



Title	海水より分離した球菌の分類に関する研究
Author(s)	絵面, 良男; EZURA, Yoshio; 坂井, 稔 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 17(1), 47-63
Issue Date	1966-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23271
Type	departmental bulletin paper
File Information	17(1)_P47-63.pdf



海水より分離した球菌の分類に関する研究

絵面良男*・坂井 稔*

A Classification of Micrococci Isolated from Sea Water

Yoshio EZURA and Minoru SAKAI

Abstract

Gram-positive and catalase-positive cocci, a total of 301 strains, isolated from various sea water samples were examined for their morphological and biochemical characteristics. The authors attempted to classify the isolates according to the method devised by authors to divide the marine micrococci into the genera and the subgroups giving due consideration to the methods proposed by many workers. The scheme was shown in Fig. 1.

Following this scheme, the cocci could be classified in the genera *Staphylococcus*, *Micrococcus* and *Sarcina*. Of these genera, *Sarcina* was distinguished from other by the formation of cubical packets. Excepting pink pigmented cocci which evidently belonged to *Micrococcus*, *Staphylococcus* could be separated from *Micrococcus* by the ability of the former genus to produce acid from glucose in an anaerobic condition. Of the 301 strains examined, 102 could be placed in *Staphylococcus*, 179 in *Micrococcus* and 20 in *Sarcina*. Five subgroups were recognized within the genus *Staphylococcus*, five within the genus *Micrococcus* and one within the genus *Sarcina*.

結 言

グラム陽性・カタラーゼ陽性の球菌についての分類は Cohn (1872) の genus *Micrococcus*, Rosenbach (1884) の genus *Staphylococcus* の設定以来多数の研究者によって種々の方式が試みられてきた。現在ではこれらの球菌をすべて genus *Staphylococcus* に編入し、生化学的活性の強い *Staphylococcus aureus* を一端とし、活性の弱い micrococci を他端とする一種のスペクトルのようなものとする Shaw et al.¹⁾ の説と、これらを *Staphylococcus*, *Micrococcus* 及び *Sarcina* の3つの genus に分けるべきとする Evans et al.²⁾ の説がある。Bergey's Manual (7ed. 1957)³⁾ では後者の説を採用し、これに genus *Gaffkya* を加えているが、一方 Hill⁴⁾ のように Adansonian の分類法を基にして Shaw et al. の分類を進めて *Staphylococcus* と *Micrococcus* の2つの genus にすべしとする意見が出されている。さらに genus の細分については、Bergey's Manual の如く明確に species まで分類しているものと、Shaw et al., Baird-Parker⁵⁾ らのようにいくつかの subgroup 又はそれに類する群型別を行っている方法があり、各研究者によって分類された species 又は subgroup 間の関係は錯綜し判別しがたい状態にある。

他方、海洋環境より分離された球菌の分類に関する報告ははなはだ少く、ZoBell⁶⁾, Wood⁷⁾, Kriss⁸⁾,

* 北海道大学水産学部微生物学教室

及び Anderson⁹⁾ らの報告が見られるにすぎないが, Anderson を除き ZoBell は Bergey's Manual, Wood は Hucker¹⁰⁾ 及び Gibson¹¹⁾, Kriss⁹⁾ は Brisou らの方法に準拠してそれぞれ分離菌の同定を行っているにすぎず, 海洋性球菌全般にわたる分類法とは考えられない。

著者らは著者らの属する研究室(北海道大学水産学部微生物学教室)のメンバーによって, 1959年より 1963年にいたる間に北太平洋及びその他の海域で採取した海水から分離・培養された海洋性細菌約 2500株のうちから球菌のみ 301株を選出して, これらの菌株について分類学的検討を行ったのでその結果を報告する。

供試菌株及び実験方法

I. 供試菌

Table 1 に示す諸海域において海面から水深 3,000m までの種々の水層から, J-Z 式細菌検査用採水器¹²⁾ を用いて海水を採取後, ただちに ZoBell 2216 培地¹³⁾ で混釈培養(25°C, 6日間)を行い, これから分離・純培養を行った後 ZoBell 2216 斜面培地で継代培養して目下諸性状を検索中である約 2,500株の海洋性細菌の中から球菌のみ 301株を選び, これを本実験に供試した。また対照株として

Table 1. Origine of isolates

Station No.	Date	Position		Station No.	Date	Position	
		Lat.*	Lon.°			Lat.	Lon.
1	June 9, 1959	42°00N	146°00E	34	July 6, 1960	61°01N	173°24W
4	June 11 //	45°03N	151°32E	36	July 7 //	59°58N	170°00W
7	June 12 //	48°00N	156°59E	37	July 7 //	59°25N	169°12W
10	June 14 //	47°42N	163°31E	42	July 13 //	56°50N	163°04W
13	June 16 //	48°00N	170°00E	44	July 14 //	55°07N	164°59W
17	June 19 //	55°00N	171°20E	46	July 15 //	54°15N	160°40W
20	June 22 //	53°16N	179°04E	50	July 18 //	55°54N	149°24W
21	June 24 //	53°16N	178°32E	52	Aug. 10 //	48°14N	146°32W
22	June 24 //	52°01N	179°30E	1	Oct. 29, 1960	30°37N	137°00E
23	June 24 //	51°00N	180°00	2	Oct. 30 //	28°19N	137°00E
27	June 26 //	48°32N	177°22W	4	Oct. 31 //	25°17N	136°59E
31	June 28 //	50°25N	171°59W	5	Nov. 1 //	24°09N	136°52E
34	June 30 //	54°10N	172°00W	6	Nov. 2 //	23°07N	136°50E
40	July 8 //	57°01N	174°30W	7	Nov. 2 //	23°22N	135°45E
43	July 11 //	57°38N	177°59E	8	Nov. 4 //	24°33N	134°52E
46	July 13 //	58°19N	174°50E	9	Nov. 4 //	25°19N	135°56E
50	July 15 //	57°19N	169°58E	10	Nov. 5 //	26°10N	132°47E
53	July 16 //	56°20N	166°18E	11	Nov. 6 //	27°42N	130°50E
57	July 18 //	53°54N	164°16E	12	Nov. 9 //	25°11N	128°20E
59	July 19 //	51°59N	164°04E	13	Nov. 10 //	25°02N	126°58E
60	July 19 //	51°02N	164°18E	14	Nov. 11 //	25°54N	125°24E
67	July 23 //	47°43N	157°10E	15	Nov. 11 //	26°15N	125°06E
1	Nov. 13, 1959	34°44N	144°04E	20	Nov. 13 //	29°59N	125°41E
2	Nov. 15 //	37°01N	143°53E	21	Nov. 13 //	30°28N	126°22E
4	Nov. 16 //	38°10N	142°46E	23	Nov. 14 //	31°58N	128°35E
1	June 11, 1960	46°42N	159°55E	1	May 8, 1963	41°28N	139°49E
4	June 13 //	48°38N	165°58E	2	May 8 //	41°29N	139°46E
6	June 14 //	50°00N	170°00E	3	May 9 //	41°26N	139°45E
11	June 18 //	57°00N	175°03E	4	May 9 //	41°20N	140°03E
28	June 28 //	53°31N	171°58W	5	May 9 //	41°21N	140°12E
30	June 30 //	56°00N	171°44W	6	May 9 //	41°25N	140°22E
33	July 5 //	58°59N	173°32W				

* Latitude ° Longitude

は著者の属する研究室で保存中の標準菌株 *Staphylococcus aureus*, *Staph. albus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Sarcina lutea* 及び東京大学応用微生物学研究所より分与を受けた *Micrococcus rubens* IAM 1315 (ATCC 186), *M. varians* IAM 1314 (ATCC 399), *M. roseus* IAM 1295 (ATCC 9815) の7株を供試した。

II. 実験方法

本実験を通じ特記しないかぎり固型培地は ZoBell 2216 培地を、液体培地は前記培地より磷酸第二鉄及び寒天を除いたものを基礎培地として使用し、海水は Herbst の人工海水¹⁴⁾をもって代用した。培養温度は原則として 25°C で行った。

