湖沼から分離したジオスミン産生粘液細菌の生理的特徴

Physiological Characteristics of Geosmin-Producing Myxobacteria Isolated from Lakes

山本鎔子¹、坂田智絵¹、落合正宏²

¹ 明治大学農学部農芸化学科／〒214-71 神奈川県川崎市多摩区東三田1-1-1

² 東京都立大学理学部化学／〒192-03 東京都八王子市南大沢1-1

YOKO YAMAMOTO¹, TOMOE SAKATA¹ and MASAHIRO OCHIAI²

¹ Faculty of Agriculture, Meiji University / Higashimita, Tama-ku, Kawasaki 214-71, Japan

² Department of Chemistry, Tokyo Metropolitan University

/Minamiosawa, Hachioji, Tokyo 192-03, Japan

Abstract

Ten strains of myxobacteria were isolated from eutrophic lakes, which were identified as *Myxococcus*. They contained geosmin in the cell and excreted it in the growth medium. These observations suggest that myxobacteria are the cause of the earthy odour of the eutrophic lakes.

Key words : *Myxococcus*, geosmin, lake

1. はじめに

富栄養化した湖沼などの水源で多発するかび臭障害は、主にジオスミンや2-メチルイソボルネオールによる揮発性の物質が原因であり、*Anabaena*、*Phormidium*、*Oscillatoria* 属^{1, 2, 3, 4, 5)} のラン藻や、放線菌の *Streptomyces* 属^{6, 7, 8, 9, 10)} などにより産生されることが判明している。しかし水道水源となる水域で、これらの微生物が確認されないにも関わらずしばしばかび臭が発生していることが報告されており^{11, 12)}、原因の究明が急がれている。このような状況のなかで、アメーバ¹³⁾ や真菌類^{14, 15)} がジオスミンを産生することが判明した。また、湖水あるいは湖底泥堆積物中から分離した粘液細菌が¹⁶⁾、ジオスミンを多量に産生することも確かめられた¹⁷⁾。粘液細菌は、一般には土壌由来の細菌であるが⁸⁾、海岸¹⁸⁾、河川^{19, 20, 21, 22)}、湖沼^{23, 24)} などの水域にも存在しており、プロテアーゼ、

グルコシダーゼなどの酵素^{25, 26)} や抗生物質^{27, 28)} を産生し、ラン藻や細菌など他の微生物あるいは高分子化合物を分解することもできる^{16, 29)}。本報告では、分離した各粘液細菌の生理的特徴を調べ、この菌が水域のかび臭の一要因になりうるかについて検討を加えた。

2. 実験方法

諏訪湖底泥あるいは木崎湖湖水から分離された粘液細菌10株を実験に用いた。粘液細菌の培養は300ml三角フラスコにCasitone 1%、Yeast extract 0.5%、MgSO₄・7H₂O 0.1%を含む液体培地を40ml入れ、一定量の菌体を植菌したのち、30℃で45 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光照射下あるいは暗所で振とう培養を行った。対数増殖期の細胞（培養48～72時間後）を集菌し実験に供した。分離株の同定の基準に *Myxococcus xanthus* (発酵研究所からの譲渡株)、

*M. stipitatus*と*M. fulvus* (東京大学微生物微細藻類総合センターからの譲渡株)を用い、分離株と同様の培地で培養し集菌後、使用した。溶菌作用の測定には*Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*、*Pseudomonas aeruginosa*およびラン藻*Microcystis aeruginosa* NIES 298(国立環境研究所微生物保存施設からの譲渡株)*M. aeruginosa* IAM-M-178、*Anabena cylindrica* IAM-M-1 (東京大学微生物微細藻類総合センターからの譲渡株)を用い、*Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*は、ハート・インフュージョン培地(栄研)を*Pseudomonas aeruginosa*の培養は1/2濃度に希釈したPYG培地(Polypeptone 0.1%、Yeast extract 0.05%、Glucose 0.025%、pH 7.0)、ラン藻はCT培地³⁰⁾によりそれぞれ培養し、対数増殖期後半の細胞を使用した。

