

防腐剤による飼料繁殖性糸状菌の繁殖抑制様相

誌名	群馬農業研究. B, 蚕業
ISSN	09104127
著者	清水, 治
巻/号	5号
掲載ページ	p. 37-42
発行年月	1988年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



防腐剤による飼料繁殖性糸状菌の繁殖抑制様相

清 水 治

(群馬県蚕業試験場)

Patterns of Antiseptic Inhibitory Effects upon the Proliferation of Hyphomycetes on Artificial Diets

Osamu SHIMIZU

(Gunma Sericultural Experiment Station)

要 旨

人工飼料育蚕座から分離した *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium* の各糸状菌の防腐剤による繁殖抑制様相を知るために、ソルビン酸カリウム (SK 剤) を $0 \sim 5 \text{g}/\ell$ (飼料水分)、プロピオン酸 (PR 剤) を $0 \sim 7 \text{ml}/\ell$ (飼料水分) の範囲で混合添加した人工飼料に糸状菌を接種して飼料上での繁殖様相を観察した。SK 剤と PR 剤の濃度が高くなるにつれて、糸状菌の繁殖は両薬剤により相乗的に抑制された。糸状菌の属により薬剤に対する抵抗性は異なり、一般に *Aspergillus* 属は PR 剤で、*Paecilomyces* 属は SK 剤で繁殖が強く抑制される傾向があった。また同一属内でも薬剤抵抗性は様ではなかった。蚕の発育は SK 剤 $2 \text{g}/\ell$, PR 剤 $4 \text{ml}/\ell$ 以下で発育が良好であったが、防腐剤抵抗性の *Paecilomyces* 属の繁殖可能な濃度域を考えあわせると、蚕の発育が良好で、繁殖を防止するに有効な両薬剤の混合濃度域は、SK 剤で $1.5 \sim 2.0 \text{g}/\ell$, PR 剤で $2.5 \sim 4.0 \text{ml}/\ell$ の範囲で飼料に添加すれば良いことが推察できた。

緒 言

稚蚕人工飼料育の共同飼育所の現場においては、資金不足により建設および改修時に、十分な設備と構造が確保できず、施設が簡易すぎると思われるところもある。これらの不備に加えて、蚕室蚕具の洗浄消毒・更衣・飼料搬入・給餌時の不注意、作業後の床洗浄の不徹底等により、まれに蚕座に糸状菌の繁殖が見られることがある。

これらの飼育所の蚕座、飼料、塵埃から採取した数種の糸状菌について、人工飼料用防腐剤として優れた性質を持っているソルビン酸カリウムとプロピオン酸による繁殖抑制効果、また

糸状菌の両防腐剤に対する抵抗性の様子を調査をしておくことは、糸状菌による飼料の変質防止法を検討するうえで大切なことと考える。以下得られた知見について報告する。本文に入るに先立ち御校閲を頂いた山口孝根場長に深謝する。

材料と方法

糸状菌の採取と分離は PDA 培地を用いて行なった。菌の属同定は光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡を用いて、分生子の形成様相により行なった。分離した糸状菌の防腐剤に対する抵抗性の調査は、飼料の水分中にソルビン酸カリウム

(SK 剤と略す) を $0 \sim 5 \text{ g/l}$ (飼料水分)、プロピオン (PR 剤と略す) を $0 \sim 7 \text{ ml/l}$ (飼料水分) の間で混合添加した飼料を無菌条件下でスライス状に切って、 9 cm シャレーに入れ、これに分生子を十分に付着させた抗生物質検定用ペーパードиск (8 mm 径、 1.5 mm 厚) を埋め込んで、培養後、飼料上に繁殖したコロニーの直径を測定することによって行なった。培養条件は 28°C で行ない、コロニー直径の測定は 6 日後と 14 日後に行なった。

