徳田省三 二三の本邦産 *Chromatium* の培養條件

Shozo TOKUDA: Culture conditions for some *Chromatium*, found in Japan.

昭和24年4月6日受理

本邦で記載されてゐる *Chromatium* の内で *Chromatium minus* は未だ単離されず、その生育條件も明かでない。*Chromatium gracile* はその培養法が知られてゐるが (1)、他の *Chromatium* との區別に必要な諸種の生育條件については明かでないから、これ第2種の *Chromatium* の生育條件を定めるために次の實驗を試みた。

實驗 I. (A) *Chromatium* の培養 8月下旬春探湖で取つた本細菌を含み微紅色を呈する水を次に示す組成の培養液に混じ、直射光線を避けて室内に置いたところ、1週間後に至つて液が紅色を呈し始めた。

培養液組成 $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 各1グラム、水1立、pH 7.0.

培養液の1.2% 寒天高層培地中に粗培養液の微量を稀釋し、直射光線を避けて室内温度に置いたところ數日後に至つて寒天中に肉眼で漸く認められる位の大きさのレンズ狀の集塊が生じ、直徑1mm位の大きさにまでなつた。*Chromatium gracile* の

培養に用いた方法 (2) でこの集塊を取り、數回繰返して寒天高層培地中に集塊を造らせ、純粹な集塊を得た。培養液に集塊を投げ直射光線を避け室内温度20°C前後の下に置くと液は次第に紅色になる。

(B) 培養液の濃度 表に示す種々の濃度の培養液に本細菌を培養して得た7日後の生育の結果は各鹽類を0.1%の割合に混じたもの即ち總濃度0.5%の培養液が好適であることを示す。また *Chroma-*

濃度と生育 *Chromatium minus*

培養液 の濃度	$\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3	各 0.1 %	各 0.1 %	各 0.1 %
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	各 0.05%	各 0.1 %	各 0.15%
總濃度		0.35%	0.5 %	0.65%
生育		2.7	3.5	2.0

pH 7.0 温度 22°C

濃度と生育 *Chromatium gracile* pH 7.2 温度 30°C

鹽類 の濃度	$\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3	各 0.1 %	各 0.1 %	各 0.1 %	各 0.1 %	各 0.1 %	各 0.1 %	各 0.1 %
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	各 0.01%	各 0.03%	各 0.38%	各 0.10%	各 0.30%	各 0.60%	各 1.20%
總濃度		0.23%	0.29%	0.38%	0.50%	1.10%	2.00%	3.8 %
生育		6.2	6.8	8.1	5.0	2.0	—	—

tium gracile を表に示す7種の濃度の培養液に培養した結果は總濃度0.29-0.38%が本細菌の發育に好適であつて、總濃度2.0%以上には發育しないことを示す。(C) 培養液のpH 春探湖では硫化水素を含み *Chromatium minus* を含む層の最高水位のpHは7.2である。(3) 前記組成の培養液のpHを

表の生育の欄の數字は培養液 $\frac{1}{4000}$ cc 中の細菌數である。各表同じである。

pH と生育 *Chromatium minus*
(温度 22°C)

初期 pH	6.2	6.8	7.0	7.4	7.8
最終 pH	6.2	5.8	6.2	6.4	6.8
生 育	0.7	2.1	4.5	3.6	3.3

pH と生育 *Chromatium gracile*
(温度 30°C)

初期 pH	6.2	6.8	7.0	7.4	7.8	8.6
最終 pH	6.4	6.4	6.4	6.4	6.6	6.6
生 育	0.1	5.5	5.7	6.4	7.9	7.0

0.1 *n* 鹽酸で調節し、表に示す 5 階段とし、これ等培養液に 7 日間本細菌を培養した結果によつて pH 7.0 が本細菌の生育に好適であることが知られる。*Chromatium gracile* が採取される海濱の表層の海水の pH は例へば東京都大島岡田港では略 7.2-8.0 の間を年中變化してゐる (昭和 22 年)。0.1 *n* 鹽酸で培養液の pH を調節し表に示す 5 階段とし、これ等培養基に *Chromatium gracile* を培養した結果は pH 7.8 附近が本細菌の生育に好適であることを示し、これは沿岸海水表層の pH に近い。(D) 温度 *Chromatium minus* は 4-6 月及び 9-11 月に最もよく生育し、夏期室内温度が 30°C 位を持続すると次第に死滅し冬は室内温度では増殖しないが死滅しない。この事實から 20°C 前後が本細菌の生育に適する温度と思はれる。*Chromatium gracile* は盛夏が最も發育よく、冬は増殖しないが死滅しないから本

