2,4-D の病原菌の發育に及ぼす影響について

富 田 孝 三

(宇都宮大學農學部畜産學科細菌學教室)

(昭和 29 年 6 月 21 日受付)

I. 緒 言

2,4-D 即ち Dichlorophenoxyacetic acid は植物の成長を支配する一種の植物ホルモンで、選擇的に作用してその成長に影響を及ぼすことはよく知られている。2,4-D の作用機序は今尚推測の範圍を出ないが、HSUCH 及び LOU⁽¹⁾ によれば、植物の呼吸作用と何等かの關係あることが指摘されている。現在 2,4-D は除草劑として用いられ、高等植物の細胞の機能を破壊して死滅させるが、極めて微量を用いれば、却つて局部的に組織細胞の分裂を促進する事實が知られている。STEVENSON, MITCHELL,⁽²⁾ LEWIS, HAMNER,⁽³⁾ DUBOS⁽⁴⁾ は 2,4-D は細菌の發育を阻止し、或は之を死滅させる性質を有することを示した。

著者は主として家畜傳染病の病原菌に對する 2,4-D の選擇的發育抑制及び促進の兩作用を試験する目的で實驗を行い、次の様な成績を得たので報告する。

II. 實 驗 材 料

1) 培養基に用いた材料

2,4-D のナトリウム鹽 (石原産業), 粘稠魚肉エキス (ミクニ), 照内ペプトン, 寒天 (角), 食鹽 (局方) を用いた。

2) 供試菌株と其由來

實驗に供した菌株は次の 25 株である。

<i>Bac. anthracis</i> I, II	(家畜衛試),	<i>Bac. bronchisepticus</i> 81 系	(同 左)
<i>Bac. coli communis</i>	(縣衛試),	<i>P. suis</i> <i>septica</i>	(家畜衛試)
<i>S. paratyphi</i> A, B	(同 上),	<i>P. avicida</i>	(同 上)
<i>S. typhi murium</i>	(家畜衛試),	<i>Str. equi</i> G 型	(同 上)
<i>S. paratyphi suis</i> 榊原	(同 上),	<i>Str. pyogenes</i>	(同 上)
<i>S. cholerae suis</i>	(同 上),	<i>Bac. erysipelatus suis</i> S. T. S.	(同 上)
<i>S. enteritidis</i> Gärtner	(同 上),	<i>Sta. aureus</i>	(宇 大)
<i>S. abortus equina</i>	(同 上),	<i>Micro. tetragenus</i>	(宇 大)
<i>S. pullorum</i> 中村	(同 上),	<i>Br. abortus</i> Bang 125	(同 左)
<i>S. pullorum</i> 川村	(同 上),	<i>Br. melitensis</i> 4.	(同 左)
<i>S. gallinarum</i> 秋田 II	(同 上),	<i>Br. suis</i> 2	(同 左)
<i>E. typhi</i>	(縣衛試)		

III. 実験方法

2,4-D を (A) 0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%, 1.0%, 3.0%, 3.2%, 3.5%, 3.7%, 4.0%, (B) $5 \times 10^{-2}\%$, $5 \times 10^{-3}\%$, $5 \times 10^{-4}\%$, $5 \times 10^{-5}\%$, $5 \times 10^{-6}\%$, $5 \times 10^{-7}\%$ の割合に含む斜面寒天培地及びブイヨンに、前記各菌株の斜面寒天 24 時間培養 (Brucella は 48 時間) 1 Öse を滅菌生理食鹽水 1.0 cc に浮遊せしめたもの 1 Öse 宛を移植し、37°C に培養、24 時間、48 時間、72 時間、96 時間後に夫々その發育程度を比較觀察した。但し菌によつては、培地に山羊血清を 2% 加えて實驗した。菌の發育程度はブイヨンでは濁度により、寒天培地ではコロニーの大きさ、厚さ、光澤等により推定した。發育しないものに就てはブイヨンに後培養して、48 時間後に發育の有無を觀察した。

次に 2,4-D のナトリウム鹽は白色粉末で、2,4-D 酸を 80% の割合に含む故、之を用いて種々の濃度の溶液を作るため、計算によつて 2,4-D の g 數を算出した。

IV. 実験成績

Table 1 に於て、寒天培地では、*Bac. anthracis* I, *Bac. anthracis* II は 0.3%, *S. pullorum* は 0.5% 以上の濃度で發育を停止する。*S. gallinarum*, *E. typhi* は 1.0%, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B は 1.2% 以上で、*Bac. coli* は 3.0%, *Sta. aureus*, *Micro. tetragenus* は 3.5% 以上の濃度で發育を阻止される。*Bac. anthracis* I は 0.9% まで、*Bac. anthracis* II は 4% まで外觀上發育しないように見えるが後培養の結果、發育することを認めた。而して *Bac. anthracis* I は 1.0% 以上では全く發育しなかつた。*Bac. anthracis* II は後培養により發育する場合も、2,4-D の濃度が増すに従い、コロニー數と其直徑は減少した。

