千葉県鴨川沿岸の海水細菌

清水 潮・相磯 和嘉*

(1962年9月10日受理)

OCCURRENCE AND DISTRIBUTION OF HETEROTROPHIC BACTERIA
IN SEA WATER FROM THE KAMOGAWA BAY

Usio SIMIDU and Kazuyoshi AISO

An investigation of the bacterial flora of the sea water from the inshore environment of the Kamogawa Bay (Fig. 1) was carried out at the four seasons of 1961.

The bacterial population seemed to decrease in winter and increase in other seasons (Table 2). Some 475 strains of bacteria were isolated by membrane filter method and investigated their morphological and cultural characteristics using test media containing 3% of NaCl.

For cultures isolated in winter, optimum temperatures for growth were relatively low and the greater part of them failed to grow at 37°C. (Table 5). Most of them (82% of the isolates) were sea-water-loving (halophilic) species showing the optimal growth at about 3% of NaCl concentration and no visible growth of these isolates was occurred at NaCl concentration lower than 0.1%. Remaining one fifth of the cultures showed good growth on the media containing less than 0.1% of NaCl and had no marked optimum growth range for NaCl concentration.

Distinct differences in the distribution of bacterial genera was observed between halophilic and non-halophilic bacteria, halophilic group was mainly consisted of *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Vibrio*, and *Photobacterium*, while dominant genera in non-halophilic group were *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus* and *Flavobacterium*. (Table 6).

The composition of the bacterial flora analyzed according to the scheme of Fig. 3 was as follows; *Vibrio* 37.3%, *Pseudomonas* 29.8%, *Achromobacter* 21.3%, *Aeromonas* 0.4%, *Photobacterium* 0.4%, *Flavobacterium* 2.1%, *Bacillus* 5.5%, *Micrococcus* 0.4%, *Coryneforms* (*Pseudobacterium*) 0.4% and Miscellaneous 2.3% (Table 6).

Among the isolated cultures, a species of *Vivrio*, possessing the characteristics similar to those of the „pathogenic halophile which was isolated from the patients of a gastroenteric disease”, constituted considerable proportions through a year.

海洋微生物の多様な生物学特性は古くから WAKSMAN^{1,2)}, ISACHENKO³⁾ らによつて注目され、研究されており、その後も各国の学者が数多くの海水細菌の研究を発表している。それらの中でも、アメリカの ZOBELL を中心とする業績⁴⁾はとくに有名であるが、オーストラリアの WOOD⁵⁾⁶⁾も海水、魚の Microflora について総括的な報告を発表しており、インドの VELANKER^{7,8)} らも熱帯海域における海水細菌、プランクトンについて研究している。ソ連においても近年、黒海、北極海、太平洋、大西洋などにおいて、大規模な海洋微生物の研究が行なわれており、その成果が KRISS⁹⁾ によつてまとめられている。海産食品の腐敗、鮮度保持に関連して行なわれた海水、魚の細菌学的研究は、従来カナダ、イギリスでとくに精力的にすすめられており、SHEWAN¹⁰⁾, TARR¹¹⁾ の総説もある。

海水細菌の主な構成員であるグラム陰性桿菌については、その形態、生活環が単純で、また、多様な生理的性質にもかかわらず互いに他と区別できる特徴的な形質を有するものが少ない、などの事情のために、従来、分類がひじょうにおくられており、そのことがこの方面の研究をも、また過去の研究成果の評価をも困難

* 千葉大学腐敗研究所 (The Institute of Food Microbiology, Narashino, Chiba, Japan).

