

人工純粹培養液中の發光細菌に関する二三の觀察

高田 英夫、俣 野 稔

發光細菌を人工培養液に培養して、培養液の性質を種々變化し、その變化が發光細菌の發光に及ぼす影響についてしらべた結果を報告する。

(1) 実験の方法

(a) 材 料

実験に用いた細菌は1949年2月明石附近から得たイカから分離し、最初は第1表の組成をもつ寒天培養基上に移植したものをを用いた。この發光細菌はグラム氏染色法には陽性であり、聚落の形状は劃線培養の場合に、周縁は乱糸状、高さは丘状、表面は平滑で、白色を帯びている。生育及び發光共に30°Cまでは正常で31°C附近より微弱となり、40°C以上では、生育、發光共に不能になる。

(b) 發光の強さ及びその示し方

發光はその強度を測定する器械のないため、肉眼による觀察を行つた。実験を行う前に、その強度の示し方を練習し、肉眼觀察により起り得る誤差を少くするようにつとめた。

暗室に入つてから約20分間眼を

ならし測定した。發光度の示し方は試験管の大きさも同じものを用い、培養液を約5ccときめ、これに1白金耳試料を食塩の場合は3%食塩の培養液の母菌より、塩化加里の場合は3%塩化加里の培養液の母菌より移植し、前によく振つて發光の最大であつたものを5とし發光の最も微弱なものを1とし發光不能を0として示した。

第1表 最初培養した培養基の組成

ペプトン	7g
第二磷酸加里 (K ₂ HPO ₄)	1g
硫酸マグネシウム (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	1g
グリセリン	5g
食 塩	30g
寒 天	12g
蒸 溜 水	1000cc
(NaOH.PH7.2とする)	

第2表 移植した日時及びその後の觀察時に於ける暗室内の気温(°C)

(2) 食塩及び塩化加里

の發光に及ぼす影響
上記の組成をもつ培養液の食塩の量を種々變化して見たり、又は食塩のかわりに塩化加里を加えて、その量を種々かえて見ると第3、4表の結果を得た。
第2表はそれらの実験を行つた日時及び移植

試 料 移 植 後 の 時 間	食 塩			塩 化 加 里		
	第1回	第2回	第3回	第1回	第2回	第3回
	30/VI 14 h	5/VII 12 h	8/VII 14 h	4/VII 12 h	8/VII 14 h	11/VII 10 h
0 (移植日)	24.0	21.7	23.0	21.9	23.0	24.0
24 (1日後)	21.8	21.3	23.0	21.9	23.0	24.1
48 (2日後)	22.0	19.9	24.0	21.3	24.0	23.3
72 (3日後)	22.8	22.0	27.0	19.9	27.0	24.6
96 (4日後)	21.8	20.5	24.0	22.0	24.0	25.7
120 (5日後)	21.9	24.0	23.3	20.5	23.3	25.8

又は観察したときの暗室内の気温である。

第3表 種々なる食塩の濃度に於ける発光状況 (PH=7)

(数字の下の—は粒型を示す)

食塩の濃度 (%)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0
移植後の時間																	
24 (1日後)	0	0	0	1.1	2.3	3.9	4.2	<u>3.4</u>	<u>2.4</u>	<u>1.7</u>	<u>1.2</u>	<u>1.1</u>	<u>0.4</u>	0	0	0	0
48 (2日後)	0	0	0	0.9	1.3	3.0	3.2	2.8	2.6	<u>2.7</u>	<u>2.2</u>	<u>1.7</u>	<u>0.8</u>	0	0	0	0
72 (3日後)	0	0	0	0.1	1.0	1.6	2.3	2.4	2.9	2.8	<u>2.7</u>	<u>1.8</u>	<u>0.4</u>	<u>0.5</u>	0	0	0
96 (4日後)	0	0	0	0.1	1.0	1.6	2.3	2.1	2.6	2.6	2.4	<u>2.0</u>	<u>0.9</u>	<u>0.5</u>	0	0	0
120 (5日後)	0	0	0	0.1	0.6	1.0	1.7	1.7	1.9	2.8	2.9	2.4	<u>0.9</u>	<u>0.5</u>	0	0	0

第4表 種々なる塩化加里の濃度に於ける発光状況 (PH=7)

塩化加里の濃度 (%)	1	2	3	4	5	6	7	8
移植後の時間								
24 (1日後)	0	0.2	2.6	3.6	0.2	0	0	0
48 (2日後)	0	0.6	2.7	3.1	0.7	0	0	0
72 (3日後)	0	0.2	2.4	2.2	0.1	0	0	0
96 (4日後)	0	0.2	2.6	1.7	0.7	0.1	0	0
120 (5日後)	0	0.2	2.4	1.7	0.6	0	0	0