GC含量(モル%)は、菌体からDNAをSaitoとMiura法^{31,32)}により粗抽出し、精製後、逆相分配クロマトグラフィー(Waters 600E)により測定した³³⁾。キノン分析は、菌体をクロロホルム/メタノール(2:1、v/v)で抽出し、抽出溶液を減圧濃縮したのち、この抽出物のアセトン可溶物をシリカゲル薄層クロマトグラフィー(展開溶媒、ヘキサン/ベンゼン/クロロホルム; 5:2:1、v/v)あるいは、高速液体クロマトグラフィーにより分析した³⁴⁾。

菌体内の糖およびアミノ酸の分析は、菌体をTris-HCl緩衝液(pH 7.2)で洗浄後、糖については、1 M HClで加水分解し、水素化ホウ素ナトリウムで還元後、無水酢酸にてアルジトールアセテート化し、ガスクロマトグラフィー(HP-5880A)にて³⁵⁾、アミノ酸については6 M HClにて加水分解後、O-フタルアルデヒド誘導体化し、高速液体クロマトグラフィー(日立665)にて分析した³⁶⁾。

生理試験は常法³⁷⁾に従い、カゼイン分解性、カタラーゼ、セルラーゼ、Congo red 染色性、DNA分解性、硝酸塩還元性、オキシダーゼ、デンプン分解性、尿素分解性(クリステンセン尿素寒天培地)、リパーゼ、ゼラチン液化力、硫化水素の生成(クリグラー培地)、炭水化物(糖)の資化性(ヒュー・レイフソンOF基礎培地)について行った。添加した炭水化物(糖)の種類は、D-glucose、L-arabinose、D-xylose、raffinose、sucrose、maltose、D-mannitolであった。

抗生物質耐性試験では、抗生物質(ペニシリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール)を $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 含む平板培地(Casitone 1%、Yeast extract 0.5%、Skim milk 0.4%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%)に各粘液細菌

を植菌し、2、5、7日目に観察し、抗生物質を含まない培地で同じ日数のあいだ培養した菌体の生育と比較することによって、耐性の有無を判定した³⁸⁾。

カロテノイドは菌体をクロロホルム/メタノール(1:2)で抽出し、3% NaClを含む30mM Tris-HCl 緩衝液(pH 8.0)で洗浄後、クロロホルム層を回収した。各株の粗抽出液中のカロテノイドは逆相クロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィーにより精製をすすめFD-MS(日立 M-2500)、¹H-NMR (JNM-GSX 500、JEOL)により同定した³⁹⁾。

UV蛍光性は、平板培地上の粘液細菌の菌体に紫外線ランプ(365nm)を照射して、蛍光を発したものを陽性とした。

臭気分析は、NaCl 約3g(あらかじめ300℃で1時間焼く)を含むミリQ水20mlに試料を0.1ml添加して、パージ・トラップ(Purge and Trap)法⁴⁰⁾により臭気物質を濃縮後、ガスクロマトグラフィー(日立-263-30、カラム TC-1)によりジオスミン量を測定した¹⁷⁾。菌体のジオスミン含量は、菌体懸濁液のジオスミン量から培養上清に溶出したジオスミン量を差し引くことにより求めた。

溶菌性の測定には*Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*、*Pseudomonas aeruginosa*、およびラン藻の各対数増殖期後半の細胞を生菌と熱処理し(121℃、15分間熱処理)、この菌体と粘液細菌を7日間画線培養し溶菌の有無により判定した。また、ラン藻に対する溶菌性は寒天重層法に従った⁴¹⁾。

