

クルマエビの母エビ養成に関する研究－IX^{*1}

－*Fusarium solani* の感染方法と発育条件の検討－

玉城英信・山里順次^{*2}・玉城誠^{*3}・仲原淳^{*3}

1. 目的

養成母エビの大量へい死の原因であった *Fusarium solani* の感染方法と発育条件を調べ、今後の対策について検討を行った。

2. 材料と方法

1) 感染方法の検討

2001年5月22日に沖縄本島の養殖場から購入した *F.solani* に感染していないクルマエビを試験に用いた。*F.solani* 株は養成試験中に大量へい死を招いたときにマイコセル寒天培地に培養したもの用いた。試験はあらかじめマイコセル寒天培地で培養した *F.solani* 株を毎日添加する寒天区、感染したエビを水槽内に収容する同居区、そして感染エビを収容した水槽の排水で飼育を行う別居区の3区を設けた(図7-1)。試験区に購入した体重32.3～55.6gのエビを15尾ずつ収容した。また、同居と別居区には *F.solani* に感染した体重62.8～70.9gのクルマエビを5尾ずつ収容した。感染率の観察は10日おきに、全てのエビを取りあげ、肉眼で鰓の部分を調べて判定した。へい死個体を発見した場合は体重を測定後、焼却処分した。餌料には市販の配合飼料を使用し、適宜給餌量を加減した。試験期間は5月22日～6月25までの34日間であった。

2) 発育条件の検討

試験には継続培養している *F.solani* 株を用いた。2002年1月17日に海水をオートクレーブで120℃、15分間滅菌(以下、滅菌海水と略)した。蒸留水を使用して滅菌海水を25%海水、50%海水、75%海水の濃度になるように調整した海水、蒸留水(0%)、そして滅菌海水(100%)を用いてマイコセル寒天培地を作成した。接種にはあらかじめ培養した *F.solani* 株を寒天上から剥離し、100mLの滅菌海水に懸濁させたものを用いた。懸濁液を作成したマイコセル寒天培地上に1mLずつ添加してコラージ棒で寒天表面にのばした。培養には37℃に設定した孵卵器を使用し、約1ヶ月間静置して0～100%の試験培地における *F.solani* の発育を顕微鏡下で調べた。

3. 結果と考察

1) 感染方法の検討

試験期間中の水温は20.7～24.7℃の範囲、平均22.7±1.15℃であった。別居区の水槽の配置と試験方法を図1、*F.solani* の感染率の推移を図2、そして感染試験におけるへい死率の推移を図3に示した。

*1：この報告は「水産業再生・ベンチャー創出緊急技術開発事業研究開発報告書」で別途印刷、*2：久米島漁業協同組合職員、*3：水産分野研究業務委託職員

感染率は収容から 9 日後に寒天区で 14.3 %、同居区 73.3 %、別居区 66.7 %と同居区と別居区では短期間に多くの個体が感染していた。その後も全ての区で感染率が増加し、21 日後には寒天区 92.9 %、同居区 91.7 %、そして別居区では 100 %とほとんどの個体で感染が確認され、試験を終了した 34 日後に生き残った個体も全てが感染していた。

へい死は同居区で収容から 6 日後、別居区は 9 日後、寒天区では 20 日後から観られ始めた。累積へい死率は 10 日後に寒天区 0 %、同居区 26.7 %、別居区 13.3 %であったが、21 日後には寒天区 21.4 %、同居区 53.3 %、別居区 73.3 %と同居区と別居区では半数以上の個体がへい死した。その後もへい死は続き、終了時には寒天区 92.9 %、同居区 86.7 %、そして別居区 86.7 %とほとんどの個体がへい死した。

以上のように、マイコセル寒天培地で培養した *F.solani* 株を添加した区は同居区と別居区に比較して感染が遅かったが、20 日後から急激に感染率が上昇し、27 日後には半数以上の個体がへい死した。終了時には試験区間に違いが認められなくなった。

