網糸の腐蝕に関する微生物学的研究—V. 海洋性 *Cytophaga* 属纖維素分解細菌の分類について

門 田 元

(京都大学農学部水産微生物学研究室)

Microbiological Studies on the Weakening of Fishing Nets—V.

A Taxonomical Study on Marine *Cytophagas*.

Hajime KADOTA

The present study is concerned with the taxonomy of marine cellulose-decomposing bacteria belonging to genus *Cytophaga*.

A large number of crude cultures of marine cellulose-decomposing *Cytophaga* obtained from sea water, bottom mud, or fishing nets submerged in Maizuru Bay, were purely isolated by plating procedure.

These isolated bacteria were differentiated to two species and one variety after detailed taxonomical studies.

Of these, one species and one variety did not appear to have been described previously, the names *Cytophaga rosea* nov. sp. and *Cytophaga haloflava* var. *nonreductans* nov. var. were proposed. The remaining one species was *Cytophaga haloflava* which have already been described by the author in part III.

Characteristics of *Cytophaga rosea* nov. sp. and *Cytophaga haloflava nonreductans* nov. var. were described.

By use of the primary characters listed, a new key to all known species of genus *Cytophaga* has been constructed.

第IV報¹⁾において海水、海底泥土及び海洋中に浸漬した漁網綿糸から分離された多数の *Cytophaga* 属纖維素分解細菌の粗培養を、更に数回乃至十数回纖維素寒天培養基²⁾及び cellobiose 寒天培養基³⁾による混和平板培養⁴⁾を反復して完全に純粋化した後、その形態学的、培養学的ならびに生理学的諸性質を詳細に研究して分類学上の位置を検討した結果、これらは2種、1変種に分けられた。そのうちの1種は第III報に記載した *Cytophaga haloflava*⁵⁾と同一種であり、他は新種及び新変種である事が明かになったのでこれを *Cytophaga rosea* nov. sp. 及び *Cytophaga haloflava* var. *nonreductans* nov. var. と命名した。

なお、既知の海洋性 *Cytophaga* である *Cytophaga krzemieniewskae* 及び *Cytophaga diffluens* 等は本実験において分離されなかつたが、これはそれらが窒素源として無機塩類を利用し得ない事によるためと思われる。

1953年12月16日受理

* cellobiose 寒天培養基の組成は次の如くである。

NaNO ₃	0.5g,	cellobiose	1.0g,
K ₂ HPO ₄	1.0g,	寒天	15.0g,
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5g,	濾過海水	1000.0cc
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01g,	pH	7.2

** 混和平板の製作は第IV報に示した方法に従い、培養基と等量の滅菌海水を添加する事により、平板の寒天濃度が0.7~0.8%になるようにした。

***Cytophaga rosea* nov. sp. 及び *Cytophaga haloflava* vra. *nonereductans* nov. var. の微生物学的諸性質**

上記新細菌の微生物学的諸性質の記載は次の如くである。

Characteristics of the isolated bacteria

***Cytophaga rosea* nov. sp.**

Morphology

Vegetative cells: Long, flexible, singly occurring rods, with rounded ends, 0.3-0.4 by 2-8 microns. Non-flagellate. Creeping motility on solid surfaces. Gram negative. Stain uniformly with GIEMSA's stain.

No fruiting bodies or spores (microcysts) formed.

Cultural and physiological characteristics

Growth on cellulose: In tubes of liquid mineral medium (prepared with sea water) with filter paper partly immersed, growth becomes apparent after 3-4 days (at 25°C) as a pink mucilaginous area on the paper at the air-water interface. The growth area has a tendency to spread upwards, but there is never visible development below water level. The liquid becomes turbid and semi-opaque. The filter paper at water level is gradually completely dissolved and the patches become translucent.

On mineral agar plates (prepared with sea water) containing finely divided precipitated cellulose, pink, thin, glistening, translucent, mucilaginous colonies appear 3-5 after days. Colonies usually form slight depression in agar (etching of agar). Colonies are not surrounded by enzymatic zones of cellulose dissolution; attack on the cellulose takes place only in the immediate neighborhood of organisms.

Broth: No growth.

Sea water broth: No growth.

Glucose broth: No growth.