3. 結果および考察

分離した10株は滑走性のグラム陰性細菌であった。寒天上では樹枝状のswarmをつくりながら生育し、乾燥や培養液中の栄養塩が不足すると子実体(Fig. 1a, b)を形成した。S-1、MY-1、MY-2、MY-3、MY-5、MY-7、MY-10、MY-17、MY-18の各株は碗型(Fig. 1a型)の、S-0株は柄のある子実体(Fig. 1b)を形成し、子実体内部の粘液胞子は何れも球形であった。滑走性で、特徴ある子実体の形成と溶菌性を持つことから分離株は、何れも*Myxococcus*に属すると判定した。

Table 1は、分離株のGC含量および生理試験の結果を示す。なお、比較のため基準株(*M. fulvus*および*M. stipitatus*)の結果も示した。10株のGC含量は、68~71モル%と粘液細菌に特徴的な高い値^{38,42,43)}を示し、キノンタイプはすべてメナキノンMK-8であった。何れの菌

Fig. 1 a

Fig. 1 b

Figure 1 Electron micrographs of the fruiting bodies of *Myxococcus* sp. MY-10 (a) and S-0 (b) strains.

株もデンプンを分解するが、D-glucoseをはじめ使用した7種類の糖の資化性は認められなかった。*Myxococcus* 属の糖資化性については、Irschik and Reichenbach⁽⁴⁴⁾も同様の結果を得ている。その他、各種生理試験の結果は、分離株も同定のために用いた基準株 *Myxococcus* においてもほぼ同様の結果が得られた。 $10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ の抗生物質耐性試験では、殆どの菌株がペニシリンに耐性であったが、クロラムフェニコールにより生育の阻害が生じた。ストレプトマイシンはクロラムフェニコールとは異なり、栄養細胞の滑走性をやや減少させ、とくに、MY-3、MY-7、MY-17、MY-18株では菌体色素の損失を引き起こした。すべての分離菌は *Myxococcus* 属に特徴的な Congo red により染色されたことから β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranosyl⁽⁴⁵⁾ からなる糖成分を含む。また、*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, ラン藻 *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* をはじめとして *Microcystis* 属や *Anabaena* 属⁽⁴⁶⁾ の生菌体をよく溶解した。S-0株とMY-10株はUVに対し蛍光性を示した。

Table 2 に菌体内の糖およびアミノ酸の分析結果を示す。糖は、mannose、rhamnose、glucose、riboseが含まれ fucose は検出されなかった。アミノ酸は aspartate、glutamate、glycine、alanine が多量に含まれ、histidine は少量にすぎなかった。Sutherlandら^(46,47) は、*Myxococcus* 属の糖組成は、多量の glucose と galactose、mannose、xylose が存在することを示しているが、*M. xanthus* は mannose を、*M. virescens* は rhamnose を欠くとの報告も

ある⁽⁴⁸⁾。分離株は何れも mannose、rhamnose を多量に含むことから *M. xanthus*、および、*M. virescens* でない可能性も高い。

Table 3 は、明条件下で培養したときの色素組成を示す。MY-3、MY-7、MY-17、MY-18株は、myxobactone、myxobactone ester、phytoene を含む。このように phytoene を多量に蓄積する（全カロテノイドの約70%）例はあまり知られていない。*M. fulvus* の主要なカロテノイドは、myxobactone ester (70%)、4-ketotoruene (10%)、myxobactin ester (10%) と報告されているが⁽⁴⁹⁾、MY-3、MY-7、MY-17、MY-18株には 4-ketotoruene、myxobactin ester を確認できなかった。暗所下における培養で、何れの株もカロテノイドの減少が生じた。カロテノイドが光り防御の働きを担っているとする報告もある⁽⁵⁰⁾。

M. stipitatus の特徴はUVに対し蛍光性を持つことであり、子実体柄 (stalk) 欠損の同菌株の同定にはこの方法が有効であることが報告されている⁽⁵¹⁾。S-0株は、子実体、栄養細胞共にUV蛍光性のあること、オキシダーゼ反応が陽性であることと子実体の電子顕微鏡像から *M. stipitatus* であると考えられる。MY-10株は、子実体柄はないが蛍光性およびオキシダーゼが陽性であることから、柄欠損の *M. stipitatus* の可能性が高い。その他の分離株の子実体は椀型であるので *M. xanthus*、*M. fulvus*、*M. virescens* の何れかであると考えられるが、菌体の色素や糖組成がやや異なるなどから、さらに遺伝子レベル

Table 1. Characteristics of *Myxococcus* strains isolated from lakes.

