

トマト葉上より分離した細菌の栄養的性質

田端信一郎・田部 真 (信州大学農学部)

葉上に生息する細菌の生存と増殖は物理的、化学的環境条件に支配され、固有の相を構成している。この細菌フロア中の細菌個々について形態的、生理的性質にもとづく分類学的考察を行なっても、自然に存在する細菌群の性質を特徴づけることは困難である。そのために、生息性を支配する多くのからみ合った環境条件の中から最も重要と考えられる栄養要求性、すなわち利用性について調べた。

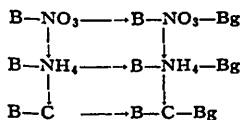
I 実験材料および方法

材料としてビニールトンネル内で育成したトマト幼植物の葉上細菌を用いた。葉を殺菌水に浮べ、氷冷下で5分間激しく振とうして得た細菌浮遊液を酵母エキス加用土壌煎汁寒天培地上に平板培養し、生じたコロニーを任意に選んで分離し、試験に供した。栄養要求性を調べるための培地は次のとおりである。基礎培地 [B] として K_2HPO_4 1.0 g, $MgSO_4$ 0.4 g, NaCl 0.2 g, $CaCl_2$ 0.02 g, $FeCl_3$ 痕跡, グルコース 5 g, 純水 1000ml を pH6.8 に調整して用い、N-原として $NaNO_3$ [NO_3], $(NH_4)_2SO_4$ [NH_4] および Casamino acid (vitamin-free) [C] 各0.1%を、またビタミンB群 [Bg] をそれぞれに加えた6種である。添加したビタミンB群はチアミン 100 μ g/l, リポフラビン 200 μ g/l, ビリドキシン 200 μ g/l, ニコチン酸 100 μ g/l, パントテン酸 100 μ g/l 葉酸 100 μ g/l, ビオチン 0.5 μ g/l, シヤノコバラミン 2 μ g/l, イノシット 0.1 g/l であった。

II 結果および考察

1971~1972年の2年間にトマト葉上から分離した細菌300種を実験に供した。

基礎培地 [B] に各種N-原およびビタミンB群[Bg]を加えた場合の組合せは6種類あり、最も栄養的に単純なB- NO_3 から複雑なB-C-Bgまで栄養に富む順に



第1図 培地栄養レベルの順位

並べると第1図の矢印方向になると考えられる。この培地の組合せで生育可否が考えられる組合せは第1表に示すようになり、6培地からの栄養要求型はI~IX型の9種が考えられた。これら栄養要求型の内容は第2表に示したとおりである。I, III, VI型はビタミンB群を発育に必要としない細菌であり。VII, VIII, IX型はビタミンB群を生育に必須とする細菌である。II, IV, V型はビタミンB群を必ずしも必要としない2種類の栄養要求型を示すものである。

供試菌300種を6種の培地で培養し、第1表の基準に

第1表 各培地での菌生育の有無から考えられる可能な生育型

型	B- NO_3	B- NH_4	B-C	B- NO_3 -Bg	B- NH_4 -Bg	B-C-Bg
I	+	+	+	+	+	+
II	-	+	+	+	+	+
III	-	+	+	-	+	+
IV	-	-	+	+	+	+
V	-	-	+	-	+	+
VI	-	-	+	-	-	+
VII	-	-	-	+	+	+
VIII	-	-	-	-	+	+
IX	-	-	-	-	-	+

第2表 菌生育型の栄養要求型と生育菌数

型	栄養要求型	生育菌数
I	NO_3	201
II	NH_4 または NO_3 -Bg	0
III	NH_4	9
IV	アミノ酸または NO_3 -Bg	0
V	アミノ酸または NH_4 -Bg	6
VI	アミノ酸	2
VII	NO_3 -Bg	24
VIII	NH_4 -Bg	27
IX	アミノ酸-Bg	31

注) 供試菌は 300種である

従って分類した結果を第2表に示した。I型のような単純栄養型の細菌数が最も多く、ついでビタミンB群を必須とするVII, VIII, IX型が多い。I型以外のN-原、すなわち NH_4 イオンあるいはアミノ酸を生育に最低限必要とする型(III, VI)は少ない。また2種の栄養要求型を有するII, IV, V型の中で NO_3 -Bgの入った型に相当する

生育をするものはなかった。各培地での生育菌数と、それらを栄養要求型で分けた結果は第 3 表のとおりで、B

第 3 表 各培地での生育菌数とその栄養要求型による類別

	B—NO ₃	B—NH ₄	B—C	B—NO ₃ —Bg	B—NH ₄ —Bg	B—C—Bg
生育菌数	201	210	218	225	267	300
I	201	201	201	201	201	201
II						
III		9	9		9	9
IV						
V			6		6	6
VI			2			2
VII				24	24	24
VIII					27	27
IX						31

