

## 納豆菌のコロニー形成と分布拡大：環境条件による影響

中桐斉之\* 萩野周平\* 遠藤敏生\* 波多拓哉\* 榎原周平\* 向坂幸雄\*\*

\*兵庫県立大学環境人間学部環境人間学科

\*\*中村学園大学短期大学部幼児保育学科

## 1. はじめに

大腸菌や枯草菌などのバクテリアは、栄養を含んだ寒天培地に接種すると培地の表面で成長、分裂を繰り返し、コロニーを形成して、分布を拡大する。例えば、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) を栄養 (ペプトン) を含んだ寒天培地に接種し、一定温度で培養すると、枯草菌は培地の表面上で増殖を繰り返し、集団としてコロニーを形成する [1]。このとき、コロニーは、寒天濃度や栄養濃度という物理・化学的環境条件によって様々なパターンを形成することが分かっている。

本研究では、納豆菌 (*Bacillus subtilis natto*) を用い、このパターン形成や増殖拡大のメカニズムを解析することを目的とし、培養実験とモデルを用いた計算機シミュレーションの両方からアプローチすることとした。

バクテリアコロニーの形成過程の研究は、生物の形態形成機構を解明するための単純で基本的なモデルとして有用であるだけでなく、生物の分布拡大を考える上でも重要であると考えられる。

一方、近年の計算機環境の発達に伴い、微分方程式系だけでなく、確率格子モデルなどを用いたシミュレーションによって、生物の個体数増減やパターンについての研究が行われてきた [2]。最近、生物の分布拡大のモデルにおいても、直接生息地を破壊するモデルというわけではないが、生息地の空間に影響が及ぼされた場合の分布拡大の影響について数理モデルを用いた研究などが行われてきている。

そこで、本研究では、生物として納豆菌を用い、コロニーの分布拡大について、培養実験とシミュレーションの両方を用いて解析することとした。

## 2. 培養実験

納豆菌を寒天培地上で培養し、コロニーの形成過程を解析する培養実験を行った。培地は、HiPolypepton の多少によって増殖のための栄養濃度を規定し、Ager (寒天) の多少によって寒天濃度を規定した。NaCl 5g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 5g/L, HiPolypepton 規定量, Ager 規定量を混合した溶液を pH7.1 に調

整し、直径 9cm の滅菌済み平板プラスチックシャーレに溶液を流し入れ、薄い寒天ゲル状の培地を作成した。濁度を 1μL 中の個体数が約 10<sup>6</sup> になるように調整し、冷却後の培地の中央表面に 1μL 植菌し、恒温恒湿培養機にて温度 37°C 湿度 97% で 2 週間培養を行った。

## 3. モデルとシミュレーション方法

100×100 の二次元の格子空間を用意し、その上で個体を増殖させ、その形や個体群密度を記録した。モデルには、個体群動態の解析などに用いられている確率的セルオートマトンモデル [2] を基本として発展させたモデルを用いる。これは時間が進むごとにランダムに格子点一つひとつの状態が変化する、複数の個体が存在する場合の相互作用を考慮したモデルである。

初期状態は納豆菌の 1 個体を中央の 1 点に配置した。また、各格子には、栄養を配置した。ここで、1 格子には、栄養と納豆菌が存在可能とし、納豆菌は最大で 5 個体まで存在可能とした。これは、納豆菌コロニーは二次元的ではなく、三次元的に増殖拡大しているため平面上だけでなく鉛直方向にも増殖可能なことを表している。

シミュレーションは、以下のように、時間経過とともに栄養吸収プロセス、増殖プロセス、栄養拡散プロセスの 3 つのプロセスを繰り返して行う。

- ① 100×100 の格子を用意
  - ② 各セルに栄養 (NU) を配置
  - ③ 中心のセルに納豆菌を配置
  - ④ 栄養吸収プロセス
  - ⑤ 増殖プロセス
  - ⑥ 栄養拡散プロセス
- ④～⑥を格子の数 10000 回繰り返し 1 MCS とし、これを繰り返して時間発展とした。

## 4. 実験結果

納豆菌コロニー 16 パターンの実験結果を図 1 に、シミュレーションの結果を図 2 に示す。図 1 より、栄養濃度 10.00g/L の条件のときのみ寒天濃度が 7.5g/L より低くなるにつれてコロニーの直径が減少することがわかる。そこで、栄養濃度 10.00g/L の条件のとき、寒天濃度が 7.5g/L から 5.0g/L に変化するときを詳しく調べた。その結果

Colonization and range expansion of the *Bacillus subtilis natto*:  
The Effect of Environmental Conditions

Nariyuki Nakagiri\*, Shuhei Hagino\*, Toshiki Endo\*, Takuya Hata\*, Shuhei Ebara\*, Yukio Sakisaka\*\*

