

## 水陸両生魚，ムツゴロウとトビハゼの 消化管内細菌フローラの性状

森井 秀昭，笠間憲太郎

### The Characteristics of Bacterial Flora in the Digestive Tracts of Mudskipper Fishes

*Boleophthalmus pectinirostris* and *Periophthalmus cantonensis*

Hideaki MORII and Kentaro KASAMA

The physiological characteristics and the inhibitory effects of lower pH and bile on growth for bacterial flora of the gills and digestive tracts of mudskipper fishes *Boleophthalmus pectinirostris* and *Periophthalmus cantonensis* and mud on a mud flat were studied to discuss the primary factors which control the composition of the flora in the tracts. The percentage of bacterial strains decomposed amino acids was higher in *Vibrio* than in coryneforms, which were mainly isolated in the tracts. The percentage of the strains decomposed amino acids-protein was higher in *Vibrio* of the tracts especially intestine of *P. cantonensis* (animal food) than in that of *B. pectinirostris* (plant food), and moreover the pattern of decomposition of amino acids-saccharides was different between both the *Vibrios*. The percentage of the strains decomposed amino acids-protein-carbohydrates and the pattern of decomposition of amino acids-saccharides in *Vibrio* of the mud were similar to those in *Vibrio* of the intestine of *P. cantonensis* but not in *Vibrio* of the intestine of *B. pectinirostris*, and those had not significance between coryneforms of the gills, stomach, intestine and the mud. These facts suggested that *Vibrio* of the tracts are controlled by food habits, *Vibrio* of the tracts of *P. cantonensis* is connected with feeding animal organic matters on the mud, and coryneforms are transient in the tracts. The inhibitory effects of bile were larger in *Vibrio* than in coryneforms, and in coryneforms for the effects of lower pH. These facts interpreted occupation of *Vibrio* in the intestine of both the fishes and of coryneforms in the stomach of *B. pectinirostris* which has a higher progressive stomach.

key words: 水陸両生魚 mudskipper fish; ムツゴロウ *Boleophthalmus pectinirostris* ;  
トビハゼ *Periophthalmus cantonensis* ; 消化管 digestive tract ;  
細菌フローラ bacterial flora

前報<sup>1)</sup>では、ムツゴロウとトビハゼの鰓・胃・腸およびその生息干潟泥における生菌数と細菌フローラを季節、塩分、酸素分圧などを考慮してしらべ、消化管内細菌フローラの構成を支配するいくつかの要因について検討した。このうち、胃がより発達したムツゴロウの胃ではコリネ型細菌、未発達のとビハ

ゼの胃ではコリネ型細菌の他 *Vibrio* が主に分離され、この両者の相違は胃の pH との関連性が考えられるとし、また腸では胃とは異なり両魚種とも *Vibrio* が優占し、この優占には胆汁が重要な役割りを果たすであろうとした。一方、ムツゴロウとトビハゼでは食性を異にすることから、消化管内フローラ

は食性に支配されている可能性があるとした。

そこで今回は, ムツゴロウとトビハゼの鰓・胃・腸および生息干潟泥から分離した菌株の発育に及ぼす低 pH と胆汁の影響および生理学的性状をしらべ, 同魚類の消化管内フローラの構成を支配する要因としての可能性を検討するとともに, 汽水域に生息し, 干潟上で生活するこれら両生魚類としての, また似た生活と活動をしながらも食性と消化管の形態を異にする同じハゼ科のムツゴロウとトビハゼとしての消化管内フローラの特異性をも知ろうとした。

## 実験方法

### 供試菌

供試菌は長崎県諫早市の本明川河口域に生息するムツゴロウ *Boleophthalmus pectinirostris* とトビハゼ *Periophthalmus cantonensis* の鰓・胃・腸およびその生息干潟表層泥から分離し, 同定を行った492菌株で, 菌属またはグループ別に整理して Table 1 に示す。なお供試魚, 供試泥, 供試菌の詳細は前報<sup>1)</sup>を参照されたい。

### 生理学的性状検査

アンモニア産生・硫化水素産生・インドール産生・アルギニン加水分解・リジン脱炭酸・オルニチン脱

炭酸・ゼラチン液化・カゼインのペプトン化・デンプン分解・糖 (アラビノース・ラムノース・マンノース・シュクロース・ラフィノース) 分解の各試験を行った。カゼインのペプトン化試験は新細菌培地学講座記載の方法<sup>2)</sup>に準じたが, 他は前報<sup>3)</sup>と同様に行った。

