



Title	サケ科魚類の稚仔魚期における腸内細菌叢の形成時期について
Author(s)	吉水, 守; 木村, 喬久; 坂井, 稔
Citation	日本水産学会誌, 46(8), 967-975 https://doi.org/10.2331/suisan.46.967
Issue Date	1980-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38610
Rights	© 1980 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	yoshimizu-16.pdf



サケ科魚類の稚仔魚期における腸内細菌叢の形成時期について^{*1,2}

吉水 守・木村 喬久・坂井 稔

(1980 年 3 月 7 日受理)

Microflora of the Embryo and the Fry of Salmonids^{*2}Mamoru YOSHIMIZU^{*3}, Takahisa KIMURA^{*3}, and Minoru SAKAI^{*4}

Masu salmon *Oncorhynchus masou* and chum salmon *O. keta* were cultured from the stages of the fertilized egg to spring fry, and were used to know when the normal intestinal microflora was established. The microbial viable counts and the microflora of the egg surface, yolk sac, body surface, digestive tract, and intestinal contents of sac fry, advanced fry, and fingerling were investigated. Simultaneously ambient water and their diets were also investigated microbiologically.

The results obtained are summarized as follows.

1. The microbial viable counts on the surface of eggs were 10^3-10^6 /g, and the microflora *Flavobacterium*/Cytophagaceae and *Pseudomonas* were dominant.
2. The yolk of alevin and sac fry were sterile, but from the body surface of sac fry 10^1-10^4 /g viable microbial counts were obtained, the microflora were effected by the flora of ambient water, composed of *Pseudomonas*, *Flavobacterium*/Cytophagaceae, and *Achromobacter*.
3. The microbial viable counts in the whole digestive tract of sac fry and advanced fry were nil to 10^4 /g, but the intestinal contents of advanced fry and fingerling were 10^3-10^7 /g. The microflora of the whole digestive tract of sac fry were effected by the flora of diet and ambient water, and were composed of *Coryneforms* and *Pseudomonas*. However, in later stages the microflora of the intestinal contents of advanced fry and fingerling were mainly composed of *Aeromonas* as was the previous finding.
4. From the above results it was assumed that the normal intestinal microflora of salmonids were established when the yolk was absorbed and the digestive tract was activated, at the stage of advanced fry.

ヒトをはじめウシ、ブタ、ヒツジ、イヌ、ニワトリなど種々の温血動物の出生後における腸内細菌叢の形成に関しては、既に多くの報告がみられるが¹⁻¹¹⁾、魚類におけるこの分野の研究としては、わずかに BELL *et al.*¹²⁾ がサケ卵表面の細菌叢を観察した報告がみられるにすぎない。

前報¹³⁻¹⁸⁾までにサケ科魚類について、それらの生活史を通して腸内細菌叢の観察を行い、その結果生活史の初期、すなわち淡水生活期における腸内細菌叢は、環境水あるいは餌料の菌叢と異なり、genus *Aeromonas* および family Enterobacteriaceae、時には genus *Pseudomonas* がその主体を成すことを明らかにした。

本報ではこのような腸内細菌叢が、稚仔魚の成長過程

の如何なる時期において確立されるかを知る目的で、サクラマス *Oncorhynchus masou* およびシロサケ *O. keta* を対象に、それらの受精後の胚胎期から稚魚に至る間に、卵表面、孵化稚魚の体表、臍ノウ内容物、消化管、浮上稚魚の腸内容物などについて、生菌数とそれらの菌叢の変化を観察し、併せて飼育用水、餌料についても同様の観察を行つて、腸内細菌叢の形成時期を探索したので、その結果について報告する。

実験材料および方法

飼育用水 1975 年 9 月より 1976 年 3 月に至る間に計 17 回、北海道立水産孵化場森支場における飼育用水を滅菌フラスコに採取、氷蔵して研究室に持ち帰り、直

^{*1} 本研究の概要は昭和 51 年 10 月、日本水産学会秋季大会において発表した。

^{*2} サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究—VI (Studies on the Intestinal Microflora of Salmonids—VI).

^{*3} 北海道大学水産学部微生物学講座 (Lab. Microbiol., Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Hokkaido 041, Japan).

