

## 紫外線殺菌装置を使用したワムシの活力と保有細菌数

知名真智子（旧姓金田）・井上顕

### 1. 目的

岡山県は、紫外線照射による億個体単位のワムシの保有細菌数を減少させることに成功し、これらのデータを基に、ワムシ紫外線殺菌装置を開発した（岡山県漁業共同組合製造）。この装置は、すでに岡山県栽培漁業センターが種苗生産現場で実用しており、市販もされている。沖縄県でも、この装置の魚類種苗生産現場への導入に向けて、平成 17 年に購入した。本試験では、ワムシ紫外線殺菌装置によるワムシ活力・保有細菌数の変化を把握し、紫外線殺菌装置使用マニュアル作成のための基礎データを取ることを目的とした。

### 2. 方法

実験に使用したワムシは、S 型岡山株 *Branchionu rotundiformis*（クロレラ工業由来）であり、培養環境は、種苗生産時に魚類の生物餌料として使用される環境を再現した。つまり円形 50t 水槽にて、密度 200 ~ 400 個体/mL、水温 22 ~ 24 で 10 日以上培養した後、水温 24、700 個体/mL となるよう 1t アルテミア孵化槽へ収容した。2 次培養期間は約 18 時間とした。飼育中のほとんどの餌料は濃縮生クロレラ V12（クロレラ工業社製）で、ワムシ 1 億個体あたり 0.2L / 日（以下、規定投餌量とする）を投餌した。

ワムシの回収は、実験開始前に 60 ミクロンプランクトンメッシュで行い、汚れた培養液が出なくなるまで紫外線照射海水（以下、UV 海水）で洗浄後、実験条件に合わせた密度と水量に調整した。なお、本試験で使用した海水はすべて UV 海水を用いた。

ワムシの活力に、実体顕微鏡下で計数して算出したサンプル中のワムシ生残率とその運動（遊泳）能力を用いて判断した。保有細菌数は、上田(2004)の方法に従った。ZoBell2216E 寒天培地（pH7.6,Difco,Marine Ager

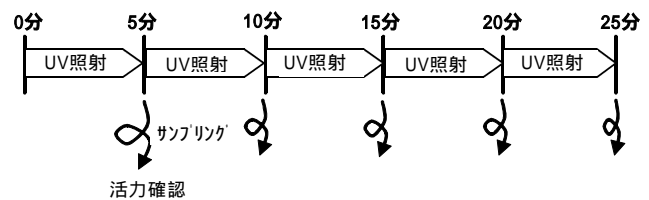


図1 紫外線照射時間とワムシ活力確認実験の流れ

2216)または TCBS 寒天培地（pH9.1,日水製薬）に出現したコロニーを計数し、それぞれの培地の CFU (Colony Forming Unit) 値を一般細菌数、TCBS 細菌数とした。

#### 試験1) 累積紫外線照射時間とワムシ活力

紫外線の照射時間が、ワムシの活力にどのように影響するかを調べた。図1は実験の流れを示したものである。紫外線殺菌装置へのワムシ収容数は、4.9 億個体 / 10L(4.9 万個体/mL)とした。紫外線照射時間は、5 分間ずつ断続的に行い、5、10、15、20、25、30、35 分間の累積紫外線照射後のワムシをサンプリングし、各照射時間のワムシ活力を調べた。サンプリングの際には、紫外線照射を一旦停止、100mL ビーカーを用いて 30 ~ 50 mL 程度を培養液ごと採取した。

#### 試験2) 紫外線照射時のワムシ収容密度の違いによる活力・保有細菌数

ワムシに紫外線を照射することにより、ワムシが保有する一般細菌数および TCBS 細菌数がどのように変化するか、ワムシの活力と併せてを調べた。表1は、紫外線照射時間および照射時のワムシ密度の条件設定を示したものである。設定した紫外線照射時間は、試験1の結果を受けて、0、10、15、30 分間の4段階とした。