### 発育に及ぼす低 pH と胆汁の影響試験

低 pH の影響試験は基本培地 (50%海水に Oxoid Lab Lemco 1% と Oxoid Peptone 1% を加える) の pH を塩酸と水酸化ナトリウムで 6.0, 5.5, 5.0, 4.5 に調整し, これに 25°C (以後培養温度は 25°C とする) での 18-36 時間培養 (pH 7.4 の基本培地を用いた) の 1 白金耳を接種し, 2-3 日培養後に肉眼的に濁りの有無を観察し, 発育の可否を判定した。

胆汁の影響試験は供試魚の胆汁を用いた実験が望ましいが, 同魚類から実験に必要な量の胆汁を得るのは極めて困難で, 従って同じ魚類のハマチの胆汁と, これと成分を異にした牛の胆汁を用いて実験した。なお, 薄層クロマトグラフィー分析と赤外吸収スペクトル分析の結果, ハマチ胆汁にはタウロコール酸とタウロデオキシコール酸が存在した点では牛胆汁と同様であったが, 牛胆汁に存在したグリココール酸とグリコデオキシコール酸はハマチ胆汁には存在せず, 代わりに牛胆汁には存在しないシプリ

Table 1. Source of bacteria used in this experiment

	Mudskipper fishes						Mud	Total
	<i>Boleophthalmus pectinirostris</i>			<i>Periophthalmus cantonensis</i>				
	Gills	Stomach	Intestine	Gills	Stomach	Intestine		
<i>Vibrio</i>	31*	6	47	7	14	57	22	184
<i>Aeromonas</i>	2	0	0	0	0	0	1	3
<i>Enterobacteriaceae</i>	2	2	1	0	0	1	0	6
<i>Pseudomonas</i>	4	1	0	1	1	0	11	18
<i>Alteromonas</i>	0	0	0	9	2	0	7	18
<i>Acinetobacter</i>	5	1	0	0	0	0	0	6
<i>Flavobacterium</i> Gp I	0	2	1	0	1	0	0	4
<i>Flavobacterium</i> Gp II	2	0	0	1	0	0	3	6
Coryneforms	16	65	47	2	12	20	33	195
<i>Bacillus</i>	2	2	2	3	0	0	0	9
<i>Micrococcus</i>	3	8	3	3	0	1	1	19
<i>Staphylococcus</i>	3	5	6	1	1	2	0	18
Unidentified	0	0	0	1	1	0	4	6

\* Number of strains.

The mudskipper fishes and mud of surface layer of the mud flat were sampled in the estuary of the Honmyo River which empties into the Ariake Sea at Isahaya, Nagasaki, Japan.

ノール硫酸エステルがハマチ胆汁に存在した。

試験は基本培地にハマチ胆汁末 (ハマチの胆汁を真空凍結乾燥した) 0.4, 1.0, 5.0, 10.0% または牛胆汁末 (市販品) 0.4, 1.0% を加え, pH を 6.2 に調整し, pH の影響試験の場合と同様にして発育の有無を判定した。

### 結 果

供試菌の菌属またはグループ別の生理学的性状を Table 2 に示す。

前報<sup>1)</sup>で述べたように, ムツゴロウとトビハゼの胃と腸から分離した菌株は大半が *Vibrio* とコリネ型細菌で, とくに腸では *Vibrio* が優占的に発育していた。そこでまず, この両者を比較する。

Table 2 に示すように, *Vibrio* はコリネ型細菌に比べてアンモニア・硫化水素・インドール産生能およびリジン・オルニチン分解能を有する菌株数の割合が高く, またアルギニン分解能を有する菌株数の割合もわずかではあるが高かった。すなわち, *Vibrio* はコリネ型細菌に比べてアミノ酸の分解能を有する菌株が多いと言えた。また, その他のフローラと *Vibrio* とを比較した場合についても, コリネ型細菌

と *Vibrio* の間で見られた結果とほぼ同様であったが, 供試菌が 3 株と少なかった *Aeromonas* についてはこの限りではなかった。炭水化物のうちマンノース・シュクロース・デンプンについては *Vibrio* の大多数がこれらを分解し, コリネ型細菌よりもこれらを分解する菌株数の割合が高かったが, その他の炭水化物については両者間で有意な差は見られなかった。

供試 *Vibrio* 184 株を鰓・胃・腸および干潟泥の由来別に整理し, それらの生理学的性状を Table 3 に示す。ムツゴロウでは, 鰓由来の *Vibrio* は消化管とくに腸由来の *Vibrio* に比べ, アンモニア・硫化水素・インドール産生能およびアルギニン・リジン・オルニチン・ゼラチン・カゼイン分解能を有する菌株数の割合が高く, すなわちムツゴロウの鰓由来の *Vibrio* は腸由来の *Vibrio* に比べてアミノ酸や蛋白質の分解能を有する菌株が多かった。また, 炭水化物のうち, デンプンについては鰓由来の *Vibrio* の方が腸由来の *Vibrio* より分解能を有する菌株数の割合が高かったが, 単糖および少糖については, 糖の種類により, 両者間の分解菌の割合の大小関係も異なった。一方, トビハゼでは鰓由来の *Vibrio* の供試菌は 7 株と少なく, 性状の傾向を知るには困難であ

