

# 家蚕幼虫消化器官の局所的機能差に関する研究

## V. 中腸消化液の殺菌力と局所差

山口定次郎\*・清水 猛\*・降旗 剛寛\*

Sadajiro YAMAGUCHI, Takeshi SHIMIZU and Yoshihiro FURIHATA: Studies on the Functional Localization of Digestive System in the Silkworm Larva, *Bombyx mori* L.

V. On the Bactericidal Power of the Gastric Juice of Midgut.

(1960年9月1日受理)

昆虫消化管の細菌については或場合にはその昆虫を発病させ又或場合にはその細菌の生産する酵素により消化作用が助けられることが知られている (WERNER, 1926, SIMMONS, 1939)。故に腸内細菌はある時は有害に又ある時は有益に働くということが考えられる。家蚕消化液の細菌数については従来主として病理学的立場から岩淵 (1907), 勝又 (1936), 田角 (1930) 及び佐藤等 (1936) により健蚕と病蚕, 食下直後と絶食後の時間, 腸の部位などの関係を調べられたが, 消化管内容物の細菌数の研究のみでは, 桑葉に付着している細菌の直接影響も大きいので殺菌力を正しく現わすものとはいわれない。そこで殺菌力の吟味のためには, 消化管から消化液を採り出し, *in vitro* における殺菌能力を検討する必要があると思われる。昆虫消化管内の細菌や殺菌力については STEINHAUS (1949) の記述があり, 又蚕では中沢 (1937) は多くの条件について殺菌力を詳細に調べた。更に有間等 (1956) は消化液の殺菌力は主として pH, 特にそのアルカリ性物質によると述べているが, 中腸の局所的差異は調べていない。著者等は特に蚕の中腸のみを対称とし, とり出した消化液の殺菌力を種々の条件で調べ特に従来のものに欠けている点すなわち中腸の局所差について研究を行つたので其の概要を報告する。

### 材料及び方法

材料蚕: 支108号及び日115号×支108号の第4令と5令の蚕児を材料とし, 中腸を形態的差異にもとづき前, 中及び後部を3区分できるように皮膚の上より結紮して後解剖し, 夫々消化液を採集し, 特に赤色バクテリア靈菌 (*Bacillus prodigiosus*) を指示菌として用いそれぞれの殺菌力を研究した。消化液保存の場合は試験管内に容れ上部にトルオールを用い5°Cに冷蔵した。

殺菌力調査方法: (1) 1白金耳の靈菌をとり20mlの殺菌蒸溜水に混じ菌浮遊液として準備した。(2) 中腸の前, 中及び後部の各部消化液は結紮3時間後に採り, 1mlずつ用いた。(3) 1mlの消化液に菌浮遊液1白金耳を入れ, よく混合し, 25°Cにおいて10分及び3時間作用させて後, 寒天平面培養基に移し28°Cに保護し, 48時間目に靈菌の集落数を調査した。但し対照区は消化液の代りに殺菌蒸溜水1mlを加えたものである。

### 実験結果

#### 1 新鮮消化液と保存消化液の殺菌力

支108号第5令蚕の新鮮消化液と, 之を5°Cの冷蔵庫に夫々3, 10, 30日間保存した場合の

\* 信州大学繊維学部養蚕学科  
信州大学繊維学部研究報告 No. 10, 1960.

第1表 蚕消化液の冷蔵保存と殺菌力

試験区	消化液による作用時間	中腸部位			対照区 (水+菌)
		前部	中部	後部	
正常消化液	10分間	0	0	13	10000<
	3時間	0	0	0	
3日間保存消化液	10分間	0	4	79	10000<
	3時間	0	0	43	
10日間保存消化液	10分間	226	116	175	10000<
	3時間	0	0	178	
30日間保存消化液	10分間	10000<	10000<	10000<	10000<
	3時間	10000<	10000<	10000<	10000<
消化液 pH		9.5	9.5~9.8	8.5~9.0	6.9

材料：支108号 5令5日目 食桑中間に10時間絶食したもの

第2表 pH と 殺 菌 力

消化液作用時間	消化液のpH (消化液+Buffer)				対照区 (水+菌)
	3.3	7.8	9.0	9.5	
10分間	10	628	50	0	10000<
3時間	0	208	0	0	10000<

