

Azotobacter の生理的作用に及ぼす紫外線の研究 (第二報)

刺戟作用に就て

農學博士 板野新夫

松浦章

(日本農學化學會誌 第十卷第七冊第百十八號 昭和九年七月發表)

緒言

紫外線が微生物を刺戟して好結果を擧げ得ることは他の方面に於て屢々報告されてゐる。最近⁽¹⁾Owen and Mobley 兩氏は糖類のアルコール醱酵をなす酵母は或程度紫外線に浴することによりて繁殖旺盛となり醱酵作用も刺戟されることを報告した。菌類に關して一九二八年に既に⁽²⁾Nadson and Philippov 兩氏が *Saccharomyces* と共に *Mucor* に就き研究を行ひ刺戟作用により繁殖數が増加するのみでなく生殖方法にも變化を及ぼすものであることを發表してゐる。元來細菌は⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾研究者により多少程度に相違はあるが酵母並に菌類よりも紫外線に對する抵抗力が弱いものとされて居る。然し細菌に關しては多く致死的作用についての研究で刺戟作用に關する研究は至つて乏しいのである。⁽⁶⁾余等は前報に於ける紫外線の *Azotobacter* に對する致死的作用を研究するに當り偶々極めて少時間紫外線に浴する時は分裂

数を甚だしく増加することを認めたので茲に更に刺戟作用に就き研究を試み報告することにした。

實驗の部

實驗装置並に實驗期間の紫外線量の變化は濾光器使用による實驗を除き他は全く(6)前報に等しく實驗方法も亦概ね前報に従ひ細菌數は Meissner 氏液による直接鏡檢法にて、pH は Quinhydrone 電極法にて各測定を行ひ菌株も等しく *Azotobacter chroococcum* を使用した。

一、紫外線の刺戟作用の檢定

(6) 前報に於て石英管にて五秒、普通硬質製三角瓶にて三〇秒—一分が對照よりも細菌の分裂數の多きことを報告したが更に確證を得、尙進んで最適露出時間の探索を試みる爲に硬質製三角瓶にて液體培養を行ひ露出時間を一層細分して細菌數並に pH の變化を調査したるに其の結果は第一、二表の通りである。

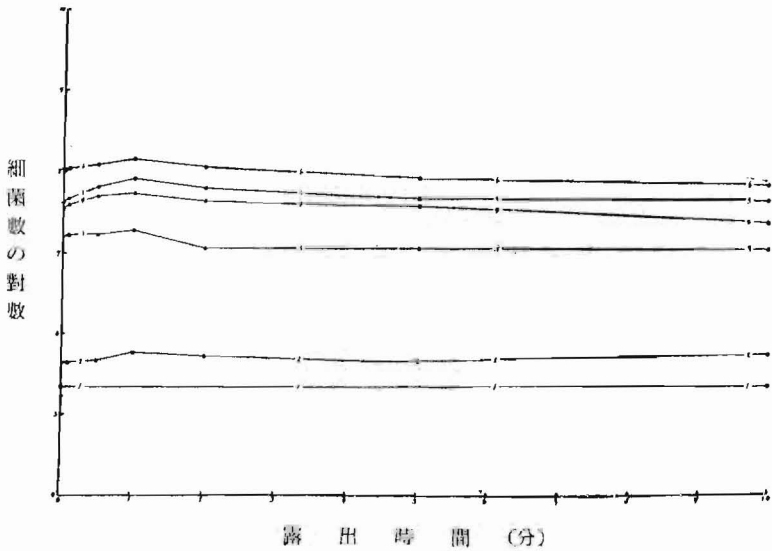
第一表 細菌數の變化

實驗回数	經過時間	紫外線に露出時間							
		對照	5秒	30秒	1分	2分	5分	10分	
第 一 次	24	1,603	16,214	1,073	18,085	11,519	11,749	13,307	
第 二 次	5	1,46	4,6	4,9	587	540	4,0	587	
第 三 次	5	1,46	4,6	4,9	587	540	4,0	587	

