

希釈海中における数種卵菌類の遊走子の産生 及び生存について

泉川 晃一

On the Release and Survival of Zoospores of Several Oomycetes in Diluted Seawater

Koichi IZUMIKAWA

キーワード：卵菌類，遊走子，真菌症

甲殻類の種苗生産時に発生する真菌症は、幼生の大量へい死をもたらすことが多く、計画的な種苗生産を行う上でしばしば大きな妨げとなっている。甲殻類を冒す本症原因菌は、卵菌類、クサリフクロカビ目 *Lagenidium* 属、*Haliphthoros* 属、*Sirolopidium* 属及び *Halocrusticida* 属の菌が報告されている¹⁾²⁾。近年、本症の防除についてヨシエビ *Metapenaeus ensis* で飼育初期に希釈海水を用いて、その効果がみられている³⁾。しかし、希釈海中における卵菌類の遊走子の性状については一部の種の遊走子産生能力が報告されているにすぎない²⁾。そこで、本報では既報の種も含めて、数種類の卵菌類について遊走子の産生能力及び生存能力を検討したので、その概略を報告する。

報告に先立ち、供試菌株を分与して頂いた日本獣医畜産大学畑井喜司雄教授に感謝の意を表す。

材料と方法

供試菌株 1989年に社団法人日本栽培漁業協会玉野事業場でガザミ *Portunus trituberculatus* 幼生（ゾエア1期）から分離された *Haliphthoros* sp.（以下、NJM8986株）と'96年に本県栽培漁業センター（以下、栽培センター）でヨシエビ幼生（ゾエア2～3期）から分離された *Haliphthoros milfordensis*（以下、NJM9632株）及び *Halocrusticida panulirata*（以下、NJM9633株）を以下の試験に用いた。各菌株の培養及び継代はPYGS寒天培地（ペプトン1.25g、酵母エキス1.25g、ブドウ糖3g、寒天12g、海水1l）を使用し、25℃に設定した恒温器内で行った。本報では原則として、砂ろ過海水を使用した。

遊走子懸濁液の調製 供試菌株ごとに10～20日間培養

後、集落の縁辺部をメスを用いて約1×1cmのブロック状に切り出し（寒天ブロック）、それら数個をPYGS液体培地に収容し、さらに3～4日間、25℃で培養した。その後、それらを滅菌海水で洗浄し、数個を滅菌海水が20ml入った滅菌シャーレへ移し、同様に25℃で培養した。通常、遊走子はNJM8986株及びNJM9632株では48時間後に、NJM9633株では24時間後に形成・産生されることからそれぞれの時間が経過した海水を遊走子懸濁液とした。

希釈海中での遊走子産生能力 供試菌それぞれについて以下の試験を2回ずつ行い、得られた値の平均値を算出して表示した。まず滅菌海水を用い、滅菌蒸留水で1/2海水（塩分16）、2/3海水（塩分21）、3/4海水（塩分24）を調製した。これらの滅菌希釈海水と全海水（対照区、塩分32）を各々20mlずつ滅菌シャーレに分注し、前述の寒天ブロックをそれぞれ3個ずつ収容して、25℃で7日間静置培養した。培養期間中、毎日、遊泳している遊走子を界線入計数板（離合社製）を用いて算定し、遊走子の産生能力を求めた。

希釈海中での遊走子生存能力 供試菌それぞれについて以下の試験を2回行い、得られた値の平均値を表示した。まず、前述の遊走子懸濁液の調製に従い、供試菌の遊走子濃度が 10^3 個/mlとなるように遊走子を調製した。調製した遊走子を50ml容量の滅菌コニカルチューブに10mlずつ収容し、滅菌海水及び滅菌蒸留水を用いて1/2海水、2/3海水、3/4海水となるように塩分を調整し、最終的に各チューブ内の全量が30mlとなるようにした。その後、7日間毎日各チューブ内から0.1mlずつ抜き取りそれぞれをPYGS寒天培地に滴下し、滅菌したコンラージ棒を用いて培地上に塗布した。それ

らを25℃で7日間静止培養し、培養7日目に発育した菌のコロニー数を測定し、この数を遊走子生存数とした。なお、試験終了時まで遊走子の入った各チューブも同様に25℃で継続して培養した。

