

サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究—II

人為的海水移行および餌止め飼育の
腸内細菌叢におよぼす影響

吉水 守・木村喬久・坂井 稔

(1976年3月5日受理)

Studies on the Intestinal Microflora of Salmonids—II
Effects of Artificial Transplanting from Fresh Water
into Sea Water on the Intestinal Microflora
of Feeding and Non-Feeding Fish*1

Mamoru YOSHIMIZU*2, Takahisa KIMURA*2, and Minoru SAKAI*2

A total of 92 masu salmon (*Oncorhynchus masou*) which had developed silvering were divided into 4 groups. Three of these groups were transplanted from fresh water into sea water. The feeding conditions varied with the group. Viable counts were determined in the intestinal contents or slime of these salmon, in their ambient waters and in their diets. Over 1500 strains were isolated from the above samples. The composition of the microflora was determined according to the scheme of Shewan *et al.* (1960).

The results are summarized as follows:

- 1) Microbial viable counts in the intestinal contents or slime of the fish which were transplanted under normal feeding conditions were nearly constant while those which were transplanted without being fed decreased rapidly. This decreasing tendency was found in both fresh and sea water reared non-feeding fish.
- 2) The predominant genus in the intestinal microflora of the fresh water fish was *Aeromonas*, while in sea water fish it was *Vibrio*. Upon transplanting the fish from fresh water into sea water, *Aeromonas* of the terrestrial type was gradually replaced by *Pseudomonas* as the proportion of sea water in the rearing water increased. This was followed by further replacement by *Vibrio* of the halophilic type which became predominant in the intestinal microflora.

前報¹⁾でサクラマス (*Oncorhynchus masou*) およびマスノスケ (*Oncorhynchus tshawytscha*) の腸内細菌叢について検討を行い、淡水飼育魚では *Aeromonas* および Enterobacteriaceae, 海水飼育魚では *Vibrio* がその主体を成し、*Achromobacter*, *Flavobacterium* および *Pseudomonas* などが主体を成す飼育水の菌叢とは全く異なることを報告した。

本報ではこのような淡水飼育魚と海水飼育魚における腸内細菌叢の相違が如何なる理由によるものかを実験的に知る目的で、飼育水を漸次人為的に海水で置換しながら飼育した銀化サクラマスの非給餌群と給餌群について、飼育水の腸内細菌叢におよぼす影響を観察すると共に、その結果を終始淡水中で餌止め飼育した群と対比して餌止めの影響を観察した。また給餌飼育魚の腸内容物、飼育用水および餌料から分離された菌

*1 本研究の概要は昭和48年度日本水産学会秋期大会(鹿児島)において発表した。

*2 北海道大学水産学部微生物学講座(Lab. Microbiol., Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Hokkaido, Japan)

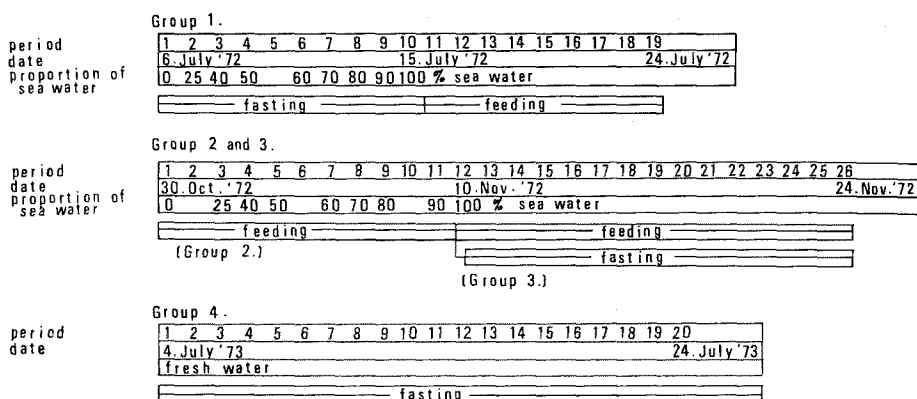


Fig. 1. Rearing condition at each stage in the artificially transplanting period from fresh water into sea water, and in fresh water without being fed.