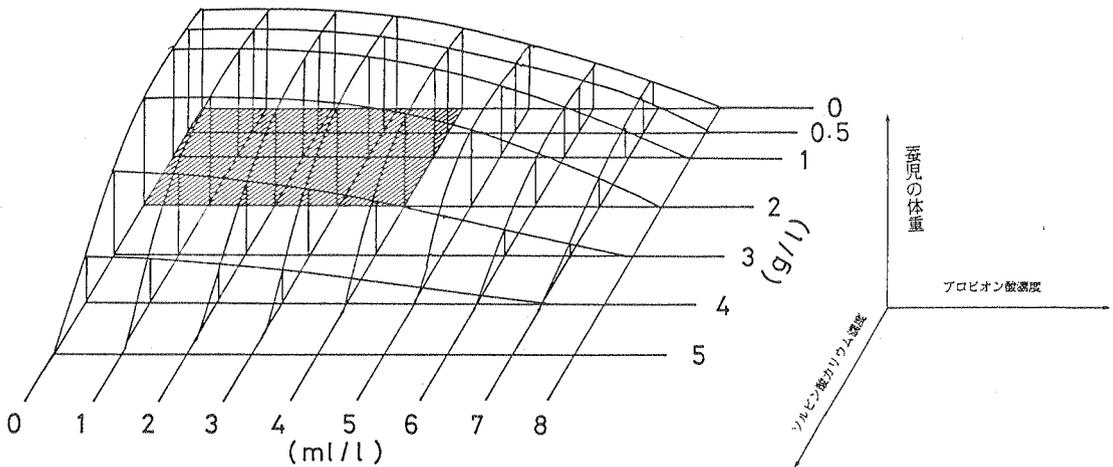
蚕の飼育は 1 令 29°C 、2 令 28°C 、3 令 27°C の条件で 9 cm シャレーを用いて、各区 40 頭で飼育し 10 日後に体重を測定した。

供試した人工飼料は“くわのはな” (群馬県蚕業試験場) で防腐剤無添加時の飼料 pH は約 5.0 である。

結 果

蚕の発育に及ぼす防腐剤の影響

SK 剤と PR 剤の両防腐剤を、それぞれ階段濃度で混合添加した飼料で蚕を蠶蚕より飼育を行ない、10 日後に 3 令期の幼虫体重を調査して防腐剤が蚕の発育に及ぼす影響を図示した (第 1 図)。幼虫体重は SK 剤、PR 剤の添加量が増すに連れて軽くなり、SK 剤が 4 g/l 、PR 剤が 6 mg/l 以上になると著しく軽くなり、発育が阻害されることが認められた。なお両防腐剤による相乗的な発育阻害は認められなかった。この結果から蚕が発育阻害を受けずにほぼ正常に発育する濃度範囲は図中の斜線で塗り潰した部分すなわち SK 剤濃度が 2 g/l 、PR 剤濃度が 4 mg/l 以下の範囲であることが推察された。



第 1 図 蚕児の発育に及ぼす防腐剤の影響

防腐剤による糸状菌の繁殖抑制効果

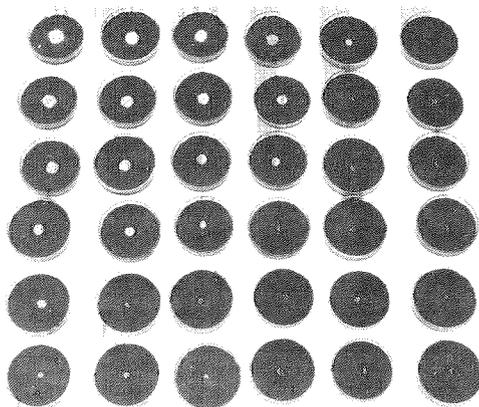
採取した *Aspergirus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* に対して、飼料に防腐剤として添加した SK 剤、PR 剤の抑制様相を調査した。