結果と考察

希釈海水中での遊走子産生能力 図1～3に各供試菌の希釈海水中での遊走子産生状況を示した。1/2海水に菌糸体を収容したものは、試験期間中各菌株とも全く遊走子の産生がみられなかった。NJM8986株は、2/3海水では菌糸体収容後2日目に遊走子が 5.0×10^4 個/ml確認されたが、3日目以降は確認されなかった。3/4海水では菌糸体収容後2日目から遊走子が産生され、3日目に 2.0×10^4 個/mlで最大数に達し、4日目以降確認されなかった。全海水では菌糸体収容後2日目から遊走子の産生がみられ、この日に最大数 (5.2×10^4 個/ml) に達した。その後、産生数は減少傾向を示し、菌糸体収容後6日目以降は確認されなかった。

NJM9632及びNJM9633株については前報²⁾で詳しく述べているので以下に概略を記す。両菌株とも1/2海水では遊走子の産生はみられなかった。NJM9632株は、

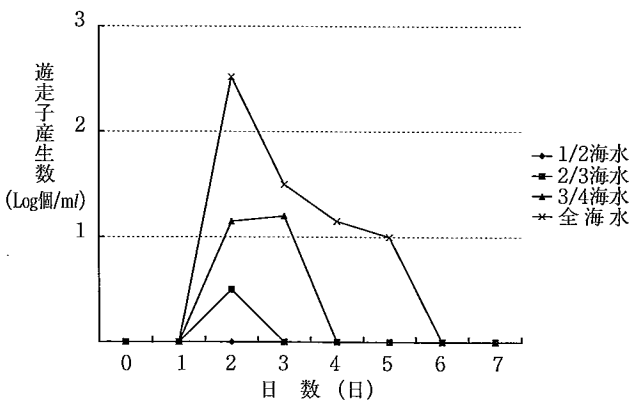


図1 NJM8986株の希釈海水中における遊走子産生状況

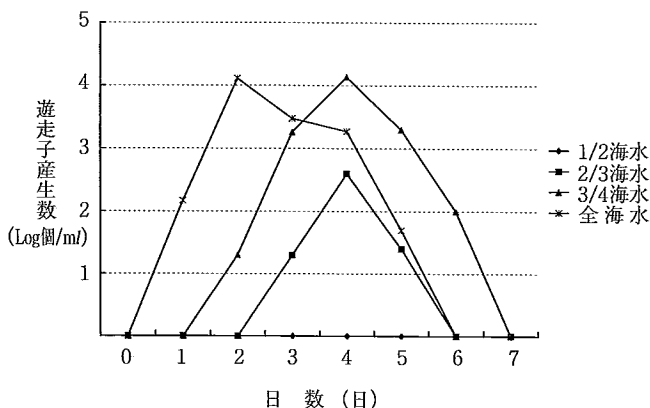


図2 NJM9632株の希釈海水中における遊走子産生状況²⁾

2/3海水において菌糸体収容後4日目に 6.0×10^2 個/mlで最大数となり、6日目以降遊走子は確認されなかった。3/4海水では、菌糸体収容後4日目に 1.4×10^4 個/mlで最大数に達し、7日目には確認されなくなった。全海水では菌糸体収容後2日目に 1.1×10^4 個/mlと最大数に達した後、減少し6日目以降は確認されなくなった。一方、NJM9633株の2/3海水における産生数は菌糸体収容後から3日目までは 1.0×10^4 個/mlで推移したが、4日目以降は確認されなかった。3/4海水では菌糸体収容後1日目に 1.8×10^3 個/mlと最大数に達したが、その後減少傾向を示し4日目以降遊走子の産生は確認されなかった。全海水では、遊走子の産生された期間が1日長かった点を除いて3/4海水とほぼ同様の推移を示した。

供試菌3株の遊走子産生数を2/3海水と全海水と比較するといずれも2/3海水の方が最大で2桁程度少なかった。3/4海水と全海水ではNJM9632株は3/4海水の方が最大で3桁程度遊走子産生数が少なかったが、その他の菌株では3/4海水の方が最大で1～2桁程度産生数が少なかった。このことから、希釈海水中では菌糸体からの遊走子の産生が抑制されているものと思われた。また、希釈濃度は3/4海水でも十分遊走子の産生に抑制効果はあるものと思われた。