2) 発育条件の検討

発育条件試験の状況を写真 1、各海水濃度における *F.solani* の発育状況を写真 2 ~ 6 *F.solani* の大分生子と小分生子の拡大を写真 7 に示した。約 1 ヶ月後の 2002 年 2 月 15 日に顕微鏡下で観察した結果、全ての寒天培地で *F.solani* の大分生子と小分生子を確認した。

3) 考察

クルマエビ属に感染する真菌にはラゲニジウム症、ハリフトロス症、ロイコスリックル症など、フサリウム症以外にも被害をあたえる真菌病がある。¹⁻⁴⁾ ラゲニジウム症とハリフトロス症は種苗生産時に発症、ロイコスリックス症はエビが弱っているときにへい死をまねくのに対し、フサリウム症は感染率、へい死率とも高いうえ、治療方法がわかつてない真菌病である。¹⁻⁴⁾ フサリウム症の原因菌である *F.solani* は発育に対する食塩濃度の影響は乏しく、0 ~ 5 %で同様に発育し、10 %までは発育可能である。¹⁾ さらに、pH 4 ~ 11 で発育可能であるなど本症を治療するのは難しく、¹⁾ その対策はエビを取りあげ、飼育環境を塩素で消毒する以外ない。²⁾

また *F.solani* は 2 ヶ月間乾燥させた池からも分離され、¹⁾ 水槽内に菌が十分発育した寒天平板を置いて感染をまったときには、30 日くらい経過してへい死が始まる。¹⁾ 本研究では *F.solani* 保菌個体からの感染は寒天培養した菌体からの感染よりはやぐ、海水を媒介にしても感染することを確認した。また、前述の食塩濃度の影響と同様に、0 ~ 100 %の海水濃度でも発育可能であることがわかった。そして、分離培養した *F.solani* 株からも感染することを証明した。

以上のように、本研究では *F.solani* の感染は海水の飛沫や陸からの風による分生子の侵入によっても感染する可能性があり、感染ルートを特定することはできなかった。

4. 要約

- 1) マイコセル寒天培地で培養した *F.solani* 株を添加した区は同居区と別居区に比較して感染が遅かったが、20 日後から急激に感染率が上昇し、27 日後には半数以上の個体がへい死した。終了時には試験区間に違いが認められなくなった。
- 2) マイコセル寒天培地を用いた培養では淡水から海水までのどの濃度でも発育可能で

あることがわかった。

- 3) 本研究では *F.solani* の感染は海水の飛沫や陸からの風による分生子の侵入によっても感染する可能性があり、感染ルートを特定することはできなかった。

5. 今後の課題

現段階ではフサリウム感染症の対策は飼育環境の塩素消毒を行うしかない。特に、クルマエビの活力の低下する冬期にフサリウム感染症が発症することから、冬期に池替えを行い塩素処理による飼育環境の保全に努めるしかないと思われる。また、フサリウム症対策として銅イオン発生装置を使用して、その効果を検証する必要がある。

6. 文献

- 1) 江草周三(1989) : クルマエビの疾病, 魚病学, 恒星社厚生閣, 364-389.
- 2) 畑井喜司雄(1996) : 甲殻類の真菌病, 魚病学概論, 79-82.
- 3) Donald V.Lighyner(1990) : クルマエビ類の疾病, 世界のエビ類養殖, 60-95.
- 4) 依光直樹(1988) : クルマエビ, サンゴ礁域の増養殖, 152-169.

