

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

徳島大学大学院 学○上月康則
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
徳島大学工業短期大学部 正 村上仁士

1. はじめに

感潮域における塩分濃度の変化はLASのSSへの吸着特性に影響を及ぼすことが明らかにされた¹⁾。つぎにLASの生分解に及ぼす塩分濃度の影響を明らかにするために、まず感潮域での塩分濃度の変化による塩分ストレスが細菌の増殖活性に与える影響について実験、考察を行う。

2. 現地観測による検討

徳島市内を流れる12地点の感潮河川水中の好気性従属栄養細菌をMPN30本法で測定した。培地は塩分濃度の影響をみるためにアンダーソン培地中²⁾の塩分濃度を人工海水²⁾によって0, 1, 2, 3%と調整した4種類を使用した。ここで、測定される細菌数は各塩分濃度下で増殖できる細菌数であり、その差は塩分ストレスによって死滅あるいは増殖活性が抑制された細菌数と評価できる。図1に各塩分濃度培地下における感潮河川上流、下流端(塩分濃度0, 3%)、塩分濃度の変化が著しい地点の細菌数の観測結果例を最大細菌数に対する割合(%)で示す。図中の矢印は採水時の塩分濃度を表す。また、図2に定点で行った半潮汐間の観測結果を示す。

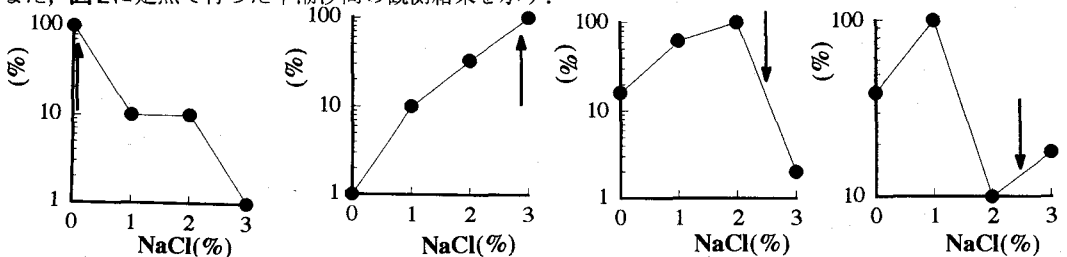


図1 各塩分濃度下における増殖可能な細菌数の割合

感潮域の細菌は通常淡水域や海域から潮汐による流れによって送流されてくる。図1より淡水域に近い上流端に生息する細菌の増殖に適した塩分濃度は0%であり、塩分濃度3%中では1%程度の細菌しか増殖できないことがわかる。同様に海域に近い下流端の細菌の至適塩分濃度は3%であり、0%中ではやはり1%の細菌しか増殖できない。

したがって、細菌の送流過程で環境水中の塩分濃度が変化すると、増殖活性は抑制されると考えられる。定点観測結果の図2から上下流端の細菌と同じ至適塩分濃度をもつ細菌が潮汐による流れによって送流され、増殖活性が抑制される様子がわかる。この結果は上の考察を支持する。また、塩分濃度の変化が著しい地点の細菌は上流端の細菌とは異なるさまざまな至適塩分濃度をもっていることから、感潮域内で細菌が滞留している間に至適塩分濃度は変化あるいは馴致することがわかる。このように塩分ストレスによって細菌の増殖活性が抑制されるのは、人工海水中のイオンが原因ではなく塩分濃度の変化が浸透圧ショック³⁾として細菌に働いた、ためと考えられる。

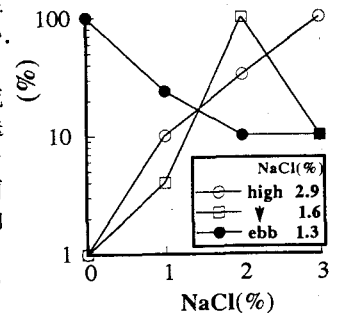


図2 半潮汐間の定点観測結果

3. 感潮域に生息する細菌を対象として細菌数測定用培地の検討

感潮域に生息する細菌は絶えず塩分濃度の変化を受けているため、増殖活性が抑制されている細菌も

少なくないと考えられる。塩分ストレスを受けると死滅する細菌、適切な条件が与えられれば再び増殖する細菌と増殖が抑制されない生菌との3種類に細菌の状態は大別できる。このような環境中にある細菌数を測定する場合、用いた培地が増殖を抑制されている細菌のコロニー形成をも可能とする培地であるか否かを確認する必要がある。本研究では細菌数の増減を増殖と死滅を意味させるために増殖が抑制されている細菌も再増殖できる培地を探索することにした。

