

豆科植物の根瘤菌に就いて (第三報)

根瘤菌に依る炭水化物の醗酵特に炭素源と窒素源との關係

農學博士 板野新夫

松浦章

緒言

根瘤菌に依る、炭水化物の醗酵に關する研究業績は多く存在してゐる。(1) Fred 氏は千九百十一年に蔗糖、マルトース、マンニトールにて、含窒素培養基と無窒素培養基を作りて、根瘤菌を培養したるに少量の酸を生じた。然し、アルファアルファ菌の四種と、クロバー菌の二種を比較するに、酸發生上明かなる差異を認めることが出来なかつたと稱してゐる。尙同氏は該培養基に一ヶ月間培養をなし、生じたる酸の量を檢定したるに培養液百匁に對し十分の一規定酸〇・二一四、五匁に相當した。酸度は培養液により大差があつて、含窒素培養基が最も優れて居る。(2) Nield 氏は葡萄糖並に乳糖を用ひ、酸の成生することを報告した。(3) Fred, Davenport 兩氏は無窒素蔗糖培養液にアルファアルファ、クロバー、豌豆、菽豆、大豆、フヂマメ、ルービン屬の二十五種の根瘤菌を培養したるに PH 〇・四以上増加した。(4) Bialosuknia, Klotz 兩氏並に(5) Bialosuknia 氏單獨に根瘤菌の成生する酸度は菌種によりて大差があるので、この特異性を利用し

て、根瘤菌を分類し得られるものであることを報告した。(6) Wright 氏は大豆の根瘤菌は酸度を増加せず、多くの場合水素イオン濃度も滴定酸度も減少する物であることを發表した。(7) Stevens 氏はアルファアルファ菌を *Pepton-Sucrose* 培養液に培養したるに滴定酸度及び水素イオン濃度は増加したが、各菌株により酸の成生能力は大に異つて居た。尙(8) 同氏は更にアルファアルファ、クロバー、豌豆、菽豆、フヂマメ、大豆等三十種の菌を用ひ *Litmus*, *Brom-cresol purple* 並に *Janus green milk* にて試験したるに、アルファアルファ菌は *Litmus milk* にて酸性反應を呈したが、他の培養液中にては反應上に變化なきか、或は却つてアルカリ性反應を呈したるが故に斯の如き研究の目的には *Litmus milk* が適するものであると稱して居る。(9) Baldwin, Fred 兩氏は六十菌株の根瘤菌と *Radiolacter* を含窒素培養基と無窒素培養基に培養を行つて研究したるに、含窒素培養基中の酸醱酵は顯著であつたので、この特性により酸を生ずる物と然らざる物に分類したるに形態學的に鞭毛により分類したるものとよく一致した。尙從來困難とされて居た根瘤菌と *Radiolacter* の識別も亦容易に糊精上の反應により行ひ得ることを發表したのである。(10) Anderson, Peterson, Fred 三氏等はアルファアルファより分離したる二種類の根瘤菌をキシロース、葡萄糖、蔗糖、乳糖、マンニトールに作用して、*Pyruvic acid* を生じ、蔗糖は全量の五、五%、乳糖は全量の七、三%が醱酵により變化をなしたる事を報告した。(11) Schönberg 氏は十八種の根瘤菌と *Radiolacter* を液體培養と固體培養を行ひ、炭水化物としてキシロース、葡萄糖、ガラクトース、蔗糖、糊精等を使用し、既に發表したる(9) Baldwin 氏等の說に反對をなし、各根瘤菌は炭水化物醱酵に對し一定した特性なく、従つてこの性質を利用して、根瘤菌を分類することは不可能であることを提唱した。尙同氏は高壓殺菌による時は炭水化物が分解作用を起し易きが故に、斯の如き研究に於て精密を要する場合は爐過殺菌法によるべき

であることを推稱した。

本邦に於ては⁽¹²⁾大河原四郎、大野數雄兩氏は種々の炭水化物を用ひ、紫雲英の根瘤菌の繁殖數を測定し、其の結果ベントース中に於てはキシロース、ヘキソース中に於てはマンノース、複糖類中に於いてはマルトース、多糖類中に於いてはラフィノースが繁殖に適當し、全體を通じて最も適當なる物はラフィノースで、最も不適當なる物はアラビノース、次は乳糖であることを報告した。⁽¹³⁾右田正男、友田政慎兩氏は紫雲英の根瘤菌により發生する有機酸は、不揮發酸としてオルソフタル酸、揮發酸として醋酸であつて、蟻酸は存在せざることを顯微鏡化學的に實證したのである。

以上諸研究を總覽するに根瘤菌に依る炭水化物の醱酵は菌の生理學的性質を知る上に緊要なるものであつて、其の主なる研究項目は(一)酸醱酵の成否(二)酸酵と炭素給源との關係(三)酸酵と窒素給源との關係(四)酸酵を菌種の特異性として認定の是否(五)酸醱酵に依る根瘤菌分類の適否(六)酸酵生産物の如何等であつて、尙完成の域に達せず研究を要するものが澤山あるのである。

余等は茲に紫雲英の根瘤菌を使用して、之等に關し、特に炭素源、窒素源と酸醱酵との關係につきて、研究を試みたのである。

實 驗 之 部

菌株の系統、本研究に使用したる根瘤菌は、當研究所圃場に生産したる紫雲英の根瘤より分離したるものであつて、その純度を、豫め馬鈴薯及び牛乳培養上にて檢定したるに何れも着色せず、後者に於いては僅かに表面に乳清を生じた

るのみである。更に根瘤形成の能力につき反復實驗を試み、確證を得たる、A、B、Cの三種を選択したのである。菌は三種とも大同小異にして、酵母水加用マンニツト上に培養したるものは微細なる短桿狀型にて極鞭毛を有す。グラム染色に於いて容易に脱色し得たのである。

培養基 培養基は (9) Batavia 氏等の使用したるものであつて、其の組成は次の通りであつた。

二鹽基性燐酸加里 〇、五_g 硫酸苦土 〇、二_g

鹽化曹達 〇、一_g 炭酸石灰 三、〇_g

寒 天 一五、〇_g 炭素有機化合物 一〇、〇_g

蒸溜水 一〇〇〇、〇_g

Bromthymol blue (0.4 alcoholic solution) 一、〇_g 蛭

炭素有機化合物、本研究に使用したるものはマンニトール以外は炭水化合物であつて次の通りである。

一、ペントース アラビノース、キシロース

二、ヘキソース 果糖、葡萄糖、ガラクトース、マンノース

三、複糖類 蔗糖、乳糖、麦芽糖

四、三糖類 ラフィノース

五、多糖類 糊精

六、多價アルコール、マンニトール

葎科植物の根瘤菌に就いて(第三報)

窒素給源態 硝酸態として硝酸加里、硝酸曹達、アムモニヤ態として硫酸アムモニヤ、鹽化アムモニヤ、有機態としてペプトン等を使用した。その量は培養液一立に對して、ペプトンは一瓦他は硝酸加里〇、五瓦の窒素相當量即含窒量〇、〇六九二瓦の計算量を添加したのである。

實驗方法及び成績

一、固體培養法

前記の培養基に種々の炭水化物及びマンニトールと種々窒素給源態とにより組合せ、それに標準を加へて、七十八種類を作つて、各十坵宛試験管に入れて十封度にて十五分間殺菌を行ひ、豫め三日間培養をなして、準備し於きたる紫雲英の根瘤菌を接種し、二十八度の恒溫箱中にて斜面培養を行ふ、其後適時取り出して菌の生育狀態並PHの變化を比色法によつて、接種せずに保存したる物を對照に比較測定を行つた。其の結果を示すと次の通である。

(一)紫雲英根瘤菌Aによる實驗成績

第一表 無窒素培養基

培養日數 炭素化合物	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
糖	—	—	+	+	2	+	—	—	—	—
アラビノース	+	+	++	++	6	++	++	++	++	8

キシロース	+	+	+	+	10	+	+	+	+	5
果糖	+	+	+	+	10	+	+	+	+	0
葡萄糖	+	+	+	+	11	+	+	+	+	5
ガラクトース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	6
マンノース	+	+	+	+	9	+	+	+	+	9
蔗糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	3
乳糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	3
麥芽糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	4
ラフィノース	+	+	+	+	4	+	+	+	+	5
糊精	+	+	+	+	5	+	+	+	+	10
マンニトール	+	+	+	+	9	+	+	+	+	6
計	15	19	21	27	83	3	7	11	13	34

