

ガザミ卵寄生菌類の特性およびふ化幼生のホルマリン浴による真菌症防止効果

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-04-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 浜崎, 活幸, 畑井, 喜司雄 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014415

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



ガザミ卵寄生菌類の特性およびふ化幼生のホルマリン浴による真菌症防止効果

浜崎 活幸*¹・畑井喜司雄*²

Characterization of Fungi Occurred in the Eggs of the Swimming Crab *Portunus trituberculatus* and Effects of Formalin Bath for Fungal Infection in the Newly Hatched Larvae

Katsuyuki HAMASAKI, and Kishio HATAI

1993年12月14日受理

ガザミ *Portunus trituberculatus* は、重要な栽培漁業対象種であり、1950年代からその種苗生産技術に関する研究が行われてきた¹⁾。現在では、全国の種苗生産機関で5,000万尾近い第1齢稚ガニが生産されているが、その飼育技術は必ずしも完成されたとは言えず、著しく低い歩留まりに終わる生産例も珍しくない。使用する餌の質や飼育環境など検討すべき課題も多いが、疾病も無視できない減耗要因の一つである²⁾。ガザミの種苗生産過程における主な疾病として、ビブリオ病³⁾や真菌症が知られている。ビブリオ病の発生は最初、日本栽培漁業協会玉野事業場（以下、玉野事業場と記す）で確認され²⁾、その後徳島県栽培漁業センターでも同様の症例が報告されたが³⁾、1988年の玉野事業場における発生を最後に報告例はない。一方、真菌症の発生は1985年に玉野事業場で初めて報告されたが、1989年にはガザミの種苗生産を行っている西日本を中心とした19機関のうち7機関か

ら報告された*⁴⁾。また、ノコギリガザミ類の種苗生産過程でも真菌症が発生し、大きな被害を与えている^{4,5)}。このように、真菌症の発生はガザミ類の種苗生産の成否に大きくかわるため、その発生防止方法の確立は急務の課題となっている。

著者らは真菌症防止方法を確立するために、まず1988年と1989年に玉野事業場のガザミやノコギリガザミ *Scylla serrata**⁴⁾の腹肢付着卵（以下、卵と記す）寄生菌および幼生寄生菌の分離・培養を試みた。その結果、1988年に分離した18株および1989年に分離した122株は鞭毛菌亜門、卵菌綱の主としてクサリフクロカビ目に属する6群の菌、*Haliphthoros* 属、*Lagenidium* 属、*Sirolopidium* 属、*Atkinsiella* 属、およびその他属未同定のクサリフクロカビ目の菌 (α type) とヤブレッツボカビ目の菌 (β type) とに分類された*^{5,6)}。そして、上記菌株のうち、代表的な7株を用いて卵や幼生に対する実験感染を試みた結果、

*¹ 日本栽培漁業協会玉野事業場 〒706 岡山県玉野市築港5-21-1 (Tamano Station, Japan Sea-Farming Association, Tamano, Okayama 706, Japan).

*² 日本獣医畜産大学獣医学科魚病学教室 〒180 東京都武蔵野市境南町1-7-1.

*³ 昭和60年度および平成元年度ガザミ種苗生産研究計画検討会資料.

*⁴ 最近ではノコギリガザミ類に3種を再記載すべきとした研究があり、大城⁶⁾に従えば、本種はトゲノコギリガザミ *Scylla tranquebarica* に同定されている。

*⁵ 畑井喜司雄・オンアッラオーハワイニト・高川恭敬・浜崎活幸 (1989) 平成元年度日本水産学会春期大会講演要旨集, p. 103.

*⁶ 高川恭敬・畑井喜司雄・窪田三朗・浜崎活幸 (1990) 平成2年度日本水産学会春期大会講演要旨集, p. 144.

Haliphthoros 属の1株, *Lagenidium* 属の2株, *Atkinsiella* 属の1株に強い病原性が認められ, 次いで *Sirolopidium* 属の1株の病原性が強いことが判明した⁷⁾。また, 現段階でこの感染防止に有効であると考えられるホルマリン浴⁵⁾による防止試験を行った結果, ホルマリンはこれらの菌株の遊走子を不活化し, 25 ppm 濃度において卵や幼生への真菌感染を阻止できることが明らかとなった⁸⁾。

真菌症の発生防止には, 病原菌類未感染の卵を持つ親ガニを種苗生産に使用することが最も有効であるため⁷⁾, 卵での感染の有無を検査する必要がある。しかし, 種苗生産の現場においては, 煩雑な菌の分離・培養, さらに同定の作業は困難であり, より簡便な検査方法の考案が望まれている。

著者らは, ガザミならびにノコギリガザミの卵や幼生に寄生する菌の分離・培養を試みた際, 感染卵におけるその寄生様式および菌の形状などをもとにして, 寄生菌のタイプ分けを試みた。そして, 感染卵寄生菌のタイプと分類手法によって得られた分離菌6群の特徴との関連性を検討した。さらに, 出現する寄生菌のタイプと水温との関連性についても検討した。また, 飼育現場におけるホルマリン浴の効果などについても検討したのでその結果について報告する。

材料と方法

供試雌ガザミ 1988年11月から1989年4月にかけて, 天然の未抱卵の成雌27尾を入手した。また, 1989年4月から5月にかけては, 天然の抱卵雌(以下, 天然抱卵雌と記す)52尾を入手した。玉野事業場までの搬入方法, 飼育水槽への収容方法および飼育に用いた水槽は, 浜崎ら^{9,10)}と同様であった。未抱卵の雌ガザミは, 3月下旬までは二重底構造で底に厚さ10cmになるよう砂(平均粒径1mm)を敷いた7m³コンクリート水槽において水温無調整(自然水温)下で飼育し, 4月からは同様の構造の4m³FRP水槽において蒸気ボイラーを用いて20~21°Cに加温して飼育した。加温開始後に水槽内で産卵した雌ガザミあるいは天然抱卵雌ガザミは, 17~23°Cの範囲で数段階の水温に調整された2m³FRP水槽内で無給餌飼育し, 後述する寄生菌の観察と菌分離のための試験に供した。さらに, これらの雌ガザミはふ化終了後, 以下に述べる試験に用いた。また, 天然抱卵雌の一部は搬入後, 直に後述の試験に供した。

卵への寄生菌感染状況に及ぼす飼育水温の影響をみるために, 自然水温で飼育する区(以下, 自然水温区と記す), 蒸気ボイラーを用いて20~24°Cに加温して飼育する区(以下, 22°C区と記す), および同様に25~26°Cに加温して飼育する区(以下, 25°C区と記す), の3種類の飼育区を設けた。自然水温区は上述の7m³コンクリート水槽2面と4m³FRP水槽1面を用い, 加温した

表1. 各飼育区の飼育期間, 供試雌ガザミ数およびのべ飼育抱卵雌ガザミ数

飼育区	飼育期間 (月日)	供試雌数 (尾)	飼育抱卵雌数 (尾)
自然水温	4.8~9.7	54	118
22°C	5.6~7.15	14	23
25°C	5.6~7.24	11	15

