

生絲を褐色乃至暗色化する一分岐菌に就て

古 谷 榮 藏
坂 口 育 三Eizō FURUYA et Ikuzō SAKAGUCHI:—Sur une Espèce d'Actinomyces
Rendant la Soie Grège de Brun à Noire.

緒 言

昭和10年11月教授遠藤保太郎氏より岡谷市角吉高木製絲場産出に係る黴色化する生絲の標本を贈られ之が研究を試みたり

元來生絲の褐變又は青變等に關しては遠藤教授の研究 (Investigation of the Rusty-Brown Discoloration of Silk Fibres caused by the Microorganisms. The Bulletin of the Uyeda Silk Technical College Vol. 1 No. 2, 1926. 及び蠶絲學雜誌 第八卷第一、二號) によりて明なるが如く其の原因微生物の寄生によること多し

余等は右高木製絲場に發生したる生絲の黴色化も亦微生物に由來すべきを想ひ 細菌の分離を行ひ其の有力なる原因菌と認むべき一分岐菌を検出せり 之に就き其の形態及び生物學的調査を行ひしにこは Actinomyces (Streptothrix) chromogena Gasperini に甚だ類似し少くとも其の一變種たるべしと認めたり 以下本菌の形態生理其他絹絲に及ぼす二三の性質に付き記述すべし

I. 菌 の 分 離

前記暗色生絲を細斷し之をペトリ皿内に固化せしめたるブイオン寒天培養基及びセリシン寒天培養基 (本培養基は繭層を水と共に autoclave 中にて 120°C にて30分間處理して得たる約1%セリシン溶液に 1.5%の寒天を加へて調製したるもの) 上に附着せしめ又は試料生絲を殺菌水と共に振盪して得たる液を用ひ前記培養基を以て扁平培養を行ひ 27°C に保護したるに何れも多數の聚落を發生せり 此等の聚落到就き肉眼及び低度顯微鏡を以て觀察し異種と認むべきものより鈎菌し稀釋分離法を繰返し純粹となしこれを水又は稀薄なるブイオンにて濕し且殺菌したる繭層及生絲に移植し變色の有無を檢せり 此の結果生絲及繭層を著しく暗褐色又は帶褐暗色となす一菌種を検出せり 之を假にB菌と命名す

尙本實驗中他に1種生絲等を少しく帶暗色となすものありしも 再三試験を繰返したる結果其の性なきを認めれば之を放棄せり

II. B 菌 の 性 狀

1. 形 態

本菌は非薄分岐性なる菌絲より成り(第一圖) 菌叢体は同質なり 生長繁茂する場合には始源部より放射狀に纏繞して發育し灰色の擬球狀を成す(第二圖) 之れ固態培養基中に於ては元

より液態培養基中に於て繁殖するときにも然りとす 従て培養液を濁すことなし

菌絲は直線的ならず又顯著なる Spirals をなさず迂曲して存す 培養 32°C 2日内外に亘れば菌絲は斷裂して片々の連鎖を形成す(第三圖)

Bouillon, peptone 水又は合成液態培養基中にて菌絲末端は膨大を成さず 即ち所謂塊狀体を作らず 固形培養基上に生育せる聚落にありては 32°C 1~2日培養にして空氣中に灰白色短纖毛即 aerial hyphae を密生し綿塊狀をなす(第四圖) 液態培養基中に於ても亦液面に發育したるものは灰白色 aerial hyphae を生ず 各 aerial hyphae は分岐を生じ所々に小結節を有す 而して aerial hyphae は一種の果梗にして發生後1~2日にして conidia に分裂し始む(第五圖)

Conidia は楕圓形をなし皮膜薄く普通染色にて容易に染む 其の大きさは一樣ならず 小なるは $0.5\mu \times 0.85\mu$ 大なるは $0.85\mu \times 1.25\mu$ なり 其の發芽は 32°C に於て2~30日間にして其の楕圓に於て始む 若芽は直線的ならず spiral にしてやがて分岐す

本菌は Gram 陽性なり

本菌は fuchsin, methylen blue, gentiana violet 等によりて容易に染色せらる 然れども抗酸性なし

2. 培 養

(a) 寒天扁平培養及葡萄糖寒天扁平培養

寒天扁平培養(32°C)發育よく 培養20時間にて表面 colonies は其の直徑1~2mm に達す colony は堅韌にして基質に膠着し 周全圓形をなし中央部高まり pulvinate なり 色は汚鉛色~汚灰色を呈し 而平滑にして光澤あり 其の質堅韌にして破碎し難し 若き colony を檢鏡するに始源部より周帯に到るに從て順次薄き纖毛組織 filamentous structure をなし 各纖毛は迂曲分岐す(第六圖) 埋沒聚落も亦同様 filamentous なり colony の周帯に於ける基質は暗褐色に着色せらる 培養少しく進めば光澤を失ひ粒狀質に變ず 培養2日なれば colony は徑2mm 内外となり 既に colony 面上に灰白色の纖毛質物即ち aerial hyphae を密生す 埋沒聚落は其の底部に位置するもの比較的小さく表層部に存するは徑2~3mm なり 埋沒聚落は圓形にして何れも汚灰色を呈し褐色素を出す 然れども表面聚落の場合より淡し 培養3日に亘れば表面 colony は少しく大きくなり徑3~4mm に達し 全面に密生する aerial hyphae のために灰白色~灰色となる 基質は愈々暗褐色濃厚となる 聚落の大きさは以後殆ど肥大せず 培養は著しく所謂ガビ臭を發す(第七圖)

