

宮城県南部の廃水処理槽より単離されたノカルジア型放線菌の性質に関する研究

東北工業大学 学生員 ○金野 賢逸
東北工業大学 正 員 伊崎 和夫

1. はじめに

近年、世界各地の下水処理場では粘性の高い気泡が曝気槽で発生し、これに汚泥が付着して蓄積され、曝気槽上部でスカムが形成される現象が報告されてきた。このスカムは、処理水中に混入して処理効率の低下を招いたり、固液分離障害を引き起こすとともに、曝気槽から溢れて美観を損ねたり、滞留した場合に腐敗して悪臭を発生させるなど、維持管理上の大きな問題としてクローズアップされ、ノカルジア型放線菌という微生物が活性汚泥中に著しく増加したことにより、異常発泡、スカムが引き起こされるという事例が報告されている。

本研究では、しばしば異常発泡、スカムの発生が認められる宮城県南部の浄化センターより採取された活性汚泥試料からノカルジア型放線菌を分離、同定し、その性質を調べた。

2. 実験方法

2-1 ノカルジア型放線菌の分離と同定

平成7年4月から12月、平成8年4月から11月にかけて宮城県南部の浄化センターより処理中の活性汚泥試料を採取し、雑菌を抑制するためにナリジキシン酸（終濃度 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ）を添加したベネット改変寒天培地に塗抹して数日間培養し、肉眼によりノカルジア型放線菌らしきコロニーを探し出し純粋分離した。

スカミング原因放線菌の同定は、まず薄層クロマトグラフィーによりミコール酸の確認を行い、さらに質量分析計による主要メナキノンの同定などによって判定を行った。

2-2 分離菌株の生理学的性質

（1）脂肪酸及び炭化水素利用の測定

高圧滅菌した炭素源を各々の量（表-1）を基礎培地に添加した培地5mlに前培養した分離菌株を 0.2ml ずつ添加して3日間振とう培養後、 OD_{600} で光学密度を測定し、菌体の生育を比較した。

（2）抗菌性物質に対する耐性の測定

高圧滅菌したベネット改変寒天培地に抗菌性物質を終濃度 $10, 20\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように滅菌フィルターを用いて加えた。その寒天培地に菌株を塗抹し、数日間培養して抗菌性物質無添加培地に塗抹した菌株との生育の比較をした。抗菌性物質無添加培地に匹敵する生育状況を示せば耐性があると判断した。

本実験では、抗菌性物質としてペニシリンG、ストレプトマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコールを用いた。

2-3 分離菌株の活性汚泥沈降に及ぼす効果

試験管に分注した正常な活性汚泥試料7mlに前培養した分離菌株を 0.2ml ずつ添加して数日間振とう

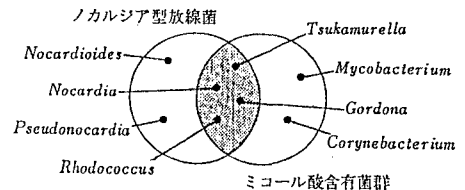


図-1 ノカルジア型放線菌（一部）とミコール酸含有菌群との関係

炭 素 源	添加量 (1181g)	炭 素 源	添加量 (1181g)
・ 脂肪酸		・ 炭化水素	
・ 脂肪酸	5.67g	・ ヘキサン	1.81ml
・ 脂肪酸	3.42g	・ オクタン	1.70ml
・ 脂肪酸	2.87g	・ デカン	1.62ml
・ 脂肪酸	1.91ml	・ ドデカン	1.58ml
・ 脂肪酸	1.81ml	・ テトラデカン	1.55ml
・ 脂肪酸	1.92g	・ ヘキサデカン	1.53ml
・ 脂肪酸	1.73g	・ オクタデカン	1.48g