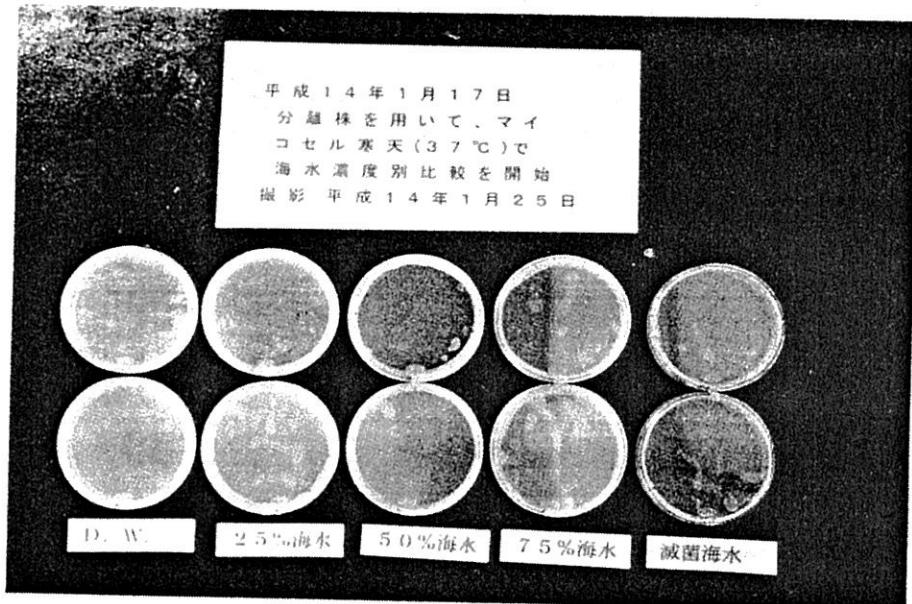


写真1 発育条件試験の状況

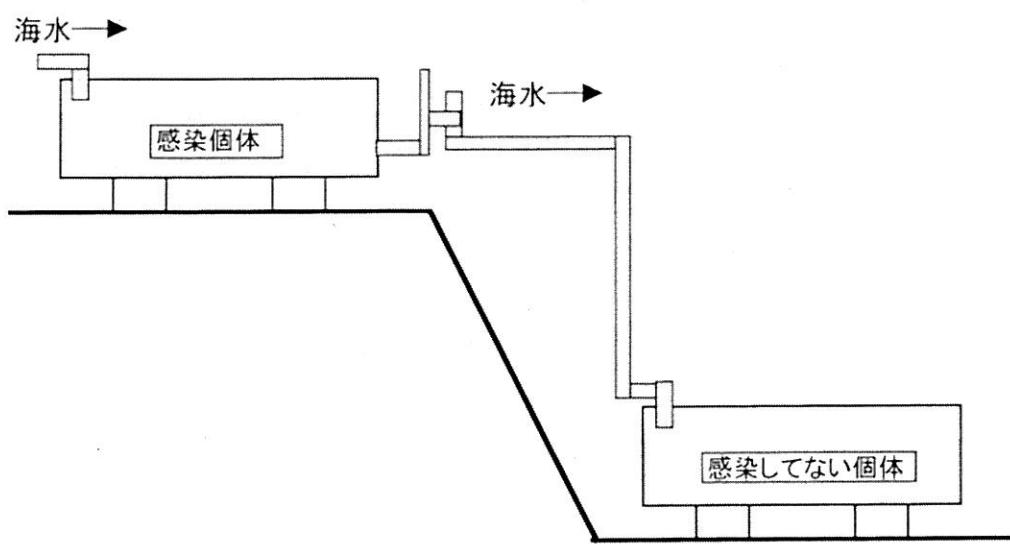
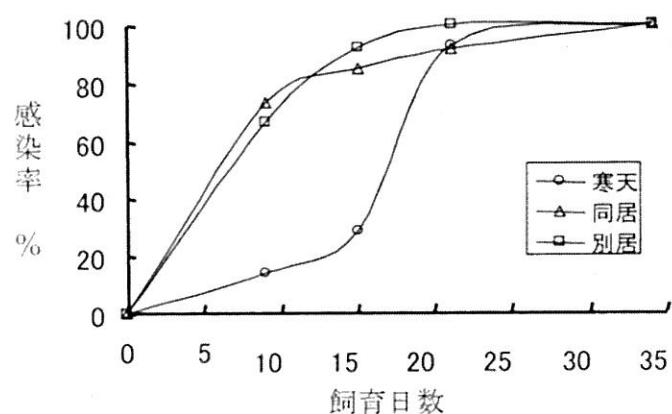
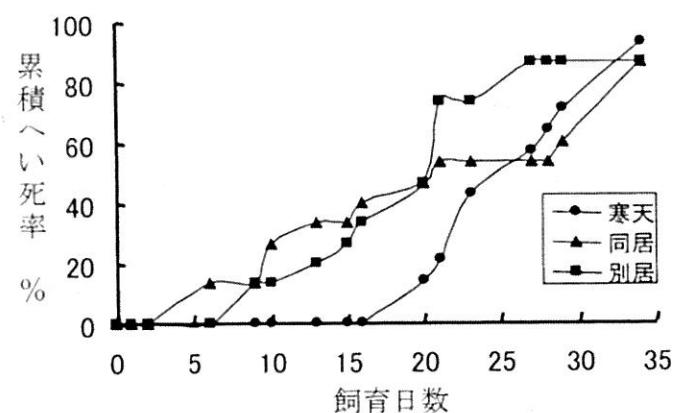