卵菌類の属内における遊走子産生数の差異をみると、NJM8986及びNJM9632株の*Haliphthoros*属内では、希釈海水中での遊走子産生数が最大数に達するまでにかかる期間はNJM8986株の方が短かった。それに伴ってNJM8986株の遊走子の産生が確認された期間もNJM9632株より短かった。また、遊走子産生数はどの希釈海水区においてもNJM9632株の方が多かった。これらのことから、同属内でも種により希釈海水に対し早期に菌糸体からの遊走子の産生が抑制されたり、遊走子産生数が異なることが明らかになった。

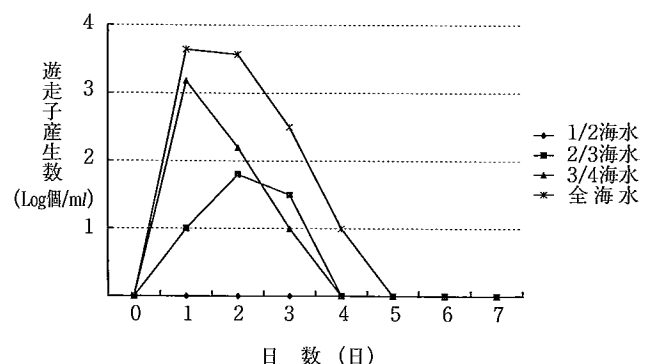


図3 NJM9633株の希釈海水中における遊走子産生状況²⁾

希釈海水中での遊走子生存能力 図4～6に各供試菌の希釈海水中での遊走子生存数の推移を示した。NJM8986株では、試験開始時(0日目)には $5.6 \times 10^2 \sim 6.1 \times 10^2$ 個/mlの遊走子が生存していたが、1日目以降1/2海水では生存数が半減し、4日目には遊走子の生存は認められなかった。2/3海水及び3/4海水においても2日目以降大幅に生存数が減少し、2/3海水では5日目に、3/4海水では6日目に生存数が0となった。全海水では4日目に急激に生存数が減少し、6日目に0となった。NJM9632株では、3/4海水以下の希釈海水では1日目に生存数が激減し、3日目にはほぼ全滅した。全海水は2日目まで徐々に生存数の減少がみられたが、3日目に急激に減少し、6日目に0となった。NJM9633株では、1/2海水及び2/3海水で1日目に他の試験区に比べ大きく生存数が減少し、1/2海水は2日目に確認できなくなり、2/3海水はその後徐々に減少し4日目に生存数が確認できなくなった。3/4

海水及び全海水は2日目までに生存数がほぼ半減した。その後、3/4海水では5日目まで、全海水では3日目まで生存していたが、3/4海水では6日目に、全海水では4日目に激減し0となった。このようにHaliphthoros属のNJM8986及びNJM9632株については、海水の塩分が低下するに従い生存期間及び生存数も減少する傾向を示した。しかし、Halocrusticida属のNJM9633株では3/4海水が最も生存期間が長かったため、今回の実験からは2/3海水以下の塩分でなければ遊走子の生存能力を抑制するのに効果がないものと思われた。

今回実験に用いた卵菌類の属内における希釈海水中の遊走子生存数の差異をみると、NJM8986及びNJM9632株のHaliphthoros属内では、NJM8986株のように日を追うごとに比較的緩やかに減少するタイプとNJM9632株のように1日目に急激に減少するタイプに分かれた。このように同じ属内の菌株でも遊走子の塩分耐性に差があるものと思われた。

要 約

1. 希釈海水中における数種卵菌類の遊走子の産生及び生存について調査した。
2. 希釈海水中での遊走子の産生については、NJM8986株(Haliphthoros sp.)、NJM9632株(Haliphthoros milfordensis)及びNJM9633株(Halocrusticida panulirata)の3菌株とも2/3海水の方が全海水より最大で100倍程度産生数が少なかった。また、3/4海水と全海水の比較ではNJM9632株は3/4海水の方が最大で1000程度、その他の菌株では最大で10～

