

VII-112 ※ 数種の *Streptomyces* 属放線菌における増殖の影響因子に関する検討

※※ 京都大学大学院工学研究科 学生員 胡 俊杰 JICA 磯辺 良介
京都大学大学院工学研究科 正会員 寺島 泰 正会員 越川 博元

1.はじめに

近年、放線菌が土壤中の難分解性有機物の分解に重要な役割を担っていることが明らかとなった。本研究では、放線菌の機能解明や実際の廃水処理に用いるための基礎として、数種の *Streptomyces* 属放線菌における増殖の影響因子について検討するとともに、環境汚染物質の一例としてのトリクロロエチレン（TCE）による対象菌種の増殖への影響についても調べた。

2.実験方法

対象菌種を *S.chromofuscus* A11、*S.viridosporus* T7A、*S.setonii* 75Vi2、とし、以下の3つの実験を行った。実験に用いた液体培地の基本組成を表1に示す。

(1) 放線菌の増殖に及ぼす pH、温度の影響

200mL の三角フラスコに液体培地を 40mL ずつ分注し、植菌した後、振とうまたは静置条件下で培養し、5日後の MLSS を測定して、pH 及び温度の影響実験を行った。なお、pH の影響実験では 37℃ の条件で pH を 4.0～10.0 に調整し、温度の影響実験では温度を 23℃、30℃、37℃、44℃ の4段階に設定した。

(2) 放線菌の増殖に及ぼす栄養条件の影響

炭素源の影響実験では酵母エキス、グルコース、可溶性でんぷん、カルボキシメチルセルロース（CMC）を炭素源とし、8日後の MLSS を測定し、また2日ごとに TOC、NH₄-N も測定した。

窒素源の影響実験では、グルコースを炭素源とし、硫酸アンモニウム、酒石酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸ナトリウム、亜硝酸ナトリウムを窒素源とし、8日後の MLSS を測定し、また2日ごとにグルコース濃度、窒素濃度を測定した。

(3) 放線菌の増殖に及ぼす TCE の影響

TCE の影響実験はバイオサーモアナライザー（BTA）（図1）を用いて行った。まず、滅菌した液体培地に TCE 最初濃度をそれぞれ 0mg/L、0.03mg/L（環境基準値）、3mg/L、30mg/L になるように添加し、これを実験培地とした。次に実験培地を 5mL ずつ 25mL のバイアル瓶に入れ、それぞれの菌を植菌した後、BTA に設置し8日間にわたって実験を行った。

3.結果と考察

(1) 放線菌の増殖に及ぼす pH、温度の影響

振盪条件下で行った実験結果（図2）により、*S.chromofuscus* A11 は、pH4～9、温度 23℃～44℃ の広い範囲で増殖でき、pH6.0、23℃で増殖に最適、*S.viridosporus* T7A は pH7.5、30℃で増殖に最適、*S.setonii* 75Vi2 は、pH4～9、温度 30℃～44℃ の広い範囲

表1 使用した実験培地の基本組成

酵母エキス	1.5g/L
Na ₂ HPO ₄	4.0g/L
KH ₂ PO ₄	1.0g/L
NaCl	0.2g/L
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.2g/L
CaCl ₂	0.0380g/L
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.0011g/L
CuSO ₄	0.0042g/L
ZnSO ₄ ・7H ₂ O	0.0015g/L
MnSO ₄ ・4~5H ₂ O	0.0147g/L

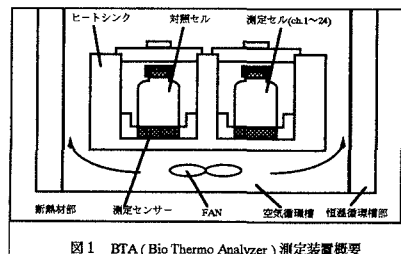


図1 BTA (Bio Thermo Analyzer) 測定装置概要

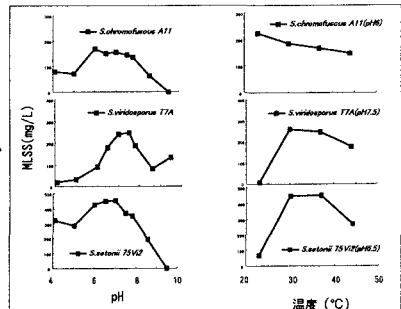


図2 pHと温度の変化によるMLSSへの影響

※ キーワード：放線菌、*Streptomyces*、影響因子、TCE

※※ 連絡先：〒6068501 京都市左京区吉田本町京都大学大学院環境工学専攻

で増殖でき、pH6.5、30℃で増殖に最適とわかった。なお、静置実験結果については図示していないが、ほぼ同じ結果を得た。

(2) 放線菌の増殖に及ぼす栄養条件の影響

一例として、振盪条件下での *S.chromofuscus* A11 の各炭素源における TOC の経日変化を図3に示す。図3より、蛋白質や微量栄養素が含まれている酵母エキスが利用されやすく、また、易分解性物質であるグルコースも利用できることがわかった。一方、構造がやや複雑である可溶性でんぷん、CMC は炭素源として利用されにくいことがわかった。これは対象菌種にとって、CMC のような難分解性物質は唯一の炭素源として利用しにくいからであると推察される。図示していない他の2種類菌の実験結果を合わせると、炭素源の利用しやすさに関しては、酵母エキス>>グルコース>可溶性でんぷん>CMC との傾向が見られた。

