

微細緑藻の増殖促進における培地への 有機物添加の効果と共生微生物群が与える影響

日大生産工(院) ○菅家 雅史

日大生産工 矢木 修身 佐藤 敏幸 日秋 俊彦

1 緒言

微細藻類を原料とするバイオディーゼル燃料(BDF)製造は、食糧と競合しない、光合成によるCO₂固定能力が高い、通年で収穫が可能という利点がある。しかし、商業的な利用のためには未だ生産性が低く、藻体増殖速度の改善、脂質抽出コストの改善等の課題がある。

藻体増殖の促進に関して、培地への有機物添加による促進がこれまで報告されている¹⁾。

これまで閉鎖系フォトバイオリアクター等による大量培養では、細菌等のコンタミネーションの影響を防ぎ、単一藻類の純培養の維持が重要視されてきた。しかし、近年、自然界で存在する藻類を中心とする細菌群との共生環境(phycosphere)における相利共生を利用した藻体増殖促進が注目されている²⁾。しかし、藻類への有機物添加においてphycosphereへの影響についての調査は少なく、増殖促進のメカニズムには未解明な点が多い。

当研究室では、これまで山形県霞城公園にて採取した保有株*Scenedesmus* sp. YKを用いて培地への有機物添加の影響を調査し、Methanolの添加が促進に有効であることを見いだした³⁾。そこで本研究では、*Scenedesmus* sp. YKへの有機物添加による増殖促進について、Methanol添加による増殖促進に関して、既往の研究にて報告されている添加有機物との促進効果は無菌株培養、単藻株培養、共生細菌群コロニー接種株培養で比較し、phycosphereへの影響を調査した。

2 実験

50 mL 三角フラスコに Chu-No.10NN 改変培地を 30 mL 加え、オートクレーブ滅菌後、藻体前培養液 3 mL 植菌し 3 連での培養を行った。培養環境は温度 25 ± 1 °C、植物培養用蛍光灯を用いた 12 時間周期の明暗光照射条件下であり、12 日間程度静置培養とした。分光光度計(AS ONE

社製 ASV11D)にて吸光度(波長 660 nm)を測定し、増殖速度を評価した。培養終了後の藻体を 3000 rpm にて 5 分間遠心分離し、乾燥試料とした。藻体乾燥試料中脂肪酸をナカライテスク社製脂肪酸メチル化キットにて抽出、メチルエステル化し、GC-MS(島津製作所製 GCMS-QP2010、使用カラム Agilent 社製 DB-5ms)を用いて脂肪酸組成分析を行った。

2-1 無菌培養

Scenedesmus sp. YK 自身が有機物を代謝するかを確認するため、無菌化された藻類に増殖促進が報告されている Methanol, Ethanol, Glucose, Sodium acetate を培地濃度 1.0 mL/L となるよう培地に添加し、12 日間培養を行った。

2-2 共生細菌群の影響

共生細菌群による影響の調査では、*Scenedesmus* sp. YK 単藻株をグルコース添加寒天培地およびメタノール塗布寒天培地で培養し、藻類を除くコロニーを分離培養した後に無菌株、単藻株、無菌株 + 細菌群接種株において Methanol を培地濃度 1.0 mL/L となるよう培地に添加し、11 日間培養を行った。

3 結果および考察

無菌培養での有機物添加では、Glucose, Sodium acetate は *Scenedesmus* sp. YK の増殖を促進した。一方、Ethanol, Methanol による増殖促進は確認されなかった(Fig.1)。したがって、Ethanol, Methanol は直接藻類が取り込み、代謝するのではなく、藻類外に影響を与えていると考えられる。

次に共生細菌群の分離培養では、藻類コロニー以外に白色および赤色のコロニーが形成された。単藻株および細菌群コロニー接種株では

Effect of addition of organic matter on the culture medium and symbiotic microorganism for promoting the growth of green microalgae

Masafumi KANKE, Osami YAGI Toshiyuki SATO and Toshihiko HIAKI

Methanol を添加することで増殖が促進された (Fig.2). 以上より, *Scenedesmus* sp. YK を取り巻く共生細菌群が Methanol 添加による増殖促進に影響を与えていることが示唆された. 培地中に Methanol を添加することで, Methanol を代謝する細菌群(メチル栄養細菌)がメタノールへの耐性をもたない他の細菌より優位に増殖し, *Scenedesmus* sp. YK -メチル栄養細菌間の相利共生が活性化され, 藻体増殖を促進したと考えられる.

藻体より抽出した脂肪酸の GC-MS 分析では, 脂肪酸組成は培養条件による影響を強く受けないことを確認した. 主要な脂肪酸はパルミチン酸, α -リノレン酸および 6-オクタデセン酸であった.

