植物病原細菌の炭素源利用試験に用いる共通基礎培地の検討

西山 幸司^{1*}・篠原 弘亮¹・門田 育生^{1,2}

ABSTRACT

NISHIYAMA, K.^{1*}, SHINOHARA, H.¹ and KADOTA, I.^{1,2} (2001). A new basal medium to test carbon utilization for plant pathogenic bacteria. Jpn. J. Phytopathol. 67: 97-106.

Glucose, sucrose, sodium tartrate, or L-arginine were tested as a carbon source in eight basal media using 99 bacterial strains belonging to 63 species in 14 genera, including some strains of non-plant pathogens. From these results and those from additional tests using nine carbon sources, Dye's medium OY was useful for testing carbohydrates and sugar alcohols, and BMC developed in this study as a basal medium was useful for testing various carbon sources such as carbohydrates, sugar alcohols, organic acids and amino acids. BMC medium contains 0.4 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0.6 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0.2 g KCl, 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5 g NaCl, 0.2 g yeast extract, 10 ml 0.5% bromthymol blue (BTB) solution, and 16 g agar in 990 ml of distilled water with pH 6.8. This medium can be used only for bacteria giving a positive reaction within 1 week on BMC supplemented with 0.5% glucose. Further study is needed to develop a medium for bacteria that require nutritionally rich media, such as the genus *Clavibacter*. When the results obtained by different basal media are examined, attention must be paid to the nutrient levels in the media and to the culture durations. It is especially important to note that negative results may be questionable because of an absence or excess of certain nutrients.

(Received December 15, 2000; Accepted March 12, 2001)

Key words: BMC medium, carbon source utilization, plant pathogenic bacteria, identification.

緒 言

細菌は種によって利用する炭素源の種類に違いがあり分類・同定における識別点として古くから利用されている。また、その試験には種々の方法が開発されており⁸⁾、分離源や調査株が属する菌種群の違いによって、異なる試験方法が用いられている。植物病原細菌の研究においては、基礎培地として古くはペプトン水が用いられ、その後は Ayers らの培地¹⁾や Dye の C 培地³⁾、OY 培地^{3,4)}が多用されている。Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th ed.²⁾あるいは Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1⁶⁾に記述されている植物病原細菌の性状はそれらとも異なる培地を用いて得られており、たとえば *Pseudomonas* 属においては Stanier ら⁹⁾の方法による結果^{7,9)}である。このように炭素源利用能の試験にはいくつ

かの方法が採用されており、試験方法に違いがあっても同じかあるいは類似した結果が得られる可能性が高いことを示している。しかし、生育素を要求する細菌は無機塩のみからなる Ayers らの培地には生育できない。また、栄養分の多い培地でないと生育しない細菌もあるので、試験方法の違いが結果に及ぼす影響について考慮しておく必要がある。一つはきわめて重大な影響を及ぼす場合で、比較対照にしたい文献と同じ方法で試験するか、もしくは異なる方法を用いる場合には同定の候補となる種の菌株を必ず対照に加えて試験しなければ、他者と比較できる結果は得られない。他の一つはさほど重大な影響を及ぼさない場合で、方法が違ってても類似した結果が得られると予想される。一方、細菌を同定する現場をみると以下のような例が多い。すなわち、病害診断のように迅速性が要求されるものには簡便な同定法が採用され、その後に必要に応じて精

¹ 農業環境技術研究所 (〒305-8604 茨城県つくば市観音台3-1-3) National Institute for Agro-Environmental Sciences, Tsukuba 305-8604, Japan

² 現在: 中央農業総合研究センター (〒305-8666 茨城県つくば市観音台3-1-1) National Agricultural Research Center, Tsukuba 305-8666, Japan

* Corresponding author (E-mail: nisiyama@niaes.affrc.go.jp)

密な同定が実施される。その際は各種植物から分離された細菌をひとまとめにして検査することが多い。しかも、培地の種類が多くなればその作成と結果の観察が煩雑になるので、できるだけ共通に使える方法を採用したい。最近では菌株の入手や保存が従来より容易になったので、対照菌株を加えた試験が容易になってきた。これに加えて各種の細菌に共通に使用できる培地があれば、さらに同定作業の効率化が期待できる。そこで、本試験では、多数の植物病原細菌を用いて、基礎培地の違いが炭素源利用能の試験結果に及ぼす影響を調査し、異なる培地条件の下で得られた結果を比較する際の注意点を解明するとともに、併せて各種の植物病原細菌に共通に使用できる基礎培地を検討した。