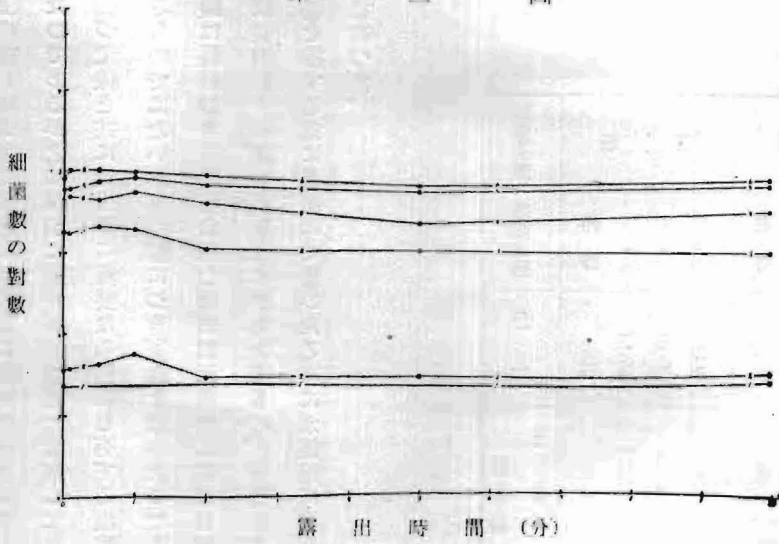
第 一 回	起 始	7.00	6.97	6.88	6.95	6.97	6.97	6.97	7.00
	24	6.72	6.74	6.72	6.75	6.77	6.78	6.77	6.77
	48	6.70	6.69	6.63	6.62	6.64	6.64	6.64	6.64
第 二 回	起 始	6.74	6.82	6.81	6.77	6.82	6.81	6.84	6.84
	24	6.61	6.62	6.60	6.58	6.65	6.61	6.67	6.67
	48	6.56	6.62	6.56	6.57	6.63	6.57	6.60	6.60
第 三 回	起 始	6.53	6.51	6.58	6.48	6.59	6.55	6.52	6.52
	24	6.36	6.38	6.36	6.38	6.38	6.33	6.30	6.30
	48	6.59	6.59	6.62	6.64	6.62	6.64	6.64	6.64
第 四 回	起 始	6.58	6.50	6.54	6.53	6.61	6.60	6.60	6.60
	24	6.58	6.50	6.54	6.53	6.61	6.61	6.61	6.61
	48	6.58	6.50	6.54	6.53	6.61	6.61	6.61	6.61

本結果を見るに三回の實驗を通じて細菌数は露出時間の少ない最初は次第に増加し三〇秒—一分にて最高に達し後次第に減少するも二分は對照と大差がなく紫外線刺激作用の効果を認めることは至難である。併し一分以上なると細菌数は對照に比して著しく減少して居る。pH の變化も概して細菌と同一傾向を示して居る。尙之等の關係を一層明にする爲に細菌數の變化を圖表により示すと次の通りである。

