



Title	養魚用水の紫外線殺菌について. II, 魚病原因ミズカビの紫外線 (U.V.) 感受性について
Author(s)	木村, 喬久; Kimura, Takahisa; 吉水, 守 他
Citation	魚病研究, 14(3), 133-137
Issue Date	1980-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38602
Type	journal article
File Information	Yoshimizu-12.pdf



養魚用水の紫外線殺菌について—II.

魚病原因ミズカビの紫外線 (U. V.) 感受性について*

木村 喬久**・吉水 守***・田島 研一**・絵面 良男**

(昭和 54 年 10 月 1 日受理)

Disinfection of Hatchery Water Supply by Ultraviolet (U. V.) Irradiation—II.

U. V. Susceptibility of Some Fish Pathogenic Fungi

Takahisa KIMURA**, Mamoru YOSHIMIZU***, Kenichi TAJIMA**,
and Yoshio EZURA**

**Lab. Microbiol., Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Hokkaido, Japan

***Dept. Food and Nutrition, Hakodate Junior College, Hakodate,
Hokkaido, Japan

(Received October 1, 1979)

Cidal effect of ultraviolet irradiation on 10 strains of fish pathogenic aquatic fungi and 6 species of bacteria including fish pathogens were examined.

The results obtained are summarized as follows:

1) The punched agar medium disk covered with fungus hyphae was employed for the measurement of susceptibility to ultraviolet irradiation of aquatic fungi. The hyphae of 10 strains of aquatic fungi, i. e. *Saprolegnia parasitica* IFO 8978 etc. show relatively lower susceptibility to ultraviolet irradiation compared with the bacteria. The minimal fungicidal dosage of ultraviolet irradiation, inhibition of growth of hyphae, was $154 \sim 252 \times 10^3 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$.

2) This dosage was about 50 times higher than the minimal bactericidal dosage of ultraviolet irradiation for destruction, at least 99.9% of viable bacterial cells.

前報 (木村ら, 1976) において著者らは細菌を対象に供試した流水殺菌装置が魚病原因菌および養魚用水中の生存菌に対し、きわめて有効な殺菌能力を有することを明らかにした。ところで魚類の増養殖においてミズカビ感染による被害は少なくなく、採卵親魚や病魚におけるミズカビの二次感染はしばしば問題となる。卵孵化時におけるミズカビ着生による卵の被害もよく知られるところであり、この防止には現在マラカイトグリーンが多く使用されている。しかし本薬剤は公衆衛生的問題から米国においてすでに使用が禁止され、わが国においても早急にこれに代るミズカビ着生防止対策の確立が必要となつて来ている。

本報では前報に引き続き、魚病原因ミズカビを対象と

してその U. V. 感受性を測定すると共に、対照とした細菌の U. V. 感受性とミズカビの感受性を比較観察し、若干の知見を得たのでその結果について報告する。

材料および方法

供試菌株: U. V. 感受性の測定には Table 1 に示す *Saprolegnia parasitica* IFO 8978 など 7 株の魚病関連ミズカビ標準株ならびに 3 株の *Saprolegnia* sp. を、また対照には *Aeromonas salmonicida* ATCC 14174 など 6 株の細菌を供試した。

供試 U. V. 照射装置: U. V. 感受性測定の際には市販の殺菌灯 (ナショナル GL-15) を用い、照射量は U. V. 照度計 (トプコン UVR-254 型) による照度の実測値と照射時間から計算した。

ミズカビの U. V. 感受性測定法: 供試ミズカビの U. V. 感受性は Fig. 1 に示す方法により菌糸の U. V. 感受性を測定した。すなわちサブロー寒天培地平板に 15°C ,

* 本報告の概要は昭和 51 年度日本水産学会秋季大会において発表した

** 北海道大学水産学部微生物学講座

*** 函館短期大学食物栄養学系

Table 1. Aquatic fungi and bacteria employed

Aquatic fungi		
<i>Saprolegnia parasitica</i>	IFO	8978
<i>Saprolegnia parasitica</i>	ATCC	22284
<i>Saprolegnia ferax</i>	ATCC	10396
<i>Saprolegnia diclina</i>	CBS	326,35
<i>Saprolegnia anisospora</i>	CBS	178,44
<i>Saprolegnia</i> sp.	Gifu	
<i>Saprolegnia</i> sp.	Tokyo	
<i>Saprolegnia</i> sp.	Shizuoka	
<i>Aphanomyces laevis</i>	CBS	107,52
<i>Achlya flagellata</i>	ATCC	14566
Bacteria as reference		
<i>Aeromonas hydrophila</i>	IAM	1018
<i>Aeromonas punctata</i>	IAM	1646
<i>Aeromonas salmonicida</i>	ATCC	14174
<i>Vibrio anguillarum</i>	NCMB	6
<i>Escherichia coli</i>	O-26	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	EFDL	