実験材料および方法

供試細菌 植物病原細菌のほか一部の非植物病原細菌を加え第 1 表に示す 14 属 63 種 99 菌株を用いた。

供試培地 Ayers らの培地¹⁾, Dye の C 培地³⁾, OY 培地^{3,4)} および peptone 培地⁴⁾, Hugh-Leifson の培地⁵⁾, および本試験のために調製した培地 BMC (basal medium to test carbon utilization) を用いた。組成は以下のとおりである。Ayers らの培地: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.0 g, KCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, 0.5% BTB (bromthymol blue) 水溶液 10 ml, 水 990 ml. C 培地: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.5 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, NaCl 5.0 g, yeast extract 1.0 g, 1.5% BCP (bromcresol purple) エタノール溶液 0.7 ml, 水 1000 ml. OY 培地: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.5 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, NaCl 5.0 g, yeast extract 0.8 g, 0.5% BTB 水溶液 10 ml, 水 990 ml. Hugh-Leifson 培地: peptone 2.0 g, NaCl 5.0 g, K_2HPO_4 0.3 g, 0.5% BTB 水溶液 10 ml, 水 990 ml. Peptone 培地: peptone 10.0 g, 1.5% BCP エタノール溶液 0.7 ml, 水 1000 ml. BMC 培地: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.4 g, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.6 g, KCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, NaCl 5.0 g, yeast extract 0.2 g, 0.5% BTB 水溶液 10 ml, 水 990 ml. BMC2 培地: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.4 g, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.6 g, KCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, NaCl 5.0 g, yeast extract 1.0 g, 0.5% BTB 水溶液 10 ml, 水 990 ml. BMC3 培地: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.4 g, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.6 g, KCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, NaCl 5.0 g, yeast extract 1.0 g, 0.2% CR (cresol red) 水溶液 5 ml, 水 995 ml. なお、試験条件を整えるために培地 1000 ml 当たり炭素源 5 g, 寒天 16 g を加え pH 6.8 に調整した。その後 15×150 mm 試験管に 5 ml ずつ分注して 115°C で 15 分間オートクレーブし半斜面とした。イーストエキ스는 Difco 社の Bacto

yeast extract を用い、ペプトンは日本製薬社のポリペプトンを用いた。供試炭素源はグルコース、スクロース、酒石酸ナトリウム、L-アルギニン塩酸塩の 4 種類とした。また、一部の供試細菌についてはラムノース、マルトース、ラクトース、トレハロース、ラフィノース、グリセリン、エリトリトール、 β -アラニン、グルコン酸ナトリウムの 9 種類についても調査した。各斜面培地への接種は約 10^9 cfu/ml に調製した細菌懸濁液から白金線で画線した。25°C 下で培養し 2, 4, 7, 10 および 14 日後に、pH 指示薬の色調の変化によって基質利用の有無を判定した。追加した 9 種類の炭素源の試験は 35 日間観察した。

また、液体培地による試験も実施した。供試培地は Ayers らの培地あるいは BMC 培地から寒天と pH 指示薬を除いた液体培地で、約 10^7 cfu/ml の細菌懸濁液から 1 白金耳を接種後、25°C 下で静置培養し 3 日後に培地の混濁度を肉眼とカロリメーターとで測定した。さらに、BMC の液体培地 8 ml を入れた L 字管に約 10^6 cfu/ml 細菌懸濁液の 50 μl を接種し、バイオフォトレコーダー (アドバンテック東洋製, TN-2612) に装着して 26°C 下での濁度の経時的变化を 3 日間測定した。

結 果

半斜面培地における 4 種炭素源の利用試験

概要は第 2 表に示すとおりである。グルコース、スクロースを利用した細菌は酸を生成し、酒石酸、アルギニンを利用した細菌はアルカリを生成した。

Ayers らの培地 基礎培地単独では細菌の生育はほとんどみられず、培地の pH が変化するものはなかった。炭素源添加培地では菌株によって酸またはアルカリの生成量が異なり生育菌量にも違いがあった。

C 培地 基礎培地単独において全株で少量の生育がみられ、培地は濃さに程度の差はあるがいずれも紫色 (pH の上昇) を呈した。グルコース、スクロースを利用した菌株では培地が黄色になり、一部の菌株ではその後薄紫色になった。酒石酸、アルギニンを添加した培地は紫色のまま接種前よりも pH の低下を示す菌株はなかった。

OY 培地 基礎培地単独において大多数の株で少量の生育がみられ、生育したものは培地が青緑色 (pH の上昇) を呈した。とくに pH が上昇したものは 7.5-7.6 の色調を示した。炭素源添加培地では菌株によって酸またはアルカリの生成量が異なり生育菌量にも違いがあった。アルカリを生成する場合には、基礎培地に含まれる物質を利用して生成したアルカリと添加炭素源を利用して生成したアルカリとの区別が困難なものがあ

難であった。

Hugh-Leifson 培地 基礎培地単独において大多数の菌株は生育し、培地は濃さに程度の差はあるがいずれも青色 (pH の上昇) を呈した。とくに pH が上昇したものは 7.6 以上の色調を示した。グルコース、スクロースを利用した菌株では培地が黄色 (pH の下降) になり、一部の菌株では一度黄色になったのち緑色あるいはさらに青色になった。酒石酸、アルギニンは基礎培地単独と同程度かまたはそれよりも濃い青色を呈し、接種前よりも pH の低下を示す菌株はなかった。

Peptone 培地 基礎培地単独で 97 株が生育し、培地は濃さに程度の差はあるがいずれも紫色 (pH の上昇) を呈した。グルコース、スクロースを利用した菌株では培地が黄色になり、その後紫色になるものが多数あった。試験番号 52, 53 の 2 株は基礎培地単独には生育しなかったが、グルコース、スクロース添加培地には生育した。酒石酸、アルギニンを添加した培地は紫色のまま接種前より pH が低下するものはなかった。