材料：支108号 5令5日目 第1表と同様のもの

第3表 加熱 と 殺 菌 力

	消化液作用時間	中腸部位			対照区 (水+菌)
		前部	中部	後部	
正常消化液	10分間	0	0	13	10000<
	3時間	0	0	0	
65°C 10分間 加熱消化液	10分間	21	18	25	10000<
	3時間	0	6	53	

材料：支108号 5令5日目 食桑中10時間絶食の消化液  
正常消化液は第1表のものと同じ

り、少くとも消化液の pH の高低が原因の1つとして考えられるので、之についても実験を試みた。消化液 pH9.0~9.5 を作るためには0.05M 炭酸ソーダと0.1M 重炭酸ソーダを適量加えたものを用い、又pH3.3及び7.8の消化液を作るためには、0.1Mのクエン酸と0.2Mの第2磷酸ソーダ混液を用いた。また消化液1容に対し緩衝液1容を加えて表中の pH とした(第2表)。

以上の実験によつて殺菌力の差異の原因は pH の変化によることが大きいということが出来る。著者は別に中腸皮膜組織の pH 値の差異を認め(山口, 1942), 又前表において消化液の

消化液の殺菌力を比較した所、次のような結果をえた(第1表)。以後表中数字はすべて細菌数を示す。

之によれば対照区には10000以上という著しく多くの細菌の繁殖を見るのに対し、消化液を3時間作用せしめた場合は何れの部分の消化液も殺菌力が著しく強いことがわかつたが、10分間処理では中腸後部に13の菌を認めた。3日間貯蔵消化液では中腸後部にも菌が現われるのみならず、10日間貯蔵では中部にも前部にも菌が現われ、30日間保存の消化液では全く殺菌力が失われることがわかつた。すなわち、(1)新鮮な消化液は殺菌力は著しく強い。(2)試験管内に保存した場合5°Cに冷蔵しておいてもその日時の経過に伴ない殺菌力は減衰し30日間では全く失われる。(3)消化管の部位により分泌される消化液の殺菌力に強弱の相違があり、中腸前部及び中部の消化液殺菌力は可なり強いが、中腸後部は最も弱いといえる。

## 2 消化液の pH と 殺 菌 力

先の実験により中腸の部分の相違によつて殺菌力に差異があることが見られるが、之については有間等(1956)の研究もあり

pHの局所差を調べたが消化液では前部、中部はpH 9.5、後部は8.5~9.0内外であることを知ったが数氏の研究に於ても消化管内の細菌数は後部に於て多いことを確認しており、之は殺菌または繁殖に対してpHが強く関係していることを語つていられる。

### 3 消化液の加熱と殺菌力

中腸消化液を65°Cに10分加熱して殺菌力に変化があるか否かを調べた(第3表)。

之によれば殺菌力は加熱により或程度減衰するものようであつて少くともpHのみによるものではないことがわかつた。之は加熱の結果生ずる消化液の変性が殺菌力低下を来たすものと考えてよいであらう。

### 4 蚕の令と殺菌力

同一蚕品種でも経過の相違した場合殺菌力が違うか否かを4令及び5令蚕について調べた所次のようであつた(第4表)。

第4表 蚕の令と殺菌力

	消化液 作用時間	中腸部位			対照区 (水+菌)
		前部	中部	後部	
4令2日目	10分間	34	63	58	10000<
	3時間	0	5	26	
4令4日目	10分間	25	20	126	10000<
	3時間	0	2	4	
5令5日目	10分間	14	0	78	10000<
	3時間	0	0	0	

材料：日115号×支108号 何れも5~10時間絶食させたもの

以上の成績の範囲では何れの部分の消化液も可なり強い殺菌力を示しており殊に3時間作用させたものでは4令2日目後部を除いては各区共殆ど全部殺菌しており、又大差はないが、5令は4令よりも殺菌作用が稍強いといえる。又全体としては中腸後部の消化液は前部、中部に比して殺菌力が弱いことが明かである。

