SCIENCE REPORT OF THE YOKOSUKA CITY MUSEUM, NO. 16
March, 1970

On a Luminous Substance of the Anacanthine Fish, *Steindachneria argentea*, from the Gulf of Mexico[1)]

Yata HANEDA* and Shigeo YOSHIBA**

(With 2 Plates)

メキシコ湾の発光魚 *Steindachneria argentea* の発光本態について

羽根田弥太*　吉葉繁雄**

The discovery of luminescence in *Steindachneria argentea* was first reported by COHEN[1)] in 1964. This species[2)] belongs to the family Macrouridae and is found in the Gulf of Mexico. Subsequent studies by HANEDA[3)] have shown that the luminescence is due to symbiotic luminous bacteria and the organ system is of the indirect emission type.

The evidence for these conclusions were based upon histological and electron microscopic studies of preserved luminous organ.

In the present study, the work has been extended to include fresh material obtained through the kindness of Dr. Harvey BULLIS, Director of the Bureau of Commercial Fisheries, Pascagoula, Mississippi.

The collection was carried out by on Oregon II in the Gulf of Mexico during the month of June 1969. Both bacterial and chemical studies were conducted on fresh organ tissues. Emulsions were prepared of the tissues in fresh sea water and observed to be brightly luminons. The suspensions were tested for the effect of temperature, the effect of various cofactors known to stimulate light emission in other luminescent systems, luciferine-luciferase reaction and dilute with water.

The culture of luminons bacteria was attempted on synthetic agar medium. The results were as follows: increasing the temperature decreased light intensity, chemical cofactors had no effect on the intensity of luminescence, the luciferin luciferase reaction was negative, and dilution with water extinguished the luminescence. Luminous bacteria grew readily on squid extract agar medium.

---

* Yokosuka City Museum, Yokosuka, Japan.
** Department of Hygiene, Tokyo Jikeikai School of Medicine, Tokyo, Japan.

1) Aided by grant from the Japan Society for the Promotion of Science as part of the U.S. Japan Cooperative Science Program. The authors express their sincere gratitude and appreciation to Dr. Harvey R BULLIS., Director of the Bureau of Commercial Fisheries of Pascagoula, Miss., Mr. Jack C. MALLARY of the Bureau and other staff of the Bureau, whom gave us very valuable advice and all sorts of assistance during Haneda's stay in the laboratory of the Bureau and gave us very valuable Specimens of *Steindachneria*.

Manuscript received January 31, 1970, Contribution from the Yokosuka City Museum, No. 199.

Characterization studies on the isolated bacteria were carried out by YOSHIBA with the following results.

Symbiotic luminous bacteria of *Steindachneria argentea*.

1) Morphology

24 hours cultures in bouillon: Pseudomonas forms dominant, usually occur singly; sizes 1.6~2.5 $\mu\times$1.3—2.0 μ.

Agar cultures: Pseudomonas forms dominant; sizes Vacuales are observed; Gram negative. Spore and capsule absent.

2) Cultural characters

Agar plate: surface colonies cultivated 10 hours at 20℃; round, convex, amorphous, transparent colonies up to 1.0 mm in diameter smooth glistering surface. Each bacteria from them motile.

Agar stab: Surface growth, convex, with irregularly margin, whitish.

Broth: slightly turbid.

3) Physiological characters

Gelatin not liquefied. Indol not informed, milk not coagulated.

The bacteria isolated from *Steindachneria argentea* show properties very similar to symbiotic luminots bacteria isolated previously from many species of the family Macrouridae[4].

When fresh specimens were injected subcutaneously on the ventral surface with a dilute solution of aderenalin, the light intensity was increased significantly, as previously reported by COHEN[1]. This is due to the contraction of chromatophores which scattered on the capsel of donat shaped luminous organ.

Dextrose, Laevulose, Galactose, Mannose, Maltose, and Dextrin are fermented with acid and some strain produce gas, but Xylose, Rhamnose, Saccharose, Lactose, Treharose, Raffinose, Inulin, Amylum, Glycerol, Erythritol, Adonitol, Mannitol, Dulcitol, Inositol and Salicin not. Optimum temperature 20~25℃, Optimum ph 7.2.

