穀類貯藏中に發育する *Penicillium* 屬一種の 毒性に關する研究

Studies on a poisonous substance produced on the Cereals
by a *Penicillium* sp. under the storage.

食糧廳食糧研究所貯藏部病菌研究室 角 田 廣 (H. Tunoda)

1. 緒言 日本人の主要食糧たる米、麥、玉蜀黍等に各種の微生物が寄生發育することは今までの報告で良く知る所なるが、之等の微生物を取り出し利用せられて居ることは吾人の良く知る所なり、然るに穀類貯藏中に發育する微生物の人類に對する經口的毒性に關しては報告非常に少なく、特に *Aspergillaceae* 中の *Penicillium* 屬のものは通常毒性なしと云はれて居るを以て研究を願る者少なく、昭和 15 年 3 月米穀利用研究所報告第一號、死物寄生菌により貯藏米穀の毒素生成に關する研究と題して三宅市郎教授以下三名により *Penicillium toxicarium*, Miyake の毒素生成を報告したり。

近時配給の主要食糧より種々原因不明の中毒を出したるは新聞等により明かなり、余は穀類貯藏中の有機的變質が重大なる役割を有して居る被害微生物の一種たる *Penicillium* 屬の毒性に關して少しく研究を進めたり。

現今まで有毒と稱せられる菌には毒麥 *Lolium temulentum*, L. を始めとして麥角病菌 *Claviceps purpurea*, Tul., 小麥の腥黑奴病菌, *Tilletia tritici*, wint., 小麥の赤黴病菌 *Gibberella saubinetii*, (Mout.) Sacc. 等なるも之等は何れも收穫前の寄生にして收穫後貯藏期間中に有毒物質を生成する菌は *Penicillium toxicarium* 一種を報告せられているのみ。勿論經口的にして注射に於ては多々あるを信ず。之の菌の生成する毒素は $C_{27}H_{36}O_7$ にして N を含有せず、毒素は黃金色～日本酒色の螢光を認め得、動物に對しては有毒なるを東大醫科、浦口、鳥飼兩博士により醫學的に證明せられたり。

終戦後穀類の乾燥不充分なるものを供出し、其の變質も非常に多く、亦食糧不足より輸入増大して居る今日、微生物に因る變質を放任する事あたはず、余は貯藏穀類に寄生する微生物中人類に毒性なきものは後に至り研究を進め、差當り人類に毒性を表はす菌類に就きて研究を進め、其の結果を記して皆様の御參考に供し然るに不完全なる所多々あるを信じ後に至り補足する機あるを信ず。

2. 本菌の分布 a 最初輸入のエジプト米昭和 23 年 10 月頃入手の中に黄～黄褐色に變色せし米粒多數混入せるを認め之の變質米は黄變米菌と思ひ、菌の分離培養を行いしが黄變米菌の被害でなくして一種の *Penicillium* の病徴である事を認めたり。之れが有毒性に就きて動物

試験を行いしが非常に有毒で特に肝臓に作用することを知り本菌の分布を検したり。

b. 昭和 23 年 12 月頃輸入の玉蜀黍粉の變質の主體が本菌なるを認めたり。

c. 昭和 24 年 6 月農林省食糧廳の玉蜀黍粉貯藏試験を行ひし際微生物の調査を行ひしが本菌を分離し其の數少なからず。

d. 昭和 24 年 7 月頃早稻田方面に配給の壓片麥を食して一家皆な下痢をしたと云う所より當室に來參せしものに就き本菌を分離せしが粒數%にして 30% 本菌の寄生せるを認めたり。併し下痢の原因に關しては不明なり。

e. 内地産米に就きては調査なきも昭和 25 年 6 月神奈川県食糧事務所管内の黃變米類似の病變米も本菌の一病徴なるを認め其の被害少なからず、内地米にも廣く分布するものの如し、世界的には日本、エジプト、泰國、米國、ビルマに存在する事は輸入穀類中より分離に成功して居る所より明かなりと云うべし。

3. 本菌の分離培養及び接種試験 a. 最初本菌の分離に使用したるものは昭和 23 年 10 月頃エジプトより輸入せし米にして、當研究所の依頼分析室渡邊長男氏の分析用米にして變色米多數混入する所より菌の分離に取り掛れり。

分離の方法は白米なるが爲め胚乳内に侵入せる菌を取り出す目的を以て被害米と認め得る黃～黃褐色米を麴汁寒天培養基上に置き 25°C を保ちたるに分離に取り掛れる 10 個共に本菌の發育を認め、本菌が充分に孢子を形成するまで放置し、綠色の孢子を形成せる時に滅菌水にて稀釋し、流込培養を以て本菌並びに他の菌を分離せり、その時に分離せし菌は *Aspergillus* 1 種, *Mucor* 1 種, *Penicillium* 2 種, *Bacteria* 1 種を分離し、之の各々の毒性を検せり。分離せる四種の微生物を各々殺菌せる玄米に接種し、接種後一ヶ月にて Methanol にて抽出し、Methanol を除去し、白鼠に注射をなし毒性を検し後に飼育試験にて經口的毒性を検したるに之の内赤色色素を培養基中に溶出する *Penicillium* が有毒なるを知り研究を進めたり。之の毒性を有する菌の特徴は麴汁寒天上で最初は白色短羊毛狀より黃褐色の絨氈狀となり後、濃青綠色ピロード狀の菌叢となれり。培養基は淡赤色より濃赤色に汚染し、幾分紫色を帶ぶ。其の赤色色素は培養基中で不定形に凝固せり。

b. 接種試験 新潟、農一、二等の玄米 150 gr を 200 cc 三角フラスコに入れ、水 10cc を加へ良く攪拌し、水分を一樣に吸収せしめ綿栓後 10 ポンド 15 分間の殺菌を行い、冷却後本菌を接種し、25°C 定溫器内に置きしが十日後には自然にある病米と同一病徴を表わし、白米とせしが胚乳部まで染色せられ美しく淡きものは黄色を呈し、濃きものは黃褐色を呈す、同一病原體なるを認めたり。

