クロシタナシウミウシの腸から単離された海洋細菌の同定

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2017-10-05
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 小林, 史尚, 岩井, 尚子, 鈴木, 信雄, 中村, 嘉利
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/42941

クロシタナシウミウシの腸から単離された海洋細菌の同定

小林史尚[1,2)]，岩井尚子[3)]，鈴木信雄[4)]，中村嘉利[2)]

[1]〒920-1192　金沢市角間町　金沢大学自然計測応用研究センターエコテクノロジー研究部門；[2]〒920-1192　金沢市角間町　金沢大学大学院自然科学研究科物質工学専攻；[3]〒920-1192　金沢市角間町　金沢大学工学部物質化学工学科；[4]〒920-0553　鳳珠郡能登町小木ム4-1　金沢大学自然計測応用研究センター，臨海実験施設

Fumihisa Kobayashi, Naoko Iwai, Nobuo Suzuki, and Yoshitoshi Nakamura: Identification of marine bacterium isolated from the intestine of *Dendrodoris fumata*

日本海や瀬戸内海の閉鎖性海域には、赤潮の発生、重金属などの有害物質による汚染が広がっている[1)]。また大型タンカーによる事故が発生した場合、その被害は長期間かつ広範囲に及ぶため、海洋環境の保全は重要な課題となっている。特に近年、相次いで発生した大型タンカーの事故による大量重油流出事故は、海洋環境に深刻な影響を与え、改めて海洋環境保全の重要性を国際世論に訴えることになった。また活性汚泥法は世界的に広く普及している廃水処理法[2)]であるが、海水のように無機塩類を多く含む場合は、その中の微生物が無機塩類により阻害されるために効率的な処理ができず、処理方法の改善が望まれている。

そこで本研究では、海水中の難分解性芳香族化合物を処理するために、海洋生物からフェノール分解細菌を単離し、その同定を行った。海藻を摂食する海産生物の腸には、海藻中に含まれるリグニンを分解する腸内細菌が存在すると推測される。リグニン（フェノール系ネットワークポリマーから成る天然高分子化合物）を分解することのできる細菌は、フェノールなど難分解性芳香族化合物を分解できる可能性が高い。そこで、海藻を食べるクロシタナシウミウシの腸内容物からフェノール資化性海洋細菌のスクリーニングを試みた。

Fig.1にクロシタナシウミウシの概観を示す。クロシタナシウミウシをMS222(Aldrich)で麻酔し、腸内容物を採取した。この腸内容物約1 mLを改変ALLEN海水[3)]（NaCl 15 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 3.58 g/L, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 2.72 g/L, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.6 g/L, KCl 0.39 g/L, $NaHCO_3$ 0.1 g/L）9 mLに攪拌溶解した。この溶液を0.5 g/Lフェノールを含む改変ALLEN海水寒天培地（寒天濃度　20 g/L）に200 μLずつ塗抹し、15℃で4-5日間放置した。薬品は全て和光純薬工業製のものを用いた。数十枚の寒天培地の中で、一枚の寒天培地から数個のコロニーが確認された。この菌株をEBR01と命名した。