図1 別居区の水槽の配置と試験方法



2 *F.solanii*の感染率の推移



3 感染試験におけるへい死率の推移

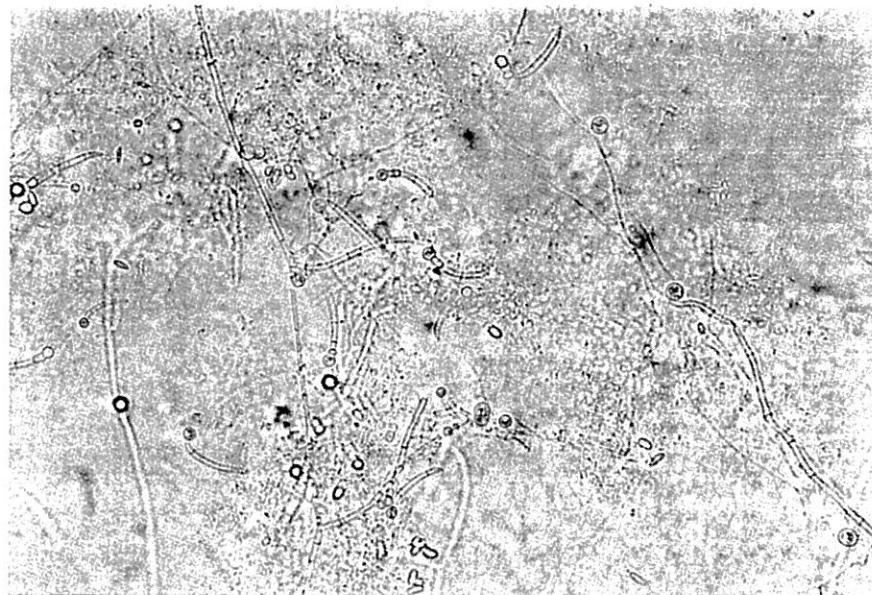


写真2

蒸留水(0%)