BMC 培地 基礎培地単独では細菌の明瞭な生育はみられず、培地の pH が変化するものはなかった。炭素源添加培地では菌株によって酸またはアルカリの生成量が異なり生育菌量にも違いがあった。

BMC2 培地 基礎培地単独において全株で少量の生育がみられ、培地はわずかに青緑色を増す (pH の上昇) かまたは接種前と同色調であり、まれにごくわずかに黄緑色を増した (pH の下降)。グルコース、スクロースを利用した菌株では培地が黄色 (pH の下降) になり、一部の菌株ではその後緑色 (pH の上昇) になった。

BMC3 培地 基礎培地単独において全株で少量の生育がみられ、培地は接種前と同じ色調で、まれにごくわずかにピンクがかった色 (pH の上昇) を呈した。酒石酸、アルギニンを利用した菌株では培地が赤紫色 (pH の上昇) になった。

半斜面培地における 9 種炭素源の利用試験

Ayers らの培地を用いて試験すると、ある種の細菌と炭素源との組合せにおいて長期間培養すると陽性になることがある。そこで、遅れて陽性になる可能性のある菌株と炭素源とを用いて、Ayers らの培地、Dye の OY 培地および BMC 培地の 3 者間の反応を比較した。結果の概要は第 3 表に示すとおりである。

陽性の結果が得られるまでの培養日数は OY 培地、BMC、Ayers らの培地の順に短くなった。とくに、Ayers らの培地で 2 週間以内に陽性になる細菌と炭素源との組合せにおいては、他の 2 培地では同等かそれよりも早く陽性

となり逆転することはなかった。また、OY 培地では基礎培地に生育しただけでもかなりの程度アルカリ性となり、アルカリ性となったものを陽性と判定する β -アラニンとグルコン酸の試験では結果の判定が困難なものもあった。

液体培地における生育度の測定

バイオフィットレコーダーによる生育度の測定においては、すべての供試菌株が BMC 液体培地 (BMC 培地から寒天と pH 指示薬を除去) で生育した。しかし、その生育程度には差がみられ、O.D. は 0.02–0.15 の範囲であり、3 日後の培養液の pH は 6.64–6.87 であった。ただし、*Clavibacter* 属細菌 (試験番号 24–30) は 3 日間では生育が不良だったので、3 日および 7 日間培養後に検査した。さらに *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* (試験番号 28) は 20°C でも試験した。一方、0.5% グルコース添加 BMC 液体培地では基礎培地に比べてよく生育し、濁度の推移を見ると 3 日目のそれは上昇中のもの定常状態にあるもの 2 日以内に最高値に達しすでに下降中のものなど様々であった。供試菌株が示した O.D. は 0.12–1.57 の範囲で、これを菌株ごとに比較するとグルコース添加培地で高い値を示した。3 日後の培養液の pH は 6.59–2.87 でいずれの菌株においても基礎培地単独より低下した。

静置培養においては、すべての供試菌株は Ayers らの培地から寒天と pH 指示薬を除いた液体培地では生育しなかった。BMC 液体培地ではバイオフィットレコーダーを用いる振とう培養と同程度に生育するかそれよりも劣った。特に、試験番号 14, 15, 24, 25, 27, 41, 42, 50, 52, 53, 57, 65 の生育が悪かった。

考 察

無機塩のみからなる Ayers らの培地に炭素源としてグルコースを加えた培地において、供試細菌は生育できるものと生育できないものとに分かれた。グルコース添加 Ayers らの培地で生育できない細菌でも他の供試培地では生育しているものが多い。Ayers らの培地と他の供試培地との顕著な違いはイーストエキスの有無であり、その含量を培地 1000 ml 当たりで表すと以下のとおりである。イーストエキスを含有するものは C 培地 (1.0 g)、OY 培地 (0.8 g)、BMC 培地 (0.2 g)、BMC2 培地 (1.0 g)、BMC3 培地 (1.0 g)、ペプトンを含有するものは Hugh-Leifson 培地 (2.0 g)、Dye の peptone 培地 (10.0 g) である。供試細菌がこれらの基礎培地に生育した場合はいずれもアルカリ性になったので、供試細菌がイーストエキスまたはペプトンを利用するとアルカリを生成することが分かる。アルカリ性の程度は菌株によって異

