

多摩川水域微生物相の 季節変化に関する研究

—Seasonal Changes of Microbiota in the Tama River—

1984年

出口吉昭

日本大学農獣医学部水産学科教授

杉田治男

日本大学農獣医学部水産学科専任講師

目 次

I 緒 言	1
II 実験方法	1
(1) 試料の採取	1
(2) 水質検査	1
(3) 細菌の計数	1
(4) 細菌の分離および分類	2
(5) 分離菌株の増殖温度域の測定	2
III 実験結果および考察	2
(1) 多摩川の水質	2
(2) 培養時間の検討	2
(3) 河川水および底泥中の生菌数	3
(4) 種々の温度条件での出現菌組成	3
(5) 分離菌株の増殖温度特性	4
引用文献	22

I 緒 言

水界には、種々の有機物が常に供給されている。従属栄養細菌がこれらの有機物の分解および無機化に中心的役割を演じていることは周知の事実である。従属栄養細菌の活性や分布は、環境中の物理・化学的要因の影響を強く受けるため、水界における浄化を推定するとき、これらの要因を十分に考慮に入れなければならない。

本研究では、種々の物理・化学的要因のうち、特に温度に注目し、温度が多摩川水域の従属栄養細菌の増殖生理に及ぼす影響について検討した。また、従属栄養細菌の分離における温度条件についても検討したので、合わせて報告する。

なお、研究を遂行するにあたり、日本大学大学院生田村正則君の協力を得た。ここに特記して謝意を表す。

II 実 験 方 法

(1) 試料の採取

調査は、多摩川本流の是政橋上手および丸子橋上手をそれぞれ St. A および St. B と定め (Fig. 1), 1983年1月22日, 2月26日, 3月29日, 4月21日, 5月18日, 6月15日, 7月14日, 8月6日, 9月7日, 10月18日, 11月9日および12月6日の計12回行った。細菌検査のための試水および底泥試料は、直接滅菌試験管に採取した。水質検査のための試水は、500 ml 容量のポリ瓶に採取した。これらの試料は氷冷して実験室に持ち帰り、直ちに実験に供した。

(2) 水 質 検 査

現場における水温 (WT) および泥温 (MW) は棒状水銀温度計により、また溶存酸素量 (DO) は DO メーター (セントラル科学, UC-11) によって測定した。pH は pH メーター (堀場一日立, F-7 LC) によって測定した。懸濁物質 (SS) の測定にはポアサイズ 0.45μ のメンブレンフィルター (Millipore, HA) を用いた。化学的酸素要求量 (COD) は水質汚濁調査指針 (松江, 1961) によって測定した。

(3) 細菌の計数

細菌学的試料は滅菌希釈液 (寒天 0.1%) にて10倍ずつに希釈し、適当な希釈段階のものを PYBGF および 1/20 PYBGF 寒天培地 (Sugita and Deguchi, 1983) に塗抹接種した。試料を接種した平板培地は 5, 10, 20, 30 および 37°C の好氣的条件下において、それぞれ一定期間培養した。培養後、各平板上に出現したコロニー数を測定し、試料 1 ml または 1 g 当たりの生菌数 (c. f. u.) を求めた。

(4) 細菌の分離および分類

計数後、各平板から約 25 菌株ずつを分離し、グラム染色性、細胞形態、色素産生能および孢子形成能を調べ、これらの性状から簡易的に分類した。

(5) 分離菌株の増殖温度域の測定

分類した菌株を初代培養時と同一組成の平板培地に接種し、5, 10, 20, 30 および 37℃ の 5 段階の温度条件で培養し、各温度でのコロニー形成の有無から各菌株の増殖温度域を測定した。

Ⅲ 実験結果および考察

(1) 多摩川の水質

多摩川の中流および下流を、それぞれ St. A および St. B と定め、各地点の水質を調べ、Figs. 2 および 3 に示す結果を得た。

水温は St. A で 7.7 ~ 27.5℃, St. B で 9.4 ~ 26.8℃ であり、平均値はそれぞれ 16.9℃ および 16.6℃ であった。

泥温は St. A で 8.5 ~ 27.5℃, St. B で 8.6 ~ 25.6℃ であり、平均値はそれぞれ 16.6℃ および 16.5℃ であった。両地点の水温および泥温は 8 ~ 9 月が最高値を示し、1 ~ 2 月が最低値を示した。

pH は、St. A で 7.05 ~ 7.70, St. B で 6.90 ~ 7.68 であり、平均値はそれぞれ 7.34 および 7.22 であった。

溶存酸素量 (DO) は、St. A で 7.8 ~ 12.0 ppm, St. B で 6.0 ~ 8.8 ppm であり、平均値はそれぞれ 10.3 ppm および 7.4 ppm であった。

化学的酸素要求量 (COD) は、St. A で 0.06 ~ 0.20 ppm, St. B で 0.06 ~ 0.21 ppm であり、平均値は共に 0.13 ppm であった。一般的に COD は冬季に高く、夏季に低い傾向が認められた。

懸濁物量 (SS) は、St. A で 3 ~ 40 ppm, St. B で 2 ~ 64 ppm であり、平均値は St. A で 17 ppm, St. B で 18 ppm であった。

以上の結果から、St. A, St. B 両地点は DO において顕著な差異が認められたものの、他の要因に関しては比較的類似していることが判明した。

(2) 培養時間の検討

従属栄養細菌は、寒天培地上で分裂・増殖し、やがて肉眼で観察できる大きさ、すなわち、コロニーとなるが、これに要する時間は温度条件によって大きく異なることが予想される。そこで、本実験に先立ち、各培養温度に必要な時間について検討した。

1983年1月22日に採取した St. A および St. B の試水および底泥試料を 2 種類の寒天培地に接種し、5, 10, 20, 30 および 37℃ の温度で培養し、出現コロニー数を経時的に測定した。その結果を Figs. 4, 5 および 6 に示した。

各試料とも同様な出現傾向を示したが、使用した培地によって、コロニー出現速度に差異が認められた。すなわち、生菌数が一定の値に達するまでの時間は PYBGF 培地では、5℃で 20 日間、10℃で 10 日間、20℃で 8 日間、そして 30 および 37℃で 4~5 日間であった。また $1/20$ PYBGF 培地では、5℃で 24 日間、10℃で 20 日間、20℃で 10 日間、そして 30 および 37℃で 6 日間であった。そこで以下の実験には上記の培養条件を用いることにした。

(3) 河川水および底泥中の生菌数

試料を前述の条件で培養して得た生菌数を、Figs. 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 および 14 に示した。

生菌数は、河川水で $10^4 \sim 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 、底泥で $10^5 \sim 10^8 \text{ g}^{-1}$ であり、年間を通じて顕著な変動は認められなかったが、河川水および底泥とも St. A よりも St. B の方が若干高い傾向にあった。

St. A の河川水では、9, 10 月における 10℃培養時の生菌数が小さいことを除けば、10, 20 および 30℃での生菌数は、いずれも周年最も高い値を示した (Figs. 7, 8)。5℃で培養したときの生菌数は、1~3 月には 10, 20 および 30℃と類似の値を示したが、4 月になると下降しはじめ、10 月までは低い値を示した。しかし、11, 12 月には再び値が上昇した。これに対して、37℃で培養したときの生菌数は、11 月から下降しはじめ、4 月まで低い値を示したが、それ以後増加し、10 月まで比較的高い値を示した。この傾向は、St. B でもほぼ同様であった (Figs. 9, 10)。

底泥でも、河川水ほど顕著ではないが、5℃および 37℃の培養温度で出現する生菌数に、季節的な変化があることが観察された (Figs. 11, 12, 13 および 14)。

