

C 123

ペンタクロロフェノール分解細菌DN2の単離とその特徴

内田聡子、豊田剛己、藤江幸一*、○片山新太

(名古屋大学農学部、*豊橋技術科学大学)

ペンタクロロフェノール(PCP)は、世界的に広く使われている殺菌剤・除草剤である (McAllisterら1996)。毒性が高いため、日本では1970年代に既に使用禁止となっているが、世界的には木材の防腐剤として今まで用いられてきた。農地では、PCPは分解され残留しないことが明らかにされている(Watanabe 1977)。PCPの微生物分解に関しては、これまで多くの研究があり種々の分解菌が単離されてきた。しかし、最近、PCP分解細菌は非常に狭い分類学的グループの細菌 (グラム陰性細菌では*Sphingomonas*属、グラム陽性細菌では*Mycobacterium*属) によって行われているという指摘がなされた。例えば、過去に報告されたPCP分解細菌、*Flavobacterium*属 ATCC39723株、*Pseudomonas*属 SR3株、*Sphingomonas*属 RA2株、*Arthrobacter*属 ATCC33790株は、世界の異なった場所で単離された菌にもかかわらず、検討の結果いずれの菌も*Sphingomonas chlorophenolica*と分類が改められた (Nohynekら1995)。また、これらいずれの菌も同じPCPモノオキシゲナーゼ遺伝子(*pcpB*)を有している (Ederer1997)。

そこで、本研究では、PCP分解菌を単離し上記の狭い分類学的位置に属するか、また同じ分解遺伝子を有するかを調べた。

安城畑土壌(Typic Dystrachrept)をPCP20mg/L溶液で還流し30℃に保ち、PCP分解菌を集積させた。PCPを唯一の炭素源とする無機塩寒天培地に土壌懸濁液を広げ、コロニーを得た。得られたコロニーのPCP分解能をPCP-無機塩培地で調べた。PCPは、逆相カラムを付けたHPLCを用い吸光度254nmで定量した。その結果分解菌を数株得たが、その内最もPCP分解能が強力なDN2株をその後の試験に用いた。DN2株の分類学的位置を決めるために、形態観察、生理学的試験、化学分類試験および16SrDNA配列の決定を行った。また、PCP分解に及ぼすpH、栄養条件、PCP濃度の影響を調べた。*pcpB*遺伝子をプローブとしてDN2のゲノムDNAとサザンハイブリダイゼーションし、*pcpB*遺伝子の関与を調べた。

DN2株は、絶対好気性グラム陰性桿菌で運動性を有し色素生産能は無かった。オキシダーゼ陰性。カタラーゼ陽性。OFテストで糖分解性は無かった。弱い硝酸塩還元能を示した。カナマイシンとテトラサイクリンに耐性で、アンピシリンとリファンピシンに感受性を示した。主要な脂肪酸 (メチルエステルとして) は、C12:0、C16:0とC18:0であった。水酸化脂肪酸は検出されなかった。主要キノンはユビキノン-10であり、ユビキノン-9と-8も少し存在した。16S rDNA配列は、*Acinetobacter*属と高い類似度 (96.2から99.4%)を示した。以上の性質は、主要キノンを除き、*Acinetobacter*属とよく一致した。*pcpB*遺伝子は、DN2株のゲノムDNAとハイブリダイゼーションせず、*pcpB*遺伝子は関与していないことが明らかとなった。プロテオバクテリアγ-サブグループの*Acinetobacter*属は、δ-サブグループの*Sphingomonas*属と分類学的位置が大きく異なった菌であり、PCP分解細菌は、必ずしも狭い分類学的位置に属するわけではないことが示唆された。

Isolation and characterization of pentachlorophenol-degrading bacterium the strain DN2

Satoko Uchida, Koki Toyota, Koichi Fujie*, ○Arata Katayama

School of Agricultural Sciences, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-01 Japan

*Department of Ecological Engineering, Toyohashi University of Technology, Toyohashi, 441 Japan