

温泉に棲息する硫黄細菌についての研究

(第1報) 培養と形態

大阪学芸大学保健学教室 後藤英二・今井英夫・伊東祐一

(昭和40年5月15日受理)

Studies on the Sulphur Bacteria Inhabited in the Spa. I. Culture and Morphology

Eiji GOTO, Hideo IMAI and Yuichi ITO
Osaka Gakugei University

The culture of sulphur bacteria was tried in the environment of high temperature.

The figure of the bacterium and the adaptation of the bacterium for several culture media were performed and the results were revealed as follows:

1. Three types of bacteria were found in the spring water (96°C) collected from Yunomine spa. The first type is a coccus, seemingly in the shape of ellipsoid, that moves quickly in the water. The second is a bacterium which moves very slowly. The third is a giant bacterium (*Beggiatoa leptomitiformis*: $120\sim 200\mu\times 1\sim 1.5\mu$) which scarcely moves in the water. The bacteria of the second type contains sulphur granule in its cell body.
2. Three species of bacteria (long bacterium, short bacterium and coccus) were grown on a broth medium and an agar medium.
3. The bacteria were cultured on an artificial medium, however, it failed to separate these three bacteria from each other.
4. The most adequate pH-value for the culture was 7.0~8.0.
5. These bacteria were resistant to high temperature, and survived even at 100°C for 30 minutes.
6. It may be possible to separate these bacteria from each other by the culture in the fluid media. The long and short bacteria grew in the fluid media containing NaHCO_3 or MgSO_4 , while the coccus grew in the fluid medium containing K_2HPO_4 .
7. These bacteria used for the present study were cultured in the specific medium to identify sulphur bacteria.
8. These bacteria were able to be cultured in the other artificial medium which contains the same components as the medium, in which the bacteria were found at the spa.
9. The bacteria collected from the hydrogen sulphide spa (Yunomine spa), were stained by simple staining, gram staining and flagella staining. These bacteria were gram negative long bacterium ($13\sim 30\mu\times 2\sim 5\mu$), short bacterium ($12\sim 23\mu\times 2\sim 3\mu$) and coccus looking to be in the shape of an ellipsoid, ($8\sim 12\mu\times 5\sim 8\mu$). The long bacterium and the short bacterium have no flagella, and some of the coccus have flagella.
10. Some of the cultured bacteria hold sulphur granules in their cell bodies. The ultramicroscopic construction of the cultured bacteria was studied by an electron microscope, but it should be studied more.
11. It may be possible that the number of the long and short bacterium of the cultured bacteria increased to *Beggiatoa leptomitiformis* TREVISAN, *Thiothrix tenuis* WINOGRADSKY of *Thiothrix nivea* var. *Verticillata* MIYOSHI, and the ellipsoid coccus to *Achromatium Sphaeroides*.

自然界に於て窒素固定細菌・腐敗菌等の細菌類が物質の循環に貢献している事は周知の事実であるが、一般に硫黄細菌については後記のように余り研究されていない。この硫黄細菌は、生物体に含まれている蛋白質の分解や火山活動・温泉によって発生した硫化水素および硫黄の酸化によって生じたエネルギーを利用して生活するものであって、有機物をほとんど含まない培養液中に生育することができ、硫化水素を植物に必要な硫黄化合物として供給する。硫黄細菌に関する研究はすでに古く1887年、Winogradsky¹⁾ が発表しており、わが国においても三好²⁾ が1897年、日光湯元の硫黄泉において、5種の紅色硫黄細菌と、3種の無色硫黄細菌とを発見したことに始まり、以後、服部³⁾、江本^{4,5)}、中村ら^{6,7)} によって硫黄細菌の培養や、生理学的研究が行われ、浜⁸⁾ は旧日本全国の硫黄細菌の分類と分布についてくわしく報告している。しかしなお記載されない温泉棲息の硫黄細菌も多い。和歌山県東牟婁郡本宮町湯峯温泉の源泉中の細菌ならびに付近の温泉水中の硫黄芝については、すでに江本が報告しているが、この温泉の源泉温度が96°Cという生物体にとって非常な高温環境であることは特に注目すべきことで、このような細菌の生活機序は如何なるものであるのか、疑問の点も多く、また興味の深い点でもある。そこでまずこの細菌の培養をこころみ、さらに形態学的検索をくわえた結果、種々の興味ある点を認めたので報告する。

