

ワムシの保有細菌数

上田美加代

目的

ワムシの保有する細菌(特に *Vibrio* 属)が、魚類種苗生産時に悪影響を及ぼす可能性が指摘されている。そこで、当センターにおけるワムシの保有細菌数を知り、細菌数の低いワムシを生産するための培養方法を検討した。

実験1：種類と培養密度の違うワムシの保有するTCBS細菌数

材料と方法

ワムシの種類はSS型(タイ国産株)、S型、L型(近大株)の3種類であった。SS型とL型は、当センターで保存していた株であり、S型はクロレラ工業より購入した株であった。

培養密度は、低密度 125 ~ 468 個/mL、中密度840 ~ 1130個/mL、高密度1500~2300個/mL とした。

サンプリングは朝の投餌前に行い、5Lのビーカーに培養水を採り、実験室に持ち帰った。

培養水をプランクトンネット(目合い:40 μ m)で濾し、ワムシを採取し、そのワムシを濾過海水の流水下で洗浄した後、濾紙によって水分を取り除いた。ワムシ0.1gを、0.9mLの滅菌海水とともにガラス製のホモジナイザーを用いてよく磨砕し、これを試料とした。得られた試料を滅菌海水で希釈し、TCBS寒天培地(pH9.1, 日水製薬, 以下TCBS培地とする)に塗抹し、30°Cで48時間培養した。培養後、培地に出現したコロニーを計数し、TCBS培地より得られたCFU(Colony Forming Unit)値をTCBS細菌数とした。

結果と考察

結果を図1に示した。

低密度の試料は、S型19個、L型7個であり、中密度

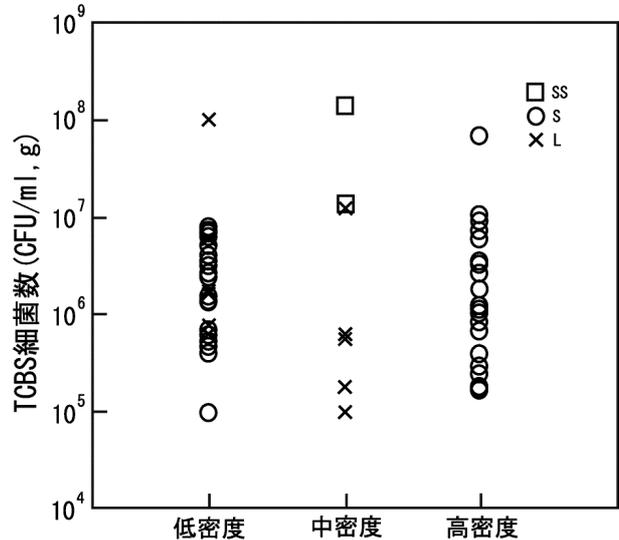


図1 培養密度の違いとTCBS細菌数の関係

の試料は、SS型2個、L型5個であり、高密度の試料は、S型のみ24個であった。

培養密度が高いほど、TCBS細菌数も高いと予想していたが、TCBS細菌数は培養密度によらず、ほとんどが $10^5 \sim 10^7$ の間であった。このことより、培養密度の違いによるTCBS細菌数の違いはほとんどなく、低密度で飼育してもワムシのTCBS細菌数は、低く抑えられないことが分かった。

SS型のTCBS細菌数は、 10^7 、 10^8 と高い値を示した。TCBS細菌数が高いとワムシの調子は悪いのではないかと予想していたが、SS型の試料としたワムシは、どちらもそのような傾向は無かった。これまでにも、S型と比較してSS型のTCBS細菌数は1桁高かったとの報告があり、ワムシの種類によって菌数の違うことが考えられた。しかし、それを明らかにするためには、試料を増やすことが必要である。

S型のTCBS細菌数は、ほぼすべてが、 $10^5 \sim 10^7$ の間であった。S型の場合は、調子の悪いワムシと良いワムシの両方を試料とした。しかし、調子が悪くてもTCBS細菌数が低い場合や、調子が良くてもTCBS細菌数

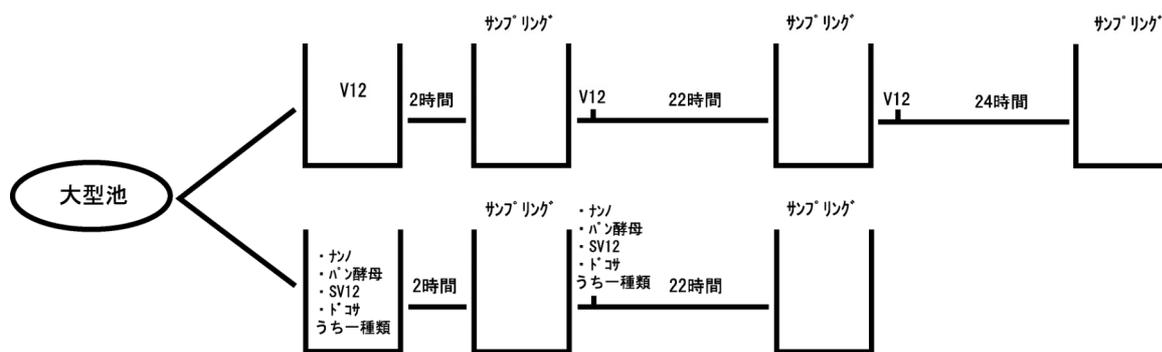


図2 実験の流れ

の高い場合があり、TCBS細菌数が高いとワムシの調子が悪いとは言えなかった。

L型のTCBS細菌数は、 $10^4 \sim 10^8$ の広い範囲であった。L型でTCBS細菌数が 10^7 以上のワムシは、調子の悪いワムシであり、TCBS細菌数が 10^6 以下の場合には、増殖率も高く、調子の良いワムシであった。L型はTCBS細菌数が高いとワムシの調子が悪いと言えた。