—NO₃からB—C—Bg培地へと栄養レベルが高くなると生育菌数も共に増加する。これらの培地で生育する細菌を構成する栄養要求型はB—NO₃ [I], B—NH₄ [I+III], B—C [I+III+V+VI], B—NO₃—Bg [I+VII], B—NH₄—Bg [I+III+V+VII+VIII], B—C—Bg [I+III+V+VI+VII+VIII+IX] であり、培地栄養レベルが高くなるにつれて各栄養型を生育させるようになる。このことは第 1 表において考えられた生育可否の組合せとよく一致した。

ビタミンB群を生育に必須とするV, VII, VIII, IX型の細菌について各ビタミンBの生育に対する効果を調べた結果は第 4 表のとおりである。チアミン、パントテン

第 4 表 ビタミン要求性

型	Th	Pa	Bi
V	5/5	—	—
VII	—	—	—
VIII	2/27	5/27	16/27
IX	—	20/31	—

注) Th, チアミン; Pa, パントテン酸
Bi, ビオチン; 分母は供試菌数
分子は生育菌数

酸、ビオチンにのみ効果が認められ、これらのビタミンで生育しなかった細菌は 2 種以上を組合せた場合に生育出来るものと思われた。V型はすべてチアミン単独で生育出来た。VII型は 2 種以上のビタミンを生育に必要とする。VIII型はビオチンでかなりの菌が生育可能であるが、パントテン酸、チアミンで生育するものもある。IX型はパントテン酸で多くのものが生育し、また 2 種以上のビタミンを要求するものもある。

6 種の培地を用いて栄養型を 9 種の型に分け得ること

が考えられたが、トマト葉上から分離した細菌 300 種をこれに当てはめてみると II, IV型がなく 7 種の型になった。9 種の要求型は基本的には I 型は単純型 (NO₃型), II, III型はNH₄要求型, IV, V, VI型はアミノ酸要求型, VII, VIII, IX型はビタミンB群要求型の 4 型に大別出来る。Lochhead and Chase は土壌細菌を 7 種の培地を用いて分ける場合、菌生育程度も分類の判定に考慮しており、定性的性質と同時に量的性質をも測定している。しかし生育量は培地を構成している物質が同じでもそれぞれのバランスが異なれば異なってくる筈であり、またどの物質が生育にとって促進あるいは制限因子となっているのかも不明である。したがって本実験の目的を定性的性質、すなわちその培地で生育が充分に認められるかどうかを知ることにした。生育が充分に認められた場合を+, 全く認められないか、判定困難な場合を-として表現した。

以上の結果よりトマト葉上細菌の栄養要求性は比較的単純のようであり、またビタミン要求性も土壌細菌ではチアミン、ビオチン要求菌が多いのに反し、パントテン酸要求菌が多いことが認められた。

根圏細菌にはアミノ酸要求菌が多く、それは根からのアミノ酸分泌に対応していると云われるが、葉上バクテリアの場合もここで分けた 9 種の栄養型が葉上化学物質とどのように対応し、またそれが微生物フロラの構成と変化に対してどのような役割を果しているかを調べることは今後の問題であり、実験継続中である。

III 摘 要

トマト葉上細菌を基礎培地に NaNO₃ (NH₄)₂SO₄, Casamino acid, ビタミンB群を加えた 6 種の培地で類別した。

6 種の培地での生育有無から考えられる生育型は 9 種あるが、供試菌 300 種を分けると 7 種の型が存在した。I 型は単純型 (NO₃型) で最も多く、ついでVII型 (NO₃—Bg型), VIII型 (NH₄—Bg型), IX型 (アミノ酸—Bg型) のビタミンB群要求菌が多かった。III型 (NH₄型), V型 (アミノ酸またはNH₄—Bg型) は比較的少なく、VI型 (アミノ酸型) は非常に少なかった。II型 (NH₄またはNO₃—Bg型), IV型 (アミノ酸またはNO₃—Bg型) は存在しなかった。

細菌生育に対するビタミンB個々の効果はチアミン、ビオチン、パントテン酸に認められたが、2 種以上のビタミンを生育に必要とする菌もかなり存在した。

参 考 文 献

- 1) Leben, C. (1965) Epiphytic microorganisms

in relation to plant disease. *Ann. Rev. Phytopathology* 3 : 209~230. 2) Lochhead, A. G. and Burton, M. O. (1957) Qualitative studies of soil microorganisms. XIV Specific vitamin requirements of the predominant bacterial flora. *Can. J. Microbiol.* 3 : 35~42. 3) — and Chase, F. E. (1943) Qualitative studies of soil microorganisms.

V. nutritional requirements of the predominant bacterial flora. *Soil Sci.* 55 : 185~195. 4) Rouatt J. W. (1968) Nutritional classification of soil bacteria and their value in ecological studies. *In The Ecology of Soil Bacteria. An international symposium.* 360~370, Liverpool Univ. Press, Liverpool. 681pp.

訂正とおわび

会報20号に下記のような誤りがありました。おわびして訂正いたします。なお、校正には全力をあげておりますが、まちがいがありましたら編集幹事まで御連絡ください。

ページ	らん	行	誤	正
79	右	下6	平均1.21g/10a	0.14~1.21g/10a