

# マイクロスケールバッチ培養によるコイ腸内発酵活性の部位 間差の確認

誌名	水産増殖 = The aquiculture
ISSN	03714217
著者	木原, 稔 上田, 浩敏 小田, 謙太
巻/号	57巻2号
掲載ページ	p. 337-338
発行年月	2009年6月

## マイクロスケールバッチ培養による コイ腸内発酵活性の部位間差の確認

木原 稔<sup>1,\*</sup>・上田浩敏<sup>1</sup>・小田謙太<sup>1</sup>

### Segmental Differences of Intestinal Fermentation Activity of Carp *Cyprinus carpio* in Micro-scale Batch Culture

Minoru KIHARA<sup>1,\*</sup>, Hirotohi UEDA<sup>1</sup>  
and Kenta ODA<sup>1</sup>

**Abstract:** We compared segmental differences of intestinal fermentation activity of carp by measuring gas productivity in micro-scale batch culture. Carp intestine was divided into 3 segments (proximal, middle and distal segments). The volume of released gas during 6 h incubation was greater in distal segment than those in the other segments. The volume of released gas was also greater in middle segment than that in proximal segment. The result indicated that intestinal fermentation activity of carp varies among segments. This study appears to suggest that the substantial fermentation site of this fish intestine is posterior.

**Key words:** Carp *Cyprinus carpio*; Intestine; Fermentation; Batch culture

コイ *Cyprinus carpio* 腸内には細菌が生息し腸内発酵している (Sugita et al. 1990; Clements 1997; Kihara and Sakata 2001)。魚類の腸内発酵は生息環境や餌によって変化することがわかっており、例えば季節や飼育温度、発酵基質によって腸内の短鎖脂肪酸濃度が変化する (Kandel et al. 1994; Smith et al. 1996; Kihara and Sakata 2001)。コイは体長に対しておよそ1.8倍の長さの腸を有しており複数の屈曲部があるが (赤崎 1987)、こういった屈曲部ごとに腸としてどのような機能の違いがあるのかはよくわかっていない。腸内発酵も同様で、部位ごとにどのような違いがあるのか、腸のどの部位で細菌の活動が活発なのかは調べられてはいない。近年、水産養殖においてプロバイオティクスやプレバイオティクス技術の有用性が議論される中 (越塩 2006; 中野 2006)、腸の部位や腸内滞留時間、腸管運動、水温といった

腸内細菌の活動に影響すると考えられる要因との関係はあまり検討されていない。そこで本研究では、腸内細菌の活動が部位ごとでどのように異なるのかを確認するために、コイの腸内容物を屈曲部ごとに分けて採取し、部位ごとの細菌の活動をインビトロバッチ培養法によるガス産生量から比較した。

60 l ガラス製循環式水槽にコイ (平均体重113 g) 6尾を収容して25℃に水温調節した。1日あたり体重の2%重量の配合飼料 (コイ用配合飼料3.2P, 日本農産工業株式会社) を毎日5:00と17:00の2回に分けて与え、9:00から17:00の間照明した。以上の条件で2週間以上飼育したコイを0.4 ml/l の2-フェノキシエタノール溶液中で麻酔して開腹した。食道付近と肛門直前を滅菌したハサミで切断して腸を摘出し、食道側から部位 I, II, III (Fig. 1) として腸内容物を採集し, Kihara and Sakata (2001) の方法に準じてバッチ培養した。この腸内容物の採集は、毎回9:30から10:00にかけておこなった。培養はブランク培養 (基質無添加), グルコース培養, 滅菌培養とした。培養は6時間実施した。測定したガス産生量は同一部位のグルコース培養からブランク培養のガス産生量を差引き, 腸内容物12.5 μlあたりのガス産生量として各部位を比較した。

この結果, すべての部位においてガスの産生を確認した (Fig. 2)。滅菌した腸内容物からは, グルコースを基質として添加してもガス産生はなかった。一元配置共分散分析の結果, ガス産生量には腸部位間で有意な差があり ( $P < 0.0001$ ), 部位 I < 部位 II < 部位 III の順でガス産生量は多く, いずれの部位間にも有意差がみとめられた ( $P < 0.001$ )。

