

忍野支所の養殖クニマスでみられた黒色真菌症

とりまとめ：平塚 匡

山梨県水産技術センター忍野支所（以下、当支所）で継代飼育するクニマス *Oncorhynchus kawamurae*（水温 8～12.5℃の地下水で飼育）において、体表に潰瘍等の症状がみられる個体が認められた。患部を採取し、顕微鏡にて観察すると隔壁を有する褐色の菌糸がみられ、原因は真菌症に因るものと考えられた。これまでも本症が疑われる個体は稀に確認されていたが、原因菌の特定までには至っていなかった。そこで今回は、本真菌の感染がみられたクニマスから菌を分離培養し、分生子（孢子）の形態観察及び遺伝子解析により菌種の同定を行ったので、その概要を報告する。

結果の概要

罹患魚の症状

罹患魚にみられた主な症状は、体表のびらんや潰瘍（図 1）、腎臓等の白色結節（図 2,3）であった。患部を採取し、検鏡すると隔壁を有する褐色の菌糸が確認された（図 4）。本症状が主因とみられる死亡個体は極めて少なく、症状がみられても行動は活発で、摂餌も良好であるケースがほとんどであった。体表に症状が認められても腎臓等の体内に菌糸がみられない場合も多いことから、主な感染門戸は体表である可能性が疑われた。なお、これまでに本菌の感染が確認されたクニマスの最小サイズは 21.6g であるが、より成長段階が進んだ個体ほど感染している確率が高くなる傾向がみられた。

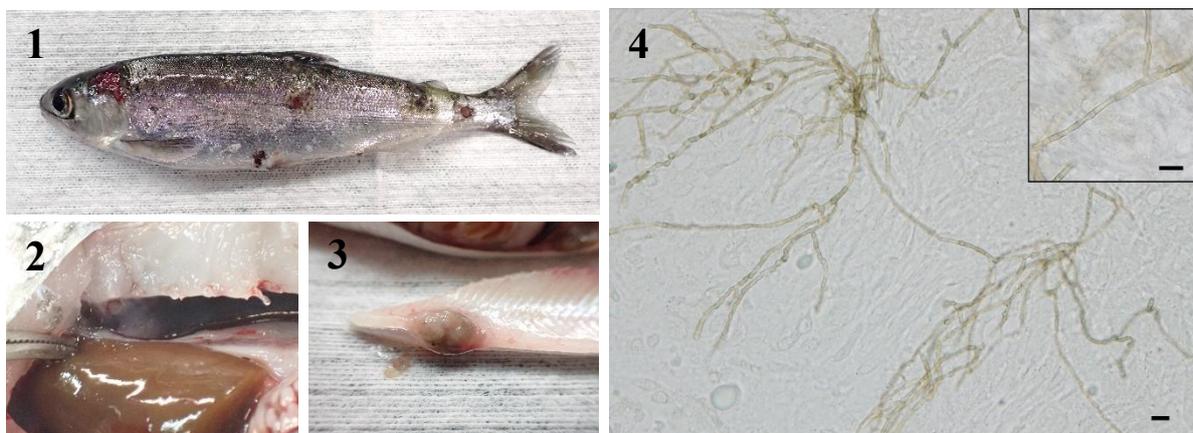


図 1 重度罹患クニマス（体表にびらんや潰瘍）、図 2 腎臓の白色結節、
図 3 胸鰭基部膨隆部の白色結節、図 4 患部でみられた有隔壁の褐色菌糸 Scale bar = 10 μ m

原因菌の分離培養・分生子の形態観察

患部から採取した菌糸を GY 寒天培地あるいは改変サイトファーガ寒天培地に接種し、抗生物質を塗抹後、18℃で培養すると暗褐色～暗灰色のコロニーが形成された（図 5）。接種からコロニーの形成が認められるまでの期間は 1 週間程度を要し、発育速度は極めて遅かった。コロニーから採取した菌糸をマイコパーム・ブルー染色した後に検鏡すると、1 隔壁 2 細胞性（もしくは 0 隔壁 1 細胞性）の分生子が確認され（図 6）、形成様式はアネロ型と考えられた（図 7）。