48 時間前培養した供試菌株の巨大コロニー周縁部を直径 2 mm の滅菌パンチャーで切り出し、表面にのみ菌糸が付着した寒天ディスクを作成する。これを試験用サブルー寒天培地平板面に各 3 個宛載せた後、15°C の恒温無菌室内で所定時間の U.V. 照射を行ない、15°C・24 時間培養後寒天ディスクからの菌糸伸長の有無を肉眼的および顕微鏡的に観察した。

結果の判定は Fig. 1 および Plate 1, Fig. 1~6 に示

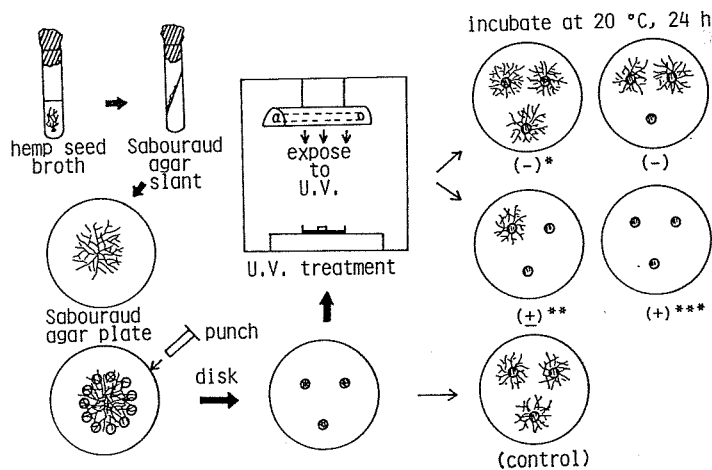


Fig. 1. Illustrated procedure for the measurement of susceptibility of aquatic fungi to U. V.

- * susceptibility to U. V.; negative (-).
- ** susceptibility to U. V. false positive (±)
- *** susceptibility to U. V.; positive (+)

すごとく、3 個のディスクいずれからも菌糸の伸長が認められない場合を感受性 +、逆に 2~3 個のディスクから菌糸の伸長が認められた場合を感受性 -、1 個のディスクのみ菌糸の伸長が認められた場合を ± とし、数回の反復実験の結果から供試菌の菌糸殺菌に要する最小 U. V. 照射量を算出した。

細菌の U. V. 感受性測定法: 供試菌を普通ブイヨン培地で 25°C・24 時間前培養後、生菌数が $10^4/\text{ml}$ となるよう滅菌生理的食塩水にて希釈調製した供試菌懸濁液 0.2 ml を普通寒天培地平板表面に塗抹後、前記のミズカビの場合と同様にして U. V. の照射を行い、25°C・48 時間培養後の発生集落数が対照の U. V. 非照射平板培地上的集落数に比し、99.9% 以上減少した場合の U. V. 照射量をもって最小 U. V. 照射量とした。

結 果

供試ミズカビの U. V. 感受性: 上記の方法で *Saprolegnia parasitica* IFO 8978 の U. V. 感受性を観察した結果は Table 2 に示すごとくで、本菌株の菌糸殺菌に要する最小 U. V. 照射量は 4 回の反復実験の結果から $231 \times 10^3 \pm 17.1 \times 10^3 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ と計算された。

同様にして求めた供試ミズカビ 10 菌株の菌糸殺菌に要する最小 U. V. 照射量を Table 3 に示したが、供試ミズカビ 10 株の U. V. 感受性はほぼ同程度で菌糸殺菌に要する最小 U. V. 照射量は $154 \times 10^3 \sim 252 \times 10^3 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ であった。

Table 2. Susceptibility of the *Saprolegnia parasitica* IFO 8978 to U. V.

U. V. treatment time	U. V. dosage*	Experiment			
		1	2	3	4
1' 30''	126×10 ³	+**	+	+	+
1' 45''	147×10 ³	+	±***	+	+
2' 00''	168×10 ³	+	±	±	±
2' 15''	189×10 ³	±	±	±	±
2' 30''	210×10 ³	±	±	±	-****
2' 45''	231×10 ³	-	±	-	-
3' 00''	252×10 ³	-	-	-	-
Minimal fungicidal U.V. dosage*****		231×10 ³ ±17.1×10 ³			

* μW·sec/cm²
 ** susceptibility to U.V., positive
 *** susceptibility to U.V., false positive
 **** susceptibility to U.V., negative
 ***** calculated from the results of 4 repeated experiments

供試細菌の U.V. 感受性：一方対照として用いた 6 株の細菌の U.V. 感受性は Table 4 に示すごとくで、生菌数を 99.9% 以上減少させるために要する最小 U.V. 照射量は 4~5×10³ μW·sec/cm² であり、前記ミズカビの値の 1/50 程度であった。

