

昭和 63 年 度

微生物遺伝資源探索収集調査報告書

1 9 9 0 . 3

農業生物資源研究所

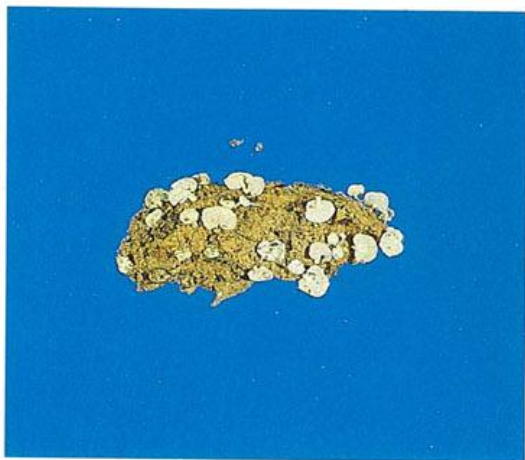
生 物 研 資 料 元 - (5)

1990年3月

とりまとめ
(連絡先)

生物研 遺伝資源第一部
微生物探索評価研究チーム
TEL 0298-38-7452

微生物の探索収集プロフィール



小笠原諸島・母島の桑木山にて収集した
ヒナノウチワ



病原性確認のためのブドウ新梢（巨峰）
への単針付傷接種



ネパールの餅麹「マーチャ」の製造風景。
練った米粉を整形し、発酵させる。



ネパール国中央食品研究所の協力を得て、
収集した「マーチャ」より発酵米を調整
し、菌を分離する。

は じ め に

地球環境問題が世界的規模で大きくクローズアップされ、様々な国際会議が開かれている今日、遺伝資源の大切さは日増しに高まっている。この中で、微生物遺伝資源の収集は古くから実施されているところであるが、バイオテクノロジーの発展により、ある微生物から取り出した遺伝子を別種の微生物に組み入れることはそれほど困難で無くなりつつある現在、微生物の収集は正にこれまでにない新たな遺伝子を収集する時代になった。農林水産省においても、遺伝子資源の重要性を認識し、今後の重要な基盤的研究として位置づけ今後の推進すべき課題と認識している。しかし、一方その貴重な遺伝子資源を収集することはますます難しくなりつつある。特に、海外における遺伝子資源の収集は、その国との共同研究を基盤として成り立つものであり、相互理解と相互に同じ利益を受けられることが大切である。

農林水産省で実施しているジーンバンク事業は、これからの農業の新たな機能を持つ生物資源の開発に不可欠な遺伝資源を収集・評価し、保存、配布するもので、農業技術の開発の基礎になるとともに、生物学をはじめとする科学の発展に寄与するものである。農林水産ジーンバンク事業の微生物部門では、毎年国内数チーム、国外1チームを派遣して微生物の探索・収集を実施しているところである。探索・収集された微生物遺伝資源は、それぞれの微生物株について特性評価を行い、種の同定が完了し、特性が明らかになったものから順次農林水産省ジーンバンクに微生物株を登録し、広く公開している。

昭和63年度に行われた微生物の探索・収集は、国内では、小笠原諸島における亜熱帯農業地域の菌類、果樹類の根頭がんしゅ病菌とウイルス様病原体、亜熱帯地域における食品関連糸状菌、大型褐藻分解菌の4チームによる探索・収集を、国外では、ネパール国における発酵食品に関連する微生物の1チームの探索・収集を実施した。本報告書は、昭和63年度に実施した微生物の探索・収集の結果を取りまとめたものである。

国内、国外の微生物遺伝資源の探索・収集にあたって、ご協力頂いた多くの関係各位、ならびに探索・収集を実施され、報告書を作成された方々、また、国外の探索・収集にあっては外国の研究者および関係各機関に記して感謝の意を表します。

平成元年11月

遺伝資源第一部長

鈴 井 孝 仁

凡 例

各報告書の表中の微生物群、微生物種類、利用区分の項には以下のコード番号を用いた。

〈 微生物群 〉	〈 微生物種類 〉	〈 利用区分 〉
100 環境微生物	01 細菌	11 植物病原体
200 家畜微生物	02 放線菌	12 動物病原体
300 食品微生物	03 酵母	13 藻類病原体
	04 糸状菌	14 生産への利用
	05 ウイルス	20 食品加工への利用
	06 ファージ	30 代謝産物への利用
	07 マイコプラズマ	40 微生物菌体の直接利用
	08 リケッチア	50 バイオマス変換の利用
	09 DNA・RNA	60 環境保全・浄化への利用
	10 形質転換菌	70 バイオテクノロジーへの利用
	11 その他	
	12 植物細胞	
	13 動物細胞	
	14 原虫	
	15 線虫	

目 次

	ページ
まえがき	i
凡 例	ii
I. 国内探索収集報告	
1. 小笠原諸島の亜熱帯農業環境における菌類遺伝資源の収集および特性解明…… 1	
農環研・環境生物部	
微生物特性・分類研究室	佐 藤 豊 三
2. 果樹の根頭がんしゅ病菌およびブドウウイルス病様症状の探索収集および特性解明…… 21	
果樹試・安芸津支場	
病害研究室	今 田 準・澤 田 宏 之
3. 亜熱帯地域に棲息する食品関連の特殊糸状菌の収集…………… 29	
食総研・食品保全部	
貯蔵微生物研究室	鶴 田 理
4. 北海道における大型褐藻分解細菌の探索収集…………… 39	
中央水研・利用化学部	
応用微生物研究室	中 山 昭 彦・内 田 基 晴
II. 国外探索収集報告	
1. ネパール国における伝統的な発酵食品の調査および食品微生物の調査…………… 59	
食総研・応用微生物部	
微生物利用第一研究室	新 國 佐 幸
III. 前年度までの探索収集実績のまとめ…………… 72	

I . 国内探索収集報告
(昭和63年度)

I-1. 小笠原諸島の亜熱帯農業環境における 菌類遺伝資源の収集および特性解明

農業環境技術研究所 環境生物部 微生物特性・分類研究室

佐 藤 豊 三

1. 目的

微生物遺伝資源の探索・収集に関して熱帯・亜熱帯にはいまだ未開拓の地域が多く、わが国では小笠原諸島がその一つに挙げられる。同諸島は国内の亜熱帯地域の中では最も温暖で、一般住民のいる父島および母島では多種多様な熱帯・亜熱帯作物が導入、栽培されている。これらの作物に寄生、着生あるいは共生する菌類のなかには本土では手に入らない重要なものも多い。わが国では、そのような菌類を国外の熱帯・亜熱帯地域より輸入し一般に利用することが、植物防疫法上厳しく制限または禁止されていることから、同諸島において様々な農業環境微生物を探索・収集することが極めて有意義であることは言うまでもない。

他方、同諸島は典型的な海洋島で、分布する全植物種の50%以上が固有種であるほか、現在までに分布の明らかになったおよそ370種の菌類のうち、約170種は新種として報告され、しかもそれらには3新属が含まれている。このように同諸島では、日本本土やアジア大陸その他の地域とは全く異なる生物相が発達しており、特に調査研究の遅れている微生物分野では多くの有用未知種の存在が予想される。そこで、現地へ赴き、本土に無いあるいは施設でしか見られないような作物を採集する一方、農耕地周辺においても小笠原固有種を含む一般植物、およびきのこ類を中心に採集を行い、それらより菌類を分離・収集することとした。また、これらの収集菌株のうち重要と思われるものについては特性解明を行い、それらの有効利用を図ることとした。

2. 実施の概要

実施時期は、小笠原諸島の海洋性亜熱帯気候の特徴が顕著な7月初旬に設定した。この時期は天候が最も安定しており、様々な熱帯・亜熱帯作物の生育が旺盛で、それらに関わる菌類を採集するのに好適だからである。7月1日より6日までの間、東京都小笠原村父島および母島の農耕地とその周辺において自動車移動しながら採集を行い、東京都小笠原亜熱帯農業センターあるいは民宿において採集品から菌類の分離を行った(表1, 図1)。なお、本土・小笠原間および父島・母島間は船便が唯一の交通手段であったため、まる2日半は船中で過ごし、乗り合わせた同農業センター職員と採集計画の打ち合せや採集品の整理、標本作成等を行った。比較的保存状態のよい採集品については、生のまま研究室に持ち帰って分離を行った。分離菌株は研究室で同定した後、重要と思われるものについて接種試験等により二次特性の解明を行った。

上記の期間、筆者は園芸作物、特用作物の他、野外の一般植物およびきのこ類を主に採集したが(表2)、その前後に現地からいくつかの試料が送られてきたので、それらも今回の探索収集の材料に含

めることとした。

3. 収集成果

1) 方法

I. 採集および分離

作物および一般植物は、主に何等かの病変の認められる部分を、また、きのこ類はできるだけ新鮮なものを採取した。採集品は紙封筒かまたはポリエチレン袋にいれ、密封せずに分離場所まで運搬した。

分離は主に次の三つの方法により行った。

(1)組織分離法：植物の病変部を一辺1 cm以下に切り出し、70%エタノールに数秒、次に5～10%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に30～60秒それぞれ浸漬した後、硫酸ストレプトマイシン200～400ppm加用1.5%素寒天培地（sWA）または同2%ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地（sPDA）に静置した。これを数日間実験室内で培養した後、伸長してきた糸状菌の菌糸先端を移植し分離菌株とした。

(2)直接分離法：内側に湿らせたろ紙を貼付けた大型シャーレに採集品を入れ、数日間実験室に静置した後、その上に形成された糸状菌の胞子等を実体顕微鏡の下で柄付き針ですくい取り上述のsPDA培地に植えた。これを同じく実験室で培養後、形成された単コロニーの周縁部をかき取って移植し分離菌株とした。

(3)胞子落下法：きのこ類（担子菌類）の子実体をシャーレのふたに貼付け、sPDA培地のプレートにかぶせて数時間から半日室温下に静置し、担子胞子を培地上に落下させた後、ふたから子実体を除去してさらに1日ないし2日間培養した。この培地上に形成された単コロニーの周縁部をかき取って移植し、分離菌株とした。

なお、細菌による汚染の著しい採集品や細菌の除去しきれなかった菌株については、ファンティガンセルを用いた細菌除去法（「土壤病害の手引」，植物防疫協会，1984）により分離あるいは再分離を行った。また、二次特性評価に供した菌株等、胞子形成の良好な一部の株については希釈平板法による単胞子分離を行った。

II. 特性解明・評価

(1)一次特性

各分離菌株は実験室内（15℃～30℃，散光下）においてストレプトマイシンを含まないPDA試験管斜面培地上で培養し、分生子等同定に利用できる形態が形成されたものから順次顕微鏡用プレパラートを作成し、一次特性の解明を行った。鞭毛菌類については、1.5%素寒天培地に移植・培養後に形態観察および同定を行った。なお菌株の一次特性の解明に際しては、分離源の乾燥標本も調査し同定の参考とした。

(2)二次特性

現地で問題になっている以下の二病害の病原菌について接種試験により病原性の評価を行った。また、子実体に発光能を持つきのこ1種の人工的子実体形成を試みた。

①クダモノトケイソウの炭そ病菌

現地で増殖用の挿し穂に大きな被害が出ているところから、当研究所の温室内で育成したクダモノドケイソウの茎を約20cmの長さに切り、1菌株当たり13本を接種用の挿し穂として供試した。菌株整理番号40、45、46および51の株を25℃、麦芽エキス寒天培地で12日間培養して得られた各分生子懸濁液（約5000個/ml）をその挿し穂に塗布し、菌株別にバーミキュライトの挿し床に挿した後、25℃の恒温温室に静置して連日観察した。対照区として、滅菌蒸留水を塗布した挿し穂を別の挿し床に植えた。

②キュウリの綿腐病菌

花落ち部側に針で刺し傷を付けたキュウリ未熟果5本と、無傷のもの5本に整理番号135の株の含菌糸V-8ジュース寒天ディスク（直径4.5mm）を貼付け、湿らせたろ紙で内張りした密閉容器に入れて30℃に保った。対照区として、無菌のV-8ジュース寒天ディスクを貼付けた5本の未熟果を同様に処理した。同菌株はまた、PDAプレートに植えて30、33、37、40℃の各温度での生育を観察した。

③ヤコウタケの人工的子実体形成

1988年7月3日父島で採集したサトウキビの茎を10～20cmの長さに切って三角コルベンに入れ高压蒸気滅菌したものに、整理番号123、124および133の菌株を移植し、実験室内に静置した。培地として用いたサトウキビは、現地で沖縄系と呼ばれる茎の赤紫色のものと、茎が黄緑色のラハイナと呼ばれる2系統である。

2) 結果

I. 収集株の一次特性および利用区分

今回、小笠原村父島および母島において得られた採集品は、表2に示したように農作物52点、それ以外の一般植物24点、きのこ類7点、合計83点であった。それらより分離された菌株は合計464株で、そのうち属以下の分類群に同定できたのは345株（表3）、未同定のものが119株であった。未同定株には変形菌類4株および酵母類54株が含まれており、同定にはさらに時間を要する。同定株のうち一次特性の明らかになった、すなわち種または変種のレベルまで同定できたものは、212株でそれらは26属30種に類別された。また、属レベルまで同定できた133株は20属に類別され、前出の26属との重複を除くと同定されたのは40属46種以上にのぼる（表3）。同定株の利用区分別の内訳は、植物病原菌（腐生性菌を含む）313株、環境保全、浄化菌（拮抗菌、重複寄生菌）4株、食用菌7株、バイオテクノロジーへの利用等特殊用途菌20株である。これらのうち有用と判断された65株は、すでに農林水産省微生物ジーンバンクのアクティブコレクションとして登録した（表3）。その内訳は、植物病原菌（腐生性菌を含む）60株、環境保全、浄化菌（拮抗菌、重複寄生菌）1株、食用菌1株、バイオテクノロジーへの利用等特殊用途菌3株である。

