

特集 I. 魚病由来菌の薬剤感受性と耐性*

Symposium I: Antibiotic Susceptibility and Resistance of Fungal and Bacterial Isolates from Diseased Fish

1. 養殖魚介類の真菌症と魚病由来真菌の 薬剤感受性について

畑 井 喜司雄 (日本獣医畜産大学)

魚病とは通常魚類だけではなく、“エビ・カニ類”および貝類をも含む魚介類全般の疾病を指す。真菌症は淡水および海水域に生息する魚介類に発生し、時折甚大な被害を与える^{8,10,11}。これは有効な防衛剤が欠如していることにも原因している。魚介類の真菌症原因菌はこれまでも多数知られているが(表1)、それらは下等な鞭毛菌類から高等な不完全菌類にまで及んでいる。ただし、担子菌類に起因する魚介類の疾病はまだ知られていない。ここではまず日本の養殖魚介類に害作用を及ぼす主要な真菌症および菌類について概説し、最後に病原菌に対する薬剤感受性について述べる。

1. 魚介類の真菌症

真菌病の中で、古くから知られ、現在でも問題となっている疾病は水カビ病である^{5,6,7}。本病は外部寄生水カビ病と内部寄生水カビ病とに大別される。前者は通常の水カビ病であり、魚体または卵の表面に菌糸が綿毛状に発育する疾病である。本病の代表としては *Saprolegnia diclina* Type 1 (= *S. parasitica* Coker 1923) によるサケ科魚類の水カビ病(図1)が知られている。後者は前者と同様にミズカビ科に分類される菌による感染症でありながら、菌糸は決して体表面には発現せず、体内でのみ菌が繁殖する疾病である。本病の代表としては *Saprolegnia diclina* Type 3 に起因するサケ科魚類稚魚の内臓真菌症⁹ およ

び *Aphanomyces piscicida* によるアユの真菌性肉芽腫症⁹ などがある。前者は餌付後1~2週齢の稚魚に発生する疾病で、菌は胃の幽門部から腹腔内に伸長し、最終的には内臓全体で繁殖する疾病である。後者は該菌が宿主の筋肉内で繁殖し、やがて肉芽腫が形成されるのを特徴とする疾病で、アユに大量斃死をもたらす(図2)。

イクチオホヌス症は *Ichthyophonus hoferi* がサケ科魚類(特にニジマス)の体内で繁殖し、結節様病患部を形成する疾病である。本症は慢性的の疾病であり、いったん発生した場合には現在のところ有効な治療法は知られていない。本症の診断は患部に直径数 μm から200 μm 程度の多核球状体の存在を確認することで容易になされる(図3)。

フサリウム症はフサリウム属に分類される菌に起因する疾病の総称であり、日本では特に *Fusarium solani* がクルマエビの鰓に感染し、外観的に鰓黒症状を呈する疾病が問題となっている(図4)。本症はその病徴から鰓黒病と呼ばれることもある。本症は以前からエビ類の疾病として著名であったが、最近では魚類からも報告されている(表1)。

甲殻類(とくに幼生)の卵菌症はクルマエビ、ガザミなどの種苗生産場において大きな問題となっている(図5)。原因菌は複数種知られているが、主なものはクサリフクロカビ類に分類される *Lagenidium* spp. および *Haliphthoros* spp. などである。