Table 2. Characteristics of bacterial flora used in this experiment

Characteristics	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Alteromonas</i>	<i>Acinetobacter</i>	Flavobacterium Gp I	Flavobacterium Gp II	Coryneforms	<i>Bacillus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	Unidentified
	(184)* <sup>1</sup>	(3)	(6)	(18)	(18)	(6)	(4)	(6)	(195)	(9)	(19)	(18)	(6)
NH <sub>3</sub> from peptone	93* <sup>2</sup>	100	17	50	83	0	0	50	30	89	0	6	17
H <sub>2</sub> S production	39	0	0	0	0	0	0	0	8	0	16	11	0
Indole production	80	67	33	0	0	0	0	50	9	0	0	0	0
Arginine dihydrolase	19	100	17	6	0	0	0	0	14	33	0	17	0
Lysine decarboxylase	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ornithine decarboxylase	38	0	17	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
Gelatine hydrolysis	72	100	17	44	100	0	75	67	93	100	84	39	33
Casein hydrolysis	59	100	0	11	44	0	0	67	62	89	42	0	17
Starch hydrolysis	79	100	33	11	44	0	25	0	45	78	11	22	50
Acid from arabinose	40	100	50	17	0	0	0	33	36	0	0	22	0
rhamnose	16	0	50	0	0	0	0	0	5	0	0	17	0
mannose	85	100	100	17	17	0	50	100	58	56	11	83	0
sucrose	87	100	100	17	22	0	50	83	66	67	47	89	0
raffinose	19	0	50	0	0	0	50	17	25	0	0	22	0

\* 1 Number of strains tested. \* 2 Percentage of positive strains.

Table 3. Characteristics of *Vibrio* of the gills and digestive tracts of the mudskipper fishes and mud on the mud flat

Characteristics	Mudskipper fishes						Mud (22)
	<i>B. pectinirostris</i>			<i>P. cantonensis</i>			
	Gills (31)* <sup>1</sup>	Stomach (6)	Intestine (47)	Gills (7)	Stomach (14)	Intestine (57)	
NH <sub>3</sub> from peptone	100* <sup>2</sup>	83	83	100	100	96	91
H <sub>2</sub> S production	36	33	19	29	29	54	59
Indole production	90	100	68	100	100	81	64
Arginine dihydrolase	36	0	9	57	29	16	14
Lysine decarboxyase	36	17	21	43	43	54	55
Ornithine decarboxylase	36	17	17	29	43	51	55
Gelatine hydrolysis	81	83	40	86	93	79	86
Casein hydrolysis	81	33	34	29	57	71	68
Starch hydrolysis	100	33	66	100	79	83	69
Acid from arabinose	36	0	23	43	29	54	64
rhamnose	26	0	13	29	0	18	14
mannose	55	100	85	100	100	90	96
sucrose	81	67	81	100	93	91	96
raffinose	29	0	23	29	21	11	18

\* 1 Number of strains tested. \* 2 Percentage of positive strains.

る。

胃由来の *Vibrio* については, 両供試魚とも供試菌数が少なく, とくにムツゴロウでは6株で, 性状の傾向を知るには困難である。トビハゼについても, 性状の傾向を検討するには不十分な菌数 (14株) ではあるが, 巨視的に見ると, 胃由来の *Vibrio* と腸由来の *Vibrio* とでは, 各物質の産生能および分解能を有する菌株数の割合は類似していた。

腸由来の *Vibrio* については, ムツゴロウはトビハゼに比べ, アンモニア・硫化水素・インドール産生能およびアルギニン・リジン・オルニチン・ゼラチン・カゼイン分解能を有する菌株数の割合が低く, 従ってムツゴロウの腸ではトビハゼの腸に比べ, アミノ酸や蛋白質の分解能を有する *Vibrio* が少なかった。一方, 炭水化物の分解能については, 炭水化物全般としての, 両者の間の一般的傾向を見ることができなかった。

干潟泥由来の *Vibrio* は, 各物質の産生能や分解能を有する菌株数の割合が, トビハゼの腸由来の *Vibrio* とほぼ一致したが, ムツゴロウの腸や鰓由来の *Vibrio* とはその割合を異にした。

