

Scenedesmus sp. YK を中心とする Phycosphere への 有機物添加による藻体増殖促進メカニズム解明に向けた研究

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

微細藻類は、バイオディーゼル燃料 (BDF) やサプリメント、飼料等様々な分野で注目されているものの、依然としてバイオマス生産性の低さに課題があり、生産性向上を目的として微細藻類の増殖を促進させる培養手法が求められている。既往の培養プラントでは、細菌等のコンタミネーションによる藻体バイオマス生産性低下を防ぐため、単一藻類の純培養の維持が重要視されてきた。一方、自然界に存在する藻類を中心とする細菌群との共生環境 (Phycosphere) を利用した藻体増殖促進が近年注目されている^{1), 2)}。また、藻体増殖促進法として培地への有機物添加も多く報告されているが、そのメカニズムには未解明な点が多く、同属の藻類間において促進効果を示さない場合もある^{3), 4)}。この原因として、前述の共生細菌群の存在が考えられるが、既往の研究では Phycosphere への有機物添加に関する報告は少ない。そこで、本研究では、藻類と共生細菌との共生環境に及ぼす有機物添加の影響に着目した。既往の研究にて有機物添加による増殖促進が確認されている研究室保有藻類株 *Scenedesmus* sp. YK を用い、藻体増殖促進効果を示した有機物のうち、比較的低コストである Methanol 添加における藻類と共生細菌への影響を調査し、藻類増殖促進細菌 (algal growth promoting bacteria: AGPB) の単離、増殖促進のメカニズム解明を目的とする。

2 実験

2-1 培養条件

500 mL 三角フラスコに Chu-No.10 改変培地を 300 mL 加え、オートクレーブ滅菌後、藻類前培養液 3 mL を接種した。培養環境は温度日中 25 ± 0.5 °C、夜間 20 ± 0.5 °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の静置培養とし、すべての培養は 3 回行った。研究室保有藻類株 *Scenedesmus* sp. YK は山形県霞城公園にて採取したものを継代培養したものであり、単一藻類の純培養 (Axenic 培養)、共生細菌群を維持した培養 (Xenic 培養) を実験に使用した。藻体増殖の評価は、吸光度測定 (波長 680 nm)、

クロロフィル a 濃度測定、検鏡にて行った。

2-2 添加 Methanol 量の検討

Scenedesmus sp. YK (Axenic 株, Xenic 株) に対し、培地中 Methanol を濃度 0, 1.0, 10.0, 50.0, 100.0 g/L となるように調整し、9 日間培養を行った。あわせて、培地 0.1 mL を、Methanol 0.1 mL を噴霧した Chu-No.10 改変寒天培地に塗布し、藻類、細菌のコロニー出現を観察した。

2-3 共生細菌群の単離、藻類との共培養

2-2 にて寒天培地上に出現した共生細菌由来のコロニーを 9 種類単離し、それぞれを Methanol 濃度 1.0 g/L に調整した Chu-No.10 改変培地にて前培養を行った。この前培養液 3 mL と藻類前培養液 3 mL を 2-1 同様に接種し、Methanol 濃度 0, 1.0 g/L 下にて 7 日間培養を行った。

3 結果および考察

各種 Methanol 濃度で培養した *Scenedesmus* sp. YK (Axenic 株, Xenic 株) のフラスコの状相を Fig.1 に示す。*Scenedesmus* sp. YK (Axenic 株) への Methanol 添加では、いずれの濃度においても藻体増殖促進効果は確認されなかった (Fig.2(a))。一方、Xenic 株への Methanol 添加では、Methanol 濃度 1.0, 10.0 g/L において藻体増殖促進が確認された (Fig.2(b))。また Methanol 濃度 50.0, 100.0 g/L ではどちらの培養条件においても増殖を阻害した。Fig.1, 2 より、*Scenedesmus* sp. YK 自身は Methanol 資化能を有するとは考えられず、共生細菌群を介する資化が示唆された。

寒天培地上に出現した共生細菌由来のコロニーを、Methanol 濃度 0, 1.0, 10.0, 50.0, 100.0 g/L 培養からそれぞれ 1, 1, 4, 2, 1 種類単離し、Axenic 株との共培養を行った (Fig.3(a), (b))。Fig.3(a)では、すべての接種細菌は Methanol 無添加環境では藻体増殖に影響を与えないことが確認された。一方、Methanol 添加環境では、9 種の接種細菌のうち、6 種との共培養にて藻体増殖促進が確認された (Fig.3(b))。

Study on elucidation of algal growth promotion mechanism by adding organic compounds to Phycosphere of *Scenedesmus* sp. YK

Masafumi KANKE, Osami YAGI Toshiyuki SATO and Toshihiko HIAKI

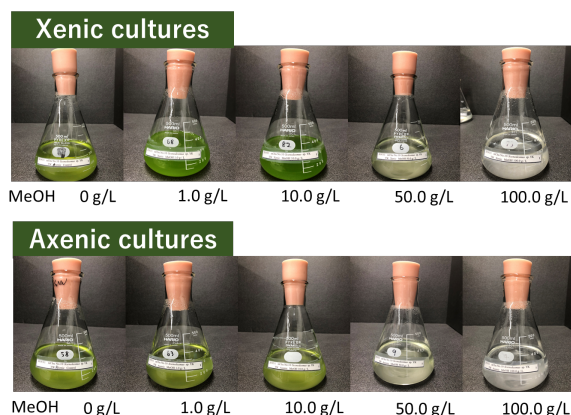


Fig.1 各 Methanol 濃度下における *Scenedesmus* sp. YK の状相 (培養 9 日目)

