

冷水病菌の温度別ブイオン培養について

宇野悦央

冷水病菌のブイオン培養における増殖適温、増殖量等に関する知見を得るために、温度別に冷水病菌をブイオン培養し、生菌数の変動を経時的に調べた。

材料および方法

供試菌株には、1992年4月に養殖アユ病魚の腎臓から分離された冷水病菌株92F1-0423株を用いた。前培養は、改変サイトファガブイオンで18°C 5日間培養して得られた 10^8 CFU/mlの菌液を 10^{-4} に希釈後、表1に示した組成の改変サイトファガブイオン100mlに接種し、200ml容量三角フラスコで培養した。開始時の冷水病菌濃度は 9.8×10^2 CFU/mlであり、4, 8, 13, 18, 23, 25および28°Cのインキュベーター内で静置培養した。生菌数は、馬血清を10%添加した改変サイトファガ寒天培地を用いて10倍希釈法で測定し、菌が確認できなくなるまで経時的に調べた。

表1 改変サイトファガブイオンの組成

トリプトン (Difco)	2.0 g
酵母エキス	0.5 g
エルリッヒ肉エキス (極東)	0.2 g
酢酸ナトリウム (無水)	0.2 g
塩化カルシウム (二水和物)	0.2 g
蒸留水	1,000ml
pH	7.1

結果および考察

供試菌の温度別培養結果を表2および図1に示した。菌の増殖速度が最も早かったのは18°Cで、培

表2 冷水病菌の温度別培養結果

単位: CFU/ml

	4°C	8°C	13°C	18°C	23°C	25°C	28°C
開始時	9.8×10^2	9.8×10^2	9.8×10^2	9.8×10^2	9.8×10^2	9.8×10^2	9.8×10^2
1日目	2.6×10^3	9.4×10^3	2.3×10^4	9.0×10^4	4.5×10^4	0.0×10^0	0.0×10^0
2"	8.0×10^3	1.2×10^5	1.2×10^6	2.0×10^7	1.2×10^7		
3"	3.4×10^4	$>10^6$	$>10^7$	1.3×10^8	3.3×10^7		
4"	$>10^4$	$>10^7$	1.0×10^8	2.3×10^8	7.5×10^7		
5"	8.4×10^5	1.8×10^8	2.5×10^8	3.2×10^8	1.1×10^8		
7"	3.8×10^7	3.7×10^8	2.6×10^8	3.7×10^8	1.3×10^8		
10"	6.3×10^7	2.8×10^8	4.1×10^8	$2.4 \times 10^8^*$	4.7×10^7		
13"	1.8×10^8	4.0×10^8	1.5×10^8	$4.5 \times 10^7^*$	1.1×10^7		
20"	2.4×10^8	4.1×10^8	2.3×10^8	$0.0 \times 10^0^*$	0.0×10^0		
30"	2.9×10^8	2.3×10^8	4.7×10^7				
40"	3.4×10^8	8.0×10^7	6.1×10^5				
60"	4.1×10^8	2.0×10^1	0.0×10^0				
90"	1.4×10^8	0.0×10^0					
120"	1.6×10^7						
180"	0.0×10^0						

* : 雑菌が繁殖

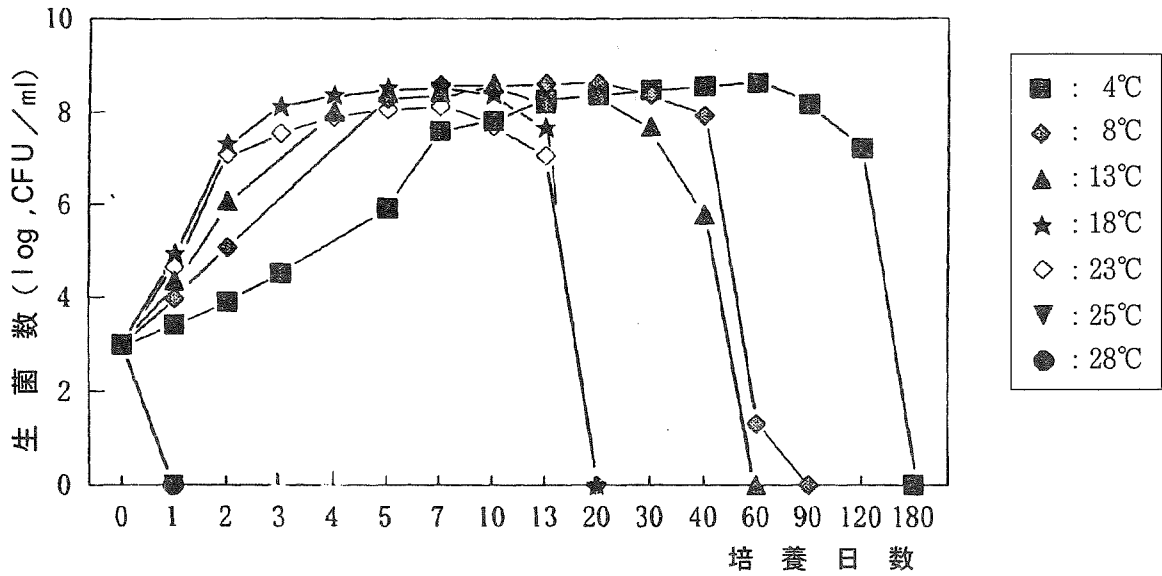


図1 冷水病菌の温度別増殖状況

培養開始後4日目で 10^8 CFU/mlに達し、温度が低くなるほど増殖速度も遅くなった。しかし、4~18°Cでは最大増殖量はほぼ同じであり、約 4×10^8 CFU/mlを示した。供試菌の生存日数は温度が低いほど長く、4°Cでは13日目から90日目まで 10^8 CFU/ml以上の高濃度を保ち、さらに、120日目までは 10^7 CFU/ml以上の濃度を示したが180日目には検出限界以下となった。23°Cでも 10^8 CFU/ml以上に増殖したが、そのピークは18°Cより低いうえに培養開始後10日目から濃度が低下し始め、30日目には検出限界以下となった。このことから、23°Cでは増殖阻害を受けていると考えられた。さらに、25°C以上では24時間後には検出限界以下となり、23°C以下に比べて速やかに生存性が失われた。