A. 培 養

I 細菌の採取

培養に供した細菌の採取は次のように行った。昭和38年12月6日、和歌山県東牟婁郡本宮町湯峯の環の湯の源泉及び泉源から木製有蓋導湯溝により導入される冷却用木製溝壁に多数附着する硫黄芝を付近の温泉とともに採取し、いずれも顕微鏡で細菌の存在を確認したのち、滅菌試験管にそれぞれ入れて魔法瓶で運搬、種々の培地で培養した。泉源地に於ける調査結果⁹⁾ では、源泉温度91°~98°C、気温は9.5°C、硫黄芝採取付近の泉温56°C前後、性状は無色透明で硫化水素臭あり、水素イオン濃度(pH)は7.6であった。

II 培地の種類と組成

培地の種類としては普通一般の細菌培養に使用するような固形培地や液体培地、平板培地や斜面培地等を色々に組合せて、次に記す6種類のものを作って実験に供した。

(イ) 普通ブイヨン培地

ペプトン	10g
食塩	1g
肉エキス	15g
蒸溜水	1ℓ

(以下蒸溜水1ℓ中の組成なので略す)。

(ロ) 普通寒天培地

寒天末	15g
ペプトン	10g
肉エキス	15g
食塩	1g

(ハ) チオ硫酸ナトリウム加ブイヨン培地

ペプトン	10g
------	-----

食塩	1g
肉エキス	15g
チオ硫酸ナトリウム	51g
(ニ) 人工培地 (I) ¹⁰⁾	
NaHCO ₃ (炭酸水素ナトリウム)	0.25g
K ₂ HPO ₄ (磷酸水素ナトリウム)	0.50g
(NH ₄) ₂ SO ₄ (硫酸アンモニウム)	1.00g
MgSO ₄ (硫酸マグネシウム)	0.50g
NaCl (食塩)	10.00g
CaSO ₄ (硫酸カルシウム)	0.50g
Glucose (ブドウ糖)	0.50g
(ホ) 人工培地 (II) —— 温泉水類似培地	
NaCl (食塩)	0.35g
Na ₂ SO ₄ (硫酸ナトリウム)	0.03g
NaHCO ₃ (炭酸ナトリウム)	0.40g

この培地は細菌棲息泉の分析表⁹⁾ から主成分が KCl, NaCl, Na₂SO₄, NaHS, Na₂S₂O₃, NaHCO₃ である事がわかったが余りに微量すぎるので Cl 系統, S 系統, CO₃ 系統に分類し, 各分子量を求め, 比例方式を用いて, KCl は NaCl, NaHS と Na₂S₂O₃ は Na₂SO₄, NaHCO₃ はそのままにして, 上記の量を概算決定した。

(ヘ) 硫黄細菌同定培地	
MgSO ₄ · 7H ₂ O (硫酸マグネシウム)	0.20g
K ₂ HPO ₄ (磷酸水素カリウム)	1.00g
FeSO ₄ · 7H ₂ O (硫酸第一鉄)	0.05g
CaCl ₂ (塩化カルシウム)	0.02g
MnCl ₂ · 4H ₂ O (塩化マンガン)	0.002g
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O (モリブデン酸ナトリウム)	0.001g
NH ₄ Cl (塩化アンモニウム)	1.00g
Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O (チオ硫酸ナトリウム)	7.00g

以上の6種類の培地以外に, (ニ) 人工培地 (I) の組成成分をそれぞれ1種類のみにした液体培地を作製した。即ち水 1ℓ に対するグラム数で表わすと次のような組成である。

1. NaHCO ₃	0.5	g/l
2. K ₂ HPO ₄	1.0	g/l
3. (NH ₄) ₂ SO ₄	2.0	g/l
4. MgSO ₄	1.0	g/l
5. CaSO ₄	1.0	g/l
6. NaCl	20.0	g/l

III 培養方法と結果

a. 普通培養

硫化水素泉で採取された菌が, 一般細菌の培養に供する培地に増殖するかどうか不明であったが, 一応(イ), (ロ) 2種の培地を pH 7.4 として高圧滅菌器で滅菌後, プイヨンのような液

