

エドワジェラ・イクタルリのBHI培地での長期培養

金辻 宏明・岡村 貴司・山本 充孝

1. 目的

アユのエドワジェラ・イクタルリ感染症は滋賀県では平成20年に初確認されて以降、天然水域で毎年、高水温期にアユに保菌を確認している。しかし、低水温期のアユからは本菌は検出されていない。これを受けて、本菌の天然水域での生残特性が検討され、地下水中では25℃以下では高効率に長期に生残することが確認されている。しかし、死亡魚や栄養成分が豊富な場所などを想定した培地中での培養特性に関する知見は少ない。

そこで、本研究では液体培地による長期培養試験および本菌検出のための至適培地について検討したので報告する。

2. 方法

供試菌には平成20年に本県河川で死亡したアユから分離されたエドワジェラ・イクタルリ冷凍保存菌株(SG080912A)を用いた。長期培養試験にはBHI(ブレインハートインフュージョン)液体培地を採用し、100mL三角フラスコに50mLを加えたものを用いた。培養試験は、本菌を 10^7 CFU/mLになるようにBHI培地に接種して、25℃で静置培養して実施した。生菌数は培養液から経時的に50 μ Lを採取し、0.85%NaCl水溶液で10倍段階希釈系列を作製し、HI寒天培地を用いてミスラ法により計数した。また、上記のBHIで培養した菌液を139および180日後に採取して、HI、標準、BHI、TS(トリプトソイ)およびSS寒天培地を用い、ミスラ法で検出される生菌数の差を調べた。

3. 結果

BHI液体培地で長期培養した培養曲線を図1に示す。その結果、231日後の試験終了までHI寒天培地で生菌が高位に検出された。また、長期培養した菌液を5種類の平板培地を用い

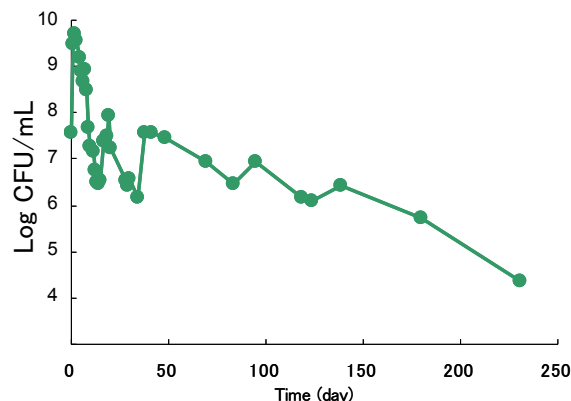


図1. BHI液体培地における25℃、静置条件下でのエドワジェラ・イクタルリの長期培養結果。

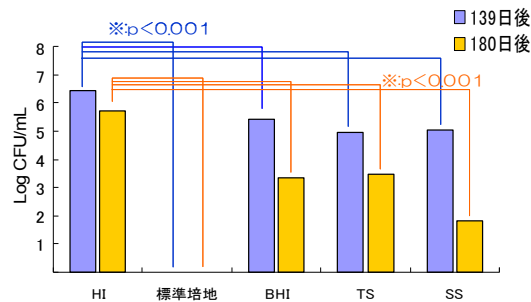


図2. BHI液体培地で長期培養したエドワジェラ・イクタルリのミスラ法による各種平板培地での検出結果。

※検出は培養139および180日後に行った。

てミスラ法で検出した結果を図2に示す。その結果、HI寒天培地はその他の4種類の培地と比較して有意($p < 0.001$: Steel's test)に高く検出された(図2)。

本菌をBHIで培養すると24~48時間は対数増殖して生菌数は最大となり、その後から180日までは静止期を、その後は死滅期を示したと考えられる。しかし、死滅期でも試験終了の231日まで高位に生残を示したため、栄養成分が豊富な下での本菌の生残能は高いと考えられた。また本菌を長期培養して生存・増殖能が弱くなった状態で高感度に検出する培地にはHI寒天培地が至適であることが明らかとなった。