(1) 形態学的性状

基礎培地(斜面)で 24~48 時間培養した供試菌について菌形、大きさ、配列、運動性及びグラム染色性などを検査し、また基礎培地(平板)で発育状態、集落の表面構造並に色素産生能などを観察、基礎液体培地で混濁、皮膜の形成及び沈澱物の有無などを観察した。

(2) 生化学的性状

1) コアグララーゼの産生¹⁵⁾: 10 倍稀釈ウサギ血漿 0.5ml に新鮮培養菌の 1 白金耳量を接種し、37°C の恒温器中で 1, 2 及び 3 時間後における血漿の凝固状態を観察した。

2) カタラーゼの産生: スライドガラス上に 3% 過酸化水素水を 1 滴とり、これに 3 日間培養後の供試菌の 1 白金耳を混じり発泡の有無を観察した。

3) フォスファターゼ試験⁵⁾: 基礎培地 100ml に対し 1.0% Phenolphthalein diphosphate (ソーダ塩) 水溶液 1ml を加えて平板とし、供試菌を画線して 3 日間培養後、アンモニア蒸気をかけ遊離のフェノールフタレンを呈色反応によって判定した。

4) オキシダーゼ試験: Kovacs 法¹⁶⁾ によった。

5) 炭水化物からの酸産生: Leifson の MOF 培地¹⁷⁾ を用いて嫌氣的並に好氣的条件下での各種炭水化物からの酸産生を 14 日間観察した。ただし嫌氣的条件下での酸産生能の観察はブドウ糖とマンニットについてのみ行った。

6) Voges-Proskauer 反応 (V-P 反応): 1.0% のブドウ糖を加えた液体基礎培地に 5 日間培養後、Barrit 法¹⁸⁾ により Acetoin の検出を行った。

7) Methyl-Red 試験 (M-R 試験): 前記の培地に 5 日間培養後、0.02% Methyl-Red 試薬により判定した。

8) 澱粉の加水分解: 基礎培地に可溶性澱粉を 1.0% の割合に添加した平板に 5 日間培養後、分解の有無を稀釈ルゴール液での呈色反応によって判定した。

9) 脂質の分解⁹⁾: 基礎培地にクリームを 1.0% の割合に加えた平板で 14 日間培養し、脂質の分解によって生ずる脂肪酸と硫酸銅飽和液との呈色反応により分解の有無を判定した。

10) Tween 20 及び 80 の分解¹⁹⁾: 基礎培地に Tween 20 及び 80 をそれぞれ 1.0% の割合に加えた平板面に供試菌を 5 日間培養し、分解により生ずる不溶性 oleate の沈積の有無を観察した。

11) ゼラチンの加水分解: 基礎培地にゼラチンを 0.4% の割合に加えた平板で 5 日間培養後、15% 塩酸々性昇汞水²⁰⁾ を注加することにより生ずる集落周囲の透明帯の有無を観察した。

12) カゼインの分解: 脱脂粉乳を 1.0% の割合に加えた基礎培地平板に 5 日間培養し集落周囲の透明帯の有無を観察した。

13) キチンの分解: Benton 法²¹⁾ により精製したキチン粉末を 1.0% の割合に加えた基礎培地平板に 20 日間培養後集落周辺の透明帯の形成によりキチンの分解を判定した。

- 14) 尿素の分解: Christensen 法²²⁾ によった。
- 15) インドールの産生: 供試菌を人工海水ペプトン水に培養し, Ehrlich-Böhme 法¹⁵⁾ により検査した。
- 16) アンモニアの産生: 供試菌を人工海水ペプトン水に 5 日間培養した後, Nessler 試薬により検出した。
- 17) 硫化水素の産生: システインを 0.02% の割合に添加した液体基礎培地に供試菌を培養し鉛糖紙法によって硫化水素を検出した。
- 18) 硝酸塩の還元: 硝酸カリ加海水ペプトン水の培養について, 常法通り α -Naphthylamine 酢酸液及びスルファニル酢酸液により検査を行った。
- 19) B.C.P. 牛乳に対する反応: 本検査においては培地に人工海水を用いず常法²³⁾ に従って実施した。
- 20) 窒素源としての磷酸アンモンの利用性: Bergey's Manual (7 ed.)³⁾ の記載に従った。
- 21) 窒素源としての酢酸アンモンの利用性: Anderson の方法⁹⁾ に従った。
- 22) ポテト培地上での発育: 常法²²⁾ によった。
- 23) 食塩耐性: 基礎培地に含まれる人工海水の食塩濃度を 0, 3, 7.5, 15, 20% として, 平板培地を作り食塩濃度 3% の培地上での発育を基準として, それぞれの発育度を比較した。
- 24) テルル酸グリシン培地における発育: 培地は日本栄養化学社製を用い, 37°C で 48 時間培養し発育と集落の色調を観察した。
- 25) 胆汁加寒天培地における発育: 基礎培地に 10% の割合に胆汁粉末を加え平板とし, 画線培養 (5日間) し発育の有無をみた。
- 26) 40°C での発育: 液体基礎培地に供試菌を接種したのち 40°C で培養を行い培地の混濁を 3 日間観察した。
- 27) 嫌气的条件での発育: 0.5% の割合にブドウ糖を加えた液体基礎培地で予め 100°C, 15 min 加熱後急冷し, 供試菌を接種後ただちに流動パラフィンを重ねし, 発育の有無を 3 日間観察した。
- 28) 海水の要求性: 日高の方法²⁴⁾ を参照し培地の有機物 (ペプトン, 酵母エキス) 濃度を液体基礎培地の 1/2 量とした培地を作成し, 25°C で 3 日間の培養を行い発育の状態を観察した。
- 29) 各種溶剤に対する産生色素の溶解性: 基礎培地に発育した菌体を集め, 予め人工海水で洗滌後各種溶剤を加え, 静置又は加温後遠心分離を行い, その上澄液の着色の有無により溶剤に対する溶解性を観察した。

結 果

I. 供試菌の諸性状 (Table 2 参照)

(1) 形態学的性状

全供試菌 (301 株) はすべてグラム陽性であったが, 培養日数の 5 日以上経過したものにおいては疑陽性又は陰性を示すものが多数みられた。菌体の配列は単在, 対, 四連或は不規則な集団をなすものが大部分を占めるが, まれに 4~6 個の細胞が短連鎖をなす菌株も存在した。固形培地で 8 個の細胞が立体的配列 (cubic 或は packet) を示す場合は, これを更に液体培地で培養し, その配列を位相差顕微鏡で再確認したが, この様な配列をなすものが供試菌株中に 20 株認められた。

ZoBell 2216 平板上の集落はほとんどの菌株が正円, 隆起, 湿潤, 滑沢の S 型であるが, まれに寒天表面に固く固着し表面粗造の集落を作る菌株があった。これらの菌株は液体培地において粒状沈澱をみるものが多いが, S 型の菌では大部分が一樣混濁を呈した。ZoBell 2216 平板及び牛乳寒天平板