培地は試験管で、寒天のような固形培地はまずシャーレで平板培養して、試験管で斜面培養した。培養温度は 37°C で 24 時間とした。その結果培養は可能で、ブイヨンの入った試験管の管底部に灰白色の絮状沈澱物を生じ、これを検鏡の結果、後述するような 3 種類の細菌の集団である事を認めた。普通寒天培地では境界鮮明なやや白色のコロニーとやや透明な黄白色の辺縁のなめらかなコロニーを形成し、菌数が多いとコロニーは苔状になった。これは平板・斜面いずれも同様であった。結局採取温泉中の細菌は 3 種類混在してをり、普通の培地で培養可能なことを認めたが、さらにくわしく特殊培養を行なった。

b. 特殊培養

数種の細菌が混在した場合、これを純粋分離培養することは当然であり、また本細菌群が硫黄細菌であるかどうかは形態的に識別困難のため硫化水素の存在する培地で培養しなければ断定できない。そこでまずチオ硫酸ナトリウムをブイヨンに加えて硫化水素を発生した培地(ハ)に培養すると、やはり管底部に黄白色の絮状沈澱物を形成し、(イ)、(ロ)よりも菌数が多かった。つぎに人工培地(I)と(II)に培養した結果、前者は肉眼的に黄白色の絮状沈澱物を認め、後者はそれを認めなかったが、検鏡の結果いずれも混在する数種の細菌を認めた。しかし分離培養はできず、そこで人工培地(I)の成分をそれぞれ単独使用してみると、当初細菌の検出が困難であったが、さらに普通寒天培地に移殖培養した結果、次の表1のようにコロニーの数や大きさならびに菌の形態や運動性(詳細についてはB形態で後述する)に相異を認め、また純粋分離培養の可能性がみられるにいたった。

表 1

培 養 液	コロニー数	コロニーの 大 小	形 態	運 動 性
1. NaHCO ₃	卅	十	短桿菌	活 発
2. K ₂ HPO ₄	卅	卅	球菌	不 活 発
3. (NH ₄) ₂ SO ₄	卅	卅	長桿菌と球菌	やや不活発
4. MgSO ₄	十	卅	短桿菌	不 活 発
5. CaSO ₄	卅	卅	長桿菌と球菌少し	活 発
6. NaCl	卅	卅	長桿菌, 短桿菌, 球菌	活 発

表中運動性不活発とは検鏡中次第に運動性減弱し、3~5分で完全停止したものをいう。つぎに硫黄細菌同定培地(本来は増菌用に使用する)を pH 7.0 に調整し、15 ポンド、20 分間高圧滅菌器で滅菌、30°C の暗黒中で 2~3 日間培養した結果、少数の細菌が発育し、さらに一週間放置すると試験管管底部に絮状沈澱物を認める程度の増殖をみた。したがって本細菌群を硫黄細菌と断定した。

C. 培地と pH, 耐熱試験, その他

ブイヨン並びに人工培地(I)の液体 10cc づつを試験管 10 本に入れて、それぞれ pH を 2.5 (2.0), 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.0, 7.4, 8.0, 9.5 として 1 昼夜培養後、普通寒天培地に各試験管から 0.1cc, 0.05cc 移し、ガラス棒で塗抹して、37°C で 24 時間培養した結果は表 2, 表 3 に示す通りである。

表 2 ブイヨン培養 (0.05cc 移殖)

pH	コロニー数	pH	コロニー数	pH	コロニー数	pH	コロニー数
2.5	2	5.5	240	7.4	無 数	9.5	296
3.5	23	6.5	500	8.0	〃		
4.5	90	7.0	無 数	8.5	620		

表 3 人工培地 (0.05cc 移殖)

pH	コロニー数	pH	コロニー数	pH	コロニー数	pH	コロニー数
2.0	0	5.5	640	7.4	無 数 7.0 と大体同じ	9.5	480
3.5	56	6.5	無 数	8.0	同 上		
4.5	248	7.0	〃 (6.5 より多い)	8.5	無 数 6.5 と大体同じ		

