麴菌に関する研究 (第5報) X線による醤油用麴菌の變異に就て

井 口 信 義 (野田産業科學研究所)

昭和 26 年 5 月 19 日 受 理

Studies on *Aspergilli*. Part 5. The Production of X-ray Induced Mutations in *Aspergillus sojae*.

By Nobuyoshi IGUHI (Noda Industrial Science Laboratory)

I. 緒 言 著者は第1報⁽¹⁾に於て *Asp. sojae* に紫外線を照射してこれら麴菌の生存曲線並に變異曲線を検討し、紫外線は induced mutation を生ぜしめるには非常に有効である事を述べた。この induced mutation が生ずるのは遺傳子の缺除重複に依つて起るもので natural mutation と本質的には何等變りなく、たゞ自然の突然變異を待たずに積極的に多くの mutant を生ぜしめる處が異なるのみで、紫外線の他に特殊の化學藥品、毒瓦斯、溫度、電波、遠心力、X線又は中性子等も同様効果がある。最近では菌類に積極的に induced mutation を作出してその有用なものを利用せんと努力する様になりこの様な研究は penicillin 工業の發展と共に種々報告されている。今1例を *Penicillium chrysogenum* Q 176 にとつて見れば moldy cantaloupe より分離された NRRL 1951 から natural variant として NRRL 1951 B 25 が得られ、更に之をX線處理して X 1612 が得られ、次で之に紫外線處理をして Wis Q 176 が得られた。本邦に於ては有馬、小笠原⁽²⁾は更に之に紫外線を照射して pigmentless saltant を見出し今日實際に應用されている。このように penicillin を生産する青黴に於ては penicillin 收量の増大と pigmentless のもの、又異なつた type の penicillin を得るため、更には培養に於て安定した菌株を得るために種々の方法で積極的に mutant が得られて來た。

以上述べた刺戟の内X線はその波長が短く又 energy が大である點よりして古くより醫學、工學等に廣く應用されているが、一方遺傳學方面に於ても用いられ、殊に *Drosophila* 分野の遺傳子の研究に於ては MULLER (1927) 以來枚擧の暇なく種々報告されている。今日X線その他の刺戟が殺菌效果並に變異効果をあげるのは“quantum hit”に依つてなされると一般に信じられている。即ち染色體に吸收された quantum がこれらの gene を破壊し或はその配列を亂すためであると言われている。

このX線を微生物に放射してこれらの死滅並に變異の研究、又はその遺傳等に關係した既往の研究としては BEADLE and TATUM⁽³⁾, SANSOME et al.⁽⁴⁾, LINDEGREN and LINDEGREN⁽⁵⁾等は *Neurospora crassa* につき、FANO and DEMEREC⁽⁶⁾は *penicillium* につき、DILLER et al.⁽⁷⁾は *Asp. niger* につき、SAVAGE⁽⁸⁾, KELNER⁽⁹⁾, 箕浦⁽¹⁰⁾, 岡見、梅澤⁽¹¹⁾等は *Streptomyces* について、PEARSON⁽¹²⁾等、DICKSON, HUGH⁽¹³⁾等は種々の黴について報告している。而して特にこれらの内 LINDEGREN and LINDEGREN (1941), 並に SANSOME et al. (1945) は *Neurospora* に就いて詳細なX線に依る變異の研究を行つている。

著者は今回X線を用いて紫外線の場合に於けると同様に實驗した。この目的とする處は 1), 紫外線の効果とX線のそれと比較し 2), これらの2つの刺戟は、induced mutation を生ぜしめるには如何に作用するかについて何等かの指針を得られるかも知れない事 3), 紫外線に於けるとは別の type の mutant が得られないか 4), induced mutation を生ぜしむるに *Penicillium* に於ては紫外線が有効で *Streptomyces* にはX線が有効だとされているが、*Aspergillus* 屬にはどちらが効果的かを検討する爲めであつた。即ち *Asp. sojae* にX線を放射してこれら胞子の生存曲線並に變異曲線を検討し、同時に 900 株餘りの變異株を得たのでこれを培養的並に形態的な相違より 10 數種の type に分類し、引いては醤油麴菌改良の一助たらしめんとした。