第 1 表 供試細菌

試験番号	菌株番号	菌種	他機関保存番号
1	MAFF 302183 ^T	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	NCPPB 1011
2	MAFF 302168	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	ATCC 19307
3	MAFF 302167 ^T	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	ATCC 29625
4	MAFF 301467	<i>Acidovorax konjaci</i>	
5	MAFF 302163 ^T	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	ATCC 19358
6	MAFF 302164 ^T	<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	ATCC 11325
7	MAFF 302179 ^T	<i>Agrobacterium rubi</i>	ATCC 13335
8	MAFF 302165 ^T	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> bv. 1	ATCC 23308
9	MAFF 302353	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> bv. 2	
10	MAFF 302180 ^T	<i>Arthrobacter ilicis</i>	ATCC 14264
11	MAFF 302244 ^T	<i>Bacillus cereus</i>	JCM 2152
12	MAFF 302212 ^T	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6051
13	MAFF 302247 ^T	<i>Bacillus thuringiensis</i>	ATCC 10792
14	MAFF 302151 ^T	<i>Burkholderia andropogonis</i>	ATCC 23061
15	MAFF 301116	<i>Burkholderia andropogonis</i>	
16	MAFF 311024 ^T	<i>Burkholderia caryophylli</i>	ICMP 512
17	MAFF 301192	<i>Burkholderia caryophylli</i>	
18	MAFF 311023 ^T	<i>Burkholderia cepacia</i>	ICMP 5796
19	MAFF 311021 ^T	<i>Burkholderia gladioli</i>	ICMP 3950
20	MAFF 301065	<i>Burkholderia gladioli</i> pv. <i>gladioli</i>	
21	MAFF 301169 ^T	<i>Burkholderia glumae</i>	
22	MAFF 301723 ^T	<i>Burkholderia plantarii</i>	
23	MAFF 302215 ^T	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	ATCC 15958
24	MAFF 302195 ^T	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>insidiosus</i>	NCPPB 1109
25	MAFF 302187 ^T	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	NCPPB 2979
26	MAFF 301044	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	
27	MAFF 302196 ^T	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i>	NCPPB 2581
28	MAFF 302162 ^T	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	ATCC 33113
29	MAFF 302197 ^T	<i>Clavibacter rathayi</i>	NCPPB 2980
30	MAFF 302182 ^T	<i>Clavibacter tritici</i>	ATCC 11403
31	MAFF 302649 ^T	<i>Curtobacterium citreum</i>	IFO 12677
32	MAFF 302170 ^{PT}	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>oortii</i>	ATCC 25283
33	MAFF 301201	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>oortii</i>	
34	MAFF 302181 ^{PT}	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>poinsettiae</i>	ATCC 9682
35	MAFF 302191 ^T	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	NCPPB 2176
36	MAFF 302177 ^T	<i>Enterobacter nimipressuralis</i>	ATCC 9912
37	MAFF 302184 ^T	<i>Erwinia ananas</i>	NCPPB 1846
38	MAFF 302192 ^T	<i>Erwinia carnegieana</i>	NCPPB 439
39	MAFF 302185 ^T	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>	NCPPB 549
40	MAFF 302159 ^T	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	ATCC 15713
41	MAFF 302160 ^T	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	ATCC 11663
42	MAFF 301660	<i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>chrysanthemi</i>	
43	MAFF 302193 ^{PT}	<i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>paradisiaca</i>	NCPPB 2511
44	MAFF 302205 ^T	<i>Erwinia cypripedii</i>	ICMP 1591
45	MAFF 302186 ^T	<i>Erwinia herbicola</i>	NCPPB 2971
46	MAFF 302189 ^{PT}	<i>Erwinia herbicola</i> pv. <i>milletiae</i>	NCPPB 2519
47	MAFF 302175 ^T	<i>Erwinia mallotivora</i>	ATCC 29573
48	MAFF 302176 ^T	<i>Erwinia nigrifluens</i>	ATCC 13028
49	MAFF 301435	<i>Erwinia nigrifluens</i>	
50	MAFF 302171 ^T	<i>Erwinia quercina</i>	ATCC 29281
51	MAFF 302161 ^T	<i>Erwinia rhapontici</i>	ATCC 29283
52	MAFF 302178 ^T	<i>Erwinia rubrifaciens</i>	ATCC 29291
53	MAFF 302172 ^T	<i>Erwinia salicis</i>	ATCC 15712

