

養殖クルマエビのフサリウム症原因菌に対する 数種類金属の抗菌作用

杉山昭博*, 仲盛 淳

Inhibited Activity of Some Metals against *Fusarium solani*

Akihiro SUGIYAMA* and Jun NAKAMORI

県内養殖場から分離した *Fusarium solani* に対する 16 種類金属の抗菌作用を比較検討した。各種金属含有培地で 24 時間培養後に生菌数を調べて、抗菌活性の有無を判断した。そして Bi、Ag、Sn、Cr、Sb、および Cu で対照区に比べて明らかに菌数の減少が確認できた。また、金属濃度が高いほど生存菌数は少なくなり、Sn と Sb の 100ppm では生菌数はほぼ 0 になった。

養殖クルマエビのフサリウム症は、1960年代のクルマエビ養殖草創期から、鰓黒病として知られた真菌感染症である(桃山・室賀, 2005)。瀬戸内の養殖場での発生事例はあまり多くないが、鹿児島県や沖縄県では毎年発生して、しばしば大きな被害がみられる(Khoa *et al.*, 2005, Khoa・畑井, 2005, Rhoobunjongde *et al.*, 1991)。そこで対策法を検討するため人体用抗真菌剤や、工業用防黴剤などを用いた多くの試験が行われているが、期待される効果は得られていない(畑井ら, 1974)。

これまで、特定の金属には抗菌活性があることが知られており(松本, 1991、大谷, 1997)、フサリウム症原因菌(*Fusarium solani*)に対する抗菌活性を持つ金属の有無について調べた。

材料および方法

F. solani は2011年9月に県内養殖場のフサリウム症斃死エビの鰓から、ポテトデキストロース寒天培地(PDA、2% NaCl、栄研)を用いて分離し、各種金属に対する感受性を調べた。

Ca, Bi, K, Na, Ag, Zn, Li, Mg, Sn, Ni, Fe, Cr, Mn, Co, および Sb の15種類金属標準液(1,000ppm、市販)をそれぞれ1、10、および100ppm濃度に添加したデキストリン水溶液(DGS、0.04%デキストリン、2%グルコース、2%NaCl)を作成した。そして、各金属添加DGSに*F. solani*を $1.7 \sim 3.4 \times 10^4$ CFU接種して30℃、24時間培養した。その後DGS中の生菌数を調べるため、PDAを用いた平板塗抹法で30℃、48時間培養して視認可能になったコロニーを計数した。なお、Cuは標準液(1,000ppm、市販)をDGSに0.05、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3、5、10、20、25、30、40、50、70、90、および120ppmになるように希釈して用い、各濃度の試験数は3～12例である。Cuは他の金属に比べて様々な形状(粒状、板状など)のものを容易に、安価に入手できるため、抗菌活性

が確認できれば、フサリウム症対策の有力な候補となると考えられたので、他の金属は3段階の濃度区で試験したが、Cuは18段階の濃度区で試験した。

*F. solani*の各種金属に対する感受性は、金属添加DGSにおける24時間培養後の生菌数と、対照区として金属無添加DGSの生菌数を、それぞれ対数変換した数値を、Tukeyの方法で多重比較検定した(Cu以外の金属添加区:n=3)。

結果および考察

*F. solani*に対する15種類金属イオンの影響はBi, Ag, Sn, Cr, および Sb で生菌数の減少が見られた(図1)。各金属の1、10、および100ppmの平均生菌数はBiではそれぞれ8,387(3,926～17,916)、634(297～1,353)、および36(3～456)CFUであった。Agではそれぞれ4,900(2,634～9,115)、1,493(423～5,267)、および64(3～1,316)、および対照区はいずれも9,937(5,657～17,456)CFUであった。Bi:100ppmとAg:100ppmは対照区と比較して1%水準で、さらにBi:10ppmは5%水準で有意差が認められる。

Snの平均生菌数は1、10、および100ppmでそれぞれ7,912(4,331～14,457)、1,804(814～3,999)、および1CFUであった。Crの平均生菌数はそれぞれ5,188(2,703～9,956)、1,777(944～3,347)、および507(386～666)、Sbはそれぞれ313(62～1,581)、991(510～1,924)、および1CFUであった。Sn:10と100ppm、およびSb:100ppmは対照区と比較して1%水準で、Cr:100ppmは5%水準で有意差が認められる。

各金属濃度ごとに生菌数を比較すると、Biは1と100ppm、10と100ppmでは1%水準で、1と10ppmでは5%水準で有意差が認められる。Agは1と100ppmでは1%水準で、10と100ppmでは5%水準で有意差が認められる。Snは1、10、および100ppm相互に1%水準で有意差が認められる。Crは1と100ppmでは5%水準で有意差が認められる。Sbは1と

*Email: sugiyama@pref.okinawa.lg.jp

100ppm、10と100ppmでは1%水準で有意差が認められる。

F. solani に対するCu濃度の影響は図2に示すとおりで、濃度が高い培地では生菌数が減少し、1、10、100ppmでそれぞれ約6,890、5,635、および755CFUである。Cu濃度間の有意差検定では25～40ppm以上の濃度区とそれ以下の濃度区間で1～5%水準で有意差が認められる。100ppmの生菌数からCuの抗菌活性はCrと同程度または少し低いように思われる。