II. 實驗方法

(1) 原菌株 坂口、山田⁽¹⁴⁾に依り *Aspergillus sojae* nov. sp. として分類されている短毛菌に屬するもので、野田醤油株式會社に於て種麴として使用されている所謂「キッコマン菌」で菌叢は密で低く胞子の着生は多い。氣菌絲は存在せず、菌蓋の色は Serpentine Gr. (XVI) [RIDGWAY: *Color Standards and Nomenclature* 1937] で古くなると Roman Gr. (XVI), 裏面は白く Czapek's agar 上 30°, 7日程で giant colony の直徑は 75 mm 程度で擴がりの速度は早い。表面、裏面共に皺を生ずる事なく又中央部が特に隆起する事なく、全體として扁平である。又培地に色素を殆んど生産しない。顯微鏡下にて胞子柄の表面は平滑で胞子をよく

揃い表面に明らかな小突起を有す。而してこの菌は自然に放置しただけでは形態的に培養的には比較的安定して居り、時折 natural variant として Albino, Sterile type や培地に黄色々素を生産する variant を得る事もあるが、その出現する率は極めて低いもので、有馬⁽¹⁵⁾が *Penicillium* で報告している様に形態的に變異する様な事は殆んどない。

(2) 單孢子作成法 これは有馬⁽¹⁵⁾が *Penicillium* について考案された方法を用いた。即ち Czapek's agar の slant に 30° で 7~10 日培養したものに無菌蒸溜水約 6~7 cc を注入し良く振盪し、次で CaCO_3 1g とこの孢子懸濁液 4 cc とを混じ、vibrator (50 cycle/min) で 10 分間振盪し glass filter No. 3 で吸引濾過し haemocytometer にて孢子数を測定し、1 cc 當り 2~6 萬の液となる如く 0.06% 寒天添加の無菌蒸溜水にて稀釋し、放射時間の延長と共に孢子懸濁液の濃度を増加して行く。この様に調製された被放射液は夏季等に於て長時間放置する時はしばしば一部發芽し、JANSEN⁽¹⁶⁾、中泉等⁽¹⁷⁾足澤⁽¹⁸⁾の研究により放射障害最も大となつて死滅率の相違を來す憂があるので直ちに X 線處理を行つた。

(3) X 線放射装置 使用した X 線装置は野田醤油附屬病院にある 省令第 1 種 500 mA、全波整流、空冷据置の診断器で管球は「クロニックス」10 kW のもので、二次使用電壓 95000 V、二次最大使用電流 500 mA、連續 5 mA のものであつた。尚 Röntgen unit は focus より 30 cm で 12.30 r/m であり、r 測定は「マツダ r メーター」にて行い、都立大久保病院の關忠孝氏の手をわずらわした。

(4) 放 射 内徑 10 mm の薄い小試験管に上述の孢子懸濁液 3~4 cc を入れ上記の X 線装置の focus より 6 cm の距離に置き放射した。尚濕氣を防止するために厚さ 1 mm のボール紙を放射窓に置き、又二次 X 線を有効に利用するためと危険防止のため約 2 mm の鉛板を以て外部を覆つた。使用電壓は 50 kV、3 mA で 30 分毎に 5 分宛休止した。X 線の強さは距離の自乗に逆比例して減弱するから試験管の内徑 10 mm の幅だけ誤差が生ずる理であるが、こゝに表示する r は總て小試験管の中央部に於ける強さとし、又硝子に吸収される X 線量は無視した。

(5) 放射後の處理 所定の放射を終れば直ちにこれを 0.06% 寒天添加の無菌蒸溜水にて 100~200 倍に稀釋しこの 0.5 cc を Bllg. 10° の麵汁寒天 6~8 cc に添加し常法の如く扁平培養し、ペトリ皿 1 枚に colony 数が 20~40 個出現する如くし 1 實驗ペトリ皿 60 枚 1 組の扁平培養を 4~6 回行い、同一條件で放射を 2 回以上行い、これらの平均値を出した。尚發芽率を考慮に入れて X 線放射液と同じ孢子懸濁液を常に對照として平面培養した。この様にして 30° 3 日後にペトリ皿に出現した colony 数を測定して生存率を算出し、又これら colony 中變異したと認められたものを slant とし生育後更に選擇した。

