Pesticide Science Society of Japan

日本農薬学会誌 16, 275-281 (1991)

解　説

Agrochemistry and Biology Series

# 土壌および根圏細菌の同定法とその生態

加　藤　邦　彦

農林水産省草地試験場

(平成3年2月20日受理)

# Identification and Ecology of Soil and Rhizosphere Bacteria

Kunihiko KATOH

*Ministry of Agriculture, Forestry and Fishery, National Grassland Research Institute, Nishinasuno, Nasu, Tochigi 329-27, Japan*

## 土壌細菌の同定

### 1. 土壌細菌同定の意義

最近農業の場で微生物を利用する動きが活発になってきている．*Bacillus thuringiensis* などを利用した微生物農薬，窒素固定細菌，植物によるリンの吸収に役立つ微生物などである．農業の場で利用しようとする微生物は同定を早く行なったほうがよい．このことにより病原菌などの有害菌を知らずに散布することを防ぐことができる．細菌を同定することにはこのほかにも有利なことがある．今日文献検索システムが発達しているので，もし同定し学名がわかれば文献検索により，多くの情報を引き出すことができる．

細菌を同定し名前をつけることは生態の研究を行なっているわれわれにとっては最も基本となることであり，これなしには生態の研究は成り立たない．以下に土壌および根圏より分離した細菌の同定について述べる．なおわれわれは好気性細菌を取り扱っているので好気性細菌に限定する．

### 2. 土壌細菌の同定

細菌の同定は "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1, 2, 3, 4"[1~4] や "International Journal of Systematic Bacteriology"，「微生物の分類と同定」[5] 等を参照して行なうが，これらには土壌以外の分野の細菌が多く，かつ "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (以下 Bergey's manualと略す)の Vol. 1 は 1984年に発行されたものでありその後の研究の成果が入っていない．われわれは多くのデータの集積ができた化学分類学的方法を中心に土壌細菌用の検索表を作り同定を進めている．表1に土壌細菌を属まで決定する方法を示す．

土壌や根圏より細菌を分離するとき通常 YG 培地 (酵母エキス 1 g，グルコース 1 g，$K_2HPO_4$ 0.3 g, $KH_2PO_4$ 0.2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g，寒天 15 g，蒸留水 1000 ml, pH 6.8) を使用する．この培地上のコロニーを純粋分離した後グラム染色をして顕微鏡で観察する．グラム染色性，細胞の形と大きさ，胞子の有無を記載する．土壌細菌の多くは細胞の幅が 0.5～1.5 μm で，糸状菌や酵母は 4 μm より大きいためこれらから容易に区別できる．土壌で胞子を形成する好気性菌は *Bacillus* 属になる．土壌中には球菌はあまり多くない．グラム染色で一様に染まらない細菌があるが，これらの菌体脂肪酸はアンティイソ型が多く，アンティイソ型を持つ細菌はグラム陽性菌のコリネフォルム細菌が多い[6]．したがってグラム染色で一様に染まらない菌株は脂肪酸組成の分析により区別できる．顕微鏡観察をするとき同時に懸滴法により運動性を見る．運動性のあるものは染色あるいは電子顕微鏡で鞭毛の着生位置を観察する．薄層クロマトグラフまたは高速液体クロマトグラフによりキノンの分析を行ない，ガスクロマトグラフにより菌体脂肪酸組成を測定する．図1に土壌よりよく分離される細菌を示す．

1) グラム陰性細菌の同定

グラム陰性菌はすべて O-F テストとオキシダーゼ試験を行なう．O-F テストが発酵型でオキシダーゼ陰性であれば，腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*) であるので腸内細菌科の同定を行なう．腸内細菌科の同定には同定用キットが市販されているので便利である．ただ土壌