備考 生育程度は(+)の數に比例して(+)は生育を認めず。
PHの變化は(+)の數にて酸性側(—)の數にて鹼基性側の程度を示す。
數字は(+)の合計を示す。

本表に於いて、生育の最良なるものは葡萄糖で、次がキシロース、果糖、マンノース、マンニトールの順で、最も悪しきは標準區にて、次は蔗糖、乳糖、ラフィノース等であつた。次にPHを見るに標準區とラフィノース、糊精は鹽基性傾向を示し、果糖は變化せず、他は總て酸性傾向を示し、最も變化の甚だしきはマンノースで次がアラビノースであつた。生育の最良であつた葡萄糖のPHの變化は比較的に少である。

第二表 硝酸加里加用培養基

培養日數 炭素化合物	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
標 准	—	+	+	+	3	±	±	—	—	—3
アラビノース	+	+	+	+	8	+	±	±	±	10
キシロース	+	+	±	±	9	±	+	±	±	6
果 糖	+	+	±	±	9	+	±	±	±	7
葡 萄 糖	+	+	±	±	10	±	±	±	±	9
ガラクトース	+	+	±	±	6	±	+	±	±	5
マノノース	+	+	±	±	8	±	±	±	±	10
蔗 糖	+	+	±	±	8	±	±	±	±	8
乳 糖	+	+	+	+	5	±	+	+	±	4
麥 芽 糖	+	+	+	+	4	±	+	±	±	5
アラビノース	+	+	+	+	4	±	—	—	—	6
葡 萄 糖	+	+	+	±	5	±	—	—	—	4
マノニール	+	+	±	±	7	±	+	±	±	5
計	16	20	23	27	86	8	14	17	17	56

備考 第一表参照

本表に於いて、生育の最良なるものは、葡萄糖であつてキシロース、果糖がこれに次ぎ、最悪なるものは標準區を除

きては、麦芽糖とラフィノースであつた。PHの變化はアラビノース、マンノースが最も甚だしくあつて、標準區とラフィノース、糊精は鹽基性反應を示した。

第三表 硝酸曹達加用培養基

炭素化合物	培養日數				PHの變化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21
標準	+	+	+	+	3	+	+	+	+
アラビノース	+	+	+	+	4	+	+	+	+
キシロース	+	+	+	+	4	+	+	+	+
果糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+
糊精	+	+	+	+	4	+	+	+	+
ガラクトース	+	+	+	+	10	+	+	+	+
マンノース	+	+	+	+	7	+	+	+	+
蔗糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+
乳糖	+	+	+	+	9	+	+	+	+
麥芽糖	+	+	+	+	5	+	+	+	+
ラフィノース	+	+	+	+	4	+	+	+	+
糊精	+	+	+	+	4	+	+	+	+
マンニトール	+	+	+	+	4	+	+	+	+
計	14	15	16	19	64	2	10	14	19

備考 第一表参照

草料植物の根瘤菌に就いて(第三報)

本表に於いて、生育の最良なるものは葡萄糖であつて、次が蔗糖で他はあまり大差がない。PHの變化は酸性側に於いて、マンノース、蔗糖が最も甚だしく、鹽基性側のラフィノースと糊精とは殆んど同程度であつた。

第四表 硫酸アムモニア加用培養基

炭素化合物	培養日數					PH の 變 化				
	生	育	程	度	計	3	7	14	21	計
標準	+	+	+	+	4	+	+	—	—	3
アラビノース	+	+	+	+	4	+	+	+	+	11
キシロース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	10
果糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	12
葡萄糖	+	+	+	+	10	+	+	+	+	13
ガラクトース	+	+	+	+	8	+	+	+	+	13
マンノース	+	+	+	+	9	+	+	+	+	12
蔗糖	+	+	+	+	9	+	+	+	+	13
乳糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
麥芽糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	3
ラフィノース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	1
糊精	+	+	+	+	4	+	+	+	+	0
アミノール	+	+	+	+	6	+	+	+	+	11
計	17	19	22	25	83	18	24	25	31	98

本表によると、最も生育に適するものは葡萄糖で、次はマンノース、蔗糖である。PHは酸性側に於いて、葡萄糖、ガラクトース、マンノースが最も変化が大であつて、鹽基性側に變化したる炭素化合物はラフィノースのみであつた。

第五表 鹽化アムモニヤ加用培養基

炭素化合物	培養日数				PHの變化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21
標準	+	+	+	+	3	+	+	+	+
アラビノース	+	+	+	+	6	+	+	+	+
キシロース	+	+	+	+	8	+	+	+	+
果糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+
葡萄糖	+	+	+	+	0	+	+	+	+
ガラクトース	+	+	+	+	7	+	+	+	+
マンノース	+	+	+	+	6	+	+	+	+
蔗糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+
乳糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+
麦芽糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+
ラフィノース	+	+	+	+	4	+	+	+	+
糊精	+	+	+	+	4	+	+	+	+
デンプン	+	+	+	+	9	+	+	+	+
計	16	18	20	22	76	18	19	25	25
									87

備考 第一表参照

原料植物の根瘤菌に就いて(第三種)

本表に於いて最も生育の良好なるものは、葡萄糖とマンニトールであつてキシロース、果糖がこれに次いで良好である。他は大差がない。PHは酸性に於いて葡萄糖、ガラクトース、マンノースが著しき變化をなし、鹽基性側は甚だ貧弱でラフィノース、糊精が僅かに變化したるのみである。

第六表 ペプトン加用培養基

培養日数 炭素化合物	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
標 準	+	+	+	+	4	+	+	+	+	5
アラビノース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	9
キシロース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	9
果 糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	8
葡 萄 糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	12
ガラクトース	+	+	+	+	8	+	+	+	+	9
マンニトール	+	+	+	+	8	+	+	+	+	12
蔗糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	6
蔗 乳	+	+	+	+	4	+	+	+	+	5
麥 芽 糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	10
ライノース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	5
糊 精	+	+	+	+	7	+	+	+	+	12
マンニトール	+	+	+	+	9	+	+	+	+	10
計	19	24	24	27	92	17	18	21	22	78

備考 第一表参照

本表に於いては、生育程度はマントールが最良であつて、他はあまり大差がない。PHの變化は酸性側に於いては葡萄糖とマンノース、鹽基性側に於いてはラフィノースが最も大であつた。

以上第一表より第六表までの成績を簡明にせん爲に第七、八表を作製した。

第七表 生育程度

炭素化合物	加 用 鹽 化 合 應					計	順 位
	無 鹽 素	KNO ₃	NaNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ Cl	ベツトソ	
糖	2	3	3	4	3	4	11
アラビノース	6	8	4	4	6	6	7
キシロース	10	9	4	7	8	7	3
果糖	10	9	4	8	8	8	2
箱糖	11	10	10	10	9	8	1
ガラクトース	6	6	5	8	7	8	6
マンノース	9	8	4	9	6	8	4
蔗糖	4	8	9	9	4	8	5
乳糖	4	8	9	4	4	4	10
芽糖	8	4	4	4	4	8	8
ラフィノース	4	4	4	6	4	7	9

種	5	5	4	4	4	7	23	9
マンニトール	9	7	4	6	9	9	44	4
計	88	86	64	83	76	92	480	
順位	2	3	6	4	5	1		

備考 数字は(十)の合計を示す。

本表を見るに、最も生育に適するものは葡萄糖で、ペプトン加用區以外は常に首位を占めて居る。次に生育の良好なるものは果糖、キシロース、マンノース、マンニトール等である。最悪なるものは標準區を除きて、乳糖であつてラフィノース、糊精等も亦生育が不良であつた。

次に窒素形態上から見ると有機態窒素のペプトンを使用したものが最も生育が良好で、次は無窒素區であつた。硝酸態とアムモニヤ態との間に差異を認めることは出来ないが加里鹽は曹達鹽に、硫酸鹽は鹽酸鹽に勝ることを示して居る。概して、無窒素區の成績良好なる結果より根瘤菌の營養として、窒素は必要なものと稱し得るのである。

第八表 PH の變化

炭素化合物	加 用 窒 素 化 合 物					計	順 位
	無 窒 素	KNO ₃	NaNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ Cl	ペプトン	
標準	—5	—3	—2	—3	—2	—5	—20
アラビノース	8	10	6	11	10	9	54
							12
							3

キシロース	5	6	4	10	10	9	44	7
果糖	0	7	5	12	6	8	38	8
葡萄糖	5	9	8	13	12	12	59	2
ガラクトース	6	5	6	13	12	9	51	4
マンノース	9	10	9	12	12	12	64	1
蔗糖	3	8	9	13	6	6	45	6
乳糖	3	4	5	4	5	5	25	10
麥芽糖	4	5	1	3	7	10	30	9
ラフィノース	—5	—6	—4	—1	—1	—5	—22	13
糊精	—5	—4	—5	0	—1	—2	—17	11
マンニトール	6	5	3	11	11	10	46	5
計	34	56	45	98	87	76	308	
順位	6	4	5	1	2	3		