^{*4} 現、広島文化女子短期大学食物栄養学科 (Present Address, Dept. Food and Nutrition, Hiroshima Bunka Woman's Junior College, Gion-cho, Hiroshima 731-01, Japan).

ちに実験に供した。なお運搬に要した時間は約1時間であつた。

飼育用餌料 1975年9月と12月に計3回、森支場で稚魚の飼育に使用している人工餌料(日清製粉社製)を滅菌フラスコに採取し、飼育用水と同様にして研究室に持ち帰り、直ちに実験に供した。

供試魚卵 1975年9月、森支場で飼育中の成熟サクラマスおよび同年11月、函館市銭亀沢漁業協同組合の汐泊川孵化場で溯上中に捕獲したシロサケからそれぞれ採卵、人工受精を行い直ちに森支場の孵化室に移し、以後の実験に供した。すなわちサクラマスについては受精後6日目から発眼期に至るまでの間に計5回、またシロサケについては受精直後から孵出するまでの間に計8回、それぞれ卵5個体を1検体として無菌的に試験管中に採取し、秤量後10倍量の滅菌生理的食塩水で卵表面を十分に洗浄し、この洗浄液を培養に供した。

孵化稚魚 1975年11月より12月の間にサクラマス稚魚計11尾(孵出後10~20日、体長2.3~2.8cm、体重0.15~0.19g)、また1976年2月中にシロサケ稚魚計16尾(孵出直後~20日、体長2.4~3.7cm、体重0.21~0.60g)をそれぞれ無菌的に試験管に取り、氷藏して研究室に持ち帰り、直ちに実験に供した。なお体表の生菌数を測定する場合は、上記の卵の場合と同様に秤量後10倍量の滅菌生理的食塩水で体表を十分に洗浄し、この洗浄液を培養に供した。

浮上稚魚 1976年1月、サクラマス稚魚5尾(孵出後約2ヵ月、体長3.2~4.4cm、体重0.35~0.68g)また同年3月、シロサケ稚魚(孵出後約2ヵ月、体長3.8~4.3cm、体重0.40~0.55g)をそれぞれ採取、即殺して前記同様に研究室に持ち帰り直ちに実験に供した。

春稚魚 1976年2月および3月、サクラマス稚魚計

8尾(孵出後約3ヵ月および4ヵ月、体長4.8~7.6cm、体重1.3~3.3g)を採取、即殺して前記同様に研究室に持ち帰り直ちに実験に供した。

臍ノウ内容物、消化管および腸内容物 孵化稚魚の臍ノウ内容物については、供試魚体表を70%アルコールで消毒後、臍ノウ膜を切開し、内容物を無菌的に採取して秤量後、滅菌生理的食塩水にて50~100倍に希釈し培養に供すると共に、白金耳にて直接平板面にも画線培養した。また孵化稚魚の消化管は同様に体表を消毒後、臍ノウを除去し食道部から肛門直前までの消化管全体を無菌的に摘出し、滅菌乳鉢中で十分すりつぶして培養に供した。さらに孵化稚魚、浮上稚魚および春稚魚の腸内容物については前記と同様に摘出した消化管の幽門垂末端から肛門直前までの内容物をピンセットで無菌的に押出し、秤量後滅菌生理的食塩水にて20倍に希釈し培養に供した。

生菌数の測定および分離菌株の分類 生菌数の測定は前報¹³⁻¹⁵⁾までと同様に淡水培地¹⁵⁾を用い、20°C・5日間の培養を行い、飼育用水については1ml当り、卵表面では卵重1g当り、孵化稚魚体表では体重1g当り、さらに臍ノウ、消化管および腸内容物については試料1g当りの生菌数で示した。

また分離菌株のgenusレベルの分類は前報¹³⁻¹⁵⁾までと同様に SHEWAN *et al.*の方法¹⁰⁾に準拠して実施したが、分類不能の多数の黄色色素産生株については HENDRIE *et al.*の方法²⁰⁾および Bergey's Manual²¹⁾を参照して作成したFig. 1に示すflow chartにより分類した。

