海 泥 の 菌 類 相

上 田 成 —*1

S. UEDA*1: Mycoflora in marine sludges

近年人口の都市集中化とともにこれに伴っておこる家庭・工場等からの廃棄物も増加の傾向にある。これらの廃棄物のうち有機物の量が少ない間は自然の自浄作用により分解され無機物化されていたが、次第にこれを上回るようになった過剰な有機物は河川や海の汚濁の原因となっている。わが国のように海岸線が複雑な地形では特に内湾において汚濁が進行している。海水の汚濁を知る化学的な方法としては COD, BOD が行なわれており生物学的な方法としてはプランクトン、バクテリア、ベントスがもちいられているが、菌類を扱った研究¹⁾は少ない。われわれは海泥の菌類フロアの調査を行い海の汚濁と菌類フロアとの関係について追求している²⁾。

試料はこれまでに長崎県下各地の海域および内湾より SK 式採泥器をもちいて採取した 187 点で主として表層土である。

1. 分 離 法

土壌より菌を分離する方法は数多く考案されているが³⁻⁵⁾、分離法の違いにより分離される菌にかなりの選択性が認められる。徳増⁶⁾は草原土壌を材料として土壌生糸状菌の分離法の検討を行い、選択性の高い分離法と希釈平板法や土壌平板法のような分離法を併用することにより広い範囲の菌群を得ることができると指摘しているが、われわれは実験を進めていく上で試行的に Table 1 に示すように 5 種類の分離法を行ったところ、Table 2 に示すように分離法により出現する菌にかなりの選択性が認められた。

子の菌類の中で A 法でよく分離される菌としては *Byssoschlamys*, *Eurotium*, *Hamigera*, *Mo-*

Table 1. 分 離 法 の 概 略

方 法	分 離 培 地	培養日数	前 処 理 の 手 法
A. アルコール・熱処理法	PDA	14~20	65%エタノール, 8分間処理後, 滅菌水洗滌, さらに60°・30分間加温処理
B. アルコール処理法	Weitzman and Silva-Hutner	14~20	65%エタノール, 5分間処理後, 滅菌水洗滌
C. 酢酸処理法	Weitzman and Silva-Hutner	10~14	5%酢酸, 10分間処理後, 滅菌水洗滌
D. 土 壌 平 板 法	CMA	14~30	平板中の試料に直接培地を加えて固める
E. 希 釈 平 板 法	MA	3~10	滅菌水を使用, 10 ² ~10 ³ に希釈

注) PDA=potato-dextrose agar, CMA=cornmeal agar (ローズベンガル 30 mg/L 添加), MA=malt extract agar, 各使用培地にはクロラムフェニコールを 100 mg/L 添加した。

*1 長崎県衛生公害研究所 (〒852 長崎市滑石1-9-5)
Nagasaki Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences (9-5, Nameshi 1-chome, Nagasaki 852)

nascus の諸属があり, D法では *Echinopodospora*, *Emericella*, *Emericellopsis*, *Microthecium*, *Sordaria*, *Sporormiella*, *Thielavia*, *Zopfiella* 属が分離され, A, D法共通して分離される菌は *Anixiella*, *Gelasinospora*, *Neurospora*, *Pseudeurotium* 属がある. *Chaetomium*, *Eupenicillium*, *Talaromyces* 属はすべての方法より分離可能であるが, *Chaetomium* 属はC, D法が *Eupenicillium* 属はA, B, C法が分離される菌の種類数も多くそれぞれ適していた. また, *Dichotomomyces* 属と *Neosartorya* 属はアルコール処理により分離されやすくなる.

不完全菌類では *Aspergillus*, *Penicillium* 属がどの分離法においてもよく出現したが, 出現種数の点からみるとE法がもっとも種類数が多く適していた. その他の一般的な不完全菌の分離にはD, E法が適していたが *Gilmaniella* 属のように熱処理すると分離されやすくなる菌も存在する.

