

## イネ白葉枯病菌ファージの各種白葉枯病系統菌に対する吸着と溶菌斑形成効率について

田中, 行久  
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/21588>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 19 (4), pp.403-409, 1962-07. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：

# イネ白葉枯病菌ファージの各種白葉枯病系統菌 に対する吸着と溶菌斑形成効率について\*

田 中 行 久

On the adsorption of oryzae phage on *Xanthomonas oryzae* bacterium and its plaque forming efficiency

Yukihisa Tanaka

## 緒 言

バクテリオファージと宿主細菌の相互作用は、3つの大きな段階を通じて成立しているとみなし得る。すなわち、ファージの宿主細菌への吸着侵入、ファージ粒子数の増加、及び溶菌時のファージ放出の各段階である。

ファージ粒子の細菌への吸着は、1940年、M. Delbrück の精巧な実験<sup>1)</sup>に端を発して以来多くの研究者の注目するところとなつたが、就中、吸着機序についてはその後、F. M. Burnet らの Receptor spot theory<sup>2)</sup> や、T. F. Anderson の Adsorption cofactor theory<sup>3-4)</sup>が現出するに及んで、更には T. T. Puck<sup>5)</sup>らによりファージの吸着に関する化学的諸条件が明らかにされたことより、ここによりやく謎の1部がときほぐされるに至つた感がある。

著者は以上の諸学説に留意しつつ、*X. oryzae* phage OP<sub>1</sub>, OP<sub>1h</sub> 及び OP<sub>2</sub> の各種系統菌への吸着率と、plaque forming efficiency について実験を行ない、若干の知見を得たのでここにとりまとめて報告する。

## 材料及び方法

### 1. 供試ファージの種類及び細菌の種類とそれら相互間の溶菌性関係

溶菌性関係を表示すれば Table 1 の通りである。

Table 1. The lysis relationships between three bacteriophages and their nine host bacteria used in this experiment.

Isolate Phage	K12,	K58,	60,	11,	B,	K7,	I-8-2,	K7/r,	11/r,
OP <sub>1</sub>	—	+	+	+	—	—	—	—	—
OP <sub>1h</sub>	—	—	—	—	+	+	—	—	—
OP <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Strain	IV	I	I	I	III	III	V	V	V

\* 九州大学農学部植物病理学教室業績。

本実験に当り種々御教示を賜つた吉井教授・木場助教授に深謝の意を表する。

Table 1 における様に、3種のファージと9種の細菌株の間においては各々 I, III, IV 及び V の strain が存在し、ファージに対する感受性に相違がみられる。<sup>9)</sup>

## 2. 吸着の実験方法

実験方法の概略を図示すれば Fig. 1 の通りである。

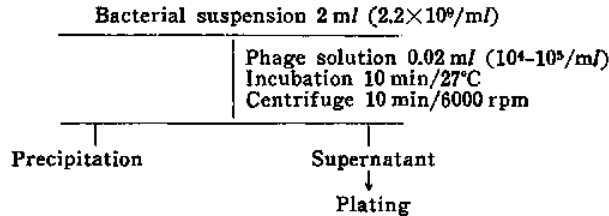


Fig. 1. A method for the adsorption experiment of the phages on the host bacteria.

Cavf 培地 2 ml に、馬鈴薯半合成培地にて 24 時間培養した各菌株の各々 2 白金耳 ( $2.2 \times 10^9$ /ml/1 白金耳) 量宛かきとつて均一な細菌浮遊液を作り、この細菌浮遊液 2 ml にファージ液 0.02 ml ( $10^4 \sim 10^5/0.01$  ml) を加えて 27°C に保ち、そのまま一定時間放置後、直ちに遠心分離 (6000 rpm/10 min) して細菌を落とし、その上澄液中のファージ濃度を plaque count method によつて調べた。

## 3. Plaque forming efficiency

一定濃度のファージ液 0.01 ml ( $3.5 \times 10^2 - 6 \times 10^2$ ) を各種感受性菌株の細菌浮遊液 2 ml ( $2.2 \times 10^9$ /ml) に添加し感染せしめた後、10 ml の溶解馬鈴薯半合成培地と共に予め流し込み乾固しておいた寒天 (10 ml) 上に流し込んで、27°C に 18 時間保つて後、形成した plaque を数えた。

## 実験結果

### A. ファージ吸着に関する実験

#### 1. 最適条件下におけるファージ吸着の経時的变化

ファージ吸着の経時的变化の実験には、OP<sub>1</sub>、OP<sub>1h</sub> 及び OP<sub>2</sub> の 3 種のファージを用い、OP<sub>1</sub> phage には 60 菌株を OP<sub>2</sub>、OP<sub>1h</sub> の両 phage には K7 菌株を用いて実験を行なつた。

