

## 漁場海域における微生物生態系の解析-IV 琉球島弧周辺海水中的の発光細菌の菌種別分布\*1

日高 富男・河口 貴史・崎田 勲\*2

Analytical Research of Microbial Ecosystems in Seawater  
around Fishing Ground-IV  
Distribution of Luminous Bacterial Species in Seawater  
around the Ryukyu Island Arc\*1

Tomio HIDAKA, Takafumi KAWAGUCHI, and Isao SAKITA\*2

### Abstract

The authors dealt with the distribution and identification of luminous bacteria in seawater around the Ryukyu Island Arc. We sampled in every autumn, 1978-'80: in '78, 33 samples were collected from 50m, 100m, and 300m depth layers at 14 stations around the Miyako Island; in '79, 38 samples from 15 stations around the Amami-o-shima; and in '80, 52 samples from 24 stations in the west region of the northern Ryukyu Island Arc; all told 123 samples from 53 stations. The luminous bacteria were detected in 32 samples (5 samples in '78, 6 in '79, and 21 in '80). The number of samples containing luminous bacteria were more in 50-100m layers than in 300m layers. Luminescent bacteria were recovered at concentrations of 1 to 4 cells per ml, and 50 strains in all were isolated. On the 50 luminous bacterial isolates, 23 (46%) were *Vibrio fischeri*, 1 (2%) were *Photobacterium phosphoreum*, 13 (26%) were *P. mandapamensis*, 13 (25%) were *Lucibacterium harveyi*. In samples of '78, *L. harveyi* was a major component. It was different from the composition of luminescent bacterial species in samples of '79 and '80. The species composition of '79 was almost same as that of '80, that is, *V. fischeri* 59%, *P. phosphoreum* 3%, *P. mandapamensis* 25%, and *L. harveyi* 13%. Thus, the species composition of the luminous bacterial communities may serve as the indicators of different condition in marine water masses.

発光細菌の大部分は海産種であり、それらは、グラム陰性、通性嫌気性の運動性をもつ桿菌である。普通、3%程度のNaClを含む培地中で、25℃で生育する。1889年にBEIJERINCKは、冷光を発するすべての細菌を一つの菌属 *Photobacterium* に属さしめるべきであると提案した<sup>13)</sup>。以来、多くの研究者によって発光細菌が分離されて、いろいろな菌種名が与えられていたが、それらには同義語が多く、それらの鑑別には、誤りや混乱が目立った。その頃、数値分類法の発展に伴い、従来の分類法に矛盾が見出され、発光性はいくつかのかけ離れた菌種にまたがって見られる性状であることがわかった<sup>11)</sup>。そこで、発光細菌の分類

\*1 この研究は昭和53, 54, 55年度文部省特定研究費で行ったものである。

\*2 鹿児島大学水産学部微生物学研究室 (Laboratory of Microbiology, Faculty of Fisheries, Kagoshima University)

も、発光する性質ばかりでなく、腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*) やビブリオ科 (*Vibrionaceae*) の各菌属を鑑別するいくつかの特性によって同定し直す動きが芽生えた。その後、HENDRIE ら (1970)<sup>6)</sup> や REICHELDT and BAUMANN (1973)<sup>16)</sup> によって、発光細菌の分類が確立されるに至り、それまでの分類の混乱がかなり解消された。HENDRIE らの分類は、Bergey's Manual 8版 (1974)<sup>9)</sup> に採用されている。それによると、発光細菌は、*Photobacterium phosphoreum*, *P. mandapamensis*, *Lucibacterium harveyi*, *Vibrio fischeri*, *V. cholerae* biotype *albensis* の3属5種に整理された。そのうち最後の菌種は、淡水環境に生息するものであり、海洋性発光細菌としては、それを除く3属4種と考えるのが妥当である。この分類は、その後も当人らによって少しずつ改変されている<sup>3,4,17)</sup>。この簡易、標準化された分類を適用することによって、あらゆる生息地から分離された発光細菌の菌種を同定することが容易になった。このような過程を経て、現在、それら菌種の生態学的な研究段階へと進展しつつある。

発光細菌は、海洋のあらゆる従属栄養細菌群に含まれて検出される。それらは、海水中に浮遊して自由に生活するもの<sup>14,15,19,21,26)</sup>ばかりでなく、生きている海棲動物の体表や消化管内に常在したり、また、それらの死体に死物寄生して増殖するもの<sup>14,20)</sup>、あるいは、ある種のイカや魚の発光器の中で共生発光するもの<sup>7,18)</sup>、さらには、ある種の甲殻類に感染、寄生して、俗に言う“光り病”をおこすものなどがあって<sup>13)</sup>、海洋において生態的に多様な遍在性菌群である。このように、発光細菌の海洋における生態的挙動は多彩であるが、個々に見れば、それら菌種と生息場所との間には、特異的な選択がうかがえる<sup>20)</sup>。海水中に自由生活する発光細菌のうちあるものは、魚の消化管や発光器官に共生していたものが遊離してきたものと考えられる。従って、ある海域における発光細菌群の存在や構成は、その場の海況や有機物濃度、あるいは、生物生産性を指標するばかりでなく、ある種の魚類との係わりをも推測できる。また発光という特性は、その菌の確認や、選別菌数算定を容易にし、かつ、純粋培養状態を確かめやすいなどの利点を持ち、指標菌として有用である。

著者らは、「琉球島弧周辺海域における陸棚斜面漁場の開発利用に関する研究」という課題のもと、3ヶ年次3回にわたる調査に参加して微生物学的調査に従事した。その際、調査海域の海水中の従属栄養細菌と同時に、発光細菌をも計数、分離し、それらを菌種レベルで同定した。そして各調査海域における海況の変動に伴うそれら菌種の分布の様相を検討し、発光細菌の指標菌としての意義を考察する。

### 実験材料及び方法

**調査海域** 調査は琉球島弧周辺海域について、1978年から3ヶ年間に、各年1回ずつ3回にわたって、本学練習船かごしま丸に乗船して行った。'78年11月には沖縄本島南部の主として南琉球島弧周辺海域を中心に、'79年10月には北琉球島弧周辺海域特に吐噶喇海峡から奄美大島近海を中心に、そして、'80年11月には、北琉球島弧西方海域を中心に実施した。これら3ヶ年次にわたる調査航海における調査定点、採取試料及び分離微生物などには、それぞれ8YK-, 9XK-, 0YK-の符号を付して区別する。それら調査定点の所在はまとめてFig. 1に示す。定点の位置(経度、緯度)及び試料採取日時の詳細は、前報<sup>8-10)</sup>を参照されたい。