* 1991年4月1日に開催された本会の第18回シンポジウムの講演要旨。

表 1 魚介類の真菌症原因菌*

分 類	原因菌	宿 主
Eumycota		
Mastigomycotina		
Chytridiomycetes		
Chytridiales	<i>Dermocystidium</i> spp. <i>D. koi</i> <i>D. anguillae</i>	淡水魚類 コイ** ヨーロッパウナギ**
Oomycetes		
Lagenidiales	<i>Lagenidium callinectes</i> <i>L. scyllae</i> <i>L. myophilum</i> <i>L. rabenhorsti</i> <i>L.</i> spp.	“エビ・カニ類” ノコギリガザミ ホッコクアカエビ** コイ “エビ・カニ類”**
Saprolegniales	<i>Saprolegnia</i> spp. <i>S. diclina</i> <i>S. ferax</i> <i>S. shikotsuensis</i> <i>S. australis</i> <i>Achlya</i> spp. <i>Aphanomyces astaci</i> <i>A. laevis</i> <i>A. piscicida</i> <i>A.</i> sp. <i>Haliphthoros milfordensis</i> <i>H. philippinensis</i> <i>H.</i> spp. <i>Atkinsiella dubia</i> <i>A.</i> spp. <i>A. hamanaensis</i> <i>Branchiomyces demigrans</i> <i>B. sanguinis</i>	淡水魚** 淡水魚** 淡水魚** ヒメマス** ニジマス** 淡水魚** ザリガニ 淡水性熱帯魚 アユ**・キンギョなど** メンハーデン アワビ**・“エビ・カニ類” ウシエビ “エビ・カニ類”** カニ “エビ・カニ類”** ノコギリガザミ** カワカマス・テンチ コイ**、ウナギ**、アメリカナマス
Zygomycotina		
Zygomycetes		
Entomophthorales	<i>Ichthyophonus hoferi</i>	ブリ**・ニジマス**・アユ**・クロ ダイ**・イシダイ**、ウナギ・ニシン
Ascomycotina		
Pyrenomycetes		
Halosphaeriaceae	<i>Trichomaris invadens</i>	ズワイガニ**
Deuteromycotina		
Coelomycetes		
	<i>Phoma herbarum</i> <i>P. fimeti</i> <i>P.</i> sp.	ギンザケ・マスノスケ・ニジマス カニ アユ**
Hyphomycetes	<i>Candida sake</i> <i>C. albicans</i> <i>Fusarium solani</i> <i>F. tabacum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. oxysporum</i> <i>F. moniliforme</i> <i>Ochroconis humicola</i>	サケ科魚類** ボラ クルマエビ**・オニテナガエビ・ア メリカロブスター・エビ類・イセエ ビの仲間・クロモンガラ・ウチワシ ユモクザメ ザリガニ コイ マダイ** クルマエビ** ギンザケ・ニジマス・シマアジ**・ マダイ**・カサゴ**

表 1 (つづき)

<i>O. tshawytschae</i>	マスノスケ
<i>O. sp.</i>	ヤマメ**
<i>Exophiala salmonis</i>	カットスロートマス・レイクマス・ 大西洋サケ
<i>E. pisciphila</i>	アメリカナマズ・イヌホシザメ
<i>E. psychrophila</i>	大西洋サケ
<i>Phialophora sp.</i>	大西洋サケ
<i>Aspergillus flavus</i>	テラピア
<i>A. niger</i>	テラピア
<i>Verticillium piscis</i>	キンギョ
<i>V. lecanii</i>	ニジマス
<i>Sarcinomyces crustaceus</i>	クロダイ
<i>Aureobasidium sp.</i>	アカエイ
<i>Penicillium piscium</i>	コイ・マス
<i>Paecilomyces farinosus</i>	大西洋サケ
<i>Volutella salmonis</i>	ニジマス
<i>Scytalidium infestans</i>	シマアジ**

* Hatai (1989)¹⁰⁾および畑井 (1989)¹¹⁾を参照のこと。

** 日本で発生が知られているもの。

表 2 *Saprolegnia parasitica* の各菌要素に対するマラカイトグリーン
の殺菌効果²⁾

マラカイトグリー ンの濃度 (ppm)	若い菌糸 の発育	古い菌糸 の発育	遊走子嚢 の形成	休眠胞子 の発芽	ゲンマの 発芽
0.01	+	+	+	+	+
0.02	-	+	+	+	+
0.03	-	+	+	+	+
0.06	-	±	±	+	+
0.1	-	-	±	±	+
0.2	-	-	-	-	±
0.3	-	-	-	-	±
0.6	-	-	-	-	-

