同等の殺菌効果を有するならば、これらの使用に際しては、技術的・経済的に有利なものを選択することが可能である。しかし、NaClOの *S. parasitica* に対する殺菌効果は未だ確認されていない。そこで、本研究では、*S. parasitica*の遊走子の発芽ならびに菌糸の発育に対するNaClOの阻止効果について検討した。

供試菌には、宮城県のギンザケ、*Oncorhynchus kisutch* 養殖場のミズカビ罹病魚から分離した *Saprolegnia parasitica* NJM8604株を用いた^{1,10)}。遊走子に対するNaClOの発芽阻止効果は麻の実培養法で、菌糸に対する発育阻止効果は寒天培地培養法で調べ、それぞれ最小発芽阻止残留塩素濃度と最小発育阻止残留塩素濃度を決定した⁹⁾。これらの具体的な方法は前報⁸⁾に記載したとおりである。前者の試験におけるNaClO処理時間は10秒、1、および5分、同処理塩素濃度は2.5、5、および7.5 mg/lの各3段階とした。試験の再現性を得るために、塩素濃度と処理時間の組合せ1組につきシャーレ8枚を使用した。後者の試験におけるNaClO処理時間は15、30、および60分、同処理塩素濃度は10、20、および30 mg/lの各3段階とした。塩素濃度と処理時間の組合せ1組につきシャーレ2枚を使用した。両試験とも、NaClOのpHは7.5、温度は15℃であった。

遊走子に対する発芽阻止効果の試験結果をTable 1に示した。対照の蒸留水区ではすべての麻の実上に発芽して成育した菌糸が観察されたが、NaClO区では発芽の形跡がまっ

^{*1}三重大学生物資源学部 (Faculty of Bioresources, Mie University, Tsu, Mie 514-8507, Japan).

^{*2}宮城県水産研究開発センター (Miyagi Prefecture Fisheries Research and Development Center, 97-6 Sodenohama, Watanoha, Ishinomaki, Miyagi 986-2135, Japan).

^{*3}日本獣医畜産大学 (Division of Fish Diseases, Nippon Veterinary and Animal Science University, 1-7-1 Kyonan, Musashino, Tokyo 180-8602, Japan).

^{*4}小田 明・佐伯順子・石井 秀・岡崎龍夫 (1994): 電解酸化水. 第1回機能水シンポジウム, pp. 1-3.

たく認められなかった。したがって、最小発芽阻止濃度は2.5 mg/l (10秒間処理)であった。

菌糸に対する発育阻止効果の試験結果をTable 2に示した。対照区の菌糸集落径は約40 mmであったが、NaClO区では、いずれの塩素濃度においても、集落径が対照より小さく、これは処理時間が長く、塩素濃度が高いところで顕著であった。とくに20 mg/lと30 mg/lの60分処理区における発育率は0%であった。したがって、最小発芽阻止濃度は20 mg/l (60分間処理)であった。

先に、弱アルカリ性電解水の *S. parasitica* 遊走子に対する最小発芽阻止濃度は7.5 mg/l (10秒間処理)または2.5 mg/l (1分間処理)、菌糸に対する最小発育阻止濃度は30 mg/l (60分間処理)であることを報告した⁸⁾。したがって、本研究のNaClOの殺菌力は弱アルカリ性電解水よりやや強い傾向にあるが、これは両液のpHの違いによるものと思われる。すなわち、液中における殺菌力の強い次亜塩素酸 (HOCl) とその著しく弱い次亜塩素酸イオン (OCI⁻) の存在比率はpHの違いによって異なり、酸性側ではHOClが多く、OCI⁻

は少なく、アルカリ性側では反対にHOClは少なく、OCI⁻が多くなるからである^{9,4)}、因みに、本研究のNaClOのpH7.5と弱アルカリ性水のpH 8.2におけるHClO (OCI⁻)の存在比率はそれぞれ約50% (約50%)と約17% (約83%)と計算された。

