

地球微生物学的研究

—— 苦灰岩中の微生物の存在についての再検討 ——

都 留 信 也

緒 言

苦灰岩にとじこめられた「化石」細菌や糸状菌については、これまでに数多くの報告が発表されている。これら微生物は、濃縮された塩湖で地質学的時代にその結晶内にとじこめられたものであろう、と考察されている。(RAHN, 1934; RIPPEL, MÜLLER と SCHWARTZ, 1953; DTRONG, 1956; DOMBROWSKI, 1960-63)。さらに DOMBROWSKI (1960-1964) や REISER と TASCH (1960), TASCH (1960-1963) は、これら苦灰岩試料中より、増殖能力を保持していたと称する各種の微生物を分離している。

苦灰岩は約5億年から以降の地質時代に、不連続的に堆積されたものと考えられている。もちろんこの間に塩類溶脱・再結晶といった複雑な反応が繰返えされたことは、例の「年輪」類似の堆積層によってもうかがわれる。

厳密な化学分析の結果ではないが、石灰・苦土が1%, 石膏30%, 加里69%, その他水分2%が含まれている。堆積環境の温度は当初30-50℃で、塩水の蒸散・乾固が生起していたものと考えられ、その後の塩分濃度の増加に従って、40-50℃と高温状態が続いたものと想定される。苦灰岩の酸化帯には、水酸化鉄、ヘマタイトの斑点に附随して鉄バクテリアの存在が観察され、ある場合には、黒色カルナライトとして硫酸還元菌の存在が示唆される。苦灰岩といっても地域によって差異が認められるが、カルナライトが30-50℃で生成された後で、ハライトが70-80℃で生成されたという点については、何処でも条件は同様であるという。

「化石」微生物の存在については、苦灰岩(世界各地の)試料を使用した詳細な研究報告がある(BIEN と SCHWARTZ, 1965)。ここでは微生物あるいは他の生物の顕微鏡研究についてはこれを行わず、数億年前の苦灰岩試料中の結晶にとじこめられていた微生物が培地に接種された場合に、生育し増殖するかいなかを確かめる実験結果についてのべることにした。

* 1967. 11. 5. 受理

** 東大応用微生物研究所

方 法

接種用試料の滅菌操作が非常に重なる実験段階であると考えられる。この段階での汚染の可能性は大きい。現在のところ、岩石（固体）を粉碎するための無菌操作は多分困難なことであろう。約 50 cm 塊の試料を滅菌室内中で滅菌ハンマーにて約 8 cm 立方に調整する。試料は着色層から採集したものを使用する。また割目のないことを確かめる。

ここで使用した試料は 1966 年ザルツデットフルト・カリ鉱床で採集されたカルナライト・シルビナイト両 2 種の鉱石である。

試料表面は 15% H_2O_2 で 3 分間洗滌し、60℃で加熱殺菌処理を行なった。さらに滅菌水で洗滌した後、1 分間ガス炎で試料を焼熱した。

肉汁・ペプトン・ブロスとグルコース・ペプトン培地に試料表面をけずり取ったものを対照として接種した。試料表面はすべての場合、滅菌しておく。しかるのち試料をハンマーでくだき試料中心部をとり出し、滅菌乳鉢で粉体として秤量したものを 1 g、直接培地に接種した。他の一部は 30% 溶液として調整し、培地にピペットを用いて接種した。なお接種のため 10 段階の希釈を行ない、2 連で試験管内での生育につき観察・測定を行なった。

供試培地は KCl:NaCl を (1:1) の割合に混合し、蒸留水に溶解させたものを用いたが、その最終塩類濃度は 10% とした。濾紙を用いて培地を濾過、無色溶液を試験管に分注し、加圧滅菌する。上記培地に 0.5% ペプトンと 1% グルコースを添加したものをペプトン・グルコース培地とした。肉汁・ペプトン・ブロスは常法どおりに調整した。固体培地としてはコーン・ステープ寒天培地、ジャガイモ・グルコース寒天培地、肉汁・ペプトン寒天培地の 3 種類を使用した。

