

1 1) アユ冷水病原菌の各温度・塩分・pHにおける生存性

山本充孝・二宮浩司

【目的】

アユ冷水病原菌の生化学的性状を把握するとともに、その結果から本疾病が発病しにくい飼育環境を探るために本試験を行った。

【方法】

供試菌：*Flavobacterium psychrophilum* SG990302 株

菌液の調製：100ml 三角フラスコを用い、50ml の改変 *Cytophaga* ブロスに *F. psychrophilum* を 10^5 CFU/ml になるように接種し、菌数の変化を観察した。

生菌数の測定：一定時間ごとに、各試料より 0.1ml を採取後希釈し、20 μ l を改変 *Cytophaga* 寒天培地に 3 回滴下して 15°C で培養して生菌数を数えた（ミスラ法）。

なお、生菌数測定の際の希釈は飼育水で行う場合には菌数が減少することがあるため、改変 *Cytophaga* ブロスで行った。

(1) 温度における生存性 菌を接種後、温度を 5、10、15、20、25、30、35 および 40°C に設定して菌数の変化を 10 日間観察した。

(2) 塩分における生存性 NaCl 濃度を 0、0.1、0.3、0.5、1、2、3 および 5% に設定した改変 *Cytophaga* ブロスに菌を接種し、15°C で菌数の変化を 7 日間観察した。

(3) pH における生存性 pH を塩酸または水酸化ナトリウムによって 4.04、5.07、6.23、7.23、7.99、8.89、9.62 および 10.30 に調整した改変 *Cytophaga* ブロスに菌を接種し、15°C で菌数の変化を 5 日間観察した。

【結果】

(1) 温度における生存性 40、35 および 30°C では増殖せず、それぞれ 2h、6h、24h 後には検出限界 (5.0×10^1 CFU/ml) 以下となった。また、25°C では一旦は生菌数が減少したが、3 日後からは増殖した。増殖速度は 20°C で最も速かった。このことから、25°C で増殖に影響が現れ、30°C 以上では 1 日以内に検出されなくなることが分かった。

(2) 塩分における生存性 5、3 および 2% では増殖せず、それぞれ 6 時間、1 日、7 日後に検出限界以下となった。また、1% では、4 日目までは菌数は増加せず、静菌的であったがその後は増殖した。0.5 および 0.3% では 0% と比較して若干増殖の抑制が認められた。0% と 0.1% の間では増殖速度に差はみられなかった。このことから、1% で増殖に影響が現れ、2% 以上では増殖しないことが分かった。

(3) pH における生存性 pH4.04 および 5.07 では増殖せず、それぞれ 2h、6h 後には検出限界以下となった。また、pH10.30 では増殖がみられず静菌的であった。pH 7.23～8.89 の範囲では増殖速度に差はみられなかった。なお、pH の試験では緩衝液を用いなかったため菌に増殖がみられた試料では pH が中性側に変化しており、再度試験を行う必要がある。