窒素源に関しては、一例として、振盪条件下での *S.setonii* 75Vi2 の各窒素源における窒素濃度の経日変化を図4に示す。*S.setonii* 75Vi2 はすべての窒素源を利用できるが、硝酸性窒素や亜硝酸性窒素よりアンモニア性窒素の方を利用する傾向があることがわかった。対象菌種全体としては、塩化アンモニウム>>硫酸アンモニウム>酒石酸アンモニウム>>硝酸ナトリウム>亜硝酸ナトリウムとの順で利用することが明らかとなった。

(3) 放線菌の増殖に対する TCE の影響

一例として、TCE 存在下での *S.viridosporus* T7A の累積代謝熱変化を図5に示す。図5より、TCE 濃度の増大により菌体増殖への阻害程度が高くなることが明らかとなり、また、TCE が存在すると菌の増殖に遅れが出ていることもわかった。図示していない他の2種類菌の実験結果を合わせると、TCE の影響については、菌ごとに阻害される程度は異なるものの、すべての菌の増殖に阻害影響が見られた。一方、図6に示したように TCE 分解の可能性もあることが明らかとなったが、TCE 初期濃度がある程度以上(本実験では 30mg/L)に高くなると、TCE の分解機能が失われる可能性もあることがわかった。

4. まとめ

以上の結果より、対象菌種の中では *S.chromofuscus* A11、*S.setonii* 75Vi2 が pH、温度の影響を受けにくく、またいろいろな炭素源や窒素源を利用しやすい性質が見られた。さらに環境汚染物質である TCE に対して分解能力を持つ可能性があることが明らかになり、廃水処理に応用することが期待できる。しかし、実際に利用するためには、今後さらに検討を進める必要がある。

本研究で用いた *Streptomyces* 属放線菌は、米国アイダホ州立大学の DON L.CRAWFORD 教授より分譲いただきました。記して感謝いたします。

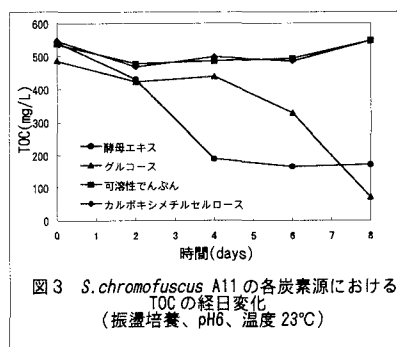


図3 *S.chromofuscus* A11 の各炭素源における TOC の経日変化 (振盪培養、pH6、温度 23℃)

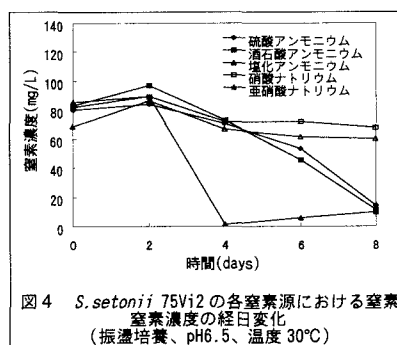


図4 *S.setonii* 75Vi2 の各窒素源における窒素濃度の経日変化 (振盪培養、pH6.5、温度 30℃)

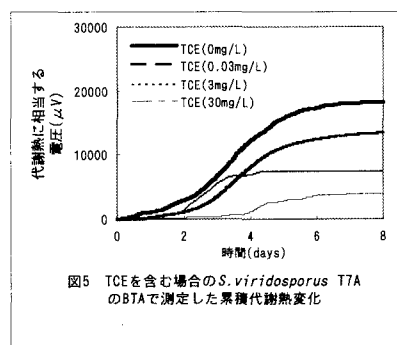


図5 TCE を含む場合の *S.viridosporus* T7A のBTAで測定した累積代謝熱変化

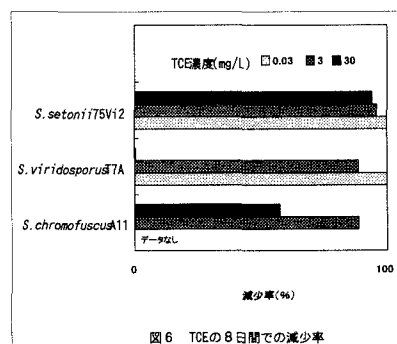


図6 TCE の8日間での減少率