

土 壤 中 に お け る 放 線 菌 の 分 布

(第 3 報) 分群及び分布状態について

野々村英夫, 小原 巖

(昭和33年11月25日受理)

Distribution of Actinomycetes in the Soil

Part 3. Grouping of Isolates and their Frequency of Isolation

By Hideo NONOMURA and Yuwao OHARA

An attempt was made to survey the distribution of actinomycetes in soils from many different places in Japan. The emphasis was laid on kinds of actinomycetes as well as on the numbers.

1) Soil extract agar (4) was used for making plate counts of general bacteria and actinomycetes.

Some suitable media were selected ; for formation of aerial mycelium and sporulation, such as glucose asparagine agar, potato agar, diluted CB agar and oat meal agar ; for observing pigmentation, such as nutrient agar, EMMERSON'S agar, and nitrate broth which contain a large amount of peptone or meat extract.

2) The total numbers of microorganisms varied in twenty soils from fifty thousand to fifty millions per gram of dry soil without direct correlation to the pH, moisture, loss of ignition or latitude of the soils. However the ratio of actinomycetes to the total numbers of microbes did not so greatly vary with the soils, 14 ± 6 per cent as average.

3) About four hundred isolates of actinomycetes were classified into several groups according to the morphology of sporophores and spore colors. A summary of the dominant groups and their isolation frequencies is presented in TABLE IX and VI.

4) Some physiological properties of actinomycetes were examined on each soil sample (TABLE VII). It was noted that fluctuations of the ratio of pigmenting or nitrate reducing strains to total isolates were so great in percentage, ranging from 0 to 100 by the kind of soils.

There were more isolates which are able to utilize cellulose as a sole source of carbon, in the near relations of *Streptomyces viridochromogenes*.

5) The microbial population varied with soil conditions or environments, but in natural condition the change in a same soil seemed to be not so much as could be seen among different soil types. And in this case, it was supposed that, even if the population varied, the chief components of the group of actinomycetes would not be changed so radically (TABLE VIII).

放線菌は抗生物質の研究にともない、近年ますますその研究の必要性を加えてきたものであるが、元来土壤中で一般の細菌に次いで多数棲息し、細菌による分解困難な有機物を徐々に分解したりメラノイド色素の生成など腐植の生成、他の微生物との拮抗作用などの点で土壤生成と関係がある。従って土壤中における放線菌の分布状態を把握することは、その土壤中で果している役割を解析するため必要であるが、また有用放線菌を分離利用するための基礎的資料ともなる。

本報では分布の研究に適当な放線菌の性質と分群方法を検討し、それらの性質を有する放線菌が量的にどのような分布をしているかという点について、主として東京大学土壤学教室より提供された火山灰土壤について試験したので、その結果を報告する。

実験及び考察

1. 分群について

分布を調べる目的には、多数の分離株を容易に試験して分群できる様な基準が必要である。形態的性質の中では、菌糸の細菌様分裂、胞子の形成及びその種類、Conidia を形成するものではその形成状態が重要である。またこれらの性質の試験は、その菌株が適当に生育できる培養基を用いなければならない。充分胞子の着生した時の色調(菌叢上面)は *Penicillium* 属や *Aspergillus* 属等の分類で利用されているように、放線菌でも一定の群内ではある巾を持った同色系色調を示し^り) 比較的に安定しているとされている。分離株についてこれらの性質を試験する為には、先づ出来る丈多くの菌株について気菌糸及び胞子をよく形成する培地を選択する必要があるので、あらかじめ種々の土壤から分離した放線菌約 90 株について培地の選択をした。供試培地は HESSELTINE ^ら) の挙げた 7 種 BALDACCI³⁾ による 6 種、Casein agar 及び長西^ら) の CB agar, 稀釈 CB agar 合計 16 種の斜面を用い、平行に培養し (30°C, 15~40日) 気菌糸の形成、胞子の着生状態、色調等を比較した。(TABLE I)

その結果 Potato agar, Glucose Asparagine agar, Oat meal agar 等が最も多くの供試株に対して適当と考えられた。なおこの内、Glucose Asparagine agar は合成培地としての利点がある。これらの培地に反して Nutrient agar, EMMERSON'S agar 及び CB agar 等の肉エキス、ペプトン含量の多い培地では基生菌糸の発達は非常に良好であるが気菌糸の発達は極めて少なくなる。