真菌類は淡水域に広く分布し、野生魚から養殖魚まで、あるいはそれらの卵に寄生して多大の被害をもたらす。なかでも、本研究に使用した *S. parasitica* はウナギのワタカブリ病やサケ科魚類のミズカビ病の主な原因菌として知られており、全国のサケ科魚類ふ化場で管理されている人工受精卵に寄生して大量死を引き起すことがある^{11,12)}。そのために、生物や環境への負荷が大きいにも拘わらず、マラカイトグリーンが永年にわたって使用されている。これに対して、前報⁹⁾では、弱アルカリ性電解水が、生物や環境への負荷の軽減面からも、マラカイトグリーンに代わりうる有望な抗カビ剤であることを指摘した。今回は、食品添加物として使用されているNaClOが電解水と同等またはそれ以上の殺菌力を有することが明らかとなった。したがって、今後の検討において、NaClOの卵に対する影響が認められなければ、NaClOはマラカイトグリーンに代わりうる有望な抗カビ剤と結論できる。

Table 1. Effect of sodium hypochlorite solution (NaClO) on the zoospore germination of *Saprolegnia parasitica**¹

Solutions (mg/l)* ²	Exposure time		
	10 s	1 min	5 min
Control* ³ (0)	+++ +++	+++ +++	+++ +++
NaClO (2.5)	-----	-----	-----
(5.0)	-----	-----	-----
(7.5)	-----	-----	-----

*¹ Symbols (+) and (-) mean positive and negative germinations of zoospores on hemp seeds, respectively. Each symbol indicates one hemp seed, and a group of three symbols shows an experimental dish with three hemp seeds.

*² Residual chlorine concentration.

*³ Distilled water.

Table 2. Effect of sodium hypochlorite solution (NaClO) on the mycelial growth of *Saprolegnia parasitica**¹

Solutions (mg/l)* ²	Exposure time		
	15 min	30 min	60 min
Control* ³ (0)	100	100	100
NaClO (10)	91.0 ± 0.0	94.9 ± 4.7	83.1 ± 5.7
(20)	82.5 ± 13.0	50.8 ± 15.3	0 ± 0
(30)	70.4 ± 8.3	15.7 ± 22.3	0 ± 0

*¹ Values are shown as the mycelial growth rate calculated from the equation: Colony radius growth rate (%) = (colony radius of the fungus treated with NaClO)/(colony radius of the fungus in control) × 100.

*² Residual chlorine concentration.

*³ Distilled water.

文 献

- 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. 防菌防黴, **23**(4), 213-219.
- Kitanchaen, N., A. Yamamoto, and K. Hatai (1998): Effects of sodium chloride, hydrogen peroxide and malachite green on fungal infection in rainbow trout eggs. *Biocont. Sci.*, **3**, 113-115.
- 星合愿一・文谷俊雄・菊田和也・末 浩章 (1995): 各種薬剤によるギンザケ水カビ病防御効果の検討. 宮城内水試研報, **2**, 35-41.
- 小木曾卓郎・森川 進・岡崎 稔 (1973): 薬剤治療剤の毒性に関する研究-I. ニジマスの薬剤感受性に及ぼす水温の影響について. 岐阜水試研報, **18**, 65-72.
- Meinertz, J. R., G. R. Stehly, W. H. Gingerich, and J. L. Allen (1995): Residues of [¹⁴C]-malachite green in eggs and fry of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), after treatment of eggs. *J. Fish Dis.*, **18**, 239-247.
- 春日洋二・菱田美由起・棚橋宜康・荒井 真 (1992): 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, **33**(6), 539-542.
- Meyer, F. P. and T. A. Jorgenson (1983): Teratological and other effects of malachite green on the development of rainbow trout and rabbits. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **112**, 818-824.
- 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 (2000): 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**(3), 565-569.
- 大久保 憲・新太喜治・小林寛伊・大ヶ瀬浩史・奥住捷子・加見谷将人・草地信也・白石 正・三宅寿美・矢野久子 (1994): 電解酸性水に関する調査報告. 日本手術医誌, **15**(4), 508-520.
- 星合愿一 (1992): 養殖ギンザケの水カビ病に関する研究. 宮城内水試研報, **1**, 1-117.
- 畑井喜司雄・江草周三 (1976): 魚類寄生ミズカビ. 魚病研究, **11**(1), 145-56.
- Laird, L. and T. Needham (1988): Salmon and Trout Farming. Ellis Horwood Limited. England, pp.158-159.