

## Pseudomonas solanacearum B19株のウィールス耐性 変異について

松井, 千秋  
九州大学農学部植物病理学教室

<https://doi.org/10.15017/21295>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 14 (2), pp.251-255, 1953-09. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：



# *Pseudomonas solanacearum* B 19 株の ウィールス耐性変異について\*

松 井 千 秋

Studies on the mutation of *Pseudomonas solanacearum*  
B19 strain from virus sensitivity to virus resistance

Chiaki Matsui

1896 年 E. F. Smith が初めて *Pseudomonas solanacearum* に関する研究を公にして以来、幾多の学者の研究は今日に至るも依然としてその跡を絶たない。このように本菌に関する研究が著しく一般の関心を引くに至った所以は、単に本菌は適応性が強く、寄生範囲が広く、従つてその研究の実用的価値が高く評価されたと云うばかりではなく、更に本菌に見られる変異現象には学者の新しい認識と深い興味とを喚起するに足るものがあるからであらう。

本菌の形態、病原性及び生理的諸性質に於ける変異の事実は既に先学のしばしば観察記載しているところである。<sup>10,11,12,13,14,15</sup> また本菌のウィールス感受性から耐性への変異の事実についても、既に松本、岡部、河村によつて報告されているが、<sup>2,9,13</sup> この変異の機序、本態等に関する基本的研究は遺憾ながら未だ盲点として取り残されているかの憾がある。思うに、この分野に於ける研究の発展は当然細菌遺伝学の進歩に深い関連を持つが、謂うまでもなく、個々の細菌はその形質の観察に於て既に研究上多くの困難を伴うばかりでなく、更に総ての細菌に遺伝子の存在事実は未だ十分確証されたとはいえない。この限りに於て細菌の遺伝学的研究は少くとも現段階に於ては著しい制約を免れないが、一方、最近の遺伝学の動向は細菌の変異性研究の将来の在り方にも何か新しい示唆を与えるものではないであらうか。<sup>1,3,5,16</sup>

著者は *Pseudomonas solanacearum* B 19 株<sup>8,13</sup> 及びこれに感受性のある SP<sub>1</sub>h<sub>B19</sub> ウィールス (SP<sub>1</sub>h<sub>1</sub> ウィールス)<sup>8</sup> を使用して、B 19 株の変異とウィールスとの関係を、ウィールスに対する感受性の観点から些か実験考察した。

実験に際し種々御指導を頂いた吉井甫教授、木場三朗助教授、筑紫春生助教授の御好意に深く感謝する。

## ウィールス耐性変異について

*Pseudomonas solanacearum* B 19 株菌浮游液に SP<sub>1</sub>h<sub>B19</sub> ウィールスを加えると、一定時間後溶菌が起つて、今迄菌のために濁濁していた培養液は透明となる。しかし、その

\* 九州大学農学部植物病理学教室業績。

後、培養液中には多数のウィールスが存在するにもかかわらず、培養液は再び涵濁することがあるが、これはウィールス耐性菌の増殖に起因するものと解される。このウィールス耐性菌の発生機序を考察するために下記の fluctuation test<sup>4)</sup> を行つた。

### 1. 原培養液

単一コロイより分離した B19 株菌を葡萄糖加用馬鈴薯煎汁培地（中性）10 cc に培養し（12 時間 35°C）、その 0.1 cc 中に凡そ 1 個の細菌が浮游する程度に高度に稀釈し、稀釈液 0.1 cc を煎汁培地 30 cc に加え 35°C に 30 時間培養して原培養液とする。

### 2. 二次培養液

十数本の殺菌試験管に、原培養液 1 cc づつを採り、これ等を 35°C に 50 時間培養して二次培養液とする。

### 3. 淘汰

二次培養液を A, B の 2 群に分け、A 群は二次培養液 1 本、他は B 群とし、A 群には葡萄糖加用馬鈴薯寒天平板数枚、B 群には培養液 1 本につき一枚づつを配する。平板面には SP<sub>1</sub>h<sub>109</sub> ウィールス液 1 cc（ウィールス濃度  $7.3 \times 10^8$ /cc）を拭げ（淘汰平板培地）、A 群に於ては同一培養液につき数回、B 群に於ては培養液 1 本につき 1 回、二次培養液 0.1 cc づつを取り各ウィールス液面の中央に滴下して混和後寒天培地にて上層を作り、35°C に 2 日間培養すれば、その間に、感受性菌はウィールスによつて溶菌され、上層に生じたコロイは二次培養液中のウィールス耐性菌の増殖によるものと解される。二次培養各液中のウィールス耐性菌数を表示すれば第 1 表の如し。