今回の探索収集の目的の一つは、熱帯・亜熱帯の農業環境に特異的な菌類を収集することであるが、少なくとも9種51株は明らかに熱帯性と判断されるものであった。そのなかには、子実体に発光能をもつヤコウタケ（122～134）およびヒナノウチワ（174～181）が含まれており、バイオテクノロジーへの利用が期待されるほか、国内のカルチャーコレクションには保存されていないコーヒーの病原菌（192～197、202～204）やサトウキビ黒穂病菌（1～9）、モモタマナ灰斑病菌（171～173）等貴重なものが多い。また、熱帯の香料作物ベチバグラスの斑点病（仮称）は今回初めて国内での発生が認められ、その病原菌株（198～201）は亜熱帯性の系統と考えられる。炭そ病菌が様々な熱帯・亜熱帯

作物および小笠原の固有植物より多数分離され（表3）、これらも比較的高温域での生育がよいところから亜熱帯系と言えよう。

病害防除（環境保全）に利用が期待されるものとしては、さび病菌の特異的重複寄生菌である *Sphaerellopsis filum* (Bivona-Bernardi ex Fries) Sutton (169, 170) および *Tuberculina* sp. (237) がそれぞれサトウキビあるいはオガサワラグミのさび病菌胞子堆より得られた。また、リュウビンタイの白絹病菌とともに分離された *Trichoderma* sp. (224) は同病菌に対する拮抗性が明らかである。この菌株のように有用性が認められるにもかかわらず、種の同定が不完全なためにアクティブコレクションに登録していない株がいくつかあるが、今後それらの同定に努め、種が判り次第登録する予定である。

II. 二次特性の評価

①クダモノトケイソウの炭そ病菌

接種源に用いた4菌株はすべて1週間以内に挿し穂を発病させ、1ヶ月以内にその全体あるいは半分以上を枯死させ、現地で観察された病徴を再現した。また、約2週間後には挿し穂の枯死部に炭そ病菌特有の分生子層を多数形成した。以上の結果より、同4菌株は明らかにクダモノトケイソウに病原性を有することが明らかとなった。なお、形態的特徴よりこれらはいずれも *Colletotrichum gloeosporioides* Penzig と同定された。

②キュウリ綿腐病菌

有傷接種区ですべての未熟果が接種後わずか1日で発病し、3日後には果実全体が菌糸に被われて腐敗し、採集品と同様の病徴が再現された。これに対し、無傷接種区では含菌糸ディスクの周囲にわずかに菌糸の伸長が見られたのみで、果実の腐敗は起きなかった。以上の結果より、接種源の菌株はキュウリの未熟果に対して極めて強い病原性を有するが、傷が無ければ侵入できないことが明らかとなった。また、同菌株は33～37℃の間で最も生育が速く、PDA上でのコロニー直径は1日で6cm以上に達した。このような高い生育適温での速い生育と形態的特徴から、同菌株は *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. と同定された。

③ヤコウタケの人工的子実体形成

1988年8月19日の菌株植え付けよりすでに1年以上経過したが、一部のコルベンでサトウキビチップ上に白色ないし淡褐色の菌糸生育が見られるのみで、子実体の形成はいまだ観察されていない。菌糸生育の最も良好な試験区は、父島のサトウキビ枯茎上の子実体より分離した123を沖縄系に植えたものであり、そのほか、124を沖縄系に接種した区でもわずかながらチップ表面に菌糸生育が観察されている。野外ではヤコウタケは一般にかなり分解の進んだ材等の上に発生する場合が多いことから、子実体の形成にはさらに時間を要するものと予想される。

4. 所感

以上述べたように正味4日足らずの短い探索収集期間と乏しいマンパワーにもかかわらず、国内の菌株保存機関にないものを含めて多種多様な菌類が小笠原諸島から得られた。今回は採集地を父島と母島のみにとどめ分離目標を菌類に絞ったが、30近い同諸島の無人島も含め微生物全般にわたってさ

らに探索を行えば、未知の有用微生物が得られる可能性は充分にあると考える。実際一部の企業では同諸島の微生物資源に着目しており、すでに探索収集を進めているところもある。筆者自身いま一度同諸島に赴いて是非とも広範な探索収集を行いたいと思う次第である。

今回は諸般の事情から出張期間に余裕がなかった上、1名のみで探索収集活動を行ったため、実施期間とその前後は多忙を極めた。採集したその日の内に分離作業から採集品の整理、標本作成に至るまで1人でこなすにはまさに超人的な気力と体力を要し、現地では連日夜遅くまで作業に追われた。出張前の準備と帰還後の分離作業や特性解明においても筆者の力に余ることがしばしばで、研究室の方々をはじめ関係諸氏に多大なご迷惑をおかけした。また、この探索収集では採集する各サンプルの量は比較的少なくて済んだが、目的のものを効率よく分離・収集するためにはサンプルを採集後すみやかに処理しなければならず、そのために現地に持参した器材類は個人の運搬能力をはるかに越える量と重さになった。今後、このような微生物の探索収集においては十分な予算と時間を用意し、2名以上のチームを組んで作業を分担することが望ましいと考える。

以上のような厳しい条件ではあったが、現地の方々をはじめ当研究所諸氏のご協力のおかげで、筆者としては予想以上の収集結果を得ることができた。特に東京都小笠原支庁、亜熱帯農業センターおよび同母島営農研修所には移動用の自動車と分離作業のために施設の一部を提供して頂いたほか、実験圃場での試料採集に便宜を図って頂いた。ここに記して厚く御礼申し上げる。採集と情報収集に快く協力して下さった現地の農家と農業関係者の方々にも深謝したい。そして、今回の探索収集の機会を与えて頂いた農林水産省微生物遺伝資源探索・収集事業関係者の皆様に謝意を表する。

5. 資料

表1. 探索・収集 日程表 (亜熱帯農業環境の菌類, 小笠原諸島)

年月日 (曜)	行 程	行 動 内 容
1988.7.1(金)	筑波→東京竹芝棧橋	おがさわら丸乗船・船中にて東京都亜熱帯農業センター職員と採集計画打ち合せ (船中泊)
7.2(土)	→小笠原村父島	東京都小笠原支庁表敬訪問 同亜熱帯農業センター内, 小港, 境浦地区採集・同センターにて分離作業
7.3(日)	父島	洲崎, 吹上, 二子, 長谷, 三日月山, 宮の浜地区採集・同センターにて分離作業, 標本整理
7.4(月)	父島→母島	移動 東京都母島営農研修所訪問・採集計画打ち合せ・桑の木山, 東港, 北港, 中の平, 評議平地区採集・民宿にて分離作業
7.5(火)	母島→父島→二見港棧橋	評議平, 御幸浜地区採集 移動・船中にて標本整理, 荷作り, おがさわら丸乗船 (船中泊)
7.6(水)	→東京日の出棧橋→筑波	船中にて標本作成, 整理

表 2. 収集分離源の種類および収集場所別点数

収集分離源の種類		収集場所	点 数	小 計	
農作物	野菜類	父島	3	8	52
		母島	5		
	果樹類	父島	19	22	
		母島	4		
	花き・観葉植物類	父島	8	10	
		母島	2		
	特用作物類	父島	3	11	
		母島	8		
農作物以外の植物	木本	父島	9	12	24
		母島	3		
	草本	父島	8	12	
		母島	4		
きのこ類	食用きのこ類	父島	0	1	7
		母島	1		
	その他のきのこ類	父島	1	6	
		母島	5		
小計		父島	51		
		母島	32		
合計		83			

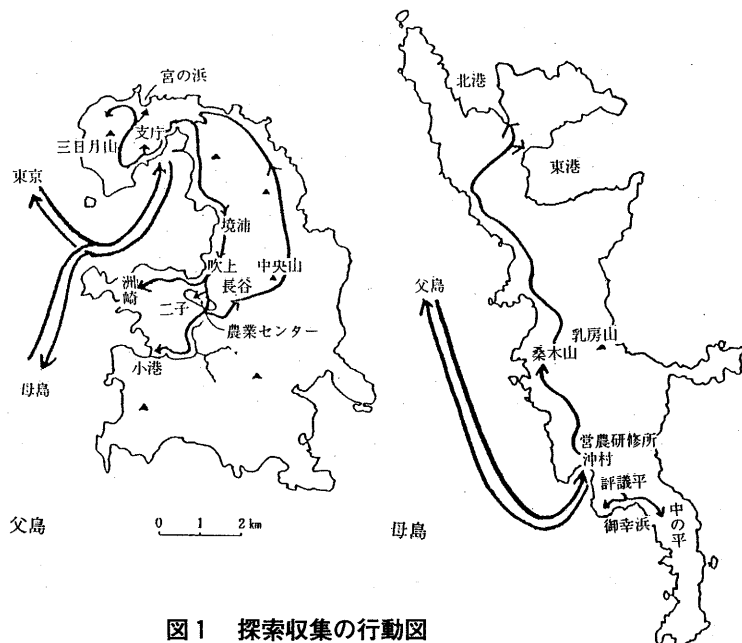


図 1 探索収集の行動図

表 3. 国内微生物遺伝資源の現地収集実績 (63年度調査分)

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
100	04	11	1	<i>Ustilago scitaminea</i>	サ ト ウ キ ビ
〃	〃	〃	2	〃	〃
〃	〃	〃	3～6	〃	〃
〃	〃	〃	7～9	〃	〃
〃	〃	〃	10	<i>Graphiola phoenicis</i>	カナリーヤシ
〃	〃	〃	11	〃	〃
〃	〃	〃	12～28	〃	〃
〃	〃	〃	29	<i>Xylaria polymorpha</i>	マメザヤタケ 子 の う 胞 子
〃	〃	〃	30～32	〃	〃
300	〃	40	33	<i>Auricularia polytricha</i>	アラゲキクラゲ 担 子 胞 子
〃	〃	〃	34～36	〃	〃
〃	〃	〃	37～39	〃	〃
100	〃	11	77	<i>Glomerella cingulata</i>	ト マ ト
〃	〃	〃	78, 79	〃	〃
〃	〃	〃	80	〃	オ ク ラ
〃	〃	〃	81, 82	〃	〃
〃	〃	〃	40	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ク ダ モ ノ ト ケ イ ソ ウ
〃	〃	〃	41～44	〃	〃
〃	〃	〃	45	〃	〃
〃	〃	〃	46	〃	〃
〃	〃	〃	47～50	〃	〃
〃	〃	〃	51	〃	〃
〃	〃	〃	52～54	〃	〃
〃	〃	〃	55	〃	〃
〃	〃	〃	56	〃	〃
〃	〃	〃	57	〃	ハイビスカス
〃	〃	〃	58	〃	ムニンハマウド
〃	〃	〃	59	〃	〃
〃	〃	〃	60	〃	トゲバンレイシ

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項*
1988.7.4	小笠原村 母 島	黒穂病菌, 菌糸タイプ, 熱帯性, 03-05709
〃	〃	〃, 酵母タイプ, 03-05710
〃	〃	〃, 〃
〃	〃	〃, 酵母, 菌糸タイプ
1988.7.2	父 島	黒つば病菌, 酵母隆起コロニー, 熱帯性, 03-05711
〃	〃	〃, 酵母拡大平盤状コロニー, 03-05712
〃	〃	〃, 〃
1988.7.4	母 島	木材腐朽菌, 03-05713
〃	〃	〃
〃	〃	食用菌, 白色菌糸, 無色素, 03-05714
〃	〃	〃, 〃, 〃
〃	〃	〃, 黒色菌糸塊, 褐色素
1988.7.3	父 島	炭そ病菌, 03-06007
〃	〃	〃
1988.7.4	母 島	〃, 03-06008
〃	〃	〃
1988.7.2	父 島	〃, 接種試験陽性, 03-05750
〃	〃	〃
〃	〃	〃, 接種試験陽性, 03-05751
1988.7.3	〃	〃, 〃, 〃, 03-05752
〃	〃	〃
1988.7.4	母 島	〃, 〃, 〃, 03-05753
〃	〃	〃
1988.7.3	父 島	〃, 〃, 03-06012
〃	〃	〃
1988.7.2	〃	〃, 〃, 03-05981
1988.7.4	母 島	〃, 〃, 03-05996
〃	〃	〃
1988.7.2	父 島	〃, 〃, 03-05997

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
100	04	11	61	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	メ ロ ン
〃	〃	〃	62	〃	マ ニ ラ ヤ シ
〃	〃	〃	63, 64	〃	〃
〃	〃	〃	65	〃	ワ タ
〃	〃	〃	66, 67	〃	〃
〃	〃	〃	68	〃	パ パ イ ア
〃	〃	〃	69	〃	シ マ グ ワ
〃	〃	〃	70~73	〃	〃
〃	〃	〃	74	〃	オ オ ハ マ オ モ ト
〃	〃	〃	75, 76	〃	〃
〃	〃	〃	141	〃	パ パ イ ア
〃	〃	〃	142~144	〃	〃
〃	〃	〃	145	〃	〃
〃	〃	〃	146~150	〃	〃
〃	〃	〃	151, 152	〃	〃
〃	〃	〃	153	〃	〃
〃	〃	〃	154	<i>Colletotrichum musae</i>	バ ナ ナ
〃	〃	〃	155~160	〃	〃
〃	〃	〃	191	<i>Colletotrichum dematium</i>	ク ダ モ ノ ト ケ イ ソ ウ
〃	〃	〃	192	<i>Colletotrichum coffeanum</i>	コ ー ヒ ー
〃	〃	〃	193~195	〃	〃
〃	〃	〃	196	〃	〃
〃	〃	〃	197	〃	〃
〃	〃	〃	83	<i>Arthrinium phaeospermum</i>	コ ー ヒ ー
〃	〃	〃	84	<i>Nigrospora sphaerica</i>	バ ナ ナ
〃	〃	〃	85	〃	オ ク ラ
〃	〃	〃	86	〃	メ ロ ン
〃	〃	〃	87	〃	〃
〃	〃	〃	88	<i>Nigrospora oryzae</i>	バ ナ ナ
〃	〃	〃	89, 90	〃	〃