以上の結果は、河川では水温の低い冬季に、低温で増殖する細菌が多く、高温で増殖する細菌が少ないのに対し、水温の高い夏季には、高温で増殖する細菌が多く、低温で増殖する細菌が少ないことを示している。すなわち、河川の従属栄養細菌群は、海洋の場合 (Sieburth, 1967; Tajima et al., 1974; Ezura et al., 1974) と同様、環境中の温度の変化に対応して変動していることが判明した。

(4) 種々の温度条件での出現菌組成

各温度条件で分離した約 12,000 菌株を簡易的に分離したところ、Table 1 に示す 9 群に分類された (このうち、杉田ら (1981) の簡易同定術式によると、C, D 群は *Flavobacterium-Cytophaga* 群、E 群は *Chromobacterium* 属、F 群は *Bacillus* 属に相当する)。次いで、各細菌群の占める割合から、各々の生菌数を求めた。そして、ある試料におけるある細菌群の生菌数のうち、最大値を 100 として、他を相対値で表わした。そして、全試料の相対値を平均して平均相対生菌数を求めた (Tables 2, 3)。

各細菌数のうち、出現頻度の高かった温度は、以下の通りである：A 群, 20, 30℃; B 群, 20℃; C 群, 20℃; D 群, 10, 20℃; E 群, 5, 10℃; F 群, 30, 37℃; G 群, 20, 30, 37℃; H 群, 10, 20, 30℃; I 群, 10, 20, 37℃。

以上の結果は、単一の培養温度ではそこに存在するすべての従属栄養細菌は分離できないことを示し

ている。

次いで、各培養温度が最大生菌数を示した回数を細菌群ごとにまとめ、Table 4 に示した。

A群の最大生菌数は、1～2月には低温培養時に多く、また、6～10月には高温培養時に多くなり、環境水温との対応がみられた。また、周年、20および30℃での出現が多かった。B群でもA群と同様の変動を示したが、全体的に低温培養時に多く出現する傾向がみられた。CおよびD群の最大生菌数は、比較的広い培養温度域で観察されたが、全体的には環境水温との対応がみられた。E群は、1、3および11月の低温培養時に観察された。F群は、周年、高温培養時に最大生菌数が観察された。G群は、12～2月には低温培養時に、そして、その他の月では高温培養時に最も高い生菌数がみられた。HおよびI群は、特に一定の出現傾向は観察されなかった。

(5) 分離菌株の増殖温度特性

分離した菌株の増殖温度域を調べるため、分離菌約12,000株を寒天培地に接種し、5、10、20、30および37℃での増殖の有無を調べた。細菌の増殖温度域については、一般に、Table 5 に示した15の型が考えられるので、各々の菌株を本表に従って分類し、Table 6 に示した。その結果、A群は10型、B群は8型、C群は8型、D群は6型、E群は1型、F群は5型、G群は4型、H群は5型、およびI群は4型に分類された。しかし、各型に属する菌株の割合は一様ではなく、A群ではI、II、III型、B群ではI型、C群ではI、II、IV型、D群ではI、III型、E群ではVI型、F群ではI、V型、G群ではI、II、III型、H群ではI、II、III型、およびI群ではI、II型が多数を占めた。

以上の結果から、多摩川水域の河川水および底泥中の細菌が、それぞれ異なった増殖温度特性を有するため、環境水中の温度変化に対応して、各細菌群を構成する細菌種に変動が生じていることが判明した。

従来は、従属栄養細菌の計数・分離のために20℃前後の培養温度が用いられてきたが、今後は、現場水温に近い方が望ましいと考えられる。また個々の細菌の有する温度特性を利用して、特定の細菌種を選択的に分離することが可能である。この方法と、選択培地を組み合わせることによって、実際に近い細菌相を比較的簡便に測定することができ、ひいては、細菌相による環境評価が可能であると思われる。

Table 1 Grouping of the bacterial strains isolated from the Tama River

Group	Gram	Shape*	Pigment**	Spore
A	-	b	-	-
B	-	cb	-	-
C	-	b	y,o	-
D	-	cb	y,o	-
E	-	b	v	-
F	+	b	-	+
G	+	b	-	-
H	+	c	y,o	-
I	+	c	-	-

* b, bacilli; cb, cocco-bacilli; c, cocci.

** y, yellow; o, orange or red; v, violet.

Table 2 Mean values of relative viable counts of bacteria in the water grown at each temperature on PYBGF and 1/20 PYBGF agars when the highest viable count on each sample is expressed as 100

Medium	Group	5°C	10°C	20°C	30°C	37°C
PYBGF	A	35.4	56.2	74.0	78.6	70.3
	B	27.7	72.9	79.2	56.8	10.9
	C	38.0	41.4	47.2	42.7	28.8
	D	15.9	14.6	50.0	30.0	0.0
	F	0.0	16.7	16.7	16.7	16.7
	G	13.9	16.9	26.8	41.6	35.8
	H	14.3	27.6	28.6	42.9	0.0
	I	17.4	41.2	25.5	32.5	22.0
	1/20PYBGF	A	29.8	59.3	86.2	84.5
B		31.0	55.0	90.9	57.9	24.3
C		38.9	45.2	71.6	42.2	50.3
D		20.8	39.6	53.2	25.5	3.6
F		0.0	0.0	0.0	83.3	21.7
G		14.4	9.2	46.7	20.0	15.8
H		18.2	36.4	27.3	18.2	0.0
I		24.3	12.5	46.7	37.2	23.7

Table 3 Mean values of relative viable counts of bacteria in the sediment grown at each temperature on PYBGF and 1/20 PYBGF agars when the highest viable count on each sample is expressed as 100

Medium	Group	5°C	10°C	20°C	30°C	37°C
PYBGF	A	26.4	42.0	88.7	72.1	46.3
	B	19.6	39.7	81.0	43.9	9.5
	C	30.9	49.1	61.4	49.5	17.8
	D	12.4	59.2	27.3	18.2	9.1
	E	69.9	66.7	0.0	0.0	0.0
	F	3.3	0.0	18.0	59.6	63.5
	G	23.1	36.9	36.7	36.5	40.9
	H	27.4	14.4	33.3	27.9	7.3
	I	28.3	22.5	28.9	15.5	33.6
1/20PYBGF	A	24.4	51.2	89.0	73.2	35.9
	B	36.2	36.2	73.3	60.0	18.5
	C	25.8	52.2	67.7	48.8	20.1
	D	32.5	15.9	45.6	25.7	25.3
	E	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	F	0.0	0.0	19.4	44.4	51.7
	G	1.2	8.9	42.9	53.3	32.1
	H	13.3	37.8	44.5	21.8	27.0
	I	19.2	33.2	55.0	22.6	12.5

Table 4 Number of the incubating temperature at which each bacterial group showed the maximum colony count on PYBGF and 1/20 PYBGF agars in the water and sediment of the Tama River

Group	Temp.	Month											
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
A	5°C	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	20	2	4	5	2	3	6	4	6	1	2	3	6
	30	3	2	3	6	4	0	4	1	2	3	5	2
	37	0	0	0	0	0	2	0	1	5	3	0	0
B	5	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	10	3	2	3	2	1	1	2	1	1	0	4	1
	20	3	3	3	3	3	3	5	6	3	4	3	6
	30	0	1	2	3	4	4	1	1	4	3	0	1
	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
C	5	0	2	3	0	0	1	0	1	0	0	1	0
	10	4	4	2	4	1	2	0	1	0	0	1	1
	20	4	2	3	1	5	2	8	4	3	0	3	6
	30	0	0	0	2	2	1	0	1	3	4	2	0
	37	0	0	0	1	0	2	0	1	2	4	1	1
D	5	0	1	2	1	0	3	0	1	0	1	0	0
	10	1	0	1	3	2	1	2	0	0	0	0	0
	20	2	3	0	0	3	3	6	4	2	0	1	0
	30	2	0	2	0	2	1	0	1	2	1	0	0
	37	0	0	1	0	0	0	0	0	1	2	1	0
E	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	10	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	30	3	1	1	2	0	2	4	1	0	1	0	0
	37	1	0	2	2	1	1	3	3	0	0	0	0
G	5	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3
	10	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3
	20	0	0	0	1	2	6	5	1	2	2	0	1
	30	3	5	3	1	3	1	0	2	1	0	1	1
	37	0	0	1	3	1	0	2	4	1	3	0	0
H	5	0	0	1	1	0	1	2	1	0	0	1	0
	10	1	0	0	3	0	2	3	3	0	0	0	0
	20	2	4	3	0	2	1	1	0	3	2	0	0
	30	1	0	1	0	2	1	1	0	3	1	2	0
	37	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
I	5	0	0	1	1	3	0	0	0	0	2	0	0
	10	2	2	2	1	1	1	2	2	0	0	1	1
	20	1	3	2	2	1	4	5	0	4	2	2	1
	30	2	2	2	2	0	0	1	2	1	2	1	0
	37	0	1	0	0	2	0	0	2	1	0	1	0