Strain No.	MY-1	MY-2	MY-3	MY-5	MY-7	MY-10	MY-17	MY-18	S-0	S-1	<i>M. fulvus</i>	<i>M. stipitatus</i>
Isolate st.	Lake Suwa								Lake Kizaki		Standard strain	
Characteristic												
Congo red ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Casein hydrolysis ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Starch hydrolysis ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DNase production ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydase ¹⁾	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	±	+
Cellulase ¹⁾	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lipase ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduced ¹⁾	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gelatin liquefaction ¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S production ¹⁾	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Utilization ²⁾ of carbohydrates ³⁾	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fluorescence under UV ¹⁾	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	+	+
G+C content (mol %)	71	70	68	71	68	71	71	70	70	71	65.7	65.1
Quinone ⁴⁾	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8	MK-8
Sensitivity to ⁵⁾												
Penicillin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
Streptomycin	—	±	—	±	±	±	±	±	—	+	+	
Chloramphenicol	±	+	±	+	±	±	±	±	±	±	—	—
Lytic activity for ⁶⁾												
1-, 2-and 3-A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-, 2-and 3-B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-and 5-A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-and 5-B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Symbols : ¹⁾ + ; positive, — ; negative

²⁾ + ; positive utilization, — ; no utilization

³⁾ D-glucose, L-arabinose, D-xylose, raffinose, sucrose, maltose and D-mannitole

⁴⁾ MK-8 ; menaquinone

⁵⁾ — ; resistant, ± ; doubtful, + ; sensitive

⁶⁾ 1 ; *Escherichia coli*, 2 ; *Bacillus subtilis*, 3 ; *Pseudomonas aeruginosa*,

4 ; *Microcystis aeruginosa* NIES 298 and 5 ; *Anabaena cylindrica* IAM-M-1

A ; living cells, B ; heat treated cells

Table 2. Composition of sugars and amino acids produced by *Myxococcus* strains.

	Compound	Strain	
		<i>M. stipitatus</i> S-0	<i>M. sp.</i> MY-10
Sugar	Rhamnose	13.8*	8.0
	Fucose	0	0
	Ribose	22.7	16.6
	Arabinose	2.7	1.3
	Xylose	2.0	2.6
	Mannose	11.6	17.4
	Galctose	11.9	1.3
	Glucose	30.3	53.0
Amino acid	Asparagine	11.2	16.6
	Gultamine	12.1	12.8
	Histidine	2.2	2.5
	Serine	8.7	8.5
	Arginine	6.3	5.5
	Glycine	11.0	11.4
	Threonine	8.4	9.4
	Alanine	14.4	10.1
	Valine	4.8	4.7
	Phenylalanine	4.7	4.5
	Leucine	3.4	3.4
	iso-Leucine	6.0	5.1
	Lysine	6.9	5.4

* : expressed as percentage of total sugars and amino acids.

Table 3. Production of carotenoids by *Myxococcus* strains grown in the light at 30°C

Pigment	strain									
	MY-3	MY-7	MY-17	MY-18	MY-1	MY-2	MY-5	MY-10	S-1	S-0
*P-1			◎	◎						
P-2	○	◎	◎	◎						
P-3					◎	◎	◎	◎	◎	◎
myxobactone	◎	◎	○	○	○		○		○	
P-5					○	○	○	○	○	○
P-6			○	○	○		○	○	○	○
myxobactone ester	◎	◎	◎	◎	○	◎	○	○	○	○
phytoene	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	○	○