備考・数字は(十)の合計を示す。

本表を見ると、酸醱酵に最も適するものはマンノースであつて、硫酸アムモニヤ區を除きて常に首位を占めて居る。次は葡萄糖、アラビノース、ガラクトース等の順位であつて、最下位はラフィノースで標準區及び糊精と共に鹽基性を示す。次に加川窒素形態につきて見るに硫酸アムモニヤが第一位で次が鹽化アムモニヤ、ペプトンの順位で無窒素區が最下位であつた。概して、含窒素培養基は無窒素培養基に勝り、アムモニヤ態窒素は硝酸態窒素に勝るものである。

(二)紫雲英根瘤菌Bによる實驗成績

第九表 無窒素培養基

培養日數 炭素化合物	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
標準 アミノ酸	+	+	+	+	4	±	-	-	-	-3
キシロース	+	+	+	+	11	±	+	+	+	5
果糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	7
葡萄糖	+	+	+	+	11	+	+	+	+	6
ガラクトース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	6
マンノース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	8
蔗糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	4
乳糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	4
麦芽糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
アミノ酸	+	+	+	+	6	±	-	-	-	-5
アミノ酸	+	+	+	+	5	±	-	-	-	-5
アミノ酸	+	+	+	+	6	±	±	±	±	0
計	18	18	25	29	90	7	8	10	12	37

本表に於いて、生育の最も良好なるものは葡萄糖とキシロースであつて、最悪なるものは標準區と麥芽糖である。次にPHの變化を見るに、標準區とラフィノース、糊精は鹽基性傾向を示し、マンニトールは變せず、他は總て酸性傾向を示し、最も變化の大なるものはマンノースで次は果糖であつた。

第十表 硫酸加里加用培養基

培養日數 炭素化合物	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
標準	+	+	+	+	4	+	—	—	—	5
アラビノース	++	++	++	++	8	++	++	++	++	10
キシロース	++	++	++	++	8	++	++	++	++	9
果糖	++	++	++	++	8	++	++	++	++	9
葡萄糖	++	++	++	++	11	++	++	++	++	8
ガラクトース	++	++	++	++	4	++	++	++	++	4
マンノース	++	++	++	++	6	++	++	++	++	9
蔗糖	++	++	++	++	6	++	++	++	++	9
乳糖	++	++	++	++	4	++	++	++	++	5
麥芽糖	++	++	++	++	4	++	++	++	++	4
ラフィノース	++	++	++	++	4	++	++	++	++	2
糊精	++	++	++	++	4	++	—	—	—	3
マンニトール	++	++	++	++	8	++	++	++	++	7

計	18	19	21	21	79	9	16	18	32	65
---	----	----	----	----	----	---	----	----	----	----

備考 第一表参照

本表に於いて生育の最も良好なるものは葡萄糖であつて、標準區と同様に生育の不良なるものが多く存在して居る。PHの變化はアラビノースが最も甚だしく、次はキシロース、果糖、マンノース、蔗糖等であつた。標準區とラフィノース、糊精は鹽基性傾向を示す。

第十一表 硫酸曹達加用培養基

培養化合物	培養日數					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
標準	+	+	+	+	3	+	+	+	+	12
アラビノース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	9
キシロース	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
果糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	9
葡萄糖	+	+	+	+	10	+	+	+	+	8
蔗糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	9
ガラクトース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	8
マンノース	+	+	+	+	8	+	+	+	+	9
蔗糖乳	+	+	+	+	4	+	+	+	+	5

芽 糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラフィノース	+	+	+	+	+	+	+	+	+
糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+
マンニトール	+	+	+	+	+	+	+	+	+
計	15	16	19	19	23	9	16	17	21

備考 第一次参照

本表中、生育の最良なるものは葡萄糖であつて、次は蔗糖、マンニトール等で他はあまり大差がない。PHの變化に著しき差異なく、アラビノース、果糖、ガラクトース、蔗糖等が他よりも少々勝れて居た。標準區、ラフィノース、糊精は鹽基性傾向を示す。

第十二表 硫酸アムモニヤ加用培養基

培養日數 炭素化合物	生 育 程 度				PH の 變 化			
	3	7	14	21	計	3	7	14
標準	+	+	+	+	4	+	+	+
アラビノース	+	+	+	+	6	+	+	+
キシロース	+	+	+	+	5	+	+	+
果糖	+	+	+	+	7	+	+	+
葡萄糖	+	+	+	+	9	+	+	+
ガラクトース	+	+	+	+	9	+	+	+

マ ン ノ ー ス	糖 類	芽 糖	乳 糖	麥 芽 糖	ラ フ イ ノ ー ス	糖 類	マ ン ノ ー ス	計	11	8	7	6	5	4	3	2	1	0
+	+	+	+	+	+	+	+	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13
+	+	+	+	+	+	+	+	22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	8
+	+	+	+	+	+	+	+	24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
+	+	+	+	+	+	+	+	25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11
+	+	+	+	+	+	+	+	92	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12
+	+	+	+	+	+	+	+	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12
+	+	+	+	+	+	+	+	23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12
+	+	+	+	+	+	+	+	24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12
+	+	+	+	+	+	+	+	32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12
+	+	+	+	+	+	+	+	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12

備考 第一表参照

本表によると、生育の最良なるものはマンノースであつて、次は葡萄糖、ガラクトースである。PHの變化は生育の比較的良好的なるガラクトース、マンノースが首位を占め、キシロースがこれに次いで居る。從來常に鹽基性側に變化して居たラフィノースが僅かに酸性傾向を示したことは注目すべき點である。

第十三表 鹽化アムモニヤ加用培養基

培養日數	生	育	程	度	計	3	7	14	21	計	PHの變化
炭素化合物	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計	
標準	+	+	+	+	4	+	+	+	+	3	
アラビノース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	11	
キシロース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	9	

[illegible]

第一表參照

本表に於いては、生育上の差異をあまり認めることは出来ないが、マンニトールが稍々勝れて居る様である。PHは酸性側にてはアラビノース、ガラクトースの變化が最も大である。尙硫酸アムモニヤを加用したるものは前回の場合と同様にラフィノースも他の炭水化合物と等しく酸性傾向を示した。然し、糊精は依然として鹽基性傾向を示して居る。

培基培養培用加シトプペ

[illegible]

標準	+	+	+	+	4	H	I		5
アラビノース	+	+	+	+	8	+	+	+	9
キシロース	+	+	+	+	7	+	+	+	9
果糖	+	+	+	+	8	+	+	+	8
葡萄糖	+	+	+	+	8	+	+	+	10
ガラクトース	+	+	+	+	5	+	+	+	10
マンノース	+	+	+	+	7	+	+	+	11
蔗糖	+	+	+	+	10	+	+	+	9
乳糖	+	+	+	+	5	+	+	+	5
麦芽糖	+	+	+	+	5	+	+	+	8
ラフィノース	+	+	+	+	5	+	+	+	1
ソニール	+	+	+	+	4	+	+	+	3
計	16	17	21	28	82	18	18	20	82

備考 第一表参照

本表中、生育の最良なるものは蔗糖であつて、他に特別の差異を認めることは出来ない。PHの變化は、マンノースが最も大であつた。鹽基性傾向を示すものは標準區と糊精のみであつた。

以上第九表より第十四表までの成績を簡明に表記すると第十五、十六表の通りである。

第十五表 生育程度

炭素化合物	加 用 量					計	順 位
	無 氮 素	KNO ₃	NaNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ Cl	ペプトン	
標 準	4	4	3	4	4	4	9
アラビノース	6	8	6	6	7	8	5
キシロース	11	8	4	5	7	7	4
果 糖	8	8	4	7	6	8	5
葡 萄 糖	11	11	10	9	8	8	1
ガラクトース	6	4	4	9	6	5	6
マンノース	7	6	6	11	8	7	2
蔗 糖	8	6	8	8	4	10	3
乳 糖	8	4	4	7	6	5	6
麥 芽 糖	4	4	4	6	8	5	7
ラフィノース	6	4	4	5	4	5	8
糊 精	5	4	4	7	4	4	8
マンニトール	6	8	8	8	9	6	2
計	90	79	69	92	81	82	493
順 位	2	5	6	1	4	3	

備考 数字は(十)の合計を示す。

本表を見るに、最も生育に適するものは葡萄糖で次はマンノース、マンニトール、蔗糖等である。生育に不適当なるものはラフィノース、糊精等であつた。

次に窒素形態上から見ると、硫酸アムモニヤが首位で次が無窒素區であつた。尙前回の根瘤菌Aに於いて認めることの出来なかつた、硝酸態とアムモニヤ態の菌の生育に及ぼす影響に就きて見るに本表に於いては明かにアムモニヤ態窒素を加用したるものが菌の生育が良好であることを示して居る。其他は概して第七表の結果と同様である。