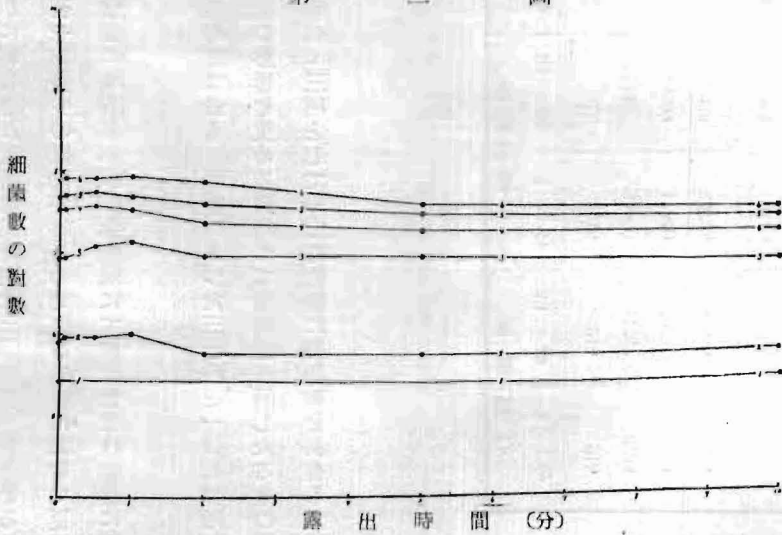
第 一 圖



第 二 圖



第 三 圖



說 明

第一、二、三圖は各試験回数順位の順位による。

圖中の數字は培養時間の経過を次の通り示す。

1. 起始, 2. 5時間, 3. 2時間, 4. 48時間, 5. 72時間, 6. 120時間

二 回	24 48 72	9484 24131 49014	12113 29948 53681	13333 28451 64319	6854 17840 54648	6690 18028 49484	6948 20533 48075	9108 17746 46667
第 三 回	起 始 24 48 72	194 13052 23850 57840	194 10047 24789 20563	194 12300 23890 63005	194 10329 23944 47700	194 8745 21972 70432	194 7700 211 57334	194 8745 20040 52300

備考 数字は培養液 1cc 中の細菌数を十單位にて表す

本表によると細菌数は菌の接種前に紫外線に浴せしめたるもの並に覆ひをしたるものは何れも對照と大差なく殆ど等しきも接種後に紫外線に浴せしめたるものは甚だ多數であつた。併し黒紙は他の光線と同様に熱線の幾何かを吸収するのみでなく紫外線の極微量を通過し得るものである。(7) 江田氏は氣孔面積等に相當する透過度は紫外線より熱線が甚だ大であることを報告して居る故に黒紙にて覆ひたるものを熱線の影響即ち温度の影響と見做しても大誤なきものと思ふ故に本實驗によりて本菌の刺戟作用は培養基上の變化並に温度の影響でないことを確證し得たのである。

次に光線中には熱線以外に可視光線の生物に對する影響大であるのでこれ等の點をも考慮せねばならないが故に現今最も信用ある Hanovia 製濾光器を使用して紫外線以外の長波光線の大部分を除き實驗を行つたのである。

實驗は便宜上光源よりの距離を一五 cm としたる以外從前通りとして硬質製三角瓶を使用して直接鏡檢法により細菌

数を調査したのである。その結果は次表の通りである。因に実験期間中の紫外線量はモリブデン酸法によりて $\text{pH } 0.49 \sim 0.52$ にて温度は $24^{\circ}\text{C} \sim 29^{\circ}\text{C}$ であった。

第 四 表

實驗回数	経過時間	對 照	紫 外 線 に 露 出 時 間						
			1 分	2 分	5 分	10 分	30 分		
第 一 回	起 始	43	43	43	43	43	43	43	
	24	4883	4788	7981	4319	3441	4319	4319	
	48	8357	8451	9465	8325	5352	6009	6009	
	72	27512	33333	33146	21408	16492	18122	18122	
第 二 回	起 始	19	19	19	19	19	19	19	
	24	2923	2166	2775	1873	1309	1105	1105	
	48	3271	3452	4357	2459	2233	1918	1918	
	72	8304	7287	8753	6340	6430	4738	4738	
第 三 回	起 始	12	12	12	12	12	12	12	
	24	2504	3046	3046	2594	1489	1918	1918	
	48	5121	5796	7242	5073	4038	4219	4219	
	72	6304	8167	8235	5031	5279	5305	5305	

備考 數字は培養液 loc. 中の細菌数を千單位にて表す

本表を見るに三回の實驗を通じて多少の差異はあるが露出短時間の最初は細菌数は對照よりも多く最高は二分であつて後次第に減少してゐる。これにより本菌は遮光器使用による所謂紫外線により刺戟されて明かに細菌数を増加するものであることを證し得るのである。