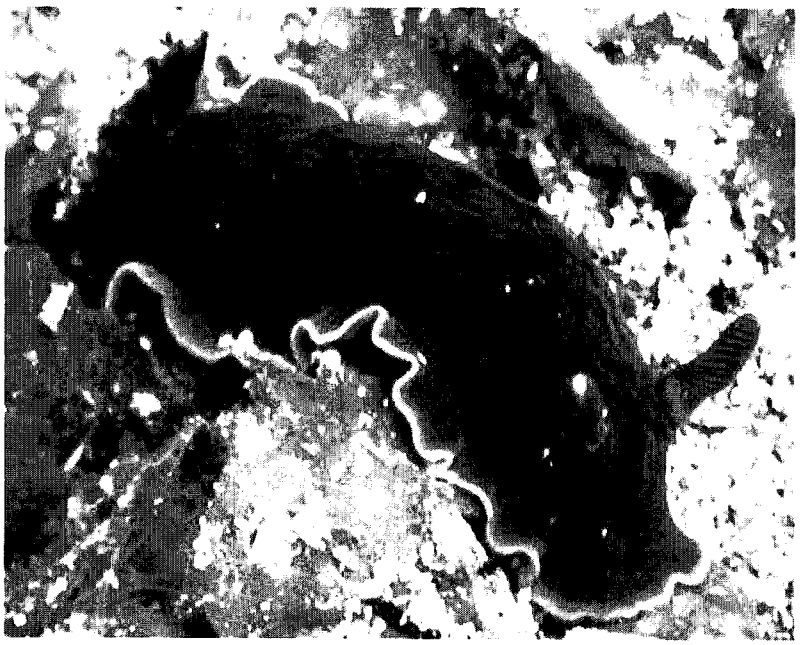

Fig. 1 Photograph of *Dendrodoris fumata*

次に、クロシタナシウミウシの腸内容物から単離されたEBR01菌株の同定を試みた。同定試験は、光学顕微鏡U-LH1000（オリンパス製）による細胞形態、グラム染色性、胞子の有無を観察し、Nutrient Agar（Oxoid, England）上でのコロニー形態を観察した。また、カタラーゼ反応、オキシダーゼ反応、ブドウ糖からの酸/ガス発生、ブドウ糖の酸化/発酵（O/F）について試験を行った。

Table 1にEBR01菌株の同定試験結果を示し、Fig.2にはグラム染色後のEBR01菌株の顕微鏡写真を示す。うすい赤色に染まったことからEBR01菌株はグラム陰性菌であった。同定試験の結果、本海洋細菌はグラム染色陰性、桿菌、非運動性、カタラーゼ反応陽性、オキシダーゼ反応陰性、コロニー観察レベルで色素非生産性の性状を示した。これらの性状は*Acinetobacter*に帰属する菌種の特徴に一致していた[4)]。

以上の結果から、クロシタナシウミウシから単離されたフェノール資化性海洋細菌は*Acinetobacter* sp.であることがわかった。今後は本菌株を用いた海水中の難分解性芳香族化合物の分解処理とその効率化について進めていく予定である。

Table 1 Taxonomical properties of EBR01strain

Properties	EBR01
Morphological:	
Form	Rods
Size (um)	0.8-1.0
Features of colony using Nutrient Agar	Smooth
Motility	Non-motile
Flagellation	No
Gram stain	- [a]
Physiological:	
Catalase	+ [b]
Oxidase	-
OF test	-
Growth at 30 °C	+
Growth at 37 °C	+
Growth at 40 °C	-

a Negative, b Positive

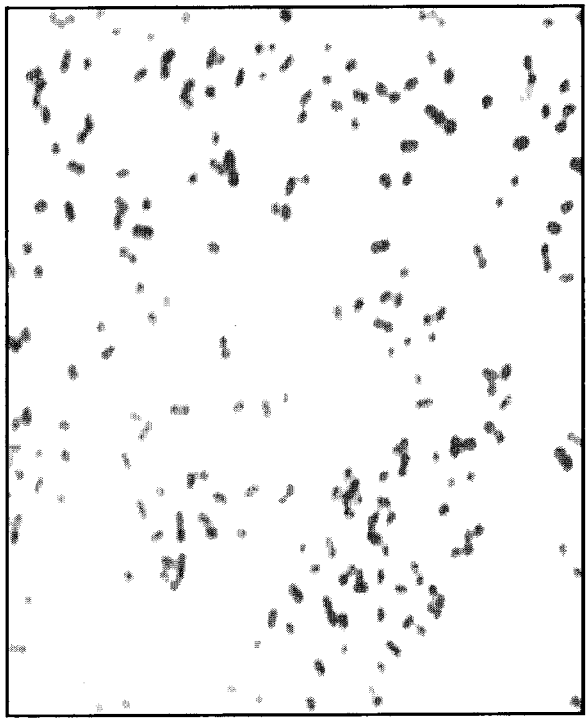

Fig. 2 The micrographs of the Gram stain of EBR01 strain.

引用文献

1) 環境省：平成16年度環境白書，ぎょうせい，東京，pp.89-93 (2004)

2) 橋本奨，須藤隆一：新しい活性汚泥法，産業用水調査会，東京，pp.1-2 (1986)

3) 鈴木信雄，矢澤一良，渡部和郎，赤堀結花里，石川千夏子，近藤聖，高田清克：エイコペンタエン酸生細菌SRCRC-2738の大量培養条件の検討，日本水産学会誌，58, 323-328 (1992)

4) Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.: Bergey's manual of systematic bacteriology Vol.2, Milliams and Wilkins, Baltimore (1984)