胞子の色は充分着生したものである、これらの培地による変化はほとんど認められなかった。

TABLE I 各種培地における斜面培養の外観
Sporulation, Vegetative and Aerial Growth on Various Media
(88 strains including 78 *Streptomyces*, 8 *Nocardia* and 2 *Microbispora*
were incubated at 30°C for 15~40 days)

	Vegetative growth	Aerial growth	Sporulation	Potato agar	Glucose Asparagine agar	Casein agar	CB X 5 agar	Oat meal agar	Asparagine Dext. agar	BENNETT'S agar	Potato Dextrose agar	Carrot agar	Yeast Extract agar	Starch agar	EMMERSON'S agar	Ca-malate agar	CZAPECK'S agar	CB agar	Potato plug	Nutrient agar
	Numbers of strains																			
I	+	+	+	62	61	61	60	58	56	55	54	43	40	37	35	33	30	28	27	20
II	+	+	±	18	13	18	18	21	16	17	19	28	28	24	29	25	40	32	39	32
III	+	-	-	8	14	6	10	8	14	15	14	17	19	23	24	17	13	28	20	36
IV	±	-	-	0	0	3	0	1	2	1	1	0	1	4	0	11	5	0	2	0

然し若干のものは培養が古くなると基生菌糸の色や、培地中に溶出する色素の色調を帯びるようになり、また橙色系のもは早く褪色してゆくのが観察された。

培地中の可溶性色素の内、メラノイド色素の生成は気菌糸とは逆に、Nutrient agar, EMMERSON'S agar 等、肉エキス及びペプトン含量の高い培地に濃厚で、特に前者に著しい。しかしこの色素を生成する株は培養期間が長過ぎると、別にごく徐々に暗色化する型のものがあるので、それとの区別が困難となるから、良く生育すれば出来るだけ早期に観察の方が良いようである。この色素の生成は液体培養の Nitrate broth (ブドウ糖使用) でも敏感であり、硝酸塩還元性の試験と兼用される。青紫色系の色素生成は、培養基の種類によって濃淡及び色調の変化するものがあり、培養条件でも変化する。また黄色系の色素は濃淡が連続的に分離株間に変化があり、この色素を生成するか否かの決定は典型的な菌株に限られるようであった。

孢子器官の形態的観察は、上記孢子形成培地または分離用の Soil extract agar⁴⁾ で、平板培養し充分孢子が形成された時期に直接検鏡法¹⁾ によって観察した。孢子には Sporangia 型, Micromonospora 型または Microbispora 型及び普通の conidia 型があるが、conidia 型のもの即ち *Streptomyces* については、その形成型で PRIDHAM ら²⁾ は次の 7 section に分けている。

1. Rectus-flexibilis (flexuous)
2. Retinaculum-Apertum (open loops)
3. Spira (spiral)
4. Monoverticillus
5. Monoverticillus-Spira
6. Biverticillus
7. Biverticillus-Spira

この内 Monoverticillus, Monoverticillus-Spira, Biverticillus, Biverticillus-Spira は whorl を形成するものであるが、本報の分離株は Biverticillus のみであり、また PRID-

HAM ら²⁾も Monoverticillus, Monoverticillus-Spira, Biverticillus-Spira については量的に稀で直接一株も試験していない。従って一括しこれらを whorl 形成株とした。Reticulum-Apertum は Reticus-flexibilis と Spira との中間型 (primitive spiral to hook) であり, またこれらに属する分離株も少なかったので, その程度に従って Reticus-flexibilis か Spira に編入した, これに反し, 供試土壌放線菌では Spira が量的に大多数を占めていたので, これを Open と Closed の 2 型に分類した。次に各 Section は孢子の色により White, Olive buff, Yellow, Blue, Red (Pink to Lavender), Gray の 6 series に分けられている。分離株は White, Olive buff 及び Red に属するものもかなりあったが, 大多数のものは Gray に属するものであったので, これを Light gray to Mouse gray と Brown gray to Gray brown の 2 群に分類した。しかしながらこれらの区分は典型的な菌株間では明らかに区別ができるが, 連続的な中間株があるので比較的な区分であることを免れない。