以上數回の實驗結果によりて紫外線の刺戟作用のあることを認め得たのである。

二、紫外線と培養基の物理化學的性質との關係

紫外線による培養基上の變化が本菌を刺戟するものでないことは前記の實驗により明かであるが紫外線の光化學的作用の強力なることは周知のことである。遊離酸素の存在する時有機物は酸化されるものであつて、Duckworth氏は炭水化物が太陽光線により酸化されることを述べて居る。尙 Calabek 氏は細菌の固體培養に廣く使用されて居る寒天が紫外線により膨化作用を減少することを報告して居る。故に紫外線が培養基に及ぼす物理化學的變化に就き實驗を試みんとしたのである。實驗の方法は従前と同様に硬質製三角瓶を使用し特に嚴密に洗滌に注意して最後に蒸氣洗滌を行ひ 50°C.宛の培養液を注加して物理化學的性質中主なるものを測定したのである。其の結果は次表の通りである。

第 五 表

露出時間	實驗回数	物 理 化 學 的 性 質			
		電 導 度 (10^{-7} mho)	pH	滲透壓(氣壓)	粘 稠 度 (表面張力 (dynes/cm ²))
5 分		8.72114	6.78	1.6777	1.04872
10 分					80.12974

1分	1	8.67647	6.83	1.6377	1.04330	80.42974
	2	8.72114	6.79	1.6698	1.03717	80.52334
	平均	8.69881	6.81	1.65375	1.041135	80.47574
10分	1	8.53272	6.91	1.7424	1.03110	80.42974
	2	8.56839	6.88	1.6940	1.03592	80.42974
	平均	8.55071	6.895	1.7182	1.03321	80.42974
30分	1	8.55014	6.94	1.8392	1.04304	80.52334
	2	8.56839	6.93	1.8034	1.04522	80.42974
	平均	8.55931	6.935	1.8513	1.04413	80.47574

本表によると電導度、水素イオン濃度は露出時間に順じて次第に減少するも滲透壓は次第に増加してゐる。粘稠度、表面張力は大差ない故に紫外線は電解質に對する影響が大であつて明かに還元作用のあることを示して居る。故に比較的露出に長時間を要する致死的作用に對して培養基の物理化學的性質の影響如何を確める爲に石英管を用ひて紫外線に浴する前に接種したるもの及び紫外線に浴したる後に接種したるものにつき實驗を試みたるに次の通りであつた。

第 六 表

實驗回数	經過時間	點	照	架外露出法			
				接	前	後	後
				5分	10分	5分	10分

第 一 回	起 始	14338	14366	14366	14366	14366	14366	14366
	24	3736	3850	3662	70	94	94	23
	48	11549	10141	10516	94	23	23	23
第 二 回	起 始	32968	32333	28075	47	141	141	141
	24	17277	17277	17277	17277	17277	17277	17277
	48	3736	3736	3192	305	339	339	339
第 三 回	起 始	12668	13333	12864	578	217	217	217
	24	20390	20390	21502	982	141	141	141
	48	20390	20390	21502	982	141	141	141
第 三 回	起 始	17653	17653	17653	17653	17653	17653	17653
	24	8451	6385	8197	188	163	163	163
	48	14272	16140	14291	94	94	94	94
第 三 回	起 始	17371	16808	16905	558	103	103	103
	24	17371	16808	16905	558	103	103	103
	48	17371	16808	16905	558	103	103	103

備考 数字は培養液 1 c.c. 中の細菌数を千單位にて表す

本表に於て三回の實驗結果はよく一致して接種前に紫外線に晒したるものは殆んど對照と同様であるが接種後に晒したるものは細菌数が五分、一〇分ともに甚しく少量で培養時間を経るも細菌数は増加せずして斜面培養の結果全く死滅して居た。故に培養基上の紫外線による物理化學的變化は本菌の致死的作用上重要なる因子でなく殆んど影響なきものと稱し得るのである。

