石器時代貝塚中の細菌に就いて

小 片 保

I 緒 言

地質時代の細菌の遺存については 1879 年 VAN TIEGHEM がフランスの石炭系中の珪化された植物の遺残に細菌の痕跡を発見したのを初めとし、1896 年に上部 デボン紀の地層中から *Micrococcus devonicus* が見出された。1914 年に Dr. CHARLES D. WALCOTT は北米の前カンブリサ紀アルゴンキアンの石灰岩中から *Micrococcus* を検出し、次いで RENAULT, TRIEPEL, SONDERS は Roux 氏管が地質時代以降新石器時代に至る古頭蓋にも見出されること及びこれと現代の細菌による病變との比較を行つてゐる。余は昨年明石市外西八木海岸で前期最新統の一部について細菌検査を試みたことがある。

石器時代遺跡に就いては勝沼六郎が愛知縣吉胡貝塚に於て一有芽胞菌を分離したのを初めとし、氏は更にその性状、進んで抗菌性物質の研究にまで發展した。然し貝塚中に於ける細菌の層位的分布その他に就いてや、詳細に調査された前例はない。余は長谷部教授の勧めに従い、茨城縣陸平、千葉縣姥山及び東京都宮城内舊本丸などの縄文土器を伴う貝塚三箇所を選び、貝塚の各層位から兩殻完全に接合する貝及び土壌を採集し東大醫學部細菌學教室で菌の分離培養を試み、約 250 株を得た。之等の中には同一性状のものが多く、52 菌種に要約される。尙本研究は専ら東大醫學部細菌學教室で主任秋葉教授の指導下に行われた。

II 實驗材料及び方法

(1) 諸貝塚の發掘個所の概況——a. 陸平貝塚(1948 年 10 月 13 日採收) 實驗材料は先般東大理學部人類學教室員が發掘した地點の東端より更に東へ 5 米掘り進めた個所の斷面で採集した。この部分の表土は殆んど無く貝殻が散亂し古くから桑が栽培してあるが至つて發育不良である。凡そ貝層及び間層は 9 度の傾斜をもつて北々東の谷に流れ、表面に近く厚さ 175 匁の混土貝層(加曾利 E 式土器を伴う)次いで傾斜度やゝ強き純貝層(加曾利 E 式)となる。後者の厚さは 40 匁で、その下方は更に厚さ 105 匁の混土貝層(阿玉臺式)があつて初めて粘土層に達する。即ち地表から粘土層に至る迄の深さは 320 匁である。之を陸平 A 地點とする。他の地點は野菜が栽培されてある平坦な畑地で表土 25 匁、混土貝層 50 匁、次いで可成り保存状態の悪い厚さ 42 匁の純貝層があつて、再び混土貝層となる。後者の深さは不明である。主として堀ノ内式土器を伴う。之を陸平 B 地點とする。

b. 姥山貝塚(1948 年 11 月 15 日採收) 東大人類學教室發掘中、當該地點の西側斷面から材料を採集した。貝層の保存不良で純貝層と云うべきものは認められない。佳居跡の床面までの深さ 100 匁で全貝層には堀ノ内式土器を包含するが、床面には加曾利 B 式が附着する。

c. 宮城内舊本丸西貝塚(1949 年 5 月 18 日採收) 東大人類學教室發掘中その地點の北々東隅の斷面で採集した。地表よりの深さ 180 匁の邊であるが、ここは嘗つて切り取られて廢物を投込んで埋められた場所であり、これ等を取除いて、手のつかない斷面を出したのであるが、當時の斷面より掘り進めた時期であつた。

(2) 材料採收方法——發掘断面から更に約 10~50 糎掘込み、外界の影響を可及的少ない個所で出来るだけ完全に喰ひ合わされて左右の殻の間に間隙のない合わせ貝を選んで無菌的に採り、之を滅菌紙に包み運搬の途中殻の移動しない様に注意して持ち歸つた。土壤も同様掘り込んだ個所から採り、滅菌試験管中に無菌的に封入した。

(3) 材料採收層位——各貝塚共に完全な合わせ貝を目指して採集個所を選んだ爲め、一定の深さに区分した層位毎に之等を採集することが出来ない。土壤についても同様である。

a. 陸平A地點

1. 貝 (好氣性細菌培養に用う)

