

ヒ素高蓄積植物根圏の細菌相の解析と植物によるヒ素蓄積機構 に関する研究

簡 梅芳・宮内 啓介・遠藤 銀朗

東北学院大学工学部

〒985-8537 宮城県多賀城市中央 1-1 3-1

E-mail: gendo@tjcc.tohoku-gakuin.ac.jp

ヒ素による土壤汚染の浄化には、植物を用いるファイトエクストラクションが効果的と考えられる。ヒ素の高蓄積植物として知られているモエジマシダ (*Pteris vittata*) はヒ素土壤汚染の浄化に適用可能な植物の一つである。土壤中のヒ素はヒ酸イオン (As(V)) としてモエジマシダに吸収されることが知られているが、土壤中でのヒ素酸化への微生物の寄与とその効果はまだ明らかにされていない。我々は、効率的なヒ素汚染除去システムとして、モエジマシダとヒ素酸化微生物の共同作用による高効率ヒ素ファイトエクストラクション系の構築を目的として研究を進めている。

1. はじめに

ヒ素は生体に対しては急性および慢性毒性を有し、近年では土壌および水域のヒ素汚染問題によって 4 千万人以上に及ぶ健康被害が懸念されている[1]。日本では、2011 年 3 月 11 日に発生した「東北地方太平洋沖地震」により、ヒ素を含む鉱滓堆積場の崩落やヒ素を含む津波堆積物によって、広域的な土壌中のヒ素高濃度化が確認された。このようなヒ素による土壌汚染の浄化には、植物を用いるファイトエクストラクションが効果的と考えられる。特に、ヒ素の高蓄積植物として知られているモエジマシダ (*Pteris vittata*) は栽培方法が確立されていることから、直ちに適用可能な植物の一つである[2]。これまでの研究によって、土壌中のヒ素はヒ酸 As(V)としてモエジマシダに吸収されることが知られている[3]。しかし、土壌中のヒ素形態の変換が植物自身によってなされるのか、それとも土壌根圏の微生物によってなされるのかは知られていない。本研究は、ヒ素高蓄積植物であるモエジマシダを用いたヒ素のファイトエクストラクション法による浄化技術に着目し、それによるヒ素吸収・蓄積における微生物の関与の度合いを明らかにすることを目的として行った。シダの栽培実験系を用いて、モエジマシダによるヒ素蓄積の特徴を明らかにするとともに、このヒ素高蓄積に対する微生物関与の可能性について検討を行った結果を紹介する。

2. 実験方法

栽培土は滅菌して使用した。亜ヒ酸をヒ素汚染源として、1 ポット当たりのヒ素含量が 1260 μg となるように添加し、シダ栽培の有無および微生物添加の有無による土壌中ヒ素の変化を調べた。微生物の植種源として、ヒ素含量の高い畑土壌を栽培土の 5% (w/w) 混合した。実験開始時 (0 週間) および 1 週間、4 週間後に栽培土とシダ地上部の試料を採取し、それぞれの全ヒ素含量を測定した。また、栽培土中の水溶性ヒ素およびそれに含まれる As(III)をそれぞれ測定し、土壌中水溶性ヒ素の形態別の経時変化を調べた。ヒ素酸化に関与する微生物は、微生物由来の亜ヒ酸酸化酵素遺伝子 *aroA* を指標として調べた。シダ根圏試料から抽出した全 DNA を鋳型として、亜ヒ酸酸化酵素遺伝子 *aroA* を対象とするプライマーセット [4]を用いて、PCR-DNA ライブラリーの構築と PCR-rFLP 解析を行った。

3. 結果と考察

(1) モエジマシダによるヒ素の蓄積

実験開始 4 週間後の土壌中 全ヒ素含量を測定したところ、実験 A、B では実験開始時とほぼ変化がなかったが、実験 C、D (各実験条件は図 1 に記載) においては、それぞれ開始時のヒ素全量の 48%と 60%まで低下したことが分かった (図 1)。一方、栽培開始 4 週間後のモエジマシダは、1 株当たり 334-406 μg のヒ素を蓄

積したことが確認された。これらの結果から、土壌中のヒ素はモエジマシダにより吸収・蓄積されていることが明らかとなった。また、畑土を添加した実験 D のシダは、添加していない実験 C のシダよりもヒ素の蓄積が多かった。

(2) 土壌中水溶性ヒ素の形態変化

土壌中の水溶性ヒ素を亜ヒ酸 As(III)とヒ酸 As(V)に分別して測定した結果、実験開始後 1 週間で、土壌中の水溶性亜ヒ酸はほぼなくなるまで減少したことが確認された (図 2 (I))。水溶性のヒ酸は、実験開始時から検出され、4 週間後においては、実験 A、B ではわずかな減少が観察されたが、実験 C、D では顕著な減少が観察された (図 2 (II))。このことから、変換されたヒ酸がシダによって吸収されたことが強く示唆された。