三、刺戟作用と露出方法との關係

生物が常に刺戟を受けることは刺戟のないことになる故に同じ紫外線の刺戟作用も露出方法により強弱があり得るものと思ひ本實驗を試みたのである即ち従前の如く硬質製三角瓶を使用して或時間連續的に一回紫外線に浴せしめたるものと間歇的に二四時間毎に四回紫外線に浴せしめたるものにつき實驗を行つたものである。其の結果は次表の通りであつた。

第七 表

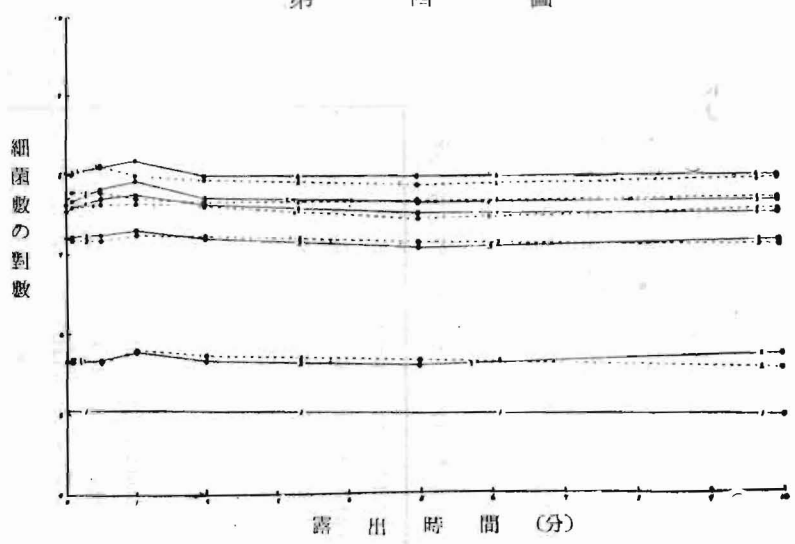
實驗回数	經過時間	對照	紫外線の露出方法											
			連續的方法					間歇的方法						
			5秒	30秒	1分	2分	5分	10分	5秒	30秒	1分	2分	5分	10分
第一回	起	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111
	5	446	446	403	587	457	423	587	493	446	634	540	493	399
	24	18056	16244	16523	18385	14336	10423	12207	14554	14336	16544	15211	12207	10704
第二回	48	33333	38132	48920	52874	38028	28169	29009	38216	40939	40939	37277	23380	29202
	72	40839	43385	65164	73137	45822	39028	37277	60188	59081	48075	70839	35967	41878
	120	105164	108356	120751	142911	89639	80000	28216	100939	127136	93427	73843	62629	71080
第三回	起	166	166	166	166	166	166	166	166	166	166	166	166	166
	5	423	376	423	563	282	305	305	423	493	587	305	166	448

回	24	17311	17435	20845	19064	10798	9671	7612	14574	14836	18028	10423	12488	8752
	48	44507	47081	44225	57211	38967	20845	24801	45540	48545	49484	27136	29390	17371
	72	59061	62347	74490	82348	65316	49053	51298	65184	65634	58808	37371	34930	44334
回	120	83850	102535	103990	108457	87042	61315	61403	88639	90517	85071	77747	63642	60188
	起 始	196	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136
		798	915	915	1033	587	587	543	845	823	804	483	300	423
24		8197	8732	12207	14085	9484	10141	9233	9484	12307	13831	7042	8639	7014
回	48	29237	33769	37633	58897	23330	20376	19081	27184	29852	23474	23086	15081	12307
	72	45721	50704	56244	69708	46543	32301	30704	49385	44319	44113	40845	35521	24601
	120	75691	81972	81972	89639	76244	43236	38967	76308	79718	65740	48075	35961	28393