深さ(糎)	貝 層	貝 の 種 類	個數	内 部 の 状 態
40	混土貝層	サルボウ <i>Anadara subcrenata</i> LISCHE	1	僅かに土を含む濕潤
100	同 上	ハイガイ <i>Anadara granosa</i> LINNÉ	1	同 上
155	同 上	オキシジミ <i>Cyclina sinensis</i> Gmelin	1	多量の土を含む濕潤
250	純貝層	サルボウ	4	殆んど土を含まず濕潤
300	混土貝層	ハマグリ <i>Meretrix</i> LINNÉ	2	同 上

2. 貝 (嫌氣性細菌培養に用う)

深さ(糎)	貝 層	貝 の 種 類	個數	内 部 の 状 態
60	混土貝層	サルボウ	1	多量の土を含む濕潤
80	同 上	サルボウ	1	殆んど土を含まず濕潤
110	同 上	ハマグリ	1	同 上
135	同 上	アサリ <i>Paphia philippinarum</i> ADAMS ET REEVE	1	同 上
210	純貝層	サルボウ	2	同 上
280	混土貝層	サルボウ	1	同 上

3. 土壤 (好嫌氣性細菌兩者の培養に用う)

深さ(糎)	貝 層	状 態
20	混 土 貝 層	腐蝕土及び貝の破片 濕潤
100	同 上	同 上
160	同 上	同 上
210	純 貝 層	腐蝕土少量及び貝の破片 濕潤
300	混 土 貝 層	腐蝕土及び貝の破片 水分稍多
320	粘 土 層	粘 土 水分多量

b. 陸平B地點

1. 貝 (好嫌氣性細菌兩者の培養に用う)

深さ(糎)	貝 層	貝 の 種 類	個數	内 部 の 状 態
200	混 土 貝 層	サルボウ	2	少量の土を含む濕潤

2. 土壤 (好嫌氣性細菌兩者の培養に用う)

深さ(糎)	貝 層	状 態
200	混 土 貝 層	腐蝕土及び貝の破片 濕潤

c. 姥 山

1. 貝 (好嫌氣性細菌兩者の培養に用う)

深さ(糎)	貝 層	貝 の 種 類	個數	内 部 の 状 態
15	混 土 貝 層	サルボウ	1	僅かに土を含む濕潤
30	同 上	ハイガイ	1	同 上

50	同	上	ハ イ ガ イ	1	同	上
60	同	上	ハ イ ガ イ	1	多量の土を含む乾燥	
65	同	上	ハ イ ガ イ	1	僅かに土を含む乾燥	
66	同	上	ハ イ ガ イ	1	同	上

2. 土壤 (好嫌気性細菌兩者の培養に用う)

深さ(貝)	貝	層	状	態
表 土	混 土	貝 層	腐蝕土及び貝の破片を含む乾燥	
20	同	土	同	上
30	同	上	同	上
50	同	上	同	上
60	同	上	同	上
80	同	上	同	上

d. 宮 城

貝

深さ(糞)	貝	層	貝 の 種 類	個數	内 部 の 状 態
180	純 貝	層	オ キ シ ジ ミ	4	僅かに土を含む乾燥

(4) 培養方法

完全に合わさつた貝を取り、外側の土の落ち込まぬ様に注意して口を開き、左右殻の内面を滅菌生理的食鹽水1蚝にて充分に洗い、ピペットの先で内面を搔きさらう。土壤は約1瓦をとり滅菌生理的食鹽水1蚝に混じ攪拌する。

a. 好気性培養

かくしたものを各貝殻及び各土壤毎に三枚の普通寒天平板 (pH 7.0) に白金耳にて充分塗布し、37°C 孵卵器中で 48 時間培養し、各平板より形状の異なる菌集落を拾いこれを純粹培養す。

b. 嫌気性培養

0.5 蚝を肝片加肝臓ブイヨン中に入れ、上層に流動パラフィンを流し空気を遮断し 37°C で 72 時間培養の後、之を葡萄糖血液寒天平板上に充分に塗布し、乾燥器中で水素ガスト置換し、37°C で 72 時間培養し、各平板より菌集落を拾う。

c. 好嫌気性培養

チオグリコール酸増地中に 0.5 蚝混和し、之を 37°C、48 時間培養の後 a, b の如くして分離培養す。

d. 菌數計算

貝の兩内面をブイヨン1蚝にて充分洗い、9蚝のブイヨン中に入れ、葡萄糖寒天中に混和し、之を平板に流し、37°C、24 時間培養、その集落を計算する。

(註) 普通寒天上で増殖し得ない *Neisseriaceae*, *Hemophileae*, *Lactobacteriaceae* その他の菌の分離は除外したことになる。