III. 實驗結果並に考察

(1) 生存曲線並に變異曲線 以上の如き實驗方法にて *Asp. sojae* 孢子に X 線を放射した結果これらの生存率並に變異率は Table 1 の如くである。但し表中の數字は 6~10 回の平均値で、FORD, J. MUNRO 等⁽¹⁹⁾、又最近石谷⁽²⁰⁾が wild *Asp. oryzae* の紫外線照射に依つて報告している如く軟く長時間照射した場合認められた small lethal colony も本實驗に於て放射時間の延長と共に認められたが slant にした場合生育しないので變異株としては算出しなかつた。

Table 1. Survival Rates and Mutation Rates of *Asp. sojae* by X-Radiation

Time(hrs.)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
r	9225	18450	27675	36900	46125	55350	64575
Survival rate (%)	83.7	68.4	45.4	35.7	26.1	13.5	3.5
Killing rate (%)	16.3	31.6	54.6	64.3	73.9	86.5	93.5
Mutation rate (%)	0.8	1.7	2.6	3.4	4.3	5.3	6.2

Mutation rates are in per cent of survivors.

即ち以下のグラフにて明らかな如く *Asp. sojae* に X 線を放射すると次第に孢子は死滅し 3.5 時間連續放射 (約 65000 r) に依り生存率は 2~3% 程度となり殆んど死滅する。而してこれらの killing rate は菌種に依り差があり、又 X 線の強さに依つても異なり SANSOME et al⁽⁴⁾は *Neurospora* で X 線の強弱によつて發芽の % は變らないが survival rate は high intensity の方が低くなる。これは發芽のすぐ後に死滅する孢子の数は

Fig. 1. Survival curve in X-radiation of *Asp. sojae* Fig. 2. Mutation curve in X-radiation of *Asp. sojae*

intensity の増加と共に増す爲めであろうと解釋しているが、*Asp. sojae* については此の事は云われる様で本實驗に於て使用したものは low intensity のものでその survival curve は漸減的であり著者⁽¹⁾、石谷⁽²⁰⁾、原田⁽²¹⁾が紫外線を用いた麹菌の研究に於ける如く急激な減少を示さないが、より high intensity のX線を使用すれば、この curve はもつと下ると思われ、又移植後2週間以内の原株の發芽率は60%前後であるので直接 haemocytometer の讀みで見れば survival curve はもつと下方へ移動する事になるが、ここでは對照の發芽率100%と假定したため以上の結果となる。又 KELNER⁽²²⁾が *Actinomyces flaveolus* で10萬rで6%が生じた結果に比せば本實驗に於ては二次X線を利用したとは云え、*Asp. sojae* はより少い dosage で死滅する。次に變異率はrの増加と共に増大して行くがほぼ Fig. 2 の如く直線状をなすものと思われる。併し變異率は低く、胞子の生存率が殆んど0に近い時に於ても6%餘りであつて著者⁽¹⁾並に石谷⁽²⁰⁾が紫外線を用いた場合に比して半分以下であつたし、勿論X線、紫外線の強さ並に被照射液との距離により一概には云えないが、SANSOME et al. (1945) の實驗結果や SAVAGE⁽⁸⁾が *Streptomyces griseus* で100萬rで約50%の形態的變異を示したと云う結果にも遠く及ばなかつた。即ちこの様に變異率が低く出たと云う事は使用したX線が low intensity であつたに反し、著者が紫外線を使用した實驗は光源と胞子懸濁液との距離が非常に近く殺菌効果が顯著であつた事にも依ると思われるが、麹菌に induced mutation を起せしむるには裝置、時間等を考慮に入れても、soft なX線を使用するよりも紫外線の方がより効果的であると云える。

