

加水分解後の処理を適当にすれば、米粉を直接加水分解する方法がもつとも簡単でしかも正確にリジンを定量出来る事を知った。

2. 蛋白質の酸加水分解に際し、炭水化物が共存していてもリジンの損失が起らない事を確かめた。

3. 米の中のリジンは酸性での加熱に対しては全く安定であるが、中性ないしアルカリ性での加熱に対しては不安定である事を見出した。例えば120°C, 1時間の加熱で約11%のリジンが破壊される。しかし100°C, 1時間での損失は4%であり、日常の炊飯によるリジン損失は、これより幾分少ないものと考えられる。

4. 稀アルカリで抽出される蛋白質(グルテリン)のリジン含量の割合は抽出前の未処理の白米の全蛋白質のリジン含量割合より幾分少い事を知った。これはリジン含量の高い部分が失なわれるのではなく、アルカリ抽出によるリジンの変化に基くものと考えられる。

本研究は文部省科学研究費による大阪大学機関研究、合成食糧に関する研究の一部である。

終りに臨み、試料をお世話して戴いた大阪府立大学農学部鈴木巖教授、微生物定量法について種々御助言を戴いた農林省食糧研究所の杉村敬一郎氏、細菌酵素を戴いた長瀬産業株式会社に深謝する。

文 献

- 1) FUTRELL, M.F., LUTZ, R.N., REYNOLDS, M.S., and BAUMANN, C.A. : J. Nut. **46**, 299 (1952). 2) 杉村敬一郎, 平宏和, 永原太郎 : 栄養と食糧, **7**, 293 (1955).
- 3) HORN, M.J., BLUM, A.E., GERSDORFF, C.E.F., and WARREN, W.H. : Cereal Chem. **32**, 64 (1955). 4) BLOCK, R.J., and BOLLING, D. : "The Amino Acid Composition of Protein and Foods" P. 376 (1951).
- 5) 木村茂 : 栄養と食糧, **9**, 75 (1956). 6) 赤堀四郎, 萩原文二, 池中徳治 : Proc. Japan. Academy **27**, 350 (1951).
- 7) SCHWARTZ, H.M., LEA, C.H. : Biochem. J., **50**, 713 (1952). 8) MASSIEU, G.H., GUZMAN, J., CRAVIOTV, R.O., and CALVO, J. : J. Nut. **38**, 293 (1949).
- 9) 田村学造, 角田俊直, 桐村二郎, 宮沢滋 : 農化, **26**, 480 (1952). 10) BLOCK, R.J., and BOLLING, D. : "The Amino Acid Composition of Protein and Foods" P. 100 (1951).
- 11) 同上, P 100. (昭和 32, 5, 21 受理)

土壌中に於ける放線菌の分布 (第2報) 新放線菌 *Microbispora*

野々村 英夫・小 原 巖 (山梨大学工学部)

土壌から分離した放線菌株の内に、既知の属とは相異のある孢子形成様式を示す菌を発見した。この菌株についての菌学的一般性質及び栄養上の特性について報告し *Streptomycetaceae* 科に新属 *Microbispora* を設け、本菌を *Microbispora rosea* と命名する。

I 一般的性状

1. 気菌糸及び Conidia : 集落の周辺から上部に純白色の薄い層状乃至粉状に生じ、平板培養では普通に Fairy rings がみられる。気菌糸の巾は 0.5~0.7 μ 長さは培地、生育状態で異なり 40~200 μ 程度、叢生する傾向があり、分岐もみられる。Conidia は気菌糸の上に全長に亘って多く生成され、その生成状態は *Thermoactinomyces*⁸⁾ に似ているが中央で分裂して2個の Conidia となるのは独特の様式である。孢子柄は長さ0.5 μ 以下、直接菌糸上に着生すると見做されるものが多く、2~