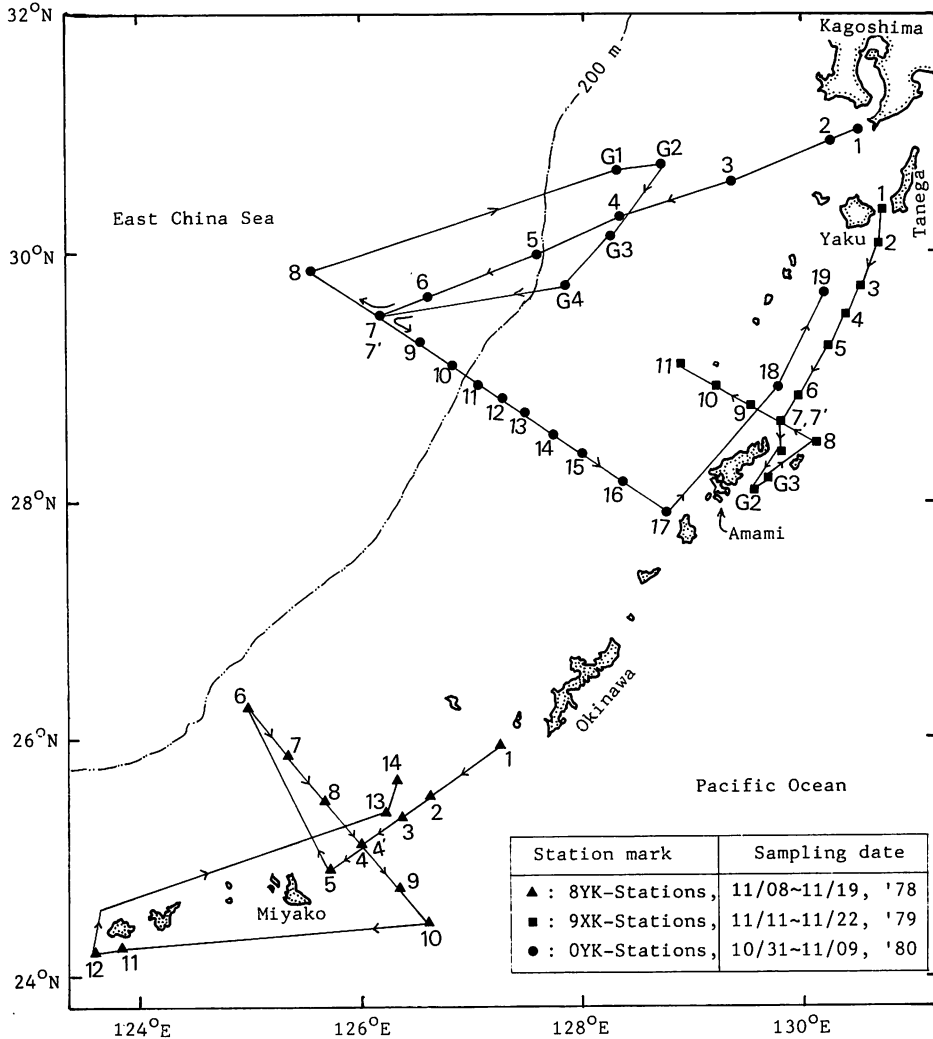


Fig. 1. Location of the sampling stations in cruises of Kagoshima-maru around the Ryukyu Island Arc.

供試海水 各調査定点において、水深 50m, 100m, 300m 各層のうち、その定点の深さに応じて、1~3層の海水を J-Z 式採水器によって、無菌的に採取して、直ちに実験に供した。

水温、塩分量、溶存酸素量の測定法 供試海水の採水深度における水温(°C)は、ナンセン採水器に付属している転倒温度計で、また塩分量(‰)は、電気伝導度塩分計で、そして溶存酸素量(mL/l)は、ウィンクラーの滴定法または酸素計で測定された。これらの海洋学的項目は、この共同研究チームの海洋研究班員によって測定された<sup>23-25)</sup>。

細菌の計数と分離 海洋性従属栄養細菌の計数、分離、培養のためには、海水培地、海水

寒天培地を使用した。海水培地は75%濃度人工海水 1 l にポリペプトン (大五) 5 g, 酵母エキス (大五) 1 g を溶解し, pH 7.6~7.8 に調節したものである。なお, 人工海水の組成 (g/l) は: NaCl, 30; KCl, 0.7; MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 10.8; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 5.4; CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 1.0 である。

無菌的に採取した試料海水は, 船内実験室において直ちに細菌細胞数の測定と分離操作を行った。すなわち, 各試料海水は, 0.2ml ずつを10枚の海水寒天平板に塗抹接種して培養した。培養2日後, それら寒天平板上に現われたコロニーのうち発光性を持つものを暗所で確認して計数し, 同時に分離した。また培養6日後, それら平板上に現われた全コロニー数を計数し, 次いでそれら10枚の寒天平板培養物のうち, コロニーの数や, コロニーの分散状態などから見て, 代表的な平板5枚を選んで, その中に生育しているコロニー全部を海水寒天斜面培地に分離・移植した。かくして得られたコロニー計数値から, 試料 1 ml あたりの発光細菌細胞数 (cfu/ml) と全従属栄養細菌細胞数 (cfu/ml) を算出した。船内での培養温度は, 室内空調温度23~25℃であった。分離菌は研究室に持ち帰り, 純化してから以後の実験に供試した。

分離発光細菌の同定 本報では, HENDRIE ら (1970)<sup>9)</sup>, REICHELTL and BAUMANN (1973), Bergey's manual 8 版 (1974)<sup>9)</sup>, NEALSON (1978)<sup>12)</sup> などの記載に準じ, Table 5 に示すいくつかの特性をもとに, 分離菌を *Vibrio fischeri*, *Photobacterium phosphoreum*, *P. mandapamensis*, *Lucibacterium harveyi* のいずれかに鑑別した。各性状の検査は, それぞれの原報に記載された方法によって行った。

## 実験結果

海況と細菌分布との関係 調査海域は Fig. 1 に見られるように, 調査年次毎に, 琉球島弧周辺海域を南から北へと移動した。しかし, 調査の期間はいずれも, 10月から11月にかけての晩秋であった。各調査とも黒潮の流れを縦断及び横断する線が交差する形で, 調査定点が設けられ, それに漁場調査のためのいくつかの G 点が追加されている。各調査定点における深さ, 試水採取深度, 及び試水の温度, 塩分量, 溶存酸素量, さらに試水中の従属栄養細菌と発光細菌の細胞数の測定結果は Table 1, 2, 3 に示す。