区はそれぞれ4m³FRP水槽1面を用いて飼育した。各飼育区の飼育期間, 供試雌ガザミ数および飼育したのべ抱卵雌ガザミ数を表1に示した。供試した雌ガザミを継続飼育した結果, 飼育期間中にほとんどの個体が多回産卵を行ったために, 実際に飼育した抱卵雌ガザミ数は, 供試雌ガザミ数よりも多くなった。

雌ガザミの飼育水(砂ろ過海水)は流水とし, その換水率は1日3~10回転とした。餌料には, 活きたアサリを餌場^{9,10)}に置いて供した。

供試雌ノコギリガザミ 1989年2月から3月にかけて, 15尾の未抱卵の成雌を入手した。飼育は, 二重底構造で底に厚さ10cmになるよう砂(平均粒径0.5mm)を敷いた4m³FRP水槽内で, 蒸気ボイラーを用いて約18°Cに加温して行った。入手した15尾のうち, 生残した4尾に産卵がみられた。これら抱卵雌は, 18~23°Cに調節した500lポリエチレン水槽内で無給餌飼育し, 後述の寄生菌の観察と菌分離の試験に供した。なお, 使用した飼育水や餌料はガザミと同様であった。

調査・観察項目 抱卵したすべてのガザミあるいはノコギリガザミ雌ガニの卵塊から, 抱卵期間中に5~20回約100~200粒の卵をピンセットで採取し, 寄生菌の有無, その寄生様式および菌の形状などを記録した。そして, これらの観察にもとづいて寄生菌のタイプを区分した。水温は試験期間中毎日午前と午後測定し, その平均値を毎日の飼育水温とした。試験期間中は適宜, 各飼育区の感染卵からPYGS寒天培地¹¹⁾を用いて菌の分離を行い, 日本獣医畜産大学魚病学教室に送付した。なお, 一つの卵に複数の寄生菌が観察される場合も多かったが, 菌分離には外観的に一つのタイプのみが認められる感染卵を用いた。

ふ化前日と思われる抱卵雌ガザミは, 550lの海水を入れた700lFRP水槽(以下, ふ化槽と記す)に16時~18時の間に収容し, ふ化させた。ふ化槽内には, エアーストン1個を入れて通気を行った。ふ化は通常夜間に行われるが, ここでは翌日の6時~7時にふ化の有無を観察した。ふ化がみられた場合には, ふ化槽内に浮遊している卵殻や死卵(未発生卵, 発育途中で死亡した卵および未ふ化卵よりなるが, ここでは区別せず取り扱った)を目合2mmのネットで集めて10%海水ホルマリン中に固定・保存し, 後に死卵を計500個(500個に満たない場合には全数)検鏡して各タイプ寄生菌の感染率を求めた。なお, 感染率の算出は, 自然水温区では78例, 22°C

区と 25°C 区ではそれぞれ 17 例と 10 例について行った。ふ化がみられなかった場合には、抱卵雌ガザミを飼育水槽に再収容し、その日の夕刻に再びふ化槽に移し

た。ふ化槽の水温は、自然水温区では無調整とし、22°C 区と 25°C 区ではチタンヒーターでそれぞれ 20~24°C, 25~26°C に調整した。

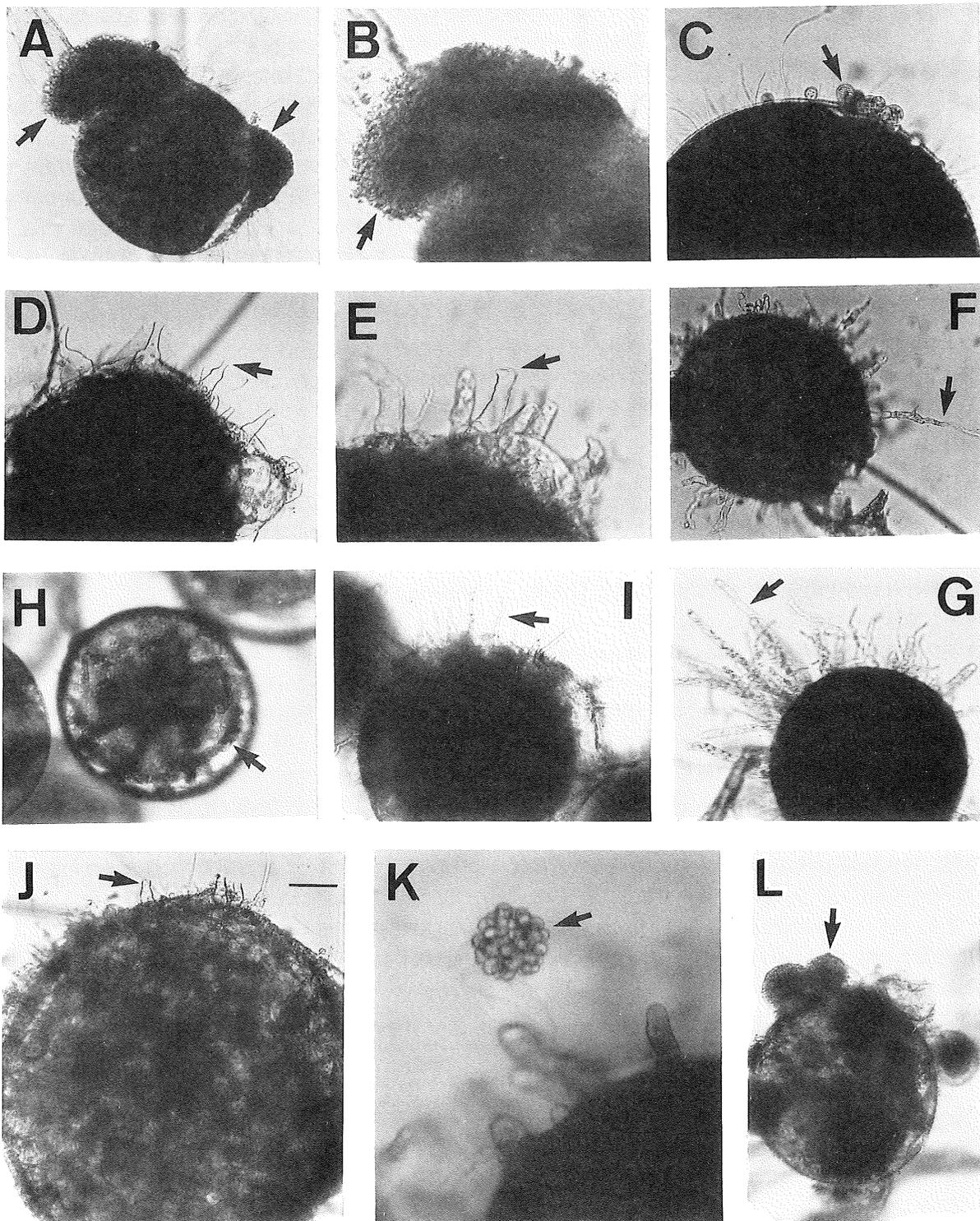


写真 1. ガザミあるいはノコギリガザミ卵に観察された寄生菌各タイプの特徴
 タイプ 1, 半円形の寄生体が卵表面にみられ (A), それを拡大観察すると小さな球形の構造物がみられる (B);
 タイプ 2, 小さな球形の寄生体が卵表面にみられる (C); タイプ 3, 短く太い放出管がみられ (D), その先端はラッ
 パ状に膨らむ (E); タイプ 4, 長く太い放出管がみられる (F, G); タイプ 5, 卵内に黒く太い菌糸がみられ (H),
 比較的短く細い放出管が出現する (I, J); タイプ 6, 遊走子は放出管先端の小嚢内に形成される (K); タイプ 7,
 大きな球形の寄生体が卵表面にみられる (L). 各特徴は写真中に矢印で示した. パースケールは写真 J 中に示
 し, それぞれ 100 μ m (A, B, D, F~I, L), 50 μ m (C, E, J), 25 μ m (K) を表す.