本研究の結果はコイの腸内発酵が腸の部位によって異なることをしめしている。本研究に用いたバッチ培養法は嫌氣的な培養方法であることから (Kihara et al. 1995), この結果は嫌氣的条件下の細菌活動が腸後部で活発であることを強く示唆するものである。Sugita ら (1990) は, コイの腸を4つの部位に分けてそれぞれの部位ごとの細菌数を確認したところ, 部位間に細菌数の大きな違いはなかったと報告している。この報告は, 本研究による部位ごとのガス産生量の違いが各部位の細菌数を反映したのではなく, 細菌叢の違いを反映したものであることを示唆する。実際コイの腸内細菌は腸前部と後部でその細菌叢が異なっており (Sugita et al. 1990), 腸の前部では酸素が多いことから, 好気性の細菌と通性嫌気性細菌が多く存在する。そして肛門側に近づくにつれて腸内の酸素は減少し, しだいに嫌氣的になって偏性嫌気性細菌が多くなる (河合 1986)。したがって部位 III のガス産生量が多かったのは, バッチ培養条件に適した偏性嫌気性細菌が優占菌になっていたからであろうと推測される。

2008年11月22日受付: 2009年1月28日受理。

<sup>1</sup>東海大学 生物理工学部 海洋生物科学科 (Department of Marine Biology and Sciences, Tokai University, Sapporo 005-8601, Japan).

\*E-mail: kihara@tspirit.tokai-u.jp

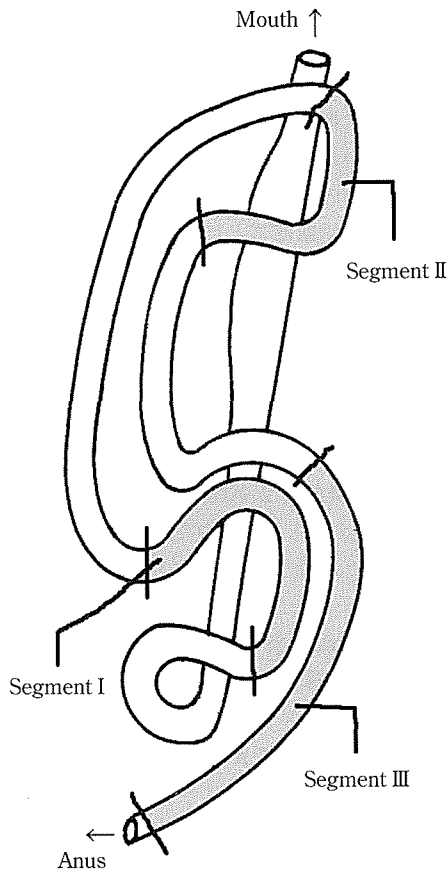


Fig. 1. Sampling segments of carp intestinal contents.

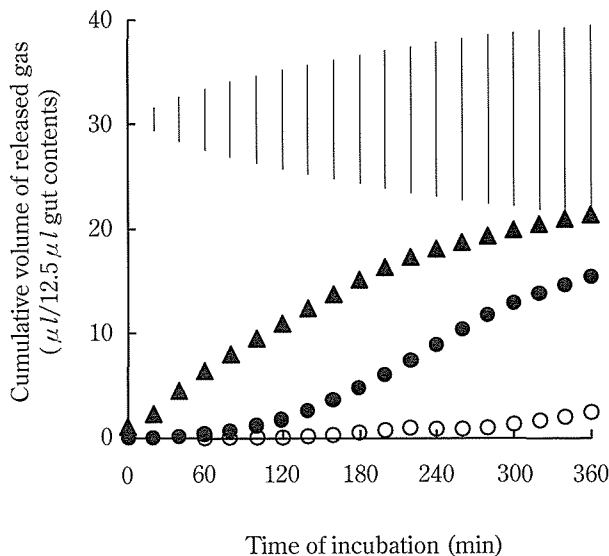


Fig. 2. Time course of gas release from the batch culture of intestinal contents from segment I (○), segment II (●), segment III (▲) from carp with 500 μg of glucose ( $n = 6$ ). The vertical bars show the pooled SD by one-way analysis of variance at each time of incubation. Difference was considered significant at  $P < 0.05$  by Tukey's multiple comparisons test after preliminary analysis of covariance taking the incubation time effect as the covariate. The volume of gas released was largest in segment III than those in the other segments ( $P < 0.001$ ). The volume of released gas was also greater in segment II than that in segment I ( $P < 0.001$ ).