生理的性質として, 繊維素の分解は CZAPECK'S solution の糖源の代わりに濾紙片を用い, その下半部を液につけて供試菌を接種し生育の有無を観察し, ゼラチンの液化は 20°C, 40 日後の結果を観察し, 澱粉の分解はルゴール沃度液を用い, 硝酸塩の還元はスルフ

TABLE II 供試土壌 Soils Examined

No.	出 所	Source and Soil type
1	新潟県矢代田, 泥炭質, 湿田 (高井康雄氏)	Yashiroda, Paddy soil
2	東北大学, 良好水田, 軽埴土 (山根一郎氏)	Tohoku Univ. Paddy soil
3	同上, 黒泥田, 微砂質埴壤土 (")	do., Silty clay loam
4	山梨大学農場, 水田	Yamanashi Univ., Paddy soil
5	同上, 湛水 (30°C, 7日)	do., After 7 days under water at 30°C
6	同上, 畑	do., Field soil
7	愛知県農試, 堆肥 600g 区水田 (高井氏)	Aichi, Fertilized paddy soil
8	同上, 風乾細土 (")	do., Air-dried
9	東京都田無町東大農場, 原土 (東大)	Tanashi, Unfertilized VAS*
10	北海道俱知安, 羊蹄統, 原土 (")	Kuchian, Yoteito acidic VAS
11	北海道川湯, 跡佐登 b 統, 酸性粗粒原土 (")	Atosato-b, Acidic VAS
12	北海道上富良野, 十勝 a 統, 未耕泥流原土 (")	Tokachi-a, Acidic muddy soil
13	群馬県北軽井沢, 浅間火山灰原土, 畑 (")	Asama, Field VAS
14	同上, 未耕原土 (")	do., Unfertilized VAS
15	鳥取県中山村, 大山原, 原土 (")	Taisen, Unfertilized VAS
16	鳥取県大山町檜原, 表土 (林常孟氏)	Makihara, Surface VAS
17	愛媛県, 音地型腐植質 (")	Ehime, Otoji-type humus
18	栃木県農試附近の雑木林, 原土 (東大)	Tochigi, Forest VAS
19	北海道美瑛, 低位泥炭	Bihoro, Low Peat
20	同上, 高位泥炭	Bihoro, High peat

No. 1~6: Comparatively fresh samples; No. 7~20: Stored in a vinyl bag at 5°C for a year. * VSA: Volcanic ash soil.

アニル酸と α -ナフチルアミンを用い検出し、なお色素生産性は可溶性メラノイド色素についてその形成能を検した。

2. 分布について

供試土壌は TABLE II に示した 20 種で酸性火山灰土が多く、採取部位は主として表土である。採取してから試験するまで貯蔵(ビニールの袋に入れ、5°C 暗所)したが、そのため一定の条件下に試料を揃え、その土壌中で微生物相互間の平衡を得たあと実験するという利点もあった反面、条件によってはその間の変化も大きかった。しかし JAGNOW⁶⁾ によれば適当な条件では数カ月の貯蔵も放線菌群に本質的変化はきたさないようである。

これら試料の pH (水懸濁液 1:5 ガラス電極)、灼熱損量、水分と、細菌、放線菌、糸状菌の生菌数は TABLE III のようであった。微生物数の計数は前報⁴⁾ の Soil extract agar の平板法によった。この培地は集落の発達は遅く、小さいが、拡散性細菌や糸状菌の圧倒的生育がなくて、しかも全生菌数は多く、且つ放線菌は気菌糸を形成しやすい等の利点を有する。試料は口孔 2 mm の篩を通したのち、300 ml 容三角フラスコ中の 100 ml 殺菌水に 1 g 採り、約 5 分間振盪したのちその懸濁液の中央部より 1 ml を次の殺菌水に

TABLE III 供試土壌中の微生物生菌数
Numbers of Microorganisms in the Soil developing on Soil Extract agar Plate

