

II-441 *M. aeruginosa* 培養槽内の溶存細胞外代謝有機物について

日本工営(株) 正 員○小松佳幸  
岩手大学 正 員 大村達夫 海田輝之 相沢治郎 大沼正郎

1. はじめに

藻類は増殖あるいは自己溶解の間に水環境中に多種多様の代謝生産物を放出することが知られている。この代謝生産物は共存生物や自己の増殖に対して多大な影響を与えと言われており、水域生態系をコントロールする重要な因子の1つであると考えられている。そこで本研究においては、藍藻類の *Microcystis aeruginosa* (以下 *M. aeruginosa* と省略) を無菌的に回分培養し、培養液中への溶存有機物の挙動を明らかにするため、ゲルクロマトグラム、DOC、不揮発性有機酸を溶存有機物の指標として用いて検討を行なった。

2. 実験装置および方法

2.1 藻類培養装置および培養条件

藻類培養; 容量9.6lのガラス製の完全混合培養槽 照度; 側面から白色蛍光灯(4000lux)を照射し12/12時間明暗培養 培養温度; 25℃ 使用培地はMA培地とChu培地 混合; 無菌空気ではっ気 また、*M. aeruginosa* は国立公害研究所より提供を受けた。

2.2 測定項目

藻類量としてクロロフィル-aと藻類の死細胞の指標としてフェオ色素が測定された。また不揮発性有機酸、DOC(溶解性有機炭素量)、ゲルクロマトグラムが測定され溶存代謝有機物の指標として使用された。

3. 結果および考察

3.1 *M. aeruginosa* の増殖過程

図-1と図-2にはChu培地を使用した場合とMA培地を使用した時の *M. aeruginosa* の増殖曲線が示されている。ここに示される様に *M. aeruginosa* の増殖過程を遅滞期、対数増殖期、減衰期と区分し考察することにする。Chu培地を用いた場合は、対数増殖期初期からDOCの増加が観測され培養終了時には  $33.05 \text{ mg} \cdot \text{C} \cdot \text{l}^{-1}$  となった。MA培地を用いた場合のDOCの変化を見てみるとChu培地と異なっており培地に  $454.5 \text{ mg} \cdot \text{C} \cdot \text{l}^{-1}$  の有機炭素が含まれているので、初期の増殖期において *M. aeruginosa* による有機炭素の利用が顕著である。増殖期後期には、DOCは  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{C} \cdot \text{l}^{-1}$  まで減少し培地の有機炭素が *M. aeruginosa* の増殖によってほとんど利用されていることを示している。したがって、減衰期のDOCの増加は *M. aeruginosa* によって放出された有機物の蓄積を示していると考えられる。

3.2 不揮発性有機酸の分析および定量

藻類から放出される不揮発性有機酸には様々なものが報告されているが、ここでは文献から考えられる主要な5種類の有機酸であるビルビン酸、乳酸、グリコール酸、修酸、フマル酸の総量を総不揮発性有機酸量(TNOA)とみなすことにする。ここで、Chu培地を使用した場合の結果を図-3に示し、MA培地を使用した場合の結果を図-4に示す。これを見るとChu培地で増殖した *M. aeruginosa* は対数増殖期において非常に多くのグリコール酸を培養液中に蓄積することがわかる。また、減衰期においては、他のビルビン酸、乳酸、修酸、フマル酸なども  $10^{-1}$  オーダーで培養液中に蓄積してくることがわかる。しかし、MA培地を用いた系の対数増殖期では *M. aeruginosa* は培養液中へ有機酸を全く放出せず培養液中での有機

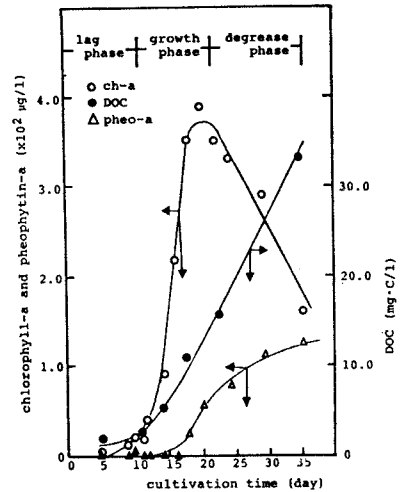


図-1 増殖曲線(Chu)

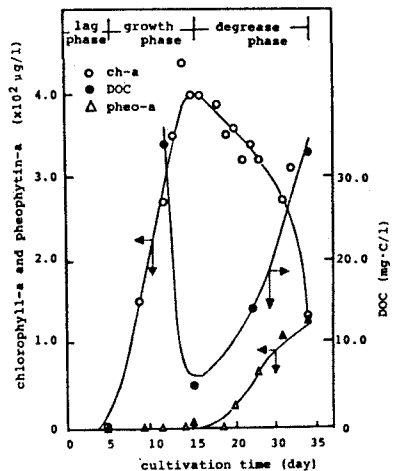


図-2 増殖曲線(MA)

酸の蓄積は全く確認されなかった。すなわち、MA培地のように培地中に有機物を含んでいる場合は増殖期においては有機酸の放出が起こらないことを示している。減衰期になるとグリコール酸等の放出が確認され培養終了時にはChu培地を用いた系と同等の有機酸濃度となった。