表1 ワムシ密度とUV累積照射時間

密度 万個体/mL	水量 リットル	UV累積照射時間(分)			
		0分	10分	15分	30分
5	10				
10	10				
10	6.5				

はサンプリングポイントを示す

表2 紫外線照射時間とワムシ活力および保有細菌数試験の詳細

密度 万個体/mL	水量 リットル	照射時間	経過時間			
			0	3時間	24時間	48時間
5	10	15分				
		30分				
10	10	10分				
		15分				
10	6.5	10分				
		15分				

はサンプリングポイントを示す

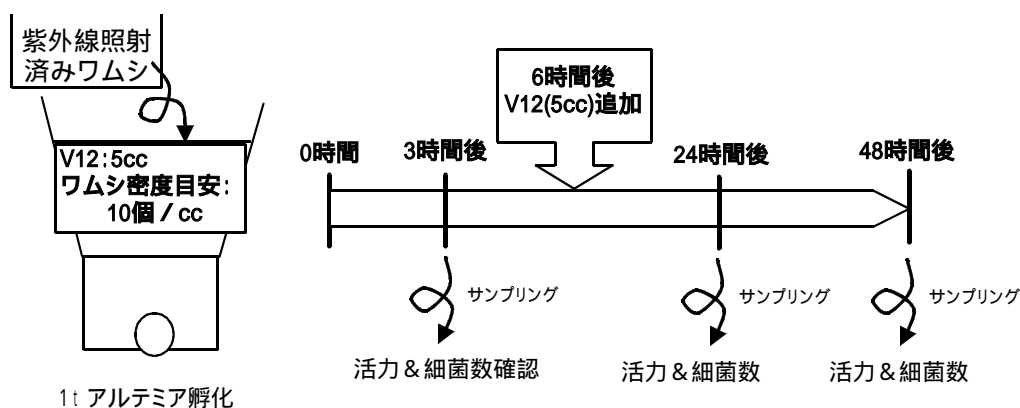


図 2 紫外線照射後のワムシ活力・保有細菌数の経時変化追跡実験の流れ

試験 3 ) 紫外線照射後のワムシ活力と細菌数の変化

紫外線照射後のワムシ活力と保有細菌数が経時的にどのように変化していくのかを調べた。表 2 に条件設定の詳細を，図 2 に実験の流れを示した。紫外線照射時間は，これまでの試験の結果を受けて，10 または 15 分間とした。紫外線照射後のワムシは，10 個体/mL となるよう 1t アルテミア孵化槽に収容し，その後の

経過を観察した。アルテミア孵化槽には，収容直後と収容 6 時間後に V12 を 5mL/t 添加した(この添加は，種苗生産水槽でも行っている)。通気にはエアストーン 1 個を使い，微通気とした。ワムシの活力および保有細菌数の確認は，紫外線照射直後，アルテミア孵化槽への収容 3 時間後，24 時間後，48 時間後に行った(表 2・図 2)。

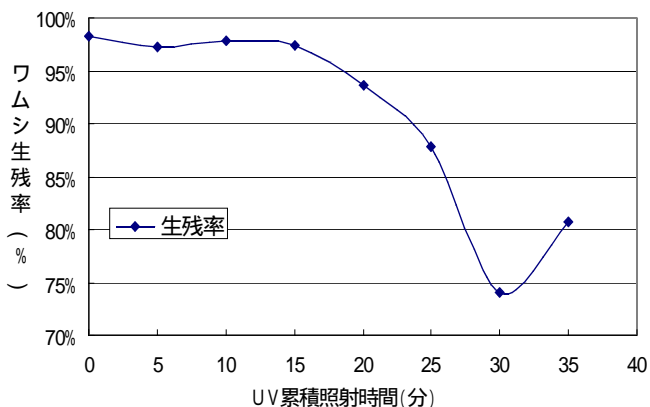


図 3 UV 照射時間とワムシ生存率の変化

3. 結果と考察

1) 紫外線照射時間とワムシ活力と保有細菌数

図 3 に紫外線照射時間とワムシ生存率の変化を示す。ワムシの活力は，累積紫外線照射時間 15 分程度までは，特に目立った斃死などは見られなかった。累積照射時間が 20 分を超えると，運動性が低下した個体や斃死個体が目立ち始め，25 分を超えると数個体のワムシが団子状に固まり斃死している様子が観察された。以上のことから，ワムシの活力を考えると，紫外線照射時間は 15 分以内が適当と思われた。