マイクロスケールバッチ培養によるガス産生量と腸内発酵主産物の短鎖脂肪酸産生量には正の相関が認められること (Kihara and Sakata 2001), 短鎖脂肪酸の産生を主とする腸内発酵が, 反芻動物の第一胃内や一般的な哺乳動物の大腸内のような嫌気部位でおこっていることからすると (Wrong 1995), コイにおける実質的な腸内発酵部位は, 本研究の部位 II から III にしめされる腸後部であると考えられる。上記した第一胃や大腸は形態的に消化管内容物が滞留する場所でもあるが, 細菌が増殖したり発酵基質を利用したりするにはその場所にとどまることも必要である (Hume 1995)。魚類の食性はさまざまで消化管の形態もきわめて多様である (Stevens and Hume 1995)。つまり, 魚類においてプレバイオティクスとして投与される発酵基質やプロバイオティクスとして投与される生菌に消化管内で効果を発揮させるためには, 実質的な発酵部位とその部位における滞留時間との関係もあきらかにする必要があるだろう。

## 文 献

- 赤崎正人 (1987) IV 消化器系. 魚類解剖学 (落合 明編著), 緑書房, 東京, pp. 87-93.
- Clements, K. D. (1997) Fermentation And Gastrointestinal Microorganisms In Fishes. In "Gastrointestinal microbiology. Vol. 1, Gastrointestinal ecosystems and fermentations" (ed. by R. I. Mackie and B. A. White), Chapman and Hall, New York, pp. 166-167.
- Hume, I. D. (1995) Flow dynamics of digesta and colonic fermentation. In "Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids" (ed. by J. H. Cummings, J. L. Rombeau and T. Sakata), Cambridge University Press, Cambridge, pp. 119-132.
- Kandel, J. S., M. H. Horn and W. Van Antwerp (1994) Volatile fatty acids in hindguts of herbivorous fishes from temperate and tropical marine waters. *J. Fish Biol.*, **45**, 527-529.
- 越塩俊介 (2006) 魚類養殖発展のためのプロおよびプレバイオティクス. 養殖, **6**, 36-37.
- Kihara, M., K. Ohba and T. Sakata (1995) Trophic effect of dietary lactosucrose on intestinal tunica muscularis and utilization of this sugar by gut microbes in red seabream *Pagrus major*, a marine carnivorous teleost, under artificial rearing. *Comp. Biochem. Physiol.*, **112A**, 629-634.
- Kihara M. and T. Sakata (2001a) Effects of Rearing Temperature and Dietary Saccharides on the Production of Gases and Organic Acids by Gut Microbes of an Omnivorous Teleost, Carp *Cyprinus carpio*, in Micro-scale Batch Cultures. *SUISANZOSHOKU*, **49**, 329-338.
- 中野俊樹 (2006) プロバイオティクスの機能と水産分野への利用. 養殖, **6**, 72-76.
- Smith, T. B., D. H. Wahl and R. I. Mackie (1996) Volatile fatty acids and anaerobic fermentation in temperate piscivorous and omnivorous freshwater fish. *J. Fish Biol.*, **48**, 829-841.
- Stevens, C. E. and I. D. Hume (1995) *Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System (second ed.)*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 24-31.
- Sugita H., C. Miyajima, H. Kobayashi and Y. Deguchi (1990) Distribution of Microflora in the Intestinal Tract of Carp *Cyprinus carpio*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1133-1138.
- Wrong, O. M. (1995) Definitions and history. In "Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids" (ed. by J. H. Cummings, J. L. Rombeau and T. Sakata), Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-14.
- 吉水 守 (1986) I. 水産生物と微生物. 水産増養殖と微生物 (河合 章編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 9-37.