結 果

飼育用水および飼育用餌料の生菌数と菌叢 飼育用水

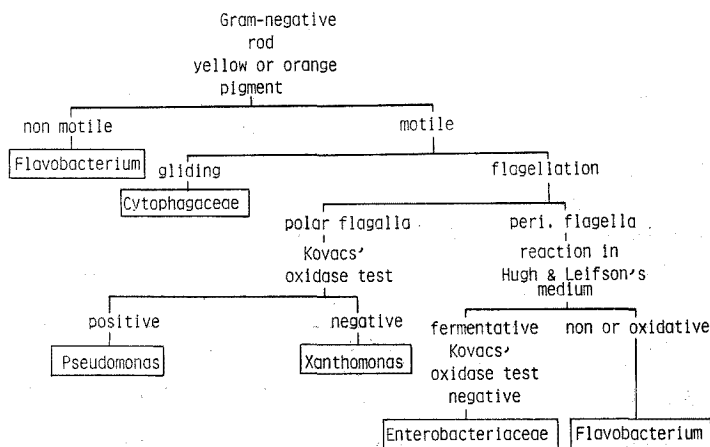


Fig. 1. An outline of the sequence of tests used in the screening of yellow pigment colony.

Table 1. Viable microbial counts in the supplying water and the diet

Sample	Sampling date	Water temp. (°C)	Viable counts (ml or g)
Water	29. Sep. '75	13.8	4.2×10^3
	2. Oct.	13.7	2.2×10^3
	7.	12.6	2.2×10^3
	14.	11.0	4.1×10^3
	21.	11.0	1.2×10^4
	2. Dec. '75	8.3	3.2×10^3
	9.	8.0	2.9×10^3
	16.	7.0	1.1×10^4
	23.	8.2	3.0×10^3
	6. Jan. '76	8.6	4.9×10^3
	13.	8.2	8.7×10^3
	20.	7.0	1.0×10^3
	27.	8.2	7.4×10^3
	3. Feb. '76	7.8	4.8×10^3
	10.	—	8.8×10^2
Diet	27. Feb. '76	9.2	2.5×10^3
	24. Mar. '76	10.0	2.2×10^4
	21. Oct. '75	—	1.3×10^3
	9. Dec.	—	2.7×10^2
	18.	—	1.4×10^4

および飼育用餌料の生菌数を試料採取年月日および水温と共に Table 1 に示した。用水の生菌数は $10^2 \sim 10^4$ /ml で越冬期において若干減少する傾向が認められたが、ほぼ 10^3 /ml のオーダーで終始し、また餌料の生菌数も $10^2 \sim 10^4$ /g 程度であった。

次に用水および餌料から分離された 180 株のうち継代が不能となつた 7 株を除く 173 株について genus レベルの分類を行つた結果は Table 2 に示すごとくで、用

水の菌叢では *Pseudomonas*, *Flavobacterium*/Cytophagaceae, *Coryneforms*, *Micrococcus* などが主体を成し、一方餌料の菌叢は比較的単純で *Coryneforms* および *Micrococcus* がその主体を成していた。

胚胎期の卵表面の生菌数と菌叢 サクラマスおよびシロサケ胚胎期の卵表面の生菌数を試料採取年月日、受精後の経過日数、供試卵の合計重量などと共に Table 3 および Table 4 に示した。

すなわち Table 3 にみられるように発眼期までのサクラマス卵表面からは $10^4 \sim 10^6$ /g の範囲内で生菌数が測定され、飼育日数の経過と共に漸増する傾向を示した。

同様にシロサケ卵表面の生菌数は Table 4 にみられるように、 $10^3 \sim 10^5$ /g の範囲内でサクラマスと同様に発眼期に至るまで漸増する傾向が観察されたが、その後は徐々に減少し、孵化直前では 10^4 /g 程度の生菌数が測定された。

以上の胚胎期の卵表面より分離された計 140 株についての分類結果は Table 5 に示す通りで、受精後 6~9 日目のサクラマス卵表面からの分離菌株は *Flavobacterium*/Cytophagaceae, *Xanthomonas*, *Pseudomonas* などが主体を成し、またシロサケ卵の場合も初期の段階では類似した菌叢を示したが、飼育日数の経過と共に *Flavobacterium*/Cytophagaceae の割合が増加し、発眼期以後はこれが最優勢種として経過した。

孵化種魚の臍ノウ内容物、体表ならびに消化管の生菌数と菌叢 サクラマスおよびシロサケ孵化稚魚の臍ノウ内容物、体表ならびに消化管の生菌数を試料採取年月日、受精後の経過日数、体長、体重と共に Table 6 および Table 7 に示した。