(2) 變異菌株 以上の實驗の結果放射時間、變異 type 並に菌株數の關係を示せば Table 2 の通りである。

		Table 2							
Time (hr.)		0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	Total
<i>r</i>		9225	18450	27675	36900	46125	55350	64575	
Type	Restricted	11	51	58	60	39	27	15	261
	Extremely restricted	8	19	19	20	13	10	4	93
	Albino		8	5	5	2	4		24
	Olive	7	14	16	31	24	11	3	106
	Yellow	1	4	4	5	4	2		20
	Brown		3	2	4		2		11
	Blue Green	1	1	4	7	1	2		16
	Light	1	6	13	20	9	9	2	60
	Sterile	4	19	23	16	11	7	7	87
	Yeast				1	1	2		4
	Floccose	1	4		5	6	4	1	21
	Nitratophobe			1	1	4	1		7
	Nitrate non-assimiliative	1	1	8	5	1	2		18
	Intermediate	21	45	32	42	20	12	8	180
	Total	56	175	185	222	135	95	40	938

表に依つて明らかな如く各 type と放射時間 (r) との間には何等關係はない。

(3) 變異菌株の形態的性質 *Asp. sojae* の X 線に依る induced mutant に於て形態的に固定した變異株を分類すると次の 13 種 ((intermediate は除く) に分け得るが、勿論實際にはこれら type の中間型も連續的に存在する。これら type の内 yeast type を除いたものは著者⁽²⁸⁾ が既に紫外線を用いて報告した處であるが、今回は明らかな Heavy type は得られなかつた。

(i) *Restricted type* この type のものは原株に比しその生育がやや遅いが色調その他檢鏡的にはほとんど同一のもので、即ち Czapek's agar 30°, 7 日で giant colony は徑 30 mm 程度で菌叢は flat である。時折培地に種々の色素を出すものがあつた。安定である。

(ii) *Extremely restricted type* この type は前述の restricted type の程度がひどくなつたものであつてその程度の差より一應別型とした。即ち Czapek's agar 30° 7 日で giant colony の徑は 20 mm 程度で colony 全體が原株の如く flat でなく多少隆起している。檢鏡の結果も原株と殆んど變らない。色は Serpentine Gr. (XVI) で胞子の着生は密である。安定である。

(iii) *Albino type* 本 type が normal type と異なるのは胞子の色が白くその結果 colony 全體が白色を呈する點で、その他に關しては全く原株と同じものである。

(iv) *Olive type* この type は colony の色が Ivory yellow~Olive yellow (XXX) であること以外原株と同じものであるが、Albino 又は後述の Yellow, Brown, Blue green の各 type が胞子の色のみの變異であるのに對し、この olive type は胞子の多少、又生育の遲速、色素の生産等に關しての variation も認められ多數の中間型も存在していた。安定である。

(v) *Yellow type* この type は胞子の色が黃色である以外原株と差異は認められないもので colony は Light cadmium (IV) で、安定である。

(vi) *Brown type* この type は胞子の色が褐色である以外原株と差異は認められないもので、colony は Sudan Brown (III) で、安定である。

(vii) *Blue green type* この type は colony の色が Dusky olive green~Dusky yellowish green (XLI) である以外原株と差異は認められない。尙この色調は麹汁寒天上で顯著である。安定である。

(viii) *Light type* 本 type は後述の Sterile type への中間型の half-sterile type と思われる。生育は比較的速いがただ氣菌絲が多く胞子の着生が少い。色は上述の Olive type に似ていて Dark olive Buff (XL) で又時に不明瞭な zonation を作る事もある。檢鏡の結果畸型を混ざるものが多く、例えば胞子の大きさ、vesicle の徑、又 sterigmata 等に於ても第 4 報に示せる如き種々の畸型が認められた。

(ix) *Sterile type* この type は Light type と次に述べる Yeast type の中間に位するものと考えられる。colony の生育は割に早く Czapek's agar 30° 7 日で giant colony は徑 75 mm 程で長く顯著な氣菌絲は見られず、扁平な colony を作る。大部分裏面に深い皺を生じ、胞子は全然生じないか又は時間の経過と共に僅に着生する。安定である。