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan



表 1 土壌細菌の性質

| | | グラム染色 | 胞子 | 運動性 | 鞭毛 | キノン系 | 脂肪酸 | O-F テスト | 脱窒能 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Enterobacteriaceae* | − | − | + | Pe | Q8 MK8 | S | F | |
| 2 | *Pseudomonas* 1 | − | − | + | Po | Q9 | S | O, — | |
| 3 | *Pseudomonas* 2 | − | − | + | Po | Q8 | S | O, — | |
| 4 | *Comamonas* | − | − | + | Po | Q8 | S | O, — | |
| 5 | *Pseudomonas* 4 | − | − | + | Po | Q10 | S | O, — | |
| 6 | *Xanthomonas* | − | − | + | Po | Q8 | B | O, — | |
| 7 | *Agrobacterium* | − | − | + | Pe | Q10 | S | O, — | − |
| 8 | *Ochrobactrum* | − | − | + | Pe | Q10 | S | O, — | + |
| 9 | *Alcaligenes* | − | − | + | Pe | Q8 | S | O, — | |
| 10 | *Cytophaga* | − | − | − | | MK6, 7 | B | O, — | |
| 11 | *Bacillus* | | + | | | MK7 | B | | |
| 12 | Gram-positive | + | − | | | MK | SB | | |

Pe: 周鞭毛, Po: 極鞭毛, S: 直鎖型脂肪酸, B: 分枝型脂肪酸, O-F テスト: 糖を分解する様式で, 発酵型 (F), 酸化型 (O), 非分解 (—) がある. ユビキノン (Q) とメナキノン (MK): ユビキノンとメナキノンのイソプレノイド側鎖のイソプレンユニットの数 (たとえば8個あれば Q8) は同定によく利用される.