薬剤をそれぞれ階段濃度で混合添加した飼料

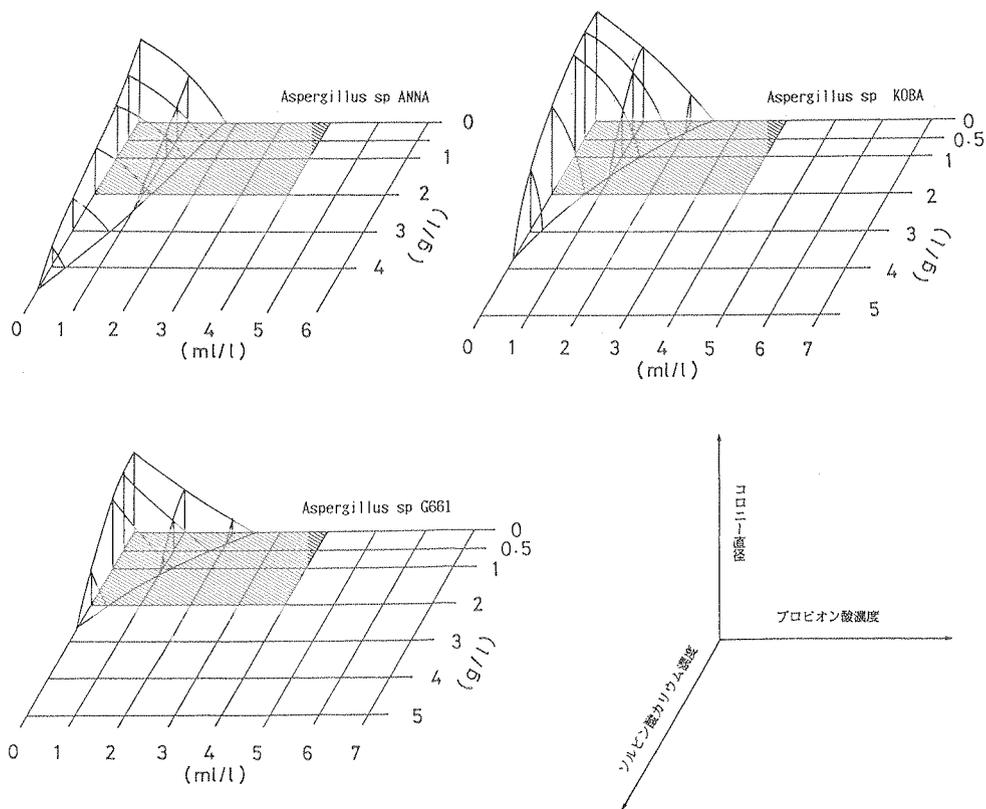
に、各糸状菌の分生子を十分に付着させた抗生物質検定用濾紙を埋め込んで培養した結果、第 2 図に示すように、薬剤濃度に応じてコロニーの直径に差が見られた。そこでコロニーの直径を測定し、その結果を図示し抑制効果を判定した。

清水：防腐剤による飼料繁殖性糸状菌の繁殖抑制様相

PDA培地上での繁殖様相とコロニーの色から分類した3種のAspergillus属糸状菌を飼料上で繁殖させてみると(第3図)、SK剤とPR剤の濃度が高くなるにつれて繁殖が抑制され、さらに両剤の混用添加により顕著な相乗抑制効果が観察された。また属内においても繁殖抑制様相に差が見られた。すなわち、Aspergillus sp. ANNA菌に於いてはSK剤ではあまり抑制されないのに対してPR剤でよく抑制される傾向が見られた。一方Aspergillus sp. G661菌ではSK剤でよく抑制されたが、PR剤については若干抵抗性が認められた。