計算方法は平板培地を 4 等分して、4分の 1 わくのコロニー数を計算して 4 倍する。無数とあるのはこの計算不能のもので、苔状になったコロニーの厚さ、大きさ等を考慮して肉眼的に判別した。数日後に各 pH を測定したが、変化を認めなかった。つぎに人工培養液の試験管での細菌の分布状況を検するため、試験管上部と底部の液を採取、また試験管を振盪してのち、中層より採取したものを一定条件で寒天平板培地に移殖培養した結果は、表 4 に示す通りである。

表 4

採取場所	試験管番号				
	1	2	3	4	5
+ → 菌 検 出	+	-	+	+	-
- → 菌 不 検 出	卍	卍	卍	卍	+
	卍	卍	卍	卍	卍

本細菌群の採取地の源泉附近の温度が 91°C から 98°C という高温環境であるので、培養菌がどの程度高熱に耐えるか、耐熱試験をおこなった。その方法は普通寒天斜面培養した試験管を 100°C 以上の沸騰したワツサーバードに入れ、30 分間放置したのち、1 白金耳をとり普通寒天培地で平板培養した。その結果は普通寒天培地と同様、境界鮮明なやや透明な白色のコロニーを形成し、検鏡しても同様の細菌群を確認した。

IV 培養に対する考察

普通培地においては栄養分が多く、しかも硫化水素のない培地での培養は、他細菌も多数繁殖しやすく、培養されたとはいえ、それが特定の細菌とは断定しにくい。つぎの特殊培養において硫化水素の存在する無機物質の培地で培養されたもの、さらに硫黄細菌増菌用培地で培養されたもの等は硫黄細菌であると断定される。つぎに湯峯温泉の泉源の pH は 7.6 前後で、培養菌の培地上の至適 pH も 7.0 から 8.0 であり、温泉類似培地にも増殖したので、培養菌と採取菌とは同一菌であると考えられる。硫黄細菌は硫化水素を酸化して硫黄と水にし、さらに酸化して、最後に硫酸を作る。故に使用した培地の pH も酸性に変化するであろうと想定され

たので、培養前後の pH を測定したが、変動は見られなかった。これは培養期間が短くて、硫化水素から硫酸に変化するに到らなかったのか変化していても検知しえない程度の微々たるものであったのか、或は全然利用していなかったのか、さらに検討すべき問題である。

人工培地の各組成無機成分単独で本細菌群が培養可能とは考えられなかったが、普通寒天培地に移植培養した結果、 NaHCO_3 と MgSO_4 からは桿菌、 K_2HPO_4 からは球菌が生育した。したがってさらにこれを継続または改良すれば純粋分離培養も可能と考えられる。

一般に細菌が高熱環境で生活を営むことは困難で、なかには高熱下で芽胞をもち活潑な活動をしないうちの状態に生命を保持する細菌もあるが、本細菌群のように芽胞を持たないいわば裸の状態でも 95°C 前後の高熱下で生命を維持している事実は、非常に興味ある点で、耐熱試験をおこなった結果、 100°C で 30 分間も生存した。これは如何なる理由によるのか、もし 1 時間、数時間と長時間にわたればどうなるのか、このような高熱下で無機培地によって代謝を営んでいる事実は、今後追求しなければならぬ点と考えられる。硫黄細菌の至適培地条件の設定にあたり、これを定量的に示そうと菌数計算をしたが、菌量が多く、コロニー数を計算し得なかった。