Fig. 2 においてみられる様に、いづれのファージもファージ液添加と同時に最高の吸着率を示し、その後 20 分を経るまで一定である。これは松井の *Pseudomonas solanacearum* phage の吸着能とは異なつた結果を示し、興味深い。<sup>7)</sup>

#### 2. OP<sub>1</sub> phage の各種系統菌に対する吸着

Table 2 において見られる様に、ファージの各種菌株に対する吸着率にはかなりの相違が認められる。特に感受性菌株の K 58, 60, 11 は各々 81.8, 84.2, 85.2 % のほぼ等しく然も高い吸着率を示すが、一方非感受性菌株 (I-8-2, B) 及びファージ耐性菌株 (11/r, K7/r (Table 1 参照)) への吸着率は極めて低く、各々 0.6~1.3 % の吸着率を示すに過ぎない。非感受性菌株の K7 のみは感受性菌株と同様の高い吸着を許すことが見出された。これは

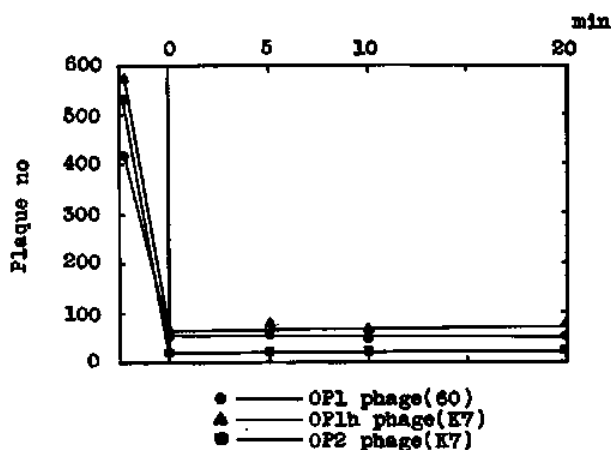


Fig. 2. Graph showing the decreases of the phage particles which are remaining free in the mixed culture of host bacteria under optimum conditions with the lapse of time.

Table 2. The adsorption rates of OP1 phage on various host bacteria.

	Cont,	K12,	K58,	60,	11,	B,	K7,	I-8-2,	K7/r,	11/r,
Plaque No. 1	135*	21	26	23	35	140	18	120	147	133
2	142	22	24	23	20	121	20	126	127	120
3	147	24	27	17	17	—	19	127	125	141
Average	141.3	22.3	25.7	21.0	24.0	130.5	19.0	124.3	133.0	131.3
%	0	84.2	81.8	85.2	83.1	0.8	86.6	1.3	0.6	0.7

\* no. of phages not adsorbed.

吸着を許すが溶菌されない菌株であることを示している。

### 3. OP<sub>1h</sub> phage の各種系統菌に対する吸着

OP<sub>1h</sub> phage は Table 1 で明らかな様に、OP<sub>1</sub> phage とは相反した溶菌性を示し、OP<sub>1</sub> phage に感受性の菌株に対しては非感受性を示す全く逆の性質を有するファージである。各菌株への吸着は、OP<sub>1</sub> phage と同様に感受性菌株 (B, K7) に対して高く、69.6, 97.3% の吸着率を示すが、非感受性菌株及びファージ耐性菌株には非常に低いか或いは全くこれを許さない。

Table 3. The adsorption rates of OP1h phage on various host bacteria.

	Cont,	K12,	K58,	60,	11,	B,	K7,	I-8-2,	K7/r,	11/r,
Plaque No. 1	162*	94	126	155	160	40	6	121	189	146
2	160	95	120	154	165	58	3	112	134	157
Average	161.0	94.5	123.0	154.5	162.5	49.0	4.5	116.2	161.5	151.5
%	0	41.4	23.7	0.4	0.9	69.6	97.3	27.6	0.3	0.6

\* no. of phages not adsorbed.

4. OP<sub>2</sub> phage の各種系統菌に対する吸着Table 4. The adsorption rates of OP<sub>2</sub> phage on various host bacteria.

		Cont,	K12,	K58,	60,	11,	B,	K7,	I-8-2,	K7/r,	11/r,
Plaque No.	1	830*	40	198	156	110	149	23	870	830	840
	2	820	57	204	180	117	144	16	840	820	827
	3	790	—	—	150	—	—	—	820	860	831
Average		813.3	48.5	201.0	162.0	113.5	146.5	19.5	843.3	836.6	832.7
%		0	94.1	75.3	80.1	86.1	82.0	99.8	-10.3	-2.8	-2.4

\* no. of phages not adsorbed.