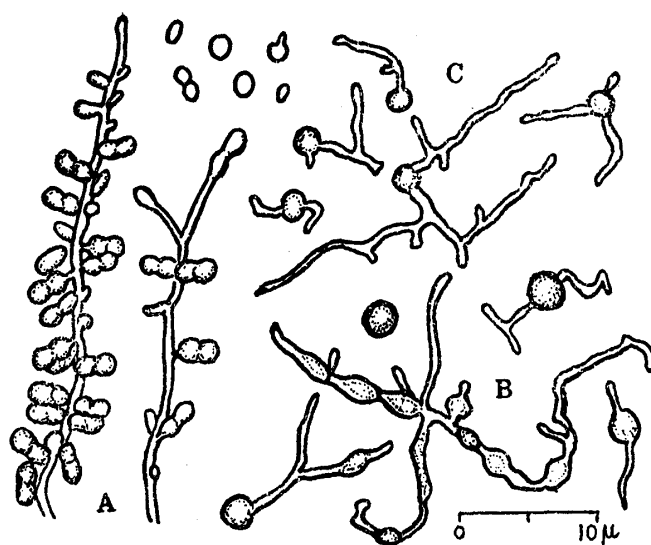


Fig.1. *Microbispora rosea* sp. nov.

A : Sporulation,
B : Chlamydospores,
C : Germination of conidia

(308)

(野々村, 小原) 土壌中に於ける放線菌の分布 (第2報)

3 μ の側枝先端に生ずるものは稀である。Conidia は球形またはそれに近い楕円体、直径1.4~1.6 μ 、表面は Hydrophobic の性質が強い。抗酸性ではないが Methylene blue に染り難い (Fig.1 A)。

熱抵抗；栄養菌体（厚膜胞子を含む）及び Conidia は、C.B. agar³⁾ 及び稀釈 C.B. agar に30°C、20日培養した斜面からそれぞれ採って死滅温度を測定した (Table 1)。

Conidia の発芽と菌糸の構造；1~3ヶ所から発芽し放射状または樹枝状に分岐した隔壁のない菌糸が発達する。栄養菌糸は細菌様に分裂せず *Streptomycetaceae* 科の性質を示す (Fig.1 B)。

形成条件；放線菌の培地16種類 (Table 3 参照) の内、満足以気菌糸を生成したものは Oatmeal agar のみであった。Carrot agar, Potato plug にも生成することもあるがその他の培地には全く生成しなかつた。次に EMERSON's agar, C.B. agar, Nutrient agar を5倍に稀釈（寒天は原量）したもの、更にそれに新鮮な酵母エキスを約3%加えたものについて気菌糸、胞子の生成を比較した (Table 2)。

Table 2. Effect of medium dilution and yeast extract addition on sporulation : after 20 days at 30°C.

Medium	Sporulation ; (Vegetative growth)		
	Original	Diluted	Diluted and Y.E. added
EMERSON's agar	—(++)	+(+)	++(+)
C.B. agar	—(++)	+(+)	++(+)
Nutrient agar	—(++)	—(+)	+(+)
Oat-meal agar	++(+)		

なとき極めて多く、その他の場合に少なかつた。最も普通なのは紡錘形（2×3 μ 程度）で菌糸片を附けているが、形、大きさは一定せず、直径4 μ に及ぶ球形のものもみられる。Conidia と異なり Methylene blue で濃く染まる。

3. 培養的性質：16種類の培地で30°C、30日間培養し、生育 (Table 3)、色及び表面の状態などを観察した。

Table 3. Growth on various media.

No growth or very poor growth : Glucose-asparagine agar¹⁾, CZAPECK's agar¹⁾, Ca-malate agar¹⁾, Asparagine-dextrose agar²⁾, Yeast-extract agar²⁾, Starch agar¹⁾, Casein agar⁴⁾.

Good to moderate growth : EMERSON's agar²⁾, BENNETT's agar²⁾, C.B. agar³⁾, Nutrient agar¹⁾, Carrot agar¹⁾ (often poor), Potato agar¹⁾ (often poor), Oat-meal agar²⁾ (covered with thin white veil of aerial mycelium), Potato plug¹⁾.

The streak cultures glistening, folded or lichenoid.

In liquid culture no surface growth.

