

ヒ素高蓄積植物水耕栽培による亜ヒ酸含有水の浄化と水耕系に生育する細菌に関する研究

東北学院大学 工学部 学生会員 小林紘太
同上 非会員 黄 毅
同上 正会員 宮内啓介
同上 フェロー会員 遠藤銀朗

1. 序論

ヒ素による土壤汚染および地下水汚染が、世界で深刻な環境問題となっている。特に、東南アジアや南アジアでは、地下水のヒ素汚染による健康被害が懸念されている。これらの主なヒ素汚染源はヒマラヤ山脈等から流れ出る地下水にヒ素が含まれているためと考えられており、早急に地下水等のヒ素の浄化が必要とされている。本研究では、ヒ素高蓄積植物であるモエジマシダの水耕栽培システムを用いてヒ素汚染地下水からヒ素を除去するために、地下水中に高濃度で含まれる亜ヒ酸イオンをモエジマシダが吸収可能なヒ酸イオンに酸化する細菌の活性を調べた。また、亜ヒ酸のヒ酸への酸化が進行している水中に生息する細菌の生態系を16S rRNA遺伝子によって解析し、亜ヒ酸酸化に関与する細菌群について調べた。

2. 実験方法

2-1 モエジマシダ水耕系による亜ヒ酸酸化要因の同定

精製水 5 Lを入れたタンク 3つ用意し、そのうち2つに亜ヒ酸 500 ppb 加え、モエジマシダ 6 株を水耕栽培して以下のサンプルに分けた。

- I. 精製水+亜ヒ酸 500 ppb、モエジマシダ無し（ブランクテスト用）
- II. 精製水+亜ヒ酸 500 ppb、モエジマシダ有り
- III. 精製水、モエジマシダ有り

28 日間に亘って、I と II の溶液サンプル 5 mL を採取し、ヒ素分離カラムを用いて亜ヒ酸 As (III) を分取した。この溶液サンプルと分取前の溶液サンプルを ICP-MS を用いて、全ヒ素濃度及び亜ヒ酸濃度を分析した。

また、28 日後の溶液を 0.2 μm フィルターでろ過し、ろ過後のフィルターを 1 L の精製水に亜ヒ酸 400 ppb 添加した溶液に入れ、10 日間 2-1 と同じ方法でヒ素濃度を分析した。

2-2 モエジマシダ水耕系の細菌群集の 16S rRNA 遺伝子による解析と同定

2-1 の II および III のモエジマシダの根サンプルを 0 日目、14 日目、28 日目で採取する。根サンプルそれぞれ、ジルコニウムビーズを用いて破碎した。軽く遠心した後に、原液上清みを採取し、16S rRNA 遺伝子を PCR 法で増幅した。その後、DNA の Ligation を行い、大腸菌のコンピテントセルを用いたクローニングを行った。次に、コロニー PCR と DNA シークエンシングのための PCR を行い、ダイレクトシークエンシングによって塩基配列を決定し、相同性検索をして、細菌の同定を行った。

3. 実験結果

3-1 モエジマシダ水耕系における亜ヒ酸酸化要因の同定結果

2-1 の I のブランクテストでは、28 日間に亘って亜ヒ酸が酸化されず全ヒ素濃度に変化は無かった。

図 1 に示した 2-1 の II の実験の 28 日間のヒ素濃度の変化から、水溶液中の亜ヒ酸が約 7 日目以降急速に酸化されるとともに、モエジマシダによって全ヒ素濃度が緩やかに減少したことが分かった。

キーワード：亜ヒ酸 地下水 モエジマシダ 根圏 細菌相

連絡先：〒985-8537 宮城県多賀城市中央 1-13-1 東北学院大学工学部 遠藤銀朗研究室
TEL：022-368-7445 FAX：022-368-7070