+ : 効果なし, ± : 若干抑制, - : 完全に抑制

2. 病原菌の薬剤感受性

これまでに上述の真菌症または菌類（とくに水カビ病およびその原因菌）に対して多くの抗真菌剤、化学薬品、殺菌消毒剤、色素剤などが検討されているので、それらのいくつかを紹介する。

養殖クルマエビのフサリウム症原因菌、*Fusarium solani* に対する有効薬剤の検討が実施されているが⁸⁾、*in vitro* では Tri-butyltin acetate など数種類の薬剤が有効と判定されたが、それらのいずれもがアルテミアに対する毒性が強く、罹病クルマエビには使用できないと判断された。現

在、本症に対する対策はまずクルマエビを池から取り上げ、塩素剤(有効塩素濃度として6.2 ppm)で飼育環境中の菌要素(特に分生子)を殺滅させる方法が推奨されている⁴⁾。

水カビ病の治療薬に関する検討も古くから実施されている。新崎ら²⁾は種々の薬剤について検討した結果、マラカイトグリーンが最も効果的であったとしている。そして、ミズカビの各菌要素について、その殺菌性を検討し(表 2)、休眠胞子の発芽を抑制するためには 0.2 ppm の濃度が必要であるとした。

水カビ病における感染源は遊走子または休眠胞

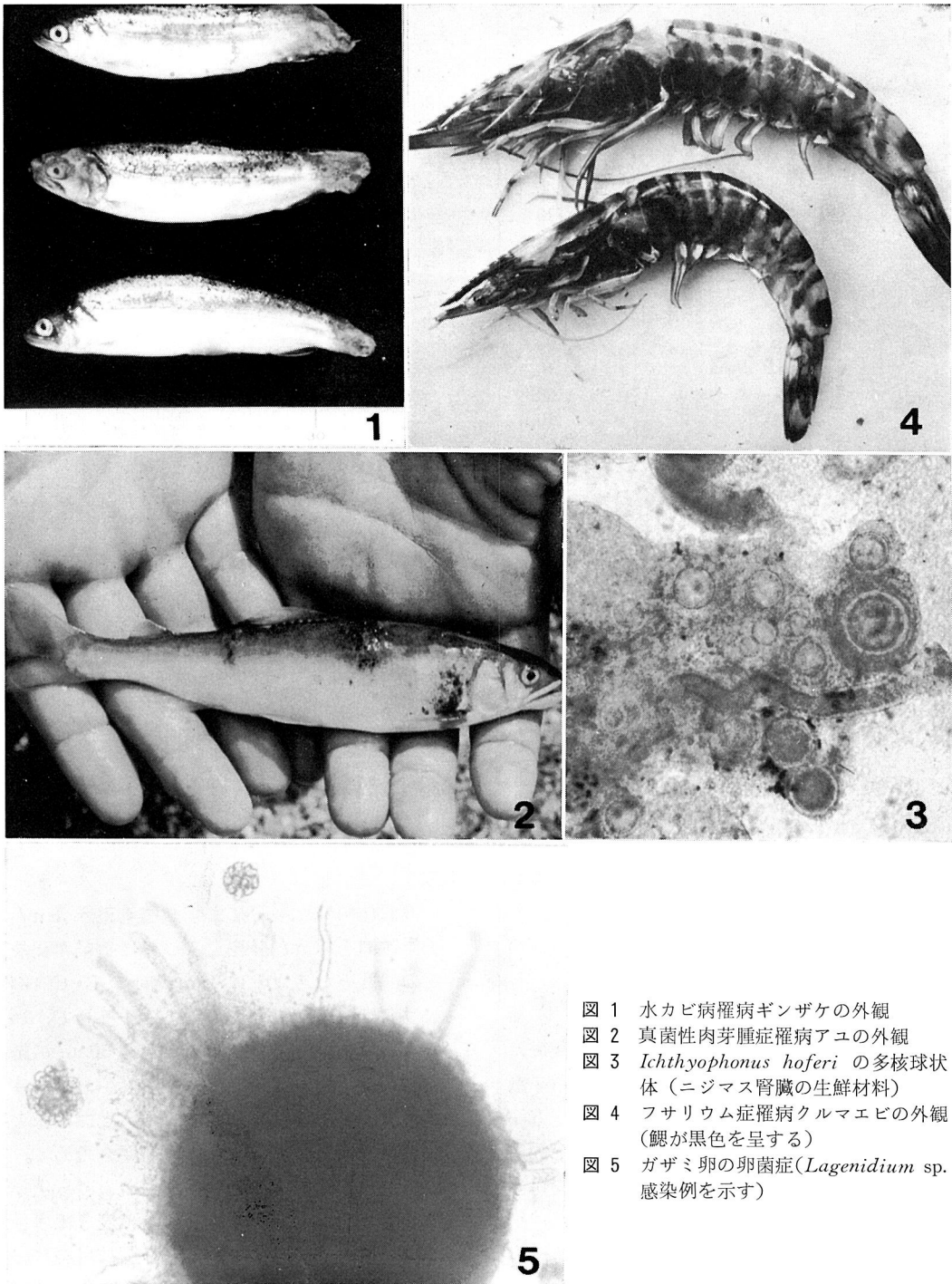


図 1 水カビ病罹病ギンザケの外観
図 2 真菌性肉芽腫症罹病アユの外観
図 3 *Ichthyophonus hoferi* の多核球状体 (ニジマス腎臓の生鮮材料)
図 4 フサリウム症罹病クルマエビの外観 (鰓が黒色を呈する)
図 5 ガザミ卵の卵菌症(*Lagenidium* sp. 感染例を示す)

表 3 養殖ギンザケから分離された *Saprolegnia diclina* の休眠孢子の発芽に対する各種市販殺菌消毒剤の静菌作用

市販の殺菌消毒剤*	商品濃度	供試菌株／培養後の日数					
		H2株**			H3株***		
		3	5	7	3	5	7
1. クレンテ	10 ppm	-	-	-	-	-	-
	1	-	+	+	-	-	-
