Keio Associated Repository of Academic resouces

	ory or readering resources
Title	Adansonの思想, Similarity ValueおよびCenter Speciesの概念よりみた微生物の相互関係と分類(第5報) : Halococcus新属の生物学的性状, その推論的性状と実験的性状の一致
Sub Title	Adansonian taxonomy and relationship of micrococcus based on the concepts of similarity value and center species (V): studies on the biological characteristics of genus Halococcus in reference to the correlation of experimental findings and key features induced theoritically.
Author	林, 江澤(Hayashi, Kotaku) 三村, 迪子(Mimura, Michiko) 中部, 裕子(Nakabe, Yūko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1967
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.12 (1967.) ,p.106- 115
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000012-0106

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって 保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Adanson の思想, Similarity Value および Center Species の概念よりみた微生物の相互関係と分類(第 5 報) Halococcus 新属の生物学的性状, その推論的 性状と実験的性状の一致

林 江澤,三村迪子,中部裕子

Adansonian Taxonomy and Relationship of Micrococcus
Based on the Concepts of Similarity Value
and Center Species (V)

Studies on the Biological Characteristics of Genus Halococcus in Reference to the Correlation of Experimental Findings and Key Features Induced Theoritically.

Kohtaku Hayashi, Michiko Mimura,

and Yuko Nakabe

In the previous paper, a new genus Halococcus was speculated from the taxonomysystem of the family Coccaceae, which based on the Adanson's thinking, Sneath's similarity value and author's (Hayashi) concept of center species.

The specific characteristics of the genus Halococcus induced theoritically are as follows: Gram negative, spherical cells, in pair, aerobic, oxidase positive, halophilic or halotolerant, and no acid produced from glucose.

Three new species were isolated from salts fish and their 120 features were tested by the authors.

In this experiment, about $70{\sim}80$ new features were added to those (about $40{\sim}50$ features) described in the former report, concerned with classical Micrococcus denitrificans ATCC 13543, M. halodenitrificans ATCC 13511 and M. cryophilus ATCC 15174. These species were reoriented from genus Micrococcus to Halococcus by the authors.

It was proved that the key features induced theoritically and our experimental findings were perfectly correlated. Thus, it is considered that the taxonomy based on the concepts and methods described above might be reasonakle.

The definition of the genus Halococcus is as follows; Gram negative, spherical cell, occurring singly in pair, in chain and in clusters, never in packets. Aerobic, metachromatic bodies, halophilic or halotolerant, catalase positive, oxidase positive. No acid is produced from glucose and other carbohydrates.

The test for differential characteristics of six species in thegenus Halococcus were as follows; PPA test, KNO_3 reduction, urease, V.P. –reaction, gelatin liquefaction, spontaneous agglutination and red pigmentation.

The nomenclature of three species in the genus Halococcccus isolated by the authors is as follows:

Halococcus acetoinfaciens nov. sp. (strain H7-1)

Halococcus agglomegatus nov. sp. (strain H8-1)

Halococcus non-denitrificans nov. sp. (strain H11-4)

The species reoriented from thegenus Micrococcus to Halococcus should be emended as follows:

Micrococcus denitrificans to Halococcus denitrificans

Microc. halodenitrificans to Hal. halodenitrificans

Microc. cryophilus to Haloc. cryophilus.

I. 緒 論

微生物の分類はその相互関便が明らかにされて始めて可能であり、その相互関係は Adanson¹⁾ の思想を根底とした Sneath^{2,3)} の similarity value による数値的比較により、より客観的となり、さらに著者 (k)⁴⁾ の center species の設定により属、族、科の妥当性が検討されて始めて可能になることを報告してきた^{5,6,7,8)}.