この気温がこの細菌の繁殖、発光に最適であるか否かは不明であるが、24時間後には充分発光し、培養液の濁濁は認められた。

さて、食塩については水溶液10%より、8%まで0.5%毎に各濃度につき試験管3本づつ

試料を作り塩化加里では0%より8%まで1%毎に試料を作り120時間後に観察を終了し、夫々3回同じ実験を繰返した。

第3表、第4表の発光の程度の示し方は、例えば食塩3%を(第3表)見ると移植後24時間後に4.2とあるのは、前記の光度段階で第1回実験では、3本の試料について夫々5,5,4,の発光の程度を観察し、第2回では5,5,5,第3回では3,3,3,であつた。故に(5+5+4+5+5+5+3+3+3)÷9=4.2である。9で除したのは毎回3本、3回繰返した、その算術平均をとつた。第3表、第4表より知り得ることは、食塩、塩化加里共に発光する範囲は略相等しく1.5~2%より6~6.5%までであるが、強く発光する範囲は食塩の方が廣く24時間後を比較しても食塩では2%より4.5%まで発光を明瞭に認め得るが、塩化加里では3%と4%以外は発光は微弱である。食塩及び塩化加里共に3~4%が発光最大であるのは海水と略等張であり最適の濃度であると思われる。

食塩と塩化加里の顯著な相違は24時間後には何れも3~4%が最大発光であるに拘らず食塩では時間の経過につれて、最大発光の濃度が高い方に移動するが塩化加里ではこのような傾向

は認められない。即ち食塩では時間の経過と共に3~3.5%のものは発光能力が衰退し4.5%、5.5%は発光能力は増加し、4%はその中間を示す。又食塩の場合に移植後24時間後に培養液中に分散する細菌の発光状態を見ると、3.0%までは普通に分散する型(分散型)であるが3.5%以上は肉眼で数を数え得る程の粒状に集つたコロニー(聚落状)のもの(粒型)がちょうど夜空に星を見るように培養液の上面と底に繁殖し、試験管を振つてもこの粒は破壊されず、明戸では培養液は透明である。この粒(粒型)は時間の経過と共に分散型に次第に移行する(第3表の数字下の—は粒型を示す)。故に粒型は細菌の個体数に比し発光度は弱い。粒型の出る原因は不明であるが、水素イオン濃度は殆んど変化なく、唯食塩の場合に最適濃度より高い濃度に移植された時に粒型を形成し、それが次第に分散型に移行する。その原因は今後の研究により究明したいと思つている。

(33) 水素イオン濃度の発光に及ぼす影響

11表の培養液と、この培養液の食塩のかわりに3%塩化加里を加えた培養液につき、 $\frac{N}{10}$ HCl と $\frac{N}{10}$ NaOH により夫々酸性又は塩基性にした培養液を作り、この発光細菌の発光がどの程度に水素イオン濃度により影響されるかを見たのが第5表、第6表である。

第5表 種々なる水素イオン濃度に於ける発光状況
食塩の場合

移植後の時間 \ PH	1.2	3.0	4.0	5.0	7.0	9.6
24 (1日後)	0	0	0	1.0	4.0	1.5
48 (2日後)	0	0	0	1.9	2.8	2.4
72 (3日後)	0	0	0	1.4	2.5	2.0
96 (4日後)	0	0	0	0.6	1.8	1.6
120 (5日後)	0	0	0	0.6	1.8	1.5

第6表 種々なる水素イオン濃度に於ける発光状況
塩化加里の場合

移植後の時間 \ PH	1.2	3.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.6
24 (1日後)	0	0	0	0.2	1.0	0	0
48 (2日後)	0	0	0	0.7	2.6	0	0
72 (3日後)	0	0	0.1	0.3	2.0	0	0
96 (4日後)	0	0	0.1	0.3	1.8	0	0
120 (5日後)	0	0	0.1	0.2	1.5	0	0

何れも8回の実験の平均値を前述の様にして求めた数値である。即ち食塩を含む培養液ではPH5.0附近より発光が始まり9.6のような可成り高い塩基性にもよく耐え発光する。然るに塩化加里ではPH5.0では発光は極く微弱で、しかも72時間後に認め得る程度であり、PH8.0では既に発光を失つてゐる。即ちこの場合も塩化加里の方が発光する範囲はせまい。尙この実験でも実験の最初と最後に於いて各試験管とも培養液の水素イオン濃度についての変化は試験紙法では認めることは出来ない程度であつた。

即ち細菌自身の物質代謝によりある閉じこめられた試験管培養液内に於いて水素イオン濃度の変化は殆んど起つていないと思われる。

この際前述の粒状型は見られなかつたから、粒型の形成は食塩の濃度の高いときに水素イオン濃度とは関係なく行われる。