第2図 防腐剤による糸状菌の繁殖抑制様相



第3図 防腐剤によるAspergillus属糸状菌の繁殖抑制様相

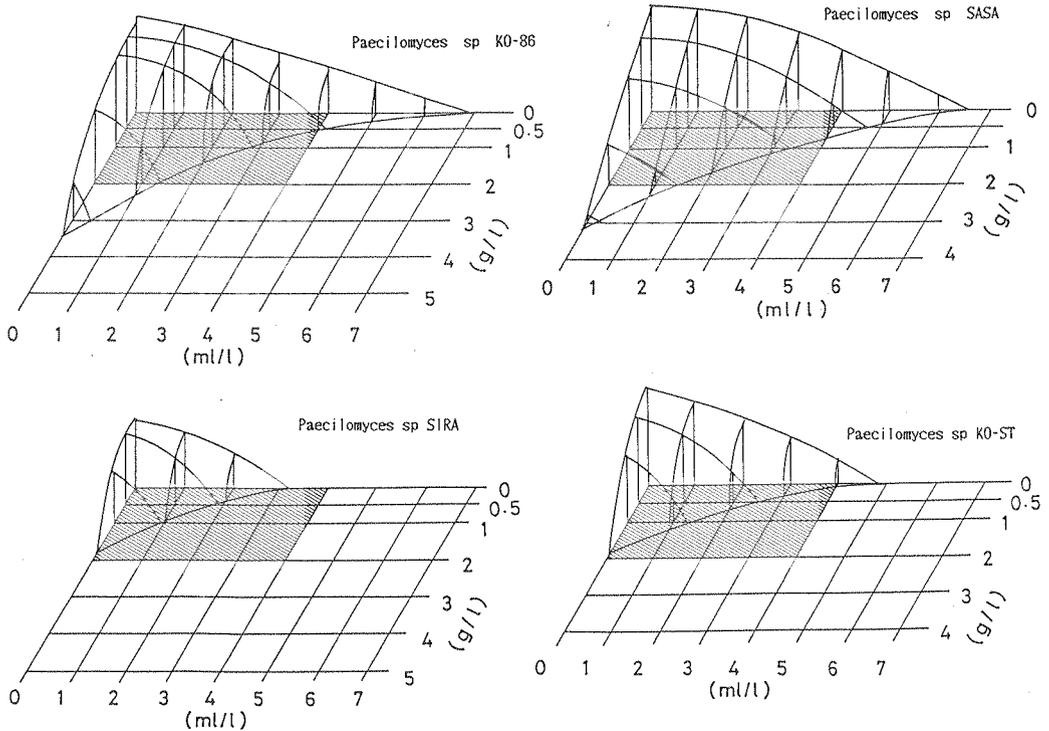
図中の斜線部は蚕児の发育良好濃度域を示す

4種のPaecilomyces属菌について防腐剤による发育抑制効果を調査してみると(第4図)、4種のうちで防腐剤に対する抵抗性に差異が見られ、Paecilomyces sp. KO-86とPaecilo-

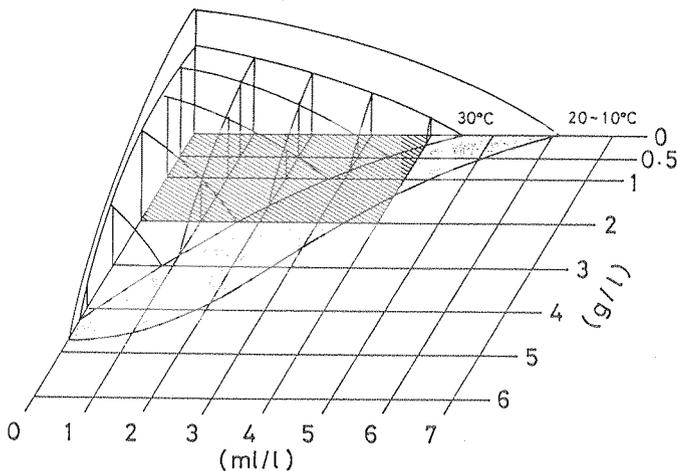
myces sp. SASAは抵抗性を示し、Paecilomyces sp. SIRAは抵抗性を示さなかった。また、Paecilomyces sp. KO-STはこれらの中で、抵抗性において中間の性質を示した。なお