Table 6 にみられるように臍ノウ内容物から細菌は検

Table 2. Generic distribution of microorganisms isolated from the supplying water and the diet

Sample	Sampling date	<i>Micrococcus</i>	<i>Coryneforms</i>	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium</i> / Cytophagaceae	<i>Xanthomonas</i>	Enterobacteriaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i> *	Yeast	Unclassified	Number of the isolates
Water	29. Oct. '75	11	5	5	11	11	5	47	5	0	0	0	19
	9. Dec.	0	0	11	22	0	5	56	0	5	0	0	18
	20. Jan. '76	4	21	9	4	4	0	54	0	0	0	4	24
	27. Feb.	11	21	11	32	0	0	21	0	4	0	0	19
	24. Mar.	0	4	4	56	0	0	32	0	4	0	0	25
Diet	21. Oct. '75	16	44	0	0	0	0	20	0	0	0	20	25
	9. Dec.	50	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
	18. Dec.	4	79	4	0	0	0	13	0	0	0	0	23

* include some strains, no gas from glucose, no sensitivity to O/129 and terrestrial type.

Table 3. Viable microbial counts on the egg surface of masu salmon

Sampling date	Duration of the day	Sample	Number of the samples	Sample weight (g)	Viable counts/g
29. Sep. '75	6	Fertilized egg	5	0.895	9.7×10^4
2. Oct.	9	"	5	0.771	9.2×10^4
		"	5	0.928	2.7×10^5
8.	15	"	5	0.990	7.9×10^4
		"	5	0.914	5.2×10^4
14.	21	"	5	0.682	1.4×10^5
		"	5	0.758	1.9×10^5
21.	28	Eyed egg	5	0.837	1.2×10^5

Table 4. Viable microbial counts on the egg surface of chum salmon

Sampling date	Duration of the day	Sample	Number of the samples	Sample weight (g)	Viable counts (/g)
2. Dec. '75	0	Fertilized egg	5	1.133	3.7×10^3
9.	7	"	5	1.150	6.1×10^3
16.	14	"	5	1.037	1.1×10^4
23.	21	"	5	1.273	1.6×10^4
6. Jan. '76	35	Eyed egg	5	1.252	3.7×10^4
13.	42	"	5	1.050	4.8×10^5
20.	49	"	5	1.054	2.1×10^5
27.	56	"	5	1.372	1.9×10^4

Table 5. Generic distribution of microorganisms isolated from the egg surface of masu and chum salmon

Species	Sampling date	Stage	Micrococcus	Coryneforms	Achromobacter	Flavobacterium/ Cytophagaceae	Xanthomonas	Enterobacteriaceae	Pseudomonas	Vibrio	Aeromonas	Yeast	Unclassified	Number of the isolates
Masu salmon	29. Sep. '75	Fertilized egg	%	20	5	35	15	0	25	0	0	0	0	20
	2. Oct.		0	0	0	25	50	0	20	0	5	0	0	20
Chum salmon	2. Dec. '75	Fertilized egg	%	0	0	0	45	10	45	0	0	0	0	20
	9.		0	0	0	20	15	10	45	0	10	0	0	20
	23.	Eyed egg	0	0	25	5	10	0	55	0	5	0	0	20
	13. Jan. '76		0	0	15	60	0	0	25	0	0	0	0	20
	20.		0	10	0	90	0	0	0	0	0	0	0	20

出されなかつたが、体表からは体重 1 g 当り $10^2 \sim 10^3$ 程度の生菌数が測定され、また消化管からは $10^1 \sim 10^3$ /g の範囲内で測定された。

一方シロサケの場合も Table 7 にみられるように臍ノウ内容物からはいずれも細菌は検出されず、また稚魚(3尾を1検体とした)の体重 g 当りの体表の生菌数は $10^3 \sim 10^4$ 程度であつたが、消化管では3個体中の2個体

において細菌は検出されず、1個体においてのみ 10^4 /g のオーダーの生菌数が測定された。

以上の孵化稚魚の臍ノウ内容物、体表および消化管のうち、生菌数が測定された体表および消化管からの分離株中、継代が不能であつた9株を除く131株について実施した分類の結果は Table 8 に示すごとくで、サクラマスおよびシロサケ両者共に、体表では *Pseudomonas*