にさせるひとつの理由になつていた。近年ようやく SHEWAN¹²⁾, LISTON¹³⁾ らによつて、グラム陰性桿菌群の分類が整理されてきており、魚類の *Microflora* についても新しい立場からの研究が発表されるようになった^{14,15,16)}。

わが国においては、従来水産国と称されながらも海水細菌についての包括的な研究はほとんど行なわれておらず、わずかに木俣¹⁷⁾, 谷川¹⁸⁾らが魚介類の腐敗細菌の検索を行なつた業績などがあるにすぎなかつた。数年前、横浜国立病院の滝川¹⁹⁾が腸炎型食中毒患者の糞便から、3% 前後の食塩濃度で至適の発育を示す、いわゆる病原性好塩菌 *Pseudomonas enteritis* を分離、その病原性を主張したが、その後同様の形態、性状をもつ菌が食中毒患者からつきつぎに分離され、さらにこの菌が海水に由来し、近年わが国に多発する生アジ中毒の原因菌であると考えられるにおよんで、海水細菌がにわかに注目をあびるようになった。

われわれの研究室では、腐敗細菌の系統的研究の一環として、数年前から海水、海水魚から分離した *Pseudomonas*^{20,21)}, *Aeromonas*²²⁾, *Photobacterium*²³⁾ などのグラム陰性桿菌について一連の研究をすすめてきたが、今回これらの研究の延長として、千葉県水産試験場、鴨川保健所のご協力を得て、房総半島鴨川沿岸の海水細菌の分布について総括的な研究を行なつた。

方 法

Fig. 1. Sampling station in Kamogawa Bay.

採水 海水採取は 1961 年 2 月から 11 月にかけて、冬 (2 月 16 日)、春 (4 月 28 日)、夏 (7 月 22 日)、秋 (11 月 10 日) の 4 時期に 1 回ずつ行なつた。採水場所はいずれも房総半島鴨川沖の沿岸から約 1 km, 6 km の点 (Fig. 1) で、採水は滅菌 ハイロート 採水器 (500 ml および 100 ml) を用いて、表面から 50 cm の表層海水、表面から 15 m 内外の深さの海水を、それぞれ同一点で数 10 m の間隔をおいて 2 回採水した。採水点の水深、採水個所の水深、水温などは Table 1 に示した。採取した海水は滅菌試薬ビンに移し、そのまま研究室にもちかえつて実験に供した。採水から菌の分離操作開始までの時間は約 6 時間であつた。

菌株の採集 菌の分離はメンブランフィルター法によつて行なつた。滅菌したメンブランフィルター Co 5 上に海水 100 ml, 20 ml, 5 ml, 1 ml および滅菌 3% 食塩水で 10 倍に希釈した海水 2 ml を流し、濾過後フィルターを寒天平板培地表面に移して培養した。培地は種々検討の結果 Table 2 に示した組成のものを使用した。培養は 20°C で行ない、48 時間後に発育集落を計数し、さらに 100 個内外の集落発育を見た各採水点ごとのフィルターの一面を任意に区切つて画内のすべての集落 30~40 個を釣菌し、直ちに上述の培地を用いて再分離

Table 1. Data of sampling point.

Date	Distance from the coast (Km.)	Depth to the bottom (m.)	Depth of sampling point (m.)	Temperature of sea water (°C.)	Salinity of sea water (‰)
16 th, February	1	14	0.5 12	12.6 12.2	—
	6	105	0.5 15	14.7 13.3	—
28 th, April	1	—	0.5 10	17.9 16.7	33.87 34.41
	6	—	0.5 20	17.1 16.3	34.85 34.51
22 nd, July	1	23	0.5 15	24.5 22.0	34.13 —
	6	120	0.5 15	24.5 22.0	34.13 —
10 th, October	1	17	0.5 15	22.4 22.1	—
	6	108	0.5 20	22.6 22.4	—

Table 2. Composition of medium used for the isolation.

fish extract (1 kg. of horse- mackerel was extracted with 2.5 l of sea water and 0.5 l of tap water)	1 l.
polypeptone	5 g.
meat extract	5 g.
yeast extract	3 g.
glucose	1 g.
agar	15 g.
pH 7.0	

した。48 時間培養では微小集落からの釣菌は注意して行なわないとかなり困難だが、培養時間がさらに長くなると大型の集落によつて小型の集落がおおわれ、分離が困難になる。フィルター上で swarming する菌は、今回の実験では少なかった。