TCBS細菌数は、ワムシの種類によって差のあることが考えられ、TCBS細菌数だけでは、ワムシの調子を判断することはできなかつた。しかし、実験を進めるにつれ、TCBS培地に培養されたコロニーの数が同じ試料であっても、コロニーの色が大きく異なる場合があった。そのことより、細菌叢に違いのあることが推察された。また、その違いは良く日の当たる場所で培養したワムシと自然光の少ない室内で培養したワムシにおいて顕著であり、培養環境によって生じることが考えられた。これからはTCBS細菌数だけでなく、細菌叢の違いによる影響についても研究する必要があると思われた。

実験2：異なる餌料を与えたワムシのTCBS細菌数の経時変化

材料と方法

実験に用いたワムシの種類は、S型であった。

大型池で培養したワムシを収穫機で収穫、200Lアルテミア孵化槽5つに約1000個/mLになるように収容し、それぞれに異なる餌を投餌した。餌は、当センターにおいて培養したナンノクロロプシスを濃縮装置によって濃縮した濃縮ナンノ(以下、ナンノ)、クロレラ工業社製の生クロレ

ラ-V12(以下、V12)、パン酵母、クロレラ工業社製のスーパー生クロレラV12(以下、SV12)、秋田十條化成社製のドコサユグレナ(ドコサ)の5種類であった。投餌量は、10億のワムシに対してナンノは6L/日、V12は2L/日、パン酵母は1Kg/日、SV12は2L/日、ドコサは40g/日であった。

図2に実験の流れを示した。各アルテミア孵化槽から、2時間後、24時間後に培養水を5lずつ採水し、それをプランクトンネット(目合い:40 μ m)で濾し、ワムシをサンプリングした。V12のみ48時間後もサンプリングを行った。その後の処理は、実験1と同様に行い、TCBS細菌数を求めた。同様の実験を二回行った。

結果と考察

実験結果を図3に示した。

2時間後から24時間後にかけて、パン酵母とV12で

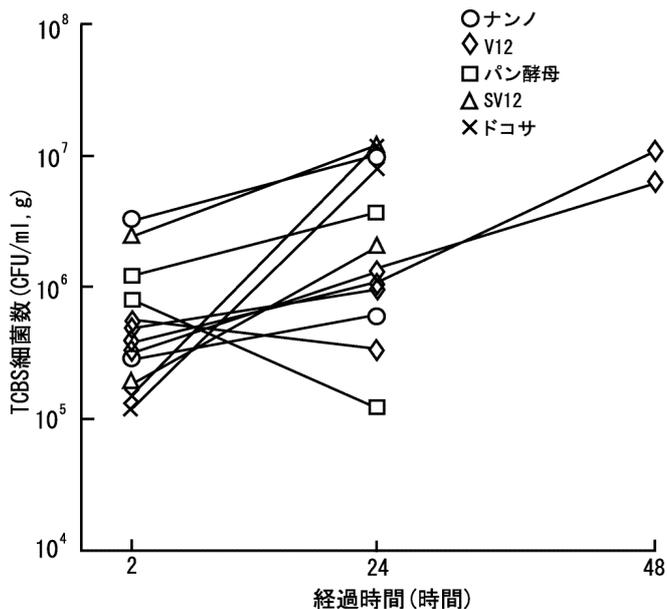


図3 異なる餌料を与えたワムシのTCBS細菌数の経時変化

各一回、TCBS細菌数が減少した。しかし、その他では経過時間が長くなるにつれて、TCBS細菌数も増加する傾向が見られた。平成15年度の実験でも、アルテミア孵化槽へ収容後の経過時間が長くなるとTCBS細菌数は増加するという結果が得られており、収容時間は短い方が良いと言えた。

ナンノ、V12、パン酵母、SV12の四種類の餌料を与えた場合、TCBS細菌数は増加傾向を示したが、顕著な増加ではなかった。しかし、ドコサを与えた場合のTCBS細菌数は、 10^5 レベルから 10^7 レベルへ顕著に増加した。このことより、ドコサを餌料として使用した場合、TCBS細菌数の増加することが分かった。ドコサに含まれる成分が培養水中に加わることによって、TCBS培地に選択的に培養される細菌類が増殖しやすい環境になったことが考えられ、ドコサを使用したワムシの栄養強化時間は、栄養強化の効果が得られる、最も短い時間にする方が良いと言えた。