	0.1	+	+	+	+	+	+
2. アストップ	10	-	-	-	-	-	-
	1	+	+	+	+	+	+
	100	-	-	-	-	-	-
3. クリアキル	10	-	+	+	-	-	-
	1	+	+	+	+	+	+
	100	-	-	-	-	-	-
4. パコマ	10	+	+	+	+	+	+
	100	-	-	-	-	-	-
	10	+	+	+	+	+	+
5. 1-ストロークエンピロン	100	-	-	-	-	-	-
	10	+	+	+	-	+	+
	100	-	-	-	-	-	-
6. ピューラックス	10	+	+	+	+	+	+
	1000	-	-	-	-	-	-
	100	-	+	+	+	+	+
7. クレゾール	1000	-	-	-	-	-	-
	100	-	+	+	+	+	+
	1000	-	-	-	-	-	-
8. コックトーン	100	+	+	+	+	+	+
	1000	-	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-	-
9. ワンショット	1000	-	-	-	-	-	-
	100	-	+	+	-	+	+
	1000	-	-	-	-	-	-
10. オスバン	1000	-	-	-	-	-	-
	100	-	+	+	-	-	-
	10	+	+	+	+	+	+

- : 菌糸の発育なし, + : 菌糸の発育あり。

* すべて市販品 (商品) 名。

** *Saprolegnia diclina* Type 1, *** *Saprolegnia diclina* Type 3

子であるため、ミズカビに対する有効薬剤の開発を実施する際にはそれらを標的にする必要がある。そのための実際的な手技を要約すると以下のようなになる。

遊走子または休眠孢子は、まず GY 液体培地⁶⁾ に供試菌を接種し、15°C で1週間培養後、繁殖した菌糸体を滅菌水道水で洗い、それらを滅菌水道水に収容し、15°C で数日間培養する方法により産生させる。そして遊走子／休眠孢子浮遊液 (孢子浮遊液) は菌糸体を除去することで得られる。