### 3.3 ゲルクロマトグラムによる放出代謝有機物の検討

本研究では低分子領域を良く分画し得るSephadex G-15を用いて分画す

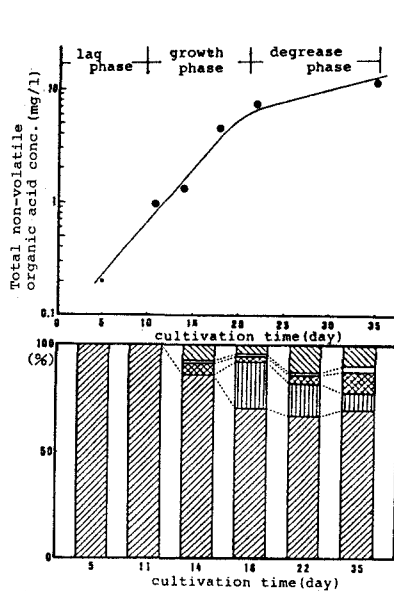


図-3 不揮発性有機酸定量結果(Chu)

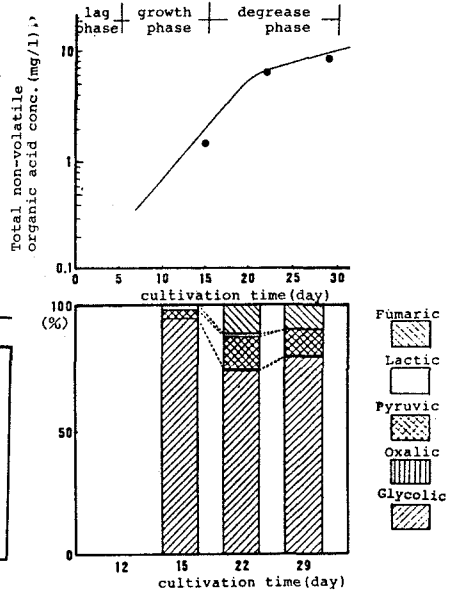


図-4 不揮発性有機酸定量結果(MA)

ることとした。図-5に減衰期のゲルクロマトグラムの一例を示す。これを見てわかるように、3つの顕著なピークが見られた。また、図-6と図-7には各経過日数の培養液を分画して得られた画群ⅠⅡⅢに含まれるDOCの変化の状況をChu培地を使用した場合とMA培地を使用した場合についてそれぞれ示す。これを見ると、Chu培地を使用した場合対数増殖期においては画群ⅢのDOC値が他の画群を若干上回っているが減衰期になると画群ⅠⅡのDOCの蓄積が顕著になることがわかる。一方、MA培地を用いた場合は対数増殖期から減衰期に移るときの分画結果をChu培地を使用した場合と比較すると、MA培地を用いた場合には画群Ⅰの培養液への蓄積が極端に大きいことがわかる。この事より有機物を含む基質を利用して増殖したM. aeruginosaは増殖中に比較的高分子量の物質を顕著に放出する事が考えられる。また、減衰期においては、画群Ⅰに加えて画群Ⅱの培養液中への蓄積が顕著になり画群Ⅰと画群ⅡのDOCの値が画群Ⅲの約2倍にもなった。

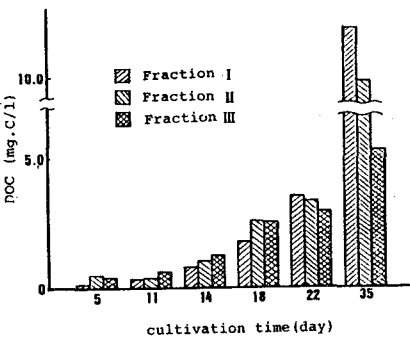


図-6 各画群DOC変化(Chu)

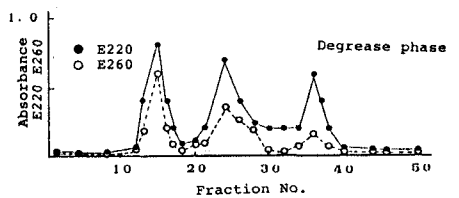


図-5 ゲルクロマトグラム

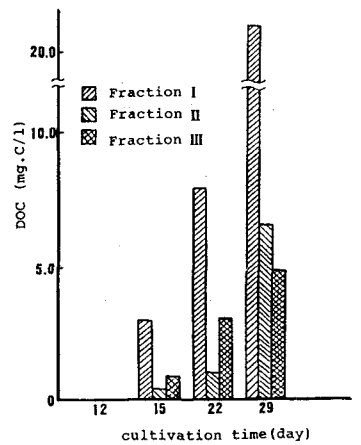


図-7 各画群DOC変化(MA)

た。すなわち、M. aeruginosaの減衰期の共通の特徴として言えるのは共に画群Ⅰと画群ⅡのDOCの蓄積が顕著になることである。これはM. aeruginosa細胞の自己分解過程が進行し細胞内容物である比較的高分子量の物質（炭水化物やタンパク質等）が培養液中に放出されていることが大きく関与していると考えられる。おわりに

本研究からM. aeruginosaによる溶存細胞外代謝有機物の放出の状況は基質中の有機物の有無によって大きく異なってくる事が示唆された。