このようにして組み立てられた相互関係にもとずく分類体系の立体的な考察からある空間を占める菌属の推定が可能となりいくつかの特徴的な属性が推定され、これを意識的に自然界より分離することができた。そこで球菌群を統合した球菌科 Coccaceae の Neisserieae 族の中に新属 Halococcus を設定し、本菌属に属する 3 菌種を分難し feature 約 120 の詳細な性状を検べてあるが、Bergey's Manual に記載された諸性状だけでは $40\sim50$ の feature しかなく、しかも主要と考えられる性状の記載がない。本報においては Micrococcus 属より Halococcs 属に編入された Micrococcus denitrificans,M. halodenitrificans,M. cryophilus を ATCC より入手したので、その詳細な実験的な生物学的性状を調べ、その重要なものが果して推論と実際とが一致するかどうか確認するために本実験を行なった。また $40\sim50$ 程度の feature で比較検討した場合でも、より多くの feature についても、その分類学的な位置に変更がないかどうかの検討をも行なった。

II. 実験方法と材料

- 1. Similarity value と RMSV (reciprocal mean similarity value) による center species の選出法は前報と同じ.
- 2. 比較検討に用いられた feature は表に示したごとく 120 である. これらの検査法はすべて常法に従ったので特記すべき点があるときのみ記載する.

III. 実験的成績

表示法: 簡略のためにえられた実験的成績は一覧表にした。 表中太い+または-としてあるのは文献になく今回追加された実験データであることを示す。表示法について若干説明すると次の如し、大きさ $0.6\sim1.5\,\mu$ 欄に (+) があって $0.5\,\mu$ 以下, $1.6\sim2.5\,\mu$ 欄に (-) とあるのはその大きさが $0.6\sim1.5\,\mu$ の範囲内であることを示す。

- 1) Adanson, M: Familles des Plantes vol. 1, Préface pp cliv, et seq. clxii, pp. clxiv Paris; Vincent (1763). Sneath; J. gen. Microbiol, 17, 184~200 (1957). より引用
- 2) Sneath, P.H.A; J. gen. Microbiol. 17, 184~200 (1957).
- 3) Sneath, P.H.A; J. gen. Microbiol. 17, 205~226 (1957).
- 4) 林 江沢; 日細誌, 19, (7) 175~179 (1964).
- 5) 林,小平,馬場,菊地:日細誌,20,(8)528~533 (1965).
- 6) 林, 小平, 菊地, 馬場; 日細誌, 21, (6,7) 336~340 (1966).
- 7) 林,小平,馬場,菊地;日細誌,21,(10)633~638(1966).
- 8) 林, 三村, 中部; 日細誌, 投稿中. (1968).

%07 1 + + 1 + 1 centration) 1 ١ (NaCl-con-Growth nc^* %9I 1 nc ı + %0 + + + 1 + um NaCl concen tration %0I~9 1 1 + + ı 1 %g ~€ + + + 1 + + 1 optimum Growth Optim-Grow-+ + + + + + 6 + $^{\mathrm{hd}}$ ħ 1 1 1 I 8~1 + + + + + tempera-tempera um 1 ١ -9~g J.05t 1 1 1 1 1 (10 sphains) + | + | 1 1 1 1 + 1 J.2~t-31~37°C +-1 $50 \sim 30 \circ C$ 1 + ture + $2 \sim 18 {}_{\circ} C$ 1 genus Halococcus. anaerobic 1 ł 1 ő aerobic + +-+ + + + ++ + Gram stain negative + + + + + positine + 1 + i flattened ì Sadjacent sides Spindle shape ļ 9 species within the $poq\lambda$ + + + + -+-Metacromatic 1 Spore þ Flagella 1 ı Capsule +_ ı l chain Ë. + + + + cjnster + Occuring Features of 1 1 1 **b**sckcet 1 1 ++ + + + + + tetrad + bairs + + + + + + q + + \[gnis + + Koq-spaped cells ರ Ų Table 1. + + + Spherical cells + + + + ч6.5>p + * paverage diameter щ д.S∼8.I 4 6.0 > 4 $6.1 \sim 0.0$ + + -+-+ + + 1 1 1 Hal. nondenitrificans H 11-4 Features halodenitrificans ATCC 13511 Microc. colpogenes Hal. acetoinfaciens H 7-1 Hal. agglomegatus H 8–1 Halococcus H 3-2 M. denitrificans ATCC 13543 Sarcina litoralis M. cryophilus ATCC 15174 morrhuae Species Ŋ. Ä.

nc...no count.

