

(434)

(長西, 能美) 放線状菌の分類に関する研究 (第4報)

放線状菌の分類に関する研究 (第4報)

Streptomyces viridochromogenus の形態

長西 廣輔・能美 良作 (広島大学工学部醸酵工学教室)

緒 言

第3報¹⁾に於て *Streptomyces coelicolor* の形態に就いて報告しその気菌糸の分岐状態及び末端菌糸に生ずる spiral の形状に就いて記載した。その際 spiral の捲方式が分類の標識として充分の利用価値のあることを指摘し *S. coelicolor* の spiral は右捲であることを報告した。本報に於ては *S. coelicolor* と殆んど同様な形態を示すが spiral が反対に左捲である *Streptomyces viridochromogenus* に就いて報告する。

Spiral の捲方式の観察に際してはその鏡檢標本の作成方法が大きな關係を持つものである。乾燥、固定、染色を用うる方法はすべて spiral を一平面に押しつけて観察するものである故 spiral 捲方式の観察は困難である。又 slide culture 法による時は培養をそのまま鏡檢する場合對物鏡を標本に近づけ得る間隔に自ら制限があるものである。その結果高倍率鏡檢が困難となり観察不充分となり易い。筆者等の cover culture 法²⁾ はこれ等の缺陷を除き得るものであり油浸による高倍率を使用し而も發育せるままを發育の初期より充分な成熟の後まで極めて多數例に於て観察可能である。その結果 spiral の性状に關しては從來の考え方に可成りの改訂を必要とするものと考えられる。

實 験

本實驗に使用せる菌株は *Streptomyces viridochromogenus* (Krainsky) Waksman (IFO, 3113) にして財団法人醸酵研究所より分譲を受けたものである。

〔1〕 培養の性質——培養温度は前報に同じ

1. Czapek-Dox agar slant (C源: Glucose)——發育旺盛なるも気菌糸の形成は遅れる。榮養菌苔は扁平擴散性最初無色次第に帶緑暗黒色より黒褐色系の着色をなすが気菌糸の形成するに至つた時急速に濃色となる。気菌糸は菌苔周縁より次第に生成し最初白色後青緑色を帶び Court Gray (RIDGWAY: Color Standards and Nomenclature, 以下 R. C. S. と略記) を經て Dawn Gray (R. C. S.) の少しく淡色となる。粉狀乃至やゝ綿狀なり。気菌糸の新鮮なる時期に一時上面に無色の小液多數を分泌するが間もなく消滅する。気菌糸の形成するに至れば淡き帶緑暗褐色の溶出色素を生産する。無機微量成分として $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01%, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001%, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0001% を添加すれば気菌糸形成速度が少しく早くなる。又 C源: Sucrose を使用せる場合は Glucose に比し気菌糸形成速度が遙かに早く溶出色素は殆んど無い。

2. Glucose-asparagine agar slant——發育良好、非擴散性で気菌糸の形成は少しく遅れる。榮養菌苔は最初無色後少しく暗色を帶び気菌糸の着色するに到ればやゝ紫色を帶びた淡灰褐色乃至淡灰黒色となる。気菌糸は最初白色粉狀なるも次第に青緑色を帶び Pale Niagara Green (R. C. S.) を經て Dawn Gray (R. C. S.) の少しく淡色となる。溶出色素は殆んど形成しないか微灰褐色である。

3. Nutrient agar slant——發育良好、気菌糸形成早く白色粉狀緻密なるも時日を経れば稍々綿狀となり色調は少しく微褐色を帶びたる白色、時に淡青緑色を現す。溶出色素は初期より生産し暗褐色であるが時日を経過すれば減少する。裏面褐色。

4. Carrot plug——發育旺盛、榮養菌苔は汚黄色乃至橙色で小皺多く厚みあり。気菌糸の形成も良く初期白色粉狀次第に青緑色を帶び遂には Pearl Gray (R. C. S.) に近くなる。暗色の溶出色素を分泌する。

5. Potato plug——發育旺盛、榮養菌苔は發育開始時に帶紫暗黒色なるも直ちに黒褐色後更に汚橙黄色となる。縷繆的捲縮状をなし厚みあり。気菌糸は早期より着生を始め次第に良好なる着生を示すに到る。白色粉狀である。溶出色素は早期より多量分泌され青黒色より濃暗黒色となり気菌糸の形成が良好となれば別に暗緑色の色素を分泌する如くである。但し時日を経過すれば溶出色素はすべて減少して行く。