References

1) COHEN, Daniel M. 1964: Bioluminescence in the Gulf of Mexico Anacanthine Fish *Steindachneria argentea* Copeia 2: 406—409.
2) JORDAN, D. S. and B. W. EVERMAN 1937: The Fishes of North and Middle America, Smithsonian Inst. 1963. T. F. H. Publications Inc. New Jersey. 2561.
3) HANEDA, Y. 1968: On the luminous organ of the Anacanthine Fish, *Steindachneria argentea*, from the Gulf of Mexico. Sci. Rept. Yokosuka City Mus. 14: 7~11.
4) HANEDA, Y. 1951: The luminescence of some deep-sea fishes of the families Gadidae and Macrouridae Pacific Sci. 5: 375—378.
5) YASAKI, Y. and HANEDA, Y. 1935: Luminous phenomena of deep-sea fish family Macrouridae, Oyo-Dobutsugaku Zasshi 7 (4):
6) HANEDA, Y. 1938: Ueber den Leuchfish *Malacocephalus laevis* (LOWE) Jour. Med. Sci. III; Biophysics, 5, 355—66.

Steindachneria argentea はソコダラ科 Macrouridae に属する深海魚でメキシコ湾の大陸棚に普通見られる。本魚の発光及び発光器については COHEN が最初に報告した。HANEDA (1968) は

Dr. COHEN より送られた本魚の固定標本及び，1966 年 10 月 Pascagoula の Bureau of Commercial Fisheries の所長 Harvey R. BULLIS 氏より新鮮なアルコール漬標本３個体の寄贈を受け，これらの標本について，発光器を調べたところ，他のソコダラ科の発光器と外観はにているが，その構造が非常に異り，肛門をとりかこむドーナツ状の黒い発光体と，腹部，胸部より尾端にいたるまで腹面の筋肉が乳白色半透明で，ホタルジャコ *Acropoma juponicum*，ハリダシエビス *Paratrachichthys prosthemius*，ヒカリイシモチ *Siphamia versicolor* などにみるような発光体の光を拡散透過させる作用をもつ特殊な筋肉からなっているいわゆる，間接照明型の発光器であることを報告した。

なお，発光体の内容については培養試験を行なうことが出来なかったが電子顕微鏡像にて，細菌を認めたので他のソコダラ科魚類と同様共生する発光バクテリアであろうと考えた。

1969 年６月 25 日，再び Parcagoula に BULLIS 氏を訪ね，同所の採集船 Oregon II 号の採集した氷づめの標本多数について研究する機会を与えられた。

採集された材料は６月 22 日，24 日，26 日の材料で，HANEDA は，同所に６月 26 日より 28 日まで滞在，新鮮な材料についての発光の観察，発光器より発光バクテリアの培養試験を行なうことが出来た。標本を採集して下さった方は同船に同乗された Mr. Jack C. Mallary であって材料は細菌の培養には極めて良好な状態であった。

COHEN は生きた魚或は新鮮な材料に Adrenarin を注射して光が明るくなることを観察しているが，この魚のドーナツ状の発光器をつつむカプセル中には伸縮する無数の黒色色素斑 (Chromatophore) があり，光のスクリーンの役目をしているのでアドレナリン注射によってこの色素が収縮し，カプセルが無色透明となり光を通す結果である。魚は死後，この色素が伸びた状態にあり，ドーナツ状の発光器は黒く発光していないのが常であるが，この黒色のカプセルを取ると内部はいずれも例外なく緑青色に光っているのがみられる。

培養試験と発光体の浮游液

ドーナツ状の発光器を切りとり，浮游液をつくり，次の実験を行なった。

① それぞれの試験管に 5 cc の海水，真水，6%，1.5%，0.5% 食塩水の浮游液を作った。真水の場合は光は直ちに消光し，海水浮游液の光が最も強く，6%，1.5%，0.5% の順で弱くなった。

② 浮游液を静置すると試験管の上部，空気にふれる面のみ発光，深部は消光するが，ふると再び全液が光り静置すると深部より消光する。

③ 温度，浮游液の光は 15～20℃ が最も強く，温度を下げるか上げるかすると光は弱くなり，5 分間 50℃ にすると再び冷しても発光しなくなる。

④ 浮游液を遠心器にかけると上澄液には発光性がなくなるし沈殿物に 3% 食塩水を加え，ふると全液が強く発光する。

⑤ 発光器を乾燥したものに水を加えても再び発光しない。

発光浮游液に

⑥ ATP, ADP, AMP, Diphosphopyridine nucleotide Triphosphopyridine nucleotide を加えたが発光に変化はなかった。

⑦ 発光器の熱水及び冷水浸出液を加えても発光しなかった。

以上のことは発光本態が発光化学物質ではなく発光バクテリアを思わせるが更に培養試験を行なった。培養に用いた培養基は 3% 食塩加イカ汁寒天培養基で，発魚体より切りとったドーナツ状の発光器は表面の雑菌の混入をさけるため，滅菌海水にてよく洗った後数秒間アルコールにつけ，更に滅菌海水にて洗った後，表面の海水をよく取りのぞいて，滅菌メスにて切開，内容が光ってい