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項*
1988.7.2	小笠原村 父 島	炭そ病菌, 03-05998
〃	〃	〃 , 03-05999
〃	〃	〃
1988.7.4	母 島	〃 , 03-06009
〃	〃	〃
〃	〃	〃 , 03-06010
〃	〃	〃 , 03-06011
〃	〃	〃
1988.7.3	父 島	〃 , 03-05972
〃	〃	〃
1988.7.5	〃	〃 , 03-05787
〃	〃	〃
1988.7.3	〃	〃 , 03-05788
〃	〃	〃
〃	〃	〃
1988.7.4	母 島	〃 , 03-05789
〃	〃	〃 , 熱帯性, 03-05790
〃	〃	〃 , 〃
1988.7.3	父 島	03-05982
1988.7.4	母 島	炭そ病菌, 熱帯性, 03-05994
〃	〃	〃 , 〃
1988.7.2	父 島	〃 , 〃 , 03-05995
〃	〃	〃 , 〃
〃	〃	03-06003
1988.7.3	〃	03-05984
1988.7.4	母 島	03-05985
1988.7.2	父 島	03-05988
1988.7.4	母 島	
1988.7.3	父 島	03-05983
〃	〃	

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源	
100	04	11	91～94	<i>Nigrospora oryzae</i>	バ ナ ナ	
〃	〃	〃	95	〃	オ ク ラ	
〃	〃	〃	96	〃	メ ロ ン	
〃	〃	〃	97～100	〃	〃	
〃	〃	〃	101	〃	コ ー ヒ ー	
〃	〃	〃	102, 103	〃	〃	
〃	〃	〃	104, 105	〃	〃	
〃	〃	〃	106	〃	サ ト ウ キ ビ	
〃	〃	〃	107	〃	〃	
〃	〃	〃	108	<i>Fusarium solani</i>	ク ダ モ ノ ト ケ イ ソ ウ	
〃	〃	〃	109	〃	〃	
〃	〃	〃	110～112	〃	〃	
〃	〃	〃	113	〃	〃	
〃	〃	〃	114, 115	〃	〃	
〃	〃	〃	116	〃	〃	
〃	〃	〃	117	〃	パ バ イ ア	
〃	〃	〃	118	〃	ワ タ	
〃	〃	〃	119	<i>Bipolaris australiensis</i>	ク ダ モ ノ ト ケ イ ソ ウ	
〃	〃	〃	120	〃	セイバンモロコシ	
〃	〃	〃	121	<i>Alternaria alteronata</i>	メ ロ ン	
〃	〃	〃	122	〃	スズメノヒエ	
〃	〃	70	123	<i>Mycena chlorophos</i>	ヤ コ ウ タ ケ 担 子 胞 子	
〃	〃	〃	124～132	〃	〃	
〃	〃	〃	133	〃	〃	
〃	〃	〃	134	〃	〃	
〃	〃	11	135	<i>Pythium aphanidermatum</i>	キ ュ ウ リ	
〃	〃	〃	136	〃	〃	
〃	〃	〃	137	<i>Rhizopus stolonifer</i>	パ バ イ ア	
〃	〃	〃	138～140	〃	〃	
〃	〃	〃	184	〃	ムニンハマウド	

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項*
1988.7.3	小笠原村 父 島	
1988.7.4	母 島	03-05986
〃	〃	03-05987
1988.7.2	父 島	
1988.7.4	母 島	03-06004
〃	〃	
1988.7.2	父 島	
1988.7.4	母 島	03-06005
〃	〃	
1988.7.3	父 島	03-05991
〃	〃	03-05992
〃	〃	
〃	〃	03-05990
〃	〃	
1988.7.2	〃	03-05993
1988.7.3	〃	
1988.7.4	母 島	03-06018
1988.7.3	父 島	熱帯性, 03-06001
1988.7.2	〃	〃 , 03-06013
〃	〃	03-06016
1988.7.3	〃	03-06024
1988.7.2	〃	子実体発光性, 熱帯性, 03-05759
〃	〃	〃 , 〃
1988.7.4	母 島	〃 , 〃 , 03-05760
〃	〃	〃
1988.7.3	父 島	綿腐病菌, 接種試験陽性, 03-05785
〃	〃	〃
〃	〃	黒かび病菌, 03-05786
〃	〃	〃
1988.7.4	母 島	03-05979

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
100	04	11	185	<i>Rhizopus stolonifer</i>	ムニンハマウド
〃	〃	〃	161	<i>Chalara paradoxa</i>	パイナップル
〃	〃	〃	162～164	〃	〃
〃	〃	〃	165	〃	ヤコウタケ
〃	〃	〃	166	<i>Corticium rolfsii</i>	リュウビンタイ
〃	〃	〃	167, 168	〃	〃
〃	〃	60	169	<i>Sphaerellopsis filum</i> (<i>Eudarlucica caricis</i>)	サトウキビの さび病菌胞子堆
〃	〃	〃	170	〃	〃
〃	〃	11	171	<i>Discura terminariae</i>	モモタマナ
〃	〃	〃	172, 173	〃	〃
〃	〃	70	174	<i>Polyporus rhipidium</i> var. <i>pusillus</i>	ヒナノウチワ 担子胞子
〃	〃	〃	175～181	〃	〃
〃	〃	11	182	<i>Phytophthora nicotianae</i> var. <i>parasitica</i>	クダモノ トケイソウ
〃	〃	〃	183	〃	〃
〃	〃	〃	186	<i>Phoma destructiva</i>	トマト
〃	〃	〃	187	<i>Periconia cookei</i>	クダモノ トケイソウ
〃	〃	〃	188～190	〃	〃
〃	〃	〃	198	<i>Gloeocercospora sorghi</i>	ベチバグラス
〃	〃	〃	199～201	〃	〃
〃	〃	〃	202	<i>Cercospora coffeicola</i>	コーヒー
〃	〃	〃	203, 204	〃	〃
〃	〃	〃	205	<i>Pleospora herbarum</i>	ワタ
〃	〃	〃	206	〃	〃
〃	〃	〃	207～210	<i>Choanephora conjuncta</i>	オクラ
〃	〃	〃	211	〃	コーヒー
〃	〃	〃	212	〃	ハイビスカス
〃	〃	〃	213	<i>Paecilomyces</i> sp.	トックリラン
〃	〃	〃	214	〃	モモタマナ
〃	〃	〃	215	<i>Penicillium</i> sp.	ムニンヒメツバキ
〃	〃	〃	216	〃	マメザヤタケ

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項*
1988.7.4	小笠原村 母 島	
1987.7	父 島	基腐病菌, 03-05792
〃	〃	〃
1988.7.4	母 島	03-06023
1988.9.7	〃	白絹病菌, 03-05793
〃	〃	〃
1988.7.5	〃	さび病菌寄生性, 03-05944
〃	〃	〃
1988.7.3	父 島	灰斑病菌, 熱帯性, 03-05976
〃	〃	〃 , 〃
1988.7.4	母 島	子実体管孔部発光性, 熱帯性, 03-05977
〃	〃	〃 , 〃
1986.5.21	父 島	疫病菌, 03-05978
〃	〃	〃
1988.7.3	〃	実腐病菌, 03-05980
1988.7.2	〃	03-05989
〃	〃	
1988.7.3	〃	(斑点病菌), 03-06002
〃	〃	〃
1988.7.4	母 島	褐眼病菌, 熱帯性, 03-06006
〃	〃	〃 , 〃
〃	〃	03-06017
〃	〃	
〃	〃	
1988.7.2	父 島	
〃	〃	
〃	〃	
1988.7.4	母 島	
1988.7.3	父 島	
1988.7.4	母 島	

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
100	04	11	217	<i>Penicillium</i> sp.	サ ト ウ キ ビ
〃	〃	〃	218	〃	ムニンヒメツバキ
〃	〃	〃	219	〃	〃
〃	〃	〃	220	<i>Aspergillus</i> sp.	ハイビスカス
〃	〃	〃	221	<i>Trichoderma</i> sp.	土 壤
〃	〃	〃	222, 223	〃	ヤ コ ウ タ ケ
〃	〃	60	224	〃	リュウビンタイ
〃	〃	11	225	<i>Phyllosticta</i> sp.	ク ジャ ク ヤ シ
〃	〃	〃	226, 227	<i>Cercospora</i> sp.	シ ロ バ ナ センダングサ
〃	〃	〃	228～230	<i>Stemphylium</i> sp.	ス イ カ
〃	〃	〃	231～233	〃	オ ク ラ
〃	〃	〃	234	<i>Mucor</i> sp.	ク ダ モ ノ ト ケ イ ソ ウ
〃	〃	〃	235, 236	<i>Rhizoctonia</i> sp.	パ パ イ ア
〃	〃	60	237	<i>Tuberculina</i> sp.	オガサワラグミの さび病菌胞子堆
〃	〃	11	238, 239	<i>Acremonium</i> sp.	〃
〃	〃	〃	240～243	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	ク ダ モ ノ ト ケ イ ソ ウ
〃	〃	〃	244	〃	〃
〃	〃	〃	245～249	〃	ウラジロエノキ
〃	〃	〃	250	〃	トックリラン
〃	〃	〃	251, 252	〃	カナリーヤシ
〃	〃	〃	253	〃	アレカヤシ
〃	〃	〃	254	〃	シマホルトノキ
〃	〃	〃	255～258	〃	ムニンフトモモ
〃	〃	〃	259～262	〃	モクダチバナ
〃	〃	〃	263, 264	〃	トゲバンレイシ
〃	〃	〃	265～267	〃	クジャクヤシ
〃	〃	〃	268～271	<i>Phomopsis</i> sp.	パ パ イ ア
〃	〃	〃	272～275	〃	マ ン ゴ ー
〃	〃	〃	276～281	〃	アレカヤシ
〃	〃	〃	282	〃	ク ダ モ ノ ト ケ イ ソ ウ

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項*
1988.7.3	小笠原村 父 島	赤色素產生
〃	〃	
〃	〃	
1988.7.2	〃	
〃	〃	
〃	〃	
1988.9.7	母 島	白絹病菌拮抗性
1988.7.3	父 島	
〃	〃	(葉枯病菌)
1988.7.4	母 島	(〃)
〃	〃	(〃)
1988.7.3	父 島	
1988.7.2	〃	(苗立枯病菌)
〃	〃	さび病菌寄生性
〃	〃	
1988.7.4	母 島	(果実腐敗菌)
1988.7.3	父 島	(〃)
1988.7.2	〃	(葉斑点病菌)
〃	〃	(葉枯病菌)
〃	〃	(葉斑点病菌)
〃	〃	(〃)
1988.7.3	〃	(〃)
1987.7	〃	(葉枯病菌)
〃	〃	(〃)
1988.7.2	〃	(〃)
1988.7.3	〃	(葉斑点病菌)
1988.7.4	母 島	(苗立枯病菌)
1988.7.2	父 島	(葉斑点病菌)
〃	〃	(〃)
〃	〃	

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
100	04	11	283～286	<i>Phomopsis</i> sp.	クダモノ トケイソウ
〃	〃	〃	287～291	〃	ワタ
〃	〃	〃	292	〃	シマグワ
〃	〃	〃	293	〃	マニラヤシ
〃	〃	〃	294	〃	メロン
〃	〃	〃	295	〃	セイバン モロコシ
〃	〃	〃	296, 297	〃	スズメノヒエ類
〃	〃	〃	298, 299	<i>Fusarium</i> sp.	クダモノ トケイソウ
〃	〃	〃	300	〃	ハイビスカス
〃	〃	〃	301～305	〃	パパイヤ
〃	〃	〃	306, 307	〃	スズメノヒエ類
〃	〃	〃	308～310	〃	メロン
〃	〃	〃	311, 312	〃	〃
〃	〃	〃	313～316	〃	サトウキビ
〃	〃	〃	317～319	〃	〃
〃	〃	〃	320	〃	オクラ
〃	〃	〃	321～330	<i>Phoma</i> sp.	パパイヤ
〃	〃	〃	331	〃	ワタ
〃	〃	〃	332～334	<i>Cladosporium</i> sp.	クダモノ トケイソウ
〃	〃	〃	335	〃	ハイビスカス
〃	〃	〃	336, 337	〃	シマホルトノキ
〃	〃	〃	338	〃	ヤヨウタケ
〃	〃	〃	339	<i>Coniothyrium</i> sp.	カナリーヤシ
〃	〃	〃	340～343	<i>Alternaria</i> sp.	クダモノ トケイソウ
〃	〃	〃	344	〃	メロン
〃	〃	〃	345	<i>Trichothecium</i> sp.	オガサワラグミ

* 03-0××××は農林水産省微生物ジーンバンクのMAFF番号で、これが付記された菌株はすべて

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項*
1988.7.4	小笠原村 母 島	(果実腐敗菌)
〃	〃	(葉斑点病菌)
〃	〃	(〃)
1988.7.2	父 島	(〃)
〃	〃	
1988.7.3	〃	(葉斑点病菌)
〃	〃	
1988.7.2	〃	
〃	〃	
1988.7.3	〃	(果実腐敗菌)
〃	〃	
1988.7.4	母 島	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	赤色素産生
〃	〃	
1988.7.5	父 島	(軸腐病菌)
1988.7.4	母 島	(葉斑点病菌)
1988.7.2	父 島	(すす病菌)
〃	〃	
1988.7.3	〃	
1988.7.4	母 島	
1988.7.2	父 島	
〃	〃	
1988.7.4	母 島	
1988.7.2	父 島	