Table 5. Bacterial types enable to grow at each temperature

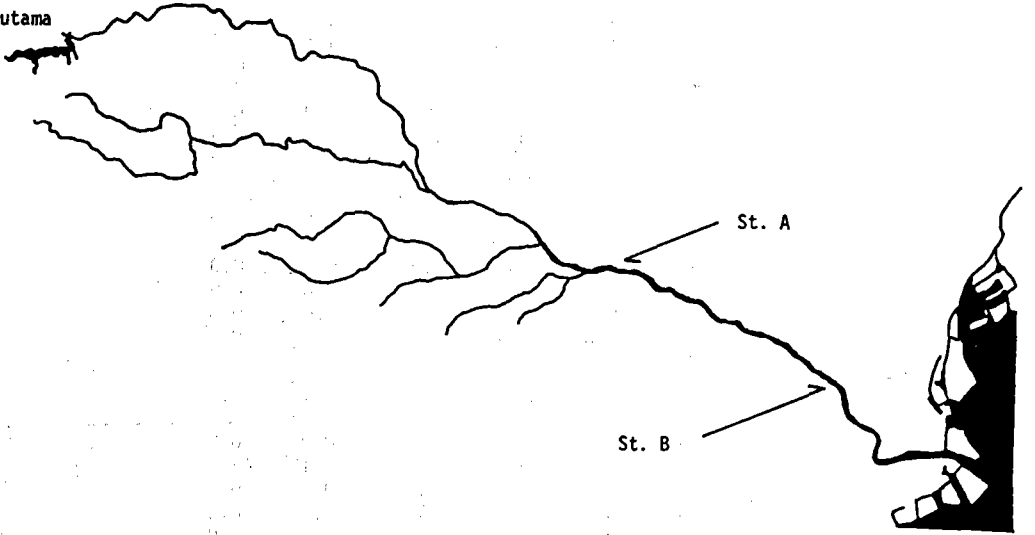
Type	5°C	10°C	20°C	30°C	37°C
I	+	+	+	+	+
II	-	+	+	+	+
III	+	+	+	+	-
IV	-	-	+	+	+
V	-	+	+	+	-
VI	+	+	+	-	-
VII	-	-	-	+	+
VIII	-	-	+	+	-
IX	-	+	+	-	-
X	+	+	-	-	-
XI	-	-	-	-	+
XII	-	-	-	+	-
XIII	-	-	+	-	-
XIV	-	+	-	-	-
XV	+	-	-	-	-

Table 6 Occurrence(%) of bacterial strains belonging to different growth types in the water and sediment isolated at each temperature from the Tama River

Group	Type	5°C	10°C	20°C	30°C	37°C
A	I	68.7	69.1	60.2	48.7	50.2
	II	0.0	6.0	7.5	16.4	26.8
	III	29.6	14.7	9.2	14.5	0.0
	IV	0.0	0.0	4.7	11.9	11.7
	V	0.0	0.5	2.2	2.5	0.0
	VI	0.3	1.4	1.8	0.0	0.0
	VII	0.0	0.0	0.0	3.1	9.5
	IX	0.0	0.3	2.0	1.8	0.0
	X	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0
	XV	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0
	NG*	0.2	1.2	12.4	1.1	1.8
B	I	91.0	87.4	57.8	73.7	52.4
	II	0.0	2.9	17.9	11.5	18.3
	III	9.0	8.6	13.5	9.8	0.0
	IV	0.0	0.0	3.3	3.4	19.0
	V	0.0	0.0	2.6	0.0	0.0
	VI	0.0	0.0	2.0	0.0	6.9
	IX	0.0	0.0	1.8	0.0	0.0
	XI	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8
	NG	0.0	1.1	1.1	1.6	2.6
	C	I	37.1	76.6	35.7	32.1
II		0.0	0.0	29.5	30.5	24.9
III		19.6	11.5	13.3	0.0	0.0
IV		0.0	0.0	7.5	29.1	43.3
VI		39.2	3.3	8.7	0.0	0.0
VII		0.0	0.0	0.0	7.3	0.0
IX		0.0	0.0	0.8	0.0	0.0
X		3.7	0.0	0.0	0.0	0.0
NG		4.2	6.4	0.8	1.0	1.6
D		I	97.0	30.2	79.1	67.3
	II	0.0	0.0	14.0	0.0	0.0
	III	3.0	69.8	0.0	29.8	0.0
	IV	0.0	0.0	0.0	0.0	47.2
	VI	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0
	NG	0.0	0.0	0.0	2.9	0.0
	E	VI	100.0	100.0	0.0	0.0
F	I	0.0	100.0	77.8	16.3	20.4
	II	0.0	0.0	11.1	12.7	0.0
	III	0.0	0.0	11.1	8.6	0.0
	IV	0.0	0.0	0.0	52.8	60.9
	V	0.0	0.0	0.0	9.6	0.0
	NG	0.0	0.0	0.0	0.0	18.7
G	I	100.0	84.4	88.9	44.6	60.1
	II	0.0	6.7	5.6	18.2	39.9
	III	0.0	0.0	0.0	37.2	0.0
	IV	0.0	8.9	1.9	0.0	0.0
H	I	55.1	10.5	80.0	68.2	54.1
	II	0.0	0.0	0.0	7.0	32.8
	III	54.9	89.5	0.0	24.8	0.0
	IV	0.0	0.0	0.0	0.0	13.1
	IX	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0
I	I	93.8	84.8	81.0	89.2	46.5
	II	0.0	9.1	19.0	10.8	53.5
	III	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0
	VI	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0
	NG	0.0	6.1	0.0	0.0	0.0

* Not grown.

Lake Okutama



Tokyo Bay

Fig. 1 Location of sampling stations in the Tama River.