-..negative, d...indicates variable.

···positive,

Note:

-- 108 ---

а		əssbixO	+	+	+	+		+		+		+
		Urease	1	+	1	1	1			1		
	NH ₃ from	pepton (arginine]	1	1	1		l I		1		P I
	$\begin{pmatrix} k \\ k \end{pmatrix}$		1	ı	1	1		1		l		ı
	-	Hemolysis	l	ı	1	1				I	M COLLEGE CONTRACTOR	
	Growth on potato media Lemer media		+	+	+	+		+		ŧ		+
!		Spontaneous agglutination	+	l	+	1		1		1		1
1	growth alkalify coagulation reduction peptonization peptonization odor			 	1	1 1 1	 					
	Litmus-milk		+	+	+	+	+	+	+	+	1	+
ed)	rapidly ylwole		1	l	1	1		<u> </u>	+	+	1	
(continued)		Gelatin liquef	1	1	1					- 914		
	growth in bouil– Ion	clear sediment pedicle	1 1 1		 + 	++	+ +		+	 + 		1 ,
Table 1.	(S11 go 'ë' (S1	slowly (48 I	+	<u></u>	+	. ÷	+	÷	+	i +		<u> </u>
Tal	prs)	42) ylbiqeı	l	I .					-	ì		+
	——————————————————————————————————————	Growth sp		+	1	+		+		+		- <u> </u>
	eq FIJOM	cream or ye or rewrite	!		1	1	1	+	+		+	
	nenta-	Colony pig tion agar	+	+	+	+	+	1	ı	+	1	+
		ymis > teiom teiom	+	+	+	+	+			+		+
		rough forn	+ 	+	1		1	+	1	+	ı	Ī
	racter	Colony cha	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ !
		Heterotrop	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Э	hidqortotuA	1		1	1	1	P	l		1	
	.nir .nir	Tolerance (50°C 30 n	 -	1		1 +		l +1		 		l H
		/				'	es					
	Features		3-2	7-1		11-4	ogen	ns 543	נו	rifice 511	alis	15 174
	Fe	/ x	ns 🤅	ns 7	sna	cus 1	colp	rifica 7 135	rhua	denit	litor	philt C 15
		Species	Halococcus	Halococcus 7–1	Halococcus	Halococcus 11-4	Microc. colpogenes	Midenitrificans ATCC 13543	M. morrhuae	M. halodenitrificans ATCC 13511	Sarcina litoralis	M. cryophilus ATCC 15174

Rhamnose Glucose Fructose Galactose Mannose Lactose Maltose Trehalose Rhaffnose Rhaffnose Cellulose Starch Dextrin Dextrin Inulin Gliceroln Adonitol										
Glucose								. 1		
$ \begin{array}{c c} \text{citate} \\ H_2S \\ \hline + H_2S \\ \hline + XNO_3 \\ \hline + XNO_2 \\ \hline \end{array} $	+	+	+		+ 	+	+	+	+	
methylene blue methylene MR		+	1			 			1	
Reduction	+1	1	+	+		+1		+1		+
Catalase PPA-test	+	+ +	++	+ +	+	+	+	+		- †
Features Species	Halococcus 3-2	Halococcus 7-1	Halococcus 8-1	Halococcus 11-4	Microc. colpogenes	M. denitrificans ATCC 13543	M. morrhuae	M. halodenitrificans +	Sarcina litoralis	M. cryophilus