第十六表 pH の 變 化

炭素化合物	加 用 窒 素 化 合 應					計	順 位
	無 窒 素	KNO ₃	NaNO ₃	$\text{NH}_4^{+2}\text{SO}_4$	NH ₄ Cl	ベツトソ	
糖	-3	-5	-2	-2	-3	-5	12
アラビノース	6	10	9	11	11	9	2
キシロース	5	9	4	12	9	9	5
果糖	7	9	9	11	6	8	4
葡萄糖	6	8	8	11	10	10	3
ガラクトース	6	4	9	13	11	10	3
マンノース	8	9	8	13	10	11	1
蔗糖	4	9	9	8	6	9	7
乳糖	4	5	5	10	9	5	9
麦芽糖	4	4	4	11	10	8	8
ライノース	-5	-2	-2	1	2	1	10
糊精	-5	-2	-3	-2	-3	-3	11
マニトール	0	7	7	12	11	10	6

計	37	65	125	100	22	22	47
順位	5	4	4	1	2	2	1

備考 数字は十の合計を示す。

本表を見るに、PHの變化の最も大なるものはマンノースであつて、次はアラビノース、葡萄糖、ガラクトース、果糖等の順位であつた。次に加用窒素形態につきて見るに其の順位は殆んど根瘤菌Aの場合と等しく硫酸アムモニヤが第一位であつた。其他は概して第八表の結果に類似して居るが、たゞライノースがアムモニヤ鹽とペプトンを加用したる時僅かに酸性傾向を示して居ることに注意すべきである。

(三)紫雲英根瘤菌Cによる實驗成績

第十七表 無窒素培養基

培養日數	生 育 型 度				PH の 變 化					
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
炭素化合物										
糖	+	+	+	+	4	+	+	—	—	—
アラビノース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	9
キシロース	+	+	+	+	11	+	+	+	+	7
果糖	+	+	+	+	10	+	+	+	+	2
葡萄糖	+	+	+	+	14	+	+	+	+	7
ガラクトース	+	+	+	+	8	+	+	+	+	7

[illegible]

本表中生育の最も良好なるものはマンノースであつて、葡萄糖はキシロースと共に其の次に位して居る。PHの變化は酸性側に於いて、アラビノースと葡萄糖が最も大であつた。鹽基性傾向を示すものは前二菌と同じく、標準區とラフィノース、糊精とであつた。

培养基 培里加達曹酸 第十九式

培養化合物	生育程度					pH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
炭素化合物										

標 準	1	+	+	+	3	±	1	—	—
アラビノース	+	+	+	+	6	+	+	+	—
キシロース	+	+	+	+	7	+	+	+	+
果糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+
葡糖	+	+	+	+	12	+	+	+	+
ガラクトース	+	+	+	+	8	+	+	+	+
マンノース	+	+	+	+	8	+	+	+	+
蔗糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+
乳糖	+	+	+	+	4	±	±	±	±
乳糖	+	+	+	+	4	±	±	±	±
麥芽糖	+	+	+	+	4	±	±	—	—
アラビノース	+	+	+	+	4	±	±	—	—
糊精	+	+	+	+	4	±	±	—	—
ソルニトール	+	+	+	+	6	±	±	—	—
計	18	19	22	23	82	8	7	17	44

備考 第一表参照

本表に於いて、生育の最良なるものは葡萄糖であつて、他はあまり大差がない。次に PH の變化はマンノースが最も大でアラビノースが比較的貧弱である。

培養日数 基質化合物	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
標 準	+	+	+	+	4	+	+	1	1	2
アラビノース	+	+	+	+	8	+	+	+	+	13
キシロース	+	+	+	+	8	+	+	+	+	14
果糖	+	+	+	+	8	+	+	+	+	13
葡萄糖	+	+	+	+	10	+	+	+	+	10
ガラクトース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	10
マンノース	+	+	+	+	6	+	+	+	+	10
蔗糖	+	+	+	+	10	+	+	+	+	13
乳糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	5
麦芽糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
ラフィノース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	21
糖蜜	+	+	+	+	4	+	+	+	+	1
マニトール	+	+	+	+	9	+	+	+	+	10
計	16	20	21	25	86	15	21	15	20	101

備考 第一表参照

本表を見るに、生育の最良なるものは葡萄糖と蔗糖であつて、PHの變化はキシロースが首位でアラビノース、果糖、蔗糖、マンノースがこれに次いで居る。ラフィノースは根瘤菌Bの場合の如く酸性傾向を示した。

豆科植物の根瘤菌に就いて(第二報)

第二十一表 鹽化アムモニヤ添加培養基

培養日數	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
尿素化合物										
標 準	—	+	+	+	3	±	±	1	1	— ²
アラビノース	+	+	+	+	9	±	±	±	±	13
キシロース	+	+	+	+	6	+	±	±	±	9
果 糖	+	+	+	+	8	±	±	±	±	12
葡 萄 糖	+	+	+	+	8	±	±	±	±	10
ガラクトース	+	+	+	+	6	±	±	±	±	8
マンノース	+	+	+	+	5	+	±	±	±	9
蔗糖	+	+	+	+	8	+	+	±	±	6
乳糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
麦芽糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
アミノ酸	+	+	+	+	4	±	±	±	±	0
ビタミン	+	+	+	+	6	±	±	±	±	0
計	16	17	20	22	75	15	18	21	22	76

備考 第一式参照

本表に於いて、生育の最良なるものはアラビノースであるが、概してあまり差異を認めることは出来ない。PHの變化

の最大なるものはアラビノースで次が果糖であつた。尙鹽基性傾向を示すものは、たゞ標準區のみであつた。

第二十二表 ペプトン加用培養基

培養日數	生 育 程 度					PH の 變 化				
	3	7	14	21	計	3	7	14	21	計
炭素化合物										
標準	+	+	+	+	4	+	+	+	+	5
アラビノース	+	+	+	+	7	+	+	+	+	10
キシロース	+	+	+	+	5	+	+	+	+	10
果糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	6
葡萄糖	+	+	+	+	10	+	+	+	+	9
ガラクトース	+	+	+	+	4	+	+	+	+	9
マントース	+	+	+	+	8	+	+	+	+	9
蔗糖	+	+	+	+	6	+	+	+	+	4
乳糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
麦芽糖	+	+	+	+	4	+	+	+	+	4
raffinose	+	+	+	+	6	+	+	+	+	1
マンニトール	+	+	+	+	9	+	+	+	+	10
計	16	16	21	24	77	12	12	16	16	56

備考 第一表参照

本表に於いて、生育の最良なるものは葡萄糖であつて、次はマンニトールである。PHの變化の最大なるものはアラビ

豆科植物の根瘤菌に就いて(第三節)

ノース、キシロース、マンニトール等で、葡萄糖、マンノースがこれに續いて變化が大である。
以上根瘤菌Cにより行へる實驗成績を簡明に表記すると第二十三、四表の通である。

第二十三表 生育程度

炭素化合物	加 用 窒 素 化 合 物						計	順 位
	無 窒 素	KNO ₃	NaNO ₃	CNH ₄ O ₂ SO ₄	NH ₄ Cl	ベアトソ		
標 準	4	4	3	4	3	4	22	11
アラビノース	7	7	6	8	9	7	44	5
キシロース	11	9	7	8	6	5	46	4
果 糖	10	4	8	8	8	4	42	6
葡 萄 糖	14	9	12	10	8	10	63	1
ガラクトース	8	8	8	6	6	4	49	7
マンノース	5	10	8	6	5	8	42	6
蔗糖	10	8	8	10	8	6	50	2
乳糖	9	6	4	4	4	4	31	8
麦芽糖	4	6	4	4	4	4	26	10
ラフィノース	4	4	4	7	4	6	29	9
糊 精	4	4	4	4	4	6	26	10
マンニトール	11	8	6	9	6	9	49	3
計	101	87	82	88	75	77	510	
順 位	1	3	4	2	6	5		

備考 数字は(+)の合計を示す

本表を見るに、生育に最も適するものは前二菌と等しく葡萄糖で、次は蔗糖、マンニトール、キシロースの順であつて麦芽糖、糊精の生育は甚だ貧弱であつた。次に窒素形態上から見ると、前二菌と異なつて無窒素區が首位を占め、次が硫酸アムモニヤであつた。同じアムモニヤ鹽であつても、鹽化アムモニヤは最下位であつた。故に硝酸鹽とアムモニヤ鹽の菌の生育上に及ぼす影響の差異は認めることは出来なかつた。其他は概してA、B菌の結果に類似して居る。