6. Gelatin stab——初期穿刺口を中心に表面によく發育して皿狀に侵蝕し次第に擴大する。次いで表面より陥没し後表面に平行に液化を開始し下方に進行して行く。菌苔は初期より気菌糸を以て蔽われ最初白色後微かに

黄色乃至緑色を帯び織物状模様を有す。氣菌糸は液化が進行すれば少しく減ずる。溶出色素は暗褐色濃厚であるが一時やゝ緑色を帯びる時期がある。菌苔は液化後も上面に浮遊する。穿刺溝沿いには初期微かに發育が認められる。菌體による液化層の濁濁は認められない。

7. Starch plate —— 發育良好, 榮養菌苔は最初無色なるも次第に暗色となり後更に暗緑色の部分を生ずる。扁平にして強く擴散性の發育を示す。氣菌糸は最初疎にして次第に密になる。白色粉狀より後 Pale Niagara Green~Light Glaucous-Blue (R.C.S.) となる。溶出色素は生産せず。沃度液による澱粉の水解帶を示さない。Slant culture も略々同様な狀貌を呈する。

8. Glucose broth —— 發育良好, 初期黄色濕潤の皮輪を形成し後徐々に有皺厚みある菌蓋に發達する。菌蓋形成の頃には榮養菌苔は殆んど汚白色に褪せ又溶出色素の色に着色する部分もある。氣菌糸は粉狀にして皮輪及び菌蓋上に徐々に着生するが良好なる着生狀態は示さない。始め白色後淡灰青色となる。沈降菌體は殆んど無く菌體による液の濁濁も無いが初期より暗褐色の可成り濃厚なる溶出色素を分泌し上部より次第に下方に分泌擴散する。初發 pH 7.0, 終末 pH 9.0~9.2 (培養期間40日)。

9. Skim milk —— 發育良好, 榮養菌苔は皮輪より次第に菌蓋を形成する。始め黄白色, 一時緑色, 汚橙色等を現すこともあるが後汚褐色となる。厚みあり有皺にして凹凸甚だし。氣菌糸は良好ならざるも白色粉狀のものを着生する。coagulation 微弱, peptonizing power 陽性にして強力なり。溶出色素は濃厚なる橙褐色。初發 pH 6.1, 終末 pH 6.8 (培養期間30日)。

【I】顯微鏡的形態 —— 觀察に際しては第1報の cover culture 法²⁾ を使用し培地としては短期間に良好なる氣菌糸を形成する Nutrient agar 及びその5倍稀釋液寒天, 更に第2報²⁾ の CB-1, CB-2, CB-3 等を使用したがつべて同一形態を示す。形態は第3報¹⁾ の *S. coelicolor* とよく類似して居り相違點の主なるものは spiral の捲方式に左右の別があることである。

1. 氣菌糸 —— 横壁なく以下の如き特徴を有する。

a) 分枝狀態: 主軸上より單軸狀に分枝を出し分枝は主軸上一點より纖形狀に分枝して terminal hyphae となることが多いが相互に分枝を出すことも屢々である。主軸先端は一本又は纖形狀分枝をなして terminal hyphae となる。主軸より分岐せる分枝が更に主軸同様の分岐をなすこともある。單純なる場合には榮養菌糸より分岐せる氣菌糸 (成熟後 oidiphore に相當する) から單軸狀相互乃至纖形狀に數本の terminal hyphae を出して sporulation を行う。

b) 末端菌糸 (terminal hyphae): terminal hyphae には多數の spiral を有し wavy hyphae も存在する。

c) 孢子形成 (sporulation): terminal hyphae が分裂子 (oidia) となりその分岐點以下の hyphae は sporulation しない。

d) 螺旋體 (spiral): extended から compact に至る種々の型が存在する。如何なる條件で如何なる型になるか詳かでないが sporulation 前の spiral には compact のものが多い。これが sporulation を行う際少しく菌糸巾が太くなると同時に spiral が少しく開伸 (extend) する如くである。尙お充分成熟せる古い培養には extended spiral が多い。

spiral は左捲で徑2.2~4.8 μ 。捲回数2~6回が多くそれ以上のものも存在する。

e) 氣菌糸の巾: 0.7~1.2 μ 。

f) 分裂子 (oidia): 短橢圓形より長橢圓形乃至短桿型迄種々の型あり。0.7~1.0~(1.2)×0.9~1.6 μ 。發芽に際しては分裂子長軸方向の一端又は兩端より發芽しその際屢々僅かに膨潤する。