アクティブコレクションとして登録されたことを表す。

I-2. 果樹の根頭がんしゅ病菌およびブドウウイルス 病様症状の探索収集および特性解明

果樹試験場 安芸津支場 病害研究室

今 田 準
澤 田 宏 之

1. 目的

近年、各地のブドウ産地で根頭がんしゅ病が増加傾向にある。病原細菌である *Agrobacterium tumefaciens* には、細菌学的性質や DNA 相同性などの性状で区別できる3つの変種が存在し、それぞれ biovar として類別されているが、諸外国で行われた発生調査の結果、ブドウに病気を引き起こすのは biovar 3 が多いことが認められている。しかし、biovar 3 に関しては病原学的研究が遅れており、他の biovar との関係についても十分明らかにされていない。そのため、biovar 3 に特異的な性状を利用した迅速な検出、識別技術が確立されておらず、本菌の生態学的研究や、母樹、苗木の保毒検定を行ううえでの障害となっている。

今回の探索、収集では、ブドウ根頭がんしゅ病の発生が認められているブドウ産地で病組織を採集し、病原細菌を分離する。また、それと並行してブドウ以外の植物由来の菌株も参考菌として収集する。そして、それらの間で各種性状に関する詳細な比較を行い、biovar 3 の検出、識別技術確立に必要な特異的な性状を選び出すための基礎資料とする。

また、わが国のブドウでは、近年、味無果病、萎縮病、モザイク病などウイルス病による被害が問題化している。この他に巨峰の赤熟れ、発芽時のねむり症状、新葉のまだら模様、花振いなどのウイルス病と思われる症状が各地で多く発生している。当研究室では、現在まで主に西日本に発生するウイルス病様症状について、その原因究明に当たってきたが、今回は調査地域を広げて東日本に発生するウイルス病様症状を収集し、それらの伝染性の確認、既知ウイルスの保毒状況、病原の単離・同定を行い、ウイルス株の収集と保存を図ることを目的とする。

なお、根頭がんしゅ病菌の探索は澤田宏之が、ウイルス病様症状株は今田準が担当した。

2. 経過

- 1) ブドウ根頭がんしゅ病菌分離用サンプルを以下のように採取した(表1, 図1)。
 - a) 6月21日 岩手県園芸試験場大迫試験地(岩手県稗貫郡大迫町大迫9-63)場内で、ブドウ(高墨, 勝宝, 紅伊豆)の接ぎ木部付近に形成されていた乳白色~淡褐色で不整形のがんしゅ組織を、各樹から1つずつ削り取って採集した。
 - b) 6月22日 青森県三戸郡南部町大字小向字正寿寺のある一般栽培ほ場では、栽植されているブドウ(キャンベル・アーリー)のほぼ全樹が根頭がんしゅ病に罹病していた。そのうちの1樹

から、接ぎ木部付近の大きく肥大した不整形、暗褐色のがんしゅ組織を削り取って採集した。

- c) 6月22日 青森県三戸郡三戸町大字同心町同心町でハウス栽培されていたブドウ（紅伊豆）の、棚上の2年生枝に形成されていた乳白色であわつぶ状のがんしゅ組織を採集した。
 - d) 6月23日 山形県立園芸試験場（寒河江市大字島字島南423）場内のブドウ（巨峰）の接ぎ木部付近に形成されていた乳白色～淡褐色であわつぶ状のがんしゅ組織を採集した。また、同場内でオウトウ（ナボレオン）の地際部付近に形成されていた黒褐色で不整形のがんしゅ組織を削り取った。
 - e) 6月23日 山形県寒河江市高屋のハウス栽培のバラの地際部付近に形成されていた乳白色で半球状のがんしゅを採集した。
- 2) ブドウウイルス病様症状の採集経過は以下のとおりである（表2，図1）。
- a) 6月21日 岩手県園芸試験場大迫試験地内の紅伊豆に、奇形を伴った新葉のモザイク症状及び節間短縮を示す樹から新葉及び穂木を採集した。
 - b) 6月22日 弘前大学内ほ場のスチューベン及び黒石市の一般栽培園のスチューベン、アーバナにモザイク症状を示す樹より新葉及び穂木を採集した。
 - c) 6月23日 秋田県若美町の一般栽培園のキャンベル・アーリーに奇形を伴った新葉のモザイク症状を、また、秋田県果樹試験場内ほ場のバッファローにモザイク症状、レッド・クイーンに奇形を伴った新葉のモザイク症状を示す樹から新葉及び穂木を採集した。

3. 収集成果

1) 根頭がんしゅ病菌

(1)方法

採集した根頭がんしゅ病り病材料から新鮮ながんしゅ組織を切り出し、ペプトン水中でできるだけ磨砕して懸濁液を作った。これを King B 培地に画線培養し、1 病樹当たり 2～3 菌株の細菌を分離した。分離した菌株は、トマト（ポンテローザ）に単針付傷接種して23℃の温室で21日間にわたって経過を観察し、病原性が確認できたものから1菌株を選んで代表菌とした。

(2)結果

採集したり病材料から15菌株の病原細菌を分離することができた（表3）。分離した15菌株は、トマトに接種後5～7日目頃から病徴をあらわした。はじめは乳白色の小さな隆起として認められたがんしゅは、時間の経過と共に肥大し、14日目以降には表面が粗造となり淡褐色を帯びた。21日目にはいずれの菌株でもがんしゅ長径が3mm以上となり、菌株間で病原性の強弱や生じる病徴に差は認められなかった。

分離菌株の細菌学的性質を調査した結果、いずれの菌株もグラム陰性、好気性で周毛を有し、グルコース含有培地上で菌体外多糖質を旺盛に産生した。また、いずれの供試培地上でもガスや色素を産生しなかった。以上の性質と、トマトに対してがんしゅを形成することから、分離菌株は全て *Agrobacterium tumefaciens* であることが分かった。

ブドウから分離された9菌株（G-Ag-57～65）は、3-ケトーラクトースの生成、エスクリンの分

解 (Sneath), 35℃での生育, L-チロシンの利用, ズルシットからの酸の産生が陰性, 生長素要求性, L-酒石酸からのアルカリ産生が陽性, リトマスミルク培養では培地の青変とリトマスの還元が認められることから, いずれも biovar 3 であることが分かった。オウトウからの分離菌 (Ch-Ag-2, 3) とバラ分離菌 (Ro-Ag-10~13) は, 3-ケトーラクトースの生成, 35℃での生育が陰性, エスクリンの分解 (Sneath), 生長素要求性, L-チロシンの利用, ズルシットからの酸産生, L-酒石酸からのアルカリ産生が陽性, リトマスミルク培養では培地の赤変と凝固が認められることから, biovar 2 であることが明らかとなった (表 4, 5)。

2) ブドウウイルス病様症状

(1)方法

ウイルス病様症状の発生状況を岩手, 青森, 秋田の各県下のブドウ園 7 か所において新葉, 枝幹について調査を行い, 新葉, 枝幹に症状がみられる樹から新葉及び穂木を採集し, 接ぎ木伝染性及びエライザ法で既知ウイルスの保毒状況を調べた。

- a) 接ぎ木伝染性を調べるため, 収集株の保存を兼ねてブドウ属検定植物 St. George 苗に緑枝接ぎ接種を行った。また, 新葉を用いて10種類の草本植物 (アカザ, キノア, センニチコウ, タバコ 5 種類, *N. glutinosa*, フィザリス) にカーボランダム法により汁液接種を行った。
- b) 収集株の全てについて, エライザ法によりブドウファシリーフウイルス (GFV), ブドウから分離・同定されている tobacco necrosis virus (TNV) 及びポティウイルスの保毒の有無を調べた。また, 各症状発現樹の新葉又は緑枝接ぎ接種した St. George の新葉を用いて常法により DN 試料を作製し, 電顕観察により病原の探索を行った。

(2)結果

St. George 苗に緑枝接ぎ接種した結果 (表 6), 弘前大学と黒石市のスチューベン及び秋田県若美町のキャンベル・アーリー 2 株の計 4 株は, St. George の新葉にモザイク症状を生じた。これらのモザイク症状はブドウフレックによる St. George の病徴とは明らかに異なり, また, エライザ検定によっても GFV, TNV, ポティウイルスとも無関係であったことから, 上記 4 株のウイルス病様症状は, ブドウフレック, GFV, TNV, ポティウイルスとは異なる接ぎ木伝染性の病因を保毒していることが明らかになった (表 6)。その他のウイルス病様症状については, 秋田県試天王分場のバファローを除きブドウフレックに感染していた。

ウイルス病様症状発現樹又はそれを緑枝接ぎ接種した St. George 苗の新葉を用いて10種類の草本植物に汁液接種を 5 回行ったが, いずれのウイルス症状も供試した草本植物に反応しなかった。また, これらの DN 試料を電顕観察した結果, いずれにもウイルス様の粒子は認められなかった。

4. 所感

根頭がんしゅ病菌の 3 つの biovar のうち, 今回の探索, 収集ではブドウ, バラ, オウトウから biovar 2 と 3 を分離することができたが, biovar 1 に相当するものは認められなかった。わが国では, 花卉類根頭がんしゅ病から biovar 1 の検出例があるものの, 果樹類では今のところ報告がない。また, わが国ではブドウから biovar 3 以外の菌が分離されたとの報告もないことから, 今後とも更に発生

調査を続けて病原学的研究を行う必要がある。

今回の探索で収集したウイルス病様症状のうち、4種の症状の接ぎ木伝染性が確認された。しかし、これらの症状発現株からの病原の確認や単離にはまだ成功しておらず、さらに供試草本植物を増やして病原の単離を試みる必要がある。

根頭がんしゅ病菌及びウイルス病様症状株の収集には、現地関係者と密接な連絡を取り、異常症状が発見された場合、すみやかに連絡してもらい体制を確立しておく必要がある。そのためにも、探索・収集に必要な旅費をセンターで保留しておき、必要に応じて配分するようにしてほしい。

5. 資料

表1. ブドウ等の根頭がんしゅ病り病サンプル採集行動日程表

月 日	旅 程	行 動 内 容
6月20日	安芸津町～盛岡市	移動
21日	盛岡市～大迫町	岩手県園芸試験場大迫試験地場内で ブドウ根頭がんしゅ病り病組織を採 集。
	～八戸町	移動
22日	八戸町～五戸町	青森県三戸郡南部町でブドウ根頭が んしゅ病り病組織を採集。 青森県三戸郡三戸町でブドウ根頭が んしゅ病り病組織を採集。
	～山形市	移動
23日	山形市～寒河江市	山形県立園芸試験場場内でブドウお よびオウトウのがんしゅ組織を採集。 山形県寒河江市でバラ根頭がんしゅ 病り病組織を採集。
	～安芸津町	移動

表2. ブドウウイルス病様症状サンプル採集行動日程表

月 日	旅 程	行 動 内 容
6月20日	安芸津町～盛岡市	移動
21日	盛岡市～大迫町	岩手県園芸試験場大迫試験地内のブドウ園で 調査・収集
	～弘前市	移動
22日	弘前市～黒石市	弘前大学及び黒石市内のブドウ園で 調査・収集
	～秋田市	移動
23日	秋田市～若美町～天王町	若美町及び秋田県果試天王分場のブド ウ園で調査・収集
	～安芸津町	移動



図1 探索収集地域と主な収集地点

表3. 収集したブドウ等根頭がんしゅ病菌

収集番号	G-Ag-57 58 59	60	61	62 63 64 65	Ch-Ag-2 3	Ro-Ag-10 11 12 13
原材料	ブドウがんしゅ	ブドウ がんしゅ	ブドウ がんしゅ	ブドウ がんしゅ	オウトウ がんしゅ	バラがんしゅ
採集月日	6.21	6.22	6.22	6.23	6.23	6.23
採集地	岩手県稗貫郡 大迫町	青森県 南部町	青森県 三戸町	山形県 寒河江市	山形県 寒河江市	山形県寒河江市
採集した微生物 の属、種名	<i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i>	<i>A. tume-</i> <i>faciens</i>	<i>A. tume-</i> <i>faciens</i>	<i>A. tume-</i> <i>faciens</i>	<i>A. tume-</i> <i>faciens</i>	<i>A. tumefaciens</i>

表4. 根頭がんしゅ病菌の特性評価

性 質	収集番号	G-A-57 58	Ch-Ag-2	Ro-Ag-10
		59 60 61 62 63 64 65	3	11 12 13
トマトに対するがんしゅ形成		+	+	+
3-ケトーラクトースの生成		-	-	-
エスクリンの分解 (Dye)		+	+	+
エスクリンの分解 (Sneath)		-	+	+
アルブチンの分解		-	d	+
β -ガラクトシダーゼ活性		+	+	+
硝酸塩の還元性		-	-	-
硝酸呼吸		-	-	-
アルギニン加水分解 (Thornley)		+	-	-
アルギニン加水分解 (Moeller)		-	-	-
硫化水素の産生		-	-	-
尿素試験		+	+	+
オキシダーゼ活性 (PPGA)		+	-	-
生長素要求性		+	+	+
2 % NaCl 下での生育		d	-	-
リトマスミルク培養		KR	AC	AC
ホスファターゼ活性		-	+	+
Nile Blue 試験		-	-	-
クエン酸鉄アンモニウム での薄膜の形成		-	-	-
30C での生育		d	-	-
35C での生育		-	-	-
クエン酸の利用		+	+	+
L-チロシンの利用		-	+	+
Schroth et al. 培地での生育		-	+	-
New & Kerr 培地での生育		-	+	+
酸の産生：				
ズルシット		-	+	+
メレジトース		-	-	d
meso- エリスリット		-	+	+
α -メチル-D-グルコシド		-	+	+
ラフィノース		+	+	+
エタノール		+	-	d
アルカリの産生：				
マロン酸		+	+	+
プロピオン酸		d	-	-
L-酒石酸		+	+	+
粘液酸		-	+	+