第二十四表 PH の 變 化

炭素化合物	加 用 強 素 化 合 應					計	順 位
	無窒素	KNO ₃	NaNO ₃	CNHD ₂ SO ₄	NH ₄ Cl	ペプトン	
糖	-5	-1	-5	-2	-2	-5	-23
アラビノース	0	9	6	13	13	10	60
キシロース	7	7	7	14	9	10	54
果糖	2	2	6	13	12	6	41
葡萄糖	7	9	7	10	10	9	52
ガラクトース	7	8	7	10	8	5	45
マンニトール	6	8	10	10	9	9	52
蔗糖	2	6	5	13	6	4	36
糊精	1	1	1	5	4	0	12
麦芽糖	-2	1	1	4	4	4	12

ラフィノース	3	5	5	2	0	-1	-12	10
糖	-3	-1	-1	-1	0	-5	-11	9
マンニトール	-1	7	5	10	3	10	34	7
計	27	48	44	101	76	56	522	
順位	6	4	5	1	2	3		

備考 数字が(+)の合計を示す

本表によると、PHの變化の最大なるものはアラビノースであつて、次はキシロース、果糖、マンノースの順であつた。次に加用窒素形態につきて見ると其の順位は全くA菌の場合と同様であつて、硫酸アムモニヤが首位を占めて居る。尙無窒素區の麥芽糖とマンニトールの鹽基性傾向を示して居ることに注意せねばならぬ。

以上、紫雲英の根瘤菌A、B、C三菌による固體培養試験の成績を綜合して見るに、炭水化物に對して、各菌とも多少の相違はある。例へば、生育の順位に於いて、葡萄糖は何れの菌に於いても第一位を占めて居るが、A菌に於いて二位の果糖はB菌にては五位、更にC菌では六位に下つて居る。PHの變化につきてはA、Bの兩菌で首位を占めて居る。マンノースがC菌に於ては三位に落ちて、これに代つてアラビノースが首位になつて居る。尙A、B二菌に於いて鹽基性傾向を示したものは、たゞラフィノース、糊精のみであつたが、C菌に於ては麥芽糖も鹽基性傾向を示す。又ラフィノースも窒素給源の如何によりてC、B菌にて時に酸性傾向を示すこともあつた。故にA、B、Cの三菌は必ずしも一致したる結果を擧げ得たと云ふことは出來ないのであるが、然し其處には三菌に相通する點も少なくない。概して紫雲

英の根瘤菌の生育は單糖類特にヘキソース中に適するもの多く多糖類は生育に不適當である。マンニトールは普通よく根瘤菌の培養に使用されて居るのでこれを他の炭水化物に比較する爲に本實驗に加へたのであるが、生育はA、B、C三菌とも良好であつた。尙マンニトール以外に従來屢々根瘤菌の培養に使用されて居る、葡萄糖、蔗糖等も本實驗の結果常に良好なる發育をなした。次に根瘤菌の生育の良否により、炭素化合物を分類すると次の通である。

(一)、根瘤菌の生育良好なるもの。

葡萄糖、マンニトール、蔗糖、キシロース、マンノース、果糖

(二)、根瘤菌の生育稍々良好なるもの。

アラビノース、ガラクトース

(三)、根瘤菌の生育不良なるもの。

乳糖、麥芽糖、ラフィノース、糊精

次に酸酵により發生する酸を、 P^H の變化によりて見るに、概して酸酵に適するものは單糖類であつて、不適當なるものは多糖類である。これ等の點は生育状態とよく一致して居る様であるが、然し各糖類につきて見ると生育の良好なるもの、必ずしも酸酵に適するものではない。次に本實驗の結果酸の發生即ち P^H の變化によりて酸酵の適否により炭素化合物を分類すると次の通である。

(一) 酸酵に適するもの。

マンノース、アラビノース、葡萄糖、ガラクトース、キシロース

資料植物の根瘤菌に就いて(第三報)

(二) 酸醱酵に少々適するもの。

果糖、マンニトール、蔗糖

(三) 酸醱酵に少々不適當なるもの。

麥芽糖、乳糖

(四) 酸醱酵に不適當なるもの。

ラフィノース、糊精

これによりて見ると、生育のあまり良好でない、アラビノース、ガラクトースが酸醱酵に適してゐる。又マンニトールの如く生育良好なるもので、酸醱酵にあまり適せないものもある。故に絶對的と稱することは出来ないが概して生育の良好なるものは、酸醱酵にも適するものであると云ひ得るのである。

次に加用窒素形態上から見ると生育は三菌區々として、何れを首位とするか決定し難いのであるが、概して無窒素硫酸アムモニヤ、ペプトン等は生育良好である。これによりて見ると窒素給源は根瘤菌の培養上あまり重要なものではないかの様である。硝酸態とアムモニヤ態窒素との間には判然たる差異はないが三菌の成績を平均して見ると、アムモニヤ態が硝酸態に稍勝る様である。硝酸鹽中加里鹽が曹達鹽に勝ることも、アムモニヤ鹽の硫酸鹽が鹽化物に勝る事も三菌とも一致したる結果で之は Na 及 Cl イオンと K 、 SO_4 イオンとの關係だと思惟されるのである。然し PH の變化は三菌とも其の順位よく一致して、常に硫酸アムモニヤが首位で無窒素が最下位である。尙アムモニヤ鹽は硝酸鹽に勝り有機態のペプトンは常にこの中間に位して居る。これによりて見ると生育上あまり重要でなかつた、窒素給源も酸醱酵には重要

なるもので、常に含窒素培養基は無窒素培養基より、酸性傾向に對する P^H の變化は大である。尙硝酸鹽とアムモニヤ鹽との差異は、たゞ窒素給源としての適否のみでなく菌が窒素を吸收したる跡の殘物として、前者は鹽基を、後者は酸基を生ずることに相當起因するものと思ふ。故に硝酸鹽にて容易に酸性傾向を示さない貧弱な酸醱酵の場合もアムモニヤ鹽にては、容易に示し得るのである。然し其の反面にアムモニヤ鹽は酸醱酵の程度を過大に示することがあるので、本研究の如き酸醱酵試験に何れが適するか、互に長短があるが從來は多く硝酸態を使用されて居る。ペプトンは有機態の窒素源であつて其の成績は良好であるが、組成が複雑な爲に斯の如き比較研究をなす場合は、却つて他の二者に劣る様である。

次に培養日數と生育との關係は一般に生育は初期に於て旺盛で、早きものは三日以後はあまり發展せず、そのまゝ終るものもある。生育の遅きものは三週目に至りて尙判然たる發展を示すものもあるが、概して生育は一週間以内が旺盛である。然し P^H の變化はこれと異なつて生育の良好なるものは、 P^H の變化も早いが不良なるものは三週間後に漸やく P^H の變化を認めたるものもある。故に本研究の結果より P^H の變化を檢定するには少なくとも二週間以上培養せねば充分なる成績を擧げ得ることは出来ないのである。

二、液體培養法

固體培養試験により、酸醱酵による P^H の變化を測定する上に窒素源として、硫酸アムモニヤと硝酸加里を使用することの有意義なるを知り得たので、これ等窒素給源を用ひて前回の試験の結果と比較し尙固體培養にて知ることの出来ない P^H の變化の道程をも究めんとしたのである。培養液は前記の寒天を除きたるものを使用して、其の液五十鈍宛を百五

十耗容殺菌三角瓶に入れて、高壓殺菌器にて十封度で十五分開殺菌を行ひ、冷却後殺菌せる十分の一規定液の鹽酸と苛性曹達にて比色法により P^H を約七、〇に調節し、後豫め準備せる紫雲英根瘤菌の懸濁液一试管を加へ、直に P^H を測定したる後二十八度の恒温箱にて培養を行ひ適時取り出して、 P^H を測定した。 P^H の測定はキンヒドロソ電極法によつたのであるが、其の結果は次の通りである。

(一) 紫雲英根瘤菌 A による實驗成績

第二十五表 硝酸加里加用培養基

培養日数 起給PH	3		7		14		21		28		
	PH	差異	PH	差異	PH	差異	PH	差異	PH	差異	
鹽 酸	7.00	7.31	-0.22	7.42	-0.23	7.43	-0.34	7.70	-0.50	7.54	-0.45
アラビノース	6.98	6.95	0.03	6.91	0.07	6.79	0.19	6.70	0.28	6.56	0.42
キシロース	7.45	7.45	0.00	7.35	0.10	7.14	0.31	7.00	0.45	6.65	0.80
果 糖	7.27	7.26	0.01	7.24	0.03	7.09	0.18	7.00	0.27	6.98	0.29
葡 萄 糖	7.14	7.19	-0.05	7.24	-0.10	7.20	-0.06	7.15	-0.01	7.09	0.05
ガラクトース	7.20	7.22	-0.02	7.27	-0.07	7.17	-0.03	7.30	0.00	7.12	0.08
マンノース	7.14	7.27	-0.13	7.29	-0.15	7.27	-0.13	7.31	-0.17	7.30	-0.06
蔗 糖	7.15	7.17	-0.02	7.17	-0.02	7.12	0.03	7.10	0.05	7.10	0.05
乳糖	7.03	7.15	-0.12	7.27	-0.24	7.28	-0.25	7.29	-0.26	7.22	-0.19
麥 芽 糖	7.07	7.10	-0.03	7.19	-0.11	7.03	0.01	6.82	0.24	6.41	0.66