Table 2. Physiological characteristics of isolates

Character	Group	No. of positive strains			Total
		<i>Staphylococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Sarcina</i>	
Pigment white		43(42.2)	48(26.8)	1(5.0)	92(30.2)
yellow		58(56.9)	86(48.0)	19(95.0)	163(54.2)
orange		1(1.0)	8(4.5)	0(0)	9(3.0)
pink		0(0)	37(20.7)	0(0)	37(12.3)
Coagulase production		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Catalase production		102(100)	179(100)	20(100)	301(100)
Phosphatase production		61(59.8)	38(21.2)	9(45.0)	108(35.9)
Oxidase production		3(2.9)	15(8.4)	1(5.0)	19(6.3)
Acid from glucose (anaerobic)		102(100)	11(6.1)	1(5.0)	114(37.9)
(aerobic)		102(100)	92(51.4)	4(20.0)	198(65.8)
Acid from mannitol (anaerobic)		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
(aerobic)		92(90.2)	67(37.4)	3(15.0)	162(53.8)
Aerobic acid production from					
lactose		65(63.7)	18(10.1)	3(15.0)	86(28.6)
maltose		100(98.0)	73(40.8)	6(30.0)	179(59.5)
sucrose		87(85.3)	95(53.1)	8(40.0)	190(63.1)
glycerol		91(89.1)	75(41.9)	3(15.0)	169(56.1)
xylose		73(71.6)	80(44.7)	3(15.0)	156(51.8)
raffinose		35/82*	26/177	2(10.0)	63/279
inositol		19(18.6)	52(29.1)	1(5.0)	72(23.9)
dextrin		32(31.4)	29(16.2)	2(10.0)	63(20.9)
V.P. reaction		12(11.8)	0(0)	0(0)	12(4.0)
M.R. test		95(93.1)	4(2.2)	2(10.0)	101(33.6)
Hydrolysis of gelatin		53(52.0)	102(57.0)	18(90.0)	173(57.5)
starch		26(25.5)	56(31.3)	3(15.0)	85(28.2)
casein		46(45.1)	30(16.8)	16(80.0)	92(30.6)
chitin		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
tween 20		27(26.5)	89(49.7)	10(50.0)	126(41.9)
tween 80		17(16.7)	75(41.9)	13(65.0)	105(34.9)
Urease production		60(58.8)	15(8.4)	2(10.0)	77(25.6)
Hydrogen sulfide production		74(72.5)	98(54.7)	8(40.0)	180(59.8)
Indol production		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Nitrate reduction		65(63.7)	84(46.9)	1(5.0)	150(49.8)
B.C.P. milk reaction (acid)		55(53.9)	21(11.7)	8(40.0)	84(27.9)
(alkali)		8(7.8)	39(21.8)	1(5.0)	48(15.9)
Ammonium phosphate utilization		14(13.7)	43(24.0)	2(10.0)	59(19.6)
Ammonium acetate utilization		14(13.7)	67(37.4)	3(15.0)	84(27.9)
Growth on potato		7/30	17/47	3/8	27/85
in presence of 15% NaCl		15/30	2/47	0/8	17/85
" 10% bile		86(84.3)	50(27.9)	2(10.0)	138(45.8)
at 40°C		80(78.4)	81(45.3)	17(85.0)	178(59.1)
in anaerobic condition		102(100)	44(24.6)	10(50.0)	156(51.9)
on tellurite glycine agar		52(51.0)	18(10.1)	0(0)	70(23.3)
Requirement of sea water†		10(9.8)	49(27.4)	3(15.0)	63(21.0)
3% NaCl		5(4.9)	16(8.9)	2(10.0)	22(7.3)
none		87(85.3)	114(63.7)	15(75.0)	216(71.7)
Total number of isolates		102	179	20	301

Closed=percentage * No. isolates positive/No. isolates tested † Herbst's artificial sea water (NaCl, 30g/l; KCl, 0.7g/l; MgSO₄·7H₂O, 5.4g/l; MgCl₂·6H₂O, 10.8g/l; CaSO₄·2H₂O, 1.3 g/l)

上における色素産生については黄色系色素を産生するもの 163 株、白色系 92 株、橙色系 9 株及び桃色系 37 株であった。なお白色系 92 株中には牛乳寒天平板培地における 14 日間の培養でわずかに黄色を帯びるものが 9 株存在した。

(2) 生化学的性状

1) コアグラエーゼの産生: 対照菌株の *Staphylococcus aureus*, *Staph. albus* 以外の全供試菌が陰性であった。

2) フォスファターゼ試験: 全供試菌株中、陽性を示すものは 108 株でその他弱陽性を示すものが 21 株存在した。明らかに陽性を示す 108 株中、後述する著者の分類法により *Staphylococcus* に編入されるものが 61 株で約半数をしめた。

3) 炭水化物からの酸産生: ブドウ糖からの酸産生は Leifson の MOF 培地において (i) 好氣的、嫌氣的両条件で酸を産生するもの、(ii) 好氣的条件下でのみ酸を産生するもの、(iii) 両条件下で全く酸を産生しないものの 3 つの型がみられた。なお嫌氣的条件下において培地の表面又は上層部でのみ酸を産生する株も若干みられたが、著者は (i) の性状を培地全体が明瞭に黄変されるものに限って判定を行った。このことはグラム陽性、カタラーゼ陽性球菌の大部分が嫌氣的条件下で弱い酸を産生すると云う Pohja²⁵⁾ の懸念をある程度除去しうるものと推定したためである。その結果 (i) の性状を示すもの 114 株、(ii) 84 株及び (iii) 103 株であった。なお *Staphylococcus aureus* の重要な性状とされているマンニットからの嫌氣的条件下での酸産生は対照株の *Staph. aureus*, *Staph. albus* のみにみられた。その他の炭水化物については供試した炭水化物のすべてから酸を産生する菌株から、全くその産生をみないものまで種々な態度を示すものが存在したが、全般的にはブドウ糖、マンニット、マルトース、蔗糖、グリセロール及びキシロースなどから酸を産生する菌株が多かった。

4) Voges-Proskauer 反応 (V-P 反応): V-P 反応陽性を示したものはわずか 12 株で、これらはすべてブドウ糖から嫌氣的に酸を産生する菌株であった。

5) Methyl-Red 試験 (M-R 試験): M-R 試験陽性株 101 株中大多数の 95 株がブドウ糖から嫌氣的に酸を産生する菌株であった。

6) 澱粉の加水分解: 桃色系色素産生株 37 株中 32 株が陽性であった。

7) ゼラチンの加水分解: 供試菌の約半数の 173 株が陽性を示した。その中で立体配列を示す菌株においては 20 株中 18 株が陽性であった。

8) キチンの分解: Campbell & Williams²⁴⁾ らは海底泥土よりキチン分解性の球菌を分離しているが、本実験供試菌株中にはキチン分解能を有する菌株はみられなかった。

9) 硝酸塩の還元: 供試菌株中の 150 株が陽性を示し、特に桃色系色素産生株においては 37 株の全株が陽性であった。

10) 窒素源としての磷酸アンモン及び酢酸アンモンの利用性: 窒素源として磷酸アンモンを利用し発育の認められたものは供試菌株中 59 株で、そのうち桃色系色素産生株が 30 株あった。又桃色系色素産生株以外で磷酸アンモンを窒素源として利用し得るものは大部分酢酸アンモンも窒素源として利用した。酢酸アンモンを利用して発育を示したものは 84 株で全株数の約 28% であるが、これに対し Anderson⁹⁾ が北海より分離した球菌について行った成績ではその 8% が陽性を示したに過ぎない。この対照的結果については後述する。

11) テルル酸グリシン培地における発育: 特徴的な黒色の集落を形成するものが全供試菌株中 70 株検出された。元来この培地はコアグラエーゼ陽性のブドウ球菌の分離培地として賞用されているが、著者の供試菌株中にはコアグラエーゼ陽性の菌株は 1 株も存在しなかった。それにもかかわらず特徴的な黒色集落を形成する菌株が相当多数みられたことは興味深く、本培地の分離選択性はかなり弱いも

のと思われる。

12) 40°Cでの発育：供試菌株中178株が発育し、特に立体配列を示す菌株及びブドウ糖を嫌氣的に分解し酸を出す菌株において高率であった。

13) 海水の要求性：供試菌株301株中、人工海水を含む培地においてのみ発育するもの63株(21.0%)、塩類として食塩3.0%のみを含む培地においても発育するものが22株(7.3%)、塩類を含まない培地にも発育するものが216株(71.7%)存在した。この結果は供試培地中のペプトン、酵母エキス等に夾雑する微量の各種塩類の存在する条件下において検査したものである。本試験に供試した培地は、前述の如く一般のブイヨンに比し有機物濃度の低い液体基礎培地のさらに少量の有機物を含むものであって、培地素材の有機物に由来して混在する各種塩類の濃度はかなり低いものである。しかしながら細菌の要求する無機塩は極めて微量であることが知られているから、この種の試験においては日高²⁴⁾の指摘する如く有機物濃度をさらに低くして実施する必要がある、この点に関しては今後詳細な検討を行う所存である。