Table 2 では、*P. suis* septica, *P. aviseptica*, *Str. equi*, は 3.7%, *Str. pyogenes*, *Br. suis* は 3.5%, *Br. abortus* Bang は 2.5%, *Br. melitensis* は 2.2%, *Bac. erysipelatus* はまで發育することを認めた。次にブイヨンを用いた場合は、概して寒天培地の場合と同様な成績を得たが、寒天培地に比較して、2,4-D の効果が稍勝ることを認めた。

Table 3 では、寒天培地を用いた場合、*Sta. aureus* を除けば、何れも $5 \times 10^{-2}\%$ ~ $5 \times 10^{-7}\%$ の濃度で發育を促進され、對照に比較して良好な發育を示した。次に Table 4 では、血清加培地によく發育する菌株は、2,4-D 加血清寒天培地に於て、 $5 \times 10^{-2}\%$ ~ $5 \times 10^{-7}\%$ の範囲内で、血清を加えた對照より發育が良好であつた。又 2,4-D 加無血清培地では、對照である無血清培地より發育よく、血清を加えた對照と同等の發育を示すか、又は甚しい遜色を認めなかつた。

Table 3, Table 4 に於て、ブイヨンを用いた場合は、概して寒天培地の場合と大差なく何れも $5 \times 10^{-2}\%$ ~ $5 \times 10^{-7}\%$ の濃度で發育を促進され、對照より發育良好であつた。

V. 考察並に結論

Bac. anthracis, *S. pullorum* の 2,4-D に對する發育限度は低く、比較的低濃度で其發育を停止するか又は死滅し、*Pasteurella*, *Str. equi*, *Str. pyogenes*, *Sta. aureus*, *Micro. tetragenus*, *Brucella* は、2,4-D に抵抗して高濃度に於て發育する點から考えると、好氣性菌は、2,4-D の影響を強く受けるが、其發育には多少嫌氣的條件を必要とする菌はあまり影響を受けないように思われる。然し發育の停止は必ずしも菌の死滅を意味しない。例えば、*Bac. anthracis* は發育を阻止されても死滅しない。ブイヨンを用いた方が、寒天培地より 2,4-D の効果が勝るのは、2,4-D がブイヨンに溶解して平等に瀰蔓し、菌體の全表面に接觸して充分にその作用を發揮するためであらう。

2,4-D の極めて微量を用いた場合、菌の發育を促進するのは、大根、トマト等の高等植物の局所組織細胞を刺戟してその分裂を促進する場合と同様で、廣く菌細胞を刺戟する結果、分裂を促進するものと考えられる。

以上實驗の成績を總括すると次の通りである。

- 1) 2,4-D は選擇的に作用し、高濃度では菌の發育を抑制し、低濃度では促進する。
- 2) 2,4-D は好氣性菌の發育に強い影響を及ぼし、比較的低濃度で之を阻止するが、通性嫌氣性菌、微好氣性菌は 2,4-D に抵抗して高濃度に於ても發育する。
- 3) 2,4-D は、m.p.=138°C で耐熱性である故、血清の様に面倒な無菌的操作を必要とせず、培養基添加劑として利用出来る。
- 4) 2,4-D に對する菌の抵抗性は菌株により夫々異なる。

終りに臨み、御懇篤なる御指導と本稿の御校閲を賜りたる恩師東大教授越智博士、菌株を御分譲下された小林農林省家畜衛生試験場長並に種々御援助賜りたる本學竹松講師に深甚なる謝意を表する。

文 献

- (1) HSUCH, V. L. and LOU, C. H.: *Science*, **105**, 283 (1947).
- (2) STEVENSON, E. C., and MITCHELL JOHN W.: *Science*, **101**, 642 (1945).
- (3) LEWIS, R. W., and HAMNER, C. L.: *Mich. Agric. Exp. Sta. Quart. Bull.*, **29**, 112 (1946).
- (4) DUBOS, R. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **63**, 317. (1946).
- (5) CARLYLE, R. E., and THORPE, J. D.: *Jour. Amer. Soc. Agron.*, **39**, 929 (1947).
- (6) FUELS, J. L., and PAYNE, M. G. *Amer. Jour. Bot.*, **34**, 245 (1947).
- (7) WORTH, W. A. MC CABE and ANNE, M.: *Science*, **108**, 16 (1948).