菌量を少なくすれば、定量的に計算して、種々の培地に対する適応性を判定しうるものと考えられる。

B. 形 態

I 形態学的検索方法

a. 染色法

単染色、グラム染色、鞭毛染色の 3 種類をつぎの順序でおこなった。塗抹→乾燥→固定→染色→水洗→乾燥→検鏡、単染色にはレフレルのメチレン青液と Pfeiffer 液の 2 種類を使用し、グラム染色は普通法を、鞭毛染色は戸田氏法を使用した。

b. 顕微鏡写真撮影方法

使用した顕微鏡はオリンパス E.C.E Bi 型、顕微鏡写真撮影装置はニコン顕微鏡写真装置、M.F.、写真機はミノルタ S—R—1 型、フィルムは富士フィルムミニコピー、露出は開放、光源は最大、Koehler 照明法でシャッター速度は 1 秒、2 秒、5 秒、10 秒であった。

c. 電子顕微鏡の標本作製

固定には 2% オスミック酸水溶液に pH 7.3~7.5 に調製したペロナル・アセテート・バッファーを等量加えて 1% オスミック酸水溶液としたものを使用した。固定時間と温度はパレードの方法で、包埋はメタアクリレート樹脂包埋、切断ナイフはガラスナイフを使用した。

II 源泉より採取直後の菌と培養した菌

a. 源泉採取菌と硫黄芝の形態

現地で源泉 (泉温 98°C) を 1 滴スライドグラスに滴下して、検鏡すると丁度鞭毛でも具えているような活潑な運動をする球菌とやや運動速度のある短桿菌とを認めた。大きさは $3\sim 4\mu \times 2.5\sim 3\mu$ と $5\sim 8\mu \times 2\sim 3\mu$ で、光の屈折の強い顆粒を内蔵していた。これを固定標本にしようとしたが困難であったので、つぎに源泉より下流の 56°C 前後の温泉の流れる木製導泉溝壁に附着する硫黄芝を採取、現地でただちに固定後、単染色した。一方その附近の温泉 1 滴を検鏡すると硫黄芝の構成部分である非常に長い桿菌があり緩慢なラセン様運動を示していた。その単染色した標本を [写真 1] でみると、 $120\mu\sim 200\mu$ の非常に長い菌体内に硫黄顆粒のよ

