

## 低塩分海水および淡水によるワムシの細菌数の減少効果

|       |                                                                                                     |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: Japanese                                                                                        |
|       | 出版者:                                                                                                |
|       | 公開日: 2025-06-25                                                                                     |
|       | キーワード (Ja):                                                                                         |
|       | キーワード (En):                                                                                         |
|       | 作成者: 小磯, 雅彦                                                                                         |
|       | メールアドレス:                                                                                            |
| URL   | 所属:                                                                                                 |
|       | <a href="https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014697">https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014697</a> |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



## 低塩分海水および淡水によるワムシの細菌数の減少効果

小磯雅彦

(能登島栽培漁業センター)

海産ワムシ類（以下、ワムシ）は $10^6 \sim 10^8 \text{CFU/g}^{1-4)}$ の細菌を保有し、また、*Vibrio* 属細菌を短時間で体内に濃縮することが報告されている<sup>5)</sup>。そのため、ワムシは *Vibrio ichthyenteri* によるヒラメの細菌性腸管白濁症<sup>6,7)</sup>、*V. alginolyticus* 等によるタイ類の腹部膨満症<sup>8-10)</sup> および *V. anguillarum* によるアユのビブリオ病<sup>11,12)</sup> 等の感染源として疑われている。これらの疾病を防除するためには、仔稚魚の飼育環境への病原性細菌の侵入を防止することが重要である。その対策として、種苗生産現場では、ワムシの細菌数を減少させるために、ニフルスチレン酸ナトリウム薬浴(以下、NFS 薬浴)<sup>13-16)</sup> や冷凍保存処理<sup>13-14)</sup> が試みられた。

ワムシの NFS 薬浴では、 $5 \text{mg/l}$  の濃度で 3～5 時間薬浴することで、 $10^6 \sim 10^7 \text{CFU/g}$  の *Vibrio* 属細菌が $10^4 \sim 10^5 \text{CFU/g}$  に減少することが認められているが<sup>16)</sup>、使用頻度が高いと耐性菌が出現する可能性があることが問題点として指摘されている。また、2003年に薬事法が一部改正されたため、今後、NFS が使用できなくなると考えられる。冷凍保存処理では、ワムシを $-15^\circ\text{C}$  で50日以上冷凍すると NFS 薬浴と同様に、細菌数を減少させる効果が報告されているが、冷凍ワムシを開口直後のアユ仔魚に投与した場合、その生残率が低いことが報告されている<sup>13,14)</sup>。このため、ワムシの細菌数を減少させる新たな方法を早急に開発する必要がある。

そこで本研究では、一般的に海水で生息している生物は淡水では死亡または衰弱するが、ワムシは比較的低塩分に強いことに着目し、低塩分海水ならびに淡水にワムシを浸漬することによる、細菌数の減少効果について検討した。

### 材 料 と 方 法

**供試ワムシ** 実験には、植え継ぎ式で培養した増殖期(培養5日目)の L 型ワムシ *Brachionus plicatilis* (近大株、携卵個体の背甲長： $271 \pm 14 \mu\text{m}$ ) を使用した。実験用ワムシの培養には、三角フラスコ (3 ℓ 容) 3 個を用い、それぞれに滅菌処理した塩分34psu 海水(以下、海水)を 3 ℓ 入れ、ワムシを約50個/ℓの密度で収容した。培養水温は恒温器内で $25^\circ\text{C}$  に設定した。餌料には、濃縮淡水クロレラ(クロレラ工業、細胞密度約 $1.5 \times 10^{10}$ 細胞/ℓ)を使用し、毎日2～3ℓを培養

