短 報

淡水魚類消化管内細菌の

総生菌数の測定^{*1}

魚類消化管内における従属栄養細菌の役割を研究する場合、系内における生菌数を正確に把握することは非常に重要である。従来、魚類消化管内の従属栄養細菌相は、種種の培地を用いて調べられてきた^{1,2)}が、いずれの場合も消化管内の全従属栄養細菌が捉えられたのではなく、恐らくその一部にすぎないものと思われる。著者らが既に従属栄養細菌の計数のための優れた培地として報告^{3,4)}した培地でも、単独に使用した場合の出現コロニー数は総菌数の1~3割程度にすぎなかった。全ての培地は何らかの選択要因を含んでいるので、従属栄養細菌のみに限っても単一の培地や培養条件下で消化管内に存在する全ての従属栄養細菌を増殖させ、コロニーを形成させることは不可能と考えられる。

本実験では下記に示す種種の特徴をもつ3種類の選択培地および3種類の非選択培地の組合せによつて消化管内の全従属栄養細菌の計数を試みた。

実験に使用した培地は非選択培地としてC培地³⁾、EG培地⁴⁾およびdEG-D培地⁴⁾、選択培地としてNBGT-1/3S培地⁴⁾のほかに、新たにBacteroidaceae A型菌⁴⁾の選択培地として考案したAS培地(0.001% Erythromycin 添加 NBGT-1/3S培地)およびBacteroidaceae B型菌⁴⁾の選択培地としてBS培地(0.001% Colimycin 添加 NBGT-1/3S培地)を用いた。

試料にはティラピア *Tilapia nilotica* の後腸部内容物を用い、それを希釈液 B⁵⁾ で10倍系列で適当に希釈し各平板培地に塗抹した。培養は好気的および嫌氣的(スチールウール法⁶⁾)条件下25°Cで行ない、5日目に各培地から20~40株を分離し、グラム染色性、形態、孢子形成の有無、好気下での増殖能について調べ分類した。総菌数はVPI マニュアル⁷⁾に従つて測定した。

実験結果をTable 1に示した。どの培地を用いても出現菌種はBacteroidaceae A型菌、同B型菌および好気性(通性嫌気性を含む)グラム陰性桿菌に限られ、グラム陽性菌はほとんど検出されなかった。またAS培地はBacteroidaceae A型菌のみを、BS培地は同B型菌のみを計数しうることから、これら2種類の培地は淡水魚類消化管内細菌相の検索に極めて有効であることが

わかる。

従つて、AS培地とBS培地の計数値(a+b)に、好気性グラム陰性桿菌の増殖する培地、すなわち好気培養によるC培地、EG培地またはdEG-D培地の計数値(C, C' または C'')を加えれば、総生菌数を示すことになる。いずれの場合でも総生菌数は総菌数の48~49%を占めることがわかつた。なお、キンギョおよびコイの後腸内容物においても総生菌数は総菌数のそれぞれ29~100%程度および55~100%程度であつた。このことから淡水魚類消化管の総生菌数にはAS, BSおよびdEG-D培地の三者を併用すれば、全従属栄養細菌の大部分を生菌数として検出できるものと考えられる。

今後、さらに培地および培養方法を検討し、分離菌株の正確かつ簡便な分類同定法を確立することによつて、より精度の高い総生菌数値を求めることが出来ることと期待される。

杉田治男^{*2}・坂田泰造^{*3}・石田祐三郎^{*4}・出口吉昭^{*2}

・門田 元^{*4}

^{*2} 日本大学農獣医学部, 東京都世田谷区下馬 3-34-1.

^{*3} 鹿児島大学水産学部, 鹿児島市下荒田町 4-50-20.

^{*4} 京都大学農学部, 京都市左京区北白川追分町.

文 献

- 1) J. LISTON: *J. gen. Microbiol.*, **16**, 205-216 (1957).
- 2) M. YOSHIMIZU and T. KIMURA: *Fish Pathol.*, **10**, 243-259 (1976).
- 3) 杉田治男・石田祐三郎・門田 元: 日水誌, **46**, 91-95 (1980).
- 4) T. SAKATA, H. SUGITA, T. MITSUOKA, D. KAKIMOTO, and H. KADOTA: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1249-1255 (1980).
- 5) 光岡知足: 感染モデルの組み方, 近代出版, 東京, 1973, pp. 165-192.
- 6) L.V. HOLDEMAN, E.P. CATO, and W.E.C. MOORE: *Anaerobe Laboratory Manual*, 4th ed., Virginia Polytechnic Institute and State Univ., Blacksburg, 1977, p. 124.

Table 1. Comparison in number between direct microscopic counts and total viable counts summed up colony counts of each bacterial group on different media in the intestinal contents of *Tilapia nilotica*

Media	Incubation	c.f.u. (g ⁻¹)	Colony counts (g ⁻¹)		
			Bact. A ^{*1}	Bact. B ^{*2}	Aer. gram(-) rods
C	aerobic	4.4×10 ⁸	ND ^{*3}	ND	(c)4.4×10 ⁸
	anaerobic	3.0×10 ⁹	2.6×10 ⁹	1.5×10 ⁸	2.9×10 ⁸
NBGT-1/3S	anaerobic	4.0×10 ⁹	3.6×10 ⁹	4.0×10 ⁸	ND
EG	aerobic	4.7×10 ⁸	ND	ND	(c')4.7×10 ⁸
	aerobic	5.8×10 ⁸	ND	ND	(c'')5.8×10 ⁸
AS	anaerobic	4.2×10 ⁹	3.8×10 ⁹	2.1×10 ⁸	2.1×10 ⁸
	anaerobic	4.2×10 ⁹	(a)4.2×10 ⁹	ND	ND
BS	anaerobic	6.2×10 ⁸	ND	(b)6.2×10 ⁸	ND
Total viable counts (g ⁻¹) (a+b+c'')			5.4×10 ⁹		
Direct microscopic clump counts (g ⁻¹)			1.1×10 ¹⁰		

^{*1} Bacteroidaceae type A, ^{*2} Bacteroidaceae type B, ^{*3} Not detected.

(1980年11月12日受理)

^{*1} Measurement of Total Viable Counts in the Gastro-intestinal Bacteria of Freshwater Fish.

^{*2} Haruo SUGITA and Yoshiaki DEGUCHI: Coll. Agr. Vet. Med., Nihon Univ., Tokyo 154, Japan.

^{*3} Taizo SAKATA: Fac. Fisheries, Kagoshima Univ., Kagoshima 890, Japan.

^{*4} Yuzabro ISHIDA and Hajime KADOTA: Fac. Agr., Kyoto Univ., Kyoto 606, Japan.