14) 各種溶剤に対する産色素の溶解性：ZoBell 2216培地上で明瞭に色素を産生する菌株の色素はその大部分がメタノール、エタノール及びアセトンに溶解した。

なおカタラーゼの産生その他の結果はTable 2に示す通りである。

II. 分類上の検討

前項の供試菌株について観察された諸性状から供試菌の分類学的検討を次の如く行った。

(1) 既報の分類法による分類

まず供試菌301株をBergey's Manual (7ed.)³⁾に準拠して、嫌氣的条件におけるブドウ糖からの酸産生並に細胞の立体配列(cubic 或は packet)からgenus *Staphylococcus* (102株), *Micrococcus* (179株), *Sarcina* (20株)に分類した。Bergey's Manualでgenus *Staphylococcus*は*Staphylococcus auerus*及び*Staph. epidermidis*のわずか2speciesに分類されているが、著者の供試菌でgenus *Staphylococcus*に分類された102株中にはコアグララーゼ陽性の*Staph. aureus*に相当する菌株は1株もなかった。又Bergey's Manualに記載されている*Staph. epidermidis*の性状に近似するものは102株中わずか6株のみであった。Hill⁴⁾, Pohja²⁵⁾らはgenus *Staphylococcus*を*Staph. aureus*, *Staph. saprophyticus*の2speciesに限定し、*Staph. saprophyticus*に対しコアグララーゼ陰性、V・P反応陽性と定義すべきと提唱しているが、Bergey's Manualと大同小異とみて差支えない。本実験でgenus *Staphylococcus*に分類された102株はTable 4に示す如く、V・P反応、マンニット及び乳糖などの糖類に対する態度に相当顕著な差が認められる菌株を包含し均一性に乏しい。次にgenus *Micrococcus*に属する179株をBergey's Manualに従って分類すれば*M. luteus*に4株、*M. freudenreichii* 1株、*M. flavus* 3株その類似株66株、*M. candidus* 1株とその類似株15株、*M. roseus* 13株、*M. rubens* 24株、いずれのspeciesにも該当しないもの52株と云う結果となる。

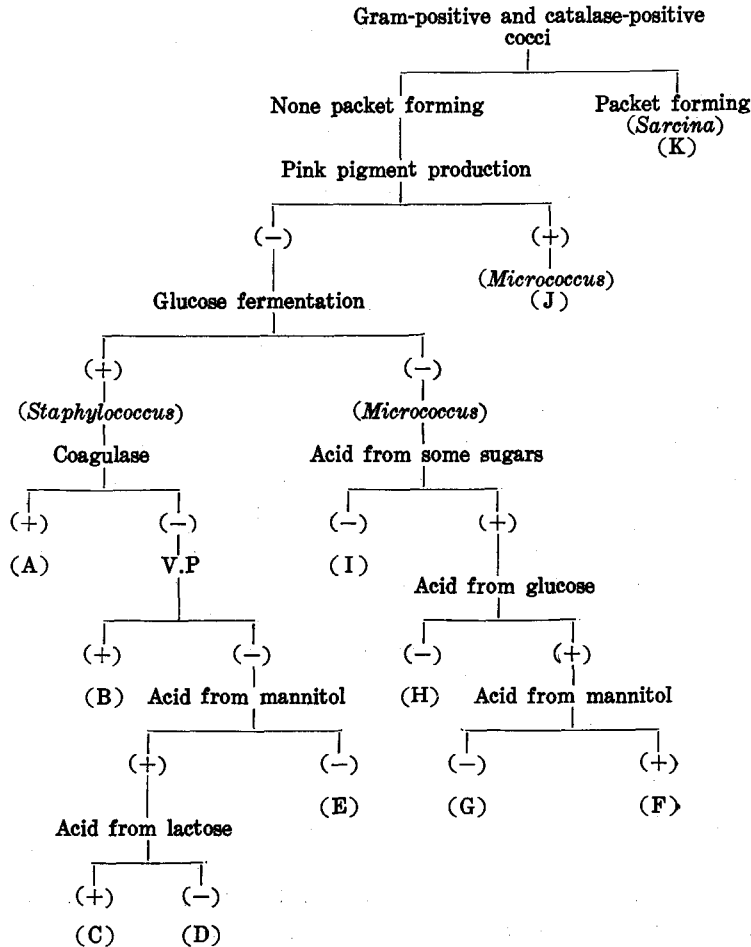
次にBaird-Parker⁵⁾はヒト、ブタ、塵埃、ペーコンなどから分離した球菌について、*Staphylococcus*, *Micrococcus*及び*Sarcina*の3属に分け、さらに*Staphylococcus*をコアグララーゼ産生、フォスファターゼ産生、V・P反応、乳糖及びマンニットからの好氣的な酸産生によってsubgroup I~VIに細分している。いま*Staphylococcus*に分類される供試菌102株をBaird-Parkerの分類に準拠して検討すると、102株中群別可能な菌株はsubgroup IIIに4株、subgroup VIに4株のみである。Baird-Parkerはまたgenus *Micrococcus*についてはsubgroup 1~7に細分しているが、供試菌株中*Micrococcus*に分類された179株について検討するに、subgroup 5に40株、subgroup 6

に6株これに近似するもの9株, subgroup 7に80株, これに近似するもの7株及びいずれの subgroup にも属さない桃色系色素産生株37株となり, subgroup 1~4に該当する菌株は存在しなかった。なお Baird-Parker は最近²⁰⁾桃色系色素産生株を1つの subgroup として認め新しく subgroup 8を追加している。

Shaw et al.¹⁾ は好気性の *Sarcina* も含めてすべての球菌を genus *Staphylococcus* に包含させ、これらを5つの species に分けているが、その中の *Staph. lactis* と *Staph. afermentans* はきわめて広範囲の性状を有するものを包含する species である。供試菌株では *Staph. lactis* に149株, *Staph. afermentans* に104株, すなわち供試菌の大半の253株がこの2 species に包含される結果となる (Table 6 参照)。

一方、海洋性の球菌について Wood⁷⁾ は Hucker¹⁰⁾, Abd-el-Malek & Gibson¹¹⁾ らの方法に準拠し、産生色素を中心に糖に対する態度及び耐熱性等により分類を試みているが分類された各 species 間に生化学的性状の差はほとんど認められず、分類の基本が単に産生色素の色調の相違におかれているも

Fig. 1. A key to the separation of marine micrococci



のと推察される。(Wood の論文の記載が不十分であるため著者の供試菌についての追試は実施出来なかった。)

また Kriss⁹⁾ も Wood と同様に色素の産生能を中心に species, さらには type にまで分類しているが生化学的性状の異なる菌株も産生色素の同一性のみで同一 species と認めている点など納得出来ない点が多い。

(2) 海洋性球菌の分類に関する提案

著者は前述のように既報の分類法に準拠して海水由来の菌株について分類を試みた結果、満足すべき結果を得ることが出来なかった。故に著者は球菌の分類に関し重要な特性として一般に承認されている多くの意見を可及的に取入れ、これらを検討した結果、Fig. 1 に示すような key を創定し、これをもって海水由来の供試菌の分類を試みた。この key の骨子をなすものは (i) *Staphylococcus*, *Micrococcus* 及び *Sarcina* の 3 genus を認める^{2,3,5,10)}。(ii) コアグラゼ陽性菌を *Staphylococcus aureus* とする^{1-5,10)}。(iii) *Micrococcus* は糖類より酸を産生する群と全く産生しない群の 2 群にわけ^{4,5,10)}。(iv) 産生色素については桃色系色素以外は分類上の価値を認めない^{1,4,11)}。以上の骨子に基づき、Fig. 1 及び Table 3. に示す如く、供試菌を *Staphylococcus* A~E の 5 つの subgroup, *Micrococcus* F~J の 5 つの subgroup, また *Sarcina* は一応 K の 1 subgroup 計 11 subgroup に細分した。以下その各群の性状の概要を示すと Table 3, 4 に示す通りである。