水に添加した。通気は、エアーストン1個(MA-30)を用いて微通気で行った。

**低塩分海水ならびに淡水に対するワムシの耐性** 実験開始前に、培養したワムシを水温 $25^\circ\text{C}$ の海水を3ℓ入れた三角フラスコに移し入れ、通気下で5時間放置して飢餓状態とした。その後、淡水(0 psu)と塩分7, 14, 34psuの浸漬水を5ℓずつ入れた6穴用マイクロプレートの1穴に飢餓ワムシを約100個体ずつ収容した。浸漬時間は1, 2, 5および10分間とし、各塩分条件に浸漬したワムシを計画時間ごとに回収し、それぞれクロレラを500万細胞/ℓの密度で添加した海水を5ℓずつ入れたマイクロプレートの1穴に移送した。収容後0.5, 1, 2および3時間ごとに各試験区のワムシを生物顕微鏡で観察し、消化管内に緑色部分がある個体を摂餌個体として計数した。各区の供試個体数に対する摂餌個体数から摂餌個体率(%)を求め、その値をワムシの耐性の指標とした

**塩分7 psu 海水および淡水によるワムシの細菌数減少効果** 低塩分海水ならびに淡水へのワムシの耐性調査結果から、塩分7 psu 海水と淡水に浸漬したワムシの細菌数を調査した。この試験では、植え継ぎ式で培養したワムシを100個体/ℓの密度で、水温 $25^\circ\text{C}$ の塩分7 psu 海水と淡水を3ℓ入れた三角フラスコ(3ℓ容)に移し、通気下で放置した。収容前および収容後1, 5, 10分ごとにワムシを採取し、水分を取り除いて0.1g(湿重量)を秤量して0.9ℓの滅菌海水を加え、ガラスホモジナイザーを用いてよく磨碎して原液とした。細菌数の計数は、原液を滅菌海水で10倍ごとに希釈した後、適当な希釈段階のものを ZoBell 寒天培地と TCBS 寒天培地に塗布し、 $25^\circ\text{C}$  で48時間培養して発育したコロニーを計数した。なお、ZoBell 培地から得られた CFU (Colony Forming Unit) 値を一般細菌数、TCBS 培地から得られた CFU 値を TCBS 細菌数とした。

### 結 果

**低塩分海水ならびに淡水に対するワムシの耐性** 各塩分海水および淡水に浸漬したワムシの摂餌個体率を表1に示した。塩分34psu 海水への浸漬では3時間後まで摂餌摂餌率は80～100%であったが、塩分濃度が低く浸漬時間が長いほど摂餌率が低下する傾向が認

表1 低塩分海水ならびに淡水に対するL型ワムシ近大株の耐性

| 塩分<br>(psu) | 浸漬時間<br>(分) | 摂餌個体率 (%) * |       |       |       |
|-------------|-------------|-------------|-------|-------|-------|
|             |             | 0.5時間       | 1時間   | 2時間   | 3時間   |
| 34          | 1           | 100.0       | 90.9  | 100.0 | 80.0  |
|             | 2           | 94.1        | 92.0  | 88.9  | 96.2  |
|             | 5           | 97.0        | 100.0 | 88.9  | 89.5  |
|             | 10          | 90.9        | 100.0 | 94.4  | 100.0 |
| 14          | 1           | 92.9        | 96.4  | 80.0  | 94.4  |
|             | 2           | 92.9        | 95.0  | 100.0 | 88.9  |
|             | 5           | 96.8        | 100.0 | 95.2  | 100.0 |
|             | 10          | 90.0        | 95.0  | 80.0  | 94.7  |
| 7           | 1           | 95.0        | 84.2  | 87.5  | 95.6  |
|             | 2           | 81.5        | 84.6  | 83.8  | 80.9  |
|             | 5           | 82.6        | 88.6  | 89.7  | 86.0  |
|             | 10          | 13.5        | 62.5  | 77.5  | 81.8  |
| 0           | 1           | 73.7        | 80.0  | 88.6  | 84.6  |
|             | 2           | 64.3        | 76.5  | 85.7  | 95.3  |
|             | 5           | 3.7         | 18.9  | 80.6  | 89.2  |
|             | 10          | 0.0         | 0.0   | 29.0  | 68.8  |