第 1 表に於て、A 群各 3 の結果より、上記淘汰法にはピペット誤差以外には何等の変動誤差 fluctuation error が含まれていないことは既に明かである。

若し、細菌のウィールス耐性変異が、淘汰操作によつて誘発されるものであると仮定するならば（誘発変異 induced mutation）、変異菌数は、淘汰中に細菌体中で惹起される誘発変異の確率によつて左右されるものと考えられ、同様な、しかも相互に独立した一連の培養各液中（B 群）の変異菌数の変動は、これ等一連の培養液群中の或る培養液 1 本の示すそれ（A 群）と異なることなく、variance は mean に等しくならなければならない。しかし、若し、変異が淘汰操作とは全く無関係に、細菌の増殖中に自然に起り、しかもその形質が遺伝的であると想定するならば（自然突然変異 spontaneous mutation）、培養液中の変異菌数は、1 世代に於ける或る細菌の変異の確率及び変異の生起時期に関係するものと考えられ、従つて変異菌数は培養各液相互間で著しく変動し、variance は mean よりも遙かに大となる筈である。

以上各 3 異つた二つの基盤に立脚して第 1 表の結果を吟味すれば、本菌のウィールス耐性変異は自然突然変異と見る方が論理的により妥当であつて、ウィールスはこの変異の誘発原 mutagene とはならないことになる。

### 変異率 mutation rate について

85 本の試験管に、原培養液 0.1 cc（菌濃度 108/0.1 cc）づつを採り、これ等を 35°C に

第 1 表

| No.                | 1                              |         | 2                 |         | 3                 |         |
|--------------------|--------------------------------|---------|-------------------|---------|-------------------|---------|
| 培 養 群              | A                              | B       | A                 | B       | A                 | B       |
| 培養液番号              |                                |         |                   |         |                   |         |
| 1                  | 17                             | 5       | 130               | 35      | 39                | 25      |
| 2                  | 23                             | 11      | 127               | 91      | 44                | 73      |
| 3                  | 16                             | 57      | 133               | 204     | 53                | 0       |
| 4                  | 19                             | 2       | 133               | 69      | 48                | 21      |
| 5                  | 20                             | 32      | 121               | 78      | 52                | 9       |
| 6                  | 18                             | 13      | 119               | 136     | 55                | 108     |
| 7                  | 25                             | 97      | 138               | 7       | 49                | 27      |
| 8                  |                                | 8       | 134               | 73      | 51                | 84      |
| 9                  |                                | 0       |                   | 31      |                   | 51      |
| 10                 |                                | 27      |                   | 59      |                   | 18      |
| 11                 |                                | 68      |                   | 23      |                   |         |
| 12                 |                                | 0       |                   |         |                   |         |
| 13                 |                                | 45      |                   |         |                   |         |
| 14                 |                                | 106     |                   |         |                   |         |
| 15                 |                                | 51      |                   |         |                   |         |
| 16                 |                                | 0       |                   |         |                   |         |
| 17                 |                                | 22      |                   |         |                   |         |
| 18                 |                                | 0       |                   |         |                   |         |
| Mean               | 19.7                           | 30.2    | 129.1             | 73.3    | 48.9              | 41.6    |
| variance           | 10.3                           | 1,135.6 | 42.1              | 3,175.4 | 27.3              | 1,282.7 |
| $\chi^2$           | 3.2                            | 609.6   | 2.2               | 433.2   | 3.9               | 277.5   |
| P                  | 0.8—0.9                        | <0.01   | 0.98—0.95         | <0.01   | 0.8—0.9           | <0.01   |
| 原 培 養 液<br>濃 度     | 31/cc                          |         | 28                |         | 59                |         |
| 二 次 培 養 液<br>菌 濃 度 | $2.6 \times 10^7/0.1\text{cc}$ |         | $1.9 \times 10^8$ |         | $8.0 \times 10^7$ |         |

50 時間培養して二次培養液 ( $4.7 \times 10^7$ ) とする。淘汰平板培地 255 枚を 85 枚ずつの 3 群に分け、二次培養液 1 本にそれぞれ 3 枚を配する。先づ第 1 群平板に二次培養全液を滴下してウィールス液と混和後寒天培地にて上層を作る。次で、二次培養液管壁に附着した細菌を煎汁培養液 1 cc で洗って第 2 群平板に注ぎ上層を作る。更に二次培養液管壁を同様に洗って洗い、第 3 群平板に注いで上層を作り、全平板を 35°C に 3 日間培養後上層に生じたコロニーによりウィールス耐性菌数を検べ第 2 表の結果を得た。