Sea water glucose broth: No growth.

Gelatin: No growth.

Sea water gelatin: No growth.

Agar plate: No growth.

Sea water agar plate: No growth.

Glucose agar plate: No growth.

Starch agar plate: No growth.

Starch agar plate prepared with sea water: No growth.

Glucose agar plate prepared with sea water: No growth.

Mineral starch agar plate prepared with sea water: No growth.

Mineral glucose agar plate prepared with sea water: No growth.

Mineral agar plate prepared with sea water: No growth.

Mineral glucose agar slant prepared with sea water: No growth.

Mineral cellobiose agar slant prepared with sea water: Faint pink colonies appear around the condensed water after 10 days or more.

Potato: No growth.

Milk: No growth.

Nitrite produced from nitrate in liquid mineral medium (prepared with sea water) with filter paper partly immersed.

NH₃ not formed from pepton in liquid medium (prepared with sea water) with filter paper partly immersed.

Indol not formed from pepton in liquid medium (prepared with sea water) with filter paper partly immersed.

H₂S not formed from pepton in liquid medium (prepared with sea water) with filter paper partly immersed.

Utilizable carbon sources: Cellulose, cellobiose and glucose.

Not utilized: Xylose, arabinose, fructose, mannose, galactose, rhamnose, maltose, trehalose, lactose, sucrose, raffinose, dextrin, starch, inulin, agar, mannitol, inositol, erythritol, glycerol.

Galactose, glucose, mannose, sucrose and lactose (0.1%) do not inhibit the growth on filter paper.

Utilizable nitrogen sources: NaNO₃, NH₄Cl, urea and pepton.

Not utilized: NaNO₂, histidine.

Optimum concentration of NaCl for growth: 3.0%.

No growth in media with salt concentration of 1.0% and 5.0%.

pH range for growth: 7.0—9.0. Optimum pH: 7.2

Temperature range for growth: 20—30°C. Optimum temperature: 25°C.

Thermal death point: 50°C. for 5 minutes.

Aerobic.

Source: Sea water and cotton cords immersed in sea water.

Habitat: sea water.

Cytophaga haloflava var. *nonreductans* nov. var.

Similar to *Cytophaga haloflava* except that nitrite is not formed from nitrate in liquid mineral medium (prepared with sea water) with filter paper partly immersed and nitrite is not utilized.

即ち、*Cytophaga rosea* nov. sp. は *Cytophaga haloflava* に比較的好く似た性質を有するが、その生産する色素が桃橙色である点 (*Cytophaga haloflava* は黄色色素を生産する)、炭素源として trehalose を利用しない点 (*Cytophaga haloflava* はこれを利用する)、窒素源として亜硝酸塩を利用しない点等の重要な諸性質において *Cytophaga haloflava* と明かに区別される。生産色素については本種はむしろ *Cytophaga sensitiva* HUMM⁴⁾ に近いが、炭素源として寒天を利用しない点、其他の重要な二、三の性質においてこれと異っている。

又 *Cytophaga haloflava* var. *nonreductans* nov. var. は硝酸塩を亜硝酸塩に還元しない点及び窒素源として亜硝酸塩を利用しない点において *Cytophaga haloflava* と異なるが他の諸性質は全く同一であるので、これを *Cytophaga haloflava* の一変種と見做した。

Cytophaga haloflava, *Cytophaga haloflava* var. *nonreductans* 及び *Cytophaga rosea* の海洋中における分布状態はほぼ同様で、第IV報に述べた全 *Cytophaga* 属繊維素分解細菌の分布と一致している。

海洋性 *Cytophaga* 属細菌の分類学上の位置について

此所で、*Cytophaga haloflava*, *Cytophaga haloflava* var. *nonreductans* 及び *Cytophaga rosea* を加えて STANIER (1942)⁵⁾, FULLER and NORMAN (1943)⁶⁾, HUMM (1946)⁴⁾ らにより作られた BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology 6th ed. (1948)⁷⁾ 所載の *Cytophaga* 属細菌の分類法の再検討を