実験開始時と 4 週後で、実験 A、B の全ヒ素含量の変化がほぼ見られないが (図 1)、水溶性ヒ素の和 (図 2) が大きく減少したことから、添加した亜ヒ酸は不溶化されたことが示唆された。また、亜ヒ酸より溶解度の低いヒ酸が実験開始時から検出されたことから、添加した亜ヒ酸は素早くヒ酸に変換され、さらに不溶化したことが考えられる。

(3) シダ根圏由来の亜ヒ酸酸化酵素遺伝子の解析

ヒ素の形態変化およびシダへの移行における微生物の関与を理解するため、シダ根圏 DNA 中に存在する亜ヒ酸酸化酵素遺伝子 *aroA* の解析を行った。PCR-クローン解析の結果、畑土を添加した実験 B、D でのみ *aroA* の PCR 産物が確認でき、相同性検索の結果、Firmicutes および α -、 β -、 γ -Proteobacteria に属する微生物由来の *aroA* 遺伝子断片が幅広く検出された。また、t-RFLP 解析により、これらの *aroA* 遺伝子を保有する微生物の菌相は、時間の経過とともに変化した。

4. 今後の展望

我々は、東北地方太平洋沖地震津波によって引き起こされた広い範囲の土壌ヒ素汚染に対して、特定のヒ素高蓄積シダ植物を用いたヒ素浄化技術を適用するための研究を開始した。モエジマシダのようなバイオマス量の大きいシダ科植物の適用は、広範囲のヒ素汚染除去に有効と考えられるが、効率的ヒ素除去技術の適用には、ヒ素高蓄積シダ科植物と亜ヒ酸酸化微生物との生物相互作用を明らかにしたうえで、その相互作用を強化させることなどのシダ栽培方法の確立が必要だと思われる。またシダに蓄積したヒ素の安全な処理・

処分についても今後検討する必要がある。

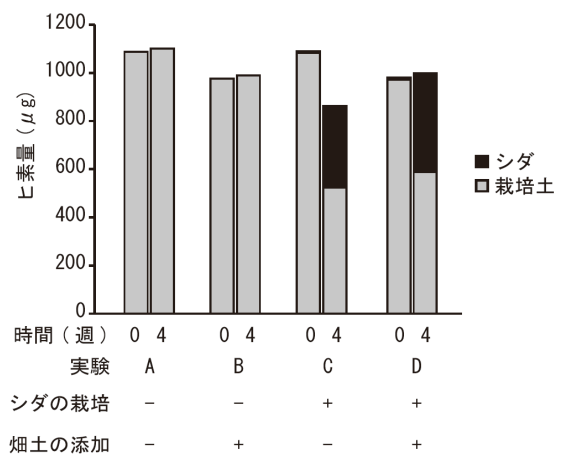


図 1 栽培実験における土壌およびモエジマシダの全ヒ素含量の経時変化

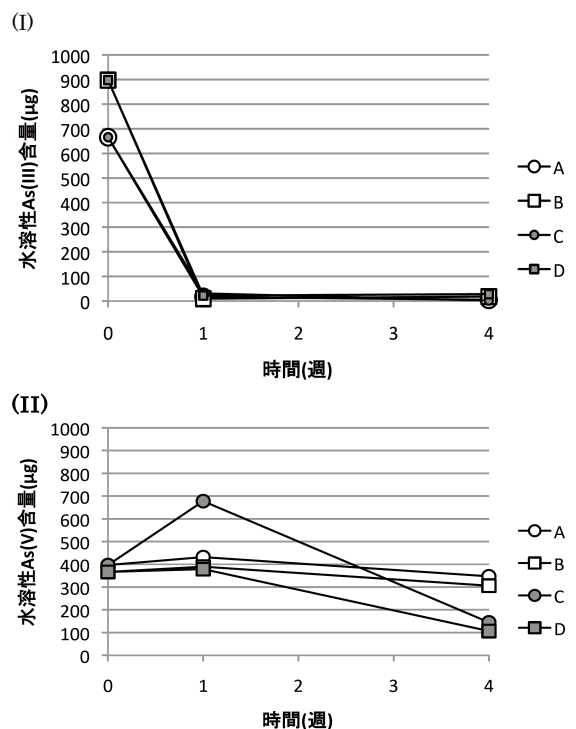


図 2 栽培土壌中の水溶性亜ヒ酸量(I)および水溶性ヒ酸量(II)の時変化

参考文献

- [1] Nordstrom, D.K.: Science, 296, 2143-2145 (2000)
- [2] Ma, L.Q., et al.: Nature, 409, 579 (2001)
- [3] Huang, Y., et al.: Planta, 243, 1275-1284 (2011)
- [4] Hamamura, N. et al.: Environ. Microbiol. 11, 421-431 (2009)