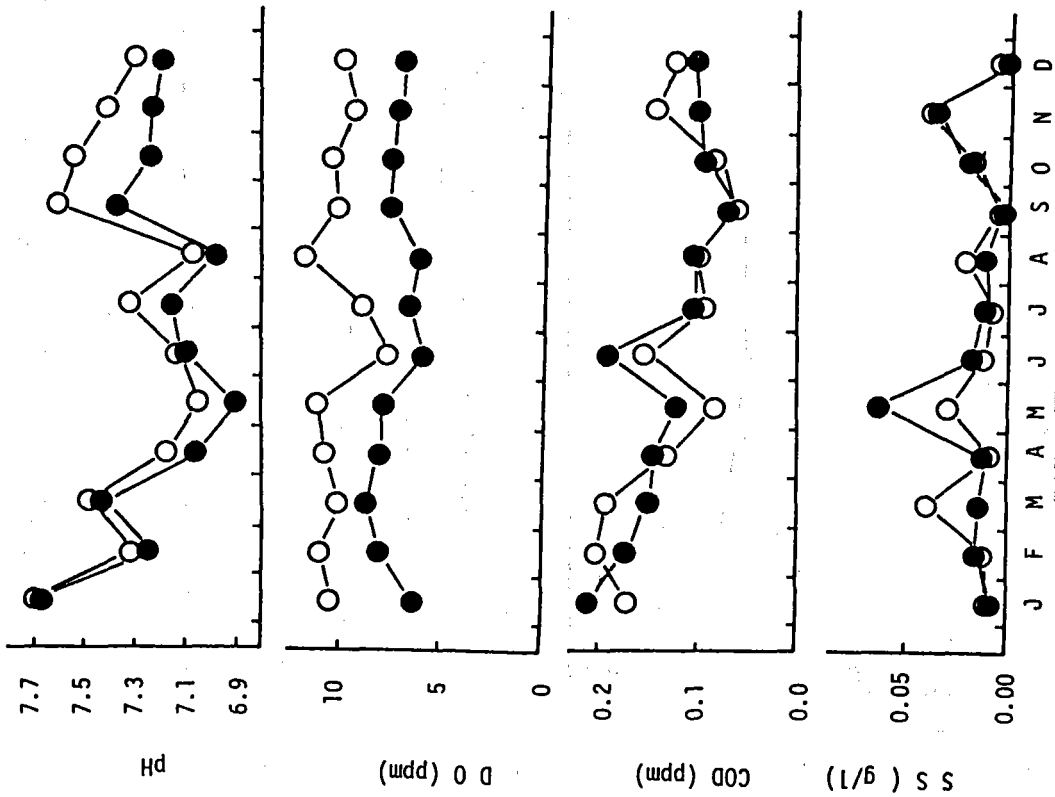


Fig. 3 Seasonal changes of pH, dissolved oxygen, chemical oxygen demand and suspended solids in the water at stations A(open) and B(closed) of the Tama River

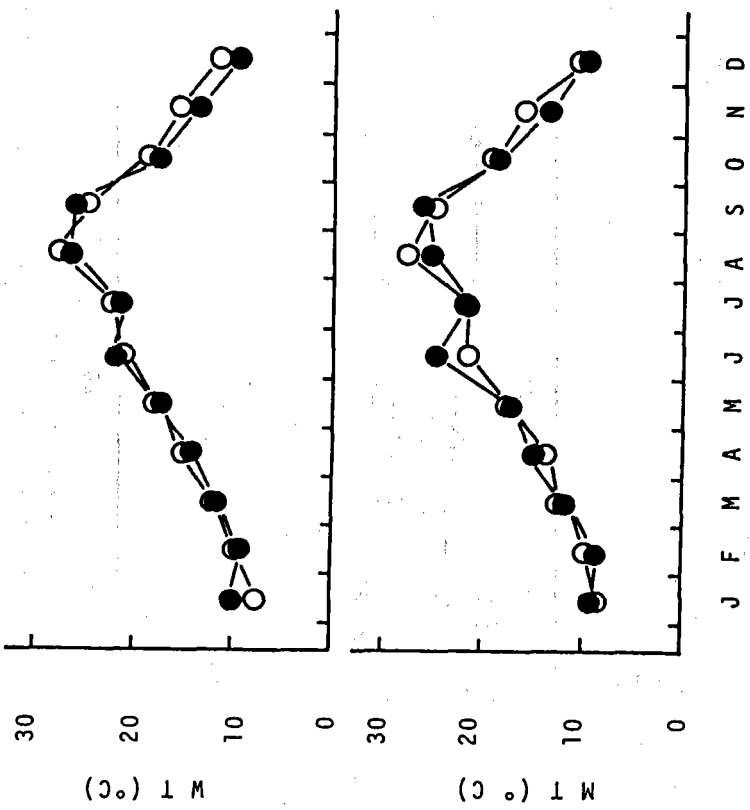


Fig. 2 Seasonal changes of water temperature and mud temperature at stations A(open) and B(closed) of the Tama River.

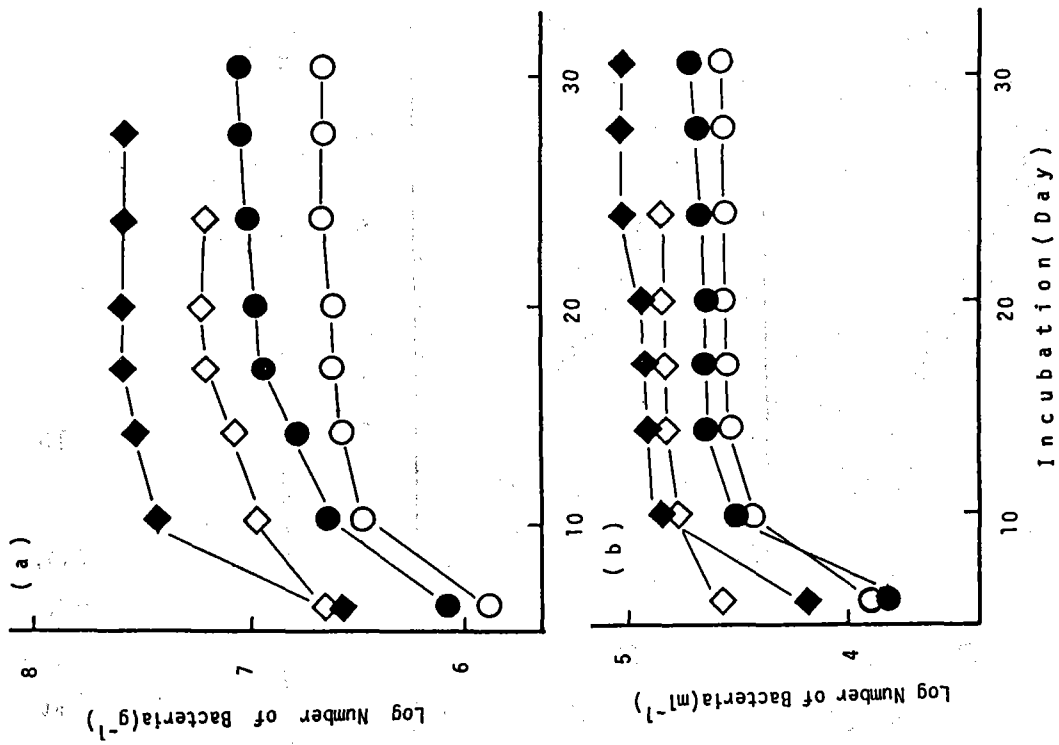


Fig. 4 Colony counts of the bacteria in the sediment (a) and water (b) of the Tama River incubated at 5°C; PYBGF (●) and 1/20 PYBGF (○) at station A, and PYBGF (◆) and 1/20 PYBGF (◇) at station B.