温度と生育 *Chromatium minus*
(pH 7.0)

温 度	17°C	21°C	26°C
生 育	3.0	4.1	2.5

温度と生育 *Chromatium gracile*
(pH 7.2)

温 度	15°C	25°C	32°C
生 育	1.8	8.0	11.1

細菌の最適温度は 30°C 以上と考へられる。培養には *Chromatium weissei* の培養と同じ方法 (4) を用ひ、表に示す培養の結果を得た。即ち *Chromatium minus* は 21°C 附近が好適であり、*Chromatium gracile* は 32°C が最高の繁殖を示してゐるが、本実験の範囲内ではその最高温度は明かでないけれども、本細菌が盛夏によく生育する理由が窺える。(E) 光 *Chromatium minus* に寒天高層培地中で集落を造らせる時培養基を直射光線に當てて置くと光を受ける側と反対の側に集落を多く生じる。*Chromatium gracile* の培養液を網籠に入れて直射光線に當てて置くと培養器の光を受ける側に本細菌が附着し、器壁が紅色になるが、器壁に映つた網の影の部分には細菌が集らないから、器壁に無色の網狀の模様が出る。以上の事實によつて *Chromatium minus* は比較的弱光を、*Chromatium gracile* は比較的強光を好むものと思はれる。2 種の *Chromatium* の最適照度を定めるため *Chromatium weissei* に用ひた方法 (5) でこの 2 種の細菌を培養して表に示す結果を得た。この結果は *Chromatium minus* は低い照度によく育ち、*Chromatium gracile* は高い照度によく育つことを示してゐる。

照度と生育 *Chromatium minus*

光源からの距離 cm	48	65	73	105
照 度 Lux	1000	450	320	180
生 育	0.7	2.1	4.8	3.6

pH 7.0 温度 室内温度 (20-21°C)

照度と生育 *Chromatium gracile*

光源からの距離 cm	36	50	70	104
照 度 Lux	1400	700	390	160
生 育	12.8	11.4	9.0	7.4

pH 7.2 温度 室内温度 (20-21°C)

II. 炭酸源 *Chromatium* の或種を培養する時に重炭酸曹達の代りに脂肪酸類を用ひても生育することが知られてゐる (6)。また、*Chromatium* に脂肪酸類を與へた場合に脂肪酸から水素が放出されることも明である (7)。このような性質は何れの *Chromatium* にも共通であるか、また、脂肪酸の種類によ

り *Chromatium* に利用される程度に差があるかが疑問となる。この問題について次の実験を試みた。炭酸源として重炭酸曹達の代りに脂肪酸類の内で醋酸・琥珀酸・林檎酸・酒石酸・枸橼酸・蓆酸・蟻酸の内何れか一種或は糖類の内で葡萄糖・マンニット・グリセリンの内何れか一種を各 0.1% の割合に加えた寒天高層培地中で *Chromatium weissei*, *Chromatium minus*, *Chromatium gracile* を培養した結果は表に示す通りである。この結果から脂肪酸類では琥珀酸が *Chromatium* の炭素源として最も有効であつて、蟻酸と醋酸とは *Chromatium gracile* によく利用され、枸橼酸は *Chromatium weissei* と *Chromatium minus* に比較的によく利用される。また糖類の内では葡萄糖とグリセリンは何れの *Chromatium* にも良好な炭酸源である。*Chromatium gracile* は他の 2 種の *Chromatium* に比し各炭酸源によく生育する。醋酸又は琥珀酸を炭酸源とした寒天高層培地に *Chromatium gracile* を稀釋し光を遮つて 5 日間 32°C に保つても集落が生じなかつたが、その後連續して照射したところ 3 日後に集落を生じたから、琥珀酸等の存する所では光が無くても急に死滅しないのであらう。培養の初めから連續照射すると他の条件を上記の場合と同じにすれば 2 日後には集落が生じる。