るのを確めて後培養した。培養した個体は 30, 計 51 株を培養した。

室温 20℃, 10 時間後すでに小さい光るコロニーがみられた。培養は 6 月 26 日午前中に行なったが, 26 日早朝採集の材料 10 個体からは全部発育 30 株, 6 月 24 日採集の材料からは 10 個体中 5 個体より 15 株, 22 日採集の材料からは 10 個体中 2 個体より 6 株計, 51 株を得た。

光は強く, いずれも光の強さにいちじるしい差は認めなかった。

培養したバクテリアの細菌学的研究は主として吉葉が行なった。バクテリアの性質は株によって, ガス発生の量的相異, 黄色色素産生など多少の差はあるが, いずれも同一種類のバクテリアと思われる。

バクテリアの性状

この発光バクテリアは一端一毛の球桿菌で 1.6～2.5 μ×1.3～2.0 μ, 運動菌であるが Vibrio 程早くなく旋回運動はない。

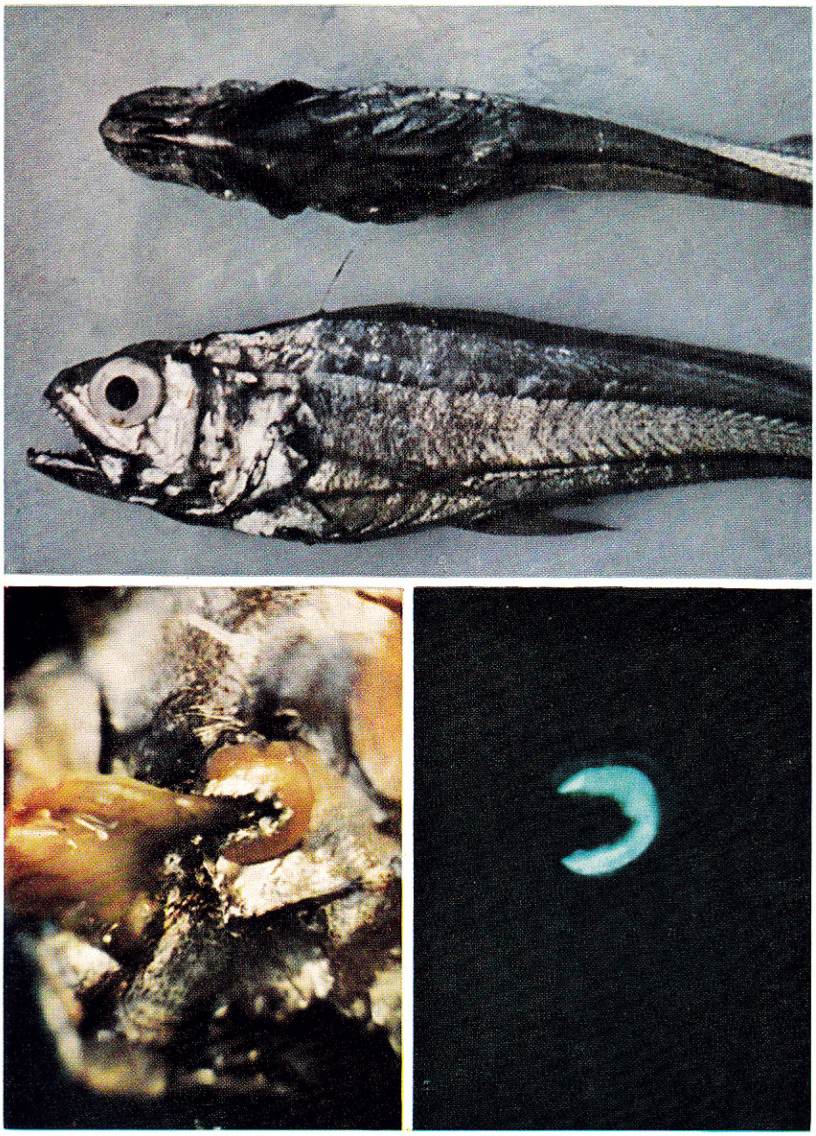
グラム陰性で空胞がみられる。インドールを産生しない, ゲラチン液化せず, 牛乳を凝固しない, 3% 食塩加寒天平板培養基では透明正円形均質のコロニーを生ずる。検査した 8 株の中 1 株は黄色色素産生菌を認めたが, 他の性情はほとんど同一であった。

Dextrose, Laevulose, Galactose, Mannose, Maltose 及び Dextrin を分解し, 単糖類, 二糖類では多くの株はガスを発生, Dextrin ではガスを発生しない。Xylose, Arabinose, Rhamnose, Saccharose, Lactose, Treharose, Raffinose, Inulin, Amylum, Glycerol, Erythritol, Adonitol, Mannitol, Dulcitol, Inositol 及び Salicin は分解しない。