表 5. 収集した根頭がんしゅ病菌の biovar

収集物の種類	収集点数
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> biovar 2	6
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> biovar 3	9

表 6. ブドウウイルス病様症状の伝染性とエライザ検定

採集地	採 集 年月日	品 種	症 状	St. George への反応	草本植物 への反応 ^a	エライザ 検 定 ^b
岩手園試大迫	63.6.21	紅伊豆	M, Mf, SI	Fl	—	—
青森弘前大	63.6.22	スチューベン	M	M	—	—
〃 黒石市	〃	〃	M	M	—	—
〃 〃	〃	アーバナ	M	Fl	—	—
秋田若美町	63.6.23	キャンベル・アーリー	M, Mf	M, Mf	—	—
〃 〃	〃	〃	M, Mf	M, Mf	—	—
〃 果試天王	〃	バッファロー	M	—	—	—
〃 〃	〃	レッド・クイーン	M, Mf	Fl	—	—

^a供試草本植物：アカギ、キノア、センニチコウ、タバコ 5 種類、*N. glutinosa*、フィザリス

^b対象ウイルス：GFV, TNV, ブドウから分離されたポティウイルス

Fl : fleck, M : mosaic, Mf : malformation, SI : short internodes

表 7. 収集したブドウウイルス病様症状株

	収集番号			
	V-1	V-2	V-3	V-4
原材料	ブドウ	ブドウ	ブドウ	ブドウ
採集月日	6.22	6.22	6.23	6.23
採集地	青森県 弘前市	青森県 黒石市	秋田県 若美町	秋田県 若美町
採集した微生物 の属、種名	未同定	未同定	未同定	未同定

I-3. 亜熱帯地域に棲息する食品関連の特殊糸状菌の収集

食品総合研究所 食品保全部 貯蔵微生物研究室

鶴 田 理

1. 目的

日本の地形は南北に長いので、南端に位置する沖縄の諸島は、九州（島部を除く）以北の地域と気候が異なることから、棲息する糸状菌相に差異がみられる。こうした中で食品に関連する菌種としては、極めて微量の経口摂取で動物に発癌を誘因する aflatoxin（以下 AF）産生菌株を含む *Aspergillus flavus group* の棲息が注目されている。

このことの沖縄における指摘は既に報告しているが、当時収集した菌株の保存が充分でないため、今回の国内微生物遺伝資源探索収集の機会を得て、沖縄県内より該当菌株を収集し同定と AF の産生能を調べるなど、保存菌株の整理を計った。

2. 実施の概要

AF 産生菌株を含む *Aspergillus flavus group* の棲息は、熱帯・亜熱帯地方であることから、国内での棲息域沖縄県に1988年11月5日～11月10日までの6日間出張、試料を収集した（収集の日程は表1参照）。試料の採取地域は、過去における分布調査の結果を踏まえて石垣島、竹富島、西表島、沖縄本島で行い、収集試料は該当菌の棲息が予測される主として耕作の畑土壌および穀類とした。詳細は表2に示したように土壌33点（採取地点は図1参照）、穀類7点が採集できた。

持ち帰った試料は培養して該当菌を分離。その分離菌を同定する傍ら、AF 産生能を調べている。

3. 収集成果

各収集試料からの該当菌 *Aspergillus flavus* 菌群の検出状態を表3に示した。土壌では、沖縄本島の耕作土壌でない樹木根元の土壌で検出率が極めて低かったため、全体での検出率が低いように思われるが、それらを除く耕作の畑土壌にはかなり高い頻度で検出されており、不偏的に棲息していることが伺われる。

穀類での検出試料率および着生粒率とも極めて低いと思われるが、対象の試料が新穀でなく収穫後かなり経過したものということで理解できよう。

分離し *Aspergillus flavus* Link, *Aspergillus parasiticus* Speare と同定された菌株について、AF 産生能を調べる際には、菌層の色・菌核の大きさとか形成している量などを勘案しながら、できるだけ分離した多くの試料から菌株を供試できるよう配慮し、最終的に33菌株を選択供試した。

それら菌株の AF 産生状態は表4のようであった。

Aspergillus parasiticus Speare と同定の全ての菌株に、AF B₁, B₂, G₁, G₂の産生が認められた。こ

れに対して *Aspergillus flavus* Link に同定した菌株の多くは、AF の産生が認められないか、産生しても AF B₁, B₂のみであった。しかし、こうした中の 2 菌株 (Is 9-2, Os 31-1) は AF B₁, B₂, だけでなく G₁, G₂もかなり産生していることから、同定の再検討を必要としているほか、AF 産性状態についても、菌核形成株でありながら AF の形成を認められなかった 3 菌株 (Ts 21-1, IG 34-1, IG 38-1) については引き続きの検討が残されている。

このように未だ検討事項が残されているが、国内で棲息域が限定されている貴重な微生物遺伝資源として、取り敢えず *Aspergillus flavus* Link (Is 9-2, Irs16-1, Ts21-1, Is22-1, Os31-1) 5 菌株、*Aspergillus parasiticus* Speare (Is 2-1, Is 2-2, Is 4-1, Is 4-2, Is10-2, Irs12-1) 6 菌株を提供する。なお参考迄に、AF 産生を調べた菌株に関する成果の一覧を表 5 (国内微生物遺伝資源の現地収集) に取まとめ示しておいた。

4. 所感

Aspergillus flavus group の中には、分類的にいくつかの菌種があるが、*A. flavus* Link を例にあげても外見的にかなり異なるタイプがあって、分類体系の再検討すら要すると思われる。それに加えて代謝産物の aflatoxin 産生能を付加すると、より複雑となり系統的な整理は、より広範囲の地域から収集した菌株を揃えて生化学的な性質も含めた検討の必要があろう。

稿を終るに当たり、試料の収集に協力いただいた熱帯農業研究センター沖縄支所の小谷所長、大貫技官および関係者の方々、並びに aflatoxin の分析に助力いただいた当研究所の岡崎室長に謝意を表します。

5. 資料

表1. 探索・収集 日程表

年月日	行 程	行 動 内 容
1988.11. 5	筑波 → 石垣島	
11. 6	石垣島島内	主として畑土壌採取
11. 7	石垣島 ⇔ 西表島	畑土壌採取
11. 8	石垣島 ⇔ 竹富島	畑土壌採取 農林水産省熱帯農業研究センター 沖縄支所訪問。〔現地産穀物入手〕
	石垣島 → 沖縄本島	
11. 9	沖縄本島内。 (那覇以北)	土壌採取
11.10	沖縄本島内。 (那覇以南) 那覇 → 筑波	畑土壌採取

表2. 沖縄県内での Aflatoxin 産生株を含む *Aspergillus flavus* group 検索のための採取試料内訳

試料No.	採 取 地	試料内容	試料No.	採 取 地	試料内容
1	石垣島 新川	オクラ畑土壌	21	竹富島	サツマイモ畑土壌
2	〃	サトウキビ畑土壌	22	石垣島真栄里	畑土壌
3	〃 大嵩	〃	23	沖縄本島多幸山	樹木根元土壌
4	〃	〃	24	〃	〃
5	〃 米原	ナシ林土壌	25	〃	〃
6	〃 伊土名	パイン畑土壌	26	〃 本部	〃
7	〃 明石	クワ畑土壌	27	〃 名護	パイン畑土壌
8	〃	〃	28	〃 万座毛	樹木根元土壌
9	〃	パイン畑土	29	〃 南風原	ヘチマ畑土壌
10	〃 大里	サツマイモ畑土壌	30	〃	ニガウリ畑土壌
11	〃 大浜	サトウキビ畑土壌	31	〃 大里	サトウキビ畑土壌
12	西表島大原	〃	32	〃 具志頭	〃
13	〃 大富	〃	33	〃 名城	エンドウ畑土壌
14	〃 古見	〃	34	石垣島白保	稲粃
15	〃 美原	サツマイモ畑土壌	35	〃 米原	〃
16	〃 中野	パイン畑土壌	36	〃 平得	ソルガム種子
17	〃 上原	〃	37	〃 白保	〃
18	竹富島	サツマイモ畑土壌	38	〃	モチキビ種子
19	〃	クワ畑土壌	40	〃	キビ種子
20	〃	バナナ根元土壌	40	竹富島竹富	アサ種子

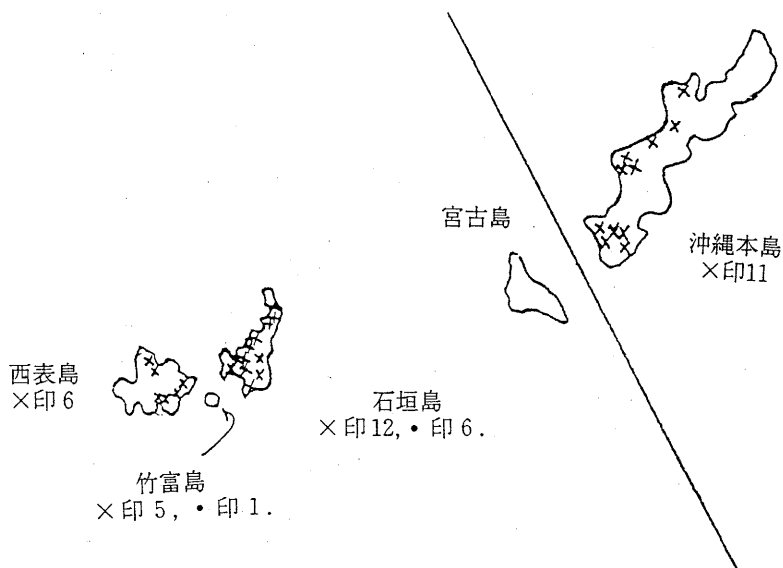


図1 沖縄県内での土壌試料（×印）採取地点〔・印…採取地点未記入の穀類試料〕

表3. 培養検査結果 土壌（試料No. 1～33）・1g当たりの *A. flavus* group 検出数/糸状菌の総検出数
穀物（試料No. 34～40）・100粒当たりの *A. flavus* group 着生粒数%で示した。

試料No.	検出菌数	試料No.	検出菌数	試料No.	検出菌数	試料No.	検出菌数
1…	67/11266	11…	67/17267	21…	67/ 7000	31…	67/ 4667
2…	67/ 5600	12…	200/ 9133	22…	34/ 24067	32…	67/104533
3…	2200/24267	13…	34/19600	23…	0/ 42333	33…	0/ 7733
4…	67/17667	14…	133/28667	24…	0/ 13067	34…	4 %
5…	0/ 6800	15…	0/41000	25…	0/ 9267	35…	8 %
6…	0/29067	16…	33/ 6600	26…	0/ 70933	36…	0
7…	67/ 1867	17…	0/12800	27…	0/289867	37…	0
8…	333/17333	18…	0/ 9000	28…	67/ 98933	38…	4 %
9…	133/22800	19…	200/20867	29…	33/ 467	39…	0
10…	267/25400	20…	267/17800	30…	0/ 7800	40…	0

表 4. 沖縄県内で採取した *Aspergillus flavus* group の aflatxin 産生能

菌種番号		菌 種 名	aflatxin (ppb)			
			B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
Is	1-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Is	2-1	<i>A. parasiticus</i> S.	541	247	1924	136
Is	2-2	<i>A. parasiticus</i> S.	844	86	2060	159
Is	3-1	<i>A. flavus</i> Link	7	ND	ND	ND
Is	3-2	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Is	4-1	<i>A. parasiticus</i> S.	1127	125	3513	324
Is	4-2	<i>A. parasiticus</i> S.	1115	116	2777	207
Is	8-1	<i>A. flavus</i> Link	277	11	ND	8
Is	8-2	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Is	9-1	<i>A. parasiticus</i> S.	464	40	835	73
Is	9-2	<i>A. flavus</i> Link *	8380	440	21140	1000
Is	10-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Is	10-2	<i>A. parasiticus</i> S.	1416	93	1302	124
Is	10-3	<i>A. flavus</i> link	ND	ND	ND	ND
Is	11-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Irs	12-1	<i>A. parasiticus</i> S.	814	78	3146	244
Irs	13-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Irs	14-1	<i>A. parasiticus</i> S.	463	44	1168	89
Irs	14-2	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Irs	16-1	<i>A. flavus</i> Link	258	12	ND	ND
Ts	19-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Ts	20-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Ts	21-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
Ts	21-2	<i>A. flavus</i> Link *	ND	ND	ND	ND
Is	22-1	<i>A. flavus</i> Link	3424	278	ND	22
Os	28-1	<i>A. flavus</i> Link	78	1	ND	ND
Os	29-1	<i>A. flavus</i> Link *	ND	ND	ND	ND
Os	31-1	<i>A. flavus</i> Link *	15280	1140	25270	2100
Os	52-1	<i>A. parasiticus</i> S.	106	8	273	17
IG	34-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
IG	35-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND
IG	35-2	<i>A. flavus</i> Link	196	9	ND	ND
IG	38-1	<i>A. flavus</i> Link	ND	ND	ND	ND

注) *印…同定について再検討を要する菌株

表5. 国内微生物遺伝資源の現地収集実績 (63年度調査分)

