

豆科植物の根瘤菌に就いて 第四報

紫雲英根瘤菌の生育に及ぼす紫外線並に天然光線の影響

農學博士 板野新夫

松浦章

緒言

天然光線に浴する機會の多い土壤微生物が、一般他の微生物よりも一層紫外線と密接なる關係が存在する様である。根瘤菌を人工接種をなす場合に天然光線に注意すべき事は既に、⁽¹⁾ Suginuma 氏が一九〇四年に發表してゐる。⁽²⁾ Chester、⁽³⁾ Brown 氏等も亦之等に關して述べて居る。⁽⁴⁾ Nobles 氏は豆科植物の根瘤菌は天然光線に對して非常に鋭敏であるから、太陽の直射を避けねばならぬことを報告して居る。⁽⁵⁾ Albrecht 氏等は根瘤菌は液體培養、並にマンニツト寒天上にあつては水銀燈による紫外線にて死滅した。然し、土壤や市販硝子瓶はよく紫外線を吸收するものであることを發表して居る。

⁽⁶⁾ 余等は曩にアゾトバクターに關して實驗の一部を報告したのであるが茲に根瘤菌と紫外線並に天然光線との關係に就き實驗結果を報告することにする。

畑地 土壌	點照	5733	333	39175	100.0	2063	100.0
	10秒	4000	333	31300	78.8	1510	73.1
	30秒	4067	200	22216	73.2	1069	87.8
	1分	4333	200	27140	67.9	1748	84.8
	10分	3733	133	23028	65.1	1660	80.8
	30分	3333	667	18786	47.0	1200	82.7
	1時	3333	133	7112	17.8	715	34.6
	2時	—	—	4192	10.3	437	21.2
	3時	—	—	3218	8.1	715	34.6
	水田 土壌	點照	1837	133	12398	100.0	755
10秒		2133	200	11802	93.2	703	78.9
30秒		1133	67	11325	91.3	676	89.5
1分		837	67	10173	82.1	731	97.3
10分		600	67	9334	77.9	715	94.7
30分		333	67	8301	69.3	517	68.4
1時		201	133	8504	68.6	517	68.4
2時	—	—	6378	51.6	437	57.9	
3時	—	—	3673	29.5	318	42.1	

備考 細菌及び菌数を乾土一瓦中の数を千単位にて表す。

本表によると乾土、新鮮土ともに紫外線に晒すと微生物は減少し、概して露出時間と反対の傾向を示して居る。乾土の場合には微生物甚だ少なく明かなる結果を得なかつたが新鮮土に就きて對照を百として生存率を求めると畑地、水田ともに、概して微の生存率が大きいである。今三時間露出したるものに就きて見るに生存率は畑地に於いて細菌が八、一なるに微は三四、六にて、水田に於いて細菌は二九、五に對して微は四二、一であつた。此の結果よりすると紫外線に對して微類は細菌類より甚だ抵抗力大でこの傾向は他の結果とよく一致するも其の程度は大に異なり一般にはあまり大差がないと稱せられて居るが、本實驗の結果よりすると始ど微は細菌の二倍の抵抗力があり殊に畑地は水田よりも其の差は大である。

二、紫外線と根瘤菌との關係

菌株の系統　本實驗に使用したる菌株は當研究室にて分離したる紫雲英根瘤菌のA、B、Cの三菌である。

A、濾光器使用による實驗

紫外線と稱するのは可視光線より短波長即ち三九五〇Å以下の光線を稱するのであるが、實際太陽光線により地上にて得られるものは二九五〇Åまでであつて生物の生理作用に重要な關係のある三二〇〇Åより二九〇〇Åまでをドルノ線と稱して居る。然し人工光線によるとこれ以下の短波長をも容易に得られるのであるが實際紫外線發生の目的で普通廣く使用され、本實驗にも使用したる石英水銀燈は二〇〇〇Åまでの光線を得られるのである。一八五〇Å以下の波長は普通特殊の光線として研究されて一般に紫外線と稱せられるのは一八五〇Åまでである。水銀燈は前記の

紫外線以外に熱線可視光線が含まれて居る。(7)HEI氏によると可視光線即ち三九〇〇。Aより七五〇〇。Aが五〇%にて、紫外線即ち二〇〇〇。Aより三九〇〇。Aは三〇%であると稱して居るが故に、本實驗に於いても是等の點を考慮して現今最も信用ある Hanovia 製濾光器を使用して可視光線及熱線の大部分を除き主に紫外線の影響を調査せんとしたのである。