Soil No.	pH	Loss of ignition	Moisture	Bacteria	Molds	Actinomycetes	% *
		%	%	thousands per g. of dry soil			
1	5.0	18	57	1,120	100	400	25
2	5.4	12	40	35,200	800	4,000	10
3	5.0	21	58	18,000	420	2,280	11
4	5.3	5	35	5,870	—	1,030	15
5	5.4	5	—	17,850	50	950	5
6	5.2	6	17	7,120	160	1,260	15
7	6.0	7	35	32,400	70	2,600	8
8	6.3	7	2	7,380	20	530	7
9	5.8	24	38	43,700	480	3,320	7
10	4.9	15	20	2,900	140	460	13
11	4.9	8	3	40	2	5	16
12	4.7	11	18	10,210	380	2,010	16
13	5.2	12	13	3,680	170	1,650	30
14	5.2	9	4	5,410	120	420	7
15	5.2	28	20	1,920	160	520	20
16	4.7	24	10	70	2	20	22
17	5.8	25	14	300	50	90	21
18	4.9	20	35	8,760	200	890	9
10	4.8	55	15	90	10	20	13
20	4.6	85	14	40	6	10	16

* Ratio of actinomycetes to the total numbers of microorganisms.

移し, 同様にして, 最後の懸濁液 1 ml または 0.5 ml (ペトリ皿一枚用) が生菌数 100 個内外になるように稀釈した。25°C 2 週間培養後, 数枚のペトリ皿の平均集落集を算出した。

その結果, 全微生物数は乾土 1 g 当り平均約 1 千万個であったが小さいものでは数万, 多いものは数千万と 100 倍位の開きを示した。そして放線菌の数は 0.5~400 万の差異があったが, 総体的にみると, 全微生物数に比例しており, その割合も平均 $14 \pm 6\%$ で比較的一定している。このことから普通の土壌中で放線菌は, 大局的には他の細菌と行動を共にしていると考えられる。

次に各試料から分離した放線菌約 400 株について, 孢子形成の形態と孢子の色調によって分群した (TABLE IV)。その結果は *Nocardia* 属を含め孢子を形成しないもの 9%, Spiral を形成するもの 71% (Open 型 38%, Closed 型 33%), Straight の株 17%, Whorl を形成するもの及び其の他は各々 2% 以下であり, 孢子の色では Gray 系の株が 45%, Brown 系の株が 35% で大部分を占め Pink 系及び White 等は数% 以下であった。

TABLE IV 孢子の色及び形成法による分群
Grouping of Isolates and their Frequency of Isolation

	No. of isolates (frequency)
I. Spores formed	
1. Spore color pinkish to light brown	
a. With closed spiral.....PC group.....	15 (4%)
b. With open spiral	PO group..... 3 (1)
c. Without spiral and with straight branches	PS group..... 2
2. Spore color brown, grayish	
a. With closed spiral.....BC group.....	92 (23)
b. With open spiral	BO group.....47 (12)
3. Spore color gray, brownish	
a. With closed spiral.....GC group.....	25 (6)
b. With open spiral	GO group..... 104 (26)
c. Without spiral and with straight branches	GS group.....51 (13)
4. Spore color light olive gray (powdery)	
a. With closed spiral	1
b. Without spiral and with straight branches	
	<i>Streptomyces griseus</i> (SG) group.....15 (4)
5. Spore color white ;	
with closed spiral	<i>Str. albus</i> (AS) group..... 2
6. Spore color white to pinkish	
a. Branches of sporophores in verticils (whorls) :	
Colonies floccose..... <i>Str. reticuli</i> (SR) group,	6 (1.5)
b. Special appearance (<i>Microbispora</i> type)	7 (1.7)
II. No Spores formed, colonies usually white	
	N ₁ group.....25 (6)
III. No aerial mycelium	
	N ₂ group.....12 (3)

両性質の関係は、供試料内では、胞子の色が Brown 系のものは Spiral を形成し、特に Closed spiral が多く全体の 3分の2を占めた。これに対し胞子の色が Gray 系のものでは Straight または Flexuous のものもかなり多く（約3分の1）また Spiral を形成するものでは特に Open spiral が多く、その5分の4を占めた。Light olive gray としたものの多くは、菌叢が powdery であり Spiral を形成しない *St. griseus* (SG) 群と目されるものである。また Whorl を形成する株は多く菌叢が floccose で white to pale pink の *St. reticuli* (SR) 群であり、他の White の *St. albus* (SA) 群と共にこれらは比較的その分布が少ないものと考えられる。