4. 本病米の病徴 a. 肉眼的觀察 自然にあるものは黃變米と誤認し易く、ただ黃變米より褐色味を帶べる所を異にす、今次にエジプト、泰國産の白米の病徴を記せば、一般に胚が濃

色 (Light orange) にして米頭部に淡色となり、胚は全部脱落するものと一部存在するものありて、Orange brown~Brown orange 色をなしたる所より自然にある罹病米は胚部より本菌の侵入を受けたものと思はる、米粒條線部が濃色にして條線間は淡色のもの多し。

病徴の最も進みたるものは、米尻部の變質甚しき爲めか搗精時に粉碎せられ中央部より胚部にかけて脱落して居るもの多し、それは米粒全部が暗 Light orange 色を呈せり。病米の色澤に就きては濃色のものより順次に示めせばBrown orange, Yellowish orange~Ochre~Orange brown~Light orange~Cream color の順に淡色となれり。

b. 接種玄米の病徴 接種試験の所で述べる如き方法にして健全玄米に接種して其の病徴を観察せば無疵の玄米の場合米粒が無疵にして本菌の侵入條件悪き時は胚の前後部即ち發芽及び發根すべき所の表皮は非常に薄きため之の部を菌系に因り破壊し胚に侵入す。胚は菌系により占領せられ侵入せし部より短かき擔子梗を出し濃色の Gray blue 色の分生孢子を盛り上り着生す。其の侵入部位即ち胚の周邊吸收層より胚乳にかけては始めの内肌擦狀をなし、色はCream color に近く、病徴が進むにつれ Orange~Brown orange 色となる。玄米に疵部多き場合は、必ず疵部より侵入して最初肌擦を生じ、疵部の周邊を少しく持上げ疵の切目より擔子梗を出し、前同様色の分生孢子を着生す。其の他の病徴は前と大差なし。

c. 顯微鏡的觀察 前接種玄米を薄片となし各部を顯微鏡にて檢すれば無疵にして胚の前後方より侵入せしものは最初胚子の前方即ち子葉と胚宮との間隙を菌系により占領し、子根の後方空室を同様占領して後細胞間隙を通過して菌系は吸收層に至り、後中間膜及び細胞間隙を通つて胚乳中に侵入す。菌糸は培養中に於けるより變形し、節間短きもの多し。侵入せし部より外方に短き擔子梗を出し、其の上に多數の團子狀分生孢子を着生す。菌系は最初無色に近きも後に至り黃褐色圓形~不定形の色素及び毒素を成生す、之の色素が組織に滲透し、組織全體を黃~黃褐色に染色す分生孢子は最初無色に近きも、後に至り褐色味を帶べる暗綠色となれり。

疵部より侵入せるものにありては最初糊粉粒層に侵入し、此處に多數の菌系を發育せしめ、疵の外側に短かき擔子梗を出し、分生孢子を着生する事前同様なり。後胚乳に侵入するよりは糊粉粒層づたいに菌系を伸長する爲め米粒を外部より見れば肌擦狀となれり。糊粉粒層を溶解吸收して後胚乳部組織内に侵入す。

以上の接種に因る病米を搗精機にて白米となせば自然にある病米と同様の色澤を有する白米を得。

5. 培養上の特徴 培養上の特徴を記載せんとするに寒天培養及び水溶性培養基にありては30°C を使用し、ゼラチン培養基にありては 20°C を使用したり。

(1) 麴煮汁寒天斜面培養 培養後廿四時間にして接種線に沿ひ白色の菌叢を發育せしむ。2 日後には接種線上に黃色 (Creamy yellow)~暗濃青綠色 (Deep Gray blue) の密なる絨氈狀菌

叢となり、菌叢の兩縁は白色菌叢なり、所々大なる横皺を有し、菌叢裏は暗黄赤色 (Brown red) を呈す。五日後には斜面全體ビロード状密なる濃暗青緑色 (Deep gray green) の分生胞子を着生する菌叢となり、横皺を有し、培養基を濃赤紫色 (Brown orange) に染色す。七日後には培養基を濃く染色す。他に變化なし。一ヶ月後には菌叢面はビロード状にして暗青緑色 (Deep gray green) を呈す。接種線部上には赤褐色赤味を帯べる (Yellowish orange) の絨氈狀菌糸を認む、培養基は濃暗赤色 (Deep red brown) に染色し、菌叢裏培養基中には小不定形赤色凝固物を多數認む。發育良好にして古きに至れば前記菌層上に多數の濃赤褐色の菌叢を再生す。

(2) ツアベツク氏寒天斜面培養 培養後廿四時間にして接種線に沿ひ白色密なる菌叢を發育せしむ。三日後には濃黄褐色 (Light orange~Red brown) に變じ、絨氈狀菌叢の兩縁は黄色 (淡 Light carmine) にして所々横皺あり、培養基を幾分赤紫色 (Dull red) に染色す。七日後には菌叢の接種線部は濃赤褐色 (Red brown) にして其の兩側は濃青緑色 (Deep gray