Symbols ; production of carotenoid pigments

◎, denotes more than 5% of total carotenoids

○, denotes less than 5% of total carotenoids

*P1~6 ; not identified

での解析が必要である。

Table 4 は、明条件下、あるいは暗条件下で72時間培養したときの菌体内ジオスミン量をに示す。実験に供した分離株および基準株のすべての粘液細菌はジオスミンを産生した。各菌株により産生量は異なり、特にMY-10株の菌体では培養72時間後に $193 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 、基準株 *M. fulvus* では $830 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ と多量のジオスミンを産生している。カビ臭産生量は、ラン藻 (*Anabaena* sp. $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ¹¹⁾)や放線菌(*Streptomyces* sp. $76 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ⁵²⁾)と比べ、粘液細菌の産生量は高い値である。S-0株では明条件下で $46 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、暗条件下で $38 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ であり、MY-10株では、明条件下で $22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、暗条件下で $48 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ のジオスミン産生を示した。なお、基準株の *M. fulvus* および *M. xanthus* では分離株の約10倍量のジオスミンを産生し、何れの株も培養の経過に伴い、菌体内のジオスミンを細胞外に溶出した。かび臭物質の生成が増殖初期に多く生体内に保持され、増殖後期に生体外に容易に放出されることは、ラン藻³⁾や放線菌⁵³⁾において、また *M. sp.* MY-2株¹⁷⁾においても報告されている。ジオスミンは、光防御の働きを担っていると推定されるカロテノイドと同一のイソプレノイド経路を経てメバロン酸を中間代謝産物として生合成されることが知られている^{54,55)}。しかし、本報告では、光とかび臭との間にはっきりとした関係を見いだすことはできなかった。

橋本⁵⁶⁾によれば、水道水源となる水域でのかび臭発生は、富栄養化に伴うラン藻類の消長とかかわりが深く、とくに *Microcystis* 属の出現はかび臭発生を予知できると報告している。一方、粘液細菌は、多量の有機物を含む場所に広く分布し、特に水域ではアシやヨシなどの水生植物の生育する場に多数生息する¹⁶⁾。また、諏訪湖では *Microcystis* 属などの藻類が沈降する秋期に増加する傾向がある²⁴⁾。河川では粘液細菌により、汚濁有機物の分解が促進されるとの報告^{20,57)}もあり、このことからこの菌が有機物汚濁の指標生物として評価されており、水域における有機物の分解者としての役割は大きく、同時に水域のかび臭産生の原因種としての可能性も高い。しかし、これを確認するには、この菌の分布域とかび臭の関連についてさらに調べる必要がある。Woodら^{58,59)}は、放線菌の増殖に必要な基質とジオスミン産生量との関係を調べ、基質が植物である場合にジオスミン産生量が高いと報告している。かび臭産生生物が何故かび臭を産生するのは明らかではない。また、かび臭発生の予測が困難であり、発生源が原因不明の場合も多い。現在、さらに検討を進めている。

Table 4. Content of geosmin in the cell matter and culture medium after 72h cultivation of *Myxococcus* strains. Cells were grown in the light or dark at 30°C with agitation.

		Geosmin content		
		$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ suspension		$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight
		in the culture medium	in the cells	
<i>M. stipitatus</i> S-0 ^a	Light	102	59	46
	Dark	97	55	38
<i>M. sp.</i> MY-10 ^a	Light	193	60	22
	Dark	184	96	48
<i>Myxococcus fulvus</i> ^b	Light	830	290	534
	Dark	583	373	190
<i>M. xanthus</i> ^b	Light	451	314	135
	Dark	395	159	185
<i>M. stipitatus</i> ^b	Light	42	1	22
	Dark	252	31	99

a : isolates. b : standard strains.