供試コリネ型細菌195株を鰓・胃・腸および干潟泥の由来別に整理し, それらの生理学的性状を Table 4 に示す。供試菌株が多かったムツゴロウの胃と腸, トビハゼの腸および干潟泥由来のコリネ型細菌につ

いては, 各物質の産生能や分解能を有する菌株の割合はほぼ一致していた。一方, 供試菌株が少なかったムツゴロウの鰓とトビハゼの胃由来のコリネ型細菌も, 上述のコリネ型細菌とその割合は全般的に似た傾向を示したが, 数値に隔たりの見られるものもあった。トビハゼの鰓由来のコリネ型細菌は2株で, 結果の検討はできなかった。

供試 *Vibrio* を鰓・胃・腸および干潟泥の由来別に整理し, それらの糖分解パターンを Table 5 に示す。ムツゴロウの胃・腸由来の *Vibrio* はマンノース・シュクロース分解菌 (マンノース・シュクロースだけを分解する菌) が優占し, マンノースだけを分解する菌がこれに次ぎ, 他の分解パターンを示す菌株は著しく少なく, また鰓由来の *Vibrio* もこれと似た傾向を示した。一方, トビハゼの胃・腸・由来の *Vibrio* はマンノース・シュクロース分解菌が最も多い点ではムツゴロウの場合と同様であったが, これらの糖とアラビノースを分解する菌株も多数存在する点で異なり, とくに腸由来の *Vibrio* ではアラビノースを分解する菌株が著しく多かった。他方, 干潟泥由来の *Vibrio* はトビハゼの腸由来の *Vibrio* と類似した。

供試コリネ型細菌を鰓・胃・腸および干潟泥の由来別に整理し, それらの糖分解パターンを Table 6 に示す。コリネ型細菌はいずれ試料の場合とも似た

Table 4. Characteristics of coryneforms of the gills and digestive tracts of the mudskipper fishes and mud on the mud flat

Characteristics	Mudskipper fishes						Mud (33)
	<i>B. pectinirostris</i>			<i>P. cantonensis</i>			
	Gills (16)* <sup>1</sup>	Stomach (65)	Intestine (47)	Gills (2)	Stomach (12)	Intestine (20)	
NH <sub>3</sub> from peptone	56* <sup>2</sup>	34	30	0	42	54	6
H <sub>2</sub> S production	0	12	2	0	25	0	9
Indole production	31	2	13	0	8	0	15
Arginine dihydrolase	19	19	9	0	8	15	12
Lysine decarboxylase	0	0	0	0	0	0	0
Ornithine decarboxylase	6	0	4	0	8	5	0
Gelatin hydrolysis	94	95	94	50	83	95	91
Casein hydrolysis	75	63	62	50	50	60	61
Starch hydrolysis	81	46	40	50	25	40	39
Acid from arabinose	44	29	38	50	33	40	39
rhamnose	0	6	4	0	8	5	6
mannose	31	57	53	50	75	60	73
sucrose	56	71	66	100	58	65	61
raffinose	6	31	19	50	25	30	27

\* 1 Number of strains tested. \* 2 Percentage of positive strains.

Table 5. Acid production from carbohydrates by *Vibrio* of the gills and digestive tracts of the mudskipper fishes and mud on the mud flat

Acid production from						Mudskipper fishes						Mud (22)
						<i>B. pectinirostris</i>			<i>P. cantonensis</i>			
Ara	Rha	Man	Suc	Raf	Gills (31)* <sup>1</sup>	Stomach (6)	Intestine (47)	Gills (7)	Stomach (14)	Intestine (57)		
-	-	-	-	-	0* <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	5	
-	-	-	+	-	3	0	0	0	0	2	0	
-	-	-	+	+	6	0	0	0	0	0	0	
-	-	+	-	-	16	33	11	0	7	4	0	
-	-	+	+	-	32	67	62	43	57	39	23	
-	-	+	-	+	0	0	0	0	0	2	0	
-	-	+	+	+	3	0	4	14	7	0	9	
-	+	-	+	+	3	0	0	0	0	0	0	
+	-	-	+	-	0	0	4	0	0	0	0	
+	-	-	+	-	6	0	0	0	0	0	0	
+	-	-	+	+	0	0	2	0	0	0	0	
+	-	+	-	-	3	0	0	0	0	2	0	
+	-	+	+	-	0	0	4	14	14	35	50	
+	-	+	+	+	0	0	0	0	14	0	0	
+	+	-	-	-	0	0	0	0	0	2	0	
+	+	-	-	+	0	0	4	0	0	0	0	
+	+	-	+	-	13	0	0	0	0	0	0	
+	+	-	+	+	13	0	4	0	0	7	0	
+	+	+	+	-	0	0	0	14	0	7	5	
+	+	+	+	+	0	0	4	14	0	2	9	

\* 1 Number of strains tested. \* 2 Percentage of strains characterized.

