

# ペクチン醱酵に就て (第7報)

## 酪酸菌によるペクチン質の分解 (2)

小澤潤二郎・倉地 守・三宅 博

Friebes-Winogradsky,<sup>(1)</sup> Störmer,<sup>(2)</sup> Behrens,<sup>(3)</sup> Beijerinck, u. v. Delden<sup>(4)</sup> 等によつて特殊な形をした plectridium 型の酪酸菌が retting に於て最も重要な細菌であるとされてゐる。Bredemann<sup>(5)</sup> は之の細菌を *Bacillus amylobacter* A. M. et Bredemann の中に抱合せしめ、酪酸菌のペクチン質分解作用は培養中に容易に変化するものであると考へてゐる。Carbone<sup>(6)</sup> は plectridium の培養に混在してゐる *Clostridium felsineum* によつて retting が行われる爲に、plectridium にペクチン質分解作用がある如く誤解されてゐたものとしてゐる。Ruschmann<sup>(7)</sup> は之に対し、plectridium にもペクチン質分解作用を認め伊太利では *Clost. felsineum*, 獨逸では plectridium が retting に関係するものとした。McCoy<sup>(8),(9),(10)</sup> 等は酪酸菌群中にはペクチン質を醱酵する能力のあるものを認めたが plectridium は之を醱酵しないと考へてゐる。Weizmann 等は麻類から三株の plectridium を分離したが其等の純粹培養はペクチン質を殆ど分解しないと報告してゐる。著者等は浸水中の皮麻 (大麻) より4株の plectridium を分離しその性質に就て研究した。

**1. plectridium の分離** 皮麻を三角瓶の中で 30°C にて浸水し 48~72 時間後 plectridium の密集した靱皮の内側より一白金耳、溶解した玉葱エキス寒天の試験管培養基に取つて斜面となし真空 (20mm) にして 35°C に 2~4 日培養した。plectridium の固い colony があらわれれば、更に Rosenthal の方法に従つて 2~3 回扁平培養を行つた。plectridium の colony は最初は緊密で白金線に全部が附着して来るが胞子をつくれれば、colony が柔らかくなるので周囲の寒天のつかないようにする爲に 4~5 日培養してから培養を繰返した。最後に稀釈法を行つて純粹な菌株

を得るようにした。4株の plectridium は同一原料 (朝鮮産青木種大麻) より分離したものである。玉葱エキスは玉葱 300g に水 1 立を加えて煮出しペプトン 5g  $K_2HPO_4$  1g を加えてつくつた。

## 2. plectridium の性質

A 形態的性質、培養基には 1% 葡萄糖添加肉汁寒天或は玉葱エキス寒天を用いた。水銀柱 20 mm. 35~37°C にて培養したものを観察した。

(a) 細胞 榮養細胞は孰れも桿状のものが多く中には少しく彎曲したものもあり端は円味を帯び十分に成熟したものは長さ 8 $\mu$ 巾 0.6~0.8 $\mu$ であつた。中には 3~17 $\mu$  の長さのものも認められた。2~6個連鎖した細胞が見出される事があつた。酵母水 (5% 乾燥酵母煎汁) に 1% 乳糖、果糖、raffinose, inulin 等を加えた液体培養では 1% glucose 酵母水の場合と異り 2~4 $\times$ 0.5 $\mu$  の桿状の病的な形態となつた。この小桿状菌は granulose を含有せず胞子を形成しないがこの形のまゝ分裂して繁殖を続ける。液は正常の場合のよりに瓦斯を発生したり粘稠となつたりする事は少い。胞子を混入してゐない事を確めた病的な培養を玉葱エキス寒天上に移すと正常な形に回復した。酵母水の代りに 0.5% ペプトン水を用いた場合は上記の不完全な発育しか行わない種類でも正常な繁殖を行う。不良な条件下では小桿状菌とは別に Bredemann<sup>(5)</sup> の Mikrooidien を認めた。著者等は病的の小桿状菌の繁殖した液体培養を更にその儘 5~10 日培養を続けた場合に全部が Mikrooidien に變形してゐる事を観察した。Mikrooidien は球状で 0.7~1.0 $\mu$  の直徑を有してゐた。二連鎖の場合が多かつたが 3~4 の場合もあつた。granulose は認められなかつた。液体培養の外観は病的な小桿状菌

となつた場合と同様であるが玉葱エキス寒天上に移しても正常な形態に回復しなかつた。Mikrooidienはこのまゝの状態で繁殖を続けた。正常な発育をする場合細胞は孢子囊細胞となる。24~48時間培養したものに認められその形は一方の尖端部が肥大したplectridium型を呈する。