調査海域の深さや水温, 塩分量, 溶存酸素量の変動は, その海域の海況を知る目安として挙げた。8YK-調査における定点 8YK-1~5 の線は, 琉球海嶺上の浅い海域で, 各定点の各層の水温には, 大きな違いは見られなかった。一方, その線に定点 8YK-4 で交差する定点 8YK-6~10 の各水温は, 海嶺を境いに東シナ海側で低く, 太平洋側で高い傾向が見られた。また, 定点 8YK-6 の各層の温度分布は他の定点のそれとは明らかに違っているが, それは, この位置から考えて, 黒潮流路の端にあたり, 東シナ海大陸棚水の混入や陸棚斜面の影響を受けているものと思われる。東シナ海の黒潮は, ほぼ大陸棚に沿って北東に進み, 奄美大島西方で対島暖流を分岐しながら, 本流は向きを変えて奄美大島と屋久島の間, 吐噶喇海峡を通過して太平洋に出る<sup>22)</sup>。分岐された対島暖流は九州西方を北上する。9XK-調査は, この吐噶喇海峡から奄美大島近海を中心に, 定点 9XK-1~7 は吐噶喇列島沿いに, そして, 定点 9XK-8~11 は, 定点 9XK-7 でそれに交差している。OYK-調査海域は, 黒潮水と東シナ海大陸棚沿岸水, および九州南方対島暖流水とが混合するところであり, この海域内

Table 1. Oceanographical and microbiological data for 8YK-stations around the Ryukyu Island Arc.

8YK-Station No.	Station depth (m)	Sample depth (m)	Sample seawater			Bacterial count (cfu/ml of seawater)	
			Temp. (°C)	Salinity (‰)	O <sub>2</sub> (ml/l)	Total <sup>a)</sup>	L.B. <sup>b)</sup>
1	120	50	26.2	34.7	—	40	3
2	310	50	26.2	34.6	4.4	30	0
		102	24.4	35.0	4.1	40	0
		258	17.9	34.8	3.9	40	0
3	285	50	26.0	34.7	4.5	30	2
		98	22.2	35.0	4.2	50	0
4	170	50	26.1	34.7	4.6	35	0
		106	23.3	35.0	4.2	30	2
5	355	50	26.2	34.8	4.4	30	0
		87	23.2	35.0	4.1	40	0
6	1,530	50	25.3	34.8	4.0	30	0
		101	21.1	35.0	3.9	80	0
		257	14.6	34.6	3.7	20	0
7	2,200	50	26.0	34.7	—	20	0
		106	22.5	34.1	4.2	30	0
		306	16.0	34.8	4.2	20	0
8	1,830	50	25.6	34.8	4.4	10	0
		98	23.8	34.9	4.5	10	0
		286	17.1	34.8	4.2	10	0
9	1,570	50	26.2	34.8	4.6	10	0
		99	24.7	35.0	—	15	0
		306	17.8	34.8	4.3	5	0
10	2,400	50	25.7	34.8	4.5	15	1
		93	24.3	35.0	4.7	10	0
		270	18.8	34.9	4.3	10	0
11	490	50	26.3	34.7	4.5	30	0
		102	24.0	35.0	4.5	30	0
12	280	50	26.2	34.7	4.6	20	0
		113	22.9	35.0	4.2	10	0
13	210	50	25.4	34.7	4.7	15	3
		108	23.3	34.9	4.4	5	0
14	230	50	25.3	34.8	4.6	20	0
		80	24.5	34.9	4.4	25	0

a) Total viable count of aerobic heterotrophic bacteria

b) Viable count of luminous bacteria

Table 2. Oceanographical and microbiological data for 9XK-stations around the Ryukyu Island Arc.

9XK-Station No.	Station depth (m)	Sample depth (m)	Sample seawater			Bacterial count (cfu/ml of seawater)	
			Temp. (°C)	Salinity (‰)	O <sub>2</sub> (ml/l)	Total <sup>a)</sup>	L.B. <sup>b)</sup>
1	60	50	26.1	34.5	4.3	40	0
2	325	50	25.4	34.4	4.4	44	0
		93	24.1	34.5	4.3	43	3
3	288	50	26.0	34.5	4.6	33	0
		86	24.3	34.6	4.2	25	0
4	405	50	26.2	34.6	4.5	20	0
		93	26.1	34.6	4.3	20	0
		264	16.6	34.7	3.7	10	0
5	1,448	50	26.4	34.6	4.6	25	1
		100	26.2	34.6	4.6	20	0
		377	14.0	34.6	3.9	13	0
6	720	50	26.5	34.5	4.6	20	0
		100	24.4	34.8	4.3	10	0
		260	18.1	34.8	4.5	10	0
7	175	50	26.8	34.5	4.6	22	0
		100	24.1	34.8	4.4	20	0
8	690	50	25.3	34.7	4.5	30	0
		93	24.0	34.8	4.2	12	0
		386	15.0	34.7	4.0	10	0
7'	165	50	24.4	34.7	4.6	35	1
		106	21.4	34.8	4.3	30	0
9	840	50	24.8	34.7	4.7	22	0
		98	23.6	34.7	4.4	15	0
		310	16.7	34.8	4.1	15	0
10	320	50	24.7	34.6	4.7	20	0
		100	23.2	34.8	4.4	15	0
		301	15.3	34.7	4.2	10	0
11	972	50	25.5	34.6	4.5	20	1
		111	24.4	34.7	4.3	10	0
		308	14.3	34.7	4.1	8	0
G1	340	50	25.4	34.6	4.7	20	0
		91	22.1	34.9	4.5	33	0
G2	723	50	23.2	34.8	4.5	26	2
		96	22.0	34.8	4.2	10	0
		257	17.8	34.8	4.3	20	1
G3	676	50	25.7	34.8	4.6	10	0
		97	23.8	34.8	4.4	16	0
		301	17.0	34.8	4.2	5	0

a) Total viable count of aerobic heterotrophic bacteria

b) Viable count of luminous bacteria

Table 3. Oceanographical and microbiological data for OYK-stations around the Ryukyu Island Arc.