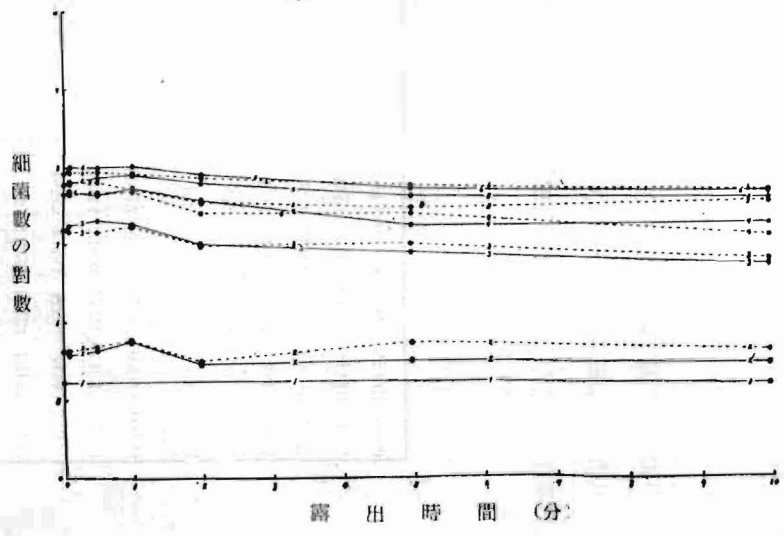
備考 数字は培養液 1cc. 中の細菌を千単位にて表す

本表によると最初二四時間までの調査では兩者の間に大差はないが時間を隔て露出回数を重ねるに従つて細菌数の最高は次第に短時間となり五日後の調査によると連続的に露出したるものは最高は一分であつたが間歇法にあつては三〇秒又は五秒であつた。尙長時間露出したるものは別に一定の差異なく殆ど同様であつた。これ等の關係を一層明かにする爲に圖表によりて示すと次の通りである。

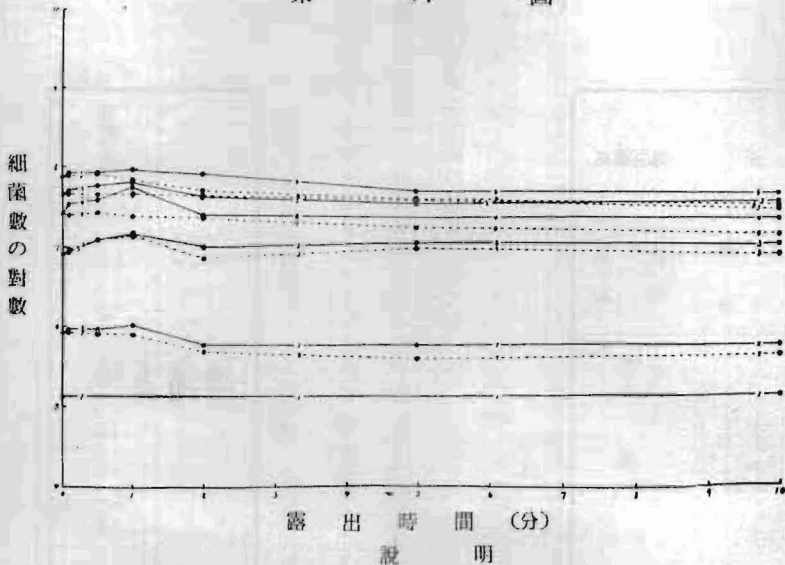
第 四 圖



第 五 圖



第 六 圖



第4, 5, 6 圖は各試驗回數の順位による。

實線……連續露出法

破線……間歇露出法

圖中の數字は培養時間の經過を次の通り示す。

1. 起始, 2. 5時間 3. 24時間 4. 48時間 5. 72時間 6. 12時間。

本圖表によりて見るに曲線の山は連續法に於ては常に一分であつて間歇法にあつては三回の成績に多少の差異はあるが初期に於ては連續法と等しく一分が曲線の山を示してゐるが時間を経るに従つて次第に縱軸に接近して居る然し其の山は常に連續法に於ける山よりも低い。故に本實驗の結果によると本菌は紫外線に間歇的に數度晒すよりもたゞ一度紫外線に浴せしめる方が刺戟作用は大である。尙露出時間の總計を等しく即ち一分間連續したるものと三〇秒宛二回行つたもの或は二分間連續したるものと三〇秒宛四回行つたるものを本表中より抜萃して比較して見るに次の通りである。