色素生産性；集落は淡いばら色、橙黄色、橙赤色などを呈し、培地中には僅かに拡散する。Carrot agar では橙赤色から次第に中心部より暗褐色に変る。色素生産には Biotin が関係した窒素源の種類と量（肉エキスでは0.2~0.3%の時比較的濃色）によっても異なる。なおFe⁺⁺は暗色化を進める。

この色素は熱塩酸で処理後アセトン・石油エーテルと振つても⁵⁾殆んど移行せず、温アルコールに良く抽出される。

生育最適pH；pH5.0以下では生育せず6.0附近が最適、7.8でも生育は可能。液体培養液のpHは生育に従い低下する。

遊離酸素の要求；寒天高層培養すると生育は表面に限られて好気性である。

生育温度；20°Cより30°Cに於ける生育速く、55°Cで死滅するので中温性である。

Table 1. Thermal death point, 10 minutes in meat-peptone-solution (pH 6.5)

Temperature (°C)	45	50	55	60	65	70
Conidia	+	+	+	+	—	—
Vegetative cells	+	+	—	—	—	—

肉エキスを増しても (3g/l) グルコースを増しても (10g/l) 生成は悪くなり、また酵母エキスの効果は Thiamine と Biotin によつて代用された。pHの影響は余り受けないでpH 7.0附近は良好。Ca, Mg, Mn の存在には関係なく Fe⁺⁺は促進的に働いた。

2. 厚膜胞子：EMERSON's agar で30°C、10日及び15日間培養したものは (Fig.1 C) 大部分が厚膜胞子に変る。種々な培地について試験した結果、利用容易な炭素源及び窒素源の充分

4. 生理的性質:

ゼラチン液化; BALDACCI's gelatine 培地¹⁾及びそれにビタミンB群を補った培地に21°C, 30日間培養. 液化認めず.

牛乳培養; 脱脂乳に30°C, 30日間培養. 生育は極めて僅少, 凝固及びペプトン化認めず, 初発 pH 6.6 培養後 6.4. BALDACCI 法¹⁾でも牛乳は殆んど変化なし.

澱粉分解; BALDACCI's starch agar¹⁾及びそれに肉エキスを補った培地で WAKSMAN 法¹⁰⁾で実施. 水解認めず.

硝酸塩の還元; Nitrate broth 及び Nitrate agar⁶⁾にて30°C, 3日後の試験で亜硝酸を明らかに検出.

蔗糖転化; 無機態窒素を資化せず, EMERSON's medium のグルコースを蔗糖に代えた液体培地に30°C, 10日培養した濾液は FEHLING 氏液を還元しなかった.

抗菌性; EMERSON's agar または Nutrient agar 上で次の菌に抗菌性を示さず. *E. coli*, *B. subtilis*, *Sacch. cerevisiae*, *K. apiculata*, *P. membranaefaciens*, *Asp. niger*, *M. mucedo*.

I 栄養的特性

前記の様に放線菌の通常合成培地には生育しない. また PRIDHAM, GOTTLIEB の基本培地⁷⁾にグルコースとペプトン, ビタミンを加えても生育できない. それらの原因を知るために次の実験をした.

1. 磷酸塩の生育阻害: Basal medium I (Table 4) に磷酸塩 (K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , 7:2) の濃度を変え, 菌懸濁液を等量, 斜面に接種した. 比較のため土壌中の代表的放線菌として *St. antibioticus* (IFO-3126), *St. lavendulae* (IFO-3177) を同時に試験した. 生育量はその株の最良濃度に於ける生育を10+とした見掛上の比較である.

Table 4. Optimum concentration for growth
in basal medium I (glucose 10g, beef extract 1.0g, peptone 1.0g,
NaCl 0.5g, yeast extract 2.0g, agar 20g, dist. water 1,000g):
after 14 days at 30°C.

	Phosphate ($K_2HPO_4 + KH_2PO_4$ 7:2) g/l						
	0.0	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0
<i>Streptomyces antibioticus</i>	+	+	++	8+	10+	8+	7+
<i>Streptomyces lavendulae</i>	++	5+	7+	10+	10+	5+	++
<i>Microbispora rosea</i>	10+	10+	10+	7+	5+	—	—
<i>Microbispora rosea</i>	pink, pulvinate to pigmentless, flat						

上記培地で肉エキス量を増せば生育は更に良くなるが, いずれにしても他の放線菌の適量より著しく低く, 磷酸塩の多い培地 (8g/l) では生育せず, 肉エキスの少ない培地では磷酸塩 0.5g/l (Asparagine-dextrose agar²⁾) でも生育は悪い.