ラフィノース	7.20	7.38	— 0.18	7.43	— 0.23	7.41	— 0.21	7.49	— 0.29	7.43	— 0.23
糖	7.15	7.20	— 0.05	7.27	— 0.12	7.28	— 0.13	7.28	— 0.13	7.24	— 0.14
マンニトール	7.27	7.34	— 0.07	7.40	— 0.13	7.49	— 0.13	7.46	— 0.19	7.48	— 0.21

備考 差異は起始PHに對するものであつて(—)は鹽基性傾向を示す。

本表を見るに、アラビノース、キシロース、果糖を除き他は總て最初鹽基性傾向を示して居る。其の内多くは、次第に酸性側に變化をなした。二十八日後に向鹽基性傾向を示すものは、標準區以外にマンノース、乳糖、ラフィノース、糊精、マンニトール等であつて酸性傾向程度の最大なるものはキシロースであつた。

第二十六表 硫酸アムモニヤ加用培養基

培養 化合物	培養日數		3		7		14		21		28	
	起始 PH		PH	差 異	PH	差 異	PH	差 異	PH	差 異	PH	差 異
糖	7.04		7.04	0.00	7.03	0.01	6.98	0.06	6.91	0.13	6.96	0.18
アラビノース	7.12		7.10	0.02	6.83	0.29	6.37	0.73	6.18	0.94	5.94	1.18
キシロース	6.97		6.84	0.13	6.75	0.22	6.50	0.47	6.41	0.56	6.24	0.73
果 糖	7.28		7.22	0.06	7.10	0.16	6.86	0.42	6.79	0.49	6.79	0.49
葡 萄 糖	6.98		6.79	0.19	6.60	0.38	6.43	0.55	6.30	0.68	6.21	0.77
ガラクトース	6.96		6.55	0.41	5.96	1.00	5.43	1.73	5.33	1.63	5.18	1.78
マンノース	7.03		6.96	0.07	6.26	0.77	6.11	0.92	5.96	1.07	5.74	1.29

蔗糖	7.08	7.00	0.08	6.95	0.13	6.86	0.22	6.86	0.22	6.83	0.25
乳糖	6.93	6.89	0.04	6.82	0.11	6.70	0.23	6.65	0.28	6.51	0.42
麦芽糖	6.93	6.91	0.02	6.82	0.11	6.62	0.31	6.50	0.43	6.40	0.53
ラフィノース	6.88	6.86	0.04	6.88	0.00	6.76	0.12	6.41	0.47	6.38	0.50
糊精	7.05	7.00	0.05	6.84	0.21	6.70	0.25	6.65	0.40	6.63	0.42
マンニトール	7.07	6.93	0.14	6.82	0.25	6.74	0.33	6.72	0.25	6.55	0.52

備考 差異は起始PHに對するものであつて(一)は鹽基性傾向を示す。

本表に於いては總て酸性傾向を現し、硝酸加里の場合よりも著しく酸の發生大なることを示して居る。多くの場合培養日數を増加するに従つて P^H の變化も大になつて行く、然し二十一日後の變化は比較的に緩であつた。變化の最大はガラクトースで次はマンノース、アラビノースであつて、最小は標準區を除きて、蔗糖で次は乳糖と糊精であつた。

次に固體培養の場合に比較して見るに本菌は概して、單糖類に適し多糖類に不適當であることはよく一致して居る。然し詳細に検討すると色々の相違がある。就中、硝酸加里加用の場合にラフィノース、糊精以外にマンニトール、乳糖及固體培養に於いて最も強力に酸性側に變化をなした。マンノースが、極めて僅かではあるが鹽基性傾向を示して居ること、及び硫酸アムモニヤを加用したる場合に、固體培養にて鹽基性傾向であつたラフィノース、糊精が酸性側に變化して居ること等は、大に注意すべき現象である。

(二) 紫雲英根瘤菌Bによる實驗成績

第二十七表 硝酸加里加用培养基

培養日數 試料 化合物	3		7		14		21		28	
	起始PH		PH	差異	PH	差異	PH	差異	PH	差異
糖	6.95		7.15	-0.20	7.20	-0.05	7.24	-0.04	7.26	-0.06
アラビノース	6.98		6.93	0.05	6.80	0.17	6.65	0.23	6.57	0.41
キシロース	7.24		7.07	0.17	7.08	0.16	6.77	0.47	6.63	0.57
果糖	6.90		7.08	-0.09	7.01	-0.02	6.81	0.17	6.69	0.30
葡萄糖	7.05		7.15	-0.10	7.19	-0.14	7.09	-0.04	6.98	0.07
ガラクトース	7.10		7.20	-0.10	7.23	-0.16	7.16	-0.06	7.12	-0.02
マンノース	7.10		7.05	0.05	7.06	0.04	7.01	0.06	6.97	0.13
蔗糖	7.15		7.12	0.03	7.10	0.05	6.96	0.19	7.01	0.14
乳糖	7.05		7.14	-0.09	7.19	-0.14	7.15	-0.10	7.14	-0.09
麦芽糖	6.93		7.01	-0.08	6.80	0.24	6.69	0.24	6.64	0.29
ラフィノース	7.17		7.23	-0.16	7.26	-0.19	7.28	-0.21	7.40	-0.23
糊精	7.17		7.22	-0.05	7.22	0.05	7.25	-0.08	7.27	-0.10
デンプン	7.05		7.22	-0.17	7.27	-0.22	7.26	-0.21	7.27	-0.22

備考 差異は起始PHに對するものであつて(一)は鹽基性傾向を示す。

本表を見るに、A菌と同様に最初アラビノース、キシロース、マンノース、蔗糖以外は鹽基性側に向つて居る。然し其の内多くのもの日數を経るに従つて、次第に酸性側に變化をなし、二十八日目に至りて尙鹽基性傾向を示すものはガ

ラクトース、乳糖、ラフィノース、糊精及標準區のみであつた。ラフィノース、糊精は他のものと異なり培養日数を増すに従つて鹽基性傾向度も増して居るが、ガラクトース及乳糖は他の多くのものと同様に次第に酸性に向つて變化して居る。酸性側に於いて變化の最大なるものはキシロースであつた。

第二十八表 硫酸アムモニヤ加用培養基

培養日數 炭素化合物	3		7		14		21		28		
	起點PH	PH	差異	PH	差異	PH	差異	PH	差異		
糖蜜	7.07	7.06	0.01	7.08	-0.01	7.00	0.07	7.00	0.07	6.98	0.02
アラビノース	7.26	7.08	0.28	6.74	0.52	6.27	0.90	5.99	1.27	5.75	1.51
キシロース	7.05	7.02	0.03	6.98	0.07	6.79	0.26	6.66	0.29	6.43	0.62
果糖	7.00	6.92	0.17	6.82	0.27	6.61	0.49	6.53	0.56	6.43	0.65
葡萄糖	7.00	6.86	0.14	6.17	0.83	5.52	1.48	5.35	1.65	5.13	1.87
ガラクトース	6.91	6.63	0.28	6.20	0.62	5.67	1.24	5.54	1.37	5.31	1.57
ラフィノース	7.01	6.63	0.38	6.12	0.89	5.73	1.28	5.70	1.31	5.65	1.36
乳糖	7.07	6.91	0.16	6.86	0.21	6.77	0.30	6.77	0.30	6.70	0.37
乳糖	6.81	6.69	0.12	6.69	0.12	6.12	0.67	5.99	0.82	5.82	0.59
麥芽糖	6.85	6.53	0.32	6.46	0.39	6.28	0.57	6.11	0.74	5.94	0.91
ラフィノース	7.01	7.01	0.00	6.98	0.03	6.91	0.10	6.89	0.12	6.84	0.17
糊精	6.78	6.62	0.16	6.53	0.25	6.41	0.37	6.35	0.43	6.28	0.50
アミノール	7.07	6.95	0.12	6.94	0.13	6.91	0.16	6.86	0.21	6.89	0.38

培養液のpHに對するもの（A）は固體培養液を示す。

本表に於いて、鹽基性傾向を示すものは標準區のたゞ一回のみで他は總て酸性傾向を示して居る。其の内最も甚だしき變化をなすものは葡萄糖で、次はガラクトース、アラビノース、マンノース等の順位であつて、最も貧弱なるものは標準區を除きてラフィノースで、次は蔗糖、マンニトール、糊精等である。培養日數の増加に従つて一般に P^H の變化も大なること、並に硝酸加里を添加したるものより硫酸アムモニヤを加用したるものが、酸の發生力の大なることはA菌と同様である。