考 察

ミズカビの U.V. 感受性試験法としては遊走孢子懸濁液を用いる方法 (NORMANDEAU, 1968, VLASENKO, 1969) や菌糸を用いる方法 (NORMANDEAU, 1968) などが知られているが、本研究では U.V. 照射後の寒天ディスクからの菌糸伸長の有無より供試菌の U.V. 感受性を判定する方法により魚病関連ミズカビ 10 株の U.V. 感受性を観察した。

Table 4. Minimal bactericidal U.V. dosage* for the bacteria employed

Species	U. V. dosage**		
<i>Aeromonas hydrophila</i>	IAM	1018	5×10 ³
<i>Aeromonas punctata</i>	IAM	1646	4×10 ³
<i>Aeromonas salmonicida</i>	ATCC	14174	4×10 ³
<i>Vibrio anguillarum</i>	NCMB	6	4×10 ³
<i>Escherichia coli</i>	O-26		4×10 ³
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	EFDL		5×10 ³

* for destruction at lest 99.9% of viable bacteria on agar medium
 ** μW·sec/cm²

供試 10 株の魚病関連ミズカビの U.V. 感受性は意外に低く、菌糸の殺菌に要する U.V. 照射量は NORMANDEAU (1968), VLASENKO (1969) の遊走孢子殺菌に要する U.V. 照射量 35~39.6×10³ μW·sec/cm² の約 5 倍, NORMANDEAU (1968) の菌糸殺菌に要する U.V. 照射量 10×10³ μW·sec/cm² の約 20 倍, すなわち 154~252×10³ μW·sec/cm² の照射線量を必要とした。なおこの値は VLASENKO (1969), HOFFMAN (1970) の原虫類 *Ichthyophthirius tomites* の殺菌に要する U.V. 照射量にほぼ近似する。

一方対照として 6 株の細菌を供試したが、最小 U.V. 照射量はいずれも 4~5×10³ μW·sec/cm² と既往の河端・原田 (1952), NORMANDEAU (1968) の報告とほぼ同程度で、供試ミズカビの U.V. 感受性に比し照射量で約 1/50 程度で充分であった。

養魚用水中のミズカビを完全に殺菌するためにはさらに高い線量を要すると考えられ、以上の結果から前報

Table 3. Minimal fungicidal U. V. dosage for aquatic fungi employed

Species	U. V. dosage*	
<i>Saprolegnia parasitica</i> IFO 8978	231×10 ³ ±17.1×10 ³	
<i>Saprolegnia parasitica</i> ATCC 22284	196×10 ³ ±12.1×10 ³	
<i>Saprolegnia ferax</i> ATCC 10936	231×10 ³	
<i>Saprolegnia diclina</i> CBS 326,35	227×10 ³ ±23.0×10 ³	
<i>Saprolegnia anisospora</i> CBS 178,44	154×10 ³ ±12.1×10 ³	
<i>Saprolegnia</i> sp. Gifu	217×10 ³ ±24.2×10 ³	
<i>Saprolegnia</i> sp. Tokyo	252×10 ³	
<i>Saprolegnia</i> sp. Shizuoka	226×10 ³ ±10.5×10 ³	
<i>Aphanomyces laevis</i> CBS 107,52	205×10 ³ ±10.5×10 ³	
<i>Achlya flagellata</i> ATCC 14566	217×10 ³ ±12.1×10 ³	

* μW·sec/cm²

(木村ら, 1976) で供試した流水式 U.V. 殺菌装置 (西武化学 CS-50-U, 2 重管式, 出力1.4 W) の有効殺菌能力 0.5 t/h ($22 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$) の約 10 倍の能力を有する装置が必要と推察される。しかし対照の細菌の感受性観察結果は前報で用いた流水式 U.V. 殺菌装置が魚類病原細菌の殺菌にきわめて有効であるとした結果を裏付けるものと考えられる。

要 約

供試した 10 株の魚病関連ミズカビの U.V. 感受性は意外に低く, 菌糸の殺菌に要する U.V. 照射量は $154 \sim 252 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ と対照に用いた細菌の殺菌に要する最小 U.V. 照射量 $4 \sim 5 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ の約 50 倍が必要であった。以上の結果から養魚用水中のミズカビの完全殺菌にはかなり強力な U.V. 照射装置が必要と考えられる。

謝 辞

貴重なる菌株の分与をいただいた東京大学農学部水産学科, 江草周三教授ならびに三共株式会社中央研究所,

畑井喜司雄博士 (現在長崎県水産試験場増養殖研究所) に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 相磯和嘉 (1976): 食品微生物学, 医歯薬出版, 東京, 439 p.
- HOFFMAN, G. L. (1974): Disinfection of contaminated water by ultraviolet irradiation, with emphasis on whirling disease and its effect on fish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **3**, 541-550.
- 河端俊治・原田常雄 (1952): 殺菌灯による水の消毒. 照明学会雑誌, **36**, 1-8.
- 木村喬久・吉水 守・田島研一・絵面良男・坂井 稔 (1976): 養魚用水の紫外線殺菌について—I. 魚病原因菌ならびに養魚水中生存菌の紫外線感受性について. 日水誌, **42**, 207-211.
- NORMANDEAU, D. A. (1968): Progress report, Project F-14-R-3, State of New Hampshire.
- VLASENKO, M. I. (1969): Ultraviolet rays as a method for the control of diseases of fish eggs and young fish. *Problems of Ichthyol.*, **9**, 697-705.