第 1 群 (genus *Staphylococcus*)

グラム陽性、細胞の大きさは 0.5~1.2 μ , 配列は単在、対又は不規則な集団を示し、時に短連鎖や

Table 3. Main characteristics of subgroups

Subgroup	<i>Staphylococcus</i>				<i>Micrococcus</i>					<i>Sarcina</i>						
	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	S. ₁	S. ₂	M. ₁	M. ₂	M. ₃	Sar. ₁
Character	12	56	24	10	30	25	40	47	37	20	1	1	1	1	2	1
Packet forming	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Pink pigment production	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
V.P. test	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Glucose fermentation	+	+	+	+	-	-	-	-	V	- _U	+	+	-	-	-	-
Acid from glucose	+	+	+	+	+	+	-	-	+	V	+	+	-	+	+	+
mannitol	+	+	+	-	+	-	V	-	+ _U	V	+	+	-	+	+	-
lactose	V	+	-	V	V	V	-	-	-	V	-	-	-	-	-	-
maltose	+	+	+	+ _U	+ _U	V	V	-	V	V	+	+	-	-	-	+
glycerol	+	+	V	V	+ _U	V	V	-	+ _U	V	+	+	-	+	+	+
inositol	- _U	V	V	- _U	V	V	-	-	+ _U	- _U	-	-	-	-	+	-
M.R. test	+	+	+ _U	V	V	- _U	-	-	-	- _U	+	+	-	-	-	-
Nitrate reduction	V	+ _U	V	V	V	V	V	-	+	- _U	+	+	-	+	+	-
Growth at 40°C in anaerobic condition on telluriteglycin agar	+ _U	+ _U	V	V	V	V	V	V	V	+ _U	+	+	+	-	-	+
Ammonium acetate utilization	-	V	- _U	V	V	V	+ _U	V	V	V	-	-	-	+	-	+

V=variable. U=usually S.₁=*Staphylococcus aureus*, S.₂=*Staph. albus*, M.₁=*Micrococcus lysodeikticus*, M.₂=*M. varians*, M.₃=*M. roseus*, M. *rubens*, Sar.₁=*Sarcina lutea*

Table 4. Physiological characteristics of subgroups

Subgroup Character	<i>Staphylococcus</i>				<i>Micrococcus</i>					<i>Sarcina</i>
	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Pigment white	8(66.7)	25(44.6)	7(29.7)	3(30.0)	13(43.3)	6(24.0)	7(17.5)	22(46.9)	0(0)	1(5.0)
yellow	4(33.3)	31(55.4)	16(66.7)	7(70.0)	16(53.3)	14(56.0)	33(82.5)	23(48.9)	0(0)	19(95.0)
orange	0(0)	0(0)	1(4.2)	0(0)	1(3.3)	5(20.0)	0(0)	2(4.2)	0(0)	0(0)
pink	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	37(100)	0(0)
Packet forming	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	20(100)
Acid from glucose										
anaerobic	12(100)	56(100)	24(100)	10(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	11(29.7)	1(5.0)
aerobic	12(100)	56(100)	24(100)	10(100)	30(100)	25(100)	0(0)	0(0)	37(100)	4(20.0)
Coagulase production	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
V.P. reaction	12(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Acid from mannitol										
anaerobic	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
aerobic	12(100)	56(100)	24(100)	0(0)	30(100)	0(0)	6(15.0)	0(0)	31(83.8)	3(15.0)
Aerobic acid production										
from lactose	5(41.7)	56(100)	0(0)	4(40.0)	14(46.7)	4(16.0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(15.0)
maltose	12(100)	56(100)	24(100)	8(80.0)	25(83.3)	10(40.0)	11(27.5)	0(0)	27(73.0)	6(30.0)
sucrose	7(58.7)	55(98.2)	18(75.0)	7(70.0)	25(83.3)	1(4.0)	23(57.5)	0(0)	36(97.3)	8(40.0)
glycerol	12(100)	56(100)	19(79.1)	4(40.0)	27(90.0)	7(28.0)	11(27.5)	0(0)	30(81.1)	3(15.0)
xylose	4(33.3)	51(91.1)	14(58.3)	4(40.0)	24(80.0)	9(36.0)	16(40.0)	0(0)	31(83.8)	3(15.0)
raffinose	2(16.7)	29/45*	2/17	2(20.0)	9/28	3(12.0)	0(0)	0(0)	14(37.8)	2(10.0)
inositol	1(8.3)	10(17.5)	7(29.2)	1(10.0)	16(53.3)	4(16.0)	0(0)	0(0)	32(86.5)	1(5.0)
dextrin	2(16.7)	18(32.1)	9(37.5)	3(30.0)	12(40.0)	3(12.0)	6(15.0)	0(0)	8(21.6)	2(10.0)
Phosphatase production	8(66.7)	43(76.8)	6(25.0)	4(40.0)	5(16.7)	6(24.0)	10(25.0)	15(31.9)	2(5.4)	9(45.0)
M.R. test	12(100)	56(100)	23(95.8)	4(40.0)	3(10.0)	1(4.0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(10.0)

Hydrolysis of gelatin starch casein tween 20 tween 80 Urease production Hydrogen sulfide production Nitrate reduction B.C.P. milk reaction acid alkali Ammonium phosphate utilization Ammonium acetate utilization Growth in presence of 10% bile at 40°C in anaerobic condition on telluriteglycine agar Requirement of sea water† 3% NaCl none Total number of isolates	4(33.3)	37(66.1)	9(37.5)	3(30.0)	22(73.3)	14(56.0)	30(75.0)	23(48.9)	13(35.1)	18(90.0)
	2(16.7)	16(28.6)	4(16.7)	4(40.0)	9(30.0)	6(24.0)	9(22.5)	0(0)	32(86.5)	3(15.0)
	3(25.0)	40(71.4)	1(4.2)	2(20.0)	5(16.7)	7(28.0)	7(17.5)	11(23.4)	0(0)	16(80.0)
	7(58.3)	11(19.6)	6(25.0)	3(30.0)	7(23.3)	13(52.0)	12(30.0)	22(46.9)	35(94.6)	10(50.0)
	6(50.0)	7(12.5)	3(12.5)	1(10.0)	3(10.0)	13(52.0)	7(17.5)	19(40.4)	33(89.2)	13(65.0)
	4(33.3)	44(78.6)	7(29.2)	5(50.0)	6(20.0)	2(8.0)	0(0)	7(14.8)	0(0)	2(10.0)
	8(66.7)	45(80.4)	12(50.0)	9(90.0)	17(56.7)	9(36.0)	25(62.5)	31(65.9)	16(43.2)	8(40.0)
	5(41.7)	42(75.0)	12(50.0)	6(60.0)	15(50.0)	8(32.0)	12(30.0)	12(25.5)	37(100)	1(5.0)
	5(41.7)	47(83.9)	1(4.2)	2(20.0)	7(23.3)	3(12.0)	5(12.5)	4(8.5)	2(5.4)	8(40.0)
	0(0)	0(0)	6(25.0)	2(20.0)	1(3.3)	4(16.0)	5(12.5)	13(27.6)	16(43.2)	1(5.0)
	0(0)	8(14.3)	3(12.5)	3(30.0)	3(10.0)	6(24.0)	2(5.0)	2(4.2)	30(81.1)	2(10.0)
	0(0)	9(16.1)	1(4.2)	4(40.0)	10(33.3)	9(36.0)	27(67.5)	14(29.8)	7(18.9)	3(15.0)
	9(75.0)	49(87.5)	21(87.5)	7(70.0)	11(36.7)	3(12.0)	15(37.5)	10(21.3)	11(29.7)	2(10.0)
	10(83.3)	49(87.5)	16(66.7)	5(50.0)	14(46.7)	9(36.0)	13(32.5)	23(48.9)	22(59.5)	17(85.5)
	12(100)	56(100)	24(100)	10(100)	12(40.0)	7(28.0)	10(25.0)	4(8.5)	11(29.7)	10(50.0)
	9(75.0)	30(53.6)	8(33.3)	5(50.0)	4(13.3)	5(20.0)	3(7.5)	6(12.8)	0(0)	0(0)
	3(25.0)	3(5.4)	3(12.5)	1(10.0)	8(26.7)	6(24.0)	8(20.0)	21(44.7)	6(16.2)	3(15.0)
	0(0)	5(8.9)	0(0)	0(0)	3(10.0)	5(20.0)	3(7.5)	5(10.6)	0(0)	2(10.0)
	9(75.0)	48(85.7)	21(87.5)	9(90.0)	19(63.3)	14(56.0)	29(72.5)	21(44.7)	31(83.8)	15(75.0)
	12	56	24	10	30	25	40	47	37	20