ပ		lios	nc	nc	nc	nc	+	nc	nc	nc	nc	nc	
•	Habitat	nomise bettes	nc	nc	nc	+	nc	nc	+	nc	nc	nc	
		таскете!-ріке	nc	nc	+	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	
		усуроэ	nc	+	nc	nc	nc	nc	+	nc	nc	nc	
		гея-рьевш	+	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	
:	Pathogenicity	ses water	nc	nc	nc	nc	+	+	+	+	+	nc	
(F		frozen meat	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	
ontinue		non-pathogenic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Table 1. (continued)		pathogenic	I	1	1	1	1	1	1	1	1	<u> </u>	
Table	Methyl glucoside Salicin		-1		ı	l	1	1	1	1		1	
			1	1						1	PR 1900 1 00 00 1	. The seasons it is a second	
		Sorbitol	1	1	ı	1		ı		I		1	
	Features		HalococcusH 3-2	HalococcusH 7-1	HalococcusH 8-1	Halococcus H 11-4	Microc. colpogenes	M. denitrificans ATCC 13543	M. morrhuae	M. halodenitrificans ATCC 13511	Sarcina litoralis	M. cryophilus ATCC 15174	

単在, 四球, でサにる列こ八あ状にのはなを状いがといい。ともを状のとをでしたが、しいないとをでした。とをできるとをできます。

形態: Halococcus は 特にブドウ状を主 体とするが他 の配列は八連 状をもとりう る・

追加された データから判 るように,著 の Halococcus 諸菌種 と同じく,即 類種の記載 されなかった

配列も四連状,レンサ状を示している.

莢膜,鞭毛,胞子はいずれも有しないし,異染小体は,Löffler 培地に NaCl を加える必要ある菌種では加えた培地に培養してから Neisser 法で検べると,著者の分難した菌種と同じく認められる・

Gram 染色: Gram 染色性の表示は、陽性菌の場合は陽性の欄を(+),陰性の欄を(-)とし、逆に陰性菌の場合は、陽性の欄を(-),陰性の欄を(+)と表わす。 Gram 染色性においてはいずれも推論したごとく陰性である。 M. cryophilus のごときは文献では陽性がむしろ多いと記載されているが、すべて陰性であった・

生理学: 5% NaCl 加普通培地に $25\sim37^{\circ}$ C によく増殖できるが、M. cryophilus だけが好塩性、耐塩性がやや異なり低温でないと増殖しない。

生化学: Oxidase 反応については ATCC 3 菌種とも文献に記載はないが推論とよく一致して分離菌種とともに陽性であった.

112 (1967)

PPA 反応は M. denitrificans のみが陰性で,他の 2 菌種 M. holodenitrificans および M. cryophilus は新 3 菌種とともにいずれも陽性である.

炭水化物を分解して酸を作るかどうかについては多数追加して検査したが,これも推論とよく 一致していずれも酸もガスも形成しない.

上述したごとく推論した妥当な性状は、未記載の性状について検査したところではいずれも推論とよく一致した成績をえたし、Gram 染色性や oxidase 反応についてはむしろ推論が正しいことを実験的に確認できた。

同一条件において検べた 120 の features から計算した S-value および RMS-value から著者の分難した Halococcus H 3-2 と H. 8-1 菌種とは 93% の高い S-value を示したので、これは同一菌種と認め H. 3-2 は株となり菌種とは認められない。

表 2 のごとく RMSV からみて Halococcus H 7-1 が center species となり本属に編入された諸菌種と分難した新菌種は $70\sim80$ の features を追加して 120 の多数の features からその S-value を計算しても、その相互の S-value により選出した center species から、属としての妥当性を再検討しても、比較的少い $40\sim50$ 程度の features で比較検討した分類的位置については改編の必要を認めないことが判った。

Sarcina litoralis はやや低い 57% であるが、この菌種については M. morrhuae ととも に ATCC より入手して、もっと詳細に検討の上報告する予定である。