次に固體培養の成績に比較して見るに、大同小異であつて、A菌と同様に單糖類に適し、多糖類に不適當であることはよく一致して居る。硝酸加里を加用したるものに於いて、ガラクトースが極微量ではあるが、鹽基性傾向を示して居ることに注意せねばならぬ。

(三) 紫雲英根瘤菌Cによる實驗成績

第二十九表 硝 酸 加 里 加 用 培 養 基

培養日數 炭素化合物	起始 P^H	3		7		14		21		28	
		P^H	差異	P^H	差異	P^H	差異	P^H	差異	P^H	差異
標準	7.07	7.20	-0.13	7.31	-0.24	7.40	-0.33	7.45	-0.38	7.49	-0.42
アラビノース	7.15	7.15	0.00	7.15	0.00	6.98	0.17	6.95	0.20	6.89	0.26
キシロース	7.10	7.10	0.00	7.07	0.03	6.89	0.21	6.82	0.28	6.70	0.40

果糖	7.10	7.15	—0.05	7.14	—0.04	6.99	0.11	6.97	0.13	6.87	0.23
葡萄糖	7.09	7.14	—0.05	7.05	0.04	7.00	0.09	6.96	0.11	6.83	0.16
ガラクトース	7.15	7.24	—0.09	7.19	—0.04	6.98	0.17	6.95	0.20	6.88	0.27
マンノース	7.03	7.14	—0.11	7.14	—0.11	7.00	0.03	7.02	0.01	6.96	0.07
蔗糖	7.20	7.24	—0.04	7.31	—0.11	7.30	—0.10	7.32	—0.12	7.35	—0.15
乳糖	7.20	7.26	—0.06	7.29	—0.09	7.20	0.00	7.22	—0.02	7.20	0.00
麦芽糖	7.22	7.26	—0.04	7.31	—0.09	7.20	0.02	7.14	0.08	7.10	0.12
ラフィノース	7.15	7.23	—0.18	7.24	—0.19	7.31	—0.16	7.44	—0.39	7.38	—0.23
澱粉	7.12	7.19	—0.07	7.19	—0.07	7.19	—0.07	7.22	—0.10	7.27	—0.15
デンプン	7.16	7.24	—0.18	7.40	—0.24	7.33	—0.17	7.32	—0.16	7.27	—0.11

備考 差異は起始PHに對するものであつて(—)は鹽基性傾向を示す。

本表を見るに培養三日目に酸性傾向を示したるもの一個もなく、アラビノース、キシロースを除いて總て鹽基性傾向を示した。二十八日目の測定に於いて、尙鹽基性傾向を示すものは標準區を除きて、蔗糖、ラフィノース、糊精及マンニトールであつて、PHの變化の最大なるものは炭素化合物中キシロースであつた。他は概して前A、B二菌の成績に等しかつた。

培養日数 炭素化合物	起始 PH	3		7		14		21		28	
		PH	差異	PH	差異	PH	差異	PH	差異	PH	差異
糖	7.04	7.07	-0.03	7.05	-0.01	6.95	0.09	6.95	0.05	6.91	0.13
アラビノース	6.76	6.67	0.09	5.92	0.84	5.19	1.57	5.14	1.62	5.10	1.66
キシロース	7.19	7.14	0.03	7.00	0.19	6.81	0.38	6.72	0.47	6.53	0.66
果糖	7.09	7.03	0.06	6.90	0.19	6.71	0.28	6.60	0.49	6.50	0.59
葡萄糖	6.84	6.81	0.03	6.69	0.15	6.56	0.28	6.50	0.34	6.41	0.43
ガラクトース	6.91	6.79	0.12	6.58	0.33	6.44	0.47	6.38	0.51	6.37	0.54
マンノース	6.82	6.79	0.03	6.74	0.08	6.36	0.48	6.29	0.52	6.17	0.55
蔗糖	7.01	6.98	0.03	6.91	0.10	6.81	0.20	6.77	0.24	6.76	0.25
乳糖	6.95	6.95	0.00	6.86	0.09	6.77	0.18	6.69	0.29	6.61	0.51
麦芽糖	6.91	6.88	0.03	6.81	0.10	6.70	0.31	6.51	0.40	6.32	0.59
ラフィノース	7.05	7.05	0.00	7.00	0.05	6.93	0.12	6.91	0.14	6.84	0.21
糊精	7.03	7.03	0.00	6.76	0.27	6.21	0.79	6.10	0.36	5.87	1.19
マンニトール	6.98	6.98	0.00	6.91	0.07	6.74	0.17	6.70	0.28	6.62	0.36

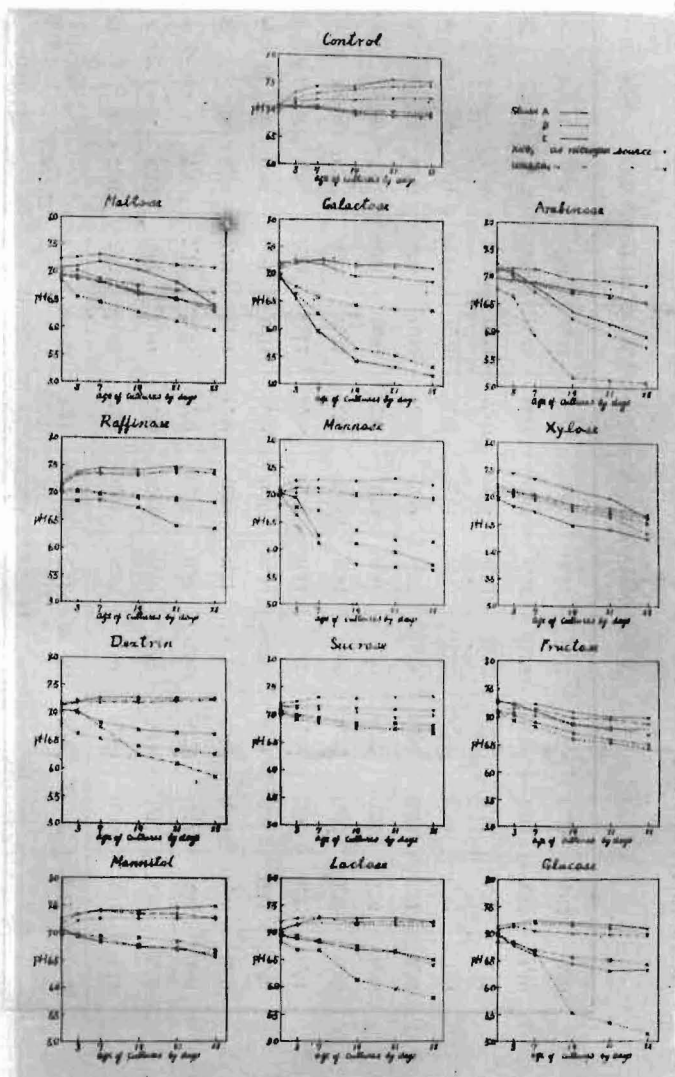
備考 表内は起始PHに對するものであつて(一)は鹽基性傾向を示す。

本表に於いて、鹽基性傾向を示すものは標準區に二回あるのみで他は殆ど酸性傾向を示して居る。最もPHの變化の甚だしきものはアラビノースにて、次は糊精であつた。他は概してA、B菌と同様である。

次に固體培養に比較するにPHの變化の最大であるアラビノースはよく一致して居るが糊精が第二位を占めて居ること

第一圖

紫雲英根瘤菌の液體培養法に依る醱酵試験成績



は前例のないことで固體培養の結果と甚だ異つて居る。然し、概してA、B菌と同様に多糖類よりも單糖類が酸醱酵に適するものゝ様である。

豆科植物の根瘤菌に就いて(第三報)

以上、A、B、C三菌を使用してなせる液體培養試驗の結果を通覽するに概して固體培養と一致して居るが元來根瘤菌は固體培養に適するものであるから本實驗の成績も固體培養の方が良好であつた。尙一層液體培養試驗の結果を明かにする爲に第一圖に示すことにする。

本圖表によりて見るに三菌の間に相當差異のあるものもあるが、概して酸醱酵は單糖類に適し多糖類に不適當であることはよく一致して居る。尙一般にPHの變化は初期に比較的急であつて、後次第に緩になつて居る。硝酸加里を加用したるもので、假令後に酸性傾向を示すものと雖も、多くは初期に於いて一度は鹽基性側に變化をなし三日或は七日後に其方向を轉じて次第に酸性傾向となる。是は固體培養では認めることの出来ない現象であつた。