\*University of Hyogo, \*\*Nakamura Gakuen Junior College

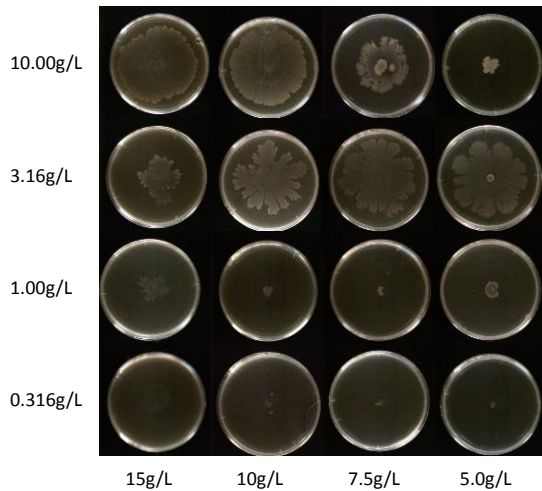


図 1. 納豆菌コロニー16パターン

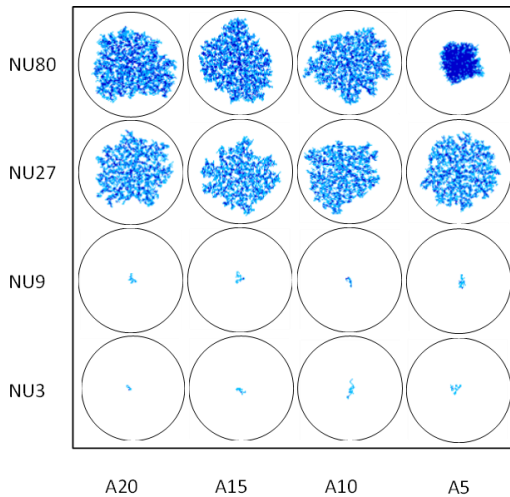


図 2. シミュレーション画像 16パターン

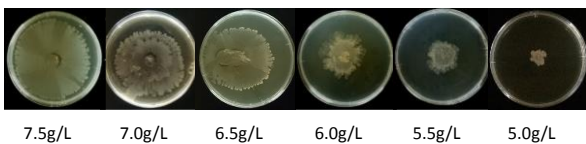


図 3. 10g/L のときの寒天濃度によるコロニーサイズへの影響

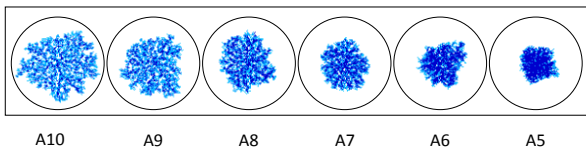


図 4. シミュレーション画像(栄養 NU80 のとき)

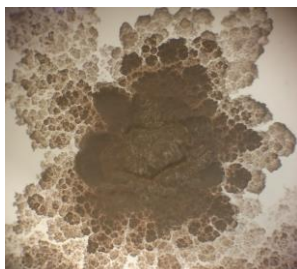


図 5. 生物顕微鏡 40 倍で撮影した納豆菌コロニー

を図 3 に対応するシミュレーションを図 4 に示す. 図 3 より, 栄養濃度 7.94g/L の条件が最も納豆菌コロニーが拡大するのに適していることが分かる. これについても, シミュレーションにおいて同様の結果が得られた(図 4).

### 5. 考察

栄養濃度 10.00g/L の条件のときでのみ寒天濃度が 7.5g/L より低くなるにつれてコロニーの直径が減少するのは, 栄養が十分に存在しており増殖拡大の必要がないからだと考えられる. なぜなら, 寒天濃度が低いときは, 寒天培地中の栄養が拡散しやすい状態になっており, 納豆菌は一度に十分な量の栄養を吸収できる. このとき, 納豆菌は自ら拡大して栄養を摂りに行く必要がなく, 平面ではなく鉛直方向に増殖しコロニーの拡大が起こらないと考えられる. これについて, 実際, 顕微鏡で観察も行った. その際の写真を図 5 に示す. 図 5 において, 栄養濃度が高く寒天濃度が低い条件では納豆菌コロニーは寒天培地の中心付近で鉛直方向に増殖していることが分かる. これは, 納豆菌が片面的ではなく鉛直方向へ増殖しているためである.

シミュレーションにおいても, 図 2 において鉛直方向への増殖を示す濃い青色が存在しており鉛直方向への増殖が行われていると考えられる. また, 詳細な条件下でも, 納豆菌コロニーは栄養濃度が高い条件では寒天濃度が低くなるにつれて二次元的な増殖よりも三次元的な増殖をするためコロニーサイズが小さくなっていると考えられる(図 4).

### 6. まとめ

納豆菌コロニーは栄養濃度が 10.00g/L の条件のときのみ寒天濃度が低くなるにつれてコロニーの直径が減少することがわかった. これは栄養濃度が高く寒天濃度が低い条件では納豆菌コロニーは鉛直方向に増殖しているからだと考えられる.

### 参考文献

- [1] Wakita, J. Shimada, H., Itoh, H., Matsuyama, T., and Matsushita, M., Periodic Colony Formation by Bacterial Species *Bacillus subtilis*. *Journal of the Physical Society of Japan*, 70, pp.911-919 (2001).
- [2] 中桐斉之, 三輪佳奈美, 榎原周平, 環境の変化がバクテリアのパターン形成へ及ぼす影響: 格子モデルによるシミュレーション, 情報処理学会第 74 回全国大会講演論文集 (1), pp.281-283, (2012).
- [3] Nakagiri, N. and Tainaka, K., Indirect effects of habitat destruction in model ecosystems. *Eco. Mod.*, 174, pp.103-114 (2005).