次にこれら各群の生理的性質を試験し、比較的主要な各群について、その何%の株が活性 (Positive) であったかを TABLE V に示した。BC 群ではメラノイド色素を生成し、硝酸塩を還元できない株の多いのが特徴である。これに対し BO 群では硝酸塩還元株は比較的が多い。GS 群、SG 群等はメラノイドの生成株が少なかった。繊維素を唯一の炭素源として資化し生育できる放線菌は、胞子の色が Gray 系のものに多く、そのうち特に培地中に紫色乃至青色の可溶性色素を生産する (*St. viridochromogenes* 型) 16 株の過半数は活性が強く、なお BO 群のうち活性の強い 2 株は、Non-chromogenic でゼラチンを液化せず、培地より剝離し易い種類であった。ゼラチンを液化するものは PC 群には少ないようである。

TABLE V 各群の生理的性質
Some Physiological Properties of Each Isolates of the Main Groups

Group	Isolates examined	Pigmentation ^{a)}	KNO ₃ ^{b)}	Starch ^{c)}	Gelatine ^{d)}	Cellulose ^{e)}
<i>per cent of the positives to isolates examined</i>						
PC	15 Total	94	60	77	33	0
BC	92	94	6	89	87	10
BO	47	58	70	94	65	21
GC	25	38	57	85	56	24
GO	95	41	48	82	74	44
GS	51	26	54	96	88	18
SG	15	0	43	100	79	0

- a) Soluble, dark brownish pigment : melanoids ; b) Nitrate reduction ;
c) Hydrolysis of ; d) Liquefaction of ; e) Decomposition of.

各土壤試料別にみた放線菌の種類は TABLE IV に群別分離株数として示した。全試料を通じて、矢張り BC, BO, GC, GO, GS の各群が広い分布を示しているが、土壤試料による相異もあり、BC 群を欠くもの、ほとんど BC 群のみのも、BO 群の多いもの或は GO 群の多い土壤、少ない土壤など種々である。SG 群や SR 群等はある土壤で比較的多く分離されるが、他の土壤ではほとんど分離されない。TABLE VII には試料毎に分離した放線菌の生理的性質を試験し、活性株の百分率を示した。澱粉を分解する株は土壤による変差は少なく、活性株は 80% に及ぶ。メラノイド色素を生成するもの、及び硝酸塩を還元する株の割合等は試料による偏差が大であり、全土壤試料の平均は各々 50% と 40%

TABLE VI 各供試土壤中の群別放線菌分離株数
Numbers of Isolates Classified into the Groups on Each Soil

Soil No.	PC	PO	PS	BC	G r o u p					N ₁	N ₂	
					BO	GC	GO	GS	SG			SA
1	2				1	6	2	1		5	3	
2	2				6	1	3	1		4	3	
3					14	1	1	1		3	1	
4				6	1	6	11	1	1	1	1 ^{a)}	
5	1			7		1	7			1	3 ^{b)}	
6			1 ^{b)}	8	7	6	3	3				
7	5			4	1	1	9	1				
8	1		1 ^{b)}	8		1	5	3	1			
9				5	2		6	6				
10				13	1	2				3		
11				20								
12				5			6	1	2			
13				6	2		5	4		1	1	
14				5	6		2	1				
15	3	1		3			6	3		6 ^{b)}		
16				1	2	1	5	10				
17	1	1					15	1				
18		1 ^{b)}		1	1			5	3	1	1	
19					3		4	5	6	2		
20							15	2	3	1		
△	15	3	2	92	47	26	104	49	15	8	22	13

a) *Streptomyces reticuli* group; b) *Microbispora*

であったが、試料によって0%より100%またはそれに近い土壤まで変化がある。また硝酸塩を還元するものは、未耕の火山灰土の方に多かった（鳥取、中山村火山灰土及び美唄低位泥炭等は活性の弱いものが多い）。繊維素を分解する株のうち、活性の強いものは、美唄泥炭、愛媛、音地型腐植質及び中山村火山灰土等に含まれていた。

比較的類似した土壤の間には、放線菌もまた類似している場合もあるが、相違するものもみられる。例えば供試土壤 No. 10 と No. 11 は、北海道の西と東の未耕火山灰土であり一方の試料は水分が少なく微生物数も非常に少ないが放線菌の種類、生理的性質はお互に近似している。これに反して供試土壤 No. 15 と No. 16 は同じ大山地方のものであるが、pH 其他の条件が異なり微生物数に大差があると共にその放線菌の種類、性質にも著しい差がみられる。また供試土壤 No. 13 と No. 14 は浅間火山灰土で耕土と未耕土、水分等の相違があるが微生物数、放線菌の種類は比較的似ている。しかし硝酸塩を還元する性質に差がみられる。