考 察

本實驗の成績に基き、根瘤菌の炭水化物醱酵に關して、興味ある二、三につき考察するに(1) Baldwin氏等によると酸醱酵をなすものは周鞭毛を有し、然らざるものは極鞭毛を有す。是は嘗て(14) Löhnis and Hansen 兩氏のなせる形態學的分類に符合したるものであると稱せられて居たが、本研究に使用したる紫雲英の根瘤菌は三種ともに極鞭毛を有して居たに拘らず、酸醱酵の能力は疑ひ無く認めることが出來た。故に Baldwin氏等の説は絶對的價值のあるものではない。(2) Schönberg氏は炭水化物の醱酵は同一種の根瘤菌であつても、菌株の異なるにより炭水化物の醱酵性も大に異なるので、之を菌の特異性として認めることに異論を唱へて居るが本實驗に於いて紫雲英に共棲する三菌は、或程度の相違はあるが、概して菌の特異性として認め得べき共通性を有して居た。然し紫雲英の根瘤菌を如何なる種屬に分類すべ

きかと云ふに、(15)余等が曩に報告せしが如く根瘤菌の分類は今猶區々として定説がないのであるから至つて困難で早輕に決定することは出来ない。是等に關しては、後日報告することにする。

次に窒素源に就て見るに、窒素は根瘤菌の爲には必須元素ではないが酸醱酵に有効であることは本實驗に於いても明であつた。硝酸鹽とアムモニヤ鹽との間に生育上に確然たる差異を認めることが出来ないのに拘らず酸醱酵に於いては明にアムモニヤ鹽が硝酸鹽に勝れて居る。是によりて見るに、窒素は菌に吸收されて硝酸鹽よりは加里、曹達を、アムモニヤ鹽よりは硫酸、鹽素の各イオンを分離して殘留せしめることに起因することも少なくないと思ふ。試に各標準區を見るにアムモニヤ鹽は硝酸鹽に比して鹽基性傾向が大に貧弱である。ペプトンを窒素給源として用ふると酸醱酵はアムモニヤ鹽と硝酸鹽の中間に位して居るが、其の組成が無機物に比して甚だ複雑であるから本研究の様に普遍的結果を望む場合には却て不適當である。尙同鹽中に於いて、硫酸鹽は鹽酸鹽に加里鹽は曹達鹽に勝てゐるのである。然し硝酸鹽中の二者の差異はアムモニヤ鹽中の如く顯著でなく、B菌に於いては加里鹽と曹達鹽は同等であつた。生育狀態も亦概して同様であつて、硫酸鹽及加里鹽は鹽酸鹽、曹達鹽よりも生育は良好である。之等の原因は種々あることと思ふ。

嘗て(16) Krönig und Paul, (17) Bral, (18) 下川及外數氏が酸及鹽類の殺菌力は水素イオン濃度並に電離度に關係があつて、概して電離度の大きなもの程殺菌力が強大であることを報告して居るがこの電離度の影響も有力なる原因の一つとなり得る様である。本實驗に於いて、根瘤菌が各鹽より窒素を吸収利用するとせば、後に硫酸、鹽酸、苛性曹達等が幾位か生ずる事になるが之等は何れも強電解質であつて、電離恒數は定め難きが故に(19)實驗的に溫度攝氏二十五度のもとに十分の一規定液用ひて、算出したる電離度(oc)を試に示すと次の通である。

硫酸……………〇、五二

苛性加里……………〇、八九

鹽酸……………〇、九一

苛性曹達……………〇、八四

之を見ると、アムモニヤ鹽即ち硫酸と鹽酸とは電離度によりて、良く説明がなし得るが、然し PH の變化、並に生育程度に大差のない硝酸鹽は苛性加里、苛性曹達兩者の電離度の差が小であつて、寧ろ反對の結果を生じて説明が不可能である。故に硝酸鹽の場合は加里、曹達の榮養價值上の差異が重要な原因となつて、細菌の生育並に PH の變化に影響して居る様である。

次に(9) Baldwin 氏等の根瘤菌の總ては、醱酵によりて糊精より酸を生ずることなしとの説は、本實驗の結果硝酸加里を加用したるものは固體培養も液體培養も同様に認め得るが硫酸アムモニヤを加用したるものは辛じて固體培養に於いてのみ認められ、液體培養の場合は相當強力の酸性傾向を示したのである。故に若しこの説に依りて根瘤菌と *Brachyobacter* の分離檢定をなさんとするには是非とも硝酸加里を使用して、固體培養によるが最も安全である。

摘 要

一、紫雲英根瘤菌の三種を固體及液體培養法によりて、炭水化物十一種とマンニトールに對する酸醱酵に就き種々の研究を行つた。

二、紫雲英の根瘤菌は極鞭毛を有し、酸醱酵をなすも其の程度は炭水化物の種類によりて大に異なり、概して單糖類は適し、多糖類は不適當である。尙詳細に各糖類を酸醱酵の適否によりて分類すると次の通りである。

(イ) 適するもの

アラビノース、キシロース、葡萄糖、ガラクトース、マンノース

(ロ) 少々適するもの

果糖、蔗糖、マンニトール

(ハ) 少々適せざるもの

乳糖、麦芽糖

(ニ) 適せざるもの

ラフィノース、糊精

三、紫雲英根瘤菌の生育と酸醱酵は單糖類に適し、多糖類に不適當なることに於いてはよく一致して居るが、各糖類につきて見ると必ずしも平行せず、生育良好なる糖類も PH の酸性傾向は貧弱であるもの、或はこの反對に生育のあまり良好でないものが強力なる酸性傾向を示すもの等がある。次に生育の適否によりて糖類を分類することにする。

(イ) 適するもの

葡萄糖、マンニトール、蔗糖、キシロース、マンノース、果糖

(ロ) 少々適するもの

アラビノース、ガラクトース

(ハ) 適せざるもの

乳糖、麦芽糖、ラフィノース、糊精

四、窒素は根瘤菌の生育には大して必要がないが、酸醱酵には必要である。

五、窒素給源として酸醱酵に適するものは硫酸アムモニヤ、鹽化アムモニヤ、ペプトン、硝酸加里、硝酸曹達の順位である。併し、生育状態、實驗の目的等を考慮して硫酸アムモニヤ、硝酸加里を適當と認む。

六、根瘤菌の炭水化物醱酵試験には液體培養法よりも固體培養法が適す。尙糊精により *Radiobacter* の分離檢定をなすには硝酸加里を加用して、固體培養によるが安全である。

七、紫雲英根瘤菌の酸醱酵は一般に培養の初期に於いて旺盛であるが、實驗は最少二週間以上行ねば充分なる成績は

得難い。

八、炭水化物の酸酵は根瘤菌の特異性として充分に價值あるものであるが、之により菌の分類をなすには他に不都合の點なきかにつき尙研究を必要とす。

参 考 文 献

- 1) Fred, E. B. Ann. Rpt. Va. Agr. Exp. Sta. 1911 ; 145-173.
- 2) Zipfel, H. Zentbl. Bakt. CD 32 ; 97-117, 1912.
- 3) Fred, E. B. and Davenport, A. Jour. Agr. Res. 14 ; 317-336, 1918.
- 4) Bialosuknia, W. and Klotz, C. Roetz. Nauk Rolnicz 9 ; 288-375, 1923.
- 5) Bialosuknia, W. Roetz. Nauk Rolnicz 10 ; 142-147, 1927.
- 6) Wright, Wm. H. Soil Sci. 20 ; 95-130, 1925.
- 7) Stevens, J. W. Soil Sci. 20 ; 470-465, 1925.
- 8) Stevens, J. W. Jour. Agr. Res. 31 ; 907-1000, 1927.
- 9) Baldwin, L. and Fred, E. B. Soil Sci. 24 ; 217-230, 1927.
- 10) Anderson, J. A. Peterson, W. H. and Fred, E. B. Soil Sci. 25 ; 127-131, 1928.
- 11) Schöberg, L. Zentbl. Bakt. 79 ; 205-221, 1929.
- 12) 大河原四郎, 大野敏雄, 東京帝大農学部, 細菌に依る遊離窒素利用研究報告, 第3號, 33-42, 昭和5年
- 13) 右田正男, 友田政博, 土壤肥科學雜誌, 第3卷, 第3號, 81-90, 昭和5年
- 14) Lohnis, F. and Hansen, R. Jour. Agr. Res. 20 ; 543-556, 1921.

- 15) 板野新夫, 松浦章, 農學研究, 14卷, 432-448, 昭和5年
- 16) Krönig, B und Paul, Th Zeitschr. Hyg. Infekt. 25; 1-112, 1907.
- 17) Bial, M. Zeitschr. Physik. Chem. 40; 513-534, 1902.
- 18) 下川繁次, 國民衛生, 4卷 3號 57-80 昭和2年
- 19) Rudolf; Chemiker Kalender, 374-375, 1926.