加えた炭素源は全炭素源が同じになるように（1000mg/l）になるように1記の量を加えた。

また、炭化水素は揮発性であるので乳化剤として Tween80 を各々の炭素源の添加量の10%を添加した。

う培養し、発泡、スカムの発生が見られるかどうか観察した。また、オクタデカンを添加した活性汚泥試料との比較も行った。

3. 結果及び考察

発泡、スカムの発生が認められる処理槽より採取された活性汚泥試料よりスカミング原因放線菌と思われる菌株を8株分離、ほぼ同定することができた(表-2)。

これら菌株の基質利用能を調べると、炭化水素ではオクタデカンに特異的な基質利用能を示した菌株がいくつかあり、そのほかの菌株でも生育度が高かった。また、脂肪酸では全般的に炭素数2~6の脂肪酸の利用が顕著であった。ノカルジア型放線菌は低級脂肪酸、炭化水素のような疎水性物質や芳香族基質も分解する極めて広範囲の基質利用能を持つ微生物であると推定される。抗菌性物質に対する耐性ではペニシリンGに対しては半分の菌株が耐性を示し、逆にテトラサイクリンに対してはほとんどの菌株が、クロラムフェニコールに対してはすべての菌株が感受性を示した(表-3)。

試験管規模ではあるが、実際に分離菌株を正常な活性汚泥試料に接種して発泡、スカムの発生が見られるかどうか観察してみたが、はっきりとした効果は認められなかった。今後、実験条件を様々変化させ、さらに検討する必要があると思われる。