EXPLANATION OF PLATE

Fig. 1. The growth of *S. pullorum* (Kawamura), *S. pullorum* (Nakamura) and

S. paratyphi suis (Sakakibara) cultured on 2.4-D agar at 37°C for 24 hours. The percentages of 2.4-D in the medium are as follows:

0.1,	0.3,	0.5,	K.	0.1,	0.3,	0.5,	K.	0.1,	0.3,	0.7,	0.9,	1.0,	K.
<i>S. pullorum</i> (Kawamura)				<i>S. pullorum</i> (Nakamura)				<i>S. paratyphi suis</i> (Sakakibara)					

Fig. 2. The growth of *Br. suis* 2 cultured on serum, and nonserum, 2.4-D agar at 37°C for 24 hours. The percentages of 2.4-D in the medium are as follows:

0.05,	0.005,	0.00005,	0.000005,	Ks	0.05,	0.005,	0.00005,	0.000005,	K
<i>Br. suis</i> 2 serum					<i>Br. suis</i> 2 non-serum				

Fig. 3. The growth of *Bac. bronchisepticus* 81, *E. typhi*, *S. paratyphi* B and *Micrococcus tetragenus* cultured on 2.4-D bouillon at 37°C for 24 hours. The percentages of 2.4-D in the medium are as follows:

0.05,	0.0005,	0.000005,	K	0.05,	0.0005,	0.000005,	K	0.05,	0.0005,	0.000005,	K	0.05,	0.000005,	K
<i>Bac. bronchi-septus</i> 81.				<i>E. typhi</i>				<i>S. paratyphi</i> B.				<i>Micro. tetragenes</i>		

Table 1. 2.4-D 加ブイヨン並に寒天培地（高濃度）に於ける病原菌の發育

菌 株 名	培 養 時 間	對 照	培 地 中 の 2.4-D の %											
			0.1		0.3		0.5		0.7		0.9		1.0	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>Bac. anthracis</i> I	24	4	4	0	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0	0	0	0
		4	4	0(1)	1	0*	0*	0*	0*	0*	0	0	0	0
<i>Bac. anthracis</i> II	24	4	4	0	0(1)	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*
		4	4	0(1)	1	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*
<i>S. paratyphi</i> A.	24	4	4	4	4	2	4	2	3	1	2	0	0(1)	0
		4	4	4	4	2	4	2	3	2	2	0	0(1)	0
<i>S. pullorum</i> 中村	24	4	4	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		4	4	1	2	0(1)	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. gallinarum</i> 秋田 II	24	4	4	4	4	3	3	3	2	2	1	0(1)	0	0
		4	4	4	4	3	3	3	2	3	1	0(1)	0	0
<i>Sta. aureus</i>	24	4	4	3	3	1	0(1)	1	0(1)	0(1)	0	0(1)	0	0
		4	4	4	4	1	0(1)	1	0(1)	1	0(1)	0(1)	0(1)	0

備考 0: -, 0(1): ±, 1: +, 2: ++, 3: +++, 4: 卍, 5: 卐, 6: 卍卍, *: 外觀上 (-)

なるも後培養の結果 (+) なりしもの a: 寒天培地, b: ブイヨン, 菌株: 上記のものは省略した。

Table 2. 2.4-D 加血清ブイヨン並に寒天培地 (高濃度) に於ける病原菌の發育

菌 株 名	培 養 時 間	對 照	血 清 加 培 地 中 の 2.4-D の %											
			0.1		0.3		0.5		0.7		0.9		1.2	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>P. suis</i> septica	24	4	4	4	4	3	2	3	2	2	0(1)	0(1)	0(1)	0(1)
	48	4	4	4	4	3	4	3	4	3	1	2	0(1)	2
<i>Bac. erysip-</i> <i>latus suis</i> STS	24	4	4	4	4	3	0(1)	3	0(1)	2	0(1)	0(1)	0	0(1)
	48	4	4	4	4	3	0(1)	3	0(1)	3	0(1)	0(1)	0	0(1)
<i>Sta. equi</i> G. Type	24	4	4	4	4	3	2	3	2	2	1	0(1)	0(1)	0(1)
	48	4	4	4	4	3	3	3	2	2	1	0(1)	1	0(1)
<i>Br. abortus</i> Bang 125	24	4	4	4	4	3	4	3	3	2	2	1	1	0(1)
	48	4	4	4	4	3	4	3	3	2	3	1	2	0(1)
<i>Br. suis</i> 2	24	4	4	5	5	4	4	3	3	2	3	1	1	0(1)
	48	4	4	5	5	5	4	4	4	5	3	3	2	1

備考 0: 一, 0(1): 土, 1: 十, 2: 廿, 3: 卅, 4: 卅, 5: 卅, 6: 卅, 卅,

血清: 山羊血清を 2% の割に加へる.

a: 寒天培地, b: ブイヨン, 菌株: 上記のもの以外は省略した.