培養進めば菌苔面の灰白色纖毛は衰耗し汚灰色又は汚黄色となり 基質は愈々色濃く帶褐暗色となる

葡萄糖寒天扁平培養(32°C)發育良く 培養20時間にして徑1~2mm 周全圓形 pulvinate の聚落を生ず 聚落は堅韌にして基質に膠着し汚灰色を呈し平滑光澤あり 聚落の周圍に於ける基質は褐變す 埋沒聚落は普通寒天扁平培養の場合と同様なり 培養少しく進めば光澤を失ひ粒狀質に變ず 培養2日に到れば徑2mm 内外に達し全面に灰白色の Aerial hyphae を生ずるものと中央部に暗褐色帯を残し周帯に aerial hyphae を生ずるとあり 培養尙進めば聚落の基本体は purplish color を呈す

(b) 寒天穿刺培養(32°C)

表面發育は類圓形を普通とするも又不規則形をなす場合もあり 培養1日内外にして徑1~2mm となる 菌苔は少しく隆起す 初め淡黄褐色にして面粗なるも光澤あり 然れども次で菌苔面乾燥し光澤消失し色相濃くなり暗褐色となり面上に多数の粗粒を形成し所謂 warty となる 培養2日内外に亘れば表面に灰白色短纖毛を密生す 此の纖毛は後黄褐色を帯ぶるに至

り徐々に衰耗す

刺溝發育は液態培養を振盪し之を種源として接種したる場合には點々結節狀發育をなすも多數の conidia を白金線に附着せしめて接種したる場合には太き線狀に發育す 何れも色は creamic なり 培養2日目頃より刺溝に直角的に粗毛束狀をなして發生す 刺溝發育は表面發育の如く色相を變ぜず老培養に於ても依然として creamic なり

基質は表面發育を認むると同時に其の附近暗褐色となる この着色は順時濃厚となり且つ廣がり又底部に進行す 但し刺溝發育よりはこの色素を生ずることなし

葡萄糖寒天穿刺培養を行ふに gas の發生を見ず其他發育狀況前記普通寒天の場合と同様なり

(c) 寒天斜面培養 澱粉寒天斜面培養 セリシン寒天斜面培養 フィブロイン寒天斜面培養

寒天斜面培養(32°C) 繁殖良く培養1日にして濕光澤灰色圓形聚落點々として接種線附近に發生す 聚落は經1mm内外にして隆起性なり 質は堅靱にして基質に膠着し剝離し難し 基質は聚落附近に於て暗褐色を呈す 凝水は清澄皮膜なく灰白色絮狀の沈渣少量を生ず 2日目には菌苔少しく増大し各獨立せし圓形聚落互に連結するに至るものあり 汚灰色~汚褐色となり表面顆粒質となり 光澤消失す 凝水は少しく褐暗色となるも濁らず 沈渣少しく増すも尙多しと云ふべからず

基質は褐暗色となり其の色素順次基質内に滲透擴散す。

3日目には菌苔隆起部に既に灰白色の短纖毛(aerial hyphae)を密生す 斯時 aerial hyphae は増殖し菌苔の全面を被ふ(第八圖) 凝水及基質は愈々褐暗色濃厚となる 其他は變化殆なく菌苔あまり腐がらず 後1~2日を経過すれば aerial hyphae は汚灰色となり菌苔の中帶部は帶狀暗灰色に變じ纖毛質消失す 老培養にありては aerial hyphae は衰耗消失し菌苔平滑暗褐色となり光澤を生ず 凝水上には汚灰色の皮膜を生ず基質の色相は一層濃厚となる

澱粉寒天斜面培養(32°C) 發育良く培養1~2日間は前記普通の寒天斜面培養と同様の發育をなすも aerial hyphae の發生寧ろ早く培養2日にして既に菌苔の全面を被ふに至る

3日目頃より普通寒天培養基の場合と異り aerial hyphae は其の纖毛質を失ひ 暗灰色砂粒狀物に變じ 其の間光澤強き白色粒狀物撒在し恰も銀砂を撒けるが如き觀を呈す 然れども尙周邊は白色纖毛によりて縁取る

培養5日目頃に至れば面上帶青暗灰色となり白色銀砂狀粒狀物消失す 其の後老培養に至るも變化なし。

凝水、基質の變色等普通寒天培養の場合と同様なり

セリシン寒天斜面培養(32°C) 發育は普通寒天培養基の場合に稍劣り培養1日にては僅にその發育を認むる程度なり 培養2日に到れば接種線に沿ひて點々徑1mm内外の聚落を生ず 聚落は pulvinate にして淡褐色を呈し面粗糙にして少しく光澤あり 次で菌苔は汚褐色となり光澤を失ひ顆粒狀となる

3日目頃より菌苔面上に灰白色の短纖毛を密生す(aerial hyphae) 基質及凝水の狀況は普通寒天培養基の場合と同様なるも暗褐色の色調や、薄し

培養5~6日に到れば aerial hyphae は衰耗し菌苔暗灰色となり凝水面上に汚灰色の厚き皮膜を生ず

尙綿絲湯寒天培養基に接種するにセリシン寒天と略同様の發育をなす

但しセリシン寒天培養基の調製次の如し

本培養基は鹵層を autoclave 中にて水と共に處理して得たる sericin 溶液 (sericinの約1%を含有す) に 0.5% 食鹽及 1.5% 寒天を加へて調製したるものなり

フィロイン寒天斜面培養(32°C) 本培養基に培養するに24時間にして接種線に沿ひて徑1mm 内外の圓形聚落點々として發生す 若し多數の conidia を接種すれば細帶狀發育をなす 菌苔は透灰色蠟様にして平滑光澤あり基質中に褐紫色の色素を擴散す