接合菌類は *Mucor*, *Rhizopus*, *Zygorhynchus* の3属が分離されたが, これらの菌はアルコール・熱処理のような化学的・物理的处理を施すと分離率が低下することが認められた. B法およびC法で分離される菌はA法で分離される菌と共通しているものが多く, 分離法をできるだけ限定し, し

Table 2. 海泥の出現菌からみた各種分離法にの比較

分 離 法						分 離 法					
属	A	B	C	D	E	属	A	B	C	D	E
接 合 菌 類						不 完 全 菌 類					
<i>Mucor</i>			○	○	●	<i>Acremonium</i>				○	○
<i>Rhizopus</i>				○	○	<i>Alternaria</i>	○				○
<i>Zygorhynchus</i>				○		<i>Arthrimum</i>	○			○	○
子 の う 菌 類						<i>Aspergillus</i>	○	○	○	○	●
<i>Anixiella</i>	○			○		<i>Botrytis</i>					○
<i>Ascodesmis</i>		●			○	<i>Curvularia</i>	○				○
<i>Byssochlamys</i>	○					<i>Cladosporium</i>					○
<i>Chaetomium</i>	○	○	●	●	○	<i>Fusarium</i>	○			○	○
<i>Dichotomomyces</i>	○	○				<i>Geotrichum</i>					○
<i>Echinopodospora</i>				○		<i>Gilmaniella</i>	●		○		○
<i>Emericella</i>				○		<i>Gliocladium</i>				○	○
<i>Emericellopsis</i>				○		<i>Helminthosporium</i>					○
<i>Eupenicillium</i>	●	●	●	○	○	<i>Leptographium</i>					○
<i>Eurotium</i>	○					<i>Nigrospora</i>	○				○
<i>Gelasinospora</i>	○			○		<i>Paecilomyces</i>	○				○
<i>Hamigera</i>	○					<i>Penicillium</i>	○	○	○	○	●
<i>Microthecium</i>				○		<i>Pestalotia</i>	○		○		○
<i>Monascus</i>	○					<i>Phialophora</i>					○
<i>Neosartorya</i>	●	●	○			<i>Phoma</i>				○	○
<i>Neurospora</i>	○			○		<i>Scolecobasidium</i>					○
<i>Pseudeurotium</i>	○			○		<i>Scopulariopsis</i>				○	○
<i>Sordaria</i>				○		<i>Stachybotrys</i>	○			●	○
<i>Sporormiella</i>				○		<i>Trichocladium</i>	○				○
<i>Talaromyces</i>	●	○	●	○	○	<i>Trichoderma</i>				○	○
<i>Thielavia</i>				○		<i>Ulocladium</i>	○				○
<i>Westerdykella</i>		○	○	●							
<i>Zopfiella</i>				○							

注) A~E: Table 1 参照. ○: よく出現する ●: 高頻度に出現する

かも比較的広範囲の菌群を分離する目的のためには A, D, E の 3 種類を併用することが望ましいという結論を得た。

2. 菌 類 相

これまでの調査で分離された菌類の種類は Table 2 に示すように、接合菌類として *Mucor*, *Rhizopus*, *Zygorhynchus* の 3 属、子のう菌類として *Anixiella*, *Ascodesmis*, *Byssochlamys*, *Chaetomium*, *Dichotomomyces*, *Echinopodospora*, *Emericella*, *Emericellopsis*, *Eupenicillium*, *Eurotium*, *Gelasinospora*, *Hamigera*, *Microthecium*, *Monascus*, *Neosartorya*, *Neurospora*, *Pseudeurotium*, *Sordaria*, *Sporormiella*, *Talaromyces*, *Thielavia*, *Westerdykella*, *Zopfiella* の 23 属、不完全菌類として *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrimum*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gilmaniella*, *Gliocladium*, *Helminthosporium*, *Leptographium*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Phialophora*, *Phoma*, *Scolecobasidium*, *Scoptulariopsis*, *Stachybotrys*, *Trichocladium*, *Trichoderma*, *Ulocladium* の 25 属がそれぞれ出現している。分離菌の中で特に優先的に出現した属としては *Talaromyces*, *Eupenicillium*, *Neosartorya*, *Penicillium*, *Aspergillus* の諸属があげられる。

これらの内容を種のレベルでみると、*Talaromyces* 属では *T. flavus* var. *flavus*, *T. trachyspermus*, *T. helicus* var. *helicus*, *T. stipitatus*, *T. ucrainicus*, *T. flavus* var. *macrosporus* の 5 種 1 変種が分離されたが、*T. flavus* var. *flavus* と *T. trachyspermus* が優先種であった。

Neosartorya 属では *N. fischeri*, *N. fischeri* var. *glabra*, *N. quadricincta* の 2 種、1 変種が分離されたが、*N. fischeri* var. *glabra* が主要であった。

Eupenicillium 属では *E. javanicum*, *E. brefeldianum*, *E. limosum*, *E. shearii*, *E. ornatum*, *E. parvum* の 6 種が分離されたが *E. javanicum* が優先種であった。