ホルマリン浴の効果 ふ化槽内でホルマリン 25 ppm 浴を実施する試験区と実施しない対照区とを設けた。自然水温区では試験区 30 例, 対照区 35 例, 22°C 区ではそれぞれ 5 例と 10 例, 25°C 区ではそれぞれ 4 例と 9 例について実施した。薬浴効果の判定は, 各雌ガザミのふ化幼生をシャーレ内で無給餌で全滅するまで飼育し, その間の真菌感染率を比較する方法で行った。真菌感染は, 幼生体内の菌糸の有無によって判断した。なお, 幼生に感染した菌は, すべて組織内寄生であった。感染の有無は毎日観察し, 感染が認められた幼生はシャーレから取り除いた。無給餌飼育は, 20 ml の滅菌海水 (硫酸ストレプトマイシンを 500 µg/ml, ペニシリン G カリウムを 400 µg/ml 添加) を入れたシャーレ 4 個にふ化幼生を各々 30 尾収容後, 16°C, 20°C, 24°C および 28°C に調節 (±1°C) した恒温器内に, それぞれシャーレ 1 個ずつを静置する方法で行った。なお, ふ化幼生のシャーレへの収容は, ふ化槽内の海水の影響を低減するために, 新しい過海水を満たしたピーカーにふ化幼生を移して 1~2 時間洗浄した後に行った。

結 果

寄生菌のタイプ区分 ガザミあるいはノコギリガザミの卵に観察された寄生菌を 7 タイプに区分した。以下に, 各タイプの形態的特徴を記した (写真 1)。

タイプ 1: 半円形の寄生体 (高さ, 73±29 µm (24~136 µm); 最大幅, 175±63 µm (64~280 µm), n=17)*⁷ が卵表面にみられ (写真 1A), その寄生体を拡大観察すると, 直径 8~12 µm の球形の構造物が認められる (写真 1B)。タイプ 2: 小さな球形の寄生体 (直径, 13±5 µm (6~28 µm), n=35) が卵表面にみられる (写真 1C)。タイプ 3: 短く太い放出管 (長さ, 54±17 µm (20~88 µm); 先端部の幅, 14±3 µm (8~20 µm), n=15) がみられ (写真 1D), その先端は, ラップ状に膨らんでいる (写真 1E)。タイプ 4: 長く太い放出管 (長さ, 109±18 µm (96~152 µm); 先端部の幅, 27±5 µm (16~32 µm), n=10) がみら

れる (写真 1F, G)。タイプ 5: 卵内に黒く太い菌糸 (最大幅, 29±8 µm (16~48 µm), n=14) が認められ (写真 1H), その卵を海水を満たしたシャーレ内に収容して観察すると, 感染が進行した卵には, 比較的短く細い放出管 (長さ, 24±11 µm (8~52 µm); 先端部の幅, 7±1 µm (4~8 µm), n=25) が出現する (写真 1I, J)。タイプ 6: 遊走子は, 放出管先端の小囊 (直径, 21±3 µm (16~24 µm), n=10) 内に形成される (写真 1K)。タイプ 7: 大きな球形の寄生体 (直径, 88±10 µm (72~104 µm), n=10) が卵表面にみられる (写真 1L)。なお, 今回の調査で, ノコギリガザミの卵ではタイプ 1~5 に, またガザミの卵ではタイプ 1~7 に分類される寄生菌が観察された。

寄生菌のタイプと分離菌株の同定結果との比較 各タイプについて計 127 例の菌分離を試みた結果, 60 例で培養・分類に成功した。ただし, タイプ 7 については菌分離を試みなかった。各タイプと分離菌株の同定結果を対比させた結果 (表 2), タイプ 4 からは *Haliphthoros* 属の菌のみが, タイプ 6 からは *Lagenidium* 属の菌のみが分離された。その他のタイプからは, 複数の菌群が分離された。すなわち, タイプ 1 は *Haliphthoros* 属と β type の 2 群の菌を, タイプ 2 は主に β type, タイプ 3 では主に α type と β type を含んでいた。タイプ 5 は *Haliphthoros* 属に分類される菌が最も多かったが, *Sirolopidium* 属と *Atkinsiella* 属の菌も含んでいた。

各タイプの出現状況 飼育期間中の各タイプの寄生菌の出現状況を図 1~3 に, 各飼育区の水温の変化を図 4 に示した。各タイプに分類された菌の出現状況は, 抱卵雌ガザミ数に対する菌寄生卵を持つ抱卵雌ガザミ数の割合 (以下, 出現頻度と記す) で表した。なお, ある雌ガニの抱卵期間中にあるタイプの寄生菌が一度でも観察されるか, 後述のふ化槽内の死卵に感染が認められた場合, そのタイプの菌はその雌ガニの抱卵期間中常に存在したものと判定した。また, 抱卵期間中に各タイプの寄生菌が一度も観察されず, かつふ化槽内の死卵の観察を試みなかった抱卵雌ガザミは, 飼育尾数から除外した。

自然水温で飼育したガザミ (自然水温区) の菌の出現

表 2. ガザミ卵に観察された寄生菌のタイプと分離菌株の同定結果との比較

タイプ	分離の 試行回数	分離された回数					
		α type* ¹	β type* ²	<i>Haliphthoros</i> 属	<i>Sirolopidium</i> 属	<i>Atkinsiella</i> 属	<i>Lagenidium</i> 属
1	13		3	3			
2	11		4	1	1		
3	44	10	9	4			
4	8			4			
5	45			11	4		
6	6					4	
7	0						2

*¹ クサリフクロカビ目の菌。

*² ヤブレッツボカビ目の菌。

*⁷ 平均値±標準偏差 (範囲), n = 標本数, 以下同様。

頻度をみると(図1), 5月までは約50%の抱卵雌にタイプ1とタイプ2の菌が出現したが, 水温が18°Cを超える6月以後には, 出現頻度が低下する傾向を示した。しかし, これらのタイプに分類される菌は, 飼育期間を通じて出現した。タイプ3の菌は, 5月までは80%以上の抱卵雌に出現したが, 6月以後減少し, 7月以後には観察されなくなった。タイプ4の菌は飼育期間を通じて出現したが, 特に6月~7月の出現頻度が高かった。タイプ5