Table 1. Fish used for the experiment

group	rearing		Species of fish	Number of fish	B. L.* ¹ (cm)	B. W.* ² (g) (average)
	place	date				
1	H. M. C. C.* ³	June-July '72	masu salmon (<i>O. masou</i>)	64	17.5	59.0
2	"	Oct.-Nov. '72	"	43	20.3	107.3
3	"	Nov. '72	"	10	21.0	106.2
4	F. F.* ⁴	June '73	"	38	15.0	41.7

cf. *¹: body length of fish

*²: body weight of fish

*³: Hokkaido Marine Cultivation Center

*⁴: private fish farm

株について、消化管の菌種選択能に関連し、低 pH 値および胆汁に対する抵抗性を検討し、併せて発育における海水中の主要無機塩に対する要求性に基づく日高らの型別法²⁻⁴⁾によつて、菌型別を行つた結果について報告する。

実験方法

供試魚 1972年7月および同10月、道立水産孵化場森支場（以下森支場と称す）で飼育中の銀化サクラマス計117尾を、道立栽培漁業センター（茅部郡鹿部村、以下栽培センターと称す）の15°C培養室中におけるFRP製1ton水槽2基に移して飼育し、海水移行実験に供試し、また1973年7月、森支場の銀化サクラマス38尾を函館近郊七飯町内の民営養魚場に移して15°Cの湧水中で飼育し、淡水中の餌止め飼育実験に供試した。

飼育方法 供試魚を Fig. 1 に示すごとく4群に分け、下記の方法で飼育した。

第1群：給餌せず飼育水中の海水の割合を漸次高めて10日後に100%海水となるようにし、以後の9日間は給餌しながら飼育した。第2群：給餌しながら漸次海水の割合を高め12日後に100%海水とし、その後さらに14日間飼育した。第3群：第2群の100%海水への移行完了後、その一部を給餌せず14日間

Table 2. Microbial viable counts in the waters and in the diets

sample	sampling date	water temp.	medium	viable counts
Group 1				
fresh water (a)	6. July '72	14.7	F* ¹	2.0×10^5 /ml
sea water (a)	15.	14.5	S* ²	1.1×10^3 "
sea water (b)	24.	14.8	S	1.8×10^3 "
fresh water (b)	24.	14.8	F	1.7×10^2 "
diet (<i>Neomysis</i> sp.)	24. July '72	—	S	1.0×10^6 /g
Group 2 and 3				
fresh water (c)	2. Nov. '72	12.3	F	4.8×10^4 /ml
sea water (c)	25.	11.6	S	3.1×10^2 "
sea water (d)	24.	12.0	S	9.5×10^3 "
fresh water (d)	24.	11.9	F	9.2×10^3 "
diet (<i>Neomysis</i> sp.)	15. Dec. '72	—	S	1.2×10^6 /g
Group 4				
fresh water (e)	14. June '73	15.5	F	1.2×10^4 /ml
fresh water (f)	17.	16.2	F	6.3×10^3 "

cf. *¹: fresh water agar

*²: three quarter strength sea water agar

飼育した。第4群: 淡水中で20日間給餌せずに飼育した。なお各群の供試魚の平均体重・体長はTable 1に示した。

培養材料 腸内容物: 第1群~第3群は飼育水の海水割合が0, 25, 50, 70, 100%の各時点および実験最終日, 第4群は飼育開始後0, 1, 4, 7, 10, 14, および20日目において, それぞれ各群5尾宛総計92尾の腸内容物を下記の方法で採取した。飼育用水: 栽培センターでは1972年7月および10月の実験期間中に計5回飼育用淡水および海水を, また民営養魚場では1973年7月の実験期間中に2回飼育用水を採取した。餌料: 飼育魚に給餌した冷凍オキアミ類(*Neomysis* sp.)を1972年7月および同12月の2回採取した。

腸内容物の採取法 前報¹⁾と同様の方法によつたが, 腸管内に内容物をほとんど容れていない供試魚については腸管内の粘質物を採取した。また1972年7月の供試魚のうち, 腸管内にほとんど粘質物も容れないものについては同様の部位の腸管の両端を結紮し, これに注射器で飼育水の海水割合に応じて希釈した滅菌海水0.5 mlを注入し, 数回腸管内に出入させた洗浄液を採取した。