図 5 分離菌のコロニー

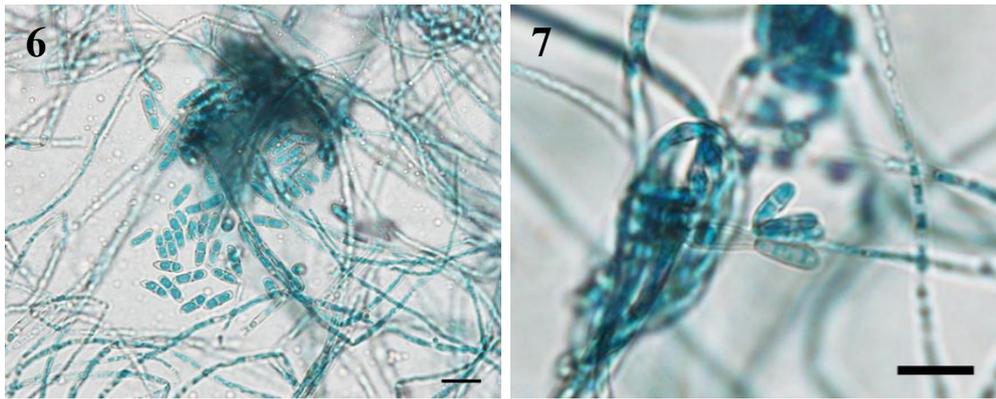


図 6 菌糸に形成された分生子

図 7 アネロ型の形成様式

Scale bar = 10 μ m

遺伝子解析による種の同定

分離培養菌から DNA を抽出し (DNeasy Blood & Tissue Kit, 添付プロトコルどおり), PCR 法により ITS 領域を増幅後 (増幅 primer : ITS1, ITS4), シークエンス解析 (seq primer : ITS2, ITS3, ITS5) を行った。なお, 各種プライマー配列については, 水産研究・教育機構 HP 内の「PCR による診断のためのプライマー情報」にて公開されている情報に従った。得られた塩基配列情報を用いて BLAST による相同性検索を行った結果, 本分離菌は *Exophiala salmonis* と 99.8% の相同性を示した。

Exophiala 属は植物や土壌, 枯れ木等の環境中に広く分布している黒色真菌であり, ヒトでは経皮的に体内へ入り, 上腕などの皮膚露出部に小結節, 膿瘍, 嚢腫を発症させることが知られている。魚類の *Exophiala* 感染症は, 腎臓や体表等に病変を形成することが知られており, *E.salmonis* についてはカットスロートトラウト *O.clarki* やレイクトラウト *Salvelinus namaycush*, タイセイヨウサケ *Salmo salar*^{2,3)}での感染例が報告がされている。

当支所のクニマス飼育魚への感染経路については不明であるが, 本菌が環境中に広く存在している真菌であることから推測すると, 何らかのきっかけで飼育池に侵入した本菌が日和見的に感染した可能性が高いものと思われた。当支所では日頃から場内での防疫対策を徹底しているため, 当初より種苗生産しているニジマス *O.mykiss* やヒメマス *O.nerka* 等の他のサケ科魚類において, これまで同菌の感染は認められていない。一般に黒色真菌症は免疫機能が低下すると発症リスクが高まる感染症として知られていることから, 未だ継代が浅く, 他の飼育魚ほど養殖環境に馴化できていないクニマスにおいては, 慢性的な環境あるいは飼育ストレスが免疫機能等に影響を及ぼし, 本症の発症リスクを高めている可能性が考えられた。

文献

- 1) 青柳敏裕・長谷川祐弥 (2023) : 西湖クニマス展示館と忍野支所クニマス飼育池の水質の比較. 山梨県水産技術センター事業報告書, 50, 56-58.
- 2) Richards, R.H., Holliman, A., Helgason, S. (1978) : *Exophiala salmonis* infection in Atlantic salmon *Salmo salar* L.. *Journal of Fish Diseases*. 1, 357-368
- 3) Otis, E.J., Wolke, R.E., Blazer, V.S. (1985) : Infection of *Exophiala salmonis* in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Wildlife Diseases*. 21, 61-64.