

2E12-2 異化型ヒ酸還元菌による汚染土壌からのヒ素可溶化に影響を及ぼす因子の検討

○山本 哲史, 山村 茂樹, 池 道彦, 藤田 正憲
(阪大院・工・環境)

【目的】近年,我が国を含め世界各地でヒ素による土壌汚染が顕在化し,深刻な問題となっている。現在行われている対策には,除去や封じ込めなどが挙げられるが,これらは高コストな上,処理後の安全性についても疑問視する声がある。こうした背景から本研究では,一般的に低コストでの処理が可能である生物学的処理に着目し,異化型ヒ酸還元菌を利用したヒ素汚染土壌浄化プロセスの開発を目指している。ここでは,ヒ素汚染土壌浄化のためのバイオリアクター構築に必要な知見を得るための基礎的検討として,異化型ヒ酸還元菌, *Bacillus* sp. SF-1 株による汚染土壌からのヒ素可溶化に影響を及ぼす因子の検討を行った。

【方法及び結果】人工的に作製したヒ素汚染土壌を含む培養液に SF-1 株を接種し,ヒ素可溶化試験を行った。SF-1 株の初期植種濃度を変化させて試験を行った場合には,全ての系のヒ素溶出量が同程度の値を示し,また硝酸を添加した際にもヒ素可溶化への阻害影響はみられなかった。このことから,リアクター構築の際に菌体を高濃度で植種する必要はなく,硝酸を含む汚染土壌に対して硝酸除去のための前処理を加えることがないことが明らかとなった。また攪拌速度を変化させて実験を行った場合には,その速度が速い程,実験中期(48-72h)におけるヒ素溶出量は高い値を示したが,実験終了時(120h)におけるヒ素溶出量は,攪拌系と非攪拌系でほぼ同程度であった。これにより連続的な攪拌を行うことは必ずしも必要ないことが示唆され,処理にかかるコストを低減できるものと考えられた。

Factors affecting arsenic dissolution from As-contaminated soil by a dissimilatory arsenate-reducing bacterium

○Norifumi YAMAMOTO, Shigeki YAMAMURA, Michihiko IKE, Masanori FUJITA
(Dept. Environ. Eng., Osaka Univ.)

Key words arsenate, arsenite, mobilization, reduction

2E13-4 スチレンアクリル樹脂を生分解できる複雑系微生物群の群集解析

○蚊谷 保崇¹, 岸本 憲明¹, 栗田 友規², 真木 崇晃², 藤田 藤樹夫¹
(¹近畿大院・応生化,²近畿大・農)

【目的】自然界で難分解性であるスチレンアクリル樹脂を生分解できる微生物のスクリーニングを行った。演者らはポリエステル樹脂を7日間でほぼ完全に生分解できる微生物群Aを確立し,A群培養液をPCR-DGGE解析したところ7本のバンドが検出された。さらに,形態の異なる3種類のコロニーを単離してDNA塩基配列の解析結果から同定を行った¹⁾。一方,スチレンアクリル樹脂を炭素源とした培地にA群を継代培養しても,3代(7日/代)以降継代できなかつた。培養液をジクロロメタン抽出し,TLC/FID分析したところ,新たな生成物を確認した。本研究ではスチレンアクリル樹脂を安定して分解できる新規微生物群のスクリーニングと群集解析,樹脂分解率を求めることを目的とした。

【方法及び結果】A群培養液から分解生成物を抽出し,抽出物を炭素源とした無機塩培地を用いて生分解菌群をスクリーニングした。7日間培養後,培養液が白濁した培地で6代継代培養後も安定した生育と分解を確認した。現在,微生物群Mによるスチレンアクリル樹脂の分解能力と微生物群AとMを用いた樹脂の完全分解について検討を行っている。確立した微生物群MをR2A平板培地に塗抹したところ,形態の異なる6種のコロニーが単離できた。また,PCR-DGGE解析で13本のDNAバンドが検出された。現在,単離株の同定とDNAバンドの帰属,スチレンアクリル樹脂の生分解率を検討している。

1) 蚊谷保崇ら,日本農芸化学会2004年度大会要旨集 p234

Community analysis of microbial community biodegrading styrene acrylic resin

○Yasutaka KADANI¹, Noriaki KISHIMOTO¹, Tomoki KURITA², Takaaki MAKI², Tokio FUJITA¹
(¹Grad. Sch. Appl. Life Chem. Kinki Univ., ²Fac. Agric. Kinki Univ.)