生菌数測定法と分離菌株の分類法 前報¹⁾とほぼ同様であるが, 培養材料の希釈液は飼育水中の海水割合が25%までの試料については滅菌生理的食塩水, 50%および75%の場合は1/2濃度, 100%海水時の場合全濃度のHERBSTの処方による滅菌人工海水²⁾を用い, 培地は溶媒を除き同一組成の淡水培地(FWA), 1/2濃度人工海水培地(1/2 SWA)および3/4濃度人工海水培地(SWA)を併用した。腸内容物あるいは粘質物および餌料は1g当り, また飼育用水および腸内洗浄液については1 ml当りの生菌数として算出した。

低pH値および胆汁に対する抵抗性 第2群の供試魚の腸内容物, 飼育用水および餌料からの分離菌株のそれぞれから, 各genus別に無作為に抽出した代表菌株53株について, pH 5.0, 5.5および6.0に調製した分離培地の組成から寒天のみ除いた液体培地および分離培地(pH 7.2~7.5)に胆汁末(極東)を0.5, 1.0, 2.5, 5.0および10.0%の割合に添加した平板培地で25°C 5日間培養を行い, それぞれの発育状態を観察した。

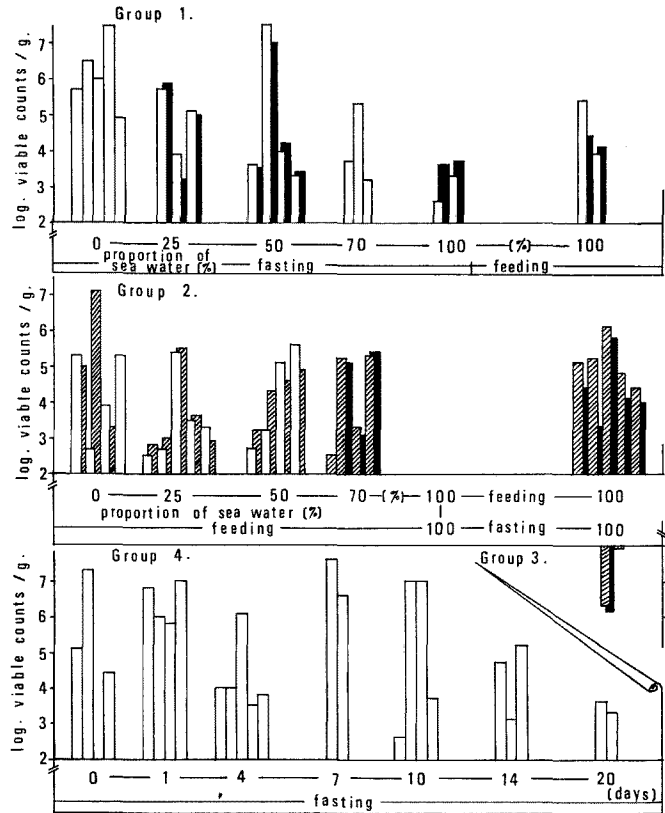


Fig. 2. Microbial viable counts in the intestinal contents or slime of smolt masu salmon in the artificially transplanting period from fresh water into sea water and in fresh water without being fed.

cf. □: viable counts on fresh water agar medium
 ▨: on half strength sea water agar medium
 ■: on three quarter strength sea water agar medium

日高ら²⁻⁴⁾の発育における海水中の主要無機塩に対する要求性に基づく型別法 第2群の供試魚の腸内容物、飼育用水および餌料からの分離菌株のそれぞれから各 genus 別に無作為に抽出した代表菌株 116 株について、日高ら²⁻⁴⁾の方法に準拠して陸 (T) 型、好塩 (H) 型、海洋 (M) 型の型別を行った。

結 果

飼育用水および餌料中の生菌数 Fig. 1 に示した各群の飼育期間中に採取した飼育用水および餌料の生菌数を Table 2 に示した。栽培センターで採取した飼育用淡水および海水ならびに民営養魚場の飼育用水の生菌数は少ない場合で 10^2 /ml, 多い場合 10^6 /ml 程度で、また餌料中の生菌数は $10^5 \sim 10^8$ /g 程度であった。

飼育魚の腸内生菌数 海水移行過程および餌止め飼育中の各段階における飼育魚の腸内生菌数の推移は Fig. 2 に示すごとくで、第1群では日数の経過と共に淡水培地および海水培地による生菌数が共に減少する傾向を示し、特に海水割合が 70% の時点では上記培養法による限り、供試魚 5 尾中の 3 尾のみが、淡水