2. 微量元素の影響: Cu, Fe, Zn 及び Mn を Basal medium I に加え, 加えない培地上の生育と比較した (Table 5, 生育量の測定は前記と同じ).

Table 5. Effect of the minor elements on growth.

concentration ppm; (as metal)	CuSO ₄ , 7aq		ZnSO ₄ , 7aq		MnCl ₂ , 4aq		FeSO ₄ , 7aq	
	1 weak	2	1	2	1	2	1	2
5: (1~1.5)	7+	10+	10+	10+	10+	10+	10+	10+
10: (2~3)	3+	7+	10+	10+	10+	10+	13+	10+
20: (4~6)	3+	5+	9+	10+	10+	10+	20+	15+
40: (8~11)	2+	5+	4+	10+	10+	10+	20+	15+

(310)

(野々村, 小原) 土壤中に於ける放線菌の分布 (第2報)

Cu^{++} の生育阻害が著しく, 2.5ppmで14日後にても回復しない.

Fe^{++} は単独添加で生育を促進し, 10ppm程度使用すると良いが, 集落及び培地の暗色化を進める.

3. 窒素化合物の利用性: Basal medium II (Table 6) に種々の窒素源を 2g/l 加え pH 7.0に調節した. ビタミン類は濾過除菌して用いた. 洗滌菌体の食塩水懸濁液を斜面に等量接種し 30°C, 15日後の生育状態を比較した.

Table 6. The utilization of nitrogen sources ; after 15 days at 30°C.

	Basal medium II*		Basal medium + B-vitamins	
	Growth	Color	Growth	Color
Casein ^{a)}	2 +	Pale yellow	3 +	Pale yellow
Beef extract ^{b)}	6 +	Pale orange	6 +	Seashell pink
Peptone ^{c)}	2 +	Yellowish white	10 +	Mandarin orange
"Amix" ^{d)}	2 +	Yellowish white	6 +	Pale cinnamon pink
Asparagine	1.5 +	Yellowish white	6 +	Salmon
Na-glutamate	+	Yellowish white	5 +	Light brown
Urea	+		+(1>)	
NH_4Cl	+	Pale yellow	+	Pale yellow
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	+	Yellowish white	+	Yellowish white
NaNO_3	+	Yellowish white	+	Yellowish white

a) after HAMMERSTEN b) "EHRIG beef extract" c) "Polypeptone"

d) Mixture of 17 amino acids and their peptides.

* Glucose 10g, KCl 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, K_2HPO_4 0.1g, dist. water 1,000g, agar 20g

ビタミンを補わなくても生育できるのは肉エキスのみであつたが, ビタミンを補うときはアミノ酸, ペプトンなどが利用された.

4. ビタミン要求: Basal medium II にペプトン 2g/l を加えた斜面に *Conidia* のうすい懸濁液を等量接種して試験した (Table 7).

Table 7. Effect on growth of B-vitamins in basal medium II plus peptone (2g/l) ; after 15 days at 30°C.

All vitamins present : Growth 10+, Naples yellow

All vitamins omitted : Growth+, White

Vitamins	γ/ml	Omission	Presence	Presence with B ₁
Thiamine-HCl	1.6	+ Pale olive	7+ White	
Biotin	0.4	8+ White	+ Pale olive	10+ Naples y.
Ca-pantothenate	0.8	10+ Naples y.	+ White	8+ White
Riboflavin	0.4	10+ Naples y.	+ White	7+ White
Pyridoxine-HCl	0.8	10+ Naples y.	+ White	7+ White
Niacin	0.8	10+ Naples y.	+ White	7+ White
PABA	0.4	10+ Naples y.	+ White	7+ White
Inositol	4.0	10+ Naples y.	+ White	7+ White

Thiamine は単独に欠落させても殆んど生育できなくなる. そして単独添加で可成の程度まで生育する. 然しこの場合 Biotin を共に加えると生育量は更に増加する. そして特に色素の生産が決定的に多くなる.