Closed=percentage

* No. isolates positive/No. isolates tested

† Replaced with Herbst's artificial sea water

四連状 (tetracocci) もみられるが八連状の立体配列 (cubic 或は packet) はみられない。産生色素は白色又は黄色で稀に橙色を示す。ブドウ糖より嫌氣的に酸を産生し、嫌氣的に良く發育する。一般にマルトース、乳糖、蔗糖、マンニット、グリセリンより酸を産生するものが多く、ラフィノース、イノシット、デキストリンから酸を産生するものは少ない。10% 胆汁に耐性を示し、40°C で發育するものも多い。(Table 2 参照)

Subgroup A: コアグララーゼ陽性 (供試菌株中に該当する菌株はなかった)。

Subgroup B: コアグララーゼ陰性, V・P 反応陽性。その他マンニット, マルトース及びグリセリンから酸を産生するが一般にラフィノース, イノシットからは酸を産生せず, 多くはテルル酸グリシン培地に發育し 40°C でも發育可能のものが多い。窒素源としての酢酸アンモン及び磷酸アンモンを利用しない。

Subgroup C: コアグララーゼ及び V・P 反応共に陰性, マンニット及び乳糖より酸を産生する。その他の性状としては, マルトース, 蔗糖, グリセリンから酸を産生し, 一般に尿素の分解, フォスファターゼ試験, 硝酸塩の還元性, 10% 胆汁に対する耐性及び 40°C での發育などにおいて陽性を示す。(Staphylococcus の subgroup B~E 中最も活性の強い菌群である)

Subgroup D: コアグララーゼ, V・P 反応共に陰性, マンニットより酸を産生し, 乳糖より産生せず。その他の性状として, マルトースより酸を産生し, 一般に蔗糖及びグリセリンから酸を産生し, 40°C で發育する。通常カゼインを分解し, 唯一の窒素源として酢酸アンモンを利用しない。(この菌群は前述の subgroup B 及び C よりは一般的に活性が低い)

Table 5. Classification of isolates from various sea water samples

Groups	Position No. of isolates	North Pacific (1959)	Off "Sanriku"※ (1959)	North Pacific (1960)	East China Sea (1960)	Off "Matsumae"† (1963)	Total
		172	4	31	81	13	301
Staphylococcus	A	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	B	8(4.7)	1(25.0)	1(3.2)	0(0)	2(15.4)	12(4.0)
	C	28(16.3)	0(0)	13(41.9)	14(17.3)	1(7.7)	56(18.6)
	D	12(6.9)	0(0)	7(22.6)	3(3.7)	2(15.4)	24(7.9)
	E	6(3.5)	0(0)	0(0)	3(3.7)	1(7.7)	10(3.3)
Micrococcus	F	13(7.5)	1(25.0)	2(6.4)	14(17.3)	0(0)	30(9.9)
	G	16(9.3)	1(25.0)	1(3.2)	6(7.4)	1(7.7)	25(8.3)
	H	16(9.3)	0(0)	3(9.7)	20(24.7)	1(7.7)	40(13.3)
	I	37(21.5)	0(0)	2(6.4)	7(8.6)	1(7.7)	47(15.6)
	J	20(11.6)	1(25.0)	2(6.4)	12(14.8)	2(15.4)	37(12.3)
Sarcina	K	16(9.3)	0(0)	0(0)	2(2.5)	2(15.4)	20(6.6)
Staph.		54(31.4)	1(25.0)	21(67.7)	20(24.7)	6(46.2)	102(33.9)
Micro.		102(59.3)	3(75.0)	10(32.3)	59(72.8)	5(38.4)	179(59.4)
Sarcina		16(9.3)	0(0)	0(0)	2(2.5)	2(15.4)	20(6.6)

Closed=Percentage

※ Off "Sanriku" Station No. 1, 2 & 4; Nov. 13-16 (1959) (See Table 1)

† Off "Matsumae" Station No. 1-6; May 8-9 (1963) (See Table 1)

Subgroup E: コアグララーゼ, V・P 反応共に陰性, マンニットより酸を産生せず。その他の性状としては一般にマルトース, 蔗糖から酸を産生し, イノシットからは産生しない。硫化水素を産生するものが多い。(この菌群はその生化学的性状において *Microboccus* の subgroup G に近似している)

第2群 (genus *Micrococcus*)

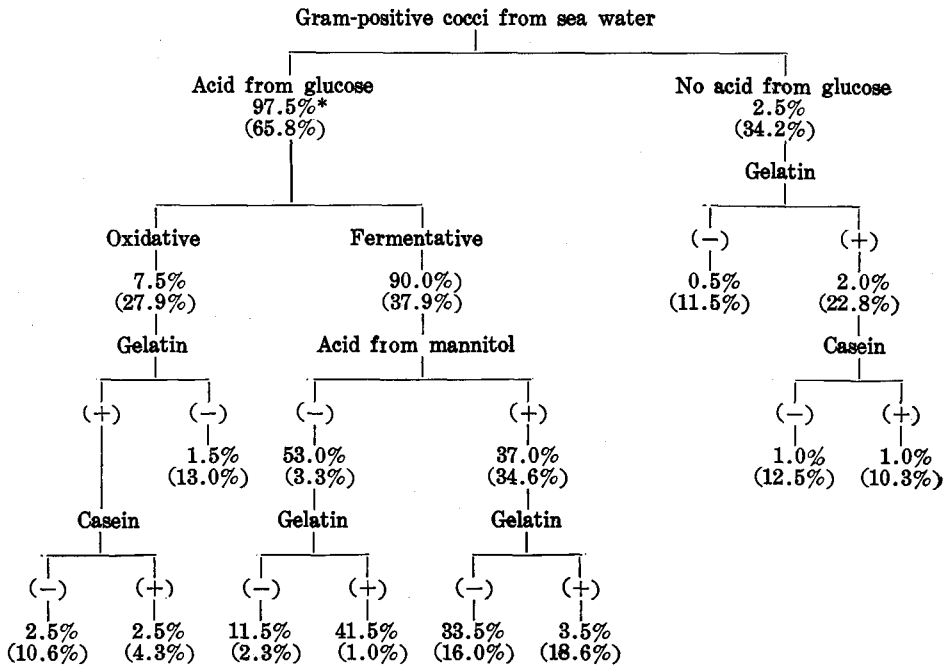
グラム陽性, 細胞の大きさ 0.5~1.5 μ , 配列は単在, 対, 四連状又は不規則集団を示すが八連状はみられない。産生色素は一般に黄色系が多いが白色, 赤橙色及び桃色系の色素を生成する菌も含む。桃色系色素産生株を除き, ブドウ糖より嫌氣的に酸を産生しない。コアグララーゼ, V・P 反応共に陰性でマンニットより嫌氣的に酸を産生しない。糖に対する態度はほとんどの糖から酸を産生するものから, ほとんどの糖から酸を産生しないものまで存在する。嫌氣的条件下での發育, テルル酸グリシン培地での發育, 40°C での發育, 10% 胆汁加培地での發育は一般に不良である。(Table 2 参照)

