

II-500

感潮域の細菌の増殖およびLAS分解に及ぼす塩分濃度変化の影響

徳島大学大学院 学○上月康則
 徳島大学工業短期大学部 正 村上仁士
 鳥取大学 正 細井由彦
 徳島大学工業短期大学部 正 伊藤禎彦
 徳島大学大学院 学 大野伸也

1. はじめに

潮汐の影響によって生じる塩分濃度の変化はLASのSSへの吸着特性¹⁾のみならず細菌の増殖にも影響を及ぼす²⁾ことがわかった。本研究では感潮域の上下流部に生息する細菌が塩分濃度の変化を受け、細菌の増殖が抑制される様子を観察する。ついで、細菌のLAS分解に及ぼす影響についても分解定数kを用いて実験的考察を行う。塩分濃度の変化が細菌にストレスを与える原因は浸透圧ショック³⁾であると考えられるが限定するまでには至っていない。そこで本文ではこの現象を塩分ストレスと称する。

2. 実験方法 上下流部に生息する細菌が送流される過程で塩分ストレスを受けることを想定して実験を行った。実験は表1に示す計4種類行った。RUN1では細菌の増殖に及ぼす塩分ストレスの影響を、RUN2ではLAS分解に及ぼす影響を観ることをそれぞれの実験の目的とした。試料中に塩化ナトリウムを一度に添加することによって塩分ストレスを与え、その影響を細菌数の経時変化(RUN1, 2)およびLAS濃度の経時変化(RUN2)から観察した。すべての実験は考察を確かなものとするために日を改め数回行った。以下表1の補足説明を述べる。試料には実河川水(RUN1-1)と本感潮河川から探索した *Pseudomonas cepacia*²⁾ (RUN1-2) を、RUN2では実河川水と菌液をそれぞれ用いた。河川水は図1に示した徳島市を流れる感潮河川の地点1(塩分濃度0%)と地点2(塩分濃度3%)で採水したものをGF1 μ mでろ過したものを用いた。菌液は下流部の試料に塩分ストレスを加えるには低塩分濃度下でLAS分解(RUN2)を行う必要があるために、下流部の河川水中の細菌をPYG1/5培地²⁾で培養することによって作成した。この菌液を各塩分濃度のLAS培地(NH₄Cl 0.5g, KH₂PO₄ 2g, (NH₄)₂SO₄ 0.5g, Na₂HPO₄ 3g, MgSO₄·7H₂O 0.01g, H₂O 1000ml)中に添加することで塩分ストレスを与えた。測定項目は細菌数とLAS濃度である。細菌数測定にはPYG1/5、塩分濃度1.5%(人工海水添加)の寒天培地²⁾を用いた。この培地によって測定される細菌数の増減は細菌の増殖、死滅を表すことが確認されている²⁾。またLAS測定には飯塚らによる原子吸光度法⁴⁾を一部改変したもの²⁾を用いた。なおすべての実験は25℃, 暗所, 好気的条件下で行われた。

3. 結果および考察

1) 細菌の増殖に及ぼす塩分ストレスの影響 RUN1-1の実験結果を示した図2から、塩分ストレスを受けると15分後には細菌の一部が死滅、あるいは増

表1 実験概要

RUN	実験試料	塩分濃度	LAS濃度
1-1	地点1の河川水	0,1,2,3%	
1-2	<i>Pseudomonas cepacia</i> POLYPEPTON 0.01g YEAST EXTRACT 0.05g GLUCOSE 0.0025g H ₂ O 1000ml	0,3%	
2-1	地点1の河川水	0,1,2,3%	5mg/l
2-2	地点2の菌液	0,1,2,3%	5mg/l



図1 観測地点

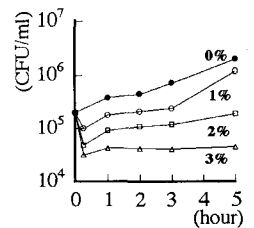


図2 細菌数の変化 (RUN1-1)

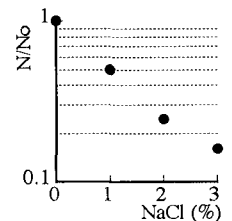


図3 残生細菌数 (RUN1-1)