Bi, Ag, Sn, Cr, Sb, およびCuに*F. solani* に対する抗菌活性がみられたが、処理時間、濃度、および処理方法など今後さらに検討する必要がある。

今後、さらに他の金属の*F. solani* に対する有効性を調べ、また養殖現場での実用的な方法を検討する必要がある。

文 献

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、15-160。

Khoa, L. V., 畑井喜司雄、湯浅明彦、澤田健蔵、2005：鰓黒を呈するクルマエビから分離された *Fusarium solani* の形態と分子系統。魚病研究 40(3)、103-109。

Khoa, L. V., 畑井喜司雄、2005：日本の養殖クルマエビにおける *Fusarium oxysporum* 感染の初報告。魚病研究 40(4)、195-196。

松本幹治、1991：無機銀を利用した殺菌、「新殺菌工学 実用ハンドブック」(高野光男、横山理雄監修)、サイエンスフォーラム、東京、467。

桃山和夫、室賀清邦、2005：日本の養殖クルマエビにおける病害問題。魚病研究 40(1)、1-14。

大谷朝男編、1997：「多様化する無機抗菌剤と高度利用技術」、アイピーシー、東京。

Rhoobunjongde, W., 畑井喜司雄、和田新平、窪田三郎、1991：鰓黒症状を呈するクルマエビの鰓から分離された *Fusarium moniliforme*。日水誌 57(4)、629-635。

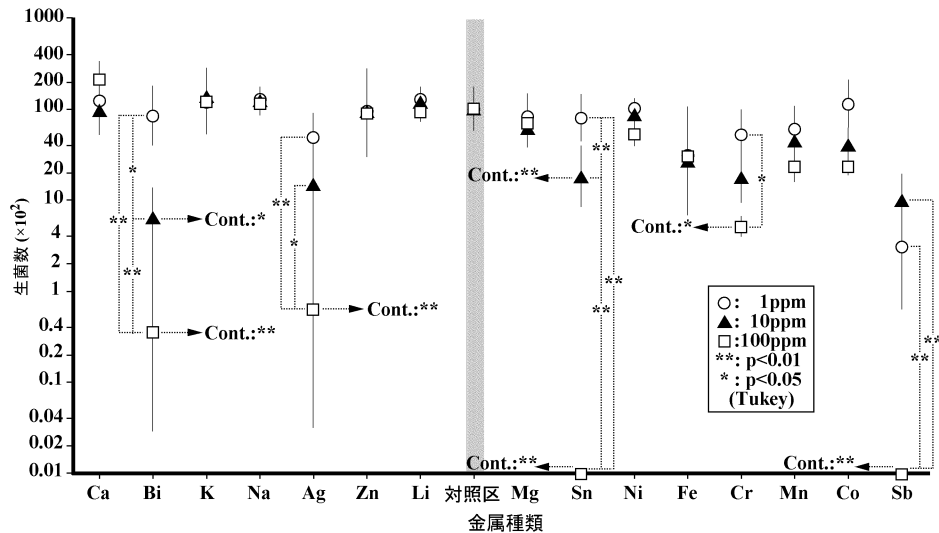


図1 *F. solani* に対する15種類金属イオンの影響

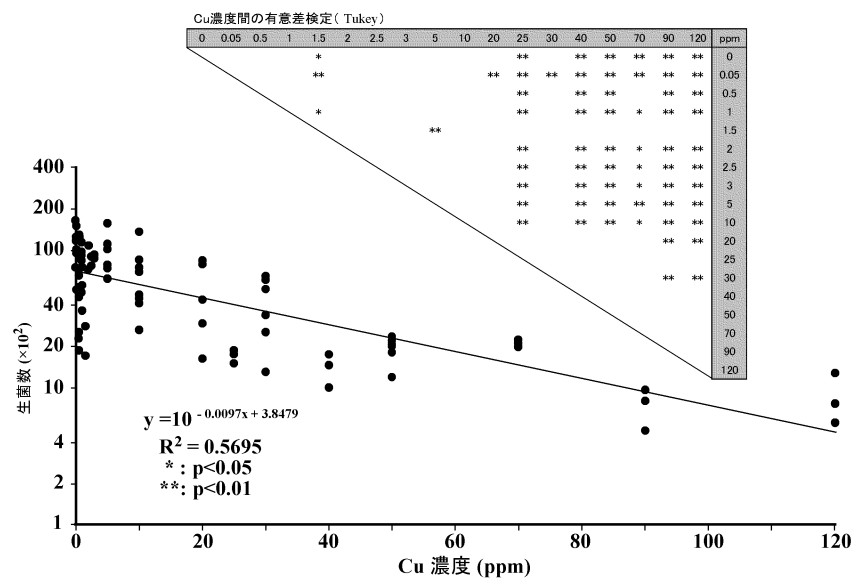


図2 *F. solani* に対する銅イオン濃度の影響