

冷水病及び細菌性出血性腹水病原菌の紫外線に対する感受性

中 居 裕

Susceptibility of *Flavobacterium psychrophilum* 4 Strains and *Pseudomonas plecoglossicida* 1 Strain to Ultraviolet Irradiation

Yutaka NAKAI

アユの冷水病は1987年に発病が確認¹⁾されて以来、現在では全国に蔓延し、アユ養殖業に大きな被害をもたらしている。また、細菌性出血性腹水病（シュードモナス病）は1994年に発病が確認²⁾されて以来、冷水病同様に全国に広がっている。

両魚病の対策に決め手がない現状から、両魚病の防疫対策に関する技術開発研究の一環として、両魚病原菌の紫外線に対する感受性を検討した。なお、本研究は(株)日本水産資源保護協会委託事業「平成12年度魚病対策技術開発研究」の一部として実施した。

方 法

供試菌株：冷水病原菌

- FPC814：1991年、ニジマスより分離
- FPC832：ギンザケより分離
- FPC840：1987年、アユより分離
- OKM9801：1998年、アマゴより分離

細菌性出血性腹水病原菌

- FPC951：1994年、アユより分離

培養方法：

冷水病原菌4株；改変サイトファーガ液体培地

100mLに供試菌株を接種して、15℃、75回転/分の円振盪下で3日間培養した。

細菌性出血性腹水病原菌；BHI液体培地100mLに供試菌株を接種して、25℃、150回転/分の円振盪下で1日間培養した。

菌液調製：

冷水病原菌4株

上記の方法で培養した菌液14mLを3500rpm・15分間遠心沈殿した後、上清を除去して沈殿した菌体を滅菌蒸留水10mLに再浮遊させたもの0.1mLを滅菌蒸留水100mLに接種し、使用菌液とした。

第1表 紫外線照射による供試菌株の生菌数の推移

| 照射時間(秒) | 紫外線照射量($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$) | 冷水病原菌 | | | | 細菌性出血性腹水病原菌 |
|---------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | FPC814 | FPC832 | FPC840 | OKM9801 | FPC951 |
| 0(対照) ¹⁾ | 0.0 | 4.8×10^3 | 1.2×10^4 | 4.9×10^4 | 4.5×10^4 | 4.0×10^4 |
| 1 ²⁾ | 832.5 | $10^3 \leq$ | $10^3 \leq$ | $10^3 \leq$ | 109.5 | $10^3 \leq$ |
| 2 | 1665.0 | 136.5 | $10^3 \leq$ | $10^3 \leq$ | 6.0 | $10^3 \leq$ |
| 3 | 2497.5 | 29.5 | 2.0 | 113.5 | 1.0 | $10^3 \leq$ |
| 4 | 3330.0 | 0.5 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | $10^3 \leq$ |
| 5 | 4162.5 | 0.0 | 0.0 | 14.0 | 0.0 | $10^3 \leq$ |
| 6 | 4995.0 | 0.0 | 0.0 | 4.5 | 0.0 | $10^3 \leq$ |
| 7 | 5827.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 269.5 |
| 8 | 6660.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 115.5 |
| 9 | 7492.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 16.0 |
| 10 | 8325.0 | NT ³⁾ | NT | NT | NT | 0.0 |
| 11 | 9157.5 | NT | NT | NT | NT | 0.0 |
| 12 | 9990.0 | NT | NT | NT | NT | 0.0 |

1): 0秒(対照)の数字は供試菌液の生菌数(CFU/0.1mL)を示した。

2): 数字は使用した2枚の平板に形成されたコロニー数(CFU/0.1mL)の平均を示した。3): 未実施

第2表 冷水病原菌4株及び細菌性出血性腹水病原菌の紫外線感受性

| 供試菌株 | 100%殺菌に必要な紫外線照射量($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$) | 99%以上殺菌に必要な紫外線照射量($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$) |
|-------------|--|---|
| 冷水病原菌 | | |
| FPC814 | 4162.5 | 1665.0 |
| FPC832 | 3330.0 | 2497.5 |
| FPC840 | 5827.5 | 2497.5 |
| OKM9801 | 3330.0 | 832.5 |
| 細菌性出血性腹水病原菌 | | |
| FPC951 | 8325.0 | 5827.5 |

細菌性出血性腹水病原菌

前記の方法で培養した菌液14mLを3500rpm・15分間遠心沈殿した後、上清を除去して、沈殿した菌体を滅菌生理食塩水9mLに再浮遊されたもの0.1mLを滅菌生理食塩水100mLに接種し、使用菌液とした。