實驗方法 前記硬質製ベトリー氏皿に酵母加用マンニット寒天の約十五ccを入れて、これに前記根瘤菌の四日間培養なしたるものを適當に蒸溜水にて懸濁液を作りて、可及的に均質に塗沫接種を行ひ、直ちに紫外線に浴せしめたる後に常法の如く培養を行つて其の生死を檢定したのである。其の結果は次の通りである。

第 二 表

菌 株	紫 外 線 に 露 出 し た る 時 間										
	點照	10秒	1分	30秒	1分	5分	10分	15分	30分	1時	2時
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

備考 十七は生を一死を示す。

本表によると三菌ともに等しく一時間にて死滅す。

B、濾光器使用せずに行つた實驗

濾光器を使用する時は光度甚しく弱くなつてモリブデン酸法により紫外線量を測定したるに濾光器使用せざる場合の二八・七二二%に過ぎなかつた。實際天然光線と根瘤菌との關係を知る爲には例へ前記の如く水銀燈の光線と天然光線との差違はあつても矢張り濾光器使用せずに紫外線以外の光線を含む方が適するものと思はれるので本實驗を試みたのである。

(イ) ペトリー氏皿による實驗

實驗に使用したるペトリー氏皿、アクメ・ウルトラヴィット硝子の紫外線透過率は豫め檢定したるにペトリー氏皿二九・一二六%、アクメ・ウルトラヴィット硝子四四・五四七%であつた。

實驗方法 濾光器使用の場合と全く同様に行ふ。其の結果は次表の通りである。

第 三 表

菌株	A		B		C	
	濾光器なし ペトリー氏皿	濾光器なし 硝子	濾光器なし ペトリー氏皿	濾光器なし 硝子	濾光器なし ペトリー氏皿	濾光器なし 硝子
大豆	+	+	+	+	+	+
豆	+	+	+	+	+	+
豆	+	+	+	+	+	+
豆	+	+	+	+	+	+
豆	+	+	+	+	+	+
豆	+	+	+	+	+	+

1分	+		+	+	+	+	+	+
3分	+		+	+		+	+	
5分	+		+	+		+	+	
10分	+		H	+		+	+	
15分	+			+		+	+	
30分	+			+		+	+	
1時				+		+	+	

備考 十六日生を一時間を示す。

本表によると直接露出したるものは三〇秒にて死滅し普通硬質製ベトリー氏皿にて一時間にて死滅す。ヴィット硝子にては多少の相違はあるが三〇分にては全部死滅した。

(ロ) 試験管による實驗

普通硬質製試験管と石英管を使用して實驗を行つた。

實驗方法 適當の試験管を選びて酵母加用マンニツト寒天の約一〇匹を入れて斜面となしこれに懸濁液となせる根瘤菌を接種して成可く光線に直面する様にして露出したのである。其の結果は次表の通りであつた。

露出時間	菌 株		B		C	
	A 硬質製試験管	石 英 管	硬質製試験管	石 英 管	硬質製試験管	石 英 管
對 照	+	::	+	::	+	::
5 秒	+	+	+	+	+	+
15 秒	+	+	+	+	+	+
30 秒	+	+	+	+	+	+
1 分	+	+	+	+	+	+
5 分	+	+	+	+	+	+
10 分	+	+	+	+	+	+
30 分	+	+	+	+	+	+
30 分	+	::	+	::	+	::
30 分	+	::	+	::	+	::
30 分	+	::	+	::	+	::

備考 十は生を一は死を示す。

本表によると普通硬質製試験管にてB・C菌は二〇分にてA菌は三〇分にて死滅し、石英管にては三〇秒にて既に生育甚だしく不良となり一分にては三菌共に全部死滅した。

C、砂土覆ひにて行つた實驗

土壤が光線の吸収力あることは周知のことであるが土質により其の程度に大差があること、思ふ。(5) Albecht 氏等は
 ○一耗の土層はよく紫外線を吸収しそれ以下の微生物には影響なきことを報告してゐる。本實驗に於て砂を豫め酸とアルカリにて處理して清潔にしたるものを使用して試みたのである。