分離菌株の試験 分離菌株の海水由来を考慮して、菌株の保存と試験には NaCl を 3% 加えた培地を使用した。これら菌株の大部分は、すくなくとも分離後しばらくの間は、ふつうの、0.5% 程度の NaCl の入った nutrient agar には発育がきわめて悪く、また、食塩を加えない炭水化物分解試験用培地、リトマスミルク、グルコース磷酸塩培地、SIM 培地など、大部分の試験用培地にはまったく発育しない。

形態、運動性の検査および鞭毛染色には、非好塩性の菌（分離当初から 0.1% NaCl 加ポリペプトン水に発育するもの）にたいしては 3% NaCl 加培地とともに、ふつうの nutrient agar および broth も併用した。非好塩性の *Bacillus* では 3% NaCl 加培地では芽胞を形成しないかまたはし難いものも多く、また、鞭毛を有する非好塩性菌では 3% NaCl 加培地に発育させると鞭毛が認められなかつたり、鞭毛の数が少なく周毛性の鞭毛が極毛性に見誤られることが多い。鞭毛染色は LEIFSON²⁴⁾ の方法によつた。螢光色素の判定には加藤²⁵⁾ の用いた培地のほか KING²⁶⁾, PATON²⁷⁾ にの培地を併用した。いずれの培地も発育が認められない場合は NaCl を添加した。KING の培地でわずかに黄色の色調が認められるが他の培地では色素産生が検出できない場合は一応陰性と判定した。炭水化物分解能の検査に通常の BTB ペプトン水 BARSIEKOW 培地を用いると、菌株によつては、ペプトンからのアンモニアの産生が強く、糖の分解による酸の産生が判定できない。われわれは SMITH ら²⁸⁾ が *Bacillus* 属の検索に用いた半合成培地に 3% NaCl を加えたものを使用して好結果を得た。キチンの分解は CAMPBELL ら²⁹⁾ にしたがつてキチン寒天平板を用いて判定し、アルギン酸の分解は木村³⁰⁾ の方法によつて判定した。その他、硝酸塩還元、インドール、硫化水素の産生、セラチン液化、でんぷん水解、リトマスミルクの変化などの性状試験はそれぞれ 3% NaCl を加えた培地を用い、常法³¹⁾ にしたがつて行なつた。薬剤耐性は平板画線法によつて判定した。*Vibrio static agent* 0/129 (2, 4-diamino-6, 7-diisopropylpteridine) にたいする感受性は、0/129 を、めのう乳鉢で微粉にし、3% 食塩水または生理食塩水に懸濁し、被検菌のうすい寒天混濁平板にコルクボーラーであけた穴に、懸濁 0/129 溶液を流し込み、20°C で培養、阻止帯の有無によつて判定した。

結 果

発育集落数 メンブランフィルター上に発育した集落数を海水 1 ml 当りの数に換算して示すと Table 3 のようになる。表にみられるように冬季には他の時期に比べて集落数がいちじるしく少ない。

食塩依存性 蒐集した 470 株あまりの海水細菌について、発育にたいする NaCl 濃度の影響を検討した。正確に 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 13% の NaCl を含む水 1 l にポリペプトン 10 g, 粉末寒天

Table 3. Colony numbers on membrane filter incubated 48 hrs. at 20°C. (calculated at numbers per 1 ml of sea water)

Date of isolation	Distance from the coast (Km)	Depth of sampling point (m)	Numbers of colony per 1 ml of sea water	
16 th, Feb.	1	0.5 12	8.2, 14.2	9.2 16.3
	6	0.5 15	3.0, 2.5	3.5 2.7
28 th, Apr.	1	0.5 10	79, 320	81
	6	0.5 20	60, 71,	96 320
22 nd, Jul.	1	0.5 15	178, 172,	230 500
	6	0.5 15	46, 126,	103 148
10 th, Oct.	1	0.5 15	43, 32,	51 52
	6	0.5 20	41, 20	107

Table 4. Distribution of sea-water-loving bacteria

Date of isolation	Distance of sampling station (Km)	Numbers of bacteria	
		Sea-water.* loving bacteria	Non-sea.** water-loving bacteria
16 th, Feb.	1 6	48 60	10 2
28 th, Apr.	1 6	36 52	25 17
22 nd, Jul.	1 6	48 60	6 4
10 th, Oct.	1 6	42 44	13 8

* Bacteria not grown on the media containing less than 0.1% NaCl, and having the optimum NaCl concentration between 1 and 5%.

