

靈菌の K-培地における培養について

大 和 平 易

Cultivation test of *Bacillus prodigiosus* by K-media

HIRAYASU YAMATO

緒 言

靈菌 *Bacillus prodigiosus* は細菌類の中では極めて小さく (0.5 μ 程度), 又色素排泄菌群に属し, 赤色聚落をつくる事から, 従来 Berkefeld 濾過管, Chamberland 濾過管等, 種々の濾過管の完全性を試験するための指標として用いられ, 又井戸の漏水の様な, 漏菌検査に靈菌浮遊液を応用して, その濾液を普通寒天培養基と混釈培養し, その混在の有無により, その良否を検査する等, その実用上の価値の甚だ多い菌である。

従って, この菌の検索方法は応用細菌学上重要なもので, 単に菌の発育のみならず, 色素形成を完全に発現せしむる条件についても, 充分の検討を要するものである。

私は今, *B. prodigiosus* の検索に, 新固形培養基・K

培地 (第二巻第二号参照) を用いて, 普通寒天培地に匹敵する成績を得るや否やの比較研究をするため, 靈菌の発育状態並びに, 色素形成を最適ならしむる K-培地添加養分の性質, 分量等について研究した。今その成績を報告する。

第 1, 水中細菌数検査に用いる K-培地を用いた場合水中細菌数検査における混釈培養で, 良好な結果を得た K-培地を用い, 靈菌と混釈培養した。

(実験例 I)

8% 珪酸ソーダ溶液 (肉エキス 0.05%, ペプトン 0.1% 含有) に, 4% 磷酸 (アラビアゴム 1% 含有), 及び靈菌浮遊液を加え, 凝固せしめ (ほぼ中和する), 20°C ~ 22°C で, 混釈培養試験を行った結果, 第 1-1 表の如く, 菌発育並びに色素形成状態は余り顕著でなかった。

(第 1-1 表)

	培養時間	K-培地	普通寒天培地
発育状態	24 時間	菌数 1,000, Colony 微小	菌数 1,000 Colony 微小
	48 時間	24 時間培養と殆ど大差なく Colony 微小	深部の Colony は微小であるが培地表面の Colony は大きく発育
色素形成状態	24 時間	色素形成認められず	色素形成認められず
	48 時間	培地全面にやゝ淡桃色を帯びるが, 色素形成不良	深部 Colony には色素形成認められないが, 表面 Colony の一部に赤桃色素産生する。

第 2 各種養分の添加について

水棲菌発育に適する様な濃度の養分では, *B. prodigiosus* の発育並びに色素産生状態がよくなかったので, 菌発育促進剤及び色素産生に有利とされている各種物質を K-培地に添加し, 靈菌と混釈培養した。

(実験例 II)

各種養分を水中細菌数検査に用いる K-培地に添加し 22°C ~ 25°C の常温で, 48 時間培養し, 靈菌の発育並びに色素産生に対する影響をしらべた結果は第 2-1 表の如く, アスパラギン酸ソーダ, グルタミン酸ソーダ, 肉エキス, ペプトン, を添加する事によって靈菌の発育は良い結果を得, また色素産生も特に肉エキス, ペプトンの添加により良好な結果を得た。

(実験例 III)

K-培地に, 肉エキス及び, ペプトンを種々の割合に加え, 数多く追試した結果例は第 2-2 表の如く, 特にペプトンを加える事により良好なる結果を得た。

第 3 培養温度の色素産生に及ぼす影響

B. prodigiosus の色素産生は, 22°C, 48 時間培養で良好な結果を得るとされていたが, 各種温度で基養試験を行ってみた。

(実験例 IV)

ペプトン 1% 含有の K-培地と, 靈菌を混釈培養し, その培養温度の差違による菌発育並びに色素産生状態を検討したところ, 第 3-1 表の如く 30°C 恒温で培養したものが, 色素産生も早く良好な結果を得た。

(第2-1表)