Table 6. Viable microbial counts in the yolk, on the body surface, and in the digestive tract of the sac fry of masu salmon

Fish No.	Sample	Sampling date	Duration of the day	Body length (cm)	Body weight (g)	Viable counts/g
1	Yolk	27. Nov. '75	65	2.3	0.15	N*
2				2.3	0.15	N
3				2.3	0.15	N
4	Body surface	2. Dec.	70	2.6	0.18	1.7×10^3
5				2.5	0.17	5.3×10^2
6				2.6	0.19	1.4×10^3
7		9.	77	2.7	0.18	2.2×10^3
8				2.3	0.16	2.9×10^2
9				2.8	0.19	9.3×10^2
10				2.8	0.19	2.2×10^3
11				2.5	0.16	4.7×10^2
7	Digestive tract	9. Dec.	77	2.7	0.18	8.5×10^1
8				2.3	0.16	3.4×10^2
9				2.8	0.19	1.4×10^1
10				2.8	0.19	5.1×10^3
11				2.5	0.16	1.4×10^2

* negative result.

Table 7. Viable microbial counts on the body surface, in the yolk, and in the digestive tract of the alevins or the sac fry of chum salmon

Fish No.	Sample	Sampling date	Duration of the day	Stage	Body length (cm)	Body weight (g)	Viable counts/g
—	Body surface	3. Feb. '76	63	Alevins	—	0.80	3.7×10^4
—		10.	70	Sac fry	—	0.66	2.6×10^3
25	Yolk	3. Feb.	63	Alevins	2.4	0.21	N*
26					2.3	0.21	N
27		10.	70	Sac fry	2.5	0.23	N
28					2.5	0.26	N
29	Digestive tract	27. Feb.	87	Sac fry	3.5	0.59	4.3×10^4
30					3.3	0.53	N
31					3.4	0.55	N

* negative result.

および *Flavobacterium*/Cytophagaceae が菌叢の主体を成し、またサクラマス消化管では *Flavobacterium*/Cytophagaceae の占める割合は比較的小さく、前述の飼育用餌料において高率に認められた *Coryneforms* および *Micrococcus* の占める割合が大で、菌叢は *Coryneforms*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*/Cytophagaceae, *Micrococcus* などにより構成されていた。

孵化稚魚、浮上稚魚および春稚魚の腸内生菌数と菌叢
サクラマスの浮上稚魚および春稚魚、ならびにシロサケの孵化稚魚および浮上稚魚の腸内生菌数を採取年月日、孵出後の経過日数、体長ならびに体重と共に Table 9 および Table 10 に示した。

Table 9 にみられるようにサクラマス浮上稚魚および春稚魚の腸内生菌数は共に $10^3 \sim 10^7$ /g の範囲内で測定され、またシロサケにおいても Table 10 にみられるように孵化稚魚および浮上稚魚の腸内生菌数は共に $10^3 \sim 10^5$ /g の範囲内で測定された。

以上の孵化稚魚、浮上稚魚および春稚魚の腸内容物より分離された計 335 株の分類結果は Table 11 および Table 12 に示す通りである。すなわち Table 11 にみられるように、サクラマス浮上稚魚の腸内菌叢は *Pseudomonas*, *Coryneforms*, *Aeromonas*, *Achromobacter* などにより構成され、前述の飼育用餌料および飼育用水の影響が認められたが、春稚魚では *Aeromonas* が優勢と

Table 8. Generic distribution of microorganisms isolated from the body surface and the digestive tract of the sacfry of masu and chum salmon

Fish No.*	Species	Sampling date	Sample		<i>Micrococcus</i>	Coryneforms	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium/</i>	Cytophagaceae	<i>Xanthomonas</i>	Enterobacteriaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Yeast	Unclassified	Number of the isolates
7	Masu salmon	9. Dec. '75	Body surface	%	0	0	0	11	0	0	83	0	6	0	0	18	
8					0	7	0	32	0	7	47	0	7	0	0	15	
11					0	0	0	40	0	0	55	0	0	0	5	20	
7		9. Dec.	Digestive tract	%	16	0	10	16	0	0	53	0	5	0	0	19	
8					0	53	0	0	0	5	42	0	0	0	0	19	
11					0	35	0	15	0	5	40	0	0	0	5	20	
29	Chum salmon	3. Feb. '76	Body surface	%	0	25	0	60	0	0	15	0	0	0	0	20	

* see Table 6 and Table 7.