## 考 察

岩淵(1907)は蚕の消化液は嚥下した卒倒菌を殺菌する力があることを認め、勝又(1934)は消化管内細菌は食桑当時に多いが3時間絶食すれば少く、5~20時間迄少くなるが30時間以上では又増加することを認めた。又田角(1930)は細菌数は前腸に多く中腸において減少し後腸で最多となり結腸、直腸で少なく、又不健康蚕では前腸より中腸小腸後腸の順に後部程細菌が多いこと、絶食に伴つて細菌は減少するが48時間で又多くなることを指摘している。佐藤、平尾、町田及び浅川(1936)は絶食蚕消化管内の細菌数を調べ3~10時間の絶食は細菌が減少すること又特に中腸の各部位の細菌数について調べたが之によると食桑後の経過時間によつて異り、1時的には中腸の前部よりも後部に多く、従つて前部では後部に比し殺菌力が強いと考えた。STEINHAUS(1949)は種々の昆虫について調べた結果、昆虫は健康の場合でも多くの細菌をもつており、その種類は *Bacillus* 100, *Bacteria* 50と記載しており、又ある昆虫では *Bacteria* は後腸に多く中腸に少ないことがあり、又その反対もあるといつている。以上の如くで従来の研究でもその一部は殺菌作用を認めているが何れも消化液内細菌数を調べた結果が多く、一面消化管の前部では桑の細菌が消化液で殺菌されないままで採り出され培養されることもあるから、消化液をそのまま培養したのでは細菌数は判るが殺菌力を推定するには充分ではない。この点に関し、採り出した消化液について殺菌力を知ることが必要である。又霊菌の如き有色細菌を用いれば細菌が一種であるので比較的単純に殺菌力の分析ができるので便利である。尚消

化管の部位と消化液の殺菌力の大小については従来のように前部と後部の消化液が相互に混合しやすい状態で比較したのでは正しいとはいえない。著者等は短時間内虫体を結紮することにより、目的の部分の中腸組織から分泌された局所の消化液を、他と区別して殺菌力を、比較的正しく知ることができると考えた。

次に殺菌力について中沢（1937）はアルカリ性物質が関係が大きいとした。又有間等（1956）は（1）消化液の pH が高い程殺菌力が大である。（2）pH を変化させる塩基の量の如何が殺菌力の消長を支配する。（3）消化液は緩衝能力はあるが之に桑の压榨汁を加えると pH を低くして殺菌力を低下させる、と述べている。尚有間等は腸の部位的の殺菌力の差異については全く研究してないが、著者等の場合消化液は中腸の部位により pH も異なり殺菌力も異なることがわかったが、従来の研究を総合して考えるとやはり消化液の pH は殺菌力の主因をなしているように思われる。一方中腸粘膜組織細胞の pH を見ても、前、中、後で夫々異なり分泌する消化液の pH もおのずから之に関係あることも判る（山口、1942）

次に STEINHAUS（1949）はある種の昆虫の消化液は 58°C 30 分接触では殺菌力は不活性とはならぬといい、又中沢（1937）は蚕の消化液は煮沸しても殺菌性に変化がなかつたといっているが、著者等の場合 65°C 10 分で殺菌力が僅かに減衰した。この理由は高熱による消化液の化学的もしくは物理的性質の変化によるものと思われる。更に STEINHAUS（1949）は腸内容物のみならず糞も同様に殺菌力をもっているといい、又殺菌性の物質は核酸代謝産物の Allantoin であることを記述している。

#### 摘 要

著者等は第 4～5 令蚕児を材料とし胴部結紮法を用いて中腸の一定の部分に一定時間分泌された消化液を体外に取り出し之を用い、指示菌として靈菌を作用させ、28°C で 48 時間寒天平面培地で培養し細菌数を数え、2、3 の条件下における消化液の殺菌力を調べた。特に中腸の部位的殺菌力の相違を中心に検討した。結果は次の通りであつた。

- (1) 正常蚕の消化液の殺菌力は可なり強く、25°C 10 分及び 3 時間の消化液接触により細菌数は対照区（菌＋水）10000 以上に対し消化液処理区は殆ど 0 に近い。
- (2) 消化液の殺菌力は 5°C に貯蔵した場合は新鮮なものに比し 3 日間貯蔵はあまり大差ないが、10 日間では漸次弱くなり、30 日間では全く殺菌力は失われる。
- (3) 消化液の pH 値が高ければ殺菌力は強いが中性に近づくと弱まり又酸性の側に於て強い。後部消化液が殺菌力が弱いのはこの部の消化液の pH がやや低いことがその一因であると考えられる。
- (4) 消化液を 65°C で 10 分間処理すると殺菌力を僅かに減弱させる。
- (5) 4 令と 5 令の消化液殺菌力を比較すると、大差はないが強いていえば 5 令がやや強いように思われる。
- (6) 中腸を部位的に消化液殺菌力を見ると何れの場合も前部及び中部にあつて強く、後部は弱い傾向が明らかであつて中腸の局所的殺菌力の相違がみられる。