(5) 菌種名決定方法

純粹培養した各菌種について形態、大きさ、排列、グラム染色、芽胞、運動、普通寒天上、葡萄糖寒天上、正酪酸カルシウム寒天上、ブイヨン増地中、馬鈴薯増地上等の菌の性狀、インドール反應、硫化水素發生、メチル赤反應、Voges Proskauer 氏反應、中性紅還元、硝酸鹽還元、カタラーゼ反應、ツエルローゼ分解、糖分解 (葡萄糖、乳糖、蔗糖、マンニツ

a. 陸 平 A 地 點

No.				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
菌 種 番 號				K1	K21	K23	K8	K6	K5	K30	K14	K17	K2	K38	K34	K36	Pa ₁₋₂	K10	K3	Pa ₂₋₁	P6	P13	B1	B40
菌 種 名				<i>Micrococcus aurantiacus</i>	<i>M. varians</i>	<i>M. cereus</i>	<i>M. pilosus</i>	<i>M. eatonii</i>	<i>M. ridleyi</i>	<i>M. microfaciens</i>	<i>M. subflavescens</i>	<i>M. fluvus</i>	<i>M. peritremis</i>	<i>M. cinabareus</i>	<i>M. freudenreichii</i>	<i>M. candidus</i>	<i>M. ureae</i>	<i>M. halophilus</i>	<i>Staphylococcus albus</i>	<i>Gafllya tetragenae</i>	<i>Aerobacter aerogenes</i>	<i>Achromobacter liquefaciens</i>	<i>A. delticulatum</i>	<i>A. pristifer</i>
No.	深サ (O)	貝 層	菌檢出 材 料																					
1	20	混土貝層	土 壤										+						+				+	
2	40	同 上	貝	+	+	+	+								+	+			+					
3	60	同 上	貝																					
4	100	同 上	貝	+			+						+						+	+				
5	100	同 上	土 壤	+						+			+											
6	155	同 上	貝				+						+						+					
7	160	同 上	土 壤				+			+				+					+					
8	200	純貝層	土 壤																					
9	210	同 上	貝																					
10	300	混土貝層	貝																					
11	300	同 上	土 壤										+	+		+								
12	320	粘土層	粘 土																					

b. 陸 平 B 地 點

1	200	混土貝層	貝	+						+														
2	200	同 上	土 壤				+	+																

c. 姥 山

1	0	表 土	土 壤						+										+					
2	15	混土貝層	貝							+									+					+
3	20	同 上	土 壤							+									+					
4	30	同 上	貝																+					
5	30	同 上	土 壤																+					
6	50	同 上	土 壤																+					
7	55	同 上	貝																+					
8	60	同 上	貝							+														
9	60	同 上	土 壤							+									+					+
10	65	同 上	貝				+					+				+			+					
11	66	同 上	貝							+					+				+					
12	80	同 上	土 壤																					

d. 宮 城

1	180	純貝層	貝															⊕		⊕	+	+		
---	-----	-----	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---	--	---	---	---	--	--

備考：+ハ嫌氣性培養ニテ檢出シタ菌種、他ハ好氣性培養ニヨリ得タモノ

[illegible]

ト、ラフィノーゼ、ザリチン、イヌリン)等の有無、即ち状態、生物學的性状を觀察し、Bergey's Manual of determinative Bacteriology に従つて同定を試みた。各菌種の性状は別表の通りである。

Ⅲ 結 果

三貝塚より分離した菌株は約 250 で、各々の性状より 52 菌種となつた。

その各地各層に於ける分布は表の通りである。37 *B. megatherium* の一種とは性状は全く *B. megatherium* に同一であるが寒天斜面上で下部に僅かに紫色の色素を産生する菌種である。この表で陸平A地點で深さ 60 糎、80 糎、110 糎、135 糎、240 糎、280 糎の貝では嫌氣性培養を行つた所、深さ 60 糎の貝のみに菌を培養し得た。又土壌中には嫌氣性菌を培養し得ない。同地點深さ 200 糎純貝層土壌中、210 糎貝中、300 糎混土貝層中の貝の中では、普通寒天平板上に何等菌集落を認めず、肝片加肝臓ブイヨン、チオグルコール酸培地中に菌の増殖を認めなかつた。同B地點、深さ 200 糎混土貝層土壌、貝中には嫌氣性菌を検出しなかつた。姥山では混土貝層深さ 50 糎土壌中、55 糎貝中では嫌氣性菌を分離したが、それより浅、深部には全然検出しなかつた。各貝塚で分離した嫌氣性菌はすべて通性嫌氣性菌である。