K 培地に添加せし物	菌 発 育 状 態		色 素 産 生 状 態	
	22°~25°C, 48 時間培養		22°~25°C. 48 時間培養	
2% K ₂ HPO ₄ 1 c.c.	対称培地と殆ど同様で, Colony 微小		培地全体微淡桃色を呈し, 表面 Colony 数箇淡桃色に着色	
2% KH ₂ PO ₄ 1 c.c.	同 上		同 上	
2% NH ₄ Cl 1 c.c.	同 上		同 上	
2% クエン酸ソーダ 1 c.c.	同 上		同 上	
2% グルタミン酸ソーダ 1 c.c.	対称 K 培地より良好で Colony 大きく鮮明		同 上	
2% 酒石酸ソーダ 1 c.c.	対称 K 培地と殆ど同様で Colony 微小		同 上	
2% アスパラギン酸ソーダ 1 c.c.	対称 K 培地より良好で Colony 大きく鮮明		同 上	
2% 酒石酸アンモン 1 c.c.	対称 K 培地と殆ど同様で Colony 微小		同 上	
2% アルギン酸ソーダ 1 c.c.	同 上		同 上	
Vitamin B ₁ 10 γ	同 上		同 上	
10% Pepton 1 c.c.	対称 K 培地より良好で Colony 大きく鮮明		Colony 全部桃色に着色する	
10% 肉エキス 1 c.c.	同 上		Colony 全部褐桃色に着色	
対 称 K 培 地 *	Colony 微小で発育良好でない		培地全面微淡桃色を呈し, 表面 Colony の一部淡桃色に着色	
普 通 寒 天 培 地	培地深部の Colony は微小であるが, 表面の Colony は大きく発育する		深部 Colony 着色なく, 表面 Colony のみ桃赤色に着色	

* (対称 K 培地は水中細菌数検査に用いる培地を用う)

(第2-2表)

K 培地に添加した養分	菌 発 育 状 態 (24°~27°C)		色 素 産 生 状 態	
	24 時間後	48 時間後	24 時間後	48 時間後
10% Pepton 1 c.c.	Colony 大きく発育良好	24時間後よりやや良く発育する	Colony 全部淡桃色に着色	全 Colony 桃色になる
// 2 c.c.	同 上	Pepton 1 c.c. を加えたものより, やや発育程度良好	全 Colony 淡桃色になるも Pepton 1 c.c. を加えたものよりは淡い	同 上
// 3 c.c.	同 上	同 上	殆ど着色せず	同 上
// 4 c.c.	同 上	同 上	同 上	同 上
10% 肉エキス 1 c.c.	同 上	発育程度 Pepton 1 c.c. を加えたものと殆ど同じ	全 Colony 淡褐桃色に着色	全 Colony 桃色に着色するも, Pepton 添加培地より色淡い
// 2 c.c.	同 上	同 上	同 上	同 上
10% 肉エキス 1 c.c.	同 上	Pepton 1 c.c. を加えたものより, やや発育良好	全 Colony 淡桃色に着色	全 Colony 桃色になる
10% Pepton 1 c.c.	同 上	同 上	全 Colony 淡桃色に着色	全 Colony 桃色になる
10% 肉エキス 1 c.c.	同 上	同 上	全 Colony 淡桃色に着色	全 Colony 桃色になる
10% Pepton 2 c.c.	同 上	同 上	全 Colony 淡桃色に着色	全 Colony 桃色になる

(第3-1表)

培 養 温 度	24 時間 培 養 後	48 時間 培 養 後
20°~25°C 常温放置	菌発育良好であるが, 色素産生認めず	Colony 全部に色素産生 (桃色) 認む
24°~26°C 常温放置	菌発育良好であるが, 色素産生認めず	Colony 全部に色素産生認む
30°C 恒温	菌発育状態, 常温放置 (20°~26°C) のものより良好で, 色素産生も認める (淡桃色)	菌発育良好で, 色素産生程度も24時間後より濃くなる
37°C 恒温	菌発育状態良好であるが, 色素産生認めず	菌発育良好であるが, 色素産生認めず
37°C, 24時間培養後 20°~25°C, 24時間	同 上	菌発育常温放置 (20°~26°C) より良好で色素産生 (桃色) 認む