Key words biodegradation, microbial community, community analysis

2E12-3 土壌中におけるプラスミドの接合伝達に影響を及ぼす要因

○村重 勝士, 井上 大介, 清 和成, 池 道彦, 藤田 正憲
(阪大院・工・環境)

【目的】遺伝子組換え体を用いたBioaugmentationは迅速かつ有効な汚染環境の修復技術として期待されている一方,遺伝子組換え体が有する組換え遺伝子の土着微生物群への伝播により,高等生物への有害性の上昇や微生物生態系構造の攪乱を招く危険性がある。このため,環境浄化目的での遺伝子組換え体の利用を実現するためには,組換え遺伝子の挙動を詳細に把握し,安全性を確保することが重要である。組換え遺伝子では,主としてプラスミドがベクターとして利用されていることから,特に,組換えプラスミドの挙動に関する知見の集積が求められる。そこで本研究では,プラスミドの環境中での主な伝播メカニズムである接合伝達に着目し,土壌中におけるプラスミドの接合伝達に影響を及ぼす要因について検討を行った。

【方法および結果】IncPαに属する広宿主域プラスミドRP4をモデルプラスミドとして用い, *Escherichia coli* C600から数種類の土壌細菌に対して, LB培地, 土壌, および土壌有機物抽出液中において接合伝達試験を行った。結果,系統学的に多様な土壌細菌が接合伝達のrecipientとして機能することが明らかとなったが,土壌中においてはrecipientに依らず,接合伝達頻度が低下する傾向が認められた。数種類の土壌およびその有機物抽出液を用いた試験結果から,土壌中における接合伝達頻度の低下は土壌の物理的特性に由来する接触機会の低下と土壌中での低い栄養利用性に起因している可能性が示された。

Factors affecting to conjugative plasmid transfer in soil.

○Katsushi MURASHIGE, Daisuke INOUE, Kazunari SEI, Michihiko IKE, Masanori FUJITA
(Dept. Environ. Eng., Osaka Univ.)

Key words bioaugmentation, bio risk, conjugative plasmid transfer, soil

2E13-5 複合微生物系を用いた難分解性農薬の分解における環境因子の影響

○杉本 詠子, PATTANASUPONG Anchana, 栗原 大輔, 永瀬 裕康, 平田 収正, 宮本 和久
(阪大院・薬)

【目的】環境水中の残留農薬の中で,半減期が長く,環境ホルモン様作用により生物に及ぼす影響が危惧されているものに,2,4-D, carbendazimがある。これらの農薬は,雑草や病原菌を駆除するために用いられており,水田が主要な排出源の一つであると考えられる。我々は,これら2種類の農薬の分解能を持つ複合微生物系を集積培養により獲得した。今回は環境因子がこれらの農薬の分解に及ぼす影響について検討を行った。

【方法及び結果】これまでの研究により,この複合微生物系を担体へ固定化することにより分解能が向上することがわかった。そこで,最も適した担体としてヘチマ繊維を選択した。まず,基礎的検討として, DGGE法による微生物群集構造の解析を行ったところ,この複合微生物系の中には約20種類の微生物が存在していることがわかった。次に,温度や pH, リン濃度, 窒素濃度等の水田流出水の環境因子を変化させて農薬分解能を調べたところ,稲作が行われる温度, pH の範囲では良好に分解されることがわかった。しかし,低リン濃度では分解能は低下した。これらの結果を基に,実際の応用に向けての本複合微生物系の有用性と問題点を検討した。

Effect of environmental factors on degradation of persistent pesticides by microbial consortium

○Eiko SUGIMOTO, Anchana PATTANASUPONG, Daisuke KURIHARA, Hiroyasu NAGASE, Kazumasa HIRATA, Kazuhisa MIYAMOTO
(Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.)

Key words bioremediation, carbendazim, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, microbial consortium