表-2 分離菌株の分離詳細

		18℃	28℃	37℃	45℃	55℃	65℃	75℃	85℃	95℃	105℃	115℃	125℃	135℃	145℃	155℃	165℃	175℃	185℃	195℃	205℃	215℃	225℃	235℃	245℃	255℃	265℃	275℃	285℃	295℃	305℃	315℃	325℃	335℃	345℃	355℃	365℃	375℃	385℃	395℃	405℃	415℃	425℃	435℃	445℃	455℃	465℃	475℃	485℃	495℃	505℃	515℃	525℃	535℃	545℃	555℃	565℃	575℃	585℃	595℃	605℃	615℃	625℃	635℃	645℃	655℃	665℃	675℃	685℃	695℃	705℃	715℃	725℃	735℃	745℃	755℃	765℃	775℃	785℃	795℃	805℃	815℃	825℃	835℃	845℃	855℃	865℃	875℃	885℃	895℃	905℃	915℃	925℃	935℃	945℃	955℃	965℃	975℃	985℃	995℃	1005℃	1015℃	1025℃	1035℃	1045℃	1055℃	1065℃	1075℃	1085℃	1095℃	1105℃	1115℃	1125℃	1135℃	1145℃	1155℃	1165℃	1175℃	1185℃	1195℃	1205℃	1215℃	1225℃	1235℃	1245℃	1255℃	1265℃	1275℃	1285℃	1295℃	1305℃	1315℃	1325℃	1335℃	1345℃	1355℃	1365℃	1375℃	1385℃	1395℃	1405℃	1415℃	1425℃	1435℃	1445℃	1455℃	1465℃	1475℃	1485℃	1495℃	1505℃	1515℃	1525℃	1535℃	1545℃	1555℃	1565℃	1575℃	1585℃	1595℃	1605℃	1615℃	1625℃	1635℃	1645℃	1655℃	1665℃	1675℃	1685℃	1695℃	1705℃	1715℃	1725℃	1735℃	1745℃	1755℃	1765℃	1775℃	1785℃	1795℃	1805℃	1815℃	1825℃	1835℃	1845℃	1855℃	1865℃	1875℃	1885℃	1895℃	1905℃	1915℃	1925℃	1935℃	1945℃	1955℃	1965℃	1975℃	1985℃	1995℃	2005℃	2015℃	2025℃	2035℃	2045℃	2055℃	2065℃	2075℃	2085℃	2095℃	2105℃	2115℃	2125℃	2135℃	2145℃	2155℃	2165℃	2175℃	2185℃	2195℃	2205℃	2215℃	2225℃	2235℃	2245℃	2255℃	2265℃	2275℃	2285℃	2295℃	2305℃	2315℃	2325℃	2335℃	2345℃	2355℃	2365℃	2375℃	2385℃	2395℃	2405℃	2415℃	2425℃	2435℃	2445℃	2455℃	2465℃	2475℃	2485℃	2495℃	2505℃	2515℃	2525℃	2535℃	2545℃	2555℃	2565℃	2575℃	2585℃	2595℃	2605℃	2615℃	2625℃	2635℃	2645℃	2655℃	2665℃	2675℃	2685℃	2695℃	2705℃	2715℃	2725℃	2735℃	2745℃	2755℃	2765℃	2775℃	2785℃	2795℃	2805℃	2815℃	2825℃	2835℃	2845℃	2855℃	2865℃	2875℃	2885℃	2895℃	2905℃	2915℃	2925℃	2935℃	2945℃	2955℃	2965℃	2975℃	2985℃	2995℃	3005℃	3015℃	3025℃	3035℃	3045℃	3055℃	3065℃	3075℃	3085℃	3095℃	3105℃	3115℃	3125℃	3135℃	3145℃	3155℃	3165℃	3175℃	3185℃	3195℃	3205℃	3215℃	3225℃	3235℃	3245℃	3255℃	3265℃	3275℃	3285℃	3295℃	3305℃	3315℃	3325℃	3335℃	3345℃	3355℃	3365℃	3375℃	3385℃	3395℃	3405℃	3415℃	3425℃	3435℃	3445℃	3455℃	3465℃	3475℃	3485℃	3495℃	3505℃	3515℃	3525℃	3535℃	3545℃	3555℃	3565℃	3575℃	3585℃	3595℃	3605℃	3615℃	3625℃	3635℃	3645℃	3655℃	3665℃	3675℃	3685℃	3695℃	3705℃	3715℃	3725℃	3735℃	3745℃	3755℃	3765℃	3775℃	3785℃	3795℃	3805℃	3815℃	3825℃	3835℃	3845℃	3855℃	3865℃	3875℃	3885℃	3895℃	3905℃	3915℃	3925℃	3935℃	3945℃	3955℃	3965℃	3975℃	3985℃	3995℃	4005℃	4015℃	4025℃	4035℃	4045℃	4055℃	4065℃	4075℃	4085℃	4095℃	4105℃	4115℃	4125℃	4135℃	4145℃	4155℃	4165℃	4175℃	4185℃	4195℃	4205℃	4215℃	4225℃	4235℃	4245℃	4255℃	4265℃	4275℃	4285℃	4295℃	4305℃	4315℃	4325℃	4335℃	4345℃	4355℃	