凝水は濁らず表面部に於て褐紫色を呈し淡黄色絮狀の沈渣少量を生ず

2日目菌苔面顆粒狀となり光澤を失ひ褐黄色となる 基質部の着色は褐色となる 培養3日目頃に至れば aerial hyphae を生じ且基質部は暗色を帯ぶ

本培養基の調製概要を述べんに精練せる菌層 5g に濃塩酸 30cc を注ぎ攪拌すれば糸絲は直に溶解す之を使用せし鹽酸の當量より少しく過剰の苛性曹達中 (溶液350cc) に攪拌しつつ徐々に注げば少しく乳白濁を呈する精製液を得 之を鹽素の無くなるまで透析し水を加へて 500cc となし之をフィロインゾルとなす 次で下の處方に從て培養基を調製す

{	寒	天	15.0g
	磷	二加里	1.0g
	硫	苦土	0.5g
	鹽	石灰	0.5g
	食	塩	0.5g
	塩	第二鐵	微量
	グ	セリン	20.0cc
フィロインゾル		1000.0cc	

(d) 膠扁平培養(20°C)

培養24時間にして僅に發育を認むることを得 2日目には充分觀察し得る程度に發育し 聚落の大なるは徑1mm 内外に達し滴狀をなし 基質を陥没せしめ 其の周邊を褐變す 聚落の色相も亦淡褐色をなす 聚落面は平滑にして少しく光澤あるも濕性なし

内部聚落は小形點狀にて灰色を呈し褐色素を出さず

檢鏡するに表面聚落は繊細なる縮毛様構造をなし中心部濃く外周部薄く纖毛は多少互に纏繞するも概して中心より外方に向て發育し放射的にして前出寒天扁平培養基上に生ずる聚落と其の構造同様に區別する所なく内部聚落も亦構造 filamentous にして表面のものと區別少し

培養3日目頃より表面聚落の面上に灰白色の aerial hyphae を密生す 其他變化を見ず 4日目頃より基質液化す 聚落は液面上に浮動して存し陥没せず

培養4—5日に亘るも聚落はあまり擴大せず徑2mm に達するもの少し 要するに此の培養に於ける聚落は小形なり

(e) 膠穿刺培養

培養1日にして僅に發育を認め2日なれば刺溝部に淡黄灰色點々結節狀に發育し 刺口に於ては顆粒質汚灰色の發育をなし膠質面に凹窩を形成し其の附近を褐變せしむるも未だ基質を液化するに到らず

培養3日に亘れば刺溝部に於ける結節狀發育は連絡狀を呈し 各結節よりは長さ1mm 内外の纖毛束狀をなして發生す 表面發育は隆起性にして顆粒狀をなし暗褐色を呈し灰白色の aerial hyphae を密生す

培養4日目頃より刺口部の基質は小皿狀に液化し始む 後液化は徐々に擴がり管型に達す 培養の始より此の狀態に達するには約2週間を要す 又液化は徐々に層狀となる

液化部は深暗褐色を呈し暗褐色素は未液化部に滲透擴散す

培養長きに亘るも刺溝部は培養3日頃の状況と異なる所少く液化現象を呈せず又色素を出さず

(f) 馬鈴薯培養(32°C)

繁殖良く培養20日間にして既に接種線に沿ひてやゝ高まりて發育す面平滑淡黄色を呈し光澤あり 次で數時間にして面顆粒状となり光澤失せ淡褐色～淡暗色となる 基質は菌苔附近に於て少しく帶褐暗色となる

2日目には大に高まり巾3mm内外に及び菌苔面は aerial hyphae を密生し灰白色を呈し大なる皺襞狀區劃をなす 周邊は不規則的波狀に出入す 基質は褐暗色～暗色を呈す

培養4～5日頃より表面に於ける aerial hyphae は衰耗し始め汚白色となり 次で暗灰色となり 終に暗褐色となる(第九圖)

菌苔は潰がりて發育することなく發育の極度に到るも巾5～6mmに過ぎずして限定的なり 充分發育したる培養は激しきカビ臭を發す

(g) 牛乳培養 リトマス乳清培養

脱脂牛乳培養(32°C) 培養1～2日にして牛乳は粘稠となり絮狀物を浮遊せしめ凝固の現象を呈す 次で上層部よりペプトン化を始め透明となる 全内容をペプトン化し半透液となすには培養10日内外を要す 其の間液は暗褐色に變ず 又此の間液面に粘靱にして破れ難き黄灰色菌苔を生じ液上管壁には黄褐色の輪環菌苔を生ず

リトマス乳清培養(32°C) リトマスを脱色す 又培養3～4日に亘りしものにつき試験するに液はアルカリ性反應を呈す

(h) ブイオン培養 葡萄糖ブイオン培養 ペプトン水培養

ブイオン培養(32°C) 培養1日にして管底に小中心點より發出する纖毛質より成る綿塊様灰白色沈澱を生ず 其の後徐々に液は暗褐色となるも濁濁を呈することなし 但し少しく沈澱を増す 次で(培養3日以上)液面に汚灰色～帶褐灰色の非薄なる菌苔を浮べ液面管壁に輪環を生ず 後膜は厚く強靱性のものとなる