** Bacteria grown on the media containing less than 0.1% NaCl.

Fig. 2. Dependence of Growth of Marine Bacteria on NaCl Concentration.

濃度で至適の発育を示し、それより塩濃度が高くなるにしたがつて発育が弱くなる。この結果から、分離された海水細菌を食塩依存性の点で二群に大別することができる。すなわち 3% NaCl 濃度付近で至適の発育を示す好塩性（好海水性）の群と、0~0.1% NaCl 濃度で良く発育する非好塩性の細菌群とである。好塩性菌と非好塩性菌の割合を Table 4 に示した。好塩性細菌の大部分は 0.5~1% から 5~7% の塩濃度の範囲に発育するもので、これが冬季分離株の 82.3%，春季分離株の 70.4%，夏季分離株の 53.7%，秋季分離株の 71.5% を占めた。

発育温度 分離菌株の発育温度について、冬季に分離した株とその他の季節に分離した株との間にいちじるしい差が認められた。すなわち、2 月分離株中 37°C で 3% NaCl 加 broth に発育するものは 120 株中わずか 12 株であるのにたいして、他の時期に分離した株は、大部分が 37°C で発育し、発育しないものは 4 月分離株中 7 株、7 月分離株中 1 株、11 月分離株中 3 株で、きわめて少なかった。

分離株を各季節ごとに形態、性状にしたがつて区分し、各区分から 1~数株ずつ、合計 194 株をえらび、

15 g を加えた培地平板に、菌の 3% NaCl 加 broth 24 時間培養を白金耳で画線塗抹し、20°C に培養、3 日 (72 時間) および 7 日後に判定した。5, 7, 10% NaCl 濃度のものについては 7 日目に発育したものも陽性とし、その他の濃度のものについては 3 日目判定の結果を採った。各塩濃度において発育する株数の割合を Fig. 2 に示した。われわれの分離した海水細菌の大部分は 0~0.1% NaCl 加ペプトン寒天に発育しないが、これらはすべて 3% NaCl 付近に至適の発育を示した。少数の、0~0.1% NaCl 濃度で発育する菌株はその大部分が 0.1~0.5

これについて、20°C, 28°C, 36°C における発育を比較した。ブイヨン 24 時間培養の菌を一白金耳ずつ、好塩菌は 3% NaCl 加 broth に、非好塩菌はふつうの broth に接種し、それぞれの温度の孵卵器に培養し、18 時間後に濁りの強さを肉眼で判定した。結果を 20°C, 28°C, 36°C で至適の発育を示すもの、10~28°C, 28~36°C, 20~36°C の間で同等の発育を示すものに分けて Table 5 に示した。冬季には比較的低温で至適の発育を示すものが多く、水温の上昇に伴って高温で発育の良いものが増えてゆく様子がうかがわれる。

分類 種々検討の結果、分離菌を形態、グラム染色性、色素産生、発光、Hugh-Leifson 培地³²⁾ によるグルコースの嫌氣的分解などの性質をもとにして、ほぼ SHEWAN ら¹⁶⁾ にしたがって Fig. 3 のように各 Genus に分けた。

分離菌株を好塩性菌、非好塩性菌のおのおのについて、この図式にしたがって分類すると Table 6 のようになる。*Vibrio* については、でんぷん水解、セラチン液化、硝酸塩還元の様状をもつものを、病原性好塩菌類似株として、別に一括して示した。また *Achromobacter*, *Flavobacterium* については、周毛性の鞭毛を有するものを一括した。Table 6 から見られるように、分離株中グラム陽性菌はわずかで、大部分はグラム陰性桿菌である。グラム陰性桿菌のうちでは *Pseudomonas*, *Achromobacter* とならんで、とくに *Vibrio* の割合が大きいことが注目され、そのうちでも病原性好塩菌類似株が四季を通じて高い率を占めている。*Enterobacteriaceae* に属すると思われるものはまったく見出せなかった。

グラム陽性細菌 グラム陽性細菌 30 株のうち、26 株までが *Bacillus* で、*Micrococcus* は 2 株、また芽胞を作らず運動性をもたないグラム陽性桿菌が 2 株あった。

Bacillus は、冬季分離株 11 株中 10 株まで、また春季分離株では 15 株中 9 株までが、形態、性状か

Fig. 3. A scheme for the identification of genera of cultures isolated from sea-water.