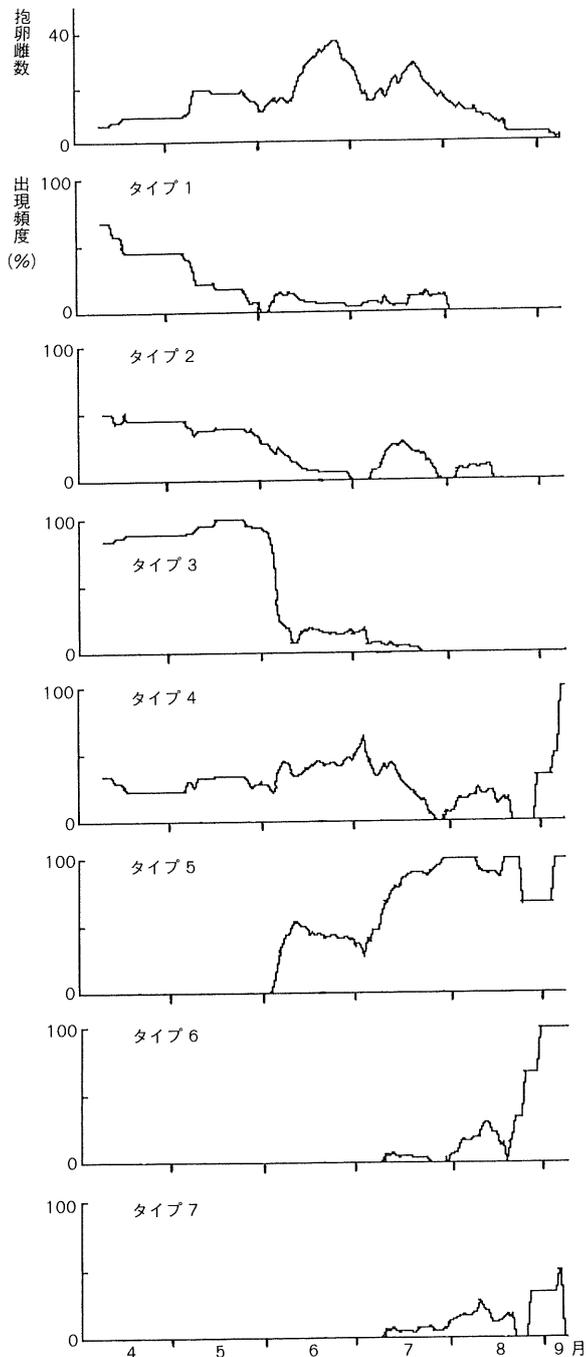


図1. 自然水温区における飼育抱卵雌ガザミ数と寄生菌各タイプの出現状況
寄生菌各タイプについては写真1を参照。出現頻度 = (あるタイプが観察された抱卵雌数) / (飼育抱卵雌数) × 100 で表した。

の菌は6月以後に出現し, 水温が24°Cを超える7月中旬以後には, 80%以上の抱卵雌に観察された。タイプ6の菌は7月中旬以後に出現し始め, 水温が26°Cを超える8月中旬にその出現頻度は高くなり, 8月下旬にはほとんどの抱卵雌に観察された。タイプ7の菌は, タイプ6の菌と同様に7月中旬以後に観察され始めたが, その出現頻度は低かった。22°C区と25°C区における各タイプの菌の出現時期(図2, 3)は, 自然水温区とほぼ同様の傾向を示したが, タイプ5やタイプ6の菌の出現頻度は, 同時期の自然水温区のそれに比べて高かった。

死卵への菌寄生 ふ化槽内に残された死卵に対する各タイプの菌の感染率を図5に示した。自然水温区の感染率は, タイプ5の菌を除いて10%以下であったが, タイプ5の菌の感染率は, 特に7月中旬以後に高い値を示した。22°C区での感染率は, いずれも10%以下であった。25°C区の感染率は, 自然水温区と同様の傾向を示したが, タイプ5の菌の感染率は, 自然水温区よりも早い時期(6月下旬)から高い値を示す場合があった。