4. まとめ

湖沼から分離した粘液細菌10株は、電子顕微鏡による子実体の形態観察、GC含量、キノン分析、細胞内の糖およびアミノ酸組成、各種生理試験の結果から *Myxococcus* 属と同定した。これらの菌株は、ジオスミンを産生するが菌株により、また明暗などの培養条件によりその産生量が異なった。土壌由来のこの菌が水域においても、高濃度のジオスミンを産生し、湖沼の原因不明のかび臭発生の一要因となる可能性が高いことが推察される。

【引用文献】

- 1) Izaguirre, G., Hwang C. J., Krasner, S. W. and McGuire, M. J. : Geosmin and 2-methylisoborneol from cyanobacteria in three water supply systems, *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 708-714 (1982).
- 2) Jüttner, F. : Dynamics of the volatile organic substances associated with cyanobacteria and algae in a eutrophic shallow lake, *Appl. Environ. Microbiol.*, 47(4), 814-820 (1984).
- 3) 根来健、安藤政義、市川延繁：かび臭発生機構—藍藻類一、用水と廃水、26(8), 21-25 (1984).
- 4) Sugiura, N., Yagi, O. and Sudo R. : Musty odor from blue-green algae *Phormidium tenue* lake Kasumigaura, *Environ. Technol. Lett.*, 7(2), 77-86 (1986).
- 5) 八木正一：水道におけるかび臭障害の現状、用水と廃水、26(8), 3-11 (1984).
- 6) Gerber, N. N. : Volatile substances from Actinomycetes: their role in the odor pollution of water, *Wat. Sci. Tech.*, 115, 115-125 (1983).
- 7) Gerber, N. N. and Lechevalier H. A. : Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from Actinomycetes. *Appl. Microbiol.*, 13, 935-938 (1965).
- 8) 杉浦則夫：放線菌によるカビ臭物質の生成機構、用水と廃水、31(10) 45-51 (1989).
- 9) Whitmore, T. N. and Denny, S. : The effect of disinfectants on a geosmin-producing strain of *Streptomyces griseus*. *J. Appl. Bacteriol.*, 72(2), 160-165 (1992).
- 10) Yagi, O., Sugiura, N. and Sudo R. : Chemical and physical factors in the production of musty odor by *Streptomyces* spp. isolated from lake Kasumigaura, *Agric. Biol. Chem.*, 51(8), 2081-2088 (1987).
- 11) Izaguirre, G., Hwang, C. J., Krasner, S. W. and McGuire, M. J. : Production of 2-methylisoborneol by two benthic cyanobacteria, *Wat. Sci. Tech.*, 15, 211-220 (1983).
- 12) Schrader, K. K. and Blevins, W. T. : Geosmin-producing of *Streptomyces* and *Lyngbya* from aquaculture ponds, *Can. J. Microbiol.*, 39, 834-840 (1993).
- 13) Hayes, S. J., Hayes, K. P. and Robinson, B. S. : Geosmin as an odorous metabolite in culture of free-living amoeba, *Vannella* species (*Gymnamoebia*, *Vannellidae*), *J. Protozool.*, 38, 44-47 (1991).
- 14) Kikuchi, T., Kadota, S., Suehira, H., Nishi, A., Tsubaki, K., Yano, H. and Hariyama, K. : Odorous metabolites of fungi, *Chaetomium globosum* KINZE ex FR. and *Botrytis cinerea* PERS ex FR., and a blue-green algae, *Phormidium tenue* (MENEHINI) GOMONT, *Chem. Pharm. Bull.*, 31(2), 659-663 (1983).
- 15) Kikuchi, T., Kadota, S., Tanaka, K. and Nishi, A. : Odorous metabolites of an a cellular slime mold, *Physarum polycephalum* SCHW, and a basidiomycete, *Phallus impudicus* PERS, *Chem. Pharm. Bull.*, 32(2), 797-800 (1984).
- 16) Yamamoto, Y. and Suzuki, K. : Distribution and algal-lysing activity of fruiting myxobacteria in Lake Suwa, *J. Phycol.*, 26, 457-462 (1990).
- 17) Yamamoto, Y., Tanaka, K. and Komori, N. : Volatile compounds excreted by myxobacteria isolated from lake water sediments, *Jpn. J. Limnol.*, 55, 241-245 (1994).
- 18) Brockman, E. R. : Fruiting myxobacteria from the South Carolina coast, *J. Bacteriol.*, 94, 1253-1254 (1967).
- 19) Kohl, W. : The role of microorganisms in the decomposition of the substances contained in waste waters, *Schweiz. Z. Hydrol.*, 44 (2), 204-215 (1982).
- 20) Miklošovicova, L. and Tržilova, B. : Occurrence of myxobacteria in surface waters, *Biologia*, 34(12), 975-982 (1979).
- 21) Rückert, G. : Spectra of myxobacter species of soils dependent on soil forming factors with special regard of the soil reaction, *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.*, 142(3), 330-343 (1979).
- 22) Rückert, G. : Myxobacterales in microenvironments of the southwest German rhine meadow area, *Tuexenia*, 5, 455-459 (1985).
- 23) Jeffers, E. E. : Myxobacters of a freshwater lake and its environs. 1. New and modified culture media found useful in isolation and characterization of fresh water myxobacters, *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon*, 14, 115-136 (1964).
- 24) 山本鎔子：溶藻性微生物の種類と日本の湖沼・河川における分布、微生物生態雑、2(2), 77-88(1988).