第 1 表

炭素源名	培養廿四時間後ノ特徴	培養後三日ノ特徴	培養後七日ノ特徴	培養後卅日ノ特徴	發育良否
Glucose	發育を認む	濃赤褐色紫色味あり絨氈狀菌叢液は赤褐紫色	菌叢上に濃赤褐色水泡を形成す液は濃暗褐色	菌叢は絨氈狀赤褐色光澤強き黄金水泡あり、液は濃暗赤色を呈す	良好
Galactose	"	赤褐色ビロード狀菌叢にして青綠色部が絞狀なり液は淡赤褐色	濃赤褐色ビロード狀絨氈狀菌叢、濃青綠色部縞あり、液は濃黒赤色	白色~黄褐色~暗赤褐色マダラ菌叢綿毛布が水に濡れた感黄金色水泡多數液は濃黒赤褐色	良好
Saccharose	"	赤褐色ビロード狀菌叢小青綠色の小凹部あり液は透明なる淡赤褐色	黄白淡茶褐色の毛布狀菌叢液は赤褐色	白淡赤色~青綠色の菌叢白淡赤色は毛布狀青綠色部はビロード狀水泡多し液は暗赤色	良好
Maltose	"	集團發育濃青綠色ビロード狀液は淡赤褐色	濃青綠色絨氈狀菌叢所々に濃青褐色短毛布狀赤色水泡あり、液は濃赤褐色	青綠色赤褐色ビロード絨氈狀菌叢液は暗赤色	良好
Starch	發育を認めず	集團せる白~黄褐色菌叢青綠色部縞狀に散在す液は桃色を呈す	濃青綠色絨氈狀菌叢集團菌叢の外縁は黄色水泡多數あり淡黄色なり液は淡赤褐色	暗青綠色ビロード狀其の上に茶褐色絨氈狀菌叢再生するあり淡黄金色水泡を着生す液は暗赤色	後發育良好
Dextrin	發育徴	淡黄褐色のビロード狀菌叢所々に青緑部あり液は黄褐色を呈す	濃茶褐色小濃青綠色の斑點狀絞あり絨氈狀小黄色強き光澤ある水泡あり液は透明黒赤色なり	暗青綠色綿毛布の濡れた感あり菌叢上に淡黄金色水泡多數あり液は黒赤色	良好
Mannit	發育を認めず	聚落狀青綠色のビロード狀菌叢液は淡褐色なり	黄褐色濃青緑白色褐色の短毛狀マダラピンク再生菌糸を認む液は濃暗黄赤	前同様	可良
Glycerin	"	濕性白色菌叢薄層なり液を染色せず	濃青綠色の滑かな絨氈狀菌叢所々に淡茶色の羊毛狀凸部あり、液は濃赤色	暗青綠色赤褐色のビロード狀絨氈狀菌叢白~ピンク赤褐色再生菌糸あり液は暗濃赤色を呈す	可良
Ammonium Lactate	"	雲塊狀短毛毛布狀淡青白黄褐色の薄き菌叢液は微赤紫色	濃赤灰綠色密なる絨氈狀菌叢黄金色水泡なり液は黄金色	雲塊狀灰青綠色絨氈狀及ビロード狀の中間黄金色水泡あり液は濃キヤメル色	可良下
Lactose	"	白色薄層にして液中に多數綿狀菌叢發育す	薄き黄赤褐色~青綠色のマダラ狀菌層液は淡黄赤色	赤褐色絨氈狀菌叢液は暗赤黄褐色	可

green) の分生胞子を有する菌叢となる。菌叢上には透明なる赤色 (Red) の水泡あり、培養基を濃紫赤色に染色す。一ヶ月後には菌叢はビロード状暗青緑色 (Deep gray green) を呈し、接種線部は濃赤褐色 (Red brown) を呈せり。絨氈状菌叢所々に横皺を有す。發育良好培養基を暗濃赤紫色に染色す。

(3) ツアベツク氏液培養 培養後廿四時間にして液面に白色菌叢を發育せしむ。三日後には黄褐色濃黄褐色の雲塊状菌叢となり、菌叢裏も同色にして液は透明なり。七日後には液上菌叢は非常に厚化し、ビロード状濃青緑色の部と濃赤褐色絨氈状の部となりて透明なる光澤を有する黄金色水泡を着生す。液は透明なる濃黄金色を呈す。一ヶ月後も大差なきも液は暗赤褐黄色となれり。

(4) 馬鈴薯培養 培養後廿四時間にして接種線上に白色菌叢を形成す。三日後には黄青緑色の培養基より盛り上がれる菌叢を形成し、密なるビロード状培養基を黄色に染色す。皺多き青緑色菌叢となれり。

(5) 麴汁膠斜面培養 接種後四八時間にして接種線上に白色ビロード状菌叢を形成せり、五日後には菌叢褐色～青茶褐色にして絨氈状を呈し、外縁の内側は青緑色にして外縁は白～黄白色の菌叢、横皺を有す。七日後には膠を液化し、菌層に大なる變化を認めず。

(6) 次にクノツプ氏液に各種炭素源を加へ培養をなし菌の特徴を検したり。其の割合はクノツプ氏液 1000 cc に對して炭素源 30 gr なり。

以上の如く本菌はかなり廣範圍のものを炭素源として發育するものの如し。

6 病原菌の形態 病原菌の形態に就きては主として麴汁寒天培養を行つたものを使用し、培養後三日より十五日間のものにして 25°C 定溫器中にて培養を行いたるものなり。

(1) 栄養菌糸 栄養菌糸は管状良く肥大し、若きものは無色、小球形顆粒を多數認む。古きに至れば球形不整圓形の菌糸ありて之の内には多量の赤色色素及び多量の油脂様物を有す、菌外に成生せられし赤色色素は培養基を赤色に染色す。栄養菌糸は培養基内にありて栄養を司どり氣生菌糸を分枝す。特に肥大せるものは細胞の周邊が凸凹にして不整管状となる。

栄養菌糸の大きさは 2.0~5.0 μ 長さ 10.0~32.2 μ 程度なり。

(2) 氣生菌糸 氣生菌糸は栄養菌糸より空中に分枝し、細管状をなし單獨のものにして網状の菌糸を認めざりき。小球顆粒多數ありて隔膜は比較的不明瞭なり。一般に新しきものは無色にして古きものは帶黄赤褐色を呈す。小球形顆粒は暗色に見へ、氣生菌糸の太さは 1.5 μ 内外長さは 60 μ 内外あり。