Table 3. Generic distribution of microorganisms isolated from the waters and in the diets

sample	sampling date	medium	<i>Micrococcus</i>	Coryneforms	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium/ Cytophaga</i>	Enterobacteriaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Yeast	Number of the isolates
Group 1												
fresh water (b)	24. July '72	F * ¹	% 0	0	5	0	0	95	0	0	0	20
sea water (b)	24.	S * ²	0	0	47	0	0	53	0	0	0	17
diet (<i>Neomysis</i> sp.)	24. July '72	S	83	13	0	0	0	0	0	0	4	30
Group 2 and 3												
fresh water (d)	24. Nov. '72	F	% 9	0	0	5	0	86	0	0	0	21
sea water (c)	25.	S	0	0	20	0	0	68	12	0	0	25
sea water (d)	24.	S	0	0	37	0	0	73	0	0	0	30
diet (<i>Neomysis</i> sp.)	15. Dec. '72	S	90	10	0	0	0	0	0	0	0	30
Group 4												
fresh water (f)	17. June '73	F	% 8	15	35	23	0	19	0	0	0	26

cf. *¹, *²: see Table 2.

培地において測定が可能であった。しかしこのような供試魚も海水移行完了後引き続き給餌飼育することにより、再び生菌数の増加する個体がみられるようになった。第2群（給餌群）においては、個体差は認められるが生菌数の減少傾向は認められず、海水移行過程ではほぼ一定に経過し、また海水移行完了後海水中で餌止め飼育した第3群では第2群に比べ著しい生菌数の減少が認められた。また対照の終始淡水中で餌止め飼育した第4群においては経日的に生菌数の漸減傾向が認められたが、第1群に比べその傾向は著明でなかった。

細菌叢 供試魚の腸内容物（あるいは腸内粘質物）、飼育用水および餌料より分離した1559株から継代不能株を除いた1427株について、前報¹⁾同様 SHEWAN *et al.* の分類方法²⁾に準拠してgenusレベルの分類を行った。その結果を分離菌株数に対する各genusの出現率で表わすとTable 3~Table 6に示すごとくである。

飼育用水ではTable 3に示すごとく淡水、海水ともに *Pseudomonas* および *Achromobacter* がその主体を占め、さらに海水では *Vibrio* が若干検出された。また餌料では *Micrococcus*, Coryneforms* などのグラム陽性菌が菌叢を構成していた。

第1群においてはFig. 2に示したように飼育水の海水割合の増加と共に腸内生菌数が急激に減少したが、その菌叢はTable 4にみられるごとく実験開始時にその主体を占めていた *Aeromonas* および Enterobacteriaceae が飼育水の海水割合の増加と共に漸次減少する傾向を示し、これらに代つて *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Achromobacter*, Coryneforms および Yeast などが出現して一時複雑な菌叢を示したが、その後徐々に出現菌種が単純化する傾向を示した。しかしその後の給餌飼育によりTable 3に示した餌料の菌叢の主体を成したグラム陽性の *Micrococcus*, Coryneforms および Yeast の外に、飼育用水中に検出される *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Vibrio* などから成る複雑な菌叢を示すに至つた。

* SHEWAN らは便宜上グラム陽性の桿菌を形状に基づき Coryneforms として一括分類している。

Table 4. Generic distribution of microorganisms isolated from the intestinal contents or slime of smolt masu salmon in the artificially transplanting period from fresh water into sea water

fish No.	sampling date	proportion of sea water	medium	<i>Micrococcus</i>	Coryneforms	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium/Cytophaga</i>	Enterobacteriaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Yeast	Number of the isolates
fasting (Group 1)* ¹													
1	7. July '72	0%	F* ²	% 0	0	0	0	37	0	0	63	0	30
2				0	0	0	0	83	0	0	17	0	30
3				0	0	0	0	0	5	0	95	0	22
6	8. July '72	25%	F	0	50	0	0	0	50	0	0	0	2
7				0	0	0	0	4	96	0	0	0	30
8				60	0	20	0	0	0	0	20	0	5
9				0	0	0	0	0	16	0	84	0	19
12	11. July '72	50%	F	0	0	0	0	0	0	0	100	0	29
14			1/2 S* ³	37	11	0	0	0	4	0	0	48	27
15			F	4	21	8	0	0	4	0	0	63	24
18	13. July '72	70%	F	0	0	0	0	0	0	0	0	100	27
19				0	0	0	0	4	0	0	0	96	26
23	16. July '72	100%	S* ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	100	28
25				0	0	0	0	0	100	0	0	0	30
feeding (Group 1)* ¹													
26	24. July '72	100%	S	% 0	5	0	0	0	0	0	0	95	20
30			F, S	68	11	6	0	6	5	4	0	0	59

cf. *¹: see Fig. 1.

