

# ヒ素高蓄積植物モエジマシダの水耕栽培における植物根圏に存在する細菌群集の解析

東北学院大学 工学部 学生会員 佐藤 優太  
東北学院大学 工学部 非会員 平間 知之  
東北学院大学 工学部 正会員 宮内啓介  
東北学院大学 工学部 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土粒子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。<sup>1)</sup> 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は、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微生物が存在することが知られている。<sup>2)</sup> 本研究では、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群集を16S rRNA遺伝子によって解析し、亜ヒ酸酸化に関与する細菌を含む微生物群集について調べた。

## 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

モエジマシダ水耕栽培を以下の3つの実験区に分けていった。

実験区Ⅰ. 精製水+亜ヒ酸 2000 ppb、モエジマシダ無し

実験区Ⅱ. 精製水+亜ヒ酸 2000 ppb、モエジマシダ有り

実験区Ⅲ. 精製水、モエジマシダ有り

(左より実験区Ⅲ、実験区Ⅰ、実験区Ⅱ)



写真1 モエジマシダ水耕栽培実験区

51日間、実験区ⅠとⅡの溶液サンプルを採取し、全ヒ素濃度及び亜ヒ酸濃度を分析した。

### 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の実験区ⅡおよびⅢのモエジマシダ根サンプルを3日に1度採る。細菌細胞を含む植物根をジルコニウムビーズを用いて破碎し、得られた上清に含まれる16S rRNA遺伝子をPCR法で増幅した。得られたPCR産物とクローニングベクタープラスミドとのLigationを行い、大腸菌のコンピテントセルを用い、クローニングした。その後、得られたクローン大腸菌のコロニーPCRとDNAシーケンシングのためのPCRを行った。ダイレクトシーケンシングによって塩基配列を決定し、検索ソフトウェアBLASTによって相同性検索を行い、細菌の同定を行った。使用したPCRプライマーは下記の通りである。

- 799F 5' - AACMGGATTAGATACCCCKG-3'
- 1492R 5' - GGCTACCTTGTTACGACTT-3'

(PCR条件)

94°C	2分	} × 30cycle
94°C	30秒	
55°C	30秒	
72°C	42秒	
72°C	42秒	
4°C	∞	

## 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に記載した実験区Ⅰでは、51日間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に記載した実験区Ⅱにおける51日間のヒ素濃度の変化を図1に示した。この結果から、水溶液中の亜ヒ酸が約12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：ヒ素汚染、ファイトレメディエーション、亜ヒ酸酸化細菌、16S rRNA 遺伝子、細菌種同定、群集細菌

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：022-368-7493 FAX：022-368-7070

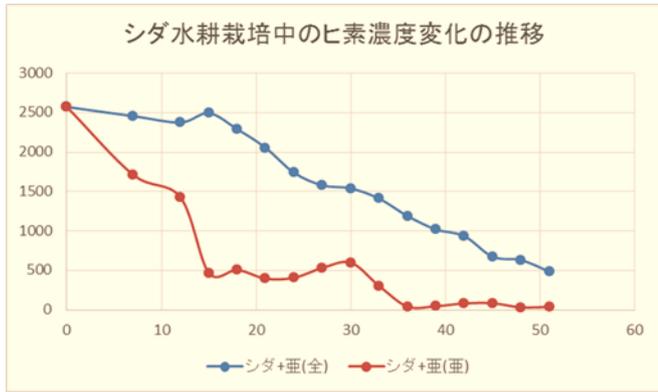


図1 モエジマシダ水耕栽培における全ヒ素濃度及び亜ヒ酸濃度の変化

### 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

51 日間における 2-1 の実験区 II の細菌相の変化から、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。このヒ素酸化過程において出現した細菌を 16S rRNA 遺伝子によって同定した結果を表 1 に示す。

表 1 16S rRNA 遺伝子により同定した細菌株

同定細菌名	相 同 性 (%)	検出できた クローン数
<i>Herbaspirillum</i> sp.	99	7
<i>Curvibacter</i> sp.	97	1
<i>Beta proteobacterium</i>	98	1
<i>Aquincola tertiaricarbonis</i> strain	99	1
<i>Salmon.salar</i> <i>microsatellite DNA</i>	92	1
<i>Adiantum pedatum</i> mitochondrial SSU rRNA gene	96	1

### 4.まとめ

本研究により、水耕栽培液中に生息する細菌のうちいずれかが亜ヒ酸をヒ酸に酸化し、モエジマシダがヒ酸を根から吸収し、栽培液中のヒ素を除去していることが分かった。亜ヒ酸酸化細菌と高いヒ酸吸収能力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。

今回の実験での水耕栽培したモエジマシダ根圏に存在していたのは、主に *Herbaspirillum* 属が多く存在していることが分かった。

### 参考文献

- 1) 河野 匡、黄 毅、宮内啓介、遠藤銀朗：ヒ素高蓄積植物モエジマシダによる高濃度ヒ素汚染水浄化プロセスの開発に関する研究、平成 26 年度土木学会東北支部技術研究会
- 2) 黄 毅、小林紘太、平間知之、宮内啓介、遠藤銀朗：ヒ素高蓄積植物水耕栽培によるヒ素汚染水浄化における根圏亜ヒ酸酸化微生物の解析、環境バイオテクノロジー学会 2015 年度大会