(3) 擔子梗 擔子梗は栄養菌糸の隔膜又は氣生菌糸の特定せる分枝にして多くは短く、眞直なるもの多し。擔子梗の色、若きものは無色なるも古きに至れば淡黄褐色～濃黄褐赤色に變ず。

小顆粒多數ありて暗色を呈す、擔子梗の長さは 13.2~84.2 μ 程度で一般に 30~40 μ 程度のも

の多し、太さは $2.2 \sim 4.2 \mu$ にして比較的揃へる物多し。擔子梗の短かきものは一般に隔膜なきも長きものにありては五ヶ所くらいの隔膜を有す。擔子梗の隔膜の下部即ち細胞の上部より短かき小枝を分枝するもの多し、擔子梗の先端は少しく肥大せるも甚しきを認ざりき。

(4) 小生子 擔子梗の先は $2 \sim 3$ 回に分枝し、 2 回分枝のものは擔子梗の先が一般に $3 \sim 6$ 個の小柄に分れ、その上に $2 \sim 6$ 個の小生子を着生す。最も多きは四個にして稀に一個のものを認む。亦 *Metulae* 上に小生子と *Metulae* とを分枝するものあり、三回分枝のものは擔子梗の先に二個の *Branches* を分枝し、*Branches* の先端は $3 \sim 5$ 個の *Metulae* を分枝し、其の先端に $3 \sim 4$ 個 *Sterigmata* を着生す、稀に擔子梗上に二個の *Branches* 三個の *Branchlets* $5 \sim 6$ 個の *Metulae* $3 \sim 4$ 個の *Sterigmata* 順に分枝す。*Branches* の長さは 17μ 内外太さは 4μ 内外 *Branchlets* の長さは 12μ 内外太さは 3.5μ 内外擔子梗より *Metulae* までは擔子梗と同色のもの多し、*Sterigmata* は一升徳利形をなし、長さは $15.0 \sim 8.8 \mu$ 太さは $2.4 \sim 3.8 \mu$ にして若きものは無色、小顆粒を認むるも古きものは淡茶褐色を呈す。

(5) 分生孢子 分生孢子は *Sterigmata* の先端より分裂し、團子狀に連結し、 100 以上に達するものあり、分生孢子は橢圓形にして不整形なもの少なし。刺なく分生孢子の成熟したるものは淡き青色を呈す。稀に茶褐色のものを認む。長さは $2.8 \sim 4.6 \mu$ 径は $1.8 \sim 3.5 \mu$ あり。

(6) 孢子の發芽 孢子は 25°C にて $10 \sim 12$ 時間で大部分發芽し、發芽部位は一定せずして $1 \sim 2$ 本の菌糸を生ず。稀に 3 本のものあり、發芽穴の割目はあまり明瞭ならず。一般にあまり深く裂けざるが如く檢せらる。發芽時は孢子膨大して径 $3.5 \sim 5.0 \mu$ の大さとなる。孢子中の小顆粒は發芽と同時に大部分が菌糸に移行す。孢子は暗色なるも菌糸は無色なり。菌糸の隔膜は明瞭に認め得らる。

(7) 孢子囊 本菌は米粒上及び培養基上にては孢子囊核を形成するを認めず。

7. 本菌の生理試験 (1) 色素還元作用 *Czapek's Solution* にリトマス及びメチレン青を少量加へ青色となし、綿栓殺菌後本菌を接種して 30°C に置きしが 48 時間にして兩者共に完全脱色し、對照液は脱色を認めず。故に色素還元力を有す。

(2) 硝酸還元作用 培養液は MgSO_4 0.25 gr KNO_3 3 gr, K_2HPO_4 0.25 gr, Glucose 30 gr 蒸溜水 1000 cc の組成のものを 150 cc 培養フラスコに 100 cc 宛入れ、綿栓殺菌後本菌を接種し 30°C にて一週間後各種の亞硝酸反應を試みしに陽性を示めし、對照物は陰性を示めす所より本菌には硝酸還元力あり。

(3) 硫化水素 *Czapek's Solution* に少量の硫黃華を加へ本菌を接種し 30°C にて 1% 鉛糖紙を挟み置きしが廿四時間後には接種したる可檢區は鉛糖紙の下端を黒變し、四八時間後には全部黒變せり。然るに對照區に變色を認めざりしを以て硫化水素を生成す。

(4) 各種酵素 本菌の各種酵素を検するに *Czapek's Solution*. Cane Sugar $\frac{5}{100}$ gr 液

に培養し 25°C にて二週間～一ヶ月のものの菌蓋を乳鉢にて粉碎し、培養液と混じ濾紙にて透明となるまで濾過したる液に就きて各種酵素を検せり。可検液は前酵素液に各種検査物と防腐剤として Toluol 少量使用し、對照液は酵素液を 100°C にて 20 分間加熱し 酵素を破壊したる後前同様處理を行へり。

今次に各種酵素の有無を表示せば、第2表の如し。

第 2 表

番號	酵 素 名	使用セシ藥品	使用セシ試薬	有無
1	Oxidase		グワヤック丁幾	ナシ
2	Peroxidase		グワヤック丁幾	ナシ
3	Catalase		過酸化水素	有
4	Amylase	澱 粉	Fheling's Solution	有
5	Dextrinase	Dextrin	"	有
6	Mannase	Mannan	"	有
7	Pectinase	Pectin	"	有
8	Raffinase	Raffinose	"	有
9	Lactase	Lactose	Barferd's Soluton	有
10	Urase	Urea	Nessler's Solution	有
11	Maltase	Maltose	Barferd's Solution	有
12	Lipase	Olive oil	Litmus	有
13	Pepsin	HCl	卵白Karmin染色	有
14	Tripsin	炭酸ソーダ	卵白Congorot染色	ナシ
15	Tannase	Tannic Acid	Fheling's Solution	ナシ
16	Invertase	Cane Sugar	Fheling's Solution	有