次に、静菌作用は各濃度に調整した薬剤溶液中に孢子浮遊液を接種し、その中に2～3個の麻の実を投入し、一定時間経過後に麻の実上に菌糸の発育が見られるか否かにより判定することが出来

る。

殺菌作用は試験管にまず滅菌水道水 8 ml と孢子浮遊液を 1 ml 分注し、最後に薬剤希釈液を所定の濃度となるように 1 ml 加え、15°C (高温でなければ室温で可) に静置する。そして、10, 30分, 1, 2, 4時間後にその 1 ml を 30 ml の滅菌水道水および2～3個の麻の実が入ったシャーレに接種し、4および7日後に麻の実上に菌糸の発育が見られるか否かにより殺菌濃度を求める。

以上の方法で求めた静菌作用および殺菌作用の1例を表3および表4に示した。表3は各種市販の消毒剤のミズカビに対する静菌作用を試験した結果である。H2株は病原株で、H3株は腐生株であるが、消毒剤の種類によってはH2株の方が若干耐性を示している点興味深い。

表 4 ミズカビ (*Saprolegnia*) に対するマラカイトグリーンの殺菌作用⁶⁾

供 試 菌	判定	時間*	マラカイトグリーン濃度(ppm)			
			1.25	0.625	0.3125	
<i>Saprolegnia parasitica</i> ATCC 2284	4 日	10分	-**	+***	+	
		30	-	-	+	
		1時間	-	-	+	
		2	-	-	+	
		24	-	-	+	
		7 日	10分	-	+	+
	30	-	+	+		
	1時間	-	-	+		
	2	-	-	+		
	24	-	-	+		
	<i>Saprolegnia shikotsuensis</i> SANK 23177	4 日	10分	-	-	+
			30	-	-	+
1時間			-	-	+	
2			-	-	+	
24			-	-	+	
7 日			10分	-	+	+
30		-	+	+		
1時間		-	+	+		
2		-	+	+		
24		-	-	+		

* 休眠孢子が各マラカイトグリーン液に曝された時間

** 休眠孢子死滅

*** 休眠孢子生残

表 4⁶⁾ はマラカイトグリーンの殺菌作用を時間の経過とともに見たものである。

なお、同じ *Saprolegnia diclina* に分類される菌でありながら、H2 株は病原株で、H3 株は腐生株であると類別されている。これは種を分けるほどではない、若干の生物学的特性が異なっていることによる。とくに、病原性の点からみると、病原性を有する H2 株の休眠子表面には H3 株には見られない長い鉤状毛が認められる¹²⁾。すなわち、この鉤状毛は魚類へ感染する際に重要な役割を演じているものと推察される。このことは胞子を薬剤等により死滅させなくとも、胞子は生きさせたまま、鉤状毛に何らかの損傷を与えれば、ミズカビの病原性を低下または失活させることが可能なことを示唆している。今後このような観点から有効薬剤をスクリーニングすることも考える必要があろう。

下等菌類に起因する甲殻類の感染症に対しても種々の薬剤が検討されてきたが、未だに効力のあ

る薬剤は見出だされていない¹⁴⁾。しかしながら、ガザミの卵および幼生に発生するハリフトロス症の予防にはホルマリン浴が有効であることが知られている¹⁸⁾。

以上述べた如く、魚介類の真菌症に有効であると判定された薬剤は、現在のところ水カビ病に対するマラカイトグリーン位なものである¹⁾。しかしながら、この色素剤も発癌性が疑われるとの理由から養殖魚に対する使用が制限されている。