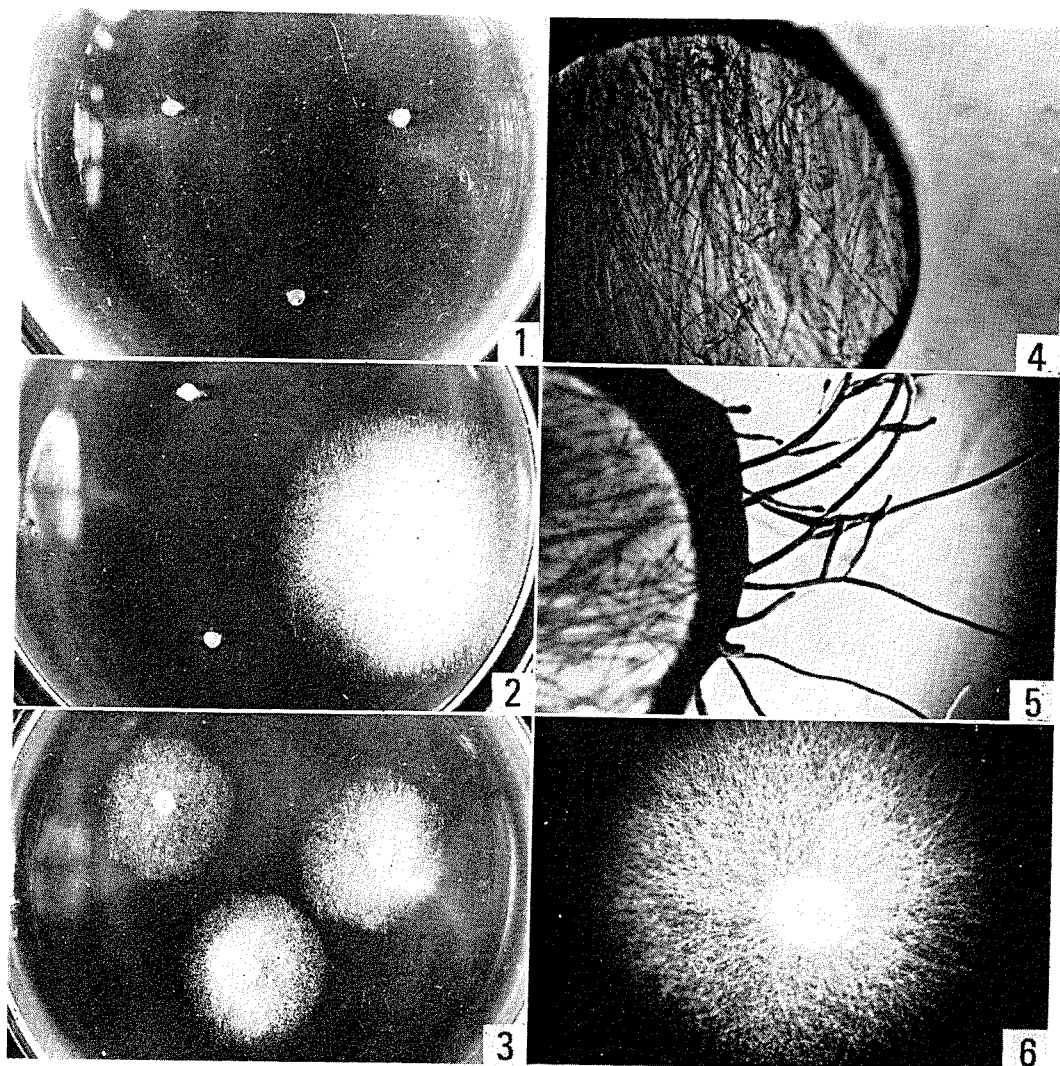


Plate 1.

- Fig. 1. Susceptibility to U. V.; positive (+).
- Fig. 2. Susceptibility to U. V.; false positive (+).
- Fig. 3. Susceptibility to U. V.; negative (-).
- Fig. 4. Punched agar medium disk covered with fungus hyphae.
- Fig. 5. Growth of the hyphae from the punched agar medium disk.
- Fig. 6. Colonie of the fungi growth from the punched agar medium disk.