

**3P-137 シアン分解能を有する *Pedobacter* 属細菌の単離と解析**

○寺田 彩音<sup>1</sup>, 小松 大祐<sup>2</sup>, 西村 実<sup>2</sup>, 養王田 正文<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>農工大院・工, <sup>2</sup>株式会社アイ・エス・ソリューション)  
 yohda@cc.tuat.ac.jp

【諸言】工場等から環境中に排出されるシアン化合物(以下シアン)は、細胞内呼吸阻害を引き起こす毒性の高い物質であり、土壌・地下水汚染の原因となっている。シアンで汚染された土壌の浄化法の1つとして、微生物の生分解能を利用したバイオレメディエーションが挙げられる。特に、分解能を有する微生物を外部で培養し、汚染サイトに投入するバイオオーグメンテーション法は、確実な浄化が期待されている。そこで、本研究ではバイオオーグメンテーション法に有用なシアン分解菌を獲得することを目的とした。微生物によるシアン分解が確認されたシアン汚染地下水を対象とし、16S rRNA 及びシアン分解酵素遺伝子の解析によりシアン分解菌を同定した。更に、シアン分解菌の単離培養を試みた。

【実験方法及び結果】微生物によるシアン分解が確認されたシアン汚染地下水からゲノム DNA を精製し、16S rRNA 遺伝子を PCR で増幅してシーケンス解析を行った。その結果、地下水中にはシアン加水分解酵素であるニトリラーゼを所有する *Pedobacter heparinus* strain DSM 2366 と 97% の相同性を有する微生物の存在が確認された。さらに、汚染地下水から精製したゲノム DNA より *Pedobacter* 属細菌由来のニトリラーゼ遺伝子が PCR で増幅された。そこで、*Pedobacter* 属細菌が地下水中のシアン分解を担っていると考え、16S rRNA 遺伝子及びニトリラーゼ遺伝子を指標に、ニトリラーゼを有する *Pedobacter* 属細菌を単離した。この菌体溶液にシアン化カリウムを加えると、シアン分解が確認された。

**Isolation and characterization of *Pedobacter* sp. which is capable of degrading cyanide**

○Ayane Terada<sup>1</sup>, Daisuke Komatsu<sup>2</sup>, Minoru Nishimura<sup>2</sup>, Masafumi Yohda<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>Grad. Sch. Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2</sup>In Situ Solution)

**Key words** bioremediation, cyanide, *Pedobacter*, Nitrilase

**3P-138 消石灰散布の殺菌効果と土壌微生物への影響評価**

○南 純一<sup>1</sup>, 中谷 剛<sup>1</sup>, 坂上 吉一<sup>1</sup>, 森 美穂<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>近畿大院・農, <sup>2</sup>近畿大・農)  
 geranan6@gmail.com

**【背景と目的】**

消石灰は家畜伝染病が発生した際、家畜伝染病予防法に従い畜舎やその周辺の環境中へ大量に散布される。しかし、散布実績がある一方、野外における消石灰散布の殺菌効果を評価した例は非常に少なく、明確な散布方法や上限値は示されてこなかった。さらに、これまで消毒による消石灰散布が環境中に与える影響を詳細に調査した研究例は存在しない。本研究では野外環境を想定した実験系にて消石灰の殺菌効果と土壌微生物群への影響を評価した。また消石灰同様、消毒時に大量散布される市販消毒剤に対しても評価を行ない消石灰と比較検討した。

**【方法及び結果】**

採取した土壌を滅菌ガラス瓶に加え、消石灰 (0~1000 g/m<sup>2</sup>) あるいは市販消毒剤 3 種の散布を行なった。その上から届出伝染病であるサルモネラ症を想定し、*Salmonella* Typhimurium を均一に接種した。リン酸緩衝液で中和希釈後、ES サルモネラ寒天培地 II に塗抹し、培地上に現れた黒色コロニー数を計測し殺菌効果を算出した。消石灰は散水量によって殺菌・持続効果が向上し、市販消毒剤の中ではタナベゾールのみが殺菌効果を示した。次に、土壌微生物に与える影響は先述と同様の手順で希釈した後、LB あるいはクロラムフェニコール含有 PDA 寒天培地に塗抹して現れたコロニー数から評価した。両培地ともに消石灰の散布量・散水による変化は見られなかったが、タナベゾールでは菌数の増加と明らかに菌叢変化がみられた。現在、DGGE により菌叢変化の解析を進めている。

**The bactericidal effect against pathogenic microbe and the influence on the soil microbe by sprinkling slaked lime**

○Junichi Minami<sup>1</sup>, Tsuyoshi Nakaya<sup>1</sup>, Yoshikazu Sakagami<sup>1</sup>, Miho Yoshikazu<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>Grad. Sch. Agric. Kinki Univ., <sup>2</sup>Fac. Agric., Kinki Univ.)