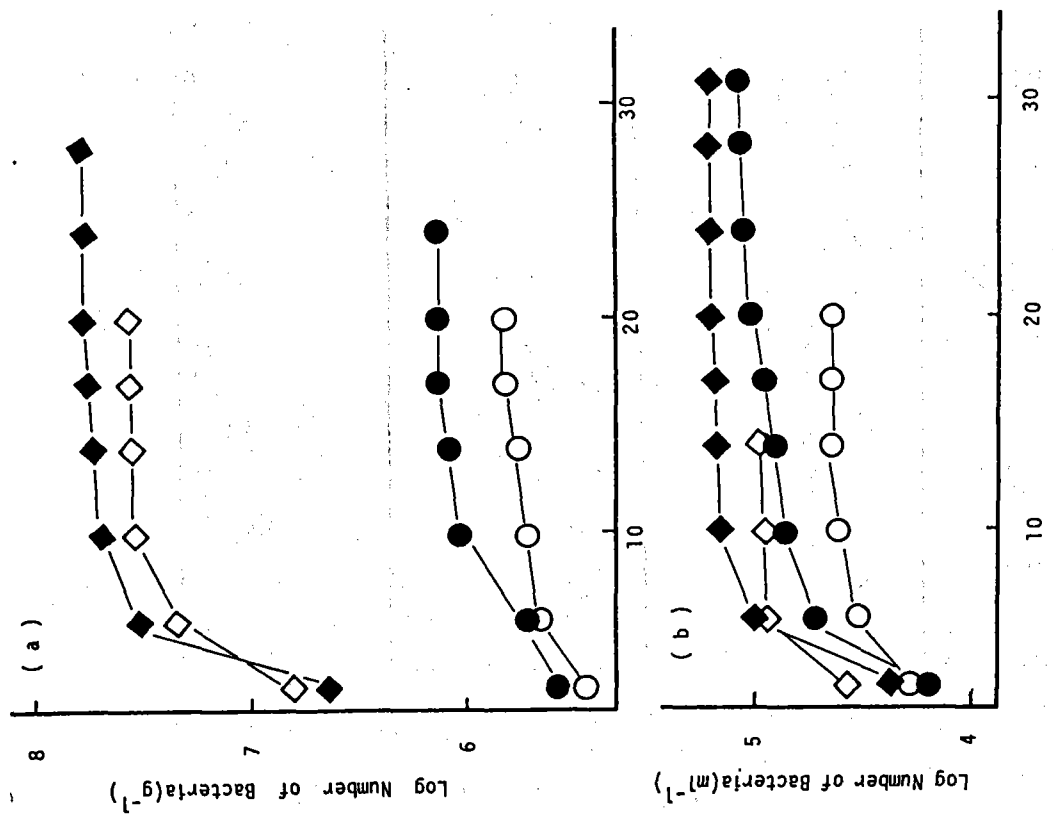


Fig. 5 Colony counts of bacteria in the sediment (a) and water (b) of the Tama River incubated at 10°C; PYBGF (●) and 1/20 PYBGF (○) at station A, and PYBGF (◆) and 1/20 PYBGF (◇) at station B.

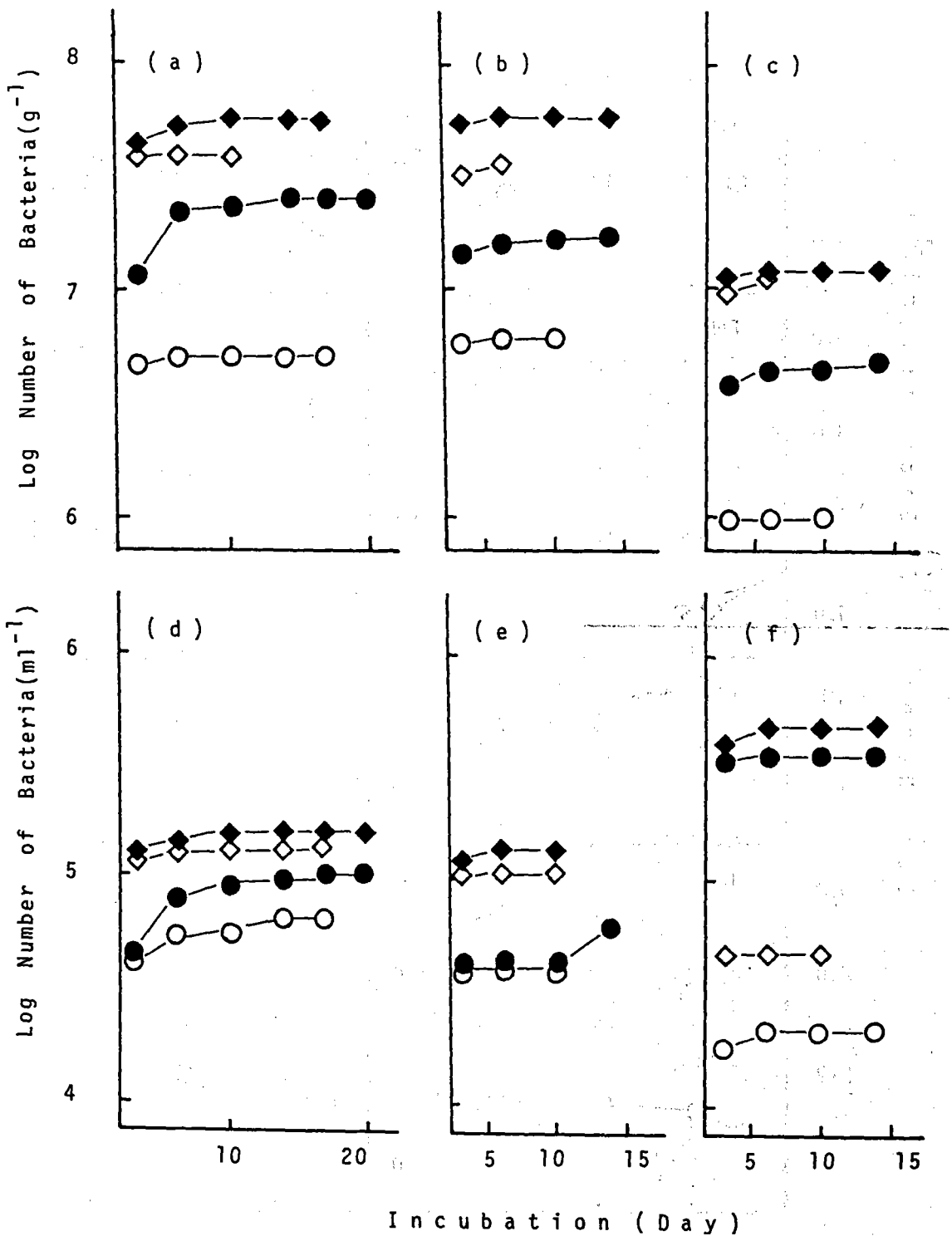


Fig. 6 Colony counts of the bacteria in the water incubated at 20°C (a), 30°C (b) and 37°C (c), and sediment incubated at 20°C (d), 30°C (e) and 37°C (f) of the Tama River; PYBGF (○) and 1/20 PYBGF agars (●) at station A, and PYBGF (◇) and 1/20 PYBGF agars (◆) at station B.

