

II-133

水域および土壌からのヒ素耐性細菌 の分離と耐性機構に関する研究

東北学院大学工学部 学生員○相沢 直洋
同 上 学生員 笹本 健
同 上 正会員 遠藤 銀朗

1. 序論

重金属による環境汚染の代表的原因物質であるヒ素化合物を除去する処理方法として、ヒ素耐性微生物による方法がある。しかし、このような研究は余りなされておらず、この方面の研究を進めることで経済的にも効果的な新しい技術の開発が可能であると考えられる。

本研究では、砒素によって汚染されたと考えられる環境試料を用いてヒ素耐性微生物の純粋分離を試みたとともに、各温度やヒ素濃度の違いによる増殖特性を調べた。また、プラスミドの有無について検討したとともに汚染環境からの砒素の除去技術を開発するための基礎研究として、微生物生体蓄積実験やイオン交換樹脂によるヒ素の吸着実験を行った。

2. 実験方法

畑土壌および湖沼底泥から採取したサンプルから純粋分離を行い、得られた5種類の微生物による温度とヒ素濃度の各種条件における増殖特性を濁度法により調べた。また、ヒ素耐性をつかさどるプラスミドの抽出をアルカリ法により行い、その後電気泳動法によりプラスミドの有無を写真により確認した。次にヒ素耐性微生物による生体蓄積実験をバッチ培養で行い一定時間ごと抽出しION CROMATOGRAPHにより濃度変化を調べた。最後に、各種条件で作成したヒ素溶液と修正LB培地にイオン交換樹脂を入れて、一定時間ごとに吸着したヒ素の濃度をION CROMATOGRAPHにより調べた。

3. 実験結果

純粋分離培養の結果、畑土壌から2種類、湖沼底泥から3種類、鉱山廃水からは2種類分離できた。代表的な微生物の性状を図-1に示す。増殖特性については、図-2、図-3に温度による増殖特性の例を示したように40℃を越えるといずれの微生物も増殖しなくなるが、図-4のように10℃のような低温でも増殖可能であることが知られた。図-5、図-6に示したようにヒ素濃度が100mMのような高濃度でもこれらの微生物増殖ができ、ヒ素に対して高濃度に耐性であることが知られた。プラスミドの有無については、アルカリ法ではプラスミドの存在が確認できなかった。これらの微生物をヒ酸を含む修正LB培地で培養した場合には、ヒ酸を亜ヒ酸に還元することが知られた。イオン交換樹脂による吸着実験では、樹脂量が少なすぎたため正確な吸着量を知ることはできなかった。

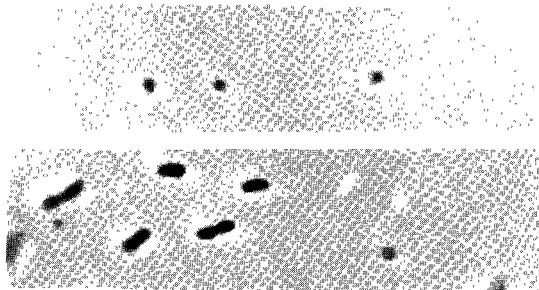


図-1 微生物の性状
(上：球菌 下：桿菌)

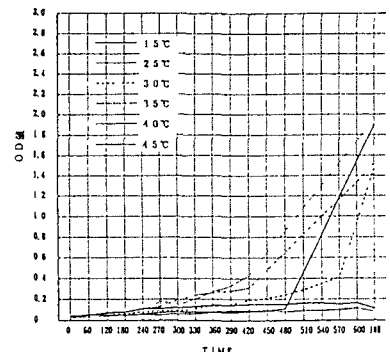


図-2 K.W株 温度耐性実験結果

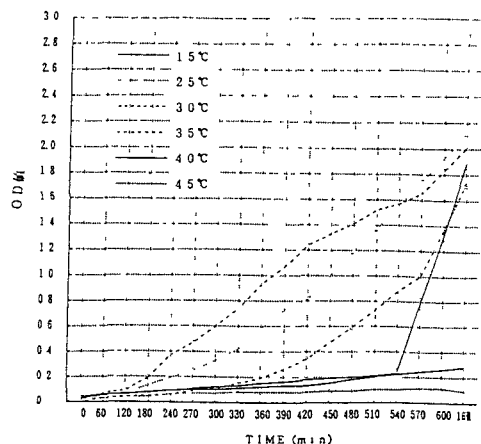


図-3 四W株 温度耐性実験結果

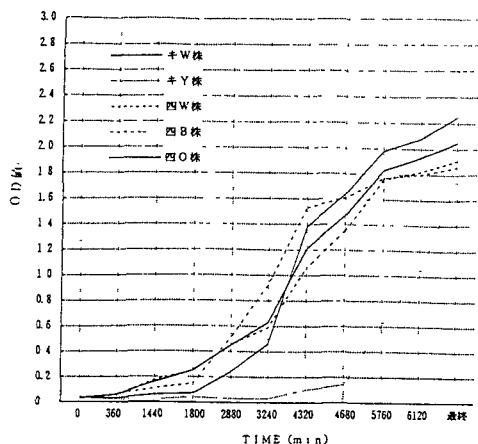


図-4 10℃温度耐性実験結果

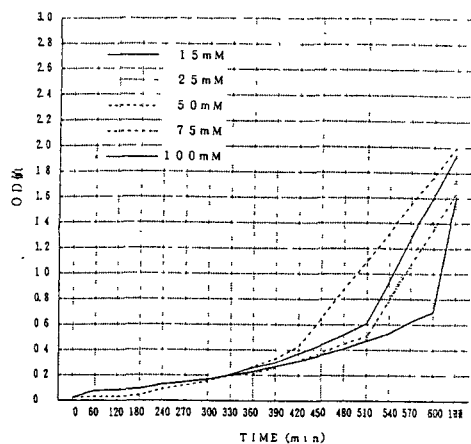


図-5 キW株 濃度耐性実験結果

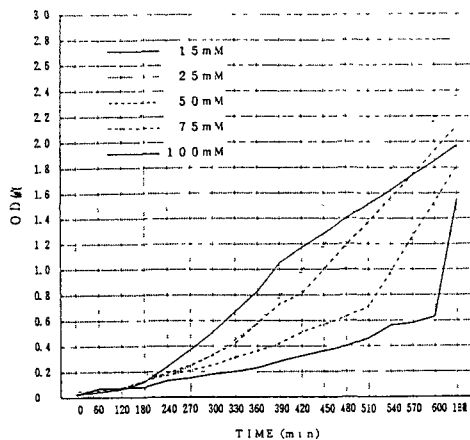


図-6 四W株 濃度耐性実験結果

4. 結論

- (1) これらのうち5株は従属栄養細菌、2株は独立栄養細菌であった。形態的には、球菌と短桿菌の2種であった。
- (2) 分離できた従属栄養細菌は、10℃の低温でも増殖可能であるが40℃以上では増殖しなかった。また、これらの細菌は100 mMのヒ素存在下でも増殖できるほど、ヒ素に対する耐性が高いものであった。
- (3) ヒ素耐性に関する遺伝子をコードすると考えられるプラスミドを検索したが、本研究で用いた細菌および方法では確認できなかった。
- (4) 分離できた従属栄養細菌は、ヒ酸を亜ヒ酸に還元する能力を持つことが知られた。
- (5) イオン交換樹脂を用いて有機物とヒ素を同時に含む廃液からヒ素を吸着除去する場合には、有機物がヒ素除去を阻害することが考えられ、ヒ素耐性微生物による有機物の分解処理との組み合わせる方法が提案される。