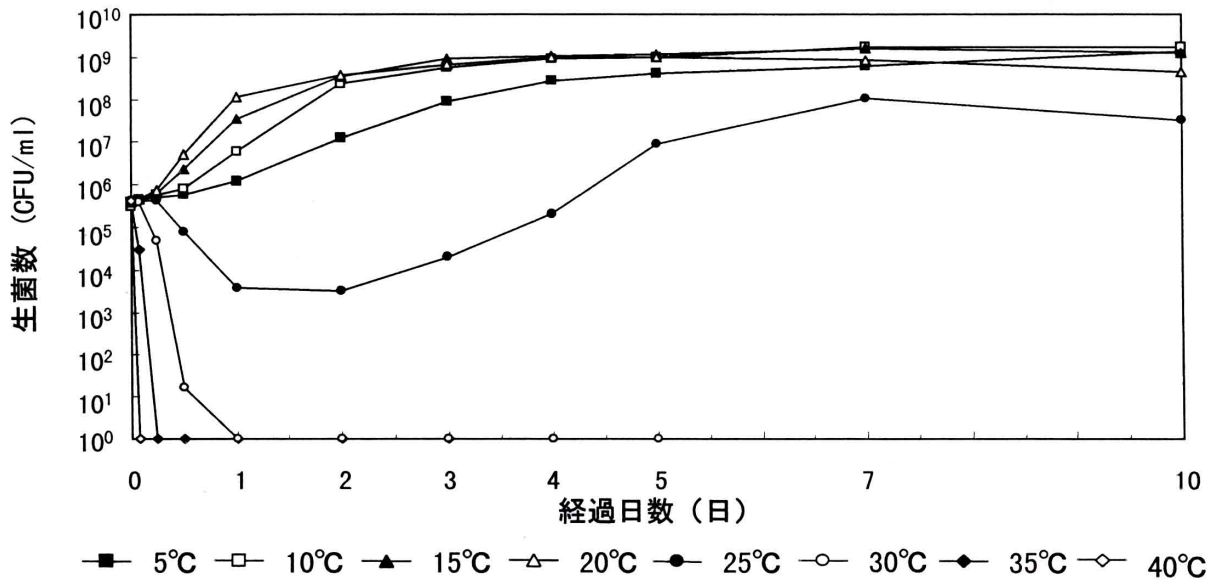


図1. *Flavobacterium psychrophilum*の培養温度による生菌数の変化

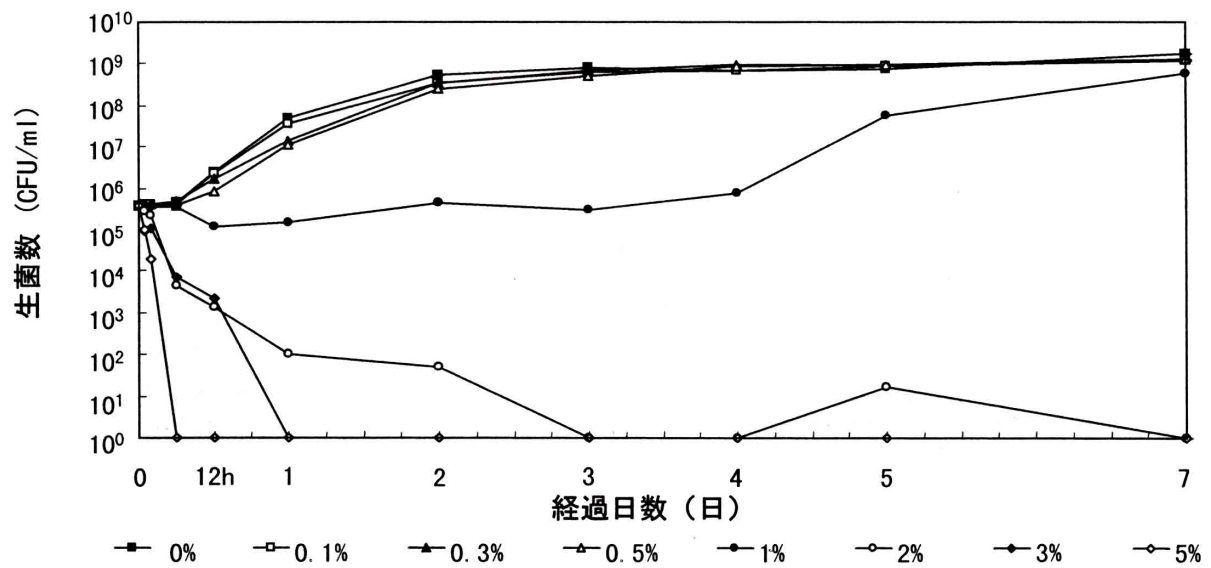


図2. *Flavobacterium psychrophilum*のNaCl濃度による生菌数の変化

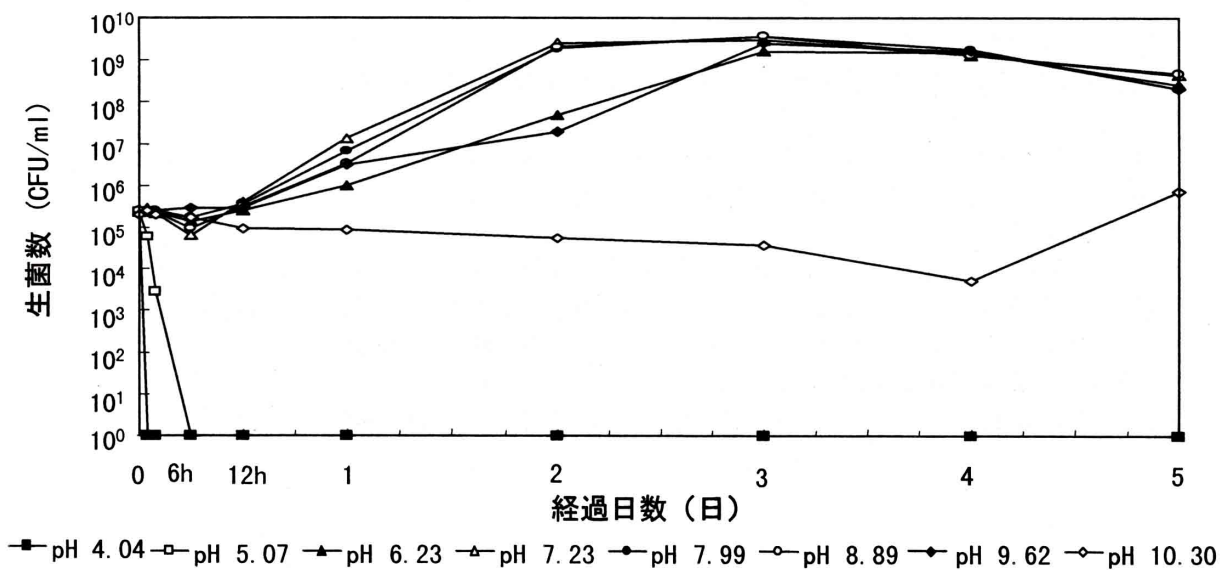


図3. *Flavobacterium psychrophilum*のpHによる生菌数の変化