(x) *Yeast type* この type は最も退化した型と考えられ酵母狀の colony を作る。胞子は殆んど作らない。低温で長時間放置すると僅に緑色の胞子を着生する事もある。*Penicillium* に於て紫外線を用いて induced mutation を作出する時はよく出現する type と云われているが、*Aspergillus* に於ては餘り出て來ない。生育は極めて悪い。又往々培地に黄色々素を出す事もある。檢鏡の結果は mycel の集合で稀に尖端の膨大したに過ぎない vesicle が存在するのみで *Aspergillus sojae* としての形態上の特徴を持っていない。胞子は原株への復歸性を示す事もあるが mycel の植え継ぎを行えば安定である。

(xi) *Floccose type* Czapek's agar 上でその生育は悪く 30° 7 日で giant colony は 21 mm 程度で長い氣菌絲が多く floccose である。胞子は餘り着生せず一見 colony が隆起しているかの感がある。色は大體 Ivory yellow で檢鏡の結果胞子に 10 μ 程度の巨大なものも混じ不揃で、conidiophore, vesicle, sterigmata 共に原株に比して大型である。又氣菌絲は往々 3~4 mm 程度の長さのものもあり、安定である。

(xii) *Nitratophobe type* Czapek's agar 上では colony は薄く生育は極めて早いが胞子の着き方は疎である。これを麹汁寒天上又は窒素源を有機物とすれば原株と全く同じ生育を示す。Czapek's agar 上で檢鏡の

結果標準の孢子頭を形成している。即ちこの type は次に述べる Nitrate non-assimilative type と共に硝酸態窒素の同化能力についての gene mutant と思われる。安定である。

(xiii) *Nitrate non-assimilative type* この type のものは Czapek's agar 上では全く生育しないが、窒素源を peptone, yeast ex. の如くしたり麹汁寒天上では原株にはやや劣るが正常に生育する。この type は前述の Nitratophobe type より更に變異が強く現れた type と考えられる。

(xiv) *Intermediate* X線を孢子に放射して常法に依り平面培養すると原株とは多少異なる培養を示すが上述の各 type 程明らかに相違しない colony が出る。例えば培地への色素の生産, colony に於ける周囲の状態, 氣菌絲を多少生産するもの等で、前述の各 type へはつきり入れ得ないが明に原株と異なっているものを一括して intermediate としたもので、これは大谷、岡田⁽²⁴⁾が Ra を用いて *Penicillium chrysogenum* Q 176 の變異を行つた際の Intermediate type とは多少趣を異にしている。即ち全變異株 908 株中 180 株の多きに達し周囲の状態が異つたり、又外觀上原株と殆んど變らず Czapek's agar に Chaetura Black (XLVI) の黒色々素とか、Pinard Yellow~Empire Yellow (IV), Sulphine yellow~Pyrite yellow (IV) の黄色々素を出すもの、又 Daphne red (XXXVIII) の赤色々素を出すもの等が有つたが、この type の内には不安定のもが多かつた。

以上の各 type の内其標準株の鏡検結果を示せば第3表の如くである(單位 μ , Czapek's agar, 30°, 7日)。但し Nitratophobe 並に Nitrate non-assimilative type は麹汁寒天の giant colony より採つた。

Table 3. Comparison of Microscopic Observations in the Parent Strain and 14 Representative Strains of *Asp. sojae*.