みる。

BERGEY's Manual 6th ed. によれば *Cytophaga* 属は、先ず non-halophilic の soil group と obligately halophilic の marine group とに分けられ、soil group は更に有機栄養物利用範囲の広狭により、炭素源として cellulose 及びその加水分解生産物以外の有機物を利用しない A group と cellulose 及びその加水分解生産物の他に starch 其他比較的広い範囲の有機化合物を利用する B group とに区別され、これら A B 両 group はそれぞれ pigmentation の相違により更に Species に迄細分されている。

一方 marine group については、既知の marine *Cytophaga* がいずれも cellulose 及びその加水分解生産物以外に agar 其他の比較的広い範囲の有機化合物をその炭素源として利用する事から、最初から pigmentation のみによつて Species に迄分けられている。

処が、著者が新に分離した *Cytophaga haloflava*, *Cytophaga haloflava* var. *nonreductans* 及び *Cytophaga rosea* は obligately halophilic であり勿論 marine group に入れるべきものであるが、いずれも炭素源として cellulose 及びその加水分解生産物以外の有機化合物を殆ど利用しない有機栄養物利用範囲の狭いものである。即ち、これらは炭素源利用性から見ればむしろ soil group 中の A group に近い。

以上の観点から、著者は marine group も soil group と同様に、先ずこれを炭素源利用範囲の広狭により、A, B 両 group に大別し、次に pigmentation の差異により species に迄細分する方が妥当であろうと考え、次のような分類法を提唱する。

Key to the species of genus *Cytophaga*

I. From soil.

A. Do not utilize starch.

1. Produce yellow pigment on cellulose.

1. *Cytophaga hutchinsonii*.

2. *Cytophaga lutea*.

2. Produces orange pigment on cellulose.

3. *Cytophaga aurantiaca*.

3. Produces pink pigment on cellulose.

4. *Cytophaga rubra*.

4. Produces olive-green pigment on cellulose.

5. *Cytophaga tenuissima*.

B. Utilize starch.

1. Produces yellow to orange pigment on starch.

6. *Cytophaga deprimata*.

2. Produces cream to pale yellow pigment on starch.

7. *Cytophaga albogilva*.

II. From sea water.

A. Do not utilize agar.

1. Produce yellow pigment on cellulose.

8. *Cytophaga haloflava*.

8a. *Cytophaga haloflava* var. *nonreductans*.

2. Produces pink pigment on cellulose.

9. *Cytophaga rosea*.

B. Utilize agar.

1. Produces dark pigment on cellulose.
2. No pigment on cellulose.
3. Produces light orange pigment on cellulose.
10. *Cytophaga krzemieniewskae*.
11. *Cytophaga diffluens*.
12. *Cytophaga sensitiva*.

要 約

第IV報において舞鶴湾の海水、海底泥土及び海洋中に浸漬した漁網綿糸から分離された *Cytophaga* 属繊維素分解細菌の形態学的、培養学的、及び生理学的諸性質を詳細にしらべて、分類学上の位置を検討した結果、それらは *Cytophaga haloflava* と末記録の1新種及び1新変種に分けられる事を確め、この新種及び新変種をそれぞれ *Cytophaga rosea* nov. sp. 及び *Cytophaga ha'oflava* var. *nonreductans* nov. var. と命名した。

次にこれら新しい海洋性 *Cytophaga* 属細菌 *Cytophaga ha'oflava*, *Cytophaga ha'oflava* var. *nonreductans* 及び *Cytophaga rosea* を加えて、*Cytophaga* 属細菌の分類法を本文掲載の如く改訂する事を提唱した。

本研究に当り終始御指導を賜わった木俣正夫教授に深謝する。

なお、本研究費の一部は文部省科学研究費によった。

文 献

- 1) 門田 元：日水会誌，（印刷中）
- 2) 門田 元：日水会誌，**16**，13—70（1951）.
- 3) 門田 元：日水会誌，**19**，476—489（1953）.
- 4) H. J. HUMM: *Duke Univ. Marine Lab. Bull.*, **3**, 45—75（1943）.
- 5) R. Y. STANIER: *Bact. Revs.*, **6**, 143—196（1942）.
- 6) W. H. FULLER and A. G. NORMAN: *Jour. Bact.*, **45**, 565—572（1943）.
- 7) R. S. BREED et al.: "BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology", 6th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore（1948）.