8 菌の發育と温度との關

係 殺菌せるペトリー皿に
麴汁寒天培養基を流込み固
化後少量の分生胞子を白金
線の先にて中央一點に接種
し、各々温度の定温器内に

第 3 表

置き發育の日數及び發育速度を検し本菌の適温を検せり。次に成績を表示せば第3表の如くである。

上表中温度と發育日數との關係は各々の温度で本菌の發育を肉眼的に認めたる最初の日を連らねたる線なり菌の發育と温度との關係は發育を認めたる日より五日後の聚落の直徑を測定して連らねたる線なり 10°C にありては三週間の長さ日數にて發育を認め、20°C では二日、25°C ～30°C にありては廿四時間 35°C～40°C にては二日を要し、0°C～5°C にありては接種後五〇日となるも發育を認めず、本菌の發育速度は 15°C より急速となり 30°C を最適温となし、最高温度は 40°C～45°C 間にあるものの如く、45°C にては發育を認めず、最低温は大體5°C 附近にあるものの如く、本菌の發育と温度との關係は比較的狭い様なり。

9. 本菌の死滅温度 本菌の温度に對する抵抗及び死滅温度を検するに麴汁寒天培養を行い、

10日後の充分に分生胞子を着生したるものに就きて行へり。

徑 1 cm の試験管に中性麴汁を 3cc 宛入れ殺菌後前分生胞子を一白金耳宛接種し、恒溫水槽にて各溫度に對する死滅點を検せり、表示せば第4表の如し。

第 4 表

試管 番号	対照	48	50	51	52	53	54	55	60	65	70
1	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-
2	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-
3	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
4	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
5	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
6	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
7	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
8	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
9	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
10	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-

第4表の殺菌時間は各十分間にして廿は廿四時間以内に發育を認めしもの

＋は四八時間以後に發育を認めしもの

－は發育せざるもの

以上の成績を見るに本菌は 52°C にては十分間にて死滅せずして多數生存するを認め、53°C 十分間にては完全に死滅するを以て本菌の死滅溫度は 53°C 十分間なり。

10 無機鹽類と色素成生との關係 本菌が炭水化物を栄養源として色素及び毒素の成生をなし、之の場合微量の無機鹽類が色素の成生に關

係ある事は實驗中明かとなり、次に二三の無機鹽類に就きて色素の成生量を檢したり。然るに毒素成生量との關係も行いたきも毒素抽出は色素の如く簡單ならず。其の方法も複雑なるを以て此處では色素量として進める事となせり。

(1) 色素の定量 色素の定量に就きては定量の所で説明する事となし、此處では培養せし所

第 5 表

培養液 I 立 = 對スル Mg SO ₄ の割合	二日後ノ培養中ノ 變化 發育狀態	三日後の培養中の 變化 發育狀態	四日後ノ培養中ノ 變化 發育狀態	八日後ノ培養中ノ 變化 發育狀態	培養フラスコ 三ヶノ色素量	
MgSO ₄ 1000 : 0gr	白色短羊毛狀菌 叢液に着色なし	白色短羊毛狀菌 叢培養液着色なし	淡黃褐色短羊毛 狀菌叢液は微赤 色を呈す	前同様 液は淡赤色なり	+	1.392gr
1000 : 0.1	〃	白色〜淡赤褐色 の菌叢液は透明 なる赤褐色	黃褐赤色と白色 とのマダラ絨氈 狀液は赤色	前同様 液は赤色なり	冊	2.106
1000 : 0.3	〃	黃褐赤色絨氈狀 菌叢液は赤褐色	黃褐赤色絨氈狀 菌叢液は赤色	〃	冊	2.166
1000 : 0.5	〃	前同様なるも赤 味少しく淡液も 同様	〃	〃	冊	2.035
1000 : 0.75	〃	0.3gr の場合と 同じ	〃	〃	冊	1.544
1000 : 1.0	〃	黃褐赤絨氈狀菌 叢液は微黃色	〃	〃	冊	1.772
1000 : 2.0	〃	〃	〃	〃	冊	1.641
1000 : 3.0	赤味を帯べる短 羊毛狀菌叢 液に着色なし	黃褐色ビロード 狀菌叢液は微黃 色	〃	〃	冊	0.773

の液及び菌蓋を一所になし 2 % となる様 NaOH を加へ、色素を溶解し、濾紙にて濾過し、濾液を得之れに鹽酸を加へ酸性となせば色素は赤色不定形の沈澱物となり、それを濾紙上に取り鹽化石灰上にて充分乾燥したるものを粗色素となし秤量せり。

(2) 本實驗に使用せし器具及び方法。150cc 扁平培養フラスコを鹽酸、可性加里にて良く洗滌し、多量の蒸溜水にて充分洗滌し、無機鹽類を最少限度となし、青梅綿の極上を以て綿栓殺菌後次の如き組成の試験液を 100cc 宛入れ 10 ポンド 20 分間の殺菌をなし、本菌を接種し 25°C に八日間置きたるものにて色素生成量を檢せり。

(a) 苦土との關係 培養基の組成は K_2HPO_4 1 gr, KCl 0.5 gr, $NaNO_3$ 2 gr, Glucose 30 gr 蒸溜水 1000cc の割合にして之れに硫酸苦土を 0.1 gr より 3.0 gr の間使用して色素成生に對する最適量を檢せり。