紫外線照射方法：

直径9cmのガラスシャーレ2枚に使用菌液0.3mLを接種し、コンラージ棒でシャーレの縁に接触しないように、できるだけ大きく広げた。その後、紫外線（光源：東芝GL15、1本）をシャーレ上部から所定時間（1秒間隔）照射した。その後、シャーレを傾けて、0.1mLずつ菌液を回収して、平板（冷水病原菌4株：改変サイトファーガ寒天培地 細菌性出血性腹水病原菌：BHI寒天培地）に接種後、15℃（細菌性出血性腹水病原菌は20℃）で培養した。

紫外線照射強度：

832.5 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ （測定：紫外線強度計UVR-254形 東京光学機械製）

殺菌に必要な紫外線照射量の算出：

増殖したコロニー数から、100%および99%以上殺菌に必要な紫外線照射量を算出した。

結 果

結果を第1表に、99%及び100%殺菌に必要な紫外線照射量を第2表に示した。

冷水病原菌では、100%殺菌に必要な紫外線照射量は3330 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ (FPC814・OKM9801)～5827.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ (FPC840)、99%以上殺菌に必要な紫外線照射量は832.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ (OKM9801)～2497.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ (FPC840)であった。

細菌性出血性腹水病原菌では、100%殺菌に必要な紫外線照射量は8325 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 、99%以上殺菌に必要な紫外線照射量は5827.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。

考 察

魚病細菌の紫外線感受性についての報告³⁾⁴⁾では、

せつそう病およびピブリオ病原菌の99.9%殺菌に必要な紫外線照射量は3000～4000 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 以下とされている。また、IHNVの99%以上不活化に必要な紫外線照射量は1000～3000 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 以下と報告⁴⁾⁵⁾されている。伝染性造血器壊死症（以下IHN）の防疫については、市販の外照式紫外線殺菌灯を用水殺菌に用いることで、その発病を抑制できるとの報告⁴⁾があり、その装置についての詳細な検証⁵⁾においては、99%以上不活化に必要な紫外線照射量が1000～4000 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 程度の魚病病原体で本装置が有効に作用するとしている。以上のことから、冷水病原菌は最も抵抗性を示した菌株(FPC840)でも2497.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であったことから、現在、IHN予防対策として使用されている紫外線殺菌装置での冷水病の予防は可能と判断された。しかし、細菌性出血性腹水病原菌の99%以上殺菌に必要な紫外線照射量は5827.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であったことから、本装置での殺菌は困難であり、本病を対象とする場合は殺菌灯を1.5～2倍に増灯する必要があるものと考えられた。

その他のアユ魚病細菌の紫外線感受性の検討及び実際の用水の紫外線透過率の測定結果の集積は、紫外線殺菌装置の実際の設置に有益と考えられ、今後検討が必要であろう。

要 約

冷水病原菌4株の紫外線感受性を検討した結果、99%以上殺菌に必要な紫外線照射量は832.5～2497.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。また、細菌性出血性腹水病原菌では5827.5 $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。

今回の研究に際し、貴重なる菌株を分与して下さった若林久嗣東京大学大学院名誉教授及び実験方法をご教授下さった北海道大学大学院吉水守教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 若林久嗣・沢田健蔵, 1992; アユの冷水病について, 平成4年度日本魚病学会春期春季大会講演要旨集, p5.
- 2) 若林久嗣・沢田健蔵・二宮浩司・西森栄太, 1996;

- シュードモナス属細菌によるアユの細菌性出血性腹水病, 魚病研究, 31(4),239-241.
- 3) 木村喬久・吉水守・田島研一・絵面良男, 1980; 養魚用水の紫外線感受性について-Ⅱ 魚病原因ミズカビの紫外線(U. V.)感受性について, 魚病研究, 14(3),133-137.
- 4) 佐古浩・反町稔(1985): サケ科魚類の病原ウイルス, 細菌およびミズカビの紫外線感受性と紫外線オゾン流水殺菌装置による不活化・殺菌効果, 養殖研報, 8,51-58.
- 5) 吉水守・瀧澤宏子・木村喬久, 1986; 魚類病原ウイルスの紫外線感受性・魚病研究, 21(3),47-52.
- 6) 長野県水産試験場, 1984; 冷水性魚類の防疫方法についての研究. 昭和58年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 1-11.
- 7) 富山県水産試験場・長野県水産試験場・岐阜県水産試験場・静岡県水産試験場富士養鱒場, 1992; 消毒技術に関する研究「養殖サケ科魚類の防疫技術に関する研究」, 平成3年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 72pp.