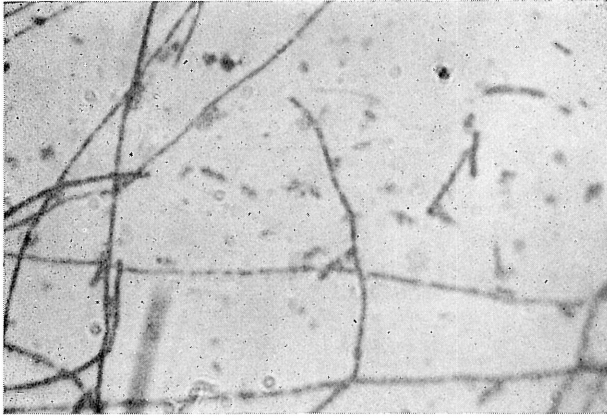


写真 1

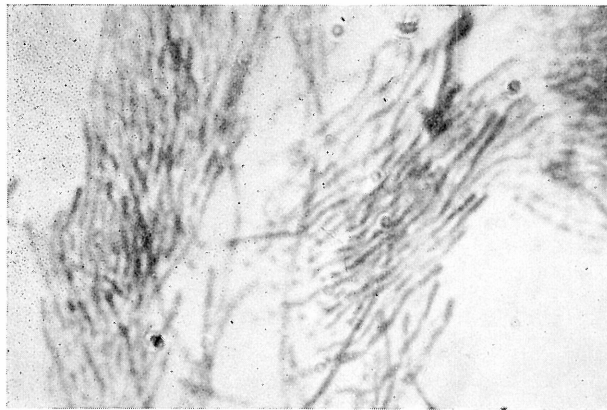


写真 2

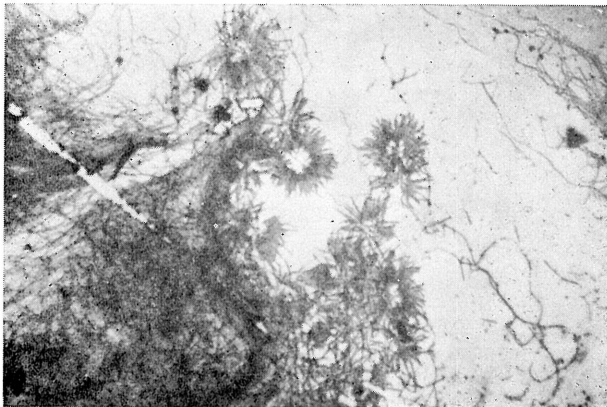


写真 3

なものをもつ細菌である事がわかった。

硫黄芝を検鏡してみると，〔写真2〕のように，細菌が丁度「芝」をたばねてニカワで固めたように集団をなしていた。形も種々に樹枝状のもの，ヒマワリや菊の花のような花卉状のものがあり，〔写真3〕に示したものは，長さ $10\sim 20\mu$ の桿菌が，矢車草のような集団形成をなしているものである。以上いずれの細菌も紅色素を有しないで，硫黄顆粒を内蔵する点，白色硫黄細菌 *Leucothiobacteriales* であって大体3種類の細菌と考えられる。即ち，長さ $120\mu\sim 200\mu$ ，巾 $1\sim 2.5\mu$ で，細胞間壁の不顕著なものが *Beggiatoa leptomitiformis* TREVISAN, 1842 であり，長さ $8\sim 10\mu$ ，巾 $1\sim 1.5\mu$ の花弁状の集団をなしているものが，*Thiothrix tenuis* WINOGRADSKY 長径 $3\sim 4\mu$ か $5\sim 8\mu$ ，短径 $2.5\sim 3\mu$ か $3\sim 4\mu$ の運動活発なものが，*Achromatium sphaeroides* HAMA, 1951 である。しかし *Achromatium* はやや大きく $8\sim 9\mu\times 9\sim 10\mu$ で，大きさからはむしろ紅色硫黄細菌の *Chromatium sphaeroides* に類似しており，その点新種かとも思われたが，後述するように培養菌は大きくなっており，したがって *Achromatium* であろうと考えられる。

b. 種々の培地で培養された菌の形態

A. 培養の項で述べたように数種類の培地に培養した結果は，大体3種類の細菌に分類することが出来た。即ち長桿菌，短桿菌，球菌で

あって、大きさから *Thiothrix* 属と *Achromatium* 属と思われるが、*Beggiatoa* のような巨大な細菌は認められなかった。まず普通培地では、3種類の細菌が混在して発育し、増菌率は高いが反面他の雑菌の混入する危険が多分にあった。つぎに特殊培養培地では増菌率も低く、雑菌の混入する危険性は少い。主として短桿菌、球菌の発育が盛んで、特に球菌が多く大体 1:3 の割合であった。また増菌率が低いため液体培地では形態学的検索を加える事が困難なので、特殊液体培地は 1ℓ につき寒天 15g を入れて固形培地として使用した。前述のように主として短桿菌と球菌の増殖をみたが、一部の培地においては混在しないで、分離して増殖ができた。以下写真例を入れ同時に大きさ等の説明を加えたいと思う。

〔写真4〕は倍率 1,500 倍で単染色を行った長桿菌で CaSO_4 (硫酸カルシウム) 単独培地で培養したものである。全体に長い棒状桿菌で、長さ $5\sim 30\mu$ 、巾 $2.5\sim 5\mu$ あり、一部硫黄顆粒のような小粒子を内蔵することがわかる。その他この種の細菌の多い培地は $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl 単独培地であった。

〔写真5〕は倍率 4,500 倍で単染色を行った短桿菌と球菌で、硫黄細菌同定培地で培養したものである。前者は長さ $17\sim 22\mu$ 、巾 $2\sim 2.5\mu$ で、後者は長径 $10\sim 12\mu$ 、短径 $5\sim 6.5\mu$ の楕円形の球菌である。このような球菌のみを分離培養できた培地は K_2HPO_4 で、その他の培地 (NaHCO_3 , MgSO_4)