- 25) Sudo, S. Z. and Dworkin, M. : Bacteriolytic enzymes produced by *Myxococcus xanthus*, J. Bacteriol., 110, 236-245 (1972).
- 26) Gnosspelius, G. : Purification and properties of an extracellular protease from *Myxococcus fulvus*, J. Bacteriol., 133, 17-25 (1978).
- 27) Arias, J. M., Rodriguez C. and Montoya E. : Purification and partial characterization of an antibiotic produced by *Myxococcus coralloides*, J. Antibiotic., 32(3), 205-211 (1978).
- 28) Rosenberg, E., Vaks, B. and Zuckerberg, A. : Bactericidal action of an antibiotic produced by *Myxococcus xanthus*, Antimicrob. Agents Chemother., 4(5), 507-513 (1973).
- 29) Shilo, M. : Lysis of blue-green algae by Myxobacter. J. Bacteriol., 104(1), 453-461 (1970).
- 30) 市村輝宜 : 培養液の種類と組成, p.294-296. "藻類研究法" 西沢一俊、千原光雄編、共立出版、東京 (1979)
- 31) 斉藤日向 : 細菌及びファージDNAの調整、蛋白質核酸 酵素, 11, 446-450 (1966)
- 32) Saito, H. and Miura, K. : Preparation of transforming deoxyribonucleic acid by phenol treatment, Biochim. Biophys. Acta, 72, 619-629 (1963).
- 33) 鈴木健一郎 : DNAの塩基組成 : p.151-160. 放線菌同定実験法 (日本放線菌研究会編) 日本放線菌研究会、東京 (1985)
- 34) 鈴木健一郎 : イソプレノイドキノン : p.131-139. 放線菌同定実験法 (日本放線菌研究会編) 日本放線菌研究会、東京 (1985)
- 35) Ochiai, M. : Determination of dissolved carbohydrates in natural water gas-liquid chromatography, J. Chromatogr. 94, 224-227 (1980).
- 36) 落合正宏、岡沢剛 : 多摩川下流域におけるアミノ酸態化合物、水処理技術, 27, 825-831 (1986)
- 37) 土屋俊夫 : 臨床材料より分離されるグラム陰性桿菌同定への手引き (GNRコード) 栄研 (1979)
- 38) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.3, 2144-2148 (1984).
- 39) Takaichi, S., Yazawa, H. and Yamamoto, Y. : Carotenoids of the fruiting gliding myxobacterium, *Myxococcus* sp. MY-18, isolated from lake sediment : accumulation of phytoene and keto-myxocoxanthin glucoside ester, Biosci. Biotech. Biochim., 59(3), 464-468 (1995).
- 40) JWWA : Analysis of 2-methylisoborneol and geosmin. p. 410-418. In Standard Methods for the Examination of Water. JWWA (in Japanese) (1993).
- 41) 山本鎔子 : 寒天重層法による湖沼中のラン藻溶解性微生物因子の測定、陸水学雑誌, 39, 9-14 (1978)
- 42) Mandel, M. and Leadbetter, E. R. : Deoxyribonucleic acid base composition of myxobacteria, J. Bacteriol., 90, 1795-1796 (1965).
- 43) Yamanaka, S., Kawaguchi, A. and Komagata, K. : Isolation and identification of myxobacteria from soils and plant materials, with special reference to DNA base composition, and with a description of a new species, *Myxococcus flavescens*. J. Gen. Appl. Microbiol., 33, 247-265 (1987).