Type	Representative strain	Diameter of Conidia	Length of Head	Conidiophore	Diameter of Vesicle	Sterigmata
Restricted	× 1476	5.0~7.3	100~160	690~300×13.2~10.0	33.0~26.5	13.2~10.0×6.6~5.0
Extremely restricted	× 424	5.0~7.3	160~230	660~460×10.0~8.3	30.0~23.0	13.2~10.0×6.6~5.0
Albino	× 1458	5.0~7.3	115~200	560~390×11.7~8.3	33.0~26.5	13.2~10.0×6.6~5.0
Olive	× 784	5.0~7.3	130~190	560~360×10.0~8.3	26.5~23.0	13.2~10.0×6.6~5.0
Yellow	× 1050	5.0~7.0	160~250	630~330×10.0~8.3	30.0~23.0	13.2~8.3×6.6~5.0
Brown	× 1430	4.0~7.3	170~330	660~450×10.0~8.3	26.5~20.0	13.2~10.0×6.6~5.0
Blue green	× 1078	5.0~7.3	220~280	580~320×10.0~7.3	30.0~26.5	13.2~11.0×6.6~5.0
Light	× 770	5.0~7.3	85~115	520~350×7.0~5.0	16.5~13.2	16.5~10.0×6.6~5.0
Sterile	× 815	5.0~7.3	80~130	490~400×6.6~6.0	16.5~63.2	13.2~11.0×6.6~5.0
Yeast	× 1247			100~65×6.6~5.0	16.5~13.2	
Floccose	× 1319	5.5~6.6 (10.0)	150~220	830~500×13.2~10.0	43.0~30.0	16.5~13.2×8.3~6.5
Nitratophobe	× 1403	5.0~7.6	210~330	1330~660×16.5~13.2	40.0~33.0	20.0~16.5×8.3~6.0
Nitrate non-assimilative	× 1000	5.0~7.3	200~250	830~500×13.2~10.0	40.0~30.0	13.2~11.0×7.5~6.6
Intermediate	× 301	5.0~7.3	220~300	560~360×11.5~10.0	30.0~24.0	13.2~10.0×6.6~5.0
Parent		5.0~7.3	220~300	730~500×10.0~8.3	26.5~20.0	13.2~10.0×6.6~5.0

以上 10 數種の變異 type を得たが Yeast type 並に Intermediate を除いた各 type は著者が既に紫外線を用いて報告した處であり X線を用いても一部を除けば紫外線で得られたものと全く同じ type が得られた。これは“quantum hit”により同様に gene が作用を受けて變異すると云う説と一致する。而して有馬⁽²⁵⁾が *penicillium* について主張する如く X線又は紫外線に依つて得られた變異菌株は長時間の自然變異によつて得られたものと變りなく、これらの刺激は變異を起す時間を短縮するに過ぎないとすれば、以上 *Asp. sojae* の各變異 type は自然變異によつても認められると考えられるが、著者は Albino, Sterile, Intermediate (pigment diffuse) の各 type 以外未だ見出してない。

次に以上の各變異 type を通観するに大體に於て次の 5 つの變異方向が推察される。即ち、1) Restricted, Extremely restricted type の如く生育が restrict になる方向、2) Albino, Olive, Yellow, Brown, Blue green type の如く孢子の色のみの變異方向、3) Light, Sterile, Yeast type の如く孢子が着生しなくなり sterile になる方向、4) Nitratophobe, Nitrate non-assimilative type の如く硝酸態窒素の同化能力退化の方

向, 5) 培地に色素を出す方向等でこれらが一部又は互に作用し合つて種々の中間型が出来るのではないかと考えられるが, これらについては更に詳細に今後検討する心算である。

尙今回得られた Yeast type は既に Fucks⁽²⁶⁾ が *Asp. oryzae*, *Rh. nigricans*, *Pen. glaucum* について糖の存在で酸素を除いて培養すれば Yeast type への transmutation があり, これは原形質の變化で安定であると説き, 又石谷⁽²⁰⁾は wild *Asp. oryzae* に紫外線を照射して得ているし, これらから考えて紫外線を用いても *Asp. sojae* の Yeast type は得られるものと想像される。又 Heavy type は今回得られなかつたが Yeast type と同様 X 線に依つても得られるものと考えられる。Intermediate は明瞭な各 type への移行型のもので X 線のみならず紫外線に依つても得られたが, 今回は便宜上この type をもうけたに過ぎない。而して以上の各 type の安定性については pigment diffuse の variant に於ては全く不安定なものが多かつたが, 他の type は安定で saltant と思われる。又検鏡の結果 morphological に畸型を認められたものは第 2, 4 報に於て紫外線で得られた場合と同じく, Olive, Light type に認められた。