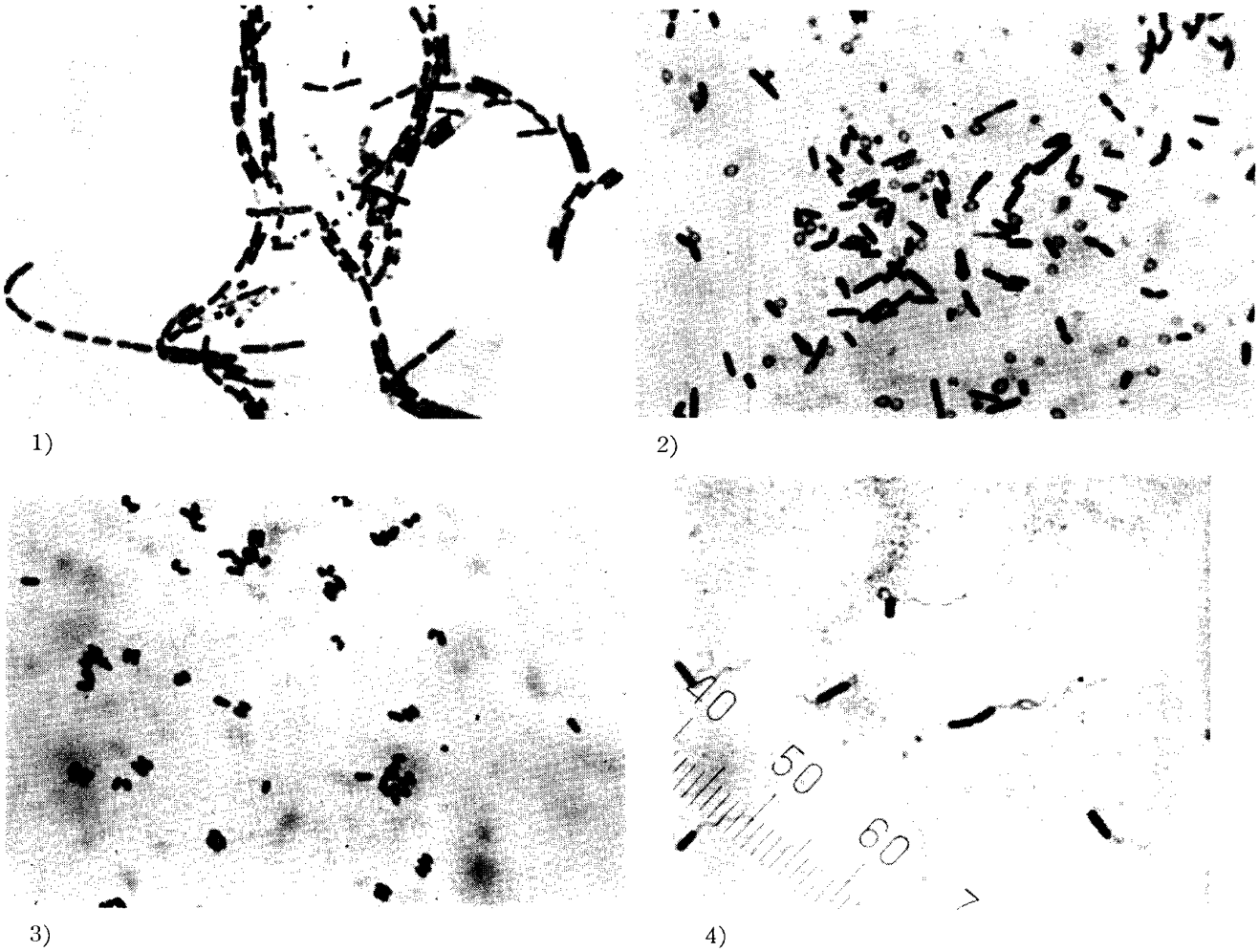


図 1 土壌よりよく分離される細菌

1) *Bacillus cereus*: 栄養細胞の中に楕円形の胞子をつくる. 2) *Bacillus sphaericus*: 栄養細胞の端に丸い胞子をつくる. 3) *Corynebacterium* sp.: ふたつの細胞がハの字の形になる特徴がある. 4) *Xanthomonas maltophilia* の極鞭毛.

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan



より分離される細菌は *Erwinia* 属が多いと思われ，キットで簡単に同定できないものが多い．*Erwinia* 属の同定は植物病理の分野で研究が進んでいるのでこれに従う．もしO-Fテストをしないで次のステップに進むと *Enterobacteriaceae* は *Alcaligenes* と間違えやすい．

*Pseudomonas* 1 はQ9を持っており，Q9を持つ属は少ないので区別が容易である．*Pseudomonas* 1 の中で根圏土壌に多いのは *P. fluorescens* と *P. putida* であり，これらはキングB培地で蛍光性色素を生産するので容易に区別できる．*P. fluorescens* と *P. putida* との区別はゼラチンの液化等で行なう．小玉ら[7]は籾より分離された黄色色素を持つ細菌の *P. oryzihabitans* を報告している．

*Pseudomonas* 2 と *Comamonas* はQ8を持ち似ているが，3-ハイドロキシ脂肪酸などにより分けることができる．表2には小柳津ら[8]および玉岡ら[9]による3-ハイドロキシ脂肪酸およびキノンの分析結果である．*Pseudomonas* 2 は *P. caryophylli*, *P. cepacia*, *P. gladioli* などを含むが，土壌とくに根圏には *P. cepacia* と *P. gladioli* に類似した細菌が多数存在する．この細菌については分類学的研究が必要である．

*Pseudomonas* 4 はQ10を持つ特徴があり，*P. vesicularis* および *P. diminuta* が含まれる．土壌から分離される細菌は黄色色素を持つものが多いので *P. vesicularis* に近いものと考えられるが，Bergey's manual (Vol. 1) に記載されている菌株とはいくつか異なった性質を持っている．

*Xanthomonas* は Bergey's manual (Vol. 1) では *Pseudomonas maltophilia* と記載され，栄養要求性を持つとされている細菌である．この細菌は分枝型の脂肪酸を持つことなどによりSwingsらにより *Pseudomonas* よりはずされ *Xanthomonas* に入れられた．植物病原性の *Xanthomonas* とは硝酸塩の還元などで区別できるとされているがわれわれの分離菌では区別できない細菌もある．土壌から分離される細菌には栄養要求性のない菌株も多いが，栄養要求性のない菌株もこの種に含まれることは池本ら[10]により明らかにされた．

*Agrobacterium* と *Rhizobium* は周鞭毛でQ10を持ち同じ仲間である（ただし *R. loti* は極鞭毛である）．*Agrobacterium* のうち植物への接種試験で病原性の明らかになった菌株(*A. tumefaciens*)およびマメ科植物への根粒着生が認められた菌株（*Rhizobium*）は同定が容易である．後述するが，これらは植物バイテク研究への利用が盛んである．しかし土壌より分離された菌株の同定は難しい．マメ科植物への接種試験により根粒を作った菌株は *Rhizobium* としてよいが，作らない場合はすべてのマメ科植物に接種しなければ *Rhizobium* ではないとはいえないので，*Rhizobium* でないということは事実上不可能である．*Agrobacterium* および *Rhizobium* の属の概念に入っていた病原性や根粒着生性は遺伝子がプラスミド上にコードされていることが明らかとなったのでこの2属はいずれ同じ属に統合されると考えられる．現時点では土壌より分離された菌株は *Agrobacterium* としている．最近われわれの研究室では窒素固定遺伝子のうち *nif* DK をプローブにして窒素固定遺伝子を持つ細菌を探索しているが，*Agrobacterium* とした細菌の中にも窒素固定遺伝子を持つものがあり，これらが根粒菌かどうか検討中である．