*²: fresh water agar

*³: half strength sea water agar

*⁴: three quarter strength sea water agar

第2群および第3群では Table 5 にみられるごとく、実験開始時は *Aeromonas* がその主体を成すことは第1群の場合と同様であつたが、飼育水の海水割合が増加するにつれ、急激に *Pseudomonas* の占める割合が大きくなり、引きつぎ *Vibrio* が徐々にこれに代つて菌叢の主体を占めるに至つた。また第3群も Fig. 2 にみられるごとく、著明な生菌数の減少が認められたが、菌叢は第2群と同様に *Vibrio* がその主体を成した。

淡水中で終始餌止め飼育した第4群は Fig. 2 にみられるごとく、腸内生菌数が経日的に漸減したが、その菌叢は Table 6 にみられるごとく、餌止め10日後までは一般的に *Aeromonas* がその主体を占め、14日後に至り体力の消耗と共にこれに代つて *Coryneforms* が主体を成す個体がみられるようになった。

分離菌株の低 pH 値および胆汁に対する抵抗性 第2群の供試魚の腸内容物、飼育用水および餌料より分離した菌株から genus ごとに無作為に抽出したそれぞれの代表菌株について低 pH 値液体培地および胆汁添加培地における発育能を観察した結果、Table 7 および Table 8 にみられるごとく、腸内容物由来の *Aeromonas*, *Pseudomonas* および *Vibrio*, 海水由来の *Pseudomonas* の一部と *Vibrio* のすべては pH 5.5, 5~10% 胆汁添加培地で発育が可能であつた。一方餌料由来の *Micrococcus* と *Coryneforms* のほと

Table 5. Generic distribution of microorganisms isolated from the ineestinal contents or slime of smolt masu salmon in the artificially transplanting period from fresh water into sea water

fish No.	sampling date	proportion of sea water	medium	Micrococcus	Coryneforms	Achromobacter Flavobacterium/ Cytophaga	Enterobacteriaceae	Pseudomonas	Vibrio	Aeromonas	Yeast	Number of the isolates	
feeding (Group 2)* ¹													
31	1. Nov. '72	0%	F* ²	% 3	0	7	0	0	20	0	70	0	30
33			F	17	28	38	0	0	0	0	17	0	29
34			F	0	0	3	0	13	17	0	67	0	30
35	2. Nov. '72	25%	1/2 S* ³	0	17	0	0	0	83	0	0	0	6
36			1/2 S	0	17	0	0	0	67	16	0	0	6
37			F	0	0	0	0	0	89	11	0	0	27
38			1/2 S	0	0	0	0	0	94	6	0	0	18
41	5. Nov. '72	50%	1/2 S	0	0	5	0	0	37	58	0	0	19
42			1/2 S	0	0	0	0	0	37	63	0	0	30
45	7. Nov. '72	70%	1/2 S	0	0	0	0	0	10	90	0	0	30
46			S* ⁴	3	0	3	0	0	17	73	0	0	30
47			1/2 S	0	0	12	0	0	0	88	0	0	8
48			1/2 S	0	0	0	0	0	17	83	0	0	30
51	24. Nov. '72	100%	S	0	0	3	0	0	0	97	0	0	30
52			S	0	0	3	0	0	0	97	0	0	30
53			S	0	0	0	0	0	0	100	0	0	30
fasting (Group 3)* ¹													
56	24. Nov. '72	100%	S	% 0	0	0	0	0	0	100	0	0	19

cf. *¹: see Fig. 1., *²~*⁴: see Table 4.

