

3 4) 木酢液、竹酢液の冷水病菌に対する抗菌作用

金辻宏明

【目的】 *Flavobacterium psychrophilum* を原因菌とするアユ冷水病は近年、非常に問題となっており、早急に対策を講じる必要がある。しかしながらその対策は設備の必要な加温処理、抗生薬剤の投薬以外は効果が低い。そこで本研究では冷水病菌の水平感染を防ぐ方法を開発する一環として天然成分素材である木酢液、竹酢液の冷水病菌に対する抗菌作用について検討した。

【方法】 供試菌には1999年3月2日に冷水病で死亡したアユの腎臓から分離した*F. psychrophilum* SG990302株を用いた。抗菌試験用の木酢液および竹酢液は市販(同一メーカー)のものを原液として用いた。木酢液および竹酢液の短時間での抗菌試験は次のようにして行った。まず種菌液は50mlの改変サイトファーガ液体培地(MCY)に保存菌を接種し、15°Cで24h振盪培養して作製し、MCYで100倍希釈して用いた。つぎに木酢液および竹酢液をそれぞれ0、0.1、0.01、0.001および0.0002%になるように無菌的に加えた10mlのMCYに種菌液を100 μ l接種して1、5、10、20、30および60min後に混合液100 μ lをサンプリングしてMCY寒天培地上に滴下した。その後15°Cで培養してコロニー形成の有無を観察した。またコロニーの状態はコロニーがシート状(◎)、10個以上のコロニーを形成(○)、1~10個のコロニーを形成(Δ)およびコロニー形成なし(-)の4段階で評価した。次に木酢液および竹酢液の長時間での抗菌作用を次のようにして調べた。すなわち、試験用培地を50mlのMCYを入れた100mlの三角フラスコに木酢液および竹酢液をそれぞれ0、0.1、0.01、0.001および0.0002%になるように無菌的に加えて作製し、種菌液100 μ l加えて15°Cで5dayの間振盪培養して菌数の変化を1日1回測定した。

【結果】 木酢液および竹酢液の冷水病菌に対する短時間での抗菌作用について調べた結果を表1に示した。その結果、木酢液では20min後から0.1%で静菌効果が認められ、時間の経過に伴って検出菌数も低下したが、完全なコロニー形成の消失は認められなかった。竹酢液では短時間的な静菌、抗菌作用は認められなかった。次に、長時間培養条件下での木酢液、竹酢液の抗菌作用を調べた結果を図1に示した。木酢液添加区は24h後では各濃度でピークを示しているコントロールの 1×10^9 CFU/mlより低い値を示した。しかし48h後にはすべての木酢液添加区でコントロールを上回った。3day後には菌数は非常に低位となり、5day目にはコントロールを含めて検出限界以下となった。ゆえに今回用いた木酢液の有効静菌濃度は0.1%程度と判断された。竹酢液添加区では24h後ではコントロールだけで菌数が増加し、竹酢液添加区では菌数の増加は認められなかった。48h後では各濃度の添加区でやや菌数は増加したものの、4day後には菌数は非常に低位となり、5day目にはコントロールを含めて検出限界以下となった。この結果から今回用いた竹酢液の有効静菌濃度は0.001~0.02%程度と判断された。以上の結果から冷水病菌に対する抑制効果は短時間的には木酢液の方が、長時間的には竹酢液の方が静菌能が高いと推察された。また長時間での冷水病菌数の消長から竹酢液の方がより効果が高いと推察された。しかし両液とも有効静菌濃度でアユに対して慢性毒性を示す傾向にあった(データ示さず)ため、抗菌成分を特定する必要があると考えられた。

表1 木酢液および竹酢液の冷水病菌に対する抗菌作用

	木酢液				竹酢液			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%
1min	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
5min	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
10min	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
20min	○	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
30min	△	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
60min	△	◎	◎	◎	○	◎	◎	◎

◎:コロニーがシート状(20個以上のコロニー), ○:10個以上のコロニー, △:1~10個のコロニー, -:コロニーなし.

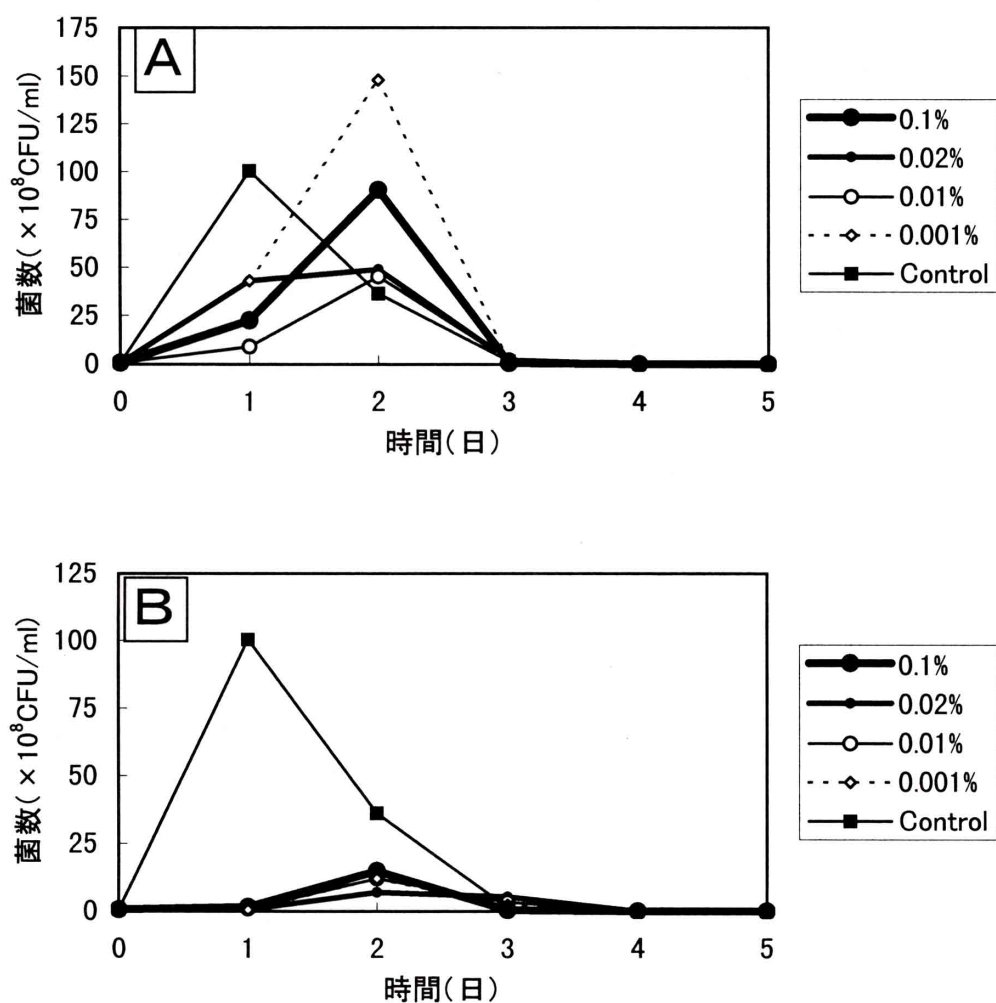


図1. 木酢液(A)および竹酢液(B)を含む培地中での冷水病菌の消長.