表3 紫外線照射時間とワムシの生残率

密度 万個体/mL	水量 リットル	UV累積照射時間(分)			
		0分	10分	15分	30分
5	10	98%	98%	92%	73%
10	10	99%	98%	98%	94%
10	6.5	99%	97%	99%	93%

表4 紫外線照射時間とワムシが保有するTCBS細菌数の変化

密度 億個体/mL	水量 リットル	UV累積照射時間(分)			
		0分	10分	15分	30分
5	10	<10 <sup>8</sup>	<10 <sup>6</sup>	<10 <sup>6</sup>	<10 <sup>6</sup>
10	10	<10 <sup>8</sup>	<10 <sup>7</sup>	<10 <sup>6</sup>	<10 <sup>6</sup>
10	6.5	<10 <sup>8</sup>	<10 <sup>5</sup>	<10 <sup>6</sup>	n.d.

単位:CFU/ml n.d.:no data

## 2) 紫外線照射時のワムシ収容密度の違いによる活力・保有細菌数

表3に紫外線照射時間とワムシの生残率を示した5万個体/mL、水量10Lで30分間照射したときに生残率が73%となった以外は、すべて生残率90%以上であった。

紫外線照射時間とワムシが保有する細菌数について、一般細菌数は、紫外線照射時間に関係なく、ほとんどその数を減らすことは無かった。この結果から、紫外線照射による一般細菌数減少の十分な効果は、あまり期待できない。その一方で、TCBS細菌数は、紫外線を10分間照射しただけで、その数を10<sup>8</sup>レベル以下から10<sup>6</sup>～10<sup>7</sup>以下レベルにまで減少させていた(表4)。照射時間を15分、30分と延ばすことで、さらにTCBS細菌数が減少する傾向はあるが、その減少幅は非常に小さい。照射時間を10分間以上に延長しても、1桁以上を減少させる可能性は低く、逆にワムシの活力を低下させ、生物餌料の質を落とすことになり得る。

上田(2003)の結果から、5ppmニフルスチレン酸ナトリウム浴で期待できる、ワムシが保有するTCBS細菌数の減少は10<sup>1</sup>レベルである。ワムシの紫外線殺菌装置に求める効果が、これと同程度ならば、10～15分間程度の紫外線照射時間で、ワムシの活力を落とさずに、保有するTCBS細菌数を減少させることができると言える。

## 試験3) 紫外線照射後のワムシ活力と細菌数の変化

前述の結果同様、一般細菌数は紫外線照射直後も、またその後数時間経過しても、ほとんど変化することはない。これに対しTCBS細菌数は、紫外線照射時間や照射時の密度に関係なく、照射3時間後までは、照射直後と同じレベルの細菌数を維持し、24時間後には照射前と同じレベルにまで回復した(図4～11)。10万個体/mL、水量10Lの試験区における24時間後のTCBS細菌数が、その48時間後の細菌数とほとんど変わらないことから(図8,9)、一度減少したTCBS細菌数は、紫外線照射から24時間後までには元の細菌数まで回復することが示唆された。

## まとめ

今回の結果より、TCBS細菌数の減少という点においては、紫外線殺菌装置の効果があったといえる。種苗生産時に投餌するワムシの保有細菌数が種苗の生残率に影響することが懸念されている。しかし、これまでに十分な知見はない。仮に、TCBS細菌数がそうであり、ワムシが保有するTCBS細菌数を10<sup>5</sup>～10<sup>6</sup>レベルにまで下げることで種苗生産への影響が小さくなるのならば、紫外線殺菌装置を使用したワムシの殺菌は今後の種苗生産時に必要な作業工程のひとつとして導入すべきものであろう。