第 6 表

第6表の表を見るに $MgSO_4$ を加用せざるものより急速に色素の成生量を増加し、培養液 1000cc : 0.3 gr を最高となし、其より降下して 0.75gr の所は色素成生量減少し再び上昇して 3.0 gr に至れば對照たる苦土使用せざるものより惡き結果を得たり。

併し $MgSO_4$ 量 0 の所でも本菌の發育を認めたるは

第 7 表

培養液1立=對スル $FeSO_4$ の割合	二日後ノ培養中ノ變化 發育狀態	三日後ノ培養中ノ變化 發育狀態	四日後ノ培養中ノ變化 發育狀態	八日後ノ培養中ノ變化 發育狀態	培養フラスコ3ヶノ色素量
$FeSO_4$ 1000 : 0gr	白色絨氈狀菌叢液の着色なし	冊	濃黃褐色絨氈狀菌叢水泡あり液は黃金色	冊	1.058gr
1000 : 0.01	〃	冊	淡黃褐色～白色絨氈狀菌叢液は微黃色	冊	0.989
1000 : 0.05	〃	+	〃	+	0.982
1000 : 0.1	〃	+	〃	冊	1.445
1000 : 0.5	〃	冊	黃褐色の絨氈狀菌叢液は黃色なり	冊	1.326
1000 : 1.0	〃	冊	淡黃褐絨氈狀菌叢液は黃色なり	冊	1.500
1000 : 2.0	發育微	十下	白色絨氈狀菌叢	+	0.428
1000 : 3.0	なし	〃	〃	十上	0.204
1000 : 4.0	なし	發育微	十下	+	0.000

元來苦土無き場合は生理學上發育不能と考へられるを以て Glucose の不純か本菌は苦土を特に必要とせざるかに就きては後に至り補足する機あるを信ず。故に本菌の色素成生と苦土との關係は Czapek's Solution 1000cc に對して $MgSO_4$ 量は 0.3 gr 程度が良結果を得るものと思ふ。

(d) 鐵との關係 鐵としては硫酸第一鐵を以てし、Czapek's Solution (Glucose 30 gr) 100 cc に對して 0.01 gr より 4.0 gr まで量を検したり。

第 7 表

第8表の如く硫酸鐵の量は加用せざるものより 100 cc に對して 0.08 gr まで降下してそれより急速に上昇して 1 gr の量を最高となし、再び急減を認めたり。故に本菌には $FeSO_4$ は比較的少量加用する必要ありと思ふ。

(e) 磷酸との關係 前記同様の方法を以て K_2HPO_4 を使用し行へり。

第 9 表

培養液 I 立 = 對スル K_2HPO_4 量	二日後ノ發育狀態	三日後ノ發育狀態	四日後ノ發育狀態	八日後ノ發育狀態	培養フラスコ スダケノ 色素量
K_2HPO_4 1000 : 0 gr	發育せず	なし	なし	なし	0 gr
1000 : 0.5	白色短羊毛狀菌叢	黃褐色短毛布狀菌叢液は微黃金色	濃赤褐色ビロード〜絨氈狀菌叢液は赤色	濃赤褐色〜ビロード狀〜絨氈狀液は赤色	0.808
1000 : 1	白色短羊毛狀菌叢	〃	〃	〃	0.915
1000 : 2	〃	〃	〃	〃	0.835
1000 : 3	〃	〃	〃	〃	0.845
1000 : 4	〃	〃	〃	〃	0.943
1000 : 5	白色絨氈狀菌叢	淡黃褐色絨氈狀液は微黃金色	濃黃褐色絨氈狀ビロード狀液は淡赤色	濃赤褐色〜ビロード狀液は赤色	0.975
1000 : 6	〃	〃	〃	〃	0.757
1000 : 7	〃	〃	前者より幾分暗色	〃	0.955
1000 : 8	〃	〃	〃	〃	0.847
1000 : 9	〃	〃	〃	〃	0.950
1000 : 10	〃	〃	〃	〃	0.420
1000 : 11	〃	〃	〃	〃	0.561
1000 : 12	〃	〃	〃	〃	0.727
1000 : 13	〃	〃	〃	〃	0.493

第9表の如く K_2HPO_4 の加用なきものは發育を認めず 1000cc に對して 0.5 gr より 9 gr までは大體直線上にある如く 10 gr より 13 gr までは惡化を認め發育も同様なるべし、本表中 5 gr を最高となせる所より本菌は色素を作る爲めに多量の PO_4 を必要とするものの如し。

第 8 表

11. 培養中に於けるPHと色素との

關係 本病原菌が培養中に或種の酸を生産し、PHの降下をなす、その酸が色素成生に直接關係ありや否やに就きて試験を試みたり、試験を行うに Czapek's Solution を基となし、之れに Saccharose, Glucose. (工業用) 澱粉の三種を試みたり。

前三者共に Czapek's Solution 1000cc に對して 30 gr の割合となせり。400cc 入扁平培養フラスコに前記培養液を 300cc 宛入れ綿栓後 10 ポンド 20 分間の殺菌をなし、冷却後本菌の分生孢子を一白金耳接種し、25°C にて培養をなし、培養期間中は一日毎に PH と色素量を測定したり。一個の培養フラスコの培養液は 300cc にして各炭素源量は 9gr に等しく、此の一個のフラスコの培養液菌蓋より定量したり。定量方法は前記と同様なり。其の成績を次に表示せば第 11, 12, 13, 14 表の如くである。