Table 9. Viable microbial counts in the intestinal contents of juvenile masu salmon

Fish No.	Sampling date	Duration of the day	Stage	Body length (cm)	Body weight (g)	Viable counts/g
12	27. Jan. '76	126	Advanced fry	3.2	0.35	1.6×10^3
13				4.1	0.58	2.8×10^3
14				3.4	0.35	2.6×10^4
15				4.4	0.68	3.2×10^5
16				3.5	0.36	1.1×10^5
17	27. Feb.	157	Fingerling	5.9	1.9	1.7×10^6
18				4.9	1.4	1.8×10^7
19				4.8	1.3	1.0×10^7
20				5.6	1.8	1.1×10^6
21				5.3	1.9	1.2×10^7
22	24. Mar.	182	Fingerling	7.3	3.3	7.7×10^4
23				7.6	2.9	6.7×10^5
24				5.5	1.7	8.9×10^4

Table 10. Viable microbial counts in the intestinal contents of juvenile chum salmon

Fish No.	Sampling date	Duration of the day	Stage	Body length (cm)	Body weight (g)	Viable counts/g
32	27. Feb. '76	87	Sac fry	3.7	0.60	1.1×10^5
33				3.5	0.60	1.2×10^5
34				3.6	0.58	5.7×10^5
35	24. Mar.	112	Advanced fry	4.0	0.50	2.6×10^5
36				4.3	0.55	3.8×10^5
37				4.3	0.55	2.0×10^5
38				3.8	0.40	2.0×10^4

Table 11. Generic distribution of microorganisms isolated from the intestinal contents of juvenile masu salmon

Fish No.*2	Sampling date	Stage		<i>Micrococcus</i>	<i>Coryneforms</i>	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium/Cytophagaceae</i>	<i>Xanthomonas</i>	Enterobacteriaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i> *1	Yeast	Unclassified	Number of the isolates
12	27. Jan. '76	Advanced fry	%	0	45	10	0	0	0	15	0	0	20	10	20
14				5	10	60	0	0	0	15	0	10	0	0	20
15				0	0	0	0	0	0	45	0	55	0	0	20
16				0	25	0	0	0	0	60	0	10	0	5	20
17	27. Feb.	Fingerling	%	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	20
19				0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	20
21				0	0	0	0	0	0	5	0	95	0	0	20
22	24. Mar.	Fingerling	%	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	25
23				0	0	0	0	0	0	16	0	84	0	0	25
24				0	0	0	0	0	0	4	0	96	0	0	25

*1 include some strains; no gas from glucose, un-sensitivity of O/129, and terrestrial type.

*2 see Table 9.

Table 12. Generic distribution of microorganisms isolated from the intestinal contents of juvenile chum salmon

Fish No.*1	Sampling date	Stage		<i>Micrococcus</i>	<i>Coryneforms</i>	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium/Cytophagaceae</i>	<i>Xanthomonas</i>	Enterobacteriaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i> *2	Yeast	Unclassified	Number of the isolates
32	27. Feb. '76	Sac fry	%	5	10	5	50	0	0	30	0	0	0	0	20
33				0	10	10	65	0	0	10	0	5	0	0	20
34				0	0	0	0	0	10	55	0	35	0	0	20
35	24. Mar.	Advanced fry	%	0	0	0	0	0	28	32	0	40	0	0	25
36				0	4	0	0	0	0	8	0	88	0	0	25
37				0	10	0	0	0	0	10	0	80	0	0	10

*1 see Table 10, *2 include some strains; see Table 11.