OYK-Station No.	Station depth (m)	Sample depth (m)	Sample seawater			Bacterial count (cfu/ml of seawater)	
			Temp. (°C)	Salinity (‰)	O <sub>2</sub> (ml/l)	Total <sup>a)</sup>	L.B. <sup>b)</sup>
1	245	50	22.0	34.6	4.8	48	0
		100	17.3	34.7	4.3	28	0
2	320	50	21.2	34.6	4.9	38	0
		100	18.9	34.7	4.5	61	1
		300	—	—	—	19	1
3	780	50	23.6	34.5	5.3	61	1
		95	21.6	34.7	4.5	23	0
		347	9.6	34.4	3.1	15	0
4	920	50	23.4	34.5	5.1	36	0
		100	20.0	34.8	4.3	39	2
		399	7.9	34.4	2.5	11	0
5	220	50	22.7	34.6	5.2	100	1
		100	18.0	34.8	4.1	51	1
6	113	50	22.7	34.4	5.2	120	0
		100	19.3	34.7	3.9	110	3
7	114	50	22.9	34.4	5.0	97	1
		100	19.3	34.6	3.0	120	2
8	75	50	21.3	34.0	3.8	80	2
		108	22.0	34.3	5.1	64	1
9	106	50	22.2	34.3	5.2	51	1
		122	22.6	34.5	5.2	33	1
10	122	50	22.6	34.5	5.2	33	1
		100	18.7	34.8	3.8	38	3
		50	22.4	34.4	5.3	41	0
11	475	100	22.4	34.4	5.2	38	1
		360	9.4	34.5	3.1	12	2
		50	25.2	34.8	4.9	48	1
12	1,025	100	24.3	34.7	4.6	33	1
		306	10.4	34.6	3.5	47	0
		50	25.3	34.8	4.9	25	0
13	1,050	100	24.7	34.8	5.0	40	0
		372	9.6	34.5	2.6	10	0
		50	25.4	34.9	4.9	7	0
14	1,190	100	23.9	34.9	4.5	8	0
		548	9.0	34.4	2.8	6	0
		50	24.5	34.8	5.0	40	0
15	1,140	100	24.5	34.8	5.1	18	1
		506	11.7	34.5	3.7	24	0
		50	24.5	34.8	5.0	18	0
16	1,260	100	24.5	34.9	5.0	17	0
		374	15.8	34.8	4.4	10	0
		50	24.3	34.8	5.0	12	0
17	750	100	24.4	34.9	5.1	12	0
		319	16.4	34.8	4.4	8	1
		50	24.3	34.8	4.9	9	0
18	420	100	24.3	34.9	4.9	12	0
		355	17.2	34.8	4.4	9	0
		50	24.9	34.8	4.9	10	0
19	400	100	24.8	34.8	5.0	9	0
		50	21.7	34.5	5.3	26	0
G1	720	50	22.7	34.6	5.2	17	2
G2	718	50	22.7	34.6	5.2	17	2
G3	780	50	22.6	34.7	5.1	22	0
G4	280	50	25.0	34.8	5.1	20	0

a) Total viable count of aerobic heterotrophic bacteria

b) Viable count of luminous bacteria

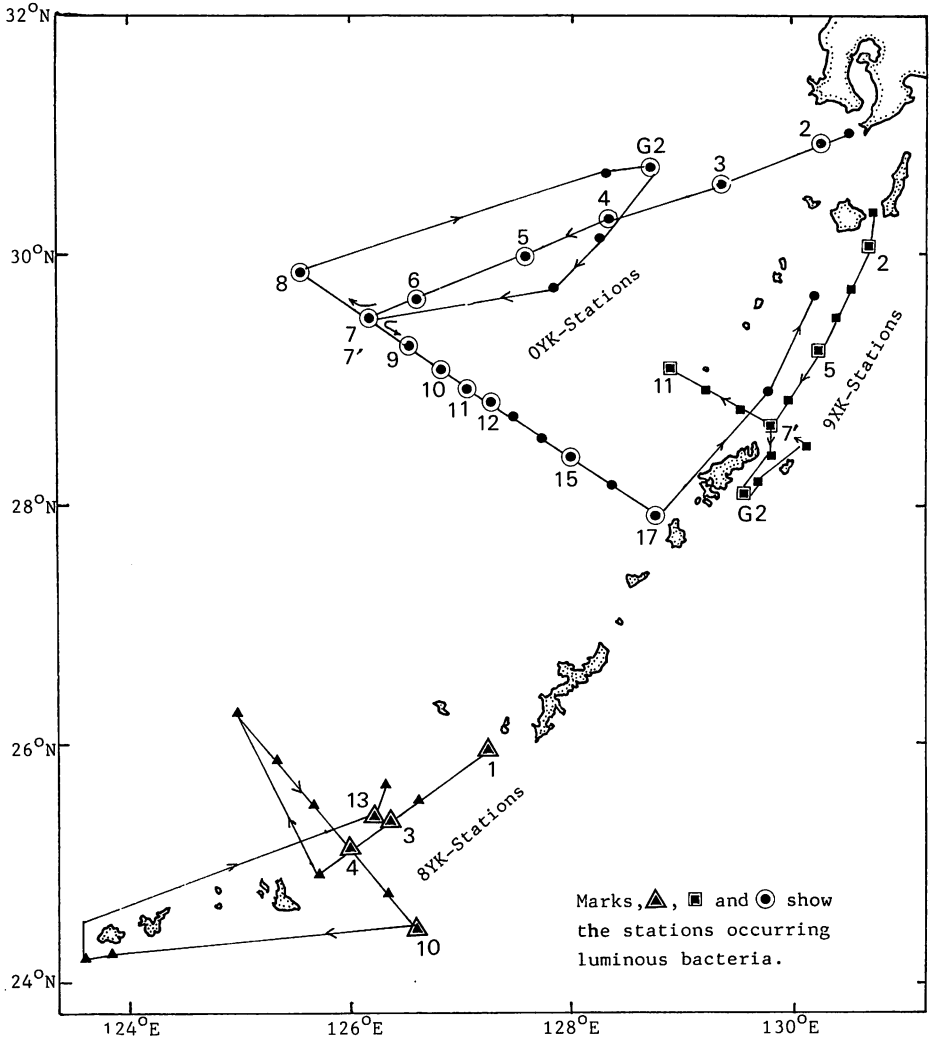


Fig. 2. Occurrence of luminous bacteria at the stations of 8YK-, 9XK-, and 0YK-samplings.