第1表 つづき

試験番号	菌株番号	菌種	他機関保存番号
54	MAFF 302211 ^T	<i>Erwinia uredovora</i>	ATCC 19321
55	JCM 1649 ^T	<i>Escherichia coli</i>	
56	MAFF 302206 ^T	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10145
57	MAFF 302188 ^T	<i>Pseudomonas amygdali</i>	NCPPB 2607
58	MAFF 302166 ^T	<i>Pseudomonas asplenii</i>	ATCC 23835
59	MAFF 302173 ^T	<i>Pseudomonas betle</i>	ATCC 19861
60	MAFF 302190 ^T	<i>Pseudomonas caryocarpayae</i>	NCPPB 1873
61	MAFF 302152 ^T	<i>Pseudomonas cichorii</i>	ATCC 10857
62	MAFF 301367	<i>Pseudomonas cichorii</i>	
63	MAFF 302213 ^T	<i>Pseudomonas cissicola</i>	NCPPB 2982
64	MAFF 302158 ^T	<i>Pseudomonas corrugata</i>	ATCC 29736
65	MAFF 302174 ^T	<i>Pseudomonas flectens</i>	ATCC 12775
66	MAFF 302208 ^T	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	JCM 5963
67	MAFF 301177 ^T	<i>Pseudomonas fuscovaginae</i>	
68	MAFF 302237 ^T	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	ATCC 14670
69	MAFF 302153 ^T	<i>Pseudomonas marginalis</i>	ATCC 10844
70	MAFF 301173	<i>Pseudomonas marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>	
71	MAFF 302210 ^T	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	JCM 5968
72	MAFF 302248 ^T	<i>Pseudomonas putida</i>	JCM 3967
73	MAFF 302657 ^T	<i>Pseudomonas (Herbaspirillum) rubrisubalbicans</i>	ATCC 19308
74	MAFF 302207 ^T	<i>Pseudomonas tolaasii</i>	NCPPB 2192
75	MAFF 302156 ^T	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	ATCC 13223
76	MAFF 301342	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	
77	MAFF 302155 ^T	<i>Pseudomonas syringae</i>	ATCC 19310
78	MAFF 301430	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	
79	MAFF 302260 ^{PT}	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	ICMP 2189
80	MAFF 302676	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	
81	MAFF 301072 ^{PT}	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>japonica</i>	
82	MAFF 301319	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	
83	MAFF 301446	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>morsprunorum</i>	
84	MAFF 311004	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	
85	MAFF 302285	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	ATCC 17914
86	MAFF 302214 ^T	<i>Ralstonia (Pseudomonas) picketti</i>	JCM 5969
87	MAFF 302154 ^T	<i>Ralstonia solanacearum</i> bv. 1	ATCC 11696
88	MAFF 311225	<i>Ralstonia solanacearum</i> bv. 3	
89	MAFF 302230 ^T	<i>Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia</i>	JCM 1975
90	MAFF 301151	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	
91	MAFF 311127	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i>	
92	MAFF 301079	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i>	
93	MAFF 302654	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>cucurbitae</i>	
94	MAFF 301462	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>glycines</i>	
95	MAFF 302056	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>incanae</i>	
96	MAFF 301421	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>pruni</i>	
97	MAFF 301256	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	
98	MAFF 301225	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	
99	MAFF 301226	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	

T: Type strain, PT: Pathotype strain.

ATCC: American Type Culture Collection, USA; ICMP: International Collection of Micro-organisms from Plants; IFO: Institute for Fermentation, Osaka (発酵研究所); JCM: Japan Collection of Micro-organisms (理化学研究所微生物系統保存施設); MAFF: Gene Bank of Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan (農林水産省微生物遺伝資源); NCPPB: National Collection of Plant Pathogenic Bacteria.

第2表 基礎培地の違いが炭素源利用試験の結果に及ぼす影響

試験番号	グルコース							スクロース							酒石酸				アルギニン			
	A ^{a)}	C	Y	H	P	B	B2	A	C	Y	H	P	B	B2	A	Y	B	B3	A	Y	B	B3
1	2 ^{b)}	4	4	—	—	2	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10 ^{c)}	—	10
2	2	4	4	—	—	2	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	—	10
3	4	7	4	—	—	4	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	4	2	—	7	—	10
5	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	2	2	2
6	4	2	2	2	2	2	2	14	4	2	4	—	2	2	4	2	2	2	7	2	4	2
7	—	2	2	—	—	2	2	—	2	2	—	—	2	2	—	—	—	—	—	2	2	2
8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	2	2	2
9	4	2	2	4	2	2	2	—	2	4	—	—	4	4	4	2	2	2	7	2	4	2
10	4	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	10	—	—	—	—	7	14	10	2
11	7	2	—	—	2	—	—	10	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	14	10	—	2
12	7	2	4	7	—	2	2	7	2	4	4	—	2	2	—	—	—	—	4	4	2	4
13	—	2	—	—	2	—	—	—	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	10	—	2
14	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	2	2	2
17	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	4	2	2
18	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
19	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2	2	2	2	2
20	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2	2	2	2	2
21	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2
22	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	4	2	2	2	—	—	—	—
23	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
24	—	2	—	—	14	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	—	2	—	—	10	—	—	—	2	7	—	10	14	10	—	—	—	—	—	10	—	—
26	—	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	—	10
27	—	4	—	—	10	—	—	—	4	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28	—	7	—	—	—	—	—	—	4	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	—	4	—	—	7	—	—	—	4	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	—	2	—	—	7	—	—	—	2	10	—	10	14	7	—	—	—	—	—	10	—	—
31	—	2	4	—	2	7	2	—	2	4	—	2	10	4	—	—	—	—	—	10	—	4
32	—	2	2	2	2	2	2	—	2	4	7	2	7	2	—	—	—	—	—	10	—	14
33	—	2	2	2	2	2	2	—	2	4	7	2	7	2	—	—	—	—	—	4	10	7
34	—	2	2	2	2	2	2	—	2	2	4	2	7	2	—	—	—	—	—	4	—	4
35	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	4	2
36	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	4	2
37	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	10	—	14	—	2	4	2
38	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
39	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
40	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
41	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	10	—	10
42	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	7	2	2	2	—	—	—	—
43	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	2	7	4	—	—	—	—
44	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	2	4	2	—	4	4	4
45	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	2	4	2
46	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
47	7	2	2	2	7	2	2	7	2	2	4	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
48	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	14	—	14	—	—	—	—
49	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	4	10	4
50	10	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
51	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	2	2	2	2
52	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
53	4	2	2	2	2	2	2	4	4	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—