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
300	04	30	Is 1-1	<i>Aspergillus flavus</i>	オクラ畑土壌
〃	〃	〃	Is 2-1	<i>Aspergillus parasiticus</i>	サトウキビ畑土壌
〃	〃	〃	Is 2-2	〃	〃
〃	〃	〃	Is 3-1	<i>Aspergillus flavus</i>	〃
〃	〃	〃	Is 3-2	〃	〃
〃	〃	〃	Is 4-1	<i>Aspergillus parasiticus</i>	〃
〃	〃	〃	Is 4-2	〃	〃
〃	〃	〃	Is 7-1	<i>Aspergillus flavus</i>	クワ畑土壌
〃	〃	〃	Is 8-1	〃	〃
〃	〃	〃	Is 8-2	〃	〃
〃	〃	〃	Is 9-1	<i>Aspergillus parasiticus</i>	パイン畑土壌
〃	〃	〃	Is 9-2	<i>Aspergillus flavus</i>	〃
〃	〃	〃	Is10-1	〃	サツマイモ畑土壌
〃	〃	〃	Is10-2	<i>Aspergillus parasiticus</i>	〃
〃	〃	〃	Is10-3	<i>Aspergillus flavus</i>	〃
〃	〃	〃	Is11-1	〃	サトウキビ畑土壌
〃	〃	〃	Irs12-1	<i>Aspergillus parasiticus</i>	〃
〃	〃	〃	Irs13-1	<i>Aspergillus flavus</i>	〃
〃	〃	〃	Irs14-1	<i>Aspergillus parasiticus</i>	〃
〃	〃	〃	Irs14-2	<i>Aspergillus flavus</i>	〃
〃	〃	〃	Irs16-1	〃	パイン畑土壌
〃	〃	〃	Ts19-1	〃	クワ畑土壌
〃	〃	〃	Ts20-1	〃	バナナ畑土壌
〃	〃	〃	Ts21-1	〃	サツマイモ畑土壌
〃	〃	〃	Ts21-2	〃	〃
〃	〃	〃	Is22-1	〃	畑土壌
〃	〃	〃	Os28-1	〃	樹木根元土壌
〃	〃	〃	Os29-1	〃	ヘチマ畑土壌
〃	〃	〃	Os31-1	〃	サトウキビ畑土壌

注) aflatoxin 産生を調べた菌株のみを表示している。

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項
1988.11. 6	石垣島新川	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。
〃	〃	〃
〃	〃 大嵩	aflatoxin B ₁ 産生。
〃	〃	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。
〃	〃	〃
〃	〃 明石	——
〃	〃	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₂ 産生。
〃	〃	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。
〃	〃	〃
〃	〃 大里	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。
〃	〃	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃 大浜	〃
11. 7	西表島大原	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。
〃	〃 大富	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃 古見	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。
〃	〃	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃 中野	aflatoxin B ₁ , B ₂ 産生。
11. 8	竹富島竹富	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	石垣島真栄里	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₂ 産生。
11. 9	沖縄本島万座毛	aflatoxin B ₁ , B ₂ 産生。
11.10	〃 南風原	aflatoxin の産生を認めない。
〃	〃 大里	aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
300	04	30	Os32-1	<i>Aspergillus parasiticus</i>	サトウキビ畑土壌
〃	〃	〃	IG34-1	<i>Asperillus flavus</i>	稲 粃
〃	〃	〃	IG35-1	〃	〃
〃	〃	〃	IG35-2	〃	〃
〃	〃	〃	IG38-1	〃	モチキビ種子

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項
1988.11.10	沖縄本島具志頭	<i>aflatoxin</i> B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 産生。
11. 8	石垣島白保	<i>aflatoxin</i> の産生を認めない。
〃	〃 米原	〃
〃	〃	<i>aflatoxin</i> B ₁ , B ₂ 産生。
〃	〃 白保	<i>aflatoxin</i> の産生を認めない。

I-4. 北海道における大型褐藻分解細菌の探索収集

中央水産研究所 利用化学部 応用微生物研究室

中山 昭彦

内田 基晴

1. 目的

海洋の膨大なバイオマスである海藻の分解はその海洋の環境に種々の影響を及ぼし、生態学的にも、また、このバイオマスの利用を考えていく上においても非常に重要である。今年度は、海藻として今までも利用され今後もさらに多くの利用方法の開発が期待される大型褐藻（マコンブ）を選び、まず、海洋における大型褐藻分解菌の分布およびその分解の様相を知るために、北海道沿岸域でのこれら細菌のサンプリングを行った。

2. 経過

北海道函館市川汲（かっくみ）の海岸、および釧路市桂恋（かつらこい）漁港内の海岸に、それぞれ昭和63年7月4日および7月6日におもむき、海水を採取した（図、表1）。この試料を細菌の分離源として、寒天平板分離等の手法を用いて、各海水試料から各々100株ずつ細菌を純粋分離した。これらの合計200株について、マコンブ分解試験用培地を用いて、マコンブ分解能を調べた。その結果、マコンブ分解細菌は83株得られた。

3. 収集成果

函館市川汲および釧路市桂恋で採水した海水試料中の生菌数は、いずれの場合も、海水1ml当り 10^4 cells のオーダーの濃度であった（表2）。純粋分離菌株200株を清水のスキーム（海洋微生物研究法、門田元・多賀信夫編、p. 228-233, 学会出版センター, 1985年）に従って分類すると、7グループに分かれ、グループ3が最も多く38-47%を、次にグループ1が25-46%を、グループ2およびグループ5が各々10%前後を、残りのグループ4、グループ6、およびグループ7は、いずれも数%を占めていた（表3）。グループ1は *Vibrio* に、グループ2は *Cytophaga* あるいは *Flavobacterium* group I に、グループ3は *Alcaligenes*, *Caulobacter*, あるいは *Pseudomonas*-*Alteromonas* group I, II に、グループ4は *Acinetobacter*-*Moraxella* group I に、グループ5は *Acinetobacter*-*Moraxella* group II に、グループ6は *Bacillus* に、そしてグループ7は *Micrococcus* に、それぞれ属するものと考えられる。

これら分離菌株中、マコンブ分解能を示したものは、函館の試料では約3割程度、また釧路の試料では約5割強であり、合計83株のマコンブ分解細菌が得られた。このマコンブ分解細菌を前述の様にグループ分けすると、グループ1の *Vibrio* に入るものが圧倒的に多く、いずれの海水試料においても7割以上であった。また、グループ1の *Vibrio* に分類された菌株のほとんどが、マコンブを分解

した。

これらのマコンブ分解菌の分類同定に関しては、今後、さらに詳しく検討を行う。また、マコンブ分解の様相の解析を分解代謝産物の分析および走査型電子顕微鏡によるマコンブの形態的変化の観察等から検討する予定である。

4. 所感

当研究室では、今回初めて、農林水産省ジーンバンク事業の国内探索収集の旅費をいただいたわけだが、当初の申請額の4分の1程度の査定額となり、一人の研究者の旅費も賄えなくなってしまった。実際、他の旅費もかき集めてやっと当探索旅行を行えた次第である。当事業自身いろいろと事情のあることと思いますが、目的地までの往復も出来ない旅費というのは、どう考えても理解に苦しみます。今後は、探索収集計画の旅費等を充分考慮した査定を望みたいと思います。

(協力機関)

北海道立函館水産試験場

水産庁北海道区水産研究所

表 1. 探索・収集日程表（北海道，1988）

月 日	旅 程	行 動 内 容
7 月 4 日	中央水研－東京（羽田）－函館	空路移動および試料採取
7 月 5 日	函館－釧路	陸路移動
7 月 6 日	釧路－東京（羽田）－中央水研	試料採取および空路移動



図 探索収集地域と収集地点

HA：函館市川汲の海岸

KU：釧路市桂恋漁港内の海岸

収集地点付近の褐藻等の分布（図中の記号）

＋；マコンブ

↑；ナガコンブ

□；リシリコンブ

×；チジミコンブ

●；オニコンブ

▲；ワカメ

△；ホソメコンブ

■；ガゴメ

○；ミツイシコンブ

v；ネコアシコンブ

[長谷川由雄：北水誌月報，16，201-206（1959）より]

表 2. 試料海水の性状と生菌数

試料採集場所	試料採集日	温度 (℃)	pH	塩分 (0/00)	生菌数 (cells/ml)
函館市川汲海岸	7月4日	14.0	8.0	30.0	1.2×10^4
釧路市桂恋漁港	7月6日	15.0	7.8	29.0	2.9×10^4

表 3. 分離菌株の性状

グループ	1	2	3	4	5	6	7
グラム染色	—	—	—	—	—	+	+
糖の酸酵性	+	—	—	—	—	—	—
色素の産生* ¹	Y, C	Y	C	C	C	C	YG
運動性	+, —	—	+	—	—	+	—
増殖の早さ* ²	H, L	H, L	H, L	H	L	L	H, L
細胞の形状* ³	R, S	R, S	R, S	R, S	R, S	R	C
オキシダーゼ	+	+, —	+, —	+, —	+	+	—
カタラーゼ	+, —	+	+, —	+, —	+	+	+
糖からのガス産生	—	—	—	—	—	—	—
寒天の分解	+, —	+, —	+, —	—	—	—	—
0/129感受性	+						
好塩性試験	+						
孢子形成						+	
菌株数 (函館)	25	17	47	0	7	1	3
菌株数 (釧路)	46	4	37	2	11	0	0

* 1 C : クリーム色, GY : 黄緑色, Y : 黄色。

* 2 H : ZoBell 培地で1日以内にコロニーを形成, L : 同じ培地で一日以内にはコロニーを確認できない。

* 3 R : 桿菌, S : 短桿菌, C : 球菌。

表 4. 国内微生物遺伝資源の現地収集実績 (63年度調査分)

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	
11	01	50	HA 1	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 2	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 3	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 4	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 5	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 6	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 7	〃	
〃	〃	〃	HA 8	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 9	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 10	〃	
〃	〃	〃	HA 11	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 12	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 13	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 14	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 15	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 16	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 17	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 18	〃	
〃	〃	〃	HA 19	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 20	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 21	〃	
〃	〃	〃	HA 22	〃	
〃	〃	〃	HA 23	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 24	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 25	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 26	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 27	〃	
〃	〃	〃	HA 28	〃	
〃	〃	〃	HA 29	〃	
〃	〃	〃	HA 30	〃	

分離源	収集年月	収集場所	特 記 事 項
海水	7月4日	函館市	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	
11	01	50	HA 31	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	HA 32	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 33	〃	
〃	〃	〃	HA 34	〃	
〃	〃	〃	HA 35	〃	
〃	〃	〃	HA 36	〃	
〃	〃	〃	HA 37	〃	
〃	〃	〃	HA 38	〃	
〃	〃	〃	HA 39	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 40	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 41	〃	
〃	〃	〃	HA 42	〃	
〃	〃	〃	HA 43	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 44	〃	
〃	〃	〃	HA 45	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 46	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 47	〃	
〃	〃	〃	HA 48	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 49	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 50	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 51	<i>Micrococcus</i>	
〃	〃	〃	HA 52	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 53	〃	
〃	〃	〃	HA 54	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 55	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	HA 56	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	HA 57	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	HA 58	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	HA 59	〃	
〃	〃	〃	HA 60	〃	

分離源	収集年月	収集場所	特 記 事 項
海水	7月4日	函館市	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)
11	01	50	HA 61	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	HA 62	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II
〃	〃	〃	HA 63	〃
〃	〃	〃	HA 64	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA 65	〃
〃	〃	〃	HA 66	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	HA 67	〃
〃	〃	〃	HA 68	〃
〃	〃	〃	HA 69	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA 70	〃
〃	〃	〃	HA 71	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	HA 72	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA 73	<i>Micrococcus</i>
〃	〃	〃	HA 74	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II
〃	〃	〃	HA 75	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	HA 76	〃
〃	〃	〃	HA 77	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA 78	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	HA 79	〃
〃	〃	〃	HA 80	〃
〃	〃	〃	HA 81	〃
〃	〃	〃	HA 82	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA 83	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	HA 84	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA 85	〃
〃	〃	〃	HA 86	〃
〃	〃	〃	HA 87	〃
〃	〃	〃	HA 88	〃
〃	〃	〃	HA 89	<i>Bacillus</i>
〃	〃	〃	HA 90	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)
11	01	50	HA 91	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA 92	〃
〃	〃	〃	HA 93	〃
〃	〃	〃	HA 94	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I
〃	〃	〃	HA 95	〃
〃	〃	〃	HA 96	〃
〃	〃	〃	HA 97	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II
〃	〃	〃	HA 98	〃
〃	〃	〃	HA 99	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	HA100	<i>Micrococcus</i>
〃	〃	〃	KU 1	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	KU 2	〃
〃	〃	〃	KU 3	〃
〃	〃	〃	KU 4	〃
〃	〃	〃	KU 5	〃
〃	〃	〃	KU 6	〃
〃	〃	〃	KU 7	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II
〃	〃	〃	KU 8	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	KU 9	〃
〃	〃	〃	KU 10	〃
〃	〃	〃	KU 11	〃
〃	〃	〃	KU 12	〃
〃	〃	〃	KU 13	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	KU 14	〃
〃	〃	〃	KU 15	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	KU 16	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	KU 17	<i>Vibrio</i>
〃	〃	〃	KU 18	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II
〃	〃	〃	KU 19	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II
〃	〃	〃	KU 20	<i>Vibrio</i>

分離源	収集年月	収集場所	特 記 事 項
海水	7月4日	函館市	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	7月6日	釧路市	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	
11	01	50	KU 21	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 22	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 23	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 24	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 25	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 26	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 27	〃	
〃	〃	〃	KU 28	〃	
〃	〃	〃	KU 29	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 30	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 31	〃	
〃	〃	〃	KU 32	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 33	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 34	〃	
〃	〃	〃	KU 35	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 36	〃	
〃	〃	〃	KU 37	〃	
〃	〃	〃	KU 38	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 39	〃	
〃	〃	〃	KU 40	〃	
〃	〃	〃	KU 41	〃	
〃	〃	〃	KU 42	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 43	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 44	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 45	〃	
〃	〃	〃	KU 46	〃	
〃	〃	〃	KU 47	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 48	〃	
〃	〃	〃	KU 49	〃	
〃	〃	〃	KU 50	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	