第 2 表

| 耐 性 菌 数 | 0  | 1—10 | 11—50 | 51—100 | 101—∞ | 計  |
|---------|----|------|-------|--------|-------|----|
| 培 養 液 数 | 28 | 31   | 16    | 5      | 5     | 85 |

前記のように、ウィールス耐性変異が自然突然変異であるとすれば、二次培養各液中の変異菌は相互に全く無関係に発生したものであり、変異菌を含まない二次培養液 ( $C_0$ ) は全培養液 ( $C$ ) に対して Poisson 分布 ( $C_0/C = e^{-m}$ ) をすることになり、 $m$  は変異数となる。従つて変異率  $\mu$  (per bacterium per generation)  $= m \ln 2 / N$  となり ( $N$  は二次培養液の菌濃度)、<sup>1)</sup> 本実験に於ては  $\mu = 1.6 \times 10^{-8}$  となる。

### ウィールス耐性変異菌について

本ウィールス耐性変異菌浮游液に  $SP_1h_{B19}$  ウィールスを加えて一定時間後遠心分離して上澄液のウィールス濃度を検するに (吸着実験)、<sup>2)</sup> そのウィールス濃度には何等の増減が見られず、本菌がウィールス吸着能力を失っていることが容易に判る。しかし、本菌の変異が単にウィールス吸着能力の喪失のみに限られているものか、或は更にその後のウィールスの生活環をも十分阻止し得るものであるかは未だ明かでない。ただ、本変異菌も、その野生型即ち B19 株に対して感受性を有する  $SP_1h_{B19}$  以外のウィールス群に対する感受性を依然保持している事実より考察すれば、このウィールス耐性変異は細菌のウィールス吸着機構に於て最も顕著に現われるものと思われる。しかし、細菌のウィールス吸着機構に関する知見は今猶十分ではなく、<sup>3)</sup> 従つて耐性変異機構の完全な解明は将来の研究成果に待つはかばかしい。なお、ウィールス耐性変異と他の諸変異との関係、変異菌と病原性との関係等については更に詳細に実験考察するつもりである。

### 摘 要

$SP_1h_{B19}$  ウィールスに対する *Pseudomonas solanacearum* B19 株のウィールス耐性変異はその増殖中に生起する自然突然変異と解され、その変異率は、 $1.6 \times 10^{-8}$  である。

本耐性変異菌は  $SP_1h_{B19}$  ウィールス吸着力を喪失し、従つてウィールス耐性であるが、 $SP_1h_{B19}$  以外のウィールスに対する感受性は依然保持している。

### 文 献

1. Catcheside, D. G., The Genetics of Micro-Organism, 1951. Sir Isaac Pitman & Sons, Ltd.
2. 河村榮吉, 九州帝国大学農学部学芸雑誌, 9, 2, 1940.
3. Lederberg, J., Ann. Rev. Microbiol., 3, 1, 1949.
4. Luria, S. E., M. Delbrück, Genetics, 28, 491, 1943.
5. Luria, S. E., Bact. Rev., 11, 1, 1947.
6. 松井千秋, 九州大学農学部学芸雑誌, 13, 36, 1951.
7. 松井千秋, VIRUS, 2, 83, 1952.
8. 松井千秋, 九州大学農学部学芸雑誌, 14, 43, 1953.
9. 松本巖, 岡部徳夫, 病虫害雑誌, 22, 15, 1935.
10. 中田覚五郎, 農学会報, 294, 185, 1927.
11. 岡部徳夫, 日本植物病理学会報, 7, 95, 1937.

12. 岡部徳夫, 日本植物病理学会報, 14, 66, 1950.
13. 岡部徳夫, 後藤正夫, 静岡大学農学部研究報告, 2, 64, 1952.
14. 岡部徳夫, 後藤正夫, 静岡大学農学部研究報告, 2, 94, 1952.
15. Smith, E. F., Bacteria in relation of plant diseases, 3, 1914. Carnegie Institution of Washington.
16. Tatum, E. L., D. D. Perkins, Ann. Rev. Microbiol., 4, 129, 1950.

### S u m m a r y

According to the statistical analysis of the results obtained from fluctuation test, the genetic change of *Pseudomonas solanacearum* B19 strain from SP<sub>1hB19</sub> virus sensitivity to virus resistance was assumed theoretically to the spontaneous mutation occurred during the life cycle of each cell, and the mutation rate determined experimentally was  $1.6 \times 10^{-8}$ .

The mutation was associated with failure of the mutant to adsorb SP<sub>1hB19</sub> virus to which it had been resistant. But yet, the mutant was still sensitive to the other viruses, so it was assumed that the resistance was due to the specific failure of the adsorption mechanism to SP<sub>1hB19</sub> virus.

Laboratory of Plantpathology, Faculty of Agriculture, Kyushu University.