× 200 倍

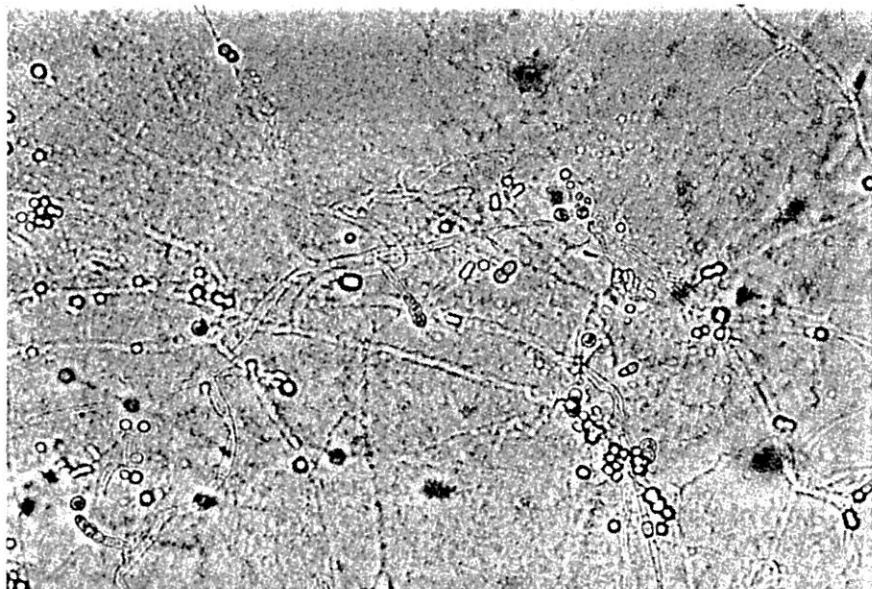


写真3

25%海水

× 200 倍

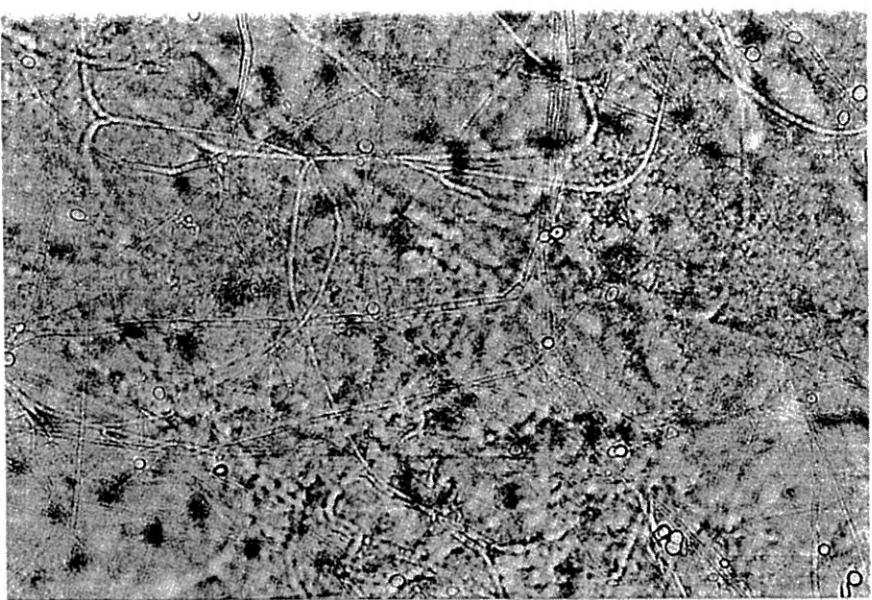


写真4

50%海水

× 200 倍

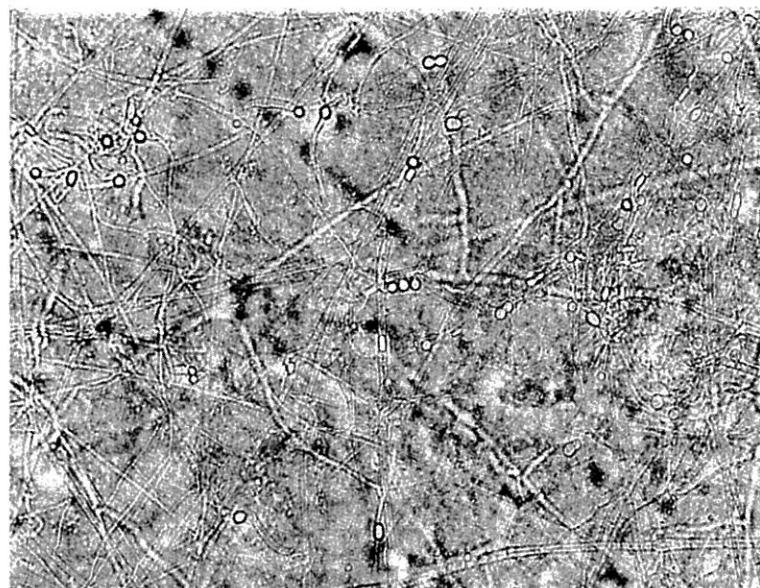


