

I - 3 . 特殊環境微生物の探索と利用

食品総合研究所 応用微生物部 微生物検索研究室

川 澄 俊 之

I - 3 Isolation and Characterization of Various Halophilic Microorganisms

Toshiyuki KAWASUMI

Systematic Microbiology Laboratory, Applied Microbiology Division,
National Food Research Institute

Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

1. 目的

近年に至り、好熱、好塩、好酸性、好アルカリ性、等の数々の特殊環境微生物が知られてきているがこれら微生物の代謝産物、酵素、菌体等を有効利用するという試みは耐熱性酵素、耐アルカリ性酵素等の実用化例に示されているように今後とも精力的に検討されていかななくてはならない重要な微生物利用分野の一つと考えられる。また一方、これら個々の特殊環境の組み合わせにより新たな特殊環境を作り出すことが可能であり、例えば高温高塩環境、高塩酸性環境、等々が考えられるが、こうした複合特殊環境下で生育する微生物については自然界にこうした複雑な環境が見だし難い事からその分離報告は少ない。しかしながらこのような今まで余り知られていない微生物には生態学的見地、微生物生理学的見地という基礎的な観点から興味はつきないものであるとともに、利用可能な未知の機能という、応用面も含めた遺伝資源としての重要性は計り知れないものがあると思われる。本探索収集では好塩性を中心とした各種特殊環境微生物の分離を試み、新規微生物の発見を試みるとともに酵素、代謝産物等の新規有用物質の検討を行うことを目的とした。

2. 実施の概要

平成2年10月15日から18日の4日間、各種好塩菌の分離源として九州・鹿児島県の海岸沿いの砂、土壌、植物体、貝殻、等を、そしてまた、海水が60~70℃に熱せられている指宿温泉の海岸から高温性好塩菌分離用サンプルを収集した(表1, 2)。さらに好熱性好酸性菌の分離を試みるため、雲仙温泉に足をのばし、pH1~2の熱水サンプルおよび周辺の土壌を数点収集した。用いた分離用培地、

培養条件は表 3, 4 に示した。

3. 収集成果

高塩環境下で生育する微生物の分離を目的とするため、分離源としては海岸周辺の砂、貝殻、植物体等の有機物、等を収集した。鹿児島においては桜島の火山灰の影響で白砂はあまりなく、特に開聞岳周辺では海岸べりに直径数ミリの黒い粒の堆積が多く、これらの微生物に対する影響が懸念された。また、指宿では海岸に湯気が立ち上るほど海水が熱せられており、高温性好塩菌の分離には格好の場所であった。収集したサンプルは筑波に直送して低温室に保存しておき、戻ってから即座に菌の分離処理を行った。今回の収集では表 4 に示したような培養条件で菌の分離を試みた。すなわち 3～4 M の NaCl を含む 2 種類の培地による好塩性微生物の分離、好塩性好アルカリ微生物の分離、NaCl の代わりに 50% グルコースで浸透圧をあげた耐糖性微生物の分離、高温性好塩性菌の分離、そして好熱性好酸性菌の分離、これら 5 種類の条件で各種好塩菌の分離を行った。その結果、好熱性好酸性菌の分離はうまくいかなかったものの、他の条件ではいずれも菌の分離に成功した。今回収集できた株については未だ完全同定が済んでいないものも多いが、これは一つには分離した微生物の特殊性によるところが多い。すなわち例えば耐糖性酵母として分離した *Rhodotorula* 属酵母も生理学的検討により *Rhodotorula rubra* ということになったが“*The Yeast* (1984)”に記載されている性質(例えば[50%グルコースでの生育無し]等)に当てはまらない所もあり、より詳細な分類学的検討には化学分類法の導入等も考慮にいたした今後の検討が必要であろう。また、今回のサンプルについて古細菌である高度好塩性細菌の分離も試みたが液体培養、平板培養いずれにおいても分離できなかった。さらに好塩性好アルカリ性菌が以外に多く分離できることが示されたが、*Bacillus* 属と思われる菌が多く、例えば嫌気性で分離を行うことにより *Bacillus* 以外の菌を分離できるのではないかと考えられた。