次に, 真菌発見頻度と死卵への感染率との関係を図6

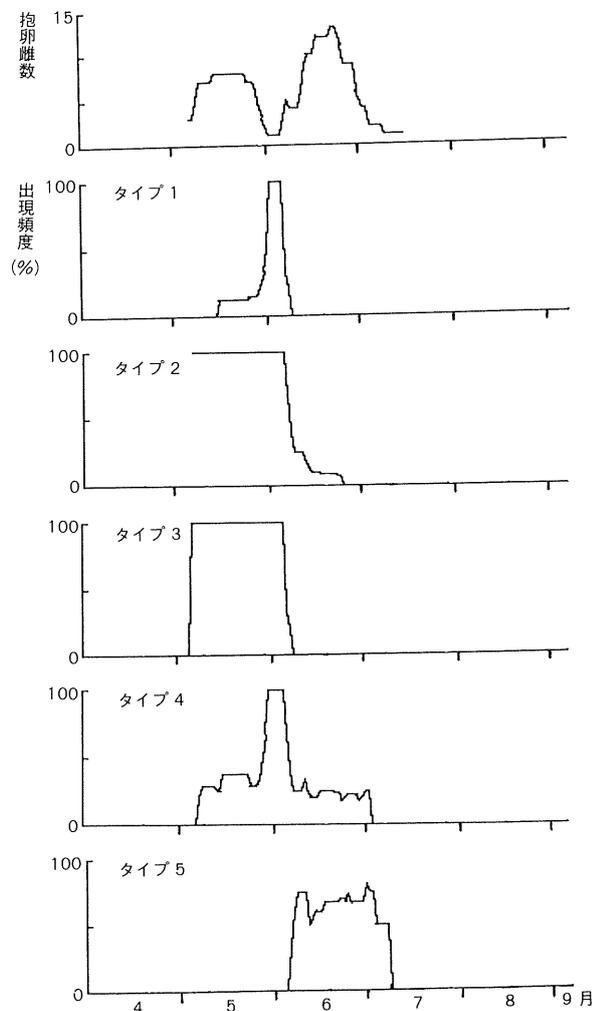


図2. 22°C区における飼育抱卵雌ガザミ数と寄生菌各タイプの出現状況
説明は図1に同じ。

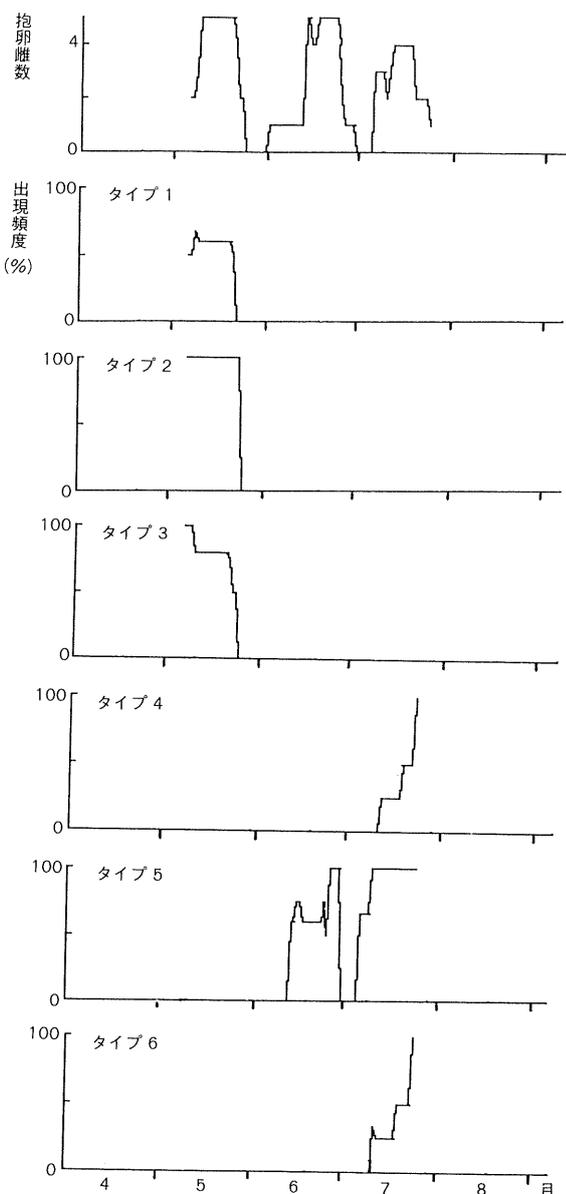


図 3. 25°C 区における飼育抱卵雌ガザミ数と寄生菌各タイプの出現状況
説明は図 1 に同じ。

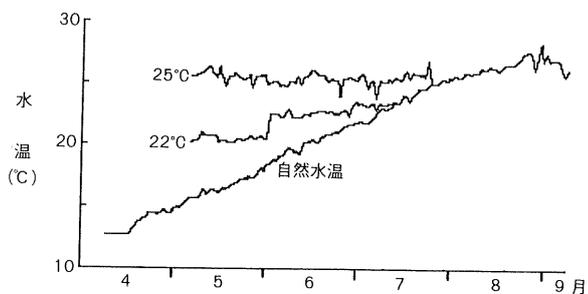


図 4. 各飼育区における飼育水温の変化

に示した。なお、各タイプとも同様の感染傾向がみられたので、死卵に高頻度でみられたタイプ 5 の例を代表として示した。ここでの真菌発見頻度とは、雌ガザミの抱卵期間中の検卵回数に対する寄生菌を確認した回数の割

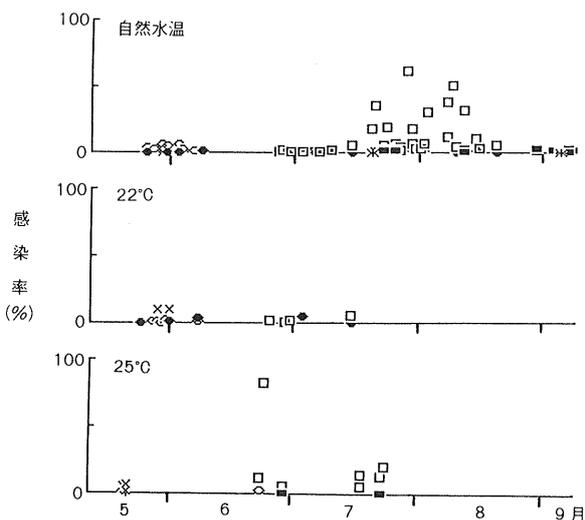


図 5. 各飼育区におけるふ化槽内に残された死卵への寄生菌各タイプの感染率
寄生菌各タイプについては写真 1 を参照。感染率 0% については煩雑さをさけるために図示しなかった。記号は寄生菌各タイプを示す (+, タイプ 1; ×, タイプ 2; ○, タイプ 3; ●, タイプ 4; □, タイプ 5; ■, タイプ 6; *, タイプ 7)。

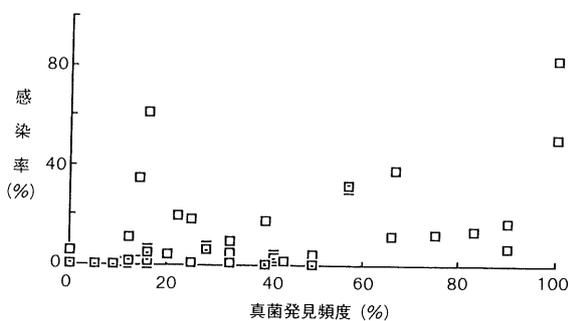


図 6. 真菌発見頻度と死卵への感染率との関係
寄生菌各タイプで同じ関係がみられたので死卵に高頻度でみられたタイプ 5 を代表として示した。
真菌発見頻度 = (ある雌ガザミの卵に寄生菌を観察した回数) / (同雌ガザミの抱卵期間中の検卵回数) × 100 で表した。

合である。図 6 から明らかなように、抱卵期間中の真菌発見頻度と死卵での感染率には、特に関連性は認められず、抱卵期間中に真菌の寄生が観察されなくても死卵への寄生が起こっている場合があった。

ホルマリン浴の効果 試験区および対照区におけるふ化幼生の真菌感染例数、ならびに平均感染率を表 3 に示した。試験区の自然水温区では、28°C の場合に感染例がみられたが、その感染率はわずか 2% にすぎなかった。一方、対照区では、飼育区に関係なく感染が認められた。特に感染例は自然水温区と 25°C 区で多くみられ、かつ感染率も高かった。幼生の飼育水温別にみると、20°C 以上での感染例数が多く、かつ感染率が高かった。以上のように、ふ化槽内で 25 ppm のホルマリン浴を実施することにより、ふ化幼生への真菌感染が抑制された。

表 3. ふ化幼生の真菌症に対するホルマリン 25 ppm 浴の効果

飼育区	幼生飼育水温 °C	A/B/C*	
		試験区	対照区
自然水温	16	30/0/0	35/ 8/ 3
	20	30/0/0	35/15/19
	24	30/0/0	35/18/20
	28	30/3/2	35/14/18
22°C	16	5/0/0	10/ 0/ 0
	20	5/0/0	10/ 1/ 1
	24	5/0/0	10/ 1/ 1
	28	5/0/0	10/ 1/ 2
25°C	16	4/0/0	9/ 5/43
	20	4/0/0	9/ 5/53
	24	4/0/0	9/ 5/56
	28	4/0/0	9/ 7/57

* A, 実施例数; B, 真菌感染がみられた例数; C, 平均感染率 %.

次に、対照区におけるふ化幼生の飼育開始時期と真菌感染率との関係を図7に示した。自然水温区の感染率は、死卵への感染率の推移(図5)とほぼ同様であり、7月中旬以後高まる傾向がみられ、しかも真菌感染によって全滅する例もみられた。22°C 区の感染率は低かったが、25°C 区では自然水温区よりも早い時期から真菌感染によって全滅する例がみられた。幼生の飼育水温別にみると、6月下旬ないし7月上旬までは低い飼育水温で感染率が高くなる例も認められるが、それ以後の感染率は高水温ほど高い値を示す傾向にあった。

考 察

ガザミならびにノコギリガザミの卵に観察された寄生菌を、その寄生様式および菌の形状などにもとづいて7タイプに区分した。ここでは、区分した各タイプと分類手法によって得られた分離菌6群の対応関係について考察した。

まず、卵への寄生様式からタイプ1, 2および7の菌は組織外寄生菌、その他のタイプの菌は組織内寄生菌であると考えられた。

タイプ2は主にβ typeの菌、すなわちヤブレッツボカビ目の菌であったが、この仲間の菌はクルマエビ *Penaeus japonicus* の中腸腺初代培養細胞に寄生していた例が知られている¹²⁾。この寄生菌は、培養液中で遊走子が遊泳した後、直径約3μmの球状の休眠胞子となり、次第に径を増して直径15~20μmの栄養体に成長することが報告されており、その外部形態は、今回観察したタイプ2の菌と類似していた。