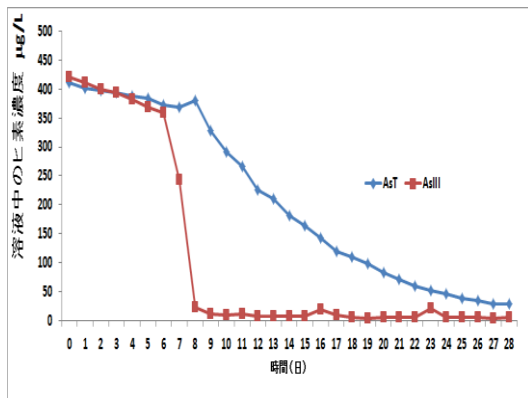


図1 モエジマシダ水耕栽培における全ヒ素濃度及び亜ヒ酸濃度の変化

次に、28日経過した水耕栽培液をろ過して集菌したフィルターを1 Lの精製水に入れ、亜ヒ酸 400 ppb 添加した溶液のヒ素濃度を分析したところ、ほぼ全ての亜ヒ酸がヒ酸に酸化されていた。

3-2 モエジマシダ水耕系での細菌群集の 16S rRNA 遺伝子解析による同定結果

図2に28日間における2-1のIIの実験の細菌相の変化を示した。従来の研究で知られている亜ヒ酸酸化酵素を有することが報告されている細菌に下線を引いた。この結果から亜ヒ酸酸化酵素を有する細菌が生育していると推定された。

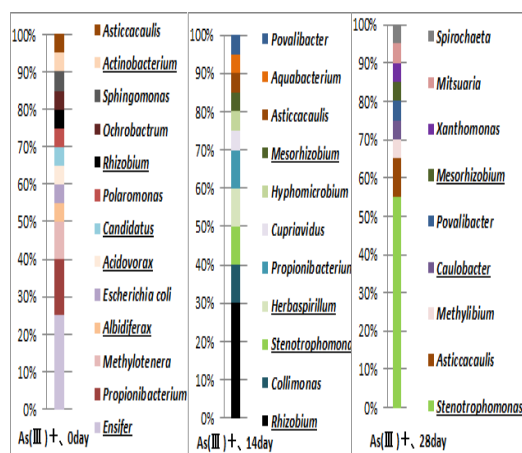


図2 実験 2-1 における 28 日間の細菌相の変化

図3に2-1のIIIの実験の28日間における細菌相の変化を示した。この結果から、特に *Stenotrophomonas* 属の割合が増加していることが分かった。

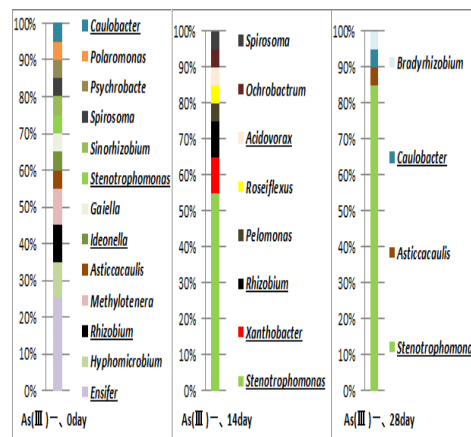


図3 実験 2-1 のIIIにおける、28 日間の細菌相の変化

4. まとめ

本研究により水耕栽培系では亜ヒ酸イオンの存在に関わらず *Stenotrophomonas* 属の細菌が時間の経過とともに優勢種として増殖することが知られた。この属の他にも *Rhizobium* 属、*Caulobacter* 属、*Asticcacaulis* 属、*Herbaspirillum* 属及び *Mesorhizobium* 属などの細菌が生育していたが、これらのうち従来の研究により亜ヒ酸酸化酵素 AioA を有する事が報告されている *Stenotrophomonas* 属、*Rhizobium* 属、*Herbaspirillum* 属及び *Mesorhizobium* 属の細菌がモエジマシダ水耕系で亜ヒ酸をヒ酸に酸化しているものと考えられた。これらの亜ヒ酸酸化細菌と高いヒ酸吸収能を持つモエジマシダとの協働作業により、地下水などの亜ヒ酸を含む水からヒ素を効果的に除去することが可能と考えられる。