*Bradyrhizobium* はダイズの根粒菌であるので，もし *Bradyrhizobium* の疑いのある菌株（極鞭毛でQ10を持ち黄色色素を作らないもの，窒素固定遺伝子が検出されればなおよい）が見つかればダイズに接種するとよい．

*Ochrobactrum* は *Agrobacterium* によく似た細菌で，

表 2　3-ハイドロキシ脂肪酸およびキノン系による *Pseudomonas* およびその関連細菌のグルーピング[8]

| | | 3-ハイドロキシ脂肪酸 | | | | | | | | キノン系 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 8:0 | 10:0 | 12:0 | 14:0 | 14:1 | 16:0 | i-11:0 | i-13:0 | |
| 1 | *Pseudomonas* 1 | − | + | + | − | − | − | − | − | Q9 |
| 2 | *Pseudomonas* 2 | − | − | − | + | − | + | − | − | Q8 |
| 3 | *Comamonas*[9] | − | + | − | − | − | − | − | − | Q8 |
| 4 | *Pseudomonas* 4 | − | − | + | + | − | − | − | − | Q10 |
| 5 | *Xanthomonas* | − | − | + | − | − | − | + | + | Q8 |
| 6 | *Sphingomonas* | − | − | − | − | − | − | − | − | Q10 |
| 7 | "*Pseudomonas*" | − | − | − | + | − | − | − | − | Q10 |
| 8 | *P. palleronii* | + | − | − | − | − | − | − | − | Q8 |
| 9 | *P. avenae* | − | + | + | + | + | − | − | − | Q8 |

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan



表 3 *Alcaligenes* およびその関連細菌のハイドロキシ脂肪酸およびキノン系[11]

| | 2-ハイドロキシ脂肪酸 | | | 3-ハイドロキシ脂肪酸 | | | キノン系 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 12:0 | 14:0 | 16:0 | 10:0 | 12:0 | 14:0 | |
| *Alc. faecalis* | + | | | t | t | + | Q8 |
| *Alc. denitrificans* | + | | | + | + | + | Q8 |
| *Ach. xylosoxidans* | + | + | | T | T | + | Q8 |
| *Alc. eutrophus* | | + | | | | + | Q8 |
| *Alc. paradoxus* | | + | | + | | | Q8 |
| *Alc. latus* | + | | | + | | | Q8 |
| *Bor. bronchiseptica* | + | | | + | t | + | Q8 |

+: 含まれる割合が全体の 1% 以上，T: 含まれる割合が全体の 0.5～1.0%，t: 含まれる割合が全体の 0.5% 以下，*Ach.*: *Achromobacter*, *Bor.*: *Bordetella*.

Homes(1988) らにより新属として発表された細菌である．この細菌については土居[11]が詳細に研究しており，このなかで *Ochrobactrum* を *Agrobacterium* より分ける性質として脱窒能，ONPG，リトマスミルクの凝固，メチレンブルーの還元，L-Valine の利用などを上げている．われわれは脱窒能を試験し，陽性のものを *Ochrobactrum* と現在のところ考えている．

*Alcaligenes* は周鞭毛で Q8 を持ち，それぞれの種はヒドロキシ脂肪酸に特徴を持っている[11](表3)．土壌からは *A. eutrophus* や *A. paradoxus* が分離されているが，表3に当てはまらない菌株も多数土壌より分離されている．

*Cytophaga* とした菌株は小柳津ら[12,13]により次のような属の概念を作られたものである．「*Cytophaga* はグラム陰性で胞子を作らない桿菌で，運動性を持たずいくつかの菌株は拡散性のコロニーを形成する．菌株は黄色，オレンジ，赤色色素を生成するが，色調はうすいものも見られる．嫌気的にはグルコースから酸もガスも生成しない．キノン系はメナキノン系 (MK6 または MK7) で，分枝型の菌体脂肪酸組成を持ち，DNA の塩基組成は 30～45% に分布する」．したがってこのなかには Bergey's manual(Vol. 1) に記載されている *Flavobacterium* も入っている．われわれは現在グラム陰性桿菌で運動性がなく i-C15:0 に主要な脂肪酸組成を持つものを *Cytophaga* としている．われわれが埼玉土壌より分離した菌株のなかよりサクシノグリカンを分解する細菌が小柳津ら[14]により新種 *Cytophaga arvensicola* として発表された．