液中の管壁には點々として絮狀發育附着して生ずることあり 終に液は濁濁せず 然れども暗褐色愈々濃く殆ど透視し得ざるに至る

葡萄糖ブイオン培養亦上記ブイオン培養と殆ど同様にして區別し難し
ペプトン水培養亦同様なり

3. 生 理

(a) アンモニアの生成

Bouillon, peptone 水等の培養に於て ammonia を發生す 但し多からず

(b) 硫化水素の生成

Bouillon 及 thiosulphate 加用 peptone 水に培養して試験するに終に硫化水素の發生を見ず

(c) インドールの生成

Bouillon 培養及 tryptophane 加用 peptone 水培養に於て終に indol を生成せず。

(d) 硝酸 リトマス メチルオレンジ等の還元

0.1% 硝酸加里加用 peptone 水に 32°C に於て10日間培養したるものに就き沃度亞鉛澱粉法及び meta phenylene diamine 法を以て試験するに 何れも結果陽性にして可成強く硝酸を還元することを示す

又本菌は methylen blue, lithmus 等を脱色する性あり 但本試験には bouillon, peptone 水, 牛乳等を以てしては試験菌のために液暗褐色となり添加色素の變色明ならざる憾あれば Ayers

氏液態培養基を以てせり (Ayers 氏培養基の處方は第IV項に在り但し上の場合には寒天を除く)

(e) 炭水化物よりの酸の生成

葡萄糖加用ブイヨン 蔗糖加用ブイヨン 乳糖加用ブイヨン等に接種し酸の生成の有無を試験するに何れの培養に於ても終に酸の生成を見ず

(f) 酵素の生産

次の數多の酵素の存否につき定性試験を行ひたるに次の結果を得たり 但(一)は存在せず(十)は存在を示す

Diastase	+	Urease	+
Invertase	—	Oxidase	—
Cellulase	—	Peroxidase	—
Lipase	—	Katalase	+
Protease	+		

Tyrosinase に就ては第IV項に於て述ぶべし

(g) 酸素の有無と發育

本菌は無酸素状態に於ては發育することなく常に酸素を要して發育繁殖す

(h) 反應と發育との關係

次表に示すが如き反應を異にせるブイヨン培養基を調製し之に試験菌を接種し 32°C の定温器中に保護し日々其の繁殖及液の褐變狀況を調査したるに次表の成績を得たり

但し (一)……全く繁殖せざるもの

(十)……少しく繁殖して少量の絮狀物を生じ液少しく褐變す

(十十)……中量の絮狀物を生じ液褐變す

(十十十)……充分繁殖し液暗褐色を呈す

又各反應度は中性ブイヨン1000ccに對し加へたる一規定塩酸又は一規定苛性曹達のCC數なり

反應度	培養日數			反應度	培養日數			
	PH	1	2		3	PH	1	2
酸性 40°	2.85	—	—	アルカリ 5°	7.17	十	十十	十十十
同 30°	3.13	—	—	同 10°	7.70	十	十十	十十
同 20°	3.39	—	—	同 15°	8.41	+	十十	十十
同 15°	4.31	—	—	同 20°		+	+	十
同 10°	5.15	+	+	同 30°		—	—	+
同 5°	5.97	十	十	同 40°		—	—	—
中性	6.80	十	十十					

上の成績によりて見るに中性 (PH=6.80) よりアルカリ 10° (PH=7.70) に至る間に於てよく繁殖し就中アルカリ 5° の場合に最もよく繁殖する様思はる

(i) 温度と發育との關係

試験菌を寒天斜面培養基に接種し次表に示すが如く夫々一定温度に保護し毎日其の發育の狀況を檢したるに成績次の如し

但し (一)……發育を認めず

(±)……發育疑問

(+)……發育明なるも少し

- (廿) … 點々聚落を生じ其の徑 1mm 内外となり凝水中少量の絮狀沈渣を生ず
 (卅) …… 充分に發育す

培養日數 適用溫度	1	2	3	4	5	6	7	8	10
8°	—	—	—	—	—	—	—	±	+
10 "	—	—	—	—	—	—	+	+	
12 "	—	—	—	—	+	+	+		
15 "	—	+	+	++	++	++			
17 "	—	—	+	+	++	++			
22 "	+	++	+++						
27 "	++	+++	+++						
32 "	++	+++	+++						
37 "	++	++	+++						
42 "	+	+	+	+	+	+	+		
45 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—

右の發育の狀況より見るに 32°C に於て最良の發育をなしそれに遠ざかるに従ひ發育不良となるを見る 従つて optimum temp. は 32°C 附近にあるが如し 42°C に於ては初め少しく發育するも其の後増殖の跡を見ず 45°C 以上にては全く發育せず又低温に於ては常型の通り其の發育遅々たるも尙發育す

(j) 胞子の耐熱性

胞子を少量の殺菌水中(約0.5cc)に浮遊せしめ之を一定時間 60°C 定溫度の水中に保温し次で中性ブイオン中に接種し 32°C 定溫器中に保護し發育の有無を検したるに其の結果次の如し

60°C にて 30分間處理したるものは尙生存しブイオン中にて發芽發育したるも 35分間處理したる場合は已に破壊死滅して終に發芽するものなきに至れり 尙夫以上長く 60°C にて處理したるものは全部死滅せり

これによりて見れば本菌の胞子の濕熱に対する抵抗は 60°C 35分以内なり

乾熱に對しては其の抵抗甚だ強く 100°C に於て 7時間處理するも尙生存し 120°C にて處理するも尙 2.5 時間之に耐へ 2時間45分にて初めて死滅せり

III. 種の同定

本B菌は分岐性菌糸より成り固形培養基上の發育は隆起性にして基質に粘着して離れ難く表面乾性にして粗糙なり 而して發育少し進めば空氣中に遊出する菌糸(aerial hyphae)を生じて一見黴の如き外觀を呈するに至る 又内生胞子は之を形成せざるも菌糸の分裂によりて conidia を生ず 以上によりて見れば Actinomyces (Streptothrix) に屬す 而して其の性状によりて檢索するに就中 Actinomyces (Streptothrix) chromogena Gasperini に甚だ酷似す 今主なる特徴を對比すべし

