

アユのカビ病に関する研究 — I

昭和47年に県内のアユ養殖場で発生したカビ病について

里井 晋一

昭和47年7月上旬に知内地区で発生したアユのカビ病は8月に入って県下全域に広がり大きな被害を受けた。この疾病は江草らによって病徴や組織学的観察が行なわれ、かなり詳細に報告されている。我々は昭和47年9月から11月にかけて各地の養魚場から病魚を採取し多くのカビを分離した。この分離したカビの形態を観察し、カビ菌糸に対する消毒薬の抑制効果及び病原性について2・3の試験を行なったので報告する。

1 材料と分離方法

昭和47年9月から11月にかけて6養魚場から病魚を採取し、カビの分離を行なった。採取した病魚は表皮が腫脹し出血斑の見られるものとか、潰瘍を起し、赤色の筋肉が露出したものであった。カビの分離法は、病魚を水道水で洗い患部をアルコール綿でぬぐって、筋肉を約5mm四方に切り取り、サブロー寒天培地に植え付け上からストマイを5~10%散布し、室温で3~4日培養した。新しく生長してきた菌糸の先端を取りサブロー寒天培地に移し上からストマイを散布。この操作を2・3度くり返し純粋分離を行なった。この分離法ではimperfectな菌が分離されることが多かったため、次の方法も併用した。滅菌水をシャーレに取り十分ポイルした麻の実と患部の筋肉片を入れ、ストマイとペニシリンを加えて室温で培養し、数日後に麻の実に付いた菌糸をサブロー寒天培地に移して、純粋分離を行なった。

2 分離したカビの種類

採取した病魚から1の方法で水生菌科のカビを20株純粋分離した。この分離した株を17℃及び27℃で2~14日間麻の実で培養して、遊走子のう・遊走子・Gemmaの形成及び遊走子の放出形態を観察した。その結果20株はSaprolegnia, Achlya, Aphanomyces, Pythiopsis属に属するものであった。又、表1に示すように6養魚場から共通してSaprolegnia属のものが分離出来たが、有性生殖が観察出来なかったため、すべてが同一種であるかどうか不明である。なお、O養魚場から分離したSaprolegnia属3株のうちの1株に有性生殖が観察出来た。

サブロー寒天培地で培養しておいた菌糸を麻の実に移し、17℃で7日間培養すると蔵卵器と蔵精器が多数形成された。この時の培地のpHは7.82~7.84であった。蔵卵器は頂生のものが大多数で形は球形をしていた。中には蔵卵器が2・3個鎖状に連なっているものも見られた。又、間生のものは少数で形は卵形が紡錘形をしていた。大きさは球形のもので39.0~120.0μ卵形・紡錘形のもので51.0~110.0×32.0~58.0μであった。蔵卵器には孔紋は見られなかった。又、未熟な蔵卵器は黒褐色の顆粒がつまっていた。完熟すると2~24個の卵胞子を形成した。卵胞子は球形で大きさは20.0~24.0μであった。蔵精器は管状か、棒状をしていた。

3 カビ菌糸に対する各種消毒薬の抑制効果
供試株はO養魚場から分離し、有性生殖が観察出来た株を使用した。

(1) サブロー寒天培地で、室温3日間培養しておいた菌を約5mm四方に切り取って、マカライドグリーンとホルマリンを表2に示す濃度に調整したサ

表1. 6養魚場から分離した水生菌の種類

養魚場名	分離株数		カビの種類
I	4	4	Saprolegnia sp.
O	7	5	Saprolegnia sp.
		1	Achlya sp.
		1	Pythiopsis sp.
Na	2	2	Saprolegnia sp.
Te	2	2	Saprolegnia sp.
Chi	2	2	Saprolegnia sp.
Shi	3	2	Saprolegnia sp.
		1	Aphanomyces sp.

プロ-寒天培養地上に移殖し、2日間17℃と27℃で培養して菌糸の生長した面積を比較した。

表2. カビ菌糸に対する消毒薬の抑制効果

マラカイト グリーン 濃度	27℃		17℃		ホルマリン 濃度	27℃		17℃	
	24hrs	48hrs	24hrs	48hrs		24hrs	48hrs	24hrs	48hrs
1/2万	0	0	0	0	1/1000	0	0	0	0
1/20万	1.22%	4.33	1.76	5.93	1/10000	3.79	19.23	1.43	5.93
1/200万	4.71	16.61	1.43	7.06	1/100000	3.97	19.62	2.00	7.78
1/2000万	5.72	31.15	2.13	14.17					
0	6.15	27.79	2.83	13.51					

※菌糸の生長した面積 cm

表2の結果から、マラカイトグリーンは1/2万、ホルマリンは1/1000の濃度で菌糸の生長は完全に抑制された。が、低濃度になるにつれて菌糸の生長はよくなり、又培養温度が高いほど生長が早いことが明らかとなった。

(2) (1)でサブロー寒天培地を使用して、菌糸に対する消毒薬の抑制効果を調べたが、固体上と液中ではその効果にかなりの違いがあると考えられたので、液中での菌糸の生長・遊走子のう・遊走子の形成等に対する各種消毒薬の抑制効果を調べた。方法は表3に示す濃度に調整した消毒液(9cc)を試験管に取り、別にサブロー寒天培地で培養しておいた菌を約5mm四方に切り取り、この小片を試験管に入れて、17℃と27℃で6日間培養して菌糸の生長・遊走子のうの形成・遊走子の遊泳等を観察した。