4365℃	4375℃	4385℃	4395℃	4405℃	4415℃	4425℃	4435℃	4445℃	4455℃	4465℃	4475℃	4485℃	4495℃	4505℃	4515℃	4525℃	4535℃	4545℃	4555℃	4565℃	4575℃	4585℃	4595℃	4605℃	4615℃	4625℃	4635℃	4645℃	4655℃	4665℃	4675℃	4685℃	4695℃	4705℃	4715℃	4725℃	4735℃	4745℃	4755℃	4765℃	4775℃	4785℃	4795℃	4805℃	4815℃	4825℃	4835℃	4845℃	4855℃	4865℃	4875℃	4885℃	4895℃	4905℃	4915℃	4925℃	4935℃	4945℃	4955℃	4965℃	4975℃	4985℃	4995℃	5005℃	5015℃	5025℃	5035℃	5045℃	5055℃	5065℃	5075℃	5085℃	5095℃	5105℃	5115℃	5125℃	5135℃	5145℃	5155℃	5165℃	5175℃	5185℃	5195℃	5205℃	5215℃	5225℃	5235℃	5245℃	5255℃	5265℃	5275℃	5285℃	5295℃	5305℃	5315℃	5325℃	5335℃	5345℃	5355℃	5365℃	5375℃	5385℃	5395℃	5405℃	5415℃	5425℃	5435℃	5445℃	5455℃	5465℃	5475℃	5485℃	5495℃	5505℃	5515℃	5525℃	5535℃	5545℃	5555℃	5565℃	5575℃	5585℃	5595℃	5605℃	5615℃	5625℃	5635℃	5645℃	5655℃	5665℃	5675℃	5685℃	5695℃	5705℃	5715℃	5725℃	5735℃	5745℃	5755℃	5765℃	5775℃	5785℃	5795℃	5805℃	5815℃	5825℃	5835℃	5845℃	5855℃	5865℃	5875℃	5885℃	5895℃	5905℃	5915℃	5925℃	5935℃	5945℃	5955℃	5965℃	5975℃	5985℃	5995℃	6005℃	6015℃	6025℃	6035℃	6045℃	6055℃	6065℃	6075℃	6085℃	6095℃	6105℃	6115℃	6125℃	6135℃	6145℃	6155℃	6165℃	6175℃	6185℃	6195℃	6205℃	6215℃	6225℃	6235℃	6245℃	6255℃	6265℃	6275℃	6285℃	6295℃	6305℃	6315℃	6325℃	6335℃	6345℃	6355℃	6365℃	6375℃	6385℃	6395℃	6405℃	6415℃	6425℃	6435℃	6445℃	6455℃	6465℃	6475℃	6485℃	6495℃	6505℃	6515℃	6525℃	6535℃	6545℃	6555℃	6565℃	6575℃	6585℃	6595℃	6605℃	6615℃	6625℃	6635℃	6645℃	6655℃	6665℃	6675℃	6685℃	6695℃	6705℃	6715℃	6725℃	6735℃	6745℃	6755℃	6765℃	6775℃	6785℃	6795℃	6805℃	6815℃	6825℃	6835℃	6845℃	6855℃	6865℃	6875℃	6885℃	6895℃	6905℃	6915℃	6925℃	6935℃	6945℃	6955℃	6965℃	6975℃	6985℃	6995℃	7005℃	7015℃	7025℃	7035℃	7045℃	7055℃	7065℃	7075℃	7085℃	7095℃	7105℃	7115℃	7125℃	7135℃	7145℃	7155℃	7165℃	7175℃	7185℃	7195℃	7205℃	7215℃	7225℃	7235℃	7245℃	7255℃	7265℃	7275℃	7285℃	7295℃	7305℃	7315℃	7325℃	7335℃	7345℃	7355℃	7365℃	7375℃	7385℃	7395℃	7405℃	7415℃	7425℃	7435℃	7445℃	7455℃	7465℃	7475℃	7485℃	7495℃	7505℃	7515℃	7525℃	7535℃	7545℃	7555℃	7565℃	7575℃	7585℃	7595℃	7605℃	7615℃	7625℃	7635℃	7645℃	7655℃	7665℃	7675℃	7685℃	7695℃	7705℃	7715℃	7725℃	7735℃	7745℃	7755℃	7765℃	7775℃	7785℃	7795℃	7805℃	7815℃	7825℃	7835℃	7845℃	7855℃	7865℃	7875℃	7885℃	7895℃	7905℃	7915℃	7925℃	7935℃	7945℃	7955℃	7965℃	7975℃	7985℃	7995℃	8005℃	8015℃	8025℃	8035℃	8045℃	8055℃	8065℃	8075℃	8085℃	8095℃	8105℃	8115℃	8125℃	8135℃	8145℃	8155℃	8165℃	8175℃	8185℃	8195℃	8205℃	8215℃	8225℃	8235℃	8245℃	8255℃	8265℃	8275℃	8285℃	8295℃	8305℃	8315℃	8325℃	8335℃	8345℃	8355℃	8365℃	8375℃	8385℃	8395℃	8405℃	8415℃	8425℃	8435℃	8445℃	8455℃	8465℃	8475℃	8485℃	8495℃	8505℃	8515℃	8525℃	8535℃	8545℃	