Table 2. Similarity Value and RMSV of 9 species in new genus Halococcus. (sheins)

Species (shains)	Halococcs H 8-1 Halococcs H 11-4 Microc. colpogenes M. denitrificans M. halodenitrificans M. halodenitrificans Sarcina litoralis M. cryophilus Halococcus H3-2	RMSV %
Halococcus H7-1	100 ← Center species	674/9 = 76 581/8 = 73
Halococcs H 8-1	74 100	$652/9 = 72^{\circ} 559/8 = 70$
HalococcsH 11-4	82 79 100	647/9 = 72 563/8 = 70
Microc. colpogenes M. denitrificans	79 78 68 109 . 79 65 73 71 100	608/9=68 534/8=67 606/9=67 535/8=67
M. morrhuae	71 74 71 64 63 100	618/9=69 547/8=68
M. halodenitrificansSarcina litoralisM. cryophilus	68 61 64 64 72 69 100 57 59 52 50 52 77 52 100 71 69 74 60 60 58 59 42 100	571/9=63 509/8=64 498/9=55 411/8=55 568/9=63 493/8=62
Halococcus H3-2	82 93 84 74 71 71 62 57 75 100	669/9=74

Note: Haloc. H 3-2 is identifical with Haloc. H 8-1.

IV. 考察

1) 推論的な features と実験成績との相関関係.

Adanson の思想を根底とした similarity value と center species の方法による分類体系から, さきに推論した features である Gram 陰性, 好気性, 耐塩性, oxidase 反応. glucose その他の炭水化物よりの酸非産性など主要な性状が実験成績とよく一致していることは, 分類方法と思想が合理的であることを示しているように思われる, さらに分類において center species のもつ重要な意義が改めて痛感させられる.

2) Halococcus 属に共通した特徴的性状

上述の実験的性状から導き出した Halococcus 属の特徴となる特異的性状は表 3 のごとし.

Table 3. The specific characteristics of genus Halococcus

- ① Gram negative
- 2 Spherical cellus
- ③ Occurring singly, in pairs, in tetrad, in chains and in clusters, but never in packets.
- 4 Metachromatic bodies.
- (5) Aerobic
- (6) Halophilic, or halotorelance (except M. cryophilus)
- ⑦ Oxidase positive
- 8 Catalase positive
- (9) No acid is produced from glucose and other carbohydrates.

上記 7 性状のうち catalase は好気性菌であるからむしろ当然と考えられるが、特に推論の features としてはとりあげていなかったが、Streptococceae 族は catalase 陰性の点から重要 と考えられるし、また異染小体については始めから推論できなかったが、その他の球状、双球状、好気性、耐塩性、oxidase 反応陽性、glucose より酸非産生の諸性状は始めからの推論 features であり、それがそのまま本属を規定する重要性状となっている・

3) Halococcus 属各菌種の鑑別的性状

本 Halococcus 属について詳細に検べた結果から新しく分難した 3 菌種と既知 3 菌種の鑑別性状は表 4 のごとし.

Table 4. The differential characteristics of the six-species in the genus | Halococcus.

Features Species	РРА	KNO ₃ reduction	Urease	V.P reaction	Gelatin liquefaction	Spontaneous agglutination	Red pigmenta- tion
Haloc. acetoinfaciens (Halococcus H 7-1)	+	+	+	+			
Haloc. agglomegatus (HalococcusH 8-1)	+-	+				+	
Haloc. non-denitrificans (HalococcusH 11-4)	+		-	-			_
Haloc. denitrificans (M. denitrificans)		+					_
Haloc. halodenitrificans (M. halodenitrificans)	+	+			+		
Haloc. cryophilus (M. cryophilus)	+		+			-	

Note: Species-names were described as newly nomenclatured or emended. The classical names were indicated in parentheses.