又、ペプトン 1%、肉エキス 1% 含有の K-培地で同様試験を行った結果も、全く同様な結果を得た。

第 4 pH の移動による、発育並びに色素形成に及ぼす影響

8% 硅酸ソーダ溶液 (ペプトン 1% 含有) と 4% 磷酸 (アラビアゴム 1% 含有) を、適宜に量を増減して、K-培地の pH を変え、霊菌と混釈培養試験を行い、その影響を検討した。

(実験例 V)

8% 硅酸ソーダ 10 c.c. に 4% 磷酸 5 c.c. を加え、pH を 6.2 の培地をつくり、又同様な方法で磷酸量を加減して、pH が 6.9, 7.4, 7.6, 8.0 の各 K-培地をつくり、霊菌と混釈、24°~27°C (常温培養) と、30°C での培養温度で 24 時間→48 時間 培養し、その結果を検討したところ、第 4-1 表の如く、pH=8.0 の培地を除いた他の培地では、pH による影響は殆ど認められなかった。

(第 4-1 表)

K 培地の PH	24°C~27°C 培養	30°C 恒温培養
PH=8.0	菌発育は他のものに比べて24時間後、48時間後共やゝ劣る。色素産生も 24 時間では認めず、48 時間後で淡桃色に着色	菌発育良好、色素産生 24 時間後認め (淡桃色) 48 時間後も殆ど同じ
PH=7.6	菌発育良好、24 時間で色素産生 (淡桃色) 認め 48 時間で更に濃くなる (桃色)	菌発育良好、24 時間で色素産生認め (桃色) 48 時間後やゝ濃くなる
PH=7.4	同 上	同 上
PH=6.9	同 上	同 上
PH=6.2	同 上	同 上

総 括

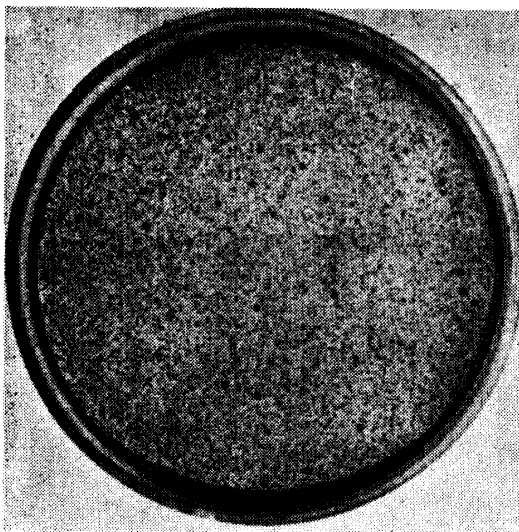
霊菌の K-培地との混釈培養試験には、常に対称として、普通寒天培地を同時に培養してみたが、概して霊菌の発育状態は実験の如き添加養分の K-培地の方が良好であった。その比較は本文の通りである。

又色素産生も普通寒天培地では、培地の深部に発育した聚落は、殆ど着色しなかったが、実験の如き添加養分

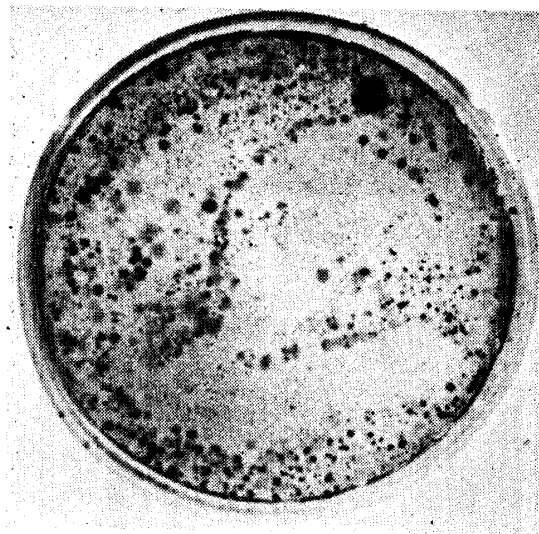
の K-培地では、全聚落到色素産生が認められた。

以上の結果から、実験の如き添加養分の培地を霊菌の培養に用いることにより、普通寒天培地に匹敵する。良好な成績を得た。

(1958 年 6 月 30 日 受理)



(K培地に発育せる B. prodigiosus 聚落)



(対称寒天培地の B. prodigiosus 聚落)