Table 6. Distribution of organisms isolated from sea-water

Genus and/or kind of bacteria	Numbers of various bacteria Date of isolation							
	16 th, Feb.		28 th, Apr.		22 nd, Jul.		10 th, Oct.	
	SL*	NSL**	SL*	NSL**	SL*	NSL**	SL*	NSL**
<i>Vibrio</i>								
Pathogenic halophilic group***	26	0	33	0	45	0	30	0
Other Vibrios	17	0	7	0	9	0	10	0
<i>Photobacterium</i>	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>Aeromonas</i>	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i>								
nonfluorescent	5	0	47	8	47	1	23	9
fluorescent	0	0	0	2	0	0	0	0
<i>Achromobacter</i>								
non-motile	43	2	4	3	7	1	23	6
motile	5	0	0	1	0	2	4	0
<i>Flavobacterium</i>	0	0	0	4	0	5	0	0
<i>Bacillus</i>	0	11	0	15	0	0	0	0
<i>Micrococcus</i>	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Coryneforms</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
Unidentified	6	1	0	4	0	0	0	0
Total	106	14	91	39	108	10	92	15

* Sea-water-loving bacteria not grown on the media containing less than 0.1% NaCl.

** Bacteria grown on the media containing no salt.

*** Vibrios having the same biochemical characteristics as "pathogenic halophile".

ら *B. megaterium* に一致した。これら *megaterium* の大部分は、とくに 3% NaCl 加培地で黄色の菌体色素を産生し、また 3% NaCl 加培地では、芽胞形成も運動性も認められないものが多かった。

分離されたグラム陽性菌は大部分 (30 株中 27 株) が非好塩性菌であった。

グラム陰性細菌 グラム陰性桿菌中、少数の *Flavobacterium*, 2 株の *Ps. aeruginosa* を際いて明瞭な色素を出すものはなかった。寒天分解菌も認められなかった。

Flavobacterium は比較的少なく 9 株で、そのうち周毛性の鞭毛を有するものが 6 株を占めた。分離 *Flavobacterium* はいずれも非好塩性であった。

Achromobacter は分離株中 6% (春分離株) から 42% (冬分離株) を占めた。総数 100 株のうち 87% が非運動性の菌であり、また 84% が好塩性菌であった。分離した *Achromobacter* の一般的な性状は Table 7 に示した。この属の細菌は *Pseudomonas*, *Vibrio* に比べて発育の弱いものが多く、中には nutrient agar にイーストエキスを加えなければ発育しなくなるものもあった。

Pseudomonas 極毛性の鞭毛を有する細菌のうち、グルコースを嫌氣的に分解して酸を産生する群を *Vibrio*, *Aeromonas*, *Photobacterium* のいずれかに含め、残りを *Pseudomonas* とした。冬季分離株中 4% から春季分離株中 44% に至る総数株 142 がこれに属した。このうち好塩性菌は 85.8% を占めた。黄緑色の蛍光色素を産生するものは春季分離した非好塩性株中に 2 株見られただけである。分離した *Pseudomonas* の性状は Table 7 に示した。これら菌株中 20 株あまりをえらんで *Vibrio static agent* にたいする感受性を試験した結果、大部分は陰性であったが、2 株が感受性を示した。

Photobacterium, *Aeromonas* はともに少なく、2 株ずつしか見られなかった。*Photobacterium* は 2 株とも好塩性で、*Vibrio static agent* に感受性を有した。*Aeromonas* は 2 株中 1 株が非好塩性菌で、

Table 7. Characteristics of isolated cultures.