(b) 孢子、48~72時間培養せるものの中に遊離して認められた。No 3 は最も早く孢子を形成し遊離する。孢子囊細胞の細胞膜が容易に消失せずに附着してゐる場合があつた。孢子は卵形時に楕円形で大きさは  $1.2 \times 1.0 \mu$  であつた。

(c) 運動性、若い細胞は活潑に運動する。

(d) 染色性、Gram 氏染色は若いものは陽性である。granulose 染色は孢子囊細胞に於て陽性で granulose の分布した部分としない部分とが秩序正しく区劃されてゐる。

B 培養の性質 水銀柱 20mm  $35 \sim 37^\circ\text{C}$  にて培養した。

(a) 1% glucose 肉汁寒天斜面劃線培養、斜面上に点綴狀に colony を生じ後試験管の底部のものは擴がつて融合する。colony は乳白色であり不整形で隆起しひだがあり徑 1~2mm 位である。

(b) glucose 肉汁寒天穿刺培養、孰れも多量の瓦斯を發生し寒天が分裂する爲に繁殖の状態は明らかでない。

(c) glucose 肉汁寒天扁平培養、斜面培養の場合と類似した colony を生ず。colony は緊密であるが後に colony の内容は孢子の遊離すると共に流れる。寒天の内部に生じた colony は不規則な球形又は卵形を呈してゐた。

(d) glucose 肉汁液体培養、孰れも1日後には瓦斯を發生し白色に濁濁し粘性を有し白色の粘稠な沈澱を生ず。後に液は少しく濁濁度と粘稠味を減ずる。

(e) litmus milk, 共に多量の瓦斯を發生し酸を生じカゼインを凝固し後に之をペプトン化する傾向があつた。litmus を急激に還元する。

(f) glucose ゼラチン穿刺培養、孰れもゼラチンを液化する。

(g) ペプトン水培養、共に繁殖せず。

### C. 生理的性質

(a) indol, glucose 肉汁で7日間培養したが、

indol を生成せず。

(b) 硝酸鹽還元、glucose 1%、ペプトン 1%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%、 $\text{KNO}_3$  0.1% の培養基で5日間培養したが亞硝酸は検出されなかつた。

(c) 硫化水素の生成、1% glucose 1% ペプトン水では No 2 No 4 に認められた事があつたがその他の菌では  $\text{H}_2\text{S}$  の生成を見なかつた。1% glucose 5% ペプトン 0.1%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  の培養液では孰れも2日後に既に試験管中に懸垂した醋酸鉛紙が黒變した。

(d) 窒素固定作用、孰れも Winogradsky 無窒素培養液には繁殖しなかつた。

(e) 酸素との關係、共に嫌氣性

(f) 温度との關係、共に  $35^\circ\text{C}$  附近が適温であつた。

(g) maceration の作用、1% glucose 肉汁寒天斜面上に滅菌した生の馬鈴薯切片を1片載せ周囲の寒天に菌を接種して培養する時 No 1 No 3 No 4 は馬鈴薯の maceration を起し No 2 は切片を包圍してよく繁殖してゐたが maceration は起さなかつた。土壤を通過せしめても No 2 のみ maceration の作用がなかつた。<sup>(5)</sup> No 1 は熱処理を施す事なく1% glucose ペプトン水に培養を繰返す時繁殖力は衰え培養液の protopectinase 作用も恐らく菌体数の少い爲に微弱となつたが30回の移植後にも僅に之を認める事が出来た。

醗酵性糖類に就ては次の酪酸菌の protopectinase の分泌條件に関する報告の時に述べる。

### 3. 考察

前述の Bredemann 許りでなく Bergey<sup>(14)</sup> 等もこの plectridium を Clost. butyricum Prazmowski の中に入れてゐる。Bredemann 等の Mikrooidien その他の形態の變化したものを認める事が出来たが正常の形は他の酪酸菌と判然と區別される。その他蛋白質分解作用を有してゐる点等から酪酸菌群中特殊なものと考えられ Clost. butyricum Prazmowski とは別の種として即ち Clost. pectinovorum として取扱つた方がよいように思う。

Clost. pectinovorum は浸水中麻の内部に密集して繁殖して来る爲に retting には最も重要な細菌とされてゐるがその純粹培養のペクチン質分解作用の有無に就ては種々の報告があつてはつきりしない。著者の分離した4株の plectridium