Ara, arabinose; Rha, rhamnose; Man, mannose; Suc, sucrose; Raf, raffinose.  
+, positive; -, negative.

Table 6. Acid production from carbohydrates by coryneforms of the gills and digestive tracts of the mudskipper fishes and mud on the mud flat

Acid production from						Mudskipper fishes						Mud (33)
						<i>B. pectinirostris</i>			<i>P. cantonensis</i>			
Ara	Rha	Man	Suc	Raf	Gills (16)* <sup>1</sup>	Stomach (65)	Intestine (47)	Gills (2)	Stomach (12)	Intestine (20)		
-	-	-	-	-	31* <sup>2</sup>	20	23	0	17	20	21	
-	-	-	+	-	13	15	11	50	8	10	3	
-	-	-	+	+	0	0	2	0	0	0	0	
-	-	+	-	-	8	6	6	0	8	15	12	
-	-	+	+	-	8	12	9	0	17	15	15	
-	-	+	+	+	0	12	6	0	8	0	9	
-	+	-	-	-	0	2	2	0	0	0	0	
-	+	+	-	-	0	0	0	0	8	0	0	
-	+	-	+	+	0	0	2	0	0	0	0	
-	+	+	+	-	0	3	0	0	0	0	0	
+	-	-	-	-	8	2	2	0	0	0	0	
+	-	-	+	-	19	0	4	0	0	5	0	
+	-	-	+	+	0	5	0	0	0	5	0	
+	-	+	-	-	0	0	0	0	8	0	6	
+	-	+	+	-	13	8	23	0	8	5	12	
+	-	+	+	+	8	14	9	50	17	20	15	
+	+	-	+	-	0	0	0	0	0	0	3	
+	+	+	+	-	0	2	0	0	0	0	0	
+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	5	3	

\* 1 Number of strains tested. \* 2 Percentage of strains characterized.

Ara, arabinose; Rha, rhamnose; Man, mannose; Suc, sucrose; Raf, raffinose.

+, positive; -, negative.

糖の分解パターンを示すと言えた。すなわち、供試菌が2株であったトビハゼの鰓以外の各試料由来のコリネ型細菌では、供試した糖のいずれをも分解しない菌、シュクロース分解菌、マンノース分解菌、マンノース・シュクロース分解菌、マンノース・シュクロース・アラビノース分解菌、マンノース・シュクロース・アラビノース・ラフィノース分解菌がほぼ等しく含まれた。

供試 *Vibrio* と同コリネ型細菌を鰓・胃・腸および干潟泥の由来別に整理し、それらのアミノ酸分解パターンを Table 7 に示す。*Vibrio* については、ムツゴロウの胃・腸由来の菌株では、供試したいずれのアミノ酸をも分解しない菌（アミノ酸非分解菌）が大半を占めた。一方、トビハゼの胃・腸由来の菌株はアミノ酸非分解菌よりもリジン・オルニチン分解菌の方が多く、またアルギニン分解菌もかなり存在し、ムツゴロウの場合とは異なった。鰓由来の菌株はムツゴロウ・トビハゼの場合とも胃・腸由来の菌株とは異なった性状を示した。一方、干潟泥由来の

菌株では、トビハゼの胃・腸とくに腸由来の菌株の傾向とほぼ一致した。コリネ型細菌については、いずれから由来した菌株ともその大半がアミノ酸非分解菌で、アルギニン分解菌がこれに次ぎ、オルニチン分解菌が認められる場合もあった。

供試フローラに対するハマチ胆汁と牛胆汁の発育阻害効果を Table 8 に示す。

*Vibrio* についてはハマチ胆汁の5.0と10.0%、牛胆汁の0.4と1.0%で供試菌の数が発育阻害されたに過ぎず、大部分の菌株は耐性を示した。コリネ型細菌については、ハマチ胆汁では濃度が高くなるにつれて発育阻害も大きくなり、10.0%胆汁では供試菌の67%が発育阻害され、また牛胆汁では0.4%胆汁でも62%が阻害された。その他のフローラについては、消化管からしばしば分離された *Staphylococcus* ではその大半がハマチおよび牛胆汁に対し耐性を示した。また、鰓や干潟泥からの主要分離菌である *Pseudomonas* や *Alteromonas* のうち、*Pseudomonas* では両胆汁により半数前後が発育阻害されたが、*Alter-*