には、大陸棚漁場や、いくつかの曾根漁場が散在していて、他の海域より高い生物生産性が期待される。定点 OYK-1~7 は、黒潮から分岐した対島暖流を横断し、定点 OYK-8~17 は、分岐前の黒潮流を横断している。定点 OYK-3, 4 は、対島暖流の流軸にあたり、定点 OYK-5~10 は、大陸棚上にあり、定点 OYK-11~16 は黒潮流路内にある。対島暖流の流軸と九州沿岸水との境界域や、黒潮流軸と大陸棚沿岸水との境界域では、地形や水温分布から見てわかるように、湧昇流が生じ、下層の冷水が浮上して、50~100m 層の水温を下げている。

従属栄養細菌数は、調査海域の全域を通じて  $10^2/\text{ml}$  以下であり、それは海域の栄養階級区分<sup>2)</sup>によると、貧栄養域に相当する値であった。大陸棚上の定点 OYK-5, 6, 7 の3点においてわずかに  $10^2/\text{ml}$  を超過していた。このように、8YK-, 9XK-調査海域よりも、



OYK-調査海域の方が、やや細菌数が多かった。一般に深い黒潮流軸海域では細菌数は少なく50/ml以下で、大陸棚や陸棚斜面上、あるいは島の近くや曾根上の定点において、やや細菌数が多く50~100/ml程度であった。鉛直的に見れば、50m層の細菌数と100m層のそれとの間には有意の差はなかったが、300m層のそれは明らかに減少していた。

発光細菌用の培地には、0.3~1.0%のグリセリンを加えることがある。予備実験において、海水寒天培地と1%グリセリン加海水寒天培地との間で、発光細菌生育コロニー数に有意の差が見られなかった。それで、従属栄養細菌数と発光細菌数とを対応させるためにも、両者を同一の海水寒天培地を用いて計数した。

全調査海域を通し、調査した53定点のうち、発光細菌が検出されたのは25定点であった。その定点の調査海域毎の内訳は、8YK-調査海域の14定点のうち5定点(36%)、同様に、9XK-の15のうち5(33%)、そしてOYK-の24のうち15(62%)であった。ここで、OYK-調査海域においては、8YK-、9XK-調査海域に比して検出率が高かった。それら発光細菌が検出された定点の所在はFig. 2に示す。また、各調査海域において深度毎の発光細菌検出率はTable 4にまとめて表示する。Table 4に示されるように、8YK-調査の33試料のうち発光細菌が検出されたのは、5試料(15%)、同様に、9XK-の38のうち6(16%)、そして、OYK-の52のうち21(40%)であった。また、8YK-、9XK-調査では、水深50m層から採取した試水が、100m及び300mのそれよりも発光細菌検出率が高かったが、OYK-調査試料では、各層ともほぼ同じ検出率であって、OYK-海域の特徴を表わしている。

上述のように、発光細菌は広く分散した定点から検出され、それら定点には、他の定点に比して特別な共通点は見られなかった。Table 1, 2, 3に見られるように、発光細菌数は1~3/mlで、従属栄養細菌数のほぼ数%以下であった。本調査において50株の発光細菌を分離したが、それらの内訳は、8YK-調査海域で11株、9XK-で9、OYK-で30であった。

分離発光細菌の鑑別と菌種別分布 発光細菌の分類は、前述のような過程を経て変遷してきたが、今なお少部分の改変が続いている。HENDRIEら(1970)<sup>6)</sup>の3属5種に整理した分類、それを基調にしたBergey's manual 8版<sup>9)</sup>の記載に対し、REICHEL T and BAUMANN(1973)<sup>10)</sup>は、次のような若干の修正をした。すなわち、*Vibrio fischeri*は確かに他の4種と異なるが、その段階で*Vibrio*属に入れるべき妥当性がないので暫定的に*Photobacterium*属に入れるべきであるとし、*Photobacterium fischeri*と呼んだ。また*Photobacterium mandapamensis*は

Table 4. Detection ratio of luminous bacteria among samples collected from 8YK-, 9XK-, and OYK-samplings.

Sampling	8YK-				9XK-				OYK-			
	50	100	300	(Total)	50	100	300	(Total)	50	100	300	(Total)
No. of sample (T)	14	13	6	33	15	14	9	38	24	17	11	52
No. of sample detected L.B <sup>a</sup> .(D)	4	1	0	5	4	1	1	6	9	8	4	21
D/T %	29	8	0	15	27	7	11	16	38	47	36	40

a) L.B. = luminous bacteria

Table 5. Characteristics differentiating the Genus and Species of marine luminous bacteria<sup>a)</sup>

Traits <sup>c)</sup>	Epithets <sup>b)</sup>		<i>V. fischeri</i>	<i>P. phosphoreum</i>	<i>P. mandapamensis</i>	<i>L. harveyi</i>
	BM	H	<i>V. fischeri</i>	<i>P. phosphoreum</i>	<i>P. mandapamensis</i>	<i>L. harveyi</i>
	RB		<i>P. fischeri</i>	<i>P. phosphoreum</i>	<i>P. leiognathi</i>	<i>B. harveyi</i>
Flagellation			SP	P	P	SP-Pr
No. of polar flagella			2-8	1-3	1-3	1
0/129 sensitivity			+	+	+	-
Oxidase			+	-	d(64)	+
Tweens hydrolysis			+	-	d(82)	+
Gelatin hydrolysis			-	-	-	+
Starch hydrolysis			-	-	-	+
Indole production			-	-	-	+
Utilization of pyruvate			-	-	+	+
PHB <sup>d)</sup> accumulation			-	+	+	-
Gas from glucose			-	+	-	-
Maltose fermentation			+	+	-	+
V. P. reaction			d(25)	+	+	-
2, 3-butandiol production			-	d(85)	d(11)	-
Growth at 5°C			+	+	-	-
Growth at 35°C			d(67)	-	+	+
Growth temp. range(°C)			4-30	0-28	4-35	10-37
DNA base ratio, G+C %			39.0-40.5	41.2-41.8	42.8-43.8	46.-47.2