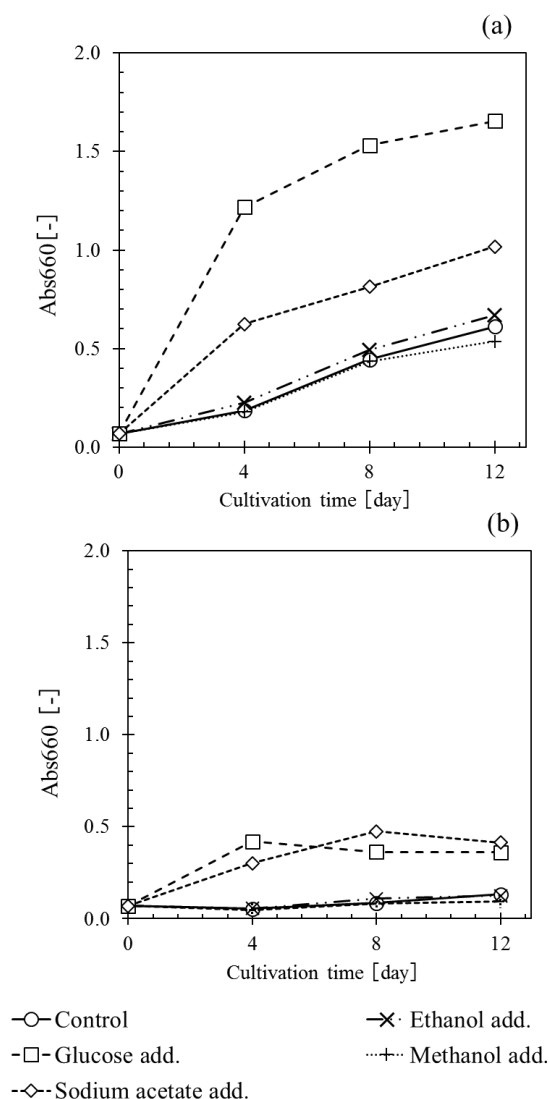


Fig.1 Growth curve of *Scenedesmus* sp. YK at organic compounds addition ((a)Light and dark conditions, (b)Dark condition)

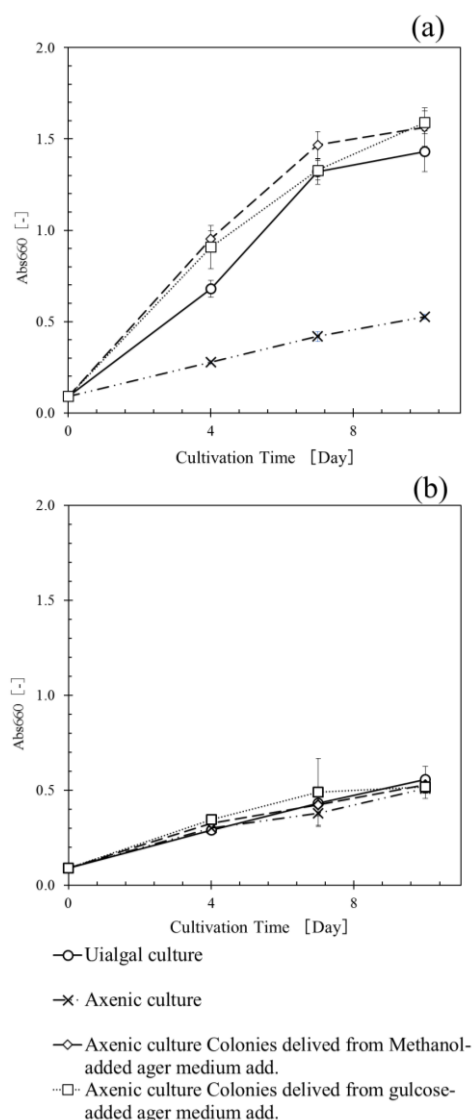


Fig.2 Growth curve of *Scenedesmus* sp. YK containing symbiotic microorganisms ((a)Methanol added, (b)Methanol not added)

4 結言

増殖促進効果が報告されている Glucose, Sodium acetate は共生微生物なしに *Scenedesmus* sp. YK の増殖を促進した. 一方, Ethanol, Methanol の増殖促進効果は無菌培養では確認されなかった. 共生細菌接種株では Methanol 添加による藻体増殖促進が確認され, *Scenedesmus* sp. YK -メチル栄養細菌間の相利共生が促進に関与していると考えられる.

参考文献

- 1)D. Dittamart, C. pumas, J. pekkoh and Y. peerapornpisal, *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, **2014**, 8, 198-206.
- 2)G.-A. Lutz, N.-T. Dunford, *Front. Biosci. (Landmark Ed)*, **2018**, 23, 1487-1504.
- 3)小川 道, 日本大学生産工学部応用分子化学科卒業論文, 2016.