	Numbers of Strain	Chitin digestion %	Gelatin liquefaction %	Starch hydrolysis %	Nitrate reduction %	Indole formation %	H ₂ S formation %	Glucose utilization %	Mannitol utilization %	Voges-Proskauer's test %	Sensitivity for Penicillin 20 I. U.
<i>Vibrio</i>	177	64.7	93.4	81.0	87.7	77.3	46.0	98.5	93.9	6.2	2.3
<i>Aeromonas</i>	2	0	50	0	100	0	0	100	50	100	0
<i>Photobacterium</i>	2	50	50	0	100	0	0	100	50	0	0
<i>Pseudomonas</i>	142	2.8	75.0	38.8	22.9	3.5	2.1	79.8	22.9	2.1	9.9
<i>Achromobacter</i>	101	2.0	42.4	19.8	15.8	2.0	0	85.2	58.3	35.6	39.6
<i>Flavobacterium</i>	10	0	80	20	60	0	0	80	80	40	60
<i>Bacillus</i>	26	0	100	73.0	7.7	0	0	100	100	3.7	96.0
<i>Micrococcus</i>	2	0	50	0	100	0	0	0	0	0	100
<i>Coryneforms</i>	2	0	50	50	100	0	0	100	50	0	0
Miscellaneous	11	0	0	0	54.5	0	0	100	0	54.5	27.2
Total	475	25.7	74.7	50.9	47.7	31.7	17.9	89.9	62.3	13.5	21.7

2 株とも *Vibrio* static agent に感受性を示さなかつた。

Vibrio 分離株中極毛性の鞭毛を有する *Pseudomonad* で嫌氣的に糖を分解するが、ガスは產生しない群が、つねにかなり高率 (31~46%) に存在した。これらのうち性状の異なる株の代表 20 株あまりについて *Vibrio*-static agent にたいする感受性を試験したところ、いずれも感受性を示した。これら菌株中、明瞭に彎曲した形態を示すものは比較的少ないが、われわれは SHEWAN ら¹⁶⁾ にしたがつて、これらを *Vibrio* に含めた。*Vibrio* のうちではいわゆる病原性好塩菌に類似した性状をもつもの、すなわちゼラチンを液化し、でんぷんを水解し、硝酸塩を亜硝酸塩に還元するものが大部分を占めている。この菌群の大部分はキチン分解、インドール產生、リトマスミルク消化、マンニット分解の性質をもっているが、このうち一つまたは二つの性質が陰性のものも多い。アセチルメチルカルビノールの產生は陰性のものが多く、シュクロース分解能は陽性のものが多い。冬季採取株は、他の性状では一致するが、すくなくとも分離当初には大部分が 37°C で發育しない。

考 察

今回のわれわれの実験は、採水回数も少なく、採取株数も 500 株たらずで、もとより海水細菌の完全な生態学的研究にはほど遠いものではあるが、これによつてわが国の太平洋沿岸海水の細菌叢の一端をうかがうことはできるであろう。

われわれの分離した沿岸海水中の細菌は、大部分を占める好塩性菌群と、少数の非好塩性菌群との 2 群に分けることができる。この群のそれぞれを構成する細菌の属組成には明瞭な差が認められる。すなわち、分離菌中 *Bacillus*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* はすべて非好塩性細菌に属し、一方、*Photobacterium*, *Vibrio* はすべて好塩性細菌である。*Pseudomonas*, *Achromobacter* は好塩性のものが数の上からは多かつた。数の上からも圧倒的に多い (475 株中 397 株) 好塩性菌群が、元来の海水細菌で、非好塩性菌は陸型の細菌が海水環境に二次的に適応したものとの推測もできるかも知れない。距岸 1 km の海水と、6 km の海水とでは、非好塩性菌数の割合にかなりの差が認められた。

海水、海水魚についての他の多くの研究者の結果と同様、われわれの実験した沿岸海水水中にもグラム陽性菌は少なく、とくに *Micrococcus* はほとんど認められなかつた。WOOD³³⁾, SHEWAN ら³⁴⁾ は海水魚から *Corynebacterium* を分離しており KRISS ら⁷⁾ も黒海などの海水、海底から無芽胞、非運動性のグラム陽性