Paecilomyces属はPR剤に対しても抵抗性が見られ、防腐剤に対する性質においてAspergillus属とは明らかに差異が認められた。さらにPaecilomyces属はPR剤の単独添加条件下で

は菌糸の伸長が遅く、分生子の形成が早まる。SK剤単独下では逆に菌糸が長くなり、分生子の形成が遅れる傾向が見られた。



第4図 防腐剤によるPaecilomyces属糸状菌の繁殖抑制様相
図中の単位は第3図と同じ

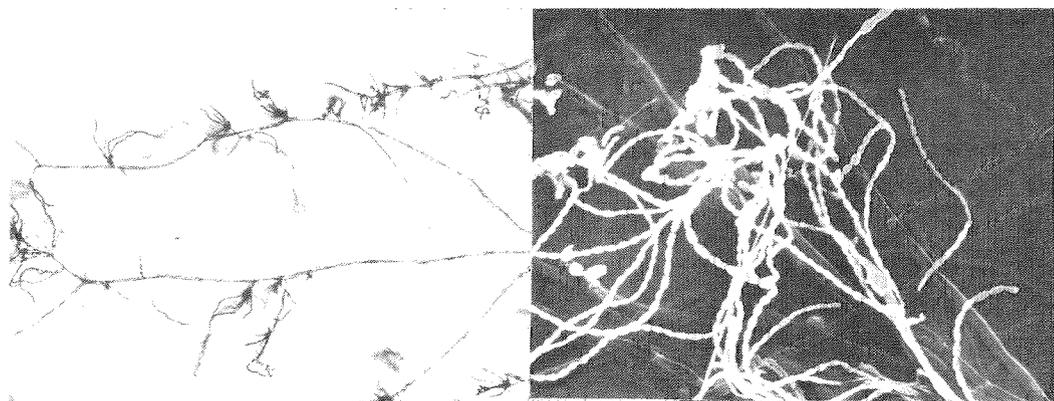


第5図 防腐剤によるPenicillium属糸状菌の繁殖抑制様相と繁殖時の温度の影響
図中の塗り潰し域は菌が低温下で繁殖可能で高温下で繁殖が抑制された濃度域を示す

5℃程度の保冷庫に放置した飼料に、しばしば特徴的にPenicillium属菌が繁殖するのが観察されるので保冷庫内で採取したPenicillium sp. FREE 菌を用いて繁殖時の温度を異にして防腐剤に対する抵抗性を調査した(第5図)。20℃と10℃ではほとんど同様な繁殖様相を示したのに対して、30℃条件下においては低温条件よりも、防腐剤により発育が抑制された。

Penicillium 属菌は20℃ ぐらいを境にして、低温下と高温下では、低温条件の方が発育速度が速くまた防腐剤抵抗性も高まる傾向が認めら

れた。なおPenicillium sp. FREE 菌の両防腐剤に対する性質は、Paecilomyces 属菌の防腐剤抵抗性菌と似た傾向を示した。



第6図 Paecilomyces属糸状菌の光学顕微鏡と走査電子顕微鏡写真

Paecilomyces 菌の形態的特徴

共同飼育所の蚕座および飼料に繁殖した糸状菌を人工飼料の繁殖性糸状菌として同定してみると、種類はそれ程多くなく、Paecilomyces, Aspergillus, Penicillium の3属にほとんど入った。これらの中でもPaecilomyces属が蚕座に繁殖する傾向が多かったので、この菌について形態的な観察を行なってみた。Paecilomyces 属の集落は黄色から茶色、一部白茶色を呈しており、菌糸はそれ程伸長せずすぐに分生子を形成するので、飼料表面に粉を撒いたように観察された。光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡で観察すると(第6図)、分生子柄は単一または分枝