Table 3. 2.4-D 加ブイヨン並に寒天培地 (低濃度) に於ける病原菌の發育

菌 株 名	培時 養間	對 照		培 地 中 の 2,4-D の %											
				5×10 ⁻⁷		5×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴		5×10 ⁻⁵		5×10 ⁻⁶		5×10 ⁻⁷	
				a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>Bac. anthracis</i> I	24	4	4	1	3	5	3	5	4	4	4	4	4	4	4
	48	4	4	3	3	5	3	5	4	4	4	4	4	4	4
<i>S. pullorum</i> 中村	24	4	4	1	4	4	4	5	4	5	4	5	5	5	5
	48	4	4	2	4	4	4	5	4	5	5	5	5	5	5
<i>Senteritidis</i> Gärtner	24	4	4	4	3	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5
	48	4	4	4	3	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5

備考 0: 一, 0(1) ±, 1: +, 2: 卅, 3: 卅, 4: 卅, 5: 卅, 6: 卅卅
 a: 寒天培地, b: ブイヨン, 菌株: 上記のもの以外は省略した

Table 4. 2.4-D 加血清ブイヨン並に寒天培地 (低濃度) に於ける病原菌の發育

菌 株 名	培 養 時 間	對 照 K _s	血 清 加 培 地 中 の 2.4-D の %													
			5×10 ⁻²		5×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴		5×10 ⁻⁵		5×10 ⁻⁶		5×10 ⁻⁷		5×10 ⁻⁸	
			血清加		血清加		血清加		血清加		血清加		血清加		血清加	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>P. avicida</i>	24	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	48	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
<i>Bac. erysipelatus suis</i> STS	24	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	48	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
<i>Br. abortus</i> Bang 125	24	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	48	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

備考 0: 一, 0(1): ±, 1: +, 2: 卅, 3: 卅, 4: 卅, 5: 卅, 6: 卅卅
 血清: 山羊血清を2%の割に加へる.
 a: 寒天培地, b: ブイヨン, 菌株: 上記のもの以外は省略した.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

THE INFLUENCE OF 2,4-D ON THE GROWTH OF PATHOGENIC BACTERIA

KOZO TOMITA

(From the Laboratory of Bacteriology, Division of Animal Husbandry,
Faculty of Agriculture, Utsunomiya University)

(Received for Publication June 21, 1954)

Dichlorophenoxyacetic acid, or 2,4-D, is utilized as a weedkiller, killing higher plants by destroying the cell function. It is recognized, however, that 2,4-D accelerates rather a partial cell division if it is used in a small quantity. Hitherto, what influence 2,4-D will exert on various pathogenic bacteria, or lower plants, has scarcely been studied.

The author studied chiefly the effect on the bacteria causing animal infectious diseases, and obtained the following results :

1. In high percentages, 2,4-D controls the growth of bacteria, but, on the contrary, accelerates it in low percentages.
2. In comparatively low percentages, 2,4-D arrests the growth of aerobic bacteria; but facultative anaerobic, and microaerophilic bacteria are resistant, and grow in high percentages.
3. As 2,4-D is thermostabile and melts at 138°C, it may be added to culture media as a growth accessory substance without using any complicated aseptic technique as in the case of adding serum.
4. Pasteurella group organisms, Streptococcus, Staphylococcus, Micrococcus, Brucella group organisms grow in high percentages (from 2.0% to 3.5%), *Bac. erysipelatus suis*, Escherichia group organisms, and Salmonella group organisms grow in medium percentages. Escherichia group organisms show, generally stronger resistance to 2,4-D than Salmonella group organisms. Among Salmonella group organisms, *S. typhi murium* is the strongest, and *Bac. pullorum*, especially, is the least resistant (no growth at 0.7%), but *Bac. gallinarum* more resistant (growth at 1.2%).

5. Contrary to expectation, *Bac. anthracis* seem to be arrested its growth in 0.4%, and the development stopped in appearance, but it is not dead. If it is inoculated into a new medium, it grows again.
6. Some species of bacteria which grow abundantly in serum media show an abundant growth in non-serum, 2,4-D media, and their growth in the latter media is equal to, or not so inferior to, that in the former media.
7. Each pathogenic organism used for this experiment has a different resistance to 2,4-D.