實驗方法 ペトリー氏皿に前記の如く根瘤菌を塗沫接種をなしたる後に砂土を深さ○・五糶(七〇瓦)、○・二五糶(三五瓦)、○・一糶(一四瓦)宛入れて常法に従つて紫外線に浴せしめたる後に接種點の根瘤菌の生長の有無を檢すると同時に斜面養試驗を行つて生死を確めたるに其の結果は次表の通りである。

第五表

菌株 砂土の深さ(糶)	A			B			C		
	0.5	0.25	0.1	0.5	0.25	0.1	0.5	0.25	0.1
露出時間									
對照	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1分	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5分	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10分	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30分	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1時	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2時	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3時	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4時	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5時	+	+	+	+	+	+	+	+	+

備考 +は生を、-は死を示す。

本表によると砂土覆ひの○・五糶は五時間に至るも死滅せず○・二五糶はB菌が五時間にて死滅したのみであるが○・

一種では三時間にはA菌が極めて僅かに生存したる形跡があるも斜面培養試験にて生長せず、他のB・C菌は三時間で完全に死滅す。

三、天然光線と根瘤菌との關係

天然光線の紫外線量は水銀燈より一般に弱く波長の限界も狭いのであるが實際問題として頗る重要なものである。然し太陽光線の紫外線量は四季を通じて絶えず變化あるのみでなく、一日中に於ても甚だ異り、その上紫外線量に影響する天然の因子が多く常に一定なる變化を望む事が出来ない。故に實驗を行ふ上に甚だ不便である。試みに岩崎氏の昭和四年九月より昭和五年八月に至る滿一ヶ年間に於ける測定によると當倉敷市の紫外線量の變化は次表の通りである。

第 六 表

天 候	月												平 均
	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	
紫 外 線 量	19.80	15.11	12.18	2.00	4.08	9.32	12.73	15.37	21.50	21.85	22.51	23.03	15.04
快 晴	7.00	6.20	2.02	0.52	0.60	1.05	2.30	5.99	8.30	8.75	11.19	12.07	5.50
雨 天	2.03	1.22	1.20	0.14	0	0.40	2.20	2.63	4.28	4.37	—	—	1.89
平 均	12.14	10.14	6.38	1.31	1.91	4.46	7.15	10.45	14.01	13.01	17.91	18.15	9.84

備考 表中の数字はアセト・メチレンブルーの染色度を示す。

本表によると倉敷市に於ける紫外線量の最高は八月にて最低は十二月である。本實驗は紫雲英の播種期九月下旬を選んだのであるが倉敷市としては本表によると尙多量の紫外線量を得られる季節であつた。

實驗方法 ペトリー氏皿に前記の如く塗沫接種をなして覆ひ無し、又ヴィット硝子を覆ひて實驗を行ひ、菌の生死を檢した。尙實驗期間中モリブデン酸法、並にアセト・メチレン・ブリューにて紫外線量の測定を行つた。

(イ) 第一回試驗

第一回試驗は昭和八年九月二十六日にして當日の氣象狀況は次の通りであつた。

風 速一・八三秒米、氣壓七六三・四耗、室溫二〇・九度(C) 最高室溫二七・九度(C)

最低室溫一二・三度(C) 濕度四五・五 雲量二 天氣快晴

風 向 東北東

實驗期間中の紫外線量はアセト・メチレン・ブリューによると午後一時半より午後四時半までの褪色度は七・五であつた。尙詳細にモリブデン酸法により測定したるに次表の通りである。

第七表

測定時	午後3時30分	午後3時30分	午後4時30分
温度	28.5	26.0	24.0
紫外線量	3.21	2.96	1.75

實驗の結果は次の通りである。

第八表

露出方法	菌株	對照	露出時間								
			30秒	1分	5分	10分	30分	1時	2時	3時	
覆ひ無し	A	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
	B	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
	C	+	+	+	+	+	-	-	-	-	

本表によるとA・B菌は三〇分にて死滅するもC菌は一時間にて死滅す。更に確證を得る爲に第二回試驗を行ふ。

(ロ) 第二回試驗

第二回試驗は昭和八年九月二十九日に行ひ、當日の氣象狀況は次の通りである。

風速一・〇秒米 氣壓七六四・六耗 室溫一九・五度(C) 最高室溫二六・八度(C)
 最低室溫 一一・二度(C) 濕度四七・〇 雲量〇 天氣快晴 風向北西

實驗期間中の紫外綫量はアセト・メチレン・ブリュートによると午前九時半より午後四時半までの褪色度は一一・〇であつた。向モリブデン酸法により時々刻々の變化を測定したるに次表の通りである。