114 (1967)

特に赤色色素については上記 6 菌種にすべて陰性であるが、本属に編入される従来の Sarcina litoralis および M. morrhuae は特徴的な赤色集落を作るので、恐らく重要な鑑別要点となるものと予想されるので一応記載した。

4) 新菌種の命名と既知菌種の改属

表4のごとく各菌種の特徴として Halococcus H.7-1 と仮称した菌種は Voges-Proskauer 反応が陽性であること, Halococcus H.8-1 菌種は自然凝集性があること, Halococcus H.11-4 菌種は硝酸塩非還元が特徴であるため

Halococcus H. 7-1→ Halococcus acetoinfaciens nov. sp.

Halococcus H. 8-1→ Halococcus agglomegatus nov. sp.

Halococcus H. 11-4→ Halococcus nondenitrificans nov. sp. と命名した.

なお従来の諸菌種である 3 菌種は Micrococcus 属より Halococcus に編入すべきであるために、 Micrococcus denitrificans $を \to Halococcus$ denitrificans に、 Micrococcus halodenitrificans を $\to Halococcus$ halodenitrificans に、 Micrococcus cryophilus $\to Halococcus$ cryophilus と改属する.

V. 結 論

- 1) Adanson の思想を根底とした Sneath の similarity value および著者 (林) の center species の概念に基づく Coccaceae 科の分類体系により Halococcus 属が設定され、下記の features を推論し、これにもとずいて分離された 3 新菌種と Micrococcus 属より本属に編入 された従来の Micrococcus denitrificans ATCC 13543, M. halodenitrificans ATCC 13511, M. cryophilus ATCC 15174 の 3 菌種について、文献記載の性状は 40~50 しかなく、主要 と考えられる多くは記載がないため 70~80 の features を追加実験したところ、さきに推論した主要 features である Gram 陰性、双球状、好気性、oxidase 反応陽性、glucose (炭水化物) より酸非産生、耐塩性、または好塩性などすべて一致した.
 - 2) 従って Halococcus 属の主要な性状として次のごとく定義できる.

Gram 陰性の球菌で主に双球状とブドウ状であるが、単在、レンサ状、 4 連状の配列を示し、 8 連状とはならない。好気性で、 異染小体を認め、 耐塩性または好塩性で、 oxidase, catalase 共に陽性、 glucose をその他の炭水化物を分解して酸とガスを作らない。

- 3) また本属各菌種の鑑別性状の主要なものは PPA 反応, KNO₃ 還元性, urease, V.P. 反応, gelatin 液化能, 自然凝集性, 赤色色素を形成するなどの点で菌種間に相違があるので鑑別要点となる.
- 4) また文献記載の $40\sim50$ の比較的少い features で計算した S-value および RMSV よりの center species を基礎として考察した場合,その features が適当である限り 多数 の計120 の features を追加して再考察しても分類学的位置は依然変わりはないことが判明した。このことは上述の分類体系から推論できかつ殆んど推論と実験とが一致したことでも Adanson の思想と著者らの分類方法とが基本的に現在考えられる最良のものであろうと思われる。
- 5) 今迄仮称してきた Halococcus H. 7-1, H. 8-1 および H. 11-4 の諸菌株は独立した菌種と認められ、それぞれの特徴的性格から Halococcus acetoinfaciens (H. 7-1) nov. sp., Halococcus agglomegatus (H. 8-1) nov. sp. および Halococcus nondenitrificans (H. 11-4) nov. sp. と命名した.

6) また従来 Micrococcus 属に入れられていた次の諸菌種は Halococcus 属に入るべきことが判明したので Micrococcus denitrificans を, Halococcus denitrificans に, Micrococcus halodenitrificans を Haloc. halodenitrificans に, Micrococcus cryophilus を Haloc. cryophilus と改属する方が妥当と考える

謝辞: 恩師秋葉東大名誉数授の御校閲を深謝する. (林).

本報は第40回日本細菌学会 昭和42年3月30日名古屋) において発表した.