- 44) Irschik H. and Reichenbach, H. : An unusual pattern of carbohydrate utilization in *Coralloccoccus* (*Myxococcus*) *coralloides* (Myxobacterales), Arch. Microbiol., 142, 40-44 (1985).
- 45) Wood, P. J. : Specificity in the interaction of direct dyes with polysaccharides, Carbohydr. Res. 85, 271-278 (1980).
- 46) Sutherland, I. W. and Thomson, S. : Composition of polysaccharides produced by *Myxococcus* strains, J. Gen. Microbiol., 89, 124-132 (1975).
- 47) Sutherland, I. W. : Polysaccharides produced by *Cystobacter*, *Archangium*, *Sorangium* and *Stigmatella* species, J. Gen. Microbiol., 111, 211-216 (1979).
- 48) Sutherland, I.W. and Smith, M. L. : The lipopolysaccharides of fruiting and non-fruiting myxobacteria, J. Gen. Microbiol., 74, 259-266 (1973).
- 49) Reichenbach, H. and Kleinig, H. : The carotenoids of *Myxococcus fulvus* (myxobacterales), Arch. Mikrobiol., 76, 364-380 (1971).
- 50) Burchard, R. P. and Dworkin, M. : Light induced lysis and carotenogenesis in *Myxococcus xanthus*. J. Bacteriol., 91, 535-545 (1966).
- 51) Lampky, J. R. and Brockman, E. R. : Fluorescence of *Myxococcus stipitatus*. Int. System. Bacteriol., 27, 161 (1977).
- 52) 杉浦則夫、飯島昭夫、照沼義廣、矢木修身、須藤隆一 : 霞ヶ浦から分離した放線菌の産生する臭気物質、用水と廃水, 21(12), 20-26 (1979).
- 53) 吉武和人、朝倉順子 : 放線菌 (*Streptomyces*) の生理活性とカビ臭の生成、用水と廃水, 28 (11), 10-15 (1986)
- 54) Bentley R. and Meganathan, R. : Geosmin and methylisoborneol biosynthesis in *Streptomyces*. Evidence for an isoprenoid pathway and its absence in non-differentiating isolates. FEBS Lett., 25, 220-222 (1981).
- 55) Gerber, N. N. : Volatile substances from actinomycetes: their role in the odor pollution of water. Wat. Sci. Tech. 115, 115-125 (1981).

- 56) 橋本徳蔵：カビ臭発生湖沼の栄養塩とプランクトン相、用水と廃水、28(5), 3-8 (1986).
- 57) Trzilova, B., Miklošovicova, L. and Golaisova, E. : Water quality of the Danube Tributaries in the Czechoslovakian territory from the limnological and hygienic standpoints. *Biologia.*, 36(9), 765-774 (1981).
- 58) Wood, S., Williams, T. and White, W. R. : Microbes as source of earthy flavours in potable water-a review, *Int. Biodeteriol. Bull.*,19, 83-97 (1983).
- 59) Wood, S., Williams, T. and White, W. R. : Potential sites of geosmin production by *Streptomyces* in and around reservoirs. *J. Appl. Bacteriol.*, 58, 319-326 (1985).

(受付 1997. 4. 11)

(受理 1997. 5. 29)