桿菌すなわち、*Pseudobacterium*³⁵⁾ を多数報告しているが、われわれの実験ではこれらに当るものは少なかった。実験方法、とくに海水採取後、菌分離までに6時間経過したことなどが結果に多少の影響をおよぼしているかも知れない。木村³⁶⁾は海水採取後時間とともにグラム陽性菌の割合が減少すると述べている。木村³⁰⁾は北洋海水中にかなり高率にアルギン酸分解菌を見出しているが、われわれの分離株中には1株だけしか見出されなかった。地域により差があるものと思われる。

グラム陰性桿菌中、極毛性の鞭毛を有するもの以外の色素非産生株をすべて *Achromobacter* とした。この中には、リトマスミルクを明瞭に青変するが、糖の分解力のかかなり強いものが多数存在する。したがって、Bergey's manual にしたがって *Achromobacter* と *Alcaligenes* を区別することは反って混乱を招くと思われる。

Vibrio と *Aeromonas*, *Photobacterium* 三者の間には密接な類縁関係が存在するように思われ、これらの分類には、さらに検討するべき問題が残されている。*Vibrio* のうちでは、病原性を別にすれば、形態、生化学的性状において、病原性好塩菌に一致する一群のものが、つねに大きな割合で存在した。今回分離したこれら病原性好塩菌類似株は、大部分 Voges-Proskauer 反応陰性で、また寒天培地上で swarming するものはなかったが、海水、海水魚からは、とくに増菌培地を使用して菌を分離する際、寒天培地上で特徴的な swarming をし、アセチルメチカルビノールを産生するものが多量に分離できる。これらについてはすでに富平²⁰⁾がくわしく報告しているが、これら両群の病原性好塩菌類似株は、人から分離された病原性好塩菌を含めて、単一種を構成するものと考えるべきであろう。これらの菌の詳細については、別報³⁷⁾で報告するが、これら病原性好塩菌類似株が、沿岸海水につねに高率に見出されることは、これらの菌が、魚肉中で速やかな増殖を行なうことと考え合せて、食品衛生、食品保蔵の面で大きな意味をもつと考えられる。

終りに、実験を手伝って下さった辰巳和世さん、沢田文枝さんに心からの感謝の意を表します。

要 約

1. 1961年の四季にわたって、房総半島鴨川沿岸の海水中の有機栄養細菌を分離し、その分布ならびに性状を研究した。
2. 海水中の細菌数は冬季に少なく、他の三つの季節に多い傾向が認められた。冬季に分離した細菌の大部分は 37°C で発育しない。発育の至適温度も一般に冬季分離株では低く、夏季分離株では高い。
3. 分離細菌の 84% は好塩性細菌で 0.1% 以下の食塩濃度のペプトン寒天上に発育せず、3% 付近に至適食塩濃度を有した。残りの 16% の細菌は 0.1~0.5% 食塩濃度で最高の発育を示し、塩濃度が高くなるにしたがって次第に発育が弱まる。非好塩性細菌数の割合は、沿岸から 6 km の海水中では 1 km の海水中より常に少ない。
4. 好塩性細菌と非好塩性細菌の属組成の間には差が認められた。すなわち、分離菌中の *Vibrio*, *Photobacterium* はすべて好塩性細菌であり、一方、*Bacillus*, *Flavobacterium* はすべて非好塩性であつた。
5. 分離菌の大部分は色素を産生しないグラム陰性桿菌であつた。分離菌の属組成は: *Vibrio* 37.3%, *Pseudomonas* 29.8%, *Achromobacter* 21.2%, *Bacillus* 5.5%, *Flavobacterium* 2.1%, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Micrococcus*, *Coryneforms* がそれぞれ 0.4%, 不明 2.3% であつた。
6. アルギン酸を分解する菌はほとんど見られず、寒天分解菌は認められなかったが、キチン分解菌は 26% に達した。
7. *Vibrio* 中いわゆる病原性好塩菌と同じ形態、生化学的性状を有する菌株が、四季を通じて高率に存在した。

文 献

- 1) WAKSMAN, S.A.: *Ecol. Monographs*, 4, 523(1934).
- 2) WAKSMAN, S.A., REUSZER, H. W., CAREY, C.L., HOTCHKISS, M. & RENN, C.E.: *Biol. Bull.* 64, 183 (1933).