2) 胞子形成細菌の同定

胞子形成細菌の同定には胞子の形や位置が重要なのでまず胞子を作らせる．グラム染色のとき胞子が観察されればよいが，胞子は作らないが胞子形成菌の疑いのある菌株(細胞の形の大きいもの，MK7 を持つものなど)は胞子形成によいと思われる培地[5]に植えるとよく作る場合がある．とくに肉汁寒天培地に何回も植えついだ菌株は胞子を作らなくなる場合があるので注意する．好気性で胞子を作り，土壌によく見られる細菌は *Bacillus* であり，*Bacillus* の種の同定は Bergey's manual (Vol. 2) に詳細に記述されている．とくに G+C 含量はそれぞれの種に特徴があるとされているので，*Bacillus* の同定には G+C 含量の測定が役に立つ．

3) グラム陽性菌の同定

グラム染色によりグラム陽性に染まった桿菌およびグラム染色により一様に染まらなくてアンティイソ型の脂肪酸組成を持つ桿菌はコリネフォルム細菌と考えられるので駒形と鈴木の方法[15]に従い分析し属を決定する．

### 3. 土壌細菌同定の問題点

土壌細菌の同定を行なっている際感じる困難の第一は分離菌株がこれまで報告されていない種または属に入るものがかなり多く，同定不能となる菌株の多いことである．報告されていても種の概念を少し変更しなければならない菌株もある．これはこれまで土壌細菌の分野で分類の研究がほとんどされていなかったことによるものであり，土壌細菌の分類を組織的に研究する必要がある．分離菌株が多くなり分類の研究が進めば同定不能になる菌株の割合は小さくなるであろう．

第二の困難は同定を行なうのに高価な設備，実験器具，試薬等を必要とし，これらを使いこなす熟練した人材を必要とすることである．また属によっては病原性の試験，根粒着生試験のように植物を栽培しなければならないものもあるし，刻々と進歩する同定技術にも対応していかなければならない．現段階で土壌細菌の同定をするにはこれらの条件を満たす必要があり，設備の整った大きな研究所以外無理であろう．土壌細菌の生態のよう

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan



表 4 植物根より分離されたグラム陰性細菌の分布

| | | 埼玉 | | 筑 波 | | | 北海道[a] | | 栃木[a] | | ドイツ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Cu | Cu | Wh | Pe | Ap | Wh | Wh | Al | Or | Wh |
| 1 | *Enterobacteriaceae* | | 1 | | | | | | | | ○ |
| 2 | *Pseudomonas fluorescens* | 4 | 16 | | | | 11 | 19 | | | ◎ |
| 3 | *P. putida* | | | | | | | | 2 | | |
| 4 | *Pseudomonas* 2 | 1 | 1 | | 11 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | |
| 5 | *Pseudomonas* 4 | 4 | 4 | | | | 2 | 1 | | | |
| 6 | *P. vesicularis* | | | | | | 2 | 5 | | | |
| 7 | *Xanthomonas* | 4 | 2 | | | | | | | 1 | |
| 8 | *Agrobacterium radiobacter* | 1 | 7 | 16 | 34 | 29 | | | 14 | 5 | |
| 9 | *Alcaligenes* sp. | 3 | | | | | 2 | 11 | 1 | 1 | |
| 10 | *A. paradoxus* | | | | | | 2 | | 1 | | |
| 11 | *Cytophaga* | 1 | 3 | | | | 5 | 2 | 4 | 2 | |

Cu: キュウリ, Wh: コムギ, Pe: モモ, Ap: リンゴ, Al: アルファルファ, Or: オーチャーグラス, ○: 分離された, ◎: 多数分離された.
[a] 加藤未発表.

に資金も人材も不足している分野ではきわめて大きな困難である. しかし今後簡便で費用もあまり必要としない同定方法が開発されればあらゆる場所で同定が可能となり, 土壌細菌分野においても飛躍的に研究が進歩する.

最近マイクロプレートを使い DNA-DNA 交雑法で同定する方法が江崎ら[16]により発表されている. また小柳津により 16S rRNA の部分塩基配列を決定することにより同定する方法も発表されている. これらの新しい方法はこれまで行なっていた試験のいくつかを省略できると思われるので, これらの方法のより簡便な方法の確立が望まれる.