	Actinomyces chromogena Gasperini	B 菌
形 態	分岐性菌糸より成り菌糸は屢々明に隔膜を生じて長短各種の部分に分裂す aerial hyphae は分裂して coccoid conidia に分裂す	同様 但し胞子の形状 ovoid なり
Gram 染色	陽 性	同 様
膠 局 平	圓形にして少しく隆起し帯褐色を呈す 但中央部は乾性の白蠟狀外觀を呈しやがて concentric となる 聚落の附近は暗褐となり徐々に膠質を溶解し其の液面に灰白色の菌苔を残す 檢鏡するに纏繞せる絨毛より成り中心部は濃くして不透明なるも周邊部は薄くして絨毛質なり	聚落は concentric となることなきも 其他略同様なり
膠 穿 刺	刺溝部に於ては培養のある時期に於て短絨毛束狀をなして發出す 表面發育は膠局平の表面聚落到に類し徐々に膠質を表面より下方に溶解す	同 様
寒 天 穿 刺	深部に於て粗毛を發出す 表面發育は隆起性にして初め帶黄色濕性光澤あり後乾性となり面は疣狀となる 基質は濃褐色を呈す	略同様
寒 天 斜 面	帯褐色にして僅に廣がりて發育す、次で灰白色となる	同 様
ブ イ ヨ ン	初め delicate の膜を生じ 後此の膜は破れ難き強靱性のものとなる	同 様
葡 萄 糖 ブ イ ヨ ン	管底に生ずる發育は中心より放射性塊をなし 液稠變す	同 様
牛 乳	表面發育は強靱にして黄褐色を呈す 液はペプトン化されアルカリ性を呈す	表面發育の色相黄灰色を呈す 其他同様なり
馬 鈴 薯	初め帶黄色次で黄褐色となり後灰白色となる 培養基質は濃褐色又は黒色を呈す 培養は激しき穢臭を發散す	初め淡黄色光澤あり 次で淡褐色又は淡暗色となり 後 aerial hyphae を生じ灰白色となる 其他同様なり
發 育 溫 度	20°C にて良く發育するも適温は 37°C なり	22°C にても可成よく發育す しかし適温は 32°C 附近なり
酸素に對する關係	好氣性	同 様

以上に對比したるが如く B 菌は胞子の形状發育溫度菌苔色相等に於て Actinomyces chromogena Gasperini のそれ等に少しく相異なるも其他主要點に於て殆一致す

IV. 褐色及至暗色素の生因

既に第 II 項に於て述べたるが如く B 菌をブイヨン 牛乳 セリシン フィブロイン 馬鈴薯等に培養すれば何れも其の培養基質最初褐又は暗褐色を呈し後色調濃くなり暗色化に轉移せり

これ tyrosinase によりて tyrosine の melanine 化する場合の常型に一致し 且又此等培養基は tyrosine 又は tyrosine 化合物の存在の推定せらるる 物質を榮養源としたるものなれば右培養に於ける褐色~暗褐色~暗色素の生成はB菌の Tyrosinase の生産に基くべき疑あり然るに tyrosine 又は tyrosine 化合物を含有せざる培養基に培養するに下記實驗例の如く褐色~暗褐色等の呈色反應を示すことなし 即ち

1. Ayers 氏寒天……菌苔 yellowish pink color となり僅に基質を同色に染む
2. Ushinski 氏寒天… 菌苔 pink 又は purplish color となるも基質を變色せしむることなし
3. Conn 氏寒天……菌苔 pink 又は purplish color となり僅に基質を同色に染む
4. Mc Beth 氏寒天……菌苔黄色を呈するも基質を染むることなし
5. Waksman 氏寒天……菌苔灰色を呈するのみなり

但し之等の培養基の組成次の如し

Ayers 氏寒天

寒	天	15.0g
磷酸アンモニア		1.0g
塩化加里		0.2g
硫酸苦土		0.2g
葡萄糖		10.0g
水		1000cc
反應(苛性ソーダにて中和す)		中性

Conn 氏寒天

寒	天	15.0g
グリセリン		10.0cc
磷酸二加里		1.0g
アスパラギン酸曹達		1.0g
水		1000cc
反	應	中性

Ushinski 氏寒天

寒	天	15.0g
グリセリン		30—40g
磷酸二加里		2—2.5g
食鹽		5.0g
乳酸アンモニア		6—7.0g
アスパラギン酸曹達		3—4.0g
鹽化石灰		0.1g
硫酸苦土		0.2—0.4g
水		1000cc

Mc. Beth 氏寒天

寒	天	10.0g
可溶性澱粉		10.0g
硫酸アンモニア		2.0g
磷酸二加里		1.0g
硫酸苦土		1.0g
食鹽		1.0g
炭酸石灰		3.0g
水道水		1000cc

Waksman 氏寒天

{	寒 天	15.0g
	硝 酸 曹 達	2.0g
	硫 酸 苦 土	0.5g
	塩 化 加 里	0.5g
	磷 酸 二 加 里	1.0g
	硫 酸 第 一 鐵	0.01g
	葡 萄 糖	30.0g
	水	1000cc
	反 應	中 性