## 4. 文献

- 1) 上田美加代. ワムシの保有細菌数. 平成15・16年度沖縄県栽培漁業センター事業報告書. 2006; 109-111

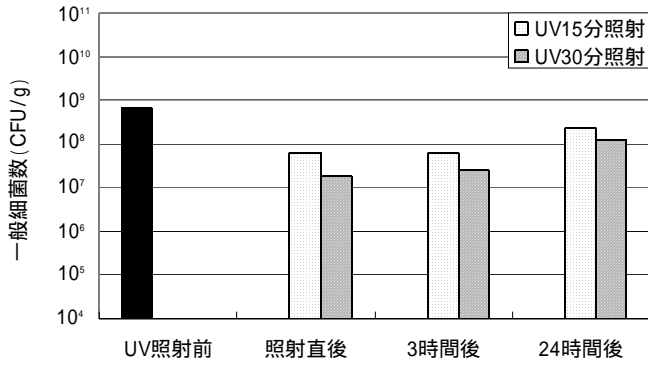


図4 UV照射時間の違いによる保有細菌数の経時変化（一般海洋性細菌：5億個体/10Lの場合）

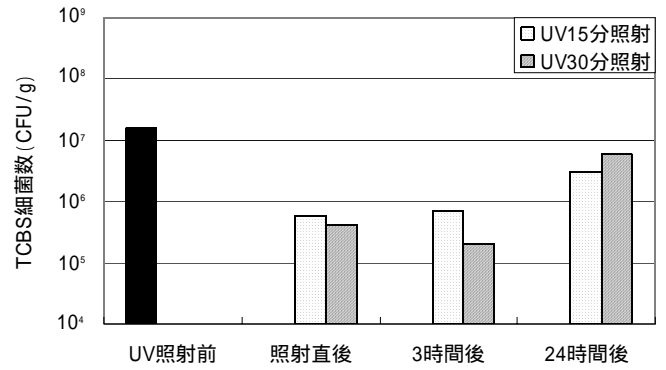


図5 UV照射時間の違いによる保有細菌数の経時変化（TCBS細菌：5億個体/10Lの場合）

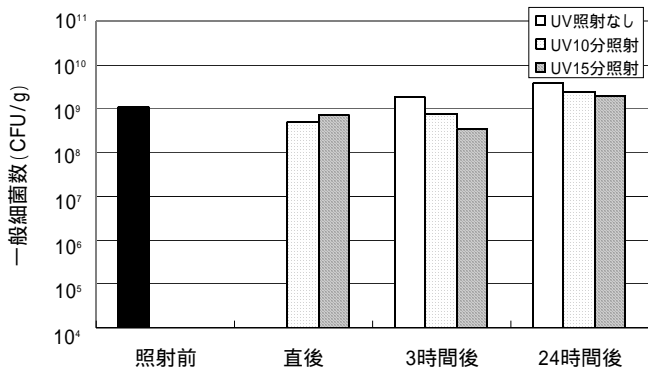


図6 UV照射時間の違いによる保有細菌数の経時変化（一般海洋性細菌：10億個体/10Lの場合）

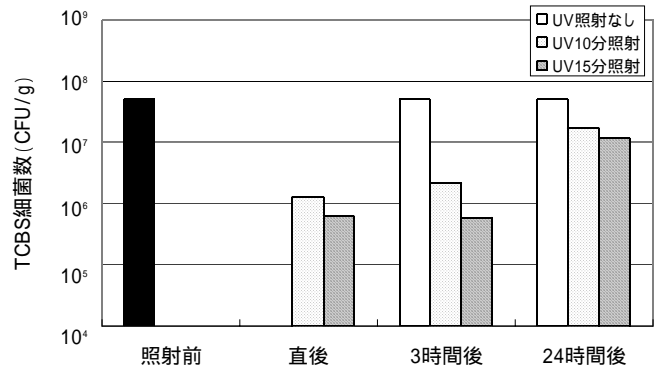