殖が抑制され、数時間後に残生した細菌が再増殖を始めることがわかる。またいずれの塩分濃度下の細菌も12時間後には定常期に達することが確認された。そこで、15分後に死滅する細菌の割合と添加塩分濃度の関係を図3に、定常期の細菌数も同様に図4に示す。これらの結果から変化する塩分濃度が大きいほど死滅する細菌数も多く、定常期の細菌数も減少することがわかる。河川水中には種々雑多な細菌が存在しているので、上の考察をより確かなものとするためRUN1-2で単一菌（*Pseudomonas cepacia*）を用いて検討を行った。その結果図5からも同様の塩分ストレスの影響が認められた。

実感潮域での時間あたりの塩分濃度変化は実験系に比べて小さいと思われる。しかし絶えず塩分濃度は変化しており、細菌には塩分ストレスが絶えまなく与えられている。このことより感潮域は細菌の増殖にとって厳しい場であると考えられる。

2) LAS分解に及ぼす塩分ストレスの影響 LAS分解は一次反応で行われるとし、分解定数 k 値を用いて考察を行う。結果は数度の実験結果の平均値を表し、上下流部の試料水、菌液を用いた結果を同時に図6に、実験開始から1日間の細菌数の変化を図7に示す。

図6より添加塩分濃度の増加とともに k 値が減少することより、塩分ストレスによって上流部の細菌のLAS分解活性は減少する。同時に図7a)より初期に細菌が減少している。下流部に生息する細菌を用いた場合も、図7b)から上流部の細菌と同様に塩分ストレスを受けていることがわかる。しかしながら、図6より塩分ストレスを与えても k 値に減少傾向が認められなかった。菌液を作成することで細菌の対塩分ストレス、LAS分解特性が変化したことも考えられる。そこで、別途行った河川水（塩分濃度3%）を用いた実験結果（ $k=0.147$ ）と本実験結果（ $k=0.237$ ）を比較したが、有為な影響があるとは思えなかった。以上のことより、上流部から送流される過程で塩分ストレスに耐性を獲得したLAS分解菌が、下流部には生息していると思われる。

4. 結論 塩分ストレスを与えられることによって細菌は速やかに死滅、増殖が抑制される。また、数時間の馴致期間の後細菌は再増殖することことがわかった。上流部に生息する細菌のLAS分解活性は塩分ストレスの影響を受けて低下するものの、下流部に生息する細菌では顕著な影響は認められなかった。これは送流過程に塩分ストレス耐性を獲得しているLAS分解菌が下流部には生存しているためと思われる。感潮域の細菌の挙動を考える上で塩分濃度の変化は重要な要因であることがわかった。

本研究は鉄鋼業環境保全技術開発基金および文部省科学研究費試験研究(B)（代表、前野賀彦）による研究の一部であることを付記し、ここに謝意を記す。

参考文献 1)上月康則ら：感潮河川における陰イオン界面活性剤の懸濁物質への吸着特性に関する研究、水質汚濁研究、vol. 14, 1985. 2)上月康則ら：感潮域における細菌の増殖活性に及ぼす塩分

ストレスの影響、中四、1993. 3)柳田友道：微生物科学2、学会出版センター、1985. 4)飯塚貞夫：事業所排水中の陰イオン界面活性剤の分析法の検討、横浜市公害研究所第7号、1982.

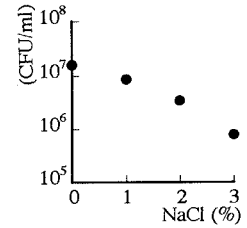


図4 定常期の細菌数 (RUN1-1)

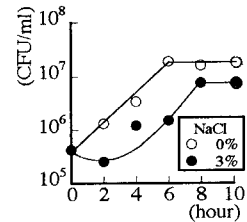


図5 細菌数の変化 (RUN1-2)

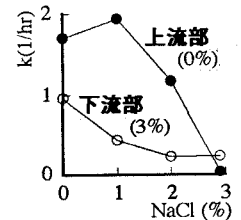


図6 LAS分解定数 k (RUN2)

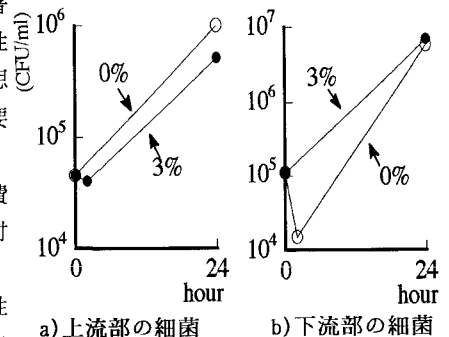


図7 細菌数の変化 (a) RUN2-1, (b) RUN2-2