Subgroup F: 桃色系色素を産生せず, 好氣的にブドウ糖及びマンニットから酸を産生する。その他の性状は一般にマルトース, 蔗糖, グリセリンから酸を産生し, ゼラチンを分解する。(この菌群は subgroup G に近似している)

Subgroup G: 桃色系色素を産生せず, 好氣的にブドウ糖より酸を産生するがマンニットより産生しない。(この菌群は *Staphylococcus* の subgroup E に近似するがさらに活性は低い)

Subgroup H: 桃色系色素を産生せず, ブドウ糖から酸を産生しないが, その他の糖類では酸を産

Fig. 2. The comparison of the characteristics between 205 cultures of micrococci isolated from the North Sea (Anderson 1962) and 301 cultures from the North Pacific Ocean (Authors)



生するものがある。ゼラチンを分解するもの及び窒素源としての酢酸アンモンを利用するものが多い。(この菌群は subgroup I と近似している)

Subgroup I: 桃色系色素を産生せず、糖類から酸を産生しない。その他の性状としては一般に活性弱く澱粉の分解、磷酸アンモンの利用は陰性を示すものが多い。発育に海水を要求する菌株の多くがこの group に属する。(この菌群は 11 の subgroup 中最も活性の弱い菌群である)

Subgroup J: 桃色系色素を産生する。その他の性状として、硝酸塩還元性は陽性を示し、好氣的にグルコースから酸を産生し、乳糖から酸を産生しない。一般に澱粉を分解し、磷酸アンモンを利用するがテルル酸グリシン培地には発育しない。(Micrococcus の subgroup 中最も均一性に富み、かつ活性の強い菌群である)

第 3 群 (genus Sarcina)

グラム陽性で細胞は 1.0~2.0 μ , 8 個の細胞が立体配列 (cubic 或は packet) をなす。黄色系色素を産生するものが多い、桃色系色素は生成しない。コアグララーゼ、V・P 反応共に陰性、嫌氣的にマニトールから酸を産生しないが、ブドウ糖から好氣的に酸を産生するものもある。一般にイノシット

Table 6 The possible relationships of proposed subgroups to the species or groups of recent classification

Author's subgroup	Shaw et al. (1951)	Bergey's Manual (1957)	Baird-Parkar (1963)	ZoBell et al. (1944)
Staphylococcus	A	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Staph. subgroup I</i>
	B	<i>Staph. saprophyticus</i>	<i>Staph. epidermidis</i>	<i>Staph. subgroup II</i> <i>IV</i> <i>V</i> <i>VI</i>
	C	<i>Staph. lactis</i>	<i>Staph. epidermidis</i>	
	D	<i>Staph. lactis</i>	<i>Staph. epidermidis</i>	
	E	<i>Staph. lactis</i>	<i>Staph. epidermidis</i>	<i>Staph. subgroup III</i>
Micrococcus	F	<i>Staph. lactis</i>	<i>Micrococcus ureae</i> <i>M. luteus</i> <i>M. freudenreichii</i> <i>M. varians</i> <i>M. caseolyticus</i>	<i>Micrococcus subgroup 5</i> <i>subgroup 6</i>
	G	<i>Staph. lactis</i>	<i>M. flavus</i> <i>M. candidus</i> <i>M. conglomeratus</i> <i>M. varians</i> <i>M. freudenreichii</i>	<i>Micrococcus subgroup 5</i> <i>subgroup 6</i>
	H	<i>Staph. afermentans</i>		<i>Micrococcus subgroup 7</i>
	I	<i>Staph. afermentans</i>	<i>M. cryophilus</i> <i>M. colpogenes</i>	<i>Micrococcus subgroup 7</i>
	J	<i>Staph. roseus</i>	<i>M. roseus</i> <i>M. rubens</i> <i>M. agilis</i>	
Sarcina				<i>M. euryhalis</i> <i>M. sedimenteus</i>
	K	<i>Staph. afermentans</i> <i>Staph. lactis</i>	<i>Sarcina sp.</i>	<i>Sarcina sp.</i>
				<i>M. sedentarius</i>
				<i>M. mari-puniceus</i> <i>M. infimus</i>

から酸を産生し、硝酸塩の還元性は陰性である。

(3) 著者らの分類方式についての 1, 2 の意見

本実験の供試菌株を Fig. 1 に示す key に従って分類し、これらを検体の採取海域及び年度別に整理した結果 Table 5 に示すごとく結果を得た。分離株数の比較的多かった 1959 年及び 1960 年度の北太平洋、1960 年度の本邦南方海域についてみると、1960 年度の北太平洋で *Staphylococcus* の分離率が特に高く、各 subgroup 間では他の場合と共に subgroup C に属するものが高率であった。また *Micrococcus* では 1959 年の北太平洋と 1960 年の本邦南方海域とは subgroup H と I との分離率が相反しているが、前に述べた如く H と I は近似した性状を有する subgroup で、分布上特筆すべきほどの差とは考えられない。

Anderson⁹⁾ は 1962 年に北海で採取した 205 株の球菌について種々の生化学的性状を検索し、海洋由来菌株の生化学的活性傾向と海水の biological potential との関係について研究を行っている。いま Anderson の成績に著者らの供試菌を対比させて図示したのが Fig. 2 である。Anderson の分離株はブドウ糖より酸を産生するもの 97.5%、硝酸塩の還元性を有するもの 91% 及び酢酸アンモン培地に発育しないもの 92% など、分離菌株の大部分が同一性を有するに対し、著者の供試菌ではブドウ糖から酸を産生するもの 65.8%、硝酸塩還元性を有するもの 49.8% 酢酸アンモンを利用しないもの 72.1%、その他の性状においてもマンニトより酸を産生するものが若干高率を示す以外に、Anderson の場合のように大多数のものが特定の性状を有する傾向は認められなかった。この両者の相違については検体採取海域の異なることも考えられるが Anderson の場合は北海の一定点からのみ分離を行っている結果と考えられる。

終りに著者らの提案した分類の各 subgroup と既報の主な分類の species 又は subgroup との関係の概略を示すと Table 6 に見られる通りである。

考 察

球菌類特に family Micrococcaceae に関する分類は従来から多数の研究者によって試みられてきたが、現在に至るまで自然界に広く分布するこれらの菌群を十分に整理し得るような方式は考案されていない。特に海洋性球菌を包含してこの問題を検討する場合その感が深い。著者らはまず既報の分類法に準拠して海水由来菌株の分類を試みたがその結果は前述した通りである。

Bergey's Manual (7ed.)⁸⁾ では genus *Staphylococcus* において、*Staph. aureus* 以外の菌をすべて *Staph. epidermidis* に、Hill⁴⁾ は *Staph. saprophyticus* としている。これに対し Baird-Parker⁵⁾ はヒトその他から分離した球菌の分類を試み、*Staph. epidermidis* に species としての均一性が認められないとして、これを 5 つの subgroup に分けている。本実験においても Bergey's Manual に従うと、供試菌の中で genus *Staphylococcus* と分類される菌株の大部分は明らかに *Staph. epidermidis* と性状を異にしその所屬を明確にすることが出来ない。次に genus *Micrococcus* について Bergey's Manual は唯一の窒素源としてのリン酸アンモンの利用性と産生色素などを重視しているが、Gibson¹¹⁾、Evans et al.²⁾ らはリン酸アンモンの利用性を球菌の分類規準に用いることの妥当性について検討した結果、その分類規準としての利用性を否定している。また産生色素については桃色系色素以外のものは分類上の key としての価値は認められないとしている。すなわちこの genus についての Bergey's Manual の分類法から、リン酸アンモンの利用性と色素産生能を除外すると分類法としての価値は全く存在しなくなる。