Table 1 より明らかな様に, OP<sub>2</sub> phage は OP<sub>1</sub>, OP<sub>1h</sub> の両 phage より広い寄主範囲を有し, 各菌株に対する吸着率にもかなりの相違がみられる. すなわち, 感受性菌株への吸着率は, 非感受性菌株及びファージ耐性菌株に対するよりも高いが, 感受性菌株内においては, 各々 75.3~99.8% の吸着率を示す様に高い吸着を許す菌株としからざる菌株とがあり, その吸着率は菌株により異なつた結果を示す. 非感受性菌株や, ファージ耐性菌株への吸着は全く認められない.

以上の Tables 2, 3, 4 の結果を一括して図示すると Fig. 3 の通りである.

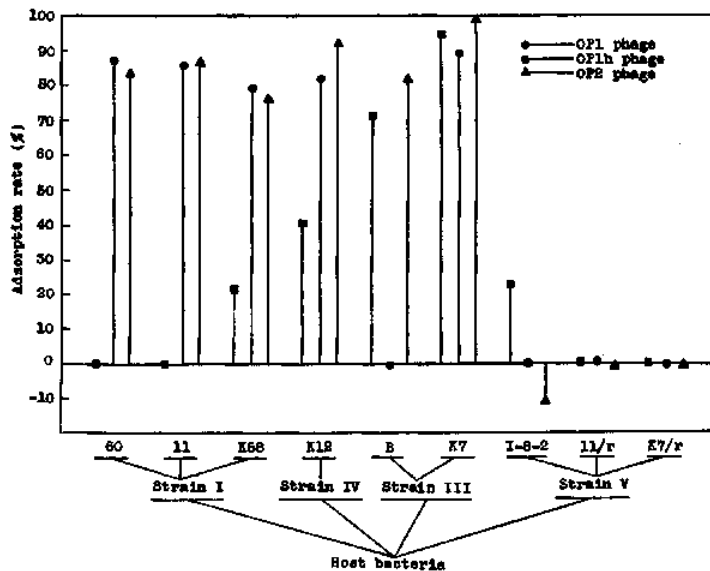
Fig. 3. Diagram of the adsorption rates between *X. oryzae* phages and their host bacteria.

Fig. 3 から明らかな様に, 3種のファージと各菌株との吸着の関係においては, 宿主細菌の系統の違いによつて吸着率が著しく異なつていることがわかる. Strain I の 11, 60, K58 の中で, 11 と 60 はほぼ類似した吸着の傾向を示すが, K58 は OP<sub>1h</sub> phage のかなりの吸着を許す. 一方, strain III において, B は 60, 11 とは反対に OP<sub>1</sub> phage の

吸着を全く許さないが、K7はこのファージに対して高い吸着能を示し、溶菌を受けないが吸着を受ける菌株であることが認められた。Strain Vにおいては、I-8-2がOP<sub>1</sub>h phageのわずかな吸着を認めた以外全く吸着を認めない。

### B. Plaque forming efficiency についての実験

Table 1より明らかな様に、ファージ・細菌系の間には溶菌性に著しく異なつた関係が見出されたが、同一のファージに対して著しく感受性を示す菌株間においても、吸着率にはかなりの差異を認めたことより plaque forming efficiency においても相違を有するものであるか否かについて検討を加えてみた。以下その結果を示せば次の通りである。

#### 1. OP<sub>1</sub> phage の示す plaque forming efficiency

Table 5. Plaque forming efficiency of OP<sub>1</sub> phage in the mixed culture with the susceptible host bacteria.

Host bacteria	11,	60,	K58,	
Plaque No.	1	510.0	560.0	540.0
	2	600.0	540.0	620.0
	3	540.0	570.0	500.0
	4	500.0	540.0	540.0
	5	530.0	580.0	540.0
Average	536.0	558.0	548.0	

#### 2. OP<sub>1</sub>h phage の示す plaque forming efficiency

Table 6. Plaque forming efficiency of OP<sub>1</sub>h phage in the mixed culture with the susceptible host bacteria.

Host bacteria	B,	K7,	
Plaque No.	1	350.0	430.0
	2	420.0	440.0
	3	410.0	410.0
	4	410.0	360.0
	5	370.0	420.0
Average	392.0	412.0	

#### 3. OP<sub>2</sub> phage の示す plaque forming efficiency

Table 7. Plaque forming efficiency of OP<sub>2</sub> phage in the mixed culture with the susceptible host bacteria.