第3 カビ菌糸・遊走子・遊走子のうに対する消毒薬の抑制効果

薬剤	濃度	時間 days	27℃						17℃					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
マラカイト グリーン	1/20000		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1/200000		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1/2000000		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1/20000000		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ホルマリン	1/1000		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1/10000		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1/100000		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
硫酸 銅	1/1000		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1/10000		-	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-
	1/100000		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/1000000		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
食 塩	5.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.0		-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	0.5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
対照	0		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

菌糸の生長は管底からの高さで示した。

0 ~ 0.5 cm ±	2.0 ~ 3.0 cm 卍
0.5 ~ 1.0 cm +	3.0 cm 以上 -卍卍
1.0 ~ 2.0 cm ++	

※遊走子のう形成観察

※※遊走子の遊泳観察

表3の結果から、液中において固体培地上と同様に培養温度が高いほど菌糸の生長は早く、又遊走子遊走子のうの形成が早いことが明らかとなった。

消毒剤の効果については、6日間の観察ではあるが、対照に比べて、マラカイトグリーンでは1/200万、ホルマリンでは1/1万、硫酸銅では1/1000食塩では3%以上の濃度で菌糸の生長を完全に抑制することが出来た。又遊走子のうの形成はマラカイトグリーンでは1/2000万、ホルマリンでは1/10万硫酸銅では1/10万、食塩では0.5%の濃度で抑制出来ることが明らかとなった。しかしこれらは6日間も液中に入れた状態での試験結果であり、実際、魚の入っている池を消毒する場合は長期間の消毒となって危険である。魚が入っていない場合にはこれらの濃度で菌糸の生長、遊走子のうの形成等が阻止又は抑制されて消毒の効果が期待出来るものと思われる。

4 感染試験(予備試験)

供試株は3で使用した株、供試魚はRudd(*Scardinius erythrophthalmus*)、飼育水は地下水を使用し、水温は約25℃にセットして感染試験を行なった。

- (1) 室温で3日間、サプロ-寒天培地で培養しておいた菌をナイフでかき取り、乳鉢で細かく砕いて(注射器の針を通る程度)、供試魚(体長約6cm)の筋肉と腹腔に接種して約2週間観察した。筋注した魚(5尾)は2日後には接種部が腫脹し、発赤して来たのでそのうちの1尾を取り上げて腫脹部の筋肉片をサプロ-寒天培地上に植えて、菌の回収を試みたが、回収出来なかった。その後4~5日して接種部が腫脹していた魚は自然に治癒してしまった。又、腹腔に接種した魚(5尾)はその後全く異状を示さなかった。この試験から、魚への感染はカビ菌糸では起らないように思われた。
- (2) 麻の実を使って、22℃で5日間培養し、遊走子のうや遊走子の多数形成された菌糸を取り出し、乳鉢で軽くまさいし、遊走子のうを集めて、供試魚の筋肉(9尾)と腹腔(9尾)に接種して約2週間観察した。筋注した魚は2日後に接種部が腫脹し発赤して、4日後には2尾、5日後には2尾斃死した。残りの5尾は生き残ったが、そのうちの1尾は腫脹部の表皮がくずれて潰瘍を形成していた。いづれの斃死魚からも腫脹部の筋肉片を麻の実で培養すると菌糸が生長してくるのが認められた。又腹腔に接種した魚は1尾斃死したのみで残りは異状が認められなかった。この試験から接種魚の100%の斃死は見られなかったが、魚へのカビの感染はほぼ遊走子で起り、発病するものと推定出来た。この試験はラッドを使っての感染試験であり、アユにおいても同様に感染が起るものかどうか、再度試験を行なり予定である。

5 要 約

- (1) 昭和47年9月から11月にかけて6養魚場から病魚を採取し、20株の水生菌を分離した。
- (2) 分離した菌の培養形態から、これらの菌はSaprolegnia属、Achlya属、Aphanomyces属、Pythiopsis属に属するものであった。又、6養魚場から共通してSaprolegnia属のものが分離出来た。
- (3) 0養魚場から分離したSaprolegnia spは培養温度が高い程生長が良好であった。
- (4) この株はマラカイトグリーンの1/200万、ホルマリンの1/1万、硫酸銅の1/1000食塩3%の濃度で菌糸の生長が完全に抑制された。
- (5) 遊走子・遊走子のうの形成はマラカイトグリーンの1/2000万、ホルマリンと硫酸銅の1/10万、食塩0.5%の濃度で阻止又は抑制された。
- (6) Rudd(コイ科の魚)を使っての感染試験から、魚への感染はカビ菌糸ではなく、遊走子で起るものと推定出来た。

6 文 献

- (1) 江草周三・益田信之
1971: 養殖アユに見られた新しいカビ病
魚病研究 6(1) 41~46
- (2) Toshikazu Hoshina, Tokuo Sano and Mariko Sunayama:
1960. Studies on the Saprolegniasis of eel.
J. Tokyo Univ. Fish.
47(1) 59~79.
- (3) Tosikazu Hoshina and Mariko Ookubo:
1960. on a Fungi-disease of eel.
J. Tokyo Univ. Fish.
42(1) 1~13.
- (4) 新崎盛敏・野沢治治・三宅真
1958: 病原性水生糸状菌の生理生態に関する研究-I
日水誌 23(9) 534~538.
- (5) 新崎盛敏・野沢治治・三宅真
1958: 病原性水生糸状菌の生理生態に関する研究-II
日水誌 23(10) 593~598.