なり、以後もこのパターンが継続した。

一方シロサケにおいては Table 12 にみられるように孵化稚魚の腸内菌叢は *Flavobacterium/Cytophagaceae*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Coryneforms* などにより構成され、上記のサクラマスの場合よりも飼育用水の菌叢の影響が強く認められた。しかし浮上稚魚では *Aeromonas* の占める割合が増大し、これが優勢種として終始する傾向が認められた。

考 察

以上はサクラマスおよびシロサケを対象に胚胎期から稚魚に至る成長過程中的の卵表面、孵化稚魚の体表、臍ノ

ウ内容物および消化管、浮上稚魚および春稚魚の腸内容物についてそれらの生菌数と菌叢を観察した結果であるが、胚胎期の卵表面からは卵重量 g 当り $10^3 \sim 10^6$ の範囲内で生菌数が測定され、発眼期を最高に増加する傾向が観察された (Table 3 および Table 4)。その菌叢は発生初期の段階では飼育用水の菌叢 (Table 2) に類似して *Pseudomonas*, *Flavobacterium/Cytophagaceae*, *Xanthomonas* などにより構成されているが、日数の経過と共に *Flavobacterium/Cytophagaceae* の占める割合が増加し、これが発眼期には菌叢の主体を成すに至ることが観察された (Table 5)。この結果は卵表面においては *Flavobacterium* あるいは *Cytophaga* が高率に検

出されると報告している BELL *et al.*¹²⁾ の見解に一致し、これらは胚胎期の卵表面特有の菌叢であることが推察された。

次に孵化後、臍ノウが未吸収の時期の孵化稚魚においては、いずれの検体においても臍ノウ内容物から細菌は検出されなかつたが、体表からは体重 g 当り $10^2 \sim 10^4$ 程度の生菌数が測定され (Table 6 および Table 7)、またその菌叢は *Pseudomonas*, *Flavobacterium*/Cytophagaceae, *Coryneforms* などにより構成され、体表の菌叢は前述の飼育用水の菌叢に類似することが観察された (Table 8)。

次いで孵化稚魚の消化管からは $10^1 \sim 10^3$ /g の範囲で生菌数が測定され、その菌叢は *Pseudomonas*, *Flavobacterium*/Cytophagaceae の他、餌料において高率を占めた (Table 2) *Coryneforms*, *Micrococcus* などの影響が推察され (Table 8)、またシロサケにおいても同様の傾向が認められたことから (Table 12)、この時期においては摂餌と共に取り込まれる飼育用水および餌料の菌叢の影響を受けることが観察された。

一方臍ノウ吸収後の浮上稚魚および春稚魚の腸内容物では、個体差は認められるが $10^3 \sim 10^7$ /g の範囲で生菌数が測定され、この結果は前報¹³⁻¹⁸⁾までの飼育魚および天然生息魚の場合と同程度であつた (Table 9 および Table 10)。またその菌叢については浮上当初 *Coryneforms* および *Pseudomonas* が主体をなしていたが、その後急速に *Aeromonas* の占める割合が増加し (Table 11 および Table 12)、臍ノウが吸収されるこの時期において前報までに観察されたサケ科魚類固有の腸内菌叢が形成されることが観察された。なおこの時期は消化管が発達し、かつ各種消化腺も機能化することが知られており²²⁾、この時期に腸管内に特定の微生物生息環境が形成され、この環境に適応した菌種により固有の菌叢が形成されるものと推察される。

以上のように水圏生物の魚類においても、陸上温血動物における場合¹⁻¹¹⁾と同様に、孵化後、最初に体表、鰓、口腔などが環境水中の細菌群により汚染され、次いで消化管の発達と共に細菌が消化管内へ運ばれ、消化管の環境に適応した菌種がそこに定着することが推察された。すなわち腸内細菌叢はまず生息水の菌叢、次いで摂餌により餌料の菌叢の影響を受けるが、成長と共に消化管および消化腺が機能化し、臍ノウの吸収が完了する孵化後約2ヵ月前後より、前報¹³⁻¹⁸⁾までに観察されたような固有の腸内細菌叢が形成されるものと推察された。