探索方法はまず感潮域の河川水を用いて最大菌数が得られる培地について検討した。基礎培地には好気性従属栄養細菌数測定用培地として一般的に用いられているPYG培地を用いた。これを1/2, 1/5, 1/10, 1/20と希釈したものに、海水由来の栄養塩要求性を加味して人工海水を塩分濃度0, 1.5, 3%となるように添加した。培地の固液については浸透圧の影響を無くするために寒天培地を選び、培養法には混釈平板培養法をもちいた。なお、培地を混釈する際には熱によるストレスを与えないように十分に注意した。試料として塩分濃度の異なる2つの地点の河川水を用いた。結果を図3に示す。

いずれの河川水においても塩分濃度1.5%, PYG 1/5濃度の培地で最大菌数が得られたことから、当培地は増殖が抑制されていた細菌も再増殖できる培地であると思われる。このことをさらに確かなものとするために次のような実験を行った。対数増殖期にある *Pseudomonas cepacia* 4) を蒸留水で3回遠心洗浄することによって増殖が抑制された細菌を得た⁵⁾。また、リン酸緩衝液で1回遠心洗浄を行い生菌を得た。これら2つの細菌を塩分濃度0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3%のPYG 1/5培地で測定した。結果を図4に示す。

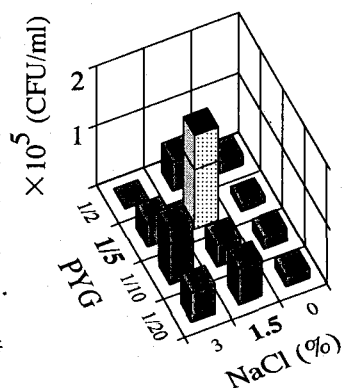
図4から各培地における両細菌数を比較するといずれの培地においても大きな違いは認められなかった。このことより、塩分濃度1.5%, PYG 1/5培地で増殖が抑制された *Pseudomonas cepacia* も再増殖できることが確認できた。環境水中に存在するあらゆる種類、状態の好気性従属栄養細菌の増殖を可能とする培地は存在しないが、以上の検討結果から本培地は塩分ストレスすなわち浸透圧ショックによって増殖活性が抑制された細菌の多くが再増殖できる培地であると思われる。

4. まとめ

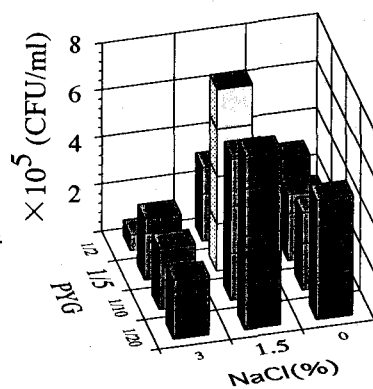
1) 感潮河川に生息する細菌は送流過程で塩分濃度の変化を受ける。この塩分ストレスによって増殖活性は抑制されることがわかった。また、滞留する間に至適塩分濃度は変化すると思われる。
2) 塩分ストレスによって増殖活性が抑制された環境水中の細菌の多くは塩分濃度1.5%, PYG 1/5培地中で再増殖できると思われる。

本研究は富田洋一君の協力を得て行われた。また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, 1991. 2) 門田元ら: 海洋微生物研究法, 学会出版センター, 1985. 3) 柳田友道: 微生物科学2, 学会出版センター, 1985. 4) 上月康則ら: LAS分解に及ぼすSSの影響, 中四, 1993. 5) 住友恒ら: 消毒処理過程における回復可能菌の挙動, 水道協会雑誌, 印刷中



a) 試料水塩分濃度0.5%



b) 試料水塩分濃度2.8%

図3 培地組成と細菌数の関係

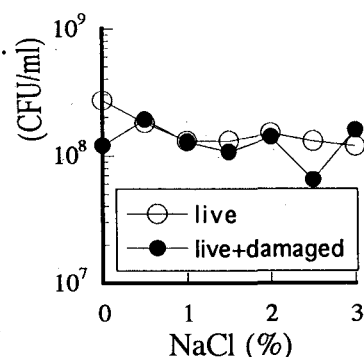


図4 人工海水添加PYG 1/5培地の特性