\*：摂餌個体率は、各塩分海水に浸漬後、クロレラを添加した塩分34psu 海水に移送してワムシの消化管内に緑色部分がある個体を摂餌個体として、その割合を求めた。

められた。生残率80%以上を示した浸漬時間は、塩分14psu 海水では1～10分、塩分7psu 海水では1～5分であった。また、塩分7psu 海水へ10分間、淡水へ5分間、または10分間浸漬したワムシの0.5時間後の摂餌個体率は、それぞれ13.5%、3.7%、0%と大幅に低下したが、3時間後には81.8%、89.2%、68.8%に回復した。淡水では、1分および2分間浸漬したワムシの0.5時間後の摂餌率はそれぞれ73.7%と64.3%であり、塩分7psu 以上の試験区に比べ低かったが、2時間後にはともに80%以上となった。

**塩分7psu 海水および淡水によるワムシの細菌数減少効果** 塩分7psu 海水および淡水に浸漬したワムシの細菌数を図1と図2にそれぞれ示した。塩分7psu 海水への浸漬では、浸漬前の一般細菌数 $6.7 \times 10^7$ CFU/g、TCBS 細菌数 $3.1 \times 10^7$ CFU/g が、1～10分間の浸漬ではそれぞれ $5.4 \sim 7.9 \times 10^7$ CFU/g と $1.7 \sim 2.4 \times 10^7$ CFU/g となり大きな減少は認められなかった。一方、淡水への1～10分間の浸漬で一般細菌数は $3.4 \sim 5.5 \times 10^7$ CFU/g と、処理前の $5.2 \times 10^7$ CFU/g からほとんど減少しなかったが、TCBS 細菌数は処理前の $1.3 \times 10^7$ CFU/g から、1分間または5分間の浸漬でそれぞれ $0.9 \times 10^7$ 、 $1.0 \times 10^7$ CFU/g に、さらに10分間の浸漬で $0.3 \times 10^7$ CFU/g まで減少した。

## 考 察

本実験では、低塩分海水や淡水によるワムシの細菌

数減少効果を調べるために、先ずワムシの低塩分耐性を調査し、数分間であれば塩分0～34psu に浸漬してもワムシの活性は回復することが判った(表1)。そこで、塩分7psu 海水または淡水に浸漬したワムシについて細菌数を調査したところ、塩分7psu 海水処理は、一般細菌とTCBS 培地で発育する *Vibrio* 属細菌の細菌数を減少させる効果は期待できないと考えられた。一方、淡水処理では、一般細菌を減少させる効果は低かったが、10分間の浸漬処理により *Vibrio* 属細菌を処理前の約1/5にまで減少できることがわかった(図1、2)。しかし、この効果は、*Vibrio* 属細菌を1/100程度まで減少させるNFS 薬浴<sup>16)</sup> に比べると非常に低いものであり、ワムシを淡水に10分間浸漬すると、活力が回復するまでに3時間以上を要すること(表1)から、餌料としての有効性が低下することが考えられた。これらのことから、塩分7psu 海水および淡水による処理は、実用性が低いと考えられた。

大量培養したワムシの細菌数が高い理由としては、培養過程で発生する餌料の残餌やワムシの排泄物および死骸などの有機物が培養槽内に大量に蓄積し、これらが分解されることによって細菌の栄養素になることで細菌数が増加し、この細菌をワムシが短時間で高濃度に取り込む<sup>3)</sup> ためと推測される。この仮説が正しければ、ワムシの細菌数を減らすためには有機物を培養槽内にできる限り蓄積させない方法が考えられる。このためには、フィルターによる培養水中のフロック除去、過剰給餌の防止、培養期間の短縮に加えて、培養