んどは胆汁添加培地で発育が可能であつたが、pH 5.5 液体培地における発育は認められなかつた。

分離菌株の発育における海水中の主要無機塩に対する要求性に基づく型別 継代不株能を除く分離菌 1427 株から分離材料および genus 別に無作為に抽出した計 116 株について、日高らの方法²⁻⁴⁾により型別を行つた結果は Table 9 に示すごとくで、淡水飼育魚の腸内容物由来の *Aeromonas* はすべて陸 (T) 型、海水移行過程における供試魚の腸内容物由来の *Pseudomonas* は陸 (T) 型と好塩 (H) 型が相半ばし、海水移行完了後の供試魚の腸内容物由来の *Vibrio* はすべて好塩型であつた。一方海水ならびに餌料由来株は、いずれの genus においても前者は好塩 (H) 型あるいは海洋 (M) 型、後者は陸型 (T) 乃至好塩 (H) 型であつた。

考 察

飼育水の海水割合を人為的に漸次高めつつ淡水環境から海水環境へ移行飼育した供試魚を非給餌群 (第 1 群) と給餌群 (第 2 群) に分けて、移行過程における供試魚の腸内菌数および腸内菌叢の推移を観察した結果、非給餌群の腸内菌数は経日的に減少し、同様のことは海水移行完了後餌止め飼育した第 3 群および淡水中で餌止め飼育した第 4 群においても認められたが、その傾向は特に海水割合の上昇につれ著明であつた。これに対し給餌群においては海水への移行過程および移行完了後の飼育中においても腸内菌数の減少は観察

Table 6. Generic distribution of microorganisms isolated from the intestinal contents or slime of smolt masu salmon reared in fresh water without being fed

fish No.	sampling date	duration of fasting (days)	<i>Micrococcus</i>	Coryneforms	<i>Achaomobacter</i>	<i>Flavobacterium/</i> <i>Cytophaga</i>	Enterobacteriaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Yeast	Number of the isolates
fasting (Group 4)*1												
60	4. June '73	0	% 0	7	20	0	0	14	0	59	0	29
61			0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
63			15	10	5	0	0	15	0	55	0	20
64	5. June '73	1	0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
65			0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
68	8. June '73	4	9	55	0	0	0	9	0	27	0	11
69			0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
70			0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
73	11. June '73	7	40	40	20	0	0	0	0	0	0	5
74			0	0	0	0	0	40	0	60	0	25
77			0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
78	14. July '73	10	0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
79			0	13	0	0	0	0	0	0	87	8
80			0	0	0	0	0	0	0	100	0	22
81			0	10	90	0	0	0	0	0	0	30
83	18. June '73	14	0	100	0	0	0	0	0	0	0	2
85			0	75	20	0	0	0	0	0	5	20
86			0	100	0	0	0	0	0	0	0	7
87			0	0	0	0	0	0	0	100	0	30

cf. *1: see Fig. 2.

されなかつた (Fig. 2)。また腸内菌叢については、各群を通じ実験開始時には *Aeromonas* が主体を成し、その他 Table 3 に示した飼育用淡水 (*Pseudomonas* が主体を成す) および餌料 (グラム陽性菌が主体を成す) に由来することが推察される菌種および Enterobacteriaceae などにより構成されていたが、非給餌群の第 1 群では上述のごとく海水割合の上昇につれ、腸内菌数の減少と共に *Aeromonas*, Enterobacteriaceae が検出されなくなり、一時は複雑な菌叢を呈したが、その後 *Pseudomonas* あるいは Yeast などの単純な菌叢を示すに至った。しかしこのような供試魚は餌止めによる体力の消耗によるものかその後の給餌により、飼育用海水 (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Vibrio* が主体を成す)、餌料などの影響を受け、再び複雑な菌叢を示すに至った (Table 4)。

一方給餌しながら海水移行を行つた第 2 群では、第 1 群と同様に実験開始時の *Aeromonas* およびその他の構成菌叢が消滅すると共に、飼育用淡水および海水の菌叢の影響を受けつつ推移し、海水移行完了時においてはほとんど *Vibrio* によつて占められ、このような供試魚はその後の餌止め海水飼育によつても依然として *Vibrio* がその主体を成していた (Table 5)。これに反し淡水中で餌止め飼育した第 4 群では *Aeromonas* が終始菌叢の主体を成したが、餌止めによる体力の消耗につれ、Coryneforms などが主要構成菌叢として出現するに至った (Table 6)。