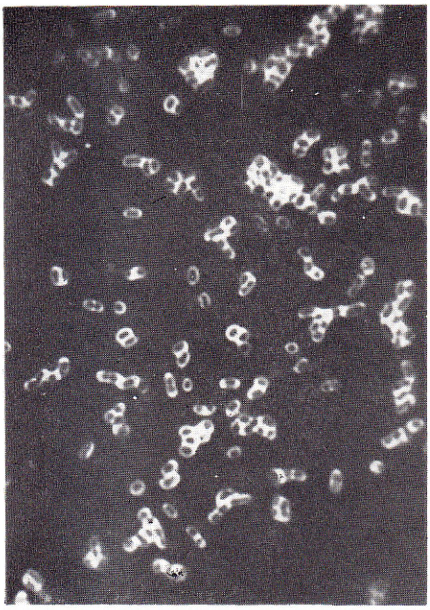
発光及び発育の好適温度は 20～25℃, 37℃ では発育しなかった。好適水素イオン濃度は pH≒7.2 である。

これをソコダラ科 (Macrouridae) 魚類のバクテリアと比較するとその形態, 性情, 糖分解等, ほとんど同一で区別しがたい。従ってソコダラ科魚類の共生発光バクテリアと同一グループに属する共生菌である。

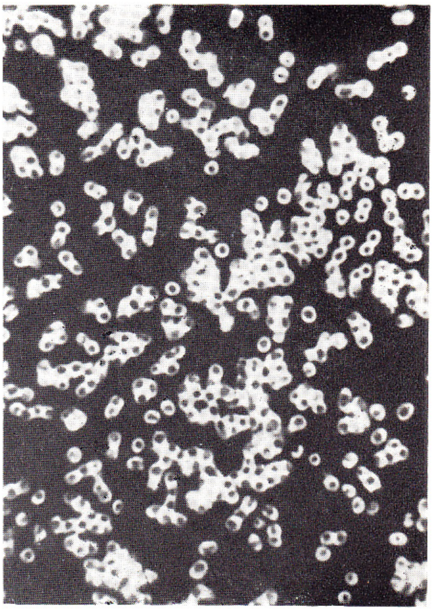
発光体の電子顕微鏡標本作製, 写真撮影には日本電子株式会社の協力を得た。ここに深謝する次第である。



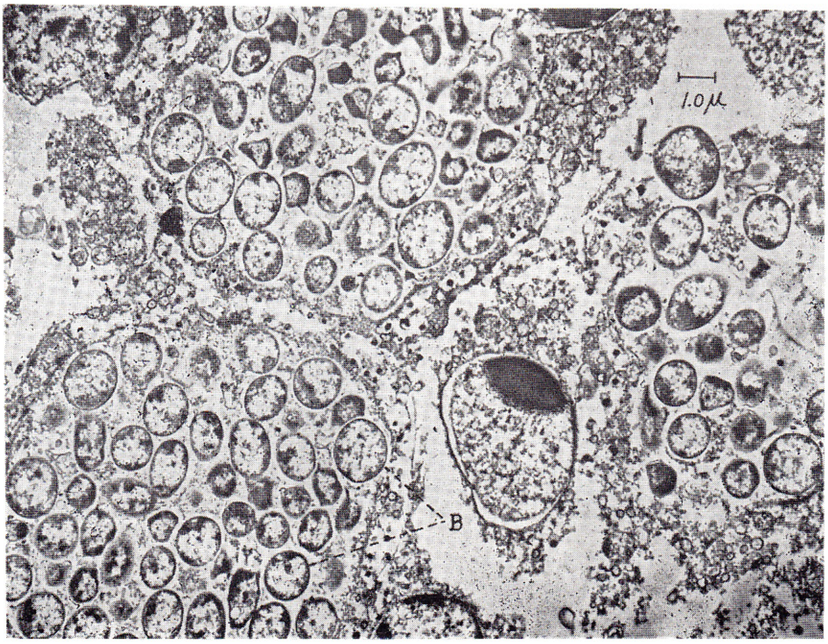
Steindachneria argentea (above), Luminous body (below, left) and phot by its own light (below, right).



(A)



(B)



(C)

(A), (B) Symbiotic luminous bacteria 2B (A) and 4C (B) which cultivated from the luminous duct of *Steindachneria argentea*.
Phot by flnorescence microscop.

(C) Electron microscopic figures of a luminous duct of *Steindachneria argentea*. ×5,000; B, Luminous bacteria.