写真5

75%海水

× 200倍

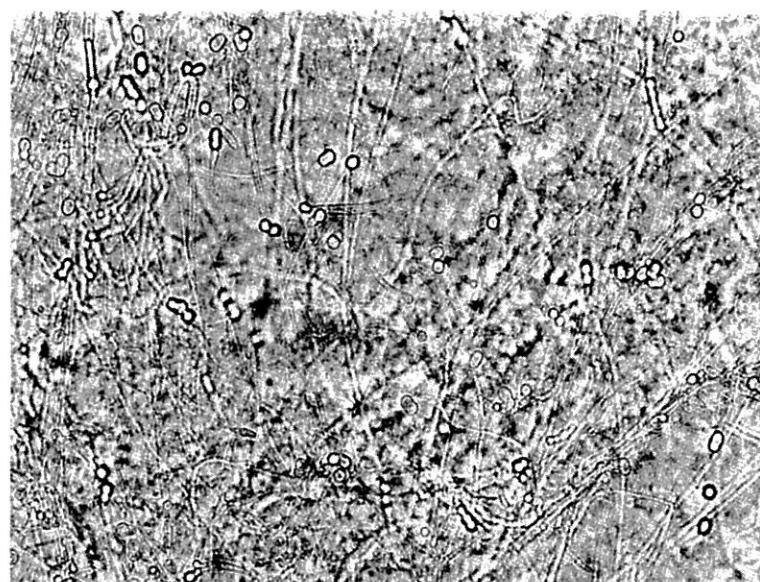


写真6

100%海水
(滅菌海水)

× 200倍

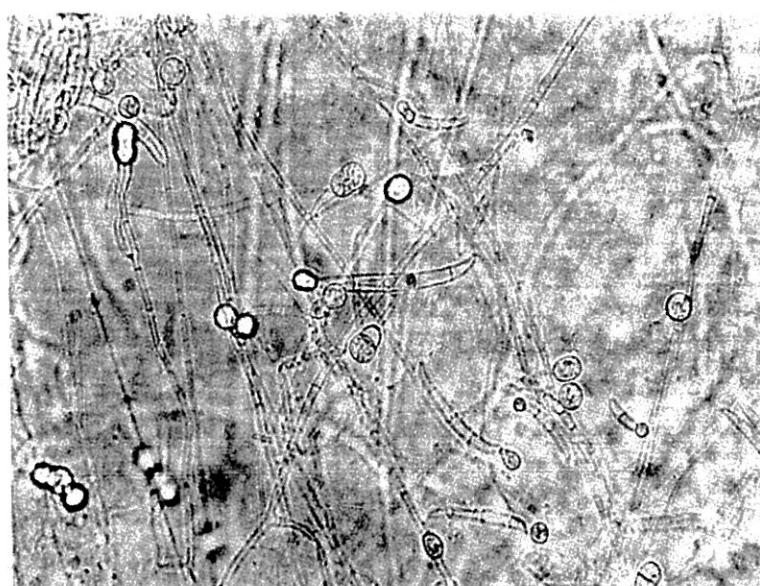


写真7

試験に用いた
フサリウム株の
大分生子と小分
生子の拡大

× 400倍