- a) All the luminous bacteria are gram-negative, motile motile rods, facultative anaerobes, capable of growth at 25°C. They also metabolize fermentatively glucose, and produce an extracellular chitinase.
- b) Currently used and proposed epithets: BM, Bergey's Manual, 8 ed. (1974)<sup>9)</sup>; H, HENDRIE *et al.* (1970)<sup>6)</sup>; RB, REICHELDT and BAUMANN (1973)<sup>16)</sup>.  
Generic abbreviations: *B.* = *Benecke*, *L.* = *Lucibacterium*, *P.* = *Photobacterium*, *V.* = *Vibrio*
- c) +, more than 90% strains positive; -, more than 90% strains negative; d, 11-89% strains positive, numbers in parentheses indicate the percent of the positive strains.  
SP=sheathed, polar flagella; P=unsheathed, polar flagella; Pr=peritrichous flagella; SP-Pr=in liquid medium single polar sheathed flagellum, on solid medium may have additional unsheathed peritrichous flagella.
- d) PHB=poly-β-hydroxybutyrate

*Photobacterium leiognathi* とした<sup>17)</sup>. さらに, *Lucibacterium harveyi* もその鞭毛形態から *Benecke* 属に入れて *Benecke harveyi* としている<sup>1-3)</sup>. ところが最近, BAUMANN ら (1980)<sup>4)</sup> は, glutamine synthetase と superoxide dismutase についての知見から, *Benecke* 属を廃止することを発表した. そして, 彼らが *Benecke harveyi* と呼んでいた菌は *Lucibacterium harveyi* と同義語であるとしている. 従って, 本報では, 上述の菌名の混乱を避けるため, Bergey's manual 8 版に記載の属種名を用いる. 上述の発光細菌属種名の同義語及びそれらを鑑別するいくつかの特性は Table 5 に示す.

本調査で分離された発光細菌50株を同定したところ, *V. fischeri* 23株, *P. phosphoreum* 1株, *P. mandapamensis* 13株, *L. harveyi* 13株であった. それらを, 各調査海域, 定点, 深度別に分布を見れば Fig. 3 のようになる. Fig. 3 に見られるように, 8YK-調査海域から分離された11株は, *P. mandapamensis* 3株, *L. harveyi* 8株で, *V. fischeri*, *P. phosphoreum*

は分離されていない。 *L. harveyi* が優占種であったことが、8YK-調査海域の特徴である。9XK- の9株は、 *V. fischeri* 6株、 *P. mandapamensis* 2株、 *L. harveyi* 1株で、 *P. phosphoreum* は見出されなかった。OYK- の30株は、 *V. fischeri* 17株、 *P. mandapamensis* 8株、 *P. phosphoreum* 1株、 *L. harveyi* 4株であって、この海域からはじめて *P. phosphoreum* が1株分離された。9XK-分離発光細菌の菌種組成とOYK-のそれとはほとんど同じで、 *V. fischeri* 59%、 *P. phosphoreum* 3%、 *P. mandapamensis* 25%、 *L. harveyi* 13%であった。

次いで Fig. 3 によって、分離発光細菌の各菌種の分布を鉛直的に見れば、分離発光細菌の50株は、50m 層から25株、100m 層から19株、300m 層から6株が分離されていた。

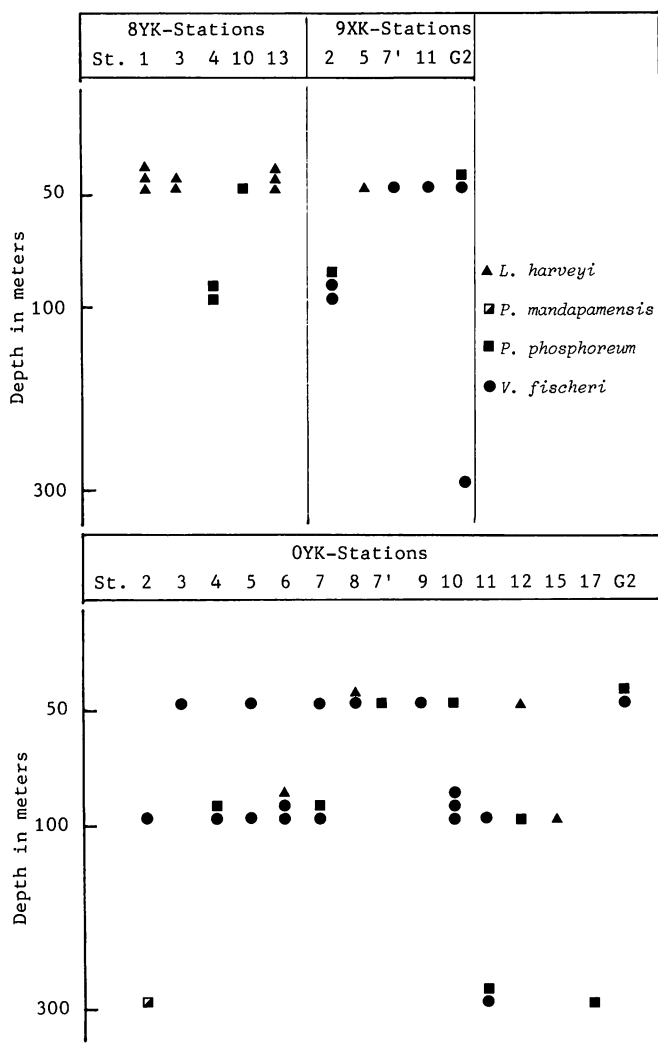


Fig. 3. Distribution of luminous bacterial species, by depth, in seawater of 8YK-, 9XK-, and OYK-sampling stations.

8YK-調査海域から分離された11株のうち、特異的に多かった *L. harveyi* の8株は、50m層から分離されている。9XK-, OYK-から数株分離されている *L. harveyi* も50~100m層からのものであった。9XK-, OYK-両海域を通して、*V. fischeri*, *P. mandapamensis* は50~100m層から多く分離されており、300m層からは少なかった。ただ、1株分離されている *P. phosphoreum* は、定点 OYK-2 の300m層から分離されたものであった。このように、各菌株の深度別分布においても、9XK-海域と OYK-海域とでは、同じような傾向が見られ、両調査海域の類似性が認められた。

### 考 察

発光細菌の分類は、現在かなり整理、標準化され<sup>6,16)</sup>、分離菌の鑑別、同定が容易になった。それによって、海洋のいろいろな生息場所から分離された発光細菌を同定して、各菌種の生態学的特徴が解明されつつある。