図7 UV照射時間の違いによる保有細菌数の経時変化（TCBS細菌：10億個体/10Lの場合）

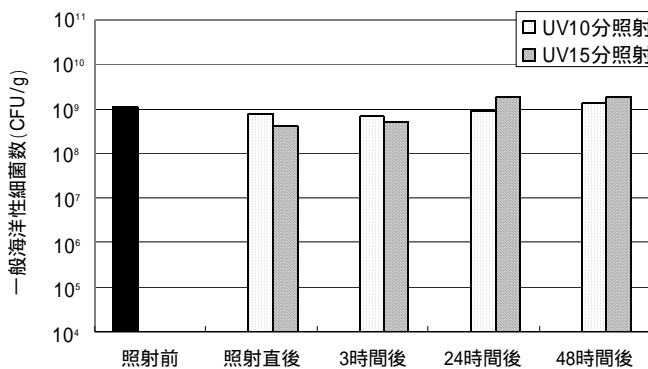


図8 UV照射時間の違いによる保有細菌数の経時変化（一般海洋性細菌：6.5億個体/6.5Lの場合）

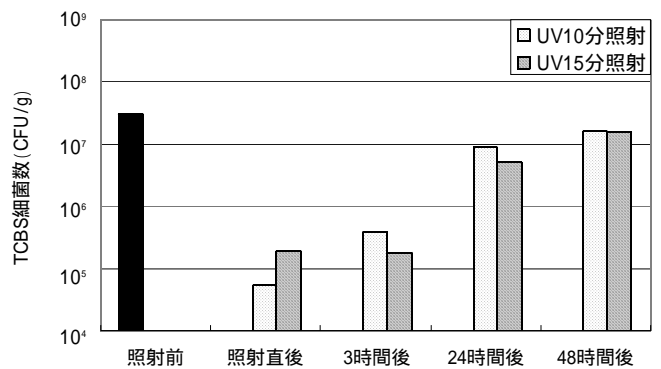


図9 UV照射時間の違いによる保有細菌数の経時変化（TCBS細菌：6.5億個体/6.5Lの場合）

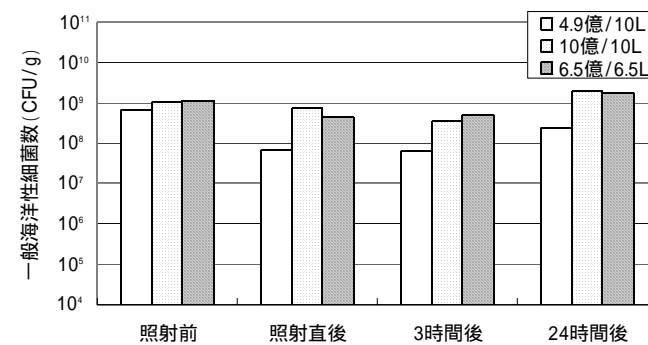


図10 密度・水量の違いによる保有細菌数の経時変化（一般細菌数：照射時間はすべて15分間）

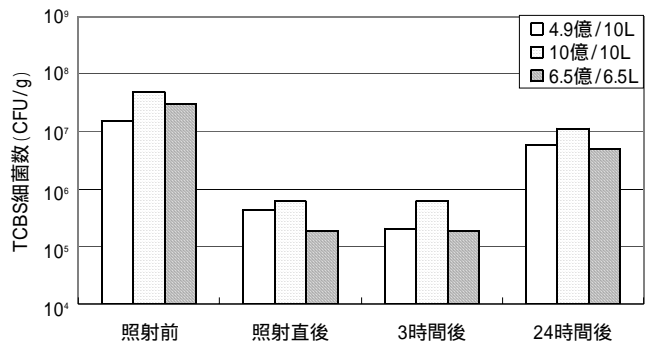


図11 密度・水量の違いによる保有細菌数の経時変化（TCBS細菌数：照射時間はすべて15分間）