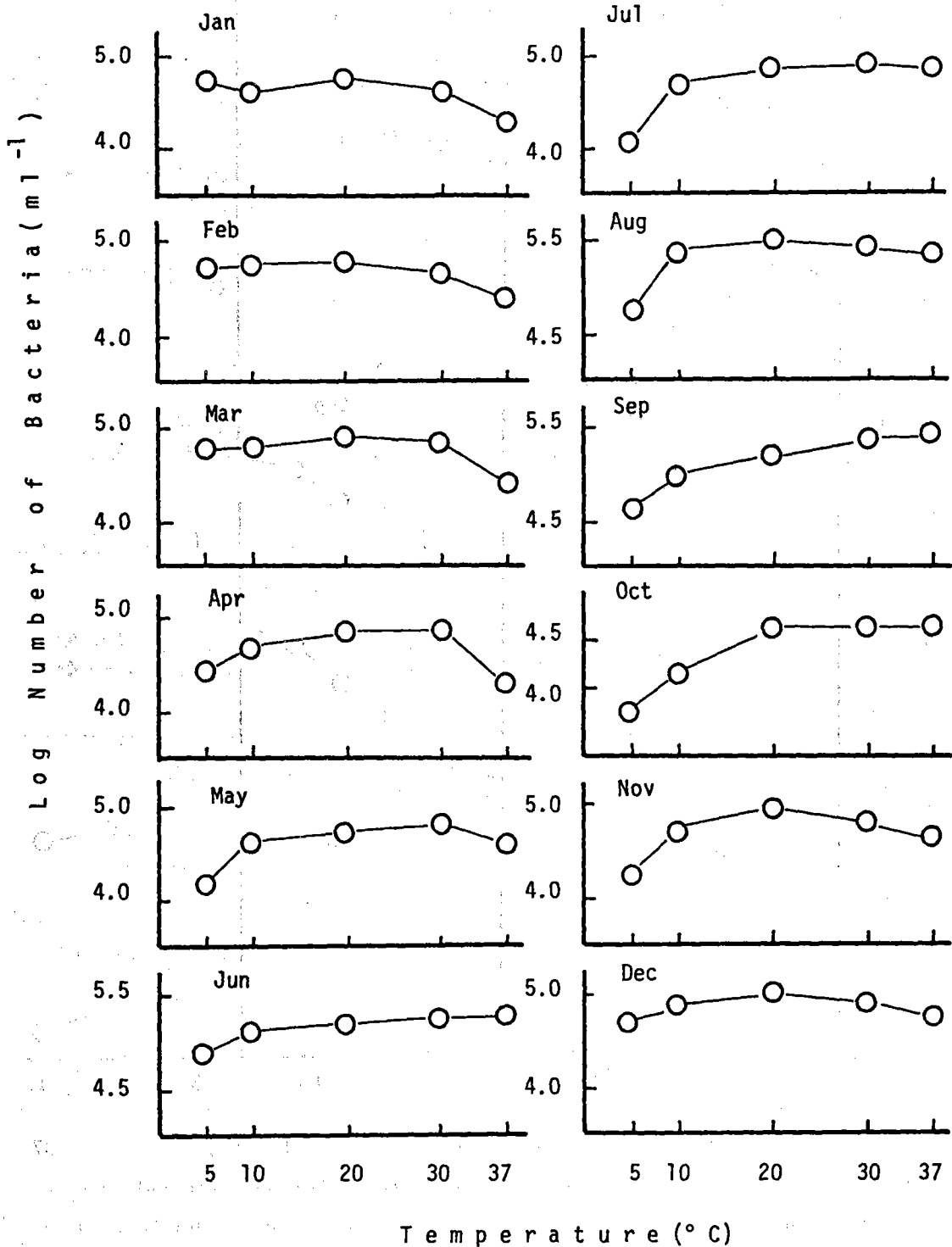


Fig. 7 Seasonal changes in colony counts of the bacteria in the water at station A appearing on PYBGF agar incubated at different temperatures.

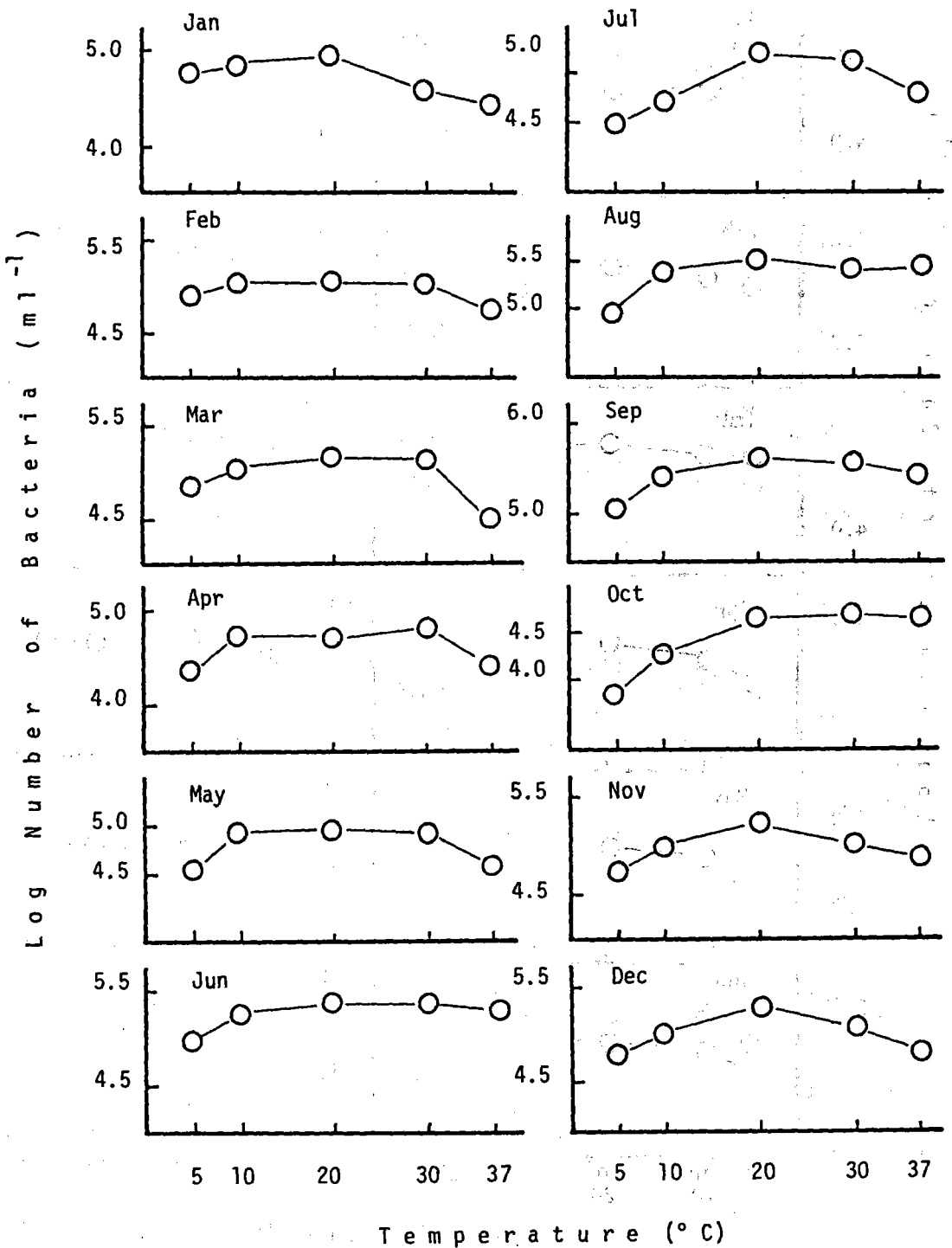


Fig. 8 Seasonal changes in colony counts of the bacteria in the water at station A appearing on 1/20 PYBGF agar incubated at different temperatures.