第 八 表

露出法 實驗回数	1 分		2 分	
	連 續 法	間 歇 法	連 續 法	間 歇 法
1	52864	40039	89639	127136
2	55211	48545	87042	90517
3	63897	21852	76214	79718

備考 数字は培養液 1 c.c. 中の細菌数を千單位にて表す。

本表によると連續法は常に一分間に於て細菌數多く二分間に於て少數であつた。故に紫外線の刺戟作用に對して間歇法の効果を認めることは出来なかつた。これは或程度菌の適應化によるものと思ふ。尙右英管を使用して實驗を行ひたるに其の結果は次表の通りであつた。

第 九 表

實驗回数	經 過 時 間	對 照	紫 外 線 露 出 法			
			連 續 法	30秒 法	5秒 間 歇 法	30秒 法
第 一	起 始	111 376	111	111	111	111
			423	104	376	235

1	21	3014	5146	376	4254	376
	48	10423	16338	6103	12770	728
	72	67714	20470	8836	21023	1502
回	120	22019	41090	16925	36244	2835
	168	62335	64507	35024	60410	17089
2	21	136	136	136	139	136
	48	446	446	423	376	215
	72	3870	3319	1596	4441	369
回	120	14366	15211	4038	9859	4038
	168	21718	14575	12062	36704	4225
	120	37277	45822	12024	33399	7234
回	168	48028	60845	33991	19577	23850

備考 数字は培養液 1 cc. 中の細菌数を干量法にて表す。

本表に於ても前同様に本菌に對する紫外線の刺戟作用に間歇法の効果を認めることは出来なかつた。

摘 要

一、本實驗は *Azotobacter chroococcum* を使用して Hanovia 製水銀燈による紫外線の刺戟作用に就きて研究を行ったものである。

二、硬質製三角瓶に於て最も細菌数の多きは露出時間一分であつて其れ以上露出すると次第に細菌数を減少す。pH の移動は一分が最大にて酸性傾向を示して居る。

三、本實驗に於いて細菌の増加は熱線、可視光線、培養基上の物理化學的變化等によること少く主に紫外線其のものゝ刺戟作用によるものであることを確證し得たのである。

四、紫外線に露出する時培養基の電導度、水素イオン濃度、滲透壓等は粘稠度、表面張力よりも比較的變化が大であつて還元作用を示してゐるが菌の生育上重要な因子として認めることは出来なかつた。

五、紫外線の刺戟作用は本實驗の結果露出法は間歇法よりも連續法による方が効果が大きであつた。然し間歇法による時は細菌数の最高は次第に露出時間を短縮して三〇秒又は五秒となつた。

参 考 文 獻

- (1) Owen, L. W. and Mobley, R. L. : *Zentbl. Bakt.*, 7 **Afr.** 88, 275, 1933.
- (2) Nason, G. and Philippov, G. : *Soc. Biol. Compt. Rend.*, 98, 303, 1928.
- (3) Feur, B. and Tanner, F. W. : *Jour. Ind. Eng. Chem.*, 12, 740, 1920.
- (4) Tanner, F. W. and Ryder, E. : *Bot. Gaz.*, 75, 309, 1923.
- (5) Fazi, R. D. : *Jour. Ind. Eng. Chem.*, 13, 205, 1921.
- (6) 板野, 浦松 : *日本農化會誌*, 10, 5, 177, 1924.
- (7) 江田周三 : *農學科學研究*, 6, 4, 121, 1922.
- (8) Duclaux, M. E. : *Compt. Rend.*, 100, 119, 1885.
- (9) Calabek, J. : *Protoplasma*, 3, 17, 1927.