

プロバイオティクス乳酸菌を利用した魚類養殖用飼料の開発

研究代表者：鳥取大学 農学部 会見忠則

概要

近年、微生物を用いて病気を予防するというプロバイオティクスが注目されるようになった。プロバイオティクスの主要な役割を果たしているのが乳酸菌である。本研究では、日本海沿岸でも養殖されているヒラメの死亡原因として代表的なエドワジェラ症と近年の流行が、問題となっている新型レンサ球菌症の原因菌抑制効果のある乳酸菌を探索することを目的とした。現在、ヒラメ腸内よりこの両病原菌に対する抗菌活性を持つ菌株を見い出しており、養殖魚におけるプロバイオティクス技術開発の可能性を検討した。

1. はじめに

哺乳動物の腸内に存在する微生物は宿主の摂取した食物の消化吸収に関与したり、感染防御機構の一端を担っている。腸内フローラはその宿主の健康状態に深く関わる。近年、腸内フローラを改善することによって健康増進し、病気を予防するというプロバイオティクスが注目されるようになった。プロバイオティクスの主要な役割を果たしているのが乳酸菌である。乳酸菌は他の細菌の増殖を抑えるバクテリオシンを生産し、また、乳酸の生成により腐敗菌の生育を抑え、感染症の予防に関与している。腸内フローラの改善による病気の予防効果は、哺乳動物のみならず、海洋性の魚類においても適用可能と考えられるが、報告はほとんど無い。そこで本研究では、日本海沿岸でも養殖されているヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) の死亡原因として代表的なエドワジェラ症と近年の流行が、問題となっている新型レンサ球菌症の原因菌の増殖抑制効果のある乳酸菌を探索することを目的とした。

2. 分離源

月齢 12 ヶ月と 16 ヶ月のヒラメの腸内容物およびキムチやサバの塩辛等の食塩含有発酵食品を滅菌水で希釈し、3%NaCl および 1.5%炭酸カルシウム入りの MRS 培地で混釈培養し、炭酸カルシウムを溶解してクリアゾーンを呈する細菌の分離を試みた。その結果、ヒラメの腸内容物より、151 株、発酵食品から 172 株分離した。次に、分離した菌株の中から、乳酸菌の特徴であるグラム陽性・カタラーゼ陰性の菌株を選抜し、合計 210 株を得た。これらの菌株を顕微鏡下で形態観察を行ったところ、139 株の球菌と 19 株の桿菌を含んでいた。

3. 抗菌活性

分離した菌株の中からヒラメのエドワジェラ症の原因菌である *Edwardsiella tarda* とレンサ球菌症の原因菌である *Streptococcus parauberis*

に対して抗菌活性を示す物質を培養上清に産生する菌株の選抜した。分離菌株の培養上清の抗菌活性は、*E. tarda* および *S. parauberis* の培養液を半流動寒天培地に混釈して重層し、アガーウエル法によりスクリーニングを行った。そして、同時に寒天培地上に生育した乳酸菌に被検菌を混合したソフトアガーを重層する方法でも抗菌活性を確かめた。その結果、ヒラメの病原菌 *E. tarda* に対し、増殖阻止円を形成した菌株を 27 株、*S. parauberis* に対し、増殖阻止円を形成した菌株を 42 株分離した。*E. tarda* および *S. parauberis* に対し、増殖阻止円を形成した菌株の中から、増殖阻止円の直径の大きかったそれぞれ上位 3 菌株、合計 6 菌株について、16S rDNA 遺伝子の塩基配列の比較により、帰属分類群を推定した。その結果、*E. tarda* に対し抗菌性を示した 2 菌株は *Lactococcus garvieae*、残りの 1 菌株は *Lactobacillus curvatus* と推定された。*S. parauberis* に対し抗菌性を示したのはいずれも *Enterococcus durans* と推定できた。

4. まとめ

以上の結果から、*E. tarda* および *S. parauberis* に対し抗菌活性を示す菌株が、ヒラメの腸内から分離できたことから、これらの菌株は、ヒラメには病原性を示さず、また、ヒラメ腸内に定着可能な菌株であると推定される。分離した菌株が、ヒラメの腸内で優勢に存在する様な技術開発ができれば、エドワジェラ症の予防が可能となると考えられる。*S. parauberis* に抗菌活性を持つ菌株が、養魚場あるいは、魚体の表面に定着できれば、新型レンサ球菌症の予防も可能になると考えられる。以上のことから、本研究で分離した菌株を利用することにより、ヒラメのプロバイオティクス技術開発の道が開けたと考えられる。今後は、さらに有用な菌株の探索を行う予定である。

【研究代表者からのメッセージ】

まだ始めたばかりの研究ですが、ご興味のある方は下記へご連絡ください。
鳥取大学農学部 会見忠則 (taimi@muses.tottori-u.ac.jp)