本研究を行うに当り懇切な御指導を賜つた東大有賀久雄教授に対し深謝の意を表する。

## 文 献

- AOKI, K. and CHIGASAKI, Y. : Mitteil. der Med. Facult. der Kaiser Univ. Zu Tokyo. 13, 419—440 (1915)
- 有間正三他 6 名 : 日蚕誌, 25(3) 207~208 (1956)
- DUNCAN, J. T. : Parasitology, 18, 238~252 (1926)
- 板谷 健吾 : 理論実験蚕体生理学, (1936)
- 岩淵 平介 : 東蚕講蚕事報告, 31 (1907)
- 勝又 藤夫 : 長野蚕試報, 27(3) (1934)
- : 蚕糸学雜誌, 8(3) 25~42 (1936)
- 中沢 喜雄 : 蚕糸学雜誌, 9(3) 159~166 (1937)
- PICARDO, C. : Bull. Biol. France et Belgique, 69, 410~438 (1935)
- PASTEUR, L. : Gauthier-Villars. Pari, Tome I, Tome II (1870)
- ROEDER, K. D. : Insect Physiology, (1953)
- SARLET, H. and M. FLORKIN, M. : Experimentia, 5, 404~405 (1949)
- 佐藤利一・平尾孝平・町田博・浅川茂樹 : 蚕糸学雜誌, 8(3) 9~24 (1936)
- SIMMONS, S. W. : Ann. Ent. Soc. Amer., 32, 621~627 (1939)
- STEINHAUS, E. A. : Principles of Insect Pathology, (1949)
- 鈴木健弘 : 京都高蚕報, 1(5) 225~338 (1937)
- 田角又十郎 : 蚕糸学雜誌, 2(1) 45~57 (1930)
- WATERHOUSE, D. E. : Coun. Sci. Ind. Res. Australia Pamph, 102, 7—27 (1940)
- WERNER, E. Z. : Morph. Oekol. Tiere 6, 150~206 (1926)
- WIGGLESWORTH, V. B. : The Principles of Insect Physiology, (1953)
- 山口定次郎 : 蚕糸学雜誌, 14(2) 93~98 (1942)
- : 信大纖維報, 4 (1954)
- : 信大纖維報, 5 47—52 (1955)

## Summary

The authors have intended to examine the bactericidal power of gastric juice and its local difference of the midgut of a silkworm larva, *Bombyx mori* L. The midgut was indirectly divided into three divisions—the anterior, middle and posterior—by ligatures over the skin. The gastric juice in each division of the gut was taken out after dissection.

*Bacillus prodigiosus*, the red color bacteria, was used as an indicator of the bactericidal power. The bacteria which were treated with the gastric juice of each division were cultured at 28°C on the plate agar. After 48 hours the number of colonies developed were counted.

The results thus obtained are as follows:

1) The gastric juice of all the divisions of the normal 4th~5th instar silkworm shows a pretty high bactericidal power. For example almost all of the bacteria were sterilized in 10 minutes or 3 hours treatment by the gastric juice.

2) When the gastric juice was reserved at 5°C, the bactericidal power became weaker gradually in accordance with the length of the time of reservation.

3) When the gastric juice was heated for 10 minutes at 65°C the bactericidal power was somewhat weakened.

4) It is worth notice that the bactericidal activity of the gastric juice of the posterior division is far weaker than those of the anterior and middle divisions.

5) The bactericidal power was very strong in both high pH (9.5 or so) and low pH(3.3) but it was rather weak in the neutral pH (7.0 or so). It may be considered that this is the reason why the bactericidal power of the posterior gastric juice is so weak in comparison with those of the anterior and middle divisions, each pH of which is higher (9.5 or more) than that of the posterior gastric juice (9.0~8.5). Referring to others' opinions the authors may say from the point of view of the bactericidal principle that the H-ion concentration of the gastric juice chiefly controls the sterility of the bacteria.

*(The Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu University, Ueda Japan)*