## 土壌細菌の生態

### 1. 土壌および根圏より分離された細菌

これまでに根より分離されたグラム陰性細菌を表4に示す. これらの細菌は YG 培地を使用し, よく洗ったそれぞれの根より分離されたものである. 参考としてドイツの小麦根のデータ[17]も示す.

*Enterobacteriaceae* は埼玉のキュウリの根より分離され, この表にはのっていないがアルファルファの根やリターから分離されている. ドイツにおいても分離されているので根においてなんらかの役割をしていると考えられる.

*P. fluorescens* は埼玉のキュウリ, 北海道の小麦根の主要な細菌であり, またドイツにおいても多数分離された. *P. putida* もアルファルファの根から分離された. *P. fluorescens* と *P. putida* は植物根における主要な細菌であり, これらに関する報告は数多い. *Pseudomonas* 2 は *P. cepacia* 様の細菌であり, *P. vesicularis* とともに根に多い細菌である. *Agrobacterium* はいずれも病原性を持たなかったので *A. radiobacter* と考えられるが, このうち biovar 1 と考えられたのは1株だけであった. *A. radiobacter* の分布は特徴があり, 筑波および栃木からは多く分離されたが, 北海道からは少なかった.

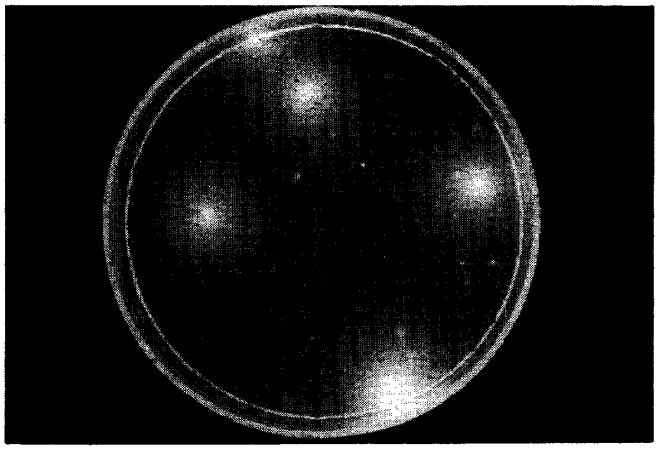

図 2 培地上の蛍光性 *Pseudomonas*(*P. fluorescens*, *P. putida* など) のコロニー

蛍光性 *Pseudomonas* は適当な培地上で蛍光性色素を生成するので紫外線ランプで検出できる.

*Ochrobactrum* はよく洗った根からは分離されていないが, 根に付着している土壌すなわち根圏土壌には埼玉のキュウリの場合多く分離され, 栃木のアルファルファのルートマット層の土壌からも分離されている. また神奈川土壌に家畜糞を加えた土壌からも多く分離された. これらを考えると *Ochrobactrum* は根の表面または根

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan



の中に生息しているのではなく根に近い土壌に生息し，根より分泌される有機物を分解したり，家畜糞のような新鮮有機物を分解しているものと考えられる．

*Alcaligenes* のなかでは *A. paradoxus* および *A. eutrophus* が分離されているが，分離細菌の多くは種の同定が難しい菌株である．*A. paradoxus* は北海道や栃木からも分離されているので広く根に常在している細菌と思われる．*A. eutrophus* は栃木土壌より分離されたが筑波土壌からも3-クロロ安息香酸分解菌として分離されたこともあるので根および土壌に広く分布している細菌と思われる．

*Cytophaga* も筑波のコムギ，モモ，リンゴの根を除けばいずれの場所からも分離されており，植物根に広く分布している細菌である．*Cytophaga* の黄色色素は20% KOH 水溶液を滴下することにより赤色に変化する(Flexirubin テスト)．われわれの分離菌のなかで YG 培地上で黄色色素を生成するのは *P. vesicularis*, *Xanthomonas*, *A. paradoxus*, グラム陽性細菌の一部，および *Cytophaga* であるが，このうち Flexirubin テストが陽性なのは *Cytophaga* だけである．Flexirubin テストは簡単なので黄色色素のコロニーが出現したら試してみるとよい．しかしすべての *Cytophaga* が陽性ではないので注意する．

