

ワムシ培養用パン酵母からの検出細菌と
稚マダイに対する起病性

安永統男・山元宣征

Occurrence of Bacteria Pathogenic for Larval Red Sea
Bream in Packaged Baking Yeast for Rotifer Culture

Norio YASUNAGA and Nobuyuki YAMAMOTO

クロレラ *Chlorella* sp. に代る餌料として、酵母によるシオミズツボワムシ *Branchionus plicatilis* (以下ワムシと略称) の培養が試みられているが、酵母で飼育したワムシを仔魚に与えた場合、活力を弱め死亡率が高くなるといわれており、その原因について、栄養学的見地からの解明ないしは細菌学的な面からの追究が行われている。細菌学的研究の主流は酵母の飼育水汚染に伴う海水細菌の増殖・感染に関連したもので、酵母と共存する細菌の影響についての検討はほとんどみられない。そこで、予備的に数種の包装パン酵母を対象にブレインハートインフュージョン寒天培地を用いて夾雑菌数を調べたところ、パン酵母数の約3割に相当するか、またはそれに匹敵する細菌数が計測されたことから、ここでは、これらの細菌中に魚体に対し有害な菌株の存在する可能性を予測し、若干の検討を行った。

実験は1976年7月に実施した。供試酵母は当研究所でワムシ培養に使用中の2社の包装パン酵母(低温保蔵)で、2ないし3パックの内部から1または3白金耳量を無菌的に滅菌海水10ml(2ないし3本の中試験管)に混入懸濁させた。15分または7日間室温に放置した後、普通寒天またはブレインハートインフュージョン寒天培地上に塗抹し32°Cで1夜培養を行った。各平板培地上の発育集落は、簡単な形状類別と顕微鏡所見から、球菌と小桿菌より成ることが推定されたが、本実験では後者のみを釣菌(3株)し、健康マダイ稚魚に対する起病性を調べた結果、表1のとおり、いずれも毒性を示し、強い致死作用が認められた。1株は潰瘍病を、他の2株は重貧血症を誘発した。

これらの菌株の生物学的性状を表2に、各実験的病魚由来株のそれと対比して掲げた。潰瘍形成菌株はグラム染色陰性の周毛を持つ運動性短桿菌で、チトクローム・オキシダーゼ反応陰性、ブドウ糖を発酵しガスを産生することなどから *Enterobacteriaceae*¹⁾ の範疇に這入り、再分離菌株も同一性状を示した。しかし、どの簇¹⁾に入るかについてはもっと詳細に性状を調べる必要がある。この科には既知の魚病菌として *Edwardsiella tarda*²⁾ があるが、本実験における分離菌

表1 分離菌株の稚マダイに対する病原性

供試菌株	供 試 魚 No.																				症状の種類
	1 11	2 12	3 13	4 14	5 15	6 16	7 17	8 18	9 19	10 20	1 11	2 12	3 13	4 14	5 15	6 16	7 17	8 18	9 19	10 20	
KA-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	接種部の びらん、潰瘍
KY-1	●	●	●	●	●	●	●	○	○	○	+	+	+	±	±	±	±	-	-	-	鰓、肝・心臓 における 強度の退色
KY-2	●	●	●	●	●	●	●	○	○	○	+	+	+	+	±	±	±	±	-	-	
対 照	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

供 試 魚：人工ふ化魚（1～3g）

菌 接 種：普通寒天またはブレインハートインフュージョン寒天培養（32℃，1夜），1白金耳量を生理的食塩水5mlに浮遊，0.05mlを体側筋肉内に注射（対照は同食塩水，同量注射）