- 3) Исаченко, Б.: "Тр. Мурманск. научно-промысловой экспедиции 1906 года." Петротрад, (1914).
- 4) ZOBELL, C.E.: *Marine Microbiology*, Chronica Botanica Co., (1946).
- 5) WOOD, E.J.: *Indo-Pacific Fisheries Council Proc. sect. II, III*, 69 (1951).
- 6) WOOD, E.J.F.: *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 4, 160 (1953).
- 7) VELANKER, N.K.: *Proc. Indian Acad. Scie.* 32, 80 (1950).
- 8) VELANKER, N.K.: *Indian J. Fisheries*, 2, 96 (1955).
- 9) Крисс, А.Е.: "Морская Микробиология (губоководная)" Москва (1959).
- 10) SHEWAN, J. M.: *J. R. Sanit. Inst.*, 59, 394 (1949).
- 11) TARR, H.L.A.: *Bacteriol. Rev.* 18, 1 (1954).
- 12) SHEWAN, J. M., HOBBS, G. & HODGKISS, W.: *J. appl. Bacteriol.*, 23, 379 (1960).
- 13) COLWELL, R. R. & LISTON, J.: *J. Bacteriol.*, 82, 1 (1961).
- 14) LISTON, J.: *J. gen. Microbiol.*, 16, 205 (1957).
- 15) GEORGALA, D.L.: *J. gen. Microbiol.*, 18, 84 (1958).
- 16) SHEWAN, J. M., HOBBS, G. & HODGKISS, W.: *J. appl. Bacteriol.*, 23, 463 (1960).
- 17) 木俣正夫: 食品腐敗学, 河出書房 (1943).
- 18) 谷川英一・坂井 稔: 水産微生物学, 恒星社厚生閣 (1960).
- 19) 滝川 巖: 衛生検査, 4, 209 (1955).
- 20) 富平輝夫: 日本衛生学雑誌, 15, 165 (1960).
- 21) 斎藤英夫: 日本衛生学雑誌, 15, 52 (1960).
- 22) 海瀬好和: 千葉医学会雑誌, 36, 148 (1960).
- 23) 飯田宏美: 日本衛生学雑誌, 15, 103 (1960).
- 24) LEIFSON, E.: *Atlas of Bacterial Flagellation*, p. 1, Academic Press (1960).
- 25) 加藤 博・宇多謙一・相磯和嘉: 千葉大腐研報, 12, 16 (1954).
- 26) KING, E. N., WARD, M. K. & RANEY, D. E.: *J. Labor. & Clin. Medic.*, 44, 301 (1954).
- 27) PATON, A.M.: *Nature, Lond.*, 184, 1254 (1959).
- 28) SMITH, N.R., GORDON, R.E. & CLARK, F.E.: *Aerobic Sporeforming Bacteria*, p. 42, Agric. Monog. No. 16, United States Department of Agriculture, (1952).
- 29) CAMPBELL, L. L. JUN. & WILLIAMS, O.B.: *J. gen. Microbiol.* 5, 894 (1951).
- 30) 木村喬久: 北大水産彙報, 5, 894 (1951).
- 31) SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGIST: *Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria*, (1952).
- 32) HUGH, R. & LEIFSON, E.: *J. Bacteriol.*, 66, 24 (1953).
- 33) WOOD, E.J.F.: *J. gen. Microbiol.*, 6, 205 (1952).
- 34) SHEWAN, J. M. & HODGKISS, W.: *Proc. Soc. appl. Bacteriol.*, 14, vii, (1952).
- 35) Красильников, Н. А.: Определитель бактерий и актиномицетов, Москва-Ленинград (1952).
- 36) 木村喬久: 私信.
- 37) 相磯和嘉・清水 潮・加藤 博・辰巳和世・沢田文枝: 食品衛生学会誌, 投稿中.