宮城より採收した貝二個をとり菌數計算を行つた。

貝 名	高さ(糎)	幅(糎)	厚さ(糎)	内 部 の 状 態	菌 數
ハイガイ	3.8	4.4	3.75	僅かに土を含み濕潤	235
オキシジミ	4.9	4.6	3.05	多量の土を含み濕潤	330

Ⅳ 考 察

一般土壌の微生物に關しては農學者によつて古くから研究されている。即ち最初 1882 年に PROSKAUER が地中の深さによつて次第に細菌數が減少することを認めて以來諸家が色々の見地から深さと細菌數について研究している。REIMERS によれば石の多い土地では深さ 6 呎で無菌となり、牧場ではその状態を異にする。STOKLASA (1905) によると 100 糎で無菌になる。CHESTER (1905) によると濕地では深さ 4~6 呎まで増し、26 呎で減少する。WAKSMAN によれば 30 呎で殆んど無菌になる。アリゾナの pH 8.6~9.0 の不毛の地では 13 呎でも可成りの細菌を見出し、24 呎では 52% は放射狀菌であるなどという。

貝塚の一般性状として pH は可成り高く陸平では不明であるが、姥山では深さ 60 糎では 8.05, 80 糎では 8.14, 宮城では材料採收個所で 8.15 で、土壌は瘦せ、陸平A地點の如く最深部 320 糎でも細菌を検出し得た。全部については貝の中の菌數計算は行わなかつたが、概觀的には全貝塚を通じて浅部に多く、深部に及ぶに従つて次第にその數が減少して行くのを見た。殊に陸平A地點に於て著明である。貝塚はその含まれている貝殻の爲めに、土壌が著しく粗く、雨水の侵入は可成りの深さにまで及んでいる。又虫類が侵入した形跡が認められることの多いことは發掘時に屢々經驗するところである。故に檢出された菌が 5, 6, 37 等の如き比較的珍らしい種類を除けば普通何處でも見出される一般土壌菌だけであるのも當然と云える。

これら細菌、殊に有芽胞菌が石器時代人が貝塚を營んでいた頃のものが固く閉した貝の中に封じられて、今回余の培養基上で營養が與えられた爲に急に發芽し始めたものであるかどうか問題の中心であるが、合わせ貝の中に無芽肥菌の發見されること、この中の細菌分布

が周囲の土壌のそれと大差ないこと、及び最も注意すべきは陸平A地點に於ける純貝層中及び純貝層下混土貝層中の合わせ貝中では全く無菌であること等の事實によつて當時のものであることが推論し得る。勿論姥山の如き浅い貝塚、宮城の如き特殊状況の貝塚では外界の影響が大いに考えられる故問題にならない。たとえ之を取り上げて新菌種を発見したと稱してもこれは土壌菌の新菌種が侵入したのか、石器時代のものであるかは断定することは出来ない。之を断定するには多数の材料と多くの貝塚を網羅した研究が必要であらう。余の材料は限られた部分の限られた貝の個数によつたもので更に廣範圍に採集すればあるいは純貝層中の貝の中にも細菌を見出すかも知れない。例数は少ないが貝の中の土壌の多いもの程菌数が多い様である。陸平A地點の純貝層中の土壌中には何等細菌を見出さなかつた。これは純貝層中の土壌は量が極めて少く且つ斷續的で貝の破片が多いため細菌の發育には不適當なるためであらう。然しその下部の混土貝層中には可成りの数の細菌を見出した。地上から浸透する雨水が空隙に富む純貝層を早く通過するため、却つて純貝層中の土壌は無菌になり、これに反して水の透過力の少ない粘土層に近づくにつれて水分が此處に溜るので細菌数も多くなるのであらう。又純貝層下混土貝層中の貝の内面が無菌であることは、その周囲の土壌の量と地表からの深さによる物理的條件によつて、その中に含まれる土壌の量の少ないことによるのであらう。完全に閉じているように見える貝の内面に條線狀の土の附着があつて、土の流入した形跡が歴然たることは本調査の經過中屢々經驗したことである。