また Baird-Parker の方法に準拠して供試菌を分類する場合、特定の subgroup に偏在したり、多くの菌株の群別が出来ないような結果となったが、このことはこの分類法が V・P 反応に非常に重点

を置いていること、著者らの供試菌株にマンニトを分解する菌株及び *Micrococcus* に生化学的活性の比較的弱いものが多いことなどに起因すると考えられる。要するに両者の実験における供試菌の由来が根本的に異なるために招来された結果にはかならない。

最近 Evans らが中心となって球菌の分類に関する小委員会が結成され、その第1回の集會²⁷⁾で、(1) genus としては *Staphylococcus* と *Micrococcus* の2属を認め、*Sarcina* は嫌気性菌のみに限定し、好気性を有する八連球菌は *Micrococcus* に編入し、*Staphylococcus* と *Micrococcus* の分別はブドウ糖からの嫌氣的な酸の産生の有無による。(2) ブドウ糖からの酸産生試験用培地として新しい培地を指定し、それを標準培地とする。(3) *Staphylococcus aureus* ROSENBACH, *Staph. epidermidis* (WINSLOW and WINSLOW) EVANS, *Micrococcus luteus* (SCHROETER) COHN, *M. roseus* FLÜGGE 以上4つを species として認めることを提唱している。著者は以上の点につき検討を行ったが、*Sarcina* の形態学的特異性すなわち八連状の立体配列を無視し、これを *Micrococcus* に包含する趣旨は若干の疑義がもたれる。また著者らは Evans らの提示するブドウ糖培地について供試菌株のグルコースからの好氣的及び嫌氣的な酸産生を検査した結果、先に用いた MOF 培地で得られた結果と非常に異った結果が得られた。このことは MOF 培地は特に海洋性球菌用培地として考案されたもので前者の培地とは組成的にも大きな相違があるが、培地の pH が MOF 培地では 7.5~7.8, Evans らの培地は 7.0~7.2 であり、反応指示薬も MOF 培地の P.R. (pH 域 6.8~8.4) に対し Evans らの培地は B.C.P. (5.2~6.8) である。B.C.P. の変色点は P.R. に比べてより酸性域にあり、培地 pH の高い海洋細菌用の指示薬としてはむしろ P.R. の方が好適で、B.C.P. の場合では微量の酸産生は判定しがたい。なおこの点に関する詳細は後報にゆずることとする。次に前記の4 species 中 *Staph. aureus*, *M. roseus* については著者らの結果と一致するが他の2 species についてはなお検討の余地があると考えられる。

著者らは球菌類に対し Fig. 1 に示す如き分類法を創定し、海水由来の球菌を供試してそれらの分類を試みた。しかしながら本分類法も将来 subgroup の統合又は細分などの改善が必要となるかも知れない。例えば genus *Micrococcus* についてみると桃色系色素産生の subgroup J, ブドウ糖から酸を産生しない subgroup H と I, ブドウ糖から酸を産生する subgroup F 及び G と3つの菌群に大別すれば各菌群間に明確な差が認められるが、H と I, F と G 間ではそれほどの相違が認められない。この関係は *Staphylococcus* の subgroup D と E との間でも同様である。なお本実験においては若干の対照菌株を除き、海洋以外の環境から分離した菌を供試していないので海洋由来の菌株と他の環境からの分離菌株との分類上の比較検討は将来に残された問題である。今後さらに多数の海水由来菌株を供試し、その他の環境からの分離菌との比較検討を実施しながら一層の検討を行う所存である。

要 約

北洋及びその他の海域の海水より分離した301株の球菌について、その形態学的並に生化学的諸性状を検討し、これらの菌株の分類学的研究を行った。その結果これらの海水由来の球菌は既報の分類法では分類困難であることがわかったので、別に分類上の key を創定し (Fig. 1 参照)、供試菌株の分類を行った。その結果は次の通りである。

(1) 供試菌301株は *Staphylococcus* (102株), *Micrococcus* (179株), *Sarcina* (20株) の3 genus に分類された。(Fig. 1)

(2) genus *Staphylococcus* はさらに A~E の5つの subgroup に細分された。(Fig. 1. Table 3 及び 4)

(3) genus *Micrococcus* は F~J の 5-subgroup に細分された。(Fig. 1. Table 3 及び 4)

(4) genus *Sarcina* は一応 1-subgroup としたがブドウ糖に対する態度によって 2 群に分けられる可能性もある。(Fig. 1. Table 3 及び 4)

(5) 著者らの創定した分類法によって、供試菌株を検体採取海域及び分離年度別に整理したところ subgroup A を除く subgroup B~K の 10 subgroup にわたり特定の subgroup に極端にかたよる傾向はみられなかった。(Table 5)

終りに本研究の遂行にあたり種々援助を頂いた木村喬久・信濃晴雄両氏に謝意を表す。また菌株を御分与下さった東京大学応用微生物研究所飯塚広教授に感謝する。

文 献

- 1) Shaw, C., Stitt, J. M. & Cowan, S. T. (1951). *J. gen. Microbiol.* **5**, 1010.
- 2) Evans, J. B., Bradford, W. L. & Niven, C. F. (1955). *Int. Bull. Bact. Nomen. Taxon.* **5**, 61.
- 3) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1957). 7th ed., ed. R. S. Breed, E. G. D. Murray & N. R. Smith, 1094 p. Baltimore; Williams & Wilkins.
- 4) Hill, L. R. (1959). *J. gen. Microbiol.* **20**, 277.
- 5) Baird-Parker, A. C. (1963). *J. gen. Microbiol.* **30**, 409.
- 6) ZoBell, C. E. & Upham, H. C. (1944). *Bull. Scripps Inst. Oceanogr. Univ. Calif.* **5**, 239.
- 7) Wood, E. J. E. (1952). *J. gen. Microbiol.* **6**, 205.
- 8) Kriss, A. E. (1959). *Marine Microbiology*. 536 p. Moscow; Izd. Akad. Nauk.
- 9) Anderson, J. I. (1962). *J. appl. Bact.* **25**, 362.
- 10) Cowan, S. T. (1962). *J. appl. Bact.* **25**, 324.
- 11) Abd-el-Malek, Y. & Gibson, T. (1948). *J. Dairy Res.* **15**, 249.
- 12) ZoBell, C. E. (1941). *J. Mar. Res.* **4**, 173.
- 13) ——— (1941). *Ibid.* **4**, 42.
- 14) 微生物学ハンドブック編集委員会編 (1957). 微生物学ハンドブック. 1445p 東京; 技報堂.
- 15) 谷川英一・坂井 稔 (1960). 水産微生物学. 814p. 東京; 恒星社.
- 16) Kovacs, N. (1960). *Nature, Lond.* **178**, 703.
- 17) Leifson, E. (1963). *J. Bact.* **85**, 1183.
- 18) Steel, K. T. (1961). *J. gen. Microbiol.* **25**, 297.
- 19) Eddy, B. P. (1962). *J. appl. Bact.* **25**, 137.
- 20) Clarke, P. H. & Cowan, S. T. (1952). *J. gen. Microbiol.* **6**, 187.
- 21) Campbell, L. L. & Williams, O. B. (1951). *J. gen. Microbiol.* **5**, 894.
- 22) 東京大学伝染病研究所学友会編 (1958). 細菌学実習提要. 511p. 東京; 丸善.
- 23) Skerfving, V. B. D. (1959). *A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria*. Baltimore; Williams and Wilkins.
- 24) 日高富男 (1964). 鹿児島大学水産学部紀要. **12**, 135.
- 25) Pohja, M. S. & Gylienberg, H. G. (1962). *J. appl. Bact.* **25**, 341.
- 26) Baird-Parker, A. C. (1965). *J. gen. Microbiol.* **38**, 363.
- 27) Evans, J. B., et al. (1965). *Int. Bull. Bact. Nomen. Taxon.* **15**, 107.