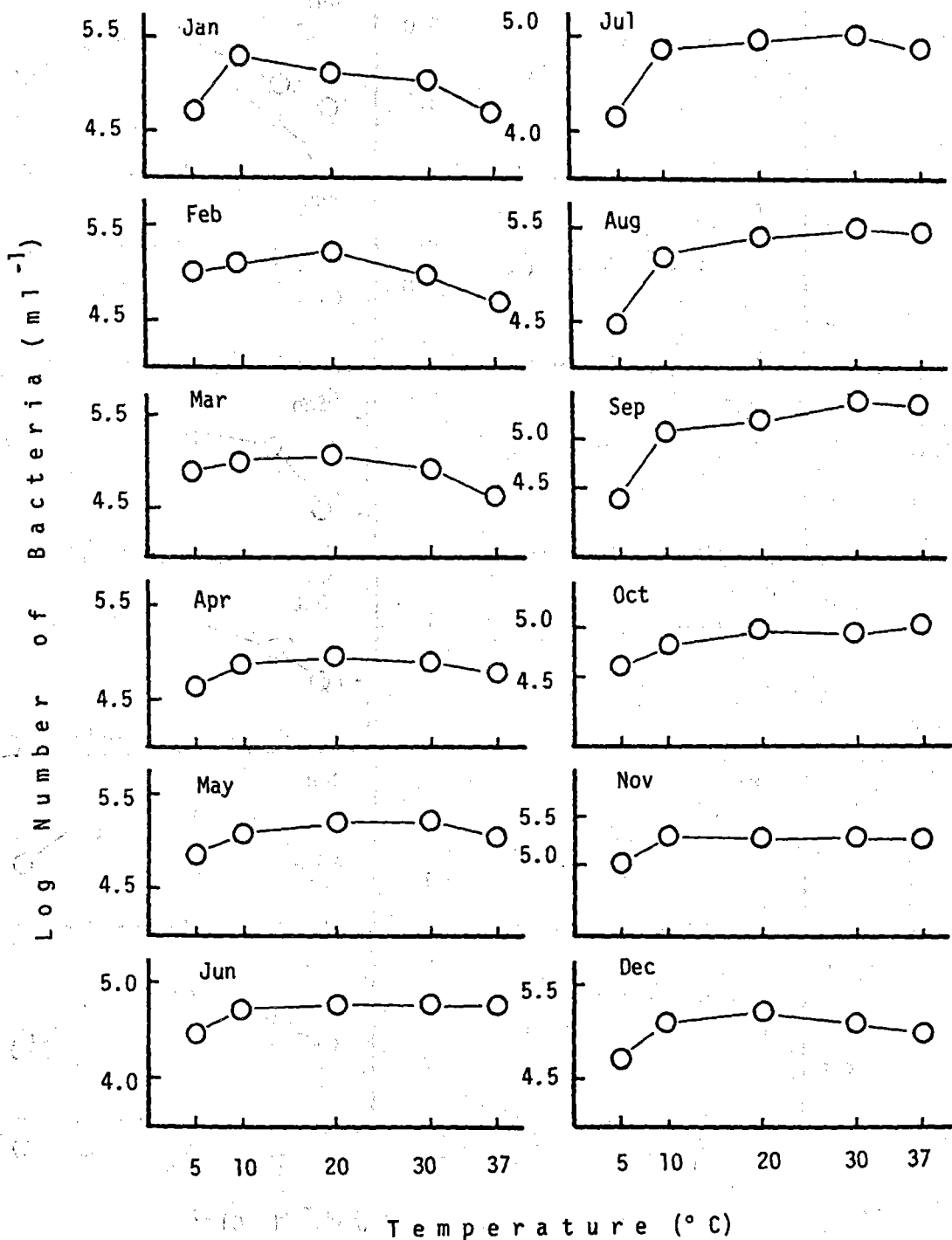


Fig. 9 Seasonal changes in colony counts of the bacteria in the water at station B appearing on PYBGF agar incubated at different temperatures.

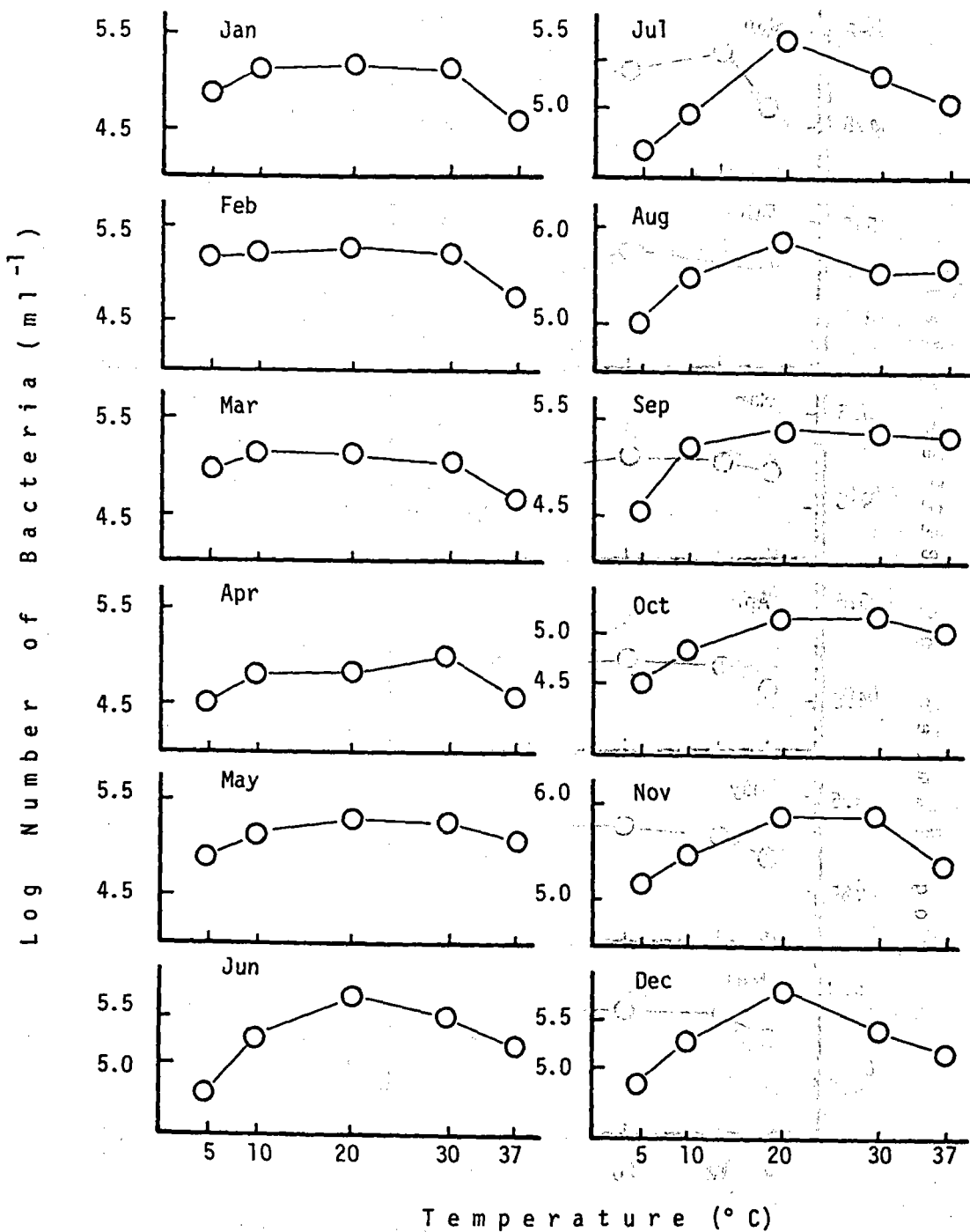


Fig. 10 Seasonal changes in colony counts of the bacteria in the water at station B appearing on 1/20 PYBGF agar incubated at different temperatures.