關東地方の貝塚三個所に於て、菌の種類が大體同一であることは、土壌菌の分布が略同一であることを示す。

V 結 論

關東地方の三貝塚四地點に於ける合わせ貝及び土壌中の細菌分布を検査し次のやうな結論を得た。

1. 貝塚では 320 厘以上の深さにも細菌が浸透して生存している。
2. 合わせ貝の土壌が多い程細菌数が多い。
3. 貝塚の細菌は一般土壌と略同様の種類であつて格別特別な菌種を発見し得ない。
4. 陸平A地點に於ては、地表下 240 厘以下たる純貝層及び純貝層下混土貝層中の合わせ貝の中には細菌を認めない。然し後者の土壌中にはなお種々の細菌が認められる。
5. 合わせ貝中に土壌の含まれているものは如何に密着した合わせ貝でも土壌の流入した跡が見える。故に周囲の土壌から細菌の潛入することも甚だ可能であると云うべきである。
6. 貝塚に於いては嫌氣性培養で檢出されるものは全部通性嫌氣性菌で比較的浅い部分に見出される。

7. 姥山、宮城兩貝塚は細菌の分布を研究するには不適當な地點であつた。

8. 合わせ貝中の細菌が石器時代人の貝塚を營んでいた頃封じ込まれ、現在まで生存し得たかどうかといふ問題については以上の事實から少くともその生存の持續を實證するは不可能であり、特殊な事情あることを明にしないかぎり之を肯定し得る途はない。

稿を終るにのぞみ、日々御指導御鞭撻を賜つた東大醫學部微菌學教室主任秋葉教授に深甚の謝意を表す、併せて同教室桑原、岩田、梅原、同生化學教室松村、同農學部土壤學教室高井、同理學部人類學教室酒詰、渡邊(直)、渡邊(仁)、寺門の諸氏が屢々有益な助力と助言を與えられたことは感謝に堪えないところである。

文 献

1. 板野新夫：土壤微生物學 1947.
2. 勝沼六郎、東村道雄：1949 石器時代貝塚から分離した一有芽胞土壤菌（余等の所謂吉胡菌）の生産する抗菌性物質の研究第一報、ペニシリン Vol, 11 No. 5.
3. 石澤修一：1949 近年に於ける土壤微生物の問題、農學 Vol. 3. No. 2.
4. 住江金之：農學細菌學 1942.
5. MOODIE, R. L: Paleopathology 1923.
6. BERGEY, D. H: Bergey's Manual of determinative Bacteriology 1939.
7. DUBOS, R. J: 1939, Studies on a bactericidal agent extracted from a soil. The Journal of experimental Medicine 1939.
8. TOPLEY and WILSON: The principles of Bacteriology and Immunity 1937.

（東京大學理學部人類學教室）

The Bacteria in the Neolithic Shellmounds

TAMOTSU OGATA

Since VAN TIEGHEM found bacteria in fossils of plants in the year of 1879, many students found various bacteria of geological ages. The author also tried last year a bacteriological research of the Lower Pleistocene deposit of Nishiyagi beach in the suburbs of Akashi City. R. Katsunuma once found a sporforming *Bacillus* in Yoshiko shellmound with Jomonpottery. The author tried detailed bacteriological researches in various layers in three neolithic shellmounds with Jomonpottery in Kanto district, Okadaira in Ibaragi, Ubayama in Chiba Pref. and Kyu-Honmaru in the Imperial Palace in Tokyo. Some completely closed shells and mud were sampled from various layers by aseptic method, and aerobic bacteria were cultivated with normal agar medium (pH 7.0), anaerobic with glucose blood agar and both aerobic and anaerobic with thioglycolacidmedium. The species of bacteria were 52, and except for a few curious species the rest were identified to be common soil bacteria; 14 Micrococci, 1 *Staphylococcus*, 1 *Gaffkya*, 1 *Aerobacter*, 8 *Achromobacters*, 1 *Flavobacterium*, 24 *Bacillen* and 2 *Clostridia*. But the numbers of bacteria in shells are obscure except for two found in the Imperial Palace, that is the one 235 and the other 330. The more mud in completely closed shells increases in amount, the more numbers of bacteria increase. Anaerobic bacteria were all facultative. In shellmound bacteria live even in the depth of 370 cm, and the species do not vary by the depth of the soil. However hard the shells are closed, some quantity of mud was found only in relatively shallower part. Ubayama shellmound is too shallow to research the bacteria in the shell, and Kyu-Honmaru had been partly put out of order. Even if new species were found in Ubayama and Kyu-Honmaru, we could not define them those of the neolithic age. Neither in the mud and shells of the scarcely muddled shell layer of Okadaira A Point, nor in the shells of the underlying mud containing shell layer, there could be found any bacteria. Those shells which contained no bacteria did not contain much mud either. According to the stated fact, the author concluded that no sporforming bacteria of neolithic age could survive in Japan.