**Key words** slaked lime, DGGE

**3P-139 ステビア農業資材の除塩及び除塩に繋がる Cs<sup>+</sup>及び Na<sup>+</sup>存在下での高濃度 K<sup>+</sup>の挙動**

○岡本 啓湖<sup>1</sup>, 小林 和樹<sup>1</sup>, 牧 毅郎<sup>1</sup>, 山田 直隆<sup>2</sup>, 山川 武夫<sup>2</sup>  
 (<sup>1</sup>別大・食栄・発食, <sup>2</sup>九大院・農)  
 kokamoto@nm.beppu-u.ac.jp

【目的】宮城県石巻市蛇田地区の塩害水田に甘味料ステビアの原料である *Stevia rebaudiana* Bertoni の茎を利用したステビア農業資材を施用した結果、水稲の生育を確認した。またこれら施肥による南相馬市での放射性 Cs 汚染地区での線量減少が認められた。本研究はステビア農業資材の除塩及び除塩のメカニズム解明を前提とし、ステビア熱水抽出液に高濃度で含まれる K<sup>+</sup>、Cs<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>存在下での挙動について検討した。【方法及び結果】ステビア熱水抽出液発酵液の K<sup>+</sup>の特性は活性炭カラムクロマトグラフにより全量回収され (CF①)、CF①には L-乳酸が 21.41%±1.64% 含まれていた。CF①5ml に K 濃度の n 倍の CsCl を添加し攪拌し、透析膜にて室温で純水 450ml に対して 1 日間透析した後、AA-6200 型島津原子吸光分光光度計で K 濃度を測定した。その結果、1mmolCsCl により透析膜外の K 量は 0.3613mmol 増加することが明らかになり、Cs<sup>+</sup>が透析膜内の K<sup>+</sup>の膜外への移動速度を高めることが示唆された。この理由として、K<sup>+</sup>と対をなす陰イオンが Cs<sup>+</sup>によりトラップされたため、K<sup>+</sup>がフリーになり、透析膜外への移動が早まったと考えられる。またこの現象は Na<sup>+</sup>に対しても確認され、添加 Na の透析膜外 K に対するモル比は添加 Cs の透析膜外 K に対するモル比の 2.25 倍と高く、Cs<sup>+</sup>よりも Na<sup>+</sup>存在下での K<sup>+</sup>の移動速度が高まることが判明した。(本研究は平成 25 年度第 1 回ハイリスク挑戦タイプ委託研究費により行った)

**The movement of the high concentrated K<sup>+</sup> in the agricultural material made of *Stevia rebaudiana* Bertoni under the existence of Cs<sup>+</sup> or Na<sup>+</sup> connected to radioactive (Cs) decontamination and salt removal.**

○Keiko Okamoto<sup>1</sup>, Kazuki Kobayashi<sup>1</sup>, Takerou Maki<sup>1</sup>, Naotaka Yamada<sup>2</sup>, Takeo Yamakawa<sup>2</sup>  
 (<sup>1</sup>Food Nutri. Beppu Univ., <sup>2</sup>Fac. Agric., Kyushu Univ.)

**Key words** high concentrated K<sup>+</sup>, *Stevia rebaudiana* Bertoni

**3P-140 バイオマスを用いた石油分解菌 *Rhodococcus erythropolis* NDKK6 の生育**

○川村 瑞穂, Adhikari Dinesh, 向 真樹, 荒木 希和子, 久保 幹  
 (立命館大・生命科学)  
 kubo@sk.ritsumeiji.ac.jp

【背景と目的】*Rhodococcus erythropolis* NDKK6 は、石油中の難分解性の長鎖シクロアルカンを唯一の炭素源として生育可能な石油分解菌である。*R. erythropolis* NDKK6 を用いた石油のバイオレメディエーションでは、無機塩を用いて土壌調整を行った時、投入した石油分解菌は始めの 7 日間は増加を示すものの、約 40 日間でほとんどが死滅する。このように石油分解菌の汚染土壌への定着期間は短く、汚染浄化のためには石油分解菌の定着期間の長期化が必要となる。無機塩に代わってバイオマスを投入したところ、菌数の保持時間が延長した。しかし、投入するバイオマスの種類による石油分解菌の保持時間の差異については調査されていない。そこで、石油分解菌と相性の良いバイオマスを探索し、これをバイオレメディエーションに用いることでさらに菌数の保持時間を延長できると考えた。本研究では、種類の異なるバイオマス中での石油分解菌の生育状況を調べることを目的とした。

【方法及び結果】滅菌したバイオマスを混合し、種類の異なるバイオマス(C/N 比の異なる牛糞・鶏糞、C/N 比の異なる牛糞・大豆かす)を作製した。これに石油分解菌の *R. erythropolis* NDKK6 (1×10<sup>6</sup> cells/g-biomass) を加え、含水率を 45% に合わせ、30℃ で 4 週間培養した。総細菌数と NDKK6 株数の定量を毎週行なった。総細菌数は eDNA 法(総細菌数解析法)によって定量し、NDKK6 株数は *alkB R2* Real Time PCR によって定量した。その結果、総細菌数及び NDKK6 株数は、同じ C/N 比でもバイオマスの種類によって大きな違いが見られた。

**Growth of hydrocarbon degrading bacteria *Rhodococcus erythropolis* NDKK6 in organic materials**

○Mizuho Kawamura, Dinesh Adhikari, Masaki Mukai, Kiwako Araki, Motoki Kubo  
 (Coll. Life Sci., Ritsumeikan Univ.)

**Key words** hydrocarbon degrading bacteria, number of bacteria, biomass, C/N ratio