第2表 つづき

試験番号	グルコース							スクロース							酒石酸				アルギニン			
	A ^{a)}	C	Y	H	P	B	B2	A	C	Y	H	P	B	B2	A	Y	B	B3	A	Y	B	B3
54	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	7	10	4	—	7	4	4
55	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	4	—	4	7	4
56	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	14	2	2
57	7	4	4	4	—	4	4	7	4	4	2	—	4	4	—	7	—	—	14	4	7	4
58	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2
59	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2
61	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2	2	2	2	2
62	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2	2	2	2	2
63	4	4	2	2	—	4	2	10	4	2	2	—	4	2	—	—	—	—	—	14	—	14
64	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	2	2	2
65	—	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
66	2	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	2	2	2
67	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2
68	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2	—	—	—	—
69	2	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	4	2	2
70	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	2	4	2	2
71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	2	4	2
72	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2
73	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	10	4	—	—	—	—
74	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2
75	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	2	2	2
76	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	2	2	2	2
77	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	7	2	4	4
78	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	14	4	2	2	2
79	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	4	2	2	—	—	—	10	14	7	7	4
80	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	4	2	2	—	—	—	10	10	7	4	4
81	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	4	2	2	2
82	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2
83	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2	4	2	2	2
84	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	7	—	—	7	4	4	4
85	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	—	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2
86	2	2	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2	—	—	—	—
87	2	2	2	—	—	2	2	2	4	2	—	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
88	2	2	2	2	4	2	2	4	4	2	—	—	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—
89	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
90	4	4	2	2	—	2	2	4	4	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
91	10	4	4	4	—	4	2	10	4	2	2	—	4	2	—	—	—	—	—	—	—	—
92	—	10	4	7	—	7	7	—	—	7	7	—	10	4	—	—	—	—	—	—	—	—
93	7	4	2	2	—	2	2	7	4	2	2	—	4	2	—	—	—	—	—	—	—	—
94	4	4	2	2	—	2	2	4	4	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
95	4	4	2	2	—	4	2	4	4	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
96	10	4	2	2	—	4	2	10	4	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	14	—	10
97	4	4	2	2	—	2	2	4	4	2	2	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
98	—	7	7	4	—	7	7	—	7	7	4	—	10	7	—	—	—	—	—	—	—	—
99	—	—	7	4	—	10	7	—	10	7	7	—	10	7	—	—	—	—	—	—	—	—

a) A: Ayers らの培地, C: Dye の C 培地, Y: Dye の OY 培地, H: Hugh-Leifson 培地, P: Dye の peptone 培地, B: BMC 培地, B2: BMC2培地, B3: BMC3培地.

b) 数字は観察日 (2, 4, 7, 10, 14日) のうち初めて陽性と判定された日, ーは14日以内に陽性にならなかった.

c) アンダーラインを付したものは供試炭素源を加えていない基礎培地上での生育と比較すると明らかな変化が認められる. しかし, 14日以内の酸またはアルカリの生成量が少なく弱い陽性であることを示す.

第3表 基礎培地の違いが炭素源利用試験の結果に及ぼす影響, とくに長期間培養下で違いが現れる場合

試験番号	ラムノース			マルトース			ラクトース			トレハロース			ラフィノース			グリセリン			エリトリトール			β-アラニン			グルコン酸			無添加 ^{b)}		
	A ^{a)}	Y	B	A	Y	B	A	Y	B	A	Y	B	A	Y	B	A	Y	B	A	Y	B	A	Y	B	A	Y	B	A	Y	B
1	— ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	35 ^{d)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	35	2	2	—	2	2	—	2	2	—	2	2	—	2	2	—	2	2	—	2	2	—	2	2	—	2	2	—	2	2
8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
9	7	2	2	7	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
14	21	7	7	—	—	—	21	14	17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	2	2	2	—	—	—	21	7	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	2	2	2	—	25	—	25	14	14	7	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
21	—	—	—	—	—	—	10	10	10	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
22	2	2	2	—	—	—	25	7	10	10	4	4	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60	—	—	—	25	25	17	—	—	—	17	10	10	—	10	14	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
65	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
69	21	7	10	—	—	—	—	25	28	2	2	2	—	17	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
75	—	21	25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
79	—	10	21	—	—	—	—	—	—	35	10	10	14	7	7	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
86	—	—	—	17	7	7	21	4	7	—	—	—	—	—	—	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
92	—	—	—	—	—	7	—	—	14	—	7	10	—	—	35	—	17	25	—	—	35	—	—	—	—	—	—	—	—	—
94	—	—	—	7	2	2	10	4	4	4	2	2	2	35	17	14	4	4	4	21	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
97	—	—	—	4	2	2	21	—	25	4	2	2	2	25	17	7	4	4	4	28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

a) A: Ayers らの培地, Y: Dye の OY 培地, B: BMC 培地.

b) 供試炭素源を加えていない基礎培地.

c) 数字は観察日 (2, 4, 7, 10, 14, 17, 21, 25, 28, 35日) のうち初めて陽性と判定された日, 一は35日以内に陽性にならなかった.

d) アンダーラインを付したものは供試炭素源を加えていない基礎培地上での生育と比較すると明らかな変化が認められる. しかし, 35日以内の酸またはアルカリの生成量が少なく弱い陽性であることを示す.

e) k: アルカリ性, •: 細菌を移植する前と比べて変化がない.