Table 7. Decomposition of amino acids by *Vibrio* and coryneforms of the gills and digestive tracts of the mudskipper fishes and mud on the mud flat

Arginine dihydro-lase	Lysine decarbo-nylase	Ornithine decarbo-nylase	Mudskipper fishes						Mud
			<i>B. pectinirostris</i>			<i>P. cantonensis</i>			
			Gills	Stomach	Intestine	Gills	Stomach	Intestine	
			<i>Vibrio</i>						
			(31)* <sup>1</sup>	(6)	(47)	(7)	(14)	(57)	(22)
-	-	-	29* <sup>2</sup>	83	75	14	29	33	32
-	+	+	36	17	17	29	43	51	55
+	-	-	36	0	4	43	29	12	14
+	+	-	0	0	4	14	0	4	0
			<i>Coryneforms</i>						
			(16)* <sup>1</sup>	(65)	(47)	(2)	(12)	(20)	(33)
-	-	-	75* <sup>2</sup>	82	87	100	83	80	88
+	-	-	19	19	9	0	8	15	12
-	-	+	6	0	4	0	8	5	0

\* 1 Number of strains tested. \* 2 Percentage of strains characterized.  
+, positive; -, negative.

Table 8. The inhibitory effect of bovine and fish biles on growth for bacterial flora used in this experiment

Scientific name of bacterial flora	Number of bacterial strains tested	Percentage of strains grown in each concentration(%) of bovine and fish biles					
		Fish bile				Bovine bile	
		0.4	1.0	5.0	10.0	0.4	1.0
<i>Vibrio</i>	184	100	100	99	97	99	95
<i>Aeromonas</i>	3	100	100	100	100	100	100
<i>Enterobacteriaceae</i>	6	100	100	100	100	100	100
<i>Pseudomonas</i>	18	100	100	67	67	67	39
<i>Alteromonas</i>	18	100	100	100	100	100	100
<i>Acinetobacter</i>	6	100	100	83	83	100	83
<i>Flavobacterium</i> Gp I	4	75	50	25	25	25	25
<i>Flavobacterium</i> Gp II	6	100	67	17	17	17	17
<i>Coryneforms</i>	195	83	79	59	33	38	35
<i>Bacillus</i>	9	100	100	100	89	100	100
<i>Micrococcus</i>	19	100	84	84	63	84	84
<i>Staphylococcus</i>	18	94	94	94	94	89	89
Unidentified	6	67	67	33	33	33	33

The concentration of biles is percentage of dry matter in the medium (Oxoid Lab Lemco 1% and Oxoid Peptone 1% in 50% sea water, pH6.2). Bovine bile is an article on the market and fish bile was prepared from bile of yellowtail by freeze drying.

*omonas* では両胆汁による阻害は全く見られなかった。

なお、*Vibrio* とコリネ型細菌に関しては、これらが分離された供試魚の各器官および干潟泥それぞれの間の、胆汁による発育阻害を比較したが、有意な差異は見られなかった。

供試フローラに対する低 pH での発育阻害効果を

Table 9 に示す。供試菌は pH 6 ではすべてが発育した。*Vibrio* とコリネ型細菌については、両者とも pH 5.5 以下では発育阻害が認められ、pH 4.5 では阻害株の割合が急増した。とくに、*Vibrio* ではこの傾向が顕著であった。また、*Vibrio* はコリネ型細菌に比べ低 pH での発育阻害の割合が高く、とくに pH4.5 では *Vibrio* が 9% しか発育できなかったのに対し、

コリネ型細菌では29%が発育した。一方, *Alteromonas* は *Vibrio* とほぼ似た傾向を示したが *Pseudomonas* は pH 5.5 と 5.0 で発育阻害される菌株が著しく多く, pH 5.5 での発育阻害が大きかった。*Micrococcus* は pH 5.5 で発育を示した菌株はほとんど見られなかったのに対し, *Staphylococcus* ではこれより抵抗性が強く, pH 4.5 でも39%が発育した。

なお, *Vibrio* とコリネ型細菌に関しては, これらが分離された供試魚の各器官および干潟泥それぞれの間の, 低 pH における発育阻害を比較したが, 有意な差異は見られなかった。

### 考 察

供試した *Vibrio* はコリネ型細菌やその他のフローラに比べてアミノ酸を分解する菌株が多かった。ところで, 供試 *Vibrio* はその多くが消化管から分離され, しかも腸ではこれら *Vibrio* が優占的に発育し, すなわちこれら *Vibrio* は消化管が生態的適所となっていると考えられる。ところで, 通常魚類の消化管には各種のアミノ酸が多量存在し, すなわち消化管を生態的適所としているこれら *Vibrio* ではアミノ酸の分解能を有する菌株も多かったと考えられる。一方, コリネ型細菌も消化管から多数分離され