III. 水素供與體 從來、一般嫌氣性

細菌の培養に硫化アルカリ金属・システイン・グルタチオン・葡萄糖・植物組織 (8) 等が用ひられてゐる。*Chromatium* は嫌氣的性質であるからこの培養に硫化曹達以外にシステイン等の嫌氣細菌の培養に用ひられる物質が有効であらうとも考へられる。よつて、培養基に硫化曹達及び重炭酸曹達を加えないで脂肪酸類の内では醋酸・琥珀酸・枸橼酸・蟻酸の内何れか一種、或は糖類の内では葡萄糖、グリセリンの何れかを各 0.1% の割合に加へた寒天高層培地に前記 3 種の *Chromatium* を培養した。その結果は表に示された通りである。即ち *Chromatium gracile* のみが醋酸琥珀酸を硫化水素の代りに利用し、*Chromatium weissei* と *Chromatium minus* とには硫化水素に代るべき物質がない。また、硫化水素の代りに蒸留水でよく洗つた麥酒酵母又は鹽酸システインを培養基に加へて 3

炭酸源と水素供與體 (培養条件は脚註の通り)

			<i>Chromatium weissei</i>	<i>Chromatium minus</i>	<i>Chromatium gracile</i>
炭酸源	醋酸	酸	+	+	+++
	琥珀酸	酸	++++	++++	+++++
	枸橼酸	酸	+++	++	+
	酒石酸	酸			+
	林檎酸	酸			+
	蓆酸	酸			—
	蟻酸	酸	+	+	++++
	葡萄糖	糖	++	++++	+++++
	マンニット	糖			+++++
	グリセリン	糖	++	+++	+++
水素供與體	醋酸	酸	—	—	+++
	琥珀酸	酸	—	+?	+++
	枸橼酸	酸	—	—	+?
	蟻酸	酸	—	+?	+?
	葡萄糖	糖	—	+?	+?
	グリセリン	糖	—	++	—
	システイン	糖	—	—	+
	酵母	糖	—	—	++

種の *Chromatium* を培養すると *Chromatium gracile* のみがよく生育する。この場合に培養基中に脂肪酸を含まないから硫化水素に代る作用をするものはシステイン或は酵母の身體内にある物質でなければならぬ。以上の事實から *Chromatium weissei* と *Chromatium minus* とには硫化水素に代るべき物

	<i>Chromatium weisses</i>	<i>Chromatium minus</i>	<i>Chromatium gracile</i>
温度	20°C	20°C	30°C
pH	7.0	7.0	7.8

培養基に加へる鹽類の組成濃度は各 *Chromatium* の組成最適濃度による。

質が無いが, *Chromatium gracile* には硫化水素に代るべき物質があつて、而も醋酸や琥珀酸以外の硫化アルカリ金属酵母又はシステイン等は一般の嫌気性細菌の培養に用ひられる物質であるから *Chromatium gracile* は一般の嫌気性細菌に似た性質を有し他の 2 種の *Chromatium* とは別の系統に属するものと考えることが出来る。

本実験は文部省自然科学研究費によつてなされたものの一部である。 (東京第一師範学校)

文 献

- (1) (2) Tokuda, S. (1936): Bot. Mag. (Tokyo). 50.
- (3) Jimbo, T. (1938): Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ. Biolog. 13.
- (4) (5) Tokuda, S. (1948): Bot. Mag. (Tokyo). 61.
- (6) Gaffron, H. (1933, 1935): Biochem. Ztschr. 288. 290.
- (7) Nakamura, H. (1937): Acta Phytochim. 9.
- (8) 田宮 博. (昭和十七年): 生體酸化還元. 391—392 頁.

Summery

1. The favourable conditions for the development of *Chromatium gracile* and *Chromatium minus* are given in the following table.

	pH of medium	Concentration of medium	Temperature	Intencity of light
<i>Chromatium minus</i>	7.0	0.5 %	21°C	320 Lux
<i>Chromatium gracile</i>	7.8	0.38%	32°C	1400 Lux

2. Among the *Chromatium* found in Japan, *Chromatium gracile*, *Chromatium minus* and *Chromatium weissei* develop well in the culture medium to which acetic-succinic acid, glucose or glycerin are added as the carbonic acid source in place of sodium bicarbonate. Only in the development of *Chromatium gracile* formic acid is used. Also with *Chromatium gracile* either acetic- or succinic acid is used as a hydrogen denoter in place of sodium sulphide; yeast and cystein being used too.