タイプ1の菌は、組織内寄生性の *Haliphthoros* 属の菌と組織外寄生性のβ typeの菌を含んでいたが、このタイ

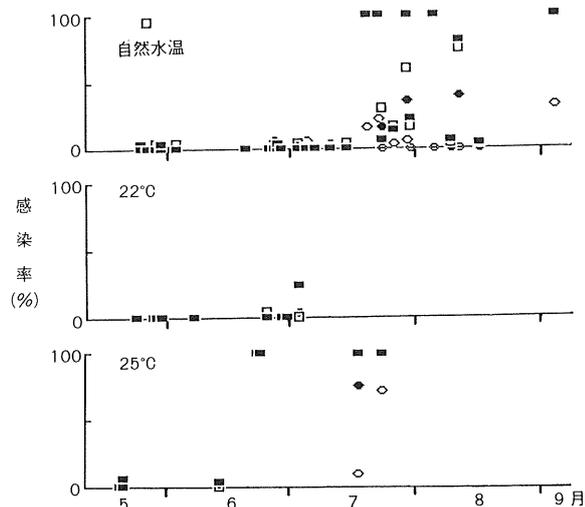


図 7. 各飼育区からふ化した幼生への真菌感染率
ホルマリン無添加のふ化槽内でふ化した幼生を4段階の水温で全滅するまで無給餌で飼育し、その間の真菌感染率を求めた。真菌のタイプは区別しなかった。記号は幼生飼育水温を示す(○, 16°C; ●, 20°C; □, 24°C; ■, 28°C)。

プは組織外寄生菌と考えられたことから、β typeに対応するものと考えられた。しかし、タイプ2の菌やクルマエビの中腸腺培養細胞に寄生していた菌とは、形態が異なっていた。従って、タイプ1の菌は、タイプ2の菌やクルマエビの中腸腺培養細胞寄生菌とは異なる菌の可能性はある。ただし、タイプ1の菌は、タイプ2の菌の栄養体が集合したもののようにもみえることから、タイプ2の菌の発育したもの(すなわちタイプ2と同じβ type)とも考えられた。この点は、今後β typeの菌の生理・生態が解明された時点で明確にされるであろう。

もう一つの組織外寄生菌であるタイプ7の菌については、今回は分離・培養を試みなかったために、その分類上の位置は不明である。

組織内寄生菌であるタイプ3からは、主にα typeとβ typeの菌が分離されたが、α typeはクサリフクロカビ目に属する組織内寄生菌であり、β typeは先に述べたようにヤブレッツボカビ目に属する組織外寄生菌であった。従って、タイプ3の菌は、α typeに対応するものと考えられた。なお、α typeの人為感染卵^{*8}に出現する放出管の形態は、タイプ3のそれに類似しており、このことからタイプ3とα typeの菌は一致するものと考えられた。

タイプ4からは *Haliphthoros* 属の菌のみが分離されたが、人為感染卵に出現する *Haliphthoros* 属の放出管も非常に長いことが観察されており、今回のタイプ4の菌の特徴と一致していた。従って、タイプ4は *Haliphthoros* 属に対応するものと考えられた。ただし、*Sirolpidium* 属の人為感染卵にみられる放出管も *Haliphthoros* 属同様に

*8 人為感染卵の形態に関する記載は、著者らが別途行った感染実験結果にもとづくものである。

長いことから、タイプ4には *Sirolopidium* 属も含まれる可能性がある。

タイプ5からは *Haliphthoros* 属の菌が最も多く分離され、次いで *Sirolopidium* 属と *Atkinsiella* 属の菌が同数分離された。タイプ5の菌の特徴は、卵内における比較的大い菌糸と比較的短く細い放出管の存在であり、これらの特徴は、*Atkinsiella* 属の人為感染卵に観察されたものと一致していた。従って、タイプ5は *Atkinsiella* 属に対応するものと考えられた。なお、タイプ5に分類した群から *Haliphthoros* 属や *Sirolopidium* 属の菌が分離されているが、これは本来タイプ4であるものを放出管が長くなる以前にタイプ5として分離したことによるものと考えられた。

Lagenidium 属の特徴は、遊走子が放出管先端の小嚢内に形成されることであるが¹³⁾、タイプ6からの菌はすべてこの特徴を有していた。従って、タイプ6は *Lagenidium* 属の菌であると考えられた。

以上のように、寄生菌各タイプと分離菌6群との大まかな対応関係が明らかになった。しかし、今回行ったタイプ区分は、単純に外部形態（特に放出管の外部形態）にもとづいたものであり、例えば、放出管が出現し始めた段階のタイプ4とタイプ3やタイプ5とを区別することには困難があり、今回タイプ3やタイプ5からタイプ4と考えられる *Haliphthoros* 属や *Sirolopidium* 属の菌が分離された。また、放出管先端の小嚢が特徴的であった *Lagenidium* 属のタイプ6では、小嚢が形成されていない放出管のみの卵や、小嚢が破れ、遊走子が放出されて空の放出管のみの卵となった場合に、タイプ4と混同される可能性がある。さらに、今回はタイプ5を除くと、卵内に観察される菌糸の形態にもとづくタイプ区分を行うことはできなかった。また、卵への人為感染結果によれば、*Atkinsiella* 属（タイプ5と考えられる）以外の菌では、卵内における菌糸の特徴的な形状を観察し難い場合が多い。このことから、現在のところ放出管の存在以外では、組織内寄生菌の有無を迅速に判断することは困難であると考えられ、現に、今回組織外寄生菌と判断したタイプ1やタイプ2からも *Haliphthoros* 属や *Sirolopidium* 属の菌が分離された。このように、ここで卵寄生菌類のタイプ分けの基準とした外部形態のみでは、分類群の正確な判定は困難であると考えられ、より正確な分類を行うためには、さらに何らかの基準を加える必要があると判断された。

今回は幼生寄生菌類のタイプ区分や分類は行わなかったが、幼生の体内の菌糸は顕微鏡下で容易に観察することができることから、菌糸の形態や遊走子の産生様式などを観察することによって、属レベルでの分類は可能であるものと考えられる。

自然水温区のカザミにみられた寄生菌の出現時期と飼育水温との間には、明瞭な関係が認められた。すなわち、各タイプの出現特性を飼育水温と関連させてまとめると

以下のようなだろう。

タイプ1~3: 18°C以下の時期に高頻度でみられる。

タイプ4: ガザミの抱卵雌が出現する期間中観察されるが、特に20°C前後の水温帯での出現頻度が高い。

タイプ5: 18°C以上で出現し、24°C以上で高頻度でみられる。

タイプ6: 24°C以上で出現し、26°C以上で出現頻度が高まる。

タイプ7: 24°C以上で出現するが、出現頻度は低い。

各タイプの死卵への感染率を比較すると、タイプ5の感染率が高かった。さらに、ふ化幼生への感染がみられた菌類は何れも組織内寄生菌であり、その感染率はタイプ5やタイプ6が高頻度で出現する24°C以上の時期に高くなる傾向が認められた。従って、単純に感染率から判断すれば、組織外寄生性のタイプ1,2および7の菌には、ふ化幼生に対する病原性は認められず、組織内寄生性のタイプ5やタイプ6の菌の病原性が強いと考えられた。また、ふ化幼生の飼育水温別の感染率は、6月下旬ないし7月上旬までの低水温期には低い飼育水温で高くなる例が認められ、それ以後の時期の感染率は飼育水温が高いほど高くなる傾向が認められた。すなわち、水温は感染に大きな影響を及ぼすものと考えられた。