なり、OY 培地において高いものでは pH 7.5-7.6 を示し、ペプトンを添加したものではさらに高いものがあった。一方、用いた pH 指示薬の変色範囲をみると、BCP は 5.2-6.8, BTB は 6.0-7.6, CR は 7.2-8.8 である。培地の pH はいずれも 6.8 に調整しているため、BCP が指示薬として使用できるのは添加炭素源から酸が生成される場合に限られる。また、Hugh-Leifson 培地は基礎培地に生育するだけでもかなり高い pH になるため、添加炭素源を利用して生じたアルカリと基礎培地から生じたそれとの区別が困難であった。さらに、一部の菌株ではイーストエキスあるいはペプトンの含量が増えると、それらから生成するアルカリがグルコースやスクロースから生成する酸を中和してしまうこともあった。以上のように栄養源としてあるいは生長素を補う目的で加えるペプトンあるいはイーストエキスの量が多い場合には、基礎培地単独に生育するだけで BCP あるいは BTB の変色域の上限を超えてしまうことがある。したがって、基礎培地単独に生育するだけで十分に pH が上昇する培地では、BTB は供試炭素源から生成するアルカリを検出する指示薬に使用できない。

基礎培地、pH 指示薬の特性および添加炭素源の組合せで結果が得られたものを一覧にすると第 2 表のようになった。基礎培地に含まれる有機性栄養分の量が少ないものから順に並べると、Ayers らの培地 < BMC < OY 培地 < C 培地 = BMC2 = BMC3 < Hugh-Leifson 培地 < Peptone 培地となる。Ayers らの培地および BMC でグルコースを利用する菌株はその他の培地でもグルコースを利用するものが多かったが、ペプトンが添加されている Hugh-Leifson 培地と Peptone 培地ではグルコースを利用しないものもあった。この傾向はスクロースでもみられた。Ayers らの培地と BMC の間で途中の結果が異なる場合は、BMC の方が早く陽性になる傾向があった。この主な原因は BMC に添加されている少量のイーストエキスの効果によると推定した。Ayers らの培地および BMC でグルコースを利用しないかまたは利用しにくい細菌は *Bacillus* 属 (試験番号 11-13), *Clavibacter* 属 (試験番号 24-30) および *Xanthomonas* 属 (試験番号 90-99) で多くみられた。これらの細菌には生育に必須の生長素があるか生育のために多くの栄養分が必要であると推定した。

次に炭素源利用能の試験結果が基礎培地の違いに影響されるのか否かを調べた。*Arthrobacter ilicis* (試験番号 10), *Bacillus* 属 (試験番号 11-13), *Clavibacter* 属細菌 (試験番号 24-30) においては、基礎培地により炭素源利用能が異なった。炭水化物や糖アルコール類の利用試験において Dye⁴⁾ は Peptone 培地を *Erwinia* 属細菌に用い、Yabuuchi

ら¹⁰⁾ は Hugh-Leifson 培地を *Burkholderia* 属細菌に用いている。両属におけるグルコースやスクロースの試験結果は他の基礎培地とほぼ同様であった。しかし、両培地の結果が他の培地のそれと著しく違うことがあるので、両培地は *Acidovorax* 属, *Ralstonia* 属, *Xanthomonas* 属細菌には適さないことが分かった。これ以外の供試細菌では基礎培地の影響は小さかった。しかし、詳しくみると Ayers らの培地で遅れて陽性になるものが多くみられた。栄養分の多い培地でないと生育できない細菌を除けば、C 培地と OY 培地の間ではグルコースやスクロースの結果がよく似ていた。両培地の違いはイーストエキスの含量と pH 指示薬であるため、OY 培地で炭水化物の試験を行っても差し支えないと考えられる。*Pseudomonas* 属細菌 (*Acidovorax*, *Burkholderia* 属等として分離されたものを含む) には生長素要求性がみられないので、これまで Ayers らの培地が用いられてきた。その際、しばしば遅れて陽性になるものがあり、本試験においてもその傾向が認められた。Ayers らの培地と OY 培地あるいは BMC の結果を比較するために、供試細菌のうち遅れて陽性になる可能性のある菌株を選び 9 種類の炭素源について試験したところ、遅れて陽性になるのは 3 培地とも細菌と炭素源との組合せで生じ、Ayers らの培地に特有な現象ではないことが明らかとなった。しかし、Ayers らの培地で陰性あるいは遅れて陽性となり他の 2 培地では 1 週間以内に陽性になる例も多数みられたので、異なる基礎培地を用いて得られた結果が一致しないときは内容をよく吟味しなければならない。異なる基礎培地と観察期間によって得られた結果を比較する場合には、以下のような点に注意する必要がある。1) Ayers らの培地は無機塩だけで構成されているため、生長素を必要とする細菌は利用できる炭素源があっても陰性を示す。2) Ayers らの培地で遅れて陽性になる場合は栄養分が添加されている培地では速やかに陽性になることがある。3) Dye の peptone 培地のように栄養分が増加するとグルコースも利用しない細菌がみられる。また、生成する酸が少量の場合は中和されて陰性の結果となることが想定される。