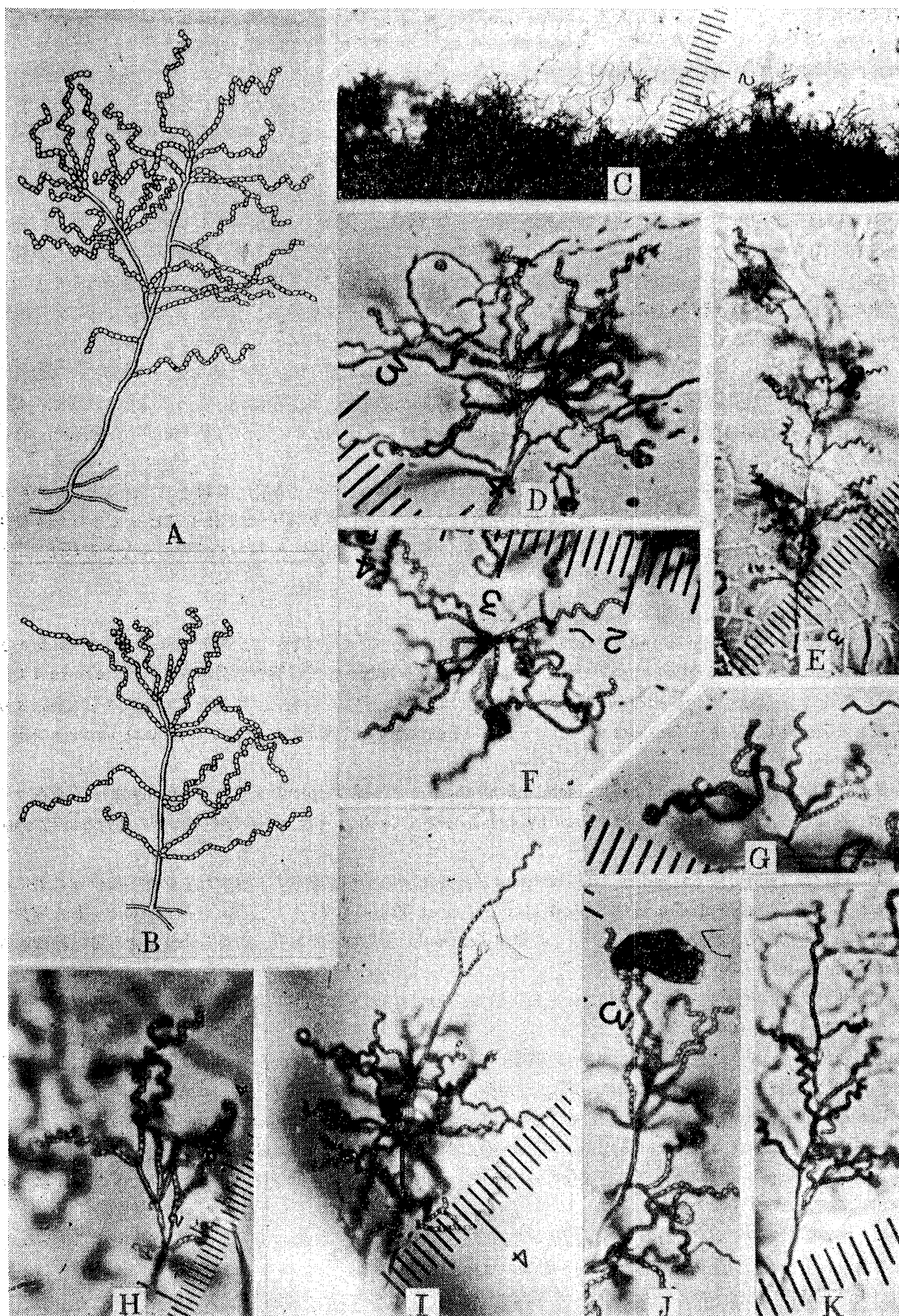
Czapek-Dox agar 等で屢々見られる稍々綿狀をなせる氣菌糸は long straight aerial hyphae が多く生成せる結果であるがこれは terminal hyphae の分岐點以下の菌糸であつて sporulation はしない。而して斯る場合も氣菌糸の分岐方式は略々上記と同様なものである。但し spiral の捲回数は上記より稍々多い場合が多く4~10回で15回に達するものもある。

2. 榮養菌糸 —— 不規則な分岐を行い横壁なく分裂子も形成しない。任意の場所より氣菌糸を發生し0.5~1.0 μ の巾を有す。培地内菌糸も横壁なく0.4~0.6 μ の巾を有す。

以上に記載せる氣菌糸の特徴を別圖の如く圖版並びに寫眞によつて示す (説明後記)。

(436)

(長西, 能美) 放線状菌の分類に関する研究 (第4報)