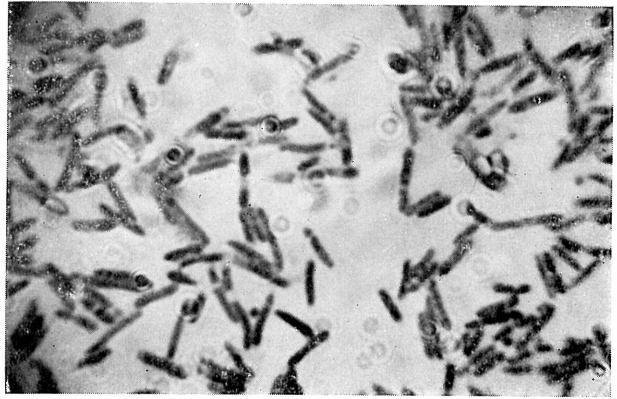


写真 4

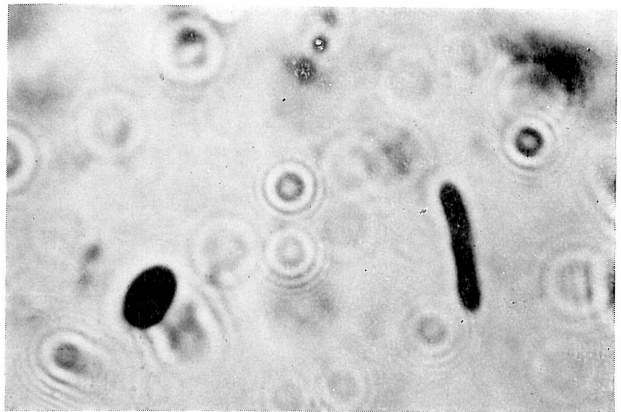


写真 5



写真 6

では、この短桿菌を分離培養できた。さらにこれら3種類の細菌にグラム染色と鞭毛染色を行った結果、すべてグラム陰性菌で、鞭毛を有するのは一部の球菌のみで、他は鞭毛を認められなかった。〔写真6〕は電子顕微鏡像で、倍率21,000倍である。これは本細菌群の微細構造を確かめようとして撮影したのであるが、単に電子密度の高い直径約100m μ の微細顆粒の散在を認めたのみで、あまり明確にし得なかったことは残念で、今後一層の検索を加えたいと思う¹²⁾。

III 形態に対する考察

現地で採取した硫黄芝の形態は多種多様で非常に興味があり、〔写真1〕に示す長さ120 μ ~200 μ の巨大な細菌は *Beggiatoa* と呼ばれる多数の硫黄小滴を含む糸状滑走細菌の一種で、形態学的にはユレモ属 *Oscillatoria* の糸状光合成藍藻類と対比され、自然界において硫化水素のある所、どこでも発見できる¹¹⁾。したがって浜の記載する⁸⁾ *Beggiatoa leptomitiformis* であると考えられる。特徴的なロゼットをなし、硫黄小滴で満されている。 *Thiothrix* の糸状体は細胞間質に小さくて目立たない固着器で固着されている。〔写真3〕は *Thiothrix* の緑顆粒(ゴニディア)という滑走能力を有する単細胞が糸状体の先端で遊離し増殖して丁度花卉状に集合したものと思われる。〔写真2〕の細菌が丁度ニカワで固めたように束になっているのは多分 *Thiothrix* の菌体から分泌するコロイド物質等で集合形成したものだと考えられる。一般に糸状滑走細菌は真正細菌や、その類縁菌とは根本的に異なって藍藻類に類似性を示す非光合成菌で、これらは表面の固いものと接触した際、その細胞が滑走するという特性あり、藍藻類と同じく認めるような運動小器官を有しないとされている¹¹⁾。したがって生菌のままで検鏡した場合、それが源泉採取時の菌であれ、培養した菌であれ、緩慢な運動性しか示さなかったということは、ただ滑走しているゴニディアか、液体の流動による、固着性のないベギアトアの断片の波動運動を観察したものと思う。一方活潑な運動性をもつ楕円形の球菌は、前述の糸状滑走細菌と異った運動器官を有する硫黄細菌である。即ち培養して鞭毛染色した結果、観察されたことは長桿菌と短桿菌とは鞭毛がなく、球菌の一部に鞭毛を認めた事で、この楕円形の細菌は培養菌の大きさからいって *Achromatium spheroides* と思われる。しかし前述のように現地で認めた球菌はやや小形で大きさからいって *Chromatium spheroides* に類似しているが、環境条件が悪く小形化して棲息していたとも思われる。つぎに120~200 μ の巨大なベギアトアが培養中、どうなってしまったか疑問の点であるが、これも多分環境の変化によって、長いままの状態では生存出来ないため分裂して短い単細胞になってしまったか、あるいは培養中死滅してしまったものかとも思われる。もし培養中にそれを求めるならば、比較的長い桿菌がそれに相当するものと思われる。また培養すると硫黄顆粒は一部は認められたが、顆粒が認められなかったものが大部分で、これはやはり源泉環境のように硫化水素を充分利用出来なかったからであると考えられる。