RUBY and MORIN (1976, 1978)<sup>18)</sup> は、各種発光魚、深海性のソコダラ科 (*Macrouridae*)、中層水域のデメニギス科 (*Opisthoproctidae*)、温帯浅海性のマツカサウオ科 (*Monocentridae*)、熱帯浅海性のヒイラギ科 (*Leiognathidae*) の発光器官から発光細菌を分離して、共生主と共生菌との相互関係を検討した。深海魚及び中層魚は低温性の *P. phosphoreum*、浅海魚は中温性の *P. fischeri* と *P. leiognathi* を含んでおり、これら発光器から分離された発光細菌は、魚の生息域の温度に最も適応していた。また、これら共生のすべては種特異性があり、かつ、個々の発光魚はただ1種だけの発光細菌と共生していたと報告している。このように、*Photobacterium* 属の3種は、発光魚との間に選択的な共生関係が知られているが、*L. harveyi* には未だそれが知られていない。—引用文献中の知見を記述する時、菌属、菌種名は原報に従った。同義語は、Table 5 を参照されたい。—

RUBY and MORIN (1979)<sup>20)</sup> は、表層、中層魚22種の腸内に、3種の発光細菌 (*P. fischeri*, *P. phosphoreum*, *B. harveyi*) を認めた。それらの菌種の中には、腸内において  $10^5 \sim 10^7$ /ml 程度存在しているものもあった。これらの発光性腸内細菌は、排泄されて海水中に遊離し、自由に生活できるものと考えられる。

RUBY and NEALSON (1978)<sup>19)</sup> は、南部カリフォルニア沿岸表層水中に1~8/ml程度の3種の発光細菌を見出したが、それらは、*P. fischeri* と *B. harveyi* の2種が99%以上を占めていた。それらの菌種の季節的变化について、2年間にわたって調査した結果を次のように報告している。*P. fischeri* は年間を通してほぼ1~5/mlで、*B. harveyi* が優勢である夏季を除く、秋、冬、春における優占種であった。*B. harveyi* は、夏季に優勢で全発光菌の60~70%を占める2.5~3.0/mlであったが、冬季にはほとんど見出されなかった。*P. phosphoreum* は、冬季においてのみわずかに検出されたが、*P. leiognathi* は、この調査期間中全く見かけられなかった。*B. harveyi* の分布変動は、表層水温の変化と深い関係があるとしている。

YETINSON and SHILO (1979)<sup>26)</sup> と SHILO and YETINSON (1979)<sup>21)</sup> は、地中海と Elat 湾における発光細菌の季節的、地理的分布を検討し、菌種によって異なった分布様相を見出している。地中海において、*B. harveyi* は、一年中生息するが、その実、夏、冬交互して異なった亜種が現れた。従って、*B. harveyi* は、さらに詳しく亜種レベルの分布を検討すべきだと指

摘している。*P. fischeri*は、冬季にだけ検出された。一方、Elat湾においては、*P. leiognathi*が年間を通して広く分布していた。夏季、沿岸の表層水では*P. leiognathi*は、*B. harveyi*によって置き換えられていた。*B. harveyi*は、栄養豊富で高い生産性をもつ沿岸浅海域に多く見出された。このような発光細菌の菌種組成の季節的变化は、水温、塩分、太陽光線、栄養分などの非生的要因の変動に起因すると述べている。

ORNDORFF and COLWELL (1980)<sup>15)</sup>は、Sargasso Seaの水深160~320m層において、発光細菌数は1~63/100mlであったと述べている。そしてそこから分離された85株の発光細菌のうち75株は、*V. fischeri*と*L. harveyi*であり。残りは*P. mandapamensis* 9株、*P. phosphoreum* 1株であった。*V. fischeri*と*L. harveyi*は、表層の温海水に多く分布していた。

以上のいくつかの報文における知見を総合すれば、*P. phosphoreum*は、深海性発光魚の発光器に共生する発光細菌で、低温性で低栄養的な細菌である。*P. mandapamensis*は浅海性発光魚ヒイラギ科の発光器に共生している中温性菌である。*V. fischeri*は浅海性発光魚マツカサウオ科の発光器に共生している低温性菌である。*L. harveyi*は高栄養性菌であり、魚との共生関係は知られていない。これらの発光細菌は、魚の腸内にも生息し、その数は $10^5$ ~ $10^7$ /mlにも及んでいる。魚種による腸内細菌相内の発光細菌種に特異性があるかどうか明らかでないが、菌種組成にいくらかの相違が見られている<sup>20)</sup>。また、発光細菌は、魚体表や浮遊物にも付着して生息している様子が知られている。このような状態の発光細菌が遊離した時、自由生活型として海水中で生息している。従って海水中の発光細菌は、その場の環境条件に則したいろいろと特徴ある菌種が検出されることになる。

本報の調査において、水深50~300m層から採取された試料水123のうち発光細菌が検出された試水は32で平均検出率は26%であった。検出された海水中の発光細菌数は1~3/mlで、この値は、過去に亜熱帯海域で測定された結果と近似している。分離された発光細菌50株の菌種組成を調査海域毎に解析すれば、8YK-海域の50m層からの分離発光細菌に*L. harveyi*が多いことは、その海域が水温が高く、富栄養的領域であることを思わせる。そのことは、それらを検出した定点が宝山曾根付近の生物生産性、漁場性の高い海域であることとよく符合している。9XK-とOYK-との分離発光細菌の菌種組成は類似していた。それは両海域が地理的に近く、海況が似ているためであろう。しかし、調査時期にほぼ1年間のずれがあるにもかかわらず、このように類似することは、この海域の海水中細菌相が固定していると考えべきか、あるいは、季節的変動があるなかで、ちょうど同じ季節であったがため、のいずれなのか興味深いところである。また、夏季と冬季では優占種が大きく変化することが知られているなかで、今回多少の差はあるが、4菌種全員が検出された。このような菌種組成を示したことは、調査時期が秋季であったこと、あるいは、この調査海域がいろいろな水塊が混ざる海域であることのいずれかに由来していると思われる。このように、海水中発光細菌の菌種組成の変動は、その海域の海況や生物生産性の違いを反映しており、それらを知る指標として十分役立つものと考えられる。