*Sphingomonas paucimobilis* (かつては *Pseudomonas paucimobilis* といわれていた) はこれまでほとんど分離していない．しかしこの細菌はフランスのひまわりの根から分離されたし，農薬分解菌としても妹尾らにより土壌より分離されているので土壌に広く分布しているものと考えられる．

グラム陽性菌については理研の鈴木らとの共同研究により埼玉の土壌および根圏土壌から *Rhodococcus*, *Corynebacterium*, *Kurthia*, *Aureobacterium*, *Oerskovia*, *Pimelobacter* などが分離された．植物根から細菌を分離しグラム染色すると，明らかに陽性に染まる菌株が少ないのでグラム陽性菌は根には少ないといわれてきた．われわれもそう考えていたがグラム染色により一見グラム陰性に染まるがアンティイソ型の菌体脂肪酸を持つ菌株が多く見つかっている．これらはグラム陽性（の細胞構造を持つ）細菌であるので植物根においてもこれらグラム陽性菌の生態的研究が今後必要となろう．

*Bacillus* は根からはあまり分離されていない．これは *Bacillus* は植物根ではなんらかの理由で増殖できないか，できてもわずかであるためと考えられるが詳細なことはわかっていない．土壌においては分離細菌の多くを占め，*B. megaterium*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. firmus*, *B. brevis*, *B. sphaericus*, *B. polymyxa*, *B. circulans* などが今までに分離されている．

**2. 選択培地による生態の研究**

土壌細菌の生態の研究はこれまでわずかである．これは生態の研究に使用できる方法がきわめて少なかったことによる．土壌は地表を覆い，土壌の種類はきわめて多いためそこに住む細菌フロラもそれぞれの土壌により異なる．また土壌にはきわめて多様な植物根や土壌動物が存在し，これらにより細菌フロラは刻々変化する．このような場の細菌フロラを的確にとらえるには，簡単で，設備・費用があまりかからず多くの人が参加できる方法が必要である．このような方法として現在われわれは選択培地による方法を考えている．選択培地は作るまでは難しいが簡単な培地組成と検出方法ができれば器具や設備もほとんどいらず多くの人が参加できる方法である．これまでにわれわれは数種の選択培地を作製しこれを使って生態的研究をしている．

1) 蛍光性色素を生成する *Pseudomonas* (以下蛍光性 *Pseudomonas* と略す) について

蛍光性 *Pseudomonas* の選択培地は1970年に Sands と Rovira により作られた．われわれも Sands とは異なった考え方でより精密な培地を作製しており[18]，これを使用して多くの調査をしている．蛍光性 *Pseudomonas* はこれまでの調査から植物根および植物の残さで増殖し，これらの消失・分解により減少すると考えられ，植物をその主要な生活の場としている．また土壌腐植もある程度利用できると思われるのでグラム陰性菌としては土壌に広く分布している細菌である．

蛍光性 *Pseudomonas* は抗生物質や植物病原性糸状菌の成育を抑えるシデロフォアを生産する菌株があることから根圏で土壌伝染性病害の抑制に利用しようとする考えがある．しかし表4に見られるようにこの細菌は北海道の小麦根では優先できるが筑波の小麦根では優先できない．筑波土壌で蛍光性 *Pseudomonas* が優先できないことは選択培地を使用した調査でも明らかになっている．*P. fluorescens* が植物根で優先できるかどうかは植物側の条件，微生物側の条件および土壌条件によって決定される．したがって，*P. fluorescens* を根圏で利用したい場合は *P. fluorescens* が優先できる場であるかどうかをあらかじめ調査する必要がある．*P. fluorescens* が優先できない場ではその場に適する菌株を使用する必要がある．

2) *Bacillus thuringiensis* について

*B. thuringiensis* は結晶性毒性を生産し，鱗翅目昆虫

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan



に対して強い毒性を持つため生物農薬として使用されている．このためこの細菌の生態については強い関心が持たれ，多くの研究がある．秋葉はこの細菌を土壌に散布すると土壌中で少しずつ減少することを胞子と栄養細胞の両方を計数する選択培地で明らかにした．秋葉と加藤[19]は栄養細胞だけを計数する選択培地を作り，これを使って秋葉[20]は栄養細胞は土壌に添加しても数日で消滅すること，胞子は土壌では発芽しないことなどを明らかにした．また *B. thuringiensis* はカイコ，アメリカシロヒトリの幼虫体内で増殖し胞子を形成することも認めた．これらのことから *B. thuringiensis* は土壌では胞子の状態で存在し，昆虫体内などの限られた場で増殖し，胞子を形成するといった生活環を繰り返していると考えられる．*Bacillus* 属の細菌は耐久性の胞子を作るため胞子になれば土壌環境ではなかなか減少しない．したがってどこかに増殖する場があれば容易に生存できる細菌である．*Bacillus* のそれぞれの種がどこに増殖の場を持つのかを明らかにする必要がある．

