

希薄系におけるリン酸量に対する微生物群の応答性について

東北大学工学部 正買 佐藤敦久
正買○平田 強

1. はじめに

生体において、リン酸は生体構成成分としての役割を持つのみならずエネルギー担体としての極めて重要な働きを受け持っており一般の生物体にとってはその生理化学上必須の物質である。生体がエネルギーを得る最も基本的な解糖系においても、グルコースなどの hexose を例にとれば、その反応の第1段階は hexose-mono-phosphate の形成であり、これが形成されなければ解糖系は進行しない。その他、一般の生理化学反応においてもエネルギー消費活動の基本的なエネルギー源は各種分解反応系路から得られた高エネルギーリン酸化合物 ATP である。このように、リン酸は生体にとって極めて必要な物質である。そこで、ある水域内の微生物群がその水域に存在するリン酸量によってどのような影響をうけるのかをみるために本実験を行なった。

2. 実験方法

無機培地の組成を表-1に示す。本実験の目的がリン酸量の変化にあることから表-1.

らリン酸溶液は別途に作成した。その組成比は $K_2HPO_4 : KH_2PO_4 = 40 : 7$ (重量比) であり、1 l の無機培地に対し 1~5 ml のリン酸溶液を加えて目的とするリン酸濃度になるように調整した。また有機炭素源としてはグルコースを用いた。

まずグルコースおよび無機培地に馴致した細菌群を作成するために無機培地に $10 \mu g. P/l$ になるようにリン酸溶液を加え隔日にグルコースを $2 mg. BOD/l$ 加えた。実験開始の3日前からグルコースを与えるのをやめ静置し、その上澄部分を播種液として用いた。

実験は次のように行なった。基本培地9容に対し1容の播種液を加えさらに BOD が 5 ppm になるようグルコースを加えよく混合し、その一定量を計取し培養器(本実験では 1 l の透明ガラス製試薬ビンを用いた)に入れた。さらに目的とするリン酸濃度になるようリン酸溶液を加え、 $25^\circ C$ の恒温水槽に入れて培養した。任意の時間経過後に各試料の一部をとり分析に供した。

分析項目は O.D. (波長 $\lambda = 500 nm$, 40 mm のガラスセルによる)、生菌数(普通寒天培地による平板混濁培養法, $20^\circ C$, 96~120 時間), Alkaline Phosphatase の酵素活性(既報¹⁾の方法の変法, 基質濃度 $5 \times 10^{-3} M$, 培養時間任意) である。

なお今回の実験は6種のリン酸濃度で行ない、その値は 0.43, 4.7, 12, 46, 96, $500 \mu g. P/l$ である。

3. 結果および考察

Initial PO_4-P $84 \mu g/l$, BOD 5.0 ppm (グルコース $4.87 mg/l$), Initial 生菌数 5.8×10^3 cfu/ml の場合の O.D., PO_4-P , 生菌数, 酵素活性の経時変化を図-1に示す。今回の実験では各項目の基本的な経時変化は図-1で代表されうが、そのピークの高さ、傾きなどはリン酸量によってかなり大きな差を生じる。

O.D. の単位時間あたりの増加量の最大値と Initial PO_4-P 濃度との関係を図-2に示す。46 $\mu g. P/l$ 以上では O.D. の増加量は最大値ほぼ $0.08 (hr^{-1})$ を示し、それ以下では順次小さくなる値となっているがこの値から μ 値を求めることはできない。

次に生菌数で求めた最大収量と Initial PO_4-P 濃度との関係を図-3に示す。Initial PO_4-P が 96, $500 \mu g. P/l$ のときは同じような高い収量を示すがそれ以下の場合には P 濃度が小さくなるにつれて収量も急激に小さくなって

ゆく。培地の組成が PO_4 を除いて全て同一であることから収量に対する制限因子はリン酸あるいは P であるといえよう。

また、生菌数が最大になっているときの生菌あたりの酵素活性と Initial PO_4-P との関係を図4に示す。

生物にとって必須である PO_4 に対する生物の要求量は同一の生物群であればほぼ一定値になるといえる。したがってその数値以下では P 不足の状況が生み出される。このような状況下では BOD 物質が存在しても生産される生菌数はその系に存在する PO_4 あるいは P 量に大きく依存すると考えることができる (図-3の場合)。一方、リン不足の状況にある場合には生物はその維持と増殖のために限られた PO_4 あるいは P を最大限利用しようとするであろう。そのために phosphatase を大量に生産すると考えることは妥当であると思われる (図-4の場合)。ただ、生体にはいかなる酵素系においても無限の生産能力はなく、その最大値は存在する。したがって phosphatase 系においても“リン不足”の程度を増大させてゆくにつれて単位生物量あたりの酵素量および酵素活性はある一定値に近づいてゆくものと思われる。

4. おわりに

おわりにあたって本実験に御協力を頂いた東北大学4年小林弘幸君と東北工大4年古積敏男君に感謝の意を表す。

なお、本研究は文部省科学研究奨励研究A課題番号875272の一部であることを付記する。

参考文献

- ・1) 佐藤, 平田, オ9回生工学研究討論会講演集.
- ・ANNAMARIA TORRIANI, "Influence of Inorganic phosphate in the Formation of Phosphatases by *E. Coli*" B.D. ACTA 38 (1960) 460-469.

図-1. 各分析項目の経時変化

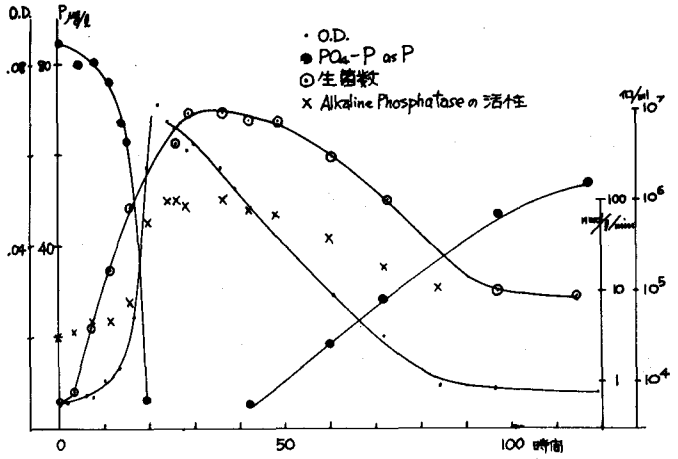


図-2. Initial PO_4 濃度と O.D./hr (max)

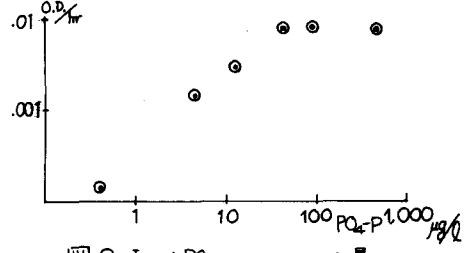


図-3. Initial PO_4 と バクテリア収量

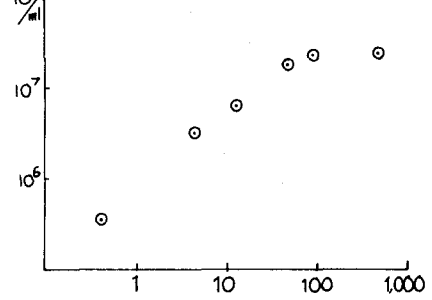


図-4. Initial PO_4 と 酵素活性/生菌数