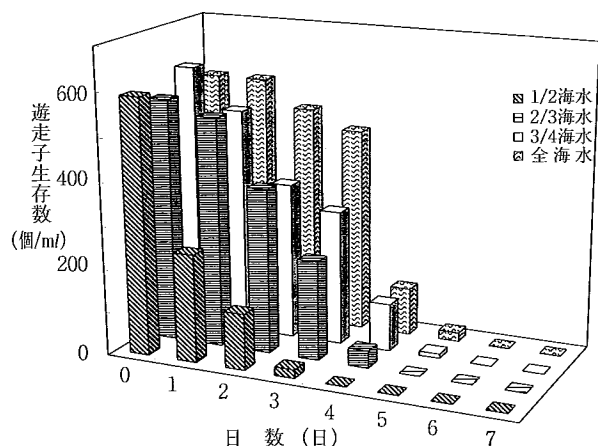


図4 NJM8986株の希釈海水中における遊走子生存数の推移

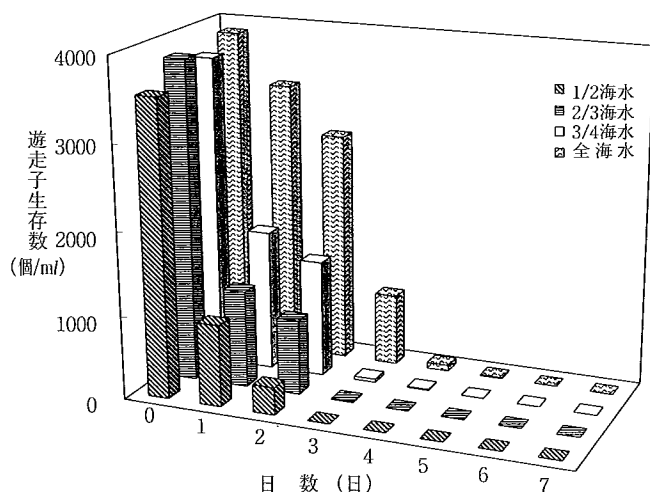


図5 NJM9632株の希釈海水中における遊走子生存数の推移

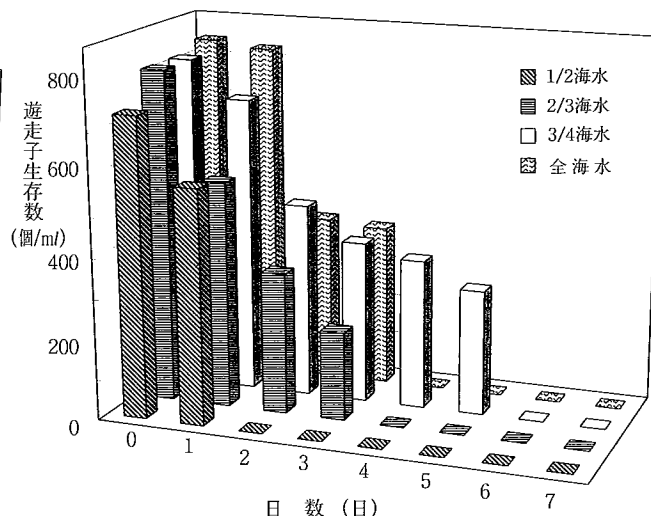


図6 NJM9633株の希釈海水中における遊走子生存数の推移

100倍程度産生数が少なかった。

3. 希釈海水中での遊走子の生存については, NJM8986株及び NJM9632株では海水の塩分が低下するに従い生存期間は短くなり, 生存数も減少する傾向を示した。また, NJM9633株では 3 / 4 海水が最も生存期間が長かった。
4. NJM8986株及び NJM9632株の同属内における遊走子生存の差異は NJM8986株では日を追うごとに比較的緩やかな減少を示し, NJM9632株では 1 日目に急激な減少がみられた。
5. 以上のことから, 今回使用した菌株において希釈海水中では菌糸体からの遊走子の産生が抑制され, かつ産出された遊走子の生存能力も低下することが明らか

になった。また, 同じ属内の菌株でも遊走子の塩分耐性に差が認められた。

文 献

- 1) 浜崎活幸・畑井喜司雄, 1993: ガザミおよびノコギリガザミの卵と幼生から分離された卵菌類の病原性について, 日水誌, 59, 1059-1066.
- 2) 泉川晃一・尾田 正・山野井英夫・畑井喜司雄, 1999: ヨシエビ幼生から分離した卵菌類の希釈海水中における感染率の低下, 日水誌, 65, 661-664.
- 3) 近藤正美・杉野博之・池田善平, 1996: 希釈海水によるヨシエビの種苗生産, 岡山水試報, 11, 115-116.