たが, 消化管で優占することは少なく, 非活動的な菌株が大半と考えられ, 従ってアミノ酸の分解能を有する菌株も少なかったと考えられる。

ムツゴロウの腸由来の *Vibrio* はトビハゼの腸由来の *Vibrio* に比べてアミノ酸や蛋白質の分解能を有する菌株が少なく, また各種のアミノ酸や糖の分解パターンも前者と後者では異なった。これらのことについては, 食性がムツゴロウでは植物食でトビハゼでは動物食であることに起因すると考えるとよく説明され, すなわち食性による細菌フローラの選択がなされていることを示唆する。一方, 炭水化物の分解能については, 両者の腸由来の *Vibrio* の間で, 炭水化物全般としての共通した傾向は見られなかったが, これについては, 両者の食物を構成する炭水化物の種類や量を加味した研究がなされるべきであろう。

トビハゼの腸由来の *Vibrio* と干潟泥由来の *Vibrio* とでは, 各物質の産生能や分解能を有する菌株数の割合はほぼ等しく, また糖とアミノ酸の分解パターンも両者で類似した。これらのことについては, トビハゼは干潟上の動物性有機物を摂食し,<sup>4)</sup> 従って腸でも干潟泥と類似の生理学的機能を有する *Vibrio* が優占したと考えられる。しかし前報<sup>1)</sup>で述べたように, 干潟泥由来の *Vibrio* と腸由来の *Vibrio* とでは塩分要求性が異なる事実からも, 菌種・菌型

Table 9. The inhibitory effect of lower pH on growth for bacterial flora used in this experiment

Scientific name of bacterial flora	Number of bacterial strains tested	Percentage of strains grown in each pH value			
		6.0	5.5	5.0	4.5
<i>Vibrio</i>	184	100	80	68	9
<i>Aeromonas</i>	3	100	100	100	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	6	100	100	100	17
<i>Pseudomonas</i>	18	100	67	39	11
<i>Alteromonas</i>	18	100	83	67	0
<i>Acinetobacter</i>	6	100	100	83	0
<i>Flavobacterium</i> Gp I	4	100	75	25	0
<i>Flavobacterium</i> Gp II	6	100	67	0	0
Coryneforms	195	100	91	77	29
<i>Bacillus</i>	9	100	100	100	44
<i>Micrococcus</i>	19	100	47	5	0
<i>Staphylococcus</i>	18	100	83	61	39
Unidentified	6	100	33	17	17

The pH value in the medium (Oxoid Lab Lemco 1% and Oxoid Peptone 1% in 50% sea water) was prepared with 0.1N-HCl and 0.1N-NaOH.

レベルではフローラを異にすると考えられる。反面、ムツゴロウの腸由来の *Vibrio* は干潟泥由来の *Vibrio* に比べてアミノ酸や蛋白質の分解能を有する菌株数の割合は低く、またアミノ酸や糖の分解パターンも両者で異なった。これについては、ムツゴロウの食物が珪藻類という特異な植物食であることに起因すると考えられる。

ムツゴロウの鰓由来の *Vibrio* は同腸由来の *Vibrio* に比べてアミノ酸や蛋白質を分解する菌株の割合が高く、むしろ干潟泥由来の *Vibrio* に類似するものの、しかしそれよりはその割合は低かった。これらの事実は、ムツゴロウの食性が特異的であるという結果を反映するとともに、鰓では環境とも異なった菌種・菌型のフローラを形成していることを示唆する。

コリネ型細菌におけるアミノ酸および糖の分解パターンは胃・腸由来の菌株と干潟泥由来の菌株の間で有意な差異は見られなかった。これについては、消化管のコリネ型細菌が生息環境（干潟泥）の菌群を反映しているためと考えられ、すなわちコリネ型細菌は消化管では通過性であると考えられた。

ところで、Sera & Ishida<sup>5)</sup>は胃が未発達なカワハギでは腸のマイクロフローラは餌のそれとの間に大きな差がないが、消化管系のよく発達したマダイの消化管のマイクロフローラは投与した餌や環境海水のそれとは対照的に、低 pH や胆汁の存在によってあまり阻害されず、消化管の環境条件によく適合した性質をもつことを明らかにしている。

今回、胆汁による発育阻害については、*Vibrio* では供試菌のほぼすべてが阻害されなかったが、これに反してコリネ型細菌ではその大半が阻害された。このことは、腸からは主に *Vibrio* とコリネ型細菌が分離されるにもかかわらず、優占的に発育したのは *Vibrio* であった事実をよく説明する。