菌体重量測定のためペプトン・グルコース培地をフラスコに分注、接種・培養してその増加量をみた。各フラスコに 20 ml の液体基本培地を分注、これに約 1 g のカリ鉱石粉体を接種した。一部のフラスコをカリ鉱石粉体の接種のち滅菌して対照とした。一定日時、恒温槽に静置した後、遠心分離・乾燥して菌体重量を秤量した (50℃, 10 日)。

結 果

2 種類のカリ鉱石について実験した。各試料は 6 種類の培地に接種された。すべての場合、代表的細菌の生育を認めることができなかった。ペプトン・グルコース培地では、いくつかの微生物の生育を認めえた。しかしながら、この結果だけでは微生物の生育があったと断定することはできない。吸光度の変化を $426m\mu$ で測定した場合、対照区と実験区との差ははっきりとしていない (表 1)。

菌体重量についても、その差が僅少なことが明瞭であった。ペプトン・グルコース培地の場合、検鏡によって桿状細胞が観察できた (表 2 と表 3)。

第1 シルビナイト試料の微生物生育の結果

基本培地
10% NaCl + KCl
(1:1)
生育程度

吸光度
O.D. 436 mμ

実験区(シルビナイト)

1.	±	0.105	
2.	±	0.110	
3.	±	0.100	
4.	±	0.150	
5.	±	0.115	
6.	±	0.122	平均 0.117

対照区(シルビナイト)

7.	±	0.122	
8.	±	0.122	
9.	±	0.155	
10.	±	0.125	平均 0.131

表2 シルビナイト試料の微生物菌体量

基本培地
10% NaCl + KCl
(1:1)
生育程度

菌体重量
d.w. mg

実験区(シルビナイト)

1.	±	2.1	
2.	±	2.9	
3.	±	2.2	
4.	±	2.6	
5.	±	2.4	
6.	±	3.0	平均 2.8

対照区 (シルビナイト)

7.	±	2. 7	
8.	±	2. 5	
9.	±	3. 0	平均 2. 7

表3 カルナライト試料の微生物菌体量

基 本 培 地
10% NaCl + KCl
(1 : 1)
生 育 程 度

菌 体 重 量
d. w. mg

実験区 (カルナライト)

1.	±	3. 0	
2.	±	2. 6	
3.	+	3. 0	
4.	+	3. 4	
5.	+	2. 9	
6.	+	8. 2	平均 4. 1

対照区 (カルナライト)

7.	±	1. 8	
8.	—	3. 0	
9.	+	7. 0	
10.	+	2. 6	
11.	+	3. 5	平均 3. 6

微生物が数億年の長期間、苦灰岩層に "生きたまま" とじこめられているという事実について、近年いくつかの研究報告が発表されている。DOMBROWSKI の仕事を再検討して、SCHWARTZ は "生きた" 状態の微生物を確認することができなかったとのべている。微生物が苦灰岩・カリ鉍石試料に存在するという報告については、さらに注意深く追試を行なわねばならぬであろう。この実験では、条件として 50℃ の温度に限って試験を行なったが、SCHWARTZ は次のような培地を使用して実験した。また試料はロスレーベンとベルンブルクのカリ鉍床のハライト、シルビナイト、カルナライトを使用している。試料 250g を蒸留水で洗滌、表面を除菌する。これら試料をガス炎により殺菌、粉碎したものをカザミノ酸 + 20% NaCl 培地と肉汁ブイヨン + 20% NaCl 培地にそれぞれ接種、40℃、10日間培養して微生物の生育・増加を観察・測定している。

DOMBROWSKI の実験方法、苦灰岩処理方法についてはくわしく紹介されているので、ここでは、いくつかの問題点についてのべ、今後の研究課題として指摘するに止める。