考 察

第3報¹⁾に於て右巻 spiral の例, 本報に於て左巻 spiral の例を報告したが兩者共 spiral 中には long open (extended) spiral より compact spiral に至る種々の型の存在することを示した。而して形態學的に前報の *S. coelicolor* に類似するものに第2報²⁾の No. 223があり本報 *S. viridochromogenus* に類似するものと同じく No. 133がある。これ等は培養的性質に於て夫々全然異種のものであるが(後報報告の豫定)分類學的にはよく類似せるものである。即ち形態學的には各器官に僅かの差異はあるが分岐状態はよく類似し、且つ最も特徴的形態である spiral の形状、着生状態もよく類似する。たゞこれ等兩型の spiral の巻方式に左右の別のあることが主たる相異点である。

尙これ等菌株の spiral 觀察に際して Waksman: The Actinomycetes の記載の如く同一株に左右兩巻方式が存在して分類の標識として不適當と斷ずる如き現象は全く見出すことが出来なかつた。寧ろ事實はその反對であり、もし假りに左右兩巻方式を有する菌株があればそれ自體兩巻方式として右並びに左の巻方式と共に分類の一つの標識として使用すべきであると考えらる。

次に本株の由來は Waksman et Curtis → CBS (Westerdijk) → 財團法人醸酵研究所 → 廣大工學部長西研究室である。醸酵研究所より分譲を受けた當時は Czapek-Dox agar slant culture の裏面が初期僅かに黄色系着色を示し氣菌糸は接種數日にして形成したが1年餘を経た現在裏面の黄色系着色は殆んど無く氣菌糸形成には10~14日を要する。但し實驗の部に記載せし如く無機微量成分を添加すれば氣菌糸形成速度が少しく早くなり更にCB系培地による時は氣菌糸形成速度に全く1年間の變化が認められない。これ等の點より本株は生理的及び培養的性質が僅かに變異した如く考えられるが形態學的には1年間の變異が全く認められない。

又 BERGEY³⁾並びに KRAINSKY⁴⁾の記載と比較する時それ等の記載の簡略の爲及び KRAINSKY の場合は更に培地組成も異なる爲詳細は判然としないが少しく相異すると考えるべきであらう。この相異が如何なる性質のものであるかは筆者等の目的とする所て無いので一應今回は觸れないこととする。

最後に顯微鏡觀察の際實物と像との關係に就いて前報に簡単に觸れたが少しく詳述する。前報に於て Waksman: The Actinomycetes の引用文中の spiral 巻方式が顯微鏡下で實物に對し逆となる如き記載がある。然し乍ら普通顯微鏡下では實物が上下、左右、共に逆轉して觀察される故觀察される像は實物を焦點面内で180度回轉したものに相當する。よつて觀察される像と實物とは全く同一と考えてよい。尙お寫眞撮影の際筆者等の使用して居るものは對物鏡と接眼鏡で上下左右の逆轉を2度行わせた結果の實像であるが如何なる装置でも寫眞は實像である故實物と同一のものが撮影される筈である。よつて顯微鏡觀察に際して上下左右の別を特に「顯微鏡下云々」とことわる必要は無いと考える。但し前報に記載した如く spiral の寫眞撮影に際しては被寫體に合せる焦點の位置によつてその巻方式が恰も逆の如く撮影されることがある。よつて寫眞の判讀に際しては豫めそのことを念頭に置いて考察する必要がある。

綜 括

第1報に記載せる cover culture 法を使用して *Streptomyces viridochromogenus* の顯微鏡的形態を觀察した。

本株の形態は前報に記載せる *S. coelicolor* の形態によく類似し相異の主なる點は末端菌糸に存在する spiral が左巻であることである。

〔圖版並びに寫眞説明〕

A, B——描画圖, 菌體の分岐並びに孢子形成, 約890倍。

C——菌叢, 低倍率(100倍)撮影, 寫眞内尺度1目盛(以下Uと略記)=13.1u。

D, E, F, G, I, J, K.——氣菌糸の分岐状態, Fは上より他は横より撮影。U=2.9u。

H——氣菌糸の分岐状態及び孢子形成, U=1.3u。

終りに臨み本菌株の御分譲を賜つた財團法人醸酵研究所佐藤喜吉所長並びに長谷川武治氏に深く感謝の意を表する。

文 献

- | | | | |
|--|--------------------------------|--|-------------|
| 1) 投稿中。 | 2) 長西, 能美: 本誌, 31, 476 (1953). | 3) ibids, 32, 211 (1954). | 4) BERGEY's |
| Manual of Determinative Bacteriology 6th ed. (1948). | | 5) Cent. f. Bakt. u. Parasit., 2. Ab, XLI, | |
| 649 (1914). | | (昭和 29, 9, 4 受理) | |