Penicillium 属では *P. decumbens*, *P. digitatum*, *P. frequentans*, *P. funiculosum*, *P. ochrochloron*, *P. olivino-viride*, *P. oxalicum*, *P. paraherquei*, *P. piscarium*, *P. purpurogenum*, *P. tardum*, *P. thomii*, *P. velutinum*, *P. citrinum* (ser.), *P. cyclopium* (ser.), *P. funiculosum* (ser.), *P. garnulatum* (ser.), *P. janthinellum* (ser.), *P. purpurogenum* (ser.) の 13 種が分離されたが、なかでも *P. paraherquei*, *P. janthinellum* (ser.) の分離頻度が比較的高かった。*P. paraherquei* は最近ベルクロゲン生産菌として注目され、わが国でも高知県の空中よりベルクロゲン生産株が分離されているが⁷⁾、海泥からの分離 16 株の中にベルクロゲン生産株が認められた。また、Udagawa and Takada⁸⁾ はニューギニアの農産物より *P. paraherquei* を分離していることから、本菌の分布は熱帯圏から温帯圏の南部に及んでいることがうかがわれる。

Aspergillus 属では *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. niger*, *A. phoenicis*, *A. sydowii*, *A. terreus*, *A. ustus*, *A. flavus-oryzae* (group) の 9 種が分離されたが、*A. niger* が最優先種で、これについて *A. terreus*, *A. fumigatus* が多くみられた。その他の不完全菌では *Geotrichum* spp., *Trichoderma* spp. が高頻度に出現し、*Gilmaniella humicola*, *Paecilomyces variotii*, *Phoma* spp. も比較的多くみられた。

3. 菌 の 分 布

汚濁と菌の分布との関係についてみると、I: 汚濁地域にのみ出現する菌群、II: 非汚濁地域にのみ出現する菌群、III: 両方の地域に出現する菌群の 3 つに大別できる。

これまでの調査結果で分離頻度が高率な菌の中でⅠ群に属する菌は *Sordaria humana*, *Ascodesmis sphaerospora*, *A. nigricans* の3種があり、Ⅲ群には *Eupenicillium brefeldianum*, *E. javanicum*, *Talaromyces flavus* var. *flavus*, *T. trachyspermus*, *Neosartorya fischeri*, *N. fischeri* var. *glabra*, *Thielavia terricola*, *Geotrichum* spp., *Trichoderma* spp. が属する。

海泥より高頻度に分離される菌はほとんどⅢ群に属し、Ⅱ群に含まれる菌は現在のところ分離されてない。Ⅰ、Ⅲ群の中間型で汚濁が比較的進行すると出現してくる菌群もあり、*T. helicus* var. *helicus*, *Dichotomomyces cejpai* var. *spinosus*, *Paecilomyces variotii*, *Gilmaniella humicola* がこの部類に属する。

海の汚濁を生態的な菌類の動向を指標として判定するためには、Ⅰ群の菌をできるだけ数多くリストアップし、その分布を知ることであり、それによって汚濁の拡散状態が把握できるのではなかろうか。一方、細菌を指標として用いる環境調査には大腸菌群、腸球菌などいわゆる糞便に由来する菌に基づく方法が利用されているが、菌類においても *Sordaria*, *Ascodesmis* などの糞生菌を指標とする方法が有望と思われ、さらに調査を進めこの点を究明したい。

引用文献

- 1) Cooke, J. C., Lacourse, J. R.: Bull. Torrey Bot. Club, **102**, 1 (1975).
- 2) 上田成一: 長崎県衛生公害研報, **13**, 83 (1974).
- 3) Parkinson, D., Gray, T.R.G., Williams, S.T.: "Methods for Studying the Ecology of Soil Microorganisms (IBP Handbook No. 19)" (1971), Blackwell Sci., Oxford and Edingburgh.
- 4) Warcup, J. H., Baker, K. F.: Nature, Lond., **197**, 1317 (1963).
- 5) Barron, G.L.: "Methods in Microbiology, Vol. 4 (ed. Booth. C.)" p. 405 (1971), Academic Press, London and New York.
- 6) 徳増征二: 日菌報, **15**, 135 (1974).
- 7) 芳沢宅美, 諸岡信一, 宇田川俊一: マイコトキシン, **3/4**, 39 (1976).
- 8) Udagawa, S., Takada, M.: Bull. Natn. Sci. Mus. Tokyo, **16**, 317 (1973).