要 約

一般硫黄細菌中、高温環境下の硫化水素泉に棲息する硫黄細菌の培養を試み、その種々の培地に対する適応性ならびに形態を検索した結果、つぎのような結果を得た。

1) 湯峯温泉の源泉(96°C)に棲息する細菌は、活潑な運動性を有する楕円形の球菌で58°Cの温泉に棲息する細菌および硫黄芝の細菌には、運動性のない巨大な(120~200 μ ×1~1.5 μ)硫黄顆粒を内蔵する *Beggiatoa leptomitiformis* と、やや運動性のある *Thiothrix* 属とであった。

- 2) 普通ブイヨン培地, 普通寒天培地に培養可能, ただし3種類(長桿菌, 短桿菌, 球菌)の細菌が混在した。
- 3) 人工培地に培養可能, 純粋培養不可。
- 4) 本細菌の培地至適 pH は 7.0~8.0 であった。
- 5) 本細菌は 100°C, 30 分間の環境に対して耐熱性を示した。
- 6) 人工培地組成成分単独培養により純粋分離培養の可能性がうかがえる。
NaHCO₃, MgSO₄ では桿菌のみ, K₂HPO₄ では球菌のみ生育した。
- 7) 硫黄細菌同定の特殊培地に培養可能, したがって本細菌を硫黄細菌と認めた。
- 8) 産地泉源成分類似培地に培養可能, よって本細菌は産地泉源より採取した菌である。
- 9) 硫化水素泉(湯峯温泉)で採取した細菌を培養して, それぞれ単染色, グラム染色, 鞭毛染色を行った結果, すべてグラム陰性の長桿菌(13~30μ×2~5μ)短桿菌(12~23μ×2~3μ)と楕円形の球菌(8~12μ×5×8μ)であった。両桿菌には鞭毛なく, 球菌には一部鞭毛を認めた。
- 10) 培養菌は一部硫黄顆粒を内蔵し, その微細構造を電子顕微鏡像で検索したが, 今後なお一層の検討を必要とする。
- 11) 培養菌中, 長桿菌と短桿菌とは, 現地採取菌の *Beggiatoa leptomitiformis* *Thiothrix tenuis* の分裂増殖したものか, あるいは *Thiothrix nivea* var. *verticillata* MIYOSHI かであり, 球菌は採取菌と同じ *Achromitium sphaeroides* の増殖したものと考えられる。

文 献

- 1) S. Winogradsky: Beiträge zur Morphologie u. Phys. d. Bakt, Leipzig (1888).
- 2) 三好 学: J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo **10**, 143 (1897).
- 3) 服部広太郎: 植物学雑誌 **37**, 2, 11 (1923).
- 4) 江本 義数: 植物及動物 **11**, 101 (1934).
- 5) 江本 義数: 温泉科学 **1**, 119 (1941).
- 6) 中村 弘: 植物及動物 **5**, 17, 79, 81 (1937).
- 7) 中村 弘: 植物学雑誌 **52**, 262 (1938).
- 8) 浜 健夫: 明治学院論叢 **9**, 1, 17, 31 (1963).
- 9) 伊東祐一・今井英夫: 温泉分析書 (1964).
- 10) 浜 健夫: J. Sci. Hiroshima Univ. **1**, 135, 157 (1933).
- 11) ステニヤー・ドウドロフ・アデールバーグ: 一般微生物学(桑島謙夫ほか5名共訳),
- 12) 後藤 英二: 硫化水素泉に棲息する細菌(第17回日本温泉科学大会講演).