Host bacteria	60,	11,	K58,	K12,	B,	K7,	
Plaque No.	1	620.0	630.0	660.0	630.0	246.0	660.0
	2	650.0	600.0	680.0	620.0	209.0	720.0
	3	610.0	680.0	640.0	610.0	290.0	540.0
	4	660.0	580.0	670.0	650.0	260.0	580.0
	5	670.0	620.0	620.0	630.0	310.0	650.0
Average	642.0	622.0	654.0	628.0	263.0	630.0	

以上の成績より菌株間における plaque forming efficiency の相違は認められず、OP<sub>2</sub> phage のB菌株に対する efficiency が同じ他の感受性菌株よりも小であることが認められたに過ぎない。

## 考 察

バクテリオファージ粒子の宿主細菌細胞への吸着は、電子顕微鏡検査で容易に観察、検査出来る一方、定量的にはファージと宿主細菌との混合液から遊離ファージ量の消失を調べることにより明らかにすることが出来る。

一般に、ファージ親和性細菌の浮遊液にファージを加えると、ファージは速かに菌体表面に不可逆的に吸着し、遊離ファージは時間の経過と共に減少し始める。

吸着機序に関する多くの報告の中で、M. Delbrück の *Eschericia coli* の場合や<sup>6)</sup>、松井による *Pseudomonas solanacearum* のファージ吸着の場合では<sup>7)</sup>、各々上澄液中の遊離ファージは時間の経過と共に直線的に減少し、凝一次反応 (reaction closely related of the first order reaction) に従うとしている。又氏らによると、宿主細菌の生理的条件の相違によつてその吸着率にかなりの差異がみられるとしているが、著者の実験では、ファージ・細菌系の種類によつて吸着の特異性や、吸着率に相違がみられた。

これは、ファージによる病原細菌の同定や細菌数の比較等の際には問題となつて来ることを示す。従つてそれらの実験の際には、予め高い吸着能を有し、しかも plaque forming efficiency においても良好なファージ・細菌系を検索しておき実施する必要がある。

## 摘 要

*Xanthomonas oryzae* phage OP<sub>1</sub>, OP<sub>1h</sub> 及び OP<sub>2</sub> の各種系統菌株への吸着率は、宿主細菌株の種類により大きく左右され、その最も高率のものは感受性菌であるが、同じ感受性菌株の中でも高率の吸着を許すものと低率のものがあり、この両者の間は連続的である。

非感受性菌株や、ファージ耐性菌株は一般的には極めて低率の吸着を許すか、あるいは全くこれを許さないが、K7 菌株に対する OP<sub>1</sub> phage の吸着率の様に高い吸着能を示す場合もある。

Plaque forming efficiency は、感受性菌株間では大きな相違はないが、ファージと細菌の組合せによつては plaque の大きさ、鮮明度等に違いがみられる。

## 参 考 文 献

1. Anderson, T. F. (1948). J. Bact., 55: 637.
2. ———— (1948). Ibid., 55: 651.
3. ———— (1948). Ibid., 55: 659.
4. ———— (1948). Ibid., 56: 403.
5. Burnet, F. M. (1934). Biol. Rev., 9: 332.
6. Delbrück, M. (1940). J. Gen. Physiol., 23: 631.
7. 松井千秋, (1951). 九大農芸誌, 13(1-4): 36.
8. Puck, T. T. (1953). Cold Spring Harbor Quant. Biol., 18: 149.
9. 田中行久, (1960). 九州病虫害研報, 6: 67.

### Summary

Present paper deals with the results of the experiment on the adsorption of *Xanthomonas oryzae* phages: OP<sub>1</sub>, OP<sub>1h</sub> and OP<sub>2</sub> on their nine host bacteria containing the phage susceptible, non-susceptible and resistant bacteria, and of the plaque forming efficiencies of phages on their susceptible host bacteria under optimum conditions.

It was found that the adsorption rates of three phages are higher on the phage-susceptible bacteria, and lower or none on the non-susceptible and resistant bacteria.

The adsorption of OP<sub>1</sub> phage on the non-susceptible bacterium K7 showed, however, high value as on the susceptible bacteria, while slight adsorption rate of OP<sub>1h</sub> and OP<sub>2</sub> phages was shown on their resistant bacterium I-8-2.

Laboratory of Plant Pathology,  
Faculty of Agriculture,  
Kyushu University