4. 所感

今回の収集では好熱性好酸性菌、高度好塩性細菌の分離は出来なかったものの、他の条件下での分離はほぼ当初の目的に見合った結果が得られた。これらの結果をもとに各種発酵食品中から新規な微生物の分離を目指すことも今後の検討課題としたい。なお、鹿児島におけるサンプルの収集にあたっては、好塩性微生物の第一人者でいらっしゃる鹿児島大学農学部教授(元)、大西博先生をお訪ねして種々の御示唆を戴くと共に、御忙しい中を研究室の方と収集にも同行していただくなど、大変お世話になりました。あらためて厚くお礼申し上げます。

表1 収集日程表

年月日	旅程	行動内容
2. 10. 15 (月)	食総研～羽田～鹿児島	移動・鹿児島大学訪問 (収集打ち合せ)
16 (火)	鹿児島～指宿～鹿児島	海岸にてサンプル収集
17 (水)	鹿児島～雲仙	移動・サンプル収集
18 (木)	雲仙～食総研	サンプル収集・移動

表2 収集物の種類と点数

収集地点	試料の種類	収集点数
瀬崎港	海岸砂, 木皮, 海水, ワラ, 葉, 等	5
魚見港	海岸砂	2
指宿温泉	海水・砂 (55℃, 42℃)	6
開聞岳周辺	小石, 海水, 植物, 貝殻 土, 松かさ, 湿葉, 等	14
雲仙温泉	熱水 (70℃以上), 土等	5

表3 各種好塩菌分離用培地

SGC培地

酵母エキス	1.0 (g/100ml)
カザミノ酸	0.75
クエン酸ソーダ	0.3
KCl	0.2
MgSO ₄ ・7H ₂ O	2.0
FeCl ₂	0.0023
NaCl	25
最終pH	7.4

MYG培地

麦芽エキス	0.3 (g/100ml)
酵母エキス	0.3
ペプトン	0.5
グルコース	1.0

NB培地

肉エキス	0.5 (g/100ml)
ペプトン	1.0

表4 分離培養条件

培地名	培養温度	培地組成
① S3	30℃	SGC培地 (NaCl 3M添加)
② S4	30℃	SGC培地 (NaCl 4M添加)
③ M3	30℃	MYG培地 (NaCl 3M添加)
④ N5P10	30℃	NB培地 (NaCl 5%添加) pH10 (Na ₂ CO ₃ /NaHCO ₃)
⑤ S50G1c	30℃	SGC培地 (NaCl 0%, グルコース50%添加)
⑥ S3.5	55℃	SGC培地 (NaCl 3.5%添加)
⑦ S3.5	65℃	SGC培地 (NaCl 3.5%添加)