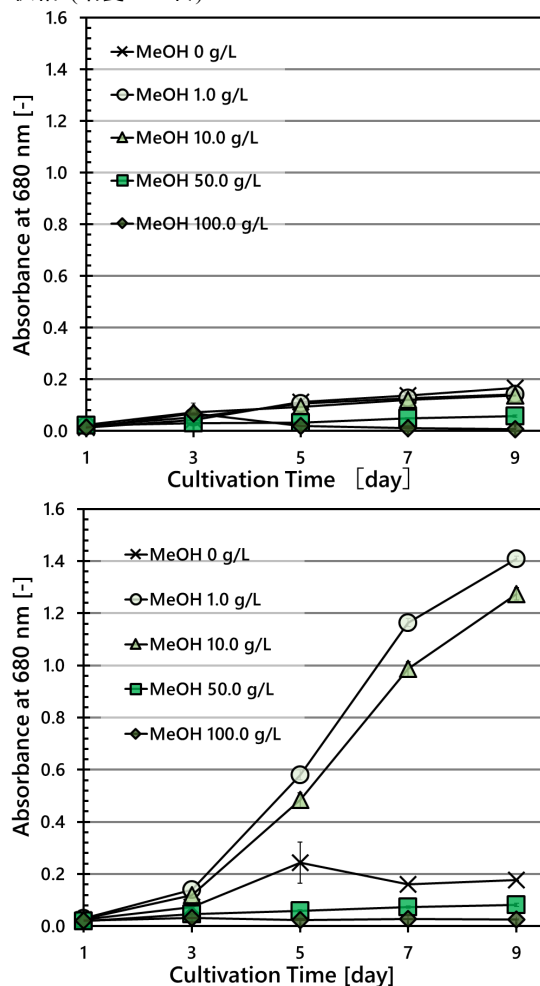


Fig.2 各 Methanol 濃度下における *Scenedesmus* sp. YK の増殖曲線 ((a) : Xenic 株, (b) : Axenic 株)

4 結言

Xenic培養において、1.0および10.0 g / LのMethanolは、*Scenedesmus* sp. YKの増殖を有意に増加させた。また、単離した共生細菌群からAGPBを獲得した。増殖促進メカニズムは未だ未解明だが、AGPBの代謝物を*Scenedesmus* sp YKが増殖促進のシグナル分子として受け取っている可能性が示唆された。

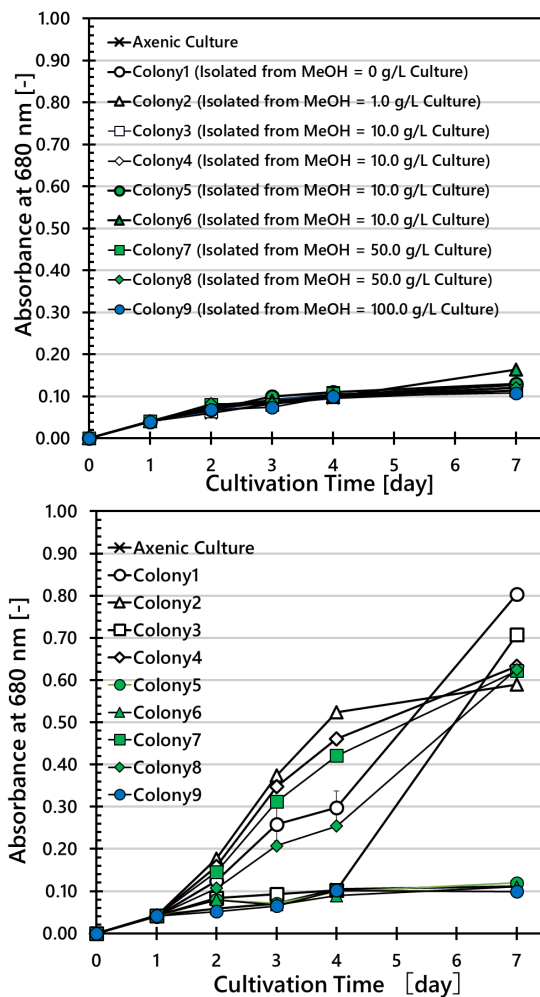


Fig.3 単離共生細菌 - *Scenedesmus* sp. YK 共培養 ((a) : MeOH 0 g / L, (b) : MeOH 1.0 g / L)

参考文献

- 1) C. Wu, W. Wang, L. Yue Z. Yang, Q. Fu, and Q. Ye., "Enhancement effect of ethanol on lipid and fatty acid accumulation and composition of *Scenedesmus* sp." *Bioresource Tech.*, 8, (2014) p.198-206.
- 2) D. Dittamart, C. pumas, J. pekkoh and Y. peerapompisal, "Effects of organic carbon source and light-dark period on growth and lipid accumulation of *Scenedesmus* sp. AARL G022" *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, 8, (2014) p.198-206.
- 3) G. -H. Duo, G. -X. Wu, X. -X. Wang, T. -Y. Zhang, X. -M. Zhan, "Enhanced microalgae growth through stimulated secretion of indole acetic acid by symbiotic bacteria" *Algal Research*, 33, (2018) p.345-351.
- 4) B.-H. Kim, R. Ramanan, D.-H. Cho, H.-M. Kim, "Role of Rhizobium, a plant growth promoting bacterium, in enhancing algal biomass through mutualistic interaction" *Biomass Bioener.*, 69, (2016) p.95-105.