以上述べたとおり、炭素源利用試験に用いる基礎培地として、細菌が利用すると酸が生成する炭水化物や糖アルコール類のみを試験する場合には、本試験の範囲では C 培地が優れているといえよう。しかし、C 培地は有機酸塩やアミノ酸類のようにアルカリが生成する場合には使用できない。これに代わるものとして OY 培地があるが、基礎培地に生育するだけで pH の上昇がみられ一部の菌株では結果の判定が困難であった。BMC はイーストエキスの

含量が少ないので OY 培地で生じる障害は解消される。すなわち、BMC を用いることにより、炭水化物や糖アルコール類と有機酸塩やアミノ酸類の試験を同じ組成の基礎培地で行うことができる。この場合、BMC は多量の栄養分を必要とする細菌には適さないで、その使用範囲は大多数の細菌で一番利用されやすいグルコースを試験し1週間以内に陽性になるような細菌に限られる。なお、イーストエキ스는他社製品を用いた場合でも0.02%の添加量でよいかどうかは明らかでない。予備試験の結果では多少増減しても試験結果に影響しなかったので、培地の pH が大きく変動しない範囲で添加量を調節すればよいであろう。

多量の栄養分を必要とする細菌に対して、本試験では C 培地が優れていたため、BMC のイーストエキスを C 培地と同量の0.1%に増量 (BMC2) し、さらに pH 指示薬を CR に変えて (BMC3) みた。しかし、*Clavibacter* 属と *Bacillus* 属細菌は BMC2 では陰性、C 培地では陽性になるものが多いので、多量の栄養分を必要とする細菌に用いる基礎培地はさらに検討する必要がある。また、*Ac. konjaci* (試験番号4) と *P. pseudoalcaligenes* (試験番号71) は斜面培地で酒石酸またはアルギニンを利用しグルコースを利用しなかった。ところが、バイオフィットレコーダーでは両菌株ともグルコース添加培地で生育し、生育量は酒石酸やアルギニンよりも多かった。寒天と振とうの有無のような培養条件の違いがあるもののこの原因は明らかでない。

摘 要

一部非植物病原細菌を含む14属63種99菌株を用いてグルコース、スクロース、酒石酸ナトリウムおよび L-アルギニンの利用試験を8種類の基礎培地で行った。さらに9種類の炭素源を追加試験し、Dye の OY 培地は炭水化物や糖アルコールの試験にも使えることおよび本試験で考案した BMC 培地は炭水化物、糖アルコール、有機酸、アミノ酸の試験に共通に使えることを見出した。BMC の組成は $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.4 g, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.6 g, KCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, NaCl 5.0 g, yeast extract 0.2 g, 0.5% bromthymol blue [BTB] 水溶液 10 ml, 水 990 ml, 寒天 16 g, pH 6.8 である。この培地は0.5%グルコース添加 BMC で1週間以内に陽性になるような細菌に限って使用

できる。これより多くの栄養分を必要とする細菌、例えば *Clavibacter* 属などに用いる培地はさらに検討が必要である。また、異なる基礎培地で得られた結果を比較する場合には、栄養分の含量と培養期間に注意を払う必要がある。とくに、栄養分の不足あるいは過多によって見かけ上陰性の結果がもたらされる場合のあることに留意する必要がある。

引用文献

1. Ayers, S.H., Rapp, P. and Jhonson, W.T. (1919). A study of the alkali-forming bacteria found in milk. Bull. U.S. Dep. Agric. No. 762: 1-38.
2. Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. (1974). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., pp. 1-1268, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland.
3. Dye, D.W. (1962). The inadequacy of the usual determinative tests for the identification of *Xanthomonas* spp. N.Z.J. Sci. 5: 393-416.
4. Dye, D.W. (1968). A taxonomic study of the genus *Erwinia* I. The "*amylovora*" group. N.Z.J. Sci. 11: 590-607.
5. Hugh, R. and Leifson, E. (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria. J. Bacteriol. 66: 24-26.
6. Krieg, N.R. and Holt, J.G. (1984). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1. pp. 1-964, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
7. Sands D.C., Schroth, M.N. and Hildebrand, D.C. (1980). *Pseudomonas*. In Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Schaad, N.W. ed.). pp. 36-44, APS Press, St. Paul, Minn.
8. Skerman, V.B.D. (1969). Abstracts of Microbiological Methods. pp. 1-883, Wiley-Interscience, New York.
9. Stanier, R.Y., Palleroni, N.J. and Doudoroff, M. (1966). The aerobic pseudomonads: A taxonomic study. J. Microbiol. 43: 159-271.
10. Yabuuchi, E., Kosako, Y., Oyaizu, H., Yano, I., Hotta, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T. and Arakawa, M. (1992). Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. Microbiol. Immunol. 36: 1251-1275.