8555℃	8565℃	8575℃	8585℃	8595℃	8605℃	8615℃	8625℃	8635℃	8645℃	8655℃	8665℃	8675℃	8685℃	8695℃	8705℃	8715℃	8725℃	8735℃	8745℃	8755℃	8765℃	8775℃	8785℃	8795℃	8805℃	8815℃	8825℃	8835℃	8845℃	8855℃	8865℃	8875℃	8885℃	8895℃	8905℃	8915℃	8925℃	8935℃	8945℃	8955℃	8965℃	8975℃	8985℃	8995℃	9005℃	9015℃	9025℃	9035℃	9045℃	9055℃	9065℃	9075℃	9085℃	9095℃	9105℃	9115℃	9125℃	9135℃	9145℃	9155℃	9165℃	9175℃	9185℃	9195℃	9205℃	9215℃	9225℃	9235℃	9245℃	9255℃	9265℃	9275℃	9285℃	9295℃	9305℃	9315℃	9325℃	9335℃	9345℃	9355℃	9365℃	9375℃	9385℃	9395℃	9405℃	9415℃	9425℃	9435℃	9445℃	9455℃	9465℃	9475℃	9485℃	9495℃	9505℃	9515℃	9525℃	9535℃	9545℃	9555℃	9565℃	9575℃	9585℃	9595℃	9605℃	9615℃	9625℃	9635℃	9645℃	9655℃	9665℃	9675℃	9685℃	9695℃	9705℃	9715℃	9725℃	9735℃	9745℃	9755℃	9765℃	9775℃	9785℃	9795℃	9805℃	9815℃	9825℃	9835℃	9845℃	9855℃	9865℃	9875℃	9885℃	9895℃	9905℃	9915℃	9925℃	9935℃	9945℃	9955℃	9965℃	9975℃	9985℃	9995℃	10005℃	10015℃	10025℃	10035℃	10045℃	10055℃	10065℃	10075℃	10085℃	10095℃	10105℃	10115℃	10125℃	10135℃	10145℃	10155℃	10165℃	10175℃	10185℃	10195℃	10205℃	10215℃	10225℃	10235℃	10245℃	10255℃	10265℃	10275℃	10285℃	10295℃	10305℃	10315℃	10325℃	10335℃	10345℃	10355℃	10365℃	10375℃	10385℃	10395℃	10405℃	10415℃	10425℃	10435℃	10445℃	10455℃	10465℃	10475℃	10485℃	10495℃	10505℃	10515℃	10525℃	10535℃	10545℃	10555℃	10565℃	10575℃	10585℃	10595℃	10605℃	10615℃	10625℃	10635℃	10645℃	10655℃	10665℃	10675℃	10685℃	10695℃	10705℃	10715℃	10725℃	10735℃	10745℃	10755℃	10765℃	10775℃	10785℃	10795℃	10805℃	10815℃	10825℃	10835℃	10845℃	10855℃	10865℃	10875℃	10885℃	10895℃	10905℃	10915℃	10925℃	10935℃	10945℃	10955℃	10965℃	10975℃	10985℃	10995℃	11005℃	11015℃	11025℃	11035℃	11045℃	11055℃	11065℃	11075℃	11085℃	11095℃	11105℃	11115℃	11125℃	11135℃	11145℃	11155℃	11165℃	11175℃	11185℃	11195℃	11205℃	11215℃	11225℃	11235℃	11245℃	11255℃	11265℃	11275℃	11285℃	11295℃	11305℃	11315℃	11325℃	11335℃	11345℃	11355℃	11365℃	11375℃	11385℃	11395℃	11405℃	11415℃	11425℃	11435℃	11445℃	11455℃	11465℃	11475℃	11485℃	11495℃	11505℃	11515℃	11525℃	11535℃	11545℃	11555℃	11565℃	11575℃	11585℃	11595℃	11605℃	11615℃	11625℃	11635℃	11645℃	11655℃	11665℃	11675℃	11685℃	11695℃	11705℃	11715℃	11725℃	11735℃	11745℃	11755℃	11765℃	11775℃	11785℃	11795℃	11805℃	11815℃	11825℃	11835℃	11845℃	11855℃	11865℃	11875℃	11885℃	11895℃	11905℃	11915℃	11925℃	11935℃	11945℃	11955℃	11965℃	11975℃	11985℃	11995℃	12005℃	12015℃	12025℃	12035℃	12045℃	12055℃	12065℃	12075℃	12085℃	12095℃	12105℃	12115℃	12125℃	12135℃	12145℃	12155℃	12165℃	12175℃	12185℃	12195℃	12205℃	12215℃	12225℃	12235℃	12245℃	12255℃	12
--	--	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	----