し隔膜を有していた。分生子形成細胞はフィアライドとして、単生、対生、輪生、あるいは複雑な筈状を構成して配列していた。分生子は非常に長い連鎖状で存在し、分生子の表面は滑面できときに縦溝を持ち卵形または楕円形をして多少扁平状に観察された。Paecilomyces 属は Penicillium 属と類似しているが分生子の大きさ、形状連鎖の様子から容易に判別できた。高温多湿で非常によく繁殖し、分生子の形成が早く、形成された分生子の鎖は切断しやすく、容易に飛散した。飛散した分生子は蚕室内の自然状態で長期間の生存が認められた。

考 察

防腐剤が糸状菌の繁殖を良く抑制するような濃度においては、蚕の発育が遅れ体重が軽くなった。このことは、むやみに防腐剤濃度を高くして、糸状菌の繁殖を阻止することには困難があることを示唆している。

今回の試験の結果、蚕の発育をそれ程阻害しない防腐剤の濃度は、第 1 図の斜線の範囲、すなわち SK 剤 2 g/l (飼料水分) PR 剤 4 ml/l (飼料水分) 以下と見られる。この濃度範囲と防腐剤に対して最も抵抗性を示した *Paecilomyces* sp. SASA の繁殖阻止濃度 (第 4 図) を考え合わせると、蚕の発育が良好で、*Pecilomyces* sp. SASA 菌の繁殖を抑制する濃度範囲は、SK 剤 1.5~2.0 g、PR 剤 2.5~4.0 ml/l の範囲で飼料に添加すれば良いことが推察できる。

実際の飼育現場で、防腐剤が添加されているため、理論上繁殖不可能な糸状菌の繁殖が認められることがある。これは切削給餌した飼料から、PR 剤が揮散したり、露結水が蚕座に落下して、防腐力が低下しているものと思われる。また飼料中の SK 剤の濃度は蚕体内を通過して糞になった場合には、約 1/3 に減少するという報告 (川杉ら、1985) もあることなどから、蚕糞が堆積した蚕座では、防腐力の低下が進行しており、

このことが糸状菌の繁殖を可能にしているものと思われる。河上 (1984) は人工飼料上で強い生存力を持ち、繁殖しやすい糸状菌として、*Paecilomyces variotii* を検出し蚕飼育場所での高い頻度で分布して入ること、人工飼料を劣化させる糸状菌として、今後の人工飼料育における新たな対応が必要なことを示唆している。今回 *Paecilomyces* 属の中に強い防腐剤抵抗性を示す菌が存在すること。また、本菌が土壌、空気中、堆肥、木材、食品、畜産飼料、繊維製品等から広く検出されること (宇田川ら、1978)、またホルマリン抵抗性菌も存在するなどから、飼育に際しては、蚕児に見合った適正量の人工飼料の給餌を行ない残渣の堆積を少なくすることさらに露結水が蚕座に落下することがないように異常な過湿度にならぬようにすること。また汚染防止の面から、蚕室蚕具の十分な消毒と外部からの菌の侵入を防止すること、すなわち、更衣、手足の洗浄、飼料搬入時の包装面の消毒、また菌の繁殖場所を提供しないよう、作業終了時には床に落下した飼料、給餌機に付着した飼料を水道水で十分に洗い流しておくことが大切なポイントと思われるが、今後防腐剤との関係において、飼育条件、飼育経過に伴う蚕座内の防腐剤の濃度変化について、調査する必要があるものと思われる。

引 用 文 献

河上 清・上田 悟 (1984): 蚕試彙報、**121**、77~88。
川杉正一・松田基一 (1985): 蚕糸研究、**132**、71~77。

宇田川俊一・椿 啓介・堀江義一・三浦宏一郎
養浦久兵衛・山崎幹夫・横山竜夫・渡辺昌平
(1978): 菌類図鑑、(上下) 講談社、東京。