22°Cあるいは25°Cで飼育した抱卵雌ガザミでも、自然水温区と同様の寄生菌の出現特性や病原性の特徴がみられたが、25°C区では自然水温区よりも病原性の強いタイプ5やタイプ6の出現頻度が高く、死卵への感染率も高かった。また、ふ化幼生への感染率も、25°C区では自然水温区よりも早い時期から高くなる傾向を示した。すなわち、25°Cでは病原性の強い菌類が高頻度で出現し、また、24°C以上の高水温では幼生への感染率も高くなることから、抱卵雌ガザミの飼育は24°C以下で行う必要があると判断された。

次に、ここで考察した分類群と寄生菌各タイプとの対応関係、およびそれらの出現特性や病原性をとりまとめると以下のようなだろう（表4）。病原性の弱いあるいは認められない α type（タイプ3）や β type（タイプ1あるいは2）の菌は、低水温期（18°C以下）に出現する傾向にあった。一方、病原性の強い菌を含む *Haliphthoros* 属や *Sirolopidium* 属（タイプ4あるいは5）の菌は、ガザミの抱卵雌が出現する期間中観察されるが、その出現頻度は高水温期（24°C以上）に高い傾向がみられた。さらに病原性の特に強い *Atkinsiella* 属（タイプ5）や *Lagenidium* 属（タイプ6）の菌は、高水温期（24~26°C以上）に出現しやすかった。このように、ガザミの抱卵雌が出現する期間中、病原性の強い菌が卵に観察され、24°C以上の時期には特に病原性の強い菌が優占した。また、真菌感染を受けた卵塊からふ化した幼生に対しても容易に感染が成立し、卵の場合と同様に24°C以上の時期に感染率は高くなった。従って、24°Cを超える夏期には、特に真菌感染に注意する必要があると考えられた。

表 4. 分類群と寄生菌各タイプとの対応関係, 出現特性および病原性

分類群	タイプ	出現特性	病原性
<i>Haliphthoros</i> 属	4 or 5	低水温期～高水温期に出現	弱い～強い
<i>Lagenidium</i> 属	6	高水温期 (26°C 以上) に優占	強い
<i>Atkinsiella</i> 属	5	高水温期 (24°C 以上) に優占	強い
<i>Sirolopidium</i> 属	4 or 5	低水温期～高水温期に出現	弱い～強い
α type* ¹	3	低水温期 (18°C 以下) に優占	弱い
β type* ²	2 (1?)	低水温期 (18°C 以下) に優占	ない?

*¹ クサリフクロカビ目の菌.*² ヤブレツボカビ目の菌.

著者ら⁷⁾ は本調査において分離した菌の中で, β type を除く 5 群の菌の 7 株を用いて, ガザミやノコギリガザミの種々の発育段階の卵と幼生に対する感染実験を温度別 (20, 24, 28°C) に試みた。その結果, α type の菌の感染は 20°C で認められる場合もあったが, 概してその病原性は弱かった。*Haliphthoros* 属や *Sirolopidium* 属の菌株には, 種々の病原性を有する菌株が含まれており, 感染はすべての実験温度で認められた。*Atkinsiella* 属や *Lagenidium* 属の菌株は病原性を有したが, 特に 28°C で強い病原性を示した。このように, 感染実験における病原性と水温との関係は, 上述した実際の飼育現場での検討結果と良く一致した。

真菌症は多くの十脚甲殻類の卵や幼生から報告されているが¹³⁾, 同一種から複数の真菌症が報告される事例は少なく, わずかにウシエビ *Penaeus monodon* で *Lagenidium* spp. と *Haliphthoros philippinensis* の症例が知られているにすぎない¹⁴⁾。しかし, これらクサリフクロカビ目に属する菌類は, 宿主特異性が強くないと考えられていることから^{5,7)}, 今回のガザミやノコギリガザミで観察されたような複数の真菌類の感染は, 他の甲殻類においても充分起こり得るものと考えられた。

これまでにクサリフクロカビ目の菌類の出現時期と水温との関係, あるいは感染力と水温との関係などについてはほとんど明らかにされておらず, わずかに *Haliphthoros* 属¹⁴⁾, *Atkinsiella* 属¹⁵⁾ および *Lagenidium* 属¹¹⁾ の菌について, 培地上での成長に及ぼす温度の影響が調べられているにすぎない (何れも温帯から熱帯に分布するウシエビの幼生¹⁴⁾, ノコギリガザミの卵^{11,15)} および幼生¹¹⁾ から分離された菌)。これらの結果によれば, 培養開始 7 日後に判定された *Haliphthoros* 属, *Atkinsiella* 属および *Lagenidium* 属の各菌の発育好適温度 (生育可能温度) は, それぞれ 16.5~34.5°C (1.2~36.3°C), 23.7~32.0°C (14.0~32.0°C) および 19.0~31.8°C (11.0~42.0°C) であった。

著者らが感染実験⁷⁾ に用いた *Haliphthoros* 属, *Atkinsiella* 属および *Lagenidium* 属の菌の培養 7 日後に判定した発育好適温度 (生育可能温度) は, それぞれ 14.0~33.0°C (2.3~33.0°C), 21.8~28.5°C (4.0~31.3°C) およ

び 24.0~34.8°C (13.0~38.3°C) であった*⁹⁾。すなわち, *Haliphthoros* 属の菌は, 広い温度範囲で生育可能であり, *Atkinsiella* 属や *Lagenidium* 属の菌は, 高温下で良好な成長を示す傾向にあった。これは, 今回考察したガザミ卵における各属の菌の出現水温帯 (表 4) とほぼ一致していた。*Lagenidium* 属については, 最近寒帯性のホッコクアカエビ *Pandalus borealis* の親エビの筋肉に感染する菌が発見され, その菌は 5°C でも生育可能であったことが報告されている¹⁶⁾。従って, 同一属であっても, 種によっては生育可能温度が異なる可能性もある。ただ, 今回の調査によって明らかにされた, どの時期 (水温) にどのタイプ (分類群) の菌による疾病が発生しやすいかという知見は, 当场と同様の水温帯の種苗生産機関においては, 充分参考になるものと考えられた。

ホルマリン浴は, 加治ら⁹⁾ によってガザミ類の種苗生産過程における真菌症防止対策法として確立され, その後, 著者ら⁹⁾ によっても実験的にその有効性が確認された方法である。実際の飼育現場においてその有効性を試験した結果, ふ化槽内でのホルマリン 25 ppm 浴は, 明らかにふ化幼生への真菌感染防止に有効であり, 真菌症の発生をほぼ防止することが可能であった。ホルマリン浴が有効でない場合もあったが, この場合には, ふ化槽内のホルマリン濃度が有効濃度以下に低下していたことも考えられる¹⁷⁾。

以上の調査結果をまとめると, 抱卵雌ガザミの卵には様々な菌が感染し, 特に 24°C を超える時期には病原性の強い真菌類が出現することが判明した。さらに, ふ化槽内で容易にふ化幼生への菌感染が成立し, 全滅する例もしばしば認められた。このことから, 感染を受けた卵塊を持つ親ガニを種苗生産に使用することは, 飼育中の幼生に真菌症を発生させる原因になると推察された。従って, 真菌感染を受けている可能性の高い未発生卵や死卵を多く保有している抱卵雌を種苗生産に供することは, 可能な限りさける必要がある。また, ある雌ガザミの抱卵期間中の検卵で真菌が発見されなかった場合にも, ふ化槽内に残された卵を調査したところ, 卵への真菌感染が起こっていた例もあった。このことは, 真菌感染卵を見逃す可能性もあることを示すものである。従っ

*⁹⁾ 畑井ら, 未発表.