以上の結果は前報¹⁾において淡水飼育魚の腸内菌叢は *Aeromonas* および Enterobacteriaceae, 海水飼

Table 7. Growth of some isolates in low pH medium

pH	Number of strains grown in given low pH					
	<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Micrococcus</i> <i>Coryneforms</i>		
6.5	10/10* ¹	10/10* ¹	4/10* ²	10/10* ¹	3/3* ²	10/10* ³
5.5	10/10	10/10	4/10	10/10	3/3	0/10
5.5	0/10	3/10	2/10	0/10	3/3	0/10

cf. *¹: isolated from the intestinal contents*²: isolated from sea water*³: isolated from the diets

Table 8. Susceptibility of some isolates to bile

Concentration of bile in the medium	Number of strains grown in given concentration of bile					
	%	<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Micrococcus</i> <i>Coryneforms</i>	
0.0	10/10* ¹	10/10* ¹	10/10* ²	10/10* ¹	3/3* ²	10/10* ³
0.5	10/10	10/10	6/10	10/10	3/3	9/10
1.0	10/10	10/10	6/10	10/10	3/3	9/10
2.5	10/10	10/10	4/10	10/10	3/3	9/10
5.0	10/10	10/10	4/10	10/10	3/3	9/10
10.0	9/10	8/10		8/10		

cf. *¹: isolated from the intestinal contents*²: isolated from sea water*³: isolated from the diets

Table 9. Typification by inorganic salt requirement for growth of some isolates

genus	Number of strains isolated from								
	intestine			sea water			diets		
	T* ¹	H* ²	M* ³	T	H	M	T	H	M
<i>Aeromonas</i>	30/30	0/30	0/30						
<i>Pseudomonas</i>	12/25	13/25	0/25	0/11	5/11	6/11			
<i>Vibrio</i>	0/30	30/30	0/30	0/3	3/3	0/3			
<i>Achromobacter</i>				0/2	0/2	2/2			
<i>Micrococcus</i>							9/13	4/13	0/13
<i>Coryneforms</i>							2/2	0/2	0/2

cf. *¹: terrestrial type*²: halophilic type*³: marine type

育魚では *Vibrio* が主体を成すと報告した所見を実験的に肯定するものと考えられる。

次に上述の供試魚にみられた腸内菌叢は Table 3 に示した飼育用水や餌料の菌叢とは明らかに異り、淡水飼育魚および海水飼育魚のそれぞれに特異的な菌叢が認められたが、このことに関連して、Table 7 および Table 8 に示すごとく腸内容物、飼育用海水および餌料から分離した菌株から無作為に抽出したそれ

それぞれの代表株について低 pH 液体培地および胆汁添加寒天培地における発育能を検査した結果、腸内容物由来株は菌種による差異なくこれらの培地によく発育し、AISO *et al.*,⁷⁾ SERA *et al.*,⁸⁻¹¹⁾ の報告にみられるごとく魚体側の腸内菌叢に対する菌種選択能の存在が推定された。また日高らの型別法²⁻⁴⁾ に従って淡水飼育、海水移行過程および海水移行完了後の各供試魚の腸内由来株を型別した結果、Table 9 にみられるごとく淡水飼育魚由来の *Aeromonas* 株はすべて陸 (T) 型、海水移行過程の供試魚由来の *Pseudomonas* 株は陸 (T) 型と好塩 (H) 型が相半ばし、海水移行完了後の供試魚由来の *Vibrio* 株はすべて好塩 (H) 型であったが、この結果は前報¹⁾ の環境水の違いによる腸内菌叢の差および上記の魚体側の腸内菌叢に対する菌種選択能の存在と併せて興味ある所見である。

ところでサケ科魚類には生息環境水の浸透圧変化に対応する手段として、海水環境に移行する際のいわゆる“水飲み現象”¹²⁻¹³⁾ なる行為が知られている。しかるに Fig. 2 にみられるごとく、海水移行過程 (第 1 群) および移行完了後の非給餌飼育魚 (第 3 群) の腸内菌数は飼育用水の菌数に比較しその数はきわめて低い。このことは淡水飼育の非給餌群 (第 4 群) においても認められるが、海水移行群に比しそれ程著明でない。すなわち海水飼育魚の腸内菌数は海水摂取よりもむしろ摂餌による影響が大きいものと推察される。