次に此等の合成培養基に tyrosine を添加し之れに培養 (32°C) するに Waksman 氏寒天の場合の外何れも培養 1 日にして菌苔の周囲の基質を明に褐色又は暗褐色となし 2 日目には暗褐乃至暗色となす特に Ushinski 氏寒天及 Conn 氏寒天の場合に色調濃く暗色と云はんよりも寧ろ黒色を呈す

Waksman 氏寒天に tyrosine を添加したる場合に呈色反応を示さざるは異とする所なるも tyrosine の外に aspartic acid を附加して行へば暗色現象を呈するに至る 然れども他の amino acids 例へば glycocoll, leucine, alanine, phenyl-alanine, cystine 等を tyrosine と混用するも褐〜暗色等の呈色現象を示すことなし 之を上記 aspartic acid を窒素源として用ひたる Conn 氏培養基及 Ushinski 氏培養基に tyrosine を添加して培養したる場合に於て特に色調濃厚となることと合せ考ふるときは tyrosine 添加による B 菌の色素 (褐〜暗色) 生産は aspartic acid によりて促進せらるゝが如し 然れども果して如何なる理由によりて然るかに就ては尙詳細なる研究に俟ざるべからず

次に Conn 氏寒天, Ushinski 寒天, Mc Bath 寒天に B 菌を接種し充分發育を待つて之れに thymol を加へ殺菌防腐し次で tyrosine 溶液を加へ保温 (32°C) しおくに 2 時間内外にして明に暗褐色となり やがて暗色に移行す

以上ブイヨン 牛乳 セリシン 馬鈴薯等の培養に於ける観察と合成培養基を以てなしたる實驗結果とより見るに B 菌の褐色乃至暗色素を生ずるは全く本菌の tyrosinase 生産性に基くなり

V. B 菌の接種による生絲菌の變色

Petri 皿に一粒線生絲約 2 瓦宛を入れ水道水を以て濕し之を 1 日 30 分宛 3 日間 100°C の蒸汽を以て殺菌し 之に B 菌の conidia を接種し 32°C に保護したるに 1 日にて褐變し 次で色調濃厚となり 2 日目には暗褐色に變じ 尙目を經るに従つて暗色度を増し濃暗褐色となり 一方稀薄なるチロシン溶液を添加して conidia を接種したるものにありては一層強く暗色を呈せり 勿論菌の接種を行はずして同様に處理したる對照區に於ては變色現象を認むることなし 又他に生絲 菌を以て實驗するも亦同様の結果を示せり

又小棒上りの生絲に接種して (此の場合には殺菌操作を行はず從て各種雜菌も亦共に繁殖すべし) 濕潤状態にて 32°C に保護したるに之亦暗褐色となり徐々に色調暗色に傾くを見る 併し乍ら共存する雜菌の奈何によりては或は斯くの如き變色を呈せざることなきにあらざるべし

要するに上述の變色現象は第 IV 項に實驗證明したる B 菌の分泌したる tyrosinase の作用に歸すること疑ひなく變色の經路も一般 tyrosinase による melanine 生成の場合の常型に従ふ

以上本菌による生絲の變色狀況より見るに本研究の試料となしたる生絲は本菌の寄生によりて初め褐色を呈し時の経過に従て終に暗色化したるものと考へらる

VI B 菌の絹絲に對する脆化作用

本菌は protease 生産性なるを以て絹絲に寄生せば之を分解脆化する處あり 仍て之がため次の實驗を行へり

實驗 1:— 小形 Erlenmeyer flasks に通常のブイオンを水道水を以て 2 倍量に稀釋したるもの (ペプトン 0.5% リービツヒ肉エキス 0.5% 食塩 0.2%) 又は製絲繰絲湯を 20cc. 宛入れ尙此等に夫々本練絹絲 (市販縫絲にして 150 デール内外) の小綴 1 綴宛を入れ綿栓を施し autoclave 中にて 120°C 15 分間殺菌し冷却し對照用のものを除き夫々試驗菌のブイオン培養 1 白金耳量宛を接種し 32°C にて 7 日間保護し 次で絹絲綴を取出し充分に水洗し steam bath 中にて乾燥し 次に室内に懸吊しおき水濕を一定として強伸度を測定せり 強伸度測定には Schopper's Testers を用ひ 20 回測定の平均値を基礎として成績を算出せり 但し供試綴絲の水分平均 8.1% 測定時の室内温濕度 21°C 75% なり

培養區分	試験區分	強力 g/dr	對照區に對する 強力増減 %	伸 度 %	對照區に對する 伸 度増減 %
ブイオン區	試験菌接種區	1.74	-56.72	5.18	-68.62
	對 照 區	4.02		16.51	
繰絲湯區	試験菌接種區	1.34	-65.10	2.74	-83.03
	對 照 區	3.84		16.15	

實驗 2:— 接種用として conidia を用ひ培養用ブイオンは常用濃度 (ペプトン肉エキス各々 1% 食塩 0.5%) のものを用ひ培養期間を 5 日間となし他は實驗 1 と同一處理を施して試験したるに次の結果を得たり

但し強伸度測定に供せし絲の平均水分 9.78% 測定時の室の温濕度 27°C 72% なり

培養區分	試験區分	強力 g/dr	對照區に對する 強力増減 %	伸 度 %	對照區に對する 伸 度増減 %
ブイオン區	試験菌接種區	3.11	-18.80	13.34	-27.18
	對 照 區	3.83		18.32	
繰絲湯區	試験菌接種區	1.46	-63.04	4.27	-76.73
	對 照 區	3.95		17.56	