第 9 表

培養 日数	glucose		Sacchalose 1.		Sacchalose 2.		Starch	
	PH	色素量	PH	色素量	PH	色素量	PH	色素量
0	6.6	0 gr	7.0	0 gr	7.0	0 gr	6.6	0 gr
2	5.2	0	6.2	0	6.0	0	6.6	0
4	4.6	0.433	4.4	0.326	4.4	0.328	5.4	0
6	4.8	0.597	4.4	0.369	4.4	0.360	5.4	0.816
8	5.6	0.590	4.2	0.435	4.2	0.445	5.4	1.449
10	5.6	0.886	4.2	0.492	4.2	0.528	5.4	1.305
12	5.6	1.161	4.6	0.672	4.4	0.787	4.8	1.830
14	5.6	0.610	4.6	0.567	4.4	0.780	4.4	2.142
16	5.6	0.838	5.0	1.010	4.4	0.832	4.2	2.341
18	5.6	0.925	4.8	1.510	4.6	1.085	4.4	1.779
20	5.6	0.724	4.8	1.132	4.8	0.951	4.4	1.315
22	5.6	0.691	5.6	1.394	5.2	1.216	4.6	1.050
24	5.6	0.747	5.6	1.341	4.8	1.036	4.8	1.535
26	5.6	0.978	5.6	1.183	5.4	1.063	4.8	1.330
28	5.6	0.830	5.6	1.161	5.6	0.851	4.8	1.163
30	5.6	0.928	5.6	1.060	5.8	0.954	4.8	1.030
32	5.6	0.565	5.6	0.883	5.8	1.325	5.2	0.881
34	5.6	0.905	5.6	0.780	5.8	0.830	5.2	0.610
36	5.8	0.913	5.8	0.945	5.8	0.916	5.4	1.177
38	5.8	0.889	5.8	0.550	5.8	0.908	5.4	1.217
40	5.8	1.000	5.8	1.050	5.8	1.356	5.4	1.314
42	5.8	0.847	5.8	0.565	6.0	0.792	5.4	0.732
					6.0	1.710		
					6.2	0.752		
					6.2	1.004		
					6.2	1.160		

の間に少しく減少を認め其の後再び急上昇をなし其の量は 1.161 gr の最高を示めせり、十二日より十四日まで急降下をなし再び上昇して 0.8 gr の線を上下す。

第 10 表

Saccharoseにありては

表の 1.2. 共に PH は急に PH 4.2 まで降下し、順次上昇し四八日後には PH 6.2 の恒数を示めせり。色素は急昇して12~14日の間に一度少しく低下する事同様にして再び上昇して 18~22 日頃に最高量の 1.216~1.510g を示めてそれより少しく

低下した後 0.6~1.1 gr の線を上下す。澱粉にありては PH は十六日後に PH 4.2 の最低を示めし、それより順次上昇して卅六日後には PH 5.4 の水平状となり、色素量は八日目までは急昇し 8~10 日で一度低下を生じ、十六日後に 2.41 gr の最高を示めし、それより急低下を見卅日より、1.0 gr の線を上下す。

(a) PH の降下と色素成

生とは直接関係なし、

(b) PH の降下は一種の菌發育中の抗菌性物質の如く考へられるも抗菌性はない。

(c) 本試験中炭酸石灰にて連續脱酸しても色素の生産を認む。

(d) 生産せられし色素は菌が一部栄養源として消費せらるるが如きも後に至り平行状態を保つ所より菌の栄養物

でなくして排泄物なりと思考す。

(e) 色素の成生量最高となる少しく手前減少を認めるは一端發育せし菌が發育停止をなし再び發育し、その時色素を少しく消費したるものと思考す。

第 11 表

12 糖の消費量と色素量及び PH との関係 (Czapek's Solution 1000cc に對して Glucose

30 gr を加へ前記の如き培養方法を行い、25°C にて毎日糖量及び粗色素量並びに PH を測定

第 12 表

第 13 表

たものが色素及び毒素となるが如し。

13 各種炭素源培養上の特徴及び色素生成量との関係

本試験を行うに Czapek's Solution を基本となし、それに各種の炭素源を次の如き割合に混入して前同様方法にて培養し、但し培養フラスコは 150cc で培養液は 100cc 宛二ケを用い、25°C にて三週間置きたるものなり。

以上の成績を検するに Urea は本菌が炭素源として使用出来ず。Methanol, Sodium Acetate にありてはわずか菌體を作るに過ぎず。Inosit では炭素源として造菌體には使用でき得るも色

し其の關係を検せり。糖量はベルトラン氏法を使用す。其の成績を次に示めせば、

以上の成績で見ると如く、糖の消費は九日目まで急にして九日より十五日までは比較的緩かにして十五日後には全部消費せり。然るに色素の最大量は十五日目なるを以て糖の消費終了日と一致するを以て糖の消費と色素生産量とには大なる關係を有す。色素の最大生産量後は少しく消費せらるるは前同様なるべし、PH と糖消費と色素との關係は認め得ざれども糖消費終了した時より PH は水平狀態を保つ。以上結果より考へるに糖を一度或種の酸になしそれをさらに變化めせし

第 14 表

素成生は困難なり, Ammonium Lactate より順次に色素生産量上昇して Sodium Asparaginate までを第一階段として Glucose との差甚しく Glucose より Starch までを第二階段と