また淡水、海水飼育の如何にかかわらず、非給餌群における腸内菌数は減少したがその菌叢は前者では *Aeromonas*、後者では *Vibrio* が主体を成し、これらは少くとも本実験実施期間の約 10 日間は腸管内に留まることが明らかにされた。このことは摂餌物を容れていない腸管あるいは絶食後の腸内からは細菌が検出されないとする報告¹⁴⁻¹⁷⁾ とは若干異なるが、供試魚の体力が消耗しない限り、かなり長期間保持されるものと考えられる。なおこの点については今後摂餌活動がないとされている溯河魚や成熟魚¹⁸⁾ などについて追究する所存である。

要 約

淡水飼育中の銀化サクラマスの飼育水を人為的に漸次海水で置換して海水割合を高めながら飼育した非給餌群と給餌群について、海水移行の腸内菌叢におよぼす影響を調べると共に、淡水中で餌止め飼育をした群を対照に餌止め飼育の影響を観察し、次のごとき結論を得た。

1. 給餌飼育群では海水移行による腸内生菌数の変化はほとんど認められず、その菌叢は淡水飼育時にその主体を成した日高ら²⁻⁴⁾ のいわゆる陸型の *Aeromonas* が漸次好塩型の *Pseudomonas* および *Vibrio* に置きかわり、遂には *Vibrio* がその主体を成すに至った。
2. 非給餌飼育群では腸内生菌数は急激に減少し、その傾向は特に飼育水中の海水割合の上昇につれて著しく、その構成菌叢は一時複雑化したのが徐々に単純化する傾向を示した。しかしこのような供試魚もその後の給餌により生菌数の増加と魚体の衰弱による餌料の菌叢の影響が観察された。
3. 海水移行後餌止め飼育した供試魚も腸内生菌数は減少したが、その菌叢は *Vibrio* が主体を成した。
4. 終始淡水中で餌止め飼育した供試魚も、経日的に腸内生菌数が減少したが、比較的長期間 *Aeromonas* が菌叢の主体を成すことが観察された。
5. 以上の結果から魚類は腸内菌叢に対する固有の菌種選択能を有することを推察した。

謝 辞

本研究の遂行に当り、貴重なる試料・施設の提供ならびに種々御援助を頂いた北海道立栽培漁業センター場長結城了伍博士、道立水産孵化場の栗倉輝彦博士ならびに宝水産株式会社の寺田 稔氏に厚く御礼申し上げる。

文 献

- 1) 吉水 守・木村喬久・坂井 稔: 本誌, 42, 91-99 (1976).
- 2) 日高富男: 鹿大水紀要, 12, 135-152 (1964).
- 3) 日高富男: 同誌, 14, 127-180 (1965).

- 4) T. HIDAKA and M. SAKAI: *Misaki Marine Biol. Inst. Kyoto Univ.*, **12**, 125-149 (1968).
- 5) 中村 浩: 微生物学ハンドブック (微生物学ハンドブック編集委員会編), 技報堂, 東京, 1957, pp. 621.
- 6) J. M. SHEWAN, G. HOBBS, and W. HODGKISS: *J. appl. Bacteriol.*, **23**, 463-468 (1960).
- 7) K. AISO, U. SHIMIZU, and K. HASUO: *J. gen. Microbiol.*, **52**, 361-364 (1968).
- 8) 瀬良 洋・木俣正雄: 本誌, **38**, 50-55 (1972).
- 9) H. SERA and Y. ISHIDA: *This Bull.*, **38**, 633-637 (1972).
- 10) H. SERA and Y. ISHIDA: *ibid.*, **38**, 853-858 (1972).
- 11) H. SERA, Y. ISHIDA, and H. KADOTA: *ibid.*, **38**, 859-863 (1972).
- 12) 内田清一郎: 魚類生理 (川本信之編), 恒星社厚生閣, 東京, 1970, pp. 302-333.
- 13) 内田清一郎: 海洋動物生理, 東大出版会, 東京, 1973, pp. 125-140.
- 14) A. C. HUNTER: *J. Bacteriol.*, **5**, 353-358 (1920).
- 15) M. M. OBST: *J. Infect. Dis.*, **24**, 158-169 (1919).
- 16) L. MARGOLIS: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **10**, 62-63 (1953).
- 17) 反町 稔・江草周三: 魚病研究, **6**, 1-7 (1971).