3) *Pseudomonas caryophylli* について

カーネーションの萎凋細菌病の原因菌である *Pseudomonas caryophylli* の選択培地については青野と加藤[21]により作られた．この培地を使用し青野[22]は圃場における本細菌の計数を行ない，防除に役立たせている．

4) 選択培地の作り方

土壌細菌の選択培地を作るにはまず土壌に生息している細菌の性質が明らかになっていなくてはならない．これについてはわれわれはこれまでに根圏でよく出現する細菌について分離・同定し，その性質を明らかにしてきた．同定に使用したいくつかの生理試験のほかに抗生物質を始めとする選択的抑制剤および有機化合物の資化性などの性質を明らかにすることにより選択培地を作ることができる．今後多くの細菌の選択培地を作り生態的研究を進めたいと考えている．

## おわりに

有用細菌の利用，有害微生物の抑制，遺伝子組み替え微生物の野外放出といった今日的問題はいずれも問題の微生物およびそれを取り巻く微生物の生態の研究なくしては大きな成果を上げることは難しい．これまで述べたように細菌は皆それぞれの生き方を持っているのでこれを明らかにしなければならない．細菌を一株一株同定し(未知の菌株なら分類の研究をし)，検出法（選択培地など）を作り，生態の研究するといった一連の研究は多くの労力，時間，費用を必要とするため，一見まわり道のように見えるが結局は早道であり，このような研究が進展することを願っている．

## 引用文献


1) N. R. Krieg and J. G. Holt: "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology," Vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore, 1984
2) P. A. Sneath, N. S. Nair, M. E. Sharpe and J. G. Holt: "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology," Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore, 1986
3) J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfenning and J. G. Holt: "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology," Vol. 3, Williams & Wilkins, Baltimore, 1989
4) S. T. Williams, M. E. Sharpe and J. G. Holt: "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology," Vol. 4, Williams & Wilkins, Baltimore, 1989
5) 長谷川武治編: 微生物の分類と同定，学会出版センター，1985
6) K. Suzuki & K. Komagata: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **33**, 188 (1983)
7) K. Kodama, N. Kimura and K. Komagata: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **35**, 467 (1985)
8) H. Oyaizu & K. Komagata: *J. Gen. Appl. Microbiol.* **29**, 17 (1983)
9) J. Tamaoka, D. M. Ha and K. Komagata: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **37**, 52 (1987)
10) S.Ikemoto, K.Suzuki, T.Kaneko and K.Komagata: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **30**, 437 (1980)
11) 土居奈奈子: 東京大学博士論文，1987
12) 小柳津広志: 東京大学博士論文，1982
13) H. Oyaizu and K. Komagata: *J. Gen. Appl. Microbiol.* **27**, 57 (1981)
14) H. Oyaizu, K. Komagata, A. Amemura and T. Harada: *J. Gen. Appl. Microbiol.* **28**, 369 (1982)
15) K. Komagata & K. Suzuki: "Methods in Microbiology," Vol. 19, Academic Press, p. 161, 1987
16) T. Ezaki, Y. Hashimoto and E. Yabuuchi: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **39**, 224 (1989)
17) A. Kleeberger, H. Castroph and W. Klingmüller: *Arch Microbiol.* **136**, 306 (1983)
18) K. Katoh & K. Itoh: *Soil Sci. Plant Nutr.* **29**, 525 (1983)
19) Y. Akiba & K. Katoh: *Appl. Entomol. Zool.* **21**, 210 (1986)
20) Y. Akiba: *Appl. Entomol. Zool.* **21**, 76 (1986)
21) 青野信男・加藤邦彦: 神奈川園試研報 **26**, 84 (1979)
22) 青野信男: 神奈川園試研報 **30**, 61 (1983)


NII-Electronic Library Service