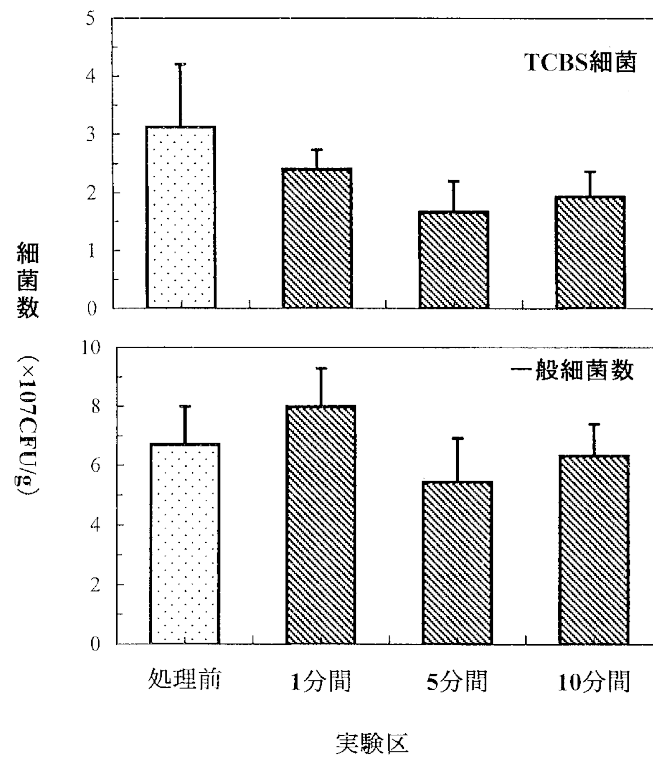


図1 塩分7psu海水に浸漬したL型ワムシ（近大株）の細菌数の経時変化

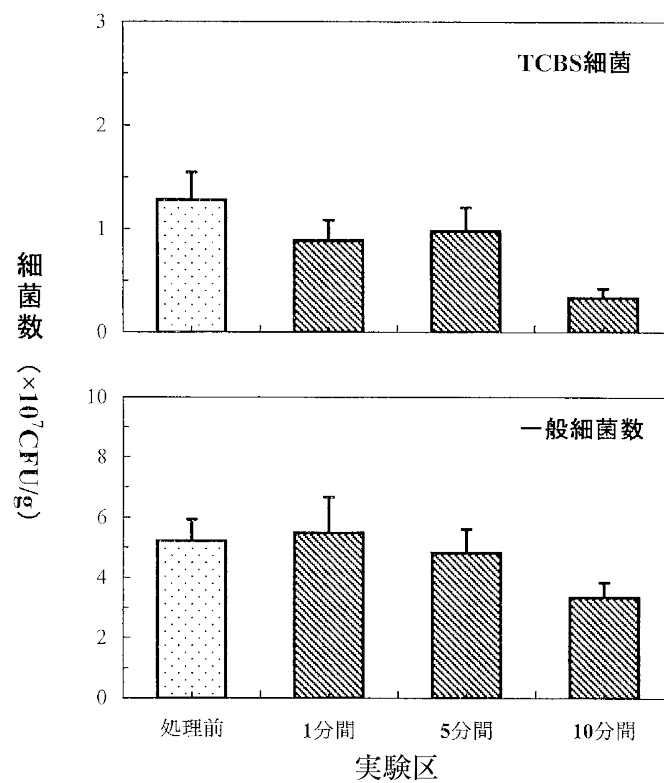


図2 淡水に浸漬したL型ワムシ（近大株）の細菌数の経時変化

水中の有機物を高率で希釈する高い収穫率での連続培養法などが有効と考えられる。また、細菌の増殖速度は水温にも影響されるため、可能な範囲でワムシの培養水温を下げることも効果的と考えられる。なお、ワムシの滅菌海水による洗浄については、ワムシの細菌数は減少しない<sup>5)</sup>という報告があるが、培養水中のフロック混じりのワムシをヒラメ仔魚に投与すると、生残率が低下した<sup>17)</sup>ことから、培養水中のフロックを洗い流すことには意味があると考えられる。