## 要 約

著者らは、琉球島弧周辺海域の海水から発光細菌を計数、分離し、それらを同定して、菌種別分布を調べた。我々は、試料を1978年から'80年の各年秋季に採集した。すなわち、それは、'78年には宮古島近海の14定点の深度50m, 100m, 300m層から33の試料、'79年には奄美大島近海の15定点から38試料、'80年には北琉球島弧西方海域の24定点から52試料、合計53定点から123試料であった。発光細菌は、32試料('78年の5試料、'79年の6、そして'80年の21)から検出された。発光細菌が検出された試料の数は、300m層よりも50~100m層で多かった。それらの1ml当たり発光細菌細胞は、1~3個の濃度で見出され、50株が分離された。分離発光細菌50株の菌種組成は：*Vibrio fischeri*が23株(46%)；*Photobacterium phosphoreum*, 1(2%)；*P. mandapamensis*, 13(26%)；*Lucibacterium harveyi*, 13(26%)であった。'78年の試料では、*L. harveyi*が優占種であって、'79年と'80年の試料中の菌種組成とは異なっていた。後2者の菌種組成はほとんど同じで、それは、*V. fischeri* 59%、*P. phosphoreum* 3%、*P. mandapamensis* 25%、そして*L. harveyi* 13%であった。これらの結果から発光細菌群の菌種組成は、その海域の海況や生物生産性の違いを表す指標として役に立つものと考えられる。

この研究の調査航海において、多大のご援助をいただいた、研究代表者の高橋淳雄教授をはじめ共同研究者やかごしま丸乗組員の各位に、深甚の謝意を表します。

## 文 献

- 1) ALLEN, R. D. and P. BAUMANN (1971) Structure and arrangement of flagella in species of the genus *Beneckeia* and *Photobacterium fischeri*. *J. Bacteriol.*, **107**, 295-302.
- 2) BAUMANN, P., L. BAUMANN, and M. MANDEL (1971): Taxonomy of marine bacteria: the genus *Beneckeia*. *J. Bacteriol.*, **107**, 268-294.
- 3) BAUMANN, P. and L. BAUMANN (1977): Biology of the marine enterobacteria: genera *Beneckeia* and *Photobacterium*. *Ann. Rev. Microbiol.*, **31**, 39-61.
- 4) BAUMANN, P., L. BAUMANN, S. S. BANG, and M. J. WOOLKALIS (1980): Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia*, and *Photobacterium*: Abolition of the genus *Beneckeia*. *Current Microbiol.*, **4**, 127-132.
- 5) BUCHANAN, R. E. and N. E. GIBBONS (ed.) (1974): *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- 6) HENDRIE, M., W. HODGKISS, and J. M. SHEWAN (1970): The identification, taxonomy and classification of luminous bacteria. *J. gen. Microbiol.*, **64**, 151-169.
- 7) HERRING, P. J. and J. G. MORIN (1978): Bioluminescence in fishes. In P. J. HERRING (ed.), *Bioluminescence in action*, pp. 273-329, Academic Press Inc., New York.
- 8) 日高富男・河口貴史・白浜真之 (1979): 漁場海域における微生物生態系の解析-I, 琉球島弧周辺海水中のバクテリオファージの分布. 鹿大・水・紀要, **28**, 47-55.
- 9) 日高富男 (1980): 漁場海域における微生物生態系の解析-II, 琉球島弧周辺海域に常在するバクテリオファージ系について. 鹿大・水・紀要, **29**, 327-337.

- 10) 日高富男・崎田勲 (1981): 漁場海域における微生物生態系の解析-Ⅲ, 北琉球島弧西方海域における海洋バクテリオファージ系の棲み分けについて. 鹿大・水・紀要, **30**, 331-338.
- 11) McELROY, W. D. (1961): In *The Bacteria*, ed. I. C. GUNSALES, R. Y. STANIER, Vol. II, pp. 479-508, Academic Press, New York.
- 12) NEALSON, K. H. (1978): Isolation, identification, and manipulation of luminous bacteria. *Methods Enzymol.*, **57**, 153-166.
- 13) NEALSON, K. H. and J. W. HASTINGS (1979): Bacterial bioluminescence: Its control and ecological significance. *Microbiol. Rev.*, **43**, 496-518.
- 14) O'BRIEN, C. H. and R. K. SIZEMORE (1979): Distribution of the luminous bacterium *Beneckea harveyi* in a semitropical estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**, 928-933.
- 15) ORNDORFF, S. A. and R. R. COLWELL (1980): Distribution and identification of luminous bacteria from the Sargasso Sea. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 983-987.
- 16) REICHELDT, J. L. and P. BAUMANN (1973): Taxonomy of the marine, luminous bacteria. *Arch. Microbiol.*, **94**, 283-330.
- 17) REICHELDT, J. L., P. BAUMANN, and L. BAUMANN (1976): Study of genetic relationships among marine species of the genera *Beneckea* and *Photobacterium* by means of *in vitro* DNA/DNA hybridization. *Arch. Microbiol.*, **110**, 101-120.
- 18) RUBY, E. G. and J. G. MORIN (1978 a): Specificity of symbiosis between deep-sea fishes and psychrotrophic luminous bacteria. *Deep-Sea Research*, **25**, 161-167.
- 19) RUBY, E. G. and K. H. NEALSON (1978): Seasonal changes in the species composition of luminous bacteria in nearshore seawater. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 530-533.
- 20) RUBY, E. G. and J. G. MORIN (1978 b): Luminous entric bacteria of marine fishes: a study of their distribution, densities, and dispersion. *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**, 406-411.
- 21) SHILO, M. and T. YETINSON (1979): Physiological characteristics underlying of luminous bacteria in the Mediterranean Sea and Gulf of Elat. *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**, 577-584.
- 22) 高橋淳雄 (1978): 黒潮と大気の関係について. 号外海洋科学, **1** (2), 133-140.
- 23) 高橋淳雄ら (1980): 奄美・吐噶喇周辺海域の海況. 琉球島弧周辺海域における陸棚斜面漁場の開発利用に関する研究報告書-Ⅱ (昭和54年度), 49-57, 鹿児島大学水産学部.
- 24) 高橋淳雄ら (1981): 北琉球島弧西方海域の海況. 琉球島弧周辺海域における陸棚斜面漁場の開発利用に関する研究報告書-Ⅲ (昭和55年度), 28-41, 鹿児島大学水産学部.
- 25) 茶円正明ら (1979): 南琉球島弧周辺海域の海況. 琉球島弧周辺海域における陸棚斜面漁場の開発利用に関する研究報告書-Ⅰ (昭和53年度), 8-18, 鹿児島大学水産学部.
- 26) YETINSON, T. and M. SHILO (1979): Seasonal and geographic distribution of luminous bacteria in the eastern Mediterranean Sea and the Gulf of Elat. *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 1230-1238.
- 27) 吉田陽一 (1973): 低次生産段階における生物生産の変化. 日本水産学会編「水圏の富栄養化と水産増殖」92-103, 恒星社厚生閣.