飼 育 条 件：水温25～29℃（正午），30ℓ容パンライト円形水槽（底面砂濾過循環），投餌（冷凍アカエビの細切肉，チグリオプス）

観 察 期 間：KA-1（7日），KY-1（11日），KY-2（14日），対照（14日）

○生，●死，-病変なし，+病変あり，±病変不明

表2 分離菌株の生物学的性状

性 状	KA-1	KA-1-1*	KY-1	KY-2	KY-1-1*	KY-2-1*	KY-2-2*
形 態	短桿菌	短桿菌	短桿菌～球桿菌	短桿菌	短桿菌	短桿菌	短桿菌
グ ラ ム 染 色	-	-	-	-	-	-	-
ベ ん 毛	周毛	周毛					
芽 胞	-	-	-	-	-	-	-
抗 酸 性	-	-	-	-	-	-	-
運 動 性	+	+	-	-	+	+	+
チトクローム・オキシダーゼ	-	-	+	+	+	+	+
カ タ ラ ー ゼ	+	+	+	+	W	W	W
インドール産生	-	-	-	-	-	-	-
硫化水素産生	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸塩（Simmons）	+	+					
硝 酸 塩 還 元	-	-					
ブドウ糖の利用	発酵	発酵	非分解	非分解	発酵	発酵	発酵
ブドウ糖からのガス産生	+	+	-	-	-	-	-
アルギニン・ジヒドロラーゼ					+	+	+
リジン・デカルボキシラーゼ					+	+	+
オルニチン・デカルボキシラーゼ					-	-	-
BTBティポール寒天上の発育	+	+	+	+			
デオキシコラーイト寒天上の発育	+	+					
好 塩 性	-	-	-	-	+	+	+
好 気 性	通性	通性	偏性	偏性	通性	通性	通性
ペニシリン（20u）感受性			-	-			

Wは弱反応を示す

*再分離株

とは、検査範囲内の性状だけを比較しても明らかに相違し、試みに分離菌について行ったウナギへの接種試験でも発病させ得なかった。重貧血発現菌の方は2株とも、グラム染色陰性の絶対好気性短桿菌～球桿菌で、運動性はなく、チトクローム・オキシダーゼおよびカタラーゼ反応陽性、ブドウ糖非分解などの性状を示した。ペニシリンに対する態度³⁾に相違がみられることから、*Moraxella* 属^{3,4)}とするには多少疑義があるが、これに極めて近い菌属の細菌とみなされる。しかし、実験的病魚からの分離株はいずれも *Vibrio* 属⁵⁾に似た性状を示したことから、元株の病原性についてはなお検討の余地がある。同時に、これらのビブリオ類似菌が単なる二次的侵入菌なのかどうか、病原菌としての役割と共に、元株との遺伝的關係も問題点として残る。

今回は球菌類の病原性は明らかにし得なかったが、マダイ稚魚に対し強い毒性を示す桿菌類のかなり高い検出率からは、球菌類の存在も無視できない。いずれにしても、これらの菌がワムシの飼育水を汚染し、一部はワムシの体内に取込まれ、養魚用水またはワムシ自体を介して仔魚に感染、斃死の一因となる可能性が示唆された。今後は、分離菌の病原性を確認するための注射以外の感染方法の検討もさることながら、現実に斃死魚からパン酵母由来菌と同類の菌が検出されるかどうかの実証的検討が必要であろう。

文 献

- 1) 坂崎利一, 1972: 腸内細菌学講座, 理論篇2. *Media Circle*, 17(4), 153-157.
- 2) 同 上, 1976: 腸内細菌学講座, 理論篇43. 同誌, 21(5), 138-142.
- 3) 同 上, 1967: 医学で扱われるブドウ糖非発酵のグラム陰性かん菌, その細菌学と同定方法. *Modern Media*, 13(6), 184-191.
- 4) S. T. COWAN, 1975: Cowan and Steel 医学細菌同定の手びき, 第2版, 坂崎利一訳, 近代出版, 東京, 335 pp.
- 5) R. E. BUCHANAN and N. E. GIBBONS, 1974: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., Williams and Wilkins, Baltimore, 1246 pp.