右二例の實驗結果によりて見れば本菌を生活状態に於て 5~7 日間 (32°C) 絹絲に作用せしむれば之を激しく脆化するを知る 而して培養液の養分濃度稀薄なるものに於て却つて著しきが如し 之れ養分稀薄なる場合には其の比較的濃厚の場合よりも細菌増殖等のために要する養分を絹絲の分解によりて求むる作用一層強き結果なるべし

次に繭層を中性石鹼を以て精練し之を本項實驗 1 と同様に處理して (培養基は繰絲湯を用ふ) 手もて之を試みるに容易に切斷し甚だしく脆化せるを知る 尙之を檢鏡するに細纖維條線顯出し或は所々に龜裂を生じ全面的に著しく損傷せるを見る 又部分によりては激しく侵蝕せられ纖維全く崩潰状を呈する所あり (第 10 圖)

實驗 3:— 實驗 1 と同様の稀釋せるブイオン 0.2% ペプトン水及び繰絲湯を 20cc. 宛小

形 Erlenmeyer flasks に入れ各 3 ケ宛を作り之を殺菌し conidia を接種し 32°C にて 3 日間培養し（此の間充分なる繁殖をなす）各 1 筒を 30 分間蒸気釜中にて加熱し生活菌を殺滅し酵素を破壊し以て對照區用に供せり 次に夫々 toluol を加へ振盪し本練絹絲の小繩一ケ宛を入れ堅く締栓を施し 32°C に於て時々振盪操作しつゝ 7 日間處理し次で水洗乾燥強伸度測定等實驗 1 と同一に取扱ひたり 尙本試験に於ては絹絲の損失量を併せ測定せり 其の結果次の如し 但し測定せられたる絲の平均水分 8.75% 測定時の室の温湿度は 29°C 64% なり 又供試絹絲は特に調製したる諸絲（上撚 530/m. 下撚 480/m.）にしてその強力の變化係數 4.86% 伸度の變化係數 7.02% なり

培養基區分	試験區分	損失 % (對乾物)	強 力 g/hr	對照區に對 する強力の 増減 %	伸 度 %	對照區に對 する伸度増 減 %
ブイヨン區	非加熱區 1	1.12	3.25	-15.80	9.32	-20.00
	同 2	1.32	3.42	-11.40	9.05	-22.32
	加熱對照區	0.16	3.86		11.65	
ペプトン水區	非加熱區 1	2.24	2.88	-25.39	6.60	-45.23
	同 2	1.71	3.06	-20.72	5.50	-54.36
	加熱對照區	0.21	3.86		12.05	
練絲湯區	非加熱區 1	2.02	2.65	-28.57	7.02	-49.42
	同 2	2.36	2.52	-32.08	6.72	-51.58
	加熱對照區	0.48	3.71		13.88	

之によりて見れば本菌は直接生活体に非ざるも酵素的に尙よく絹絲 (fibroin) を脆化する能力を有することを知る

總 括

1. 岡谷市角吉高木製絲場に於て白繭絲中に偶發せし黴色生絲に就き其の原因を探究し有力原因と認むべき一分岐菌を分離せり

2. 本菌は其の性状に於て *Actinomyces chromogena* Gasperi といふ甚だ酷似し同一種と認めらる

3. 本菌は 22°C 乃至約 40°C までの溫度に於て濕れる生絲繭等の上によく發育し半日にして既に之を褐變せしむ尙長く作用せしむれば生絲等は暗色化するに至る

4. 本菌の作用によりて生ずる褐色乃至暗色化は本菌の生産する tyrosinase のために tyrosine が melanine に變ずるに因る

5. 本菌が絹絲上に繁殖すれば絹絲は著しく脆化せらる 若し 5~7 日間作用すれば絹絲の強力並に伸度は僅に半減するに至る

本菌によりて脆化せられたる絹絲は之を檢鏡するに或は條線顯出し或は所々に龜裂を生じ或は激しく侵蝕せられて崩潰す

6. 元來本菌は空氣、水、土壤等廣く自然界に存するものにして動もすれば絹絲に附着繁殖して之を變色又は脆化する虞あり 若し一度附着したるものが濕氣と溫度 (20~40°C) に恵まれるゝならば半日内外にして變色現象を呈するに至るべし 本菌による變色脆化の豫防法は絹絲を早く乾燥し常に乾燥状態になしおくを最も簡便且つ有效なるものとす一旦本菌の附着繁殖により

て變色現象のあらはれたるものは之を 60°C の濕熱にて35分間以上處理すれば殺菌することを得 乾熱を用ゐて殺菌せんとするも高熱長時間を要し且絹絲を損傷して不可なり

本研究の材料は遠藤教授より寄與せられ且本研究を懇懇せられたり 茲に同氏の厚意に對し深く感謝す

(於 上田蠶絲專門學校)

文 獻

遠藤保太郎—Investigation of the Rusty—Brown Discoloration of Silk-Fibers caused by Micro-organisms (The Bulletin of the Uyeda Silk Technical college Vol. 1. No. 2, 1926.)

同 氏 絹絲の青斑と其の原因 (蠶絲學雜誌 第八卷 第一、二號)

佐々木秀一 病原細菌學

竹内松次郎 近世細菌學及免疫學

Chester — A Manual of Determinative Bacteriology.

Bergey — Manual of Determinative Bacteriology

Dopter et Saquépée — Bactériologie Vol. 1. II.

Fred and Waksman — Laboratory Manual of General Microbiology.

Society of American Bacteriologists — Manual of methods for Pure Culture Study of Bacteria.

(受理 昭和11年7月31日)

Sur une Espèce d'Actinomyces Rendant la Soie Grège de Brune à Noire.