(1) 微生物が苦灰岩の結晶の中にとじこめられるプロセスが、今日広範に微生物の保存に使用されている凍結乾燥に類似しているという前提に立って、脱水固定について論議を進めていたが、この凍結乾燥処理は微生物の各種類に対して一様に作用するわけではなく、また同一種類の微生物においても、この操作の途中である部分が生育・増殖能力を失うことがこれまでに明らかにされている。であるから、簡単な類推によって地質時代のプロセスの一側面のみをとりあげることは、混乱を引き起こすことになる。

(2) 苦灰岩の形成後に生じた物理化学的变化(圧力・温度)によって鉍物結晶も変成を受けるだろうし、その中に含まれていた微生物細胞も変化をまぬがれなかったであろう。絶対温度 0℃ における蛋白・核酸構造の変化についての報告などからも、これより以上の温度条件において、エネルギー代謝その他の変化が生じているものと考えられる。

(3) 苦灰岩形成時の塩湖の温度は 30 - 50℃ と想定されているが、好塩性細菌の細胞内外の塩類濃度の影響についてもなお検討の余地がある。たとえば現世の塩湖その他の試料から分離された細菌の耐塩性についてみると、下記のような結果を得た。

	0	4	8	12	16 (NaCl %)
<i>Micrococcus varians</i>	+	+	+	+	+
<i>Alcaligenes faecalis</i>	—	+	+	+	—
<i>Pseudomonas cerevisiae</i>	+	—	—	—	—
<i>Achromobacter eurydice</i>	—	+	+	+	—
<i>Achromobacter pe stifer</i>	+	+	—	—	—

つまり培養地中の塩類濃度とその組成は局地性を有していて、数種類の分離・培養地のみによって生育・増殖能力の有無を断定できる段階ではないようである。

結 論

1. 苦灰岩試料中に生育・増殖能力を有する微生物が存在するかについて実験を行なった。その結果、今回の実験方法と条件によると明確な存在は証明されなかった。
2. 桿菌、球菌など多くの種類を検鏡で確かめることができたが、これが汚染によるものでないという確証もない。今後の研究(実験方法の改良を含む)にまつところ大きいことが示唆された。

参 考 文 献

- BIEN, E. u. SCHWARTZ, W., (1965) *Ztschr. f. all. Mikrobiol.*, **5**, 185-205.
- BECQUEREL, P. (1950) *C. R. Acad. Sci.*, **231**, 1274-1277.
- DOMBROWSKI, H. J., (1960) *Zbl. f. Bak. I Orig.*, **178**, 83-90.
- DOMBROWSKI, H. J., (1961) *Zbl. f. Bak. I Orig.*, **183**, 173-179.
- DOMBROWSKI, H. J., (1963) *Biol. Zbl.*, **82**, 477-484.
- MULLER, A. u. SCHWARTZ, W., (1953) *Ztschr. Dtsch. Geol. Ges.*, **105**, 789-802.
- REISER, R. u. TASCH, P., (1960) *Transact. Kansas Acad. Sci.*, **63**, 31-34.
- RAHN, O., (1934) in "Salt". The National Provisionen.
- RIPPEL, A., (1935) *Arch. f. Mikrobiol.*, **6**, 350-358.
- STRONG, M. W., (1956) *Adv. Sci.*, **12**, 583-585.
- TASCH, P. (1963) *Univ. Studies No. 56, Univ. Wichita Bull.*, **39**, No 3, 34.
- TSURU, S., (1963) *Jap. J. Chem.*, **17**, 35-50.
- TSURU, S., (1965) *Jap. J. Chem.*, **19**, 7-11-14.
- TSURU, S., (1966) *MICRO*, No. 3, 37-40.

謝 辞

本実験に使用した試料採取に種々便宜を与えられた Dr. H. KOHNKE (前ドイツカリ協会外国部長) に深謝する。種々の文献ならびに助言を下された Prof. W. SCHWARTZ に感謝の意を表する。

なお本実験は東京大学応用微生物研究所において行なわれた。