て、ふ化幼生への真菌感染を未然に防ぐためには、ふ化槽内でのホルマリン 25 ppm 浴を常に実施する必要があると考える。ただし、ホルマリン浴は卵内の菌糸に対しては無効であることから*10、ふ化幼生をふ化槽から幼生飼育水槽へ移槽する場合には、ふ化槽内の死卵を目の荒いネットなどを用いてできるだけ除去することが、疾病発生を防止するうえで重要なことといえる。

以上述べたように、ホルマリン 25 ppm 浴によって真菌症発生の防止が可能になったといえるが、今後は飼育水への菌の侵入経路を明らかにし、その侵入を断つ必要がある。これまで感染源となる遊走子は親由来ではなく、取水海水から侵入するか、あるいは飼育水槽内に生息している何らかの生物に由来している可能性が示唆されてきた⁵⁾。仮に、取水海水からの侵入の可能性が大きいとすれば、幼生飼育水槽内で新たな真菌感染が成立する可能性がある。従って、真菌症の発生を完全に防止するためには、取水海水の滅菌も必要であろう。甲殻類寄生菌に汚染された海水を紫外線¹⁸⁾あるいはオゾン¹⁹⁾によって消毒する試みもなされており、実験的にはその有効性が示唆されている。今後、ガザミ類でも遊走子の侵入経路や取水海水の消毒の効果について検討する必要があるものと考えられる。

謝 辞

本研究を進めるにあたり有益な助言を頂いた日本栽培漁業協会古澤 徹技術部長（現技術参事）ならびに丸山敬悟前玉野事業場長（現五島事業場長）に厚くお礼申し上げる。本報告をとりまとめるにあたり有益な助言を頂いた同協会常務理事菅野 尚博士、水田洋之介技術部長ならびに関谷幸生玉野事業場長に深謝する。調査・観察を実施するにあたっては、八重山事業場（現伯方島事業場）の加治俊二氏に有益な助言を頂いた。また、玉野事業場の職員各位には実験の実施にあたって便宜を図って頂いた。ここに記して感謝の意を表す。

文 献

- 1) 尾田 正 (1983) II 種苗生産, 1 技術開発の経過。「水産増殖叢書 32 ガザミ種苗の量産技術」(ガザミ種苗生産研究会), 日本水産資源保護協会, 石崎書店, 東京, pp. 39-41.
- 2) 室賀清邦・鈴木康二・石橋矩久・野上欣也 (1989) ガザミ幼生に発生したピブリオ病. 水産増殖, **37**, 133-141.
- 3) 東條秀雄 (1986) ガザミ種苗生産. 昭和 60 年度徳島県栽培漁業センター事業報告書, 33-36.
- 4) 日本栽培漁業協会 (1990) III-3 種苗生産技術の開発, L-9

のこぎりがざみ類. 日本栽培漁業協会事業年報昭和 63 年度, 255.

- 5) 加治俊二・兼松正衛・手塚信弘・伏見 浩・畑井喜司雄 (1991) ノコギリガザミの卵およびふ化幼生のハリフトロス症に対するホルマリン浴の効果. 日水誌, **57**, 51-55.
- 6) 大城信弘 (1988) ノコギリガザミ類. 「サンゴ礁域の増養殖」(諸喜多茂充編著), 緑書房, 東京, pp. 198-209.
- 7) 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.
- 8) 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ふ化幼生の真菌症に対するホルマリン浴の効果. 日水誌, **59**, 1067-1072.
- 9) 浜崎活幸・福永恭平・野上欣也・丸山敬悟 (1991) ガザミの産卵行動および産出卵の腹肢への附着過程. 栽培技研, **19**, 85-92.
- 10) 浜崎活幸・福永恭平・丸山敬悟 (1992) ガザミのふ化までの所要日数と飼育水温の関係およびふ化日の同調化について. 栽培技研, **20**, 73-85.
- 11) BIAN, B. Z., K. HATAI, G. L. PO, and S. EGUSA (1979) Studies on the fungal diseases in crustaceans. I. *Lagenidium scyllae* sp. nov. isolated from cultivated ova and larvae of the mangrove crab (*Scylla serrata*). *Trans. mycol. Soc. Japan*, **20**, 115-124.
- 12) AWAJI, M., A. MACHII, H. K. NAKAMURA, and K. T. WADA (1989) Characterization of a zoospore fungus appearing in primary cultures of the kuruma prawn midgut gland. *Bull Natl. Res. Inst. Aquaculture*, **15**, 19-27.
- 13) SPARKS, A. K. (1985) Synopsis of invertebrate pathology, Elsevier, Amsterdam, pp. 219-230.
- 14) HATAI, K., B. Z. BIAN, M. C. L. BATICADOS, and S. EGUSA (1980) Studies on the fungal diseases in crustaceans. II. *Haliphthoros philippinensis* sp. nov. isolated from cultivated larvae of the jumbo tiger prawn (*Penaeus monodon*). *Trans. mycol. Soc. Japan*, **21**, 47-55.
- 15) BIAN, B. Z., and S. EGUSA (1980) *Atkinsiella hamanaensis* sp. nov. isolated from cultivated ova of the mangrove crab, *Scylla serrata* (Forsskal). *J. Fish Dis.*, **3**, 373-385.
- 16) HATAI, K., and O. LAWHAVINIT (1988) *Lagenidium myophilum* sp. nov., a new parasite on adult northern shrimp (*Pandalus borealis* Krøyer). *Trans. mycol. Soc. Japan*, **29**, 175-184.
- 17) 日本栽培漁業協会 (1991) III-1 成体の確保と採卵, L-9 のこぎりがざみ類. 日本栽培漁業協会事業年報平成元年度, 68-69.
- 18) FISHER, W. S., E. H. NILSON, L. F. FOLLETT, and R. A. SHLESER (1976) Hatching and rearing lobster larvae (*Homarus americanus*) in a disease situation. *Aquaculture*, **7**, 75-80.
- 19) CRISP, L. M., and C. E. BLAND (1990) Potential use of ozone to disinfect sea water of fungi causing diseases of cultured marine crustacea. *J. Invertbr. Pathol.*, **55**, 380-386.

*10 浜崎ら, 未発表.