要 約

サクラマスおよびシロサケを対象に、受精後胚胎期から稚魚に至る成長過程において、卵表面、孵化稚魚の

体表、臍ノウ内容物および消化管、浮上稚魚および春稚魚の腸内容物、飼育用水ならびに餌料について、それらの生菌数とその菌叢を比較観察して以下のごとき結果を得た。

1. 胚胎期の卵表面からは発眼期を最高に、卵重量 g 当り $10^3 \sim 10^6$ の範囲で生菌数が測定され、その菌叢は *Flavobacterium*/Cytophagaceae および *Pseudomonas* が主体を成したが、その後前者の割合が経日的に漸増した。
2. 孵化稚魚の臍ノウ内容物から細菌は検出されなかつたが、体表からは体重 g 当り $10^2 \sim 10^5$ の生菌数が測定され、その菌叢は *Pseudomonas*, *Flavobacterium*/Cytophagaceae を主体とし、飼育用水の菌叢に類似した。
3. 孵化稚魚の消化管および腸内容物からは $10^1 \sim 10^3$ /g の範囲で生菌数が測定され、その菌叢は *Pseudomonas*, *Coryneforms*, *Flavobacterium*/Cytophagaceae などが主体を成し、この時期では未だ飼育用水あるいは餌料の菌叢の影響が認められた。
4. 臍ノウ吸収後の浮上稚魚および春稚魚の腸内容物からは、 $10^3 \sim 10^7$ /g の範囲で生菌数が測定され、またその菌叢は成長と共に徐々に *Aeromonas* が主体を成すに至る傾向を示し、この時期にこれら魚類固有の腸内細菌が形成されることが観察された。

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の御援助を頂いた北海道立水産孵化場森支場の阿刀田光紹氏 (現在、同孵化場宗谷支場長) に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) T. MITSUOKA und K. HAYAKAWA: *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, **223**, 333-342 (1972).
- 2) 光岡知足: 日本細菌学会誌, **29**, 773-788 (1974).
- 3) H. W. SMITH and W. E. CRABB: *J. Path. Bact.*, **82**, 53-66 (1961).
- 4) R. D. WILBUR, D. V. CATRON, L. Y. QUINN, V. C. SPEER, and V. W. HAYS: *J. Nutr.*, **71**, 168-175 (1960).
- 5) 和田和夫・片岡弘毅・光岡知足・新政敏晴・尾形 学: 日獣誌, **27**, 215-220 (1965).
- 6) 波岡茂郎・村田晋芳・長田 久・西沢武彦・黒岡良治: 日獣誌, **27**, 221-231 (1965).
- 7) C. N. HUHTANEN and T. M. PENSACK: *Poult. Sci.*, **44**, 825-830 (1965).
- 8) Y. OCHI, T. MITSUOKA, und T. SEGA: *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, **193**, 80-95 (1964).
- 9) 松本治康・馬場榮一郎・石川尚明・甫立六州: 日獣誌, **38**, 485-494 (1976).
- 10) M. LERCHE und G. REUTER: *Zbl. Bakt. I.*

- Abt. Orig.*, **182**, 324-356 (1961).
- 11) 坂崎利一: 獣医微生物学, 上巻(平戸勝七編), 養賢堂, 東京, 1964, pp. 62-72.
 - 12) G.R. BELL, G.E. HOSKINS and W. HODGKISS: *J. Fish. Res. Board Can.*, **28**, 1511-1525 (1971).
 - 13) 吉水 守・木村喬久・坂井 稔: 日水誌, **42**, 91-99 (1976).
 - 14) M. YOSHIMIZU and T. KIMURA: *Fish Path.*, **10**, 243-259 (1976).
 - 15) 吉水 守・木村喬久・坂井 稔: 日水誌, **42**, 863-873 (1976).
 - 16) 吉水 守・木村喬久・坂井 稔: 日水誌, **42**, 875-884 (1976).
 - 17) 吉水 守・木村喬久・坂井 稔: 日水誌, **42**, 1281-1290 (1976).
 - 18) 吉水 守・木村喬久・坂井 稔: 日水誌, **42**, 1291-1298 (1976).
 - 19) J.M. SHEWAN, G. HOBBS, and W. HODGKISS: *J. appl. Bact.*, **23**, 463-468 (1960).
 - 20) M. S. HENDRIE, T. G. MITCHEL, and J. M. SHAWAN: Identification Methods for Microbiologists, Part B. (ed. by B.M. GIBBS and D.A. SHAPTON), Academic Press, London and New York, 1968, pp. 67-78.
 - 21) R.E. BUCHANAN and N.E. GIBBONS: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8 ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974, p. 1246.
 - 22) 田中 克: 稚魚の摂餌と発育(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 1975, pp. 7-23.