第九表

測定時	午前	午前	午前	午後	午後	午後	午後	午後	午後
	9時	10時	11時0分	0時0分	1時0分	2時0分	3時0分	4時0分	
温度	30.2	41.0	45.5	38.2	30.2	43.0	23.2	25.5	
紫外線	3.90	4.55	4.97	4.61	4.46	4.34	3.25	2.85	

實驗結果は次の通りである。

第十表

露出方法	菌株	照	露出時間									
			30秒	1分	5分	10分	30分	1時	2時	3時		
覆ひ無し	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ゼイント硝子	A	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+

備考 十は生を一は死を示す。

本表によると本菌は覆ひ無しの場合は第一回試験と大差なく菌種により多少の差異はあるが三〇分が生死の限界であ

つてヴィット硝子を覆ひたるものは稍々抵抗大であるがあまり大差がない。これは露出時間は等しくても覆ひなしの場合には午前十一時前後の三〇分間にてヴィット硝子は午後零時半前後の三〇分であつて第九表に示すが如くヴィット硝子の方が紫外線量多きが故に斯くの如き結果を生じたるものと思はれる。

要するに以上二回の實驗結果より紫雲英の播種期の九月下旬の快晴日の正午前後に於て、紫雲英の根瘤菌は僅か三〇分間太陽の直射を受けることにより殆んど死滅することを知り得たのである。これにより従來唱へられて居た様に根瘤菌の人工接種をなすに日光の直射を避けることの必要であることを證し得るのである。紫雲英は幸に稲作の存在中に播種するので人工接種上甚だ恵まれたる状態にあると云ひ得るのである。

摘 要

本實驗は紫雲英の根瘤菌三菌と紫外線並に天然光線の關係につき研究を試みたのである。其の結果の大意は次の通りである。

- 一、本菌等は Hanovia 製濾光器を透過したる紫外線に一時間晒すと死滅す。
- 二、本菌は紫外線に直接露出すると三〇秒にて死滅す。硬質製ベトリー氏皿を使用すると一時間にて死滅し、ヴィット硝子にては三菌中に多少の相異はあるが三〇分にて全部死滅す。
- 三、本菌を紫外線に溶せしめるに普通硬質製試験管を使用するとB・C菌は二〇分にてA菌は三〇分にて死滅す。石英管にては三〇秒生育甚だしく不良となり一分にて三菌とも全部死滅す。

四、砂土覆ひの○・五種は五時間に至るも死滅せず。○・二五種はB菌が五時間にて死滅し、A菌が極めて僅かに生存したるのみである。

五、本菌は天然光線(九月二十六日・二十九日快晴)に直接晒すと生死限界三〇分であつて、ワイト硝子を覆ひたるものと大差を認めることが出来なかつた。これは時々刻々に變る紫外線量並に天然光線中の熱線の影響によるものである。

六、三菌の間に生死の點に差異があるのは、菌の性質よりも、此場合實驗誤差が大なのか一定の傾向を見出されない。
七、土壤を直接紫外線に晒す時には僅か一〇秒にても土壤微生物を減少す。細菌は微類より紫外線に對する感度鋭敏であつて、減少率は水田、畑地共に細菌が大である。尙三時間露出するも細菌、微類共に全滅せしめる事は出来ない。

参考文献

- (1) Süchting, H. Zentbl. Bakt., 2 Abt. II, 406, 1904.
- (2) Chester, F. D. Del. Agr. Exp. Sta. Bul., 78, 1907.
- (3) Brown, P. E. Iowa Agr. Exp. Sta. Cir., 43, 1918.
- (4) Nobles, C. Mich. Agr. Exp. Sta. Qua. Bul., 1, 100, 1919.
- (5) Alpecht, W. A. and Lloyd, M. T. Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 1323, 1931.
- (6) 坂野、松浦 日本農化雜誌, 第十卷, 第五册, 477頁, 昭和九年
- (7) Hall, A. W. Gen. Elect. Rev., 28, 780, 1927.
- (8) 岩崎壯男 勞働科學研究, 十卷, 一頁, 昭和八年