分離源	収集年月	収集場所	特 記 事 項
海水	7 月 6 日	釧路市	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	
11	01	50	KU 51	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 52	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 53	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 54	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	KU 55	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 56	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 57	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 58	〃	
〃	〃	〃	KU 59	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 60	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 61	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 62	〃	
〃	〃	〃	KU 63	〃	
〃	〃	〃	KU 64	〃	
〃	〃	〃	KU 65	〃	
〃	〃	〃	KU 66	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 67	〃	
〃	〃	〃	KU 68	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 69	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 70	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 71	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	KU 72	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 73	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 74	〃	
〃	〃	〃	KU 75	〃	
〃	〃	〃	KU 76	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 77	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 78	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 79	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 80	〃	

分離源	収集年月	収集場所	特 記 事 項
海水	7月6日	釧路市	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	
11	01	50	KU 81	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 82	〃	
〃	〃	〃	KU 83	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 84	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 85	〃	
〃	〃	〃	KU 86	〃	
〃	〃	〃	KU 87	〃	
〃	〃	〃	KU 88	<i>Acinetobacter-Moraxella</i> group II	
〃	〃	〃	KU 89	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 90	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 91	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 92	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 93	〃	
〃	〃	〃	KU 94	〃	
〃	〃	〃	KU 95	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	
〃	〃	〃	KU 96	<i>Vibrio</i>	
〃	〃	〃	KU 97	〃	
〃	〃	〃	KU 98	<i>Alcaligenes, Caulobacter</i> , または <i>Pseudomonas-Alteromonas</i> group I, II	
〃	〃	〃	KU 99	〃	
〃	〃	〃	KU100	<i>Cytophaga</i> または <i>Flavobacterium</i> group I	

分離源	収集年月	収集場所	特 記 事 項
海水	7 月 6 日	釧路市	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	マコンブ分解
〃	〃	〃	〃
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	
〃	〃	〃	

Ⅱ . 国 外 探 索 収 集 報 告

(昭和63年度)

Ⅱ-1. ネパールにおける伝統的な発酵食品の調査 および食品微生物の調査

食品総合研究所応用微生物部微生物利用第1研究室

新 國 佐 幸

1. 目的

ネパール国は、東経約80度から88度、北緯26度から30度付近に位置し、東西約800km、南北約160kmの長方形の内陸国で、面積は約147,000km²であり、北海道の約2倍の面積である。我が国の南西諸島とはほぼ同緯度であるが、南はインドに接する低地地方（タライ地方、標高約300m）、北はチベットに接するヒマラヤ山岳地帯まで高低が著しいため、その気候条件は亜熱帯から寒帯まで変化に富む。

また、中尾¹⁾は「照葉樹林文化」説を提唱し、アジアの照葉樹林帯には共通的な文化的要素の存在が認められるとしている。この照葉樹林帯はネパール・ヒマラヤからアッサム、ビルマ北部、タイ北部、雲南、江南地方を経て、台湾、日本につながるといわれ、カビを使う発酵酒や大豆発酵食品がその共通的文化的要素にあげられて^{1,2)}おり、ネパールにも日本と同様、カビを使う発酵酒や日本の納豆に良く似た大豆発酵食品がある。これらの発酵食品の多くはまだほとんど調べられていない。

このため、様々な気候条件をもち、かつ日本と共通的な発酵技術をもつネパール国に滞在して、この国の発酵食品を調査し、微生物を利用する技術を調べるとともに、有用菌を分離・収集する。

2. 実施の概要

①試料の収集

ネパール国農務省中央食品研究所（Central Food Research Laboratory, CFRL）所長 T. カルキ博士の助言と援助のもとに、カトマンズ、ポカラ両市を中心に試料を収集した。

当初予定したネパール国南部の亜熱帯地域での試料の収集は、1988年8月21日に発生した大地震によりかなりの被害が出たため、カルキ博士が外国人である筆者の身の安全を懸念すると共に、所員の同行に難色を示したので中止した。

試料の収集にあたっては、案内や通訳、車の手配等の便宜を CFRL から受けた。

②発酵食品の調査

現在、CFRL の所長 T. カルキ博士は日本では餅麴とよばれるネパールの麴「マーチャ」について、その品質評価法の確立と有用微生物の分離を研究の課題として取りあげている。有用微生物の分離という点で筆者の出張目的と一致したため、共同で「マーチャ」の品質評価法の確立と優良「マーチャ」からの有用微生物の分離を行うこととした。

このため CFRL の微生物研究室において、まず、収集した「マーチャ」4点を用いて、少量の水を加えた蒸し米を3日間30℃で発酵させ、発酵米を調製した（図3）。発酵米の pH、酸度、還元糖、全

糖、アルコールを測定すると共に官能検査を行い、発酵米の評価から優良「マーチャ」を選択した。次に、この優良「マーチャ」を用いて、1 kgの米からネパールの伝統的方法により「ジャン」を製造し、pH、酸度、還元糖およびアルコールを測定した。

③微生物の分離

微生物の分離には、YM 培地、YM-miso 培地、PDA 培地、Briggs 培地、Briggs-miso 培地を用い、発酵米および収集した試料から目的とする酵母、耐塩性酵母、糸状菌、好塩性乳酸菌を分離した。

3. 成果

1) 試料の収集

米製の「マーチャ」7点、シコクビエ製の「マーチャ」1点、米製の「モナ」1点、小麦製の「モナ」1点、「マーチャ」の原料である米1点、米粉1点、シコクビエ1点、味噌3点、漬物2点、チーズ1点、半乾燥果物1点の計20点を収集した。

2) 発酵食品の調査

①麴の種類

ネパールには麴とそれを用いる発酵酒が存在する。吉田³⁾は、東アジアの酒のスターター（起発酵剤）の分類を試み、基本的スターターとして唾液、穀芽、菌類の3種類に分類し、菌類スターターはさらに、植物スターター、酒かすスターター、穀物スターター、孢子スターターに分類・整理している。このうち、穀物スターターは東アジアに最も多いスターターで、散麴と餅麴に分類され、この散麴と餅麴を吉田³⁾は、粒スターターと団子スターターとよび、この穀物スターターの中では、団子スターターがアジアでは圧倒的に多く、団子スターターは、さらに加熱、混合、生の3種類に分けられ、この内生団子スターターが最も多いという。

ネパールの麴は一般に「マーチャ(Murcha)」と呼ばれている。ネパールの麴には、「モナ(Mona)」とよぶ散麴（ばらこうじ）と、「マナップ(Manapu)」とよぶ餅麴があり、一般にネパールで「マーチャ」と言えば、このうち餅麴タイプをさす。ネパールの餅麴は、その形状・製法から、吉田³⁾の分類では、アジアで最も多いタイプとされる生団子スターターにあたるであろう。

②ネパールの餅麴「マーチャ」の製造法

ルプ地区はネパールの首都カトマンズ市の近郊にある集落である。この地区内には約50軒の製造業者があり、カトマンズ盆地内に麴を提供している。このうちの2軒の業者の製造法を以下に記す（図2）。「マーチャ」にはシコクビエを原料とするものと米を原料とするものがあり、カトマンズ盆地のこのマーチャの原料は米である。この地区内には米の製粉所があり、マーチャ製造業者に米粉を提供している。米はあらかじめ浸漬をしてから製粉する。

マーチャ製造業者は、購入した米粉40kgに、シダ類の葉の乾燥物5～200gと、前回つくったマーチャ4～10個粉碎しながら加える。次に水を加え、じゅうぶんに練る。これを団子状に丸めたあと、手のひらでつぶし、「丸め餅」状にする。屋根裏部屋の床に稲わらを敷き、この上にこの「丸め餅」を並べる。並べ終わったら上にまた稲わらを敷く。夏期5日間、冬期7～10日間程度発酵させる。発酵中はこの「丸め餅」が熱く感じられるので、熱が感じられなくなれば、発酵は終了とする。発酵後は、庭

のむしろの上で天日乾燥する。乾燥後、表面をブラッシングし、外見を良くして出荷する。

米の粉（浸漬して製粉するので水分を含んでいる）40kgから約1,600個のマーチャ（約30-35kg）ができる。筆者の訪れたマーチャ製造業者は1日に米の粉40kgを処理する。製品マーチャ1個は1ルピー（約5円）である。

一方、ポカラ市（カトマンズ市の西北約200kmにある都市）の近くのダンプス地区では、シコクビエ製のマーチャを入手し、この製法を聞き取ることができた。まずシコクビエを粉碎し、前回製造したシコクビエ製のマーチャと適当量の水を加え、練って、団子状にする。わらの上に並べ、またその上にわらを敷く。3日間ほど発酵させた後乾燥させる。乾燥法は天日乾燥と火力乾燥の2種類の方法があり、火力乾燥の方が品質は良好だそうである。

米製とシコクビエ製のマーチャの製造法は、原料が異なるだけでほぼ同じであった。

③ネパールの散麴「モナ」の製造法

ネパールには散麴もある。カトマンズ盆地の散麴「モナ」の原料には、米もしくは小麦が用いられている。作り方は、米（小麦）を洗浄、浸漬後こしきにて蒸す。蒸し米をむしろの上に広げ、その上にまたわらやむしろでおおう。約1週間で緑色の胞子のカビが表面をおおう。次に天日で4-5日間乾燥して「モナ」になる。

この作り方は、日本の塩辛納豆である大福寺の浜納豆⁴⁾の大豆麴の作り方に良く似ている。大福寺でも種麴は用いず、むしろを製麴時に使う⁴⁾。

乾燥されたモナはわずかに緑色を帯びた褐色を呈している。胞子の色が緑色から *Aspergillus* 属の菌と推定され、日本の麴とほぼ同じタイプの散麴であることは興味深い。

④「ジャン」の製造試験

収集した4種の「マーチャ」を用いて蒸米を発酵させ、発酵米を調製した結果、発酵米には1%の酸度（乳酸として）、15-20%の還元糖、3-4%のアルコールが含まれていた。これは、アミラーゼによる加水分解反応と同時に乳酸菌による乳酸発酵と酵母によるアルコール発酵が同時に起きていることを示唆している。官能検査の結果から、ルプ地区より収集した米製のNo.2の「マーチャ」から調製した「発酵米」が最も香味が優れていることがわかった。

次に、このNo.2の「マーチャ」を用いて「ジャン」を製造し、分析した結果、「ジャン」には0.7%の乳酸と10-11%の還元糖、3.8% (4.7%, v/v)のアルコールが含まれており、中央食品研究所の職員による官能評価も好評であった。

3) 微生物の分離・収集

①糸状菌

ネパールの麴から微生物を分離した結果、*Rhizopus* 系の糸状菌は、餅麴タイプの「マーチャ」から $10^5 \sim 10^7$ /g、散麴タイプの「米モナ」から 10^6 /g、「麦モナ」から 7×10^5 /g 検出された（表4）。また、緑色の分生胞子を持つ *Aspergillus* 属の糸状菌は、「米モナ」から 4×10^7 /g、「麦モナ」から 4×10^5 /g 検出された。

これら分離された糸状菌の中から、「マーチャ」からは2株の、「モナ」からは7株の *Rhizopus* 系の糸状菌と、「モナ」から分離された8株の *Aspergillus* 属の株を選び、計17株の糸状菌についての同

定を現在行っている。東南アジアや南西アジアで緑色の *Aspergillus* を用いる発酵食品は珍しいので、引き続き *Aspergillus* 属の 8 株についての特性の調査を行う予定である。

②酵母

4 種の「マーチャ」から調製した発酵米 4 点から分離し持ち帰った酵母 28 株は、さらに純粋分離を行い、12 株に整理統合した。「マーチャ」より帰国後酵母の分離を行い更に 4 株を分離した。現在計 16 株について同定を行っている。

また、耐塩性醸造用酵母を取得するため、収集したネパールの味噌より帰国後、耐塩性酵母の分離を行った。その結果、耐塩性酵母 5 株が分離されたが、全て産膜性の酵母であり、醸造用の酵母である *Zygosaccharomyces rouxii* や *Candida etchellsii*, *Candida versatilis* は分離されなかった。また、分離した耐塩性酵母のキラー活性を調べたが、活性を有する酵母はなかった。

③乳酸菌

醸造用好塩性乳酸菌を分離するため、持ち帰ったネパールの味噌、漬物、「マーチャ」より乳酸菌を分離し、15 株を得た。しかしながら、特性を試験した結果、15 株とも醸造用の有用好塩性乳酸菌 *Pediococcus halophilis* ではなかった。

4. 所感

抗生物質生産菌の探索収集の時代を経て昨今のバイオテクノロジーの時代を迎え、微生物も貴重な資源とみなし、これを保護しようとする動きはますます高まってきている。このような状況下で微生物特に応用微生物分野の微生物—例えば発酵食品関連の微生物—についてはその国からの持ち出しはなかなか困難になりつつあり、土壌もその持ち出しを禁止しているところが多い。

このような情勢下で、日本側単独で日本の一方的な都合により国外で有用菌の調査・探索・収集を遂行することは、その国の資源ナショナリズムの反発にあい、困難である。国外特に発展途上国において微生物等の遺伝資源を探索し確保しようとするれば、相手国側に対する技術協力と技術転移をベースにした共同研究が必要条件となるであろう。