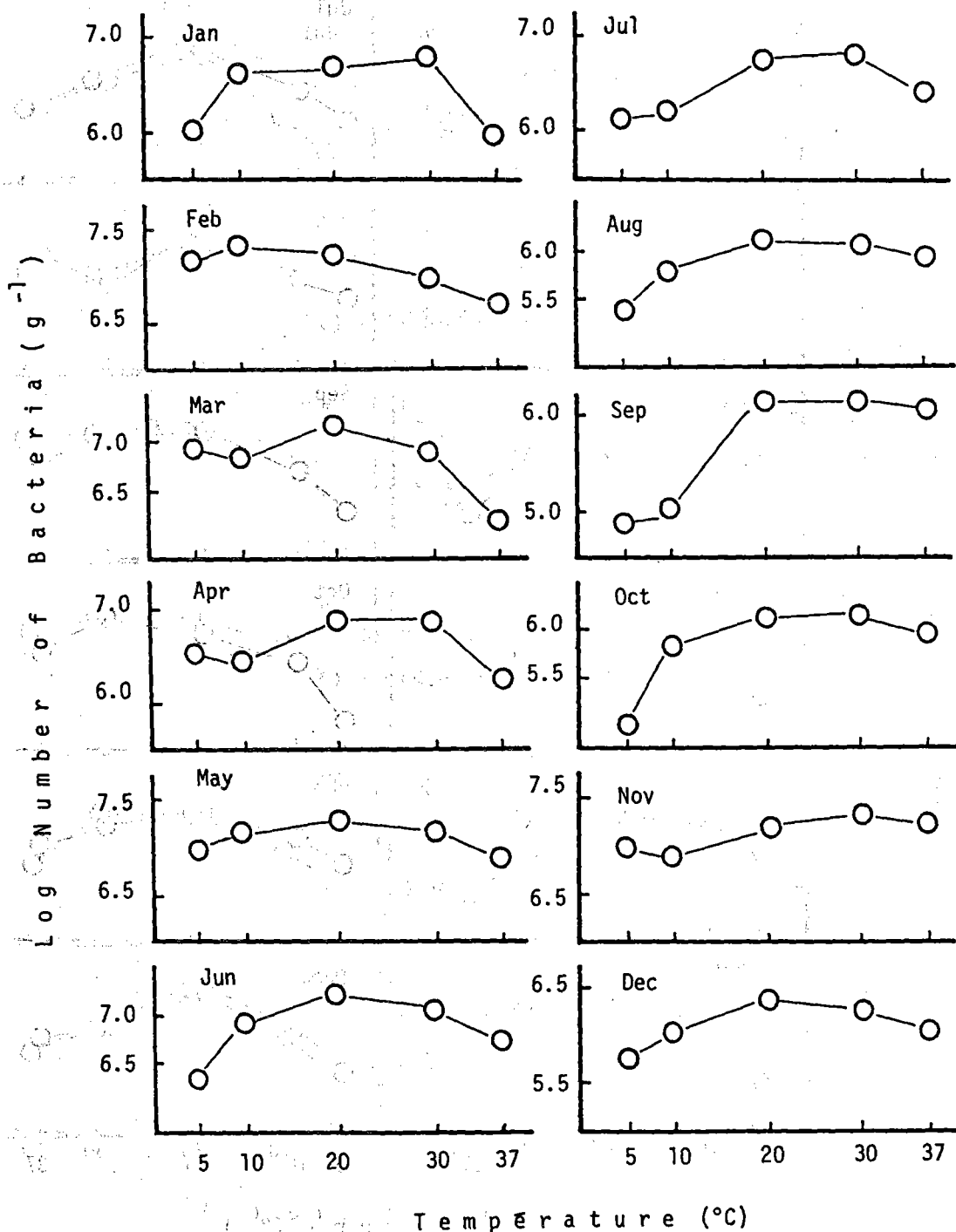


Fig. 11 Seasonal changes in colony counts of the bacteria in the sediment at station A appearing on PYBGF agar incubated at different temperatures.

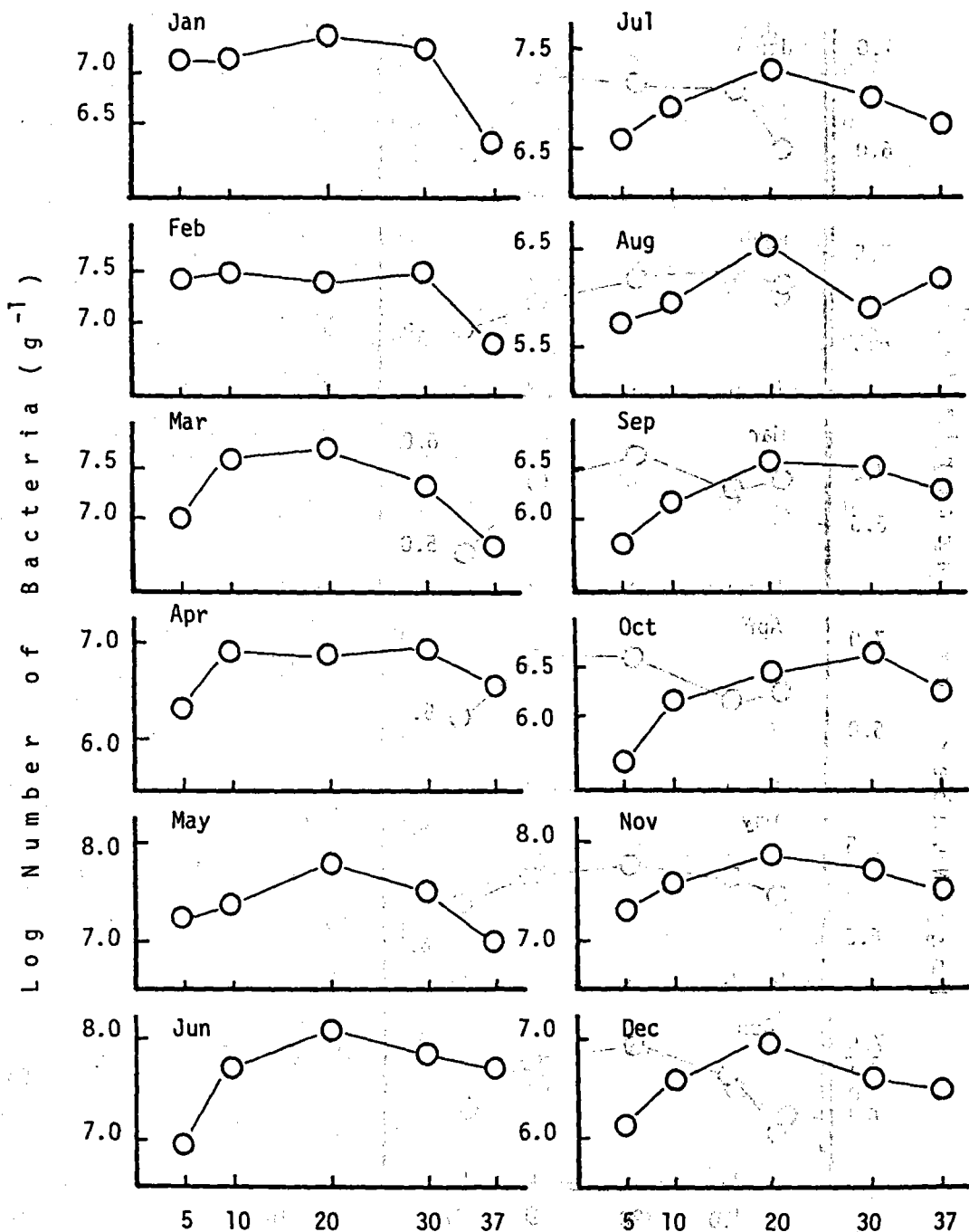


Fig. 12 Temperature (°C)

Fig. 12 Seasonal changes in colony counts of the bacteria in the sediment at station A appearing on 1/20 PYBGF agar incubated at different temperatures.

引用文献

- EZURA, Y., K. DAIKU, K. TAJIMA, T. KIMURA and M. SAKAI (1974):
Seasonal differences in bacterial counts and heterotrophic bacterial flora
in Akkeshi Bay. *In* Effect of the ocean environment on microbial activities
(ed. by COLWELL, R. R. and R. Y. MORITA), University Park Press,
Baltimore, pp. 112-123.
- 松江吉行(編)(1961): 公共用水域の保全のための水質汚濁調査指針。恒星社厚生閣, 東京, p 384。
- SIEBURTH, J. McN. (1967): Seasonal selection of estuarine bacteria by
water temperature. *J. exp. Biol. Ecol.*, 1, 98-121.
- 杉田治男・店網秀男・小橋二夫・出口吉昭(1981): 沿岸二枚貝の細菌相。日水誌, 47, 655 -
661。
- SUGITA, H. and Y. DEGUCHI (1983): Media for the isolation of aerobic
and facultatively anaerobic bacteria in freshwater environments. *Bull.*
Japan. Soc. Sci. Fish., 49, 1737-1740.
- TAJIMA, K., K. DAIKU, Y. EZURA, T. KIMURA and M. SAKAI (1974):
Procedure for the isolation of psychrophilic marine bacteria. *In* Effect
of the ocean environment on microbial activities (ed. by COLWELL, R. R.
and R. Y. MORITA), University Park Press, Baltimore, pp. 104-111.