

473 低栄養培養条件下における亜硝酸酸化菌の単離とその性質
(日大・農獣医・農化) 甲賀美也子、逸見優子、高橋令二、○徳山龍明

【目的】化学独立栄養性亜硝酸酸化菌は陸上や水圏に広く棲息するが、分離のための培養には、高濃度無機塩培地が用いられている。このような条件下で単離された亜硝酸酸化菌の生理・生化学的諸性質が、自然界に分布する多くの菌株の示す性質を反映しているか疑問が生じる。本報では、低栄養性亜硝酸酸化菌を土壌から純粋分離したので、その菌学的並びに培養上の特性を調べ、従来から使用してきた *Nitrobacter agilis* ATCC 14123 株と比較した結果について述べる。

【方法】無機塩BE培地の希釈改変培地は、亜硝酸ナトリウムを1/4 濃度(7.2mM)とし、全ての他の成分は $1/2$ 、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} の6段階希釈濃度として調製した。土壌を添加したこれらの培地で集積培養を数回繰り返した後、演者らが考案した Gellan gum plate を用いた希釈平板法¹⁾により純粋分離を行った。

【結果】 10^{-3} 希釈改変BE培地による集積培養で亜硝酸酸化能の最も高い培養液が得られたので、同培地の Gellan gum plate 上に塗抹し、単一コロニー(径約1mm)を形成させた。単一菌TH21株は、グラム陰性の桿菌、極鞭毛を有し、*N. agilis*と同様に発芽法により増殖した。DNAのGC含量(mol%)は61.0を示した。生育に最適なpHは9.5、温度は29℃、培地中亜硝酸濃度は3mMであった。培地中の共存有機物の影響では、1.0mM オキサロ酢酸が顕著な亜硝酸酸化阻害を及ぼした。また、各種抗生物質が及ぼす影響では、クロラムフェニコール(100 μ g/ml)に対して耐性が認められた。以上の性質は*N. agilis*とほぼ類似した性質を示していた。

1) R. Takahashi et al., J. Ferment. Bioeng., 74, 52-54 (1992)
Isolation and Characterization of a Nitrite-oxidizing Bacterium from Oligotrophic Culture Condition.
Miyako Kouga, Yuko Henmi, Reiji Takahashi, and ○Tatsuaki Tokuyama
(Dept. Agr. Chem., Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo, 154)

474 培地緩衝剤がアンモニア酸化菌の亜硝酸生成と生育に及ぼす影響
(日大・農獣医・農化) ○八尾泰江、小泉桂子、高橋令二、徳山龍明

【目的】化学独立栄養性細菌であるアンモニア酸化菌は、最も初期に発見された細菌であるにもかかわらず、その生理生化学的諸性質の多くが未解明のまま残されている。その理由は、本菌の分離・培養が極めて難しいことによっている。培養中に生育が抑制される主原因は生成亜硝酸によるpHの低下であるため、培地中の緩衝剤として高濃度のリン酸塩を含有させている。このリン酸塩による生育阻害を回避するため、有機緩衝剤である「GOODの緩衝液」の適用性について検討した。

【方法】*Nitrosomonas europaea* ATCC 25978 (ATCC株) および *Nitrosomonas* sp. TK794 (TK株) を用いた。培地としては、リン酸緩衝剤含有のPあるいはPM培地、およびこの緩衝剤を各種GOOD緩衝剤と代替した培地(主にHEPES培地)を調製した。亜硝酸態窒素の定量は Griess-Ilosvey法、生菌数の測定は Gellan gum plate を用いた希釈平板法で行った。

【結果】GOOD緩衝剤10種のうち、BicineおよびTricine以外の全てで良好な亜硝酸生成能が認められた。そこで以後HEPES含有のHEPES培地について検討した。各培地を用いた培養過程における最も高い亜硝酸生成効果は、ATCC株ではP培地、TK株ではHEPES培地において認められた。両菌株における最適HEPES濃度は、ATCC株では50mM、TK株では150mMであった。Gellan gum平板培地状におけるコロニー形成の程度は、両菌株ともHEPES培地で最も高く、ATCC株ではP培地の約3倍、TK株ではPM培地の約16倍であった。これら平板培地における培養25日目に形成したコロニーは両菌株ともHEPES培地のほうが大きく、その径は、ATCC株では500-1000 μ m、TK株では1000-2000 μ mであった。

Effect of Buffer Contained in Medium on the Nitrite Production and Growth of Ammonia-oxidizing Bacteria.

○Yoshie Yao, Keiko Koizumi, Reiji Takahashi, and Tatsuaki Tokuyama
(Dept. Agr. Chem., Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo, 154)