Eizō FURUYA et Ikuzō SAKAGUCHI

Ruqū, 31, Juiller 1936.

Résumé

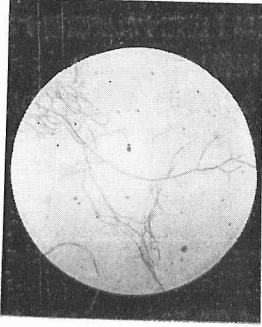
1. Ayant reçu de la soie grège teinte du noir qui eut lieu dans des soies blanches chez l'Usine de Filature de Takagi (Suwa, Japon), nous avons recherché des causes lesquelles donnaient naissance à la teinte noire. Dans ces travaux nous avons isolé une espèce d'actinomyces qui résulte les teintes du brun noirâtre au noir sur la soie grège. En comparant ses propriétés à celles d'actinomyces chromogena Gasperini, elles ressemblent bien les unes avec les autres. Nous identifions ces deux actinomyces à la même espèce.

2. Cet actinomyces se développe bien de 22°C à 40°C environ sur la soie grège et le cocon mouillés, et à bout de demi-journée ils sont déjà teints en brun, avec le temps vers la teinte noire.

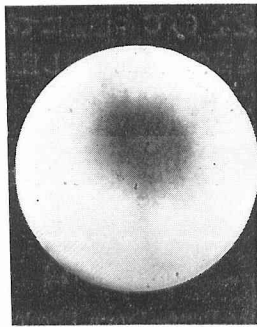
3. Les teintes énumérées ci-dessus sont à cause de la mélanine qui est composée de tyrosine par l'action de la tyrosinase laquelle l'actinomyces produit.

4. Si cet actinomyces se développe sur la soie, il la rend remarquablement fragile; en 5—7 jours d'action, elle se dégrade au plus que la moitié de la force et de l'élongation. Si l'on observait à l'aide du microscope la soie qui a été dégradée par la cause énumérée ci-dessus, on reconnaîtrait qu'elle montre des striations, soit qu'elle se crevasse ça et là, ou bien qu'elle se désagrège.

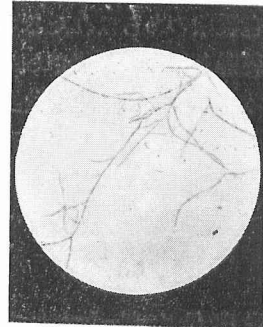
第一圖



第二圖



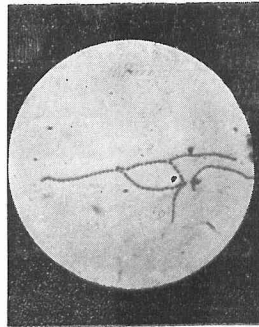
第三圖



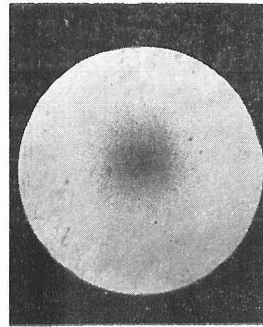
第四圖



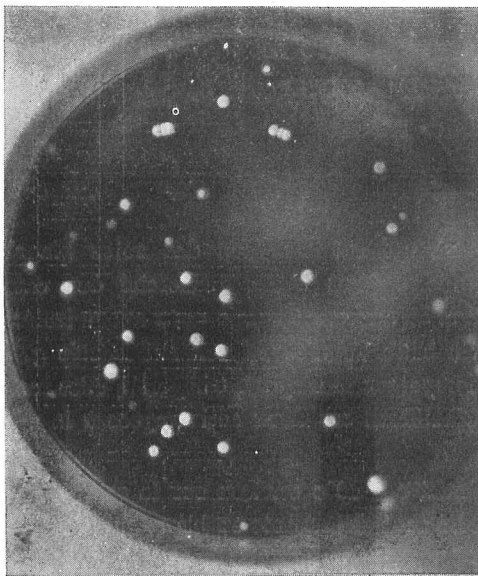
第五圖



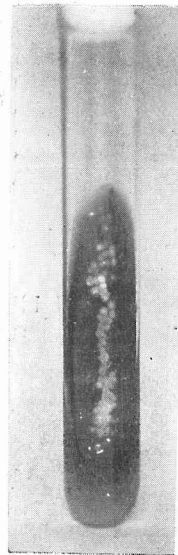
第六圖



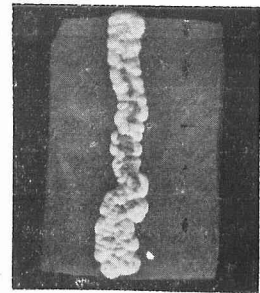
第七圖



第八圖



第九圖



第十圖

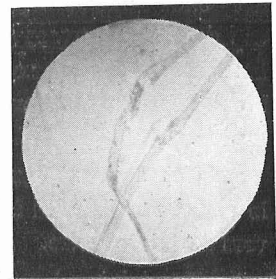


圖 版 說 明

- 第一圖 菌 絲 ×176
- 第二圖 Actinomyces 菌塊 ×40
- 第三圖 斷裂せる菌絲 ×358
- 第四圖 Aerial hyphae ×12
- 第五圖 Aerial hyphae, Conidia に分裂す ×397

- 第六圖 寒天扁平培養表面聚落 32°C ×40
- 第七圖 寒天扁平培養 32°C 3日間培養
- 第八圖 寒天斜面培養
- 第九圖 馬鈴薯培養 32°C 5日間培養
- 第十圖 B 菌による絹絲の崩潰、32°C 7日間作用 ×88