第 16 表

番號	炭素源名	%	培養七日後ノ特徴	發育 良否	培養廿一日後ノ特徴	發育 良否	色素量	順位
1	Methyl Alcohol	1 %	白色菌叢發育微	下下	淡黄褐色菌叢發育惡し	下下	0	0
2	Ethyl Alcohol	1 "	クスンダ黄色ビロード狀菌叢 液は日本酒色	中	濃緑濃赤褐色の混合 ビロード及絨氈狀液は赤色	上	0.300	5
3	Urea	1 "	なし		なし		0	0
4	Sodium Acetate	1 "	白色菌叢發育微	下下	白色菌叢	下下	0	0
5	Acid Succinic	1 "	クスンダ黄綠色薄菌叢 液は桃色	下	黄淡褐色毛布狀菌叢 液は黄褐色	中	0.233	3
6	Dulcitol	3 "	濃褐色菌叢 液は色なし	下下	濃赤褐色ビロード狀菌叢 液は日本酒色	上	0.238	4
7	Inositol	"	黄褐色絨氈狀菌叢 液は黄金色	上	濃赤褐色絨氈狀菌叢 液は濃日本酒色	上	0	0
8	Sodium Asparaginate	"	白色菌叢	下下	白色菌叢	下下	0.350	8
9	Ammonium Lactate	"	綠淡黄色絨氈狀菌叢 液は黄金色	上	青色ビロード狀短羊毛狀菌系 あり色は黄褐色液は日本酒色	上	0.112	1
10	Mannitol	"	灰綠色, 黄褐色マダラ絨氈狀 薄菌叢, 液は黄茶褐色	上	黄赤褐色絨氈狀菌叢所々綠部 あり液は濃赤色	上上	0.328	6
11	Dextrin	"	濃黄赤褐色マダラ絨氈狀菌叢 液は赤色	上上	濃緑濃赤褐色ビロード狀液は 濃赤色	上上	0.220	2
12	Glycogen	"	聚落狀黄褐色絨氈狀菌叢 液は乳濁せり	下	濃赤色ビロード狀所々に輪狀 赤色菌系あり液は赤色	上	0.630	10
13	Starch	"	聚落狀黄褐色中心部は綠色を 呈す液は黄淡褐色	上	濃黄赤褐色絨氈狀皺ある菌叢 液は濃赤色	上上	0.745	15
14	Glucose	"	赤褐色絨氈狀菌叢 液は濃黄金色	上	濃黄赤褐色絨氈狀少々立毛あり 液は濃黄金色	上上	0.595	9
15	Lactose	"	白綠色中に綠部縞あり 液は日本酒色	上下	濃青綠色赤褐色の混合絨氈狀 菌散液は日本酒色	上	0.340	7
16	Saccharose	"	黄赤褐色絨氈狀赤色水泡あり 液は赤色	上上	濃緑黄褐色絨氈狀皺ある菌叢 液は赤色	最上	0.721	12
17	Glycerin	"	濃緑~濃赤褐色マダラ狀菌叢 液は濃赤色	最上	濃緑黄褐色ボロ毛布狀菌叢 赤色水泡あり, 液は赤色	最上	0.735	14
18	Maltose	"	濃黄淡褐色又は濃綠色絨氈狀 液は日本酒色	最上	濃緑赤褐色絨氈狀菌叢皺あり 液は赤色	最上	0.718	11
19	Fructose	"	赤褐色絨氈狀菌叢 液は赤色	最上	濃黄赤褐色ボロ毛布狀菌叢 液は赤色	最上	0.922	16
20	Mannose	"	赤褐色絨氈狀菌叢 液は赤色	最上	"	最上	0.723	13

して色素成生良好なり, 然るに Fructose は群を抜き成生量多量なり, 以上より本菌の色素成生量は炭素数には關係なく, 炭素源として使用し安き物質が良好なりと思考す。

14 接種玄米の PH の變化と色素成生との關係 玄米 150 gr を 200cc 三角フラスコに入れ水 10 cc を加へ良く攪拌して 10 ボンド 15 分間殺菌を行い冷却後本菌を接種し各々日毎に取り出し, その接種玄米 10 gr 取り乳鉢にて細碎し, 100cc 蒸留水を加へ濾紙にて濾過し

第 15 表

たる後を測定し他の残りを色素定量に使用せり、色素の定量には Methanol Schuster を使用せり、其の結果次の如し。

以上の結果を見るに玄米に接種した場合は PH 4.8 まで降下し接種後五〇日となるも上昇を認めず、粗色素にありては順次上昇して接種後五〇日目には 19.5 % の多量を測定し、それより米の粕脂肪を引いても 15% 強の色素量となる。(以下次號)

抄 録

文 献 抄 録

白鼠の繁殖・泌乳と玉蜀黍飼料

The effect of supplementation of high corn diets on rat reproduction and lactation.
Watts et al., J. Nutr., 533, Aug., 1950.

近年多数の研究者により、玉蜀黍と大豆粉を主成分とする飼料は、 B_{12} 以外の既知ビタミン及び無機質等を補つても、白鼠に正常の繁殖と泌乳をさせるには缺點があることが報告されている。一方これに反対する研究者もある。著者等がこれを確かめるために実験したところ、この飼料は一應正

常な飼料であり、胎仔の再吸収、中毒死、出産後 48 時間内・哺育期間中・離乳後等における幼鼠の異常高率死亡等の事実は見られなかつた。但しこの飼料にいろいろの材料で B_{12} を補つた場合には、おそらく他の諸因が加わるわけだが、この際には離乳時の幼鼠の體重は明かに重い。即ち B_{12} の材料とした肝臓粉末・ B_{12} 濃縮物・發酵副産物・APA 抽出物（抗悪性貧血要素抽出物）は、皆哺育中の幼鼠の體重を増加させる未知の因子を持つている。尙この因子は 70 % 酒精に可溶で 95 % 酒精には難溶であるとも（平山）

(禁 轉 載) 榮 養 學 雜 誌 一ヶ年 定價 50 圓 (送料共)

發行兼編集者 松室 秀夫
國立榮養研究所内

印刷者 小泉 輝章
東京都文京區戸崎町71

印刷所 小泉印刷株式會社
東京都文京區戸崎町71

昭和 25 年 11 月 25 日印刷

昭和 25 年 11 月 30 日發行

發 行 所

東京都千代田區神田神保町一ノ卅九 第一出版株式會社 電話 神田 (25) 4576 番

日本出版協會會員番號 A 104001 號 振替番號 東京 23838 番