一方、低 pH における発育阻害については、*Vibrio* はコリネ型細菌よりも阻害が大きかった。ところで、ムツゴロウの胃はより発達しているがトビハゼの胃は未発達であり、従って前者の胃内 pH は後者のそれより低いと考えられる。すなわち前報<sup>7)</sup>で述べた、ムツゴロウの胃内フローラはその大半がコリネ型細菌で、トビハゼでは *Vibrio* とコリネ型細菌が主であったことについても、pH の相違に起因するところが大きいと考えられる。

前報<sup>7)</sup>および今回の結果をもとにし、汽水域に生息し、干潟上で生活する水陸両生魚としての、また

似た生活と活動をしながらも食性と消化管の形態を異にする同じハゼ科のムツゴロウとトビハゼとしての消化管内細菌フローラの特異性を総括的に述べてみる。

これら両生魚は水界では低塩分の海水中で生活し、一方これらの海水は浸透圧調節のための水飲みにより消化管内に供給される。従って、消化管内細菌（主に *Vibrio*）はより低い塩分濃度海水で発育する菌株を主とし、また同時に供給されるであろう酸素は高度な嫌気性環境下で発育する細菌の増殖を抑制し、通気性嫌気性の、しかもより高い酸素分圧下で発育する細菌（主に *Vibrio*）を選択した。

また、これら魚類は陸上では干潟上で生活し、泥上で摂食する。従って、干潟上の主要細菌の一つであったコリネ型細菌が同消化管からも多数分離されたが、その大部分が通過性の非活動的な細菌であると考えられ、同管内で優占的に発育することも少なかった。反面 *Vibrio* は消化管が生態的適所となっていると考えられ、同管内でも優占した。

食性はムツゴロウは植物食でトビハゼでは動物食である。消化管とくに腸由来の *Vibrio* についても、トビハゼはムツゴロウに比べてアミノ酸や蛋白質を分解する能力を有する菌株が著しく多く、またアミノ酸や糖の分解パターンもこの両者で明らかな違いがあり、これら *Vibrio* の食性による選択が示唆された。

胃はムツゴロウではより発達し、トビハゼでは未発達である。胃内生菌数は、ムツゴロウはトビハゼに比べて極めて少なく、構成フローラもムツゴロウではコリネ型細菌を主としたのに対しトビハゼではこれに加え *Vibrio* も多く、胃内 pH による細菌フローラを選択が示唆された。

腸はムツゴロウではトビハゼに比べて著しく長く、この長さの違いは食性の違いにもとづくと考えられ、従って分泌される消化酵素の種類や胆汁成分、またこれらの量も異なるであろう。ところで今回、胆汁についてはその成分や量に関係なく、*Vibrio* では供試菌のほぼすべてがそれに耐性を示し、従って腸でも *Vibrio* が優占的に発育した。反面、コリネ型細菌では供試菌の大半が胆汁により発育は阻害され、腸で優占することもほとんどなかった。なお、消化酵素と細菌フローラとの関連性については今回は明らかにできなかった。

今回、供試菌分離用検体である両生魚類および干潟泥はともに春から秋にかけて、数回にわたり採集

されたものである。従って、これら供試魚および供試泥がいずれもほぼ同じ場所で採集されたとは言え、採集時における各検体の細菌フローラも当然変動している。すなわち今回認められた各検体間の細菌フローラの生理学的性状の相違は、このような時間的に異なるフローラを一括していることで、平均的なものであり、本来的な結果を示していると考えられるが、反面季節、場所、餌料の細菌フローラなどの相違にもとづいた結果を示している可能性もあり、今後なお多数の検体についての検討が必要である。また今回、両生魚類の消化管内細菌フローラの特異性を、主に数種のアミノ酸と糖質の分解能と分解パターンから論じたが、さらに多くの性状についての検討が必要である。

## 文 献

- 1) 森井秀昭, 笠間憲太郎(1989): 水陸両生魚, ムツゴロウとトビハゼの消化管内細菌フローラ, 日水誌, 55, 733-741.
- 2) 坂崎利一(1978): 新細菌培地学講座(上), pp. 308-309, 近代出版, 東京.
- 3) 森井秀昭(1972): 海洋性イルカ類の胃内細菌について, 日水誌, 38, 1177-1183.
- 4) 道津喜衛, 的場 実(1977): 有明海に跳ねるムツゴロウとトビハゼの行動, アニマ, 5(8), 15-23.
- 5) Sera, H. and Ishida, Y. (1972): Bacterial flora in the digestive tracts of marine fish-III. Classification of isolated bacteria. Nippon Suisan Gakkaishi, 38, 853-858.