の中3株は程度の差はあるが maceration の作用を有し1株は最初から全然この作用がなく土壤通過せしめてもペクチン質の分解作用は認められなかつた。No1は培養を繰返して行く時繁殖力は衰えたが maceration の作用は完全には失いはしなかつた。Clost. pectinovorum のペクチン質分解作用は strain によつて非常に異つてゐる事が分る。麻類が Clost. pectinovorum の純粹培養で maceration が十分行われぬのは分離した strain が自然に浸水した時に繁殖してゐる菌より pectin 質分解作用が弱い爲であるかもしれない。

## 文 献

1) S. Winogradsky et V. Frieses, Compt rend. Acad. d. Scienc 121, 742, (1895) 2) K. Störmer,

Cent. f. Bakt. Abt. II. 13, 35 (1904) 3) J. Behrens, Ibid. 8, 114, (1902) 4) M. W. Beijerinck und van Delden, Kon. Ak. v. Wetenschte Amsterdam, Verslag van de gewone Vergadering der Wisen Natuurkund, Deel XII, 673, (1904) 5) G. Bredemann, Cent. f. Bakt. Abt. II 13, 385. (1909) 6) D. Carbone und F. Tobler, Faserforschung, 21, 163, (1922) 7) G. Ruschmann und W. Bavendamm Cent. f. Bakt. Abt II 64, 340, (1925), 65, 43, (1925) 8) E. McCoy, E. B. Fred, W. H. Peterson and E. G. Hasting, J. Infect. Diseases, 46, 118 (1930) 9) E. McCoy and W. H. Peterson, Ibid. 43, 475 (1928) 10) N. O. Sjolander and E. McCoy, Cent. f. Bakt. Abt. II. 97, 314, (1937-1938) 11) D. H. Bergey, Manual of Determinative Bacteriology 5. Edit. 748.

# 小麥苗に對する赤黴病菌 *Gibberella Saubinetii*

## Sacc. の侵入方法に就いて

西 門 義 一 ・ 山 内 巳 酉

1. 緒 言 著者の1人西門は先に小麥赤黴病菌は小麥の葉にもよく侵入する事を報じ、又発芽時に於ける罹病性と穂に於ける罹病性との間にはある程度の相関関係のある事を認めたが、更に小麥幼植物の葉に於ける罹病性の品種間差違と穂に於ける罹病性の品種間差違との関係、及び小麥幼苗に對する赤黴病菌の侵入方法に就いて研究した。赤黴病菌の侵入方法に關しては古くより多くの業績はあるが、小麥苗、殊に葉、根等に対する侵入機構に就いては尙不十分な点が少なくない。それでこれ等の点に就いて研究した結果を報告する。

本報告は農林省委託「小麥赤黴病防除に關する研究」の1部として主として山内の行つた研究の結果である。農林省農産課付内課長、畑技官其他関係各位に謝意を表する。

2. 接種試験 小麥種子発芽の前後に赤黴病菌の分生胞子を接種して発病状態を調査した。之に供用した赤黴病菌は当研究所保存1285号菌(昭和17年佐賀縣で中山隆夫採集分離)で、之を馬鈴薯寒天に培養し形成の分生胞子を馬鈴薯煎

汁に浮遊せしめ、小型噴霧器で噴霧接種した。

小麥種子(新中長)の表面は豫め昇永水で消毒し濾紙を敷いた徑8種のペトリ皿に並べ之れを供用した。又子葉に對しては植木鉢に播付け子葉が充分伸長し第1の本葉のわずかに見える程度のものと同様接種した。接種後は何れも温室に保ち、当時(9月5日-9月20日)の室温(23-30度)に置いた。

(A) 発芽前の種子に對して接種した場合。蒔付の際に接種して7日後の調査に依れば、菌糸は種子の表面に蔓延し、種子を蔽ふものがありこの様な種子は発芽せず、全く軟腐してゐた。又わずかに発芽を初めた芽も淡褐色から褐色に變色して軟腐してゐるものも多数見られた。発芽して芽鞘の相当長く伸長したのも其の基部或は胚軸、幼根の基部が淡褐色に變色してゐて明らかに菌の侵害を受けたと認められるものがあつた。その数は大体次の様であつた。

	接種したものの	接種せぬもの
發芽歩合(芽の1種以上伸びたもの)	58%	83%
發芽したものの(就中基部變色のもの)	14%	0%
芽枯歩合(發芽初期に軟腐したもの)	11%	0%