これらの例のように、供試土壤中の微生物相はきわめて多くの条件によって規定され、変化されていると考えられる。そしてそれらの条件のうち若干のものについて比較すると

TABLE VII 供試土壤別放線菌の生理的性質
Some Physiological Properties of Actinomycetes of each Soil

Soil No.	Isolates examined	Pigmentation	Nitrate reduction	Starch hydrolysis	Gelatine liquefaction	Cellulose decomposition
<i>per cent of positives to total isolates</i>						
1	20 Total	26	53	75	24	25
2	17	29	94 (12)*	77	44	11
3	21	45	85	80	50	5
4	29	57	57	65	85	10
5	20	64	59 (13)*	73	54	0
6	28	49	47	100	83	60
7	21	82	50 (9)*	50	73	14
8	20	91	52 (8)*	60	85	11
9	19	95	35	95	87	20
10	19	72	0	89	81	0
11	20	100	0	83	80	0
12	14	24	35 (11)*	82	47	6
13	19	69	37 (11)*	88	81	6
14	14	86	0	100	72	0
15	21	61	4	96	41	5
16	19	0	53 (27)*	100	95	25
17	18	12	44 (13)*	94	75	70
18	13	13	6	69	31	0
19	20	5	64 (50)*	90	91	35
20	20	0	22 (11)*	95	100	70
Average		50±33	40±27	80±13	70±22	20±22

* Numbers of weak positive isolates.

TABLE VIII のようになる。同じ農場内ではその作物若しくは耕作状態 (Rhizosphere の影響は放線菌に対し細菌のように著しくないと言われている)、水田、畑等の相違によって差異はあるが、TABLE III において各種の土壤で見たような著しい差異は認められなかった。この表の夏と冬の相違は季節による影響よりは、作物若しくは耕作状態に基づくと考えられる。またこの試料では隣接した畑と水田で、畑の方には繊維素分解株が多くみられたのに水田の方には少なかった。

冬期乾田の土壤を湛水させて 30°C に 10 日間放置したのち比較したものでは、細菌数は著しく増加したが放線菌数には変化がみられなかった。即ちこのような状態では細菌は分裂増加するのに反し、放線菌では菌糸の増加は考えられるが、conidia が形成され難いためであろう。この湛水状態はしかし長期 (120 日) になると、かえって菌数の減少をみた。水稻の湛水中 (夏) の土壤では菌数が少々少なくなっているのはその様な原因であろう。次に乾田土壤を通風乾燥 (48 時間) したのち、1 年間経過したものは、そのまま 5°C の暗所に同期間貯蔵したもの (No. 7) に比して、総菌数と共に放線菌数も著しく減少し

だが、放線菌の種類分布はそれ程決定的な変化はみられなかった。同じ土壌でも乾燥によって更に著しい微生物数の減少がみられることがある。

TABLE VIII 土壌の状態による微生物相の変化を示す例
Effect of Soil Conditions on the Population of Microorganisms in Certain Soils

Soil No.	Season	Crops	Total microorg.	Actino-mycetes	Pigmen-tation	Nitrate reduction	Starch hydroly.	Gelatine liquef.	Cellulose decomp.
			$\times 10^4$ per g. soil	per cent of positives to total actinomycetes					
Paddy	4	Winter Wheat	690	103	57	57	65	85	10
		Winter — ^{a)}	1,880	95	64	59	73	54	0
		Winter — ^{b)}	45	6	—	—	—	—	—
		Summer Rice ^{c)}	280	73	82	43	—	—	—
Field	6	Winter Wheat	840	126	49	47	100	83	60
		Summer Fodder-orchid	340	59	63	69	—	—	—
		Summer Corn	405	53	50	44	—	—	—
		Summer Stoneleek	560	71	—	—	—	—	—
Paddy	7	— — ^{d)}	3,500	260	82	50	50	73	14
		(air dried)	790	53	91	52	60	85	11

a), b) Under water in a flaske at 30°C, after 10 and 120 days respectively ;

c) Under Water ; d) After storage for a year at 5°C.

Field of soil No. 6 ajoints to Paddy of soil No. 4.