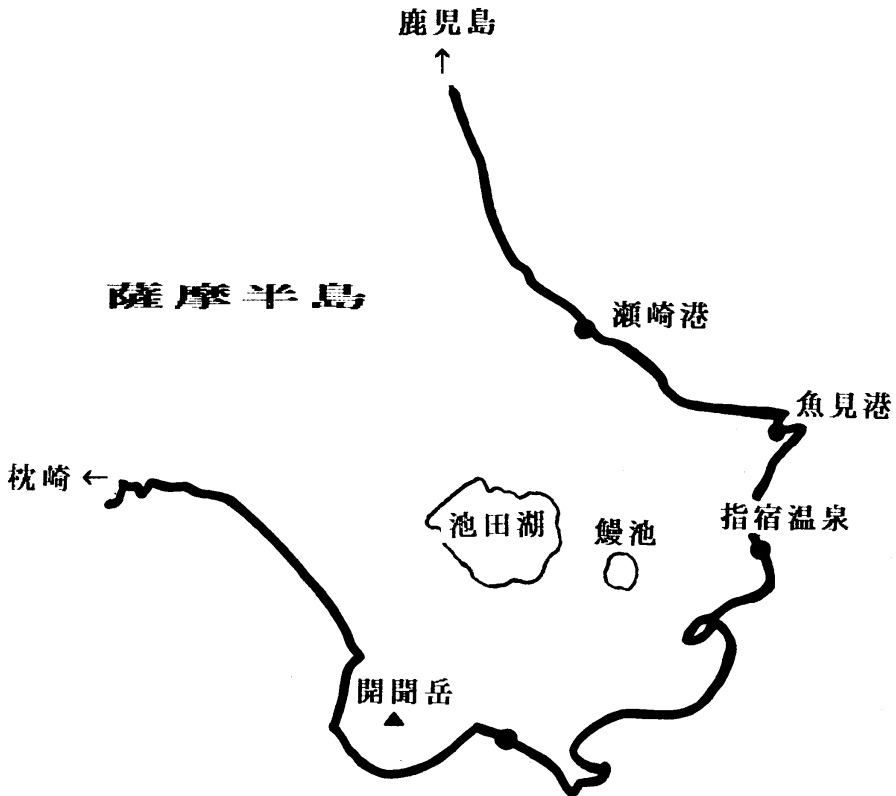


図1 サンプル採集地 (●印)

表5. 国内微生物遺伝資源の現地収集実績(2年度調査分)

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源	収集年月	収集場所	特記事項
300	01	20	S3-1	<i>Vibrio</i> sp.	土壌+植物根	1990.10.16	開聞岳周辺	3MNaClで生育
300	01	20	S3-2	<i>Pseudomonas</i> sp.	土壌+植物根	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	S4-1	<i>Vibrio</i> sp.	小石+植物体	1990.10.16	開聞岳周辺	4MNaClで生育
300	01	20	M3-1	<i>Micrococcus</i> sp.	木皮	1990.10.16	瀬崎港	3MNaClで生育
300	01	20	NP-1	<i>Bacillus</i> sp. (type 1)	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	5%NaCl, pH10で生育
300	01	20	NP-2	<i>Bacillus</i> sp. (type 2)	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-3	"	土壌+松かさ	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-4	"	土壌+松かさ	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-5	"	土壌+植物根	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-6	<i>Bacillus</i> sp. (type 1)	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-7	<i>Bacillus</i> sp. (type 3)	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-8	"	湿葉	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-9	"	湿葉	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-10	<i>Bacillus</i> sp. (type 4)	木皮	1990.10.16	瀬崎港	"
300	01	20	NP-11	<i>Bacillus</i> sp. (type 1)	海砂+海水	1990.10.16	瀬崎港	"
300	01	20	NP-12	<i>Bacillus</i> sp. (type 3)	海砂	1990.10.16	瀬崎港	"
300	01	20	NP-13	<i>Bacillus</i> sp. (type 4)	海砂+植物葉	1990.10.16	瀬崎港	"
300	01	20	NP-14	"	小石+植物体	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-15	"	小石+植物体	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-16	"	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	NP-17	<i>Bacillus</i> sp. (type 4)	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	5%NaCl, pH10で生育
300	01	20	NP-18	"	海砂	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-1	<i>Candida parapsilosis</i>	小石	1990.10.16	開聞岳周辺	50%Glucoseで生育
300	03	20	SG-2	"	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-3	"	土壌+植物根	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-4	"	海砂	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-5	"	土壌+松かさ	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-6	"	海砂+海水	1990.10.16	瀬崎港	"
300	03	20	SG-7	"	海砂	1990.10.16	魚貝港	"
300	03	20	SG-8	"	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-9	"	海砂	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-10	<i>Rhodotorula rubra</i>	小石+海水	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-11	"	小石+海水	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-12	"	小石	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	03	20	SG-13	"	貝殻	1990.10.16	開聞岳周辺	"
300	01	20	S55-1	<i>Bacillus licheniformis</i>	表面海砂(42℃)	1990.10.16	指宿温泉	3.5%NaCl, 55℃で生育
300	01	20	S55-2	"	表面海砂(42℃)	1990.10.16	指宿温泉	"
300	01	20	S55-3	"	海砂+海水	1990.10.16	指宿温泉	"
300	01	20	S55-4	"	海砂+フジツボ	1990.10.16	指宿温泉	"
300	01	20	S65-1	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	海砂+海水(60℃)	1990.10.16	指宿温泉	3.5%NaCl, 65℃で生育