ペプトンを培地にした時は Thiamine と Biotin を加えたものは, 全部のビタミンを加えたものと殆んど差が認められないが, Asparagine を用いた時 (Fe^{++} 添加) は2種のビタミンでは Seashell pink, 全部の場合は Olive となり差がみられた. また Ca-pantothenate の他, Pyridoxine や PABA などあつた方が好ましくみえる場合もあつた.

Ⅲ 分類と考察

Streptomycetaceae 科の内この菌に分類上近縁の *Thermoactinomyces*⁸⁾ 及び *Micromonospora* とその属徴を比較すると Table 8 の様になる。

Table 8. Different characteristics in the related genera.

	<i>Microbispora</i>	<i>Thermoactinomyces</i>	<i>Micromonospora</i>
Conidia	in pairs	singly	singly
Conidial layer	dry (aerial)	dry (aerial)	moist
Conidiophores	no, very short	short	long
Temperature	mesophilic	thermophilic	mesophilic
Starch hydrolysis	negative	positive	positive
Gelatin liquefaction	negative	positive	positive

形態的性質は生理的なものに優先して分群に利用され、放線菌で孢子形成様式は重要な性質である。本菌の *Streptomycetaceae* 科における位置を示すと次の通りになる。

Table 9. Key to genera of *Streptomycetaceae*.

1. Conidia formed in chains from aerial hyphae *Streptomyces*
2. Conidia formed in pairs on aerial hyphae *Microbispora*
3. Conidia formed singly on sporophores
 - a. Mesophilic *Micromonospora*
 - b. Thermophilic *Thermoactinomyces*
4. Sclerotic granules produced (conidial forms unknown) *Chainia*⁹⁾

本菌は上述の分類上の特徴の他にもビタミンが生育に必須であること、また Fe^{++} と共に気菌糸の生成にも良好な結果を与えることは特異的である。X-ray mutant 以外では *Actinomyces scabie* が必須ではないが Thiamine に生育促進されること¹⁰⁾、*Thermoactinomyces monospora* の Conidia が乾草浸出液の添加で良く形成されること⁸⁾ 等が知られているのみである。また微生物に対するビタミンの作用は普通、生育量についてのみ観察されるが、この菌に於ては Biotin が色素の生産性に結びついて考えられる。常用の磷酸塩濃度範囲でもその生育を阻害し、また微量に加えた Cu^{++} が有害であつた点など特にこの種の菌の分離、実験などに今後注意を要するであろう。

終に御教示を得た東大農学部弘法健三教授に深謝し、なお研究費の一部は文部省科学研究費によるものであることを附記して謝意を表す。本報告の要旨は昭和32年4月農化大会で講演した。

文 献

- 1) BALDACCI, E. et al. : *Actinomycetales*, Symposium (VI th Int. Congress of Microbiology) Roma, p. 20 (1953).
- 2) HESSELTINE, C.W., R.D. BENEDICT, and T.G. PRIDHAM : Ann. N.Y. Acad. Sci., **60**, Art. 1, 136 (1954).
- 3) 長西広輔, 能美良作 : 醸工, **32**, 211 (1953).
- 4) 中沢鴻一, 藤井繁弘 : 農化, **27**, 253 (1953).
- 5) MRAK, E.M. et al. : J. Bact., **57**, 409 (1949).
- 6) Manual of Method for pure Culture Study, V (1954).
- 7) PRIDHAM, T.G. and D. GOTTLIEB : J. Bact., **56**, 107 (1948).
- 8) WAKSMAN, S. A. and H. A. LECHEVALIER : Actinomycetes and their Antibiotics, W. Wilkins, Baltimore (1953).
- 9) THIRUMAIACHER, M.J. : Nature, **176**, 934 (1955).
- 10) WAKSMAN, S.A. : The Actinomycetes. Chronica Botanica, Waltham (1950).

(昭和 32, 5, 28 受理)