要 旨

わが国各地の土壌から、Soil extract agar の平板培養法で放線菌を計数、分離し、それら試料における分布状態を比較した。

1) 土壌微生物全生菌数は、供試土壌によって、100 倍程度の相違(乾土 1g 当り数万から数千万)を認めしたが、放線菌数は概して細菌と変動を共にし、総菌数に対する割合は $14 \pm 6\%$ であった。また、土壌微生物数は、土壌の種類を比較する場合には、その水分、pH、灼熱損量などとの間に直接的な関係は認められなかった。

2) 供試土壌 20 種から分離した 400 余株の放線菌を通算して、主な放線菌の種類とその分離頻度は次のようであった。

TABLE IX The Main Groups and their Isolation Frequencies (%)

Group	Closed spiral	Open spiral	Straight or flexuous	No spore
Grayish	6	26	13	—
Brownish	23	12	—	—
Pinkish	4	4	—	—
Light olive gray	—	—	4	—
White to pinkish	—	—	2	—
No spore*				9

* or no spore and no aerial mycelium

この分離頻度の高いものは概ね同時に広い分布を示していたが、土壌試料別にも、優性群の変動が認められた。

3) 群別、土壌別の分離株について、生理的性質の試験を行なった Closed spiral-brownish spore (BC) 群にはメラノイド色素を生成して硝酸塩を還元しない株が多く、また放線菌で繊維素を利用できる株は少ないが、Grayish spore 群で、紫色乃至青色の可溶性色素を生ずる株には繊維素を盛んに利用するものが比較的多くみられた。全試料を平均すると、メラノイド色素生成株 50%、硝酸塩還元株 40%、繊維素資化株 20%、ゼラチン液化株 70%、澱粉分解株 80% であった。そのうちメラノイド色素生成、硝酸塩還元性などが、土壌試料による偏差が大で試料により 0~100% の相違があった。

4) 同一場所の土壌では作物の種類または耕作状態、湛水等によって微生物分布に変化を認めたが、それは自然状態である限り、供試土壌の種類によってみられた相違より少ないようである。実験室的乾燥、長期湛水等では大きい変動をきたすが、それも放線菌の種類を極端に変えることはないようであった。

5) 気菌糸をよく生成する培地を比較した結果 Glucose Asparagine agar, Potato agar 稀釈 CB agar, Oat meal agar 等が良く、メラノイド色素の生成は Nutrient agar, EMMERSON'S agar, Nitrate broth 等のペプトン、肉エキスを多く含有する培地が顕著であった。

本研究に御教示を得た東京大学弘法健三教授、並に土壌試料を戴いた諸先生方に厚く御礼申し上げます。また研究費の一部は、腐植に関する総合研究の分担課題として昭和 32 年度の文部省科学研究費によったことを記して感謝致します。

本報の要旨は昭和 33 年 5 月、日本農芸化学会大会、放線菌分類シンポジウムで口演した。

文 献

- 1) HESSELTINE, C. W., R. G. BENEDICT and T. G. PRIDHAM : Useful criteria for species differentiation in genus *Streptomyces*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **60**, 136 (1954)
- 2) PRIDHAM, T. G., C. W. HESSELTINE and R. G. BENEDICT : A guide for the classification of *Streptomyces* according to selected group. *App. Microbiol.*, **6**, 52 (1958)
- 3) BALDACCI, E., G. F. COMASCHI, T. SCOTT and C. SPALLA : General criteria for the systematics of genera and species of *Actinomyces* (*Streptomyces*) and *Micromonospora*. VIth Congr. Internaz. Microbiol., Roma, *Symposium, Actinomycetales*, 20 (1953)
- 4) 野々村英夫, 小原巖 : 土壌中に於ける放線菌の分布 (第 1 報)
平板培養計数法の培地および稀釈濃度について, *醸工*, **35**, 47 (1957)
- 5) TRESNER, H. D. and E. J. BACKUS : A broadened concept of the characteristics of *Streptomyces hygroscopicus*. *App. Microbiol.*, **4**, 243 (1956)

- 6) JAGNOW, G. : Untersuchungen über die Verbreitung und Oekologie von Streptomyceten in Naturböden. *Arch. Mikrobiol.*, **25**, 274 (1956)
- 7) 長西広輔, 能美良作 : 放線菌の分類に関する研究 (第2報)
気菌糸形成用培地の選定, *醸工*, **32**, 211 (1954)