IV. 總 括 以上の實驗結果を總括すると,

(1) *Asp. sojae* に X 線を放射してこれらの survival rate, mutation rate 並に遺傳的に固定した變異 type を検討した。

(2) *Asp. sojae* 胞子は約 65000 r で殆んど死滅し, 變異率は dosage の増加と共に直線狀に増加し最高 65000 r で 6.24% の變異率を示した。

(3) X 線は紫外線に比し其の殺菌效果並に變異率は低く induced mutation を作出せしむるには放射時間並に装置等を考慮に入れても, soft な X 線より *Asp. sojae* に関しては紫外線が有効である。

(4) X 線に依る變異 type は紫外線の場合と殆んど同じで新に Yeast type が得られたに反し Heavy type は得られなかつた。

(5) Morphological な畸型は Olive, Light type に多く認められた。

終りに臨み終始御懇篤な御指導を賜つた東大坂口謹一郎, 朝井勇宣兩教授, 並に野田産研所長茂木正利博士に深甚の謝意を呈すると共に, 實驗に就いて種々御配慮を戴いた野田醬油附屬病院放射線科の竹内禎三郎, 木村啓三兩氏に深く感謝する。

(尙本報の要旨は昭和 26 年度日本農藝化學大會に於て講演した)

(1) 井口: 農化, 23, 16 (1949).	(1932).
(2) 有馬, 小笠原: ペニシリン學術講演會, 昭 23, 6, 5.	(14) 坂口, 山田: 農化, 20, 65, 141 (1945).
(3) BEADLE and TATUM: <i>Proc. Nat. Acad. Sci.</i> , 27 (1941).	(15) 有馬: <i>J. Antibiotics</i> , III-6, 347 (1950).
(4) SANSOME et al.: <i>Amer. J. Bot.</i> , 4, 218 (1945).	(16) JANSEN: <i>Mitt. d. Fins-Inst S.</i> , 10(1903).
(5) LINDEGREN and LINDEGREN: <i>J. Heredity</i> , 32, 405 (1941).	(17) 中泉, 持田, 肥沼: 日本レントゲン學會誌, 13, 3 號 (1935).
(6) FANO and DEMEREC: <i>Genetics; physical aspect</i> , 495 (1944).	(18) 足澤: 日本レントゲン學會誌, 15, 259(1937).
(7) V. M. DILLER et al.: <i>Plant Physiol.</i> , 25, 340 (1950).	(19) FORD, J. MUNRO: <i>Australian J. Exptl. Biol. and Med. Sci.</i> , 26(3), 245 (1448).
(8) SAVAGE: <i>J. Bact.</i> , 57(4), 429 (1949).	(20) 石谷: 農化會講演, 昭 24, 4.
(9) KELNER: <i>J. Bact.</i> , 56(4), 457 (1948).	(21) 原田, 木村, 白石: 照明學會誌, 34, 5號 1 (1949).
(10) 箕浦: 醸工誌, 27, 100 (1949).	(22) KELNER: <i>J. Bact.</i> , 54(1), 31 (1947).
(11) 岡見, 梅澤: <i>J. Antibiotics</i> , III Suppl. B, 7 (1950).	(23) 井口: 農化, 23, 357 (1950), 農化會講演, 昭 25, 9.
(12) PEARSON et al.: <i>J. Bact.</i> , 56, 397 (1949).	(24) 大谷, 岡田: <i>J. Antibiotics</i> , II-2, 786(1949).
(13) DICKSON and HUGH: <i>Ann. Bot.</i> , 46, 389	(25) 有馬: ペニシリン學術講演會, 昭 23, 5.
	(26) Fucks: <i>Centralbl. f. Bakt.</i> , II Abt, 66, 490 (1926).

Summary

(1) The author examined survival rates, mutation rates and genetically fixed mutant types by X-ray radiation in *Aspergillus sojae*.