ワムシの細菌数を減少させる処理を行わない場合、ワムシ給餌に伴って $10^6 \sim 10^7$ CFU/gの細菌を飼育水槽へ直接投与することになり、仔稚魚の細菌性疾病多発の原因になると考えられる。このため、ワムシの細菌数減少に効果があると考えられる培養法や、フロックを減少させる海水洗浄などは積極的に採用すべきである。さらに、ワムシの活性を低下させないで、効果的にワムシの細菌数を減少させる新たな手法の開発が必要である。

## 文 献

- 1) 林孝市郎・木村俊夫・菅原 庸 (1975) アユの人工種苗生産における微生物学的研究－Ⅲ、シオミズツボワムシ及びタマジンコ<sup>1)</sup>の細菌汚染。三重大学水産学部研報, **2**, 81-91.
- 2) 宮川宗記・室賀清邦 (1988) シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* の細菌叢。水産増殖, **35**, 237-243.
- 3) 岡 彬 (1989) I 4・7 1) 細菌。「初期餌料生物－シオミズツボワムシ」(福所邦彦・平山和次編)。恒星社厚生閣, 東京, 34-36.
- 4) 日野明德 (1989) IV 2・1 細菌による制御。「初期餌料生物－シオミズツボワムシ」(福所邦彦・平山和次編)。恒星社厚生閣, 東京, 205-208.
- 5) Muroga, K. and H. Yasunobu (1987) Uptake of bacteria by rotifer. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 2091.
- 6) 増村和彦・安信秀樹・岡田直子・室賀清邦 (1989) ヒラメ仔魚の腸管白濁症原因菌としての *Vibrio* sp. の分離。魚病研究, **24**, 135-141.
- 7) Ishimaru, K., M. A. Akagawa-Matsushita and K. Muroga (1996) *Vibrio ichthyenteri* sp. Nov., a pathogen of Japanese flounder larvae. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**, 155-159.
- 8) 岩田一夫・矢野原良民・石橋 制 (1978) マダイの種苗生産過程におけるへい死要因に関する研究。魚病研究, **13**, 97-102.
- 9) 楠田理一・横山 淳・川合研児 (1986) クロダイ仔稚魚のいわゆる腹部膨満症に関する細菌学的研究。日水誌, **52**, 1745-1751.
- 10) 安信秀樹・室賀清邦・丸山敬悟 (1988) マダイ仔魚の腸管膨満症に関する細菌学的検討。水産増殖, **36**, 11-20.
- 11) 田端和男・柄多 哲・M. S. Ruiz (1982) 海水によるアユ種苗生産時の病害研究－Ⅱ, *Vibrio anguillarum* の動態。魚病研究, **17**, 205-212.
- 12) 田谷全康・室賀清邦・杉山瑛之・平本義春 (1985) 種苗生産過程の仔稚アユからの *Vibrio anguillarum* の検出。水産増殖, **33**, 59-66.
- 13) 山野井英夫・菅野泰久・尾田 正 (1990) クロダイ仔稚魚の消化管内細菌叢に及ぼす餌料生物のニフルスチレン酸ナトリウム浴と冷凍保存の影響。水産増殖, **38**, 13-22.
- 14) 山野井英夫・尾田 正・浮田和夫 (1990) アユ仔稚魚の消化管内細菌叢に及ぼす餌料生物のニフルスチレン酸ナトリウム浴と冷凍保存の影響。水産増殖, **38**, 327-332.
- 15) Tanosomwang, V. and K. Muroga (1992) Effect of sodium nifurstyrenate on the reduction of contamination of rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, **103**, 221-228.
- 16) 山野井英夫・惣明睦枝・室賀清邦 (1998) ワムシのニフルスチレン酸ナトリウム浴の効果持続時間と栄養強化剤の影響。水産増殖, **46**, 141-144.
- 17) 増村和彦・伏見 徹 (1986) ヒラメの初期斃死機構に関する研究。昭和60年度 魚病対策技術研究成果報告書, p.15.