3. 今後の問題点

これまで述べた様に、真菌症は一旦発生すると魚介類に壊滅的被害を与えることが少なくない。これは真菌症に対する有効な治療剤がないためでもある。現在、不完全菌類に起因する疾病の薬剤開発は医薬分野において積極的に実施されており、有効なものが次々に見出だされている。従って、今後は魚介類の不完全菌症に対するそれらの

薬剤の有効性を検討する必要がある。しかしながら、それらの薬剤は鞭毛菌類に分類される下等菌類には無効である。これは不完全菌と鞭毛菌との細胞膜の組成が前者ではキチンからなり、後者ではセルロースであることに原因していると思われる。いっぽう、農作物に頻発する真菌症は鞭毛菌類に起因する疾病も少なくない。従って、それらの有効薬剤は *Saprolegnia diclina* などのミズカビ類に対しても有効である可能性が高い。魚介類の真菌症に対する有効薬剤を検索していく過程で、今後はそれらの薬剤の有効性をも検討していく必要がある。

なお、鞭毛菌類に対する有効薬剤をスクリーニングする場合には、感染源である遊走子または休眠孢子に対する効果を検討しなければならないの言うまでもない。

文 献

- 1) Alderman, D. J. 1985. Malachite green: A review, J. Fish Diseases, 8: 289-298.
- 2) 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, 日本水産学会誌, 23: 593-598.
- 3) 畑井喜司雄, 中島健次, 江草周三. 1974. 養殖クルマエビの鰓黒病起因真菌に対する各種薬物の効果, 魚病研究, 8: 156-160.
- 4) 畑井喜司雄, 江草周三. 1978. 養殖クルマエビの鰓黒病起因真菌に関する研究—II. BG-Fusarium に関する2・3の知見, 魚病研究, 12: 225-231.
- 5) 畑井喜司雄. 1980. 水カビ病について, 魚病研究, 14: 199-206.
- 6) 畑井喜司雄. 1980. 淡水魚の水カビ病の病因真菌に関する研究, 長崎県水産試験場論文集, 8: 1-95.
- 7) 畑井喜司雄. 1981. 淡水魚の水カビ病, 遺伝, 35: 46-53.
- 8) 畑井喜司雄. 1986. 魚の真菌症, マイコトキシン, 24: 5-8.
- 9) Hatai, K. and Lawhavinit, O. 1989. *Lagenidium myophilum* sp. nov., a new parasite on adult northern shrimp (*Pandalus borealis* Kroyer). Trans. mycol. Soc. Japan, 29: 175-184.
- 10) Hatai, K. 1989. Fungal pathogens/parasites of aquatic animals. pp. 240-272. In: Methods for the microbiological examination of fish and shellfish (Austin, B. and Austin, D. A. (eds.) Ellis Horwood Limited, England.
- 11) 畑井喜司雄. 1989. 甲殻魚介類の真菌症, 防菌防黴誌, 17: 507-512.
- 12) Hatai, K., Willoughby, L.G. and Beakes, G.W. 1990. Some characteristics of *Saprolegnia* obtained from fish hatcheries in Japan, Mycol. Res., 94: 182-190.
- 13) 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, 日本水産学会誌, 57: 51-55.
- 14) Lio-Po, G. D., Baticados, M. C. L., Lavilla, C. R. and Sanvictores, M. E. G. 1985. In vitro effects of fungicides on *Haliphthoros philippinensis*, J. Fish Diseases, 8: 359-365.

討 論 (座長: 北尾忠利)

質問 (佐藤静夫, 全農家衛研)

フザリウムの病原性は家畜の場合、毒素によるものであるとされているが、魚の場合には菌糸が(魚の組織に)伸びてゆくことによるものであるとのことで、毒素的なものは関与しないのか。

答 (畑井喜司雄)

(魚のカビによる被害は)毒素的なものは知られておらず、組織破壊的なもので、それに続く滲透圧の破壊が原因のようである。もっと長く体内にいれば毒素も関与するだろうが、比較的短期間に死んでしまうので毒素の影響がでるまでゆかないのであろうと思われる。