(2) Conidia of *Aspergillus sojae* were almost sterilized at 65000 *r* and it will be seen that the mutation rate increased with dosage in a linear manner, the highest dosage, 65000 *r*, resulting in a mutation rate of 6.24 per cent.

(3) It seems that in production of induced mutations soft X-ray radiation was proved less effective as compared with ultraviolet radiation, since sterilities and mutation rates of soft X-ray radiation has been found comparatively low in *Aspergillus sojae*.

(4) Mutant types by X-ray radiation were almost the same as those by ultraviolet radiation. In the present experiment a new "yeast type" which had not been obtained in the case of ultraviolet radiation was obtained, but no "heavy type" was obtained.

(5) It was observed that morphological changes occurred most frequently in especially "olive" and "light" types through X-ray induced mutants.

Penicillium chrysogenum Q176 振盪培養に於ける大豆油の影響

(第 5 報) 大豆油成分の Penicillin 生産に及ぼす影響

安田春太郎, 木下勝司, 榎本秀夫 (明治製菓株式会社, 川崎工場)

昭和 26 年 6 月 20 日 受理

Effect of Soybean Oil on Shaking Cultures of *P. chrysogenum* Q176. Part 5. Effect of the Constituents of Soybean Oil on Penicillin Yield.

By Shuntaro YASUDA, Katzushi KINOSHITA and Hideo ENOMOTO

(Meiji Confectionery Co. Ltd., Kawasaki Plant)

既報に於て大豆油は penicillin 生産に對し著しい影響を示したが、本報に於ては大豆油を構成する脂肪酸、グリセリンの影響に就いて報告する。

實驗方法 培養方法に就いては L.C (乳糖 3% 單用), S.F.L. (既報 S.F.P. 培地の peptone の代りに C.S.L. 1% 添加したもの) 培地の 2 種を用い培養條件は既報に同じ。供試薬品は次の如し。

Oleic acid (N.V 197.4, S.V 147, I.V 112.5, glycerol (局法), palmitic acid (NV 204, S.V 233, I.V 5, 平均分子量 240.8), stearic acid (N.V 175, S.V 173, I.V 3.4), 飽和固形脂肪酸 (TWITCHELL 法に依り大豆油より分離したもので N.V 127, S.V 160, I.V 12) 別に lauric acid (N.V 274, S.V 276, I.V 2.2) を参考迄に使用して見た。

これらをそれぞれ別に 120° 加壓殺菌し、無菌的に所要濃度になるようピペットで加えた。固形のものは熱時加えた。

實 驗 成 績

實驗 I. オイレン酸の影響 既述の 2 種類の培地で添加量添加時間を變えて 5 回にわたる實驗を Table 1 に、別に既述とは異なる純度のオレイン酸に依り殺菌條件に依る penicillin 生産に對する影響を見た成績は Table 2 に示す。

Table 1. Effect of Oleic Acid on Penicillin Yield

Exp. No. Medium Inocula	1 L.C Spore		2 S.F.L Spore		3 L.C Mycel (48hr. cult)			4 S.F.L Mycel (48hr. cult)			5 S.F.L Spore
	Before Steril†	0hr.	Before Steril	0hr.	0hr.	24hr.	48hr.	24hr.	48hr.	48hr.	48hr.*
Oleic acid Adding age	max.	max.	max.	max.	max.	max.	max.	"	"	"	"
Oleic acid adding %	aver.u/cc	aver.u/cc	aver.u/cc	aver.u/cc	aver.u/cc	aver.u/cc	aver.u/cc	"	"	"	"
(control)	—	210	—	233	116	—	—	263	—	—	169
0.01	—	103	—	240	—	—	—	—	—	—	*
0.02	—	156	—	236	—	—	—	—	—	—	—
0.03	—	—	—	—	163	148	178	—	—	—	—
0.05	59	200	213	227	—	183	168	324	300	—	184
0.05 × 2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	320	—
0.10	—	—	—	—	—	—	—	—	355	—	227
0.20	—	—	—	—	† Sterilization with broth						200
0.50	—	—	—	—	* Sterilized at 120°C, 30 min.						274