今回の出張では、ネパール国農務省 CFRL には大変お世話になった。多大な便宜を供与していただくと共に、収集した試料と菌株の国外持ち出しも快く了承して下さった。これは、この研究所と食総研が長年の国連大学等を通じた技術協力の関係があったからだと思う。国連大学の研修生として過去に食総研に留学した経験ある人たちが、この CFRL の所長と部長という大変重要な研究所の 2 つのポストに座っていたことが、今回の調査・研究を順調に遂行できた大きな要因であろう。

所長の T. カルキ博士の専門は応用微生物・発酵であり、ネパールの発酵食品特に漬物に対して造詣が深く、食総研で研修が終了した後東京農業大学において博士号を取得した人である。現在、同博士は「マーチャ」について、その品質評価法の確立と有用微生物の分離を研究課題として取りあげており、優れた発酵技術を持つ日本との共同研究・技術協力を熱望された。当方の出張目的と有用微生物の分離という点で一致したため、共同で「マーチャ」の品質評価法の確立と優良「マーチャ」からの有用微生物の分離を行うこととした。国外からの遺伝資源の探索と確保という仕事には微妙な問題を含むため、その遂行にはどうしても共同研究が必要と考えたからである。

上記の試験・研究は、CFRL の微生物研究室で行った。ここの施設はあまり整っておらず、また年間の研究費も貧弱なものであるらしい。このため、ピペット等の必要器具類の購入に現地活動費は大変ありがたいものであったし、また帰国の際には購入したガラス器具類は残してきたので、CFRL 側からも感謝された。

最後に、種々の便宜とご配慮をいただいた在ネパール日本大使館、計画の策定ならびに事務処理に当たり種々ご指導およびご配慮をいただいた技術会議事務局連絡調整課、農業生物資源研究所、食品総合研究所の関係各位に心より感謝申し上げる。

参考文献

- 1) 中尾佐助：“栽培植物と農耕の起源”，岩波書店，1966，p.59-75
- 2) 佐々木高明：“世界の食べ物週刊朝日百科”，第5巻(50号)，中尾佐助編，朝日新聞社，1981，p.276-280
- 3) 吉田集而：醸協，80，780 (1985)
- 4) 伊藤 寛：醸協，71，173 (1976)

5. 資料

表1. 発酵食品の調査・微生物の分離の日程表 (ネパール国, 1988, 10. 18~11. 11)

年月日 (曜)	旅 程	行 動 内 容
63. 10. 18(火)	農土試→成田→TG641→バンコク	
10. 19(水)	バンコク→TG311→カトマンズ	日本大使館書記長官と日程打ち合わせ 農務省中央食品研究所 (CFRL), 挨拶および 今回の調査についての説明と協力依頼
10. 20(木)	カトマンズ市内を車で移動	試資料の収集とマーケット調査 CFRL, 打ち合わせ
10. 21(金)	カトマンズ市内を移動	自家醸造酒の調査 CFRL, 国内調査旅行の打ち合わせ
10. 22(土)	カトマンズ→ポカラ	移動
10. 23(日)	ポカラ→サンクヘル→ダンプス ダンプス→サンクヘル→ポカラ	自家醸造酒および「マーチャ」の調査
10. 24(月)	ポカラ→カトマンズ	移動
10. 25(火)	カトマンズ	CFRL, 実験の打ち合わせ 実験器具類, 試薬類の下調べ
10. 26(水)	カトマンズ→車→ルブ ルブ→車→カトマンズ	「マーチャ」製造所調査 CFRL, 「マーチャ」より発酵米「ジャー ン」製造実験の打ち合わせおよび 実験器具類の調達
10. 27(木)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の製造実験
10. 28(金)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の製造実験
10. 29(土)	カトマンズ→車→ルブ ルブ→車→カトマンズ	「マーチャ」製造所, 製造工程の観察と記録
10. 30(日)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の酸度の分析
10. 31(月)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の糖の分析
11. 1(火)	カトマンズ	CFRL, 発酵米のアルコールの分析
11. 2(水)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の微生物の分離
11. 3(木)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の微生物の分離
11. 4(金)	カトマンズ	CFRL, 「ジャーン」の製造実験
11. 5(土)	カトマンズ→車→ベネパ ベネパ→車→カトマンズ	試料の収集・マーケット調査
11. 6(日)	カトマンズ	CFRL, 微生物の分離
11. 7(月)	カトマンズ市内を車で移動	味噌, 醤油, 焼酎製造所の調査
11. 8(火)	カトマンズ	日本大使館, 活動報告 CFRL, 微生物の移し換えと結果の取りま とめ
11. 9(水)	カトマンズ市内を車で移動	試料の収集・マーケット調査 CFRL, 試料の整理, 結果と今後について の討論と打ち合わせ
11. 10(木)	カトマンズ→TG312→バンコク	
11. 1(金)	バンコク→TG640→成田 成田→食総研	輸入検疫受検

注) 土曜日: 休日

日曜日: 平日

表 2. 協力機関名

協 力 機 関 名	所 在 地
ネパール国農務省中央食品研究所	カトマンズ



図 1 ネパール国試料収集地

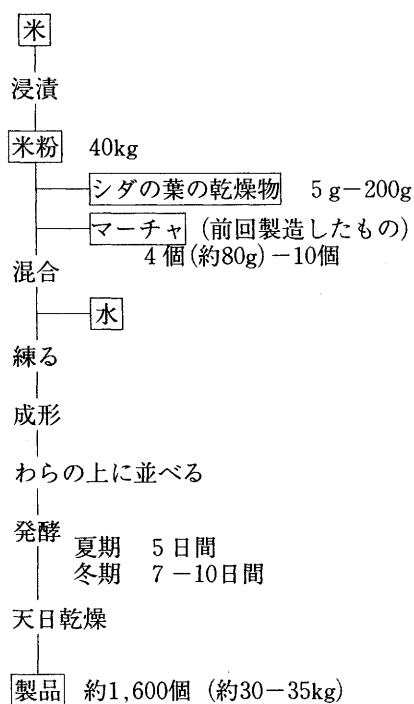


図2 ネパールの餅麴「マーチャ」の製造法

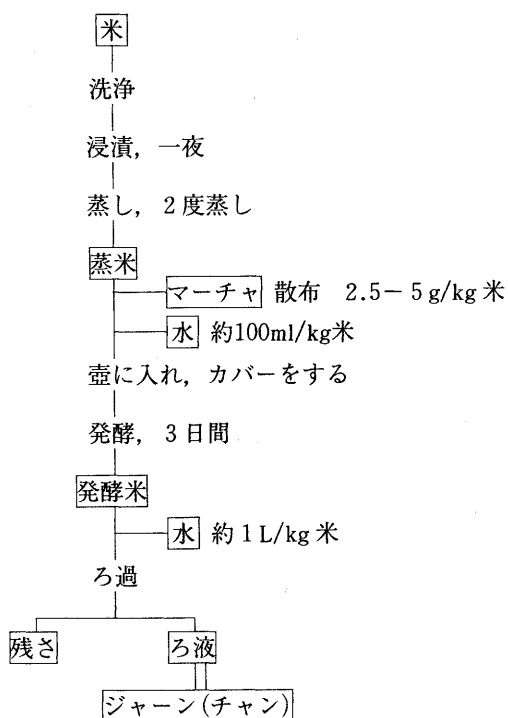


図3 「ジャーン」の製造法

表3. 収集したネパールの麴

試料	収集地	主原料	重さ* (g/個)	直径または横×縦* (cm)	厚さ* (cm)
マーチャ (餅麴)	M 1	ダンプス シコクビエ	8	4×2.5	1.8
	M 2	ルブ 米	12	5	1.0
	M 3	ルブ 米	21	5.5	1.2
	M 4	ルブ 米	21	4.5	1.5
	M 5	ルブ 米	17	5.5	1.2
	M 6	ルブ 米	9	4.2	1.2
	M 7	バネパ 米	7	4	0.8
モナ (散麴)	R K	ルブ 米	—	—	—
	W K	ルブ 小麦	—	—	—

* : 2 ~ 3 個の平均値

表4. ネパールの麴の微生物相

(生菌数/g)

試料	糸状菌*			酵母**		乳酸菌***
	糸状菌総数	<i>Aspergillus</i> 属	その他 <i>Rhizopus</i> 等	酵母総数	<i>Saccharomycopsis</i> 属	
M 1	1.3×10^7	—	1.3×10^7	1.6×10^6		1×10^4
M 2	3.0×10^7	—	3.0×10^7	2.6×10^8	2.1×10^7	6.3×10^7
M 3	4.6×10^7	—	4.6×10^7	1.1×10^8	9.0×10^7	1.3×10^8
M 4	1.9×10^6	—	1.9×10^7	3.6×10^8	1.8×10^8	3.1×10^8
M 5	6.0×10^5	—	6.0×10^5	1.5×10^8	3.0×10^7	3.4×10^7
M 6	1.8×10^7	—	1.8×10^7	5.7×10^7	2.3×10^7	6.0×10^7
M 7	3.8×10^6	—	3.8×10^6	3.0×10^8	9.0×10^7	1.4×10^8
R K	3.7×10^7	3.5×10^7	1.5×10^6	—	—	1.1×10^5
W K	1.1×10^6	4.0×10^5	7.0×10^5	—	—	1.5×10^5

* : PDA 培地+クロランフェニコール(100ppm)+ジクロラン(5 ppm)

** : YM 培地+クロランフェニコール(100ppm)+プロピオン酸ナトリウム(0.2%)

*** : Briggs 培地+炭酸カルシウム(1%) + BCP(60ppm)

— : 検出せず ($< 3 \times 10^3$)

表5. 海外微生物遺伝資源の現地収集実績 (63年度調査分)

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源	
300	03	20	101A	<i>Saccharomyces</i> sp.	発 酵 米	
〃	〃	〃	102B	〃	〃	
〃	〃	〃	103A	〃	〃	
〃	〃	〃	103B	〃	〃	
〃	〃	〃	103C	〃	〃	
〃	〃	〃	103D	〃	〃	
〃	〃	〃	104A	〃	〃	
〃	〃	〃	104B	〃	〃	
〃	〃	〃	104D	〃	〃	
〃	〃	〃	104G	〃	〃	
〃	〃	〃	106A	〃	〃	
〃	〃	〃	108-2	〃	〃	
〃	〃	〃	M2Y-1	〃	マ ー チ ャ	
〃	〃	〃	M2Y-2	〃	〃	
〃	〃	〃	M2Y-3	〃	〃	
〃	〃	〃	M3Y-4	〃	〃	
〃	04	〃	PKG-1	<i>Aspergillus</i> sp.	米 モ ナ	
〃	〃	〃	PKG-2	〃	〃	
〃	〃	〃	PKG-3	〃	〃	
〃	〃	〃	PKG-4	〃	〃	
〃	〃	〃	PKG-5	〃	〃	
〃	〃	〃	WKG-1	〃	小 麦 モ ナ	
〃	〃	〃	WKG-2	〃	〃	
〃	〃	〃	WKG-3	〃	〃	
〃	〃	〃	RKB-1	<i>Rhizopus</i> sp.	米 モ ナ	
〃	〃	〃	RKB-2	〃	〃	
〃	〃	〃	RKB-3	〃	〃	
〃	〃	〃	WKB-1	〃	小 麦 モ ナ	
〃	〃	〃	WKB-2	〃	〃	
〃	〃	〃	WKB-3	〃	〃	

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項
1988. 11	カトマンズ	官能評価値が最高点の発酵米からの分離
〃	〃	〃
〃	〃	YM培地上でアルコール臭
〃	〃	YM培地上で果実臭
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	YM培地上でアルコール臭
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	ルプ	帰国後の分離実験による
〃	〃	〃
1988. 10	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源	
300	04	20	WKB-4	<i>Rhizopus</i> sp.	小麦モナ	
〃	〃	〃	M2-1	〃	マーチャ	
〃	〃	〃	M2-2	〃	〃	

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項
1988. 10	ルブ	帰国後の分離実験による
〃	〃	〃
〃	〃	〃

Ⅲ. 前年度までの探索収集実績のまとめ

Ⅲ. 前年度までの探索収集実績のまとめ

年 度	調 査 課 題	対 象 微 生 物
昭62	害虫防除に利用する微生物の探索および特性解明	昆虫寄生菌
昭62	香川県および愛媛県における魚類病原菌およびウイルスの探索収集	魚類病原細菌 魚類病原ウイルス
昭62	多糖類分解酵素の生産菌の探索および特性解明	多糖類分解酵素生産菌
昭62	北海道の各種飼料に着生する有用微生物の収集	飼料微生物
昭62	窒素固定菌の探索収集と、その有効利用	窒素固定菌
昭62	反芻家畜寄生性住血原虫の探索および収集	家畜寄生性原虫

担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
果樹試験場	柳 沼 勝 彦	長野県 岩手県・青森県 静岡県	62. 7 .27～ 62. 7 .29 62.10.22～ 62.10.24 62.12. 7 ～ 62.12.8
養殖研究所	反 町 稔 佐 古 浩 前 野 幸 男	香川県・愛媛県	62.11. 7 ～ 62.11.11
食品総合研究所	原 口 和 朋	千葉県	62.10.12～ 62.10.13
畜産試験場	原 慎 一 郎	北海道	62. 9 .24～ 62. 9 .29
農業生物資源研究所	蒲 生 卓 磨	タイ国	62. 9 . 1 ～ 62. 9 .22
家畜衛生試験場	南 哲 郎	インドネシア国	62.11.29～ 62.12.19

昭和63年度 微生物遺伝資源探索収集調査報告書

1990年3月3日 印刷

1990年3月20日 発行

茨城県つくば市観音台2-1-2

編集兼
発行者 農林水産省農業生物資源研究所

印刷所 茨城県下館市中館186

朝日印刷株式会社